

anses
alimentation, environnement, travail



Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A

Rapport

Septembre 2010

Édition scientifique



Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A

Recommandations
pour l'amélioration de la maîtrise
du risque

Rapport

Septembre 2010

Édition scientifique

Coordination rédactionnelle

Jean-Baptiste DENIS

Juliette HOSPITALIER-RIVILLON

Renaud LAILLER

Sonia TENAILLEAU



Composition du groupe de travail

Président

M. Jean-Baptiste DENIS (INRA, Jouy-en-Josas / statistique, modélisation)

Membres du groupe de travail

M. Jean CARRE (EHESP, Rennes / hydrogéologie et transfert des contaminants)
Mme Elisabeth DUSSAIX (CHU Paul Brousse, Villejuif / virologie)
M. Jean-Claude LE SAUX (Ifremer, Brest / surveillance microbiologique des coquillages et conchyliculture)
M. Antoine MONTIEL (Retraité, Choisy-le-Roi / assainissement et traitements des eaux)
Mme Monique POMMEPUY (Ifremer, Brest / microbiologie des coquillages)
Mme Véronique VAILLANT (InVS, Saint-Maurice / épidémiologie des maladies entériques et zoonoses)

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Mme Juliette HOSPITALIER-RIVILLON (coordination scientifique)
M. Renaud LAILLER (coordination scientifique)
Mme Anne THÉBAULT (expertise scientifique en appréciation de risque)

Relecteurs du rapport

M. Jean-Christophe AUGUSTIN (ENVA, Maisons-Alfort / statistique, modélisation)
M. Jean DUCHEMIN (AESN, Honfleur / assainissement et traitements des eaux)
Mme Virginie FERRE-AUBINEAU (CHU, Nantes / virologue)
M. Benoît GASSILLOUD (Anses, Nancy / microbiologie de l'eau)

et Mmes et MM. les membres des comités d'experts spécialisés « Microbiologie » et « Eaux » de l'Anses.

Organismes extérieurs consultés

MISSA 22 et l'ensemble des personnes auditionnées par le groupe de travail de l'Anses : M. Yvonnick GUILLOIS-BECEL (Cellule interrégionale d'épidémiologie Ouest, Drass Bretagne) ; M. Denis MEHNERT (DDAM 22) ; M. Jean-Luc PRIGENT (DDASS 22); Mmes Line PRIGENT et Karine PROUX et M. Jean-Pierre FARIN (DDSV 22).

Sommaire

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Introduction | 13 |
| 1.1 | Rappel de la saisine | 13 |
| 1.2 | Contexte et questions posées | 13 |
| 1.3 | Méthode d'expertise suivie par le groupe de travail | 15 |
| 2 | Identification du danger | 17 |
| 2.1 | Virus de l'Hépatite A (VHA) | 17 |
| 2.1.1 | Structure | 17 |
| 2.1.2 | Propriétés physico-chimiques | 18 |
| 2.1.3 | Persistance dans l'environnement | 21 |
| 2.1.4 | Détection du génome viral | 21 |
| 2.1.5 | Modes de transmission | 23 |
| 2.2 | Maladie | 24 |
| 2.3 | Epidémiologie de l'hépatite A | 25 |
| 2.3.1 | Au niveau international | 25 |
| 2.3.2 | En France | 27 |
| 3 | Contamination des coquillages | 34 |
| 3.1 | Sources de contamination des coquillages | 34 |
| 3.1.1 | Les rejets d'eaux usées brutes et traitées | 35 |
| 3.1.2 | Les boues de station d'épuration | 38 |
| 3.1.3 | Les rejets directs à partir du réseau de collecte des eaux usées | 38 |
| 3.1.4 | Les rejets d'eaux pluviales | 38 |
| 3.1.5 | Les rejets de l'assainissement non collectif | 39 |
| 3.1.6 | Les eaux de rivière | 40 |
| 3.1.7 | Les autres sources possibles de contamination | 41 |
| 3.2 | Facteurs liés à l'environnement | 41 |
| 3.2.1 | Milieu terrestre | 41 |
| 3.2.2 | Milieu marin | 41 |
| 3.2.3 | Critères de vulnérabilité d'une zone conchylicole | 45 |
| 4 | Surveillance et contrôle réglementaire | 48 |
| 4.1 | Surveillance des rejets | 48 |
| 4.2 | Surveillance de la qualité de l'eau | 48 |
| 4.3 | Surveillance de la contamination bactériologique des coquillages et classement de zones conchylicoles | 48 |
| 4.3.1 | Les modalités de surveillance | 49 |
| 4.3.2 | Le classement des zones de production conchylicole | 49 |
| 4.3.3 | Le classement des zones de pêche à pied de loisir | 52 |
| 4.3.4 | Le dispositif d'alerte d'événements de contamination | 52 |
| 4.4 | Surveillance de la contamination virale des coquillages | 53 |
| 5 | Le cas de la Baie de Paimpol | 54 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 5.1 | Contexte épidémiologique | 54 |
| 5.1.1 | Epidémies..... | 54 |
| 5.1.2 | Données de la DO de l'Hépatite A pour les communes de Paimpol, Plouézec, Ploubalzanec, Plourivo | 55 |
| 5.2 | Description du site conchylicole | 55 |
| 5.2.1 | Le milieu marin | 55 |
| 5.2.2 | La zone de production conchylicole | 60 |
| 5.3 | Description du système d'assainissement | 61 |
| 5.3.1 | Population | 61 |
| 5.3.2 | Habitations | 62 |
| 5.3.3 | Assainissement collectif des communes de Paimpol, Ploubalzanec et Plourivo | 63 |
| 5.3.4 | Assainissement collectif de la commune de Plouézec | 66 |
| 5.3.5 | Assainissement collectif de la commune de Kerfot | 68 |
| 5.4 | Système de surveillance et de contrôle..... | 69 |
| 5.4.1 | Surveillance REMI de la Baie de Paimpol | 69 |
| 5.4.2 | Plan de surveillance DGAI..... | 70 |
| 5.4.3 | Plan de contrôle DDPP 22 (ex-DDSV)..... | 70 |
| 5.4.4 | Autocontrôles des professionnels..... | 70 |
| 5.4.5 | Plan de surveillance MISSA 22 | 73 |
| 5.4.6 | Résultats microbiologiques..... | 75 |
| 5.4.7 | Contrôles <i>a priori</i> et <i>a posteriori</i> de la contamination des coquillages..... | 76 |
| 6 | Tentative d'approche quantitative..... | 78 |
| 6.1 | De l'homme au coquillage : contamination des coquillages par les rejets fécaux humains.. | 79 |
| 6.2 | Du coquillage à l'homme : comparaison de l'efficacité de différents systèmes de surveillance et de gestion des coquillages..... | 81 |
| 7 | Synthèse et recommandations | 84 |
| 7.1 | Recommandations générales..... | 84 |
| 7.2 | Spécificité de la Baie de Paimpol | 87 |
| 8 | Conclusion..... | 89 |
| | Annexe 1: Saisine de la DGAI et DGS du 12 février 2009..... | 90 |
| | Annexe 2 : Modélisation du transfert du VHA depuis l'excrétion humaine jusqu'aux coquillages..... | 93 |
| | Annexe 3 : Modélisation de différents systèmes de surveillance et de gestion des coquillages..... | 95 |
| 9 | Références bibliographiques..... | 105 |

Liste des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Génome du virus de l'hépatite A | 17 |
| Figure 2 : Evolution des géotypes du VHA en France : données du CNR..... | 18 |
| Figure 3 : Histoire Naturelle de l'hépatite A..... | 26 |
| Figure 4 : Niveau d'endémicité de l'hépatite A dans le monde. | 26 |
| Figure 5 : Taux d'incidence des cas d'hépatite aiguë A notifiés en France dans la déclaration obligatoire par sexe et classe d'âge (en années), France métropolitaine, 2006-2008. | 29 |
| Figure 6 : Distribution mensuelle des cas d'hépatite A notifiés en France dans la déclaration obligatoire, 2006-2009..... | 29 |
| Figure 7 : Incidence départementale des cas d'hépatite A déclarés en France métropolitaine de 2006 à 2008, par département de résidence. | 30 |
| Figure 8 : Devenir des microorganismes dans la zone côtière (Pommepeuy, Hervio-Heath et al. 2006). | 42 |
| Figure 9 : Synoptique de la surveillance des produits conchylicoles. | 50 |
| Figure 10 : Représentation schématique de la Baie de Paimpol | 56 |
| Figure 11 : Représentation schématique des courants dans la Baie de Paimpol, au début du flot (5 heures avant la pleine mer), à marée de mortes eaux..... | 57 |
| Figure 12 : Modélisation de l'impact d'un rejet du by-pass (10^7 CF/100ml) sur les concentrations maximales en marées de Vives eaux. | 58 |
| Figure 13 : Communes du bassin versant de la Baie de Paimpol et chevelu hydrographique. | 61 |
| Figure 14 : Localisation de la station de traitement des eaux usées des communes de Paimpol, Ploubazlanec et Plourivo..... | 63 |
| Figure 15 : Réseau d'assainissement des eaux usées de Paimpol et Ploubazlanec – Localisation des postes de relèvement littoraux et des rejets (source Ddass.22- JL Prigent)..... | 65 |
| Figure 16 : Localisation de la station de traitement des eaux usées de la commune de Plouézec..... | 67 |
| Figure 17 : Réseau d'assainissement des eaux usées de Plouézec – Localisation des postes de relèvement et des rejets (source Ddass.22- JL Prigent) | 68 |
| Figure 18 : Localisation de la station de traitement des eaux usées de la commune de Kerfot. | 69 |
| Figure 19 : Carte du cadastre conchylicole de la Baie de Paimpol - Ploubazlanec et localisation des stations REMI des groupes II et III (Source : com pers/ LER.FBN D. Gerla)..... | 70 |
| Figure 20 : Représentation graphique des résultats exprimés en <i>E. coli</i> /100g (de chair et de liquide inter valvaire), obtenus dans les coquillages des stations REMI des zones classées de la Baie de Paimpol (22-20) et de Ploubazlanec (22-222), au cours de la période 1998-2007 (Ifremer, 2008)..... | 72 |
| Figure 21 : Classement sanitaire des zones de production de coquillages, secteur de Plouha à Pleubian (Arrêté Préfectoral du 18.06.2008)..... | 73 |
| Figure 22 : Carte de la Baie de Paimpol indiquant les différents points de prélèvement (réseau REMI, points MPR de la MISSA22, zones de dépôts, zones de pêche récréatives). | 74 |

| | |
|---|-----|
| Figure 23 : Représentation schématique du cycle de transfert du VHA entre la population humaine et les coquillages. | 78 |
| Figure 24 : Représentation schématique de la modélisation du transfert du VHA entre une population humaine spécifique et les coquillages. | 80 |
| Figure 25 : Représentation schématique du principe de modélisation de la contamination humaine par le VHA à partir d'une situation spécifique de contamination des coquillages. .. | 81 |
| Figure 26 : Situation 1 de la contamination des coquillages (évolution temporelle). Deux accidents de contamination élevée, de courte durée sont suivis d'une décontamination régulière et homogène. | 97 |
| Figure 27 : Situation 2 de la contamination des coquillages (évolution temporelle). Deux accidents de contamination longue, élevée en VHA dans les coquillages et très variable dans le temps. | 97 |
| Figure 28 : Actes de consommation en fonction des jours de l'année (évolution temporelle). Le nombre d'actes de consommation diminue en période estivale, les petits pics correspondent aux week-ends, les deux grands pics à la période de fin d'année. | 98 |
| Figure 29 : Relation dose-réponse utilisée pour la modélisation..... | 98 |
| Figure 30: Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 1. | 102 |
| Figure 31 : Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 2. | 104 |

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Stabilité du VHA face à différents agents physiques et chimiques. | 19 |
| Tableau 2 : Efficacité de différents procédés d'inactivation du VHA appliqués à des aliments. | 20 |
| Tableau 3 : Techniques utilisées pour quantifier le génome du VHA dans les aliments (tableau tiré de (Sanchez, Populaire <i>et al.</i> 2006).)..... | 23 |
| Tableau 4: Répartition par pays et par type de coquillage des épidémies de VHA associées à la consommation de coquillages dans le monde, publiées de 1966 à 2009. | 27 |
| Tableau 5 : Nombre de cas d'hépatite A notifiés dans la DO en France de 2006 à 2009. | 28 |
| Tableau 6 : Nombre de cas d'hépatite A notifiés dans la déclaration obligatoire dans les départements côtiers, 2006-2009..... | 32 |
| Tableau 7 : Epidémies d'hépatite A imputées à la consommation de coquillages en France, 1991-2009. | 33 |
| Tableau 8 : Paramètres influençant la présence de pathogènes dans les coquillages..... | 35 |
| Tableau 9 : Concentrations en norovirus observées dans les eaux brutes..... | 36 |
| Tableau 10 : Moyennes des concentrations en VHA et norovirus dans échantillons d'eaux usées traitées (tableau partiel extrait de (Le Guyader and Pommeupuy 2009))..... | 37 |
| Tableau 11 : Efficacité des traitements d'eaux usées sur les norovirus (Le Guyader and Pommeupuy 2009)..... | 37 |
| Tableau 12 : Temps de survie des microorganismes en mer (T90, exprimé en heure, temps nécessaire pour que la population diminue d'un facteur 10) (Pommeupuy, Hervio-Heath <i>et al.</i> 2006) | 44 |

| | |
|---|-----|
| Tableau 13 : Critères microbiologiques applicables pour le classement sanitaire des zones de production conchylicole (d'après le règlement (CE) N° 854/2004, modifié par les règlements (CE) n°1666/2006 & 1021/2008). | 51 |
| Tableau 14 : Nombre de cas d'hépatite A notifiés dans la DO chez des résidents des communes de Paimpol, Plouézec, Ploubalzanec et Plourivo, 2006-2009. | 55 |
| Tableau 15 : Tonnages transférés d'huîtres creuses adultes sans marquage sanitaire en 2001 à partir de la région conchylicole de Bretagne-Nord (Données Agreste, 2005). | 61 |
| Tableau 16 : Population par tranches d'âge des communes littorales de la Baie de Paimpol (INSEE.2006) | 62 |
| Tableau 17 : Résidences principales selon la période d'achèvement (INSEE, 2006) | 62 |
| Tableau 18 : Bilan des dysfonctionnements du réseau d'assainissement des communes de Paimpol, Ploubalzanec et Plourivo pour les années 2008 et 2009 (source : commune Paimpol, février 2010). | 65 |
| Tableau 19 : Bilan des dysfonctionnements du réseau d'assainissement de la commune de Plouézec (source : commune Paimpol, février 2010)..... | 67 |
| Tableau 20 : Qualité estimée des zones de production conchylicole de la Baie de Paimpol, anse de Launay et Ile Blanche suivant les seuils <i>E. coli</i> de l'arrêté du 21/05/1999 et du règlement (CE) n°854/2004 (Bilan national REMI 2008. Ed2009). | 73 |
| Tableau 21 : Prélèvements microbiologiques comportant une recherche VHA par Ifremer réalisés entre le 24 août et le 31 décembre 2007. | 75 |
| Tableau 22 : Les neuf résultats positifs en VHA sur un total de 158 analyses menées entre janvier 2008 et Décembre 2009. | 76 |
| Tableau 23 : Proportions d'excréteurs par tranche d'âge, utilisées pour la modélisation. | 93 |
| Tableau 24 : Résultats des simulations de l'excrétion de différentes sous-populations..... | 94 |
| Tableau 25 : Illustration de fourchettes des quatre paramètres décrivant un cas de figure de la première étape. | 94 |
| Tableau 26 : Description des 14 systèmes de surveillance et de gestion de la contamination des coquillages par VHA, considérés dans cette étude. | 100 |
| Tableau 27 : Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 1 (valeurs moyennes et intervalles de crédibilité). | 102 |
| Tableau 28 : Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 2 (valeurs moyennes et intervalles de crédibilité). | 104 |

Liste des sigles et acronymes

AESN : Agence de l'eau Seine-Normandie.

AFNOR : Association française de normalisation.

Afssa : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

ANC : Assainissement non collectif.

AP : Arrêté préfectoral.

AQR : Appréciation quantitative des risques.

ARN : Acide ribonucléique.

ARS : Agences régionales de santé.

CE : Commission européenne.

CEN : Comité européen de normalisation.

CépiDC-Inserm: Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès, Institut national de la santé et de la recherche médicale.

CES : Comité d'experts spécialisé.

CLI : Chair et liquide inter valvaire (de coquillage).

CNC : Comité national de la conchyliculture.

CNR : Centre national de référence.

DBO5 : La demande biochimique en oxygène (DBO) correspond à la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les matières organiques biodégradables dans une eau. Celle-ci est mesurée au bout de 5 jours.

DCE : Directive Cadre Eau.

DDAM : Direction départementale des affaires maritimes.

DDASS : Direction départementale des affaires sanitaires et sociales.

DDPP : Direction départementale de la protection des populations.

DDSV : Direction départementale des services vétérinaires.

DDTM : Direction départementale des territoires et de la mer.

DGAI : Direction générale de l'alimentation du ministère chargé de l'agriculture.

DGS : Direction générale de la santé du ministère chargé de la santé.

DO : Déclaration obligatoire.

EHESP : Ecole des hautes études de santé publique.

EN : European norme (Norme européenne).

G/mL : Génome(s) par millilitre.

GD : Glande digestive (de l'huître).

geq : Génome équivalent

ggl / ggII : Génogroupes I et II.

GU : Unité génomique.

HA : Hépatite A.

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point (Analyse des dangers – points critiques pour leur maîtrise).

IC : Intervalle de confiance.

IFREMER : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer.

INRA : Institut national de la recherche agronomique.

INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale.

InVS : Institut de veille sanitaire.

ISO : International organization for standardization (Organisation internationale de normalisation).

LER : Laboratoires environnement ressources, Ifremer.

MBV : Mollusques bivalves vivants.

MISSA 22 : Mission interservices de sécurité sanitaire des aliments du département des Côtes d'Armor.

MPR : (zone) MISSA – Pêche récréative.

NF : Norme française.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

OR : Odd-ratio.

PEG : Polyéthylène-glycol

PC : Plan de contrôle.

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction d'amplification en chaîne par polymérase).

pfu : Plaque-forming unit (« unité formant plaque »). En virologie, ces plaques correspondent à des plages de lyse au sein d'une monocouche contigüe de cellules en culture, dans des conditions particulières. Ces plages de lyse sont le résultat de l'infection des cellules par une particule virale.

pdu : PCR detected unit (« unité détectée par PCR »).

PO : Performance Objective (Objectif de performance).

PR : Poste de relèvement.

PS : Plan de surveillance.

RCO : Réseau de contrôle opérationnel.

RCS : Réseau de contrôle et surveillance.

REMI : Réseau de surveillance microbiologique des zones de production conchylicoles, animé par l'Ifremer.

REU : Réseau d'eaux usées.

RGPP : Révision générale des politiques publiques.

RNB : Réseau national de bassin.

RR : Risque relatif.

RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse).

SATESE : Service d'Assistance Technique aux Exploitants de Stations d'Épuration.

SRC : Section régionale conchylicole.

STEP : Station d'épuration.

TCID₅₀ : Tissue Culture Infectious Dose 50 (dose infectieuse entraînant une destruction de 50 % de la culture cellulaire infectée).

VHA : Virus de l'hépatite A.

VLP : Particules similaires à des virus (Virus Like Particle) utilisées pour des expérimentations de comportement physique.

Résumé du rapport

Dans une saisine adressée à l'Afssa le 12 février 2009, reposant sur la situation particulière de la Baie de Paimpol, la Direction Générale de l'Alimentation et la Direction Générale de la Santé posaient plusieurs questions à propos de la contamination des coquillages par le virus de l'hépatite A et des mesures de surveillance adaptées qu'il convenait de mettre en place :

- 1/ Transmettre des recommandations générales pour l'amélioration de la maîtrise de la contamination des coquillages par le VHA, à partir :
 - d'une synthèse des éléments précédemment rendus par l'Afssa ;
 - d'un examen du plan d'action destiné à assurer le suivi de la qualité sanitaire des coquillages en période de pollution de la Baie de Paimpol, conduit par la Mission interservices de sécurité sanitaire des aliments (MISSA) du département des Côtes d'Armor suite à l'épidémie de 2007 ;et identifier les sujets qui nécessitent un travail d'expertise complémentaire ;
- 2/ Évaluer la possibilité de pomper en zone B de l'eau destinée aux bassins conchylicoles à terre, si elle subit un traitement de décontamination préalable ;
- 3/ Recommander des modalités de surveillance et de contrôle de l'eau et des coquillages de la Baie de Paimpol en cas de source de pollution identifiée, tenant compte notamment des différents paramètres de dispersion du virus au sein du milieu ;
- 4/ Plus largement, recommander des modalités de surveillance et de contrôle à mettre en place en cas de source de pollution non identifiée ou de sources multiples suspectées.

Un groupe de travail émanant du comité d'experts spécialisé « Microbiologie » de l'Afssa a été créé, en collaboration avec le comité d'experts spécialisé « Eaux ». L'avis de l'Afssa du 23 juillet 2009, issu de l'expertise collective menée, présente les éléments de réponse aux deux premières questions posées. Le présent rapport complète cet avis et présente, à la lumière des connaissances scientifiques dont disposait le groupe de travail et des informations transmises par les gestionnaires, les éléments de réponse aux deux dernières questions.

Ce document comprend plusieurs volets : (i) l'état des connaissances sur le sujet, (ii) les systèmes de surveillance et les contrôles mis en place, (iii) une description de la situation paimpolaise, (iv) deux essais de modélisation quantitative, (v) et des recommandations générales.

Les principales caractéristiques du virus de l'hépatite A et notamment celles de sa persistance, la description de cette maladie et de sa propagation dans les populations humaines et principalement en France et enfin les circonstances qui permettent de favoriser ou de limiter la contamination par ce virus des coquillages marins dans des situations similaires à celles rencontrées dans la Baie de Paimpol sont rappelées.

L'analyse de la surveillance et du contrôle révèle des faiblesses dans le dispositif mis en œuvre, comme par exemple le manque d'indicateurs appropriés, l'insuffisance d'un échantillonnage au seul niveau des coquillages, la difficulté actuelle de quantifier la concentration virale, etc.

La Baie de Paimpol a été le théâtre en 1999 et 2007 de deux événements épidémiologiques. Les caractéristiques de ce site conchylicole sont détaillées, ainsi que les principaux facteurs, responsables potentiels de la contamination des coquillages : populations humaines, infrastructures de l'assainissement, récents dysfonctionnements observés, structure de la baie. Les mesures de surveillance et de contrôle, en particulier le dispositif imaginé et réalisé par la Mission interservices de sécurité sanitaire des aliments des Côtes d'Armor (MISSA 22), sont également présentées.

Les possibilités de mettre en place une modélisation quantitative sont abordées mais cette démarche est limitée par l'absence de connaissances sur les modalités de transfert du virus de l'hépatite A de l'homme au coquillage le long des différentes voies identifiées. Par contre, une étude de l'efficacité relative de différents types de surveillance est menée dans le cadre d'un ensemble d'hypothèses explicites. Elle met en évidence la supériorité d'un meilleur contrôle des effluents arrivant à la mer sur toute autre mesure, aussi bien en termes de santé publique qu'en termes économiques (nombre de jours d'interdiction de commercialisation des huîtres).

En conclusion, il est recommandé de collecter l'information manquante et d'améliorer la maîtrise du danger viral dans la filière concernée. La surveillance et une gestion adaptée de la production des coquillages sont nécessaires mais non suffisantes. Une bonne maîtrise de la contamination virale des coquillages ne peut être obtenue que dans le contexte d'un fonctionnement satisfaisant des réseaux d'assainissement, d'une approche préventive des contaminations et d'une diminution des activités conchylicoles dans les zones à risques. Celle-ci passe par la prise en considération de situations d'alerte, en particulier liées aux dysfonctionnements des réseaux d'assainissement.

1 Introduction

1.1 Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 12 février 2009 par la Direction Générale de l'Alimentation et la Direction Générale de la Santé :

- d'une demande d'évaluation concernant les modalités de surveillance à mettre en place dans des zones de conchyliculture et de pêche à pied, régulièrement ou accidentellement contaminées par le virus de l'hépatite A avec application à la situation spécifiquement rencontrée dans la Baie de Paimpol ;
- d'une demande de recommandations pour permettre une meilleure maîtrise de ce danger au niveau national. Le texte complet de cette saisine se trouve dans l'annexe I du rapport.

1.2 Contexte et questions posées

Les coquillages, en particulier les huîtres, sont des organismes qui se nourrissent par filtration de l'eau du milieu aquatique. Ils peuvent ainsi concentrer des contaminants microbiens dont les virus entériques et engendrer des infections, voire des épidémies, parmi les populations consommatrices de ces produits (consommés crus ou peu cuits).

La maîtrise du danger viral passe donc par une évaluation des sources de contamination de l'environnement aquatique des coquillages, en complément d'une mise en place de mesures de maîtrise adaptées en conchyliculture. Comme l'indique un récent rapport de l'OMS, la protection de la santé publique exige une surveillance active du milieu hydrique et du produit final afin de s'assurer que les contrôles sont suffisants (WHO 2010).

L'origine de la présence des virus dans les coquillages et/ou leur environnement est généralement due à un événement ponctuel de contamination, qui peut être difficilement identifiable. La source de la contamination peut être diffuse, présenter un débit faible, voire être intermittente ; autant de caractéristiques qui rendent alors la source difficile à identifier. Les compartiments environnementaux tels que les sols, les sédiments, les eaux souterraines et les eaux de surfaces, dans lesquels les virus peuvent être retenus et persister, constituent également des sources secondaires potentielles de contamination virale.

La réglementation européenne relative aux eaux est très riche. Le sujet du présent rapport est en relation avec les eaux conchylicoles, de baignade, les eaux résiduaires urbaines et plus globalement la gestion des eaux et la stratégie pour le milieu marin pour lesquelles des directives ont été prises.

Des critères de qualité basés sur la recherche d'*E. coli*, sont fixés par la directive 2006/113/CE¹. Cette même directive exige la réalisation de profils de vulnérabilité pour chaque zone de production conchylicole. Ces profils doivent comprendre :

- une description des caractéristiques physiques, géographiques et hydrologiques des eaux de baignade et des autres eaux de surface du bassin versant, qui pourraient être sources de pollution ;
- une identification et une évaluation des sources de pollution qui pourraient affecter les eaux de baignade et altérer la santé des baigneurs.

Pour les eaux de baignade, des critères de qualité sont fixés par la directive 76/160/CEE² pour les 5 paramètres microbiologiques suivants: coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux, salmonelles et entérovirus. Il faut noter que cette directive sera abrogée à compter du 31 décembre

¹ Directive 2006/113/CE du Parlement européen et du Conseil, du 12 décembre 2006, relative à la qualité requise des eaux conchylicoles.

² Directive 76/160/CEE du Conseil, du 8 décembre 1975, concernant la qualité des eaux de baignade.

2014, et remplacée par la directive 2006/7/CE³ qui prévoit pour les eaux côtières des critères de qualité pour les Entérocoques intestinaux et *Escherichia coli*. Cette directive exige, dans son article 6, que les états membres établissent les profils de leurs eaux de baignade, au plus tard au début de 2011. L'élaboration de ces profils répond aux mêmes exigences que celles établies pour les profils de vulnérabilité des zones conchylicoles.

Concernant la collecte, le traitement et le rejet des eaux résiduaires urbaines, la directive 91/271/CEE⁴ impose des obligations de moyens mais ne précise aucune limite microbiologique dans les eaux traitées.

Force est de constater qu'aucun critère n'est fixé sur les virus dans les eaux environnementales, cependant des mesures indirectes sont prévues pour prévenir leur transfert dans le milieu. La gestion des eaux est organisée au niveau communautaire pour satisfaire aux exigences de la directive cadre sur l'eau (DCE) 2000/60/CE⁵. Elle concerne toutes les ressources en eau et notamment des eaux côtières, afin de prévenir et de réduire leur pollution, de promouvoir leur utilisation durable et de protéger leur environnement. La mise en œuvre de la DCE doit permettre notamment d'atteindre un niveau de protection des eaux des zones d'élevage de mollusques équivalant au minimum à celui actuellement assuré par la directive 2006/113/CE relative à la qualité des eaux conchylicoles.

En accord avec la réglementation, une étude de vulnérabilité des zones de production ou de gisements naturels de coquillages devrait être mise en œuvre. Les informations portant notamment sur les réseaux d'eaux usées et les stations d'épuration (STEP) y compris leurs défaillances, ainsi que sur les émissaires, les déversoirs d'orage, les surverses de postes de relèvement des eaux usées, les apports fluviaux, les facteurs de marée et les courants, les vents dominants ou encore sur la fréquence des orages violents doivent être relevées et utilisées par les gestionnaires pour prendre les décisions de fermeture et de réouverture des zones (WHO 2010).

La dernière épidémie française provoquée par le virus de l'hépatite A et liée à la consommation d'huîtres a été rapportée en 2007. Entre le 1^{er} juillet et le 15 octobre de cette année, 111 cas humains d'hépatite A ont été recensés et parmi les cas documentés (n=104), 81% d'entre eux avaient consommés des huîtres et 87% des coquillages crus. Les produits incriminés provenaient d'un établissement conchylicole implanté dans les Côtes d'Armor, en Baie de Paimpol. La source de contamination n'a pas été identifiée mais l'hypothèse d'une contamination des coquillages, suite à des débordements du réseau pluvial ou des rejets d'eaux usées contaminées, à proximité de l'établissement, est avancée (Guillois-Becel, Couturier *et al.* 2009).

Plusieurs publications de l'Afssa, parues dans les mois qui ont précédé la survenue de cette épidémie, avaient permis de souligner des axes d'amélioration pour une meilleure maîtrise du danger viral dans les coquillages. Suite à l'interdiction de commercialisation des huîtres provenant du bassin d'Arcachon à la fin de l'été 2006, l'Afssa a évalué le dispositif de surveillance du milieu ainsi que le risque lié à la consommation des coquillages (Afssa 2008). Un rapport, paru en février 2007, établissait le bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale (Afssa 2007). Il mettait en évidence des lacunes dans les connaissances qui ne permettaient pas de mener une véritable démarche d'appréciation quantitative de risque. L'avis Afssa paru en juillet 2009 en fait la revue (Afssa 2009).

Malgré ces récentes publications, le contexte épidémique rencontré dans la Baie de Paimpol en 1999 puis de nouveau en 2007 a soulevé plusieurs questions. Ces épidémies d'hépatite A sont-elles le résultat d'un phénomène aléatoire de contamination des coquillages ou bien la conséquence de facteurs locaux particuliers ? En complément des mesures impératives de gestion permettant d'identifier les sources de contamination et de les maîtriser, quelles peuvent être les voies d'amélioration du système de surveillance en place ? A partir de cette expérience locale, quelles recommandations pourraient être extrapolées au niveau national ?

La Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) et la Direction Générale de la Santé (DGS) ont saisi l'Afssa au début de l'année 2009 pour recueillir de nouvelles recommandations au regard de

³ Directive [2006/7/CE](#) du Parlement européen et du Conseil, du 15 février 2006, concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive [76/160/CEE](#).

⁴ Directive [91/271/CEE](#) du Conseil, du 21 mai 1991, relative au traitement des eaux urbaines résiduaires

⁵ Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil, du 23 octobre 2000, établissant un cadre pour la politique communautaire dans le domaine de l'eau

l'évolution des connaissances scientifiques acquises, dans une démarche d'amélioration continue des systèmes de surveillance, notamment mis spécifiquement en œuvre à Paimpol.

L'avis de l'Afssa du 23 juillet 2009 a apporté les premiers éléments de réponse à la saisine. Dans ses conclusions, l'Afssa souligne l'importance du travail mené par la Mission interservices de sécurité sanitaire des aliments du département des Côtes d'Armor, depuis la survenue de l'épidémie de 2007. L'Afssa recommande une plus grande surveillance des produits conchylicoles de la Baie de Paimpol par la recherche du VHA en situation de routine et d'alerte, au regard des risques encourus pour les consommateurs, de la production en cause et des recommandations émises ou appliquées au niveau international. En réponse à une question spécifique de la DGAI, l'avis précise également les conditions de traitement de décontamination préalable d'une eau pompée en zone B nécessaires pour l'alimentation des bassins conchylicoles à terre. A cette occasion, il a été souligné les difficultés de mise en œuvre des modalités de purification virale des coquillages (Afssa 2008).

Par ailleurs, cet avis a permis de rappeler les spécificités du dispositif français et les recommandations précédemment émises relatives à l'évaluation de la sécurité sanitaire de l'intégralité de la filière « coquillages » depuis la zone de production en mer jusqu'à la mise sur le marché.

A ce jour, le virus de l'hépatite A n'est recherché dans aucun système de surveillance. Cependant, des analyses ponctuelles peuvent être menées en situation d'alerte, suite notamment à la déclaration de cas humains d'hépatite A pour lesquels la source alimentaire est suspectée.

La conformité des produits et des procédés de conchyliculture s'appuie aujourd'hui sur un système de surveillance de la contamination bactérienne. Ce système ne permet pas de conclure sur la présence d'une contamination virale, du fait du manque de corrélation entre la présence du virus et celle de l'indicateur bactérien.

En absence de méthode d'analyse validée et normalisée, aucun critère microbiologique réglementaire européen n'a été fixé à ce jour pour les virus, quelle que soit la matrice alimentaire, mais le règlement (CE) n°2073/2005 considère nécessaire de fixer des critères applicables aux virus dans les mollusques bivalves vivants dès que les méthodes analytiques le permettront (considérant 14). Un groupe de travail a été mis en place au sein de la commission européenne de normalisation, afin de valider une méthode horizontale pour la détection des norovirus et VHA dans les aliments par RT-PCR en temps réel (groupe CEN/TC275/WG6/TAG4). Cette réflexion en cours s'appuie sur les résultats des travaux obtenus par le programme européen SeaFoodPlus (Pommepuy 2007).

L'OMS recommande dans son rapport de janvier 2010 de développer des stratégies d'échantillonnage intégrées, de mettre en place des techniques permettant de prédire, sur la base d'un suivi régulier de la qualité des eaux, le risque encouru par les populations consommatrices de coquillages (WHO 2010). En complément de son avis du 23 juillet 2009, l'Agence devait transmettre des recommandations concernant :

- les modalités de surveillance et de contrôle de l'eau et des coquillages, en cas de source de pollution identifiée, tenant compte notamment des différents paramètres de dispersion du virus au sein du milieu ;
- les modalités de surveillance et de contrôle à mettre en place en cas de source de pollution non identifiée ou de sources multiples suspectées.

Ce rapport présente les recommandations de l'Anses attendues par la DGAI et la DGS, selon l'état des connaissances disponibles. Ces éléments ont pour objectifs de favoriser le développement d'une méthodologie d'appréciation du risque qui prendrait en compte la spécificité de la problématique de contamination virale des coquillages, en cohérence avec les recommandations émises par l'OMS et les réglementations communautaire et nationale en vigueur.

1.3 Méthode d'expertise suivie par le groupe de travail

Pour mener cette expertise, un groupe multidisciplinaire a été constitué le 23 avril 2009, sur décision de la Directrice générale de l'Afssa.

Une audition du groupe de la Mission interservices de sécurité sanitaire des aliments, du département des Côtes d'Armor (MISSA 22), a été organisée le 8 juin 2009 afin que le groupe bénéficie de son expérience, de ses connaissances pratiques et mesure les difficultés techniques rencontrées, liées à l'application d'un « *plan d'action pour la prévention des épidémies à VHA par consommation de coquillages provenant de la Baie de Paimpol* ».

La progression du travail du groupe a fait l'objet d'une présentation régulière auprès des comités d'experts spécialisés « Microbiologie » et « Eaux » de l'Afssa. Le présent rapport a été adopté par ces deux comités respectivement le 1er juillet et le 6 juillet 2010.

L'expertise attendue a nécessité le recensement et la hiérarchisation des sources de contamination et des voies de transfert du virus de l'hépatite A, susceptibles de contaminer les coquillages. Sur cette base, des possibilités d'amélioration de la maîtrise du danger viral dans les coquillages ont été étudiées par modélisation de la surveillance de la contamination virale des coquillages.

Seul le virus de l'hépatite A a été considéré, même si le présent rapport fait parfois référence aux norovirus ou plus largement aux virus entériques. Par ailleurs, du fait de la situation épidémiologique, à l'origine de la saisine, le présent rapport concerne essentiellement les huîtres ou les coquillages similaires.

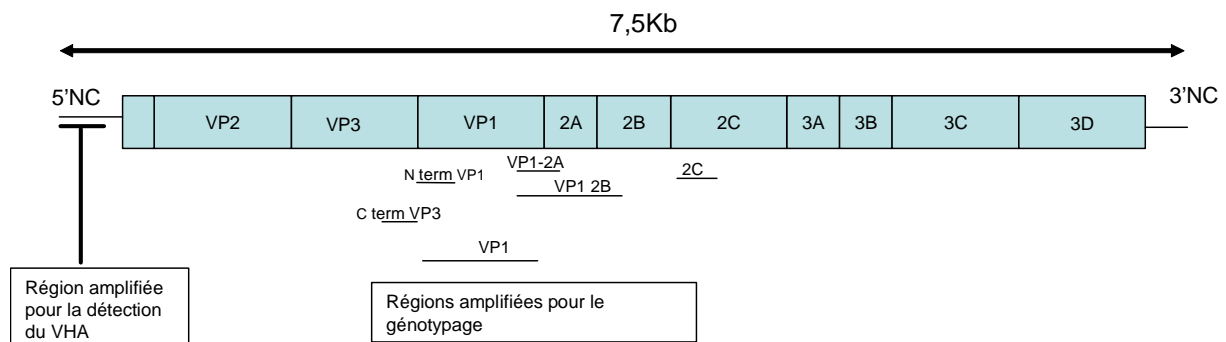
2 Identification du danger

2.1 Virus de l'Hépatite A (VHA)

2.1.1 Structure

Le VHA est un virus à ARN, non enveloppé de 28 à 30 nm de diamètre, classé dans le genre *Hepatovirus* au sein de la famille des *Picornaviridae* (Hollinger and Emerson 2001). Le virion est constitué d'une capside, icosaédrique⁶, composée de 3 protéines (VP1, VP2, VP3); elle contient le génome viral : un ARN de 7,5 kb, linéaire, monocaténaire, de polarité positive qui ne comporte qu'un seul cadre de lecture ouvert flanqué en 5' et 3' de deux régions non codantes (Figure 1).

Figure 1 : Génome du virus de l'hépatite A

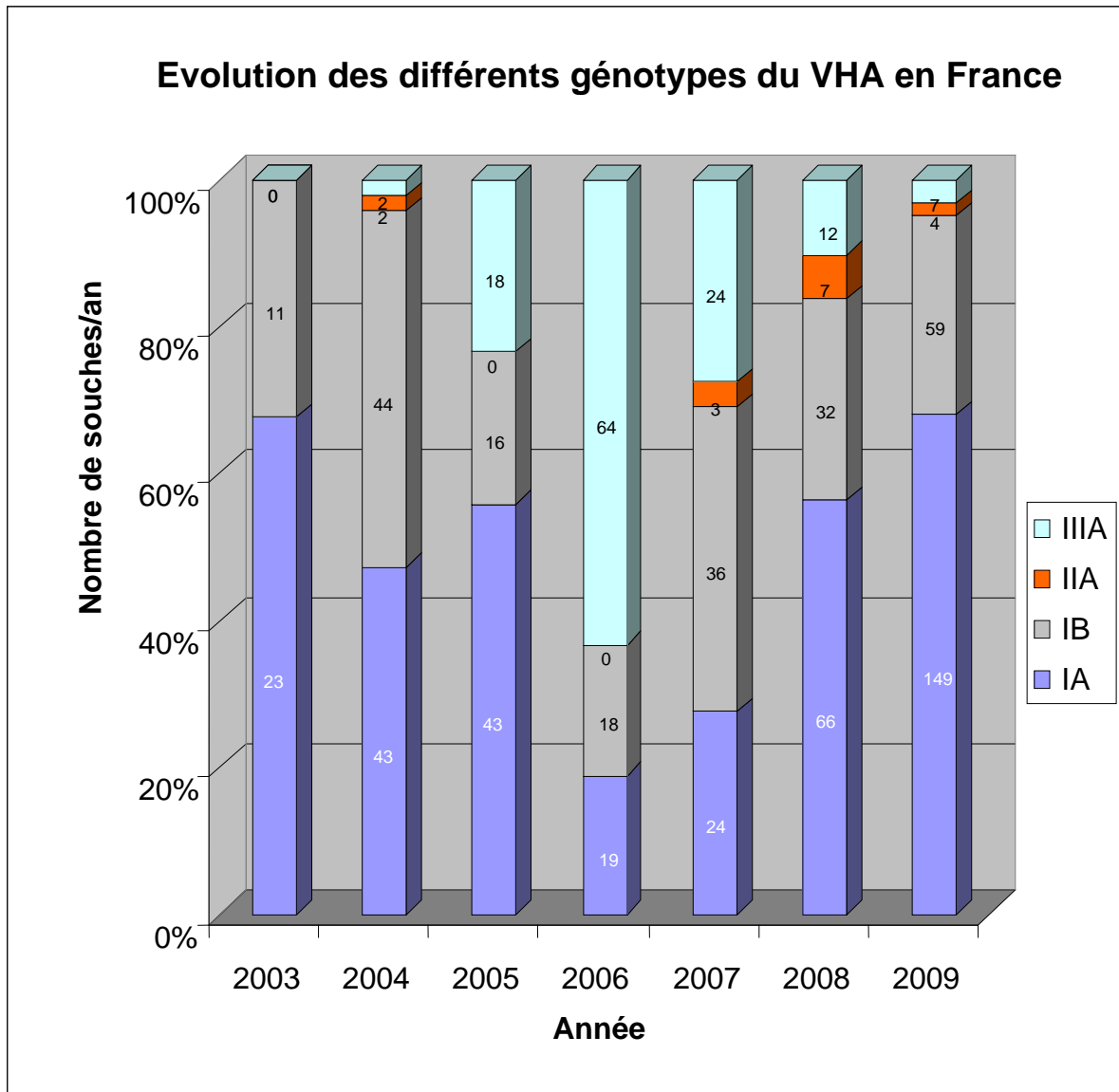


Un seul sérotype a été identifié. De ce fait on n'observe pas de réinfection par le VHA chez les sujets immunisés et l'efficacité des immunoglobulines anti-VHA est identique quelle que soit la provenance géographique du virus. Les séquences génomiques des différentes souches sont très proches, néanmoins 6 génotypes (I à VI) ont pu être décrits (Costa-Mattioli, Cristina *et al.* 2002) : les génotypes I, II et III, chacun subdivisé en 2 sous-types A et B, infectent l'homme. Les génotypes IV, V et VI ont été isolés uniquement à partir de singes. Le génotype IA, qui est mondialement répandu, prédomine aux USA, au Japon, en Europe et en Asie alors que le génotype IB est retrouvé principalement dans la région méditerranéenne, en Australie, au Japon et en Amérique du Sud. Seules quelques souches de génotype IIA ont été isolées à ce jour, essentiellement en France. Quant au génotype III, le IIIA circule surtout en Inde, au Népal, en Malaisie et au Panama, mais il a été également décrit aux USA et en Suède. Le génotype IIIB a été décrit au Japon et au Danemark (Robertson, Averhoff *et al.* 2000).

En France, le génotype IA est à nouveau majoritaire depuis 2008 (Figure 2). Le génotype IIIA n'est pratiquement plus détecté (seulement 12 fois en 2008 et 7 en 2009). Sur les 19 souches isolées, 7 étaient identiques à la souche auvergnate isolée en 2004 et retrouvée lors de l'épidémie de Paimpol en 2007.

⁶ Les génomes viraux sont emballés dans une structure protéique appelée CAPSIDE, d'un mot grec, capsas, signifiant boîte. Elle a une conformation géométrique qui, selon les virus est, soit tubulaire, soit icosaédrique, un icosaèdre étant un polyèdre à 20 faces qui sont des triangles équilatéraux, et 12 sommets.

Figure 2 : Evolution des génotypes du VHA en France : données du CNR.



2.1.2 Propriétés physico-chimiques

Le VHA est connu pour sa résistance aux agents chimiques et physiques qui lui confère une persistance prolongée dans le milieu extérieur (Tableau 1).

Inactivation par les moyens chimiques :

Le VHA résiste aux pH acides (Scholz, Heinrichy *et al.* 1989), aux solvants des lipides (éther à 20 %, chloroforme) en raison de l'absence d'enveloppe, aux concentrations de chlore présentes dans les eaux de piscine ou l'eau de boisson (Peterson, Hurley *et al.* 1983). De nombreux désinfectants comme l'alcool à 70°C et les ammoniums quaternaires (sans HCl) sont inefficaces. En revanche, le pouvoir infectieux du virus est réduit de 4 log après traitement par 0,38 ppm d'ozone à 20°C en moins d'une minute (Herbold, Flehmig *et al.* 1989), il est totalement détruit après traitement avec 2 ppm/l de chlore libre pendant 30 minutes à pH 7,0 (Peterson, Hurley *et al.* 1983). Cependant, ces études sont réalisées avec du virus purifié, en suspension dans des solutions sans matière organique. Les concentrations et/ou le temps de contact doivent être supérieurs afin d'obtenir des niveaux semblables de réduction dans de l'eau naturelle

Inactivation par des moyens physiques :

Action de la température : le VHA est résistant à la chaleur, il est stable 1h à 60°C et partiellement inactivé après 10 à 12 heures à 60°C (Murphy, Nowak *et al.* 1993). En revanche, il est inactivé par l'autoclavage (121°C pendant 20 min), un chauffage à 100°C pendant 5 min (Provost, Wolanski *et al.* 1975). Cependant les conditions environnementales dans lesquelles se trouve le virus peuvent influencer sa sensibilité à la chaleur :

- les virus présents dans les selles sont plus résistants à la chaleur que ceux cultivés in vitro ;
- l'inactivation de virus dans des coquillages nécessite des températures et des durées de cuisson plus élevées que celles nécessaires pour inactiver la même quantité de virus présente dans une suspension virale ; l'ouverture des valves, considérée traditionnellement comme un indicateur de cuisson des moules, ne s'accompagne pas d'une inactivation totale du virus. Seule une température à cœur de 85-90°C pendant 2 minutes peut détruire le virus (Crocchi, Ciccozzi *et al.* 1999).

Action des rayons ultra-violet (UV) :

Les doses d'irradiation nécessaires pour obtenir 4 log d'abattement varient de 160 à 1250 J/m² (Nuanalsuwan, Mariam *et al.* 2002; US EPA 2003). Cette amplitude de résultats peut être la conséquence de différences dans les concentrations de virus utilisées dans les études, les fortes concentrations conduisant à des agrégats plus au moins inactivés par les UV. A noter que toutes les expériences ont été réalisées sur du virus en suspension dans du tampon phosphate salin (PBS), solution sans couleur ni turbidité qui réduit au minimum l'absorption des rayons UV.

Tableau 1 : Stabilité du VHA face à différents agents physiques et chimiques.

| Agents | Réduction du titre viral (en Log10) | Conséquences pratiques |
|--|-------------------------------------|---|
| I. Physiques | | |
| 4 °C, 300 jours (Bizagos, Passagot <i>et al.</i> 1988) | <1 | Persistance dans l'eau minérale |
| 20 °C, 4 heures (Mbithi, Springthorpe <i>et al.</i> 1992) | <1 | Persistance sur les mains |
| 60°C, 19 minutes (Peterson, Wolfe <i>et al.</i> 1978) | Partielle* | Persistance après cuisson de coquillages |
| 121 °C, 20 minutes (Parry and Mortimer 1984) | >4 | Stérilisation par autoclave |
| II. Chimiques | | |
| Chlore ≤ 0,5 mg/L, 5°C, 15 minutes (Peterson, Hurley <i>et al.</i> 1983) | Partielle* | Persistance dans les eaux de distribution publique aux concentrations bactériostatiques du chlore |
| Chlore libre, 2-2,5 mg/L, 5 °C, 30 minutes (Peterson, Hurley <i>et al.</i> 1983) | >4 | Désinfection par la solution de dakin (5 mg/L) |
| Ozone, 0,25-0,38 mg/L, 20 °C, 48 secondes (Herbold, Flehmig <i>et al.</i> 1989) | >4 | Procédé de désinfection de l'eau potable (1 à 5 mg/L) |
| Ammonium quaternaire/HCl (0,4 %/23 %), 20 °C, 1 minute (Mbithi, Springthorpe <i>et al.</i> 1990) | >4 | Désinfection des surfaces |
| Glutaraldehyde 2 %, 1 minute, pH 7,5 (Mbithi, Springthorpe <i>et al.</i> 1990) | >4 | Désinfection des instruments médicaux |

Tableau 2 : Efficacité de différents procédés d'inactivation du VHA appliqués à des aliments.

