Enquête sur les Nématodes des sardines pêchées dans la région nantaise.

Rapport possible avec les granulomes éosinophiles observés chez l'homme dans la région

par Annie-J. PETTER

[Muséum National d'Histoire Naturelle - Laboratoire de Zoologie (Vers) associé au C.N.R.S.
(Directeur : P^r A.-G. CHABAUD, 57, rue Cuvier, 75 - Paris, 5^e)
et Laboratoire de Parasitologie et Pathologie Exotique de la Faculté de Médecine de Nantes
(P^r C. VERMEIL)
et Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nantes
(P^r J.-P. KERNEIS)]

Résumé

Un certain nombre de cas de granulomes éosinophiles semblables à ceux qui ont été décrits aux Pays-Bas et au Japon ont été observés au cours des quinze dernières années en Bretagne et plus précisément dans la région nantaise. Ceci a laissé supposer qu'ils étaient peut-être provoqués également par la présence de larves d'*Ascarides* de Poissons ; le Poisson responsable pourrait être la sardine [*Sardina pilchardus* (Walbaum)] car celle-ci est fréquemment consommée crue dans la région.

Une enquête portant sur 400 sardines pêchées dans la région en juillet et août montre qu'elles sont parasitées par des larves qui présentent toutes le même type morphologique. Nous donnons une description de ces larves ainsi que des coupes histologiques transversales de différents niveaux. L'ensemble de leurs caractères permet de les placer dans le genre *Thynnascaris* Dollfus 1933 (= *Contracaecum* Railliet et Henry 1912 *pro parte*) tel qu'il a été défini par Hartwich.

Summary

During the last 15 years a number of eosinophilic granulomas similar to those described from the Netherlands (Holland) and Japan have been observed in adults humans from Brittany, especially from the region of Nantes.

Because of the association between Anisakid larvae and eosinophilic granuloma it was assumed that the causative agent was probably an Ascarid larva of fish; furthermore, it was known that sardines [*Sardina pilchardus* (Walbaum)] are sometimes eaten raw by inhabitants of this region.

During July and August 400 sardines were dissected; the collected larva is described and transverse sections at various levels of the larva are given. The morphological characteristics of this larva appear to place it in the genus *Thynnascaris* Dollfus 1933 (= *Contracaecum* Railliet et Henry 1912, pro parte).

Depuis une dizaine d'années, une affection parasitaire, connue sous le nom d'Anisakiase, est signalée dans la littérature. Cette affection, due à la pénétration dans la paroi du tube digestif de l'homme de larves d'Ascarides de Poissons, est connue aux Pays-Bas (Van Thiel, Kuipers et Roskam, 1960, Van Thiel et Van Houten, 1967) et au Japon (Asami et Coll., 1965, Yokogawa et Yoshimura, 1965), pays où les poissons sont fréquemment consommés crus; elle est caractérisée par la formation dans la paroi de l'estomac ou de l'intestin de granulomes éosinophiles renfermant parfois en leur centre une larve, qui, dans les cas où elle a été identifiée, est généralement attribuée au genre *Anisakis*.

Le genre *Anisakis*, Ascaride de la famille des *Anisakidae*, groupe des espèces parasites à l'état adulte de mammifères marins, mais dont les larves sont très fréquentes dans la cavité générale des Poissons et se rencontrent, en particulier, en grande abondance chez les harengs, qui sont couramment consommés crus aux Pays-Bas.

Un certain nombre de cas de granulomes éosinophiles semblables à ceux qui ont été décrits aux Pays-Bas et au Japon ont été observés au cours des quinze dernières années en Bretagne et plus précisément dans la région nantaise (Picard et coll., 1954, Boquien et coll., 1966, Benatre et coll., 1968); ceci a laissé supposer qu'ils étaient peut-être provoqués également par la présence de larves d'Ascarides, bien qu'aucune trace de Nématode n'ait été trouvée dans ces granulomes, soit à l'observation directe, soit sur coupes histologiques.

Dans ces régions, le poisson responsable pourrait être la sardine, car celle-ci est fréquemment consommée crue dans le pays nantais.

