

# Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Avril 2019 / numéro 87

## SOMMAIRE/CONTENTS

### Article 1

Apport du Résapath pour la caractérisation phénotypique des résistances des bactéries responsables de mammites chez les vaches laitières en France

### Article 2

Perceptions et acceptabilité du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage (Sylvatub) en France

### Article 3

Niveaux d'infestation par les Anisakidae chez sept espèces de poisson prélevées au stade de la distribution en France

### Paper 1

Antimicrobial resistance trends in pathogens isolated from mastitis in dairy cattle

### Paper 2

Perceptions and acceptability of the bovine tuberculosis surveillance system for wildlife (Sylvatub) expressed by certain stakeholders in France

### Paper 3

*Biosecurity in cattle farms against bovine tuberculosis in France: review of risk factors and biosecurity measures*



Le *Bulletin épidémiologique* est une publication conjointe de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et de la direction générale de l'Alimentation du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation.



# Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Avril 2019

## Apport du Résapath pour la caractérisation phénotypique des résistances des bactéries responsables de mammites chez les vaches laitières en France

Clémence Bourély <sup>(1,2,3)</sup>, Géraldine Cazeau <sup>(2)</sup>, Nathalie Jarrige <sup>(2)</sup>, Didier Calavas <sup>(2)</sup>, Christelle Philippon <sup>(2)</sup>, Jean-Luc Vinard <sup>(2)</sup>, Jean-Yves Madec <sup>(4)</sup>, Agnès Leblond <sup>(3)</sup>, Marisa Haenni <sup>(4)</sup>, Émilie Gay <sup>(2)\*</sup>

\*Auteur correspondant: emilie.gay@anses.fr

(1) École nationale des services vétérinaires, VetAgro Sup, Marcy l'Étoile, France

(2) Université de Lyon, Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie et appui à la surveillance, Lyon, France

(3) Inra, VetAgro Sup, UMR EpiA, Epidémiologie des maladies animales et zoonotiques, Université de Lyon, Marcy L'Étoile, France

(4) Université de Lyon, Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Antibiorésistance et virulence bactériennes, Lyon, France

### Résumé

Les mammites sont les infections bactériennes les plus fréquentes chez les vaches laitières. Leur prévention comme leur traitement passent souvent par l'utilisation d'antibiotiques, ce qui peut favoriser le développement de résistances. L'objectif de cette étude était d'estimer les niveaux et tendances des résistances aux antibiotiques des trois principales bactéries responsables de mammites en France (*Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* et les staphylocoques à coagulase positive). Les données collectées entre 2006 et 2016 par le Réseau de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales (Résapath) ont été analysées. Les tendances ont été investiguées par des modèles non linéaires (modèles additifs généralisés). Sur la période étudiée, quelle que soit la bactérie considérée, les niveaux de résistance étaient le plus souvent inférieurs à 25 %. Pour *S. uberis*, tous les niveaux de résistance étaient en augmentation au cours de la seconde moitié de la période d'étude. Chez les staphylocoques, toutes les tendances des résistances étaient stationnaires ou décroissantes, excepté la résistance à la céfoxitine qui a augmenté entre 2014 et 2016. Pour seulement deux combinaisons bactérie-antibiotique, le niveau de résistance a augmenté de façon continue de 2006 à 2016 : la résistance à la tétracycline chez *S. uberis* (atteignant 20,4 % en décembre 2016) et la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) chez *E. coli* (atteignant 2,4 % en décembre 2016). Cette dernière augmentation est particulièrement préoccupante car les C3G constituent l'une des dernières alternatives thérapeutiques pour lutter contre certaines maladies infectieuses graves chez l'Homme et sont qualifiés d'antibiotiques critiques par l'EMA.

### Mots-clés:

Antibiorésistance, mammite, série temporelle, vache laitière, Résapath

### Abstract

#### **Antimicrobial resistance trends in pathogens isolated from mastitis in dairy cattle**

*In dairy cattle, mastitis is the most frequent bacterial disease and the routine use of antibiotics for treatment and prevention can drive antimicrobial resistance (AMR). The aim of our study was to estimate the levels and trends of AMR of the three main bacteria isolated from dairy cows with mastitis in France: Streptococcus uberis, Escherichia coli and coagulase positive staphylococci (CoPS). Data collected between 2006 and 2016 by the French surveillance network for AMR in pathogenic bacteria of animal origin (RESAPATH) were analyzed. Trends were investigated by non-linear analysis (generalized additive models). Over the studied period, regardless to the bacteria, the levels of resistance were mostly below 25 %. For S. uberis, significant increasing AMR trends were demonstrated for all antibiotics during the second half of the studied period. For CoS, all resistance trends were stationary or decreasing over the period, except for ceftiofur resistance which increased from 2014 to 2016. For only two combinations bacteria-antibiotic the resistance levels showed continuous increase from 2006 to 2016: tetracycline resistance in S. uberis isolates, which reached 20.4% in December 2016, and third-generation cephalosporins (3GC) resistance in E. coli isolates, which reached 2.4% at the end of the period. This last increase is particularly concerning because 3GC is one of the latest therapeutic alternatives to fight severe infectious diseases in humans and is classified as critical by EMA.*

### Keywords

Antimicrobial Resistance, Mastitis, Time-series, Dairy Cattle, RESAPATH

Les mammites, inflammations de la glande mammaire, sont les infections bactériennes les plus fréquentes chez les vaches laitières et les antibiotiques sont une composante importante de leur traitement et de leur contrôle. En France (Guérin-Faublée *et al.*, 2003; Botrel *et al.*, 2010), comme dans d'autres pays européens, américains ou africains, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* et les staphylocoques à coagulase positive (CoPS) sont les agents pathogènes responsables de mammites cliniques les plus fréquents (Tenhagen *et al.*, 2006; Bradley *et al.*, 2007; Ericsson *et al.*, 2009; Kateete *et al.*, 2013). Pour les mammites subcliniques, *E. coli* est moins prévalent que les CoPS, les staphylocoques à coagulase négative (CoNS) ou les streptocoques (Botrel *et al.*, 2010; Persson *et al.*, 2011). Ces différentes bactéries peuvent constituer un réservoir de gènes de résistance et jouer un rôle dans leur propagation vers d'autres bactéries pathogènes ou commensales en élevage (Aarestrup, 2015).

Considérant que l'usage des antibiotiques peut être un facteur favorisant le développement des résistances (Aarestrup, 2015), ces dernières doivent être surveillées au cours du temps pour guider l'usage raisonné des antibiotiques (Thomas *et al.*, 2015). Ces dernières décennies, des centaines de publications ont décrit les niveaux de résistance des agents pathogènes responsables de mammites bovines (Barlow, 2011), mettant en évidence des différences entre régions et cheptels, reflétant vraisemblablement des pratiques d'usage d'antibiotiques diverses (Erskine *et al.*, 2002; Makovec et Ruegg, 2003; Pitkälä *et al.*, 2004; Osterås *et al.*, 2006; Tenhagen *et al.*, 2006; Botrel *et al.*, 2010; Idriss *et al.*, 2014). Mais la plupart de ces études étaient basées sur des populations animales limitées à la fois en taille et en localisation, restreignant la portée et la généralisation des résultats obtenus. La résistance chez les bactéries responsables de mammites bovines n'a jamais été étudiée en Europe à une large échelle et sur une longue période (au moins quatre années consécutives). Pourtant, l'estimation des tendances est essentielle pour détecter les émergences, guider la prescription prudente des antibiotiques et ainsi préserver l'efficacité de l'arsenal thérapeutique. L'objectif de notre étude était d'estimer les niveaux et tendances des résistances des principaux agents pathogènes responsables de mammites chez les vaches laitières en France entre 2006 et 2016.

## Matériel et méthode

Cette étude rétrospective a été réalisée à partir des données du Réseau de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, le Résapath (Anses, 2016). Depuis 1982, ce réseau collecte les résultats des antibiogrammes réalisés par ses laboratoires adhérents (74 membres en 2015 sur 112 laboratoires en France) (Boireau *et al.*, 2018). Ces antibiogrammes sont demandés par des vétérinaires dans le cadre de leur activité de soin et sont réalisés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, conformément aux recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM). Les diamètres des zones d'inhibition sont communiqués à l'Anses et compilés dans une base de données. Pour cette étude, les données concernant les trois bactéries les plus fréquemment isolées de mammites bovines de 2006 à 2016, à savoir *S. uberis*, *E. coli* et CoPS, ont été extraites. Pour les staphylocoques, les données ne permettant pas de distinguer strictement les espèces, nous avons donc effectué les analyses sur le regroupement CoPS. Les variables extraites incluaient l'espèce bactérienne, la date de prélèvement et le diamètre d'inhibition pour chaque antibiotique testé. Pour les trois bactéries considérées, nous avons sélectionné les antibiotiques pertinents en médecine vétérinaire et humaine (Tableau 1). Seules les résistances acquises (nouvelles pour un taxon bactérien donné) ont été investiguées dans cette étude.

À défaut de seuils épidémiologiques disponibles en santé animale pour catégoriser les isolats suivant leur profil de résistance, les souches ont été classées comme sensibles (S), intermédiaires (I) ou résistantes (R), conformément aux seuils cliniques recommandés par la section vétérinaire du CA-SFM (CA-SFM, 2017). D'un point de vue épidémiologique, l'événement d'intérêt est la non-sensibilité de l'agent pathogène à l'antibiotique testé, ce qui indique que la bactérie isolée n'est plus une souche sauvage. Par conséquent, les isolats intermédiaires ont été regroupés avec les isolats résistants. L'indicateur de la résistance a été défini, pour chaque combinaison bactérie-antibiotique, comme la proportion du nombre d'isolats résistants par rapport au nombre total d'isolats testés. Cet indicateur est exprimé en pourcentage (%). Pour l'analyse des séries temporelles, nous avons utilisé des modèles additifs généralisés (GAM) pour capturer la tendance et la saisonnalité.

**Tableau 1.** Antibiotiques sélectionnés et classes d'antibiotique associées

Espèce bactérienne	Classe d'antibiotiques	Antibiotique
<i>Streptococcus uberis</i>	Pénicillines	Oxacilline
	Aminosides	Gentamicine
	Fluoroquinolones	Enrofloxacin
	Tétracyclines	Tétracycline
	Inhibiteurs de la synthèse du folate	Sulfamides-triméthoprim
	Macrolides	Erythromycine
	Lincosamides	Lincomycine
<i>Escherichia coli</i>	Pénicillines	Amoxicilline
	Céphalosporines	Ceftiofur
	Aminosides	Gentamicine
	Fluoroquinolones	Enrofloxacin
	Tétracyclines	Tétracycline
	Inhibiteurs de la synthèse du folate	Sulfamides-triméthoprim
Staphylocoque à coagulase-positive	Pénicillines	Pénicilline G
	Céphalosporines	Céfoxitine
	Aminosides	Gentamicine
	Fluoroquinolones	Marbofloxacin
	Tétracyclines	Tétracycline
	Inhibiteurs de la synthèse du folate	Sulfamides-triméthoprim
	Macrolides	Erythromycine
Lincosamides	Lincomycine	