Les données disponibles portent sur différents aliments mais peu d'études ciblent particulièrement les coquillages.

| Procédés d'inactivation | Produits alimentaires éventuellement concernés | réductions obtenues (log) ⁷ | Références |
|--|---|--|---|
| <u>Traitements thermiques</u> | | | |
| 100°C pendant 5 min | Tout aliment liquide ou solide porté à ébullition | >4 | (Hollinger and Ticehurst 1996) |
| 85°C pendant 30 sec | Produits laitiers | >4 | (Bidawid, Farber <i>et al.</i> 2000) |
| 80°C pendant 15 min | Moules | >4 | (Crocchi, Ciccozzi <i>et al.</i> 1999) |
| Pasteurisation de produits solides (70°C, 2 min) | Paté, aliments cuits | <2 | (Millard, Appleton <i>et al.</i> 1987) |
| Pasteurisation de produits liquides (71°C, 15 sec) | Lait, glaces | <2 | (Bidawid, Farber <i>et al.</i> 2000) |
| <u>Autres procédés physiques/ chimiques/biologiques</u> | | | |
| Dessiccation | Lait en poudre, soupes instantanées | <1 | (Hollinger and Ticehurst 1996) |
| Congélation | | nulle ou très faible | (Hollinger and Ticehurst 1996) |
| Pression hydrostatique élevée (400 MPa pendant 1 minute) | Huîtres | >3 | (Calci, Meade <i>et al.</i> 2005) |
| <u>Procédés d'inactivation du VHA dans l'eau</u> | | | |
| Chloration : 10 mg/L à pH 7, 30 min | | >4 | (Li, Xin <i>et al.</i> 2002) |
| Rayons Ultra-violets (1250 J/m ²) | | >4 | (Nuanualsuwan, Mariam <i>et al.</i> 2002) |
| Rayons Ultra-violets (160 à 380 J/m ²) | | >4 | (US EPA 2003) |
| Ozone (0,28 à 0,38 ppm) | | >3 | (Herbold, Flehmig <i>et al.</i> 1989) |

⁷ Une réduction de x logarithmes décimaux équivaut à une division par 10^x du nombre ou de la concentration concernée. Par exemple, une réduction de 2 log correspond à une division par 100.

| Procédés d'inactivation | réductions obtenues (log) ⁸ | Références |
|--|--|----------------------------------|
| <u>Désinfections du matériel et des surfaces</u> | | |
| Ethanol (70%, 10 minutes) | <2 | (Abad, Pinto <i>et al.</i> 1997) |
| Chlorexidine di gluconate 0,05%, 10 minutes | <1 | (Abad, Pinto <i>et al.</i> 1997) |
| Hypochlorite de sodium 0,125%, 10 minutes | <3 | (Abad, Pinto <i>et al.</i> 1997) |
| Chlorite de Na 30%, 10 min | >3 | (Abad, Pinto <i>et al.</i> 1997) |

2.1.3 Persistance dans l'environnement

Le VHA ne se multiplie pas en dehors de son hôte (l'homme) mais il est très résistant aux conditions physico-chimiques rencontrées dans l'environnement naturel. La température est un paramètre déterminant : plus elle est basse, plus le temps de survie est important. Le virus reste infectieux de plusieurs jours à plusieurs mois au niveau des coquillages, des sols et des sédiments marins, de l'eau douce et de l'eau de mer. Des études sur la persistance du virus dans l'eau minérale et dans l'eau de mer contaminées artificiellement ont été réalisées. Dans l'eau minérale, elles ont montré que l'inoculum de départ est réduit après 360 jours à 4°C de seulement 0.7 log et à température ambiante de 5 log tout en restant détectable (Bizagos, Passagot *et al.* 1988). Dans l'eau de mer, le virus persiste 8 semaines à 25°C, les variations de salinité ne semblant pas influencer sa persistance (Garin, Bizagos *et al.* 1996). La stabilité du virus dans les milieux liquides dépend en fait de nombreux facteurs : pH, degré d'ensoleillement ou d'éclairage, concentration en protéines, adsorption éventuelle sur des matériaux inertes en suspension.

2.1.4 Détection du génome viral

La recherche du génome du VHA, par les techniques de PCR ou de PCR en temps réel, est peu pratiquée pour le diagnostic en routine d'une hépatite A chez l'homme. En revanche, elle représente actuellement la technique de choix pour la détection du virus dans l'environnement ou les aliments. Le VHA est capable de se répliquer *in vitro* dans divers types cellulaires d'origine simienne ou humaine mais sa culture est lente et laborieuse, ne provoquant que pas ou peu d'effet cytopathogène, ce qui rend l'isolement du virus en culture cellulaire inutilisable dans le cadre du diagnostic et de ce fait inadaptée à la recherche du virus dans l'environnement notamment en contexte épidémique. Plusieurs techniques moléculaires ont été développées, amplifiant selon le cas la région 5' non codante du virus ou la région VP1, voire les deux. La région 5' est utilisée pour la quantification tandis que la région VP1 est utilisée pour le typage. Ces différentes techniques ont une sensibilité de l'ordre d'1 copie ARN par réaction (Sanchez, Bosch *et al.* 2007) (Tableau 3).

La recherche de VHA dans les aliments, en particulier dans les coquillages, se heurte à plusieurs difficultés :

- la période d'incubation longue de l'hépatite A qui fait que les aliments incriminés ne sont plus disponibles pour être analysés ;

⁸ Une réduction de x logarithmes décimaux équivaut à une division par 10^x du nombre ou de la concentration concernée. Par exemple, une réduction de 2 log correspond à une division par 100.

- la faible charge virale présente dans les aliments qui nécessite au préalable des étapes de concentration : 0,2-224 pfu pour 100 g de coquillages (Williams and Fout 1992), sachant qu'une pfu correspond à environ 100 génomes. Cependant dans des épidémies liées à des coquillages des valeurs de 10^3 - 10^5 génomes ont été trouvées par gramme de tellines (Costafreda, Bosch *et al.* 2006) ;
- la présence fréquente d'inhibiteurs de l'amplification (Atmar, Neill *et al.* 1996 ; Le Guyader, Pommepeuy 2009).

Pour l'analyse de l'eau, un prélèvement de 1 à 100 litres est généralement nécessaire. Les virus sont concentrés sur des filtres possédant des charges électriques sur lesquels ils sont retenus par des liaisons électrostatiques. Les virus ont en effet des propriétés de molécules amphotères : leur capsid possède des charges électrostatiques qui varient en fonction du pH. Pour retenir les virus sur les filtres électronégatifs, le pH de l'eau doit être acidifié tandis que les filtres électropositifs sont efficaces dans une plus grande gamme de pH (allant de la neutralité à pH acide). Les virus retenus sur les filtres sont récupérés grâce à des solutions basiques (pH 9 à 9,5) de plus faible volume (concentration de 100 à 1 000 fois). Les méthodes d'ultrafiltration se développent de plus en plus (exemple Viva-flow50, Sartorius). Une concentration secondaire est parfois réalisée par précipitation au polyéthylène glycol (PEG) ou par floculation organique afin de réduire encore le volume du concentrat (1/50 du volume du premier concentrat). Les rendements de récupération sont souvent supérieurs à 90 %.

Pour la plupart des aliments, les virus étant en surface, les particules virales (c'est-à-dire, capsides et génomes) sont récupérées par élution dans un tampon. Pour les coquillages, il a été démontré que 90% des virus étaient présents dans les tissus digestifs (Atmar, Neill *et al.* 1996). La majorité des méthodes sont donc basées sur l'analyse de ces seuls tissus. Les coquillages sont donc analysés entiers ou bien disséqués, seule la glande digestive est alors utilisée pour la recherche virale. Les tissus de plusieurs coquillages sont broyés dans une solution tamponnée à pH basique parfois supplémentée en acides aminés (glycine) permettant de détacher les virus des tissus. Après clarification, les virus sont précipités soit avec du PEG, soit par floculation organique et remis en suspension dans un volume de quelques millilitres. Le concentrat est éventuellement re-concentré par ultracentrifugation avec un agent précipitant (PEG, Pro-cipitate). Les rendements de concentration sont proches de 50 %. Certaines méthodes proposent une détection directe après traitement enzymatique des tissus des coquillages par la protéinase K ou d'autres protéines.

Pour l'eau comme pour les aliments, les acides nucléiques sont soit extraits directement à partir des concentrats, soit obtenus après purification des virus avec des anticorps fixés sur des billes magnétiques (antigène-capture). Cette dernière méthode permet de donner une information supplémentaire sur l'intégrité structurale du virus, mais elle a rarement été appliquée à des échantillons de l'environnement. La méthode d'extraction la plus simple est l'ébullition mais des solutions à base de guanidium (agents dénaturants des protéines) sont plus fréquemment utilisées pour extraire les ARN. Les ARN sont purifiés soit par simple précipitation alcoolique, et/ou par précipitation au cétyl-triméthylammonium bromure, soit par rétention sur des billes ou gels de silice, soit enfin par capture des ARN avec des sondes fixées sur des billes magnétiques (hybridation-capture). Ces techniques ont l'avantage également de concentrer les ARN et, en facilitant les lavages, d'éliminer les inhibiteurs.

Si la RT-PCR en temps réel, avec sonde d'hybridation, permet de détecter directement les échantillons positifs, en RT-PCR classique plusieurs couples d'amorces sont nécessaires afin de détecter et de caractériser le génome des souches de VHA. La sensibilité et la spécificité de la réaction sont accrues respectivement soit par une ré-amplification des produits de PCR en modifiant le couple d'amorce, soit par hybridation avec une sonde ciblant une région interne à la séquence amplifiée.

Le développement de la RT-PCR en temps réel permet d'envisager la quantification du nombre de copies d'ARN présent dans l'échantillon (Costafreda, Bosch *et al.* 2006) . Cependant cette méthode doit s'accompagner de contrôle d'extraction (addition d'un virus dans l'échantillon) et du contrôle d'efficacité d'amplification (absence d'inhibiteur). En établissant des courbes standards à partir de stock titrés de virus ou de plasmides contenant la région ciblée, il est possible de quantifier les génomes présents. S'agissant des limites de détection données dans le tableau 3, il convient de considérer les différentes étapes et le volume final de l'échantillon analysé pour estimer la sensibilité de la méthode.

La séquence d'une partie du génome dans la région caractéristique permet de relier des cas groupés d'hépatite A (HA) à une source commune ou de rattacher des cas apparemment sporadiques à une épidémie en cours. Ce typage permet par ailleurs d'apprécier la circulation des différentes souches

dans un pays et d'en préciser l'origine géographique de manière complémentaire aux données épidémiologiques.

Il n'existe actuellement aucune méthode normalisée pour la recherche du VHA dans les coquillages. Les développements normatifs sur la méthode horizontale par RT-PCR en temps réel pour la détection des norovirus et virus de l'hépatite A et son application dans les aliments sont actuellement en cours de discussions sur le plan européen et international : au niveau du comité européen de normalisation (CEN/TC275/WG6/TAG4), du Codex (élaboration de "Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of viruses in food") et de l'EFSA.

Tableau 3 : Techniques utilisées pour quantifier le génome du VHA dans les aliments (tableau tiré de (Sanchez, Populaire *et al.* 2006).)

| Région | Système de quantification | Sensibilité / réaction | Méthode |
|--------------------|----------------------------|-----------------------------------|---|
| 5' NCR | TaqMan | 5 copies | (Costa-Mattioli, Monpoeho <i>et al.</i> 2002) |
| 5' NCR | TaqMan Molecular Beacon | 0,05 TCID ₅₀ 1 copy | (Costafreda, Bosch <i>et al.</i> 2006) |
| 5' NCR | TaqMan | 60 geq mL ⁻¹ | (Villar, de Paula <i>et al.</i> 2006) |
| 5' NCR | Molecular Beacon probe | 1 pfu | (Abd el-Galil, el-Sokary <i>et al.</i> 2005) |
| 5' NCR | TaqMan | 40 geq 0.5 pfu | (Jothikumar, Cromeans <i>et al.</i> 2005) |
| 5' NCR | TaqMan | Non déterminé | (Hewitt and Greening 2004) |
| VP3-VP1 | SYBR Green | Non déterminé | (Brooks, Gersberg <i>et al.</i> 2005) |
| 5' NCR / VP4 | TaqMan | Non déterminé | (Silberstein, Xing <i>et al.</i> 2003) |
| VP1 Non précisé | FRET probes | 2 geq 0-05 TCID ₅₀ | RealArt HAV LC RT-PCR kit (artus GmbH) (Sanchez, Bosch <i>et al.</i> 2007). |
| Non précisé | FRET probes | 5 geq 0-02 TCID ₅₀ | LightCycler HAV (Roche Diagnostics) |

TCID₅₀: Tissue Culture Infectious Dose 50 (dose infectieuse en culture cellulaire à 50%) ;
geq : génome équivalent (équivalent génome)

2.1.5 Modes de transmission

L'excrétion fécale de concentrations très élevées de particules virales (10⁸ à 10¹⁰/g de selles) et leur grande résistance dans le milieu extérieur expliquent les différents modes de contamination. Dix à 100 virions pourraient entraîner l'infection d'un individu.

La transmission par voie féco-orale est de loin la plus courante.

La contamination par contact direct, de personne à personne, à partir d'un sujet infecté est la plus fréquente avec un taux d'attaque⁹ secondaire pouvant atteindre 20 à 50 % dans l'entourage du sujet infecté en cas de promiscuité et de conditions d'hygiène précaires (Staes, Schlenker *et al.* 2000). La transmission interpersonnelle serait à l'origine de la majorité des cas d'infections de source inconnue, qui représente 40 à 50% des cas diagnostiqués (Bell, Shapiro *et al.* 1998; Staes, Schlenker *et al.* 2000). Les enfants infectés sont le principal vecteur de la maladie en raison du caractère souvent asymptomatique de l'infection à cet âge, du manque d'hygiène qui leur est propre, de l'échange fréquent chez les enfants d'objets pouvant servir de vecteurs de transmission et enfin d'une période d'excrétion fécale souvent plus prolongée que celle observée chez l'adulte (Smith, Grabau *et al.* 1997). Plus de la moitié des enfants de moins de 6 ans vivant dans l'entourage d'un sujet infecté sont trouvés positifs en IgM anti-VHA (Staes, Schlenker *et al.* 2000). La transmission de personne à per-

⁹ Nombre de personnes ayant présenté une maladie, rapporté au nombre de personnes susceptibles de l'avoir. On parle de taux d'attaque pour des événements qui ne peuvent survenir qu'à une date donnée.

sonne du VHA dans les services de soins a été l'origine de plusieurs épidémies nosocomiales (Goodman 1985).

La contamination indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés est plus rare ; elle est responsable de cas isolés mais parfois d'épidémies massives. En 1988, une épidémie d'hépatite A a touché 292 300 personnes à Shanghai suite à la consommation de palourdes (Halliday, Kang *et al.* 1991). Plus récemment, en novembre 2003, une épidémie touchant plus de 700 personnes est survenue chez les clients d'un restaurant en Pennsylvanie ayant mangé des oignons verts (Wheeler, Vogt *et al.* 2005). Les cas qui apparaissent à moins de 14 jours d'intervalle correspondent généralement aux cas primaires ayant la même source alimentaire de contamination. Ceux observés au-delà de 60 jours après l'origine de l'épidémie correspondent à des cas secondaires, liés à la transmission directe du virus de personne à personne. La contamination des aliments peut survenir aux différentes étapes de la chaîne alimentaire : culture, récolte, traitement, emballage, distribution ou même lors de la préparation culinaire.

Un dysfonctionnement du procédé de potabilisation de l'eau associé à une contamination des ressources ou une pollution accidentelle du réseau par des eaux usées peut entraîner une contamination des eaux distribuées au robinet. Secondairement, les aliments lavés avec cette eau souillée et consommés crus ou peu cuits peuvent être à l'origine d'infection. Le relargage dans l'eau de mer d'eaux usées contaminées peut être aussi à l'origine d'une contamination des coquillages. Si les coquillages bivalves, les fruits et les crudités ont la réputation d'être la principale source alimentaire d'hépatite A, d'autres aliments ont été incriminés : desserts, glaces, sandwiches : 26 cas d'hépatite A ont été rapportés en Italie suite à la consommation de sandwiches contaminés par un cuisinier infecté par un variant du génotype IB (Chironna, Lopalco *et al.* 2004). Des cas d'hépatite A ont été décrits après des baignades dans des piscines ou des lacs (Hollinger and Emerson 2001). En France, une épidémie a touché, en 1993, au moins 13 enfants d'une école maternelle qui se sont vraisemblablement infectés en ingérant l'eau d'une pataugeoire souillée et dont le taux de chloration ne pouvait éliminer le virus (Hubert, Bourderieux *et al.* 1999). Une étude suggère la possibilité d'une infection via des glaçons dans un bar (Sundkvist, Hamilton *et al.* 2000). L'hépatite A est considérée à juste titre comme maladie professionnelle pour les personnes travaillant au contact d'eaux usées.

D'autres modes de contamination existent mais restent secondaires sur le plan épidémiologique. **La transmission du VHA par voie parentérale** à partir de produits sanguins labiles ou de médicaments dérivés du sang collectés chez des donneurs en phase d'incubation est possible. Cette transmission parentérale reste peu fréquente et concerne principalement des nouveau-nés non immunisés recevant des dons de sang unitaires (Cuthbert 2001). Quant aux cas d'hépatite A observés chez les toxicomanes usagers de drogues intraveineuses, ils seraient dus aux mauvaises conditions d'hygiène liées à leur marginalité plus qu'à une introduction par voie parentérale du virus (Spada, Genovese *et al.* 2005). **La transmission sexuelle** du VHA est désormais bien démontrée, elle s'observe surtout dans les communautés masculines homosexuelles, favorisée par les contacts oro-anaux et la multiplicité des partenaires. Depuis plusieurs années déjà, des épidémies sont signalées périodiquement aux USA (Centers for Disease Control and Prevention 1992), en Australie (Stokes, Ferson *et al.* 1997) et dans différents pays d'Europe (Christenson, Brostrom *et al.* 1982; Leentvaar-Kuijpers, Kool *et al.* 1995; Sundkvist, Aitken *et al.* 1997) dont la France (Delarocque-Astagneau, Valenciano *et al.* 2001).

Rappelons que, dans près de la moitié des cas d'hépatite A, aucune source infectieuse n'est retrouvée, conséquence de la durée d'incubation.

2.2 Maladie

L'hépatite A est une infection aiguë généralement bénigne, souvent asymptomatique et qui évolue vers la guérison sans séquelles dans 95 % des cas (Cuthbert 2001). La durée d'incubation est en moyenne de 30 jours pouvant aller de 15 à 50 jours. Elle ne semble pas influencée par le mode de contamination (entéral ou parentéral) (Figure 3). En revanche, elle serait d'autant plus courte que l'inoculum viral est important. Pendant cette période, le virus transite par le tube digestif puis gagne le foie où il se réplique. Les nouveaux virions sont entraînés dans la circulation générale par le sang des sinusoides hépatiques et des veines centrolobulaires, ils sont également excrétés dans la bile avant d'être éliminés dans les selles. La fréquence et la sévérité des signes cliniques augmentent avec l'âge. Alors que plus de 90 % des enfants infectés avant l'âge de 5 ans sont complètement asymptomatiques, 70 à 80 % des adultes infectés ont une symptomatologie clinique (Cf. tableau 23). La forme

ictérique typique débute brutalement par une phase prodromique associant un syndrome pseudogrippal (arthralgies, myalgies, fièvre) et des troubles digestifs (anorexie, nausée, douleurs abdominales). Ces manifestations sont suivies, après quelques jours, par l'apparition d'un ictère, d'urines foncées et d'une décoloration des selles. Les alanine-aminotransférases (ALAT) sériques sont très élevées (100 à 500 fois la normale) associées à une augmentation modérée de la bilirubine, des gamma-glutamyl transpeptidases et des phosphatases. L'ictère dure en moyenne 2 mois (1 à 4 mois). Dans ces formes typiques, la phase de virémie qui peut être détectée 1 à 2 semaines avant le début des signes cliniques, dure en moyenne 1 à 3 mois après le pic des ALAT. L'excrétion fécale du VHA débute 3 à 10 jours avant l'apparition des signes cliniques et persiste en moyenne 80 jours après (57 à 127j) lorsque détectée par RT-PCR (Tjon, Coutinho *et al.* 2006), en revanche, si recherchée par des tests moins sensibles tels la détection d'antigène par radioimmunoassay ou ELISA, l'excrétion fécale du virus ne dépasse pas en moyenne 3 semaines après le début des signes cliniques (Polish, Robertson *et al.* 1999). La présence d'anticorps anti-VHA de type IgA dans le tube digestif, formant des complexes avec les particules virales fécales peut expliquer pourquoi le VHA est détecté par les techniques de biologie moléculaires longtemps après que la recherche d'antigène VHA par ELISA ou radioimmunoassay soit négative (Hollinger and Emerson 2001). Très peu d'études quantitatives de l'excrétion fécale ont été réalisées en dehors des études faites chez le chimpanzé. L'excrétion fécale serait maximale au début des signes cliniques atteignant, suivant les méthodes utilisées, des taux de 10^9 particules/g de selles ou 10^8 copies de génome/mL. Les selles resteraient infectieuses (infection transmise aux tamarins) pendant environ 1 mois. Au-delà, la quantité de virus diminue et ne dépasserait pas 2.10^3 copies/mL à 60j après le début des signes cliniques (Tjon, Coutinho *et al.* 2006). L'excrétion fécale est intermittente et selon les études, le virus a été détecté dans les selles chez 50 à 94,5% des malades (Yotsuyanagi, Koike *et al.* 1996). Les enfants excréteraient les mêmes quantités que les adultes. Chez les prématurés (Rosenblum, Villarino *et al.* 1991) et chez les patients VIH (Costa-Mattioli, Allavena *et al.* 2002), l'excrétion fécale peut se prolonger pendant 4 à 5 mois après le début des signes cliniques.

Le diagnostic de l'hépatite A repose essentiellement sur la détection des IgM anti-VHA par des techniques ELISA. Ces IgM sont détectables au moment de l'apparition des symptômes chez la plupart des patients.

La mortalité globale liée à l'infection par le VHA est estimée entre 0,2 % et 0,4 % des cas symptomatiques mais elle dépasse 2% après 40 ans. Elle est le fait des formes graves sub-fulminantes ou fulminantes, avec nécrose massive du foie, qui s'observent surtout chez les adultes et en particulier ceux porteurs d'une hépatopathie chronique sous-jacente. Ces formes qui associent une hépatite aiguë, une encéphalopathie métabolique et un taux de facteur de coagulation V inférieur à 50 % ont un taux de létalité spontanée de 70 à 90 % ; elles peuvent conduire à la nécessité d'une transplantation hépatique en urgence. Si l'HA n'évolue jamais vers la chronicité, des rechutes peuvent se voir 4 à 15 semaines après une HA symptomatique apparemment guérie. Des formes cholestatiques¹⁰ d'évolution toujours favorable sont décrites. Quant aux manifestations extra-hépatiques, si elles aussi sont plus fréquentes chez l'adulte (manifestations neurologiques, thrombocytopenie essentielle, cryoglobulinémie), elles restent exceptionnelles.

2.3 Epidémiologie de l'hépatite A

2.3.1 Au niveau international

Cinq types de zone sont distingués en fonction du risque de transmission de l'infection:

- des zones de forte endémicité où le risque de contracter une hépatite A est très élevé et où la population autochtone est contaminée très tôt dans la vie ;
- des zones de faible endémicité où le risque de contracter une hépatite A est faible et aléatoire avec une prévalence de la population contaminée qui croît lentement avec l'âge ;

¹⁰ Formes d'hépatite A qui s'accompagnent d'un arrêt ou d'une diminution de la production de bile par dysfonctionnement des hépatocytes.

- des zones intermédiaires et des zones transitoires où la courbe de répartition de la séroprévalence se situe entre les deux précédentes ;
- des zones de très faible endémicité où le risque d'une contamination autochtone est devenu pratiquement nul. La séroprévalence dans la population âgée traduit la transmission des années antérieures.

La France est un pays de faible endémicité.

Figure 3 : Histoire Naturelle de l'hépatite A

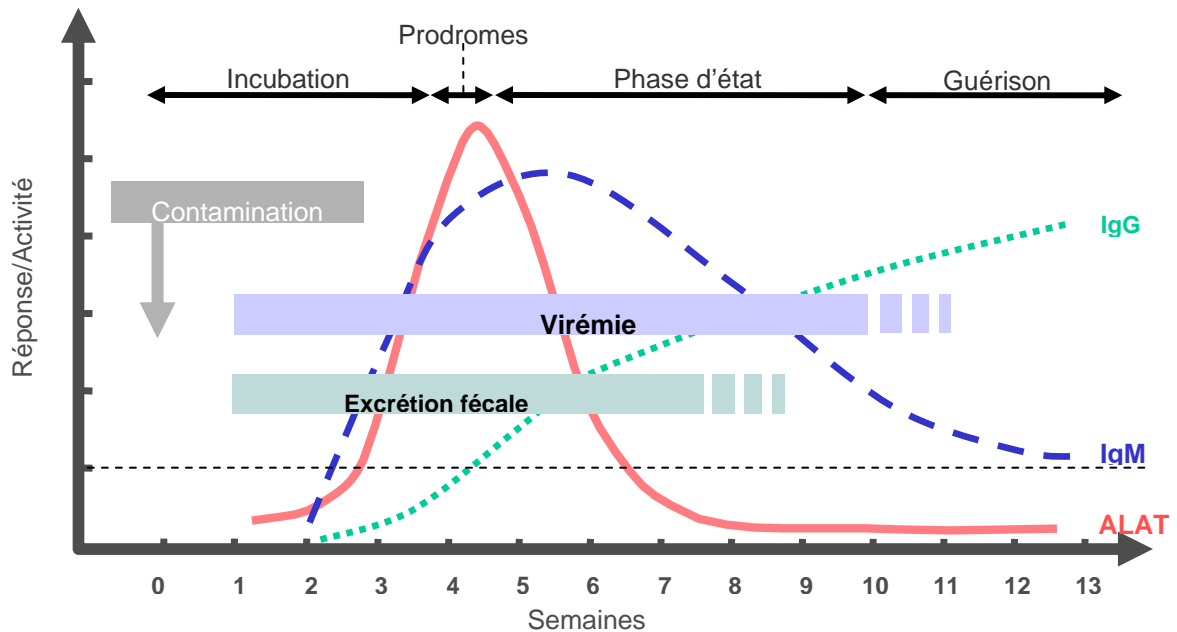
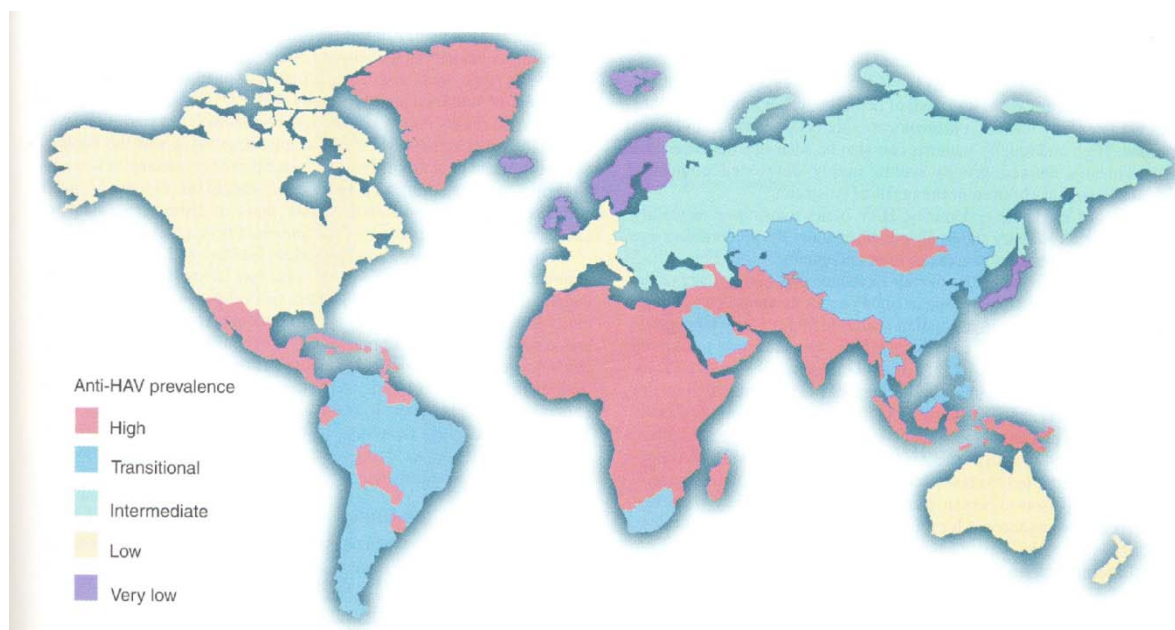


Figure 4 : Niveau d'endémicité de l'hépatite A dans le monde.



Source: Hepatitis A epidemiology in Mandell, Douglas, Bennett's Principle and practice of infectious diseases. Edition 2005. P 2166.

Epidémies d'hépatite A dans le monde liées à la consommation de coquillages

Parmi les épidémies internationales liées à la consommation de coquillages publiées entre 1966 et 2009, trente sont dues au VHA. Ce virus est responsable d'un quart de ces épidémies (Afssa 2008; Afssa 2009). Seize (53%) des épidémies d'hépatite A ont été attribuées à la consommation d'huîtres (Tableau 4). La plus importante épidémie liée à la consommation de coquillages jamais décrite est une épidémie d'hépatite A responsable de 292 300 cas (dont 47 décès) survenue à Shanghai en 1988 due à la consommation de palourdes (Cooksley 2000; Halliday, Kang *et al.* 1991; Tang, Wang *et al.* 1991; Xu, Li *et al.* 1992). D'autres épidémies importantes ont été rapportées en Italie [5620 cas dans les Pouilles en 1996 liées à la consommation d'huîtres et de moules crues (Lopalco, Malfait *et al.* 1997; Malfait, Lopalco *et al.* 1996)], en Australie [467 cas en 1997 liées à la consommation d'huîtres (Conaty, Bird *et al.* 2000)] et au Japon [225 cas en 1982 liées à la consommation d'huîtres (Fujiyama, Akahoshi *et al.* 1985)].

Tableau 4: Répartition par pays et par type de coquillage des épidémies de VHA associées à la consommation de coquillages dans le monde, publiées de 1966 à 2009.

| <u>Pays de survenue :</u> <u>(nombre d'épidémies)</u> | <u>Type de coquillage</u> <u>(nombre d'épidémies)</u> |
|--|--|
| Etats-Unis (8) | Huîtres (16) |
| France (6) | Palourdes (8) |
| Italie (5) | Moules crues (2) |
| Shanghai (Chine) (2) | Moules crues et huîtres (1) |
| Japon (2) | Coques (1) |
| Philippines (1) | Coques et huîtres (1) |
| Australie (2) | Plusieurs types de coquillages crus (1) |
| Espagne (1) | |
| Croatie (1) | |
| Grande-Bretagne (1) | |
| Singapour (1) | |

2.3.2 En France

La surveillance de l'hépatite A en France est basée sur la déclaration obligatoire (DO) mise en place en novembre 2005. Ses objectifs sont de détecter les cas groupés au niveau départemental afin de prendre les mesures de gestion ; d'estimer les taux d'incidence et les tendances ; de décrire l'évolution par classe d'âge et les expositions à risque. Un cas est défini par la présence d'IgM anti-VHA dans le sérum. Le circuit est identique à celui des autres DO : le déclarant biologiste ou clinicien envoie le signalement puis la notification à la Ddass où les fiches sont validées puis envoyées à l'InVS. Les items recueillis sont l'âge, le sexe, la profession ; la présence d'un ictère associé ou non à des symptômes ; les expositions à risque recherchées sont la présence d'autre cas dans l'entourage, d'un enfant de moins de 3 ans à domicile, le fait de travailler ou fréquenter une crèche ou un établissement pour personnes handicapées, la notion de séjour hors métropole, la consommation de coquillages. Une suspicion de cas groupés est recherchée par la Ddass et leur détection nécessite une investigation pour mesurer l'ampleur du phénomène et identifier le mode de transmission.

Les laboratoires envoient de manière volontaire des échantillons de sérum, selles ou salive pour expertise au centre national de référence (CNR) des virus des hépatites à transmission entérique (hépatite A et E). Le CNR peut effectuer la recherche du génome viral et la détermination du génotype. Ceci permet ainsi de connaître les souches circulant en France. Le CNR est également sollicité lors de l'investigation de cas groupés.

2.3.2.1 Données de la déclaration obligatoire 2006-2009

De 2006 à 2009, 5 024 cas d'hépatite aiguë A ont été déclarés. Le taux annuel d'incidence des cas déclarés étaient similaires pour les quatre années, autour de 2/100 000 (Tableau 5).

Tableau 5 : Nombre de cas d'hépatite A notifiés dans la DO en France de 2006 à 2009.

| Année de déclaration | Nombre de cas déclarés | | | Incidence annuelle en métropole /100 000 habitants |
|----------------------|------------------------|---------------|-------|--|
| | en métropole | dans les DOM* | total | |
| 2006 | 1324 | 19 | 1343 | 2,2 |
| 2007 | 988 | 22 | 1010 | 1,6 |
| 2008 | 1179 | 25 | 1204 | 1,9 |
| 2009 | 1448 | 19 | 1467 | 2,3 |
| 2006-2009 | 4939 | 85 | 5024 | 2,0 |

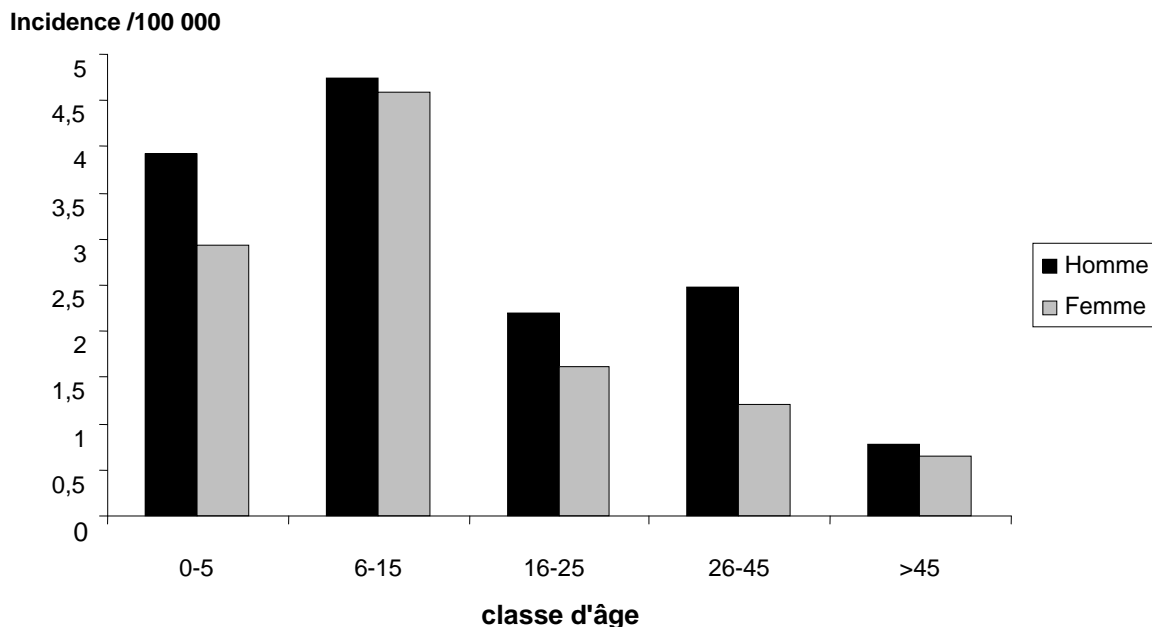
* DOM= département d'outre mer ; Source : InVS, déclaration obligatoire hépatite aiguë A

Mille-huit-cent-soixante-dix-neuf cas (41%) ont été hospitalisés et 480 (3 %) ont présenté une forme sévère nécessitant un séjour en réanimation. Aucun décès n'a été rapporté lors de la notification. '.

Le taux d'incidence le plus élevé est observé chez les enfants de moins de 16 ans (Figure 5).

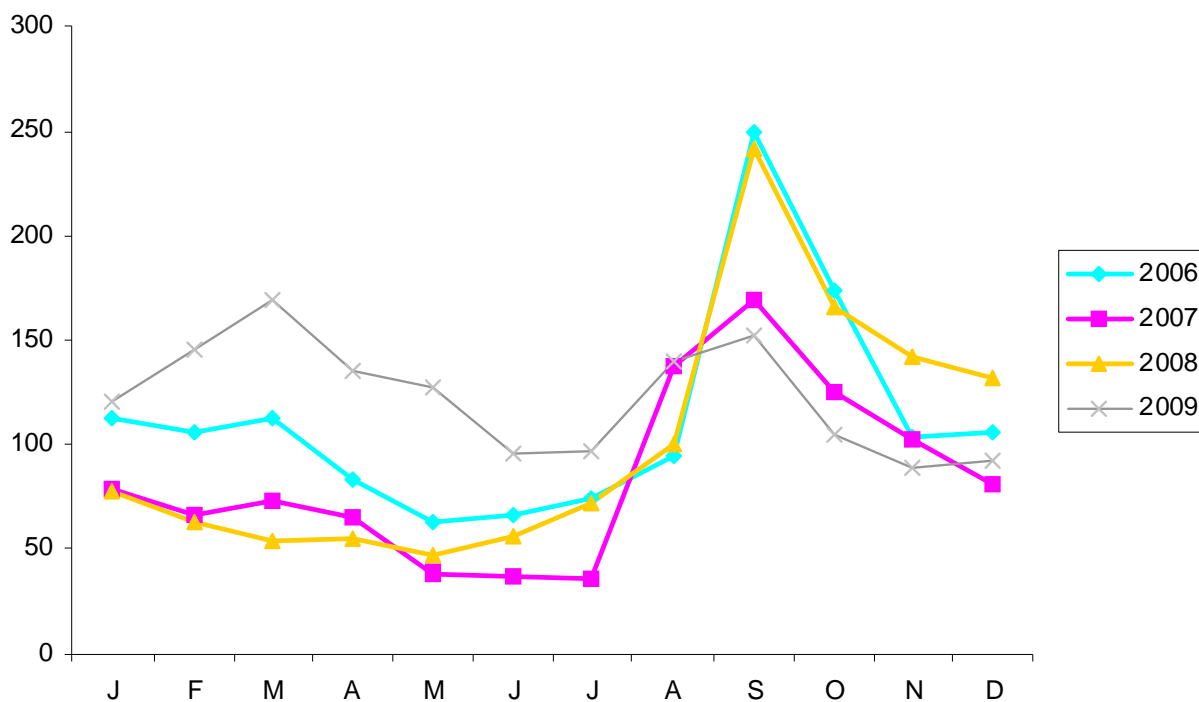
Le nombre de cas déclarés est le plus élevé au cours des mois d'août à octobre, en lien avec la survenue d'hépatite A chez des personnes contaminées lors de séjours en pays d'endémie (Figure 6). Les cas sont répartis sur l'ensemble du territoire (Figure 7).

Figure 5 : Taux d'incidence des cas d'hépatite aiguë A notifiés en France dans la déclaration obligatoire par sexe et classe d'âge (en années), France métropolitaine, 2006-2008.



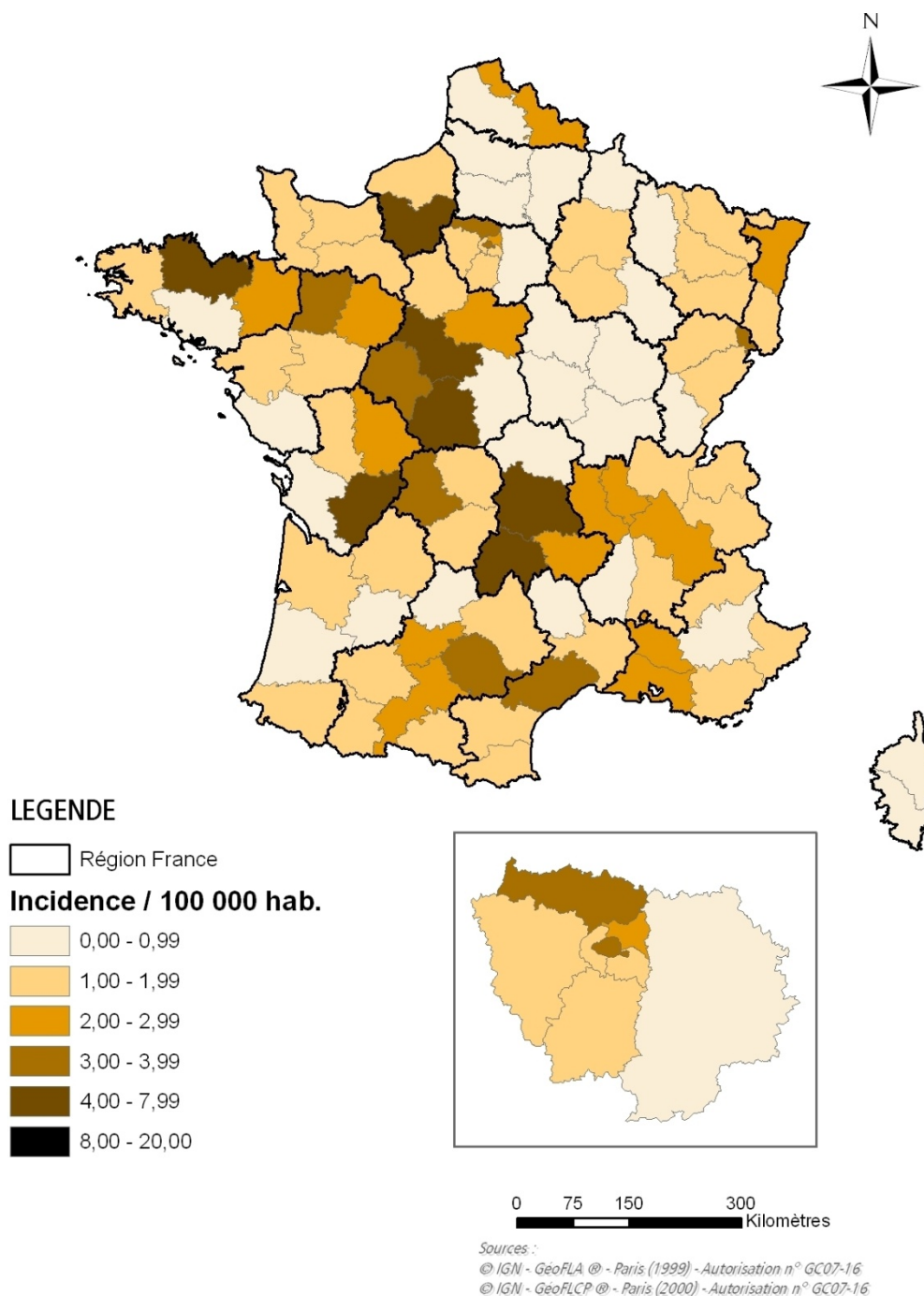
Source : InVS, déclaration obligatoire hépatite aiguë A

Figure 6 : Distribution mensuelle des cas d'hépatite A notifiés en France dans la déclaration obligatoire, 2006-2009.



Source : InVS, déclaration obligatoire hépatite aiguë A

Figure 7 : Incidence départementale des cas d'hépatite A déclarés en France métropolitaine de 2006 à 2008, par département de résidence.



Les deux principales expositions à risque rapportées dans la DO (plusieurs expositions possibles) sont la présence de cas d'hépatite A dans l'entourage, et un séjour hors métropole dans les 2 à 6 semaines avant le début de la maladie, rapportées pour respectivement 49 % et 42% des cas. De nombreux épisodes de cas groupés ont été rapportés en 2006 dans des départements du centre de la France et en 2008 dans le département du Nord parmi les gens du voyage vivant sur des sites d'accueil dans des conditions sanitaires précaires. La consommation de coquillages au cours des 2 à 6 semaines avant le début des symptômes était notée pour 25% des cas déclarés sans que l'on puisse attribuer la survenue de l'hépatite A à cette consommation.

Données de la DO de l'hépatite A dans les départements côtiers :

Le nombre de cas déclarés de 2006 à 2009 dans les départements côtiers est présenté dans le Tableau 6. En dehors de l'épidémie de 2007 des Côtes d'Armor, aucun épisode de cas groupés de HA imputé à la consommation de coquillages n'a été déclaré dans ces départements. Les nombres de cas relativement plus élevés observés dans certains départements s'expliquent par des épisodes de cas groupés par transmission interhumaine dans des familles, chez des gens du voyage ou dans des collectivités.

2.3.2.2 Epidémies d'hépatite A liées à la consommation de coquillages

Depuis les années 1990, seulement 8 épidémies d'hépatite A d'origine alimentaire ont été investiguées et rapportées en France. Six d'entre elles ont été imputées à la consommation de coquillages. Les 2 autres épidémies survenues parmi les résidents de 5 communes voisines des Landes en septembre 2004 (11 cas) (Castor 2005) et parmi les élèves d'un lycée de Haute-Normandie en novembre 2006 (15 cas) (Schwarz, Revillion *et al.* 2008) ont été attribuées à la consommation d'aliments contaminés par un manipulateur de denrées lors de la préparation.

Parmi les 6 épidémies d'hépatite A imputées à la consommation de coquillages (Tableau 7), cinq épidémies sont survenues dans des départements littoraux dont deux dans la zone d'élevage conchylicole de la Baie de Paimpol en 1999 et 2007. L'imputabilité aux huîtres des deux épidémies de 1992 dans le Morbihan et en Loire-Atlantique (Nuiaouet, Ponge *et al.* 1993) n'a pas été confirmée par une enquête analytique à visée étiologique.

2.3.2.3 Données de mortalité par hépatite A en France

De 2000 à 2005, 34 décès par hépatite A ont été enregistrés dans la base nationale CépiDC-Inserm, soit une moyenne annuelle de près de 6 décès. Tous les cas décédés sauf un avaient plus de 50 ans. Treize décès sont survenus par hépatite A « sans autre cause » (6 avec coma hépatique, 7 sans coma hépatique). Douze déclarations de décès mentionnaient l'hépatite A avec d'« autres pathologies présentes au décès ». Neuf déclarations de décès mentionnaient l'hépatite A sur un « terrain d'hépatopathie chronique ».

2.3.2.4 Données de séroprévalence hépatite A en France métropolitaine

Les données les plus récentes actuellement disponibles en France sur la séroprévalence anti-VHA dans la population française proviennent d'une enquête nationale menée en 1998-1999. La séroprévalence anti-VHA était estimée à 14% pour la classe d'âge 16-20 ans, 23% pour les 21-25 ans, 31% pour les 26-30 ans, 49% pour les 31-35 ans, 48% pour les 36-40 ans et supérieure à 65% pour les plus de 40 ans. Les résultats d'une étude, actuellement en cours pour la période 2009-2010, permettront de disposer de données plus récentes sur la séroprévalence.

Le VHA est un virus particulièrement résistant dans le milieu extérieur. Il est excrété en grande quantité dans les selles des patients infectés, qu'ils soient symptomatiques ou non. Sa détection dans l'environnement repose sur des techniques de biologie moléculaire (RT-PCR) non encore normalisées pour les recherches dans les coquillages dans lesquels la concentration du virus est en général très faible.

L'hépatite A est une infection aiguë généralement bénigne pour les enfants mais d'autant plus sévère que le malade est âgé (la mortalité dépasse 2% des cas symptomatiques au delà de 40 ans). Une proportion importante de personnes infectées restent asymptomatiques. Devenue obligatoire depuis 2006, sa déclaration a fait apparaître, pour la métropole, une incidence annuelle de 2 pour 100 000 habitants. Son endémicité y est donc faible. Depuis 1990, sur les huit épidémies rapportées, six furent imputées à la consommation des coquillages.

Tableau 6 : Nombre de cas d'hépatite A notifiés dans la déclaration obligatoire dans les départements côtiers, 2006-2009.

| Département de résidence | Nombre de cas | | | | Incidence annuelle moyenne /100 000 |
|--------------------------|---------------|------|------|------|---|
| | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | |
| - Pas-de-Calais | 13 | 3 | 5 | 23 | 0.75 |
| - Somme | 4 | 3 | 5 | 2 | 0.62 |
| - Seine-Maritime | 18 | 10 | 30 | 16 | 1.49 |
| - Calvados | 9 | 9 | 4 | 2 | 0.89 |
| - Manche | 2 | 7 | 11 | 4 | 0.80 |
| - Ille et Vilaine | 10 | 37 | 31 | 8 | 2.23 |
| - Côtes d'Armor | 3 | 63 | 18 | 7 | 3.93 |
| - Finistère | 5 | 6 | 17 | 8 | 1.01 |
| - Morbihan | 2 | 10 | 3 | 5 | 0.71 |
| - Loire-Atlantique | 11 | 21 | 13 | 11 | 1.11 |
| - Vendée | 0 | 4 | 2 | 0 | 0.24 |
| - Charente Maritime. | 4 | 8 | 1 | 6 | 0.78 |
| - Gironde | 16 | 7 | 21 | 32 | 1.34 |
| - Landes | 3 | 0 | 1 | 0 | 0.27 |
| - Pyrénées Atlantiques. | 6 | 1 | 12 | 8 | 1.04 |
| - Pyrénées Orientales. | 20 | 1 | 2 | 5 | 1.59 |
| - Aude | 9 | 2 | 0 | 7 | 1.29 |
| - Hérault | 79 | 18 | 17 | 31 | 3.54 |
| - Gard | 4 | 6 | 16 | 9 | 1.26 |
| - Bouches du Rhône. | 59 | 27 | 30 | 28 | 1.82 |
| - Var | 19 | 3 | 10 | 10 | 1.04 |
| - Alpes Maritimes | 13 | 10 | 15 | 42 | 1.84 |

Source : InVS, déclaration obligatoire hépatite aigüe A

Un test non paramétrique de permutation pratiqué sur la différence de l'incidence de l'HA entre les départements littoraux et les autres départements métropolitains n'a pas montré de surincidence de l'hépatite A dans les départements côtiers, ce test s'avère statistiquement significatif (probabilité limite de 2%) en faveur de l'hypothèse d'une incidence inférieure des départements littoraux.