En vue d'étayer cette hypothèse, nous avons été chargée par les Laboratoires d'Anatomie Pathologique et de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Nantes, de rechercher les parasites des sardines pêchées dans la région. Notre enquête a porté sur 400 sardines [*Sardina pilchardus* (Walbaum)] pêchées dans la région en juillet et

FIG. 1. — Larves trouvées dans la cavité générale des sardines. A, portion antérieure d'une petite larve, vue latérale. B, région de la jonction œsophago-intestinale d'une grande larve, montrant le ventricule, l'appendice œsophagien et le caecum intestinal. C, tête, vue apicale. D, tête, vue ventrale. E, tête, vue latérale. F, portion de l'ébauche génitale femelle, montrant la vulve visible sous la cuticule et les extrémités des conduits génitaux. G, extrémité postérieure, vue latérale. (A, B : échelle : 200 μ ; C, D, E : échelle : 50 μ ; F : échelle : 150 μ ; G : échelle : 100 μ)

août par les sardiniers du Croisic ; il s'agissait de sardines de très grande taille (20 cm environ). Toutes les sardines sans exception se sont trouvées parasitées par des larves qui présentent toutes le même type morphologique ; certaines hébergent jusqu'à 50 larves, que l'on trouve à la dissection, libres dans la cavité générale, localisées sur les différents organes et sur la paroi interne du corps.

FIG. 2. — Larves trouvées dans la cavité générale des sardines. A, portion de l'ébauche génitale mâle. B, portion de l'ébauche génitale mâle au niveau de sa différenciation en un conduit plus étroit. C, extrémité antérieure d'une grande larve, montrant l'ébauche des lèvres sous la cuticule larvaire. D, extrémité postérieure d'une grande larve, montrant l'ébauche des épines caudales sous la cuticule larvaire du 3^e stade. (A : échelle : 200 μ ; B, D : échelle : 100 μ ; C : échelle : 50 μ)

Ces larves sont longues et fines ; elles mesurent de 4 mm à 18 mm ; leur extrémité antérieure est munie d'une petite dent ventrale ; en vue apicale, on voit qu'il s'agit d'une pièce chitinoïde complexe (fig. 1. C, D, E) se divisant en quatre branches : deux branches latéro-ventrales bordant les côtés de la bouche et deux petites branches

ventrales, l'une formant une petite dent dressée au-dessus de la surface apicale, l'autre formant une spatule appliquée sur la paroi du corps ; le côté dorsal de la bouche est bordé par une pièce indépendante beaucoup moins épaisse ; le pore excréteur est situé au voisinage de l'anneau nerveux ; l'œsophage est muni d'un ventricule ; il existe un caecum intestinal et un appendice œsophagien de tailles à peu près égales ; l'appendice œsophagien est constitué par deux cordons accolés, les deux cordons sont plus nettement séparés l'un de l'autre sur le tiers antérieur et le tiers postérieur de la longueur (fig. 1, A, B) ; la queue se termine par un petit mucron (fig. 1, G) ; l'ébauche génitale est très développée : chez les larves mâles, elle se présente sous forme d'un long cordon ventral ondulé (fig. 2, A) ; on observe vers l'extrémité postérieure une différenciation du cordon en un conduit plus étroit (fig. 2, B) ; chez les larves femelles, l'ébauche génitale forme deux cordons latéro-ventraux parallèles, dont les ondulations sont moins serrées que celles de l'ébauche génitale mâle ; vers leur extrémité antérieure, ces deux cordons décrivent une boucle, puis se différencient en deux courtes ébauches utérines, qui s'unissent en un court conduit impair aboutissant à une vulve non percée, mais bien visible sous la cuticule (fig. 1, F).

Nous donnons les mensurations d'une larve longue de 4 mm : largeur maximum : 180 μ ; anneau nerveux et pore excréteur situés respectivement à 250 μ et 270 μ de l'extrémité antérieure ; longueur de l'œsophage : 700 μ ; longueur du ventricule : 50 μ ; longueur de l'appendice œsophagien : 330 μ ; longueur de caecum intestinal : 300 μ ; longueur de la queue : 125 μ .

Chez une larve mâle de 7 mm, l'extrémité antérieure de l'ébauche génitale débute à 2.800 μ de l'extrémité antérieure et se termine au voisinage de l'anūs.

Chez une larve femelle de 11 mm, l'ébauche vulvaire est située à 5,9 mm de l'extrémité antérieure, et les tubes génitaux se terminent à 2,24 mm de l'extrémité postérieure.

