

L300-MIO-V

Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral
Département Microbiologie et Phycotoxines

Laboratoire Microbiologie

RST.DEL/02.02/MIC

Ifremer

Les vibrions pathogènes pour l'homme : le risque associé au milieu marin en France

Vibrions et risque sanitaire

Laurence Miossec



baie de Vilaine

Photo : A. Le Magueresse / Ifremer



L300
MIO-V

IFREMER Bibliothèque de BREST



OEL08328

septembre 2002

Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport : RST.DEL/02.02/MIC		date de publication : septembre 2002
Diffusion : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/> Validé par : Patrick Lassus		nombre de pages : 47
Adresse électronique : - chemin UNIX : - adresse WWW :		bibliographie : Oui illustration(s) : Oui langue du rapport : Français
Les vibrions pathogènes pour l'homme : le risque associé au milieu marin en France <i>The human pathogenic vibrios in marine water : a public health risk in France</i>		
Contrat n°	Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> N°	Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>
Auteur(s) principal(aux) : Laurence Miossec	Organisme / Direction / Service, laboratoire Ifremer Direction de l'Environnement et de l'aménagement Littoral DEL/MP/MIC	
Collaborateur(s) : Secrétariat : Michelle Vrignaud	Organisme / Direction / Service, laboratoire	
Cadre de la recherche : Programme : Comportement des polluants Projet : B 11001 - Mécanismes de résistance des bactéries		
Convention : Autres (préciser) :		
Résumé : <p>Les bactéries appartenant au genre <i>Vibrio</i> sont largement répandues en milieu côtier tropical et tempéré. Certaines espèces sont pathogènes pour l'homme, comme <i>Vibrio cholerae</i> O1 et O139 responsables du choléra, ou <i>V. cholerae non-O1/non-O139</i>, <i>V. parahaemolyticus</i> et <i>V. vulnificus</i> impliqués dans de nombreuses pathologies (gastro-entérites, des septicémies et autres infections).</p> <p>En France, le risque associé à la présence de vibrions en milieu marin est mal évalué. Ce rapport fait le bilan des données disponibles sur la contamination littorale et les infections à vibrions en France. Une large place a été consacrée aux études écologiques, réalisées sur les sites d'implantation des centrales nucléaires sur le littoral français. Dans la population, le nombre d'infections est restreint car seules les pathologies graves sont recensées. Il s'agit de cas isolés, le plus souvent immuno-déprimés, enregistrés en été et en automne. Le milieu marin (par contact, baignade ou consommation de produits de la mer) est très souvent cité comme source probable de la contamination. Un petit nombre d'espèces de vibrions est concerné (<i>V. alginolyticus</i>, <i>V. vulnificus</i>, <i>V. parahaemolyticus</i>, <i>V. cholerae non-O1/non-O139</i> et <i>V. hollisae</i>). Dans l'environnement marin, l'espèce dominante est <i>V. alginolyticus</i> ; <i>V. vulnificus</i> et <i>V. parahaemolyticus</i> sont détectés sporadiquement. Le suivi, pendant plus de dix ans, des effets d'un réchauffement artificiel des eaux littorales à Gravelines a souligné des modifications sur les populations de <i>Vibrio</i> marins (présence des <i>Vibrio</i> en hiver, augmentation de la densité bactérienne et de la diversité spécifique).</p> <p>Le développement de techniques de biologie moléculaire devrait permettre une meilleure évaluation du risque sanitaire en quantifiant et en caractérisant les vibrions présents en milieu côtier (stade viable non cultivable, maintien du pouvoir pathogène et virulence des souches présentes).</p>		

Abstract :

Vibrio bacteria are widely distributed in temperate and tropical coastal waters. Several species are human pathogens, including *Vibrio cholerae* O1 et O139 the causative agents of cholera, and *V. cholerae non-O1/non-O139*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*, leading causes of foodborne gastroenteritis and septicemia.

In France, the risk, linked to *Vibrio spp*, was poorly evaluated. This document synthesized data on vibrio human infections and occurrence of these pathogens along the French coast. Studies, conducted to estimate the ecological effects of nuclear power stations, were specially analyzed. In human population, cases of vibrio infections described were scarce, limited to clinical pathologies. Illnesses were sporadic and seasonal ; they implicated mainly immunocompromised patients. Seafood consumption and exposure to seawater were suspected to be the main cause of contamination. Few species were isolated, including *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae non-O1/non-O139* et *V. hollisae*. In the marine water, *V. alginolyticus* was predominant ; *V. vulnificus* and *V. parahaemolyticus* occurred sporadically. The ten year survey of thermal impact of Graveline nuclear plant station has emphasized changes on vibrio population (Vibrio detection in winter, increase of bacterial numbers and diversity).

New technologies, based on molecular biology, should allowed a better evaluation of sanitary risk by quantifying and characterizing vibrios in marine samples (viable but nonculturable state, pathogenicity and virulence of detected strains).

Mots-clés : Vibrions, coquillages, santé publique, milieu marin, centrale nucléaire, risque émergent

Words keys : *Vibrios, shellfish, public health, marine waters, nuclear plant station , emerging risk*

Sommaire

Introduction	4
Généralités	5
1. Caractéristiques cliniques et épidémiologiques	6
2. Les risques liés au milieu marin	9
3. Caractéristiques écologiques des vibrions en milieu marin	11
Les infections à vibrions en France et en Europe ...	12
1. Le choléra	12
2. Les infections à vibrions non cholériques	14
3. Discussion et conclusion	17
Contamination du littoral français	19
1. Les données publiées	19
2. La littérature grise	21
3. Le suivi des centrales nucléaires installées le long du littoral	22
4. Discussion - conclusion	30
Discussion générale	31
Conclusion	35
Références bibliographiques	36
Annexe	45

Introduction

Les bactéries appartenant au genre *Vibrio* sont présentes dans divers environnements aquatiques. Une majorité d'entre elles est retrouvée en milieu marin et estuarien. Certaines espèces sont pathogènes pour l'homme, d'autres pour la faune marine (poissons, crustacés et mollusques). Sur le plan épidémiologique, on peut distinguer deux populations de *Vibrio* pathogènes pour l'homme. La première correspond au vibron cholérique (*V. cholerae* O1 et O139) responsable des pandémies de choléra ; son réservoir est principalement humain. La seconde comprend les vibrions non cholériques (*V. cholerae* non-O1/non-O139, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*...), impliqués dans de nombreuses pathologies, gastro-entérites, septicémies et autres infections ; leur habitat est marin (West, 1989 ; Lesne et Fournier, 1998).

Les facteurs de transmission de *V. cholerae* sont bien identifiés ; il s'agit surtout de l'eau et des aliments en pays endémiques. Le milieu marin est cité comme vecteur des infections des vibrions non cholériques, cela inclut les fruits de mer (poissons, coquillages et crustacés), la baignade et plus généralement tous contacts avec l'environnement littoral.

En France, le risque associé au milieu marin est mal évalué, qu'il s'agisse du nombre de cas dans la population ou de la présence de ces pathogènes sur les côtes françaises. Ce rapport synthétique fait le point sur ce sujet. Nous avons recensé et analysé les données concernant la contamination du littoral français et les infections à vibrions en France. Une large place a été consacrée aux études écologiques, réalisées sur les sites d'implantation des centrales nucléaires le long du littoral français. En effet, de nombreuses publications internationales signalent une recrudescence des pathologies à vibrions, depuis quelques années, du fait de l'augmentation de la température des eaux littorales. L'utilisation de l'eau de mer dans les centrales nucléaires pour refroidir les réacteurs peut favoriser l'explosion des populations de *Vibrio* et l'émergence de souches particulièrement pathogènes.

Généralités

Les espèces de la famille des Vibrionaceae peuvent être isolées des environnements marins et estuariens comme des eaux douces. L'espèce-type du genre *Vibrio* est *Vibrio cholerae*. On a estimé pendant longtemps que cette bactérie était relativement fragile dans l'environnement, car sensible aux UV, à la dessiccation et la température, que sa durée de vie y était restreinte et que sa présence dans les milieux aquatiques résultait essentiellement d'une contamination d'origine fécale. Sa détection dans des zones indemnes de toute épidémie de choléra a démontré que *V. cholerae* O1 et O139 pouvaient faire partie de la flore bactérienne des eaux côtières et estuariennes et constituer les hôtes habituels des espèces marines, comme les vibrions, halotolérants (*V. cholerae non O1* et *V. mimicus*) ou halophiles. Parmi ceux-ci, certains sont pathogènes pour l'homme, d'autres le sont pour les vertébrés et les invertébrés marins (tableau 1, Hansen, 2000).

Pathogènes humains (n = 12)	Non pathogènes pour l'homme (n = 23)	
<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. aesturianus</i>	<i>V. nereis</i>
<i>V. carchariae</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. nigripulchritudo</i>
<i>V. cholerae</i>	<i>V. campbelli</i>	<i>V. ordalii</i>
<i>V. cincinnatiensis</i>	<i>V. diabolicus</i>	<i>V. orientalis</i>
<i>V. damsela</i>	<i>V. diazotrophicus</i>	<i>V. pelagius</i>
<i>V. fluvialis</i>	<i>V. fisheri</i>	<i>V. proteolyticus</i>
<i>V. furnissi</i>	<i>V. gazogenes</i>	<i>V. psychroerythrus</i>
<i>V. hollisae</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. salmonicida</i>
<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. logei</i>	<i>V. splendidus</i>
<i>V. mimicus</i>	<i>V. marinus</i>	<i>V. tapetis</i>
<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. mediterranei</i>	<i>V. tubiashii</i>
<i>V. vulnificus</i>	<i>V. mytili</i>	
	<i>V. natriegens</i>	

Tableau 1 : Les différentes espèces du genre *Vibrio* (in Hansen, 2000).

Nous ne nous intéresserons dans la suite de ce travail qu'aux vibrions pathogènes pour l'homme.

1. Caractéristiques cliniques et épidémiologiques

Le tableau 2 synthétise les syndromes cliniques associés aux espèces de vibriens les plus souvent rencontrées en pathologie humaine.

Espèces	Syndromes cliniques				
	Gastro-entérite	Infection de blessure	Infection de l'oreille	Septicémie primaire	Septicémie secondaire
<i>V. cholerae O1</i>	+++	+			
<i>V. cholerae non O1</i>	+++	++	+	+	+
<i>V. mimicus</i>	++		+		
<i>V. fluvialis</i>	++				
<i>V. parahaemolyticus</i>	+++	+	+		+
<i>V. alginolyticus</i>	(+)	++	++	+	
<i>V. hollisae</i>	++			+	
<i>V. vulnificus</i>	+	++		++	++
<i>V. furnissi</i>	(+)				
<i>V. damsela</i>		++			
<i>V. metschnikovii</i>	(+)			(+)	
<i>V. carchariae</i>		+			

Tableau 2 : Pathologies associées à différentes espèces de *Vibrio* (d'après Pavia *et al.*, 1989).
+++ : fréquemment rapportées ; ++ occasionnelles ; + rares ; (+) association peu claire

➤ ***Vibrio cholerae O1*** : C'est l'agent étiologique du choléra. Il est caractérisé par une toxi-infection brutale avec diarrhées profuses accompagnées de vomissements qui entraînent une déshydratation importante. Les selles sont riziformes. La maladie présente tous les degrés de gravité de la forme sérieuse qui conduit à la mort du malade jusqu'à la simple diarrhée ou la forme asymptomatique chez les porteurs sains. Le taux de mortalité peut atteindre 9 % en Afrique. Depuis le début des années 90, un nouvel agent étiologique du choléra est apparu, différent du *Vibrio cholerae O1* ; il a été classé comme *V. cholerae O139*.

Dans les pays où l'hygiène est réduite, le principal facteur de transmission du choléra est l'eau et le contact de personne à personne. Les cas sporadiques observés dans les pays développés sont majoritairement des cas importés. Cependant, l'apparition de foyers épidémiques dans ces pays, sans relation avec un voyage en zone d'endémie, suggère la présence de l'espèce dans des réservoirs estuariens ou marins (West, 1989). Depuis les années 60, les produits marins ont été largement associés à ces épidémies (DePaola, 1981).

- *V. cholerae non O1* : Il est responsable de gastro-entérites. Les symptômes les plus fréquents sont des diarrhées, parfois sanglantes, accompagnées occasionnellement de vomissements et de crampes abdominales. La durée des symptômes est de un à deux jours. Des cas d'otites ou d'infections de blessures sont également signalés. Des septicémies ont été observées mais surtout chez des individus immunodéprimés, atteints de cirrhoses par exemple.

Les facteurs de risque sont principalement l'exposition au milieu marin ou la consommation de produits de la mer, mais des phénomènes épidémiques associés à diverses sources alimentaires ont également été observés.

- *V. parahaemolyticus* : il provoque des gastro-entérites, caractérisées par des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, des maux de tête et une fièvre modérée. Les symptômes persistent de trois à quatre jours. Ce vibron peut être également responsable d'infections cutanées et de septicémies.

Il a été identifié pour la première fois, en 1950, au Japon à la suite d'une TIAC liée à la consommation de sardines. Deux cent soixante douze personnes ont été malades, vingt sont décédées. Aux USA, *V. parahaemolyticus* est l'espèce de vibrions la plus souvent isolée au cours des dix dernières années. Entre 1988 et 1997, 345 cas ont été répertoriés par le CDC. Dans 59 % des cas, il s'agissait de gastro-entérites, dans 34 % de blessures infectées et dans 5 % de septicémies. Le reste regroupe des otites, des infections des yeux, du tractus urinaire et de la cavité péritonéale (Daniels *et al.*, 2000). Quatre pour cent des cas ont eu une issue fatale ; tous avaient des conditions médicales préexistantes (alcoolisme, diabète, maladies hépatiques, vasculaires ou rénale). De même, 35 à plus de 50 % des intoxications alimentaires annuelles à Taiwan sont dues à *V. parahaemolyticus*. Le vecteur des infections à *V. parahaemolyticus* est alimentaire, principalement dû aux produits de la mer (Wong *et al.*, 2000).

- *V. vulnificus* : Trois types de symptômes cliniques peuvent être associés à cette espèce de vibrions (Lee *et al.*, 1997) :
- Des septicémies primaires, presque exclusivement enregistrées chez les immunodéprimés. La pathologie commence brutalement par des fièvres et des frissons. Des lésions typiques de la peau se développent, alors, chez les $\frac{3}{4}$ des patients. Elles apparaissent 24 heures après le début de l'infection. La durée d'incubation (valeur médiane) est de 16 h.