Tableau 7 : Epidémies d'hépatite A imputées à la consommation de coquillages en France, 1991-2009.

| Période | Lieu | Nombre de cas | Coquillage incriminé ou suspecté | Imputabilité * | Génotypes | Référence |
|-----------------------------|----------------------|--|---|---|--------------------------|---|
| Déc 1991 à Fév. 1992 | Loire- Atlantique | 402 sur 4 mois (déc. 1991 mars 1992) recensés par les médecins généralistes du département | Coquillages crus, huîtres Origine suspectée : Baie de la Vilaine | +/- | Gen1A Gen 1B | (Nuiouet, Ponge <i>et al.</i> 1993) (Apaire-Marchais, Robertson <i>et al.</i> 1995) |
| Déc. 1991 à Mars 1992 | Morbihan | 469 sur 7 mois (déc. 1991 à juillet 1992) recensés par les 32 labora- toires d'analyse de biologie médicale du département | Coquillages crus, huîtres Origine inconnue | +/- | | (Nuiouet, Ponge <i>et al.</i> 1993) (Apaire-Marchais, Robertson <i>et al.</i> 1995) |
| Déc 1996 à Mai 1997 | Midi- Pyrénées | 205 | Huîtres Origine inconnue | + | | (Delarocque-Astagneau, He- mery <i>et al.</i> 1998) |
| Janv -Mars 1999 | Côtes d'Armor | 33 | Huîtres Origine inconnue (eaux usées) | + | | (Costa-Mattioli, Monpoeho <i>et al.</i> 2001) |
| Déc 1997 à Avril 1998 | Hérault | 45 | Huîtres/moules origine : étang de Thau | ++ (PCR VHA et norovirus + dans des huîtres de l'étang) | Gen1A Gen 1B Gen 3 | (Armengaud, Daurat <i>et al.</i> 1998) |
| Juillet – Août 2007 | Côtes d'Armor | 104 | Coquillages crus (majo- ritairement huîtres) Origine inconnue | + | Gen 3 | (Guillois-Becel, Briand <i>et al.</i> 2008) |

* niveau d'imputabilité : (+/-) basée sur enquête descriptive ; (+) basée sur enquête analytique ; (++) mise en évidence du VHA dans les coquillages.

3 Contamination des coquillages

3.1 Sources de contamination des coquillages

Parmi les microorganismes impliqués dans les toxi-infections alimentaires on distingue les bactéries autochtones au milieu marin (par exemple du genre *Vibrio*) et les microorganismes allochtones apportés par les ruisseaux, les rivières, voire des rejets accidentels. Ces pathogènes (virus, bactéries entériques ou parasites) sont excrétés par des personnes malades, mais également par des porteurs sains, vivants dans la zone littorale du bassin versant. Parmi les virus entériques, le virus de hépatite A et les norovirus sont très importants en matière de risque lié à la consommation des coquillages (Butt, Aldridge *et al.* 2004). Si les infections bactériennes (salmonelloses) ont diminué ces dernières années, en particulier grâce à la mise en place d'un système de surveillance sanitaire, le risque viral reste encore préoccupant.

La performance des outils de détection moléculaire permet depuis peu de détecter les virus entériques présents à de très faibles concentrations dans les coquillages, ce qui a permis de confirmer que cet aliment était un vecteur de transmission de la maladie (Boxman, Tilburg *et al.* 2006; Butt, Aldridge *et al.* 2004; Le Guyader, Loisy *et al.* 2006; Le Guyader, Neill *et al.* 2003; Lees 2000; Sanchez, Pinto *et al.* 2002). Cependant, en dépit du fait que de nombreux virus peuvent être détectés dans les coquillages (Bosch, Guix *et al.* 2008; Metcalf, Melnick *et al.* 1995), seul le VHA et les norovirus ont clairement été identifiés comme agents infectieux provenant d'huîtres consommées et plus récemment les sapovirus (Le Guyader, Krol *et al.* 2010).

Un des points majeurs qui ressort de l'étude des épidémies liées aux coquillages est l'absence de relation entre l'indicateur de contamination fécale (soit *E. coli*, soit coliformes fécaux) et la présence de virus entériques humains et, de ce fait, la grande difficulté de prévenir le risque à partir des surveillances microbiologiques classiques (Butt, Aldridge *et al.* 2004; Lees 2000). En effet, le niveau d'*E. coli* est la plupart du temps conforme à la réglementation européenne dans des cas de gastro-entérites ou d'épidémies d'hépatite A liées à la consommation de coquillages (Bosch, Sanchez *et al.* 2001; Boxman, Tilburg *et al.* 2006; Le Guyader, Loisy *et al.* 2006; Le Guyader, Neill *et al.* 2003). Par ailleurs des cas liés à des huîtres ayant séjourné en bassin d'épuration avant consommation ont été observés (Grohmann, Greenberg *et al.* 1980; Le Guyader, Loisy *et al.* 2006) confirmant que ces systèmes permettent l'élimination naturelle rapide d'*E. coli*, tandis que celle des virus reste difficile. Aussi les deux jours de purification tels qu'anciennement préconisés par la réglementation nationale sont-ils inefficaces, en cas de contamination virale, pour obtenir un coquillages sain prêt à être consommé cru (Loisy, Atmar *et al.* 2005; Schwab, Neill *et al.* 1998).

La présence de virus dans les zones côtières et dans les coquillages est liée à un ensemble de facteurs dont l'occurrence est aléatoire, ce qui rend de ce fait complexe l'analyse et la gestion du risque. Quelques facteurs majeurs sont listés dans le Tableau 8.

Les études d'investigation liées à des infections virales concernent essentiellement les norovirus, plus rarement le virus de l'hépatite A. En effet la durée d'incubation très longue de la maladie (plusieurs semaines) rend les investigations rétrospectives très difficiles. Cependant, le cas des norovirus peut être pris comme base et divers enseignements peuvent être retirés des études qui leur sont consacrées.

Dans la majorité des cas de toxi-infection, la présence de multiples souches virales a été démontrée dans les coquillages impliqués, ce qui suggère une contamination des coquillages dans leur milieu d'origine par des eaux usées lors de la production (Boxman, Tilburg *et al.* 2006; Gallimore, Cheesbrough *et al.* 2005; Kageyama, Shinohara *et al.* 2004; Le Guyader, Krol *et al.* 2010; Le Guyader, Le Saux *et al.* 2008; Le Guyader, Loisy *et al.* 2006). Ce point est important puisqu'en cas de toxi-infection alimentaire collective, c'est au stade de production conchylicole que les mesures de gestion du risque doivent être prises, incluant le stockage temporaire post production.

L'analyse des séquences indique une grande diversité des souches de norovirus en circulation aussi bien dans les huîtres, que dans les eaux usées et dans la population (Ueki, Sano *et al.* 2005), ce que confirme l'analyse de cas récents (Le Guyader, Krol *et al.* 2010; Le Guyader, Le Saux *et al.* 2008; Mackowiak, Caraway *et al.* 1976).

Dans le cas du VHA, la source est exclusivement d'origine humaine, alors que pour les norovirus la source animale peut également être envisagée.

Les différentes sources de contamination communément identifiées comme étant responsables d'apports fécaux dans les zones littorales sont énumérées ci-après. Toutes ces sources provoquent finalement le déversement de matériel fécal en mer, et de ce fait de fortes concentrations en *E. coli* dans l'environnement, mais elles ne sont pas suffisantes pour la présence de VHA dans les eaux. Celle-ci est conditionnée par l'existence de malades ou de porteurs sains dans la population locale (résidente ou de passage). Il y a pour le VHA, comme pour les norovirus, un schéma saisonnier d'apparition. Dans les zones de faible endémicité, contrairement à celles à forte endémicité, la détection du VHA dans l'environnement est difficile et il est très peu recherché, car l'introduction de ces virus dans les eaux est limitée dans le temps et l'espace et leur présence est aléatoire (Pinto 2007).

Les effluents parvenant dans le milieu marin peuvent avoir pour origine le rejet des eaux usées traitées sur des stations collectives ou par des dispositifs d'assainissement autonome. De plus, des eaux non traitées peuvent également parvenir au littoral à la faveur des déversoirs d'orage présents sur les réseaux de collecte, des défaillances des réseaux et des eaux pluviales contaminées (les bateaux au mouillage non équipés de cuve d'eaux noires peuvent également être cités).

Tableau 8 : Paramètres influençant la présence de pathogènes dans les coquillages.

| Interface | Facteur /paramètres | Caractéristiques |
|------------------------------------|---|--|
| Interface population – eau douce | Population côtière | Porteuse ou non, quelques cas présents, épidémie, pandémie |
| | Statut du virus | virus « libre » ou adsorbé sur la matière fécale, les matières en suspension organique ou minérale, |
| | Traitement | Eaux usées traitées ou non (forte résistance virale aux agents chimiques ou physiques, contrairement à <i>E.coli</i>) |
| | Flux de virus | Intermittent en fonction de l'excrétion des cas présents dans la population, effet de la pluie |
| Interface eau douce – eau marine | Mélange en mer | Variable : côte ouverte, baie, estuaire |
| | Présence dans l'eau | virus associé ou non à la flore fécale |
| | Sédimentation | Possible si présence de sédiments fins |
| | Devenir en mer fonction des facteurs locaux | Irradiation solaire, température, salinité, attachement aux matières en suspension.... |
| | Résistance | Particule inerte, temps de persistance en mer de quelques semaines (<i>E. coli</i> quelques heures à quelques jours) |
| Interface eau marine - coquillages | sédimentation | Rôle de protection du sédiment, persistance de plusieurs semaines |
| | accumulation | Résistance, protection par le coquillage aux agressions, possibilité d'adhésion aux tissus, temps de persistance de plusieurs semaines |

3.1.1 Les rejets d'eaux usées brutes et traitées

Les effluents traités sont rejetés dans le milieu naturel via les cours d'eau et au final parviennent dans l'eau de mer. Certains rejets peuvent aussi se faire directement dans celle-ci.

La quantité de virus rejetée dans l'environnement dépend du type de traitement appliqué aux eaux usées dans les stations d'épuration (traitements physique, biologiques, lagunage, traitement tertiaire et dans certains cas après désinfection par UV, ozone, etc). Geldreich a calculé une quantité moyenne de $2,14 \cdot 10^9$ coliformes thermotolérants/par jour et par personne (référence utilisée pour définir l'équivalent habitant) (Geldreich 1975). Les systèmes de traitement réduisent de façon significative les concentrations en eaux brutes (Abbaszadegan, Hasan *et al.* 1997; Lazarova, Janex *et al.* 1998). Cependant en dépit de ces traitements, la charge fécale rejetée peut être importante et reste toujours fonction de la taille de la population, par exemple après un traitement biologique le rejet pour une population de 30 000 personnes est en moyenne de $1,6 \cdot 10^8$ coliformes fécaux par seconde (Salomon and Pommepuy 1990). Sur une station d'épuration, l'abattement attendu pour les virus est variable (Tableau 11). A cet abattement il faut ajouter, d'une part, la dilution de la charge virale avec l'eau du cours d'eau et d'autre part, la dilution de l'eau du cours d'eau par l'eau de mer. Ces facteurs de dilution dépendent fortement des conditions locales. D'autres facteurs, tels que les UV, interviennent pour diminuer la concentration.

Concentrations en virus observées dans les eaux brutes et traitées

La présence de virus entériques dans les eaux usées brutes reflète les épidémies virales des populations raccordées (Le Guyader and Atmar 2007). Une surveillance épidémiologique de la population pourrait être réalisée en analysant les eaux usées. L'absence de méthodes quantitatives fiables (culture cellulaire par exemple) a longtemps limité la recherche des virus dans l'environnement. L'utilisation des techniques de biologie moléculaire présente encore des limites (présence d'inhibiteurs, limite de détection, impossibilité de savoir si le virus est réellement infectieux, etc.). Cependant, leur application récente à des échantillons naturels a permis d'apprécier la présence, voire le niveau de concentrations de virus qui ne pouvaient jusqu'à présent être recherchés. Peu d'information existe cependant sur les teneurs en VHA. Les valeurs en norovirus, lorsqu'elles sont disponibles sont citées ici à titre de comparaison, fournissent des ordres de grandeur et situent les taux de variations possibles dans ce type d'eau.

Les eaux usées brutes montrent la présence de nombreux types de virus dont le VHA et, lorsque des données quantitatives existent des concentrations en virus entériques très variables (Bosch 1998; Graff, Ticehurst *et al.* 1993). Peu d'études sont publiées concernant la recherche du VHA dans les eaux usées en France. Une étude réalisée sur les eaux de 3 stations d'épuration du Morbihan (traitement biologique) par un suivi de 20 mois indique la présence de VHA dans deux des stations (15 à 20% des échantillons positifs) (Ifremer, communication orale). Cette étude ne donne pas de résultats quantitatifs. Pour les norovirus, des valeurs publiées sont présentées dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Concentrations en norovirus observées dans les eaux brutes.

| Concentration | Référence |
|--|---|
| 1.8×10^4 - 9.7×10^5 génome/L | (Myrmel, Berg <i>et al.</i> 2006) |
| $< 10^3$ - 10^6 unités PCR/L | (Van den Berg, Lodder <i>et al.</i> 2005) |
| 10^6 copies/L | (Pusch, Ihle <i>et al.</i> 2005) |
| 0 - 1.7×10^7 cDNA/L | (Laverick, Wyn-Jones <i>et al.</i> 2004) |
| $2 \cdot 10^5$ unités PCR /L (moyenne) | (Lodder and de Roda Husman 2005) |
| 2.1×10^2 - 6×10^6 Unités PCR/L | (Da Silva, Le Saux <i>et al.</i> 2007) |
| 2.4×10^3 - 1.9×10^6 Unités PCR/L | (Haramoto, Katayama <i>et al.</i> 2008) |

Dans les eaux usées traitées, les concentrations peuvent également être très élevées et varient beaucoup en fonction des traitements. Le Guyader *et al.* présentent un tableau synthétique des moyennes des concentrations en virus entériques rapportées dans la littérature (Le Guyader and Pommepuy 2009) (Tableau 10)

L'efficacité des traitements utilisés pour réduire les charges du VHA dans les stations d'épuration n'est pas connue. On se référera à nouveau aux travaux rapportés par Le Guyader *et al.* sur les norovirus (Le Guyader, Parnaudeau *et al.* 2009) (Tableau 11). On constate que les rendements sont

variables : pour un même type de traitement le rendement peut varier de 0 à 3 log. De plus les génotypes ont des sensibilités différentes aux traitements.

Tableau 10 : Moyennes des concentrations en VHA et norovirus dans échantillons d'eaux usées traitées (tableau partiel extrait de (Le Guyader and Pompepu 2009))

| Virus | Echantillon positif (%) | Moyenne des Concentrations des échantillons (Unités PCR/L) | Référence |
|-----------|-------------------------|--|---|
| VHA | 100 | $9 \times 10^1 - 3.5 \times 10^3$ | (Brooks, Gersberg <i>et al.</i> 2005) |
| | 93 | $< 10^1 - 3 \times 10^4$ | (Van den Berg, Lodder <i>et al.</i> 2005) |
| Norovirus | 7 | $0 - 1.6 \times 10^5$ | (Laverick, Wyn-Jones <i>et al.</i> 2004) |
| | 53 | $1.8 \times 10^4 - 9.7 \times 10^5$ | (Pusch, Ihle <i>et al.</i> 2005) |
| | 100 | $8.7 \times 10^1 - 2.9 \times 10^3$ | (Katayama, Haramoto <i>et al.</i> 2008) |
| | 100 | $6 \times 10^2 - 2.4 \times 10^4$ | (Lodder and de Roda Husman 2005) |
| | 38 | $2.1 \times 10^2 - 6 \times 10^6$ | (Da Silva, Le Saux <i>et al.</i> 2007) |
| | 100 | $6 - 6.4 \times 10^3$ | (Haramoto, Katayama <i>et al.</i> 2008) |

Tableau 11 : Efficacité des traitements d'eaux usées sur les norovirus (Le Guyader and Pompepu 2009)

| Traitement | Génogroupe | Taux de réduction en log | Référence |
|--|------------|--------------------------|---|
| Traitement physique | GI | 1.82 (± 0.61) | (Haramoto, Katayama <i>et al.</i> 2008) |
| | GII | 2.7 (± 1.10) | |
| Lagunage | GI | 0-3* | (Da Silva, Le Saux <i>et al.</i> 2007) |
| | GII | 0-3* | |
| Boues activées | GI&GII | 2.0-2.7 | (Van den Berg, Lodder <i>et al.</i> 2005) |
| Bioreacteur membranaire | GI&GII | 1.14 (± 0.88) | (Ottozon, Hansen <i>et al.</i> 2006) |
| Membranes de micro-filtration et d'ultrafiltration | GI&GII | 2.9-3.5 | (Sano, Ueki <i>et al.</i> 2006) |
| Traitement tertiaire | GI | 0.45 (± 0.49) | (Haramoto, Katayama <i>et al.</i> 2008) |
| | Chloration | GII | |
| Traitement tertiaire filtration | GI&GII | 0.50 (± 0.84) | (Ottozon, Hansen <i>et al.</i> 2006) |

* dépend du temps de résidence

Ces résultats ont été obtenus par biologie moléculaire. L'analyse par culture cellulaire peu éventuellement donner des résultats différents sur les abattements en virus pathogènes. Peu de renseignements sont disponibles sur la culture cellulaire dans la littérature pour le VHA ; pour le norovirus, sa mise en culture est actuellement impossible.

3.1.2 Les boues de station d'épuration

Au cours du traitement biologique, des boues sont formées et se déposent au fond des bacs de décantation. Elles sont régulièrement récupérées et stockées, puis traitées par la station d'épuration (digestion, stabilisation, compostage, chaulage, pasteurisation...). Ces boues sont ensuite épandues dans des conditions régies par la réglementation (Afssa 2007). En effet, elles contiennent de nombreux microorganismes et peuvent être une source de contamination virale soit dans la station même – lors de disfonctionnement « phénomène de bulking » les boues remontant dans les bassins et recontaminant les eaux traitées-, soit lors de leur épandage dans l'environnement, si le traitement choisi n'est pas efficace. Différentes méthodes de traitement des boues ont été évaluées et certaines ont une efficacité élevée : Elissalde 1994 estime que les traitements thermiques mettant en œuvre des températures supérieures à 50°C peuvent avoir des abattements supérieurs à 4 log sur les microorganismes pathogènes (Afssa 2007).

En Europe les concentrations en virus entériques dans les boues non traitées sont estimées dans une fourchette de 10^2 - 10^4 /g de matière brute (Afssa 2007). Monpoeho et al (2001) ont suivi quatre filières de traitement : chaulage, compostage, conditionnement thermique et digestion anaérobie, et évalué leur efficacité sur la présence des entérovirus (détectés par culture cellulaire et PCR) et le VHA (par PCR). Pour les entérovirus, la charge en début de traitement était de 37 à 288 NPPUC/g (ou 4 à 5 log de copie de génomes/litre). Seule la digestion anaérobie ne permettait pas une chute sous le seuil de détection. Pour le VHA, ces mêmes auteurs ont montré qu'avant traitement la charge était très variable selon la saison et la station d'épuration (entre la limite de détection et $6 \cdot 10^3$ copies génome/g), et que du matériel génétique pouvait être retrouvé dans le compost après traitement par digestion et conditionnement thermique. Dans le cas du VHA seule une recherche par biologie moléculaire a été réalisée ce qui n'a pas permis de conclure sur le potentiel infectieux des particules ainsi détectées (Afssa 2007).

Concernant le risque de transmission des virus des boues vers l'homme, l'Afssa a conclu précédemment en ce sens : « *En conclusion, les analyses de virus ne sont pas nombreuses en France. Il en ressort cependant que la charge virale est sujette à variations et que les traitements appliqués aux boues sont en général délétères pour les virus. Par ailleurs au regard des quelques études disponibles, les risques viraux associés aux épandages de boues sont très faibles. Les boues de station d'épuration ne semblent pas être une source notable de danger viral. Néanmoins si elles sont peu stabilisées (boues liquides), ce risque peut augmenter. Cependant, les contraintes s'appliquant à l'épandage de ces matières sur les terres agricoles (distance de sécurité, restriction d'usage...) permettent de maîtriser une éventuelle diffusion virale* ». (Afssa 2007) .

3.1.3 Les rejets directs à partir du réseau de collecte des eaux usées

Ces rejets peuvent avoir deux origines, d'une part des délestages en cas de travaux sur le réseau ou de rupture de canalisation ; et d'autre part des by-pass¹¹ lors de pluies orageuses ou torrentielles lorsque le réseau d'égout est unitaire, c'est à dire qu'il collecte aussi bien les eaux de pluie que les eaux usées domestiques. Ces eaux ne sont pas traitées. Leur charge microbiologique est donc environ 100 fois supérieure à celle des eaux usées traitées. D'autre part, lors d'une rupture de canalisation d'eaux usées, un déversement direct d'eau brute est possible soit dans le milieu naturel via un cours d'eau, soit directement en mer. La localisation de ces ruptures de canalisations n'est pas prévisible et encore moins immédiatement connue. Il faudrait soit observer directement la fuite, soit constater une baisse des entrées d'eaux brutes sur la station d'épuration.

3.1.4 Les rejets d'eaux pluviales

Dans le cas des villes équipées d'un réseau séparatif, le réseau d'eaux pluviales ne devrait normalement véhiculer que des eaux de pluie. Cependant, soit en raison de mauvais branchements, soit de raccordements en infraction avec la réglementation, soit de rupture de canalisation d'eaux usées, les eaux pluviales peuvent être contaminées par des eaux domestiques.

¹¹ Système permettant le détournement, le débordement ou le délestage d'un circuit de transport ou de traitement des eaux usées.

3.1.5 Les rejets de l'assainissement non collectif

Lorsque le raccordement d'habitations au réseau d'assainissement collectif n'est pas possible pour des raisons techniques (topographie) ou économiques, le recours à des dispositifs d'assainissement autonome s'impose.

L'arrêté du 7 septembre 2009 fixe les prescriptions techniques applicables aux installations d'assainissement non collectif recevant une charge brute de pollution organique inférieure ou égale à 1,2 kg/j de DBO5. Les dispositifs d'assainissement autonome sont généralement des installations avec traitement par le sol. Cependant, lorsque le sol ne s'y prête pas, les eaux usées domestiques peuvent être traitées par des installations composées de dispositifs agréés par les ministères en charge de l'écologie et de la santé, à l'issue d'une procédure d'évaluation de l'efficacité et des risques que ces installations peuvent engendrer directement ou indirectement sur la santé et l'environnement. Toutes les installations comportent un prétraitement constitué par une fosse septique toutes eaux en milieu anaérobie, permettant la décantation et la liquéfaction des matières solides.

Il a été montré que le séjour des effluents dans la fosse toutes eaux s'accompagnait d'une réduction (jusqu'à 1 log) de la contamination virale (Chapalati Rao, Lakhe *et al.* 1981; Payment, Fortin *et al.* 1986). Cet abattement est dû probablement à la sédimentation des matières en suspension sur lesquelles les virus sont adsorbés.

Le traitement proprement dit consiste en une filtration des effluents au sortir de la fosse par le sol en place lorsque les conditions naturelles le permettent ou dans le cas contraire (terrain imperméable, nappe trop haute), en sol reconstitué (0,70 m de sable). L'infiltration est réalisée par l'intermédiaire d'un réseau de canalisations de répartition de l'effluent. Le réseau est placé en subsurface (0,60 m de profondeur) et son dimensionnement est déterminé par la perméabilité du terrain. Par ailleurs le dimensionnement est réalisé afin que les systèmes d'épandage fonctionnent en faible charge (5 cm/j). Cette dernière permet le retour de conditions aérobies dans le système, entre deux apports d'effluents prétraités.

L'efficacité des dispositifs d'assainissement autonome en sol naturel sur l'abattement de la charge en virus a été démontrée depuis longtemps avec par exemple les travaux de Hausel *et al.* Ces auteurs rapportent un abattement de 3 à 4 log pour les coliformes fécaux pour 30 cm de sol sous l'épandage et de 6 log pour 0,90 m et de 4 à 5 log et de 5 à 7 log pour les virus aux mêmes profondeurs (Hausel and Machmeier 1973).

Des travaux plus récents confirment l'efficacité de la rétention des virus par le sol naturel sous les épandages des dispositifs d'assainissement (Nicosia, Rose *et al.* 2001; Van Cuyk, Siegrist *et al.* 2004). Nicosia *et al.*, utilisant le phage PRD1, rapportent des abattements compris entre 1,43 (charge de 0,063 m/j) et 2,21 log (charge de 0,032 m/j) après infiltration au travers de 0,60 m de sol sableux (Nicosia, Rose *et al.* 2001). Van Cuyk *et al.*, utilisant des phages MS2 et PRD1, indiquent un abattement de 2,4 log après une filtration par 60 cm de sol (Van Cuyk, Siegrist *et al.* 2004).

De nombreuses informations sont disponibles pour les systèmes à sols reconstitués d'assainissement autonome (sable) mais aussi pour des dispositifs de production d'eau de consommation ou destinés à réalimenter les nappes. Dans les deux derniers cas, les charges hydrauliques appliquées sont très supérieures à celles utilisées en assainissement non collectif.

Dès 1974, Green *et al.* avaient montré pour des essais avec de l'eau issue d'une fosse septique enrichie en virus Polio 1, l'élimination complète des virus après filtration au travers d'une colonne de sable de 0,60 m (5 log d'abattement) (Green and Olliver 1974).

Des travaux plus récents confirment l'efficacité de la filtration par des massifs sableux vis-à-vis de l'élimination des virus (Elliott, Stauber *et al.* 2008; Van Cuyk and Siegrist 2007). Van Cuyk *et al.* dans une étude sur colonne de sable et sable organique concluent à un abattement pour les phages MS-2 et PRD1 de 2 à 3 log pour 60 à 90 cm de sable moyen. Quelques relargages sont toutefois observés. Les auteurs notent que la rétention des virus s'accroît avec le temps.

La charge hydraulique appliquée joue sur l'efficacité de la rétention des phages. Le fractionnement des apports favorise cette dernière.

Elliott *et al.* dans le cas d'un filtre à sable pour la production d'eau potable signalent un abattement pour des phages inférieur à celui de *E. coli* mais équivalent pour Echo 12 (points isoélectriques plus élevés pour Echo 12 que MS2 et PRD-1) (Elliott, Stauber *et al.* 2008). L'abattement atteint au mieux

2,5 log pour Echovirus et entre 1 et 1,5 pour les phages. Les auteurs notent une diminution de l'abattement qui se produit au cours du temps du fait d'une charge très élevée saturante.

Les études concluent à une meilleure épuration par des matériaux à texture fine (sol naturel) que par des matériaux grossiers ce qui explique les abattements plus poussés en épandages en terrain naturel que pour les filtres à sable. Les milieux fins sont en général enrichis en argiles. Celles-ci possèdent une surface développée et une capacité d'échange ionique très importantes, qui sont déterminantes dans l'adsorption des virus (Drewdy and Eliassen 1968).

Dans les massifs sableux les rendements d'épuration sont directement liés à la formation d'une membrane biologique ou de biofilm (Quanrud, Arnold *et al.* 1996). La rétention ou l'inactivation des virus dans la membrane biologique proviendrait des polymères organiques excrétés par les microorganismes ou de l'utilisation des virus comme substrat par les microorganismes (Hurst 1988; Lipson and Stotzky 1985; Powelson and Gerba 1994).

En conclusion, si les dispositifs d'assainissement sont correctement réalisés et entretenus et si les épandages sont correctement dimensionnés, du point de vue microbiologique les abattements de microorganismes par l'assainissement non collectif sont supérieurs à ceux obtenus dans les stations d'épuration.

Le risque de dissémination de virus vers le milieu souterrain ou superficiel est très faible que ce soit en sol naturel ou reconstitué. L'effluent pourra de plus subir une filtration supplémentaire par le terrain à l'aval des dispositifs si les caractéristiques de celui-ci le permettent. Il reste que les dispositifs anciens ne sont pas obligatoirement aux normes et peuvent être à l'origine de débordements (Crowther, Kay *et al.* 2002; Kashefipour, Lin *et al.* 2002; Vinten, Lewis *et al.* 2004).

Par ailleurs, dans les secteurs où le sol est peu propice à l'installation de dispositif d'épuration par le sol les dispositifs agréés peuvent être utilisés. L'efficacité d'épuration microbiologique de ces dispositifs en général faible peut être évaluée à la demande du fabricant. Les paramètres microbiologiques étudiés sont alors les entérocoques, *E. coli*, les spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs, les bactériophages ARN-F spécifiques.

3.1.6 Les eaux de rivière

Les rivières sont alimentées pour partie par le ruissellement issu de bassins versants où on peut observer des débordements d'installations d'assainissement qui ne sont pas aux normes (Crowther, Kay *et al.* 2002; Kashefipour, Lin *et al.* 2002; Vinten, Lewis *et al.* 2004).

Le VHA peut être détecté dans les rivières des régions endémiques. Par exemple, en Martinique une étude réalisée dans les exutoires de la Baie de Fort de France, indiquait la présence de VHA dans 40% des eaux de rivières de Fort de France et dans 43% des eaux usées (Le Guyader, Menard *et al.* 1995). Le virus avait été détecté dans des eaux présentant plus de 10^5 coliformes fécaux /100ml, mais également dans une rivière où la contamination fécale était modérée ($3.5 \cdot 10^3$ coliformes fécaux/100ml). Le VHA a été également trouvé de façon épisodique dans des ruisseaux littoraux contaminés par des rejets urbains (Le Guyader, Haugarreau *et al.* 2000). En Italie dans les canaux de Venise des concentrations de VHA entre 75 et 730 génomes/L ont été mesurées. Après un événement orageux, Phanuwat *et al.* ont trouvé de nombreux virus avec une moyenne géométrique de 13.0 pdu/mL (VHA), 5.3 pdu/mL (norovirus ggl), et 0.003 pdu/mL (norovirus ggl) (Phanuwat, Takizawa *et al.* 2006). Là encore peu de données existent sur le VHA, mais les niveaux détectés en norovirus peuvent informer sur la contamination virale. Des éléments bibliographiques complémentaires sur les entérovirus sont présentés dans le rapport (Afssa 2007). En Europe, des concentrations de $5 \cdot 10^3$ unités génomiques (GU)/L et $1.6 \cdot 10^3$ GU/L ont été rapportées (Laverick, Wyn-Jones *et al.* 2004; Lodder and de Roda Husman 2005). Des variations saisonnières ont été également publiées. Dans la Meuse, la présence de norovirus s'accompagne de pics hivernaux supérieurs à 1750 pdu/L lors d'événements de contamination principalement dus à des défauts de traitement des eaux usées sur le bassin versant (Westrell, Teunis *et al.* 2006). Ce même schéma saisonnier a été décrit dans d'autres pays (USA et Japon) : en hiver les concentrations atteignent 0.21 G/mL pour ggl (2.3 G/mL pour ggl), alors que de faibles concentrations sont observées en été (0.016 G/mL pour ggl et 0.026 G/mL pour ggl) (Haramoto, Katayama *et al.* 2008; Noble, Lee *et al.* 2001). Dans certains cas, le schéma de distribution saisonnier observé reflète dans des rivières (Pusch, Ihle *et al.* 2005; Van den Berg, Lodder *et al.* 2005) et les coquillages (Le Guyader, Haugarreau *et al.* 2000) l'épidémiologie clinique du virus.

3.1.7 Les autres sources possibles de contamination

D'autres sources possibles de contamination existent, par exemple dues aux baigneurs et à des déversements illicites (Gerba 2000; O'Keefe, D'arcy *et al.* 2005; Sobsey, Perdue *et al.* 2003). Gerba (2000) a estimé que la charge fécale de 7000 personnes fréquentant une plage un week-end pouvait représenter entre 10^{11} et 10^{16} virus. Ces sources sont principalement saisonnières (saison estivale) ou hebdomadaire (fin de semaine). Les déversements illicites peuvent correspondre aux rejets des toilettes de bateaux ou de camping-car. Les bateaux de pêche peuvent également être une source de contamination ainsi, Dowell *et al.* ont démontré, lors de toxi-infections alimentaires liées aux coquillages, que la contamination du site de production venait du bateau travaillant sur la zone (Dowell, Graves *et al.* 1995). Les systèmes de toilettes chimiques mis en place dans les camping-cars utilisent des sels d'ammonium quaternaires, qui sont bactéricides et évitent toute évolution des matières fécales en particulier les odeurs. Ce système permet donc d'utiliser des toilettes pendant une ou plusieurs journées sans vidange. Mais ces composés bactéricides ne sont pas virucides : les effluents restent donc contaminés par des virus bien que n'ayant pas ou peu de charge bactérienne.

Des déversements de matières de vidange de fosses septiques ou de fosses étanches, en infraction à la réglementation peuvent être pratiqués. Ces matières peuvent être très contaminantes.

3.2 Facteurs liés à l'environnement

3.2.1 Milieu terrestre.

A la différence des stations de potabilisation des eaux où la bonne marche de la station doit être assurée en continu, il faut admettre pour les stations d'épuration des eaux usées quelques défaillances. En effet, pour les stations de potabilisation d'eau, l'exploitant fixe la quantité d'eau introduite dans la station, alors que pour les stations d'épuration ce paramètre n'est pas maîtrisable. Si l'apport d'eaux usées par le réseau d'assainissement est continu, il existe des heures de pointe et des heures creuses, et si le réseau est unitaire, l'arrivée des eaux pluviales peut multiplier par 2 voire par 5 le volume d'eau reçu. Le seul moyen de régulation dont dispose l'exploitant est le délestage d'une partie de l'eau ou même dans certains cas, la totalité. Ce délestage peut être fait soit à l'usine soit en cours de transfert des eaux via les postes de délestage installés sur le réseau d'assainissement. Les nouvelles stations sont équipées d'un bassin tampon qui atténue les pointes de débit ou d'un système de passage en mode dégradé lors des pointes de débit (traitement physico-chimique par exemple) évitant le rejet d'eaux sans aucun traitement. Ces rejets ne subissent qu'une décantation et ne sont pas autant épurés qu'en temps normal.

L'alimentation du réseau d'assainissement étant continu, en cas de travaux, des rejets d'eaux non traitées peuvent également se produire. Tous ces déversements d'eau, peu ou non traitée, devraient être signalés aux autorités compétentes.

3.2.2 Milieu marin

En dépit des efforts faits pour réduire la contamination, des flux fécaux atteignent la côte. L'apport de virus dépend de la taille de la population présente, de son état de santé, des systèmes de traitement et de cheminement des eaux usées sur le bassin versant. Le calcul des flux de virus entériques potentiellement rejetés en mer est très difficile à réaliser car il n'y a que très peu de données quantitatives concernant les virus dans les eaux et la mesure de débits correspondants aux prélèvements n'est généralement pas réalisée.

3.2.2.1 Qualité des eaux littorales

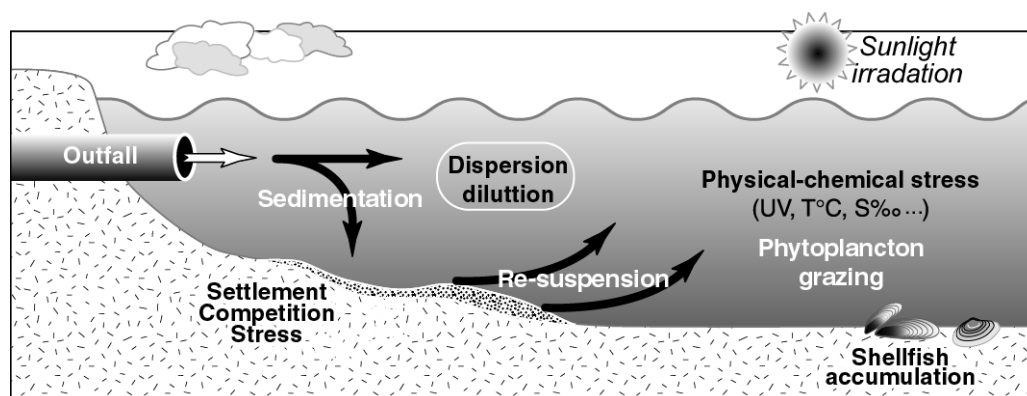
Le VHA, lorsqu'il est présent de façon endémique dans la population, peut se retrouver dans les eaux côtières. Au Mexique les concentrations en VHA dans les eaux d'estuaires et le long des côtes varient de 90 à 3523 copies/l selon Brooks *et al.* (Brooks, Gersberg *et al.* 2005). L'effet des pluies sur la qualité des eaux littorales et la contamination virale a été largement rapportée (Haramoto, Katayama *et al.* 2006; Miossec, Le Guyader *et al.* 1998; Noble, Weisberg *et al.* 2003; Tsai, Tran *et al.* 1995). A Jakarta, suite à des orages tropicaux des concentrations élevées en VHA et en virus entériques ont été observées dans les eaux douces (utilisées pour fournir l'eau de boisson) et dans l'eau de mer (Phanuwan, Takizawa *et al.* 2006). Dans les pays tempérés ou sous des climats semi-arides, la qualité des

eaux de mer subit également une détérioration lors d'événements pluvieux. Des observations statistiques montrent que la moitié des problèmes de qualité des eaux de baignade dans la Baie de Santa Monica en Californie, est associée à ce type d'événements (Schiff, Morton *et al.* 2003). Une étude réalisée en Europe et impliquant l'Espagne, la Grèce, la Suède et le Grande Bretagne montre un effet « pays » et des relations site-spécifiques entre indicateurs de contamination fécale et norovirus (Brion, Lingeriddy Neelakantan *et al.* 2004). Par ailleurs le développement de la population en modifiant le paysage et les écoulements, contribue à dégrader la qualité des eaux côtières. En Caroline du Nord l'augmentation du nombre de fermetures des zones de production conchylicole est directement corrélée à l'augmentation démographique de la zone côtière (étude réalisée sur une période de 14 ans) (Mallin, Ensign *et al.* 2001). En effet, le développement urbain modifie l'écoulement naturel et l'infiltration dans les sols du fait de l'imperméabilisation des surfaces (routes, parking, toitures), il entraîne l'apparition de nouvelles sources de contamination, et une arrivée plus rapide des apports à la mer. En Normandie, 30% des zones de pêche à pied seraient affectés lors de périodes où les pluies dépassent 10mm/jour (communication orale, DDASS). Il existe des différences régionales dues à la spécificité des sites.

3.2.2.2 Comment les microorganismes sont introduits dans l'écosystème marin

Comme indiqué plus haut, en dépit des efforts pour réduire la contamination, les activités humaines produisent des rejets d'eaux usées qui finissent en mer. Les microorganismes arrivant à la côte, sous forme libre ou adsorbée, sont soumis aux phénomènes de dilution, et aux processus bio-sédimentaires qui régissent les échanges entre la terre et la mer dans les zones côtières ou les estuaires (Figure 8).

Figure 8 : Devenir des microorganismes dans la zone côtière (Pommeputy, Hervio-Heath *et al.* 2006).



Ces principaux facteurs sont :

- La dilution et la dispersion physique : la marée, les variations de pression atmosphérique et le vent gouvernent les champs de courants, les échanges verticaux dans la colonne d'eau, et ainsi la stratification eau douce contaminée-eau de mer. Les variations saisonnières des débits d'eau douce peuvent également modifier les échanges dynamiques. La sédimentation est incluse dans ces facteurs physiques et contribue à la décroissance la contamination microbiologique de l'eau.

- Les conditions physico-chimiques spécifiques aux eaux côtières (radiations solaires, salinité, température, pH) entraînent une dégradation des microorganismes fécaux. Dans certains cas le broutage par le zooplancton peut intervenir sur le déclin des populations fécales en mer (Barcina, Gonzalez *et al.* 1991). Cependant les radiations solaires semblent un des facteurs les plus déterminants (Rozen and Belkin 2001). Une formulation mathématique résume l'ensemble de ces effets par le facteur de décroissance k ou $T90$ (temps pour que la concentration bactérienne ou virale décroisse d'un facteur 10). On considère généralement que la décroissance suit la loi de Chick : $N_t/N_0 = 10^{-kt}$ où N_t : nombre de bactéries ou virus au temps t ; N_0 : nombre de bactéries ou virus au temps 0 ; t étant exprimé en heure ou en jour, et $T90 = 1/k$. Des valeurs de $T90$ sont présentées dans le Tableau 12.

On distingue deux schémas de transfert des microorganismes en mer : (i) le rejet direct dans une mer ouverte (cas de rejet en Méditerranée) et (ii) le rejet dans une baie ou un estuaire, avec des apports d'eaux usées au préalable déversées dans des ruisseaux ou les rivières (cas de la plupart des zones conchylicoles).

En ce qui concerne le rejet direct en mer ouverte, le devenir des microorganismes correspond de façon générale à la Figure 8. Cependant la plupart du temps le rejet se fait par un émissaire posé sur le fond, d'une longueur calculée pour que le panache des eaux usées se dilue pendant la remontée du jet en surface. De ce fait, les phénomènes de dilution et dispersion sont utilisés pour réduire la contamination à la côte. Un émissaire de ce type a été construit en Atlantique (rejet de La Salie, bassin d'Arcachon).

Dans le second cas le transfert des polluants est complexe et fonction de la topographie, de la structure de salinité, de la structure des courants, et des courants résiduels de marée. Certains auteurs proposent de classer les estuaires en fonction des variations spatio-temporelles de la salinité. Cette classification est appropriée pour les études de contamination puisque les polluants, bactéries fécales et virus sont apportés par l'eau douce (Pompey, Hervio-Heath *et al.* 2006). Dyer *et al.* proposent trois classes (Dyer 1986) :

- L'estuaire avec un biseau salé : la rivière se décharge en général dans des mers où l'influence de la marée est faible. La différence de salinité entre la rivière et la mer crée une stratification de salinité verticale. L'eau douce a tendance à s'écouler vers l'aval en surface, l'eau de mer en amont au fond. Dans ce cas la contamination resterait dans les premières heures dans les eaux de surface. Durant le jusant, les eaux de surface contaminées sont en contact avec le sédiment (et les coquillages présents dans l'estran). C'est le cas, par exemple, des estuaires de Morlaix et de l'Elorn en Bretagne.
- L'estuaire partiellement mélangé : l'ensemble de la masse d'eau se transfère tantôt vers l'aval, tantôt vers l'amont. La turbulence en mélangeant l'eau de mer à l'eau douce en amont induit plus d'échanges que le transport lui-même (Estuaire de la Vilaine, Gironde, Seine).
- L'estuaire bien mélangé : lorsque la force des courants de marée augmente par rapport au débit de la rivière, le mélange devient de plus en plus intense jusqu'à ce que cette force soit suffisamment importante pour mélanger efficacement toute la colonne d'eau. On n'observe pas, comme pour les autres types d'estuaire, de variations verticales de salinité. Ces estuaires sont souvent peu profonds, avec une amplitude de la marée importante, et de vastes vasières ou de bancs découvrants (par exemple en Baie de Paimpol).

Au cours de l'année, les débits d'eau douce et de contaminants associés varient et les types de mélanges sont modifiés. Ainsi des estuaires peu stratifiés peuvent devenir très stratifiés pendant les crues hivernales (ex Gironde, Seine).

3.2.2.3 Devenir des virus en mer

Le devenir des microorganismes entériques en mer a été étudié depuis longtemps mais peu de références existent sur la persistance des virus en mer et encore moins sur le virus de l'hépatite A. Des revues récentes mettent en évidence pour les bactéries les facteurs précédemment évoqués (intensité lumineuse qui dépend de la latitude et de la saison, température, pH, oxygène, matières en suspension, zooplancton, etc.) (Rozen and Belkin 2001). Certains paramètres comme la salinité, la température et l'intensité lumineuse ont un impact majeur sur cette décroissance. Cependant l'estimation réelle de leur effet est difficile à réaliser *in situ* car ces paramètres varient rapidement. Par exemple, l'atténuation de la lumière dans l'eau de mer est fonction de la profondeur, la turbidité, la matière organique, la concentration en chlorophylle (McPherson and Miller 1987). De plus l'adsorption de la lumière est sélective, et les courtes longueurs d'onde inférieures à 360 nm (UV-C, UV-B et UV-A) ne pénètrent pas au delà des premiers centimètres sous la surface (Bell, Munro *et al.* 1992; Sinton 1994). La complexité de la détection fait qu'il n'existe que peu de résultats obtenus *in situ* sur le facteur de décroissance des microorganismes fécaux. On remarque à partir des rares informations rassemblées dans le tableau 12 que les virus entériques et en particulier le VHA persistent mieux en mer que l'*E. coli*.

3.2.2.4 Devenir des virus dans le sédiment

Les virus sont la plupart du temps fixés sur des particules fines (Gerba, Janauer *et al.* 1984; Melnick J.L. 1984; Rao, Metcalf *et al.* 1986), en particulier dans les eaux de faible salinité (Metcalf, Melnick *et al.* 1995). Les études montrent que 90 % des coliformes fécaux sont associés aux particules de petites tailles (0,45 -10 µm) et que ces particules ont une vitesse moyenne de sédimentation de 0,003 cm/s dans l'eau douce (Auer 1993), et supérieure à 0.05 cm/s dans l'eau de mer (Gameson 1986). Dans les sédiments les virus entériques et d'autres microorganismes sont présents en grande quantité dans la couche superficielle en contact avec l'eau (Ferguson, Coote *et al.* 1996; Le Guyader, Du-

bois *et al.* 1994). Les virus adsorbés dans le sédiment peuvent rester infectieux pendant plusieurs mois (Melnick J.L. 1984), cette persistance prolongée serait due à un effet de protection du sédiment (Chung and Sobsey 1993) (Afssa 2007).

Tableau 12 : Temps de survie des microorganismes en mer (T90, exprimé en heure, temps nécessaire pour que la population diminue d'un facteur 10) (Pommepuy, Hervio-Heath *et al.* 2006)

| | Eau de mer | Eau de mer | Estuaire | Estuaire | Références |
|-------------------------|------------|------------|----------|----------|---|
| | 18-22°C | 4-5°C | 18-22°C | 4-5°C | |
| <i>Escherichia coli</i> | 5-35 | 67-81 | 96-500 | 120-235 | (Troussellier 1998; Wait D.A. and M.D. 2001) |
| Poliovirus-1 | 10-72 | 158-170 | - | - | (Callahan 1995; Johnston 1996; Wait D.A. and M.D. 2001) |
| Hépatite A virus | 72-672 | - | - | - | (Arnal, Ferre-Aubineau <i>et al.</i> 1999; Bosch, Gray <i>et al.</i> 1993; Callahan 1995) |
| Astrovirus | 384-432 | 648-720 | - | - | (Bosch, Gray <i>et al.</i> 1993) |

3.2.2.5 Devenir des virus dans les coquillages

Le VHA a pu être identifié dans des coquillages issus pour la plupart du temps de zones interdites à la production (Cranze, Apaire-Marchais *et al.* 1995; Le Guyader, Haugarreau *et al.* 2000). Les coquillages, organismes filtreurs, concentrent les particules présentes dans l'eau, parmi lesquelles les bactéries fécales et les virus. La bioaccumulation des virus dans les coquillages est un phénomène rapide, ainsi après une heure de contact les virus sont adsorbés par les tissus et des concentrations maximales en virus sont obtenues au bout de six heures (Abad, Pinto *et al.* 1997). L'adsorption des virus sur des substrats comme les fécès, le kaolin, ou des algues unicellulaires augmente l'efficacité de l'accumulation par le coquillage (Metcalf, Mullin B. *et al.* 1979). La bioaccumulation varie en fonction des espèces de coquillages et de leur activité physiologique, cette dernière dépend de la saison et de la température de l'eau de mer. Ainsi la production de mucus et sa présence sur les branchies, le contenu en glycogène des tissus et le développement des gonades joueraient un rôle sur ces mécanismes de concentration (Schwab, Neill *et al.* 1998). La plupart des virus se retrouvent dans l'estomac et les glandes digestives du coquillage (Abad, Pinto *et al.* 1997; Atmar, Neill *et al.* 1996; Romalde, Estes *et al.* 1994). Pour étudier la persistance des virus dans les coquillages, des Virus Like Particles (VLP) de norovirus ont été utilisées et leur comportement comparé à celui de souches de virus de Norwalk (Loisy 2005). Les résultats montrent un attachement préférentiel des virus sur certains types de cellules de l'huître *Crassostrea gigas*. Des VLPs ont été trouvées dans des phagocytes, des cellules épithéliales et des tissus conjonctifs (Le Guyader, Loisy *et al.* 2006). Par ailleurs cet attachement n'est pas identique d'un génotype à l'autre (Le Guyader and Atmar 2008) et implique chez l'huître la présence de carbohydrates, ligands identiques à ceux du groupe sanguin A chez l'homme (Tan 2007). On ne sait pas actuellement si le VHA répond au même schéma d'attachement que les VLP aux tissus des coquillages. L'ensemble de ces résultats explique néanmoins la difficulté à épurer des huîtres contaminées par les virus entériques.