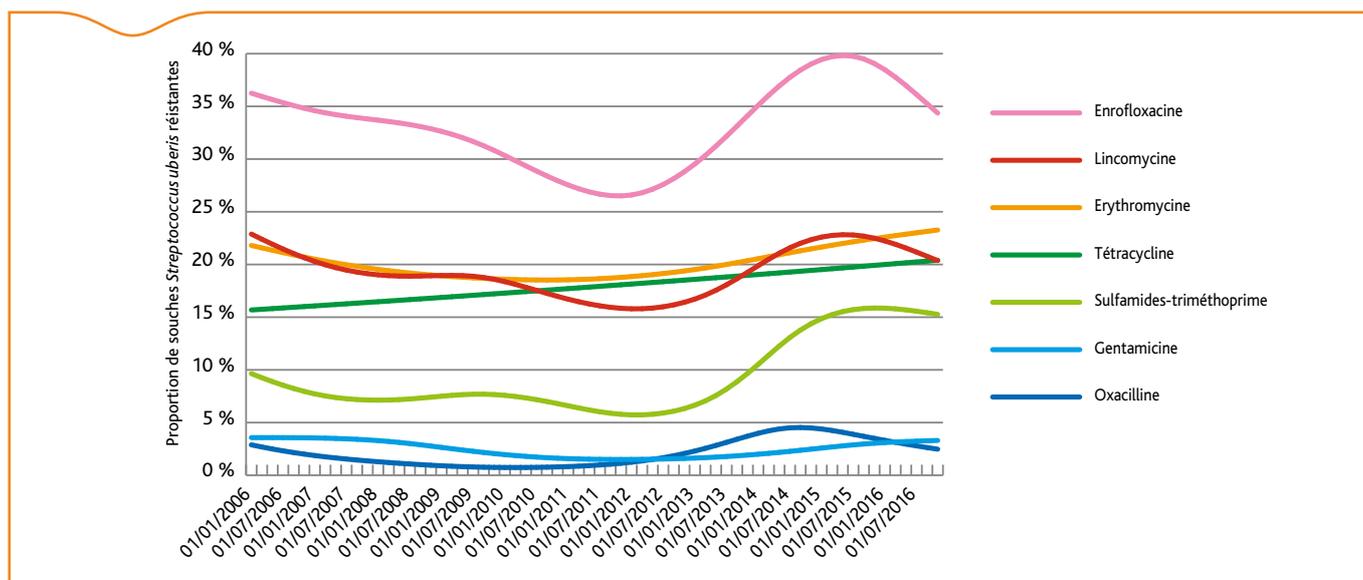


Figure 1. Tendances de la résistance des souches *S. uberis* isolées de mammites bovines en France de 2006 à 2016

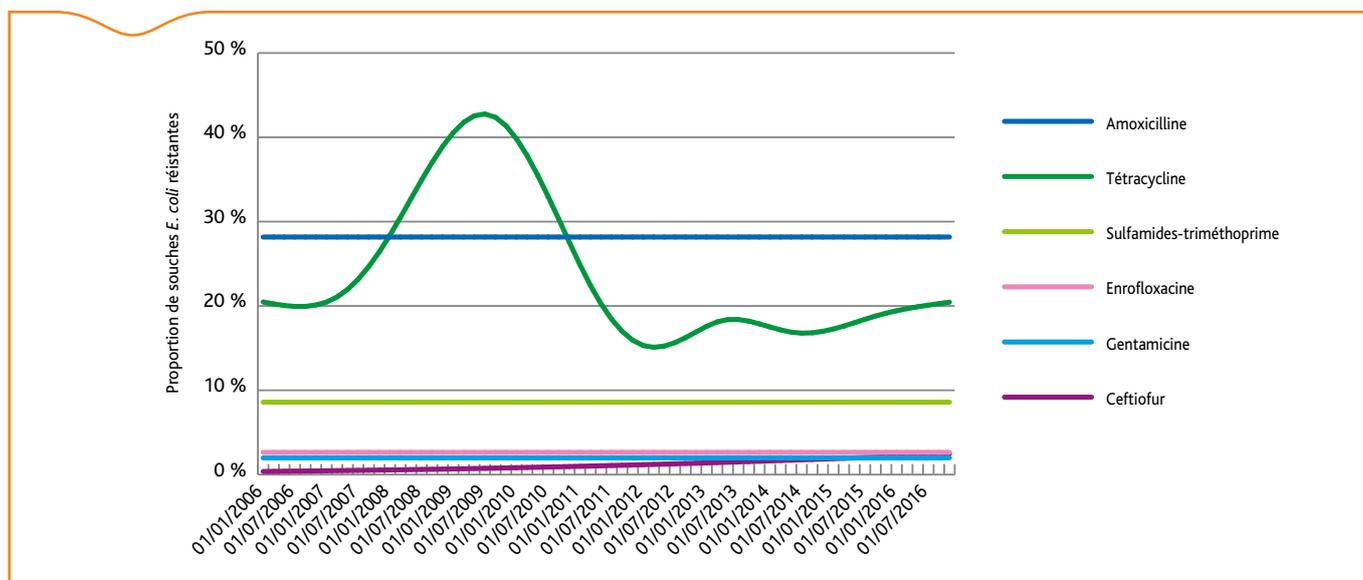


Figure 2. Tendances de la résistance des souches *E. coli* isolées de mammites bovines en France de 2006 à 2016

Nous avons utilisé un pas de temps bimensuel pour avoir au moins 25 antibiogrammes à chaque pas de temps (Barlow, 2011). Les modèles GAM ont été structurés et les analyses ont été effectuées comme décrit dans Boireau *et al.* (2018). Une valeur de  $p \leq 0,05$  a été considérée comme statistiquement significative. Si les variations de tendance n'étaient pas significatives, la tendance était considérée comme stationnaire.

## Résultats

Au total, 27888 antibiogrammes collectés entre le 1<sup>er</sup> janvier 2006 et le 31 décembre 2016 ont été analysés. Plus précisément, 49,7 % des antibiogrammes concernaient *S. uberis*, 25,4 % *E. coli* et 24,9 % CoPS. D'après les analyses graphiques, aucun cycle saisonnier n'était identifiable dans les séries temporelles brutes des pathogènes étudiés, ce qui a été confirmé par les modèles.

Pour *S. uberis*, tous les niveaux de résistance étaient en augmentation au cours de la seconde moitié de la période d'étude (Figure 1). La résistance à la tétracycline a augmenté linéairement passant de 15,7 %

(Intervalle de confiance à 95 % [14,2 ; 17,2]) en janvier 2006 à 20,4 % [18,7 ; 22,1] en décembre 2016. En revanche, les tendances étaient non linéaires pour les autres antibiotiques testés. Le niveau de résistance à l'oxacilline était inférieur à 5 % sur toute la période: il a diminué de 2006 à 2010 puis a augmenté rapidement, passant de 0,7 % [0,4 ; 1,0] en mai 2010 à 4,5 % [3,1 ; 5,9] en juillet 2014 avant de diminuer en 2015 et 2016. La résistance à la gentamicine est également restée faible sur la période. Le niveau de résistance aux sulfamides-triméthoprime a fluctué autour de 6 % entre 2006 et 2012, puis a augmenté en janvier 2012 pour atteindre 16 % [11,0 ; 21,0] en décembre 2016. Le niveau de résistance à l'érythromycine a peu varié au cours de la période. Enfin, la résistance à l'enrofloxacin a légèrement diminué au cours de la première moitié de la période d'étude, puis a fortement augmenté pour atteindre 41,8 % [36,4 ; 47,2] en juillet 2015, avant de diminuer à nouveau.

Pour *E. coli*, seules les tendances des résistances au ceftiofur et à la tétracycline n'étaient pas stationnaires sur la période. La résistance au ceftiofur est passée de 0,4 % [0,0 ; 0,7] en janvier 2006 à 2,4 % [1,5 ; 3,4] en décembre 2016 (Figure 2). La résistance à la tétracycline a présenté

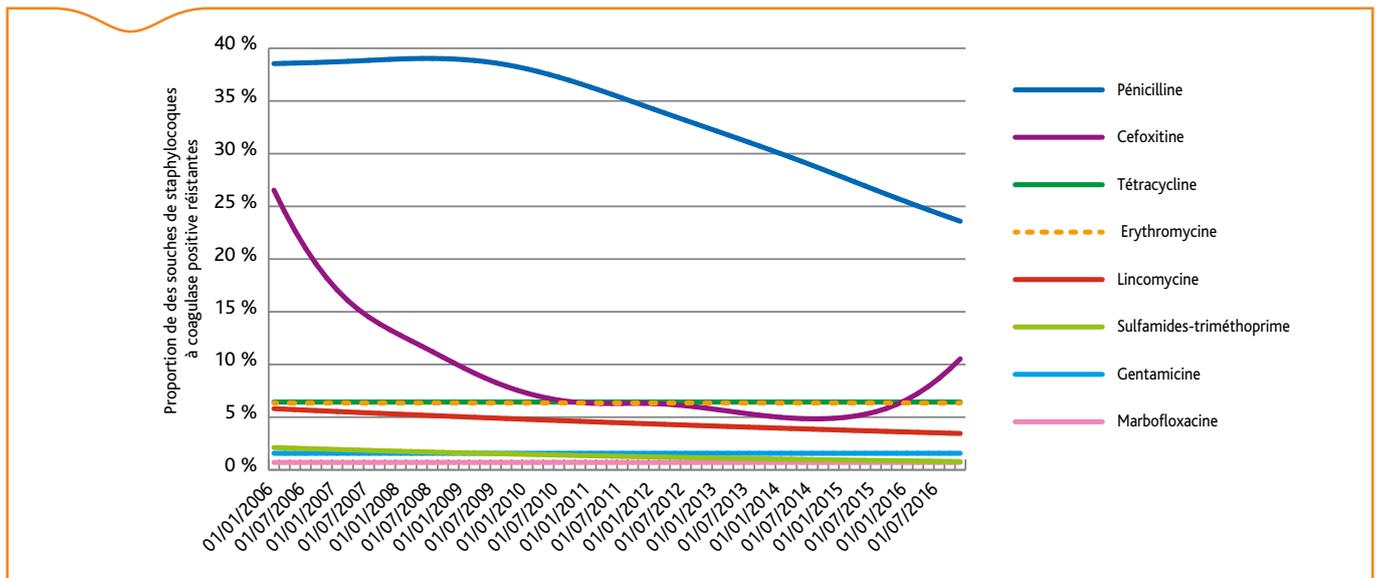


Figure 3. Tendances de la résistance des souches de staphylocoques à coagulase positive isolées de mammites bovines en France de 2006 à 2016

de fortes fluctuations, passant de 19,5 % [11,9 ; 27,2] en janvier 2006 jusqu'à un maximum de 42,4 % [37,0 ; 47,8] en juillet 2009, avant de chuter à 15,7 % [13,2 ; 18,2] en mai 2012 et de légèrement augmenter par la suite pour atteindre 20,6 % [16,1 ; 25,0] en décembre 2016.

Pour les CoPS, les tendances des résistances à la marbofloxacine, à la tétracycline, à l'érythromycine et à la gentamicine étaient stationnaires de 2006 à 2016 (Figure 3). En revanche, la résistance aux sulfamides-triméthoprime a diminué linéairement sur la période, passant de 2,1 % [1,2 ; 3,1] en janvier 2006 à 0,8 % [0,4 ; 1,2] en décembre 2016. La résistance à la lincomycine a diminué également linéairement, passant de 5,8 % [4,8 ; 6,8] en janvier 2006 à 3,5 % [2,9 ; 4,0] en décembre 2016. La résistance à la pénicilline, d'abord stable, a chuté en septembre 2008 à 39,1 % [36,6 ; 41,7] puis à 23,4 % [19,9 ; 26,9] en décembre 2016. Enfin, le niveau de résistance à la céfoxitine a d'abord diminué, passant de 27,6 % [13,4 ; 41,9] en janvier 2006 à 4,7 % [3,4 ; 6,1] en septembre 2014, puis a augmenté, atteignant 10,3 % [5,8 ; 14,8] en décembre 2016.

## Discussion

À notre connaissance, il s'agit de la première étude décrivant les tendances des résistances des agents pathogènes responsables de mammites bovines à l'aide d'analyses de séries chronologiques non linéaires. Cependant, nos résultats méritent d'être nuancés. Comme l'isolement bactérien et l'antibiogramme ne sont pas des analyses systématiques en médecine vétérinaire (Bourély *et al.*, 2018), il y a possiblement un biais de sélection dans les données collectées par le Résapath qui pourrait conduire à fournir un reflet imparfait de la situation épidémiologique. Cependant, considérant ces biais constants dans le temps dans le cadre du Résapath, les tendances de la résistance peuvent être interprétées. Par ailleurs, les données collectées ne nous renseignaient pas sur la nature clinique des mammites (mammite clinique *versus* mammite subclinique) à l'origine de l'antibiogramme. *E. coli* est un agent pathogène environnemental fortement associé à des mammites cliniques sévères. Mais pour *S. uberis* et les CoPS, le distinguo entre les deux types de mammites est difficilement approchable d'emblée, même si nous supposons que la grande majorité des bactéries ont été isolées dans des contextes de mammites cliniques en raison de la concordance entre la distribution des agents pathogènes recueillis dans notre étude et la distribution des agents pathogènes isolés de mammites cliniques en France dans une étude antérieure (Botrel *et al.*, 2010).