- Des infections de blessures qui peuvent être bénignes et limitées comme progressant rapidement et développant des formes nécrotiques voire gangreneuses. Ces infections interviennent à la fois chez les immunodéprimés et chez ceux qui ne le sont pas.
- Des gastro-entérites considérées comme rares, et de ce fait probablement sous-répertoriées. Elles ne sont jamais associées à des mortalités. Il s'agit de diarrhées aqueuses et sanglantes, accompagnées de vomissement et de crampes abdominales ; les symptômes peuvent persister plus d'une semaine.

V. vulnificus a été isolé en 1964 par le CDC, mais clairement identifié dans les années 70. La consommation des produits de la mer (huîtres, crabes, anguilles) est la source de contamination la plus courante. Les personnes à risque sont celles souffrant de désordres hépatiques (alcoolisme ou surcharge en fer). Le taux de mortalité chez ces malades est de l'ordre de 50 % mais il peut atteindre 90 % chez des patients souffrant d'hypotension dans les premières heures d'hospitalisation. Chez les immunocompétents, le taux de mortalité est nul ; on observe seulement des gastro-entérites sans septicémie.

Une autre voie d'infection concerne les blessures préexistantes de la peau au contact de l'eau de mer. Chez les immunodéprimés présentant une pathologie hépatique, le taux de mortalités peut atteindre 24 %. Ces infections sont observées en été et au début de l'automne (Lee *et al.*, 1997).

- **Autres vibrions :** *V. alginolyticus* est associé le plus souvent à des infections cutanées. Il s'agit de blessures aux jambes ou aux pieds et également d'infections auriculaires. Dans certains cas, on observe une co-infection de ces blessures. Il est difficile, alors, de savoir si *V. alginolyticus* est responsable de l'infection ou s'il n'est qu'un opportuniste. La durée d'incubation est de 24 heures environ. La contamination intervient lors de baignades ou sur la plage. Ces infections sont observées lorsque la température de l'eau de mer est élevée (Blake *et al.*, 1980). *V. damsela* a été isolé de lésions diverses lors de baignades (des pieds et des jambes) ou de parties de pêche, en zones littorales tropicales ou semi-tropicales. *V. fluvialis* est impliqué dans des cas de diarrhées. L'incidence des gastro-entérites à *V. fluvialis* est faible ; un cas de gastro-entérite après consommation d'huîtres crues a été observé. *V. mimicus* a été mis en évidence dans un contexte de gastro-entérites associées à la consommation d'huîtres crues ; il a été également isolé lors d'infections de l'oreille à la suite d'une exposition à l'eau de mer. *V. hollisae* a été isolé dans des cas d'infections sanguines et de gastro-entérites. Les facteurs d'exposition les



plus souvent cités sont la consommation de fruits de mer crus et de poissons frits. L'épidémiologie de *V. furnissi* est mal connue ; il a été impliqué dans quelques cas d'intoxications alimentaires dues à des produits marins. *V. metschnikovii* est considéré comme un micro-organisme faiblement pathogène ; peu de cas lui sont associés, ils ne sont pas liés à la consommation de produits de la mer ou à une exposition à l'eau de mer (West, 1989).

2. Les risques liés au milieu marin

Les infections à *Vibrio* sont très souvent associées à la consommation de produits de la mer consommés crus ou insuffisamment cuits, à la baignade en mer et plus généralement à des contacts avec le milieu marin. Les pathologies observées sont des gastro-entérites, des otites, des œdèmes, diverses infections des membres et des septicémies.

Les statistiques concernant les infections à *Vibrio*, toutes espèces confondues, sont particulièrement fournies aux USA. Les espèces de *Vibrio* seraient responsables de 10 000 cas par an et de 50 à 100 morts par an (Altekruse *et al.*, 1997). En Floride une synthèse sur la période 1981-1993 faisait état de 675 cas recensés correspondant à une incidence de 4,3 cas / 10⁶ habitants / an. Parmi les cas pour lesquels un facteur d'exposition a pu être identifié, 88 % des personnes, présentant une blessure infectée, avaient été en contact avec l'eau de mer au cours de la semaine précédant le développement de la pathologie ; 87 % des cas de gastro-entérites et 88 % des personnes atteintes de septicémie avaient consommé des fruits de mer. Environ 20 % des malades souffrant de gastro-entérites ou de blessures infectées présentaient une pathologie sous-jacente ; ce pourcentage atteignait plus de 70 % dans les cas de septicémies. Il s'agissait de pathologies hépatiques liées ou non à une dépendance alcoolique, de diabètes, d'ulcères et de divers désordres immunitaires (Hlady et Klontz, 1996).

Depuis 1988, le CDC (Centers for Disease Control, USA) a établi une surveillance concernant les infections à *Vibrio*, confirmées par culture. Au départ limité aux états bordant le littoral du golfe du Mexique, ce système de surveillance a été étendu, par la suite, aux côtes est et ouest des USA. En 1997 et 1998, 937 infections ont été recensées ; 858 d'entre elles correspondaient à trois types de syndromes distincts : gastro-entérites (75 %, impliquant principalement *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae non-O1/non-O139*), infections de blessures associées à un contact avec le milieu marin (16 % surtout liés à *V. vulnificus*) et septicémie (9 % dues en majorité à *V. vulnificus*). Ces infections étaient saisonnières : 65 % des gastro-entérites étaient apparues

entre juin et août, 64 % des infections cutanées entre mai et août et 94 % des septicémies entre mai et novembre (Evans *et al.*, 1999). Au Japon, les empoisonnements alimentaires associés à *V. parahaemolyticus* sont en augmentation depuis 1994 (102 épidémies en 1996, 160 en 1997 et 234 en 1998 - Anonymes, 1999a).

La consommation d'huîtres crues est régulièrement impliquée dans les infections à *Vibrio*. Les coquillages constituent, en effet, le réservoir principal pour les vibrions halophiles du fait de leur comportement de filtreur. D'autres espèces marines comme les crabes, crevettes, calmars, pieuvres et bigorneaux sont également cités (Hlady et Klontz, 1996). Les épidémies associées à la consommation de coquillages contaminés par des *Vibrio* recensent deux types principaux de pathologies : les gastro-entérites et les septicémies. Quatre vingt douze pour cent des cas de gastro-entérites et de septicémies, recensés en 1997 et 1998 aux USA, avaient consommé des produits de la mer dans la semaine qui précédait l'apparition des symptômes. Parmi ceux-ci, 68 % avaient mangé des huîtres, la plupart du temps consommées crues (Evans *et al.*, 1999). Les espèces de *Vibrio* impliquées dans ces épidémies de gastro-entérites sont *V. cholerae non-O1/non O139*, *V. parahaemolyticus*, *V. hollisae* et *V. mimicus* ; celles identifiées dans les épidémies de septicémies, consécutives le plus souvent à des blessures, sont *V. vulnificus*, mais aussi *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* (Hlady et Klontz, 1996 ; Altekruuse *et al.*, 2000).

Quatre vingt dix neuf pour cent des septicémies provoquées par *V. vulnificus* entre 81 et 94 aux USA ont été associés à *Crassostrea virginica* ; 60 % des personnes infectées sont mortes, la plupart souffrait de problèmes hépatiques ou était immunodéprimée (Lipp et Rose, 1997).

L'épidémiologie des pathologies à *V. parahaemolyticus* associées à la consommation de coquillages a évolué depuis 1997. Auparavant, seuls des cas sporadiques étaient enregistrés. Pendant, l'été 1997, la première épidémie de ce type était enregistrée avec 209 cas confirmés par culture. Plusieurs sérotypes de *V. parahaemolyticus* étaient identifiés. Les huîtres provenaient des états de Washington et de Colombie Britannique (DePaola *et al.*, 2000). Une petite flambée épidémique était observée en 1998 à Washington (43 cas confirmés). Mais l'épidémie la plus importante est intervenue entre mai et juillet 1998, dans plusieurs états américains (Daniels *et al.*, 2000). Quatre cent seize cas ont été notifiés, parmi lesquels 98 étaient confirmés par culture. Une souche unique était impliquée, O3 :K6. Celle-ci était apparue en 1995 en Inde et, depuis, était endémique en Asie. Cette épidémie a été caractérisée par un très fort taux d'attaque (75 % comparé à 56 % d'habitude), suggérant une virulence particulièrement forte de la souche O3 :K6. Les huîtres provenaient de la baie

de Galveston au Texas, cependant les investigations environnementales réalisées sur ce secteur n'ont pas permis de retrouver cette souche dans le milieu marin. La cause serait d'ordre méthodologique. En effet, des études précédentes ont montré que si 95 % des souches de *V. parahaemolyticus* trouvées lors d'épidémies présentaient des caractères de virulence, moins de 1% des souches de l'environnement était virulente. De plus, la plupart des souches détectées en milieu marin et dans la nourriture (hors TIAC) n'était pas virulente. Le mode d'introduction de cette souche en baie de Galveston n'a pas été déterminé. La température et la salinité des eaux de la baie ont été anormalement élevées au cours du printemps et de l'été 98 ; la souche O3 :K6 a pu trouver les conditions environnementales favorables à son émergence et à sa prolifération.

3. Caractéristiques écologiques des vibrions en milieu marin

De nombreux facteurs écologiques influencent le cycle biologique des *Vibrio*. Il s'agit de la température, de la salinité, de la concentration en matière organique et en nutriments, des sédiments et du plancton utilisés comme support (West, 1989).

V. vulnificus a été détecté dans des eaux dont la température variait entre 13 et 31°C et la salinité entre 0,8 et 34 ‰. Cependant son préférendum se situe entre 17 et 31°C pour une salinité évoluant entre 15 et 25 ‰ (O'Neill *et al.*, 1992). Sur la côte atlantique des USA et dans le golfe du Mexique, *V. vulnificus* est présent dans les huîtres à des concentrations de l'ordre de 10^3 à 10^4 par gramme pendant la saison chaude. La température de l'eau varie alors entre 20 et 26 °C avec une salinité n'excédant pas 25 ‰. Quand la température descend au-dessous de 15 °C, pendant l'hiver, la présence de *V. vulnificus* est indétectable par culture dans les coquillages (Motes *et al.*, 1998-a). *V. parahaemolyticus* est également sensible à la température. Dans la baie de Chesapeake, en avril, quand la température dépasse 14 °C, le nombre de cellules cultivables augmente. Il atteint son maximum en août (10^2 par 100 ml) puis décroît à l'automne. *V. parahaemolyticus* est indétectable en décembre (Kaneko et Colwell, 1978). Lorsque la température est trop basse, ces *Vibrio* pathogènes perdent leur pouvoir de cultiver et passe en stade Viable Non Cultivable (VNC). Une bactérie VNC est une cellule qui ne pousse pas sur le milieu de culture où elle se développe habituellement mais qui reste vivante et possède toujours des activités métaboliques. Quand les conditions environnementales redeviennent favorables, ces bactéries retrouvent le pouvoir de se multiplier sur milieu de culture. En 1982, Xu *et al.* ont mis en évidence expérimentalement la perte de cultivabilité mais la survie chez *V. cholerae*. Colwell *et al.*, en 1985, ont montré que ce pathogène conservait son pouvoir

pathogène en inoculant des cellules de *V. cholerae* au stade VNC dans l'anse iliaque ligaturée du lapin, provoquant une distension des tissus et une hémorragie avec perte de fluide contenant ce *Vibrio*. Par la suite, Colwell *et al.* (1990) ont démontré le maintien du pouvoir pathogène de *V. cholerae* en stade VNC chez des volontaires humains. Depuis, plusieurs contextes épidémiques de choléra ont confirmé que le risque pouvait être présent en l'absence de cellules cultivables (Colwell, 2000). Un certain nombre de facteurs peut favoriser la survie des *Vibrio* au stade VNC. *V. parahaemolyticus* reste présent dans les sédiments de la baie de Chesapeake en hiver grâce aux ions divalents et aux nutriments. A la fin de l'hiver, la multiplication de la population de *Vibrio* est favorisée par le zooplancton (Kaneko et Colwell, 1978). Plusieurs études ont montré que les *Vibrio* s'attachaient aux copépodes au cours de leur cycle annuel par production d'une chitinase extra-cellulaire. L'efficacité de ce lien est fonction du pH et de la salinité de l'eau de mer. La présence de *Vibrio* en grand nombre sur les sacs ovigères de copépodes permet la dissémination de l'espèce lors de la ponte (Kaneko et Colwell, 1975 ; Huq *et al.*, 1983).

Les infections à vibrions en France et en Europe

1. Le choléra

Parmi les affections à *Vibrio*, c'est la forme la plus importante par sa gravité et son caractère épidémique, principalement dans les pays à bas niveaux socio-économique et dépourvus de structures sanitaires. Historiquement, le choléra a évolué au rythme de pandémies, touchant des continents entiers. On enregistre sept pandémies (Bourdelaïs et Roulot, 1987) :

1^{er} pandémie : 1817-1824, de l'Extrême-Orient (Chine) à la mer Caspienne débutant en Inde.

2^{ème} pandémie : 1829-1837, tous les continents ont été contaminés. En deux ans, le vibrion est passé des bords de la Caspienne à ceux de la Tamise. A partir de là, l'Afrique du nord et les Amériques ont été contaminées.

3^{ème} pandémie : 1^{er} vague, 1840-1850 ; 2^{ème} vague, 1849-1860. La France a été touchée en 1849. Il s'agissait de la plus sévère attaque épidémique du siècle dans notre pays, en 1854, 150 000 personnes en sont mortes. Le choléra a utilisé les mêmes voies de propagation que précédemment ; tous les continents ont été successivement touchés. C'est au cours des épidémies qui ont touché Londres entre 1849 et 1854 que John Snow développa, par une approche épidémiologique, ses théories contagionistes, longtemps controversées, sur la propagation du choléra (Snow, 1855 *in* Morabia 1996 ; Paneth *et al.*, 1998).



4^{ème} pandémie : 1863-1875. Le choléra est apparu à La Mecque, les survivants ont contaminé Suez puis les ports de Méditerranée. De nouveau, tous les continents ont été contaminés.

5^{ème} pandémie : 1881-1896. La découverte de l'agent responsable, *Vibrio cholerae*, en 1884 par Koch, a constitué un tournant de cette maladie, rendant possible des mesures de protection contre l'expansion du phénomène épidémique (mesures de quarantaines). Le choléra par contre est devenu endémique dans les pays à l'est de l'Inde (Philippines, Indonésie, Ceylan Thaïlande, Java, Chine, Japon).

6^{ème} pandémie : 1899-1923. La progression de l'épidémie a été stoppée à Madère en 1910 grâce à des mesures de quarantaines. L'Europe a été faiblement touchée ; l'Amérique a été préservée. Un vaccin a été mis au point par l'Institut Pasteur en 1892.