La persistance des virus dans les coquillages est très longue. Ainsi des lots d'huîtres impliqués dans une épidémie à norovirus, consignés et stockés sur l'estran de l'estuaire du Jaudy ont donné des résultats positifs en norovirus et bactériophages pendant plusieurs mois (données Ifremer, non publiées). Dans l'étang de Thau, après contamination liée à des apports d'eaux usées, les huîtres en élevage sont restées contaminées pendant un mois (signal positif par analyse moléculaire) (Le Guyader, Parnaudeau *et al.* 2009). Le virus de l'hépatite A peut persister plusieurs semaines après son accumulation par l'huître. Des expériences en laboratoire ont montré qu'il pouvait rester infectieux trois semaines, tandis que son ARN viral restait détectable par des techniques moléculaires pendant six semaines (Kingsley D.H. 2003). Cependant, dans des conditions naturelles, le virus doit persister plus longtemps puisque Mackowiak *et al.*, lors d'une épidémie dans le Mississippi liée aux coquillages,

ont retrouvé le virus par culture dans des huîtres prélevées 6 semaines après la détection des cas humains (Mackowiak, Caraway *et al.* 1976).

3.2.3 Critères de vulnérabilité d'une zone conchylicole

Dans le cadre de la Directive 2006/113/CE et du Règlement 854/2004, la communauté européenne demande aux Etats de mettre en place des profils de vulnérabilité pour les zones conchylicoles. Ces profils correspondent à l'inventaire des sources de contamination microbiologiques et chimiques, à l'évaluation des flux, aux conditions de transfert au littoral et à leur impact sur les zones de production.

Les zones littorales peuvent être impactées par des événements microbiologiques liés à des eaux de ruissellement des bassins versants chargées en microorganismes fécaux qui peuvent contribuer à d'importantes contaminations de plus ou moins longue durée. De plus les eaux usées urbaines et les dysfonctionnements des réseaux d'assainissement peuvent entraîner des rejets ponctuels, très pénalisants lors des épidémies virales dans la population. Souvent les usages proches du littoral ont un impact majeur sur la qualité des coquillages (Riou, Le Saux *et al.* 2007).

Ces impacts peuvent conduire à des fermetures temporaires des zones de production, suite à des alertes REMI lors des dépassements des seuils *E. coli* pour les zones classées ou dans le cadre de toxi-infections alimentaires collectives. En 2008, 130 alertes REMI ont été déclenchées (212 alertes en 2007). Dans ce cadre, quatorze arrêtés préfectoraux d'interdiction temporaire de récolte ont été pris : 3 en Normandie, 5 dans le Finistère, 1 dans les Côtes d'Armor, 1 en Charente Maritime et 4 en Languedoc Roussillon (Amouroux 2009).

3.2.3.1 Notion de vulnérabilité

La vulnérabilité microbiologique d'une zone de production conchylicole est définie par sa probabilité à être contaminée. Cette estimation, nécessite de déterminer les points critiques et les facteurs de risques, en appréciant les sources de contamination microbiologiques sous leurs aspects spatial et temporel (caractère ponctuel ou diffus et caractère accidentel ou chronique).

Pour cette démarche il apparaît nécessaire de déterminer d'une part les dangers microbiologiques présents sur le bassin versant de la zone de production conchylicole et d'autre part les événements qui conduisent à leur transfert vers le littoral. Il est également important d'appréhender la durée de résidence de ces apports microbiologiques, car elle conditionne, principalement pour les virus, le niveau de contamination des coquillages.

3.2.3.2 Les points critiques

- Les sources de contamination

Concernant le virus de l'hépatite A, l'unique source de contamination est humaine.

De ce fait les points critiques à cibler sont exclusivement les rejets directs des stations d'épuration des eaux usées, des réseaux d'assainissement, des assainissements non collectifs et tous rejets fécaux humains susceptibles d'être apportés par les cours d'eau ou directement dans les eaux littorales : camping-car, caravanes, plaisance et par les usages conchylicoles liés aux établissements et aux navires.

Afin de hiérarchiser ces sources de contamination, il est important de connaître les débits, même si le flux est de faible importance, il ne doit pas être sous-estimé. En effet, en fonction de sa proximité par rapport aux usages conchylicoles (entreposage en bassin submersible, stockage directement sur l'estran et à même le sol), la contamination peut être importante sur de petits lots de coquillages en attente sur l'estran.

- Les voies de transfert

La vulnérabilité d'une zone sera d'autant plus précisément appréciée que l'ensemble des émissaires et exutoires seront identifiés directement sur le site concerné. En effet les documents administratifs ne révèlent pas systématiquement l'origine réelle des eaux d'un émissaire/exutoire. Des techniques de contrôle sont utilisées par les sociétés fermières : fumée, pression, etc. L'analyse microbiologique peut permettre également d'identifier le niveau de contamination et donc l'origine réelle des apports. Au cours de nombreuses études il est souvent avéré que des émissaires recensés comme pluviaux étaient directement branchés sur de l'assainissement collectif ou autonome ou inversement, d'où un

risque accru d'apports d'eaux usées brutes ou insuffisamment traitées. De tels rejets de proximité peuvent être très impactants sur une zone d'élevage ou de dépôt conchylicole (Riou, Le Saux *et al.* 2007).

- Le temps de transfert

Le temps de transfert correspond au temps nécessaire à une particule contaminante pour arriver au littoral. C'est un facteur clé car plus le temps de transfert au littoral est court, plus le risque de contamination de la zone conchylicole est élevé, du fait que les microorganismes ne subiront pas les différents stress environnementaux (Derolez 2003). Ce temps est conditionné par la superficie du bassin versant et sa topographie, principalement la pente.

En situation de faible débit (période d'étiage) Crowther *et al.* ont démontré que l'influence de la bande du bassin versant comprise dans le premier kilomètre était la plus impactante en terme de coliformes fécaux (Crowther, Kay *et al.* 2002; Crowther, Wyer *et al.* 2003). A l'inverse en période de crue, cet espace s'élargit pour atteindre une bande de 5 km à partir du littoral, voire plus et jusqu'à l'ensemble du bassin versant si le temps de transfert est très court.

Ce temps de transfert permet de cibler les zones des bassins versants littoraux qui auront un impact sanitaire majeur sur la zone d'élevage conchylicole.

- Le temps de résidence en eau littorale

Les apports microbiologiques arrivant au littoral vont subir diverses modifications : dilution, prédation, sédimentation, etc. D'autre part en fonction de l'hydrodynamisme du site et des coefficients de marée, il peut s'avérer qu'une particule ou un virus persiste au fil des marées plusieurs heures, voire plusieurs cycles de marées avant d'être évacuée vers l'extérieur du site (Riou *et al.*, 2007). Ces courants résiduels vont accroître le risque de contamination des coquillages présents sur zone, du fait d'un passage plus ou moins régulier d'eau contaminée. Plus le temps de résidence sur le site sera long, plus le risque de contamination des coquillages sera élevé.

- Le T90

Le temps de survie des virus est largement supérieur à celui des bactéries comme déjà précisé dans le chapitre 3.2.2.2. L'abaissement de la température, l'augmentation de la turbidité et de la concentration en matières en suspension sont autant de facteurs qui vont accroître la survie des virus, aussi bien dans les eaux douces que dans l'eau de mer (Afssa 2007).

Pour le virus de l'hépatite A, les données relatives au temps nécessaire pour que sa population diminue d'un facteur 10, est compris entre 3jours et 30jours dans une eau de mer à 18°-22°C (Pommepeuy, Hervio-Heath *et al.* 2006). Pour la Baie de Paimpol, ce niveau de température en eau de mer est atteint très ponctuellement uniquement au cours de la période estivale.

3.2.3.3 Les facteurs aggravants

Les facteurs aggravants sont les conditions qui vont accroître ou amplifier le risque de contamination microbiologique des zones de production conchylicole ou du produit fini. Il s'agit principalement (i) des conditions météorologiques, (ii) de la pression urbaine, (iii) des épidémies dans la population et (iv) de l'absence d'une purification virale des coquillages réellement efficace.

Les virus entériques sont souvent identifiés lors de toxi-infections alimentaires collectives, alors que les coquillages incriminés répondent aux normes bactériologiques (Dowell, Graves *et al.* 1995; Gill, Cubitt *et al.* 1993; Le Guyader, Le Saux *et al.* 2008; Le Guyader, Loisy *et al.* 2006; Otsu 1999; Richards 1985). Comme cela a été démontré dans le programme Virus Safe Seafood (Pommepeuy, Dumas *et al.* 2004), si la purification bactériologique est efficace pour l'indicateur de contamination fécale *E. coli*, elle ne l'est pas autant pour l'élimination des virus dans les coquillages (Lee and Younger 2002; Loisy, Atmar *et al.* 2005).

La contamination virale des coquillages se produit principalement au niveau de la zone de production, sur les sites d'élevage ou de dépôt et le plus souvent les eaux usées non traitées sont à l'origine de la présence de virus dans les coquillages.

La présence de pathogènes dans l'environnement dépend principalement de la densité des populations urbaines côtières et des cheptels d'animaux présents.

Les occurrences saisonnières d'événements météorologiques contribuent à modifier ces apports au littoral (notamment les pluies, les températures et la force et direction des vents). Lors d'une épidémie dans la population, un apport viral d'importance dans les eaux peut se faire par l'intermédiaire de rejets d'eaux usées insuffisamment traités ou de débordements d'eaux usées brutes ; ils seront accentués si de forts événements pluviométriques surviennent (Le Guyader, Le Saux *et al.* 2008; Le Guyader, Loisy *et al.* 2006; Miossec, Le Guyader *et al.* 1998) .

Afin de préserver la qualité sanitaire des coquillages mis sur le marché, plusieurs points critiques doivent être observés tout au long de la chaîne de production. Au niveau de la zone de production, l'identification des dangers et des mois à «risque» (pluies, marée basse, période épidémique) doivent être pris en considération. D'autre part, une étude de vulnérabilité des zones conchylicoles, intégrant une recherche des sources de contamination fécale, et des procédures de traçabilité des produits en élevage doivent être mises en place par les producteurs. La mise en place de systèmes d'alerte locaux et prenant en compte les caractéristiques de chaque site de production s'avère indispensable (Grange 1999; Le Saux, Derolez *et al.* 2006; Martinez-Urtaza, Saco *et al.* 2004).

3.2.3.4 Conclusion

L'étude de la vulnérabilité d'une zone de production conchylicole doit permettre de sensibiliser tous les acteurs sur les actions de reconquête ou de maintien de la qualité des eaux littorales. Elle doit aussi conduire à l'élaboration d'un système d'alerte à l'usage des producteurs, afin que ceux-ci puissent avoir connaissance des informations relatives à la qualité des eaux.

Quelle que soit la base d'un tel système d'alerte (modèles statistiques, modèles de bassin versant, modèles hydrodynamiques, autres, etc.), la circulation de l'information en temps réel semble être un des principes incontournables, en particulier lors d'apports d'eaux usées brutes ou insuffisamment traitées suite à un dysfonctionnement occasionnel.

Vis-à-vis de la contamination virale, l'élevage de coquillages dans un environnement exempt de pathogènes est une solution plus adaptée que l'alternative difficile de la purification post contamination.

Pour faciliter cette démarche, la mise en place d'outil(s) permettant la collecte des données existantes (environnementales, géographiques, sanitaires, météorologiques, etc.) et leur partage par les différents acteurs (gestionnaires, professionnels) doit être encouragée. A la demande de la DGAI, une étude nationale d'identification des sources de contamination microbiologique des zones de production conchylicole, en cours de réalisation par l'Ifremer, va dans ce sens (Communication personnelle, Ifremer Nantes).

Le VHA excrété avec les fèces humaines se retrouve dans les eaux usées domestiques. Celles-ci sont traitées soit sur des stations d'épuration collectives, soit par des dispositifs d'assainissement autonomes. Si l'élimination des virus est importante dans ces derniers dispositifs, elle l'est beaucoup moins sur les stations d'épuration à boues activées dont l'abattement pour les virus est de l'ordre de 2 log. En conséquence, les eaux usées traitées qui rejoignent le milieu superficiel peuvent véhiculer une charge virale.

Les dysfonctionnements des réseaux d'assainissement et des stations d'épuration, par exemple en cas de forte pluie, s'accompagnent du déversement d'eaux usées non traitées dans les milieux récepteurs. Le non raccordement de certaines installations, les vidanges de sanitaires de camping-cars mais surtout de ceux des bateaux représentent d'autres sources possibles de contamination par le VHA des eaux superficielles.

Divers processus affectent la concentration en virus dans le milieu marin (dispersion, dilution, sédimentation...). Toutefois Les virus entériques et en particulier le VHA peuvent persister dans l'eau de mer jusqu'à plusieurs semaines. Les huîtres, organismes filtreurs, concentrent alors les particules virales qui persistent dans leurs tissus.

4 Surveillance et contrôle réglementaire

4.1 Surveillance des rejets

Dans le cas des eaux usées, on parle de surveillance ou d'auto surveillance pour les analyses effectuées par les exploitants de STEP tandis que les analyses de contrôle correspondent aux analyses effectuées par des administrations afin de s'assurer de la bonne marche des installations.

Depuis 2006, l'auto surveillance s'applique aux stations d'épuration traitant une charge de plus de 2 000 équivalents habitants.

Jusqu'à récemment, les SATESE faisaient des contrôles pour le compte des pouvoirs publics (police de l'eau, conseil général, agences de l'eau) qui permettaient l'établissement des primes pour épuration au vu des rapports et en fonction du degré d'épuration obtenu. Dans ces contrôles, seuls sont pris en compte les paramètres physico-chimiques. Dans les zones de baignade ou conchylicoles, là où des sensibilités microbiologiques particulières existent, des campagnes ponctuelles de contrôle de désinfection des eaux usées traitées avec analyses microbiologiques peuvent être effectuées par ces services mais seul *E. coli*, et plus rarement les entérocoques intestinaux, font l'objet d'un suivi.

4.2 Surveillance de la qualité de l'eau

Concernant les zones de baignade le ministère de la santé met en œuvre un programme d'analyses permettant d'évaluer la qualité des eaux de baignade tant en eau douce qu'en eau de mer. Des informations détaillées sont disponibles sur le site suivant :

<http://baignades.sante.gouv.fr/editorial/fr/contrôle/evolution.html>.

Des DDASS ont aussi souvent développé leur propre site internet, par exemple ceux des départements du Calvados et de la Manche fournissent la localisation des points, des normes et des contrôles effectués et des évolutions de qualité ainsi que des mesures préventives mises en place.

Concernant la qualité des eaux de rivières, il existe des réseaux de surveillance nationale inter-agences créés en application de la directive cadre sur l'eau (DCE) 2000-60 (Annexe V). Le RCS (Réseau de Contrôle et Surveillance) et le RCO (Réseau de Contrôle Opérationnel) ont été substitués au RNB (Réseau national de bassin).

Le RCS est un réseau permanent concernant la qualité des eaux de rivières, lacs, mer et eaux souterraines, destiné au suivi des évolutions de qualité chimique et écologique. Les RCO sont des réseaux plus ciblés et évolutifs sur certains paramètres et éventuellement plus denses en zones impactées par un ou des polluants, pour suivre l'efficacité de mesures préventives mises en place.

Les paramètres microbiologiques ne font normalement pas partie des paramètres suivis. Ils peuvent l'être en « contrôles additionnels » pour des zones protégées à visée santé humaine tel que décrit dans les articles 6, 7 et l'annexe IV de la DCE. Ils devraient l'être systématiquement lorsque les ressources alimentent des captages pour l'eau destinée à la consommation humaine, les zones de baignade, les zones de conchyliculture et de pêche à pied. A ce jour la position du Ministère en charge de la santé n'est pas arrêtée concernant l'intégration des paramètres microbiologiques dans les suivis DCE.

4.3 Surveillance de la contamination bactériologique des coquillages et classement de zones conchylicoles

Les missions interdépartementales des directions départementales des territoires et de la mer (DDTM, ex DDAM) en matière de gestion de l'eau ont été précisées par arrêté du 12 janvier 2010. Les DDTM sont placées sous l'autorité des préfets de département dans le cadre de la nouvelle organisation de l'Etat sur le territoire. Les DDPP (ex DDSV) sont en charge de l'application des règles sanitaires dans les établissements conchylicoles agréés ainsi que du contrôle des normes « produit fini ».

Lors de leur mise sur le marché, les coquillages doivent répondre aux critères microbiologiques fixés par le règlement (CE) n°2073/2005. Pour les mollusques bivalves vivants, les critères de sécurité concernent *Escherichia coli* (*E. coli*) dont le dénombrement doit être inférieure à 230 ufc/100g de chair et de liquide inter valvaire (CLI) et *Salmonella* avec une absence dans 25g de CLI. La conformité des produits à ces critères est une obligation réglementaire pour les exploitants conchylicoles. Cette disposition basée sur la détection de bactéries ne permet pas de garantir l'absence de VHA dans les coquillages.

4.3.1 Les modalités de surveillance

L'avis de l'Afssa du 23 juillet 2009 rappelle les modalités de surveillance des coquillages et le rôle de chaque acteur (Ifremer, DDASS, DDSV et DDAM) (Afssa 2009), qui étaient en vigueur avant la révision générale des politiques publiques (RGPP).

Depuis 2009, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) a mis en place, suite à un avis Afssa (Afssa 2008), un plan de surveillance (PS) de la contamination par *Escherichia coli* des mollusques vivants. Ce PS concerne onze régions littorales et l'Île de France pour un total de 500 analyses annuelles. Depuis la mise en place de ce plan de surveillance par la DGAI, les plans de contrôle précédemment assurés par les directions départementales des services vétérinaires ne sont plus effectués qu'en cas de mise à jour des agréments sanitaires ou lors d'investigations spécifiques (suspicion, alerte, TIAC, etc.).

Le réseau de surveillance microbiologique REMI, géré à l'échelle nationale par l'Ifremer, a pour objectif d'assurer la surveillance des zones conchylicoles de production (Figure 9). Ce réseau est mis en œuvre par huit Laboratoires Environnement Ressources (LER) Ifremer répartis dans 12 implantations littorales, qui ont réalisé, en 2008, le suivi sur 349 points REMI pour 529 zones de production classées.

D'autre part dans le cadre de maîtrise sanitaire défini par la réglementation européenne en vigueur (« Paquet Hygiène »), les professionnels conchylicoles sont dans l'obligation de réaliser des autocontrôles (Figure 9).

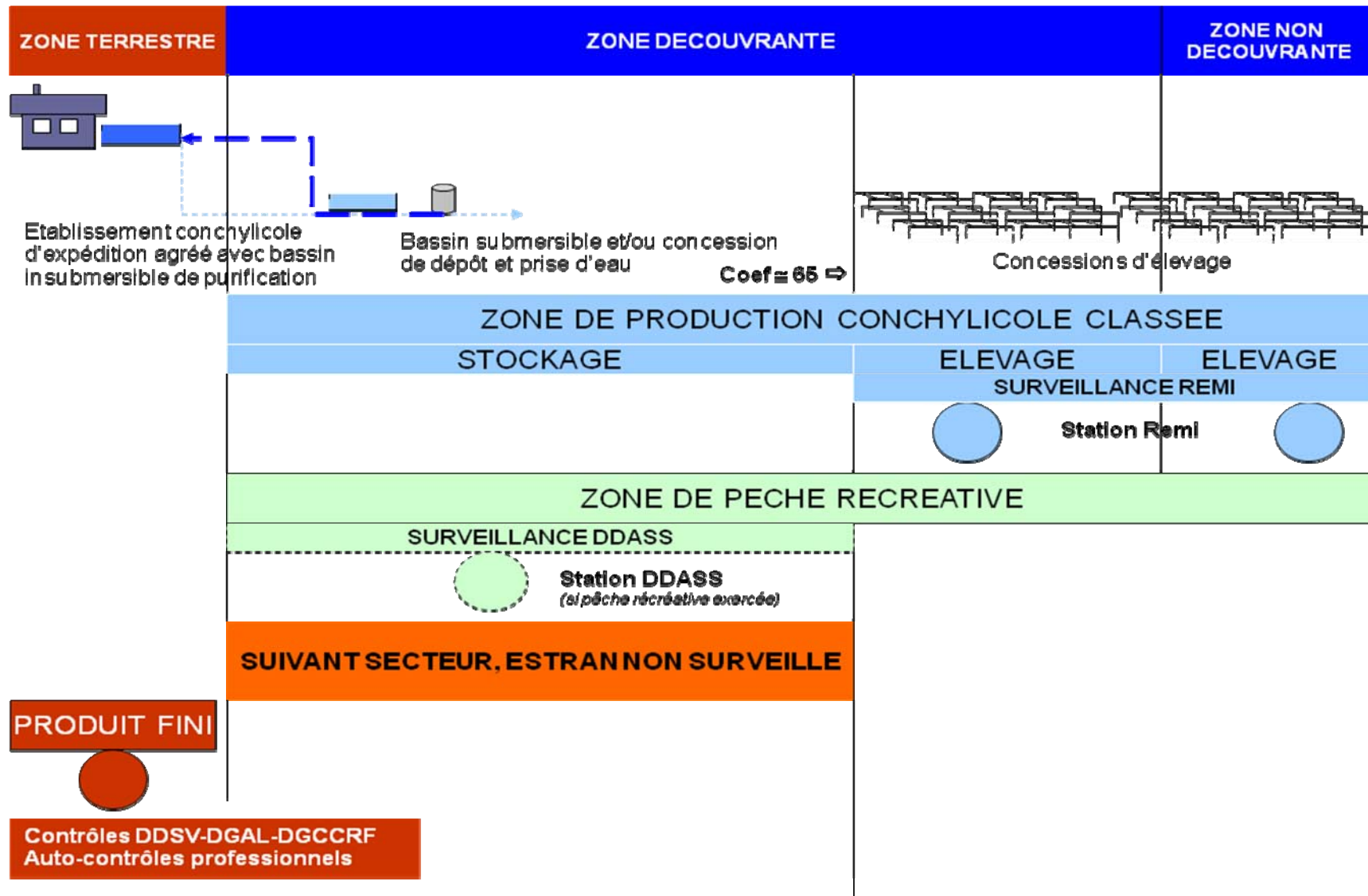
4.3.2 Le classement des zones de production conchylicole

Le classement des zones de production conchylicole est basé sur la recherche et le dénombrement de bactéries indicatrices de contamination fécale *Escherichia coli* (*E. coli*) dans la chair et le liquide inter-valvaire (CLI) des coquillages en élevage. Ce classement ne tient pas compte de la présence éventuelle de VHA. La qualité microbiologique d'une zone est estimée à partir des résultats analytiques mensuels des 3 dernières années calendaires selon les recommandations du guide européen rédigé par le laboratoire communautaire de référence, afin de tenir compte d'éventuelles variations saisonnières (CEFAS 2007).

In fine, seul le Préfet a la responsabilité du classement de la zone de production conchylicole. Il doit pour cela respecter les exigences suivantes du règlement (CE) n°854/2004 modifié (annexe II, chapitre II, A6) :

- « a) dresser un inventaire des sources de pollutions d'origine humaine et animale, susceptibles de constituer une source de contamination de la zone de production ;
- b) examiner les quantités de polluants organiques émises au cours des différentes périodes de l'année, [...]
- c) déterminer les caractéristiques de circulation des polluants [...] »

Figure 9 : Synoptique de la surveillance des produits conchylicoles.



Ce règlement européen prévoit un classement et un suivi régulier des zones de production en trois catégories : A, B et C¹². A noter qu'une même zone classée peut avoir des statuts sanitaires différents en fonction des groupes de coquillages présents. Les valeurs « limites », utilisées par ce règlement modifié, pour distinguer ces trois catégories sont respectivement de 230, 4 600 et 46 000 *E. coli* par 100g de chair et liquide intervalvaire (CLI) (Tableau 13).

Tableau 13 : Critères microbiologiques applicables pour le classement sanitaire des zones de production conchylicole (d'après le règlement (CE) N° 854/2004, modifié par les règlements (CE) n°1666/2006 & 1021/2008)¹³.

| Nombre d' <i>Escherichia coli</i> dans 100 g (CLI) | | | |
|--|------|------|-------------|
| Classe | 230 | 4600 | 46 000 max. |
| A | 100% | | |
| B | ≥90% | | ≤10 |
| C | 100% | | |

Au-delà de la limite de 46 000 *E. coli* / 100g de CLI, la production conchylicole est interdite.

La note de service DGAL/SDSSA/N2009-8132 du 06 mai 2009, adressée pour exécution aux Directeurs Départementaux des Affaires Maritimes (DDTM), présente les bases de prise en compte des résultats d'analyses microbiologiques en vue du classement des zones conchylicoles :

« En complément de la circulaire CI/08/434111 du directeur de cabinet du Ministre de l'agriculture et de la pêche, adressée aux Préfets des départements littoraux le 19 janvier 2009, et après examen des réponses qui sont parvenues à la DGAL, des éléments d'information complémentaires apparaissent nécessaires. L'objectif est d'avoir une interprétation harmonisée au plan national des normes réglementaires concernant la mise à jour des classements sanitaires des zones conchylicoles. La dernière modification du règlement (CE) n 854/2004 a rendu pérenne, pour les zones B, la possibilité de prise en compte de 10% de résultats dépassant le seuil de 4.600 *E. coli*, limitant désormais les risques de déclassement de zones de B en C aux seules zones qui ne respectent pas cette proportion de 10% de résultats excédant le seuil. Les discussions en cours concernant la révision de la réglementation européenne ne s'orientent pas vers une extension aux zones A et C de la possibilité de dépassement des seuils réglementaires pour un certain pourcentage des résultats pris en compte dans l'établissement du classement d'une zone.

Néanmoins, l'autorité compétente dispose d'une certaine marge de manœuvre pour l'établissement des classements sanitaires. En effet, si le règlement (CE) n854/2004 ne précise pas la possibilité d'écarter certains résultats d'analyse pour établir le classement des zones, les lignes directrices pour le classement des zones, qui découlent de ce règlement, et qui sont en cours de rédaction au niveau européen, prévoient clairement les conditions permettant de considérer un résultat comme « anormal » et pouvant donc être écarté de la série considérée pour le classement. Ainsi, des résultats peuvent être identifiés comme anormaux et exclus de l'ensemble de données utilisées pour déterminer le statut de classification s'ils sont le résultat d'un ou plusieurs des cas suivants :

¹² Zones A : zones dans lesquelles les coquillages peuvent être récoltés pour la consommation humaine directe.
Zones B : zones dans lesquelles les coquillages peuvent être récoltés mais ne peuvent être mis sur le marché pour la consommation humaine directe qu'après avoir subi, pendant un temps suffisant, soit un traitement dans un centre de purification, associé ou non à un reparcage, soit un reparcage.
Zones C : zones dans lesquelles les coquillages ne peuvent être mis sur le marché pour la consommation humaine directe qu'après un reparcage de longue durée, associé ou non à une purification, ou après une purification intensive mettant en œuvre une technique appropriée.

¹³ Le règlement (CE) No 1021/2008 DE LA COMMISSION du 17 octobre 2008 modifie les annexes I, II et III du règlement (CE) no 854/2004 du Parlement européen et du Conseil fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine et le règlement (CE) no 2076/2005 en ce qui concerne les mollusques bivalves vivants, certains produits de la pêche et le personnel prenant part aux contrôles officiels dans les abattoirs.

1) impossibilité d'observer les protocoles d'échantillonnage (non respect des conditions de température ou de délais, ...), quand l'autorité responsable du programme de contrôle considère que cela peut avoir significativement affecté le résultat obtenu ; l'échantillon écarté devrait alors être remplacé par un autre, pris de façon aléatoire ;

2) anomalie du système de traitement des eaux usées ou défaut de son fonctionnement, qui auraient été rectifiés et pour lesquels l'autorité compétente atteste que les mesures ont été prises pour éviter que cela ne se reproduise ;

3) événement pluvieux observé au maximum une fois sur une période de 5 ans quand l'autorité responsable du programme de contrôle considère que cela a ou a pu avoir un impact significatif sur le statut microbiologique de la zone ; ce point est à interpréter en fonction du lien observé entre pluviométrie et résultats défavorables : si une pluviométrie est systématiquement liée à des résultats défavorables, elle ne peut être considérée comme un événement exceptionnel ;

4) élimination des résultats dits « aberrants », correspondant aux résultats qui sortent complètement du bruit de fond général de la zone sans qu'une cause réelle n'ait été identifiée et qui représentent des phénomènes de courte durée (moins de 24h). » (Re transcription Note de Service DGAL/SDSSA/N2009-8132).

Des propositions récentes des SRC utilisent cette note pour pallier les inconvénients des déclassements en proposant un classement saisonnier. Suite à une proposition de la SRC Sud Bretagne, le Préfet du Morbihan a classé les différentes zones du Golfe du Morbihan selon un découpage trimestriel (arrêté préfectoral du 17 février 2010).

4.3.3 Le classement des zones de pêche à pied de loisir

Les zones de pêche récréative ne disposent pas encore d'une réglementation sanitaire spécifique. La qualité des eaux des zones de pêche à pied de loisir qui ne sont pas également exploitées par des professionnels doit être surveillée et évaluée par les DDASS (ou futures agences régionales de santé (ARS) dans le cadre de la RGPP, placées sous la responsabilité du Préfet de région) et l'information doit être transmise à l'autorité administrative compétente. En absence de texte réglementaire spécifique à ces zones, la surveillance et les mesures de gestion des sites s'effectuent actuellement en transposant les dispositions appliquées aux zones conchylicoles et aux zones de pêche à pied professionnelles (DGS, Journées LNR Microbiologie des coquillages, mars 2010).

La pêche à pied de loisir est autorisée uniquement sur les zones de production conchylicoles classées A et tolérée pour les zones classées B mais sous certaines conditions (article R.231-41 du code rural).

4.3.4 Le dispositif d'alerte d'événements de contamination

Une fois la zone classée, le REMI permet de suivre certains des épisodes de contamination bactériologique. Les prescriptions REMI relatives à l'alerte ont été définies en différents niveaux. Le dispositif peut être déclenché de façon préventive en cas de risque de contamination (niveau 0), ou en cas de contamination détectée, par exemple en cas de résultat supérieur au seuil d'alerte dans le cadre de la surveillance régulière (niveau 1), et peut être maintenu en cas de contamination persistante (niveau 2). Pour ce faire des seuils d'alerte ont été définis par zone classée :

- Zone A $\geq 1\ 000$ *E. coli*/100 g CLI
- Zone B $\geq 4\ 600$ *E. coli*/100 g CLI
- Zone C $\geq 46\ 000$ *E. coli*/100 g CLI

Pour les niveaux 0 ou 1, l'alerte se traduit par :

- l'émission immédiate d'un bulletin d'alerte vers une liste définie de destinataires administratifs et professionnels, de façon à ce que l'autorité compétente puisse prendre les mesures adaptées en terme de protection de la santé des consommateurs ;
- la réalisation dans les 48 h de prélèvement sur le ou les points de suivi de la zone concernée (sous réserve d'accessibilité).

Si le résultat (ou la série de résultats si la zone comporte plusieurs points de suivi) est inférieur au seuil d'alerte, le dispositif d'alerte est levé, s'il est supérieur au seuil et qu'il y a persistance de la contamination (niveau 2), cela se traduit par l'émission immédiate d'un bulletin d'alerte vers une liste définie.

nie de destinataires comprenant, en plus des destinataires précédemment cités, des administrations centrales. La surveillance est renforcée, la fréquence de suivi des points de la zone est hebdomadaire (sous réserve d'accessibilité), jusqu'à la levée de l'alerte qui intervient suite à deux séries consécutives de résultat inférieur au seuil d'alerte.

Un dispositif complémentaire est mis en place pour les zones classées A. Ce dispositif prévoit l'envoi d'un bulletin d'information pour tout résultat obtenu entre 230 et 1000 *E. coli*/100 g CLI vers la liste définie pour les alertes niveaux 0 et 1.

4.4 Surveillance de la contamination virale des coquillages

La surveillance réglementée de la contamination virale des coquillages n'existe pas à ce jour car d'une part, les méthodes pour la recherche du VHA ne sont pas encore normalisées et d'autre part, la surveillance virale n'a pas été retenue pour le classement des zones de production. Cependant, à court terme elle devrait être inscrite dans le « Paquet Hygiène » (norovirus et VHA dans les produits prêts à consommer), dès que les travaux du groupe CEN seront terminés et donc qu'une méthode officielle sera disponible.

La recherche des bactériophages (F-RNA spécifiques) avait été proposée par différents auteurs (Lees 2000) comme indicateur de risque viral, mais au vue de la non concordance entre la présence des phages et des norovirus (ou VHA) dans les études réalisées dans différents pays européens sur les zones de production, le critère de recherche des phages dans les coquillages n'a pas été retenu par le Laboratoire Communautaire de Référence (Cefas, GB) et la DG Sanco. Par contre, la réglementation actuelle demande l'élaboration de « profils de vulnérabilité » tenant compte de différents facteurs ou indicateurs de contamination fécale ou virale sur les zones de production (prise en compte de la distance rejets microbiologiques - concessions, de l'intensité des pluies, de la présence de malades dans la population).

Contrairement à la surveillance des eaux de rivières et des eaux usées, la réglementation des eaux de baignade et conchylicoles inclut systématiquement les paramètres bactériens. La surveillance et le classement des zones de production conchylicole, se fait sur la base d'un réseau pérenne de surveillance bactériologique (Remi) ; cependant certains usages courants, dépôt sur l'estran par exemple sont peu ou pas pris en compte. Le produit fini est contrôlé par des auto-contrôles des professionnels et dans le cadre d'un plan national de surveillance de la DGAI. Si la surveillance et le contrôle des produits conchylicoles d'élevage et de pêche professionnelle se fait tout au long de la filière plus ou moins régulièrement, ceux-ci ne reposent que sur des analyses bactériologiques qui n'ont aucun lien avec la présence de virus. Aucun indicateur viral fiable n'a été validé pour les coquillages et à court terme, les paramètres norovirus et VHA devraient être inscrits au niveau réglementaire.

5 Le cas de la Baie de Paimpol

5.1 Contexte épidémiologique

5.1.1 Epidémies

Deux épidémies d'hépatite A liées à la consommation d'huîtres provenant de la Baie de Paimpol sont survenues au cours de l'hiver 1998-1999 et de l'été 2007.

- **Epidémie de l'hiver 1999**

Trente-trois cas ont été identifiés par un recensement des patients présentant des IgM VHA positives auprès des laboratoires d'analyses médicales des Côtes d'Armor. Les patients résidaient sur le littoral du département des côtes d'Armor de Pleumeur-Bodou à Lamballe avec un regroupement sur les communes de Paimpol, Ploubazlanec, Lezardrieux et Plouézec. L'aspect de la courbe épidémique avec une date de survenue des cas entre le 26 janvier et le 12 février 1999 et un pic le 1^{er} février indiquait une période de contamination limitée dans le temps à la fin de l'année 1998. Une étude cas-témoin a mis en évidence une association statistiquement significative entre la survenue de maladie et le fait d'avoir consommé des huîtres 2 à 6 semaines avant la survenue de la maladie [OR= 6,2 ; IC 95% 1,7-23,0]. L'origine la plus probable des huîtres contaminées était des bassins de stockage des ostréiculteurs situés sur la côte nord du bassin de Paimpol. L'enquête environnementale avait mis en évidence d'une part des insuffisances globales de la collecte et du traitement des eaux usées de Paimpol et des communes avoisinantes, aggravées par la survenue concomitante de chutes de pluie importantes en fin d'année 1998 et de coefficients de marée élevés et d'autre part une situation critique du point de vue sanitaire de certaines prises d'eau servant à alimenter les bassins de stockage des huîtres avant leur commercialisation dans la zone suspecte d'être à l'origine de l'épidémie. La surveillance bactériologique du réseau REMI n'avait pas mis en évidence de dépassement de norme sur la période incriminée mais aucun point de prélèvement ne se trouvait dans la zone suspectée.

- **Epidémie de l'été 2007**

Cent-onze cas ont été identifiés par la déclaration obligatoire. Les cas résidents permanents ou touristes résidaient majoritairement dans le secteur de Lannion – Paimpol (Trégor- Goëlle). L'aspect de la courbe épidémique avec une majorité des cas au cours de la deuxième et troisième semaine d'août 2007 indiquait une contamination ponctuelle autour de la mi-juillet. Les enquêtes épidémiologiques, de traçabilité et environnementales entreprises suite à l'épidémie ont conclu que cette épidémie était attribuable à la consommation d'huîtres et de coquillages crus stockés au niveau d'un établissement conchylicole au nord de la Baie de Paimpol. Des rejets d'eaux usées à partir des dispositifs d'assainissement (collectif, autonome), voire des émissaires pluviaux, pourraient être à l'origine de la contamination des coquillages. Les analyses réalisées à distance de la période de contamination sur les coquillages, les eaux usées, les boues de la station d'épuration et émissaires littoraux n'ont pas mis en évidence de VHA. Les concentrations maximales en *E. coli* pour les mois de juin, juillet et août sur les stations REMI de la Baie de Paimpol et Ploubazlanec restaient cohérentes avec le classement sanitaire des zones de production.

Ces deux épidémies, survenues à moins de 9 ans d'intervalle à des périodes différentes de l'année, ont en commun une contamination limitée dans le temps et dans l'espace des huîtres de la baie, l'absence de contamination importante en *E. coli* de cette zone par la surveillance REMI (les virus ne sont pas recherchés par le REMI, le règlement demandant seulement la recherche d'*E. coli*), et l'absence de mise en évidence du VHA dans les prélèvements d'huîtres lors des investigations qui ont suivi la survenue des cas (soit environ 2 mois après la contamination supposée des coquillages). L'origine des deux épisodes de contamination n'a pas pu être identifiée précisément ; les hypothèses sur cette origine sont cependant similaires.

5.1.2 Données de la DO de l'Hépatite A pour les communes de Paimpol, Plouézec, Ploubalzanec, Plourivo

Du 1^{er} janvier 2006 au 31 décembre 2009, six cas, tous survenus en 2007 (2 dans 3 communes), ont été déclarés chez des résidents des communes de Paimpol, Plouézec, Ploubalzanec et Plourivo (Tableau 14).

Quatre cas survenus en août 2007 avaient consommé des huîtres et étaient liés à l'épidémie. Deux cas sont survenus en octobre, un de 63 ans pouvait être un cas secondaire à un cas familial lié à l'épidémie. L'autre cas (âgé de 11 ans) n'avait pas de cas symptomatique connu dans son entourage et n'avait pas consommé d'huîtres.

Tableau 14 : Nombre de cas d'hépatite A notifiés dans la DO chez des résidents des communes de Paimpol, Plouézec, Ploubalzanec et Plourivo, 2006-2009.

| Commune de résidence des cas | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 |
|--|------|------|------|------|
| Plouézec | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Paimpol | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Ploubalzanec | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Plourivo | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <hr/> | | | | |
| Total 4 communes (17 029 hab., Insee 2006) | 0 | 6 | 0 | 0 |
| <hr/> | | | | |
| Autres communes des Côtes d'Armor (~554 000 hab., Insee 2006) | 3 | 57 | 18 | 7 |

Le nombre de cas d'hépatite A déclarés dans les 4 communes est donc très faible. Le nombre de personnes susceptibles d'excréter du VHA dans ces communes et susceptibles de contaminer les coquillages produits dans la Baie de Paimpol est cependant probablement supérieur pour les raisons listées ci-dessous. La sous-estimation liée à ces facteurs n'est toutefois pas majeure et le nombre de cas excréteurs reste probablement faible.

- La DO de l'hépatite A n'est pas exhaustive. Cependant, la proportion de cas non déclarés est probablement faible pour la commune de Paimpol et les communes voisines, en raison de la sensibilisation des professionnels de santé suite à l'épidémie de 2007 ;
- Les cas non résidents de ces communes mais y ayant séjourné lors de la phase excrétrice sont identifiés dans la DO dans leur commune de résidence. La région de Paimpol étant touristique, le nombre de résidents temporaires durant la saison estivale est très supérieur à la population résidente. Lors de l'épidémie de 2007, 53 (51%) des 105 cas français résidaient dans le département des Côtes-d'Armor. Parmi ces touristes, 7 avaient séjourné à Paimpol et 8 à Ploubalzanec. En raison du délai moyen de 15 jours compris entre la contamination et l'apparition de l'excrétion (durée moyenne d'incubation de 30 jours – durée d'excrétion pré-symptomatique de 15 jours), il est probable que la majorité des cas ne séjournait plus à Paimpol lors de la phase d'excrétion ;
- les personnes infectées excrétrices asymptomatiques ne sont pas identifiables ; cette proportion est très élevée pour l'hépatite A (90% chez les enfants de moins de 5 ans, diminue avec l'âge pour atteindre 30%-20% chez les adultes).

5.2 Description du site conchylicole

5.2.1 Le milieu marin

La Baie de Paimpol est caractérisée par des courants de marée importants, une faible profondeur d'eau, des fonds plats et une amplitude de marée qui entraîne une surface découvrante importante à marée basse. Les zones de dépôts vaseux sont limitées à la partie amont correspondant à la sortie du port, les bacs découvrants étant formés de roches ou de dépôts sableux. Cette baie correspond donc à un type d'estuaire considéré comme bien mélangé. Il serait intéressant de réaliser des profils verticaux spatio-temporels de salinité pour confirmer cette hypothèse. En hiver, en particulier lors de fortes

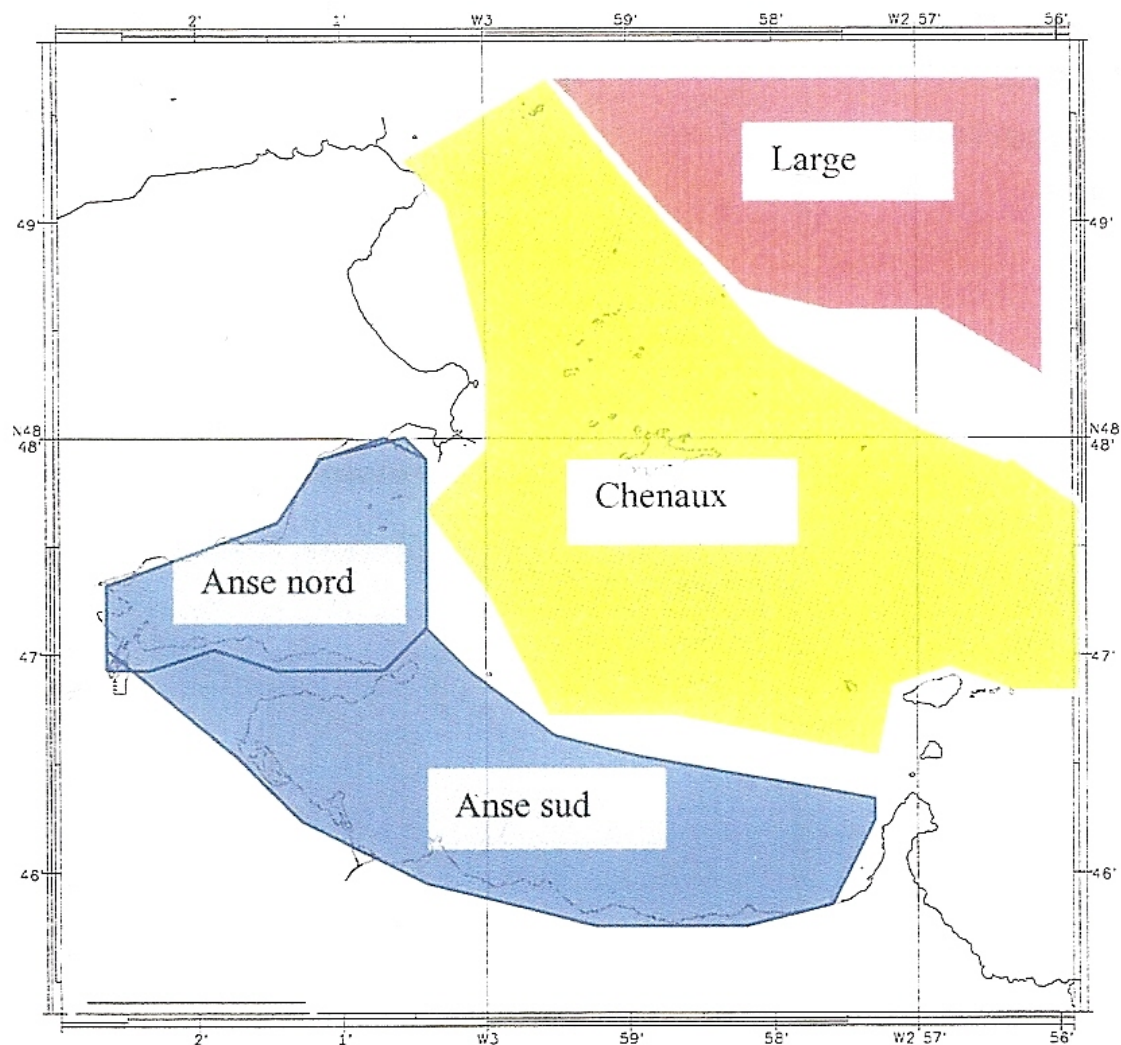
précipitations, la partie intérieure de la Baie (exutoire de la rivière de Quinic) pourrait être soumise localement à des stratifications de salinité du fait de l'augmentation du débit de la rivière.

La Baie de Paimpol peut être divisée en plusieurs zones (Figure 10) :

- le large (secteur profond) ;
- les chenaux en connexion avec la Baie de Paimpol ;
- l'anse de Paimpol qui recouvre le domaine situé entre Porz-Even au nord, la pointe de Guilben et la pointe de Plouézec au sud. Ce domaine est lui-même séparé en deux zones:
 - l'anse nord entre Porz-Even au nord et la pointe de Guilben ;
 - l'anse sud entre la pointe de Guilben et la pointe de Plouézec.

Figure 10 : Représentation schématique de la Baie de Paimpol

(Selon la délimitation des sous-domaines de l'étude Safège Cetiis de décembre 2000 «L'étude par modèle mathématique des courants et de la dispersion dans l'anse de Paimpol »)



5.2.1.1 Description de la circulation des eaux dans la Baie

La Baie de Paimpol est soumise à des courants de marées qui peuvent atteindre des vitesses maximales de l'ordre de 20cm/s en marée de mortes eaux et 40cm/s en vives eaux.

La figure 11 montre l'intensité et la direction du courant en début de flot, pendant une marée de mortes eaux. La vitesse de courant est indiquée par des flèches noires qui sont d'autant plus grandes que la vitesse du courant est élevée. On constate que les vitesses les plus importantes sont observées au large et dans la zone des chenaux (zone rouge et jaune respectivement de la figure 10).

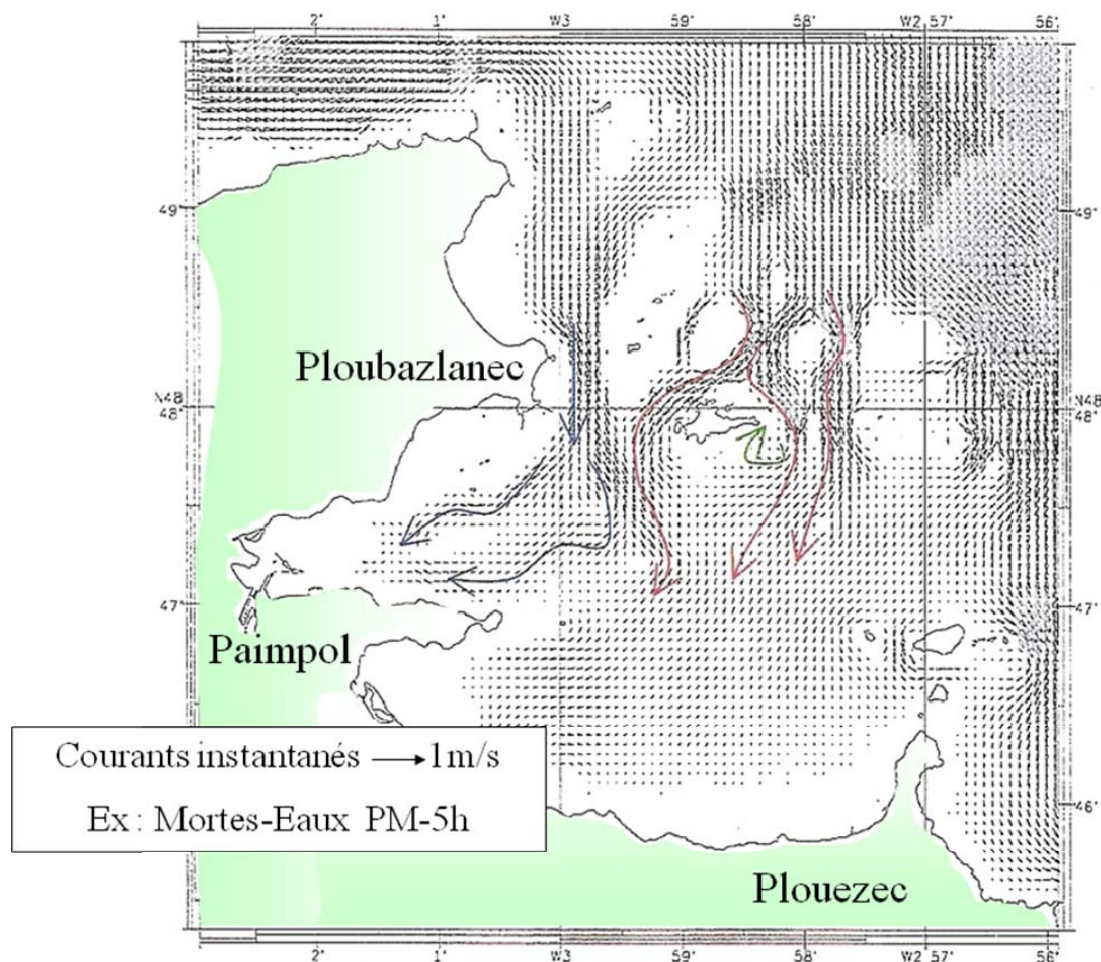
L'alimentation en eau de la baie s'effectue de manière distincte entre ses parties nord et sud. L'anse nord reçoit principalement des eaux qui transitent par les chenaux situés à l'ouest de l'île de St Rion (directions générales indiquées par les flèches bleues), tandis que le sud est alimenté par les chenaux à l'ouest de cette île et par le chenal de la Jument (flèches rouges). Des contre-courants sont observés derrière les îles (flèche verte). Dans les anses nord et sud (zone bleue, figure 10) les courants sont très faibles.