Dans notre étude, les niveaux de résistance de *S. uberis* vis-à-vis de l'enrofloxacin étaient plus élevés que ceux précédemment rapportés dans d'autres pays européens sur la période 2006-2009 (Tenhagen *et al.*, 2006; Persson *et al.*, 2011). Cependant, nous avons très probablement surestimé ces niveaux car nous avons regroupé les isolats intermédiaires et résistants. En raison de leur résistance intrinsèque aux quinolones, les streptocoques peuvent apparaître phénotypiquement intermédiaires par la méthode de diffusion en milieu gélosé, malgré l'absence de résistance acquise. Récemment, une étude européenne réalisée sur 282 isolats de *S. uberis* provenant de bovins laitiers atteints de mammite clinique a révélé des résultats similaires aux nôtres en 2014 pour la résistance à l'érythromycine (20 %), mais une résistance supérieure à la tétracycline (28,7 %) (Thomas *et al.*, 2015).

Pour les CoPS, les niveaux de résistance estimés dans notre étude sont en accord avec des résultats régionaux français antérieurs (Botrel *et al.*, 2010), à l'exception d'une résistance plus élevée à la pénicilline G (14,1 % en 2007-2008). Toutefois, des travaux plus récents mentionnent des niveaux de résistance similaires aux nôtres (Thomas *et al.*, 2015). Alors que la plupart des tendances des résistances chez les CoPS étaient stationnaires, les résistances à la pénicilline, aux sulfamides-triméthoprime et à la céfoxitine (marqueurs de la résistance à la méthicilline) variaient au cours de la période d'étude. Nous pouvons supposer que les changements de résistance observés sont liés à un changement de souches de *S. aureus* au cours de la période (Sakwinska *et al.*, 2011). En raison de l'absence d'identification bactérienne précise pour les CoPS et du manque d'investigations génétiques additionnelles (par exemple, détection spécifique du gène *mecA* par PCR), notre étude surestime vraisemblablement la proportion réelle de souches *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM). Toutefois, considérant le biais constant dans le temps, la tendance observée garde son sens. Ces analyses mériteraient d'être complétées par des études incluant des méthodes moléculaires de caractérisation des souches.

Pour *E. coli*, en comparaison avec une précédente étude régionale française (Botrel *et al.*, 2010 ; données de 2007-2008 en Rhône-Alpes), nous avons observé systématiquement des niveaux de résistance plus élevés pour l'amoxicilline, la tétracycline et la gentamicine. Ces différences peuvent être dues à l'échantillonnage spatial, ce qui suggère de potentielles variations d'usage des antibiotiques ou de pratiques d'élevage entre les régions françaises. Par ailleurs, des études antérieures basées sur la méthode de diffusion en milieu gélosé rapportent des niveaux de résistance au ceftiofur (C3G) très faibles ou nuls dans les souches *E. coli* isolées de mammites dans des pays

européens et en France (Hendriksen *et al.*, 2008; Bengtsson *et al.*, 2009; Botrel *et al.*, 2010; Idriss *et al.*, 2014). Même si l'amplitude est limitée et que les niveaux de résistance les plus élevés ne dépassent pas 2,4 %, l'augmentation de la résistance aux C3G chez les souches *E. coli* isolées de mammites chez les vaches laitières est particulièrement préoccupante car les C3G ont été classées comme antibiotiques d'importance critique (Collignon *et al.*, 2009), c'est-à-dire de derniers recours pour certaines infections sévères chez l'Homme. Dans d'autres secteurs de production animale, les porcs et les volailles, les tendances de la résistance aux C3G étaient en net déclin en France depuis 2010 et les niveaux de résistance pour ces productions étaient inférieurs à 10 % en 2015 (Boireau *et al.*, 2018; Bourély *et al.*, 2018), notamment en raison de la mise en place d'un moratoire en filière porcine en 2011. Chez les bovins (tous secteurs d'élevage confondus), Boireau *et al.* (2018) ont également signalé des niveaux de résistance faibles avec une tendance croissante de 2002 à 2014, suivie d'une stabilisation. Pourtant, nos résultats démontrent que la résistance aux C3G chez les souches *E. coli* isolées de mammites de vaches laitières a augmenté de façon continue de 2006 à 2016. La dynamique de la résistance aux C3G observée dans notre étude souligne l'importance de stratifier les analyses par secteurs de production et / ou par pathologie pour affiner la caractérisation des tendances.

D'après les déclarations de vente d'antibiotiques, les pénicillines, les céphalosporines (première et deuxième générations), les aminosides, les polymyxines et les tétracyclines sont les classes d'antibiotiques les plus utilisées en France pour les injections intra-mammaires (Anses-ANMV, 2016). Parmi les 29 spécialités d'antibiotiques disponibles en France en 2016 pour les administrations intra-mammaires chez les bovins, 11 combinaient deux antibiotiques de classes différentes, quinze contenaient des pénicillines, huit des aminosides, six des céphalosporines de premières générations et trois des céphalosporines de dernières générations (céfopérazone et cefquinome). Nous avons caractérisé les tendances des résistances pour toutes les classes d'antibiotiques présentes dans ces spécialités, excepté pour les ansamycines (une spécialité disponible), car cette classe n'est pas systématiquement testée par les laboratoires vétérinaires, et pour les polymyxines (deux spécialités avec colistine) car la méthode de diffusion en milieu gélosé utilisée par les laboratoires du Résapath ne permet pas de distinguer clairement les isolats sensibles et résistants du fait d'une mauvaise diffusion des polypeptides dans la gélose (Humphries, 2015). Notons que les ventes de céphalosporines de dernières générations pour administration intra-mammaire ont augmenté de 20,3 % entre 2007 et 2011 puis ont diminué de 79,5 % entre 2013 et 2016, en raison de nouvelles réglementations limitant leur utilisation en médecine vétérinaire et d'une sensibilisation accrue des professionnels sur la nécessité d'un usage raisonné de ces molécules (Anses-ANMV, 2017). Pour autant, on constate une tendance à l'augmentation constante de la résistance au ceftiofur (C3G). On peut supposer que l'utilisation de céphalosporines de dernières générations ces dix dernières années, quel que soit le contexte pathologique, a probablement contribué à augmenter la prévalence des *E. coli* résistantes aux C3G dans l'environnement et/ou a sélectionné des bactéries résistantes, conduisant plus fréquemment à des mammites dues à des *E. coli* résistantes aux C3G.

## Conclusion

Par l'étude des séries chronologiques, nous avons pu caractériser les niveaux et tendances des résistances aux antibiotiques des principaux pathogènes responsables de mammites bovines en France de 2006 à 2016. Ces résultats peuvent guider les vétérinaires dans le choix du traitement empirique initial le plus approprié. En sus, ils peuvent également permettre de compléter les guides de bonnes pratiques (SNGTV, 2014) qui orientent la stratégie thérapeutique dans un contexte clinique et épidémiologique donné. Ces travaux illustrent également l'utilité des dispositifs de surveillance tels que le

Résapath pour guider les pratiques thérapeutiques, suivre les niveaux de résistance et détecter des émergences. Enfin, nos résultats sont essentiels pour l'évaluation des mesures mises en place et la conception de stratégies de lutte pour limiter l'antibiorésistance.

## Remerciements

Les auteurs remercient vivement tous les laboratoires d'analyses vétérinaires adhérents du Résapath pour la transmission régulière de données et leur engagement dans le réseau.

## Références bibliographiques

- Aarestrup F. M., 2015. The livestock reservoir for antimicrobial resistance: A personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 370 (1670): 20140085. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0085>.
- Anses. 2016. Résapath Réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales - Bilan 2015. <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ra-Resapath2015.pdf>.
- Anses-ANMV. 2016. Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2015. Rapport annuel. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ANMV-Ra-Antibiotiques2015.pdf>
- Anses. 2017. Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2016. Rapport annuel. <https://www.anses.fr/en/system/files/ANMV-Ra-Antibiotiques2016.pdf>
- Barlow J. 2011. Mastitis therapy and antimicrobial susceptibility: A multispecies review with a focus on antibiotic treatment of mastitis in dairy cattle. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 16, 383-407. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9235-z>.
- Bengtsson B., Unnerstad H.E., Ekman T., Artursson K., Nilsson-Ost M., Waller K.-P., 2009. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Vet Microbiol.* 136: 142-49. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.024>.
- Boireau C., Jarrige N., Cazeau G., Jouy É., Haenni M., Philippon C., Calavas D., Madec J.-Y., Leblond A., Gay E., 2018. Représentativité et couverture du résapath, le réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales. *Bull. Épidémiologique Santé Anim. Aliment.* 80:10-14.
- Boireau C., Morignat É., Cazeau G., Jarrige N., Jouy É., Haenni M., Madec J.-Y., Leblond A., Gay É., 2018. Antimicrobial resistance trends in *Escherichia coli* isolated from diseased food-producing animals in France: A 14-year period time-series study. *Zoonoses Public Health* 65:86-94. [doi:10.1111/zph.12412](https://doi.org/10.1111/zph.12412).
- Botrel M.-A., Haenni M., Morignat E., Sulpice P., Madec J.-Y., Calavas D., 2010. Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France. *Foodborne Pathog. Dis.* 7:479-487. [doi:10.1089/fpd.2009.0425](https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0425).
- Bourély C., Chauvin C., Jouy É., Cazeau G., Jarrige N., Leblond A., et Gay É., 2018. Comparative epidemiology of *E. coli* resistance to third-generation cephalosporins in diseased food-producing animals. *Vet Microbiol* 223: 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.07.025>.
- Bourély C., Fortané N., Calavas D., Leblond A., Gay É., 2018. Why do veterinarians ask for antimicrobial susceptibility testing? A qualitative study exploring determinants and evaluating the impact of antibiotic reduction policy. *Prev Vet Med.* 159: 123-34. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.09.009>.
- Bradley A. J., Leach K. A., Breen J. E., Green L. E., Green M. J., 2007. Survey of the Incidence and Aetiology of Mastitis on Dairy Farms in England and Wales. *Vet Rec.* 160: 253-57.
- CA-SFM. 2017. Recommandations 2017 du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, Groupe de Travail Antibiogramme Vétérinaire. [http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM\\_VET2017.pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_VET2017.pdf)
- Collignon P., Powers J.H., Chiller T.M., Aidara-Kane A., Aarestrup F.M., 2009. World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: A critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 49:132-141. [doi:10.1086/599374](https://doi.org/10.1086/599374).
- Ericsson U.H., Lindberg A., Persson Waller K., Ekman T., Artursson K., Nilsson-Ost M., and Bengtsson B., 2009. Microbial aetiology of acute

- clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Vet. Microbiol.* 137:90–97. doi:10.1016/j.vetmic.2008.12.005.
- Erskine R.J., Walker R.D., Bolin C.A., Bartlett P.C., White D.G., 2002. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J. Dairy Sci.* 85:1111–1118. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74172-6
- Guérin-Faubleé V., Carret G., Houffschmitt P., 2003. In vitro activity of 10 antimicrobial agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *Vet Record.* 152: 466–71.
- Hendriksen R.S., Mevius D.J., Schroeter A., Teale C., Meunier D., Butaye P., Franco A., Utinane A., Amado A., Moreno M., Greko C., Stärk K., Berghold C., Myllyniemi A.-L., Wasyl D., Sunde M., and Aarestrup F.M., 2008. Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from cattle in different European countries: 2002–2004. *Acta Vet. Scand.* 50:28. doi:10.1186/1751-0147-50-28.
- Humphries R.M., 2015. Susceptibility testing of the polymyxins: Where are we now? *Pharmacotherapy* 35: 22-27. <https://doi.org/10.1002/phar.1505>.
- Idriss S.E., Foltys V., Tancin V., Kirchnerova K., Tancinova D., Zaujec K., 2014. Mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in nitra, Slovakia. *Slovak J Anim Sci.* 33–38.
- Kateete, D.P., Kabugo U., Baluku H., Nyakarahuka L., Kyobe S., Okee M., Najjuka C.F., Joloba M.L., 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around Kampala, Uganda. *PloS One.* 8:e63413. doi:10.1371/journal.pone.0063413.
- Makovec J.A., Ruegg P.L., 2003. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994–2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222:1582–1589.
- Osterås, O., Sølverød L., Reksen O., 2006. Milk culture results in a large Norwegian survey--effects of season, parity, days in milk, resistance, and clustering. *J. Dairy Sci.* 89:1010–1023. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72167-1.
- Persson Y., Nyman A.-K.J., Grönlund-Andersson U., 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta Vet. Scand.* 53:36. doi:10.1186/1751-0147-53-36.
- Pitkälä A., Haveri M., Pyörälä S., Myllys V., Honkanen-Buzalski T., 2004. Bovine mastitis in Finland 2001--prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.* 87:2433–2441. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73366-4.
- Sakwinska O., Giddey M., Moreillon M., Morisset D., Waldvogel A., Moreillon P., 2011. *Staphylococcus aureus* host range and human-bovine host shift. *Appl. Environ. Microbiol.* 77:5908–5915. doi:10.1128/AEM.00238-11.
- SNGTV. 2014. Recommandations de bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques en filière bovine.
- Tenhagen B.-A., Köster G., Wallmann J., Heuwieser W., 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J. Dairy Sci.* 89:2542–2551. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72330-X.
- Thomas V., de Jong A., Moyaert H., Simjee S., El Garch F., Morrissey I., Marion H., Vallé M., 2015. Antimicrobial susceptibility monitoring of mastitis pathogens isolated from acute cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. *Int. J. Antimicrob. Agents* 46:13–20. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.03.013.

# Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Avril 2019

## Perceptions et acceptabilité du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage (Sylvatub) en France

Julie Rivière <sup>(1)</sup>, Yann Le Strat <sup>(2)</sup>, Pascal Hendrikx <sup>(3)</sup>, Barbara Dufour <sup>(4)</sup>

Auteur correspondant : julie.riviere@vet-alfort.fr

(1) Unité EpiMAI, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

(2) Santé Publique France, Saint-Maurice, France

(3) Unité Épidémiologie et appui à la surveillance, Anses, France

### Résumé

En France, le dispositif Sylvatub de surveillance de la tuberculose bovine (TB) dans la faune sauvage a été mis en place en 2011 chez les sangliers, cerfs, chevreuils et blaireaux. Il repose sur des activités de surveillance événementielle et programmée, contraintes par des difficultés pratiques et réglementaires. Pour mieux comprendre les motivations et les contraintes de la participation au dispositif, une étude qualitative par entretiens semi-directifs a été conduite auprès de plusieurs catégories d'acteurs (collecteurs, animateurs locaux, gestionnaires), dans des départements à différents niveaux de risque. Les résultats ont montré que tous les acteurs interrogés considéraient Sylvatub comme utile, et ont permis d'identifier des facteurs de motivation (utilité, soutien au monde agricole, activité de loisirs) ainsi que des contraintes (pratiques, économiques, réglementaires et relationnelles) qui pourraient constituer un frein à leur engagement dans le dispositif. Pour maintenir l'implication des acteurs dans le dispositif, il semble important de renforcer la reconnaissance du travail effectué par les acteurs cynégétiques (chasseurs, piégeurs...), et de développer la communication sur les résultats de la surveillance et entre les catégories d'acteurs (monde agricole et monde cynégétique notamment).

### Mots-clés

Tuberculose bovine, surveillance épidémiologique, évaluation qualitative, enquête sociologique, acceptabilité, faune sauvage, France

### Abstract

**Perceptions and acceptability of the bovine tuberculosis surveillance system for wildlife (Sylvatub) expressed by certain stakeholders in France**

In France, a bTB surveillance system for free-ranging wildlife, the Sylvatub system, was launched in 2011 for wild boars, red deer, roe deer and badgers. It relies on active and passive surveillance activities, and is hindered mainly by practical difficulties and regulatory rules. To better understand the determinants favoring and preventing participation in surveillance, a qualitative sociological study by semi-structured interviews was conducted with three types of stakeholders (collectors, coordinators, and officers) in areas with different levels of bTB infection. The results showed that the Sylvatub system was considered useful by all the stakeholders interviewed, and made it possible to identify motivational factors (utility, support to livestock farmers, leisure activity) and constraints (practical, economic, regulatory and relational) that could hinder the involvement of the stakeholders in the system. To maintain motivation and involvement in this surveillance system, it seems important to reinforce the recognition of the work done by hunters, and to improve communication on the results of surveillance, as well as communication between the categories of stakeholders (agricultural and hunting spheres).

### Keywords

Bovine tuberculosis; *Mycobacterium bovis*; Surveillance; Qualitative evaluation; Sociological survey; Acceptability; Wildlife; France

## Introduction

Le dispositif national de surveillance de la tuberculose bovine (TB) dans la faune sauvage, Sylvatub, a été instauré en 2011 (Note de service DGAL/SDSPA/N2011-8214 du 20 septembre 2011). Il repose sur trois composantes de surveillance, appliquées selon un niveau de risque départemental, trois niveaux ayant été définis (faible, moyen et haut risque): (i) surveillance événementielle par examen de carcasse (EC), effectuée par les chasseurs sur les grands ongulés dans tous les départements de France métropolitaine quel que soit le niveau de risque; (ii) surveillance événementielle des causes de mortalité des animaux sauvages, réalisée par les acteurs du réseau Sagir dans tous les départements quel que soit le niveau de risque, renforcée dans les départements de moyen à haut risque pour les blaireaux, les sangliers et les cerfs; (iii) surveillance programmée (SP) par analyse systématique d'un échantillon de blaireaux (départements à moyen et haut risque) et de sangliers (départements à haut risque).

Des études ont estimé l'efficacité de ce dispositif en fonction des modalités de surveillance, des espèces et des départements (Rivière *et al.*, 2015), à partir de modèles de simulation par arbres de scénarios, qui prennent en compte les prises de décision et les choix effectués par les acteurs (déclaration d'une suspicion, collecte d'un animal mort, etc.). Toutefois, leur comportement et leurs motivations sont difficiles à modéliser et dépendent de nombreux paramètres. Par ailleurs, l'évaluation réalisée à l'aide de la méthode Oasis en 2015 avait souligné une acceptabilité limitée du dispositif (Lhubert *et al.*, 2015).

Il semblait ainsi nécessaire d'investiguer la perception du dispositif Sylvatub par les acteurs du réseau, et leur acceptabilité de celui-ci à travers une approche sociologique. Le dispositif Sylvatub est relativement complexe, car il s'appuie sur de nombreux acteurs

volontaires, certains étant indemnisés, comme les piégeurs, d'autres n'étant pas indemnisés pour des activités conduites dans le cadre d'une activité de loisirs comme les chasseurs. Le caractère pluripartenarial de Sylvatub (reposant sur des chasseurs, piégeurs, lieutenants de louveterie (LL), techniciens de Fédération départementale de chasse (FDC), de services départementaux de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), appelés acteurs cynégétiques, et de directions départementales en charge de la protection des populations (DDecPP)) souligne sa complexité.

## Matériel et méthodes

L'objectif de cette étude était d'investiguer, à l'échelle locale, la perception de la surveillance par les acteurs du dispositif, ainsi que les facteurs de motivation et les freins à leur participation. Pour cela, des entretiens semi-directifs ont été conduits par un stagiaire de l'École nationale des services vétérinaires (ENSV) (Durand, 2015) entre mai et juillet 2015 auprès de tous les types d'acteurs intervenant dans le dispositif, qu'ils interviennent au stade de la collecte d'animaux sauvages ou de l'animation locale. Afin de prendre en compte le niveau de risque, qui peut influencer l'implication des acteurs en raison de la présence ou non de cas de TB et de sa prévalence, l'étude a été conduite dans plusieurs types de départements: un département de faible risque (FR), un département de risque moyen (MR) et deux départements de haut risque (HR – HR1 et HR2). Le nombre d'entretiens a été déterminé selon la diversité des situations sur le terrain (acteurs, niveau de risque, composante de surveillance), en cherchant à atteindre la saturation théorique (le nombre d'entretiens idéal étant considéré comme atteint dès lors qu'un nouvel entretien n'apporte pas de nouvelle information). Cinq thématiques ont été abordées lors des entretiens: la description

**Tableau 1. Caractéristiques des acteurs interrogés (n=20) dans chaque département**

	Chasseur	Piégeur	FDC	LL	ONCFS	DDecPP	Autre
<b>Département de faible risque (FR)</b>							
Acteur 1	X		X				
Acteur 2	X	X					
<b>Département de moyen risque (MR)</b>							
Acteur 3					X		
Acteur 4	X		X				
Acteur 5						X	
<b>Département à haut risque n°1 (HR1)</b>							
Acteur 6	X			X			
Acteur 7							FDGON*
Acteur 8	X	X					
Acteur 9	X	X					
Acteur 10	X		X				
Acteur 11						X	
Acteur 12					X		
<b>Département de haut risque n°2 (HR2)</b>							
Acteur 13		X					membre association piégeurs
Acteur 14	X		X				
Acteur 15	X			X			
Acteur 16	X	X		X			
Acteur 17	X						membre société de chasse
Acteur 18	X	X		X			
Acteur 19	X						
Acteur 20						X	

\* Fédération Départementale des Groupements de Défense contre les Organismes Nuisibles (FDGON)

des activités de la personne interrogée dans le dispositif Sylvatub, le contexte local, les freins et les motivations de participation au dispositif, les relations avec les autres acteurs et le ressenti sur l'intérêt et l'utilité du dispositif. L'analyse des entretiens a consisté en une retranscription des enregistrements et une analyse du contenu manifeste (exprimé) par thématique, en fonction des catégories d'acteurs. N'ont été retenus pour présentation dans cet article que les éléments cités par plusieurs acteurs, regroupés en trois thématiques (contexte de création du réseau d'acteurs spécifique du dispositif Sylvatub, déterminants de la participation à Sylvatub, contraintes de fonctionnement et de participation).

## Résultats

Au total, 20 entretiens ont été réalisés dans quatre départements. Certains acteurs avaient plusieurs rôles, par exemple chasseur et piégeur, ou chasseur et technicien de FDC (Tableau 1). Certains acteurs étaient également éleveurs: cette activité n'était pas prise en compte comme critère de recrutement des personnes interrogées, mais a été indiquée dans les résultats car pouvant influencer leurs perceptions des acteurs. Un responsable de Fédération Départementale des Groupements de Défense contre les Organismes Nuisibles (FDGDON) a également été interrogé dans le département HR1. Trois personnes ont refusé de participer par manque de temps. Chaque entretien durait entre deux et trois heures. Afin de respecter l'anonymat des personnes enquêtées, seuls les rôles des acteurs et le niveau de risque ont été indiqués pour les citations.

### *Un réseau d'acteurs récemment créé, reposant en partie sur du bénévolat*

#### **Des acteurs volontaires, peu sensibilisés au sanitaire**

Dans la plupart des départements, les animateurs considèrent que les chasseurs assurent une bonne détection des carcasses suspectes. Toutefois, la déclaration des suspicions n'est pas systématique et dépend de divers facteurs, comme le temps disponible, la présence de cas de TB dans la zone, et de la volonté de l'acteur, même si le « doute » et la « peur » ont souvent été mentionnés comme raisons à la déclaration: « Même sans faire la formation, les chasseurs ne consomment pas les carcasses avec lésions: dans le doute, selon les personnes, certains vont les jeter, d'autres vont les faire analyser. Le fait de faire analyser une carcasse douteuse c'est plus une question de volonté et de temps libre qu'une question de coût d'analyse » (Éleveur, chasseur, piégeur HR1). Par ailleurs, Sylvatub s'appuie sur des acteurs initialement peu sensibilisés au sanitaire et à la TB. Des formations ont été proposées, mais le manque de connaissances a été exprimé par plusieurs acteurs, même dans les zones de HR, certains précisant la méconnaissance du rôle des espèces sauvages dans le cycle de la TB: « La TB c'est une maladie mais ça s'arrête là, ça ne me parle pas. On est loin d'être des spécialistes » (LL HR2).