7^{ème} pandémie : à partir de 1961. Elle touche essentiellement les pays du Tiers Monde. Un nouveau vibriion (*V. cholerae* O1 biovar El Tor) a supplanté l'ancien (*V. cholerae* O1 biovar cholerae) ; au début des années 1970, il a complètement surclassé le vibriion classique. En 1991, le choléra est apparu au Pérou et s'est largement répandu dans les pays limitrophes. En 1992, le CDC comptabilisait 300 000 cas de choléra et 2 300 décès dus au choléra dans les secteurs touchés (Oliver, 2000).

Actuellement, dans les pays développés, peu d'épidémies sont observées, la majorité des cas sont importés. En septembre 1994, 300 cas de choléra (*V. cholerae* O1 El Tor sérotype Ogawa) ont été observés en Albanie. Le vecteur de l'épidémie était probablement l'eau d'alimentation. Un mois plus tard, douze cas ont été signalés à Bari (Italie) situé en face de l'Albanie, après consommation de calamars crus, lavés avec l'eau du port de Bari. Des vibrions ont été isolés dans les calamars et dans l'eau du port (Greco *et al.*, 1995).

Par ailleurs, le système de surveillance des maladies en Angleterre et Pays de Galles faisait état de treize cas importés en 1996 et de 24 cas en 1998. Les cas déclarés revenaient d'Asie (Inde, Népal, Pakistan, Thaïlande, Bangladesh, Malaisie), d'Afrique (Nigeria, Kenya, Tunisie), ou d'Amérique du Nord (Mexique). Un seul cas avait voyagé dans un pays de la Communauté européenne (Les Canaries). Les vibrions détectés appartenaient principalement à la souche El Tor Ogawa (Anonymes, 1996 et 1998).

En France, le nombre de cas autochtones est très faible puisque seulement cinq cas ont été décrits depuis 30 ans (Infuso *et al.*, 1998). En 1970, le vibriion cholérique biovar El Tor a été isolé chez une femme de 65 ans habitant l'Essonne. L'origine de la contamination est restée inconnue. La souche a également été retrouvée dans la fosse septique au domicile de la patiente (Deperis *et al.*, 1971). Entre le 2 août et le 9 octobre 1986, 38 cas ont été

déclarés dont 37 confirmés. Pour 33 cas (dont neuf cas secondaires), il s'agissait d'Algériens de retour de vacances dans leur pays. Parmi les quatre cas restants, deux étaient des cas autochtones d'origine inconnue (Anonymes, 1986). Pour tous, la souche était de type El Tor Ogawa sauf pour un cas autochtone (El Tor Inaba). En 1993, un cas autochtone a été signalé à Blaye. En 1996, sur les six cas déclarés, cinq étaient importés (Sénégal, Tchad, Inde et Pakistan - Decludt, 1996) ; le cas autochtone était un homme de 34 ans, originaire d'Afrique du Nord. L'investigation épidémiologique a conclu à une contamination à la suite de la consommation d'oseilles importées du Sénégal (Infuso *et al.*, 1998).

Certains départements et territoires outre-mer français enregistrent sporadiquement des épidémies du fait de la proximité de pays où le choléra est endémique. De la mi-décembre 1991 à la mi-juillet 1992, quinze cas confirmés de choléra ont été mentionnés en Guyane alors que sévissaient des épidémies au Surinam et au Brésil ; deux cas autochtones étaient notifiés à Cayenne chez des personnes résidant dans des conditions de forte insalubrité (Villeneuve *et al.*, 1992). A Mayotte (Collectivité Départementale Française), dix cas (*V. cholerae* O1, sérotype Ogawa) ont été recensés entre le 30 août 1998 et le 10 décembre 2000 alors que l'Archipel des Comores indépendant et Madagascar subissaient depuis 1998 une épidémie de choléra importée d'Afrique de l'Est (De Brettes *et al.*, 2001).

2. Les infections à vibrions non cholériques

Depuis 1981, nous avons recensé, dans la littérature, 43 cas sporadiques d'infection à vibrion non cholérique et une TIAC observés en France (De Raultin de la Roy *et al.*, 1981 ; Bebear *et al.*, 1982 ; Boudon *et al.*, 1983 ; Puy *et al.*, 1989 ; Robert *et al.*, 1991 ; Darbas *et al.*, 1992 ; Blanche *et al.*, 1994 ; Gras-Rouzet *et al.*, 1996 ; Laudat *et al.*, 1997 ; Lemoine *et al.*, 1999 ; Monnereau *et al.*, 1999 ; Geneste *et al.*, 2000). Une étude très précise, portant sur les cas répertoriés entre 1995 et 1998 en France, a fait un bilan épidémiologique de ces pathologies (Geneste, 1999). Vingt neuf cas ont été recensés, tous sporadiques ; les souches, retrouvées chez les malades, ont été identifiées par le Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra. Parmi celles-ci, *V. cholerae non-O1/non-O139* a été détecté dans 31 % des cas, *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* dans 24 %, *V. vulnificus* dans 17 % et *V. hollisae* dans près de 4 % des malades. *V. parahaemolyticus* était principalement associé à des gastro-entérites, *V. alginolyticus* à des otites et *V. vulnificus* à des infections cutanées et des septicémies. Par contre, tous ces syndromes sont liés à *V. cholerae non O1/non O139*, sans aucune dominance. Parmi les sources potentielles de contamination, le milieu marin (par contact ou



consommation de produits marins) a été citée dans 34,5 % des cas ; environ 17 % des pathologies étaient associées à des voyages à l'étranger ou des baignades en eau douce. Cependant, près de 48 % des cas étaient d'origine inconnue. Cette enquête a été réalisée rétrospectivement et aucune investigation environnementale n'a permis de confirmer ces hypothèses. Quinze cas présentaient des antécédents médicaux (65 %).

Une analyse plus précise des cas de vibriose, associés au milieu marin, a été réalisée. Ces données ont été complétées par des résultats publiés ($n = 7$) pour lesquels également une association avec le milieu marin (par contact ou consommation de produits marins) a été avancée. Ces résultats complémentaires concernaient également des cas sporadiques à l'exception d'une épidémie de gastro-entérites observée dans un régiment du Var en avril 1997 (Lemoine *et al.*, 1999). L'enquête cas-témoin, réalisée à la suite de cette épidémie, a retenu la sauce aux crevettes et aux fruits de mer, servie en accompagnement d'un filet de lieu, comme la source la plus probable de ces gastro-entérites (OR = 13,3 ; IC 95 % 2,4 – 95,8). *Vibrio parahaemolyticus* a été retrouvé dans trois selles de malades sur cinq testées, mais dans aucun des aliments analysés, pas plus que dans la sauce soupçonnée lors de l'enquête épidémiologique. Les aliments, dans leur ensemble, avaient été préparés dans des conditions d'hygiène médiocre comme l'attestaient les données colimétriques. En conclusion, les résultats obtenus lors de cette enquête ne permettaient pas d'affirmer que cette épidémie était due à *Vibrio parahaemolyticus*.

Boudon *et al.* (1983) ont décrit également un cas de gastro-entérite à *Vibrio parahaemolyticus* observé en 1981. Un plat de homard, servi au cours d'un repas de noces, a été suspecté d'être à l'origine de cette gastro-entérite. Une toxi-infection alimentaire collective d'étiologie inconnue a, par ailleurs, été enregistrée à la suite de ce repas, sans pour autant être investiguée. Les autres cas sporadiques concernaient *V. cholerae non-O1/non-O139*, *V. holisae*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus*. La source potentielle de contamination se situait sur le littoral français métropolitain. A l'exception du nord de la France, tous les secteurs littoraux ont été cités, de la côte normande à la côte méditerranéenne, avec une fréquence plus grande, néanmoins, concernant la côte sud Atlantique (Puy *et al.*, 1989 ; Darbas *et al.*, 1992 ; Gras-Rouzet *et al.*, 1996, Geneste, 1999 ; Aubert *et al.*, 2001). Ces syndromes ont été majoritairement observés en été, entre août et septembre alors que la température de l'eau de mer atteint son maximum. La majorité des cas présentaient une pathologie sous-jacente.



La situation dans les autres pays européens est comparable à celle observée en France. Il s'agit de cas sporadiques à *V. vulnificus*, *V. cholerae non-O1/non-O139*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* ou *V. holisae*. Un cas de septicémie mortelle due à *Vibrio vulnificus* a été enregistré en Belgique en 1983 (Hansen *et al.*, 1985) chez une femme souffrant par ailleurs de graves pathologies adjacentes (cancer oro-pharyngé, cirrhose et diabète). L'origine de la contamination n'a pas été identifiée.

Au Danemark, trente infections cliniques ont été enregistrées au cours de la période 1987 - 1992 ; toutes ont été associées au milieu marin (Hornstrup et Gahrn-Hansen, 1993). Il s'agissait d'infections cutanées ou de pathologies de l'oreille ; aucun cas d'intoxication alimentaire liée à la présence de *Vibrio* n'a été observé. Deux espèces de *Vibrio* étaient en cause, *V. alginolyticus* impliqué uniquement dans les affections de l'oreille et *V. parahaemolyticus* responsable des deux types de pathologies signalées. La moitié de ces cas a été observée en 1991, caractérisé par un été plus chaud que la normale. La plupart des patients présentait des antécédents pathologiques (otites et ulcères des membres inférieurs). Pendant l'été exceptionnellement chaud de 1994, onze personnes ont été infectées par *Vibrio vulnificus* après une exposition au milieu marin (Dalsgaard *et al.*, 1996). Aucun de ces cas n'était associé à la consommation de coquillages. Il s'agissait de pathologies cutanées ou de douleurs dans les membres inférieurs. Un pêcheur d'anguilles est mort malgré les soins reçus ; il souffrait de plusieurs pathologies chroniques, notamment hépatiques (Bock *et al.*, 1994). Egalement pendant l'été 1994, cinq cas cliniques à *V. cholerae non-O1/non-O139* ont été soignés pour différentes pathologies (une septicémie, un ulcère à la jambe, trois otites) après exposition au milieu marin (Dalsgaard *et al.*, 2000).

Pendant l'été 1994 également, mais en Suède (Melhus *et al.*, 1995), *V. vulnificus* a été isolé dans le sang d'une patiente hospitalisée à la suite de douleurs dans la jambe et le pied droit ; la contamination résultait probablement de l'infection d'une blessure à un pied lors de baignades répétées.

En Espagne, lors d'un suivi portant sur des patients atteints de gastro-entérites et hospitalisés à l'hôpital d'Hébron de Barcelone de juin à octobre 1986 (n=162), huit cas de gastro-entérites, probablement causées par *Vibrio parahaemolyticus*, ont été enregistrés entre le 20 août et le 15 octobre (Molero *et al.*, 1989). Il s'agissait de cas isolés sauf pour deux d'entre eux. Tous avaient consommé des produits de la mer (poisson, crustacés et mollusques) dans les heures ou jours qui précédaient, sources supposées de la contamination. Cuevas *et al.* (1998) ont décrit un cas de septicémie due à *Vibrio vulnificus*, chez un patient atteint de cirrhose qui avait consommé des huîtres. *Vibrio alginolyticus*



a été détecté dans l'oreille de deux patients souffrant d'otites externes à la suite de baignades sur le littoral méditerranéen (Dronda *et al.*, 1991).

Un cas isolé de gastro-entérite due à une infection provoquée par *V. fluvialis* a été enregistré en novembre 1999 à l'hôpital de Glasgow, en Ecosse (Anonymes, 1999b). Ce patient avait consommé des moules importées de Nouvelle Zélande, le jour précédent.

3. Discussion et conclusion

En France comme en Europe Occidentale, le nombre d'épidémies de choléra est relativement restreint. Les cas déclarés sont principalement importés. De ce fait, la circulation de *Vibrio cholerae* O1 et O139 est faible dans la population. Le risque de voir se développer des foyers autochtones est réduit en raison d'une surveillance et du traitement des eaux destinées à la consommation humaine. En France, les épidémies sont rares et limitées à certaines régions des DOM-TOM ; peu de cas autochtones sont observés. La maladie est à déclaration obligatoire, ce qui permet d'identifier, isoler et soigner rapidement les cas.

Par contre, la surveillance des infections à vibrions non cholériques est passive en France comme au niveau européen. En France, elle repose sur l'expédition pour expertise des souches humaines, détectées par les laboratoires médicaux, au Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra de l'Institut Pasteur de Paris (CNRVC). Le nombre de cas est probablement sous-évalué car les formes cliniques modérées sont peu diagnostiquées (Geneste, 1999).

Dans le cadre de ce travail, le nombre de documents analysés est faible ; ceux-ci ne concernent que quelques pays européens. L'exploitation des bulletins épidémiologiques nationaux au niveau européen et d'Eurosurveillance (bulletin européen sur les maladies transmissibles) depuis 1995 n'a permis d'extraire que deux articles dans le BEH français (Lemoine *et al.*, 1999 ; Geneste *et al.*, 2000) et une courte note parue dans le Scottish Centre for Infection and Environmental Health (Anonymes, 1999b). Ce bilan n'est, certes, pas exhaustif ; il souligne, pour chaque pays, la sensibilité des systèmes de surveillance et l'implication des équipes de spécialistes :

- Seuls les cas hospitalisés donnent lieu à communication ou publications. Le nombre de cas est, de ce fait, probablement largement sous-estimé.
- Il s'agit presque exclusivement de cas isolés.
- Les malades sont la plupart du temps des immunodéprimés, du fait de pathologies sous-jacentes lourdes.

- Un petit nombre d'espèces de vibrions est concerné (*V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae non-O1/non-O139* et *V. hollisae*).
- La source de contamination est soupçonnée mais non démontrée. Il est, en effet, difficile de mener une enquête épidémiologique analytique sur des cas dispersés dans le temps et dans l'espace.
- Le milieu marin (par contact, baignade ou consommation de produits de la mer) est très souvent cité comme source probable de la contamination. Mais peu d'analyses bactériologiques sont réalisées conjointement dans les eaux, sédiments ou fruits de mer incriminés permettant de vérifier l'origine de la contamination humaine.
- Les cas sont enregistrés en été et en automne. Cette observation conforte l'hypothèse du milieu marin comme facteur d'exposition car c'est la période où ces vibrions halotolérants sont présents en quantité en milieu côtier, du fait de la température élevée de l'eau.
- Des pathologies à *Vibrio vulnificus* ont été observées de la Scandinavie aux pays méditerranéens, signifiant une probable présence de ce vibron pathogène sur ces côtes.
- Une recrudescence des cas peut survenir lorsque les températures estivales sont exceptionnelles. Cela fut le cas en 1991 et 1994 dans plusieurs pays européens.

