
PREVALENCE DES NOROVIRUS DANS LES HUITRES MISES SUR LE MARCHE DANS LE DEPARTEMENT DE LA VENDEE

Période février 2010 – mai 2011

Correspondant : J-C Le Saux
Jean-Claude.Le.Saux@ifremer.fr

**PREVALENCE DES NOROVIRUS
DANS LES HUITRES MISES SUR LE MARCHÉ
DANS LE DEPARTEMENT DE LA VENDEE**

Période février 2010 - mai 2011

JC. Le Saux¹, M. Lora¹, J. Schaeffer¹, G. Poiraud² & S. Le Guyader¹

1. IFREMER 2. DDPP.85

Département Ressources Biologiques et Environnement
Unité SG2M
Laboratoire Santé, Environnement & Microbiologie

Correspondant : J-C Le Saux
Jean.Claude.Le.Saux@ifremer.fr

Référence

Convention DGAL 2010-2011
RI/MIC-LNR/ EV 02.2012

Résumé

L'objet de cette étude est d'évaluer, par les méthodes de détection virale en cours de validation au niveau européen, le niveau de présence des norovirus dans les huîtres à l'expédition et sur les lieux de vente dans un département test, celui de la Vendée.

En effet, aujourd'hui peu d'informations existent au niveau international et national sur la prévalence des norovirus dans les coquillages mis dans les circuits de consommation, alors que tous les ans des coquillages, répondant aux critères de mise en marché, sont incriminés ou suspectés dans des foyers de toxi-infections alimentaires collectives liés à la consommation de coquillages, majoritairement contaminés par des virus et plus particulièrement par les norovirus.

Cette étude sur la période de février 2010 à mai 2011 a permis de démontrer que 11,76% des lots analysés étaient positifs en norovirus, dont 9,47% par des norovirus du génogroupe II. L'importance de cette contamination virale est à mettre en lien direct avec, d'une part l'ampleur de l'épidémie hivernale de gastro-entérite aiguë dans la population et d'autre part avec les événements environnementaux complémentaires à cette épidémie. De ce fait, les niveaux de contamination virale rencontrés au cours de cette étude varient entre 9,35% et 26,13%, pour les deux saisons hivernales observées.

Cette étude confirme une nouvelle fois que les mesures de prévention pour limiter les risques de contamination des huîtres par les norovirus doivent prendre en compte la période hivernale à risque, l'ampleur de l'épidémie de gastro entérite aiguë dans la population, les apports dans les eaux littorales et les pratiques professionnelles. Elle permet d'apporter des informations pertinentes quant à la présence de ce pathogène et à l'évaluation des risques liés à la consommation des huîtres en période hivernale.

Sommaire

I.	Introduction	5
II.	Contexte réglementaire	5
III.	Contexte sanitaire	6
IV.	Production conchylicole	7
V.	Consommation	8
VI.	Contamination des produits conchylicoles mis sur le marché	10
VII.	Stratégie de l'étude	10
VIII.	Matériel et Méthode	11
A.	virus	11
B.	Espèce	11
C.	Période.....	11
D.	Plan d'échantillonnage	11
E.	Méthode analytique.....	11
IX.	Contexte de l'étude	12
A.	Activité ostréicole de la Vendée	12
B.	Contexte épidémique	13
C.	Contexte environnemental	14
X.	Résultats	16
XI.	Discussion.....	21
XII.	Conclusion	22
	Références bibliographiques	23

Table des illustrations

Les figures

Figure.1 : Huîtres vivantes, saisonnalité et indice de consommation par volume et par région en 2006 (source : Ofimer, 2007)	9
Figure 2 : Zones classées vendéennes pour les coquillages non fousseurs ⁴⁸	12
Figure 3 : Période d'étude et épidémie de GEA 2009-2010 et 2010-2011 (source Réseau Sentinelles)....	14
Figure 4 : Trajectoire de la tempête Xynthia et localisation des unités de traitement collectif des eaux usées.....	14
Figure 5 : Prévalence en norovirus dans des huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2010 à mai 2011.	16
Figure 6 : Distribution des échantillons positifs en NoV selon les deux périodes épidémiques GEA : 2009-2010 & 2010-2011.	17
Figure 7 : Prévalence en norovirus des huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2010 à novembre 2010.	17
Figure 8 : Prévalence en norovirus dans les huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de décembre 2010 à mai 2011.....	18
Figure 9 : Prévalence en norovirus des huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2010 à mai 2010.....	18
Figure 10 : Prévalence en norovirus dans les huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2011 à mai 2011.	18
Figure 11 : Effet Xynthia – Comparaison de la prévalence en norovirus dans les huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée sur les périodes de mars 2010 à avril 2010 inclus et mars 2011 à avril 2011 inclus.	19
Figure 12 : Prévalence en norovirus dans les huîtres selon le site de prélèvement.	19

Les tableaux

Tableau I : Nombre de lieux de production par entreprises conchylicoles et agréments d'expédition en fonction du type d'installation.	7
Tableau II : Production apparente et ventes d'huîtres creuses à la consommation par circuit de commercialisation en 2005 ^{20*}	8
Tableau III : Virus identifiés dans des coquillages prélevés dans des zones de production*.....	10
Tableau IV : Nombre de concessions ostréicoles et superficies concédées par zone classée pour les coquillages non fousseurs – groupe 3 : Huîtres. (Com.pers DDPP.85- Fev 2012).....	13
Tableau V : Alertes Remi sur les zones vendéennes de production de bivalves non fousseurs de décembre 2009 à mai 2011 inclus ⁴⁸	15
Tableau VI : Distribution des génogroupes norovirus par échantillon selon le site de prélèvement sur deux périodes similaires : février-avril 2010 et 2011.....	20
Tableau VII : Renseignements sur les sites d'élevage, de stockage et les temps correspondants pour les échantillons positifs en norovirus – période février 2010-mai 2011.....	20

I. Introduction

La qualité sanitaire des coquillages commercialisés doit répondre à des critères microbiologiques du règlement sanitaire de l'Union européenne (CE) n° 2075/2005. Or tous les ans des coquillages répondant à ces critères sont incriminés ou suspectés dans des foyers de toxi-infections alimentaires collectives liés à la consommation de coquillages. En majorité, ces coquillages sont contaminés par des virus, et plus particulièrement par les norovirus.

Dans un contexte de sécurité sanitaire de plus en plus renforcée, la consommation de coquillages crus ou peu cuits entraîne un niveau d'exigence sanitaire élevé. De ce fait, la DG-Sanco met en place des groupes de travail et d'études pour évaluer et valider les méthodes analytiques virales au niveau qualitatif et quantitatif. L'objectif à moyen terme, 2017, est d'avoir une méthode normalisée et la mise en place de critères de sécurité pour les coquillages.

L'objet de cette étude est d'évaluer, par les méthodes de détection en cours de validation au niveau européen, le niveau de présence des norovirus dans les coquillages à l'expédition et sur les lieux de vente. Cette approche permettra d'apporter des informations pertinentes quant à la présence de ce pathogène et à l'évaluation des risques liés à la consommation de ces produits.

II. Contexte réglementaire

Quelque soit la forme de consommation finale des coquillages après l'achat, lors de leur mise sur le marché les critères microbiologiques applicables sont fixés par le règlement (CE) n°2073/2005. Pour les mollusques bivalves vivants les seuls critères de sécurité relatifs aux produits mis sur le marché concernent l'indicateur réglementaire *Escherichia coli* (*E.coli*) : < 230 /100g de Chair et de Liquide Inter valvaire (CLI) et *Salmonella* : absence dans 25g de CLI.

Le règlement (CE) n°178/2002 précise que la mise sur le marché est définie comme '*la détention de denrées alimentaires ou aliments pour animaux en vue de leur vente, y compris l'offre en vue de la vente ou tout autre forme de cession, à titre gratuit ou onéreux, ainsi que la vente, la distribution et les autres formes de cession proprement dites.*' Donc toute cession au consommateur potentiel est considérée comme 'mise sur le marché'.

La conformité des produits aux critères de sécurité est une obligation réglementaire pour les exploitants conchylicoles. Cependant, cette disposition basée sur *E. coli* ne permet pas de garantir l'absence totale de germes pathogènes dans les coquillages. L'actuelle absence de critère de sécurité pour les norovirus ne signifie pas qu'il n'est pas nécessaire de le prendre en compte et de l'identifier.

III. Contexte sanitaire

En France, 10 248 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) ont été déclarés entre 1996 et 2009. Ces foyers ont provoqué 127 660 malades dont 10 409 hospitalisations (8,15%) avec 69 décès (0,05%). Sur ces 10 248 foyers de Tiac, les coquillages ont été impliqués ou suspectés dans 530 foyers soit 5,17%¹⁻²⁻³.

Entre 1996 et 2009, dans ces foyers d'épidémies déclarées et liées à la consommation de coquillages, les agents causaux les plus fréquemment rencontrés ou suspectés sont les virus¹⁻²⁻³⁻⁴. En effet, les virus entériques représentent près de 43,22% sur les 428 foyers dont les agents ont été identifiés. Sur 102 foyers coquillages l'agent causal n'a pas été identifié (19,24%). Majoritairement dans les virus entériques, les norovirus sont les plus souvent identifiés ou suspectés dans les Tiac coquillages.

La principale étape de contamination microbiologique des coquillages se situe au niveau des zones de production impactées par des effluents d'origine urbaine ou agricole. Mais les épidémies liées à la consommation de coquillages résultent le plus souvent d'une contamination du milieu littoral associant d'une part, des événements pluviométriques occasionnant des dysfonctionnements de réseaux d'eaux usées urbaines, et d'autre part les épidémies de gastro-entérites hivernales dans la population.