#### **Un réseau d'acteurs récent**

Le dispositif a été mis en place récemment en 2011, et s'appuie sur des acteurs qui auparavant ne travaillaient pas ensemble, ce qui a nécessité que chaque acteur mette en place des relations avec les autres, alors qu'il existait déjà une tension entre certaines catégories. En effet, la TB est perçue comme une source d'inquiétude par les éleveurs, mais également par les acteurs cynégétiques participant au dispositif Sylvatub (chasseurs notamment), qui s'accusent parfois mutuellement d'être à l'origine du problème: « Quand on a commencé à rechercher la TB sur les sangliers, tout le monde a pensé que ça voulait dire que les sangliers avaient la TB. C'est difficile de rassurer les gens après, ça crée une sorte de psychose » (Éleveur, chasseur, piégeur HR1). Par ailleurs, les acteurs cynégétiques n'avaient jusqu'alors que peu de contacts avec la DDecPP, qui est souvent considérée comme une autorité administrative synonyme de contraintes, ce qui complique l'intégration opérationnelle des agents au dispositif: « On a une

mauvaise image: on est dans l'administration donc on contrôle, on ne connaît pas le milieu etc. On part avec un handicap » (DDPP HR2).

#### **Un dispositif perçu comme utile**

La plupart des acteurs enquêtés considèrent le dispositif Sylvatub comme utile: « Je pense que Sylvatub est nécessaire et que c'est un bon outil » (FDC FR); « Sylvatub permet de travailler sur une base plus scientifique, d'avoir un travail un peu plus structuré et parlant » (DDPP HR1).

### *Les déterminants de la participation des acteurs cynégétiques*

#### **Un sentiment d'utilité et de nécessité vis-à-vis du monde agricole**

La sensibilisation des acteurs est dépendante du contexte local vis-à-vis de la TB. En zone infectée, la gestion de la TB dans la faune sauvage semble indispensable, même si non suffisante, à la lutte contre la TB en élevage bovin: « Je le fais par solidarité avec les agriculteurs que je connais » (Chasseur, Piégeur HR1).

#### **Une surveillance au service de la science**

Plusieurs acteurs ont souligné l'importance de mieux comprendre le rôle des espèces sauvages dans le cycle épidémiologique de la TB comme facteur de motivation: « On s'est dit qu'il fallait savoir, et pour savoir il faut chercher, et donc il faut attraper des blaireaux » (FDC HR2); « Pour le petit et le grand gibier, les gens savent qu'on peut faire des analyses, il y a une volonté de savoir le pourquoi du comment » (FDC MR).

#### **Une pratique de loisirs**

Le dispositif s'appuie en partie sur des acteurs bénévoles, qui pratiquent la chasse ou le piégeage comme une activité de loisir. Les contraintes ne doivent donc pas être trop importantes pour ne pas conduire à leur démobilitation: « Je pense que pour la majorité c'est [le principal facteur motivationnel] la passion » (FDGDON HR1); « On leur demande beaucoup de choses et ils [les chasseurs] finissent par être un peu découragés. Il ne faut pas oublier que la chasse est un loisir pour eux au départ et pas une contrainte » (FDC HR1).

#### **L'indemnisation, synonyme de reconnaissance**

L'aspect financier n'est pas perçu comme un facteur de motivation prioritaire, mais l'indemnisation de l'activité de piégeage est perçue comme une forme de reconnaissance du travail fourni par les piégeurs et semble importante pour maintenir leur motivation: « Les indemnités sont minimes si on fait le tour de tous les frais que ça occasionne (mécanique, voiture, pneus, carburant, temps passé) mais on fait ça parce que les gens sont motivés, et par rapport aux éleveurs aussi. Les gens ne le font pas pour l'argent, mais ça les reconforte qu'on tienne compte de leur effort et qu'on les récompense un peu » (LL HR1). Certains acteurs proposent aussi de remplacer l'indemnisation par un geste plus concret, en fournissant une reconnaissance sous forme de matériel par exemple: « Pourquoi on ne donnerait pas des collets à ceux qui attrapent des blaireaux, plutôt qu'une gratification financière. Nous on avait déterminé un nombre de dix collets par piégeur, des fois on leur en mettait seulement trois ou quatre, y a même des fois où des piégeurs achètent des pièges » (Association piégeurs HR2).

#### **Une implication fortement dépendante du contexte local**

La situation locale vis-à-vis de la TB est un facteur influençant fortement l'acceptabilité du dispositif, sur laquelle il est toutefois difficile d'agir concrètement. Ainsi, dans les départements de FR, la difficulté principale de la sensibilisation et du maintien de la vigilance des chasseurs semble être l'absence de cas, ce qui souligne le facteur d'utilité comme déterminant pour la participation au dispositif. Par ailleurs, la peur des conséquences en cas de détection de l'infection semble importante dans ces départements de FR: « On a un problème particulier dans ce département, c'est que justement il n'y a pas de

problème [sanitaire et de TB], donc les chasseurs sont moins enclins à déclarer s'ils voient quelque chose, par peur des conséquences. Je pense que les chasseurs ont peur qu'on leur impose des contraintes s'ils trouvent quelque chose sur un sanglier. Dans les zones touchées, les chasseurs sont sensibilisés, c'est différent » (FDC FR).

### Les contraintes de fonctionnement et de participation

#### Des contraintes pratiques, économiques et matérielles

Un manque de moyens a été cité par certains acteurs du réseau Sagir, notamment en termes de véhicules pour la collecte des animaux trouvés morts: « Les moyens c'est délicat. On a une voiture pour deux ou trois personnes, donc en monopoliser une pour aller chercher un blaireau mort ce n'est pas toujours possible » (ONCFS HR1); « Le matériel ça fonctionne un peu au compte-goutte, il y a des périodes où on manque parfois de matériel. Par exemple au début on m'a donné deux ou trois pièges mais moi quand je vais piéger j'en place une dizaine, plus on place de collets et plus on a de chance d'en attraper » (Éleveur, chasseur, piégeur HR2).

#### La surveillance programmée des blaireaux, une activité chronophage

La charge de travail inhérente au piégeage (1 à 2h tous les matins pour le relevé des pièges) a été mentionnée par la plupart des piégeurs, avec parfois un sentiment d'échec, le taux de réussite étant faible et constituant un facteur de découragement: « Quand les piégeurs n'attrapent rien, ils se démotivent au bout d'un moment. On peut le comprendre ça prend du temps » (LL HR2). Ces contraintes conduisent à des difficultés de mobilisation des piégeurs et façonnent ainsi leur population, constituée en conséquence d'une majorité de retraités: « C'est presque que des retraités qui piègent car c'est les seuls qui ont le temps. Le gars qui travaille, il piège juste un peu comme ça le week-end. Le matin son premier travail c'est de se lever et de partir au boulot, donc aller voir les pièges avant de partir au travail c'est trop long » (Chasseur HR1).

#### Des contraintes réglementaires

Plusieurs acteurs ont mentionné que les évolutions réglementaires (parution de nouveaux textes réglementaires, en lien avec Sylvatub ou avec la gestion d'animaux sauvages) pouvaient être contraignantes pour leurs activités: « C'est un empiement de compétences. Il y a plus de prérogatives, et si vous voulez être compétent il faut pouvoir les suivre et se mettre à jour. C'est un peu crispant, moi ça me bouffe, il faut chaque fois se remettre en question » (ONCFS HR1).

#### Des contraintes relationnelles

Des contraintes relationnelles ont été mentionnées, parfois par des acteurs d'une même catégorie: « Si demain il faut faire du piégeage de blaireaux dans notre département, ça sera difficile parce qu'il y a deux sociétés de piégeurs qui se bouffent le nez et c'est un grand problème, notamment pour la FDC: quand les associations de piégeurs font des réunions, personne ne veut y aller parce qu'on sait qu'on aura des emmerdes derrière et que notre action va être interprétée » (FDC FR); ou entre catégories d'acteurs, notamment entre chasseurs et piégeurs: « C'est deux postures différentes la chasse et le piégeage. Il y a des chasseurs qui voient les piégeurs comme des concurrents. Ça va jusqu'à être parfois chaud dans des communes, alors que tout le monde a le même but au final » (FDGDON HR1); « Je suis chasseur mais je connais très mal le monde du piégeage. [...] Le milieu des piégeurs et la FDC ne travaillent pas trop ensemble, hélas » (FDC FR). Ces aspects relationnels peuvent influencer le fonctionnement local du dispositif et l'organisation pratique de la surveillance. Par ailleurs, les éleveurs attendent une participation active des acteurs cynégétiques, mais méconnaissent parfois leurs missions et contraintes: « Certains éleveurs pensent qu'on a le droit de piéger le Blaireau n'importe comment, mais qu'on ne piège pas parce qu'on n'a pas envie, ils ne sont pas forcément bien informés sur le fait qu'on n'a pas le droit. Les

gens n'ont pas conscience que quand il faut qu'on piège on intervient sur une demande de l'administration » (LL HR2).

#### L'animation, une activité indispensable mais chronophage

Plusieurs LL ont mentionné la lourdeur de la tâche d'animation des piégeurs et du cadre réglementaire complexe: « Ça devient un travail à temps plein du matin ou soir pendant quelques mois, ça devient un peu lourd. J'ai parfois du mal à tout faire » (LL HR2). La charge d'animation est également ressentie par les techniciens des DDecPP dans les départements de HR notamment: « Je n'ai pas que Sylvatub, c'est venu se greffer. Si on met notre doigt là-dedans, c'est beaucoup de boulot, mais le boulot ce n'est pas l'administratif en lui-même c'est la présence sur le terrain; il y a vraiment une dimension humaine » (DDPP HR1).

## Discussion

L'évaluation d'un dispositif comme Sylvatub est nécessaire, car la persistance d'animaux sauvages infectés peut nuire à l'éradication de la TB en élevage bovin, comme cela a été observé dans certains pays (Gortazar *et al.*, 2012). Dans ce cadre, la prise en compte de facteurs comportementaux et psychosociaux est importante, notamment pour comprendre les déterminants de la (non) déclaration de suspicions et l'acceptabilité des mesures de surveillance, déterminant leur durabilité. Pour cela, la méthode d'investigation par entretiens semi-directifs a été choisie car elle est flexible, autorise une importante liberté de réponse et permet de guider la discussion autour de thèmes préalablement définis (Becker, 2002) (dans notre étude, ces thèmes ont été définis suite à un premier entretien exploratoire avec l'animateur national du dispositif, la vétérinaire de la FNC en charge des dossiers sanitaires et le coordonnateur régional TB pour la région Occitanie et Pyrénées-Atlantiques/Landes).

Le nombre prévisionnel d'entretiens n'a pas été atteint, mais cela a *a priori* peu d'impact sur la qualité des résultats. En effet, l'analyse étant qualitative, le nombre d'entretiens dépend de la diversité des personnes et des situations investiguées (Guest *et al.*, 2006). Certaines personnes avaient par ailleurs plusieurs compétences, ce qui a permis d'aborder plusieurs thématiques au cours d'un même entretien et donc d'en réduire le nombre. Les départements de chaque niveau de risque ont été choisis en fonction de contraintes pratiques, et n'avaient pas connu de changement de niveau de risque depuis la mise en place du dispositif Sylvatub. Or, la motivation des acteurs est susceptible d'évoluer dans le temps, notamment au regard de l'évolution du niveau de risque: il pourrait être intéressant de prendre en compte l'influence de facteurs temporels dans une future étude.