Ces critères mettent en évidence un risque émergeant, ciblant une population sensible (immunodéprimée). En Europe, la plupart des cas sont sporadiques et ne prêtent pas à une investigation épidémiologique approfondie. Par contre, les données épidémiologiques obtenues par ailleurs, notamment aux USA, soulignent le rôle important des mollusques, crustacés et poissons lors d'intoxications alimentaires à *Vibrio*. En France, l'Agence de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) a émis des recommandations concernant la consommation et la surveillance des produits de la mer susceptibles d'être contaminés par des vibrions. Elle a jugé, sur la base des résultats fournis par le Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra de l'Institut Pasteur de Paris (CNRVC) (Geneste, 1999), que *V. vulnificus* et *V. cholerae non-O1/non-O139*, présents dans les produits de la mer, ne présentaient pas de risque pour le consommateur. Par contre, la surveillance de ces produits pour *V. cholerae O1 et O139* et *V. parahaemolyticus* étaient justifiée car le risque sanitaire lié à la consommation de ces produits était démontré (BO de la CCRF, 2 décembre 1999).



Contamination du littoral français

1. Les données publiées

La recherche, dans l'environnement marin français, des *vibrio* halophiles pathogènes pour l'homme a fait l'objet d'un petit nombre de travaux publiés depuis les années 80 (tabl. 3). Dans toutes ces études, antérieures aux années 90 et à l'emploi des techniques de biologie moléculaire (PCR), les *vibrio* ont été mis en évidence par culture. Certaines analyses ont fait l'objet d'une recherche de pathogénicité des souches, hémolysine pour *Vibrio parahaemolyticus* et toxine cholérique pour *Vibrio cholerae* O1 et O139.

Les vibrions isolés des eaux de la Mer du Nord entre la baie de Somme et la frontière belge appartenaient presque exclusivement à l'espèce *V. alginolyticus* ; ceux-ci n'ont pas été isolés en hiver. Une seule souche de *Vibrio parahaemolyticus* a été identifiée à Gravelines avant fonctionnement de la centrale ; sa pathogénicité n'a pas été testée. Depuis la mise en service de la centrale nucléaire de Gravelines, les souches de *V. alginolyticus* ont été détectées également en hiver du fait de l'élévation de la température de l'eau de mer transitant dans la centrale ($\Delta T = 11\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Delattre et Delesmont, 1986 ; Le Fèvre-Lehoërff et Woehrling, 1991).

Plusieurs études ont recherché la présence de *Vibrio* dans les eaux, les sédiments et la matière vivante dans le bassin d'Arcachon. *V. alginolyticus* était largement représenté toute l'année dans l'eau et les sédiments. *V. cholerae non-O1* et *V. parahaemolyticus* ont été détectés entre mai et octobre lorsque la température de l'eau dépassait $15\text{ }^{\circ}\text{C}$, *V. metschnikovii* était plus fréquent en saison froide, *V. anguillarum* a été détecté en hiver, seulement dans les sédiments ; *V. vulnificus* et *V. shigelloides* n'ont été trouvés qu'épisodiquement. Aucune souche de *Vibrio cholerae* O1 ou O139 n'a été identifiée au cours de l'étude. De même, aucune corrélation n'a pu être établie entre la présence des vibrions et la contamination fécale (Marchand, 1986). Dans la matière vivante (algues et végétaux marins, coquillages, crustacés et poissons), sur 80 souches détectées, les espèces les plus fréquemment identifiées sont *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus* ; dans une moindre mesure on trouve *V. metschnikovii* (plus fréquent en hiver), *V. cholerae non-O1* et *V. harveyi* (Urdaci et al., 1988).

Martin et Bonnefont (1990) ont montré des différences de diversité spécifique et d'abondance entre les *Vibrio* présents dans l'effluent urbain de Toulon, riche en matières nutritives et le milieu marin méditerranéen environnant, très oligotrophique. Les espèces dominantes dans l'effluent étaient *V. fluvialis* (29 %) et *V. harveyi* (23 %) ; *V. cholerae non-O1* (13 %), *V. metschnikovii* (11 %) et *V. alginolyticus* (11 %) ont été également détectés. Par contre, dans la zone marine de référence, *V. alginolyticus* (49 %) était prépondérant suivi de



V. harveyi (23 %) et de *V. campbellii* (17 %). Concernant les moules, la fréquence d'apparition des vibrions était identique dans les coquillages placés à proximité de l'effluent et dans les témoins. Sur le plan taxonomique, le peuplement était peu diversifié, composé de *V. harveyi* (55 %), *V. alginolyticus* (27 %) et *V. campbellii* (18 %). *V. metschnikovii* n'a été rencontré qu'avec des températures de l'eau inférieures à 20 °C, contrairement à *V. cholerae non O1* isolé en été et en automne avec des températures supérieures à 20 °C. *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus* n'ont jamais été détectés.

Lieu (auteurs)	Date	Compartiments analysés	Méthodes analytiques	Espèces de Vibrions
entre la Somme et la Belgique (Delattre et Delesmont, 1986)	entre avril 77 et août 82	eau de mer	NPP après enrichissement sur bouillon BTB d'Akiyama	<i>V. alginolyticus</i> dominant (une seule souche de <i>V. parahaemolyticus</i> détectée)
bassin d'Arcachon (Marchand, 1986)	juin 81 à mai 84	eau et sédiment	culture (TCBS) sans test de pathogénicité	<i>V. cholerae</i> nag (127) <i>V. parahaemolyticus</i> (257) <i>V. alginolyticus</i> (638) <i>V. metschnikovii</i> (128 dans les eaux et 75 dans les sédiments) <i>V. anguillarum</i> (46) <i>V. vulnificus</i> et <i>V. shigelloides</i> isolés de façon sporadique
bassin d'Arcachon (Urdaci et al., 1988)	mars à juillet 84	bivalves, gastéropodes, crustacés, poissons, algues et végétaux marins	culture (TCBS), tests d'hémolysine <i>V. parahaemolyticus</i> , auxanogrammes, hybridation ADN/ADN, détection immunologique de la toxine cholérique (test ELISA)	<i>V. alginolyticus</i> (24) <i>V. parahaemolyticus</i> (15) <i>V. harveyi</i> <i>V. metschnikovii</i> (7) <i>V. cholerae</i> nag (3)
rade de Toulon (Martin et Bonnefont, 1990)	juin 86 à octobre 87	moules dans l'effluent moules à 600 m de l'effluent	culture (TCBS), quantification (NPP), caractérisation (galeries API et tests complémentaires - agglutination sur sérum anticholérique)	<i>V. harveyi</i> (54,8 %) <i>V. alginolyticus</i> (27,4 %) <i>V. campbellii</i> (17,8 %)
	juin 86 à nov. 88	effluents urbains		<i>V. fluvialis</i> (29,3 % ; présent toute l'année), <i>V. cholerae non-O1</i> (13,4 %) <i>V. metschnikovii</i> (11 %) <i>V. harveyi</i> (23 %) <i>V. alginolyticus</i> (11 %)
	nov. 87 à nov 88	eau de mer de référence		<i>V. harveyi</i> (23 %) <i>V. alginolyticus</i> (48,6 %) <i>V. campbellii</i> (17,1 %)

Tableau 3 : Contamination du littoral français par *Vibrio* (données publiées).

2. La littérature grise

Concernant la littérature grise, nous avons retrouvé deux études. La première concernait un suivi de la qualité bactériologique d'un établissement d'aquaculture intensive en 1994 et 1995 ; la seconde faisait un bilan succinct des recherches de *Vibrio* réalisées par les laboratoires côtiers de l'Ifremer.

a) Suivi en aquaculture intensive (Noirmoutier, Anonyme non daté)

L'objectif de l'étude microbiologique était d'étudier la qualité sanitaire de l'eau de mer utilisée pour un élevage piscicole puis rejetée en milieu marin. Il s'agissait également d'évaluer l'impact de ce système d'élevage sur la présence et la multiplication de *Vibrio* halophiles potentiellement pathogènes pour l'homme. Un suivi a été réalisé pendant quinze mois, du 9 mai 1994 au 3 juillet 1995 avec une interruption de janvier à mars 1995, sur des huîtres ayant préalablement séjournées sur site pendant un mois. Les coliformes thermotolérants (CTT), quantifiés par conductancemétrie (méthode Malthus), et les *Vibrio* ont été recherchés dans quatre sites de la zone d'élevage (à la prise d'eau dans l'étier, dans la réserve, au sein de l'élevage et au rejet dans le même étier). Les *Vibrio* ont été mis en évidence, à l'ENSP (Rennes - Jean Lesne) par culture (enrichissement en eau peptonée avec NaCl 1 %, incubation à 30 °C, isolement sur deux milieux sélectifs, TCBS à 39 °C et CPC à 40 °C, quantification NPP). Les résultats ont souligné une absence de contamination fécale au rejet aussi bien en 1994 qu'en 1995. *Vibrio alginolyticus* était présent quelle que soit la saison ; en été, les concentrations variaient entre $1,5 \cdot 10^5$ et $8,2 \cdot 10^6$ /100 ml de chair et de liquide intervalvaire (CLI). *V. cholerae non-O1/non-O139* n'a jamais été détecté, *V. vulnificus* une seule fois à faible concentration (max 21 /100 ml CLI -juin 94). *V. parahaemolyticus* a été mis en évidence en mai et juin 1995, aux concentrations maximales de 95 /100 ml CLI.

b) Bilan des résultats obtenus par deux laboratoires côtiers de l'Ifremer (Grouhel, 1994)

- Suivi qualitatif dans le bassin de Marennes-Oléron (six points, pendant dix ans, isolement sur TCBS, identification sur galerie API 20 E, avec recherche de pathogénicité à l'Institut Pasteur de Paris) : cette surveillance a permis de mettre en évidence la présence de *V. alginolyticus* toute l'année, surtout entre août et novembre ; *V. parahaemolyticus* a été plus rarement isolé, essentiellement entre août et novembre, de même que *V. vulnificus*, *V. cholerae non-O1* et *V. fluvialis*.

- Suivi qualitatif dans le golfe de Ste Marie de la Mer, le golfe de Fos, la rade de Toulon et la Côte d'Azur (période indéterminée, fréquence d'échantillonnage mensuel, isolement sur TCBS) : *V. alginolyticus* était présent sur l'ensemble de la zone dans presque tous les échantillons testés (quelle que soit la saison). Sur 690 échantillons testés, les vibrions suivants ont été identifiés : *V. parahaemolyticus* (31), *V. metschnikovii* (6), *V. hollisae* (1), *V. damsela* (1).

3. Le suivi des centrales nucléaires installées le long du littoral

Depuis 1974, des études écologiques sont réalisées sur les sites d'implantation des centrales nucléaires, installées le long du littoral français. Ces études, pilotées par Ifremer, ont pour objectif d'évaluer l'impact des systèmes de refroidissement en circuit ouvert de ces ouvrages sur le milieu marin et ses ressources vivantes. Cette surveillance est réalisée sur cinq sites : Gravelines, Penly, Paluel, Flamanville et Le Blayais. Elle concerne, pour chaque secteur, les paramètres hydrologiques, de qualité d'eau, les populations benthiques, pélagiques et halieutiques avec des études spécifiques propres à chaque secteur (Le Fèvre-Lehoërff et Woehrling, 1991 ; Quintin et Bordet, 1996).

Concernant la mise en évidence des *vibrio* halophiles, deux sites présentent de longues séries de données. Il s'agit du Blayais et de Gravelines, suivis depuis 1975.

a) Le Blayais [rapports scientifiques EDF (annexe)]

Depuis le début de la mise en place de la surveillance sur ce secteur, les analyses bactériologiques ont été réalisées par le laboratoire d'Hygiène et de Santé de l'Institut Européen de l'Environnement de Bordeaux. L'échantillonnage a été effectué en bouteille stérile de 250 cc à un mètre de la surface, sur trois points de prélèvement, à basse mer, mi-marée et pleine mer, au cours de neuf campagnes annuelles (de mars à novembre).

Jusqu'en 1983, seule la bactériologie sanitaire classique était réalisée (coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux et germes anaérobies totaux). A partir de cette période, les vibrions halophiles ont été recherchés par la méthode NPP (un tube, trois dilutions). L'échantillonnage de l'eau étant réalisé en estuaire, la charge en matière organique était forte. La membrane de filtration était placée directement dans le bouillon BTB Akyama pendant 16 à 18 heures à 37 °C. L'isolement était réalisé sur gélose TCBS à 37°C (24 h), le repiquage sur gélose nutritive à 30 ‰ et Kliger à 30 ‰ puis

l'identification sur galerie API 20E. En 2000, le laboratoire d'Hygiène et de Santé de l'Institut Européen de l'Environnement de Bordeaux a modifié la méthode, utilisant la technique NPP - trois fois trois tubes ; depuis, il est revenu à la méthode initiale.

Du fait de la méthode utilisée (NPP un tube, trois dilutions) et de l'expression des données, l'exploitation des résultats reste limitée. Cette surveillance a mis en évidence les points suivants [rapports scientifiques EDF (annexe)] :

- La présence, en Gironde, de vibrions halophiles à partir de juin ou juillet et jusqu'en novembre (dernière campagne).
- L'abondance est maximum entre 18 et 22 °C, pour une salinité comprise entre 8 et 16 ‰. Lorsque la température est inférieure à 15 °C, il est rare de mettre en évidence des *Vibrio* halophiles.
- Les espèces dominantes sont *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus*. Ce dernier est le plus abondant des deux. On détecte également *V. harveyi*, *V. vulnificus* et *V. cholerae non-O1*, plus rarement toutefois.

Si la pathogénicité des souches de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae non-O1*, a été recherchée, les résultats n'ont pas été publiés dans les rapports scientifiques EDF.

b) Gravelines [rapports scientifiques EDF (annexe)]

La surveillance microbiologique du site de Gravelines a commencé en novembre 1979. La recherche des *Vibrio* halophiles a été menée, depuis lors, par Régis Delesmont du laboratoire littoral de l'Institut Pasteur de Lille (département Eaux et Environnement), situé à Gravelines.

L'analyse qui suit, a été réalisée à partir des rapports scientifiques publiés annuellement par l'Ifremer (annexe) ; pour chacun, les résultats ont été extraits et synthétisés du chapitre concernant les études bactériologiques rédigées par R. et E. Delesmont. Par ailleurs, l'ensemble des données *Vibrio*, obtenues par cette équipe dans le cadre des contrats EDF, a été saisi dans la base Quadrigé de l'Ifremer. Nous en avons fait une analyse succincte et essentiellement descriptive ; les résultats de cette analyse sont présentés sous forme graphique.