Chez les plus grandes larves, on distingue nettement aux extrémités, sous la cuticule larvaire, les structures du stade suivant : ébauches des trois lèvres à l'extrémité antérieure, et queue munie de petites épines à l'extrémité postérieure (fig. 2, C, D).

Nous avons effectué des coupes histologiques transversales des larves (fig. 4) et nous en reproduisons différents niveaux : ces coupes mettent en évidence la structure du caecum intestinal qui est identique à celle de l'intestin (fig. 4, A), et la structure bilobée de l'appendice œsophagien (fig. 4, B).

Nous avons fait ingérer une dizaine de larves à un jeune Mulet (*Mugil cephalus* L.) long de 4 cm ; celui-ci est mort six jours plus tard et nous avons retrouvé dans l'intestin sept larves vivantes (1), longues de 6 mm à 8 mm, qui avaient toutes effectué une mue et présentaient l'aspect des larves du quatrième stade : la tête (fig. 3, B, C, D), munie de trois lèvres, est séparée du corps par un léger étranglement ; les lèvres sont hexagonales, leur bord antérieur est découpé en quatre lobes arrondis, leurs bords latéraux sont munis d'ailes labiales ; la pulpe envoie vers l'avant deux courts lobes

(1) Une dizaine de jeunes Mulets témoins pêchés à la même époque et au même endroit que celui de notre expérience se sont montrés dépourvus de parasites, il y a donc toute probabilité pour que les larves retrouvées soient celles de notre infestation expérimentale.

FIG. 3. — Larves récoltées chez le Mulet. A, région œsophago-intestinale. B, tête, vue apicale. C, lèvre dorsale. D, tête, vue latérale. E, extrémité postérieure, vue latérale. F, extrémité caudale spinulée. (A, E : échelle : 100 μ ; B, C, D, F : échelle : 50 μ)

rectangulaires ; il existe des interlabia à bord arrondi, dont la longueur atteint le tiers de la longueur des lèvres ; la lèvre dorsale porte deux papilles sub-médianes doubles, les lèvres latéro-ventrales ont chacune une papille sub-médiane double, une papille labiale externe latérale simple et une amphide. Il existe d'étroites ailes latérales qui vont en s'amincissant vers l'arrière et disparaissent complètement vers le tiers antérieur du corps. Comme chez les larves précédentes, le pore excréteur est au niveau de l'anneau

FIG. 4. — Larve de *Thynnascaris*. Sections transversales. (Grossissement : 400). A, section au niveau de l'œsophage et du caecum intestinal. B, section au niveau de l'intestin et de l'appendice œsophagien, montrant la structure bilobée de cet appendice. C, D, sections au niveau de l'intestin. C, sans ébauches génitales. D, avec 2 ébauches génitales femelles

FIG. 5. — Larve d'*Anisakis*. Sections transversales. A, section au niveau de l'œsophage et de l'organe excréteur (grossissement : 400). B, section au niveau du ventricule œsophagien et de l'organe excréteur (grossissement : 400). C, D, sections au niveau de l'intestin et de l'organe excréteur. C, section antérieure. D, section postérieure (grossissement : 250)

nerveux. Le ventricule (fig. 3, A), l'appendice œsophagien, le caecum intestinal et l'ébauche génitale ont le même aspect que chez les larves précédentes. L'extrémité postérieure est munie de nombreuses petites épines (fig. 3, E, F).

Nous donnons les mensurations d'une larve longue de 7 mm : largeur maximum : 150 μ ; anneau nerveux et pore excréteur à 200 μ de l'extrémité antérieure ; lèvres longues de 50 μ , interlabia longues de 18 μ ; œsophage long de 850 μ , avec un ventricule de 30 μ et un appendice œsophagien de 450 μ ; caecum intestinal long de 500 μ ; la largeur maximum des ailes latérales est de 20 μ ; la queue est longue de 150 μ .

Des larves semblables à celles que nous avons trouvées chez les sardines ont été signalées à maintes reprises dans la littérature et sont extrêmement fréquentes dans la cavité générale de Poissons variés (2). Ces larves ont été attribuées au genre *Contracaecum*, Railliet et Henry, 1912, genre qui, dans la classification d'Hartwich (1957), a été scindé en deux genres : *Contracaecum* groupant les parasites à l'état adulte d'Oiseaux et de Mammifères marins et *Thynnascaris*, Dollfus, 1933, groupant les parasites à l'état adulte de Poissons téléostéens. La position du pore excréteur au niveau de l'anneau nerveux, la présence d'un caecum intestinal et d'un appendice œsophagien, et la présence d'interlabia, permet de placer nos larves dans le genre *Thynnascaris* tel qu'il a été défini par Hartwich.