Entre 1996 et 2009, pour les Tiac coquillages, les huîtres ont été l'aliment majoritairement vecteur et la période de consommation coïncidait avec la période hivernale⁵⁻⁶⁻⁷⁻⁸. A noter que lorsque l'information était disponible, les concentrations en *E. coli* respectaient les critères de sécurité, soit <230 *E. coli* /100g de CLI et que certains lots étaient passés par une purification certifiée d'une durée en bassin ou d'un passage en claire d'au moins 48 heures.

Au niveau mondial, si l'on se réfère au bilan Afssa de 2008⁹, les épidémies associées à la consommation de coquillages étaient majoritairement d'origine virale (59 des 87 épidémies publiées soit 68%). Les norovirus étaient responsables de 38 épidémies et le virus de l'hépatite A de 22 épidémies. Concernant les épidémies à norovirus, l'aliment huître représentait 84 % (31) des cas, les palourdes 8% (3), le mélange huître/palourde 5% (2), et les moules crues 5% (2).

Les norovirus, appartenant à la famille des *Caliciviridae* sont les principaux agents des gastro-entérites virales toutes classes d'âge confondues¹⁰. Ces virus présentent une diversité génomique importante et sont classés en cinq génogroupes. Trois génogroupes (GI, GII et GIV) infectent l'homme tandis que les deux autres (GIII et GV) infectent les animaux¹¹. Le génogroupe II représente environ 80 à 90% des cas cliniques observés chaque hiver avec au sein de ce génogroupe une majorité de souche de type GII.4.

Ces virus qui peuvent se transmettre de personne à personne, sont résistants aux traitements des eaux usées et on les retrouve dans les eaux brutes, les eaux polluées, mais également sur certaines zones de production conchylicole¹¹⁻¹²⁻¹³⁻¹⁴.

Une des conséquences de cette résistance importante est leur fréquente implication dans les épidémies liées à la consommation de fruits, légumes, coquillages et eaux souillées^{15 16 17}. Leur détection ne peut se faire que par biologie moléculaire et aucun système de multiplication *in vitro* reproductible n'est connu à ce jour¹². Cependant lors de gastro-entérites liées à la consommation d'eaux ou d'aliments contaminés, les souches du génogroupe I sont majoritaires.

IV. Production conchylicole

La conchyliculture constitue une importante activité de l'économie maritime du littoral métropolitain. En 2009, les 197 900 tonnes de coquillages (66% d'huîtres, 31% de moules et 3% d'autres coquillages) vendus pour une valeur de 396 millions d'euros ont été produits et commercialisés par 3 120 entreprises pour environ 9 000 équivalents temps plein (FranceAgrimer, 2011). La France est le premier pays producteur et consommateur européen d'huîtres.

Cette production, essentiellement d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) représente 90% de la production européenne. Malheureusement, les surmortalités estivales d'huîtres creuses observées depuis quelques années commencent à affecter grandement ce tonnage, qui, en 2009, a représenté 129 800 tonnes (France-Agrimer, 2011).

Ces espèces sont cultivées selon des méthodes d'élevage (à plat, surélevé, suspendu, bouchots) adaptées aux différents types de milieux (lagune, estran, eau profonde) rencontrés le long du littoral français.

Les entreprises conchylicoles utilisent près de 19 806 ha de concessions, dont près de 59% sont dévolus à l'élevage d'huître (Tableau I). En 2005, date du dernier recensement conchylicole, 78% des entreprises disposaient d'un site de production, 21% de 2 à 3 sites de production et 1% supérieur ou égal à 4 sites.

Tableau I : Nombre de lieux de production par entreprises conchylicoles et agréments d'expédition en fonction du type d'installation¹⁸.

1 lieu de production	2, 3 lieux de production	≥ 4 lieux de production	Agréments expédition	Agrément au moins 1 Bâtiment exp	Agrément au moins 1 Bateau exp	Agrément Purification
2 935	784	32	2 747	2 696	82	1 200
78,3%	21%	0,8%	73,2%	72%	2,2%	32%

Pour la principale espèce de coquillages produite et consommée en France, l'huître creuse, les tonnages commercialisés et les circuits privilégiés de vente sont précisés ci-après :

- **Huîtres creuses**

En 2005, plus de deux tiers de la production d'huîtres creuses étaient produites par des entreprises dont le siège social se situe en Charente-Maritime (≈31%), Bretagne sud (≈20%) et en Normandie (≈18%). Concernant les ventes, près de 43,6% de celles-ci sont réalisées par des entreprises de Charente-Maritime (Tableau II). Au plan national, en moyenne la vente directe d'huîtres aux consommateurs est le premier circuit de commercialisation avec 28%, suivi de près par la commercialisation aux grossistes et revendeurs (23%). Globalement les centrales d'achat des grandes et moyennes surfaces (GMS) et la grande distribution (GD) représentent un quart des ventes (26%), Cf. Tableau II.

Cependant, les situations régionales sont très contrastées (Tableau II). Pour l'Aquitaine et les Pays de Loire 'la vente directe' représente plus de 50% des circuits de commercialisation, alors que pour la Normandie et la Méditerranée le circuit 'grossistes et revendeurs' est majoritaire avec 43%, la vente directe se situant respectivement à 8% et 25%.

Seules 3 régions ont des ventes locales (vente directe & grossistes revendeurs) supérieures à 60%, les régions Méditerranée (68%), Pays de Loire (64%) et Aquitaine (62%).

Tableau II : Production apparente et ventes d'huîtres creuses à la consommation par circuit de commercialisation en 2005 ^{20*}.

Région	Nord Normandie	Bretagne Nord	Bretagne Sud	Pays de Loire	Poitou Charentes	Aquitaine	Méditerranée	FRANCE
Production (t)	19 474	9 079	21 438	8 626	33 718	7 666	9 527	109 527
%	17,8	8,3	19,6	7,9	30,8	7,0	8,7	100
Ventes (t)	10 325	7 116	15 010	9 875	46 783	8 505	9 775	107 390
%	9,6	6,6	14,0	9,2	43,6	7,9	9,1	100
Vente Directe (%)	8	20	21	52	26	56	25	28
Grossistes Revendeurs (%)	43	28	27	12	18	8	43	23
CA GMS (%)	15	9	14	8	24	13	9	17
Poissonniers, Restaurants, Ecaillers (%)	17	13	21	7	14	13	14	14
Grande distribution Hors CA (%)	8	14	8	10	11	6	4	9
Exportation Directe (%)	3	12	6	1	3	2	4	4
Autres (%)	6	4	2	11	5	3	1	5

(*).Production et ventes rattachées au siège d'exploitation déclaré.

La commercialisation aux structures GMS et GD est de 35% pour Poitou-Charentes, proche du quart des ventes pour la Normandie et la Bretagne (22-23%), inférieure à 20% pour les Pays de Loire et l'Aquitaine et moins de 15% pour la Méditerranée.

V. Consommation

Le risque sanitaire lié à la présence de norovirus est d'autant plus important que les coquillages sont consommés crus. Ce type de consommation concerne directement et quasi-exclusivement un seul type de coquillage, l'huître.

D'après l'étude de consommation Ofimer¹⁹, il apparaît que la période de consommation des huîtres est axée sur la période hivernale, avec une consommation maximale sur le mois de décembre, suivi à équivalence par les mois de novembre à février, puis mars et avril. Pour les mois de mai à septembre, la consommation est faible et stable.

En 2006, sur les 8 régions différenciées par la société de sondages Taylor-Nelson-Sofres (TNS), les populations qui consomment le plus d'huîtres sont localisées par ordre décroissant dans l'Ouest, le Sud-Ouest, le Centre-Ouest, le Sud-Est, la Région parisienne, le Nord, le Centre-Est et l'Est (Figure 1).

Les régions TNS de forte consommation d'huîtres (H.creuses (HCr) et H.plates (HPI)) recouvrent les régions littorales productrices. L'étude Ofimer (2006), démontre qu'entre les 2 espèces d'huîtres, la consommation annuelle par les particuliers à leur domicile est d'un facteur 10 : 24 726 tonnes-HCr pour 2 656 tonnes-HPI ; et leurs achats sont faits majoritairement en GMS avec 56% des parts de marché pour HCr contre 70% pour HPI. Globalement en 2006, la part de marché des GMS pour l'achat d'huîtres était de 58%.

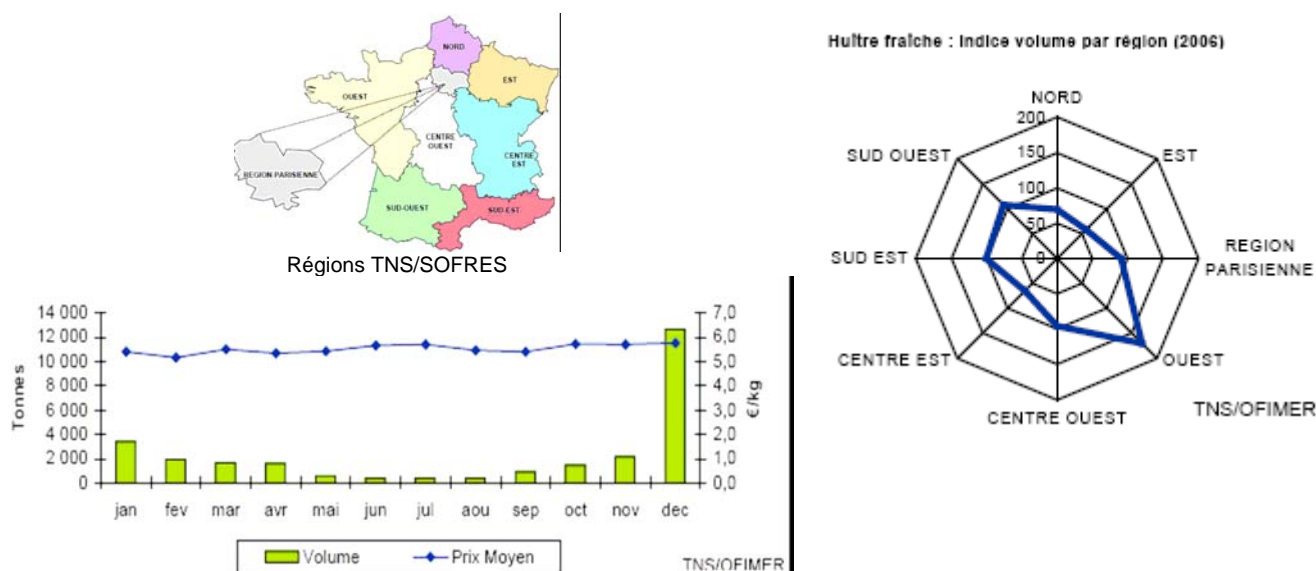


Figure.1 : Huîtres vivantes, saisonnalité et indice de consommation par volume et par région en 2006 (source : Ofimer, 2007)

En 2004, une étude sur les consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et omega 3 (CALIPSO, 2006²⁰) a été conduite dans 4 régions françaises : Méditerranée-Var, Normandie-Baie de Seine, Bretagne sud, Gironde-Charente Maritime sud, sur un échantillon de 996 individus de plus de 18 ans consommant régulièrement des produits de la mer. D'après cette étude, les consommations de coquillages hebdomadaires les plus élevées au niveau national sont les huîtres et les coquilles st jacques pour les hommes adultes (18-64 ans) et l'inverse pour les femmes de même tranche d'âge avec respectivement 40,9g et 27,9g hebdomadaire d'huîtres. Chez les personnes âgées (≥ 65 ans), les huîtres devancent les autres mollusques avec 51,3g hebdomadaire.

D'après cette même étude, les huîtres sont davantage achetées en grande surface (GMS) dans les régions du Havre et de Toulon avec respectivement 39,9 % et 43,2%, alors que pour Lorient et La Rochelle ces achats ne représentent que 8,4% et 18,3%. Pour ces deux dernières villes, les achats chez le poissonnier représentent respectivement 39,5% et 17,8% contre 34,3% et 39,5% pour le marché.

Il apparaît donc dans cette enquête pour la façade atlantique une nette proportion d'achats d'huîtres hors GMS, avec pour la région de la Rochelle une nette distinction pour les achats au marché.

VI. Contamination des produits conchylicoles mis sur le marché

Il existe peu de données de contamination par les virus entériques humains sur les coquillages prélevés sur les marchés. En effet, la majorité des études sont réalisées sur des sites pouvant être contaminés par des rejets^{21 22}. Le tableau ci-dessous rapporte quelques données publiées où les auteurs se réfèrent à des coquillages du marché.

Tableau III : Virus identifiés dans des coquillages prélevés dans des zones de production*.

Coquillages	Pays	Adenovirus	Enterovirus	Virus Hépatite A	Norovirus	Référence
Huîtres	Japon				9	Nishida, 2003 ²³
	Japon				6,8	Nishida, 2007 ²⁴
	Corée	89	11			Choo, 2006 ²⁵
	Pays-bas		27	0	0	Lodder, 2005 ²⁶
	UK				37	Henshilwood, 1998 ²⁷
	UK				56,8	Lowther, 2008 ²⁸
	USA				20	Costantini, 2006 ²⁹
	Importation Hong-Kong				9	Cheng, 2005 ³⁰
	Irlande				31	Flannery, 2009 ³¹
France				14	Ifremer, 2009 ³²	
Moules	Chine				12	Lee, 1999 ³³
	Italie			14	36	Croci, 2000 ³⁴
	Italie			23		Chironna, 2002 ³⁵
	Italie				19	De Medici, 2004 ³⁶
	Norvège	19			7	Myrnel, 2004 ³⁷
	Suède	17	13		20	Hernroth, 2002 ³⁸
	Grèce	28	10	11	6	Formiga-Cruz, 2002 ³⁹
Pays Bas		5		16,6	Boxman, 2006 ⁴⁰	
Moules Palourdes	Italie				8	Suffredini et al ⁴¹
Coques Moules Palourdes	Espagne				45,8	Vilarino et al ⁴²

(*) Résultats exprimés en % de positifs détectés pendant l'étude. Les cases vides correspondent à l'absence de recherche de virus.

VII. Stratégie de l'étude

Considérant les habitudes de consommation française mais aussi les données épidémiologiques, il nous semblait important de nous intéresser principalement aux huîtres. D'autre part, il paraissait pertinent de cibler la principale espèce d'huître produite et consommée, l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

Les coquillages ciblés, huîtres étant prioritairement consommées dans les régions de production, le premier circuit de vente étant principalement la vente directe, il apparaît logique et plus simple d'établir un plan d'échantillonnage directement au niveau des établissements d'expédition, au cours de l'étape finale de conditionnement, en accentuant le suivi sur la période de forte consommation hivernale pendant la période 'sensible' entre novembre et mars inclus.

VIII. Matériel et Méthode

A. virus

Seuls les norovirus (NoV) des génogroupes I et II (GI et GII) ont été recherchés.

B. Espèce

Cette étude cible exclusivement une seule famille de bivalves : les *ostréidae* (huîtres) avec principalement l'huître *Crassostrea gigas* (huître creuse), élevée et consommée en France.

C. Période

La consommation maximale des huîtres coïncide avec la période d'épidémie hivernale de gastroentérite virale dans la population. Les prélèvements ont été effectués de février 2010 à mai 2011, incluant donc 2 périodes épidémiques.

D. Plan d'échantillonnage

Une des difficultés de cette étude réside dans l'obtention de coquillages représentatifs mis sur le marché. La stratégie appliquée reposait sur la collaboration des services déconcentrés de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). La Direction Départementale de la Protection des Populations (DDPP) de la Vendée contrôle les coquillages de la zone d'élevage jusqu'à leur mise sur le marché. De ce fait l'échantillonnage a été réalisé par ces services à tous les niveaux des ventes : établissements ostréicoles d'expédition, lieux de distribution et de commercialisation.

Chaque échantillon d'huîtres était composé de 12 individus minimum. Les échantillons sont expédiés en frais dans des colis réfrigérés par transporteur agréé. Concernant la traçabilité des lots échantillonnés, chaque échantillon était accompagné d'une fiche de renseignements précisant la date de prélèvement, la date d'expédition, l'établissement expéditeur, l'origine de la zone d'élevage et le traitement d'épuration éventuellement pratiqué (informations complétées par l'agent préleveur).

E. Méthode analytique

Après dissection des tissus digestifs, les virus sont élués par broyage et traitement au chloroforme butanol. Après précipitation des chairs de coquillages par traitement au Cat-Floc et centrifugation, les particules virales sont précipitées par le polyéthylène glycol. Les acides nucléiques sont extraits par lyse au guanidium et capturés sur de la silice magnétique (kit BioMérieux)⁴³. Un contrôle de l'efficacité d'extraction a été utilisé (Mengovirus) et la présence d'inhibiteur évaluée en cas de résultats négatifs⁴⁴. Chaque échantillon a été analysé pur et dilué au 1/10 par RT-PCR en temps réel pour les deux génogroupes de NoVs en utilisant les amorces et sondes sélectionnées par le laboratoire et préconisées par le groupe de travail CENTAG4⁴⁵.

IX. Contexte de l'étude

A. Activité ostréicole de la Vendée

La production ostréicole annuelle de la Vendée est estimée à 9 500 tonnes d'huîtres⁴⁶. Cette production est localisée dans trois principales zones : les baies de l'Aiguillon (85-08-02 à 85-08-05) et de Bourgneuf (85-01-01 à 85-04) et les Chenaux du Payré (85-07)⁴⁸.

Depuis 2009, le classement des zones vendéennes du groupe 3 pour les huîtres, se répartit en 11 zones dont 3 zones A, 7 zones B et 1 zone A-B (Figure 2).

A noter, que sur la base de la qualité sanitaire exigée par le règlement CE 854/2004, les 11 zones ostréicoles sont estimées de qualité B, c'est à dire nécessitant obligatoirement un passage en purification*.

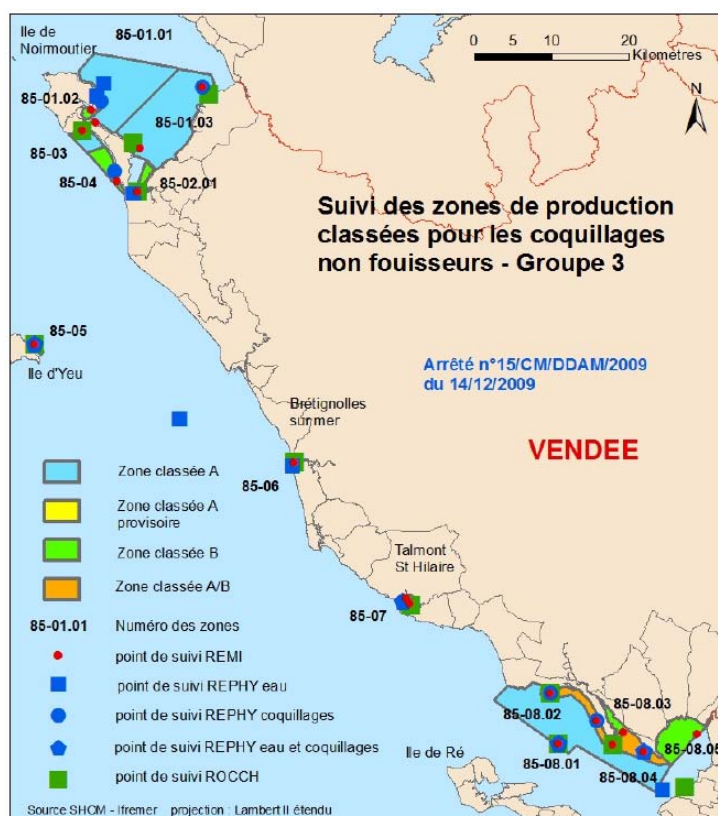


Figure 2 : Zones classées vendéennes pour les coquillages non fousseurs⁴⁸.