De janvier 1979 à juillet 1986, le suivi était hebdomadaire, l'échantillonnage était réalisé au point Digue. Par la suite, ce point a été abandonné et les prélèvements ont été effectués simultanément à la prise d'eau et au rejet de la centrale de Gravelines ; la fréquence d'échantillonnage était toujours hebdomadaire. Le point Digue était situé en milieu marin à équidistance des

deux autres points (1,2 km environ). Le point Prise était échantillonné à la bouteille de Van Dorn dans le canal de prise d'eau, zone de turbulences importantes. Les échantillons au point Rejet étaient récoltés en subsurface à l'aide d'un seau à la limite de l'enceinte EDF. Dans les deux cas, les prélèvements étaient réalisés à mi-marée.

De plus, un suivi sur deux points plus au large (point Contrôle présentant un échauffement résiduel de l'ordre de 3 à 4 °C par rapport au point Référence où le ΔT était nul) était assuré lors de trois campagnes pélagiques annuelles. Par contre, ces résultats n'ont pas été pris en compte dans la suite de ce rapport.

La détection et le dénombrement des vibrions cultivables à 37 °C étaient réalisés par comptage direct sur boîte. Une filtration sur membrane (porosité 0,45 μm) était nécessaire du fait de la teneur en matières en suspension des échantillons d'eau. L'isolement, sans enrichissement préalable, était effectué sur gélose TCBS à 37 °C pendant 18 à 24 heures, suivi de tests présomptifs (GRAM, Kligler et gélose salée) et confirmations (résistances au O/129, halophilie, galerie API 20E et agglutination pour souches présomptives de *Vibrio cholerae*). Les résultats étaient exprimés en nombre de germes par litre d'eau pour chaque espèce isolée. La somme des résultats par espèces fournissait la concentration en vibrions totaux.

De novembre 1979 à octobre 1988, les résultats, obtenus sur le site de la centrale, étaient globaux (nombre de *Vibrio* / litre). Au début du suivi, seul *V. alginolyticus* était présent. L'abondance était inférieure à celle mesurée au Cap Gris Nez distant de 50 km environ de la centrale de Gravelines, mais contrairement à ce qui était observé sur ce secteur, l'espèce persistait pendant l'hiver.

La figure 1 souligne l'augmentation de la densité en vibrions totaux de 1979 à 1999 dans la zone de réchauffement des eaux en fonction de la mise en service progressive de la centrale. La contamination restait limitée géographiquement, à la zone immédiate du rejet. L'année 1986 est considérée comme une année charnière avec la mise en service des six tranches de la centrale de Gravelines.



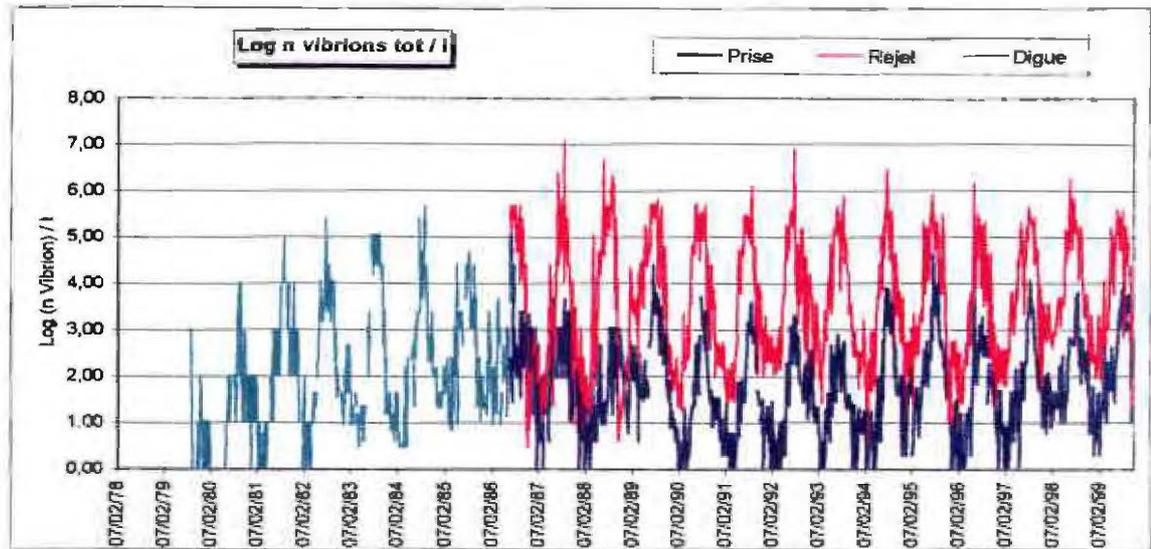


Figure 1 : Evolution de la contamination en *Vibrio* dans la zone sous influence de la centrale de Gravelines entre 1979 et 1999 (point Digue, puis simultanément au point Prise d'eau et point Rejet d'eau) – base Quadrigé, établie d'après les données fournies par R. Delesmont (Institut Pasteur de Gravelines).

La température de l'eau entre la prise et le rejet peut atteindre 11 °C. Sur la période analysée, l'échauffement moyen a été de + 9 °C ; la relation est restée très constante comme le montre la figure 2.

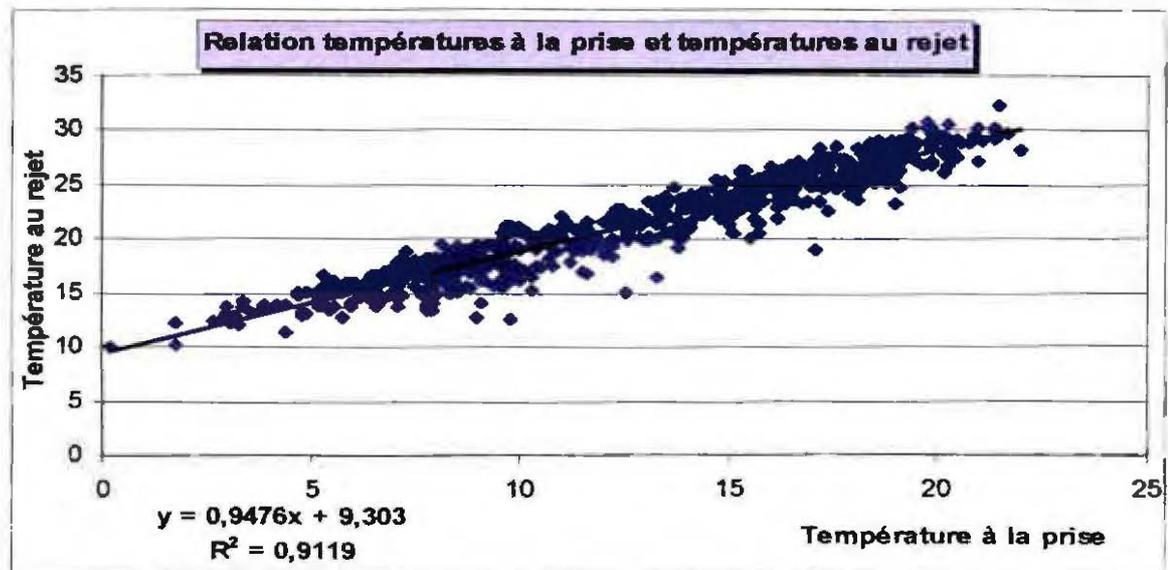


Figure 2 : Relation entre la température de l'eau à l'entrée de la centrale et celle au point de rejet - base Quadrigé, établie d'après les données fournies par R. Delesmont (Institut Pasteur de Gravelines).

Les variations de concentrations en *vibrio* observées entre le point Prise et le point Rejet (fig. 3) étaient fonction de cette différence de températures ($\Delta T^{\circ}\text{C}$). La contamination bactérienne, sur le plan quantitatif, est restée relativement stable sur la période 1986-1999. Suivant les années, le facteur de multiplication entre la prise et le rejet pouvait varier entre 35 (minimum en 1999) et 200 (maximum en 1993).

Sur l'ensemble de la période considérée, les eaux étaient chlorées au printemps et en été, pour limiter la fixation d'algues et de larves de crustacés et de mollusques dans les circuits de refroidissement de la centrale. Cette chloration réduisait momentanément les concentrations en *Vibrio* tant que le chlore résiduel était présent.

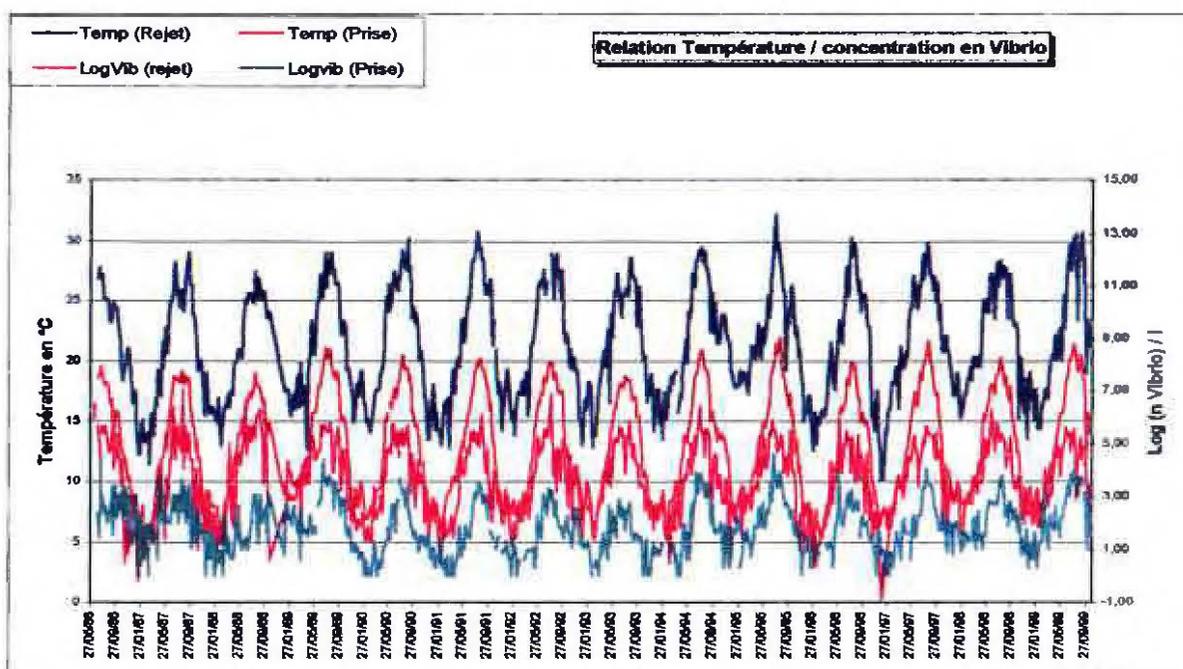


Figure 3 : Relations entre la température de l'eau et la concentration en *Vibrio* totaux, exprimée en logarithme, à la prise et au rejet entre 1986 et 1999 - base Quadrige, établie d'après les données fournies par R. Delesmont (Institut Pasteur de Gravelines).

Dès 1985, la diversité spécifique a varié, avec l'apparition sporadique de *V. parahaemolyticus*, puis de *V. cholerae non-O1*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* et *V. fluvialis*. Cette situation a été associée à la mise en place, en 1984, d'une ferme aquacole au niveau du canal de rejet, bénéficiant des eaux chaudes rejetées par la centrale pour favoriser la croissance des poissons. La production, de 80 tonnes par an au démarrage, est passée progressivement à 1 000 t / an en 1992, puis 2 000 t / an à partir de 1996. En 1989, une recherche systématique des différentes espèces de *Vibrio* présentes a été engagée pour suivre le phénomène (figures 4 et 5).

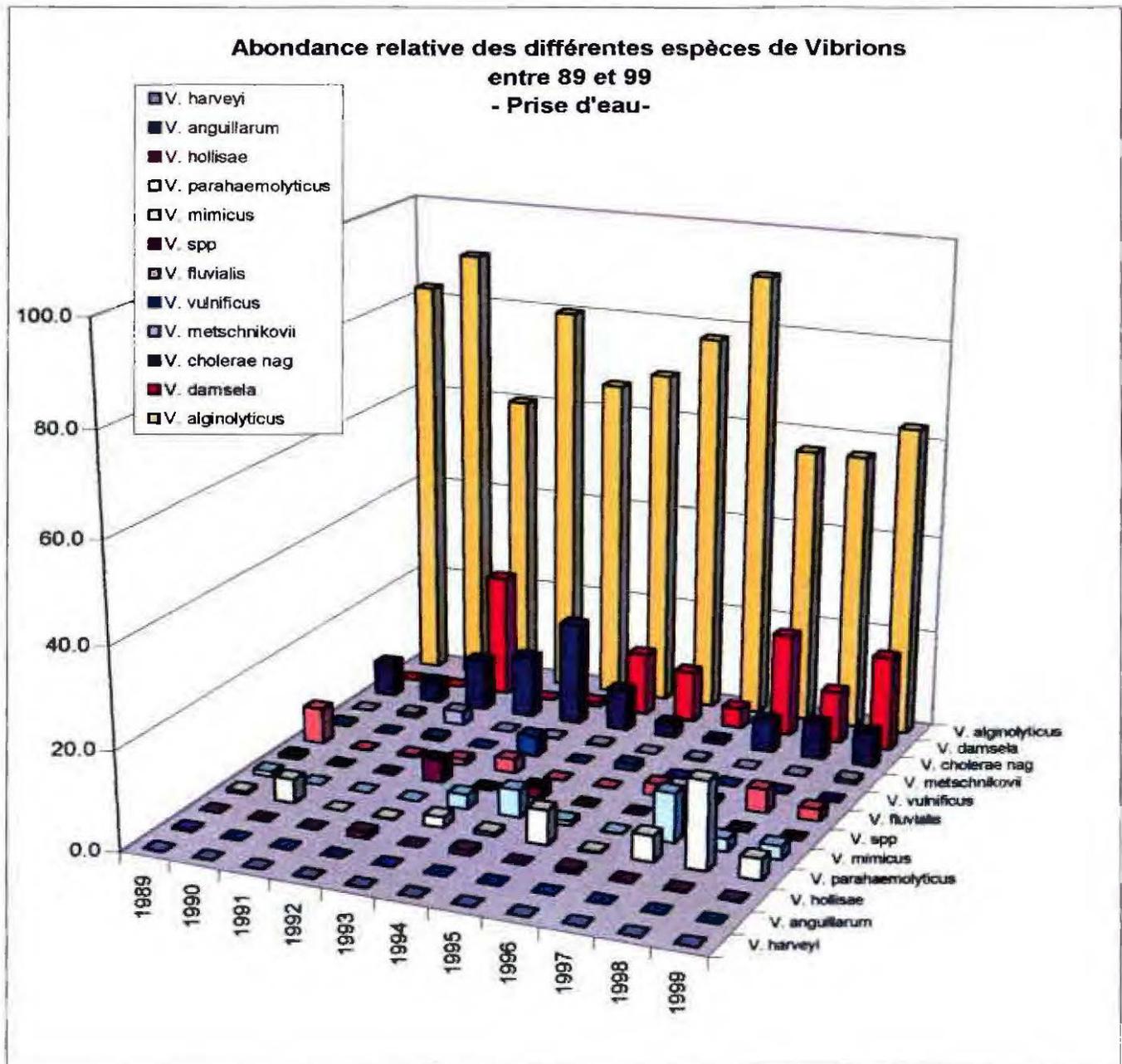


Figure 4 : Abondance relative des différentes espèces de *Vibrio* présentes au point Prise de Gravelines entre 1989 et 1999 - base Quadrige, établie d'après les données fournies par R. Delesmont (Institut Pasteur de Gravelines).