L'étude sociologique du réseau d'acteurs a permis de mettre en évidence des éléments importants à prendre en compte pour le maintien de leur motivation et permettant d'émettre des recommandations pratiques pour assurer la durabilité du dispositif:

- Le dispositif semble être perçu comme **utile**, voire comme nécessaire, par la majorité des acteurs. Les attentes semblent globalement bien perçues et comprises. Des réunions régulières avec les acteurs impliqués dans la surveillance aux échelles locale, régionale, nationale doivent être maintenues pour identifier des évolutions dans leurs perceptions et attentes.
- De nombreuses **contraintes** pratiques et réglementaires ont été mentionnées, en partie compensées par le sentiment d'utilité. Toutefois, ces contraintes peuvent démobiliser les acteurs si leurs efforts ne sont pas suffisamment reconnus, ou si elles deviennent supérieures aux bénéfices perçus de la surveillance, notamment dans le cas où ces acteurs volontaires peuvent continuer à exercer leur activité de chasse en dehors du dispositif Sylvatub.
- Ainsi, une **reconnaissance** du travail effectué par les acteurs est essentielle à maintenir et développer, sous forme d'une indemnisation, d'un renforcement de la communication sur les

résultats de la surveillance et/ou sur leur implication dans celle-ci auprès des éleveurs et du grand public par exemple: « Pour les piégeurs c'est important qu'on informe les éleveurs de leur travail, le volume de piégeage que ça représente, le nombre de personnes qui y ont participé, les kilomètres parcourus ça en jette aussi. Ça jouerait sur la fidélité des piégeurs et leur motivation » (FDGDON HR1). Les acteurs cynégétiques sont demandeurs de réunions d'informations locales et de l'amélioration de la diffusion du bulletin Sylvatub (méconnu par la plupart des acteurs locaux): « Je reçois tous les résultats de labo mais j'aimerais bien avoir des retours sur ce qui se passe dans les autres départements. Avoir des informations Sylvatub dans les autres départements, c'est difficile » (FDC FR); « J'ai senti un manque de communication sur les résultats. Pour que les choses marchent bien, c'est du contact verbal, c'est appeler, on vous remercie, etc. Ils ne veulent pas des félicitations mais de l'information » (FDC MR). Si cette reconnaissance était insuffisante pour maintenir l'implication des acteurs sur le long terme, il pourrait être envisagé, par exemple, de recruter des piégeurs professionnels.

- Les acteurs cynégétiques attendent une plus forte **implication de la population agricole**, notamment pour la surveillance des blaireaux au sein de leur propre élevage, ce qui économiserait du temps de déplacement pour les piégeurs. Ce manque d'implication est parfois interprété comme une peur des conséquences: « C'est vrai que si on trouve un blaireau positif, les éleveurs auront des contrôles. C'est un problème et une contrainte ce contrôle de troupeau, ça leur fait peur, et c'est peut-être pour ça qu'ils ne veulent pas nous dire s'ils voient des blaireaux » (LL HR1).
- L'**animation locale** par les LL, les FDC et les DDecPP est une activité chronophage mais essentielle pour assurer l'implication et la motivation des acteurs à termes. Le bon fonctionnement du réseau et la bonne entente relationnelle entre catégories d'acteurs sont ainsi fondamentaux pour l'efficacité de la surveillance. Cela est notamment le cas pour l'animation de l'activité de piégeage dans les départements de HR, et pour l'activité d'examen de carcasse dans les départements de FR, où les acteurs peuvent être moins sensibilisés à la problématique tuberculose: « J'ai un rôle explicatif: mon rôle est d'expliquer aux chasseurs qu'il est important de bien faire l'examen initial et d'être réactif. Le souci c'est de faire comprendre qu'il faut qu'ils parlent des problèmes qu'ils rencontrent sur l'examen de la venaison, ça ne doit pas être une source d'emmerdes pour eux, plutôt un apport positif » (FDC FR). En effet, la situation locale vis-à-vis de la TB est un facteur influençant fortement l'acceptabilité du dispositif, comme l'illustrent ces deux citations d'acteurs issus

de départements de différents niveaux de risque, facteur sur lequel il est toutefois difficile d'agir concrètement: « Le problème c'est le maintien de la motivation et de la vigilance; le problème c'est que pour l'instant il n'y a pas de répercussion dans le département » (FDC FR); « Dans cette zone on est tout proche d'un éleveur concerné par la tub, donc les gens sont sensibilisés » (LL HR2).

Enfin, certains acteurs ont fait part d'une inquiétude quant à l'avenir de la surveillance et de la lutte contre la TB, dans la faune sauvage et de manière générale: « C'est une population bénévole, vieillissante, la relève n'est pas forcément là avec ce que la société actuelle nous offre en termes de loisirs. Certains disent que la TB on en a encore jusqu'en 2035 mais je ne sais pas qui restera dans les rangs à ce moment-là; c'est long comme échéance » (DDPP HR2).

## Remerciements

Les auteurs remercient tous les acteurs ayant accepté de participer à cette étude (chasseurs, techniciens de FDC, piégeurs, lieutenants de louveterie, agents de l'ONCFS et des DDecPP), ainsi qu'Eric Durand, qui a effectué la collecte des informations qualitatives sur le terrain.

## Références bibliographiques

- Becker, H.S., 2002. « Les ficelles du métier: comment conduire sa recherche en sciences sociales. » Ed. Repères. La Découverte, 360 p.
- Durand, E., 2015. « Analyse du réseau des acteurs du dispositif Sylvatub dans quatre départements du Sud-Ouest » Mémoire PAGERS (Master Politiques Publiques et Gouvernements Comparés, parcours « Politique de l'Alimentation et Gestion des Risques Sanitaires »), ENSV, 60 p.
- Gortazar, C., Delahay, R.J., McDonald, R.A., Boadella, M., Wilson, G.J., Gavier-Widen, D., Acevedo, P., 2012. « The status of tuberculosis in European wild mammals. » *Mamm. Rev.* 42(3): 193–206.
- Guest, G., Bunce, A., Johnson, L., 2006. « How many interviews are enough? An experiment with data saturation and variability. » *Field Methods.* 18, 59–82.
- Lhubert, M., Réveillaud, E., Cavalerie, L., Hendriks, P., Rivière, J., 2015. « Evaluation du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage en France à l'aide de la méthode Oasis « Flash » et recommandations. » *Epidemiol. et santé anim.* 68, 105–119.
- Note de service DGAL/SDSPA/N2011-8214 du 20 septembre 2011 relative à la surveillance épidémiologique de la tuberculose dans la faune sauvage en France: réseau Sylvatub. 39 p.
- Rivière, J., Le Strat, Y., Dufour, B., Hendriks, P., 2015. « Sensitivity of bovine tuberculosis surveillance in wildlife in France: a scenario tree approach. » *PLoS ONE* 10(10); e0141884. doi:10.1371/journal.pone.0141884.

# Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Avril 2019

## Niveaux d'infestation par les Anisakidae chez sept espèces de poisson prélevées au stade de la distribution en France

Mélanie Gay<sup>(1)\*</sup>, Renaud Lailier<sup>(2)</sup>, Odile Bourgau<sup>(1)</sup>, Laurence Rudloff<sup>(3)</sup>, Solène Guillotteau<sup>(3)</sup>, Graziella Midelet<sup>(1)</sup>

Auteur correspondant: melanie.gay@anses.fr

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, unité bactériologie et parasitologie des produits de la pêche et de l'aquaculture, Boulogne-sur-Mer, France

(2) Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons-Alfort, France

(3) Direction générale de l'alimentation, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris, France

### Résumé

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

### Mots-clés:

Surveillance, Anisakidae, produits de la pêche, prévalence, méthodes de détection

### Abstract

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

*Nematodes belonging to the Anisakidae family are present, at the larval stage, in numerous fish and cephalopod species that are frequently consumed in France. These parasites may induce digestive disorders and/or allergic reactions in humans following the consumption of infested seafood products. The objective of the 2017 surveillance programme was to estimate Anisakidae infestation levels in seafood at the retail stage, irrespective of the type of product, and thus to assess consumer exposure. These infestation levels were determined with non-invasive detection methods (used by seafood professionals) and with an invasive and exhaustive detection method, followed by comparison of the methods. Seven commercially important fish species were selected and 205 samples were analysed. Infestation prevalence rates varied between 29% (saithe) and 88% (whiting), and were significantly different between fish species. Saithe displayed the lowest mean and maximum parasitic burden values (4 and 16), and hake the highest (132 and more than 906). Fish flanks were significantly more infested than fillets. The identified parasites mainly belonged to the species *Anisakis simplex*.*

### Keywords:

*Surveillance, Anisakidae, seafood, prevalence, detection methods*

Les nématodes de la famille des Anisakidae ont été décrits chez plus de 200 espèces de poissons au stade larvaire (Mattiucci and Nascetti 2008). Ces parasites ont un cycle de vie<sup>(1)</sup> impliquant plusieurs hôtes, dont un crustacé en tant qu'hôte intermédiaire, un ou plusieurs poissons ou céphalopodes en tant qu'hôte paraténique et soit un mammifère marin, soit un oiseau piscivore en tant qu'hôte définitif (EFSA 2010). Ces parasites peuvent induire des pathologies digestives et/ou allergiques chez l'Homme suite à la consommation de produits de la pêche infestés (Audicana and Kennedy 2008). En 2018, Yera *et al.* ont réalisé une étude rétrospective pour recenser les cas d'anisakidose en France entre 2010 et 2014 (Yera *et al.* 2018). L'incidence obtenue était de 3,8 cas par an pour les pathologies digestives et 7,4 cas par an en incluant les pathologies allergiques. Ces auteurs indiquaient que l'incidence des cas digestifs avait diminué par rapport à une précédente étude (Hubert, Bacou, and Belveze 1989). En revanche, ils recensaient, pour la première fois en France, des cas d'anisakidose allergique et concluaient sur la nécessité de mettre en place en France une meilleure évaluation du risque lié à ces parasites. À l'échelle mondiale, plus de 2000 cas humains d'anisakidose sont diagnostiqués chaque année. Ce chiffre est sous-estimé du fait que la plupart des cas d'infestation ou de réaction allergique ne font pas l'objet d'un diagnostic.

Récemment, plusieurs programmes de recherche ont été menés pour évaluer la répartition de ces parasites dans les produits de la pêche consommés en France ou en Europe. Dans le cadre du programme national Fish-Parasites (ANR-10-ALIA-004), 1768 poissons appartenant à 18 espèces ont été analysés (Gay, 2018, Communication personnelle). Par ailleurs, le programme PARASITE (7<sup>ème</sup> PCRD, GA no. 312068) a permis l'analyse de 17760 poissons appartenant à 16 espèces. Dans les deux programmes, des espèces d'importance économique ont été sélectionnées. Les données de prévalence et de nombres de parasites ont été relevées par organe infesté. Elles ont été analysées de façon à mettre en évidence l'influence de facteurs externes (lieu et date de pêche, espèce et taille de poisson) et internes (localisation des parasites dans le poisson et espèces de parasites). Dans les deux cas, des prévalences (proportion d'individus infestés par rapport aux individus analysés) élevées ont été observées. Ces parasites sont majoritairement répartis dans les viscères des poissons, mais ils peuvent également être présents dans les filets. Ces études épidémiologiques ont été menées le plus en amont possible de la filière de transformation des produits de la pêche (participation à des campagnes de pêche scientifiques, achat direct aux pêcheurs). Ces données ont fourni une vision des niveaux d'infestation des produits de la pêche avant transformation et tri.

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

L'objectif du plan de surveillance 2017 était d'estimer la prévalence du parasitisme par les Anisakidae et de déterminer le nombre de parasites, pour des poissons mis sur le marché, quelle que soit leur présentation au consommateur final, et par conséquent, d'évaluer l'exposition du consommateur. L'efficacité de deux méthodes de détection non

destructives (œil nu ou table de mirage) a été comparée à celle d'une méthode destructive et considérée comme exhaustive (méthode de la presse hydraulique et lecture sous lumière UV). Selon leur prévalence pour les Anisakidae dans les filets (programme Fish-Parasites), sept espèces de poissons couramment consommées en France ont été sélectionnées et prélevées au stade de la distribution. Dans un premier temps, les résultats de prévalence et de nombres de parasites ont été décrits dans cet article pour présenter l'exposition potentielle du consommateur, puis l'efficacité des méthodes de détection mises en œuvre par les professionnels de la filière a été évaluée et discutée.