En Vendée, 466 ostréiculteurs sont concessionnaires de 1 923 parcs à huîtres pour une superficie globale d'élevage de 720 hectares (Tableau IV).

* Règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine

Tableau IV : Nombre de concessions ostréicoles et superficies concédées par zone classée pour les coquillages non fousseurs – groupe 3 : Huîtres. (Com.pers DDPP.85- Fev 2012)

N° Zone classée	Classement (Au 14/12/2009)	Concessions ostréicoles	
		Nombre	Superficie (ha)
85-01.01	A	348	97,230
85-01.02	B	78	24,0550
85-01.03	A	1029	501,2930
85-02.01	B	9	3,2200
85.03	A	2	25,7620
85.04 (B)	B	22	84100
85.06	B	18	3,7744
85.07	B	197	11,9533
85.08.3	B	124	29,3907
85.08.4	A/B	64	8,5235
85.08.5	B	32	6,9240
<i>Total</i>		1 923	720,536

La Vendée comprend 224 établissements agréés pour la commercialisation des huîtres (Com.pers DDPP.85-Janvier 2012).

B. Contexte épidémique

Cette étude s'est déroulée au cours de deux périodes épidémiques hivernales de gastro-entérite aiguë (GEA) dans la population (Figure.3) :

- Celle de 2009-2010, qui s'est étendue sur une période de 13 semaines, a été l'une des plus longues observées depuis le début de la surveillance du réseau Sentinelles en 1990⁴⁷. Entre le 28 décembre 2009 (semaine 53) et le 22 mars 2010 (semaine 12), le réseau sentinelles estime que 3,1 millions de personnes ont consulté leur médecin généraliste pour une diarrhée aiguë. Au niveau national le pic épidémique a été observé au cours de la seconde semaine de janvier 2010 (11 au 17 janvier)⁴⁹.
- Pour la période 2010-2011, l'épidémie a duré cinq semaines entre le 27 décembre 2010 (semaine 52) et le 30 janvier 2011 (semaine 5)⁴⁸. Le réseau sentinelle estime qu'au cours de cette période près de 1,2 millions de personnes ont consulté leur médecin généraliste pour une diarrhée aiguë⁵⁰.

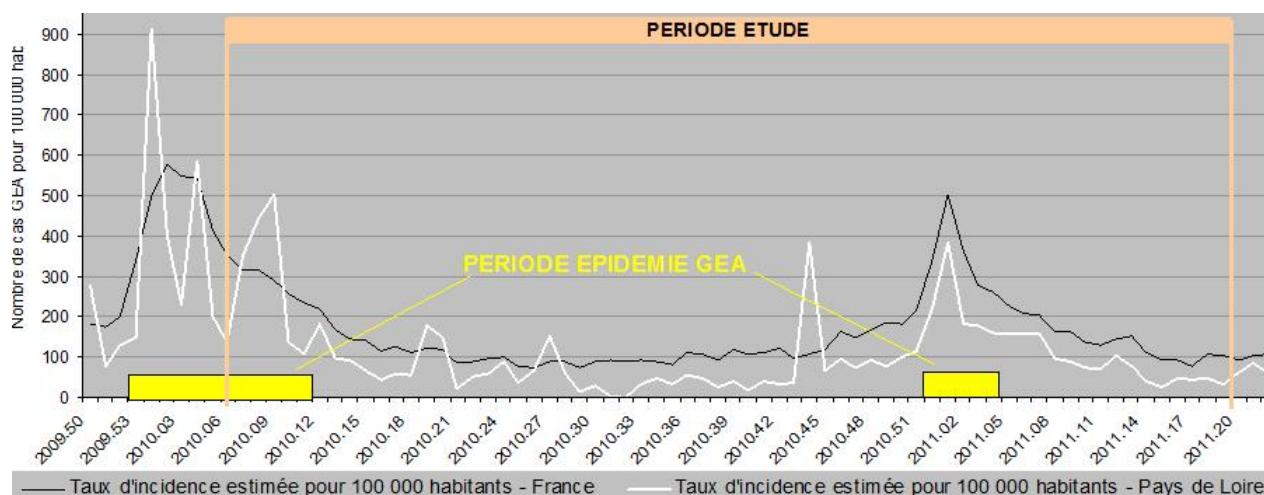


Figure 3 : Période d'étude et épidémie de GEA 2009-2010 et 2010-2011 (source Réseau Sentinelles)

Au niveau de la région Pays de Loire, pour les deux épidémies de GEA le pic épidémique est atteint au cours de la première semaine de 2010 et 2011 (Figure 3).

C. Contexte environnemental

En début d'étude, un événement météorologique exceptionnel a impacté le littoral vendéen. Le 28 février 2010, la tempête Xynthia a traversé d'Ouest en Est la France, en occasionnant de sérieux dégâts sur toute la façade atlantique sud Loire et particulièrement au niveau du sud de la Vendée dans sa partie Pertuis Breton (Figure 4).

Le caractère exceptionnel de cette tempête est dû à la conjonction au moment de son passage i) d'un fort coefficient de marée de 102 et ii) d'une 'surcote' importante, pouvant atteindre 1,50 mètre par endroit, résultant du phénomène, de niveau de la marée et de l'heure de pleine mer au moment du passage des vents les plus forts.

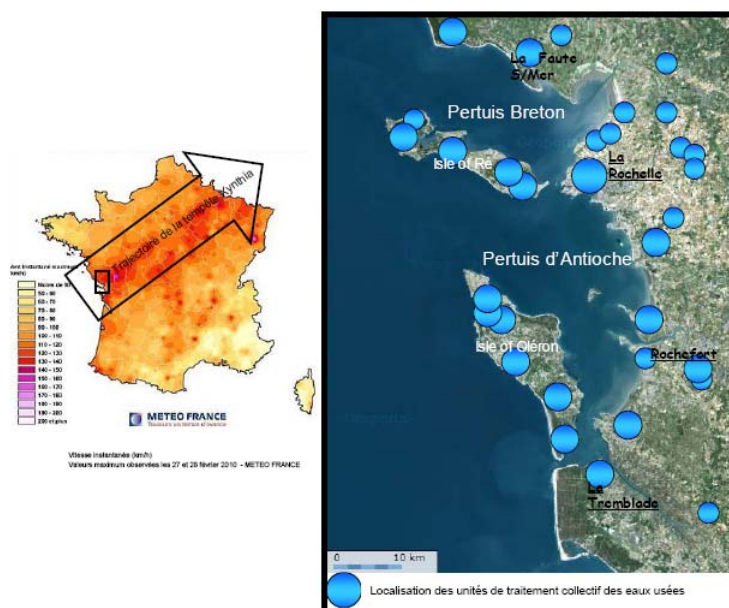


Figure 4 : Trajectoire de la tempête Xynthia et localisation des unités de traitement collectif des eaux usées.

Cette tempête exceptionnelle a conduit au décès de 47 personnes en France, dont 29 en Vendée et 12 en Charente Maritime⁴⁹. Lors de la submersion marine, 33 200 hectares ont été inondés jusqu'à 2 semaines, dont 11 200 en Vendée et 22 000 en Charente Maritime⁵¹. Par conséquent, 192 exploitations agricoles de Vendée et 350 en Charente Maritime ont été impactées par cette tempête⁵¹, dont de nombreux établissements conchylicoles du Pertuis Breton, site particulièrement vulnérable à ce phénomène, avec ses infrastructures sur l'estran.

Cette tempête a conduit à une surveillance renforcée du Réseau de surveillance bactériologique des zones de production conchylicole (Remi) entre le 5 mars et le 18 mars sur 22 zones d'élevage du sud Vendée et de la Charente-Maritime entre La Gachère (85) au Nord et Bonne Anse (17) au Sud. Ce suivi exceptionnel n'a pas donné lieu à de fermetures temporaires de zones sur la base de l'indicateur de contamination fécale *Escherichia coli*⁴⁸.

Cependant, il apparaît qu'au cours de la première semaine du mois de mars, les recherches virales réalisées sur ces coquillages ont montré un niveau élevé de prévalence en NoV⁵⁰.

Sur l'ensemble de la période d'étude, de décembre 2009 à mai 2011, le REMI a déclenché 18 alertes pour les zones vendéennes du groupe 3 (huîtres et moules), dont sept alertes relatives à Xynthia (Tableau V).

Tableau V : Alertes Remi sur les zones vendéennes de production de bivalves non fousseurs de décembre 2009 à mai 2011 inclus ⁴⁸.

N°zone	Niveau Alerte	Début Alerte	Fin Alerte	
85.09	1	02/12/2009	02/12/2009	
85.08.01	1	20/01/2010	23/01/2010	
85.06	0	05/03/2010	18/03/2010	Xynthia
85.07	0	05/03/2010	18/03/2010	
85.08.01	0	05/03/2010	18/03/2010	
85.08.02	0	05/03/2010	18/03/2010	
85.08.03	0	05/03/2010	18/03/2010	
85.08.04	0	05/03/2010	18/03/2010	
85.08.05	0	05/03/2010	18/03/2010	
85.03	info A	29/04/2010		
85.01.02	1	28/05/2010	03/06/2010	
85.08.02	info A	15/07/2010		
85.08.04	info A	15/07/2010		
85.05	info A	19/08/2010		
85.01.01	info A	19/08/2010		
85.08.01	info A	25/08/2010		
85.01.03	info A	25/02/2011		
85.01.01	1	20/05/2011	24/05/2011	

Aucune de ces alertes a conduit à une fermeture temporaire de zones classées.

X. Résultats

Entre le mois de février 2010 et mai 2011, 391 échantillons d'huîtres creuses ont été prélevés, soit une fréquence de 40 échantillons pour les mois de février à mars 2010 et de novembre 2010 à mars 2011 inclus et de 12 échantillons pour les mois d'avril à octobre 2010 et d'avril à mai 2011.

Sur les 391 lots d'huîtres prélevés, 46 sont positifs en norovirus soit 11,76% (Figure 5). Parmi ces derniers, cinq ont été trouvés contaminés par des NoV GI et GII, quatre par des NoV GI et 37 par des NoV GII.

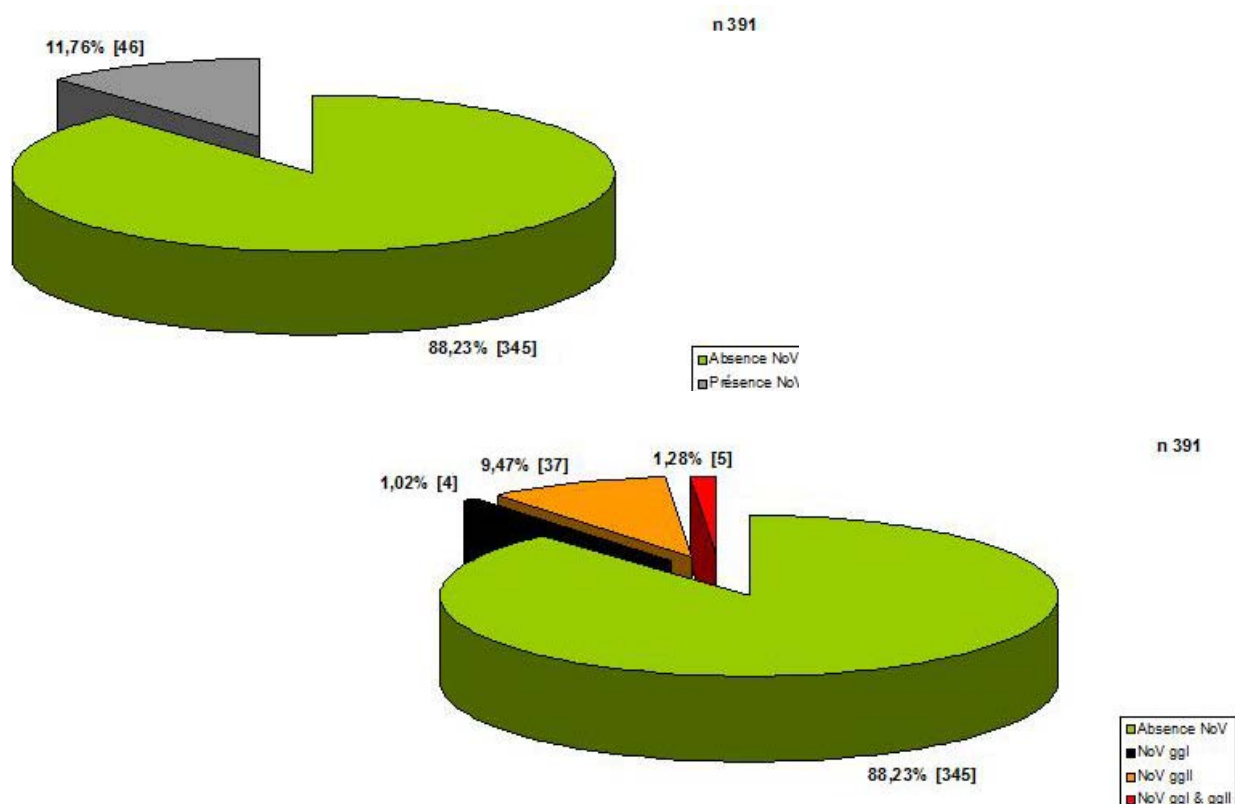


Figure 5 : Prévalence en norovirus dans des huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2010 à mai 2011.

Si l'on découpe selon les périodes épidémiques GEA, de février 2010 à novembre 2010, sur les 210 échantillons d'huîtres, l'occurrence en NoV est de 14,29% soit 30 échantillons, alors que les 181 échantillons de la période décembre 2010 à mai 2011, ont une occurrence en NoV de 8,84% soit 16 échantillons (Figure 6).

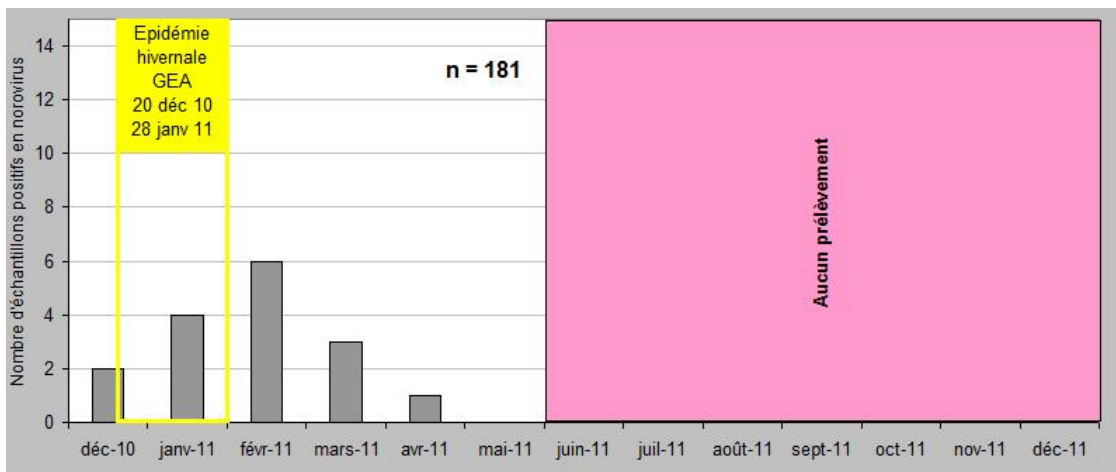
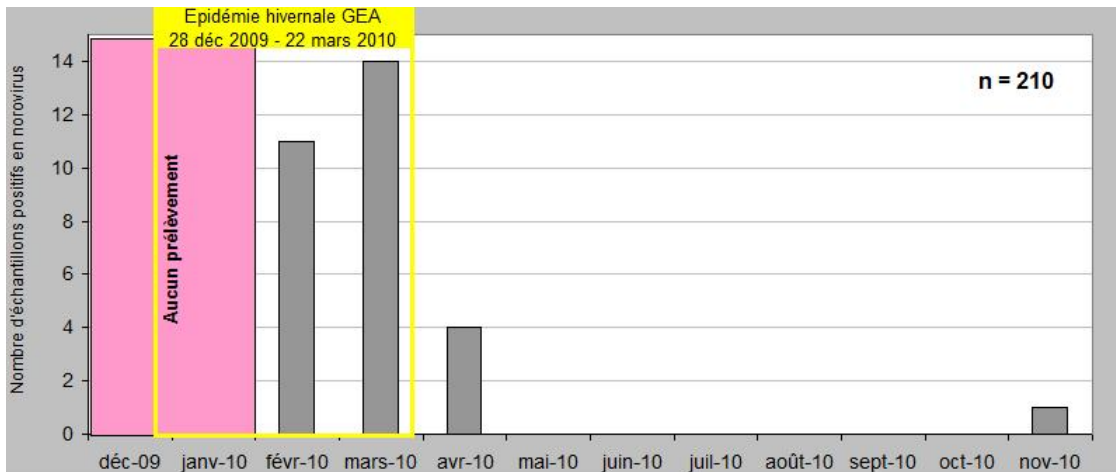


Figure 6 : Distribution des échantillons positifs en NoV selon les deux périodes épidémiques GEA : 2009-2010 & 2010-2011.

Au cours de ces deux périodes épidémiques, les NoV GII sont majoritairement détectés avec respectivement une occurrence de 11,90% en 2009-2010 et 6,64% en 2010-2011 (Figures 7 et 8). Les fréquences de détection des NoV GI sont très proches avec 0,96% et 1,10% sur les deux périodes considérées, de même que pour les échantillons contaminés par les deux génogroupes simultanément (1,42% et 1,10%).

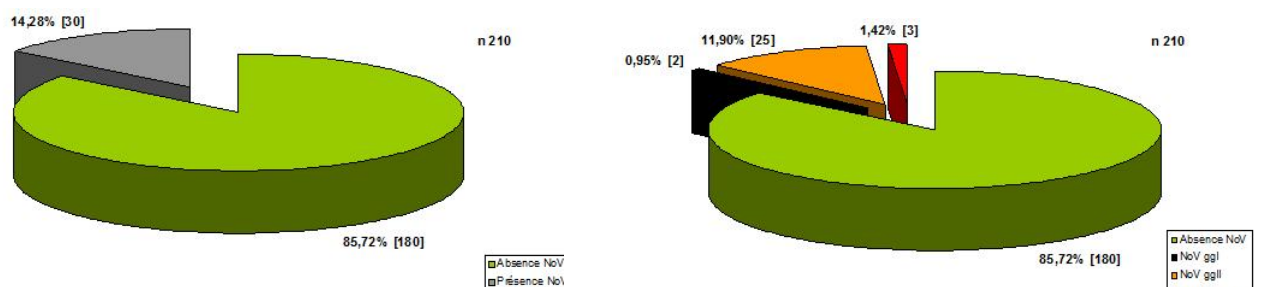


Figure 7 : Prévalence en norovirus des huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2010 à novembre 2010.

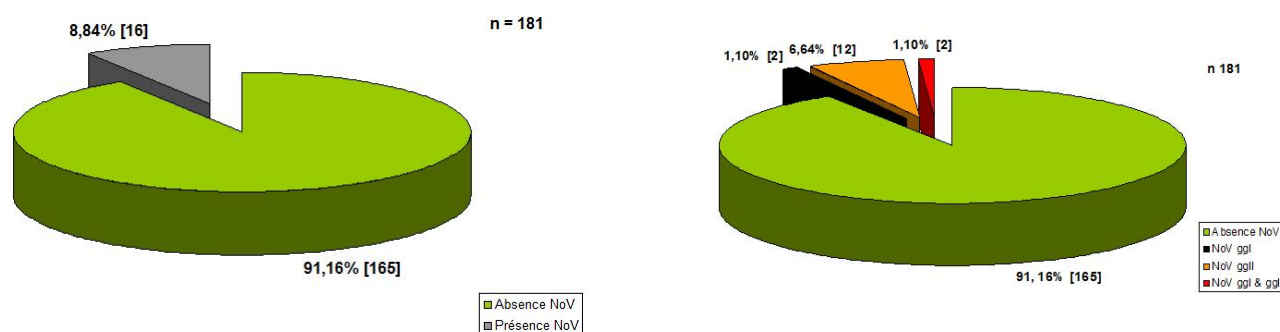


Figure 8 : Prévalence en norovirus dans les huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de décembre 2010 à mai 2011.

Si l'on compare une période commune d'échantillonnage sur les deux années d'étude, les résultats de la section février-mai sont très variables d'une année sur l'autre (Figures 9 et 10). Nous pouvons observer que la présence de NoV est trois fois plus fréquente au cours de la première période. Cette présence plus fréquente est le fait des NoV GII ou de la présence simultanée de GI & GII.

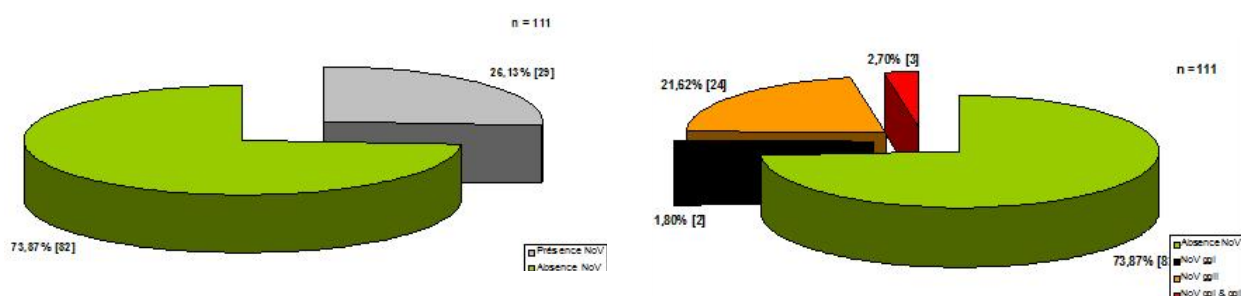


Figure 9 : Prévalence en norovirus des huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2010 à mai 2010.

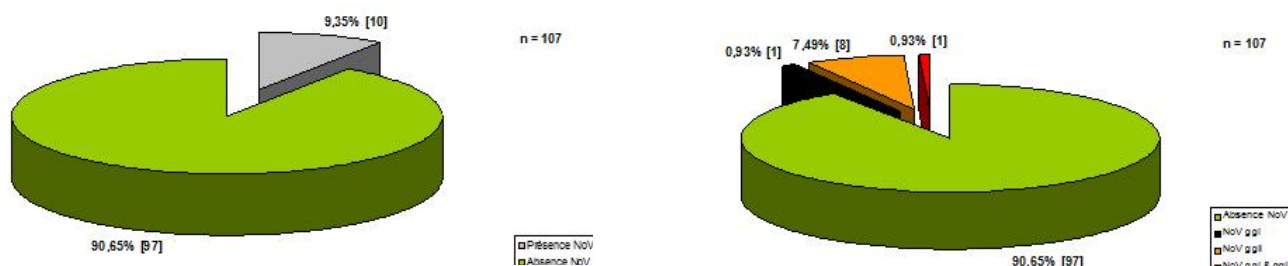
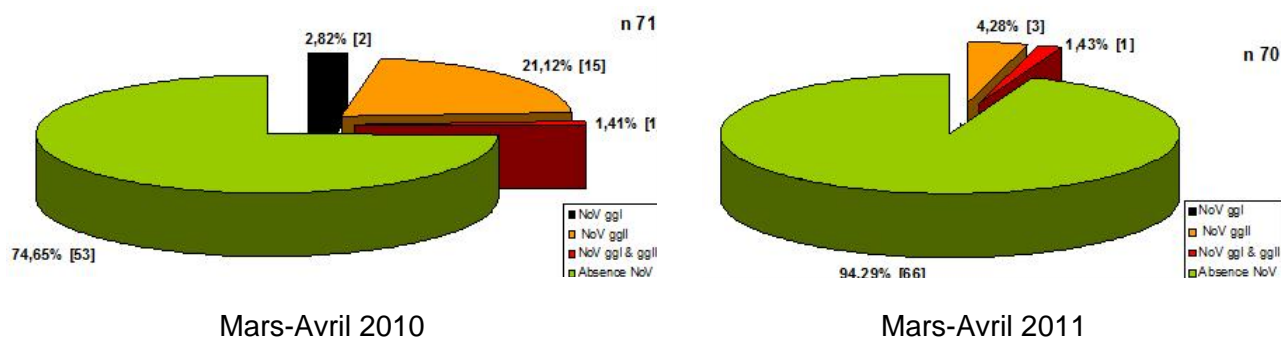


Figure 10 : Prévalence en norovirus dans les huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée au cours de la période de février 2011 à mai 2011.

Les effets de la tempête Xynthia sur les installations de traitements des eaux usées peuvent avoir conduit à une dégradation de la qualité du milieu littoral. Il paraissait intéressant d'observer si les effets secondaires de cette tempête transparaissaient au niveau des résultats en NoV (Figure 11).



Mars-Avril 2010

Mars-Avril 2011

Figure 11 : Effet Xynthia – Comparaison de la prévalence en norovirus dans les huîtres creuses prélevées et mises en marché en Vendée sur les périodes de mars 2010 à avril 2010 inclus et mars 2011 à avril 2011 inclus.

Les résultats positifs en NoV immédiatement postérieurs à Xynthia (mars-avril 2010) sont près de 4,5 fois plus élevés à ceux de la même période 2011. Le nombre d'échantillons positifs en NoV GII est cinq fois plus important en 2010 (21,12%) qu'en 2011 (4,28%) et l'on observe l'absence de NoV GI sur la seconde période.

Les 391 échantillons prélevés par les services de la DDPP.85, concernent 90 échantillons de grande surface (GS) et hyper-marché (HM) soit 23,01%, 144 échantillons lors de la mise en bourriche dans les établissements d'expédition (36,82%) et 153 échantillons lors de la vente directe par les éleveurs (39,38%). Pour quatre échantillons le lieu de prélèvement n'est pas exploitable (1,02%). Les prélèvements « Mise en bourriche » et « Vente directe » ont concerné respectivement 24 et 30 établissements d'expédition ostréicoles vendéens. Entre la mise en bourriche et la vente directe, pour un même ordre de grandeur d'échantillons, le premier lieu apparaît nettement plus contaminé en NoV (Figure 12).

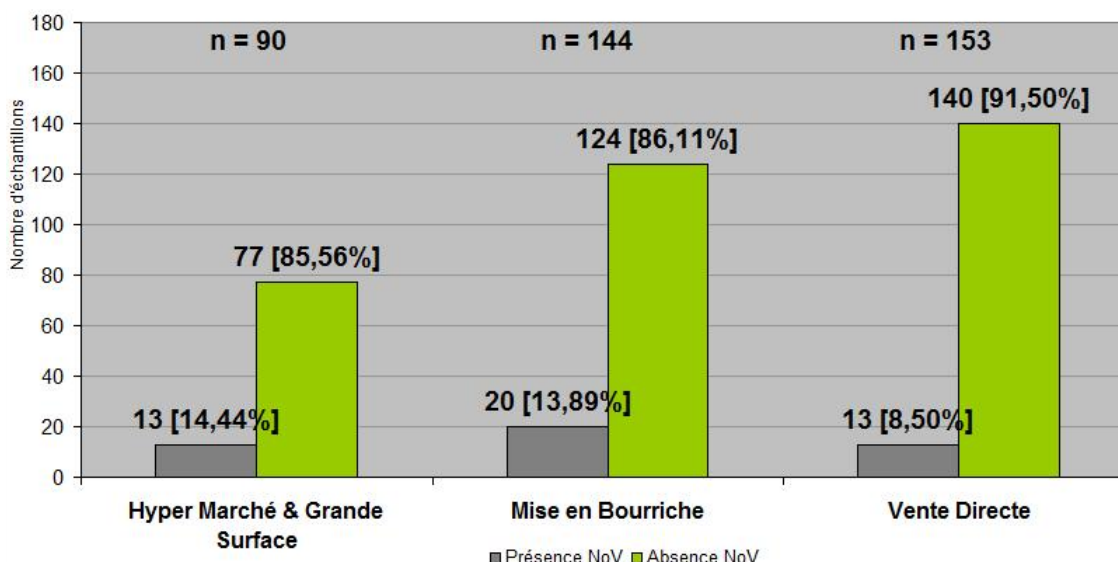


Figure 12 : Prévalence en norovirus dans les huîtres selon le site de prélèvement.

Si l'on prend en compte deux périodes identiques, de février à avril, les résultats nous confirment ces contaminations en NoV selon les sites de prélèvement (Tableau VI).

Tableau VI : Distribution des génogroupes norovirus par échantillon selon le site de prélèvement sur deux périodes similaires : février-avril 2010 et 2011.

	Fév-Avril 2010				Fév-Avril 2011			
	n	NoV ggl	NoV gglI	NoV ggl & gglI	n	NoV ggl	NoV gglI	NoV ggl & gglI
GS & HM	29		8	1	19		2	
Mise en bourriche	50	2	13	1	29		3	
Vente directe	22		4		48	1	3	1

Les huîtres prélevées en grandes surfaces ou hyper marchés étant issues de bourriches, l'exploitation des données a été faite en les regroupant avec les échantillons « Mise en bourriche ». Pour 2010, comparant ces échantillons avec ceux de « Vente directe », ils semblent plus fréquemment contaminés avec respectivement 31,64% et 18,18% .

En 2011, cette même approche indique une fréquence de contamination identique en NoV pour les deux catégories, avec respectivement 10,42% par catégorie pour un nombre équivalent d'échantillons.

Ces résultats confirment que l'année 2010 a été atypique par rapport à 2011.

Sur les 24 établissements échantillonnés lors de la mise en bourriche, 13 d'entre eux ont cumulé 20 échantillons positifs en NoV. L'origine des coquillages est indiquée dans le tableau VII, mais les précisions sur le lieu de stockage font défaut, sachant que ces derniers sites peuvent pourtant concerner des temps d'entreposage de sept à 105 jours (!). Les temps de purification s'échelonnent entre deux et dix jours.

Sur les 30 établissements échantillonnés en vente directe, sept ont présenté 13 résultats positifs en NoV. Peu d'indication sur les origines et les lieux de stockage, les temps de purification renseignés s'échelonnent entre deux et 21 jours.

Tableau VII : Renseignements sur les sites d'élevage, de stockage et les temps correspondants pour les échantillons positifs en norovirus – période février 2010-mai 2011

	Ets échantillonnés	Origine Elevage	Lieu de stockage avant purification	Temps stockage	Temps purification
	Ets positifs				
	Nbre résultats NoV				
Mise en bourriche		Baie de Morlaix (2)			
		Beauvoir (1)			
	24	Chenaux du Payré (6)	Chenaux du Payré (4)		
	13	Estuaire Le Lay (1)	Claire (2)	7j-30j	
	20	La barre de Monts (1)	La gachère (3)	90j-105j	2j à 10j
		Paimpol (4)			
		Quiberon (2)			
		Sans indication (2)	Sans indication (11)		
Vente directe		Baie de Morlaix (1)			
		Estuaire Le Lay (1)			
	30	Ile de Ré (1)			2j à 21j
	7	Normandie (1)			
	13	Pointe Aiguillon (1)			
		Sans indication (8)	Sans indication (13)	Sans indication (13)	

Au cours de la période d'étude, 11 toxi-infections alimentaires collectives ont été signalées et impliquaient des établissements de Vendée : neuf en 2010 et deux en 2011 ; dont huit établissements de l'étude.

XI. Discussion

La qualité des coquillages mis sur le marché doit répondre à des normes microbiologiques qui ne prennent en compte, à ce jour, que deux paramètres, l'indicateur de contamination fécale *Escherichia coli* qui doit présenter une concentration inférieure à 230 *E. coli* pour 100g de Chair et de Liquide Intervalvaire (CLI) et l'absence de *Salmonella* dans 25g de CLI.

Même si les coquillages mis sur le marché répondent à ces normes, des épidémies persistent et les coquillages sont impliqués dans environ 4 à 6% des toxi infections alimentaires collectives recensées annuellement en France. Ces coquillages sont principalement contaminés par les norovirus. Les contaminations des coquillages interviennent au cours de l'épidémie hivernale de GEA dans la population, lors d'apports intempestifs d'eaux usées brutes ou insuffisamment traitées. L'huître est en France le coquillage le plus consommé, particulièrement au moment des fêtes de fin d'année et presque exclusivement cru, ce qui en fait pour le consommateur, une matrice potentiellement exposée à la présence de norovirus.

A ce jour aucune donnée n'a été publiée en France sur le niveau de prévalence en norovirus des coquillages mis sur le marché. Les approches internationales réalisées sur les huîtres des zones d'élevage observent des niveaux entre 6,8% au Japon (33/483) à 56,8% au Royaume Uni (83/146).

Les résultats acquis dans cette étude vendéenne 2010-2011, montrent que 46 échantillons sur 391 (11,76%) sont contaminés par des NoV.

Ce niveau est en lien direct avec les périodes d'épidémies hivernales de GEA. En effet, les contaminations en NoV sont observées, uniquement au cours de ces périodes, entre les mois de décembre et avril.

Pendant ces périodes, les occurrences en NoV peuvent varier entre 9,35% des échantillons (10/107) pour la période février à mai 2011 à 26,13% (29/111) pour la période février à mai 2010. Comme indiqué auparavant les deux périodes épidémiques ont une durée très différentes (13 semaines en 2010 contre 5 en 2011). De plus, la tempête Xynthia du 28 février 2010, au milieu de l'épidémie de GEA 2010, a sans doute considérablement augmenté les apports viraux aux eaux littorales, consécutifs aux submersions marines et aux dysfonctionnements des réseaux d'eaux usées. Pour 2010, l'association de l'épidémie GEA et de la tempête Xynthia a été le paramètre pénalisant pour cette période en terme d'occurrence des NoV dans les huîtres.

Sur 387 échantillons, 23,25% (90) concernaient les GS et HM, 37,21% (144) la mise en bourriche dans les établissements expéditeurs et 39,53% (153) la vente directe par les producteurs sur des lieux de vente, soit au sein de l'établissement, soit sur les marchés locaux. Ces huîtres de « vente directe » sont commercialisées en manne professionnelle (vrac) et non en bourriche.

Sur les 224 établissements vendéens agréés pour la production et la commercialisation des huîtres, 10,71% (24) établissements ont été échantillonnés pour la mise en bourriche et 13,40% (30) établissements pour la vente directe.

Sur l'ensemble de l'étude, les huîtres de type bourriche^Φ sont plus régulièrement contaminées que les huîtres de « vente directe » avec respectivement 14,10% pour 8,50%. Cette différence notable d'occurrence NoV observée sur la période 2010-2011 entre la mise en bourriche et la vente directe résulte bien du nombre élevé de résultats positifs en 2010, car si l'on prend deux périodes similaires de février à avril, cette anomalie n'a pas été reproduite en 2011.

Concernant les établissements d'expédition, nous pouvons observer que sur les 24 échantillonnés pour la mise en bourriche, les 13 entreprises trouvées avec des échantillons positifs en NoV représentent 54,16% des entreprises échantillonnées et 5,80% des établissements vendéens

^Φ cad huîtres mises en bourriche dans l'établissement et huîtres commercialisées en bourriche dans les GS et HM.

agréés. Pour la vente directe, les sept établissements qui ont présenté des échantillons positifs, correspondent à 23,33% des entreprises échantillonnées et 3,12% des établissements vendéens agréés pour la commercialisation des huîtres.

Ces échantillons positifs sont pour huit d'entre eux issus de lots élevés en zones classées A et stockés ultérieurement en zone classée B , pendant sept à 105 jours avant une purification de deux à dix jours. Ces passages de zone A en zone B, sont fortement susceptibles d'accroître la contamination virale des coquillages transférés, d'autant plus qu'à ce jour les installations professionnelles utilisées avant la commercialisation, ne permettent pas de purifier au niveau viral et de façon satisfaisante les produits stockés dans ces zones à risque.

XII. Conclusion

Cette étude montre qu'environ 10% des huîtres mises sur le marché dans le département de la Vendée, sont contaminées par des NoV au cours de la période hivernale d'épidémie de gastro-entérite aiguë dans la population. Les comparaisons sont difficiles car il existe très peu d'étude de ce type et les méthodes analytiques sont souvent différentes. La présence des NoV, principalement du GII dans les huîtres, est surtout détectée pendant la période hivernale, signant une contamination par des rejets d'origine humaine.

Les établissements concernés par des lots positifs en NoV représentent 8,92% des établissements agréés vendéens et sur les deux années d'étude moins de 3% d'entre eux se sont retrouvés avec des lots positifs chaque année. Il semblerait que des mauvaises pratiques professionnelles puissent accentuer le risque de contamination virale en période à risque, par des stockages dans des sites inappropriés.

Les mesures de prévention pour limiter les risques de contamination des huîtres par les NoV doivent prendre en compte la période hivernale à risque, l'ampleur de l'épidémie de GEA, les apports en NoV dans les eaux littorales, mais également les pratiques professionnelles.

Références bibliographiques

- ¹Delmas, G., F. Le Querrec., A. Gallay., E. Espié., N. Pihier., F-X. Weill., H. De Valk., V. Vaillant. J.C Desenclos. 2006. Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005, In : BEH 51-52, 418-422.
- ²Delmas, G., N. Jourdan. da Silva., N. Pihier., F.X. Weill., V. Vaillant., H. De Valk. 2010. Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008, In : BEH 31-32, 344-349.
- ³INVS. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives- données de la déclaration obligatoire, 2009. <http://www.invs.sante.fr/surveillance/tiac/donnees.htm>
- ⁴Delmas, G., F. Le Querrec., F-X. Weill., A. Gallay., E. Espié., S. Haeghebaert., and V. Vaillant. 2005. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001-2003, In : Surveillance nationale des maladies infectieuses, 2001-2003. InVS, 1-10.
- ⁵Daurat, G. 1994 Une épidémie de gastro-entérites aiguës à virus Norwalk-like liée à la consommation d'huîtres dans l'Hérault, Décembre 1992, BEH 37:170-171.
- ⁶Miossec, L., F. Le Guyader, L. Haugarreau., M-A. Comps , M. Pommepuy. 1998. Possible relation between a winter epidemic of acute gastroenteritis in France and viral contamination of shellfish. J. Shellf. Res. 17: 1661-1664.
- ⁷Le Guyader, F., F. Bon., D. DeMedici., S. Parnaudeau. , A. Bertone., S. Crudeli. , A. Doyle., M. Zidane., E. Suffredini., E. Kohli., F. Maddalo., M. Monini., A. Gallay., M. Pommepuy., P. Pothier. and F.M. Ruggeri. 2006. Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. J. Clin. Microbiol., 44: 3878-3882
- ⁸Faillie, J.L., V. Ciccheler., O. Serais., J.C. Le Saux., S. Le Guyader., M. Pommepuy. 2007. Toxi-infections alimentaires collectives liées à la consommation d'huîtres de la lagune de Thau contaminées par des virus entériques, France, février 2006, InVs-Ifremer, 27pp.
- ⁹Afssa., 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 Arcachon, Février 2008, 82pp.
- ¹⁰Thomas A., J.C Le Saux., J. Ollivier., H. Maalouf ., M. Pommepuy ., S. Le Guyader. 2011. Norovirus et huîtres : de la terre à la mer ! *Virologie*, 15(6), 353-360.
- ¹¹Laverick, M. A., A. P. Wyn-Jones, and M. J. Carter. 2004. Quantitative, RT-PCR for the enumeration of noroviruses (Norwalk-like viruses) in water and sewage. Lett. Appl. Microbiol. 39: 127–136.
- ¹²Myrmel, M., E. M. M. Berg, B. Grinde, and E. Rimstad. 2006. Enteric viruses in inlet and outlet samples from sewage treatment plants. J. Water Health 4: 197–209.
- ¹³Ueki, Y., D. Sano., T. Watanabe., K. Akiyama., and T. Omura. 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: 4271–4280.
- ¹⁴Westrell, T., P. Teunis., H. van den Berg., W. Lodder., H. Ketelaars., T. A. Stenstrom., and A. M. D. Husman. 2006. Short- and long-term variations of norovirus concentrations in the Meuse River during a 2-year study period. Water Res. 40: 2613–2620
- ¹⁵Goodgame, R. W. 2001. Viral causes of diarrhea. Gastroent. Clin. N. Am. 30: 779–795.
- ¹⁶Svraka, S., E. Duizer, H. Vennema, E. de Bruin, B. van der Veer, B. Dorresteyjn, and M. Koopmans. 2007. Etiological role of viruses in outbreaks of acute gastroenteritis in The Netherlands from 1994 through 2005. J. Clin. Microbiol. 45: 1389–1394.
- ¹⁷Widdowson, M. A., A. Sulka, S. N. Bulens, R. S. Beard, S. S. Chaves, R. Hammond, E. D. P. Salehi, E. Swanson, J. Totaro, R. Woron, P. S. Mead, J. S. Bresee, S. S. Monroe, and R. I. Glass. 2005. Norovirus and foodborne disease, United States, 1991-2000. Emerg. Infect. Dis. 11: 95–102.

- ¹⁸Agreste. 2005. Recensement de la conchyliculture 2001, Agreste cahier conchyliculture N°1, 89pp.
- ¹⁹Ofimer. 2007. Bilan annuel 2006, Consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture, 94 pp.
- ²⁰Afssa, Etude des consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et oméga 3 (CALIPSO) Août 2006, 160pp.
- ²¹Nenonen, N.P., C. Hannoun, P. Horl, B. Hernroth, T. Bergstrom. 2008. Tracing of norovirus outbreaks strains in mussels collected near sewage effluents. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 2544-2549.
- ²²Umesh, K.R., N. C. Bhavani, M. N. Venugopal, I. Karunasagar, G. Krohne, and I. Karunasagar. 2008. Prevalence of human pathogenic enteric viruses in bivalve molluscan shellfish and cultured shrimp in south west coast of India. *Int. J. Food Microbiol.* 122: 279-286.
- ²³Nishida, T., H. Kimura., M. Saitoh., M. Shinohara., M. Kato., S. Fukuda., T. Munemura., T. Mikami., A. Kawamoto., M. Akiyama., Y. Kato., K. Nishi., K. Kozawa., & O. Nishio. 2003. Detection, quantitation and phylogenetic analysis of noroviruses in Japanese oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (10), 5782-5786.
- ²⁴Nishida, T., O. Nishio., M. Kato., T. Chuma., H. Kato., H. Iwata., & H. Kimura. 2007. Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two district sea areas in japan. *Microbiol Immunol*, 51, 177-184.
- ²⁵Choo, Y-J., and S-J. Kim. 2006. Detection of human adenoviruses and enteroviruses in Korean oysters using cell culture, integrated cell culture-PCR and direct PCR. *J. Microbiol.* 44: 16-170.
- ²⁶Lodder, W.J. and A.M. De Roda Husman. 2005. Presence of norovirus and other enteric viruses in sewage and surface waters in The Netherlands. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 1453-1461.
- ²⁷Henshilwod, K., J. Green., and D. N. Lees. 1998. Monitoring the marine environment for small round structured viruses (SRSVS): a new approach to combating the transmission of these viruses by molluscan shellfish. *Wat. Sci. Tech.* 38: 51-56.
- ²⁸Lowther, J., K. Henshilwod., and D. L. Lees. 2008. Determination of norovirus contamination in oysters from two commercial harvesting areas over an extended period, using semiquantitative real-time reverse transcription PCR. *J. Food Prot.* 71: 1427-1433.
- ²⁹Costantini, V, F. Loisy., L. Joens., F.S. Le Guyader., and L. J. Saif. 2006, Human and animal enteric caliciviruses in oysters from different coastal regions of the United States, *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 1800-1809.
- ³⁰Cheng, P.K., D. K. Wong., T. W. Chung., and W. W. Lim. 2005. Norovirus contamination found in oysters worldwide. *J. Med. Virol.* 76 : 593-597.
- ³¹Flannery, J., S. Keaveney., & W. Dore. 2009. Use of RNA bacteriophages to indicate the risk of norovirus contamination in Irish oysters. *J Food Prot*, 72, 2358-2362.
- ³²Anonyme. Rapport annuel 2009 – Laboratoire de Microbiologie – Département Environnement, Microbiologie et Phycotoxines. 2010. 50p., www.ifremer.fr/nantes/environnement.htm.
- ³³Lee, T., C. Yamw., T. Y. Tam., B. S. W. Ho., M. H. Ng., and M. J. Broom. 1999. Occurrence of hepatitis A virus in green-lipped mussels (*perna viridis*). *Wat. Res.* 33: 885-889.
- ³⁴Croci, L., D. De Medici., C. Scalfaro., A. Fiore, M. Divizia., D. Donia., M. Cosentino, P. Moretti., and G. Costanti. 2000. Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and *Escherichia coli* in adriatic sea mussels. *J. Appl. Microbiol.* 88: 293-298.
- ³⁵Chironna, M., C. Germinario., D. De Medici., A. Fiore., S. Di Pasquale., M. Quarto., and S. Barbuti. 2002. Detection of hepatitis A virus in mussels from different sources marketed in Puglia region (South Italy). *Int. J. Food Microbiol.* 75: 11-18.
- ³⁶De Medici D, L. Croci., E. Suffredini., and L. Toti. 2004. Reverse transcription booster PCR for detection of noroviruses in shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 6329-6332.
- ³⁷Myrmel, M., E. M. Berg., E. Rimstad., and B. Grinde. 2004. Detection of enteric viruses in shellfish from the Norwegian coast. *Appl. Env. Microb.* 70: 2678-2684.

- ³⁸Hernroth, B. E., A-C. Conden-Hansson., A-S. Rehnstam-Holm., R. Girones., and A. K. Allard. 2002. Environmental factors influencing human viral pathogens and their potential indicator organisms in the blue mussel, *Mytilus edulis*: the first scandinavian report. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 4523-4533.
- ³⁹Formiga-Cruz, M., G. Tofino-Quesada., S. Bofill-Mas., et al. 2002. Distribution of human virus contamination in shellfish from different growing areas in Greece, Spain, Sweden, and the United Kingdom. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5990-5998.
- ⁴⁰Boxman, I. L. A., J. J. H. C. Tilburg., N. A. J. M. te Loeke., H. Vennema., K. Jonker., E. de Boer., and M. Koopmans. 2006. Detection of noroviruses in shellfish in the Netherlands, *Int. J. Food Microbiol.* 108: 391-396.
- ⁴¹ Suffredini, E., C. Corrain., G. Arcangeli., L. Fasolato., A. Manfrin., E. Rosseti., E. Biazzini., R. Mioni., E. Pavoni., M.N. Losio., G. Sanavio., and L. Croci. 2008. Occurrence of enteric viruses in shellfish and relation to climatic-environmental factors. *Lett Appl Microbiol.* 47, 467-474.
- ⁴² Vilarino, M.L., F.S. Le Guyader., D. Polo., J. Schaeffer., J. Krol., & J.L. Romalde. 2009. Assessment of human enteric viruses in cultured and wild bivalve molluscs. *Int Microbiol.* 12, 145-151.
- ⁴³ Le Guyader F.S., S. Parnaudeau., J. Schaeffer., A. Bosch., F. Loisy., M. Pommepuy., L.R. Atmar. 2009. Detection and Quantification of Noroviruses in Shellfish. *AEM*, Vol 75 N°3, p. 618-624.
- ⁴⁴Costafreda, M.I., A. Bosch., and R.M. Pinto. 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: 3846-3855
- ⁴⁵Da Silva, A.K., J.C. Le Saux., S. Parnaudeau., M. Pommepuy., M. Elimelech., and F.S. Le Guyader. 2007. Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment, using real-time reverse transcription-PCR: different behaviors of genogroups I and II. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73: 7891-7897.
- ⁴⁶ Ratiskol. G. Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole Département de la Vendée, édition 2010. IFREMER, RST/LER/MPL/10-13. Août 2011, pp 61.
- ⁴⁷ Réseau Sentinelles, INSERM, UPMC". Bilan annuel 2010. <http://www.sentiweb.fr>
- ⁴⁸ Réseau Sentinelles, INSERM, UPMC". Bilan hebdomadaire. <http://www.sentiweb.fr>
- ⁴⁹ Anziani A. Rapport d'information sur les conséquences de la tempête Xynthia. Tome 1, N°647 session 2009-2010, Enregistré à la Présidence du Sénat le 7 juillet 2010, pp 227.
- ⁵⁰ Grodzki M., J. Ollivier., J.C. Le Saux., J.C. Piquet., M. Noyer., F.S. Le Guyader. Impact of Xynthia tempest on viral contamination of shellfish. 2012. *Appl. Environ. Microbiol* (sous presse)