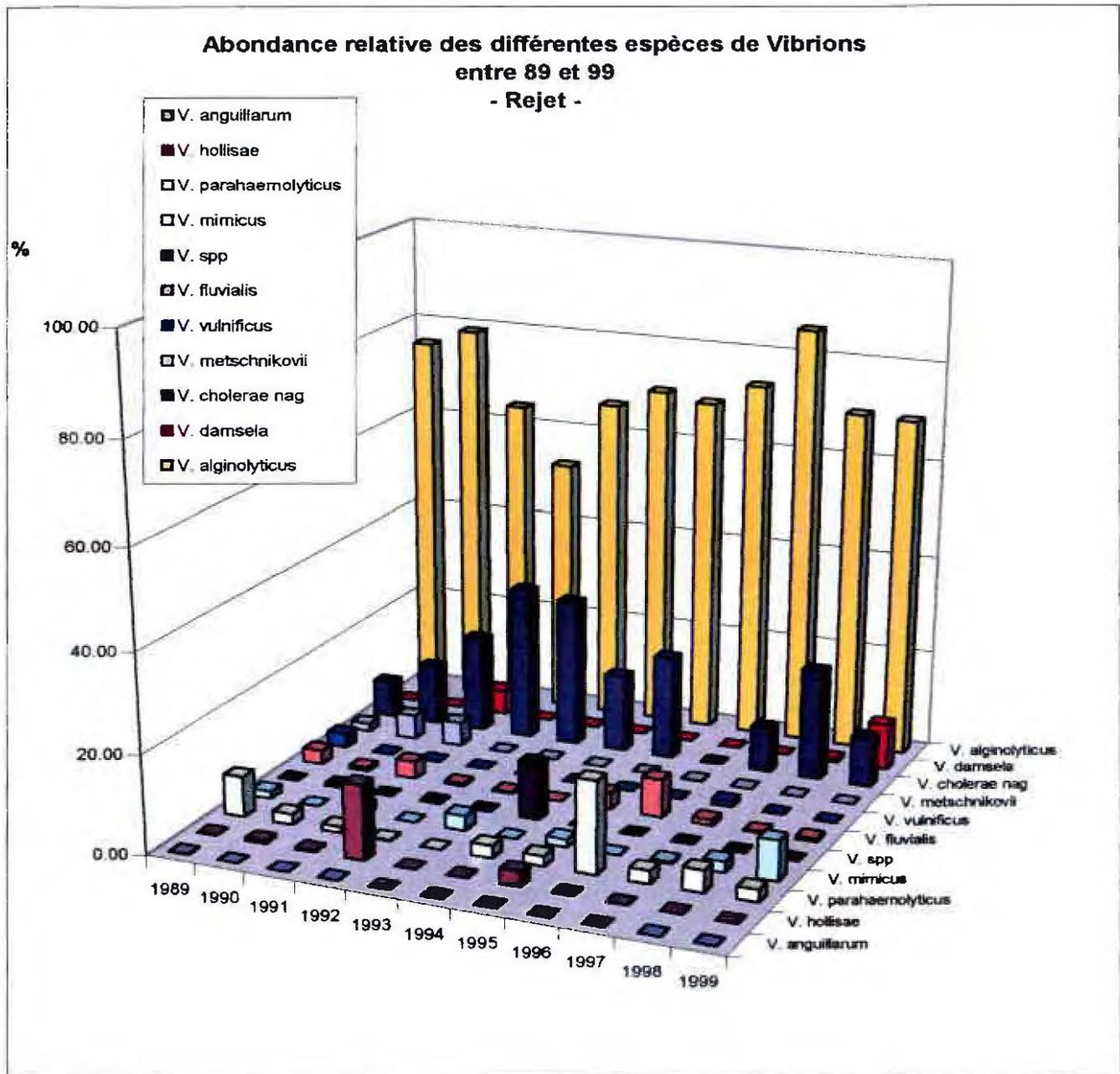


Figure 5 : Abondance relative des différentes espèces de *Vibrio* présentes au point Rejet de Gravelines entre 1989 et 1999 - base Quadrige, établie d'après les données fournies par R. Delesmont (Institut Pasteur de Gravelines).

Sur la période 1989 - 1999, l'espèce *V. alginolyticus* est restée largement dominante aussi bien à la prise qu'au rejet. Trois espèces ont été régulièrement observées *V. cholerae non-O1*, *V. damsela* et *V. parahaemolyticus*. A l'exception de *V. damsela*, le passage dans l'ensemble « centrale nucléaire et ferme aquacole », a semblé générer une augmentation de la diversité des espèces, autres que *V. alginolyticus*. D'après les auteurs de cette surveillance, l'impact de la ferme aquacole serait négligeable sur l'abondance des *Vibrio* en sortie. Si au départ, une augmentation de la diversité spécifique a été observée, celle-ci semblait stabilisée dès le début des années 90.

Un suivi réalisé par Delesmont et Delesmont (1996) en 1995 sur un gisement naturel de coquillages a montré que la diversité spécifique de *Vibrio* identifiée à Gravelines était retrouvée dans les coquillages des sites échantillonnés. Si certains d'entre eux, comme Loon Plage, étaient sous influence de l'ensemble centrale-aquaculture par le biais des courants, d'autres comme Marck ne l'étaient pas, soulignant ainsi une richesse spécifique propre au secteur.

Les souches trouvées n'ont pas fait l'objet d'une recherche de pathogénéicité. *V. cholerae O1* et *O139* n'ont jamais été détectés.

4. Discussion - conclusion

Ces études de terrain couvrent l'ensemble du littoral français. Les résultats obtenus sont cohérents d'une étude à l'autre. *V. alginolyticus* constitue l'espèce marine dominante. Elle peut être présente toute l'année si la température de l'eau le permet soit du fait de la latitude (Méditerranée), soit de conditions propres au site (rejet d'eau chaude par une centrale nucléaire). Les autres espèces de *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. cholerae non O1*, *V. metschnikovii*, *V. cambellii*) sont détectées plus sporadiquement ou localement. *V. metschnikovii* est présent essentiellement en hiver, *V. vulnificus* préférentiellement en zone dessalée, *V. parahaemolyticus* n'est pas retrouvé en Méditerranée. *V. cholerae O1* et *O139* n'ont jamais été détectés en milieu côtier métropolitain.

Le suivi, pendant plus de dix ans, des effets d'un réchauffement artificiel des eaux littorales a souligné les modifications induites par les rejets d'eaux de refroidissement de la centrale nucléaire de Gravelines sur les populations de *Vibrio* marins (présence des *Vibrio* en hiver, augmentation de la densité bactérienne et de la diversité spécifique). Le phénomène reste très localisé à proximité du rejet ; il disparaît très vite du fait de la dilution. L'accroissement de la diversité spécifique, observée au cours des années 80, a été relié à la présence d'une ferme aquacole intégrée à la centrale de Gravelines. Les rejets de ces élevages, riches en matières organiques, ont pu constituer un apport nutritif pour les espèces locales de *Vibrio*, favorisant le développement des populations. Ils ont pu également véhiculer de nouvelles espèces de *Vibrio* non présentes initialement sur le site et rejetées par les poissons d'élevage. Ce phénomène s'est stabilisé au début des années 90.

L'analyse de ces données est purement descriptive et reste succincte. Elle ne laisse pas apparaître une évolution négative de la qualité bactériologique du secteur associée à la présence de *Vibrio*.

La détection des *Vibrio* dans ces études a été réalisée par des méthodes classiques de culture mettant en évidence les formes viables. Ces techniques n'ont pas permis de vérifier le maintien du pouvoir pathogène des espèces telles que *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*.

Discussion générale

L'objectif que nous nous étions fixé était de juger du risque *Vibrio* associé au milieu marin en France. Concernant le risque dû aux vibrions cholériques, il semble, pour l'heure, peu probable puisque la présence de *V. cholerae* O1 et O139 n'a jamais été mise en évidence sur le littoral français. La circulation de ce pathogène est, en effet, très restreinte dans la population, limitée à quelques cas importés par an. Ces cas sont rapidement détectés et cliniquement suivis, limitant l'émergence de foyers épidémiques.

Le danger lié à la présence des vibrions non cholériques en milieu marin existe puisque des espèces pathogènes comme *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae non-O1/non-O139*, ont été détectées sur l'ensemble du littoral français. Par ailleurs, *V. alginolyticus*, responsable ou associé à des otites ou des infections cutanées, est naturellement inféodé au milieu marin. Il convient, cependant, de vérifier au préalable, que les souches présentes sont pathogènes. Les données épidémiologiques, basées sur des cas isolés, laissent apparaître un risque possible, mais non statistiquement démontré, associé au milieu marin. Ce risque touche préférentiellement une population humaine immunodéprimée.

Cette situation n'est pas spécifiquement française ; le danger dans l'environnement littoral (Van Landuyt *et al.*, 1985 ; Carli *et al.*, 1993 ; Hoi *et al.*, 1997 et 1998 ; Arias *et al.*, 1999 ; Maugeri *et al.*, 2000) et le risque dans la population (Hansen *et al.*, 1985 ; Molero *et al.*, 1989 ; Hornstrup et Gahrn-Hansen, 1993 ; Bock *et al.*, 1994 ; Melhus *et al.*, 1995 ; Dalsgaard *et al.*, 1996 et 2000) sont comparables dans d'autres pays européens (Suède, Hollande, Belgique, Espagne et Italie). Ce constat laisse apparaître un risque émergent car certains paramètres favorisent l'implantation et la prolifération des pathogènes dans l'environnement littoral. Il s'agit du réchauffement climatique des eaux littorales et de l'introduction d'espèces par les eaux de ballast (Epstein, 1995 ; Colwell et Huq, 2001).

Réchauffement des eaux littorales

Dans le golfe du Bengale, l'analyse simultanée de données satellitaires, hydrologiques, météorologiques et épidémiologiques, portant sur l'incidence du choléra au Bangladesh, a montré que le choléra explosait dans la population à la suite d'une augmentation exceptionnelle de la température de surface de l'océan (Colwell, 1996 ; Lobitz *et al.*, 2000). De même, le choléra est apparu au Pérou en janvier 1991 après un El Niño particulièrement important à la fin 1990. Depuis 1997, une recrudescence des cas dus à *Vibrio parahaemolyticus* aux USA a été enregistrée. On a fait l'hypothèse d'une relation avec l'élévation



de la température de la mer, surtout en 97 et 98, années à El Niño (Daniels *et al.*, 2000). El Niño est un phénomène climatique apparaissant de façon cyclique peu avant Noël dans le Pacifique sud ; il est caractérisé par un réchauffement anormal des eaux de surface le long des côtes occidentales de l'Amérique Latine. La relation entre le El Niño et les épidémies infectieuses prend son origine dans les lessivages des terres et les apports de nutriments au milieu marin. La présence en excès de ces sels nutritifs dans des eaux chaudes favorise le développement de phytoplancton responsable d'eaux colorées. Ce phytoplancton est consommé par du zooplancton, notamment les populations de copépodes, sur lesquels *Vibrio cholerae* peut s'attacher, survivre et proliférer. Ces résultats démontrent l'origine environnementale du choléra dont le caractère sporadique et erratique peut être relié aux événements climatiques (Colwell et Huq, 1999 ; Kiska, 2000 ; Lobitz *et al.*, 2000).

En Europe, l'émergence de pathologies associées à *Vibrio* a été également corrélée à des températures exceptionnelles au cours des étés 91 et 94 (Hornstrup et Gahrn-Hansen, 1993 ; Bock *et al.*, 1994 ; Melhus *et al.*, 1995 ; Dalsgaard *et al.*, 1996 ; Gras-Rouzet *et al.*, 1996 ; Dalsgaard *et al.*, 2000).

Diverses analyses récentes soulignent l'impact des changements climatiques sur les pathologies infectieuses dans la population humaine et sur les dysfonctionnements des écosystèmes littoraux (Patz et Lindsay, 1999 ; Hayes *et al.*, 2001). Ce phénomène ne semble qu'amorcé (fig. 6) et pourrait avoir des répercussions fortes dans un avenir proche, notamment dans des secteurs déjà soumis à des réchauffements spécifiques des eaux littorales (rejets d'eau chaude par les centrales nucléaires).

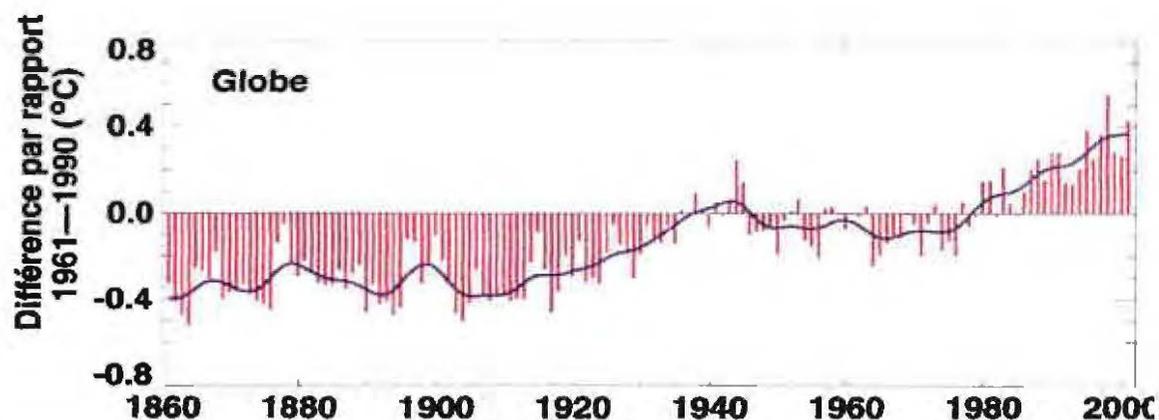


Figure 6 : Evolution de la température combinée de l'air à la surface des terres et de la mer en surface de 1860 à 2001, par rapport à la période de référence 1961-1990 pour l'ensemble du globe ; dans les courbes en trait plein, les variations d'échelle inférieure à la décennie ont été lissées à l'aide d'un filtre binomial. (Sources : Climatic Research Unit, University of East Anglia et Hadley Centre, The Met Office).

