

Norovirus et huîtres : de la terre à la mer !

Adeline Thomas
Jean-Claude Le Saux
Joanna Ollivier
Haifa Maalouf
Monique Pommepuy
Françoise S. Le Guyader

Ifremer, laboratoire de
microbiologie-LNR,
BP 21105, 44311 Nantes cedex 03,
France
<sleguyad@ifremer.fr>

Résumé. Les coquillages, élevés en zone littorale, peuvent être soumis à de nombreuses sources de contamination. Malgré la diversité des micro-organismes présents dans les fèces humains, les norovirus, agents majeurs de gastro-entérites, sont les pathogènes les plus fréquemment incriminés dans les épidémies liées à la consommation de coquillages contaminés, des huîtres dans la plupart des cas. Ces observations s'expliquent par plusieurs facteurs tels qu'un rejet important de ces virus pendant la période hivernale, leur résistance élevée dans l'environnement, les capacités de filtration des mollusques bivalves et la présence de ligands spécifiques dans les tissus digestifs des huîtres. Les événements impliqués dans la contamination de ces coquillages sont divers : déversement d'eaux usées accidentel, pluies importantes ou rejets directs de virus. Occasionnellement, le non-respect de la réglementation peut entraîner la mise sur le marché de coquillages contaminés. L'analyse de l'ensemble de ces facteurs permettra, à terme, d'améliorer la qualité microbiologique des coquillages et, ainsi, de protéger le consommateur.

Mots clés : norovirus, coquillage, épidémie

Abstract. Human fecal wastes contain a large variety of viruses that can enter the environment through discharge of waste materials from infected individuals. Despite this high diversity introduced into the environment by human fecal pollution, noroviruses have been recognized as the primary cause of disease in association with consumption of contaminated shellfish. To explain bivalve mollusk contamination, several factors including human epidemiology, virus persistence through sewage treatment plant and shellfish uptake may be suggested. Considering different outbreaks described in the literature, the most common route for transmission is accidental contamination after heavy rainfall, when extra loads cause an overflow and release of untreated sewage into the aquatic environment. Outbreak analysis also demonstrates the impact on shellfish consumption of some viral strain transmission and thus their impact on molecular epidemiology, especially for norovirus. To limit shellfish contamination and thus to protect the consumer, the most desirable and effective option is to reduce the viral input.

Key words: norovirus, shellfish, outbreak

Les huîtres sont consommées depuis très longtemps par l'homme et constituent une source reconnue de vitamines, et de minéraux comme le fer et le magnésium. De nos jours, si leurs consommations restent importantes en zone côtière, les huîtres constituent un aliment festif surtout apprécié par les personnes de plus de 50 ans [1].

La conchyliculture, un des principaux secteurs économiques du littoral métropolitain, représente la première

activité aquacole française. En 2008, cette activité représentait un total de 2 970 entreprises distribuées sur l'ensemble du littoral. Notre pays, premier producteur et consommateur européen d'huîtres, représente environ 90 % de la production européenne. Les exportations d'huîtres, majoritairement vers l'Italie, représentent 4 à 8 % de cette production contre 2 % à l'importation (principalement des huîtres en provenance d'Irlande). En 2009, la commercialisation des huîtres a représenté 129 800 tonnes pour une valeur des ventes de 286 millions d'euros (www.FranceAgriMer.fr). Leur mode de production, en

Tirés à part : F.S. Le Guyader

zone littorale soumise à une constante augmentation de la population, favorise le risque de contamination par des micro-organismes d'origine entérique humaine.

L'implication des coquillages dans des épidémies est connue depuis plus d'un siècle, contribuant à la mise en place de normes pour protéger le consommateur et des classements sanitaires pour la gestion des zones de production (règlement 854/2004/EC). Les zones conchylicoles sont classées sur la concentration d'un indicateur bactérien de contamination fécale (*Escherichia coli*) dans la chair des coquillages. Selon les valeurs obtenues dans des échantillons collectés régulièrement, la zone de production peut être classée en zone A (élevage et commercialisation directe autorisée), zone B (élevage autorisé mais commercialisation après traitement de purification) ou zone C (élevage et commercialisation interdite, transformation possible en industrie alimentaire par traitement thermique). Ces critères bactériologiques ont permis de diminuer de façon significative les épidémies d'origine bactérienne, cependant, des épidémies de gastro-entérites virales liées principalement à la consommation des huîtres persistent.

Les virus humains susceptibles de contaminer les coquillages, ou tout autre aliment, sont les virus présentant un cycle de multiplication entérique, et résistant dans l'environnement (virus nus essentiellement). Ces virus, excrétés dans les fèces de malades ou de porteurs sains, sont très variés et appartiennent à plusieurs familles virales (tableau 1).

Globalement, ces virus peuvent être classés en trois catégories :

- les virus des gastro-entérites : calicivirus (norovirus et sapovirus), astrovirus, rotavirus, adénovirus entériques, virus Aichi ;
- les virus des hépatites à transmission féco-orale : virus des hépatites A et E ;
- les virus se multipliant dans l'intestin mais migrant vers d'autres organes comme le système nerveux central : entérovirus.

Des combinaisons virus aliments peuvent être comparées selon différents facteurs comme la gravité et la prévalence de la maladie, la probabilité des expositions, l'impact sur le commerce, les coûts en matière de santé publique et la capacité de maîtriser ces infections d'origine alimentaire. Les risques sanitaires liés à la consommation de mollusques bivalves, légumes frais ou aliments prêts à consommer contaminés par les norovirus et le virus de l'hépatite A, ont été considérés comme prioritaires par de nombreux pays [2]. Mais il convient d'apprécier la valeur des risques : les hépatites A peuvent être graves mais sont rares, alors que les gastro-entérites à norovirus sont fréquentes mais le plus souvent bénignes [3].

Épidémies liées à la consommation d'huîtres

La majorité des épidémies liées à la consommation de coquillage concerne les huîtres et donc seules ces dernières seront considérées ici. L'analyse de ces épidémies est difficile pour de nombreuses raisons :

- sous-déclaration de la part des consommateurs ;
- absence d'analyse virale dans les selles de malade ;
- lien à établir rapidement entre l'aliment et les cas observés.

Seule une étroite collaboration entre les médecins, les épidémiologistes et également les ostréiculteurs permet d'intégrer les différents événements expliquant la présence de virus dans les huîtres consommées. Si l'échantillon impliqué est collecté, les techniques de détection et de quantification des virus dans les coquillages présentent une sensibilité et une spécificité permettant la mise en évidence du virus. Malheureusement, de nombreuses publications concernant ce sujet, présentent uniquement des données épidémiologiques, avec parfois l'analyse des selles des consommateurs [4-6]. Les informations sur les coquillages impliqués sont peu nombreuses et les conditions ayant entraîné la contamination de la zone de production sont rarement décrites (tableau 2). Une des premières études analysant de manière précise les facteurs ayant conduit à la contamination des huîtres concerne une épidémie survenue aux États-Unis en 1993. Cette épidémie toucha des consommateurs d'huîtres en Louisiane et dans cinq autres états. En croisant les diverses informations, toutes les huîtres avaient été élevées dans une même zone de production située en Louisiane. L'enquête montra qu'un ostréiculteur, soudainement malade lorsqu'il travaillait sur ses parcs à huîtres, avait déversé ses excréments par-dessus bord contaminant ainsi ses propres coquillages, récoltés quelques jours plus tard [7]. Considérant la taille de la baie de production, la hauteur d'eau, le volume d'eau journalier filtré par une huître (en moyenne 5 L par heure) et une excrétion d'environ 10^9 particules/g de selle, la démonstration fut faite qu'un seul malade pouvait très facilement expliquer cette contamination massive, d'autant plus que le rejet de fèces était réalisé « directement » sur le site d'élevage [8].

En effet, le plus souvent, la contamination se fait lors d'un problème technique sur le réseau d'assainissement ou dans les stations d'épuration. Le rejet accidentel d'eaux usées peut conduire alors à des contaminations massives des zones de production conchylicole. Ainsi, une même zone de production dans le sud de la France a été impliquée à deux reprises dans des foyers de gastro-entérites suite à des pluies très importantes pendant les premiers

Tableau 1. Principaux virus transmis par les aliments dont les coquillages.