Certains auteurs (Markowski, 1933, Punt, 1941, Berland, 1961) attribuent les larves qu'ils ont observées à l'espèce *Thynnascaris aduncum* (Rud.). Bien que nous ayons obtenu dans le mulot de jeunes quatrièmes stades, il nous paraît impossible d'attribuer nos larves à une espèce déterminée avant de connaître les adultes qui parasitent les Poissons carnassiers fréquentant les mêmes régions ; en effet, les différentes espèces de *Thynnascaris* décrites sont extrêmement voisines les unes des autres et en particulier, comme le remarque Stefanski (1936), plusieurs possèdent une extrémité caudale pourvue d'épines.

Les larves trouvées dans les granulomes éosinophiles ont le plus souvent été attribuées au genre *Anisakis*.

Les auteurs hollandais (Van Thiel, Kuipers et Roskam, 1960, Van Thiel, 1962, Van Thiel et Van Houten, 1967) et les auteurs japonais (Yokogawa et Yoshimura, 1965, Asami, Watanuki, Sakai, Imano et Okamoto, 1965) ont pu identifier leurs larves par un certain nombre de caractères qui correspondent au genre *Anisakis* et qu'ils ont vérifiés sur des larves récoltées chez les harengs et les cachalots : pore excréteur au voisinage de la dent ventrale larvaire, absence d'un caecum intestinal et d'un appendice œsophagien, présence d'un ventricule glandulaire bien développé, présence d'un organe excréteur situé le long de l'œsophage, du ventricule et de l'intestin antérieur, forme des chordes latérales en Y (3).

Nous avons nous-même effectué des coupes histologiques de larves d'*Anisakis* trouvées chez des *Merluccius vulgaris* Flem. et vérifié chez celles-ci (fig. 5) la présence

(2) Nous renvoyons pour la bibliographie des différents auteurs qui ont signalé ces larves aux travaux de Stefanski (1936) et de Dollfus (1953).

(3) Van Thiel et Van Houten (1967) signalent comme un caractère d'identification la présence de trois glandes anales ; ce caractère nous semble peu valable pour la détermination du genre car nous pensons que ces glandes existent chez de nombreux Ascarides.

de l'organe excréteur, que nous ne retrouvons pas sur les coupes de larves de *Thynnascaris* ; par contre, les coupes de la région antérieure des larves de *Thynnascaris* se différencient immédiatement de celles d'*Anisakis* par la présence du caecum intestinal au niveau de l'œsophage (fig. 4, A) et de l'appendice œsophagien au niveau de l'intestin (fig. 5, B).

Les coupes de la région postérieure des deux types de larves, où ces organes ne se trouvent plus, se différencient par la forme des chordes latérales : celles-ci ont une section en Y chez les larves d'*Anisakis* (fig. 5), alors qu'elles ont une section rectangulaire chez nos larves de *Thynnascaris* (fig. 4).

Cependant, comme le font remarquer plusieurs auteurs (Van Thiel et Van Houten, 1967, Williams, 1965), il n'est pas certain que toutes les larves qui sont à l'origine des granulomes appartiennent au genre *Anisakis* ; un cas de granulome dû à une larve de *Contracaecum* a d'ailleurs été signalé récemment par Schaum et Müller (1967) ; ces auteurs signalent qu'ils ont identifié le genre d'après les structures de la région orale, œsophagienne et intestinale qui sont visibles sur leurs coupes ; cependant, leur attribution de la larve à une espèce déterminée : *Contracaecum osculatum*, nous semble hasardeuse ; en effet, nous avons vu qu'il était très difficile d'attribuer des larves d'*Ascarides* à une espèce déterminée, décrite sur des spécimens adultes, car des caractères essentiels comme ceux de l'appareil génital mâle et ceux de la structure des lèvres n'existent pas dans les formes larvaires.