Introduction d'espèces pathogènes, d'un pays à l'autre, par les eaux de ballast

L'implication des bateaux dans l'introduction d'organismes non indigènes d'une région du monde à une autre est maintenant largement documentée. Les eaux de ballast servent de lest aux navires pour équilibrer leurs charges navigantes. Il n'existe pas de réglementation internationale régulant les pratiques du ballastage. Suivant les bateaux, ces eaux peuvent être pompées en estuaires, zones turbides chargées en particules sédimentaires. Cela entraîne des dépôts de sédiments parfois importants dans les ballasts, de l'ordre de 10 à 20 cm d'épaisseur, correspondant à plusieurs centaines de tonnes. C'est dans ces dépôts ainsi que dans les eaux pompées que peuvent se retrouver des organismes indésirables comme des microorganismes pathogènes. La plupart du temps, les déballastages ont lieu en eaux côtières abritées ou dans les ports d'arrivée, motivés par des contraintes économiques sans prise en compte des risques écologiques induits par ces pratiques (Fouche et Masson, 1999).

En juillet 1991, *Vibrio cholerae* O1 (El Tor Inaba) a été mis en évidence dans des huîtres provenant d'une zone de production de Mobile Bay (golfe du Mexique, Alabama, USA) au cours d'un échantillonnage de routine. La souche trouvée différait de la souche endémique de cette région par son activité hémolytique et la position du gène de la toxine cholérique. Par contre, elle présentait des similitudes avec la souche responsable de l'épidémie de choléra d'Amérique Latine (Motes *et al.*, 1998-b). L'investigation des sources potentielles de contamination a permis d'éliminer les rejets chimiques ou urbains (stations d'épuration et fosses septiques) et les rejets de dragages ; l'origine n'était pas locale. Par contre, l'analyse des eaux de ballast de plusieurs navires venant de ports sud américains a révélé la présence de la souche responsable de l'épidémie de choléra en Amérique Latine. De plus, cette souche présentait des similitudes avec des isolats provenant de différents pays asiatiques (Bangladesh, Inde, Indonésie, Thaïlande, Vietnam et Corée) suggérant ainsi que l'épidémie latino-américaine était une extension de la 7^{ème} pandémie d'origine asiatique. A la suite de ces résultats, des mesures de prévention ont été prises, obligeant les bateaux à changer les eaux de ballast en pleine mer, loin des côtes ; cette souche pathogène n'a plus été détectée, par la suite, dans les coquillages de Mobile Bay (McCarthy et Khambaty, 1994). Ces travaux ont conclu que les navires étaient source probable de transmission de souches hautement pathogènes et que les rejets d'eaux de ballast à proximité des côtes pouvaient être à l'origine de dissémination de microorganismes pathogènes responsables de pandémies et constituer, de ce fait, un risque grave pour la santé publique.

La recherche d'espèces indésirables dans les eaux de ballast de navires accostant dans des ports français a permis de mettre en évidence la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans un porte-containers venant des Antilles. La détection a été faite uniquement par culture confirmée par le Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra de l'Institut Pasteur de Paris (CNRVC) ; la souche n'a pas été caractérisée. Aucune souche de *Vibrio cholerae* n'a été trouvée (Masson *et al.*, 2000).

Les coquillages, eux-mêmes, pourraient être à l'origine d'introduction de souches pathogènes dans des secteurs indemnes, lors de transfert de stock suivis d'immersion.



Conclusion

Les données publiées démontrent que le risque *Vibrio* est un risque important. Ce risque est naturellement lié au milieu marin puisque les espèces en cause sont marines ou estuariennes, y compris *V. cholerae* retrouvé dans des secteurs indemnes d'épidémies. Il est en augmentation car l'évolution du climat, associé aux rejets anthropiques, favorise le développement de ces populations de *Vibrio*. De plus, à l'exception du choléra, les pathologies provoquées par ces espèces touchent préférentiellement des populations immunodéprimées, dont le nombre est en net accroissement avec l'apparition et le développement de maladies comme le SIDA et le cancer. Cette situation est très nette dans certaines régions comme la péninsule indienne, l'Amérique Latine ou les USA, où les épidémies sont, soient particulièrement dévastatrices (choléra, septicémies à *V. vulnificus*), soient plus systématiquement notifiées.

En Europe, le risque est émergent. Si on excepte le cas de l'Albanie en 1994, le choléra est absent et les pathologies graves associées aux autres espèces de *Vibrio* sont rares. Les cas sont, cependant, peu nombreux et sporadiques mais le caractère bénin de ces infections peut entraîner une sous-déclaration des cas, masquant l'importance du phénomène.

La présence des espèces pathogènes le long des côtes européennes est identifiée. Mais les données sur l'écologie des ces espèces (cycle annuel, stade VNC et maintien du pouvoir pathogène) et sur la virulence des souches présentes (identification des gènes codant pour les toxines) sont encore limitées. Le développement des outils de biologie moléculaire devrait permettre de mieux identifier et caractériser ces dangers. Ces recherches constituent les premières étapes dans une démarche d'évaluation des risques dus à *Vibrio* dans les produits de la mer et, plus généralement, en milieu marin.

Références bibliographiques

- Altekruse S.F., Cohen M.L., Swerdlow D.L., 1997. Emerging foodborne diseases. *Emerg. Infect. Dis.*, 3 (3), 285-293.
- Altekruse S. F., Bishop R. D., Baldy L. M., Thompson S. G., Wilson S. A., Ray B. J., Griffin P. M., 2000. *Vibrio gastroenteritis in the US Gulf of Mexico region: the role of raw oysters. Epidemiol. Infect.*, 124 (3), 489-495.
- Anonyme (non daté). Suivi en aquaculture intensive (Programme NORSPA, volet réduction des pollutions aquacoles - Rapport final des travaux 1994-1995. Caractérisation des effluents d'une ferme de production intensive de turbot et prospectives de traitements des rejets. NATA.
- Anonymes, 1986. A propos du choléra - été 1986. *BEH*, 44, 173-174.
- Anonymes, 1996. Cholera imported into England and Wales, 1996. *Comm. Dis. Report*, 7 (28), 250.
- Anonymes, 1998. Cholera imported into England and Wales, 1998. *Comm. Dis. Report*, 9 (15), 133.
- Anonymes 1999a. *Vibrio parahaemolyticus* in Japan, 1996-1998. Newsletter, FAO/WHO, 62, 9 p.
- Anonymes 1999b. *Vibrio fluvialis* infection. Current Notes. SCIEH weekly Report, 33 (99/49), 313.
- Arias C. R., Macian M. C., Aznar R., Garay E., Pujalte M. J., 1999. Low incidence of *Vibrio vulnificus* among *Vibrio* isolates from sea water and shellfish of the western Mediterranean coast. *J. Appl. Microbiol.*, 86 (1), 125-134.
- Aubert G., Carricajo A., Vermesch R., Paul G., Fournier J. M., 2001. [Isolation of *Vibrio* strains in French coastal waters and infection with *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139]. *Presse Med.*, 30 (13), 631-633.
- Bebear C., Richard C., Riou J.Y., Texier J., Broustet A., 1982. A propos d'un cas de septicémie à vibriion halophile lactose positif (*Vibrio vulnificus* ou *Beneckea vulnifica*). *Med. Mal. Infect.*, 12, 247-250.
- Blake P. A., Weaver R. E., Hollis D. G., 1980. Diseases of humans (other than cholera) caused by *vibrios*. *Annu Rev Microbiol.*, 34, 341-367.

- Blanche P., Sicard D., Seveli Garcia J., Paul G., Fournier J.M., 1994. Septicemia due to *non-O1 Vibrio cholerae* in a patient with AIDS. Clin. Infect. Dis., 19, 813.
- Bock T., Christensen N., Eriksen N. H., Winter S., Rygaard H., Jorgensen F., 1994. The first fatal case of *Vibrio vulnificus* infection in Denmark. Apmis, 102 (11), 874-876.
- Boudon A., Richard C., Le corre C., 1983. Premier cas autochtone de syndrome diarrhéique à *Vibrio parahaemolyticus* en France. Données bactériologiques, cliniques et épidémiologiques. Med. Mal. Infect., 13, 443-447.
- Bourdelaïs P. et Raulot J-Y., 1987. Une peur bleue, histoire du choléra en France, 1832-1854. Ed. Payot Paris. 275 pages.
- Carli A., Pane L., Casareto L., Sertone S., Pruzzo C., 1993. Occurrence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Tyrrhenian sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fulvus* (Fisher 1860). Appl. Environ. Microbiol., 59 (6), 1960-1962.
- Colwell R.R., Brayton P.R., Grimes D.J., Roszack D.B., Huq S.A., Palmer L.M., 1985. Viable but non culturable *Vibrio cholerae* and related pathogens in the environment: implications for the release of genetically engineered microorganisms. Biotechnology, 3, 817-820.
- Colwell, R.R., Tamplin M.L., Brayton P.R., Gauzens A.L., Tall B.D., Herrington D., Levine M.M., Hall S., Huq A., Sack D.A., 1990. Environmental aspects of *V. cholerae* in transmission of cholera, In: 7th ed. K.T.K. Scientific Publishers, Tokyo, Japan. Advances in Research on cholera and related Diarrheas. Sack R.B. & Zinnaka Y. (eds.). 327-343.
- Colwell R.R., 1996. Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. Science, 274 (5295), 2025-2031.
- Colwell R.R., Huq A., 1999. Global microbial ecology: biogeography and diversity of Vibrios as a model. J. Appl. Microbiol., 85 Suppl. S, 134S-137S.
- Colwell R.R., 2000. Bacterial death revisited, (325-342). In: Nonculturable Microorganisms in the Environment., Colwell R.R. & Grimes D.J. (eds), 2000, ASM Press, Washington D.C., 354 pages.



- Colwell, R. R. and A. Huq (2001). Marine ecosystems and cholera. *Hydrobiol.*, 460, 141-145.
- Cuevas G., Collazos Gonzalez M.J., Martinez Guttierrez E., Mayo Suarez J., 1998. *Vibrio vulnificus* septicemia in Spain. *An. Med. Intern.*, 15 (9), 485-486.
- Dalsgaard A., Frimodt-Moller N., Bruun B., Hoi L., Larsen J. L., 1996. Clinical manifestations and molecular epidemiology of *Vibrio vulnificus* infections in Denmark. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 15 (3), 227-232.
- Dalsgaard A., Forslund A., Hesselbjerg A., Bruun B., 2000. Clinical manifestations and characterization of extra-intestinal *Vibrio cholerae non-O1, non-O139* infections in Denmark. *Clin. Microbiol. Infect.*, 6 (11), 625-627.
- Daniels N. A., MacKinnon L., Bishop R., Altekruuse S., Ray B., Hammond R. M., Thompson S., Wilson S., Bean N. H., Griffin P. M., Slutsker L., 2000. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. *J. Infect. Dis.*, 181 (5), 1661-1666.
- Darbas H., Boyer G., Jean-Pierre H., Jean-Pierre H., Riviere M., 1992. *Vibrio alginolyticus* : isolement chez trois patients. *Revue de la littérature. Med. Mal. Infect.*, 22, 643-647.
- De Brettes A., De Carsalage G-Y., Petinelli F., Benoit-Cattin T., Coulaud X., Sassier D., Polycarpe D., 2001. Le choléra à Mayotte, *BEH*, 08/2001.
- De Raultin de la Roy Y., Grignon B., Grollier G., Paute M.C., Becq-Giraudon B., Briaud M., Matuchansky Cl., Tanzer J., 1981. Deux septicémies à *Vibrio non cholerae* (VNC) ou à *Vibrio cholerae non O1*. *Nouv. Press. Med.*, 10, 2516-2517.
- Decludt B., 1996. Maladies justifiant des mesures nationales ou internationales en 1996, document InVS.
- Delesmont R., Delesmont E., 1996. Influence des rejets de pisciculture marine sur les mollusques : populations de vibrions dans les coquillages du site aquacole de Gravelines (janvier 1995 à décembre 1995). *Contrat IFREMER 94.2.450406/DEL Brest*, 28 pages.
- Delattre J.M., Delesmont R., 1986. Halophilic vibrios and thermal effluents in the French nearshore waters of North Sea. *Second international colloquium*

on marine bacteriology, Brest 1-5-october 1984. Deuxième colloque international de bactériologie marine, Brest 1-5-octobre 1984. GERBAM, France; CNRS, Paris, France ; Ifremer, Paris, France, 1986, n°3, 491-497.

DePaola, A., 1981. *Vibrio cholerae* in marine foods and environmental waters: a literature review. J. Food. Science, 46: 66-70.

DePaola A., Kaysner C. A., Bowers J., Cook D. W., 2000. Environmental investigations of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after outbreaks in Washington, Texas, and New York (1997 and 1998). Appl. Environ. Microbiol., 66 (11), 4649-4654.

Deparis M., Gallut J., Scavizzi M., Rykner G., Auzepy P., 1971. Cholera. Epidemiological and clinical remarks a propos of a sporadic case (El Tor, *Vibrio*, Ogawa strain) observed in Paris. Bull. Acad. Natl. Med., 155 (7), 135-141.

Drona F., Canton R., Selma J.L., Garcia-Ramos F, Martinez-Ferrer M., 1991. *Vibrio alginolyticus* and swimmer's otitis externa. 2 cases and review of the litterature. Enferm. Infec. Microbiol. Clin., 9 (10), 630-633.

Epstein P.R., 1995. Emerging diseases and ecosystem instability: new threats to public health. Am. J. Pub. Health, 85 (2), 168-172.

Evans M.C., Griffin P.M., Tauxe R.V., 1999. *Vibrio* surveillance system, summary data, 1997-1998. CDC report october 4, 1999, 7 pages.

Fouche D., Masson D. 1999. Evaluation du risque d'introduction d'espèces indésirables par l'intermédiaire des eaux de ballast des navires. Rapport interne Ifremer DEL/LT/R.INT/99-10, 103 pages.

Geneste C., 1999. Infections à vibrions non cholériques : étude des cas survenus en France métropolitaine et identifiés par le Centre National de Références des vibrions et du choléra, de 1995 à 1998. Thèse de Doctorat en Médecine, 74 pages.

Geneste C., Dab W., Cabanes P-A., Vaillant V., Quilici M-L., Fournier J-M., 2000. Les vibrioses non cholériques en France : cas identifiés de 1995 à 1998 par le Centre National de Référence. BEH, 9, 38-40.

Gras-Rouzet S., Donnio P. Y., Juguet F., Plessis P., Minet J., Avril J. L., 1996. First european case of gastroenteritis and bacteremia due to *Vibrio hollisae*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 15, 864-866.

- Greco D., Luizzi I., Sallabanda A., Dibra A., Kacarricy E., Shapo L., 1995. Choléra dans la région méditerranéenne : une épidémie en Albanie, *Eurosurveillance*, 0, 1-2.
- Grouhel A., 1994. Compte rendu Réunion du Réseau Microbiologique, 30 juin et 1^{er} juillet 1994. Brest, rapport interne Ifremer, 42 p.
- Hansen W., Defresne N., Meunier-Carpentier F., 1985. Fatal septicaemia due to *Vibrio vulnificus*. *Acta Clin. Belg.*, 40 (1), 38-42.
- Hansen W., 2000. *Vibrio*, In Précis de bactériologie clinique. Freney J., Renaud F., Hansen W., Collet C., coordinateurs, ed. ESKA, 1332-1348.
- Hayes M.L., Bonaventura J., Mitchell T.P., Propsero J.M., Shinn E.A., Van Dolah F., Barber R.T., 2001. How are climate and marine biological outbreaks functionally linked ? *Hydrobiol.*, 460, 213-220.
- Hlady W.G., Klontz K.C., 1996. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *J. Infec. Dis.*, 173, 1176-1183.
- Hoi L., Dalsgaard A., Larsen J. L., Warner J. M., Oliver J. D., 1997. Comparison of ribotyping and randomly amplified polymorphic DNA PCR for characterization of *Vibrio vulnificus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63 (5), 1674-1678.
- Hoi L., Larsen J. L., Dalsgaard I., Dalsgaard A., 1998. Occurrence of *Vibrio vulnificus* biotypes in Danish marine environments. *Appl Environ Microbiol.*, 64 (1), 7-13.
- Hornstrup M.K., Gahrn-Hansen B., 1993. Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in a Danish County, 1987-1992. *Scand. Infect. Dis.*, 25, 735-740.
- Huq A., Small E. B., West P. A., Huq M. I, Rahman R., Colwell R. R., 1983. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45 (1), 275-283.
- Infuso A., de Valk H., Bigot Marie C., Fournier J. M., Cadiot G., Andremont A., Desenclos J. C., 1998. Cholera in a Paris resident with no history of travel. A case report. *Presse Med.*, 27 (5), 202-204.
- Kaneko T., Colwell R.R., 1975. Adsorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods. *Appl. Microbiol.*, 29 (2), 269-274.



- Kaneko T., Colwell R.R., 1978. The annual cycle of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Microb. Ecol.*, 4, 135-155.
- Kiska D.L., 2000. Global climate change: an infectious disease perspective. *Clin. Microbiol. Newslet.*, 22, 11, 81-86.
- Laudat P., Jacob C, Chillou C., Dudragne D., Dodin A., 1997. Infection à *Vibrio cholerae* non O1 contractée en France par un immunodéprimé : évolution bactériémique fatale. *Med. Mal. Infect.*, 27, 620-621.
- Lee C. C., Tong K. L., Howe H. S., Lam M. S., 1997. *Vibrio vulnificus* infections: case reports and literature review. *Ann. Acad. Med. Singapore*, 26 (5), 705-712.
- Le Fevre-Lehoerff G., Woehrling D., 1991. Aménagement industriel du littoral et surveillance de l'environnement : la centrale nucléaire de Gravelines (1975 à 1989). *Oceanologica Acta*, Actes du colloque International sur l'environnement des Mers épicontinentales, Lille, 20-22 mars 1990, 11, 299-311.
- Lemoine T., Germanetto P., Giraud P., 1999. Toxi-infection alimentaire à *Vibrio parahaemolyticus*. *BEH* 10, 37-38.
- Lesne J., Fournier J-M., 1998. *Vibrio*. In *Manuel de Bactériologie Alimentaire*, Sutra L., M. Federighi, J-L Jouve, coordinateurs, ed. Polytechnica, 308 p.
- Lipp E.K., Rose J.B., 1997. The role of seafood in foodborne disease in the United States of America, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 16 (2), 620-640.
- Lobitz B., Beck L., Huq A., Wood B., Fuchs G., Faruque A. S., Colwell R., 2000. From the cover: climate and infectious disease: use of remote sensing for detection of *Vibrio cholerae* by indirect measurement. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 97 (4), 1438-1443.
- Marchand M., 1986. Ecological study of vibrios in Arcachon Bay. Second international colloquium on marine bacteriology, Brest 1-5-october 1984. Deuxième colloque international de bactériologie marine, Brest 1-5-octobre 1984. GERBAM, France ; CNRS, Paris, France ; Ifremer, Paris, France, 1986, n° 3: 483-489.
- Martin Y.P., Bonnefont J.L. 1990. Annual variations and identification of Vibrios growing at 37 degrees C in urban sewage, in mussels and in



- seawater at Toulon harbour (Mediterranean, France). *Can. J. Microbiol.* 36 (1), 47-52.
- Masson D., Courtois O., Masson N., Guesdon S., Rocher G., 2000. Ballast water research in France : current status. ICES 2000 Annual Conference, 7 p.
- McCarthy S.A., Khambaty F.M., 1994. International dissemination of epidemic *Vibrio cholerae* by cargo ship ballast and other nonpotable waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (7), 2597-2601.
- Maugeri T. L., Caccamo D., Gugliandolo C., 2000. Potentially pathogenic vibrios in brackish waters and mussels. *J. Appl. Microbiol.* 89 (2), 261-266.
- Melhus A., Holmdahl T., Tjernberg I., 1995. First documented case of bacteremia with *Vibrio vulnificus* in Sweden. *Scand. J. Infect. Dis.*, 27 (1), 81-82.
- Molero X., Bartolome R. M., Vinuesa T., Guarner L., Accarino A., Casellas F., Garcia R., 1989. Acute gastroenteritis due to *Vibrio parahaemolyticus* in Spain. Presentation of 8 cases. *Med. Clin. (Barc)* 92 (1), 1-4.
- Monnereau S., Vincent D., Sommereisen J. P., Chaarani S., Laurens E., 1999. Sepsis sévère à *Vibrio vulnificus*. *Med. Mal. Infect.*, 29, 65-67.
- Morabia A., 1996. *Epidémiologie Causale*. Ed. Médecine et Hygiène, Genève, 174 p.
- Motes M. L., DePaola A., Cook D. W., Veazey J. E., Hunsucker J. C., Garthright W. E., Blodgett R. J., Chirtel S. J., 1998a. Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic Coast oysters (*Crassostrea virginica*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 64 (4), 1459-1465.
- Motes, M.L., DePaola A., Zywno-Van Ginkel S., McPhearson M., 1998b. Occurrence of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in oysters in Mobile Bay, Alabama : an ecological investigation. *J. Food Prot.*, 57 (11), 975-980.
- Oliver J.D., 2000. The public health significance of viable but nonculturable microorganisms. pp 277-300, *In: Nonculturable Microorganisms in the Environment*. Colwell R.R. & Grimes D.J., 2000 (eds). ASM Press, Washington D.C., 354 p.



- O'Neill K. R., Jones S. H., Grimes D. J., 1992. Seasonal incidence of *Vibrio vulnificus* in the Great Bay estuary of New Hampshire and Maine. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (10), 3257-3262.
- Paneth N., Vinten-Johansen P., Brody H., Rip M., 1998. A rivalry of foulness : official and unofficial investigations of the London cholera epidemic of 1854. *Am. J. Pub. Health.*, 88 (10), 1545-1553.
- Patz J.A., Lindsay S.W., 1999. New challenges, new tools: the impact of climate change on infectious diseases. *Curr. Opin. Microbiol.* 2(4), 445-451.
- Pavia A.T., Bryan J.A., Maher K.L., Hester Jr T.R., Farmer III J.J., 1989. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. *Ann. Intern. Med.*, 111, 85-86.
- Puy H., Canarelli B., Denamur E., Strunsky V., Orfila J., 1989. Otite à *Vibrio alginolyticus*. *Presse Med.*, 18, 985.
- Quintin J. Y., Bordet F., 1996. Surveillance écologique et halieutique des sites de centrales nucléaires littorales : évaluation et perspectives. *Hydroécol. Appl.*, 8 (1-2), 85-98.
- Robert R., Grollier G., Malin F., Doré P., Pourrat O., 1991. Isolation of *Vibrio alginolyticus* from blood cultures in a leukaemic patient after consumption of oysters. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 10, 987-988.
- Snow J., 1855. On the mode of communication of cholera. Churchil. Reproduit dans: Snow and cholera: Being a reprint of two papers. The Commonwealth Fund. New York. London: Humphrey Milford: Oxford University Press, 1936.
- Urdaci M. C., Marchand M., Grimont P. A., 1988. Species of the genus *Vibrio* associated with marine products from Arachon Bay. *Ann. Inst. Pasteur Microbiol.* 139 (3), 351-362.
- Van Landuyt H. W., Van Hulle B. M., Fossepre J. M., Verschraegen G., 1985. The occurrence of *Vibrio* spp. at the Belgian coast. *Acta Clin. Belg.*, 40 (1), 12-16.
- Villeneuve C., Meleder H., Bourgarel S., 1992. La prévention du choléra en Guyane. *BEH*, 33/1992, 159-160.

- West P.A., 1989. The human pathogenic vibrios--a public health update with environmental perspectives. *Epidemiol. Infect.* 103 (1), 1-34.
- Wong H. C., Liu S. H., Ku L. W., Lee I. Y., Wang T. K., Lee Y. S., Lee C. L., Kuo L. P., Shih D. Y., 2000. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates obtained from foodborne illness outbreaks during 1992 through 1995 in Taiwan. *J. Food Prot.* 63 (7), 900-906.
- Xu H. S., Roberts N., Singleton F. L., Attwell R. W., Grimes D. J., Colwell R. R., 1982. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microb. Ecol.*, 8 (4), 313-323.

Annexe

Rapports EDF

Le Blayais

Surveillance écologique du site du Blayais (1984). Année 1983. Département Environnement Littoral et gestion du Milieu Marin, CNEXO, 186 pages.

Surveillance écologique du site du Blayais (1985). Année 1984, rapport scientifique. Département Environnement Littoral et gestion du Milieu Marin, CNEXO, 263 pages avec annexe.

Surveillance écologique du site du Blayais (1986). Année 1984. Département Environnement Littoral et gestion du Milieu Marin, CNEXO, 263 pages avec annexe.

Surveillance écologique, site du Blayais (1986). Année 1985. Direction de l'Environnement et des Recherches Océaniques. Ifremer, DERO – 86.13 – EL , 169 pages pour annexe.

Surveillance écologique, site du Blayais (1987). Année 1986, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et des Recherches Océaniques. Ifremer, DERO – 87.18 – EL , 255 pages + annexe.

Surveillance écologique, site du Blayais (1988). Année 1987, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et des Recherches Océaniques. Ifremer, DERO – 88.21 – EL , 210 pages + annexe.

Surveillance écologique, site du Blayais (1989). Année 1988, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et des Recherches Océaniques. Ifremer, DERO – 89.13 – EL , 250 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1992). Année 1991, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, service Qualité du Milieu, Brest. Ifremer, DEL – 92.18, 289 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1993). Année 1992, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, service Qualité du Milieu, Brest. Ifremer, DEL – 93.10, 247 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1995). Année 1994, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, service Qualité du Milieu, Brest. Ifremer, DEL – 95.08, 251 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1996). Année 1995, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, service Qualité du Milieu, Brest. Ifremer, DEL – 96.06, 241 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1997). Année 1996, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, Cellule d'Etudes et d'Expertises Régionales, Brest. Ifremer, DEL – 97.10, 248 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1998). Année 1997, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, Cellule d'Etudes et d'Expertises Régionales, Brest. Ifremer, DEL – 98.06, 252 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (1999). Année 1998, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, Cellule d'Etudes et d'Expertises Régionales, Brest. Ifremer, DEL – 99.07, 247 pages.

Surveillance écologique, site du Blayais (2000). Année 1999, rapport scientifique. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, Cellule d'Etudes et d'Expertises Régionales, Brest. Ifremer, DEL – 00.03, 252 pages.

Gravelines

Surveillance écologique, site de Gravelines (1982). Juillet 1979 – octobre 1980, rapport scientifique, CNEXO, station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, 255 pages.

Surveillance écologique, site de Gravelines (1982). Novembre 1980 – octobre 1981, rapport scientifique, CNEXO, station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, 189 pages.

Surveillance écologique, site de Gravelines (1983). Novembre 1981 – octobre 1982, rapport scientifique, CNEXO (département Environnement Littoral), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille.

Surveillance écologique, site de Gravelines (1985). Novembre 1983 – octobre 1984, rapport scientifique, Ifremer (DERO/EL), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille.

- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1986). Novembre 1984 – octobre 1985, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Ouistreham), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, 190 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1987). Novembre 1985 – octobre 1986, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Ouistreham), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, 157 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1988). Novembre 1986 – octobre 1987, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Ouistreham), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, DERO.EL – 88.17, 156 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1989). Novembre 1987 – octobre 1988, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Ouistreham), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, DERO.EL – 89.08, 153 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1990). Novembre 1988 – octobre 1989, rapport annuel, Ifremer, station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, DRO.EL – 90.12, 120 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1991). Novembre 1989 – octobre 1990, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Lille, DERO.EL – 91.10, 93 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1992). Novembre 1990 – octobre 1991, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, DEL – 92.14, 118 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1993). Novembre 1991 – octobre 1992, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, DEL – 93.11, 104 pages.
- Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1994). Novembre 1992 – octobre 1993, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, DEL – 94.05, 116 pages.



Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1995). Novembre 1993 – octobre 1994, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, DEL – 95.07, 116 pages.

Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1996). Novembre 1994 – octobre 1995, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, DEL / Brest 96.04, 111 pages.

Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (1998). Novembre 1996 – octobre 1997, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, DEL / EC 98.03 / Brest, 123 pages.

Surveillance écologique et halieutique, site de Gravelines (2000). Novembre 1998 – octobre 1999, rapport annuel, Ifremer (Brest, Nantes, Boulogne), station marine de Wimereux, Institut Pasteur de Gravelines, R. Int. DEL/EC 00-07 Brest, 149 pages.