Au jusant¹⁴, le retrait des eaux dans les deux anses s'opère de façon similaire en vives eaux et en mortes eaux. Les eaux de l'anse nord sont invariablement évacuées par les chenaux situés à l'ouest de St Rion. L'anse sud est, en début de jusant reliée à ces mêmes chenaux et, à mi-marée, aux chenaux situés à l'est de St Rion.

A l'étal de basse mer, les situations sont plus contrastées : en vives-eaux le jusant est toujours actif dans les chenaux d'évacuation et sur les estrans, tandis qu'en mortes eaux le flot est déjà amorcé sur ces même secteurs.

Les conséquences de ces mouvements d'eaux sur les coquillages sont étudiés ci-après.

Figure 11 : Représentation schématique des courants dans la Baie de Paimpol, au début du flot (5 heures avant la pleine mer), à marée de mortes eaux.



5.2.1.2 Influence des rejets sur la qualité des coquillages

Une étude de l'influence des rejets de la station d'épuration de Paimpol a été réalisée par le bureau d'étude Safège. La figure 12 présente une simulation de rejet d'un by-pass chargé en coliformes fécaux et l'étalement et la dilution de la tâche contaminée dans la baie. Les concentrations vont de valeurs très élevées indiquées en rouge foncé ($>10^6/100$ mL), rouge ($10^5-10^6/100$ mL), orange (10^4-

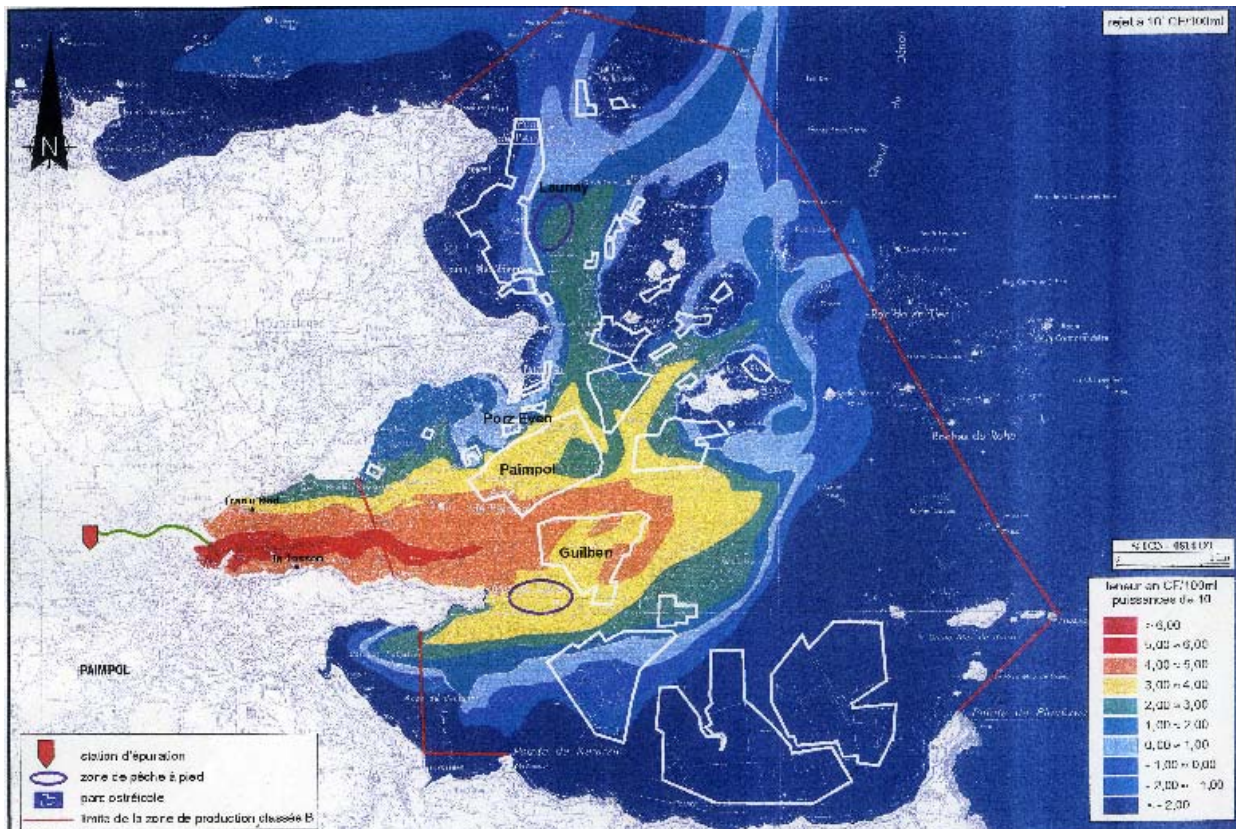
¹⁴ Marée descendante

10⁵/100 mL), jaune (10³-10⁴/100 mL), jusqu'à des concentrations plus faibles : vert (10²-10³/100 mL), etc. On constate que dans ce cas simulé des eaux très fortement contaminées peuvent atteindre les parcs ostréicoles de la zone nord de la Baie. Il s'agit d'une illustration d'un rejet d'eaux brutes, en marée de vives eaux, le débit du by-pass et la durée du rejet n'est pas indiquée (la concentration au départ était de 10⁷ coliformes fécaux/100 mL).

Cette étude fournit une information globale sur la dispersion des rejets dans ce secteur, des cartes détaillent la concentration maximale – sous les hypothèses données au modèle i.e. en particulier le temps de rejet et la concentration des eaux usées rejetées- en coliformes fécaux dans la Baie pour chaque simulation de dispersion et dans des conditions particulières (le vent ne semble pas avoir été pris en compte dans les simulations). Les résultats du modèle sont repris dans l'étude d'impact pour la « demande d'autorisation au titre de la loi sur l'eau de la commune de Paimpol, Assainissement – Eaux usées, Régulation du système d'assainissement » (Saunier Techna, 2003).

Figure 12 : Modélisation de l'impact d'un rejet du by-pass (10⁷ CF/100ml) sur les concentrations maximales en marées de Vives eaux.

(Extrait du rapport « assainissement - eaux usées commune de Paimpol – Dossier de demande d'autorisation au titre de la loi sur l'eau, Saunier Techna », déc 2003 – document original scanné)



L'étude d'impact réalisée par Saunier-Techna, (2003) conclut à partir de l'interprétation des modélisations au regard des pics de pollution signalés par les différents suivis: « Sur le plan général : les pics de contamination majeurs sont associés au rejet d'effluents bruts (by-pass) de la station, dans les conditions de marée de vives eaux. Les rejets d'assainissement déficients sur le pourtour de la Baie ont, quant à eux, un impact moindre en terme de concentration de coliformes et d'étendue spatiale ». Dans cette optique, l'étude a montré l'impact de ce même rejet sur des sites particuliers :

- **St Rion**

« d'après les simulations, les by-pass prolongés de la station d'épuration sont les plus susceptibles d'être à l'origine de la contamination. Cependant, au niveau de St Rion, les limites de précision du

modèle sont peut-être atteintes dans la mesure où le point Ifremer (Remi) n'apparaît jamais dans un secteur d'eau à plus de 10cf/100ml. Toutefois en fin de jusant, le by-pass de la station provoque l'arrivée d'une «poche d'eau à 10^3 - 10^4 CF/100ml non loin de la côte nord-ouest de l'île. Etant donné la précision du modèle, en période pluvieuse prolongée, il paraît vraisemblable que des eaux stagnantes puissent être petit à petit polluées sans que le modèle ne traduise ce phénomène».

- **Paimpol/St Rion**

« le point Paimpol est soumis aux panaches de flot et début jusant, St Rion est sous l'influence des fins de jusant. Les dysfonctionnements de l'assainissement de Ploubazlannec contaminent le point Paimpol, mais pas St Rion ». Les observations sont confirmées par les points Remi.

- **Launay**

« le suivi Ifremer montre quelques rares pics de 100 à 200cf/100g. Le fait que le chenal de Bréhat draine de longs panaches d'eau contaminée depuis l'anse de Paimpol vers le nord, constitue une explication à ces pics ».

- **Guilben**

« La qualité des coquillages sur ce point REMI est la meilleure de l'ensemble de la Baie. Cependant les simulations montrent la présence d'eau à 10 - 10^2 CF/100ml. Face à cette discordance, une explication serait que le caractère fugace d'eau riche en coliformes fécaux, évite aux huîtres de filtrer trop longtemps une eau chargée bactériologiquement ».

Cependant l'hypothèse du peu d'impact du caractère fugace de cette contamination serait à confirmer. En effet, les données bibliographiques montrent qu'il suffit de quelques dizaines de minutes à un lot d'huîtres immergé dans une eau polluée pour se contaminer (Plusquellec, Beucher et al. 1994).

- **Traou Nod**

« Le confinement des panaches en fond de baie en mortes eaux et la proximité du point de rejet de la station confirment les résultats [de la surveillance de la zone de pêche récréative de Traou Nod, à la suite] des analyses de la DDASS ». Il s'agit d'un point de surveillance d'un gisement de pêche à pied trouvé régulièrement contaminé. Ce secteur est classé insalubre par arrêté préfectoral du 12 avril 2000 sur proposition conjointe de la DDAM et de la DDASS. Ce même arrêté préfectoral classe aussi le fond de l'anse de Poulafret et le débouché du ruisseau de Beauport en zone insalubre ainsi que de nombreux autres secteurs du département des côtes d'Armor. Cet arrêté correspond à une actualisation du dernier arrêté préfectoral qui datait de 1940.

L'étude d'impact conclut « Globalement il ressort qu'en situation de fonctionnement de la station à son débit nominal ($5000\text{m}^3/\text{j}$), la majorité des usages de la Baie de Paimpol pâtiront peu du rejet. En effet les parcs conchylicoles, les zones de reparquages ou de prises d'eau (face à Porz Even) et les zones de pêche de loisir présenteront une qualité en accord avec la réglementation de l'OMS ($<100\text{CF}/100\text{ml}$) ainsi que les conditions de classement de salubrité B de la baie ».

Par ailleurs, il est également conclu « En marée de mortes eaux, les eaux les plus concentrées sont confinées dans le fond de l'anse nord, sans affecter les parcs ostréicoles ». Une étude du déplacement sous l'effet des vents de cette nappe d'eau contaminée permettrait de valider ou pas cette affirmation.

L'étude de modélisation du secteur a été réalisée par un bureau d'étude (Safege Cetiis 2001). A notre connaissance aucune information n'existe sur le calage de ce modèle en terme de courants et de dispersion, sur la validité des valeurs des paramètres introduits dans le modèle (temps de survie des bactéries, taux d'accumulation d'*E. coli* dans les coquillages), ni sur la validation du modèle de dispersion des bactéries et de leur accumulation dans les coquillages. Par ailleurs, ces simulations ne tiennent compte que des rejets connus et non des dysfonctionnements occasionnels (par exemple lors de fortes crues).

En conclusion, il existe peu de données sur la circulation et la dispersion des polluants issus des différents rejets de la Baie de Paimpol, en dehors de cette étude d'impact.

Au vu des résultats observés de la qualité sanitaire sur le secteur après la mise en place de la station (à supposer que le fonctionnement nominal proposé soit effectif), et si la station n'a en effet pas d'impact sur la qualité des coquillages (résultats de l'étude d'impact), l'explication de la contamination observée est à rechercher auprès de rejets locaux, ponctuels, intermittents ou non, de by-pass d'eaux usées non répertoriés ou de rupture de réseaux (fortes pluie ou autre...). Une étude de l'Ifremer débu-

tée en 2009 et ayant pour objectif d'évaluer l'impact de la STEP sur les stations Remi va dans ce sens (communication personnelle, Ifremer LER Dinard).

Ces petits rejets sur le pourtour de la baie peuvent avoir un impact local décisif, les premières informations montrent qu'il y a des contaminations importantes qui pourraient être à l'origine de contamination de zones d'estran utilisées pour le stockage temporaire d'huîtres.

5.2.2 La zone de production conchylicole

Ce site est intégré dans la région de production conchylicole de Bretagne Nord qui s'étend de la Baie du Mont St Michel à l'Est, à la pointe de Crozon à l'Ouest, soit les départements d'Ille & Vilaine, Côtes d'Armor et la zone nord du Finistère (Le Saux, Mouillard et al., 2010).

Avec 4 088 hectares de concessions attribuées, la région Bretagne-Nord, pour une production annuelle apparente¹⁵ de 25 700 tonnes de coquillages, commercialise à la consommation 26 888 tonnes de coquillages. Les 206 établissements conchylicoles agréés représentaient en 2001, 16% des ventes (26 888 tonnes) pour une production nationale équivalente à 166 319 tonnes. Elle est la première région de production mytilicole française avec une commercialisation équivalente à 16 041 tonnes soit près de 30% de la production nationale (57 276 tonnes) (Données Agreste, 2005).

Sur les 1 119 hectares de concessions d'élevage attribuées dans les Côtes d'Armor, la Baie de Paimpol représente 500 hectares (127 concessions) dévolus exclusivement à la production d'huîtres, soit 45% des concessions conchylicoles et 62% des concessions ostréicoles du département. Les concessions sont majoritairement destinées à l'élevage d'huîtres creuses en surélévation (80%), l'élevage au sol ne représentant que 20%.

La production globale annuelle de la baie est de l'ordre de 7 000 tonnes quel que soit l'emplacement d'origine du siège social de l'établissement. En effet, outre les huit établissements conchylicoles agréés localisés sur le littoral de la baie, cette superficie de production est partagée entre une centaine de producteurs ostréicoles originaires des principales régions de production ou de commercialisation des huîtres, telles que la Normandie (Calvados & Manche), Bretagne Sud (Finistère & Morbihan), Pays de Loire (Loire-Atlantique & Vendée), Poitou-Charente (Charente-Maritime) et l'Aquitaine (Gironde).

Comme c'est le cas pour toutes les zones de production soumises aux marées, les huit établissements agréés présents sur zone, disposent de près de quatre hectares de dépôts sur l'estran à proximité immédiate des établissements (DDPP 22, com pers). Pour une superficie de 25,9 ares de bassins submersibles, ces établissements possèdent des structures insubmersibles de traitement des coquillages de type bassin insubmersible aéré d'une superficie de 10,07 ares, pour traiter les coquillages avant commercialisation.

Les chiffres de production-commercialisation des coquillages de l'année 2007 par les huit établissements agréés de la baie concernent près de 977 tonnes de coquillages (DDPP 22, com pers). Ces coquillages proviendraient en grande partie de la Baie de Paimpol, mais également de sites extérieurs (essentiellement des moules des secteurs de production mytilicole des départements 22 & 35) : 630 tonnes d'huîtres, 347 tonnes d'autres coquillages dont 80% de moules.

Sur ce secteur de production ostréicole 85% des concessionnaires produisent pour d'autres régions françaises, ce qui conduit à des transferts d'huîtres volumineux vers les autres centres de production. On ne connaît pas précisément les volumes transférés à partir de la baie, les seules données existantes concernent les transferts d'huîtres de la région Bretagne Nord. En 2001, cette région transférait annuellement environ 6 500 tonnes d'huîtres creuses de taille adulte (Tableau 15). Près de 90 % étaient dirigés vers les centres de production du Sud Loire : 53,9% en Poitou-Charentes (Marennes-Oléron), 25,3% en Pays de Loire et 10,0% en Aquitaine (Bassin Arcachon), pour 8,6% en Bretagne Sud et 1,8% en Normandie.

¹⁵La production apparente, pour les établissements dont le siège social est situé en Bretagne-Nord, est calculée en additionnant les quantités vendues de produits finis ou semi-finis et en y retranchant les quantités achetées de produits semi-finis. Les stocks sont considérés comme constants entre le début et la fin de l'année (Données Agreste, 2005).

Tableau 15 : Tonnages transférés d'huîtres creuses adultes sans marquage sanitaire en 2001 à partir de la région conchylicole de Bretagne-Nord (Données Agreste, 2005).

| Destination des huîtres originaires de Bretagne Nord | Nord Normandie | Bretagne Nord* | Bretagne Sud | Pays de Loire | Poitou-Charentes | Aquitaine | Méditerranée | Total transféré |
|--|----------------|----------------|--------------|---------------|------------------|-----------|--------------|-----------------|
| | 117 | 23 | 560 | 1 645 | 3 502 | 653 | 0 | 6 499 |
| | 1,8% | 0,4% | 8,6% | 25,3% | 53,9% | 10,0% | 0 | 100% |

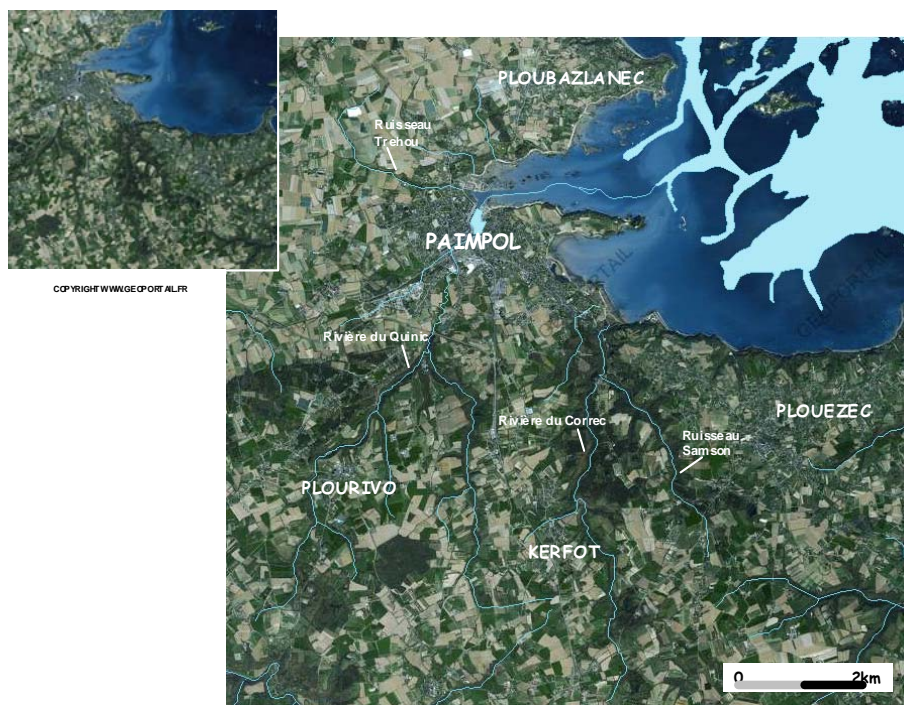
(*) transferts vers un autre département de celui d'origine.

Sur la base de ces données, sachant que 85% des concessionnaires de la Baie de Paimpol ont le siège social de leur établissement à l'extérieur des Côtes d'Armor, une hypothèse plausible est qu'environ 4 000 tonnes d'huîtres de la baie sont transférés annuellement.

5.3 Description du système d'assainissement

Le bassin versant de la Baie de Paimpol est composé de sept communes, en partie ou en totalité : Paimpol, Ploubazlanec, Plourivo, Plouézec, Kerfot, Yvias et Plehedel. Seules cinq d'entre elles (Paimpol, Ploubazlanec, Plourivo, Plouézec, Kerfot) disposent d'installations collectives de traitement des eaux usées pouvant impacter le chevelu hydrographique et/ou les eaux littorales (Le Saux, Mouillard et al., 2010) (Figure 13).

Figure 13 : Communes du bassin versant de la Baie de Paimpol et chevelu hydrographique.



5.3.1 Population

Les cinq communes totalisent une superficie de 100,58 km² pour une population permanente de 17 029 habitants. La densité moyenne pour l'ensemble des cinq communes est de 169,3 habitants/km² soit plus du double de la densité départementale (83 hab./km²). Cependant de grandes variations existent entre les cinq communes, avec comme valeurs extrêmes les communes de Plourivo 74,3 hab/km² et Paimpol 329,8 hab/km² (Tableau 16). La population permanente est relativement âgée (majoritairement dans la tranche d'âge >45 ans (Tableau 16) versus un peu moins de 40% au niveau national).

Tableau 16 : Population par tranches d'âge des communes littorales de la Baie de Paimpol (INSEE.2006)

| Classes d'âge | Paimpol-Ploubazlanec-Plourivo | | Plouézec | | Kerfot | |
|---------------------------------|-------------------------------|-------|----------|-------|--------|-------|
| | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % |
| <15ans | 1950 | 14,83 | 501 | 15,15 | 101 | 17,66 |
| 15-25ans | 1347 | 10,24 | 267 | 8,08 | 89 | 15,56 |
| 26-45ans | 2543 | 19,34 | 630 | 19,06 | 129 | 22,55 |
| >45ans | 7311 | 55,59 | 1908 | 57,71 | 253 | 44,23 |
| Total | 13151 | | 3306 | | 572 | |
| Superficie (km ²) | 67,00 | | 27,87 | | 5,71 | |
| Densité (hab./km ²) | 196,3 | | 118,6 | | 100,2 | |

5.3.2 Habitations

L'ensemble des communes représente 7 988 résidences principales et 2 310 résidences secondaires. En plus de ce parc d'habitations, il existe 629 logements vacants et 56 occasionnels. Pour les communes de Ploubazlanec et Plouézec, sur le cumul résidences principales et secondaires, plus d'un tiers sont secondaires avec respectivement 35,4% et 32,3%. Pour les communes de Kerfot, Plourivo et Paimpol cette proportion est de 8,2%, 11,4% et 14,2%.

Pour les résidences principales construites avant 2004, et sur l'ensemble des communes, en moyenne plus des 2/3 ont été achevées avant 1975, dont 37% avant 1949. La commune de Kerfot se distingue avec seulement 45% des habitations datant de la période avant 1975. Deux communes ont des pourcentages élevés de constructions récentes (période 1990-2003), Ploubazlanec 19,35% et Kerfot 18,29% (Tableau 17).

Seules les communes de Paimpol et Ploubazlanec disposent respectivement de huit et six hôtels classés pour un total de 230 chambres (Paimpol : 131, Ploubazlanec : 99).

Six campings sont présents sur le site pour un total de 490 emplacements. Pour la commune de Paimpol un camping de 130 emplacements est localisé dans le quartier de Cruckin en bordure littorale à proximité immédiate de l'abbaye de Beauport. Deux campings sur la commune de Ploubazlanec pour une capacité totale de 100 emplacements sont présents. Un à la pointe de l'Arcouest (65 places), mais hors du bassin versant de la baie et un en bordure littorale au niveau de Pors Don (35 places). La commune de Plouézec dispose de trois campings pour 337 emplacements. Un camping municipal au niveau du bourg, un en amont du bassin versant de la rivière Le Correc, et un en bordure littorale à proximité de Port-Lazo. Sur ces 337 emplacements 77 sont loués à l'année (INSEE, 2006).

Tableau 17 : Résidences principales selon la période d'achèvement (INSEE, 2006)

| Résidences principales | Paimpol-Ploubazlanec-Plouézec-Plourivo-Kerfot | |
|------------------------|---|--------|
| | Nbre | % |
| <1949 | 2 848 | 37,18 |
| 1949-1974 | 1 828 | 23,86 |
| 1975-1989 | 1 839 | 24,01 |
| 1990-2003 | 1 145 | 14,95 |
| Total | 7 660 | 100,00 |

La communauté des communes de Paimpol-Goélo, a mis à disposition trois aires pour les campings. A Paimpol sur le Champ de Foire (borne de vidange, eau, électricité) et sur la zone de Kerpallud

(parking simple) sites ouverts toute l'année ; à Plouézec, au camping de la Pépinière, rue René Cassin (borne de vidange, eau, électricité) du 15 juin au 15 septembre. Cependant il faut noter que des campings privés offrent également ce type de prestation (borne de vidange, eau, électricité, etc.).

La ville de Paimpol dispose d'un port à marée départemental (CG.22). La CCI des Côtes d'Armor gère l'aspect commerce, pêche et conchyliculture. Ce port est d'une capacité de 330 places sur pontons et de 24 places à quai. Outre les 7 WC et 12 douches, le port est équipé pour la récupération des eaux usées des navires et des eaux de fond de cale. Moins de 10 bateaux sont habités à l'année. En période estivale et/ou lors de festivités portuaires ce chiffre peut être multiplié par 5 à 10 (Communication personnelle, Capitainerie du port de Paimpol).

La commune de Paimpol dispose d'un établissement de santé court séjour de 155 lits, de moyen séjour de 20 lits et long séjour de 120 lits, deux établissements psychiatriques, un centre d'urgence, un centre de dialyse et un laboratoire d'analyses médicales Ces établissements sont reliés au réseau d'assainissement communal.

5.3.3 Assainissement collectif des communes de Paimpol, Ploubazlanec et Plourivo

5.3.3.1 Une station d'épuration commune

Depuis 1986, la commune de Paimpol est équipée d'une station d'épuration de 22 000 équivalent-habitants (EqH) située au lieu-dit Keraudren, limite communale avec Ploubazlanec. Cette station a subi différents aménagements en 1998, 2001 et 2003. Elle traite les eaux des communes de Paimpol, Ploubazlanec et Plourivo.

Un bassin tampon de 1 800m³ situé en tête de la station permet de stocker, avant traitement, les éventuelles surcharges hydrauliques. Cette station traite 4 400 m³/jour par boues activées forte charge et le rejet d'eau traitée, sans traitement tertiaire, se fait en continu dans le ruisseau du Traou. Ce dernier se déverse en milieu marin dans la zone portuaire 'ouverte' à l'extrémité du terre-plein de Kerpallud pour rejoindre le chenal d'accès à la zone portuaire (Figure 14).

Figure 14 : Localisation de la station de traitement des eaux usées des communes de Paimpol, Ploubazlanec et Plourivo.



5.3.3.2 Les réseaux d'assainissement

- **Paimpol**

Le réseau d'assainissement collectif de Paimpol a subi d'importants travaux de restructuration entre 1998 et 2005, avec la mise en séparatif de portions unitaires et la suppression des déversoirs d'orage. Aujourd'hui, ce réseau est de type séparatif à plus de 99%, mais il comporte encore au niveau du centre ville une portion unitaire de 600 mètres linéaires. Les postes de relèvement du réseau sont équipés de télésurveillance. Seize postes de relèvement dont deux équipés d'un bassin de stockage (18 et 20 m³) dirigent les eaux usées vers la station d'épuration. Cependant, ce réseau est toujours perturbé par d'importantes quantités d'eaux parasites d'origine pluviale mais aussi d'eaux de mer. Ces dernières engendrent de fréquents débordements ou rejets vers le milieu naturel.

A noter que lors du recensement des émissaires et exutoires littoraux en juin 2008, un émissaire d'eaux pluviales très fortement contaminées a été identifié au niveau de la zone portuaire 'ouverte'. Il collecte les eaux d'un ruisseau et d'un pluvial du centre ville et il est susceptible de recevoir le trop plein d'un poste de refoulement. Les investigations sur le réseau, menées en 2008 et 2009 par la commune, ont confirmé que des eaux usées brutes issues d'un immeuble HLM étaient connectées sur ce pluvial.

Le réseau d'assainissement fonctionne en cascade. Les eaux usées du poste de relèvement de Ste Barbe, en limite de Plouézec, se déversent dans le poste de Beauport qui les renvoie vers Cruckin, puis Poulafret, Kernea et elles se déversent dans le poste du Champ de foire qui reçoit d'autre part les effluents en provenance de Ploubazlanec (Figure 15). Ce dernier poste relève donc la quasi totalité des effluents entrant dans la station d'épuration de Paimpol.

- **Ploubazlanec**

Une partie des eaux usées du bourg de Ploubazlanec rejoint gravitairement le poste du Champ de foire (Figure 15). Les eaux de cette commune transitent également par le poste de Pors Even, pour rejoindre le poste de Pors Don puis le poste de Kerroc'h et atteindre finalement le poste du Champ de foire. Pors Don et Kerroc'h possèdent des bassins tampons d'une capacité de rétention de 1h maximum avant déversement éventuel au milieu naturel. Le réseau de Ploubazlanec ne dispose pas de déversoir d'orage.

- **Plourivo**

Actuellement le bourg est raccordé mais le réseau est en cours d'extension. Il comprend quatre postes de relèvement équipés de télésurveillance. La majorité des zones desservies par l'assainissement sont localisées sur le bassin versant de la rivière du Quinic en amont ouest de Paimpol. Les autres secteurs se situent sur le bassin versant du Trieux. L'exutoire marin de la rivière Quinic est le rejet du port à marée de Paimpol (Figure 15).

- **Bilan des alertes**

Le bilan des alertes 2008-2009 sur le réseau d'assainissement des communes de Paimpol, Ploubazlanec et Plourivo indique que majoritairement les causes de dysfonctionnements sont les postes de refoulement par fortes pluviométries (>30mm/48h).

Figure 15 : Réseau d'assainissement des eaux usées de Paimpol et Ploubazlanec – Localisation des postes de relèvement littoraux et des rejets (source Ddass.22- JL Prigent)



Tableau 18 : Bilan des dysfonctionnements du réseau d'assainissement des communes de Paimpol, Ploubazlanec et Plourivo pour les années 2008 et 2009 (source : commune Paimpol, février 2010).

PR : poste de relevage ; STEP : station d'épuration.

| Année | Commune | Site | Nombre | Durée | Volume (m ³) |
|-------|--------------|------|--------|--------------|--------------------------|
| 2008 | Paimpol | PR | 7 | 0h45 à 34h00 | 28 à 6174 |
| | Paimpol | STEP | 3 | | |
| | Ploubazlanec | PR | 3 | 1h00 à 5h45 | |
| | Plourivo | PR | 16 | 1h00 à 31h00 | |
| 2009 | Paimpol | PR | 1 | 1h00 | |
| | Plourivo | PR | 6 | 1h00 à 11h10 | |

Sur cette période, pour Paimpol le poste de Kerno a dysfonctionné 3 fois, Champ de foire 2, Cruc-king 2 et Beauport une fois. Pour Ploubazlanec, les dysfonctionnements concernent les postes de Pors Don (1), Kerroc'h (1) et Pors Even (1). La commune de Plourivo, en amont de Paimpol, concentre le maximum de dysfonctionnements avec 22 passages au trop plein, dont 12 pour le poste de la pointe Min et 10 pour le poste de la Côte du diable, impliquant des rejets directs dans la rivière du Quinic (Tableau 18)

Sur les 36 dysfonctionnements correspondant à des passages au trop plein, 88.9% sont consécutifs à des pluies importantes (32), 8.3% à des pannes électriques ou du matériel (3), 2,8% à une obstruction sur le réseau (1).

5.3.4 Assainissement collectif de la commune de Plouézec

5.3.4.1 La station d'épuration

Depuis 2009, l'assainissement de Plouézec repose sur une station de 5 000 Equivalent-habitants de type boues activées, complétée par un lagunage de finition avec 3 lagunes de 26 640 m³ pour la période comprise entre Mai et Août inclus. Le rejet se fait en deux points, en sortie de clarificateur et en sortie de la troisième lagune, vers le ruisseau de l'étang neuf, affluent de la rivière Correc, qui débouche sur le littoral au niveau de l'Abbaye de Beauport (Figure 16). La rivière Correc reçoit également les eaux de la station d'épuration de la commune de Kerfot tout en amont du bassin versant de cette rivière.

Le débit du rejet autorisé varie entre 514 et 832 m³/jour par temps sec et de 1294 à 1612m³/jour par temps de pluie. Il est préconisé de ne pas rejeter dans le cours d'eau de l'étang neuf entre le premier juillet et le 10 août, quelles que soient les conditions météorologiques. En cas de pluviométrie importante, les eaux by-passées en tête de station (>174m³/h) sont évacuées vers un bassin d'orage de 400m³.

La norme bactériologique du rejet, en sortie de lagune au cours des mois de juillet et août, est fixée à 1000 E. coli / 100 mL (arrêté préfectoral du 8 décembre 2006)

5.3.4.2 Le réseau d'assainissement

L'ensemble du réseau est séparatif et long d'environ 35 km. Les canalisations gravitaires représentent près de 89% du réseau (28 km) pour 7 km de canalisations de refoulement. Il comprend neuf postes de relèvement, dont trois avec bâches de rétention de 5, 15 et 20 m³ respectivement pour les postes de Bréhec plage, Port Lazo et Boulgueff.

Les eaux usées de l'est de la commune sont collectées par les 2 postes de Port Lazo, qui se déversent dans le poste de St Riom puis dans celui de Kervégan qui les renvoie vers la station de traitement. En cas de débordements des postes de Port Lazo et de St Riom, les effluents convergent vers le littoral au niveau de Port Lazo et se déversent directement sur l'estran.

Le poste de Boulgueff relève les eaux de la partie ouest du bourg. Ce poste peut occasionner des déversements d'eaux usées brutes directement dans le ruisseau de Boulgueff pour une pluviométrie d'une intensité supérieure à 6,5mm/heure. En cas de débordement, le transfert au littoral est très rapide du fait d'une pente importante. Ce dernier site est identique à celui de l'éventuel rejet du poste de Ste Barbe (REU de Paimpol). Les autres postes de refoulement ne peuvent déborder en deçà d'une pluviométrie de trois heures pour une intensité de 10mm/heure. Sur la Figure 17, le poste de Kervegan, comme deux autres non présentés, est localisé en dehors du bassin versant de la Baie de Paimpol.

Figure 16 : Localisation de la station de traitement des eaux usées de la commune de Plouézec.



Le bilan des alertes 2008-2009 sur le réseau d'assainissement de la commune de Plouézec indique que les causes de dysfonctionnements sont exclusivement le fait des postes de refoulement par fortes pluviométries (supérieur à 30 mm/48h) (Tableau 19). Pour cette période, sur les 14 dysfonctionnements, celui de Boulgueff est passé au trop plein huit fois (57.1%), Lan Bihan deux fois (14,2%), Port lazo une fois (7.1%) et trois autres postes extérieurs au bassin versant de la baie. Douze dysfonctionnements correspondent à des pluies importantes (85.7%), et deux à des problèmes électriques (14.3%).

Tableau 19 : Bilan des dysfonctionnements du réseau d'assainissement de la commune de Plouézec (source : commune Paimpol, février 2010)

| Année | Commune | Site | Nombre | Durée |
|-------|----------|------|--------|--------------|
| 2008 | Plouézec | PR | 10 | 0h30 à 34h00 |
| 2009 | Plouézec | PR | 4 | 1h30 à 3h45 |

Sur la base des données de la mairie de Plouézec (2,2 habitants/logement), il apparaît qu'environ 50% des habitations, résidences principales et secondaires, sont raccordées au réseau d'assainissement.

Au 25 novembre 2009, un diagnostic des assainissements non collectifs (ANC) a été réalisé sur 1138 installations. Sur les 1109 habitations occupées (13 absents et 16 inhabitées), 17,5% des maisons disposées d'un ANC « *non acceptable* » au regard de la salubrité publique et/ou de la pollution du milieu et 28,1% d'un ANC « *acceptable* », c'est-à-dire avec une filière incomplète dont le dispositif demande des travaux à court terme.

Figure 17 : Réseau d'assainissement des eaux usées de Plouézec – Localisation des postes de relèvement et des rejets (source Ddass.22- JL Prigent)



5.3.5 Assainissement collectif de la commune de Kerfot

5.3.5.1 La station d'épuration

Située en amont du bassin versant au lieu-dit Correc, la station d'épuration de Kerfot est localisée sur le bassin versant de la Baie de Paimpol. Cette station de type lagunage naturel date de 1990, d'une capacité de 570 EqH et d'un débit moyen journalier de 85m³. Elle rejette dans la rivière le Correc qui débouche au niveau de l'abbaye de Beauport (Figure 18).

En 2007, la population raccordée représentait 470 habitants pour une population communale de 572 habitants. Lors du dernier bilan du SATESE des Côtes d'Armor en 2007, la station recevait une charge hydraulique représentant 450% de sa capacité nominale et 675% de sa capacité réelle, surcharge hydraulique importante due à la pluviométrie des jours précédents. Cependant la station respectait les critères de rejet imposés par l'arrêté préfectoral (*absence de norme de rejet microbiologique*).

A signaler que le milieu récepteur du rejet de la station est la rivière le Correc, sans capacités hydrauliques suffisantes pour assurer une dilution optimale, notamment en période estivale.

La norme bactériologique du rejet, en sortie de lagune est fixée à 1000 *E. coli* (arrêté préfectoral du 25 novembre 1988).

Figure 18 : Localisation de la station de traitement des eaux usées de la commune de Kerfot.



5.3.5.2 Le réseau d'assainissement

Une étude diagnostic de 2009, précise que sur les 5 670 mètres linéaires de réseau, 17% soit 964 mètres linéaires sont moyennement à très sensibles aux eaux parasites.

5.4 Système de surveillance et de contrôle

5.4.1 Surveillance REMI de la Baie de Paimpol

Le réseau de surveillance microbiologique (REMI) dispose de 3 stations REMI du groupe III (bivalves non fouisseurs) en Baie de Paimpol et d'une station REMI du groupe II (bivalves fouisseurs) & III pour le site de Ploubazlanec (Figure 19).

Depuis l'année 2003, aucun dépassement du seuil de 4600 *E. coli* n'a été observé sur les stations REMI. Les trois dépassements connus au cours de la période 1999-2007 concernent : Paimpol centre en avril 2001, St Riom en août 2000 et Port Lazo au mois d'août 2003 (Figure 20).

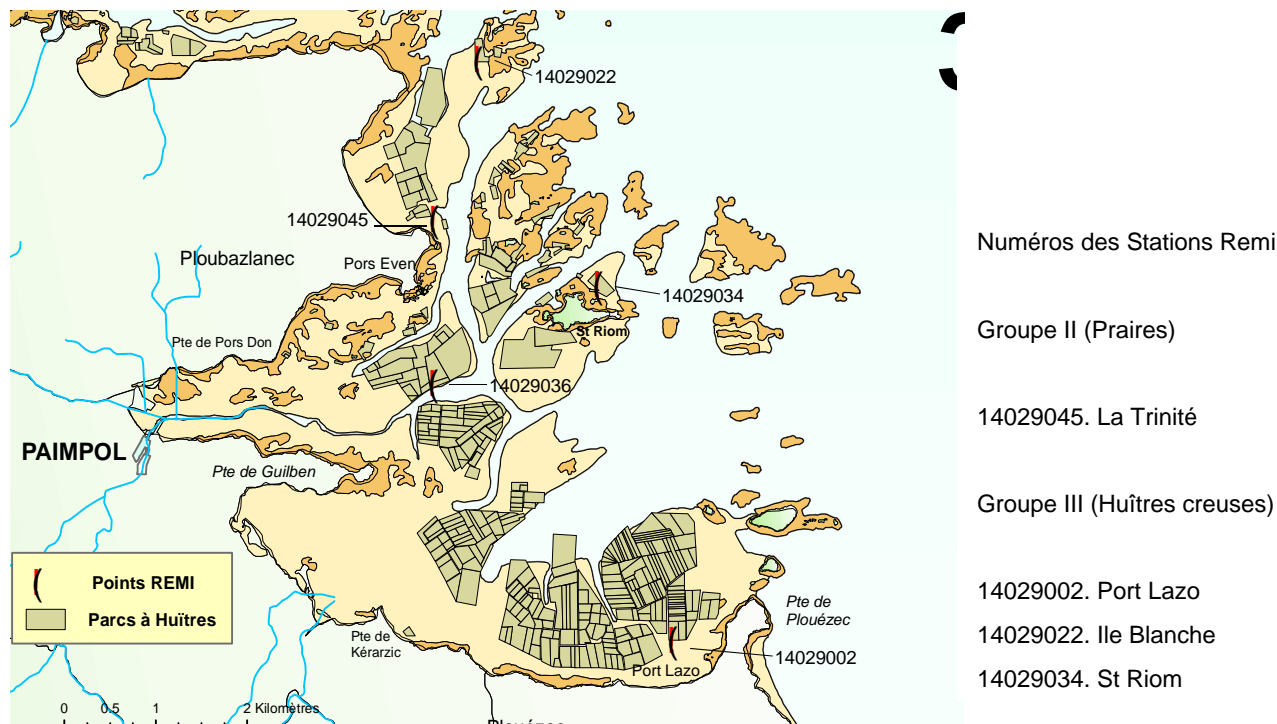
Au cours des 10 dernières années aucune évolution significative de la qualité bactériologique des stations REMI du secteur n'est relevée. Plus précisément, aucune dégradation ou amélioration pour les stations REMI suivantes n'a été observée : Paimpol Centre, Saint Riom, Port Lazo, et de l'île Blanche ; le nombre de données étant insuffisant pour le traitement statistique de la station REMI la Trinité (groupe II) (données Ifremer, 2008).

La base réglementaire du classement sanitaire actuel s'appuie sur l'arrêté du 21 mai 1999 (§5.3). Par arrêté préfectoral en date du 18 juin 2008, les zones n°22-20 de la Baie de Paimpol groupe III et la

zone n°22-222 de Ploubazlanec groupes II sont classées B, alors que la zone n°22-222 de Ploubazlanec groupe III a un statut A (Figure 21).

L'analyse des données 2006-2008, pour les zones disposant de 24 données mensuelles ou 12 bimensuelles au minimum, donne au premier janvier 2009 un résultat en adéquation avec le classement administratif actuel pour les zones de la Baie de Paimpol et de l'anse de Launay (Tableau 20).

Figure 19 : Carte du cadastre conchylicole de la Baie de Paimpol - Ploubazlanec et localisation des stations REMI des groupes II et III (Source : com pers/ LER.FBN D. Gerla)



SHOM-Ifremer, projection Lambert II étendu.

5.4.2 Plan de surveillance DGAI

En 2009, 498 prélèvements ont été réalisés au niveau national sur les 500 initialement programmés. Les résultats (concentrations en *E. coli*) observés montrent 17 prélèvements non conformes sur l'ensemble de la France. Pour les prélèvements réalisés dans les Côtes d'Armor, les résultats étaient tous conformes (<230 *E. coli* / 100g de CLI), excepté un résultat (3 500 *E. coli* / 100g de CLI). Trois analyses concernaient la Baie de Paimpol (1 sur les huîtres et deux sur les moules). Les résultats étaient tous conformes. Il est à noter que la zone ne produisant pas de moules, il devait s'agir d'analyses sur des lots en transit issus d'un élevage d'une autre zone de production.

5.4.3 Plan de contrôle DDPP 22 (ex-DDSV).

Ce plan n'existe plus depuis 2009. Cependant, les autorités compétentes doivent mettre en place des contrôles pour vérifier que les professionnels respectent la réglementation européenne, conformément au Règlement (CE) N°882/2004 modifié¹⁶ et cela « sans préjudice de la responsabilité juridique primaire de l'exploitant du secteur ».

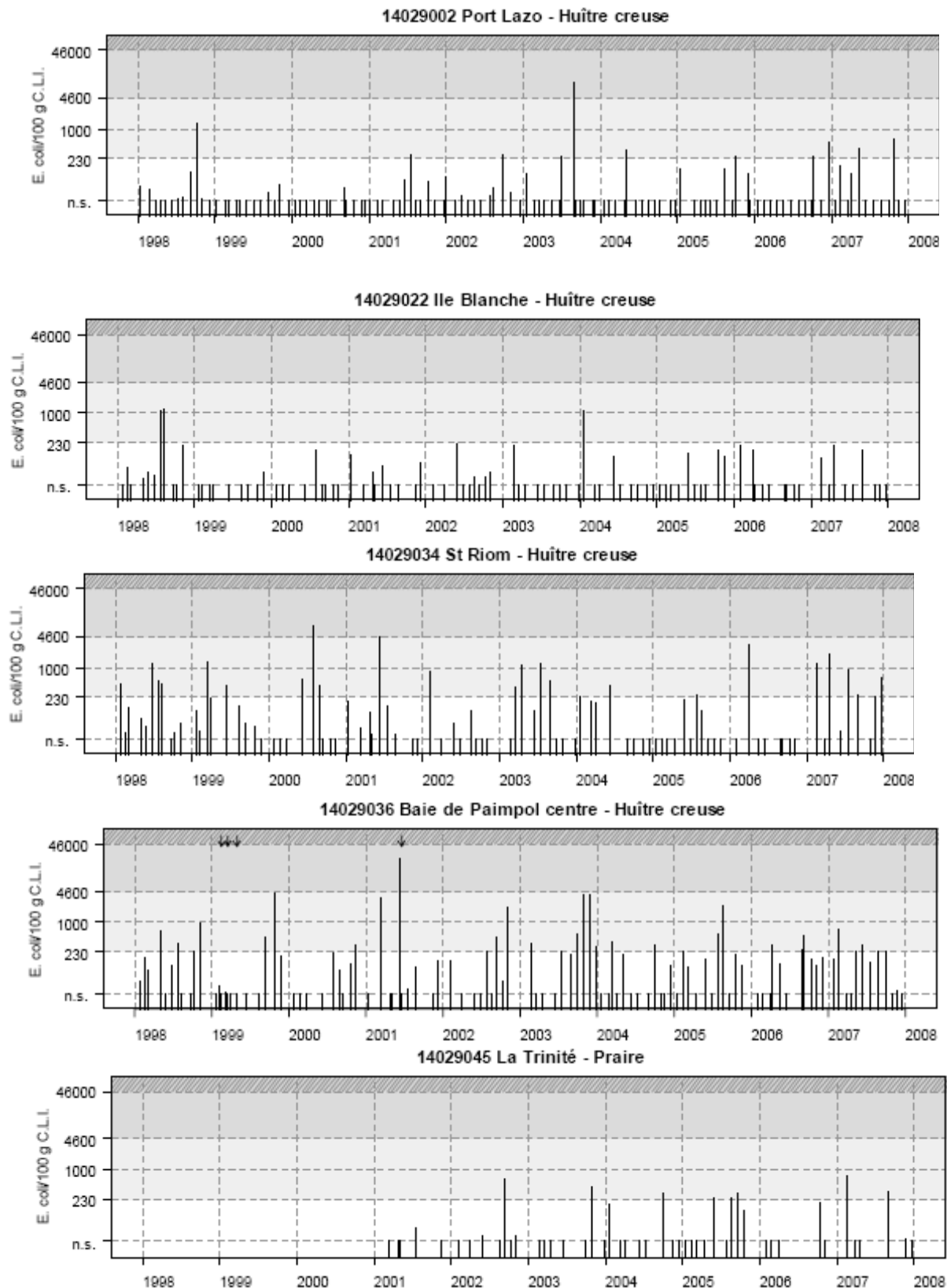
5.4.4 Autocontrôles des professionnels

Le texte définissant les autocontrôles à réaliser sur les mollusques bivalves vivants (MBV) est inscrit au registre de la Direction Départementale de la Protection des Populations (DDPP22). Le Comité National de la Conchyliculture (CNC) a rédigé des fiches qui sont distribuées à chaque établissement (communication personnelle/DDPP 22). Les professionnels réalisent deux types d'autocontrôle :

¹⁶ Règlement (CE) no 882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux.

- l'un pour valider le procédé de purification (ou son bon fonctionnement, selon le régime d'agrément, conditionnel ou non)
- l'autre avant expédition, pour évaluer les zones d'approvisionnement ou les fournisseurs.

Le nombre et la fréquence des autocontrôles à réaliser sont définis en fonction de l'activité de l'établissement: tonnage annuel, tonnage d'expédition journalier, période d'intensification de l'activité, qualité de l'eau de mer utilisée, modification des conditions de purification, etc. Ainsi selon l'activité, 1 à 3 autocontrôles mensuels sont demandés tout au long de l'année et un autocontrôle est réalisé pour tout lot de MBV de plus de 50 tonnes expédié par jour.



source : Bulletin de la surveillance, édition 2008 – LER/FBN-sm p30/32/33

Figure 20 : Représentation graphique des résultats exprimés en *E. coli* /100g (de chair et de liquide inter valvaire), obtenus dans les coquillages des stations REMI des zones classées de la Baie de Paimpol (22-20) et de Ploubazlanec (22-222), au cours de la période 1998-2007 (Ifremer, 2008).