Famille	Genre (nom)	Capside	Génome	Pathologie et incubation	Transmission aliment
<i>Adenoviridae</i>	<i>Adenovirus</i> (type 40-41)	Icosaédrique (65-80 nm)	ADN (35 kb)	Gastro-entérite (modérée)	Rare
<i>Astroviridae</i>	<i>Astrovirus</i>	Icosaédrique (28-30 nm)	ARNsb (6,8 kb)	Gastro-entérite (modérée)	Rare
<i>Caliciviridae</i>	<i>Norovirus</i> , <i>Sapovirus</i>	Icosaédrique (27-32 nm)	ARNsb (7,6 kb)	Gastro-entérite aiguë (1-3 jours)	Fréquente : coquillages, fruits rouges, légumes
<i>Hepeviridae</i>	<i>Hepevirus</i> (virus de l'hépatite E)	Icosaédrique (32-34 nm)	ARNsb (7,2 kb)	Hépatite (3-8 semaines)	Peu fréquente : viandes de porc, coquillages
<i>Picornaviridae</i>	<i>Kobuvirus</i> (virus Aichi)	Icosaédrique (27-32 nm)	ARNsb (8,2 kb)	Gastro-entérite (1-2 jours)	Peu fréquente : coquillages
	<i>Enterovirus</i>	Icosaédrique (20-30 nm)	ARNsb (7,2 kb)	Divers symptômes (3-10 jours)	Rare
	<i>Hepatovirus</i> (virus de l'hépatite A)	Icosaédrique (27-32 nm)	ARNsb (7,4 kb)	Hépatite (2-6 semaines)	Peu fréquente : végétaux, coquillages
<i>Reoviridae</i>	<i>Rotavirus</i>	Icosaédrique, 3 couches (70 nm)	ARNdb, 11 gènes (3,3-0,6 kbp)	Gastro-entérite (1-3 jours)	Rare

mois de l'année. Au cours de cette période de l'année, l'épidémie hivernale de gastro-entérite aiguë sévit dans la population et les eaux usées sont fortement chargées en particules virales. Dès lors, des événements pluviométriques importants occasionnant divers dysfonctionnements sur les réseaux d'assainissement entraînent des rejets pouvant dégrader la qualité sanitaire des coquillages élevés à proximité. Le premier accident, survenu en décembre 2002, a entraîné une contamination massive des coquillages avec de multiples souches de norovirus, retrouvées dans les selles des consommateurs français et italiens (une partie de la production ayant été exportée) [9]. Quatre ans plus tard, 39 foyers épidémiques ont été déclarés associés à la consommation d'huîtres produites dans cette même zone. Certains patients étaient contaminés par six souches de virus différents : norovirus, virus Aichi, astrovirus, rotavirus et entérovirus. Ces mêmes virus étaient retrouvés dans certains lots de coquillages consommés et dans la zone de production. L'enquête environnementale montra que des pluies importantes, jamais observées sur le bassin versant depuis plusieurs dizaines d'années (230 mm sur trois jours), entraînèrent des dysfonctionnements des réseaux d'assainissement collectifs littoraux. Malgré les alertes et les avis donnés, les ostréiculteurs mirent sur le marché des coquillages contaminés [10]. Dans des conditions similaires, une crue du Mississippi dévasta des stations d'épuration et fut probablement à l'origine d'une contamination par le virus de l'hépatite A d'huîtres produites en Louisiane. Dans les semaines suivantes, la consommation de ces huîtres entraîna des cas cliniques dans plusieurs

états [11]. Sans considérer les conséquences économiques liées à la fermeture des zones de production, ces différents exemples montrent l'importance des coquillages dans la transmission de souches virales entre les pays et le risque de multi-infections chez les consommateurs.

Comme indiqué en introduction, des normes sanitaires existent au sein de l'Union européenne et des autres pays producteurs. Ainsi, les huîtres élevées dans des sites de qualité bactériologique médiocre (zones B) sont purifiées avant commercialisation, technique éliminant efficacement les bactéries. Cependant, les virus persistent, ces huîtres sont souvent impliquées dans des épidémies [12, 13]. Par ailleurs, le non-respect de cette réglementation peut également être à l'origine d'épidémies. Ce fut le cas pour des huîtres ré-immérgées dans une zone insalubre en Suède [14] et aussi vraisemblablement au Danemark [15]. Parfois, l'épidémie est liée à la consommation d'huîtres collectées dans des zones interdites (zone C) [16]. Dans un cas documenté en Bretagne, l'ostréiculteur impliqué complétait sa production en achetant illégalement des huîtres pêchées dans une zone insalubre [17]. Ces épidémies illustrent le danger d'outrepasser les règlements et de réfuter l'utilité du classement des zones de production.

Certains coquillages sont commercialisés, le plus souvent congelés, pour subir un traitement thermique dans l'industrie agroalimentaire. Cependant, des procédures de préparation non rigoureuses ont été à l'origine d'épidémies. Par exemple, des palourdes produites et cuites (sans information sur le degré de cuisson) en Chine et exportées congelées aux États-Unis ont entraîné des cas de gastro-entérites

Tableau 2. Exemple d'épidémies liées aux huîtres.

Cause	Pays ^a	Nombre de malade	Virus identifiés		Facteur identifié comme cause de contamination	Références
			Selles	Coquillages		
Accident	États-Unis	132	NoV GI, GII	NoV GI	Rejet bateau	[8]
	France	127	NoV GI, GII	NoV GI, GII	Inondation et débordement de station d'épuration	[9]
Évènement climatique	Italie (France)	202				
	France	205	NoV GI, GII, AIV, AV, EV, RV	NoV GI, GII, AIV, AV, EV, RV	Inondation et débordement de station d'épuration	[10]
	Japon	-	NoV GI	NoV GI et GII	Pêche récréative, zone contaminée	[45]
	Singapour	305	NoV GII	NoV GII	Zone de mauvaise qualité sanitaire	[16]
Non-respect Zone production	Danemark	356	NoV, EV	NoV, EV	Coquillage d'importation, fraude suspectée	[15]
	Suède	30	NoV GI	NoV GI, GII	Retrempage dans zone portuaire	[14]
	France	34	NoV GII, SaV, AIV	NoV GI, GII, SaV	Fraude (zone insalubre)	[17]
	Australie (Japon)	83	NoV GI, GII	NoV GII	Coquillages congelés destinés à la cuisson	[19]
Échec Transformation	Nouvelle-Zélande (Corée)	115	NoV GI, GII	NoV GI, GII	Coquillages congelés destinés à la cuisson	[20]
	États-Unis	177	NoV GII	NoV	Coquillages congelés destinés à la cuisson	[46]
	États-Unis (palourdes – Chine)	5	NoV	NoV GII, VHA	Coquillages congelés destinés à la cuisson	[18]

NoV : norovirus ; AIV : astrovirus ; EV : entérovirus ; RV : rotavirus ; SaV : sapovirus ; G : génogroupes.

^a Pays de survenue de l'épidémie et producteur des coquillages impliqués, sauf mention contraire entre parenthèse indiquant le pays producteur.

[18]. En Australie et en Nouvelle-Zélande, des huîtres importées congelées du Japon ou de Corée ont induit de nombreux cas de gastro-entérites, même après cuisson [19, 20]. Des tellines, importées et congelées du Pérou et cuisinées dans la paella, ont occasionné par deux fois des épidémies d'hépatite A en Espagne [21, 22]. Ces divers exemples montrent l'extrême résistance de ces virus entériques qui restent toujours infectieux après des étapes de cuisson et/ou de congélation.

Les norovirus, agent majeur de gastro-entérites

Le genre *Norovirus* appartient à la famille des *Caliciviridae*. Ces petits virus ronds, non enveloppés, possèdent un génome à ARN d'environ 7 700 bases, comportant trois cadres de lecture (ORF). L'ORF1 code les protéines non structurales, l'ORF2 l'unique protéine de capsid VP1 et l'ORF3 une protéine mineure intervenant dans la stabilité de la capsid [23]. Comme nombre de virus à ARN, les norovirus sont très divers génétiquement et en l'absence de système de multiplication *in vitro*, ils sont classés par comparaison des séquences de l'ORF2 codant la protéine de capsid [24]. À l'heure actuelle, ils sont répartis en cinq génogroupes (G) comprenant au moins 33 génotypes ou clusters (figure 1). Les souches infectant l'homme appartiennent aux GI, II et IV. Depuis quelques années, les souches appartenant au GII sont détectées majoritairement et représentent 70 à 80 % des souches identifiées dans les cas cliniques [25].

La sensibilité à l'infection est liée à deux mécanismes. D'abord, l'immunité protectrice est brève et spécifique du génotype, n'induisant pas de protection croisée [23]. Ensuite, la sensibilité dépend de facteurs génétiques liés aux antigènes des groupes sanguins expliquant la symptomatologie différente observée lors d'études chez les volontaires ou lors d'épidémies. Certaines personnes infectées peuvent excréter du virus sans présenter de symptômes [26]. L'infection et le développement des signes cliniques dépendent de la souche et du groupe sanguin de l'individu, car ces virus reconnaissent les carbohydrates des antigènes tissulaires de type ABH et Lewis, ligands nécessaires à l'infection [27, 28]. Chez les personnes sensibles, la dose infectieuse de quelques particules virales place ces virus parmi les micro-organismes les plus infectieux. Pour la souche Norwalk, prototype du GI, moins de dix particules virales peuvent déclencher l'apparition des symptômes chez les individus sensibles [29].

Première cause de gastro-entérite aiguë chez l'homme toutes classes d'âges confondues, les norovirus sont les principaux responsables du pic hivernal de gastro-entérite

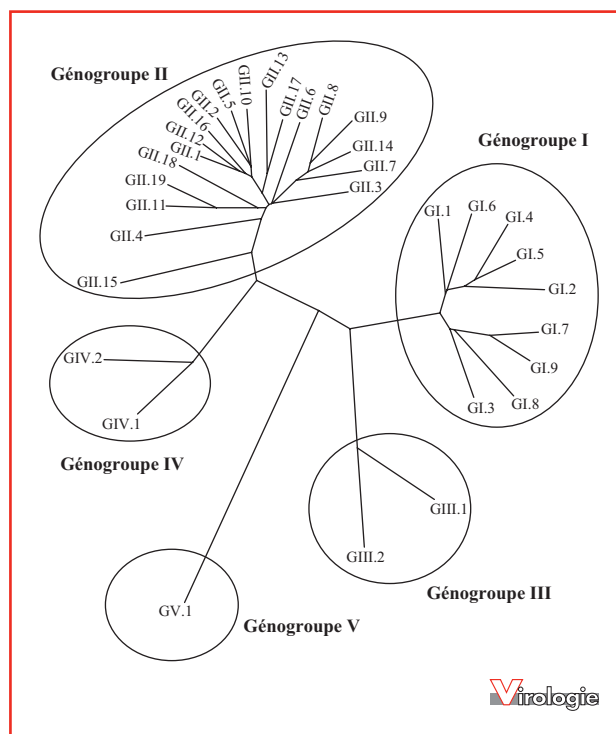


Figure 1. Classification des norovirus en génogroupes et génotypes.

[30]. Les symptômes, relativement mineurs, se caractérisent par le déclenchement soudain d'un ou de plusieurs épisodes de vomissements violents, puis par une diarrhée accompagnée de douleurs abdominales, nausées et, plus rarement, de fièvre [31]. La période d'incubation est relativement brève (12 à 72 heures, en moyenne 24 heures). Les signes cliniques persistent pendant environ deux à quatre jours au plus, mais l'excrétion virale peut se poursuivre pendant quelques semaines après la disparition des symptômes. Par RT-PCR en temps réel, seul outil capable de quantifier ces virus, entre 10^8 et 10^{12} copies d'ARN par gramme de selle ont été dénombrés lors des symptômes, puis entre 10^4 et 10^6 copies d'ARN par gramme de selle pendant environ deux à quatre semaines après la disparition de ceux-ci [26]. Cette excrétion virale élevée et relativement longue, explique la transmission fréquente de personne à personne, mais aussi la contamination possible des aliments lors de leur préparation par des employés apparemment guéris d'une gastro-entérite [3].

Rejet dans l'environnement

Comme présenté ci-dessus, le nombre de particules virales rejetées par la population est très important durant les

épidémies hivernales et les quantités de virus arrivant dans les stations d'épuration peuvent être élevées. Par exemple, tous les échantillons d'eaux en entrée et sortie de station d'épuration ont été trouvés positifs en norovirus aux Pays-Bas et au Japon [32, 33], et environ 80 % en Italie [34]. Malgré la diversité des technologies de traitement des eaux usées et des méthodes de concentration et de quantification des particules virales, les différentes études s'accordent pour montrer un rejet important de particules. Des concentrations de 10^3 à 10^4 et 10^5 à 10^7 copies de génome de norovirus par litre ont été, respectivement, trouvées dans les eaux traitées en période estivale et hivernale [35, 36]. L'élimination lors des traitements épuratoires dépend de divers facteurs, comme les concentrations virales des eaux brutes, de leur temps de séjour, de la température, de la radiation solaire, de l'adsorption et de la destruction enzymatique [37]. De nombreux points inconnus demeurent, car les mécanismes d'épuration sont complexes et difficiles à élucider, particulièrement pour les virus non cultivables. Après rejet, les norovirus s'agrègent entre eux ou sur des particules, ce qui augmente vraisemblablement leur résistance aux différents traitements d'épuration (chlore, UV, ozone). Ces phénomènes expliquent les quantités importantes détectées dans les eaux en sortie de station d'épuration. À l'heure actuelle, seules les stations utilisant un traitement final par ultrafiltration semblent éliminer efficacement ces virus entériques [35, 36].

Dans les eaux de surface, les norovirus sont détectés moins fréquemment en raison de la dilution et/ou des mécanismes de sédimentation. Ils sont retrouvés dans 6 à 50 % des échantillons selon les études avec des concentrations variant entre 10^2 à 10^4 copies de génome de norovirus par litre d'eau [38-40].

Les virus arrivent alors en zones littorales où ils vont éventuellement sédimenter et/ou être dilués. Les conditions physicochimiques (rayonnement solaire, salinité, température, pH de l'eau de mer) ont également un impact sur leur devenir.

Contamination des huîtres

Pour leurs activités physiologiques, les huîtres filtrent de grandes quantités d'eau de mer. La sélection pré-ingestive est une fonction essentielle permettant de rejeter les particules indésirables sous forme de pseudofèces. Le manteau intervient dans la nutrition en participant au premier tri des particules extérieures mais la première étape de sélection, basée sur la taille des particules, s'effectue réellement au niveau des branchies. Les cellules ciliaires et à mucus des branchies attirent, sélectionnent, capturent et conduisent les particules vers les palpes et la bouche. Les particules sélec-

tionnées pour l'ingestion sont acheminées sous l'action de l'épithélium cilié vers les tissus digestifs constitué par l'œsophage, l'estomac et la glande digestive. Ensuite, les débris sont éliminés *via* l'intestin, le rectum et l'anus.

Pendant longtemps, l'huître a été considérée comme simple filtre passif ou piège ionique, concentrant passivement les particules virales par des liaisons non spécifiques. La contamination rapide et surtout la persistance des norovirus dans les huîtres, à la différence des autres micro-organismes, soulevaient l'hypothèse de ligands pouvant expliquer ces observations.

Les premiers travaux réalisés avec des pseudoparticules virales (VLP) du virus de Norwalk (GI) sur des coupes de tissus d'huîtres ont montré une fixation ciblée sur les organes digestifs. Des accumulations en aquarium avec des VLP ou du virus ont confirmé cette distribution [41]. Comme mentionné ci-dessus, chez l'homme, les norovirus reconnaissent les carbohydrates des antigènes des groupes sanguins [28, 42]. Basé sur ces données, différents essais ont été réalisés sur des coupes de tissus d'huîtres en utilisant des salives humaines, des anticorps ou des lectines. Leurs résultats ont montré que la souche Norwalk (GI.1) se fixe sur un ligand type antigène *A-like*, très proche de l'antigène humain [41]. La diversité génétique des norovirus se traduit par leur capacité à se fixer aux antigènes tissulaires de groupes sanguins ce qui induit une différence quant à leur devenir dans les huîtres. En effet, une souche de norovirus GI.4 se fixe sur les branchies et le manteau, *via* un acide sialique en liaison α ,3 tandis que la fixation dans les tissus digestifs implique à la fois l'acide sialique et l'antigène *A-like* humain [43]. Par ailleurs, ces ligands varient selon la saison avec une expression maximale pendant les mois d'hiver et le printemps, favorisant ainsi vraisemblablement la concentration des norovirus par les huîtres [44].

Conclusion

Les agents pathogènes les plus souvent impliqués dans les épidémies liées à la consommation d'huître sont les norovirus. Les méthodes permettant leur détection dans les aliments, dont les coquillages, connaissent un développement important grâce à l'apport des techniques de détection par biologie moléculaire. Dans un futur proche, la standardisation de ces méthodes permettra vraisemblablement la mise en place d'une réglementation spécifique sur les virus entériques impliquant des contrôles ciblés sur les zones de production et/ou les produits mis sur le marché. Cependant, la contamination des huîtres dépend de nombreux facteurs inhérents aux conditions de production, climatiques, épidémiologiques et du coquillage lui-même. Afin de prévenir la

mise sur le marché de coquillages contaminés, il est donc important de comprendre les différents mécanismes entrant dans ces divers phénomènes et de supprimer et/ou limiter les sources de contamination humaine en zone littorale. À terme, la qualité des produits conchylicoles mis sur le marché sera améliorée et la santé du consommateur mieux protégée.

Conflits d'intérêts : aucun.

Références

- Secodip-Ofimer. *Consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture*. Rapport annuel. 2007 : p. 1-107.
- FAO/WHO. Viruses in food: scientific advice to support risk management activities. *Microbiol Risk Assess Ser* 2008 ; 13 : 1-73.
- EFSA . Panel on biological hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of food borne viruses. *EFSA J* 2011 ; 9 : 2190. doi: 10.2903/j.efsa.2011.2190.
- Butt AA, Aldridge KE, Sanders CV. Infections related to the ingest ion of seafood. Part I: viral and bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2004 ; 4 : 201-12.
- Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, *et al.* Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to norovirus in Japan. *J Clin Microbiol* 2004 ; 42 : 2988-95.
- Nakagawa-Okamoto R, Arita-Nishida T, Toda S, *et al.* Detection of multiple sapovirus genotypes and genogroups in oyster-associated outbreaks. *Jpn J Infect Dis* 2009 ; 62 : 63-6.
- Dowell SF, Graves C, Kirkland KB, *et al.* A multistate outbreak of oyster associated gastroenteritis: implications for interstate tracing of contaminated shellfish. *J Infect Dis* 1995 ; 171 : 1497-503.
- Kohn MA, Farley TA, Ando T, *et al.* An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with eating raw oysters. *JAMA* 1995 ; 273 : 466-71.
- Le Guyader FS, Bon F, DeMedici D, *et al.* Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. *J Clin Microbiol* 2006 ; 44 : 3878-82.
- Le Guyader FS, Le Saux JC, Ambert-Balay K, *et al.* Aichi virus, norovirus, astrovirus, enterovirus and rotavirus involved in clinical cases from a French oyster-related gastroenteritis outbreak. *J Clin Microbiol* 2008 ; 46 : 4011-7.
- Mackowiak PA, Caraway CT, Portnoy BL. Oyster-associated hepatitis: lessons from the Louisiana experience. *Am J Epidemiol* 1976 ; 103 : 181-91.
- Lowther JA, Avant JM, Gizysztof K, Rangdale EE, Lees DN. Comparison between quantitative real-time reverse transcription PCR results for norovirus in oysters and shelf-reported gastroenteritis illness in restaurant customers. *J Food Prot* 2010 ; 73 : 305-11.
- Richards GP, McLeod C, Le Guyader FS. Processing strategies to inactivate enteric viruses in shellfish. *Food Environ Virol* 2010 ; 2 : 183-93.
- Nenonen NP, Hannoun C, Olsson MB, Bergstrom T. Molecular analysis of an oyster-related norovirus outbreak. *J Clin Virol* 2009 ; 45 : 105-8.
- Christensen BF, Lees D, Henshilwood K, Bjergskov T, Green J. Human enteric viruses in oysters causing a large outbreak of human food borne infection in 1996/97. *J Shellfish Res* 1998 ; 17 : 1633-5.
- Ng TL, Chan PP, Phua TH, *et al.* Oyster-associated outbreaks of norovirus gastroenteritis in Singapore. *J Infect* 2005 ; 51 : 413-8.
- Le Guyader FS, Kroll J, Ambert-Balay K, *et al.* Comprehensive analysis of a norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol* 2010 ; 48 : 915-20.
- Kingsley DH, Meade GK, Richards GP. Detection of both hepatitis A virus and Norwalk-like virus in imported clams associated with food-borne illness. *Appl Environ Microbiol* 2002 ; 68 : 3914-8.
- Webby RJ, Carville KS, Kirk MD, *et al.* Internationally distributed frozen oyster meat causing multiple outbreaks of norovirus infection in Australia. *Clin Infect Dis* 2007 ; 44 : 1026-31.
- Simmons G, Garbutt C, Hewitt J, Greening G. A New Zealand outbreak of norovirus gastroenteritis linked to the consumption of imported raw Korean oysters. *N Z Med J* 2007 ; 120 : 15-22.
- Sanchez G, Pinto R, Vana clocha H, Bosch A. Molecular characterization of hepatitis A virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak. *J Clin Microbiol* 2002 ; 40 : 4148-55.
- Pinto RM, Costafreda MI, Bosch A. Risk assessment in shellfish-borne outbreaks of hepatitis A. *Appl Environ Microbiol* 2009 ; 75 : 7350-5.
- Atmar RL. Noroviruses: state of the art. *Food Environ Virol* 2010 ; 2 : 117-26.
- Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass R, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006 ; 346 : 312-23.
- Siebenga JJ, Lemey P, Kosakovsky-Pond SL, Rambaut A, Vennema H, Koopmans M. Phylodynamic reconstruction reveals norovirus GII.4 epidemic expansions and their molecular determinants. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000884.
- Atmar RL, Opekum AR, Gilger MA, *et al.* Norwalk virus shedding after experimental human infection. *Emerg Infect Dis* 2008 ; 14 : 1553-7.
- Tan M, Jiang X. Norovirus-host interaction: multi-selections by human histo-blood group antigens. *Trends Microbiol* 2011 ; 19 : 382-8.
- Le Pendu J, Ruvoen-Clouet N, Kindberg E, Svensson L. Mendelian resistance to human norovirus infections. *Semin Immunol* 2006 ; 18 : 375-86.
- Teunis PFM, Moe CL, Liu P, *et al.* Norwalk virus: how infectious is it? *J Med Virol* 2008 ; 80 : 1468-76.
- Lopman B, Armstrong B, Atchison C, Gray JJ. Host, weather and virological factors driven norovirus epidemiology: time-series analysis of laboratory surveillance data in England and Wales. *PLoS One* 2009 ; 4 : e6671.
- Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 1776-85.
- van der Berg H, Lodder W, van der Poel W, Vennema H, de Roda Husman AM. Genetic diversity of noroviruses in raw and treated sewage water. *Res Microbiol* 2005 ; 156 : 532-40.
- Haramoto E, Katayama H, Oguma K, *et al.* Seasonal profiles of human noroviruses and indicator bacteria in a wastewater treatment plant in Tokyo, Japan. *Water Sci Tech* 2006 ; 54 : 301-8.
- La Rosa G, Iaconelli M, Pourshaban M, Muscillo M. Detection and molecular characterization of noroviruses from five sewage treatment plants in central Italy. *Water Res* 2010 ; 44 : 1777-84.
- Simmons FJ, Kuo DHW, Xagorarakis I. Removal of human enteric viruses by a full-scale membrane bioreactor during municipal wastewater processing. *Water Res* 2011 ; 45 : 2739-50.
- Sima LC, Schaeffer J, Le Saux JC, Parnaudeau S, Elimelech M, Le Guyader FS. Calicivirus removal in a membrane bioreactor wastewater treatment plant. *Appl Environ Microbiol* 2011 ; 77 : 5170-7.
- da Silva A, Le Guyader FS, Le Saux JC, Pommepuy M, Montgomery MA, Elimelech M. Norovirus removal and particle association in a waste stabilisation pond. *Environ Sci Technol* 2008 ; 42 : 9151-7.
- Miagostovich MP, Ferreira FFM, Guimaraes FR, *et al.* Molecular detection and characterization of gastroenteritis viruses occurring naturally in the stream waters of Manaus, central Amazonia, Brazil. *Appl Environ Microbiol* 2008 ; 74 : 375-82.