Conclusion

Il devient donc de plus en plus probable que les larves d'*Ascarides* parasites de Poissons qui sont à l'origine des granulomes éosinophiles appartiennent à des espèces variables suivant les régions ; dans la région nantaise, les granulomes ne seraient pas dus à des larves d'*Anisakis*, comme aux Pays-Bas et au Japon, mais à des larves de *Thynnascaris*, car les sardines locales, origine vraisemblable de l'affection, hébergent seulement des larves de *Thynnascaris*.

Nous donnons dans cette note une description détaillée de ces larves ; la détermination spécifique précise nous paraît impossible car la réalisation expérimentale du cycle évolutif qui nous permettrait d'étudier les adultes offre de grandes difficultés ; par contre, la comparaison histologique entre nos larves et les adultes trouvés dans les infestations spontanées des Poissons carnassiers de la région nous apportera peut-être une solution plus facile pour déterminer l'espèce rencontrée.

Bibliographie

- ASAMI (K.), WATANUKI (T.), SAKAI (H.), IMANO (H.) et OKAMOTO (R.), 1965. — Two cases of stomach granuloma caused by *Anisakis*-like larval nematodes in Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14 (1), 119-123.

- BÉNATRE (A.), GUNTZ (M.), SIMARD (Ch.), LIEFFRING (J.-J.), BERTRAND (J.), FOREST (J. L.), PELLETIER (G.), 1968. — Le granulome éosinophilique du tube digestif. *Rev. Méd. Tours*, 2, 237-243.
- BERLAND (B.), 1961. — Nématodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia, Bergen*, 2, 1-50.
- BOQUIEN (Y.), KERNEIS (J. P.), MALVY (P.), KROPFF (G.), LENNE (H.), DELUMEAU (G.), LE BODIC (M. F.), LE BODIC (L.), 1966. — Le granulome éosinophile du tube digestif. *Arch. Franç. Mal. App. Dig.*, 55, 977-998.
- DOLLFUS (R. Ph.), 1953. — Aperçu général sur l'histoire naturelle des parasites animaux de la Morue atlanto-arctique *Gadus callarias* L. (= *Morhua* L.). *Encyclopédie biologique*, 43, 423 pp., Paris.
- HARTWICH (G.), 1957. — Zur Systematik der Nematoden - Superfamilie Ascaridoidea. *Zool. Jahrb., Abt. Syst.*, 85, (3), 211-252.
- MARKOWSKI (S.), 1933. — Die Eingeweiderwürmer der Fische des Polnischen Balticums (Trematoda, Cestoda, Nematoda, Acanthocephala). *Arch. Hydr. Icht., Suwalki*, 7, 1-58.
- PICARD (R.), HARDY (M.), KERNEIS (J. P.), 1954. — Les granulomes éosinophiliques du tube digestif. *Arch. Mal. App. Dig.*, 43, 920-937.
- PUNT (A.), 1941. — Recherches sur quelques Nématodes parasites de Poissons de la Mer du Nord. *Mém. (98) Mus. Roy. Hist. Nat. Belgique*, 110 pp.
- SHAUM (E.) et MULLER (W.), 1967. — Die Heterocheilidiasis. Eine infektion des Menschen mit larven von Fish Ascariden. *Dt. Med. Wschr.*, 92, 2230-2233.
- STÉFANSKI (W.), 1936. — Sur les Nématodes parasites des vives « *Trachinus draco* » et des baudroies « *Lophius piscatorius* ». *Bull. Station biologique d'Arcachon*, 33, 59-88.
- THIEL (P. H. van), 1962. — Anisakiasis. *Parasit.*, 52 (suppl.), 16-17.
- THIEL (P. H. van) et HOUTEN (H. van), 1967. — The localization of the herring worm *Anisakis marina* in and outside the human gastro-intestinal wall (with a description of the characteristics of its larval and juvenile stages). *Trop. geogr. Med.*, 19 (1), 56-62.
- THIEL (P. H. van), KUIPERS (F. C.) et ROSKAM (R. Th.), 1960. — A Nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. *Trop. geogr. Med.*, 2, 97-113.
- WILLIAMS (H. H.), 1965. — Roundworms in Fishes and so-called « Herring-worm Disease ». *British Med. J.*, 1, 964-967.
- YOKOGAWA (M.) et YOSHIMURA (H.), 1965. — Anisakis-like larvae causing eosinophilic granulomata in the stomach of man. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 14, (5), 770-773.
-