Chaque barre représente un prélèvement ; la hauteur des barres représente la concentration obtenue ; n.s: signifiant négatif.

Figure 21 : Classement sanitaire des zones de production de coquillages, secteur de Plouha à Pleubian (Arrêté Préfectoral du 18.06.2008).

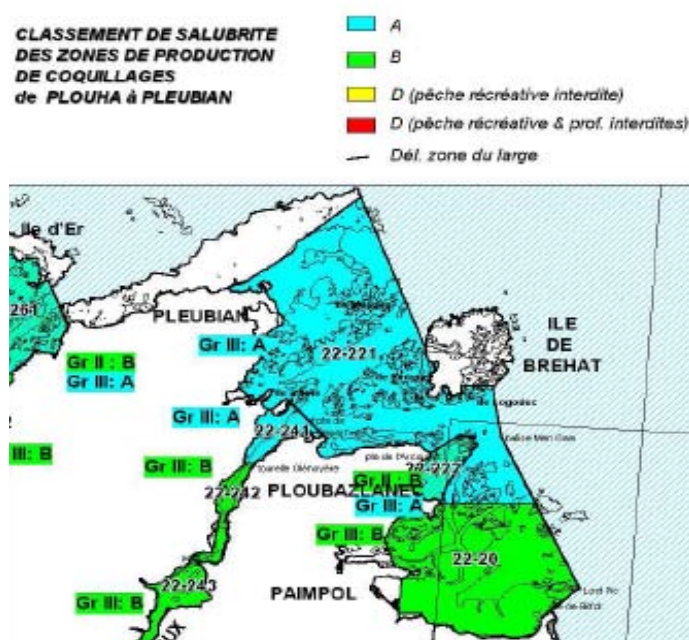


Tableau 20 : Qualité estimée des zones de production conchylicole de la Baie de Paimpol, anse de Launay et Ile Blanche suivant les seuils *E. coli* de l'arrêté du 21/05/1999 et du règlement (CE) n°854/2004 (Bilan national REMI 2008. Ed2009).

* MG : moyenne géométrique.

| Zone | | | Classement administratif | Prélèvements | Répartition des résultats selon les seuils d' <i>E. coli</i> | | | | | | | Classement selon les réglementations | |
|--------|-----------------|--------|--------------------------|--------------|--|------|------|-------------|---------------|----------------|--------|--------------------------------------|-----|
| N° | Libellé | Groupe | | | Actuel | Nbre | <230 | 230 1000 | >1000 4600 | >4600 46000 | >46000 | Maxi | MG* |
| 22.20 | Baie de Paimpol | 3 | B | 98 | 67 | 26 | 5 | 0 | 0 | 3100 | 56 | B | B |
| 22.222 | Anse Launay | 2 | B | 21 | 15 | 4 | 2 | 0 | 0 | 1700 | 48 | B | B |
| 22.222 | Ile Blanche | 3 | A | 27 | 26 | 1 | 0 | 0 | 0 | 330 | 28 | A | B |

5.4.5 Plan de surveillance MISSA 22

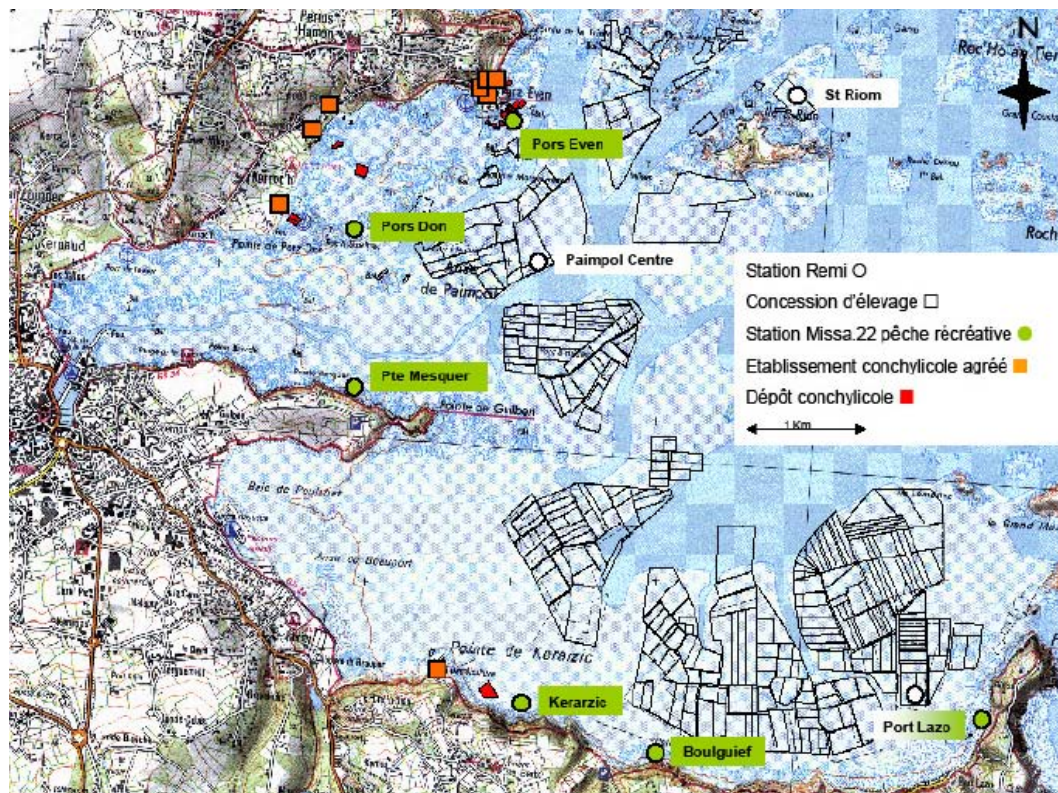
Depuis 2008, la MISSA.22 a mis en œuvre un plan de surveillance spécifique à la Baie de Paimpol pour la recherche de VHA dans les coquillages d'élevage et de pêche récréative. Elle s'est appuyée sur les programmes de surveillance réglementaires déjà existants pour la pêche à pied et de loisir, les baignades et la conchyliculture. Des points supplémentaires ont été ajoutés au suivi et sont identifiés dans le présent rapport comme des points MISSA – pêche récréative (MPR). La figure 22 récapitule l'ensemble des points suivis dans la baie.

Les 3 points REMI (Ifremer) situés parmi les zones d'élevage ostréicole dans des zones plus profondes, se découvrent à des coefficients de marée supérieurs à 65/70. Ces zones sont *a priori* moins exposées aux effluents côtiers que ne le sont les zones de dépôt¹⁷ et les zones MPR, situées en amont de l'estran et découvrant pour tous les coefficients compris entre 40 et 65. Les 6 points de pré-

¹⁷ Zone de dépôt (site de stockage sur l'estran). Concession, accordée par l'administration, pour un usage autorisé sur le domaine public maritime, entre la zone d'élevage et l'établissement, généralement localisée à proximité de l'établissement. Cette zone est généralement localisée très haut sur l'estran, où le risque de contamination est très important.

lèvement MPR, dont 5 jouxtent des zones de dépôts de conchylicultures suivent le contour côtier de la baie, étant relativement hauts sur l'estran ils sont plus exposés à des contaminations.

Figure 22 : Carte de la Baie de Paimpol indiquant les différents points de prélèvement (réseau REMI, points MPR de la MISSA22, zones de dépôts, zones de pêche récréatives).



Les paramètres et les fréquences de suivi diffèrent suivant le type de point. Les 4 points de prélèvement situés dans les établissements de production font l'objet d'un suivi bimensuel, alors que les 3 points REMI font l'objet d'un suivi mensuel, avec recherche d'indicateurs bactériens (*E. coli*). Les 6 points MPR font l'objet d'un suivi mensuel *E. coli* et VHA, de juin à septembre, puis de novembre à décembre. Le suivi de la qualité de l'eau de baignade est bimensuel en haute saison.

Le suivi proposé est renforcé en période estivale du fait de l'afflux de population humaine supplémentaire et de novembre à décembre car c'est une forte période de commercialisation des coquillages.

En cas de détection de VHA dans les zones MPR et dans le cadre du suivi régulier, un prélèvement est effectué sur les lots professionnels, en zone de dépôt à côté de la zone MPR concernée. Les mesures de gestion résultant de la détection de VHA dans les zones MPR ou des professionnels sont du ressort préfectoral.

Les conditions de déclaration d'alerte sont les suivantes :

- survenue d'un cas d'hépatite A chez un individu ayant consommé des coquillages originaires de la Baie de Paimpol (pêche à pied ou de loisir, ou vendus par un des établissements ou commerçants du secteur) ;
- signalement, par la société fermière exploitant le réseau d'assainissement, d'un débordement de poste de relèvement, associé à une pluviométrie supérieure à 10 mm en 24h et à un certain volume de rejet (supérieur à 7 m³), ou d'un débordement du bassin tampon de la station d'épuration de Paimpol.

Globalement ce plan d'action MISSA, concerne principalement les mesures prises lors de dysfonctionnements sur l'assainissement collectif : stations de traitement et/ou réseaux. Les 5 actions croissantes concernent : 1/ la recherche des informations environnementales, 2/ les prélèvements, 3/ l'interdiction de pêche récréative, 4/ le gel des dépôts, 5/ l'arrêté d'interdiction de transfert et de commercialisation des coquillages depuis les concessions de la baie.

Deux situations particulières sont précisées :

- lors d'un incident sur le poste de refoulement du Champ de foire, par lequel transite la totalité des eaux usées brutes en provenance de Ploubazlanec et de Paimpol et/ou débordement au niveau de la station de Paimpol, toute la baie est échantillonnée (dépôts, MPR & REMI suivant les conditions d'accès) ;
- lors de dysfonctionnements à proximité de Pors Even et Kerarzac, les prélèvements portent directement sur les dépôts contigus au MPR.

5.4.6 Résultats microbiologiques

Suite à la seconde épidémie d'Août 2007 (Guillois-Becel, Briand *et al.* 2008) et à deux alertes en décembre 2007, bien que l'intervention des services sanitaires ait été rapide, aucune observation de présence de VHA n'a été faite sur les 85 échantillons analysés entre le 24 août et le 31 décembre (Tableau 21).

A noter que les résultats négatifs obtenus sur les coquillages ne signifient que l'absence de virus sur les échantillons prélevés. Les 30 prélèvements coquillages réalisés suite à l'épidémie (période août-octobre) ont eu lieu trois mois après la période supposée de contamination.

Tableau 21 : Prélèvements microbiologiques comportant une recherche VHA par Ifremer réalisés entre le 24 août et le 31 décembre 2007.

| Matrice échantillon | Nombre d'échantillons analysés | Résultat VHA | |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------|---------|
| | | négatif | positif |
| Coquillages | 48 | 48 | 0 |
| Eaux sortie de STEP Paimpol | 18 | 18 | 0 |
| Emissaires littoraux | 16 | 16 | 0 |
| Sédiments exutoires | 3 | 3 | 0 |

Nous ne pouvons, en absence de traçabilité précise des lots suspectés savoir si les coquillages analysés étaient en place à l'époque et correspondaient aux lots consommés. Seuls les coquillages sauvages de pêche récréative analysés correspondaient aux coquillages en place à l'époque de l'épidémie et ayant pu être consommés. Par ailleurs, même si les études de traçabilité avaient permis d'affirmer une relation entre lots analysés et lots consommés, en fonction de la contamination initiale des coquillages suspectés, il n'est pas certain que le virus ait toujours été présent.

Dans le cadre des alertes MISSA qui ont suivi et du plan de surveillance MISSA (2008-2009) près de 158 échantillons de coquillages ont été analysés selon la même méthode. Neuf échantillons ont été trouvés positifs en VHA (5.7%). Sur ces échantillons, cinq venaient du nord de la baie (trois Pors Evens, un Pors Don et un Guilben) et quatre du sud de la baie (trois Kerarzac et un Port Lazo) (Tableau 22)

Les concentrations en VHA variaient entre 25 copies et 1970 copies par gramme de glandes digestives. Les 30 prélèvements d'huîtres sur les 158, réalisés sur les concessions d'élevage [REMI, Etude Uhel (Ifremer, communication personnelle) et 3 prélèvements MISSA] ont tous été inférieurs à la limite de détection VHA.

A noter que deux prélèvements ont présenté des contaminations en norovirus. Le 13/11/2008, la station de St Riom avec du norovirus ggl et le 24/08/2009, la station étude Uhel avec du norovirus ggl.

Tableau 22 : Les neuf résultats positifs en VHA sur un total de 158 analyses menées entre janvier 2008 et Décembre 2009.

| Date | lieu | Espèce | Origine |
|--------------|-----------|-----------------|---------------------|
| 05.06.2008* | Pors Even | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 05.06.2008* | Kerarzic | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 19.06.2008* | Pors Even | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 12.11.2008** | Pors Even | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 12.11.2008** | Kerarzic | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 12.11.2008** | Port Lazo | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 23.11.2008* | Kerarzic | <i>C. gigas</i> | Concession-dépôt*** |
| 09.06.2009** | Guilben | <i>C. gigas</i> | Naturelle |
| 22.06.2009** | Pors Don | <i>C. gigas</i> | Naturelle |

(*)LNR, (**) Laboratoire sous-traitant, (***) coquillages en dépôt depuis 54 jours sur le site.

5.4.7 Contrôles *a priori* et *a posteriori* de la contamination des coquillages

La manière la plus spontanée de pratiquer un contrôle de production est le contrôle *a posteriori*. Il consiste en (i) un échantillonnage suffisant de la production, (ii) la réalisation de tests de conformité (soit quantitatifs, soit qualitatifs) sur les prélèvements et (iii) d'une inférence statistique pour évaluer l'état de la production totale à partir de la production examinée. Cette procédure est plus ou moins effective suivant la proportion de la production qui est examinée, l'homogénéité de la production vis à vis des critères de qualité concernés et la rareté des événements adverses.

Dans le cas de la contamination éventuelle de coquillages par le VHA, ces paramètres sont extrêmement défavorables :

- la difficulté des prélèvements, et donc leur coût et celui des analyses microbiologiques ne permettent l'examen que d'une infime partie de la production (1 à 5 kg sur les 7 000 tonnes d'huîtres en élevage) ;
- les nombreux facteurs, tant temporels que géographiques qui déterminent l'occurrence des contaminations, génèrent une situation très hétérogène (périodes, zones) ;
- la contamination des coquillages par le VHA est un événement rare.

Il est illusoire de penser éviter la mise sur le marché de coquillages contaminés par le VHA, uniquement par des contrôles *a posteriori*.

Dans de telles situations, il convient d'effectuer aussi un contrôle *a priori* du processus dont les pratiques de type *HACCP* sont des versions qualitatives. Une analyse approfondie des déterminants de la contamination doit être menée, et ceux-ci doivent être suivis de manière régulière afin qu'en cas d'alerte les mesures appropriées de remédiation ou de contrôle *a posteriori* renforcées soient mises en œuvre. Dans le cas de la contamination des coquillages par le VHA, les déterminants les plus importants sont :

- la présence avérée de cas cliniques dans la population du bassin versant dont les apports se retrouvent dans la baie ;
- l'existence de rejet d'eaux usées ne subissant pas un traitement approprié ;
- les dysfonctionnements du réseau des eaux usées ;
- la proximité (incluant la prise en compte des courants) des coquillages aux rejets des eaux usées ;
- les alertes météorologiques.

Deux épidémies d'hépatite A liées à la consommation d'huîtres provenant de la baie de Paimpol sont survenues au cours de l'hiver 1999-2000 et de l'été 2007. La baie de Paimpol, héberge 500 hectares de culture d'huîtres. Ces dernières y sont élevées soit pour une consommation locale, soit pour être affinées dans d'autres secteurs ostréicoles français. Cette baie est caractérisée par une faible profondeur d'eau, des fonds plats et une forte amplitude de marée qui entraînent un découverture des surfaces (et des concessions d'élevage) à marée basse. Plusieurs dizaines d'exutoires et d'émissaires de cours d'eau ou de réseau pluvial sont répartis sur tout le pourtour de la baie. Les eaux usées du bassin versant sont traitées par trois stations d'épuration, plus ou moins bien dimensionnées, mais certaines zones littorales sont équipées d'assainissement autonome. Lors de certains événements météorologiques, ces émissaires peuvent rejeter des eaux de qualité moyennes qui peuvent impacter directement les parcs ou les zones de dépôts de coquillages (situées sur l'estran). La surveillance bactériologique REMI des concessions d'élevage reflète cette fragilité de la contamination puisque la zone de production est classée en B, et les coquillages doivent passer dans des structures de purification avant la vente au consommateur. De plus, la surveillance ponctuelle de VHA en 2008 et 2009 a révélé neuf épisodes de contamination des coquillages.

Ce site comme d'autres zones de productions d'huîtres situées près de la côte est soumis à la pression urbaine littorale (en terme de densité de population, d'équipement de traitement des eaux usées).

6 Tentative d'approche quantitative

L'appréciation quantitative des risques est la démarche scientifique recommandée¹⁸ pour estimer la probabilité de survenue d'un événement indésirable. Disposer d'une modélisation quantitative de la contamination des coquillages par le VHA représenterait en effet une aide précieuse pour les gestionnaires du risque pour améliorer la sécurité sanitaire des aliments. Dans le cadre précisé de présupposés, les conséquences quantifiées de différentes interventions alternatives ou complémentaires peuvent être comparées.

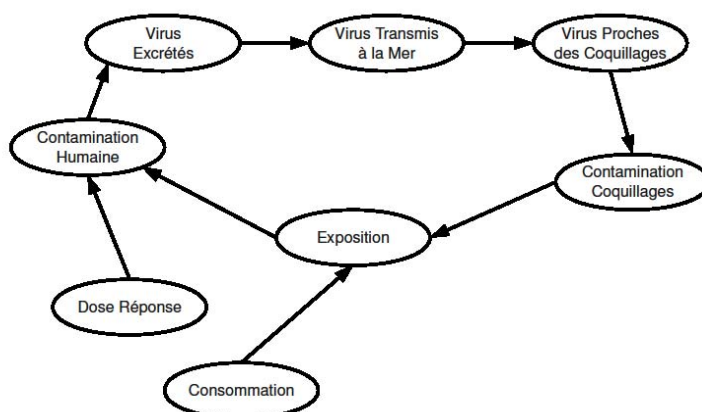
Faute de données suffisantes ou suffisamment précises à certaines étapes critiques de la modélisation, il est actuellement impossible de proposer un modèle numérique complet d'appréciation quantitative du risque « VHA-coquillages ». Cependant, les informations présentées dans les chapitres précédents permettent la construction de quelques parties qui apportent des résultats utiles pour étayer les réponses aux questions posées. Les parties du modèle qui ne peuvent être actuellement élaborées indiquent en revanche les données manquantes qu'il conviendrait de collecter pour mener une appréciation quantitative complète du risque d'hépatite A pour l'homme par ingestion de coquillage (huîtres) contaminés par le VHA.

Dans ce chapitre sont présentés les principaux enseignements tirés de deux exercices de modélisation dont les détails principaux sont consignés dans les annexes 2 et 3.

Le cycle du transfert du VHA, entre l'homme et les coquillages est schématisé en figure 23. A partir de la population humaine, le VHA est excrété dans le milieu terrestre, pour atteindre le milieu marin avant d'être éventuellement concentré dans les coquillages. Les consommateurs contaminés sont plus ou moins exposés suivant le niveau de contamination des coquillages et l'importance de leur consommation. Cette exposition induit, en fonction d'une relation de dose-réponse la contamination humaine. Les mesures de sécurité peuvent être introduite dans chacune des deux grandes phases du cycle : lors du transfert du VHA de l'homme au coquillage (par traitement des eaux usées) et/ou lors du transfert du VHA du coquillage à l'homme (par limitation de la consommation des coquillages contaminés). C'est la raison des deux analyses présentées ci-après. A partir d'un niveau de contamination (humaine ou des coquillages) spécifié et en fonction des circonstances variables retenues, les conséquences sur l'autre pôle de contamination (des coquillages ou humaine) sont déduites.

Figure 23 : Représentation schématique du cycle de transfert du VHA entre la population humaine et les coquillages.

Deux modules, extérieurs au cycle *sensu stricto*, ont été introduits : la consommation et la relation dose-réponse car leur intervention est essentielle pour l'appréciation du risque de contamination humaine. Les flèches représentent les relations de dépendance directe entre les différents modules identifiés. Par exemple, l'exposition dépend directement de la consommation et du niveau de contamination des coquillages.



¹⁸ CAC (2007), Principes de travail pour l'analyse des risques en matière de sécurité sanitaire des aliments destinés à être appliqués par les gouvernements (CAC/GL 62-2007), première édition., *Codex Alimentarius*.

6.1 De l'homme au coquillage : contamination des coquillages par les rejets fécaux humains

Modéliser la contamination des coquillages en partant de la contamination humaine implique le recensement des différentes voies possibles de transfert entre les excréments fécaux humains et les coquillages. La contamination de coquillages par le VHA présente deux caractéristiques qui facilitent la modélisation :

- une seule origine : l'Homme est le seul réservoir possible du VHA, une fois excrété par un individu, le virus ne peut pas se multiplier, simplement survivre jusqu'à disparaître ou devenir agent infectieux pour un nouvel individu ;
- l'excrétion humaine du VHA est exclusivement fécale.

A partir de la quantité excrétée par la population humaine, toute voie de contamination peut se décrire par trois étapes indépendantes pouvant se combiner de diverses manières :

- la proportion transférée jusqu'à la mer, en général en passant par le milieu terrestre ;
- la proportion transférée du milieu marin littoral à l'environnement marin direct des coquillages ;
- la filtration et rétention des virus par les coquillages qui génèrent leur niveau de contamination.

Le franchissement de ces différentes étapes s'étale dans le temps¹⁹, Ce paramètre *temps* est à prendre en compte car les virus se dégradent naturellement et plus ou moins vite, selon la nature des milieux qu'ils rencontrent.

Par ailleurs, le portage humain du VHA, particulièrement en France, et en conséquence la contamination de coquillages par VHA sont des événements rares. Le risque afférent ne peut donc pas être approché uniquement par des valeurs moyennes. Il doit être caractérisé par des distributions de probabilité d'occurrence des différents niveaux de concentrations en virus dans les compartiments en jeu (excrétion fécale, eaux usées, eau de mer, coquillage). Une modélisation de type probabiliste est nécessaire pour tenir compte de la variabilité des phénomènes biologiques.

L'*appréciation quantitative complète* de la transmission des VHA entre les populations humaines et les coquillages ne peut pas être réalisée en particulier pour une situation comme celle de Paimpol car les éléments suivants font défaut :

- les malades excrètent avant l'apparition des signes cliniques ; tous les excréteurs cliniques ne sont pas détectés ; une importante proportion d'excréteurs est asymptomatique ; les excréteurs ne sont pas toujours identifiables ;
- le niveau d'excrétion est variable d'un excréteur à l'autre ; il varie aussi dans le temps pour un même excréteur ;
- le comportement et la situation des excréteurs, et donc la répartition des VHA excrétés selon les différentes voies possibles de transfert, ne sont pas connus ;
- les pertes de charge de la contamination lors de l'étape terrestre sont très imparfaitement appréciées ;
- la manière (délais et proportions) dont les VHA atteignant la mer peuvent se retrouver dans l'environnement des coquillages, est une question difficile bien que cruciale, même lorsque des études de courantologie sont disponibles ;
- la manière dont les virus se retrouvant dans l'environnement de coquillages sont retenus (effet concentrateur de la filtration) par ceux-ci n'est pas non plus bien connue ;
- la persistance des virus, bien plus longue que celle des bactéries, n'est pas bien quantifiée, elle dépend des caractéristiques environnementales dans lesquelles ils sont placés.

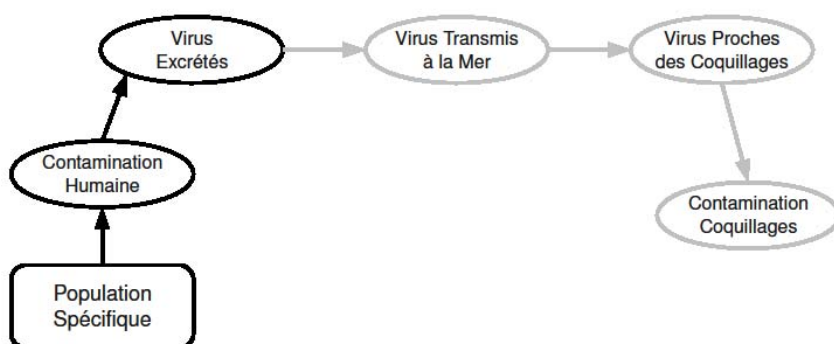
En particulier, en l'état des connaissances présentes, il est impossible de proposer, même sous forme de fourchettes d'incertitude, une appréciation quantitative de ces paramètres qui permettrait de réaliser la comparaison de différentes voies de contamination.

¹⁹ Outre le trajet, des phases de stockage peuvent être incluses : vidanges de fosses septiques, largages sédimentaires.

Cependant, on peut remarquer que pour une voie de contamination donnée le devenir des virus quelque soit leur origine sera identique. Si $11 \log_{10}$ virus excrétés produisent une contamination de $x \log_{10}$ par gramme, alors en réduisant l'excrétion initiale à $8 \log_{10}$, la contamination ne sera plus que $x-3 \log_{10}$ par gramme. Cette observation vaut également pour les modifications de proportion de transfert des voies de contamination. Il est donc important de s'intéresser aux quantités excrétées par la population, dont la composition et la période de séjour varient sur le bassin versant, pour apprécier les conditions pour lesquelles les risques sont les plus importants. C'est ce qui a été examiné par une démarche schématisée en figure 24. Les détails sont présentés en annexe 2.

Figure 24 : Représentation schématique de la modélisation du transfert du VHA entre une population humaine spécifique et les coquillages.

Les modules en gris n'ont pas été numériquement évalués : les résultats ne portent que sur les quantités excrétées.



Deux enseignements peuvent être soulignés dans le cadre de cette première approche de modélisation. La probabilité d'excrétion de VHA par une population donnée dépend fortement de la répartition des individus selon l'âge et de la durée de séjour de la population dans la zone considérée; c'est la conséquence de la rareté des événements étudiés. Par contre, lorsqu'il y a excrétion, la quantité de virus excrétés n'est pas très différente selon les différentes situations envisagées ; c'est la conséquence des importantes quantités que peut excréter un seul individu. Bien entendu, ces conclusions sont liées aux situations envisagées, celles-ci mériteraient d'être confirmée par des observations réelles.

Le point complémentaire qui ressort est que pour améliorer l'appréciation des risques de contamination des coquillages par le VHA, il est essentiel de collecter des données relatives aux transferts de ce virus depuis l'excréteur, exclusivement humain, jusqu'au coquillage. Ceci implique, outre l'identification et la localisation des cas d'hépatite sur le bassin versant, la recherche du VHA aux différents points identifiés : dans les eaux usées rejetées, traitées ou non, particulièrement lors des dysfonctionnements du réseau d'assainissement, dans les autres apports d'eau dans l'environnement des coquillages (rivière, émissaire pluvial, etc.), et dans les coquillages eux-mêmes qui restent les meilleurs indicateurs du fait de leur pouvoir de concentrateur du virus.

6.2 Du coquillage à l'homme : comparaison de l'efficacité de différents systèmes de surveillance et de gestion des coquillages

L'absence de modèle hydrodynamique concernant des rejets côtiers de virus pouvant être utilisé sur Paimpol et l'absence de données sur les modalités de bioconcentrations des virus dans les coquillages à partir de l'eau de mer sont des chaînons manquants de connaissance permettant de fermer le cycle entre le rejet et les coquillages (figure 23).

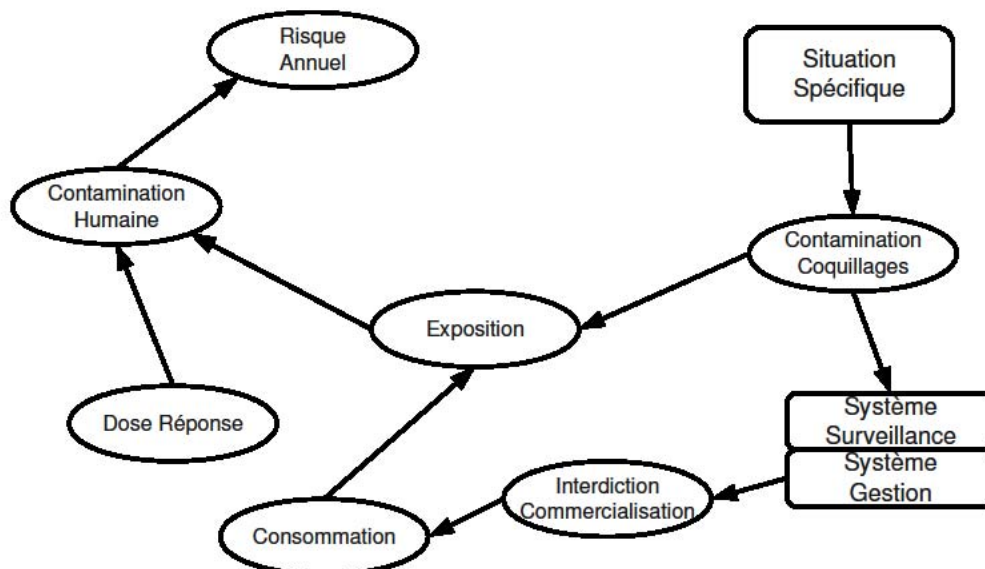
Dès lors, il a été décidé de se placer dans le cadre de situations de contamination des coquillages plausibles, de même ordre de grandeur que ce qui a été observé dans les coquillages de Paimpol.

Afin de compléter les éléments de réponse déjà apportés dans les précédents chapitres concernant les modalités de surveillance à mettre en place dans des zones de conchyliculture et de pêche à pied, régulièrement ou accidentellement contaminées par le VHA, une comparaison de l'efficacité de différents systèmes de surveillance et de gestion de la contamination des coquillages par VHA a été réalisée. Pour cela, les systèmes de surveillance et les mesures de gestion actuellement appliqués sur le terrain, tels que rappelés précédemment dans ce rapport, ont servi de référence dans l'analyse, à côté d'alternatives envisageables.

Pour chaque situation de contamination, l'efficacité de différents systèmes de surveillance et de gestion ont été évalués.

Pour une comparaison prenant en compte les deux facettes du problème, deux critères ont été simultanément utilisés : un risque relatif annuel pour le point de vue de la santé publique et un nombre annuel de jours d'interdiction de commercialisation pour une première approche du coût économique. Le critère d'efficacité sanitaire est un rapport de risque annuel, défini comme un risque relatif (RR) annuel. Le risque annuel pris en référence est celui sans aucune intervention/gestion. L'efficacité sanitaire est le rapport du risque annuel dans une situation spécifiée de surveillance et de gestion, sur le risque annuel pris en référence. Plus ce rapport est proche de zéro, plus la protection des consommateurs est efficace. Si ce rapport est de 1, le système de surveillance et de gestion est inefficace.

Figure 25 : Représentation schématique du principe de modélisation de la contamination humaine par le VHA à partir d'une situation spécifique de contamination des coquillages.



La figure 25 décrit le principe de la modélisation. Par rapport au cycle de la figure 23, les éléments de gestion et de surveillance ont été introduits sous forme de nouveaux modules, montrant leur capacité théorique à empêcher le cycle de se boucler, en empêchant la consommation de produits contaminés.

Le modèle permet de considérer en entrées :

- les modalités de contamination (différentes situations possibles) ;
- le système de surveillance appliqué ;
- le système de gestion associé ;

et en sortie :

- l'éventuelle interdiction de consommation des coquillages ;
- le risque relatif d'être malade d'un individu de la population.

Les différentes situations de contaminations envisagées sont basées sur la situation rencontrée en 2009 à Paimpol : détection d'huîtres contaminées par VHA et absence de déclaration de cas d'hépatite A observés dans la population humaine. Elles correspondent majoritairement à celles de l'ensemble du littoral français, étant donné la faible déclaration annuelle de cas d'hépatite A reliés à la consommation de coquillages. Les résultats obtenus peuvent donc s'appliquer à bien d'autres zones que celle de Paimpol, notamment aux zones classées B sur la base des résultats observés par le REMI. L'annexe 3 détaille les hypothèses et paramètres du modèle utilisé et les résultats obtenus par cette approche.

Deux situations sont considérées.

La première situation de contamination correspond à un cas de rejet côtier accidentel de courte durée (excrétion et rejet sur une journée, débordement ponctuel lié à une forte pluie sur une durée maximale de 24h) ou dont l'origine est rapidement identifiée et éliminée. La deuxième situation de contamination correspond à un cas de contamination longue, lorsque par exemple l'origine de contamination n'est pas connue ou maîtrisable et revient de façon récurrente. Dans ce cas, la contamination est donc hétérogène au cours du temps, aboutissant à une forte hétérogénéité de contamination des coquillages.

Pour les deux situations envisagées, la contamination est supposée spatialement homogène, dans le secteur conchylicole considéré.

Il ressort principalement de l'analyse réalisée que pour les deux situations envisagées :

- La surveillance microbiologique classique, telle que menée par le réseau REMI ne prévient pas contre le risque d'infection à VHA (risque relatif $RR = 1$). Ce résultat est logique puisque ce réseau n'a pas pour objectif de surveiller la contamination des coquillages par le VHA et qu'il est admis que *E. coli* n'est pas un bon indicateur de la contamination par le VHA.
- La meilleure stratégie en terme sanitaire et économique (nombre jours de fermetures de zones) est d'appliquer un traitement en amont visant à diminuer la concentration de virus dans les rejets. L'exemple choisi, à savoir un traitement de $2\log_{10}$ appliqué en amont est plus efficace d'un point de vue sanitaire que tous les systèmes de surveillance et de gestion pris en exemple ($RR=0.2$ ou 0.4 suivant situation 1 ou 2).
- L'application de mesures de gestion, rapidement après la détection de VHA dans les coquillages, améliore significativement l'efficacité sanitaire. Ceci est sensible même pour quelques jours de retard de prise de décision de fermeture ou en cas d'attente d'analyse de confirmation avant de déclencher une décision de fermeture (RR passe de 0.76 à 0.89 , de 0.69 à 0.97 suivant situation 1 ou 2).
- Un contrôle bimensuel est plus efficace qu'un suivi mensuel mais forcément plus coûteux en terme de nombres de jours de fermeture (RR 0.61 ou 0.47 suivant situation 1 ou 2).
- Le suivi et le retrait des produits transférés contaminés et réimmergés dans des zones non contaminées par VHA est une mesure très efficace de protection des consommateurs, car les délais de mise sur le marché permettent une mesure de retrait avant la consommation de produits transférés contaminés ($RR=0.58$, testé pour la situation 1).

- La réouverture de zones en fonction du nombre d'analyses successives négatives a été étudiée. Lorsque le nombre d'analyses négatives nécessaires à la réouverture passe de 1 à 3, la sécurité pour le consommateur est améliorée, en particulier pour la situation 2 (RR passe de 0.91 à 0.69). En effet, dans ce cas la contamination est hétérogène et une analyse négative ne traduit pas forcément la fin de l'épisode de contamination. Pour la situation 1, l'amélioration est moins significative. En effet, (i) la contamination est supposée totalement homogène dans la zone étudiée, (ii) le rejet est connu et de très courte durée, la contamination est donc strictement décroissante et une première analyse négative ne peut être suivie que d'autres analyses négatives. Une analyse négative serait suffisante pour rouvrir la zone s'il est vérifié que d'une part, la contamination des coquillages est bien délimitée et homogène et que d'autre part, le rejet n'est plus actif.

Les limites et les hypothèses formulées lors de cette modélisation sont explicitées en annexe 3. Des données de contamination quantitatives de coquillages liées à des épisodes de rejets connus auraient pu contribuer à ce type d'approche. L'impact des hypothèses sur les résultats, relatives à l'infectiosité virale, à la bioconcentration dans la glande digestive ou à la dose-réponse, est limité du fait d'avoir exprimé le résultat en termes de rapport de risques (mêmes hypothèses pour le numérateur et le dénominateur).

L'interprétation pragmatique de ces conclusions est la suivante. S'il existe des coquillages contaminés parmi ceux que l'on veut surveiller, la probabilité d'obtenir un résultat positif est faible. Un contrôle négatif n'est pas une garantie de sécurité. En revanche, l'obtention d'un contrôle positif est une indication forte qui doit déclencher un dispositif renforcé de gestion du risque et du danger, dans les meilleurs délais. En effet, comme les performances du test microbiologique sont raisonnablement bonnes, cette observation signe avec une forte probabilité la présence d'au moins un excréteur dans la population amont. Si cet excréteur réside un certain temps dans la région, les excréments précédentes ou suivantes vont atteindre le milieu marin. La probabilité de contamination des coquillages, conditionnelle à une observation positive, est donc très supérieure à la probabilité de contamination lorsque les contrôles sont négatifs.

Pour ces raisons et comme la viabilité du VHA est bien plus longue que celle de bactéries, quelques contrôles négatifs ultérieurs ne permettent pas de conclure au retour à une situation sécurisée.

Le manque de puissance d'un contrôle basé sur une seule analyse est généralement compensé par la répétition de contrôles dans le temps. C'est un raisonnement correct qui assimile la série d'analyses à des pseudo-répétitions dans l'hypothèse que les circonstances sont restées quasiment identiques. Ce raisonnement peut s'appliquer avec prudence dans le cas de la contamination par VHA de coquillages si la population humaine est stable, ce n'est pas le cas pour un site touristique très fréquenté.

La réouverture des zones de production conchylicole ou de pêche à pied devrait être basée avant tout sur l'arrêt de la source de rejet et sur l'absence de virus détectables dans les coquillages et dans les rejets.

La modélisation quantitative est l'outil approprié pour aider les gestionnaires à prendre des décisions. Malheureusement, trop peu de connaissances étayées existent concernant la contamination des coquillages par le VHA pour le mettre complètement en œuvre. Cependant, quelques caractéristiques clés ont pu être dégagées à partir des éléments disponibles.

Le passage du VHA de l'Homme au coquillage est un événement très rare mais lorsqu'il se produit, il peut contaminer certaines zones d'une baie de manière intense.

Le passage du VHA du coquillage à l'Homme ne peut pas être détecté efficacement par la seule surveillance virologique (et encore moins bactériologique) des coquillages. Les délais des phénomènes en cause ne permettent pas la prévention d'une épidémie ; d'autre part la décontamination des zones touchées demande plusieurs semaines pour être effective. Il faut donc impérativement ajouter une surveillance de la qualité des eaux usées rejetées pour déclencher les alertes avant que les coquillages ne soient touchés ou pour circonscrire les zones impactées.

7 Synthèse et recommandations

L'analyse des situations d'infections humaines liées à la consommation de coquillages contaminés par du VHA met en évidence les principaux points suivants :

- Le VHA est d'origine exclusivement humaine et son excrétion se fait par les fèces ;
- La déclaration obligatoire de cas d'hépatite A reste insuffisante pour une détection complète des risques de contamination en raison de la proportion élevée de cas asymptomatiques ;
- La longue durée de l'incubation de l'hépatite A ne permet pas la mise en place d'actions préventives efficaces suite à la découverte de cas ;
- Le nombre de personnes infectées par le virus de l'hépatite A en France est faible mais reste cependant sous-estimé ; par ailleurs un individu infecté excrète un nombre important de virus qui peuvent contaminer de nombreuses personnes ;
- Les stations d'épuration (STEP) ne réduisent que partiellement la contamination microbiologique. Par ailleurs, des dysfonctionnements du réseau surtout au niveau des postes de relèvement demeurent inévitables et provoquent le rejet d'eaux non traitées à la mer, notamment en période de fortes pluies ;
- Des rejets illicites d'eaux usées non traitées, par exemple dans le réseau pluvial, peuvent avoir un impact important sur la contamination de l'environnement et des coquillages ;
- Entre la source d'excrétion et l'environnement immédiat du coquillage, la concentration en virus chute à toutes les étapes de manière très importante, principalement du fait de la dilution et de la sédimentation ;
- Les indicateurs bactériens destinés au suivi de la contamination fécale sont de mauvais indicateurs des contaminations virales car les virus sont beaucoup plus résistants que les bactéries et leur émission est très variable selon la situation épidémique ;
- Les coquillages peuvent se contaminer très rapidement (quelques heures) ;
- Les coquillages, en particulier filtreurs, concentrent et retiennent les particules virales dans leurs tissus pendant plusieurs semaines ;
- Suivant les conditions météorologiques (pluviométrie, vents, etc.) et hydrologiques (débit d'eau douce, coefficient de marée, courants, etc.), un épisode de contamination peut se révéler anodin ou gravissime ;
- La localisation géographique des coquillages dans une baie, en particulier la proximité au rejet, est un facteur majeur du risque de contamination ;
- La purification des coquillages, telle que réalisée actuellement, est essentiellement dirigée envers la contamination bactérienne ; elle est donc insuffisante pour éliminer les virus ;
- Du fait de la variation spatiale et temporelle et de la rareté des événements de contamination virale, un contrôle basé uniquement sur des prélèvements de coquillages demanderait pour le VHA, pour être efficace, un nombre d'échantillons et une fréquence de prélèvements bien supérieurs à ce que l'on peut envisager²⁰.

Cette analyse permet de faire les recommandations suivantes.

7.1 Recommandations générales

La sécurisation du système d'assainissement est un préalable indispensable, avec les actions prioritaires suivantes:

- Détecter et supprimer les éventuels émissaires directs d'eaux usées brutes et, en particulier, s'assurer qu'aucun rejet d'eaux usées n'est raccordé à un réseau d'eaux pluviales et ne se déverse *in fine* sur l'estran ;

²⁰

Par exemple pour détecter dans 95% des cas une contamination dépassant un certain seuil.

- Réaliser, si ce n'est déjà fait, pour chaque poste de relèvement une étude de criticité et les équiper en conséquence de téléalarmes avec transmission de l'information en temps réel aux maires, aux producteurs et aux services sanitaires concernés : DDPP, DDTM, ARS, Ifremer, etc. Cette information doit être enregistrée dans une base de données unique pour tous les équipements d'un même bassin versant ;
- Mettre en place des réseaux d'assainissement de type séparatif des eaux s'ils n'existent pas, ou réaliser, si nécessaire, des bassins tampon en amont des stations d'épuration (STEP) et postes de relèvement pour limiter les rejets directs dans le milieu naturel ;
- Mettre en place des systèmes sanitaires efficaces vis-à-vis des virus, destinés à l'usage des populations non résidentes (camping cars, bateaux, etc.) et / ou utilisables lors de rassemblements de populations ;
- Identifier, à une échelle beaucoup plus fine que celle du classement des zones, les points géographiques jugés à risque (points critiques au vu des effluents et de la courantologie), comme demandé par la Directive 2006/113/CE. Ces profils de vulnérabilité sont indispensables lors de l'implantation de nouvelles zones de production conchylicoles et doivent être également réalisées avant 2013 pour les zones de productions existantes et pour les zones de pêche à pied.

Il faudrait aussi :

- Contrôler et, le cas échéant, faire mettre aux normes les assainissements non collectifs ;
- Mettre à la disposition des services sanitaires une base commune de données locales, de type système d'information géographique (SIG) ;
- Adapter la qualité des rejets des STEP aux usages en aval de ces dernières (application de la Directive cadre sur l'eau (DCE) 2000/60/CE).

L'amélioration de la surveillance et la mise en place d'un système d'alerte devrait passer prioritairement par les actions suivantes :

- Identifier et quantifier les dysfonctionnements aboutissant à des rejets d'eaux usées brutes ou insuffisamment traitées dans l'environnement ;
- Vérifier sur le terrain la bonne application de la réglementation relative au stockage de coquillages. Toutes les zones de dépôt autorisées doivent être contrôlables et faire l'objet d'un contrôle adapté à leur situation spécifique. Elles doivent faire l'objet d'une autorisation certifiée précisant la zone, les quantités de produits stockés et leur durée de stockage. Ces informations doivent être enregistrées dans le dossier de traçabilité du produit tenu par le producteur.

Il faudrait aussi :

- Effectuer des prélèvements dans les eaux usées rejetées, non ou partiellement traitées, pour y rechercher le VHA ;
- Intégrer, autant que possible, la recherche du VHA dans les contrôles microbiologiques des coquillages ;
- Renforcer le plan de surveillance de la DGAI. En tout état de cause, toute zone d'élevage conchylicole devrait faire l'objet d'une étude de vulnérabilité et d'un plan de surveillance adapté ;
- Adapter la méthode d'échantillonnage (fréquence, localisation) en fonction des circonstances (présence d'excréteurs dans le bassin versant, dysfonctionnement important du réseau, résultats positifs sur les coquillages, etc.) ;
- Signaler toute détection de VHA dans les coquillages dans les plus brefs délais (< 12 heures) simultanément aux autorités sanitaires et aux conchyliculteurs (établissements locaux et concessionnaires).

Au niveau des pratiques conchylicoles, la spécificité de la conchyliculture fait que l'estran est une zone de travail. Les secteurs placés très haut sur l'estran (découvrant à très faible coefficient de marée) devraient être considérés comme une zone à risque de contamination et il conviendrait d'éviter le dépôt de coquillages dans cette zone. Actuellement, seule une partie de ces zones de dépôt est autorisée. De ce fait, il est essentiel d'identifier, reconnaître, autoriser, protéger et contrôler les zones de stockage sur l'estran. Aussi, il faudrait :

- Mettre en place un système de traçabilité du mouvement des lots d'huîtres résidant de manière permanente ou temporaire dans une baie afin de mieux adapter les mesures de gestion ;
- N'autoriser les dépôts dans des secteurs placés très hauts sur l'estran (découvrant à très faibles coefficients de marée) et pouvant être les plus exposés aux rejets concentrés d'eaux usées, qu'après démonstration de l'absence de source de contamination à proximité ou de risque de contamination ;
- Définir, recenser et autoriser de manière exhaustive les zones de dépôt utilisées pour les coquillages destinés à la commercialisation.

Au niveau des populations, les actions suivantes sont nécessaires :

- Porter à la connaissance des usagers du littoral l'existence de dangers avérés dans les zones de pêche à pied. Conformément à la réglementation, l'information de la présence d'une contamination virale doit être disponible auprès de la population ;
- Diffuser de l'information lors d'épidémies pour inciter aux précautions et à la prévention.

En situations d'alerte (présence de cas, dysfonctionnements, détection de VHA lors de la surveillance) ou de vigilance (situation à risque), il faudrait :

- Prendre et appliquer **sans retard** les mesures appropriées aux circonstances observées ;
- Appliquer systématiquement les contrôles microbiologiques, notamment virologiques, des coquillages commercialisables ;
- Si des coquillages en provenance de zones non contaminées devaient entrer dans des zones en situation d'alerte, il faudrait alors renforcer les mesures prises, en particulier en stockant ces coquillages dans une eau de qualité contrôlée, ayant éventuellement subi un traitement.

L'amélioration des connaissances et des moyens d'action demandent en priorité de :

- Normaliser la méthode de détection du VHA dans les coquillages ;
- Mettre en place, avec un fonctionnement en continu au niveau des STEP, des préleveurs automatiques d'eaux usées, et adapter ces dispositifs de prélèvement aux postes de relèvement, pour disposer d'échantillons d'eaux récemment écoulées à des fins d'analyses microbiologiques notamment virologiques, dans le cadre du suivi des dysfonctionnements ;
- Réaliser des études des sites conchylicoles permettant de mieux appréhender les profils de vulnérabilité. En particulier, s'appuyer sur des études d'hydrodynamisme applicables à la dispersion des virus.

Il serait également souhaitable de :

- Rechercher des technologies innovantes pour la purification des coquillages ;
- Réaliser des études pour mieux comprendre les mécanismes de contamination et d'autoépuration des coquillages ;
- Réaliser des études pour mieux connaître les différents aspects de l'infectiosité du VHA présent dans l'environnement ;
- Faciliter la mise en place d'études et de recherches visant à améliorer la qualité, diminuer le coût et rendre plus rapide et aisée la détection du VHA dans les coquillages ;

- Continuer les efforts de modélisation quantitative amorcés et présentés dans ce rapport.

Il est important de noter que les recommandations précédentes centrées sur la contamination de coquillages par le VHA sont pour la plupart valables pour les autres contaminations virales, en particulier celles de norovirus.

7.2 Spécificité de la Baie de Paimpol

La Baie de Paimpol a été la référence principale de ce travail. A l'issue de celui-ci, il ne semble pas que la situation géographique de cette baie soit singulière par rapport à d'autres zones côtières, sièges de production conchylicoles. Néanmoins, des facteurs *a priori* défavorables y sont concentrés, pouvant expliquer le classement de la zone en catégorie B et le fait que Paimpol est la seule ville française comptant deux épidémies d'HA recensées (en 1999 et 2007). En 2008 et 2009, des coquillages contaminés par le VHA y ont été détectés sur des zones de pêche à pied.