## Matériel & Méthodes

### Échantillonnage

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

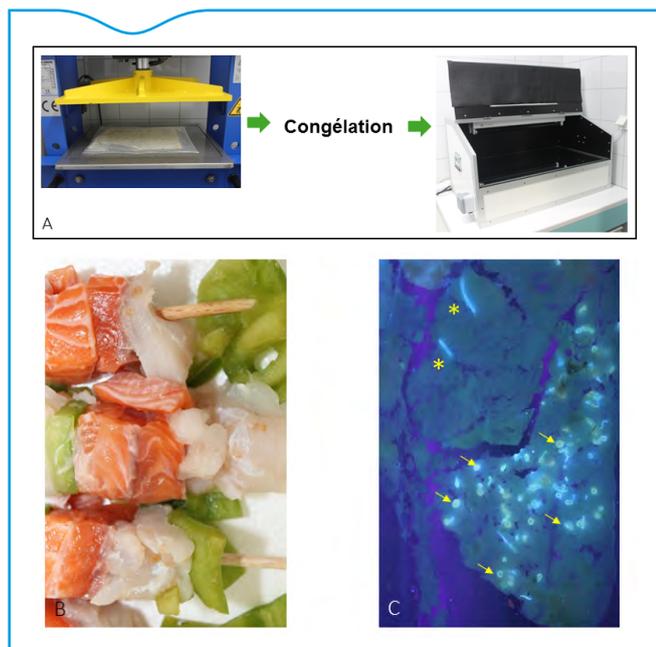
### Biométrie et analyse des échantillons

Chaque prélèvement était pesé et mesuré. Les poissons entiers ont été filetés à la main. Les viscères des poissons non éviscérés et les cavités générales des poissons éviscérés ont été observés à l'œil nu puis sous lumière UV après passage à la presse. Les filets, darnes, queues et dos ont été observés à l'œil nu, puis sur table de mirage puis sous lumière UV après passage à la presse. Afin de permettre une étude comparative, les comptages étaient indépendants pour chacune des méthodes de détection. Les parasites observés étaient dénombrés mais n'étaient pas prélevés et conservés dans le produit pour leur détection par les différentes méthodes mises en œuvre successivement sur chaque échantillon. Les observations non destructives (à l'œil nu et sur table de mirage) reflétaient les pratiques des professionnels de la filière, alors que la méthode dite « presse/UV » (méthode de la presse hydraulique et lecture sous lumière UV, Figure 1) permettait d'obtenir une meilleure sensibilité (Gómez-Morales *et al.* 2018).

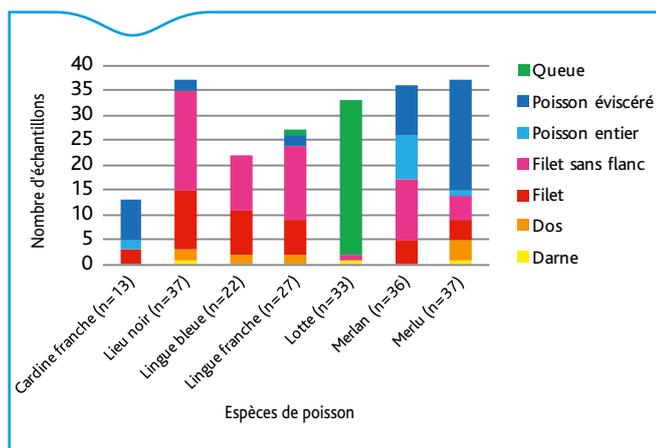
### Méthode de la presse hydraulique et lumière UV

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

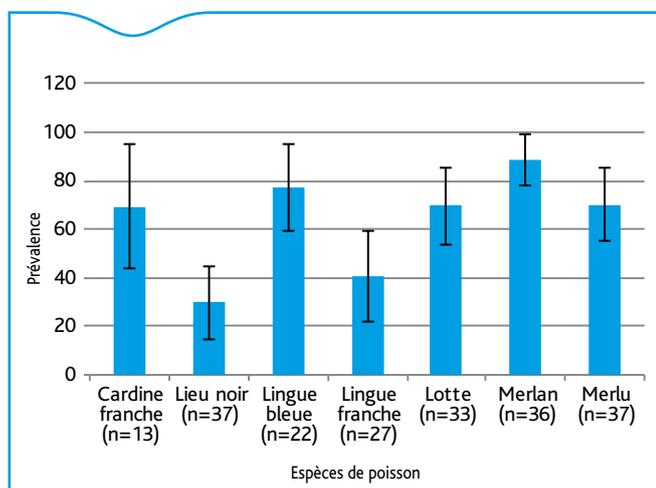
(1) <https://www.cdc.gov/parasites/anisakiasis/biology.html>



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



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



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

## Descripteurs parasitologiques (Bush et al. 1997)

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

## Identification moléculaire

Un maximum de cinq parasites par échantillon a été prélevé pour réaliser une identification moléculaire du parasite au niveau de l'espèce. L'ADN des parasites prélevés a été extrait avec le kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, USA) selon les instructions du fabricant. L'ADN était conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à utilisation. Une méthode de PCR en temps réel ciblant un fragment du gène *cox2* et spécifique de l'espèce *Anisakis simplex* a été appliquée à tous les échantillons (Paoletti et al. 2017). Une méthode de PCR en point final (Valentini et al. 2006) ciblant un fragment du gène *cox2* suivi d'un séquençage Sanger a été appliquée aux échantillons négatifs par PCR en temps réel. Les séquences obtenues ont été comparées par Blast avec celles présentes dans Genbank et disponibles pour les membres de la famille des Anisakidae.

## Analyse statistique

L'indépendance de la répartition des échantillons infectés et de l'espèce de poisson échantillonnée a été testée par un test du Chi<sup>2</sup>. Les prévalences observées pour l'ensemble des espèces étudiées ont été comparées par régression logistique, avec comme référence la prévalence moyenne observée pour l'ensemble des échantillons.

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

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

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

## Résultats

### Échantillonnage

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

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

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

sans flanc (64, nommés « filets sans flanc »). Le type de prélèvement variait selon l'espèce et réciproquement. Pour les échantillons de lotte, des queues ont été quasi-exclusivement analysées et quasiment toutes les queues prélevées étaient des queues de lotte.

### Niveaux d'infestation

La méthode de la presse/UV est considérée comme la méthode de référence pour cette étude car exhaustive (Gómez-Morales *et al.*, 2018). Les résultats de prévalence (Tableau 1, Figure 3) obtenus par la méthode de la presse/UV variaient entre 29,7 % (lieu noir) et 88,9 % (merlan). Les prévalences chez les différentes espèces de poisson étaient significativement différentes (test du Chi<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ). Les espèces merlan, langue bleue, merlu et lotte présentaient des prévalences significativement plus élevées que l'espèce lieu noir (régression logistique,  $p < 0,05$ ; Figure 4).

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

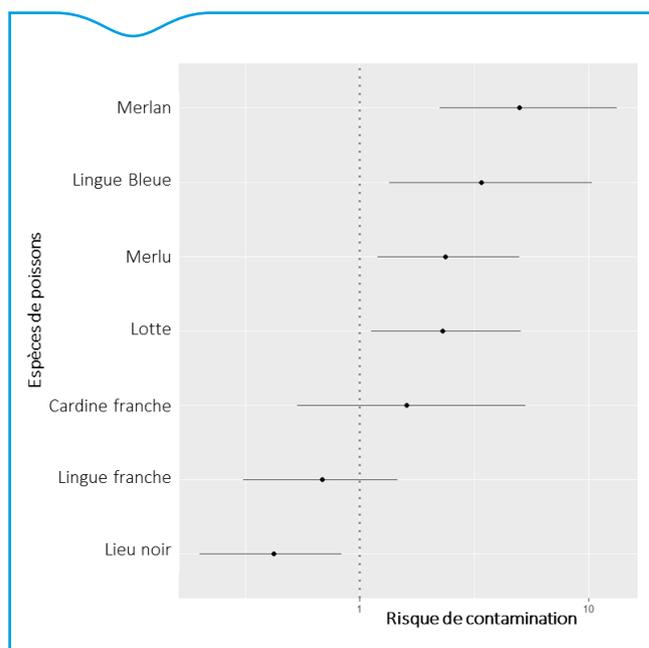
### Comparaison des niveaux d'infestation des flancs et des filets

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

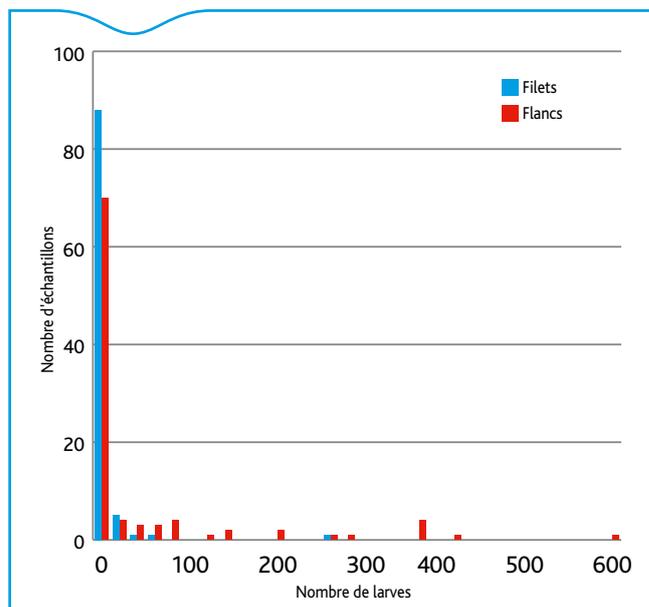
Parmi ces 96 échantillons analysés, 90 % de filets ont révélé au maximum 10 larves et 83 % des flancs analysés ont révélé au maximum 70 larves. Le filet le plus contaminé présentait 261 larves et le flanc le plus contaminé présentait plus de 600 larves. La détection de larves dans les flancs était positivement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

### Comparaison des méthodes de détection

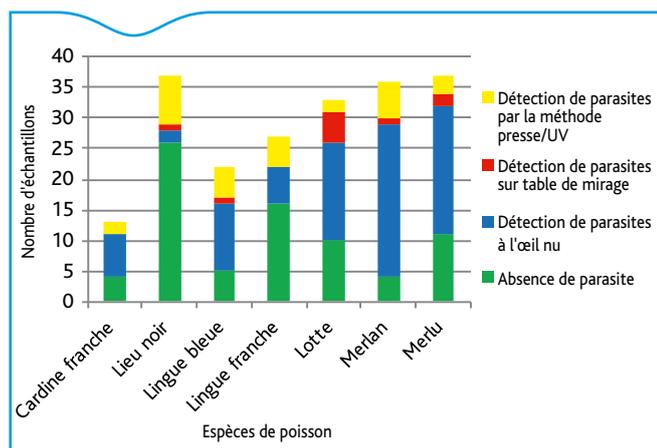
Sur les 205 échantillons analysés, la présence d'Anisakidae a été détectée dans 42,9 % (IC95-[36,0-49,8 %]) par observation à l'œil nu,



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



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

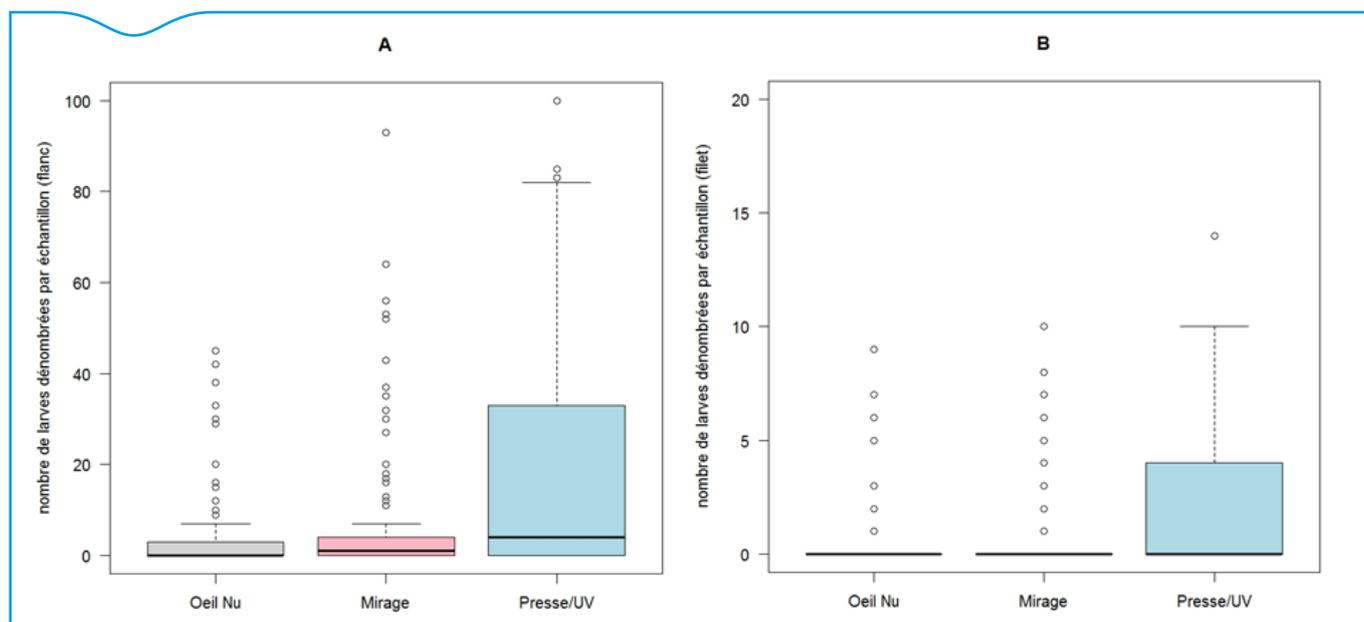


**Figure 6.** Répartition des échantillons en fonction de l'espèce de poisson et de la détection d'Anisakidae selon les 3 méthodes (œil nu, table de mirage et presse/UV)

dans 47,8 % (IC95-[-40,8-54,8 %]) par observation sur table de mirage et dans 62,9 % (IC95-[-56,2-69,7 %]) par observation par la méthode presse/UV.

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

Au regard des nombres de parasites observés pour les 96 échantillons présentant à la fois des filets et flancs (poissons entiers, éviscérés et filets), une différence significative entre les 3 méthodes a été constatée pour détecter les larves dans les flancs (A) ou les filets (B) (test de Friedman,  $p < 0,001$ , Figure 7). Cette différence s'explique pour les flancs comme pour les filets par une meilleure performance de la méthode Presse/UV face aux deux autres méthodes (test de Wilcoxon,  $p < 0,001$ ).



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

Au contraire, bien que le nombre de larves détectées par la méthode mirage soit supérieur à celui détecté par la méthode œil nu, la capacité des méthodes œil nu et mirage à détecter les larves dans les filets d'une part et les flancs d'autre part, n'apparaît pas significativement différente (test de Wilcoxon,  $p > 0,05$ ).

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

### Identification moléculaire des parasites

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

### Discussion

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

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

pour la cardine franche a été inférieur aux prévisions. Cependant, selon les données de FranceAgrimer<sup>(2)</sup> et de SeaWeb Europe<sup>(3)</sup>, comparativement aux autres espèces échantillonnées, cette espèce est moins commercialisée en France. De même, la diversité des types de prélèvements (l'instruction technique ne précisait que le stade de la mise sur le marché) a reflété le marché français (poissons commercialisés entiers, éviscérés, en filets avec ou sans flanc).

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

Les échantillons ont été systématiquement analysés selon trois méthodes de détection, l'œil nu, la table de mirage et la méthode de la presse/UV. Les parasites observés par une des 2 méthodes non destructrices ont été systématiquement observés par la méthode de la presse/UV. Ceci est cohérent avec les résultats des essais inter-laboratoires de validation qui ont montré une meilleure sensibilité de cette méthode (Gómez-Morales *et al.*, 2018). Les résultats obtenus montrent que les observations non destructrices ne permettent pas d'éliminer totalement le risque lié à la présence de ces parasites. Cependant, sur 129 échantillons infestés, la présence de parasites a pu être détectée pour 98 d'entre eux par observation à l'œil nu ou sur table de mirage. Les 31 échantillons pour lesquels la présence de parasites n'a été détectée que par la méthode de la presse/UV présentaient des nombres de parasites faibles (toujours inférieures à 10 sauf pour 3 échantillons). L'efficacité de la table de mirage et/ou de l'observation à l'œil nu a été évaluée précédemment (Levsen, Lunestad, and Berland 2005). Elle est dépendante de la nature du produit (chair colorée ou pas), de son épaisseur et de l'œil du manipulateur. La proportion d'échantillons infestés détectés à l'œil nu était variable en fonction de l'espèce mais pas forcément proportionnelle au nombre de larves détectées dans l'échantillon. Cela était probablement dû à l'épaisseur, la texture et la couleur des échantillons. En effet, les filets de merlan étaient généralement moins épais et plus translucides que ceux d'autres espèces, facilitant ainsi la détection des larves.

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

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

(3) <http://www.guidedesespèces.org/fr>

## Recommandations aux opérateurs et aux contrôles officiels

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

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

## Conclusion

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

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

## Remerciements

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

## Références bibliographiques

Angot, V. 1993. "Infestation de sept poissons de consommation courante par des larves de nématodes Anisakidés; efficacité des méthodes de filetage. Conséquences sanitaires et prophylactiques." Thèse pour le doctorat d'université en biologie, parasitologie, Faculté de médecine et de pharmacie.

- Audicana, M. T., and M. W. Kennedy. 2008. "Anisakis simplex: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity." *Clin Microbiol Rev* 21 (2):360-379. doi: 21/2/360 [pii]10.1128/CMR.00012-07.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz, and A. W. Shostak. 1997. "Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited." *J Parasitol* 83 (4):575-583.
- Chord-Auger, S. 1994. "De l'état du poissonnier au cabinet du médecin, enquête épidémiologique, incidence clinique, approche immunologique." Thèse d'état de docteur en médecine, biologie médicale, Faculté de médecine.
- EFSA. 2010. "Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products." *EFSA Journal* 8 (4):1543 (91 pp.). doi: doi:10.2903/j.efsa.2010.1543.
- Gómez-Morales, M. A., C. M. Castro, M. Lalle, R. Fernández, P. Pezzotti, E. Abollo, E. Pozio, and ring trial beta-testing participants. 2018. "UV-press method versus artificial digestion method to detect Anisakidae L3 in fish fillets: Comparative study and suitability for the industry." *Fish Res* 202:22-28. doi: 10.1016/j.fishres.2016.12.011.
- Hubert, B., J. Bacou, and H. Belveze. 1989. "Epidemiology of human anisakiasis: incidence and sources in France." *Am J Trop Med Hyg* 40 (3):301-3.
- Klapper, R., T. Kuhn, J. Munster, A. Levsen, H. Karl, and S. Klimpel. 2015. "Anisakid nematodes in beaked redfish (*Sebastes mentella*) from three fishing grounds in the North Atlantic, with special notes on distribution in the fish musculature." *Vet Parasitol* 207 (1-2):72-80. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.11.017.
- Levsen, A., B. T. Lunestad, and B. Berland. 2005. "Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish." *J Food Prot* 68 (4):828-832.
- Levsen, A., C. S. Svanevik, P. Cipriani, S. Mattiucci, M. Gay, L. C. Hastie, G. J. Pierce, I. Bušelić, I. Mladineo, H. Karl, U. Ostermeyer, K. Buchmann, D. P. Højgaard, A. F. González, and S. Pascual. 2018. "A survey of zoonotic nematodes of commercial key fish species from major European fishing grounds - introducing the FP7 PARASITE exposure assessment study." *Fish Res* 202:4-21.
- Levsen, Arne, and Bjørn Tore Lunestad. 2010. "Anisakis simplex third stage larvae in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.), with emphasis on larval distribution in the flesh." *Vet Parasitol* 171 (3-4):247-253.
- Mattiucci, S., V. Farina, N. Campbell, K. MacKenzie, P. Ramos, A. L. Pinto, P. Abauza, and G. Nascetti. 2008. "Anisakis spp. larvae (Nematoda: Anisakidae) from Atlantic horse mackerel: Their genetic identification and use as biological tags for host stock characterization." *Fish Res* 89 (2):146-151.
- Mattiucci, S., and G. Nascetti. 2008. "Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes." *Adv Parasitol* 66:47-148. doi: S0065-308X(08)00202-9 [pii]10.1016/S0065-308X(08)00202-9.
- Paoletti, M., S. Mattiucci, A. Colantoni, A. Levsen, M. Gay, and G. Nascetti. 2017. "Species-specific Real Time-PCR primers/probe systems to identify fish parasites of the genera *Anisakis*, *Pseudoterranova* and *Hysterothylacium* (Nematoda: Ascaridoidea)." *Fisheries Research* In Press.
- Parlement européen. 2004. Règlement (CE) N° 853/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.
- Parlement européen. 2005. Règlement (CE) No 2074/2005 de la Commission du 5 décembre 2005 établissant les mesures d'application relatives à certains produits régis par le règlement (CE) no 853/2004 du Parlement européen et du Conseil et à l'organisation des contrôles officiels prévus par les règlements (CE) no 854/2004 du Parlement européen et du Conseil et (CE) no 882/2004 du Parlement européen et du Conseil, portant dérogation au règlement (CE) no 852/2004 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements (CE) no 853/2004 et (CE) no 854/2004.
- Pippy, J. H. C. 1970. "Use of ultraviolet light to find parasitic nematodes *in situ*." *J Fish Res Bd Canada* 27:963-965.
- Pulleiro-Potel, Lorena, Elena Barcala, Elvira Mayo-Hernández, and Pilar Muñoz. 2015. "Survey of anisakids in commercial teleosts from the western Mediterranean Sea: Infection rates and possible effects of environmental and ecological factors." *Food Control* 55:12-17. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.020.
- Valentini, A., S. Mattiucci, P. Bondanelli, S. C. Webb, A. A. Mignucci-Giannone, M. M. Colom-Llavina, and G. Nascetti. 2006. "Genetic relationships among *Anisakis* species (Nematoda: Anisakidae) inferred from mitochondrial Cox2 sequences, and comparison with allozyme data." *J Parasitol* 92 (1):156-166.
- Yera, H., E. Frealle, and J. Dupouy-Camet. 2016. "Molecular confirmation of *Anisakis pegreffii* as a causative agent of anisakidosis in France." *Dig Liver Dis* 48 (8):970. doi: 10.1016/j.dld.2016.04.003.
- Yera, H., E. Frealle, E. Dutoit, and J. Dupouy-Camet. 2018. "A national retrospective survey of anisakidosis in France (2010-2014): decreasing incidence, female predominance, and emerging allergic potential." *Parasite* 25:23. doi: 10.1051/parasite/2018016.

Directeur de publication: Roger Genet

Directeur associé: Patrick Dehaumont

Comité de rédaction: Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Corinne Danan, Benoît Durand, Françoise Gauchard, Pascal Hendrikx, Paul Martin, Elisabeth Repérant, Sylvain Traynard

Rédacteur en chef: Didier Calavas

Rédactrice en chef adjointe: Anne Bronner

Éditeur scientifique: Julien Cauchard

Responsable d'édition: Fabrice Coutureau

Assistante d'édition: Céline Leterq

Anses - www.anses.fr

14 rue Pierre et Marie Curie

94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel: bulletin.epidemie@anses.fr

Conception et réalisation: Parimage

Crédits photos: Anses, Parimage

Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018