39. Kitajima M, Oka T, Haramoto E, *et al.* Detection and genetic analysis of human sapoviruses in river water in Japan. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76 : 2461-7.
40. Lodder WJ, de Roda Husman AM. Presence of noroviruses and other enteric viruses in sewage and surface waters in the Netherlands. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71 : 1453-61.
41. Le Guyader FS, Loisy F, Atmar RL, *et al.* Norwalk virus specific binding to oyster digestive tissues. *Emerg Infect Dis* 2006; 12 : 931-6.
42. Ruvoen-Clouet N, Le Pendu J. Fixation des norovirus sur des glycanes : conséquences biologiques et perspectives prophylactiques. *Virologie* 2004; 8 : 425-34.
43. Maalouf H, Schaeffer J, Parnaudeau S, *et al.* Strain-dependent norovirus bioaccumulation in oysters. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77 : 3189-96.
44. Maalouf H, Zakhour M, Le Pendu J, Le Saux JC, Atmar RL, Le Guyader FS. Norovirus genogroup I and II ligands in oysters: tissue distribution and seasonal variations. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76 : 5621-30.
45. Sugieda M, Nakajima K, Nakajima S. Outbreaks of Norwalk like virus associated gastroenteritis traced to shellfish: coexistence of two genotypes in one specimen. *Epidemiol Infect* 1996; 116 : 339-46.
46. Alfano-Sobsey E, Sweat ED, Hall A, *et al.* Norovirus outbreak associated with undercooked oysters and secondary household transmission. *Epidemiol Infect* 2011 (online first; doi:10.1017/S0950268811000665).