Les principaux facteurs défavorables sont les suivants :

- de nombreuses habitations surplombant le littoral ;
- des concentrations humaines importantes en été, proches des zones de production ;
- un réseau d'assainissement collectif qui n'est pas complètement de type séparatif et qui ne l'était pas *a fortiori* en 2008 ;
- l'absence de signalement systématique des dysfonctionnements du réseau d'assainissement collectif des eaux usées dans des délais rapides, rendant toute une série de mesures impossibles ;
- l'existence d'émissaires directs jusqu'à très récemment ;
- la présence de nombreux postes de relèvement du fait d'un relief accidenté ;
- un bassin versant de petite taille, n'occasionnant pas un débit d'eaux douces important dans la mer ;
- une vaste baie peu profonde et très découvrante, ne favorisant pas la dilution de la contamination vers le large ;
- des zones de dépôts conchylicoles et de stockage dans des secteurs placés très haut sur l'estran (découvrant à très faible coefficient de marée), à proximité de zones urbanisées et/ou d'émissaires.

Aucun de ces facteurs n'est spécifique à la Baie de Paimpol et peut se retrouver dans d'autres zones du littoral. Les recommandations générales listées plus haut s'appliquent à la Baie de Paimpol. En particulier, une meilleure identification des coquillages transitant par les zones de dépôts et de leur devenir est indispensable de façon à aider les mesures de gestion en cas de contamination. Par ailleurs, une meilleure connaissance du milieu marin local serait nécessaire, pour aider à mieux identifier les moments et les points de plus grand risque. A cet égard, une étude hydrologique précise et générale devrait être menée, incluant des relevés de profils verticaux à différents moments de la marée pour confirmer ou infirmer l'hypothèse que la Baie de Paimpol correspond à un estuaire d'eau bien mélangée, et de ce fait préciser les conditions de mélange des eaux rejetées par les différents petits émissaires.

Les exercices de modélisation réalisés dans un contexte proche de celui de la Baie de Paimpol devraient être approfondis et validés par des informations complémentaires. Ils montrent cependant :

- qu'un rassemblement festif équivaut, en risque d'excrétion, à celui d'une petite ville alors que le traitement des effluents est sans doute moins facile à réaliser ;
- que la meilleure stratégie, aussi bien pour la santé publique que pour les entreprises conchylicoles, consiste à surveiller les sources de contamination en amont de la pollution marine et à moduler la surveillance et la gestion en fonction de la pluviométrie prévue ou mesurée ;

- que le suivi des lots de coquillages transférés diminue très fortement le risque en permettant un retrait rapide des lots concernés tout en évitant la fermeture de la zone de production ;
- qu'en cas de fermeture de zone, plusieurs analyses négatives successives améliorent la sécurité de la réouverture ;
- que dans le cadre du système mis en place par la MISSA 22, la rapidité de la prise de décision est un facteur crucial pour l'efficacité.

Les mesures mises en place par la MISSA22 depuis 2008 s'inscrivent bien dans le sens des recommandations proposées. Pour progresser encore dans la maîtrise du danger viral pour les coquillages, il faudrait les compléter par la prise en compte de l'assainissement des eaux usées, maillon amont de la contamination des coquillages. Une étude systématique de la qualité de rejets issus des émissaires situés à proximité des actuelles zones de dépôt devrait notamment être menée. La traçabilité des lots de coquillages provenant des zones d'élevage de la Baie de Paimpol (établissements agréés), ainsi que celle des lots transitant sur les concessions d'élevage et de dépôt, devrait être nettement améliorée. Plus généralement et bien qu'il s'agisse de production primaire, une démarche de type HACCP doit être fortement encouragée dans les établissements conchylicoles, pour améliorer l'adéquation entre les pratiques de production (prise d'eau, moments de pompage, volumes d'eau traités, dépôts) et la maîtrise des contaminants, pour garantir un niveau d'hygiène satisfaisant des coquillages destinés à la consommation humaine.

8 Conclusion

La contamination des coquillages par le virus de l'Hépatite A est exclusivement humaine et donc relativement aisée à caractériser. Par contre, l'appréciation quantitative des risques liés à cette contamination n'est pas possible à ce jour, faute de données suffisantes. Cependant, il est possible de conclure que le point faible du système se trouve au niveau de la qualité microbiologique des eaux déversées dans la mer. La surveillance et le contrôle doivent donc principalement s'exercer au niveau du traitement des effluents humains pour éviter les rejets contaminés par le VHA et les anomalies doivent donner lieu à des alertes et à un renforcement des mesures de contrôle.

Les dispositifs de surveillance et de contrôle doivent aussi tenir compte des délais de transfert des virus pour éviter d'exposer les coquillages dans les zones à risque. Les progrès attendus concernant les méthodes de détection du virus de l'hépatite A devraient rendre ce type de surveillance plus facile à mettre en place. Enfin, il est urgent d'assurer une traçabilité des lots d'huîtres commercialisées, associée à une description précise de la situation locale en termes de diffusion potentielle du virus, en parallèle d'une surveillance des contaminations en amont des coquillages. Sans ces mesures, il paraît quasi-impossible en situation d'alerte grave de faire autrement que de bloquer toute commercialisation, alors qu'une bonne proportion de lots est probablement propre à la consommation.

En conclusion, au-delà de tout renforcement du dispositif de surveillance des zones conchylicoles, la maîtrise de ce risque implique de mettre en place des solutions techniques efficaces et fiables pour ne pas contaminer les lots ou de créer des zones tampons minimales, entre les activités conchylicoles et les rejets des urbanisations littorales. La contamination par le VHA des huîtres et plus généralement des coquillages, traduit la dégradation du milieu marin côtier par les pollutions liées aux populations humaines, dans des zones où sont placés les coquillages même parfois temporairement. La sauvegarde des activités conchylicoles passe par la préservation de la qualité du littoral et de l'environnement.

L'Anses reprend à son compte les recommandations et conclusions issues de l'expertise collective menée au sein du groupe de travail dédié et validées par les comités d'experts spécialisés « Microbiologie » et « Eaux ». Ce document vient compléter les premiers éléments de réponse présentés dans l'avis de l'Afssa du 23 juillet 2009.

Tels sont les éléments d'analyse que l'Agence est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la Direction Générale de l'Alimentation et la Direction Générale de la Santé concernant la contamination des coquillages par le virus de l'hépatite A et les mesures de surveillance à mettre en place.

Le directeur général



Marc MORTUREUX

Annexe 1: Saisine de la DGAI et DGS du 12 février 2009.

09 424

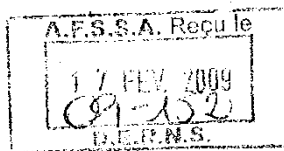


2009-SA-0044

| | |
|---|--|
| MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE Direction Générale de l'Alimentation Service de l'alimentation Sous-Direction de la Sécurité Sanitaire des Aliments Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce 251, rue de Vaugirard 75732 PARIS CEDEX 15 Dossier suivi par : Jacques MARCHAL Mél : jacques.marchal@agriculture.gouv.fr Tél : 01.49.56.84.19 Fax : 01.49.56.56.80 réf interne : saisine Afssa DGS-DGAL VHA 09-005 | MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SPORTS Direction générale de la santé Sous-direction de la prévention des risques liés à l'environnement et à l'alimentation Bureau de l'alimentation et de la nutrition 14, Avenue Duquesne 75350 PARIS 07 SP Dossier suivi par : Nolwenn MASSON Mél : nolwenn.masson@sante.gouv.fr Tél : 01.40.56.61.33 Fax : 01.40.56.54.12 |
|---|--|

Le Directeur Général de l'Alimentation

Le Directeur Général de la Santé



à
MADAME LA DIRECTRICE GÉNÉRALE DE
L'AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS
27-31 AVENUE DU GÉNÉRAL LECLERC
94701 MAISONS ALFORT CEDEX

Paris, le 12 FEV. 2009

Objet : Saisine de l'Afssa sur la pertinence et les modalités de surveillance d'une zone contaminée par du virus de l'hépatite A ; application au cas de la Baie de Paimpol (22).

Conformément aux articles L. 1323-1 et L. 1323-2 du code de la santé publique, j'ai l'honneur de saisir l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la pertinence et les modalités de surveillance d'une zone conchylicole, ou d'un site de pêche de loisir, contaminée par du virus de l'hépatite A, appliqués à la Baie de Paimpol (22).

La Baie de Paimpol est un site comportant des activités de production de mollusques bivalves (parcs à huîtres) et des gisements naturels fréquentés par les pêcheurs de loisir. Elle est régulièrement le lieu d'accidents de débordement des postes de relèvement des stations d'épuration. Trois alertes ont été données courant 2008 : en juin, puis mi-novembre et enfin début décembre.

Des analyses menées par la DDASS sur des gisements naturels de coquillages ont montré une contamination de la baie par du virus de l'hépatite A (VHA), amenant les services de terrain à restreindre la collecte et la commercialisation des coquillages issus de la pêche à pied de loisir et de l'activité professionnelle, jusqu'à obtenir des résultats indiquant une disparition de la contamination.

L'Institut de veille sanitaire (InVS) n'a pas signalé d'augmentation du nombre de cas d'hépatite virale A aiguë dans la région de Paimpol en 2008. Cependant, deux épisodes de cas groupés d'hépatite virale A aiguë ont été signalés, par deux fois en moins de 10 ans, vraisemblablement suite à la consommation de coquillages provenant de la baie : 33 cas en 1999 et 111 cas en 2007.

A.F.S.S.A. Reçu le

20 FEV. 2009

2009-036

D.E.R.N.S. UERB

D'une manière générale, la pollution par des eaux usées, potentiellement porteuses du virus de l'hépatite A, de zones du littoral marin pose un problème sanitaire potentiellement grave, exceptionnel et récurrent ; il nous apparaît nécessaire de poser les bases d'une réflexion globale devant aboutir à une gestion équilibrée des zones de production et de récolte de coquillages sujettes à ces pollutions. Cette gestion doit permettre de protéger la santé du consommateur sans pénaliser les conchyliculteurs plus que de nécessaire.

Deux grands axes d'actions sont à mettre en place :

- du point de vue environnemental, rechercher les sources de pollution d'origine fécale (stations d'épuration, rejets de bateaux, rejets sauvages), pour mieux les maîtriser ;
- du point de vue sanitaire, mettre en place une gestion rigoureuse des coquillages en période à risques.

Le premier axe doit être conduit par les différents partenaires locaux concernés, tels que les administrations territoriales, les agences de l'eau, les sociétés gérant les stations d'épuration, les professionnels, en lien avec les services de la Préfecture et avec l'appui de l'IFREMER si nécessaire.

Concernant le second axe, et sur la base des informations disponibles, je vous saurais gré de bien vouloir nous faire part de votre expertise relative aux modalités de surveillance à mettre en place dans des zones utilisées par des conchyliculteurs et des pêcheurs à pied, polluées régulièrement par des eaux usées susceptibles de véhiculer le virus de l'hépatite A, et de nous proposer des lignes directrices devant conduire à une meilleure maîtrise de ce risque.

1/ Dans la grande majorité des cas de pollutions accidentelles par des eaux usées, la localisation de la source de pollution est bien identifiée, et le moment où elle a lieu est également connu.

Différents paramètres vont influencer la dispersion du virus au sein du milieu :

- le moment de la pollution par rapport aux marées (par exemple, le déversement accidentel d'eaux usées à marée basse vs à marée montante),
 - les coefficients de marée (mortes eaux vs hautes eaux),
 - la courantologie du secteur,
 - les conditions météorologiques (dont la pluviométrie),
 - le flux de pollution,
 - le contexte épidémiologique.
- ◆ Peut-on, en fonction de ces éléments, déterminer les coquillages qui seront potentiellement contaminés en premier, et sous quels délais ?
 - ◆ Afin de détecter la présence éventuelle du VHA dans des coquillages le plus rapidement possible, en tenant compte des éléments précités, est-il préférable de sélectionner un point indicateur proche de la source de pollution identifiée, ou d'effectuer un maillage plus complet de la zone ?
 - ◆ Outre cette recherche spatiale, quel programme de recherche séquentiel du virus serait-il opportun de mettre en oeuvre ? A partir de quel instant (dès que la pollution a eu lieu, ou plus tardivement), et à quelle fréquence doit-on effectuer la recherche du virus ?
 - ◆ Doit-on intégrer d'autres données à ce programme pour le compléter ?
 - ◆ Est-il possible de dissocier les différents secteurs de production : élevage en eaux profondes, dépôt sur l'estran, et pêche à pied ? Quels seraient les critères à respecter pour une éventuelle sectorisation de la zone ?
 - ◆ Doit-on rechercher en parallèle d'autres virus pathogènes pour l'homme ?

2/ Lorsque plusieurs sources de pollution sont suspectées avec des apports diffus de contamination (ex : cas des fortes pluies avec des possibles contaminations issus des rejets d'eaux pluviales et des débordements des réseaux d'assainissement), quelles seraient les modalités de surveillance à mettre en place ?

3/ La surveillance du milieu par rapport à d'éventuelles contaminations phycotoxiques (réseau REPHY) est basée sur la définition de périodes à risques par grand bassin de production.

- ◆ De manière similaire, afin de prévenir le risque de contamination des coquillages par le VHA, est-il envisageable de définir, des périodes à risque VHA ?
- ◆ Quelle serait votre proposition de définition de périodes à risques ?
- ◆ Comment définir un plan d'échantillonnage durant ces périodes en tenant compte des réponses à la question précédente ?
- ◆ Sur quelles bases scientifiques, et à partir de quelles données quantitatives, peut-on considérer qu'il y aura un impact sur la santé humaine ?

4/ Les conchyliculteurs de la zone pompent de l'eau de mer pour l'approvisionnement des bassins à terre.

- ◆ Quelles seraient les précautions à prendre afin de ne pas contaminer les coquillages placés en bassin, en considérant en outre, que si l'eau est pompée en zone B, elle subit, avant son utilisation, un traitement de décontamination (UV, décantation, aération forcée...)?

Par ailleurs, l'épidémie de VHA de 2007 a conduit la Mission inter-services de sécurité sanitaire des aliments (MISSA) du département des Côtes d'Armor à proposer un plan d'actions pour assurer le suivi des coquillages lors de pollutions des eaux de la Baie de Paimpol.

Nous souhaiterions que vous puissiez nous faire part de votre expertise relative à ce plan d'actions.

Nos services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

Nous vous remercions de bien vouloir nous accuser réception de la présente demande.

Le Directeur Général
de l'Alimentation

~~Le Directeur Général de l'Alimentation~~

Jean Marc BOURNIGAL

Le Directeur Général
de la Santé

Le Directeur Général de la Santé,



Pr Didier HOUSSIN

P.J. : document IFREMER de synthèse sur les contaminations par VHA de 1990 à 2008
résultats d'analyses VHA en Baie de Paimpol 2008
plan d'actions MISSA 22
cartographie de la Baie de Paimpol

Annexe 2 : Modélisation du transfert du VHA depuis l'excrétion humaine jusqu'aux coquillages.

(Pour plus d'information sur le modèle développé dans cette annexe, les personnes intéressées sont invitées à contacter les coordinateurs scientifiques de l'Agence.)

Dans cette annexe sont exposés les principes et caractéristiques retenus pour l'approche quantitative dont les résultats ont été exposés au chapitre 5.1. Pour décrire le transfert du VHA de l'homme au coquillage, la structure de la modélisation retenue se caractérise par :

- o la description de la quantité excrétée tout au long d'une année par une sous-population, elle servira de charge virale initiale ;
- o les franchissements de trois étapes : (i) de l'excrétion à la mer, (ii) de la mer à l'environnement du coquillage et (iii) de l'environnement du coquillage aux tissus des coquillages. Chaque franchissement est quantifié par un taux de transfert et une distribution de la durée du transfert (tous les virus ne franchissent pas l'étape à la même vitesse).

Finalement, seule la modélisation de la quantité de VHA excrétée par une population donnée, a pu être envisagée. Cette excrétion est calculée journalièrement sur la base des considérations suivantes.

- La population est caractérisée par :
 - a) ses effectifs par classes d'âge ;
 - b) ses périodes de présence dans le bassin versant de la baie considérée.
- Pour illustration, une population modélisée pourrait être une famille en vacances estivales, composée d'un enfant de moins de 5 ans, d'un autre âgé de 6 à 15 ans et de deux parents de moins de 44 ans. Cette famille pourrait séjourner dans la zone considérée pendant 15 jours, à partir du 150^{ème} jour de l'année (tableau 24).
- L'excrétion est caractérisée par :
 - c) une probabilité différente d'être excréteur selon la classe d'âge (tableau 23)
 - d) une date de début d'excrétion aléatoire calée sur la densité des DO exhibée par la figure 6.
 - e) une densité d'excrétion différente pour chaque individu, semblable à celle proposée en figure 3, modélisée par une distribution triangulaire dont :
 - f) la durée possible d'excrétion est définie par une distribution (ou loi de probabilité) normale d'espérance 35 jours et d'écart-type 5 jours ;
 - g) la position relative du mode, à savoir le moment pour lequel la plus grande partie de la population malade excrète du VHA, est définie par une distribution uniforme de bornes 0.25 et 0.35 ;
 - h) une production maximale journalière, issue d'une distribution normale décrivant le logarithme décimal de la charge virale, caractérisée par un écart-type de 0,1 et une espérance correspondant aux 10⁹ virus par gramme pour 150 grammes de fécès.

Tableau 23 : Proportions d'excréteurs par tranche d'âge, utilisées pour la modélisation.

| Age | Incidence | % asymptomatiques |
|----------------|-----------|-------------------|
| 0-5 | 5/100 000 | 80-90% |
| 6-15 ans | 5/100 000 | 60-80% |
| de 16 à 44 ans | 4/100 000 | 10-20% |
| 45-70 ans | 3/100 000 | 10-20% |
| >70 ans | 3/100 000 | 10-20% |

Le tableau 24 présente les résultats obtenus par simulation en prenant en compte l'excrétion potentielle sur l'ensemble de l'année de différentes populations hypothétiques.

Tableau 24 : Résultats des simulations de l'excrétion de différentes sous-populations.

| Population | Effectifs | | | | | Séjour | | Résultats (en Log) | | | | | |
|----------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------------------|-----|----|-----|-----|-----|
| | 0-5 | 6-15 | 16-44 | 45-70 | >70 | Début | Durée | %Exc. | min | 5% | 50% | 95% | max |
| Famille itinérante | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 150 | 15 | 0.00094 | 1 | 2 | 8 | 11 | 11 |
| Camping municipal | 40 | 30 | 60 | 16 | 4 | 150 | 90 | 0.18380 | 0 | 3 | 11 | 11 | 12 |
| Immeuble | 12 | 20 | 80 | 64 | 16 | 1 | 360 | 0.70750 | 0 | 8 | 11 | 11 | 12 |
| Village | 40 | 60 | 200 | 160 | 40 | 1 | 360 | 1.85900 | 0 | 8 | 11 | 11 | 12 |
| Ville | 500 | 900 | 2800 | 2200 | 600 | 1 | 360 | 23.18700 | 0 | 8 | 11 | 12 | 12 |
| Rassemblement festif | 10000 | 20000 | 60000 | 50000 | 10000 | 180 | 5 | 29.88000 | 0 | 1 | 7 | 11 | 12 |

Six types de sous-populations sont considérés en lignes. Les cinq premières colonnes sont les effectifs des classes d'âge qui ont été retenus. Les sixième et septième colonnes précisent la période de séjour de la population dans le bassin versant, respectivement en numéro de jour dans l'année et nombre de jours. %Exc. est la probabilité de la réalisation d'au moins une excrétion. Les cinq dernières colonnes sont les extrêmes et quelques quantiles de la quantité (\log_{10} du nombre de virus) excrétée, quand au moins une excrétion a eu lieu.

Par exemple, la sous-population du rassemblement festif comprend 150 000 personnes qui ne séjournent que 5 jours début juillet dans le bassin versant. Le modèle calcule pour cette sous-population une excrétion médiane de 7 \log_{10} de fèces. Il indique également qu'environ 30% des rassemblements réalisés dans les mêmes conditions aboutissent à une excrétion de VHA. Plus précisément, pour 90% de ces rassemblements avec excrétion, la quantité de VHA excrétée serait comprise entre 1 à 11 \log_{10} .

De ces calculs basés sur des sous-populations hypothétiques se dégagent deux conclusions. La probabilité de l'excrétion d'une population dépend de sa taille et de sa durée de séjour. Notons avec intérêt que pour un rassemblement festif du type de celui du festival *chant de marins*, la probabilité d'excrétion est d'environ 0,3. Par contre, lorsqu'il y a excrétion les quantités excrétées ne sont pas très différentes d'un cas de figure à l'autre, conséquence de la rareté de ces événements.

Fort heureusement, excrétion, même élevée, ne signifie pas à coup sûr contamination des coquillages. Il faut que les virus franchissent les trois étapes identifiées. Pour elles, une modélisation très simple a été retenue basée sur deux composantes assez naturelles : la proportion de virus franchissant l'étape²¹ (ce taux de transmission recouvre aussi la persistance du virus) et la répartition temporelle de la durée de ce franchissement modélisée approximativement par les durées minimale, maximale et plus probable au travers d'une simple distribution triangulaire. Cette illustration montre comment le modèle pourrait être structuré pour permettre d'intégrer séparément la variabilité et l'incertitude sur les données sources.

Pour rendre concrète la proposition, le tableau 25 propose un exemple imaginaire de tels paramètres pour l'étape de l'excrétion à la mer dans le cas d'un traitement collectif d'eaux usées de bonne qualité. Des études à venir sont nécessaires pour proposer de telles valeurs pour les différentes voies de contamination recensées dans ce rapport.

Tableau 25 : Illustration de fourchettes des quatre paramètres décrivant un cas de figure de la première étape.

| Étape décrite | Transfert (proportion) | | Durée (en jours) | | | | | |
|--|------------------------|-----------|------------------|-----|----------|-----|----------|-----|
| | Minimale | Maximale | La plus probable | | Minimale | | Maximale | |
| Réseau collectif d'eaux usées de bonne qualité | min | max | min | max | min | max | min | max |
| | 10^{-3} | 10^{-2} | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 5 |

²¹ Simplement le complément à 100% du taux d'abattement.

Annexe 3 : Modélisation de différents systèmes de surveillance et de gestion des coquillages.

(Pour plus d'information sur le modèle développé dans cette annexe, les personnes intéressées sont invitées à contacter les coordinateurs scientifiques de l'Agence.)

Dans cette annexe sont exposés les principes et caractéristiques retenus pour l'approche quantitative élaborée pour la comparaison de différents systèmes de surveillance et de gestion des coquillages, question centrale de ce rapport. Les résultats principaux ont été synthétisés au chapitre 5.2 ; la figure 25 en schématise l'organisation.

Le gestionnaire doit retenir un système de surveillance (qui représente un coût plus ou moins élevé) en lui associant un système de gestion équilibrant une perte économique due à des interdictions de commercialisation et un risque sanitaire pour les consommateurs. Il est clair que ces critères sont contradictoires : limiter la perte économique conduira à un risque sanitaire plus élevé ; diminuer les efforts d'investigation rendra les décisions moins souvent pertinentes. Le but de ce qui suit est de l'aider dans ces choix difficiles.

La structure du modèle et les valeurs de ses paramètres reposent principalement sur les résultats de surveillance de la contamination des coquillages observés en 2009 à Paimpol. Les contaminations maximales d'huîtres observées dans des zones à faible coefficient d'exondation (proches d'éventuels émissaires), sans correction des rendements d'extraction et d'amplification liés à la méthode employée, y étaient comprises entre 60 et 1970 copies /g de glande digestive (GD).

Egalement, les travaux publiés par Pinto et collaborateurs ont largement servi de fondement. Ces auteurs ont mené une AQR basée sur les données obtenues dans le cadre du suivi de deux épidémies espagnole d'Hépatite A, en 1999 (184 cas) et 2008 (100 cas), survenues suite à la consommation de clams (*Donax sp*, aussi appelées Tellines) congelées, importée du Pérou et contaminées par le VHA. Une des hypothèses de ces auteurs était, s'agissant d'une population adulte, de considérer que tous les cas étaient symptomatiques (Pinto, Costafreda *et al.* 2009). L'approche proposée tient compte des valeurs et paramètres utilisés dans cette étude, pour reproduire le taux d'attaque²² observé lors de l'épidémie espagnole de 1999.

L'effet des biais éventuels, conséquences des hypothèses simplificatrices retenues, sera atténué par l'usage du risque relatif et non pas du risque absolu.

Les calculs ont été menés au moyen de simulations de type Monte-Carlo à deux dimensions : mille itérations ont été effectuées pour décrire l'incertitude et mille individus décrivent la dimension de la variabilité de consommation.

Modalités retenues de contamination des coquillages :

Deux situations de contamination des coquillages ont été prises en compte :

Situation 1 : une contamination accidentelle des coquillages, suite à des rejets fécaux sur une durée courte de 24h et d'intensité très forte aboutissant à la détection de coquillages contaminés à un niveau élevé : 46 000 *E. coli*/100g de chair et liquide intervalvaire ; 5000 copies VHA/g de glande digestive (GD) (Figure 26). Cette contamination est supposée intervenir 2 fois par an, en juin et en janvier, pour décrire deux saisons différentes de l'année.

La contamination microbiologique des coquillages atteint, dans ce scénario théorique, 46 000 *E. coli*/100g de chair et liquide intervalvaire (CLI) ce qui est considéré comme la limite maximale admissible (pour moins de 10% des analyses) pour une zone classée B (Règlement (CE) n°854/2004 modifié). Cette valeur ne doit donc pas être dépassée et doit être observée au maximum pour 1 ou 2 des analyses mensuelles réalisées sur l'année. Les valeurs obtenues pour les autres analyses mensuelles doivent être inférieures à 4 600 *E. coli*/100g de CLI.

Situation 2 : une contamination prolongée des coquillages pendant 3 mois mais d'intensité variable d'un jour à l'autre ou d'un prélèvement à l'autre et comprise entre 10 et 50 000 copies/g de GD (Figure 27). Cette contamination est également supposée intervenir 2 fois par an. La contamination hivernale est supposée avoir lieu le 8 janvier et durer 90 jours. La contamination estivale, est supposée démarrer le 188^{ème} jour de l'année (180 jours plus tard) et durer 90 jours.

²² Taux d'incidence calculé sur une très courte période ne dépassant en général pas un mois, calculé dans le cadre des investigations d'épidémies.

Un T90 de 48 heures pour *E. coli* et de 28 jours pour le VHA sont les valeurs retenues pour décrire la décontamination des coquillages dans un milieu supposé redevenu propre.

Hypothèses et paramètres du modèle :

- Nombre de virus infectieux par gramme d'huître comestible :

Le VHA se concentre dans la glande digestive de l'huître (Pinto, Costafreda *et al.* 2009). Même si la quantification de ce phénomène est difficile, 90 à 95% de l'ensemble des copies de génome viral seraient contenus dans celle-ci (Le Guyader S., communication personnelle). Le rapport du poids moyen de la glande digestive sur le poids comestible total de l'huître (coquille exclus) pris en compte dans la modélisation proposée est de l'ordre de 7.8% (résultats expérimentaux non publiés, Le Guyader *et al.*).

Toutes les particules virales ne sont pas infectieuses, il est admis qu'environ 1 particule virale sur 60 serait infectieuse (1/10 – 1/100) (Pinto, Costafreda *et al.* 2009). Dans la modélisation, la valeur de correction prise est de 1/5. Cette valeur permettra de retrouver des taux d'attaque réalistes, tout en prenant en compte le premier paramètre. Le paramètre d'infectiosité du VHA dans les huîtres est mal connu, et c'est sur lui que se reporte l'erreur liée à la non prise en compte du paramètre de dilution.

- Efficacité des méthodes analytiques :

Les performances (sensibilité et spécificité) de la méthode de détection d'*E. coli* est supposée parfaite.

La méthode de détection du virus de l'Hépatite A est basée sur la recherche de son ARN par RT-PCR. Cette méthode comprend deux phases : l'extraction du matériel génétique (ARN) par un traitement approprié des échantillons, suivie d'une phase d'amplification.

Les rendements d'extraction sont évalués par comparaison avec un témoin, le Mengovirus (entre 0,1 et 10% dans l'étude de Pinto et collaborateurs). Pour les analyses de VHA réalisées entre 2008 et 2009 en France, les laboratoires consultés (LNR et CEERAM) ont communiqué une valeur moyenne de rendement d'extraction comprise entre 30 à 60%, avec une limite de qualité de 10%, pour exprimer un résultat sous forme quantitative. La valeur retenue pour la modélisation a été 50% pour le rendement d'extraction.

Les rendements d'amplification sont estimés compris entre 50 et 100% dans l'étude espagnole (Pinto, Costafreda *et al.* 2009). Pour les analyses sur VHA réalisées entre 2008 et 2009 sur les coquillages en France, pour les laboratoires consultés (LNR et CEERAM), le rendement d'amplification est estimé à 90%. Cette valeur a été retenue pour la modélisation.

La probabilité de détection est liée aux limites de la RT-PCR (limite de détection, rendements). La limite de détection de l'ARN par Real-Time RT-PCR est environ de 5 à 10 copies dans les 5 µl de réactif servant à l'amplification (données LNR et CNR). La valeur prise en compte ici pour la limite de détection a été de 5 copies.

Pour qu'il y ait détection, il doit donc rester, après une certaine perte liée aux rendements d'extraction, 100 copies minimum de génome viral dans les 100µl de réactifs issus de la prise d'essai de la glande digestive.

- Consommation d'huîtres :

Les données de consommation utilisées pour cette modélisation sont déduites des données alimentaires observées au cours de l'étude CALIPSO (Leblanc, Sirot *et al.* 2006), avec prise en compte de paramètres issus de l'étude INCA (Volatier 2000) et SECODIP (TNS panel). La consommation d'huîtres obtenue (Figure 28), est marquée par une forte saisonnalité au cours de l'année : faible en période estivale et très forte consommation au moment de la première et dernière semaine de l'année. La consommation est également beaucoup plus marquée au cours des week-ends. Aucun taux de réduction de la charge virale n'a été appliqué puisque les coquillages considérés sont les huîtres et qu'elles sont très majoritairement consommées crues.

- Relation dose-réponse :

La dose ingérée par le consommateur est le produit de la quantité d'huîtres consommée par individu et par jour (exprimée en gramme) par la concentration en virus infectieux par gramme d'huître. Les effets de cette dose, en termes de risque d'hépatite A vont être déduits par la relation dose-réponse présentée en Figure 29, utilisée dans l'étude espagnole citée.

Il s'agit d'une relation dose-réponse basée sur Echovirus 12, déjà utilisée dans d'autres publications en tant que modèle de dose-réponse pour VHA dans les coquillages (Rose and Sobsey 1993; Shuval 2003). Cette relation repose sur l'hypothèse que chacun des virus a la même probabilité de causer une hépatite A de manière indépendante. Les valeurs des paramètres de cette relation ont été estimées à partir de données publiées (Schiff, Stefanovic *et al.* 1984).

Figure 26 : Situation 1 de la contamination des coquillages (évolution temporelle). Deux accidents de contamination élevée, de courte durée sont suivis d'une décontamination régulière et homogène.

En bleu la contamination en VHA, en rouge la contamination en *E. coli*.

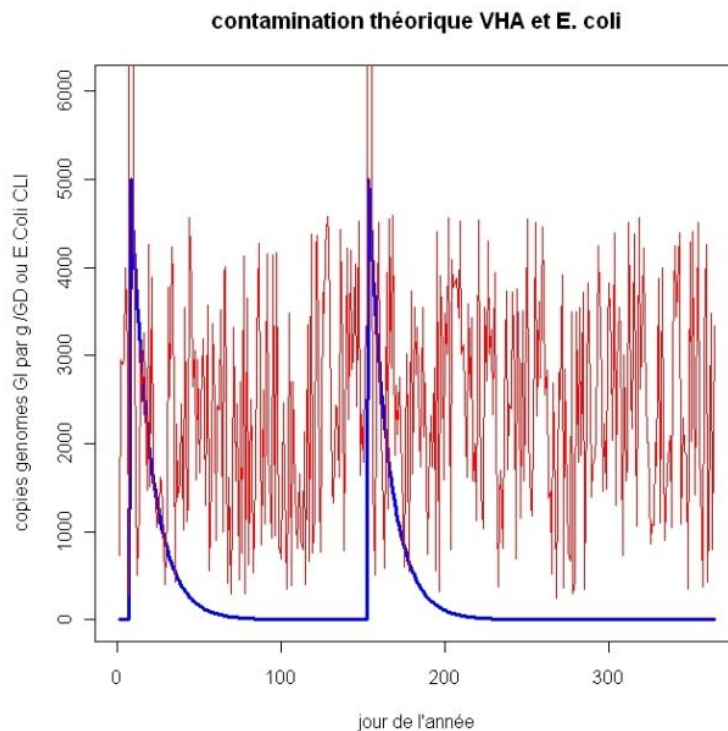


Figure 27 : Situation 2 de la contamination des coquillages (évolution temporelle). Deux accidents de contamination longue, élevée en VHA dans les coquillages et très variable dans le temps.

En bleu la contamination en VHA, en rouge la contamination *E. coli*. Remarque : la contamination *E. coli* est similaire à celle du scénario 1, ce sont les échelles des ordonnées qui sont différentes.

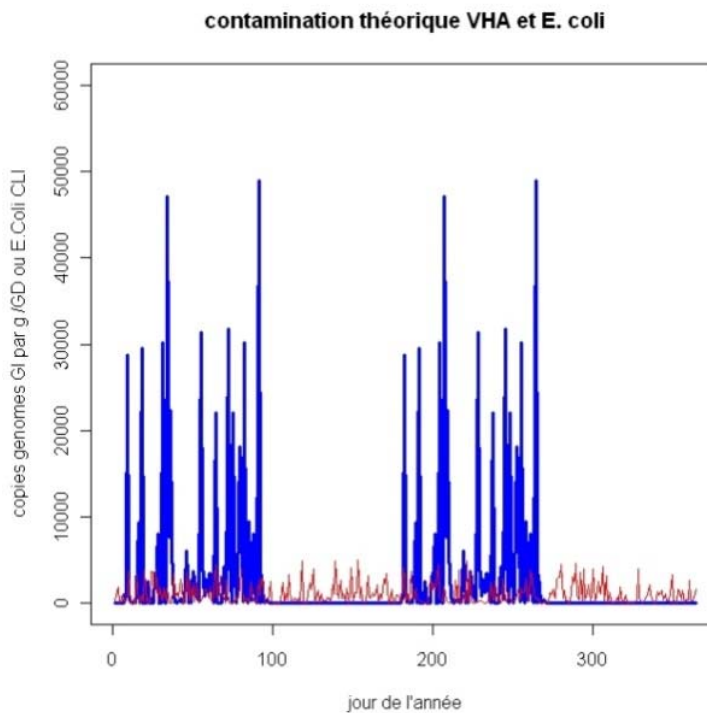


Figure 28 : Actes de consommation en fonction des jours de l'année (évolution temporelle). Le nombre d'actes de consommation diminue en période estivale, les petits pics correspondent aux week-ends, les deux grands pics à la période de fin d'année.

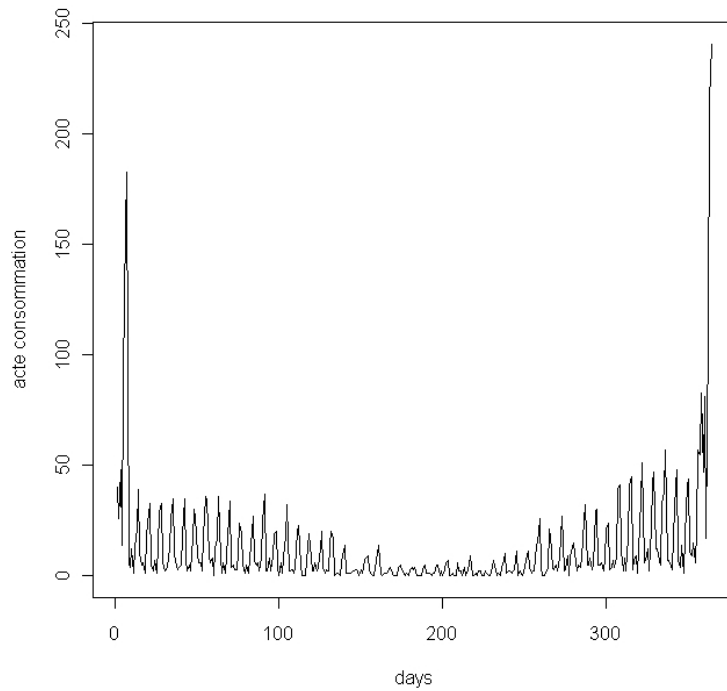
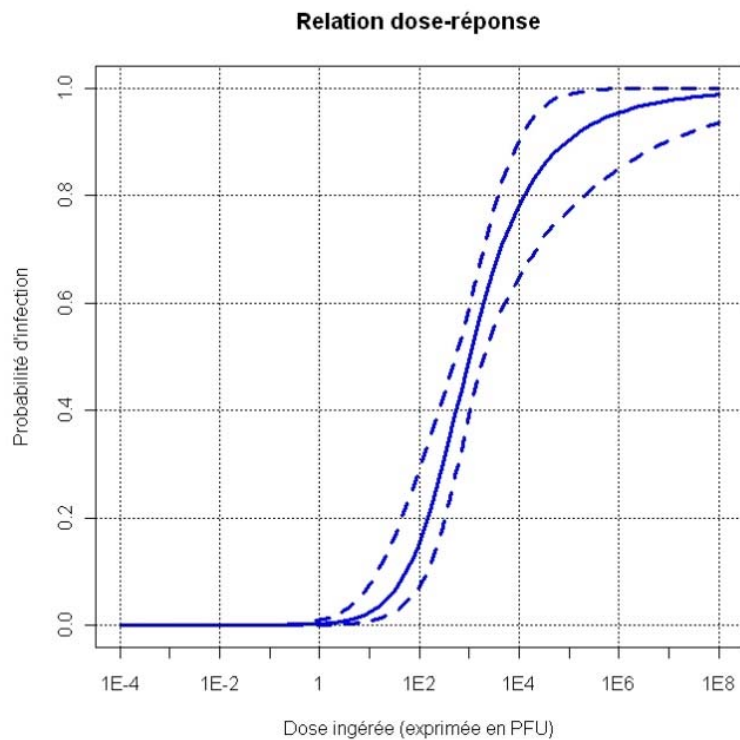


Figure 29 : Relation dose-réponse utilisée pour la modélisation

Les deux courbes pointillées indiquent la crédibilité associée. Une probabilité d'infection de 0.5 correspond à environ 1000 particules infectieuses.



- Systèmes de surveillance et les mesures de gestion

Plusieurs dispositifs de gestion des risques peuvent être envisagés : certains visent à diminuer le niveau de contamination par un meilleur traitement des eaux brutes en amont, d'autres visent à surveiller la contamination des coquillages dans la zone suspecte, d'autres visent enfin la surveillance des coquillages qui ont pu être transférés sur d'autres secteurs. L'objectif commun à ces dispositifs est d'écarter des produits contaminés par le VHA.

Les dispositifs de surveillance reposent soit sur la détection d'une concentration anormale d'*E. coli*, soit sur la détection (par RT-PCR) du génome du virus de l'Hépatite A. Le résultat pris en considération est de nature quantitative pour *E. coli* et qualitative pour VHA. En effet, toute détection de VHA a été considérée dans le modèle comme anormale. Ainsi, dès que le niveau de contamination des coquillages dépasse un seuil d'alerte de 4 600 *E. coli* /100g de CLI (seuil réglementaire pour une zone B), la détection est supposée effective par le système de surveillance.

Au total, 14 combinaisons de système de surveillance – mesure de gestion ont été envisagées. Les systèmes de surveillance sont supposés fonctionner en routine. Le Tableau 26 détaille les caractéristiques de ces différentes combinaisons. Le cas d'un dysfonctionnement (par exemple rejet accidentel d'eaux usées) signalé et suivi de prélèvements spécifiques pour analyse n'a pas été spécifiquement envisagé.

La spécificité de chaque combinaison étudiée est résumée ci-dessous :

- « Rien » : absence de système de surveillance et de gestion d'une zone de production et de pêche à pied. Ce système servira de référence pour le calcul du risque relatif en comparaison des autres systèmes de surveillance ;
- « REMI » : système REMI pour le classement de zones, en particulier pour les zones classées B, majoritaires en France ;
- « C1 » : (C pour délai court) système proche de celui proposé par la Missa22, à savoir un contrôle virologique appliqué tous les mois sur la zone concernée. Le système pris en compte ne nécessite pas d'analyse de confirmation et une seule analyse négative suffit à lever l'interdiction de commercialisation ;
- « C2 » : idem à « C1 » mais deux analyses négatives à une semaine d'intervalle sont nécessaires pour lever l'interdiction de commercialisation ;
- « C3 » : idem à « C1 » mais trois analyses négatives à une semaine d'intervalle (entre chaque analyse) sont nécessaires pour lever l'interdiction de commercialisation ;
- « M1 » : (M pour délai moyen) idem à « C1 » mais une analyse de confirmation est requise pour l'interdiction de commercialisation ;
- « M2 » : idem à « M1 » mais deux analyses négatives à une semaine d'intervalle sont nécessaires pour lever l'interdiction de commercialisation ;
- « M3 » : idem à « M1 » mais trois analyses négatives à une semaine d'intervalle sont nécessaires pour lever l'interdiction de commercialisation ;
- « L1 » : (L pour délai long) idem à « M1 » mais les deux délais de gestion sont rallongés d'une semaine : (1) pour décider l'interdiction de commercialisation des coquillages et (2) pour la lever ;
- « L2 » : idem à « L1 » mais deux analyses négatives à une semaine d'intervalle sont nécessaires pour lever l'interdiction de commercialisation ;
- « L3 » : idem à « L1 » mais trois analyses négatives à une semaine d'intervalle sont nécessaires pour lever l'interdiction de commercialisation ;
- « C2t15 » : système identique à « C2 » mais avec une réduction du pas de temps de la surveillance virologique de routine à tous les 15 jours.
- « 2Log » : système qui est supposé permettre de réduire la contamination des coquillages de 2 log, par exemple par l'application d'un traitement efficace en amont de la contamination des coquillages, comme la mise en place d'un traitement de l'effluent contaminé concerné.
- « RE15 » : système qui comprend une réimmersion de 15 jours dans une eau indemne de VHA. Ce système peut aussi correspondre à un transfert pour réimmersion de 15 jours dans une eau sans VHA, sans gestion particulière de ces produits transférés.
- « ST » : système qui permet d'évaluer le risque lorsque les produits sont transférés mais font l'objet d'un suivi particulier. La détection dans le milieu entraîne une alerte et un prélèvement pour analyse sur les produits transférés, et si le résultat est positif, la gestion est identique au système C2. Par hypothèse, en l'absence d'alerte, la durée de réimmersion est de 15 jours avant commercialisation. Les coquillages concernés par le suivi de la réimmersion sont ceux qui sont déjà à taille marchande (à quinze jours près) en sortie de la zone contaminée.

Dans les simulations réalisées, tous les systèmes de surveillance ont été démarrés entre le 2 et le 31 janvier. Cette date, considérée comme inconnue, fait partie de l'incertitude prise en compte dans le modèle. La périodicité pour le suivi mensuel est fixée à l'avance à 30 jours, pour le suivi bimensuel à 15 jours.

Les éventuels jours d'interdiction de commercialisation et de fermeture de zone se traduisent dans le modèle par une non-consommation des coquillages contaminés, ce qui impacte sur le calcul du risque annuel.

Tableau 26 : Description des 14 systèmes de surveillance et de gestion de la contamination des coquillages par VHA, considérés dans cette étude.

| Code | Type d'analyse microbiologique | Périodicité surveillance | Analyse de confirmation après détection positive | Délai entre date prélèvement positif et prélèvement pour confirmation | Délai entre prélèvement confirmation et prélèvement suivant | Délai entre date requise positive (prélèvement confirmation) et interdiction commercialisation | Nombre de résultat(s) d'analyse hebdomadaire négatifs avant réouverture | Délai entre le dernier prélèvement avéré négatif et la réouverture |
|-------|--------------------------------|--------------------------|--|---|---|--|---|--|
| Rien | | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| REMI | <i>E. coli</i> | 30 | Oui | 2 jours | 5 | 1 | 2 | 2 |
| C1 | VHA | 30 | Non | -- | -- | 7 | 1 | 4 |
| C2 | VHA | 30 | Non | -- | -- | 7 | 2 | 4 |
| C3 | VHA | 30 | Non | -- | -- | 7 | 3 | 4 |
| M1 | VHA | 30 | Oui | 4 jours | 4 jours | 7 | 1 | 4 |
| M2 | VHA | 30 | Oui | 4 jours | 4 jours | 7 | 2 | 4 |
| M3 | VHA | 30 | Oui | 4 jours | 4 jours | 7 | 3 | 4 |
| L1 | VHA | 30 | Oui | 4 jours | 4 jours | 14 | 1 | 11 |
| L2 | VHA | 30 | Oui | 4 jours | 4 jours | 14 | 2 | 11 |
| L3 | VHA | 30 | Oui | 4 jours | 4 jours | 14 | 3 | 11 |
| C2t15 | VHA | 15 | Non | -- | -- | 7 | 2 | 4 |
| 2log | VHA | -- | -- | -- | - | -- | -- | -- |
| RE15 | VHA | 30 | -- | -- | - | -- | -- | -- |
| ST | VHA | 30 | Oui | 7 jours | 4 jours | 7 | 2 | 4 |

Résultats

Les résultats sont présentés graphiquement par les figures 30 et 31 pour les deux situations de contamination considérées. Chaque système de surveillance/gestion (tableau 26) est représenté par un point de coordonnées : durée moyenne de l'interdiction de commercialisation en abscisses et risque relatif moyen en ordonnées. Les intervalles de crédibilité à 95% obtenus pour ces deux critères sont donnés dans les tableaux associés (Tableaux 27 et 28).

- **Contamination accidentelle de courte durée (situation 1)**

Les résultats sont présentés dans la figure 30 et le tableau 27.

La surveillance microbiologique classique, telle que menée par le réseau REMI ne prévient pas, en moyenne, contre le risque d'infection à VHA (risque relatif (RR) =1). Ce résultat est logique puisque ce réseau n'a pas pour objectif de surveiller la contamination des coquillages par le VHA et qu'il est admis que *E. coli* n'est pas un bon indicateur de la contamination par le VHA.

Si l'on cherche à la fois à minimiser le risque relatif et le nombre de jours de fermeture, la meilleure stratégie est d'appliquer un traitement à la source de la contamination située en amont, obtenu ici dans l'exemple par un abattement de $2 \log_{10}$ des concentrations dans les rejets (2log, Tableau 27). Le RR est le plus faible et le coût en terme de jours de fermeture de zone est nul. Le suivi des produits transférés (ST) après une alerte dans le milieu montre une efficacité particulière. En effet si les réactions sont rapides, les produits contaminés peuvent être détectés avant leur mise sur le marché, ce qui a un fort impact sur la diminution du risque pour le consommateur, mais pas pour les produits de la zone d'origine.

Une fréquence de suivi tous les 15 jours (C2t15) s'avère plus efficace que le suivi mensuel.

La ré-immersion pendant 15 jours dans une zone dont l'eau est dépourvue de VHA a un effet strictement lié au T90 du VHA et cet effet reste limité (RE15, Tableau 27).

Les dispositifs de type « L » (L1, L2, et L3), nécessitant une analyse de confirmation en cas de premier prélèvement positif, pour prendre les mesures d'interdiction ont des effets sensiblement identiques, en terme de risque pour la population mais impactent négativement le nombre de jours de fermeture. Ils sont finalement moins efficaces que les scénarii C1, C2 et C3, plus courts et donc plus réactifs.

Si un scénario mensuel doit être retenu, le plus efficient est le C2 (2 analyses négatives à une semaine d'intervalle suffisent).

La situation de contamination accidentelle de courte durée considérée peut servir de référence pour des situations similaires. Par exemple pour une contamination liée à une très forte pluie ou tempête qui s'arrêterait spontanément, ou encore à une alerte bien identifiée et rapidement circonscrite et maîtrisée. Elle s'applique également à une contamination très localisée qui concernerait un petit secteur relativement homogène.

Cependant, cette modélisation néglige la variabilité de contamination des coquillages dans l'espace, qu'il faudrait étudier sur le terrain.

Figure 30: Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 1.

En abscisses sont les moyennes des durées de fermeture simulées, en ordonnées sont les moyennes des risques relatifs simulés.

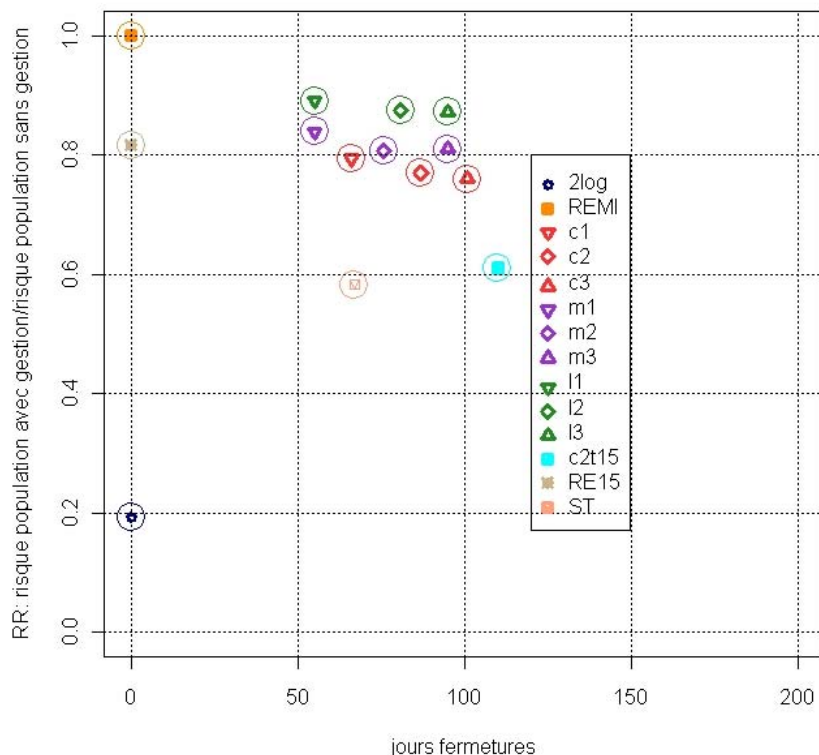


Tableau 27 : Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 1 (valeurs moyennes et intervalles de crédibilité).

| Système de surveillance | Moyenne du rapport des risques annuels Médiane et IC 95 | Moyenne du nombre de jours de fermeture Médiane et IC 95 |
|-------------------------|--|---|
| REMI | 1 [0.88-1.00] | 0 [0-12] |
| C1 | 0.79 [0.53-0.91] | 66 [43-101] |
| C2 | 0.77 [0.50-0.89] | 87 [59-115] |
| C3 | 0.76 [0.48-0.88] | 101 [73-129] |
| M1 | 0.84 [0.58-0.96] | 55 [25-95] |
| M2 | 0.81 [0.56-0.92] | 76 [39-109] |
| M3 | 0.81 [0.55-0.91] | 95 [60-123] |
| L1 | 0.89 [0.70-0.96] | 55 [25-95] |
| L2 | 0.87 [0.69-0.95] | 81 [39-109] |
| L3 | 0.87 [0.68-0.95] | 95 [60-123] |
| C2t15 | 0.61 [0.48-0.75] | 110 [90-117] |
| 2 log | 0.19 [0.11-0.39] | 0 [0-0] |
| RE15 | 0.82 [0.76-0.87] | - |
| ST | 0.58 [0.1-0.72] | 67 [37-102] |

- **Contamination durable (3 mois) et de niveau très variable (situation 2)**

Les résultats sont présentés dans la figure 31 et le tableau 28.

Comme pour la situation précédente, la surveillance microbiologique classique de type REMI ne prévient pas, en moyenne, contre le risque d'infection à VHA. De même, la meilleure protection du consommateur est un traitement efficace en amont (situation 2log). Le risque relatif y est le plus faible alors que le coût en terme de jours d'interdiction de commercialisation est nul.

Une fréquence de suivi par quinzaine s'avère plus efficace que le suivi mensuel mais occasionne un nombre très élevé de jours de fermeture de zone.

La ré-immersion pendant 15 jours dans une zone dont l'eau est dépourvue de VHA a un effet strictement lié au T90 du VHA et cet effet reste limité (RE15, tableau 28).

Le suivi des produits transférés après une alerte dans le milieu n'a pas été évalué ici du fait de la complexité de la modélisation. A priori son efficacité devrait être importante également dans cette situation.

Les systèmes de gestion les plus courts sont toujours les plus efficaces, et leur effet est très marqué ici. L'attente d'une confirmation positive, qui peut s'avérer négative, à un effet a priori défavorable sur la prévention du risque, c'est ce qui différencie C1, C2, C3 de M1, M2, M3. Dans ce scénario, attendre 3 analyses négatives est beaucoup plus important que dans le scénario de contamination précédent. Le risque relatif est divisé par 3.

Parmi les systèmes mensuels, le plus efficient est C3, 3 analyses négatives à une semaine d'intervalle, il se distingue nettement.

Cette situation théorique de contamination de longue durée et de niveau de contamination variable peut servir de référence à d'autres. Par exemple, elle peut représenter le cas d'un rejet non maîtrisé, caractérisé par de fortes variations temporelles (voire spatiales) de la contamination des coquillages. La source de contamination fécale serait permanente avec un rejet de VHA intermittent ou aboutissant à une forte variabilité de contamination des coquillages.

Pour compléter le modèle, il faudrait collecter des informations sur la variabilité du niveau de contamination des coquillages, car il influence directement la probabilité de détection du contaminant.

Les résultats soulignent, pour ce type de situation, toute l'importance de mettre en place les actions de gestion dans les meilleurs délais, ce qui inclut les délais de transfert de l'information en cas d'alerte.

Figure 31 : Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 2.

En abscisses sont les moyennes des durées de fermeture simulées, en ordonnées sont les moyennes des risques relatifs simulés (m1 et l1 sont superposés).

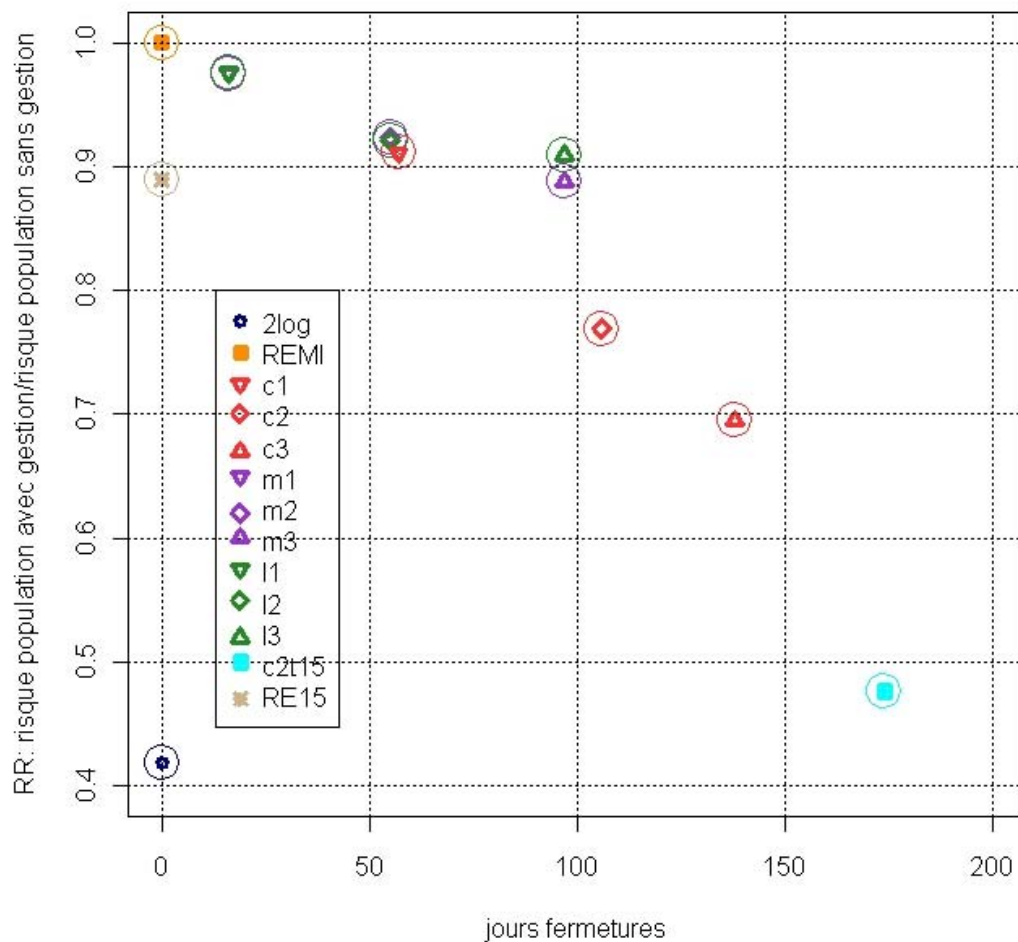


Tableau 28 : Comparaison des systèmes de surveillance/gestion dans le cas d'une situation de contamination de type 2 (valeurs moyennes et intervalles de crédibilité).

| Système de surveillance | Moyenne du rapport des risques annuels Médiane et IC 95 | Moyenne du nombre de jours de fermeture Médiane et IC 95 |
|-------------------------|--|---|
| REMI | 1 [0.978-1] | 0 [0-14] |
| C1 | 0.91 [0.72-0.99] | 57 [5-104] |
| C2 | 0.77 [0.328-0.985] | 106 [24-179] |
| C3 | 0.69 [0.3-0.98] | 138 [33-199] |
| M1 | 0.97 [0.84-1] | 16 [0-92] |
| M2 | 0.92 [0.59-1] | 55 [0-155] |
| M3 | 0.89 [0.51-1] | 97 [0-179] |
| L1 | 0.97 [0.82-1] | 16 [0-92] |
| L2 | 0.92 [0.69-1] | 55 [0-155] |
| L3 | 0.91 [0.60-1] | 97 [0-179] |
| C2t15 | 0.47 [0.32-0.89] | 174 [89-181] |
| 2log | 0.41 [0.31-0.55] | 0 [0-0] |
| RE15 | 0.89 [0.86-0.92] | - |

9 Références bibliographiques

- Abad FX, Pinto RM, Bosch A (1997) Disinfection of human enteric viruses on fomites. *FEMS Microbiol Lett* 156, 107-11.
- Abbaszadegan M, Hasan MN, Gerba CP, Roessler PF, Wilson BR, Kuennen R, Van Dellen E (1997) The disinfection efficacy of a point-of-use water treatment system against bacterial, viral and protozoan waterborne pathogens. *Water Research* 31, 574-582.
- Abd el-Galil KH, el-Sokkary MA, Kheira SM, Salazar AM, Yates MV, Chen W, Mulchandani A (2005) Real-time nucleic acid sequence-based amplification assay for detection of hepatitis A virus. *Appl Environ Microbiol* 71, 7113-6.
- Afssa (2007) 'Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale.'
- Afssa (2008) 'Evaluation du dispositif de surveillance microbiologique des zones de production conchylicole et du risque lié à la consommation des coquillages, notamment dans la situation du bassin d'Arcachon. 82p.
<http://www.afssa.fr/cgi-bin/countdocs.cgi?Documents/MIC2006sa0254bRa.pdf>.'
- Afssa (2009) 'Avis de l'Afssa du 23 juillet 2009, relatif à une demande d'évaluation concernant les modalités de surveillance à mettre en place dans des zones de conchyliculture et de pêche à pied, régulièrement ou accidentellement polluées par le virus de l'hépatite A avec application à la situation spécifiquement rencontrée dans la baie de Paimpol. <http://www.afssa.fr/cgi-bin/countdocs.cgi?Documents/MIC2009sa0044.pdf>.'
- Amouroux I (2009) 'Bilan national de la surveillance REMI 2008.' IFREMER.
- Apaire-Marchais V, Robertson BH, Aubineau-Ferre V, Le Roux MG, Leveque F, Schwartzbrod L, Billaudel S (1995) Direct sequencing of hepatitis A virus strains isolated during an epidemic in France. *Appl Environ Microbiol* 61, 3977-80.
- Armengaud A, Daurat G, Guyonnet JP, Bourdiol Razes M, Lasalle JL (1998) Epidémie d'hépatite virale A département de l'Hérault, Janvier-Avril 1998. In 'XV ème journées scientifiques Epiter'. Veyrier du Lac
- Arnal C, Ferre-Aubineau V, Besse B, Mignotte B, Schwartzbrod L, Billaudel S (1999) Comparison of seven RNA extraction method on stool and shellfish samples prior to hepatitis A virus amplification. *J. Virol. Meth.* 77, 17-26.
- Atmar RL, Neill FH, *et al.* (1996) Collaborative evaluation of a method for the detection of Norwalk virus in shellfish tissues by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 254-258.
- Auer MT, Neilhaus, S.L. (1993) Modeling fecal coliform Bacteria-I field and laboratory determination of lost kinetics. *Wat. Res.* 27, 693-701.
- Barcina I, Gonzalez JM, Iriberti I, Egea L (1991) Role of protozoa in the regulation of enteric bacteria populations in seawater. *Marine Microbiol. Food Webs* 5, 179-187.
- Bell BP, Shapiro CN, Alter MJ, Moyer LA, Judson FN, Mottram K, Fleenor M, Ryder PL, Margolis HS (1998) The diverse patterns of hepatitis A epidemiology in the United States-implications for vaccination strategies. *J Infect Dis* 178, 1579-84.

- Bell RG, Munro D, Powell P (1992) Modelling microbial concentrations from multiple outfalls using time varying inputs and decay rates. *Water Science and Technology* 9, 181-188.
- Bidawid S, Farber JM, Sattar SA, Hayward S (2000) Heat inactivation of hepatitis A virus in dairy foods. *J Food Prot* 63, 522-8.
- Bizagos E, Passagot J, Crance JM, Deloince R (1988) Long-term survival of hepatitis A virus and poliovirus type 1 in mineral water. *Appl Environ Microbiol* 54, 2705-10.
- Bosch A (1998) Human enteric viruses in the water environment: a minireview. *Int Microbiol* 1, 191-6.
- Bosch A, Gray M, Diez JM, Gajardo R, Abad FX, Pinto RM, Sobsey MD (1993) The survival of human enteric viruses in seawater. *MAP technical reports series* 76.
- Bosch A, Guix S, Sano D, Pinto RM (2008) New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. *Curr Opin Biotechnol* 19, 295-301.
- Bosch A, Sanchez G, Le Guyader F, Vanaclocha H, Haugarreau L, Pinto RM (2001) Human enteric viruses in Coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak. *Water Sci Technol* 43, 61-5.
- Boxman IL, Tilburg JJ, Te Loeke NA, Vennema H, Jonker K, de Boer E, Koopmans M (2006) Detection of noroviruses in shellfish in the Netherlands. *Int J Food Microbiol* 108, 391-6.
- Brion G, Lingeridddy Neelakantan TR, Wang M, Girones R, Lees D, Allard A, Vantarakis A (2004) Probing Norwalk-like virus presence in shellfish, using artificial neural networks. *Water Science and Technology* 50, 125-129.
- Brooks HA, Gersberg RM, Dhar AK (2005) Detection and quantification of hepatitis A virus in seawater via real-time RT-PCR. *J Virol Methods* 127, 109-18.
- Butt AA, Aldridge KE, Sanders CV (2004) Infections related to the ingestion of seafood Part I: Viral and bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 4, 201-12.
- Calci KR, Meade GK, Tezloff RC, Kingsley DH (2005) High-pressure inactivation of hepatitis A virus within oysters. *Appl Environ Microbiol* 71, 339-43.
- Callahan KM, Taylord, D.J., Sobsey, M.D. (1995) Comparative survival of hepatitis A virus, poliovirus, and indicator viruses in geographically diverse seawaters. *Water Science and Technology* 27, 701-714.
- Castor C (2005) 'Cas groupés d'hépatite A dans plusieurs communes des Landes, Juillet-octobre 2004. Rapport InVS
http://www.invs.sante.fr/publications/2005/hepatite_a_landes/hepatite_a_landes.pdf.'
- CEFAS (2007) Microbiological monitoring of bivalve mollusc harvesting areas : guide to good practice : Technical application. 67pp.
- Centers for Disease Control and Prevention (1992) Hepatitis A among homosexual men. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 41, 161-164.
- Chapalati Rao V, Lakhe SB, Waghmare SV, Raman V (1981) Virus removal in primary settling of raw sewage. *J.E.E.D.*, 56-67.

- Chironna M, Lopalco P, Prato R, Germinario C, Barbuti S, Quarto M (2004) Outbreak of infection with hepatitis A virus (HAV) associated with a foodhandler and confirmed by sequence analysis reveals a new HAV genotype IB variant. *J Clin Microbiol* 42, 2825-8.
- Christenson B, Brostrom C, Bottiger M, Hermanson J, Weiland O, Ryd G, Berg JV, Sjoblom R (1982) An epidemic outbreak of hepatitis A among homosexual men in Stockholm. Hepatitis A, a special hazard for the male homosexual subpopulation in Sweden. *Am J Epidemiol* 116, 599-607.
- Chung H, Sobsey MD (1993) Comparative survival of indicator viruses and enteric viruses in seawater and sediment. *Wat. Sci. Tech.* 27, 425-428.
- Conaty S, Bird P, Bell G, Kraa E, Grohmann G, McAnulty JM (2000) Hepatitis A in New South Wales, Australia from consumption of oysters: the first reported outbreak. *Epidemiol Infect* 124, 121-30.
- Cooksley WG (2000) What did we learn from the Shanghai hepatitis A epidemic? *J Viral Hepat* 7 Suppl 1, 1-3.
- Costafreda MI, Bosch A, Pinto RM (2006) Development, evaluation, and standardization of a real-time TaqMan reverse transcription-PCR assay for quantification of hepatitis A virus in clinical and shellfish samples. *Appl Environ Microbiol* 72, 3846-55.
- Costa-Mattioli M, Cristina J, et al. (2002) Molecular evolution of hepatitis A virus: a new classification based on the complete VP1 protein. *J Virol* 76, 9516-25.
- Costa-Mattioli M, Monpoeho S, Nicand E, Aleman MH, Billaudel S, Ferre V (2002) Quantification and duration of viraemia during hepatitis A infection as determined by real-time RT-PCR. *J Viral Hepat* 9, 101-6.
- Costa-Mattioli M, Monpoeho S, Schvoerer C, Besse B, Aleman MH, Billaudel S, Cristina J, Ferre V (2001) Genetic analysis of hepatitis A virus outbreak in France confirms the co-circulation of subgenotypes Ia, Ib and reveals a new genetic lineage. *J Med Virol* 65, 233-40.
- Cranze JM, Apaire-Marchais V, Leveque F, Beril C, Le Guyader F, Jouan A, Shwartzbrod L, Billaudel S (1995) Detection of Hepatitis A virus in wild shellfish. *Marine Pol. Bull.* 30, 372-375.
- Croci L, Ciccozzi M, De Medici D, Di Pasquale S, Fiore A, Mele A, Toti L (1999) Inactivation of hepatitis A virus in heat-treated mussels. *J Appl Microbiol* 87, 884-8.
- Crowther J, Kay D, Wyer MD (2002) Faecal-indicator concentrations in waters draining lowland pastoral catchments in the UK : relationships with land use and farming practices. *Water Research* 36, 1725-1734.
- Crowther J, Wyer MD, Bradford M, Kay D, Francis CA (2003) Modelling faecal indicator concentrations in large rural catchments using land use and topographic data. *J Appl Microbiol* 94, 962-73.
- Cullen AC, Frey HC (1999) 'Probabilistic techniques in exposure assessment.' (Plenum Press: New York)
- Cuthbert JA (2001) Hepatitis A: old and new. *Clin Microbiol Rev* 14, 38-58.
- Da Silva AK, Le Saux J-C, Parnaudeau S, Pommepuy M, Elimelech M, Le Guyader FS (2007) Removal of norovirus in wastewater treatment using real-time RT-PCR: different behavior of genogroup I and genogroup II. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 7891-7897.

Delarocque-Astagneau E, Hemery C, Duchen C (1998) Epidémie d'hépatite virale A Midi-Pyrénées-1997. In 'Rapport d'investigation RNSP'. pp. 25p.

Delarocque-Astagneau E, Valenciano M, Dariosecq JM, Rousselle C, Bouvet E, Laporte A (2001) Une épidémie d'hépatite A chez des homosexuels masculins à Paris en 2000. *BEH* 44.

Derolez V (2003) 'Méthode de caractérisation de la fragilité microbiologique des zones conchylicoles - Application à plusieurs bassins français. Rapport d'ingénieur.' Ifremer.

Dowell SF, Graves C, *et al.* (1995) A multistate outbreak of oyster associated gastroenteritis : implications for interstate tracing of contaminated shellfish. *J. Inf. Dis.* 171, 1497-1503.

Drewdy W, Eliassen R (1968) Virus movement in groundwater. *JWPCF-suppl.*, 257-271.

Dyer KH (1986) 'Coastal and Estuarine Sediment Dynamics.' (J. Wiley & sons, Ltd.: Chichester, UK)

Elliott MA, Stauber CE, Koksal F, DiGiano FA, Sobsey MD (2008) Reductions of *E. coli*, echovirus type 12 and bacteriophages in an intermittently operated household-scale slow sand filter. *Water Res* 42, 2662-70.

Ferguson CM, Coote BG, Ashbolt NJ, Stevenson IM (1996) Relationship between indicators, pathogens and water quality in an estuarine system. *Wat. Res.* 30, 2045-2054.

Fujiyama S, Akahoshi M, Sagara K, Sato T, Tsurusaki R (1985) An epidemic of hepatitis A related to ingestion of raw oysters. *Gastroenterol Jpn* 20, 6-13.

Gallimore CI, Cheesbrough JS, Lamden K, Bingham C, Gray JJ (2005) Multiple norovirus genotypes characterised from an oyster-associated outbreak of gastroenteritis. *Int J Food Microbiol* 103, 323-30.

Gameson ALH (1986) 'Investigations of Sewage Discharges to Some British Coastal Waters. Chapter 8. Bacterial Mortality, Part 3. Report No:TR239.' Water Research Centre, Medmenham.

Garin D, Bizragos E, Crance JM, Gantzer C, Levêque F, Delance R, Schartzbrod L (1996) 'Survival of infections hepatitis A virus in mineral water and sea water in Enterically - transmitted hepatitis virus.' (La Simarre, Joué les Tours)

Geldreich EE (1975) Microbiological criteria concepts for coastal bathing waters. *Ocean Management* 2, 225-248.

Gerba CP (2000) Assessment of enteric pathogen shedding by bathers during recreational activity and its impact on water quality. *Quantitative Microbiology* 2, 55-68.

Gerba CP, Janauer GE, Costello M (1984) Removal of poliovirus and rotavirus from tapwater by a quaternary ammonium resin. *Wat. Res.* 18, 17-19.

Gill ON, Cubitt WD, Macswiggan DA, Watney BM, Bartlett CLR (1993) Epidemic of gastroenteritis caused by oysters contaminated with small round structured viruses. *Br Med J* 287, 1532-4.

Goodman RA (1985) Nosocomial hepatitis A. *Ann Intern Med* 103, 452-4.

Graff J, Ticehurst J, Flehmig B (1993) Detection of hepatitis A virus in sewage sludge by antigen capture polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* 59, 3165-70.

Grange KR (1999) Marine farming: Environmental monitoring and coastal management. In 'Coast & Ports: challenges and directions for the new century. Proceeding of the 14th Australian meeting'

Green KM, Olliver D (1974) Removal of virus from septic tank effluent, Home sewage disposal. *Pro. Am. Soc. Ag. Eng.* 175, 12-1974.

Grohmann GS, Greenberg HB, Welch BM, Murphy AM (1980) Oyster-associated gastroenteritis in Australia: the detection of Norwalk virus and its antibody by immune electron microscopy and radioimmunoassay. *J Med Virol* 6, 11-9.

Guillois-Becel Y, Briand A, Le Saux JC, Roque-Afonso AM, Le Guyader S (2008) 'Epidémie d'hépatite A dans le département des Côtes-d'Armor.' Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice.

Guillois-Becel Y, Couturier E, et al. (2009) An oyster-associated hepatitis A outbreak in France in 2007. *Euro Surveill* 14.

Halliday ML, Kang LY, Zhou TK, Hu MD, Pan QC, Fu TY, Huang YS, Hu SL (1991) An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J Infect Dis* 164, 852-9.

Haramoto E, Katayama H, Oguma K, Koibuchi Y, Furumai H, Ohgaki S (2006) Effect of rainfall on the occurrence of human adenovirus, total coliforms, and *Escherichia coli* in seawater. *Water Science and Technology* 54, 225-230.

Haramoto E, Katayama H, Utagawa E, Ohgaki S (2008) Development of sample storage methods for detecting enteric viruses in environmental water. *J Virol Methods* 151, 1-6.

Hausel MJ, Machmeier R (1973) On site wastewater treatment on problem soils. *JWPCF* 52, 548-552.

Herbold K, Flehmig B, Botzenhart K (1989) Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms. *Appl Environ Microbiol* 55, 2949-53.

Hewitt J, Greening GE (2004) Survival and persistence of norovirus, hepatitis A virus, and feline calicivirus in marinated mussels. *J Food Prot* 67, 1743-50.

Hollinger FB, Emerson SU (2001) 'Hepatitis A virus.' (Fields Virology, 4th edition)

Hollinger FB, Ticehurst JR (1996) Hepatitis A Virus. In 'Fields Virology'. (Eds BN Fields, DM Knipe and PM Howley). (Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers)

Hubert B, Bourderieux C, Dubois M, Marquis M (1999) Épidémie d'hépatite A liée à la fréquentation d'une pataugeoire. *BEH* 4.

Hurst CJ (1988) Influence of aerobic microorganisms upon virus survival in soil. *Can J Microbiol* 34, 696-9.

Johnston FS, Enriques, C., Pepper, P., Davis, T.L., Gerba, C., Rose, J.. (1996) Survival of Giardia, Cryptosporidium, poliovirus and Salmonella in marine water. *Water Science and Technology* 35.

Jothikumar N, Cromeans TL, Sobsey MD, Robertson BH (2005) Development and evaluation of a broadly reactive TaqMan assay for rapid detection of hepatitis A virus. *Appl Environ Microbiol* 71, 3359-63.

Kageyama T, Shinohara M, et al. (2004) Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J Clin Microbiol* 42, 2988-95.

- Kashefipour SM, Lin B, Harris E, Falconer RA (2002) Hydro-environmental modelling for bathing water compliance of an estuarine basin. *Water Research* 36, 1854-1868.
- Katayama H, Haramoto E, Oguma K, Yamashita H, Tajima A, Nakajima H, Ohgaki S (2008) One-year monthly quantitative survey of noroviruses, enteroviruses, and adenoviruses in wastewater collected from six plants in Japan. *Water Res* 42, 1441-8.
- Kingsley D.H. RGP (2003) Persistence of hepatitis A virus in oysters. *J. Food Prot.* 66, 331-334.
- Laverick MA, Wyn-Jones AP, Carter MJ (2004) Quantitative RT-PCR for the enumeration of noroviruses (Norwalk-like viruses) in water and sewage. *Lett Appl Microbiol* 39, 127-36.
- Lazarova V, Janex ML, Fiksdal L, Oberg C, Barcina I, Pommeuy M (1998) Advanced wastewater technologies: short and long term efficiency. *Water Science and Technology* 38, 109-117.
- Le Guyader F, Dubois E, Menard D, Pommeuy M (1994) Detection of Hepatitis A virus, rotavirus, and enterovirus in naturally contaminated shellfish and sediment by reverse transcription-semi-nested PCR. *Applied Environmental Microbiology* 60, 3665-3671.
- Le Guyader F, Haugarreau L, Miossec L, Dubois E, Pommeuy M (2000) Three-year study to assess human enteric viruses in shellfish. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 3241-3248.
- Le Guyader F, Menard D, Pommeuy M, Kopeka H (1995) Use of RT-PCR to assess viral contamination in Caribbean Rivers (Martinique). *Wat. Sc. Tech.* 31, 391-394.
- Le Guyader F, Pommeuy M (2009) Monitoring viral contamination in shellfish growing areas. In 'New technology in Aquaculture'. (Ed. GBG Allan) pp. 543-579. (Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK)
- Le Guyader FS, Atmar RL (2007) Virus in shellfish. In 'Human virus in water. Perspectives in Medical virology'. (Ed. A Bosch) pp. 205-226. (Elsevier: Amsterdam, The Netherlands)
- Le Guyader FS, Atmar RL (2008) A scientific review of binding and inactivation of viruses on and in food, with a focus on the role of the matrix. In 'Food-borne viruses: progress and challenges'. (Ed. DC M. Koopmans, A. Bosch). (ASM Press: Washington DC)
- Le Guyader FS, Krol J, et al. (2010) Comprehensive analysis of a norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol* 48, 915-20.
- Le Guyader FS, Le Saux JC, et al. (2008) Aichi virus, norovirus, astrovirus, enterovirus, and rotavirus involved in clinical cases from a French oyster-related gastroenteritis outbreak. *J Clin Microbiol* 46, 4011-7.
- Le Guyader FS, Loisy F, Atmar RL, Hutson AM, Estes MK, Ruvoen-Clouet N, Pommeuy M, Le Pendu J (2006) Norwalk virus specific binding to oyster digestive tissues. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 931-936.
- Le Guyader FS, Neill FH, Dubois E, Bon F, Loisy F, Kohli E, Pommeuy M, Atmar RL (2003) A semi-quantitative approach to estimate Norwalk-like virus contamination of oysters implicated in an outbreak. *Int J Food Microbiol* 87, 107-12.
- Le Guyader FS, Parnaudeau S, Schaeffer J, Bosch A, Loisy F, Pommeuy M, Atmar RL (2009) Detection and quantification of noroviruses in shellfish. *Appl Environ Microbiol* 75, 618-24.

- Le Saux JC, Mouillard G, Ollivier J, Parnaudeau S, Pommepuy P, Le Guyader S (2010) 'Contamination des coquillages par le virus de l'hépatite A en baie de Paimpol : identification des voies de transferts', Rapport Ifremer.
- Le Saux J-C, Derolez V, Brest G, Le Guyader FS, Pommepuy M (2006) Elaboration of a strategy to limit shellfish viral contamination. In 'Molluscan Shellfish Safety'. (Ed. Marine_Institute) pp. 342-349)
- Leblanc J, Sirot V, Volatier JL, Bemrah N (2006) 'CALIPSO.' AFSSA-INRA, Paris.
- Lee RJ, Younger AD (2002) Developing microbiological risk assessment for shellfish purification. *International Biodeterioration and Biodegradation* 50, 177-183.
- Leentvaar-Kuijpers A, Kool JL, Veugelers PJ, Coutinho RA, van Griensven GJ (1995) An outbreak of hepatitis A among homosexual men in Amsterdam, 1991-1993. *Int J Epidemiol* 24, 218-22.
- Lees D (2000) Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol* 59, 81-116.
- Li JW, Xin ZT, Wang XW, Zheng JL, Chao FH (2002) Mechanisms of inactivation of hepatitis a virus by chlorine. *Appl Environ Microbiol* 68, 4951-5.
- Lipson SM, Stotzky G (1985) Effect of bacteria on the inactivation and adsorption on clay minerals of reovirus. *Can J Microbiol* 31, 730-5.
- Lodder WJ, de Roda Husman AM (2005) Presence of noroviruses and other enteric viruses in sewage and surface waters in The Netherlands. *Appl Environ Microbiol* 71, 1453-61.
- Loisy F, Atmar RL, Le Saux JC, Cohen J, Caprais MP, Pommepuy M, Le Guyader FS (2005) Use of rotavirus virus-like particles as surrogates to evaluate virus persistence in shellfish. *Appl Environ Microbiol* 71, 6049-53.
- Loisy F, Atmar, R.L., Le Saux, J.C., Cohen, J., Caprais, M.P., Pommepuy, M., Le Guyader, F.S. (2005) Rotavirus virus like particles as surrogates to evaluate virus persistence in shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 71.
- Lopalco L, Malfait P, Salmaso S, Germinario C, Quarto M, Barbuti S, et l'équipe de terrain (Cipriani R MA, Pesole G) (1997) Une épidémie d'hépatite A persistante en Italie dans les Pouilles, 1996 : suivi épidémiologique. *Euro Surveill* 2, 31-32.
- Mackowiak PA, Caraway CT, Portnoy BL (1976) Oyster-associated hepatitis: lessons from the Louisiana experience. *Am J Epidemiol* 103, 181-91.
- Malfait P, Lopalco PL, et al. (1996) An outbreak of hepatitis A in Puglia, Italy, 1996. *Euro Surveill* 1, 33-35.
- Mallin MA, Ensign SH, Mciver MR, Shank GC, Fowler PK (2001) Demographic, landscape, and meteorological factors controlling the microbial pollution of coastal waters. *Hydrobiologia* 406, 185-193.
- Martinez-Urtaza J, Saco M, de Novoa J, Perez-Pineiro P, Peiteado J, Lozano-Leon A, Garcia-Martin O (2004) Influence of environmental factors and human activity on the presence of Salmonella serovars in a marine environment. *Appl Environ Microbiol* 70, 2089-97.
- Mbithi JN, Springthorpe VS, Boulet JR, Sattar SA (1992) Survival of hepatitis A virus on human hands and its transfer on contact with animate and inanimate surfaces. *J Clin Microbiol* 30, 757-63.

- Mbithi JN, Springthorpe VS, Sattar SA (1990) Chemical disinfection of hepatitis A virus on environmental surfaces. *Appl Environ Microbiol* 56, 3601-4.
- McPherson BF, Miller RL (1987) The vertical attenuation of light in Charlotte Harbor, a shallow, subtropical, estuary, South-Western Florida. *Estuarine, Coastal and Shellfish Sciences* 25, 721-737.
- Melnick J.L. (1984) Etiologic agents and their potential for causing waterborne virus diseases. *Monogr. Virol.* 15, 1-16.
- Metcalfe TG, Melnick JL, Estes MK (1995) Environmental virology: from detection of virus in sewage and water by isolation to identification by molecular biology--a trip of over 50 years. *Annu Rev Microbiol* 49, 461-87.
- Metcalfe TG, Mullin B., Eckerson D, Moulton E, Larkin EP (1979) Bioaccumulation and depuration of enteroviruses by the soft-shelled clam, *Mya arenaria*. *Applied and Environmental Microbiology* 38, 275-282.
- Millard J, Appleton H, Parry JV (1987) Studies on heat inactivation of hepatitis A virus with special reference to shellfish. Part 1. Procedures for infection and recovery of virus from laboratory-maintained cockles. *Epidemiol Infect* 98, 397-414.
- Miossec L, Le Guyader FS, Haugarreau L, Comps MA, Pommepuy M (1998) Possible relationship between a winter epidemic of acute gastroenteritis in France and viral contamination of shellfish. *Journal Shellfish Research* 17, 1661-1664.
- Murphy P, Nowak T, Lemon SM, Hilfenhaus J (1993) Inactivation of hepatitis A virus by heat treatment in aqueous solution. *J Med Virol* 41, 61-4.
- Myrmel M, Berg EM, Grinde B, Rimstad E (2006) Enteric viruses in inlet and outlet samples from sewage treatment plants. *J Water Health* 4, 197-209.
- Nicosia LA, Rose JB, Stark L, Stewart MT (2001) A field study of virus removal in septic tank drain-fields. *J Environ Qual* 30, 1933-9.
- Noble RT, Lee IM, Schiff KC (2001) Enterovirus detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction from coastal waters of Santa Monica Bay, California : low correlation to bacterial indicator levels. *Hydrobiologia* 460, 175-184.
- Noble RT, Weisberg SB, Leecaster MK, McGee CD, Dorsey JH, Vainik P, Orozco Borbon V (2003) Storm effects on regional beach water quality along the southern California shoreline. *Journal Water and Health* 11, 23-31.
- Nuanualsuwan S, Mariam T, Himathongkham S, Cliver DO (2002) Ultraviolet inactivation of feline calicivirus, human enteric viruses and coliphages. *Photochem Photobiol* 76, 406-10.
- Nuiaouet C, Ponge A, Chambaud L, Raimondeau J (1993) La surveillance et l'investigation: à propos de 2 épidémies d'hépatite virale dans les départements littoraux. *BEH* 29, 129-130.
- O'Keefe B, D'arcy BJ, Davidson J, Barbarito B, Clelland B (2005) Urban diffuse sources of faecal indicators. *Water Science and Technology* 51, 183-190.
- Otsu R (1999) outbreaks of shellfish-associated enteric virus illness in the United States: requisite for development of viral guidelines. *Europ. J. Epidemiol.* 15, 175-180.

Ottoson J, Hansen A, Bjorlenius B, Norder H, Stenstrom TA (2006) Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plant. *Water Res* 40, 1449-57.

Parry JV, Mortimer PP (1984) The heat sensitivity of hepatitis A virus determined by a simple tissue culture method. *J Med Virol* 14, 277-83.

Payment P, Fortin S, Trudel M (1986) Elimination of human enteric viruses during conventional waste water treatment by activated sludge. *Can J Microbiol* 32, 922-5.

Peterson DA, Hurley TR, Hoff JC, Wolfe LG (1983) Effect of chlorine treatment on infectivity of hepatitis A virus. *Appl Environ Microbiol* 45, 223-7.

Peterson DA, Wolfe LG, Larkin EP, Deinhardt FW (1978) Thermal treatment and infectivity of hepatitis A virus in human feces. *J Med Virol* 2, 201-6.

Phanuwan C, Takizawa S, Oguma K, Katayama H, Yunika A, Ohgaki S (2006) Monitoring of human enteric viruses and coliform bacteria in waters after urban flood in Jakarta, Indonesia. *Water Sci Technol* 54, 203-10.

Pinto RM, Costafreda MI, Bosch A (2009) Risk assessment in shellfish-borne outbreaks of hepatitis A. *Appl Environ Microbiol* 75, 7350-5.

Pinto RM, Saiz, J-C. (2007) Enteric Hepatitis Viruses. In 'Human viruses in Water'. (Ed. A.Bosch) pp. 39-67. (Elsevier B.V.: Amsterdam)

Plusquellec A, Beucher M, Le Lay C, Gueguen D, Le Gal Y (1994) Uptake and retention of Salmonella by bivalve shellfish. *J. Shellfish Res.* 13, 221-227.

Polish LB, Robertson BH, Khanna B, Krawczynski K, Spelbring J, Olson F, Shapiro CN (1999) Excretion of hepatitis A virus (HAV) in adults: comparison of immunologic and molecular detection methods and relationship between HAV positivity and infectivity in tamarins. *J Clin Microbiol* 37, 3615-7.

Pommepuy M (2007) 'Reduction of risk in shellfish harvesting areas (Redrisk), Final report april 2007. Seafoodplus N° Food-CT-2004-506359-Pilar3.'

Pommepuy M, Dumas F, et al. (2004) Sewage impact on shellfish microbial contamination. *Water Sci Technol* 50, 117-24.

Pommepuy M, Hervio-Heath D, Caprais MP, Gourmelon M, Le Saux JC, Le Guyader F (2006) Fecal contamination in coastal areas : An engineering approach. In 'Oceans and Health : Pathogens in the Marine Environment'. (Ed. SBarR Colwell) pp. 331-359. (New York, NY : Springer Science + Business Media)

Pouillot R, Miconnet N, Afchain AL, Delignette-Muller ML, Beaufort A, Rosso L, Denis JB, Cornu M (2007) Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in French cold-smoked salmon: I. Quantitative exposure assessment. *Risk Anal* 27, 683-700.

Powelson D, Gerba C (1994) Virus removal from sewage effluents during saturated and unsaturated flow through soil columns. *Water Res* 28, 175-181.

Provost PJ, Wolanski BS, Miller WJ, Ittensohn OL, McAlcer WJ, Hilleman MR (1975) Physical, chemical and morphologic dimensions of human hepatitis A virus strain CR326. *Proc Soc Exp Biol Med* 148, 532-539.

- Pusch D, Ihle S, Lebuhn M, Graeber I, Lopez-Pila JM (2005) Quantitative detection of enteroviruses in activated sludge by cell culture and real-time RT-PCR using paramagnetic capturing. *J Water Health* 3, 313-24.
- Quanrud D, Arnold R, Wilson L, Gordon H, Graham D, Amy G (1996) Fate of organics during column studies of soil aquifer treatment. *J E E D* 133, 314-321.
- Rao VC, Metcalf TG, Melnick JL (1986) Development of a method for concentration of rotavirus and its application to recovery of rotaviruses from estuarine waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 484-488.
- Richards GP (1985) Microbial purification of shellfish: a review of depuration and relaying. *J. Food Protection* 51, 218-251.
- Riou P, Le Saux JC, Dumas F, Caprais MP, Le Guyader SF, Pommepuy M (2007) Microbial impact of small tributaries on water and shellfish quality in shallow coastal areas. *Water Res* 41, 2774-86.
- Robertson BH, Averhoff F, et al. (2000) Genetic relatedness of hepatitis A virus isolates during a community-wide outbreak. *J Med Virol* 62, 144-50.
- Romalde JL, Estes MK, Szucs G, Atmar RL, Woodley CM, Metcalf TG (1994) In situ detection of hepatitis A virus in cell cultures and shellfish tissues. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 1921-1926.
- Rose JB, Sobsey M (1993) Quantitative Risk assessment for viral contamination of shellfish and coastal waters. *Journal of Food Protection* 56, 1043-1050.
- Rosenblum LS, Villarino ME, Nainan OV, Melish ME, Hadler SC, Pinsky PP, Jarvis WR, Ott CE, Margolis HS (1991) Hepatitis A outbreak in a neonatal intensive care unit: risk factors for transmission and evidence of prolonged viral excretion among preterm infants. *J Infect Dis* 164, 476-82.
- Rozen Y, Belkin S (2001) Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS Microbial Review* 25, 513-529.
- Salomon JC, Pommepuy M (1990) Mathematical model of bacterial contamination of the Morlaix estuary (France). *Wat. Res.* 24, 983-994.
- Sanchez G, Bosch A, Pinto RM (2007) Hepatitis A virus detection in food: current and future prospects. *Lett Appl Microbiol* 45, 1-5.
- Sanchez G, Pinto RM, Vanaclocha H, Bosch A (2002) Molecular characterization of hepatitis a virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak. *J Clin Microbiol* 40, 4148-55.
- Sanchez G, Populaire S, Butot S, Putallaz T, Joosten H (2006) Detection and differentiation of human hepatitis A strains by commercial quantitative real-time RT-PCR tests. *J Virol Methods* 132, 160-5.
- Sano D, Ueki Y, Watanabe T, Omura T (2006) Membrane separation of indigenous noroviruses from sewage sludge and treated wastewater. *Water Sci Technol* 54, 77-82.
- Schiff GM, Stefanovic GM, Young EC, Sander DS, Pennekamp JK, Ward RL (1984) Studies of echovirus-12 in volunteers: determination of minimal infectious dose and the effect of previous infection on infectious dose. *J Infect Dis* 150, 858-66.

- Schiff KC, Morton J, Weisberg SB (2003) Retrospective evaluation of shore line water quality along Santa Monica bays beaches. *Marine Envir. Res.* 56, 225-243.
- Scholz E, Heinrich U, Flehmig B (1989) Acid stability of hepatitis A virus. *J Gen Virol* 70 (Pt 9), 2481-5.
- Schwab KJ, Neill FH, Estes MK, Metcalf TG, Atmar RL (1998) Distribution of Norwalk virus within shellfish following bioaccumulation and subsequent depuration by detection using RT-PCR. *Journal of Food Protection* 61, 1674-1680.
- Schwarz NG, Revillion M, Roque-Afonso AM, Dussaix E, Giraud M, Liberpre C, Couturier E, Delarocque Astagneau E (2008) A food-borne outbreak of hepatitis A virus (HAV) infection in a secondary school in Upper Normandy, France, in November 2006. *Euro Surveill* 13, 1-5.
- Shuval H (2003) Estimating the global burden of thalassogenic diseases: human infectious diseases caused by wastewater pollution of the marine environment. *J Water Health* 1, 53-64.
- Silberstein E, Xing L, van de Beek W, Lu J, Cheng H, Kaplan GG (2003) Alteration of hepatitis A virus (HAV) particles by a soluble form of HAV cellular receptor 1 containing the immunoglobulin-and mucin-like regions. *J Virol* 77, 8765-74.
- Sinton LW, Davies-Colley, R.J., Bell, R.G. (1994) Inactivation of enterococci and fecal coliforms from sewage and meatworks effluents in seawater chambers. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2040-2048.
- Smith PF, Grabau JC, Werzberger A, Gunn RA, Rolka HR, Kondracki SF, Gallo RJ, Morse DL (1997) The role of young children in a community-wide outbreak of hepatitis A. *Epidemiol Infect* 118, 243-52.
- Sobsey MD, Perdue R, Overton M, Fisher J (2003) Factors influencing fecal contamination in coastal marinas. *Water Science and Technology* 47, 194-204.
- Spada E, Genovese D, et al. (2005) An outbreak of hepatitis A virus infection with a high case-fatality rate among injecting drug users. *J Hepatol* 43, 958-64.
- Staes CJ, Schlenker TL, Risk I, Cannon KG, Harris H, Pavia AT, Shapiro CN, Bell BP (2000) Sources of infection among persons with acute hepatitis A and no identified risk factors during a sustained community-wide outbreak. *Pediatrics* 106, E54.
- Stokes ML, Ferson MJ, Young LC (1997) Outbreak of hepatitis A among homosexual men in Sydney. *Am J Public Health* 87, 2039-41.
- Sundkvist T, Aitken C, Duckworth G, Jeffries D (1997) Outbreak of acute hepatitis A among homosexual men in East London. *Scand J Infect Dis* 29, 211-2.
- Sundkvist T, Hamilton GR, Hourihan BM, Hart IJ (2000) Outbreak of hepatitis A spread by contaminated drinking glasses in a public house. *Commun Dis Public Health* 3, 60-2.
- Tan M, Jiang, X. (2007) Norovirus-host interaction: implications for disease control and prevention. *Expert Rev; Mol. Med.* 9, 1-22.
- Tang YW, Wang JX, Xu ZY, Guo YF, Qian WH, Xu JX (1991) A serologically confirmed, case-control study, of a large outbreak of hepatitis A in China, associated with consumption of clams. *Epidemiol Infect* 107, 651-7.

- Tjon GM, Coutinho RA, et al. (2006) High and persistent excretion of hepatitis A virus in immunocompetent patients. *J Med Virol* 78, 1398-405.
- Troussellier M, Bonnefont, J.L., Courties, C., Derrien, A., Dupray, E., Gauthier, M., Gourmelon, M., Joux, F., Lebaron, P., Martin, Y, Pommepuy, M. (1998) Responses of enteric bacteria to environmental stresses in seawater. *Oceanologica Acta* 21, 965-981.
- Tsai YL, Tran B, Palmer CJ (1995) Analysis of viral RNA persistence in seawater by reverse transcriptase-PCR. *Appl. Environ. Microb.* 61, 363-366.
- Ueki Y, Sano D, Watanabe T, Akiyama K, Omura T (2005) Norovirus pathway in water environment estimated by genetic analysis of strains from patients of gastroenteritis, sewage, treated wastewater, river water and oysters. *Water Res* 39, 4271-80.
- US EPA (2003) 'Ultraviolet disinfection guidance manual - Draft 815-D03-007.'
- Van Cuyk S, Siegrist RL (2007) Virus removal within a soil infiltration zone as affected by effluent composition, application rate, and soil type. *Water Res* 41, 699-709.
- Van Cuyk S, Siegrist RL, Lowe K, Harvey RW (2004) Evaluating microbial purification during soil treatment of wastewater with multicomponent tracer and surrogate tests. *J Environ Qual* 33, 316-29.
- Van den Berg H, Lodder W, van der Poel W, Vennema H, de Roda Husman AM (2005) Genetic diversity of noroviruses in raw and treated sewage water. *Res Microbiol* 156, 532-40.
- Villar LM, de Paula VS, Diniz-Mendes L, Lampe E, Gaspar AM (2006) Evaluation of methods used to concentrate and detect hepatitis A virus in water samples. *J Virol Methods* 137, 169-76.
- Vinten AJA, Lewis DR, McGechan M, Duncan A, Aitken M, Hill C, Crawford C (2004) Predicting the effect of livestock inputs of E. coli on microbiological compliance of bathing waters. *Water Research* 38, 3215-3224.
- Volatier JL (Ed.) (2000) 'Enquête INCA individuelle et nationale sur les consommations alimentaires.' Tec and Doc (Paris)
- Wait D.A., M.D. S (2001) Comparative survival of enteric viruses and bacteria in Atlantic Ocean seawater. *Wat. Sci. Tech.* 43, 139-142.
- Westrell T, Teunis P, van den Berg H, Lodder W, Ketelaars H, Stenstrom TA, de Roda Husman AM (2006) Short- and long-term variations of norovirus concentrations in the Meuse river during a 2-year study period. *Water Res* 40, 2613-20.
- Wheeler C, Vogt TM, et al. (2005) An outbreak of hepatitis A associated with green onions. *N Engl J Med* 353, 890-7.
- WHO (2010) 'Safe Management of shellfish and harvest waters.' IWA Publishing, 9781843392255, London, UK.
- Williams FP, Fout GS (1992) Contamination of shellfish by stool-shed viruses: methods of detection. *Environ. Sci. Technol.* 26, 689-696.
- Wyn-Jones P (2007) The detection of waterborne viruses. In 'Human viruses in Water', Persp. Med. Virol. (Ed. A Bosch) pp. 177-204. (Elsevier)

Xu ZY, Li ZH, Wang JX, Xiao ZP, Dong DX (1992) Ecology and prevention of a shellfish-associated hepatitis A epidemic in Shanghai, China. *Vaccine* 10 Suppl 1, S67-8.

Yotsuyanagi H, Koike K, Yasuda K, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Kurokawa K, Iino S (1996) Prolonged fecal excretion of hepatitis A virus in adult patients with hepatitis A as determined by polymerase chain reaction. *Hepatology* 24, 10-3.



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr