

Synthèse de la journée Santé Environnement et Microbiologie 2021

Le 14 décembre 2021, cité des congrès Nantes



Sommaire

Table des matières

1	Introduction	4
2	Les activités de Référence.....	5
2.1	Bilan activités LNR (<i>Pascal Garry, Ifremer</i>).....	5
2.2	Bilan des EILs (<i>Gaëlle Kaelin, Ifremer</i>)	5
2.3	Point sur la normalisation (<i>Pascal Garry, Ifremer</i>)	6
2.4	Plan exploratoire sur la prévalence des <i>Vibrio</i> entéropathogènes dans les coquillages mis sur le marché (<i>Pascal Garry, Ifremer</i>)	7
3	Les activités de surveillance.....	8
3.1	Bilan et indicateurs de mise en œuvre REMI 2020 (<i>Jean-Côme Piquet, Ifremer</i>)	8
3.2	Point sur les études sanitaires (<i>Sophie Rocq, Ifremer</i>)	9
4	Réglementation (<i>Charlotte Chabanne, BPMED DGAI</i>)	10
5	La contamination des zones conchyliques : anticiper, diagnostiquer.....	11
5.1	Un outil statistique pour mieux anticiper les contaminations microbiologiques des coquillages liées à la pluviométrie (<i>Jean-Côme Piquet, Ifremer</i>)	11
5.2	Présentation du réseau OBEPINE, (<i>Vincent Marechal, Sorbonne Université, Réseau OBEPINE</i>)	12
5.3	Suivi en milieu côtier de la dispersion du SARS-CoV-2 (<i>Candice Wacrenier, Sophie Rocq Ifremer</i>).....	12
5.4	Profils de vulnérabilité conchylicole sur le secteur Auray Quiberon : méthodologie et actions engagées (<i>Sonia Gachelin, Cédric Serres AQTA</i>)	13
5.5	Les marqueurs d'identification de sources de contaminations fécales : des communautés bactériennes aux marqueurs qPCR (<i>Michèle Gourmelon, Ifremer</i>)	14
5.6	Les marqueurs d'identification de sources de contaminations fécales : application aux différentes problématiques environnementales (<i>Gaël Durand, Laboceq</i>)	15
6	Conclusion	15

1 Introduction

La journée santé environnement microbiologie est organisée chaque année par le Laboratoire Santé, Environnement et Microbiologie (LSEM). Cette journée permet de présenter un bilan des activités liées aux missions de Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des coquillages ainsi que de la surveillance (REMI). Cette journée est également l'occasion de présenter les derniers résultats de la recherche menée au LSEM et dans d'autres structures ayant des activités en lien avec la sécurité sanitaire des coquillages. En 2020 en raison du contexte sanitaire, cette réunion n'a pas pu se dérouler. En 2021, 82 personnes ont participé à cette journée qui s'est déroulée le 14 décembre à la cité des congrès de Nantes. Y participaient des représentants de l'administration centrale (DGAI), des administrations locales (ARS, DDTM, DDPP, CIRE), des agences de l'eau, des professionnels (CRC) et des laboratoires agréés (Figure 1).

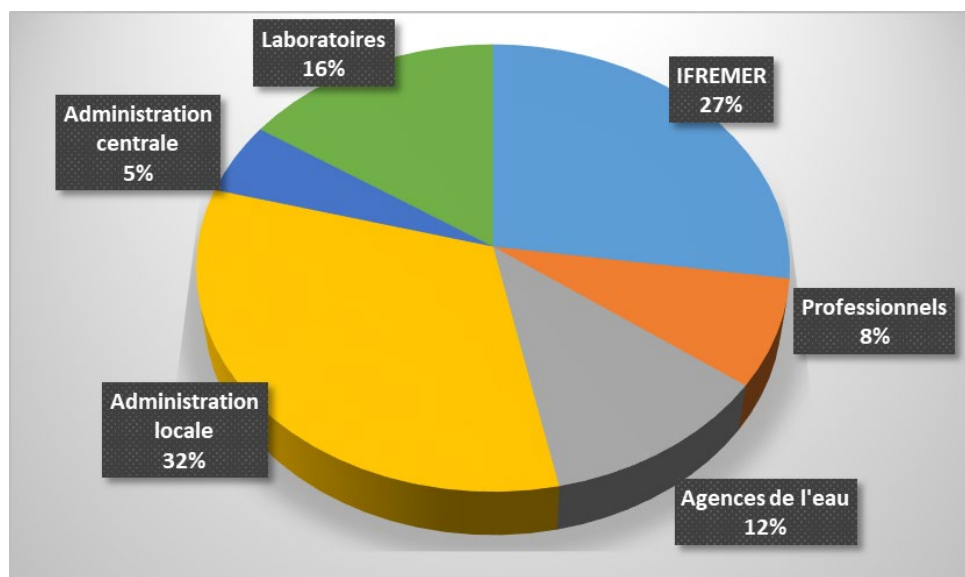


Figure 1 : Répartition des participants à la journée microbiologie sanitaire

La journée a été ouverte par Olivier Le Pivert - Adjoint à la coordination de l'expertise scientifique en appui aux politiques publiques à l'Ifremer - qui a rappelé l'implication de l'Ifremer que ce soit par ses actions de recherche mais aussi d'appui aux politiques publiques au travers de ses missions de laboratoire de référence pour la microbiologie des coquillages et de surveillance dans le REMI.

Les interventions ont été réparties en 4 grandes thématiques :

- Les activités de référence 2020/2021
- Les activités de surveillance
- La réglementation
- La contamination des zones conchylicoles : anticiper, diagnostiquer (études en cours)

2 Les activités de Référence

2.1 Bilan activités LNR (*Pascal Garry, Ifremer*)

Après un rapide rappel des missions en tant que Laboratoire National de Référence pour la microbiologie des coquillages, les différentes réunions en appui à l'administration auxquelles le laboratoire a assisté ont été citées. Plus particulièrement, le laboratoire a participé à la rédaction de la note d'appui scientifique et technique de l'ANSES relative à « l'état des connaissances disponibles sur la présence, l'infectiosité et la persistance du virus SARS-CoV-2 dans le milieu aquatique ». Autre événement de cette année 2021, la participation de membres du LSEM à une formation TAIEX (Technical Assistance and Information Exchange) à destination de laboratoires officiels du Maroc sur la détection des virus dans les aliments. A la demande du BPMED, une revue bibliographique sur les risques de contamination des coquillages par les contaminations d'origine aviaire a été rédigée.

<https://archimer.ifremer.fr/doc/00623/73462/>.

Il a été rappelé que le LNR anime 3 réseaux de laboratoires :

- ✓ 21 laboratoires pour le dénombrement des *E. coli*
- ✓ 18 laboratoires pour la détection de *Salmonella*
- ✓ 5 laboratoires pour la détection des norovirus

Le bilan des analyses officielles réalisées en 2020 par les laboratoires agréés et par le LSEM dans le cadre de TIAC a été présenté. L'hiver 2019-2020 a été particulièrement impacté par l'épidémie de gastro-enterite aiguë.

Le réseau de laboratoire agréés pour la détection des norovirus dans les coquillages a ainsi analysé 109 échantillons d'huîtres creuses et 1 échantillon de moules. La présence de norovirus a été détectée dans 81 de ces 110 échantillons.

Le LNR a reçu 31 échantillons d'huîtres dont 7 restes de repas. Pour les 7 restes de repas, trois échantillons étaient positifs en norovirus des génogroupes I et II et deux échantillons positifs en norovirus du génogroupe II uniquement. Les prélèvements effectués sur zone de production (points REMI) étaient tous positifs en norovirus des deux génogroupes.

Le laboratoire a apporté son appui scientifique et technique aux laboratoires agréés dans l'application de la norme ISO 15216-2 pour la détection des norovirus et notamment sur des problèmes de rendement d'extraction, et à un laboratoire mettant en place la méthode NF V08-106 pour le dénombrement des *E. coli*. Ce laboratoire a obtenu son accréditation par le Cofrac.

2.2 Bilan des EILs (*Gaëlle Kaelin, Ifremer*)

Le laboratoire organise des Eils pour chacun des trois réseaux de laboratoires agréés qu'il anime (**Tableau 1**).

Pour *E. coli* la performance des laboratoires est jugée selon deux critères :

- ✓ La Justesse qui estime la faculté d'un laboratoire à donner des mesures dont la moyenne est proche de la valeur vraie (valeur assignée).
- ✓ La Fidélité qui estime la faculté du laboratoire à donner des mesures répétables (réplicats)

Pour *Salmonella*, norovirus et virus de l'hépatite A, la performance est jugée par la capacité du laboratoire à détecter (ou non) le micro-organisme dans l'échantillon.

Tableau 1 : Nombre de participants et d'échantillons envoyés pour chacun des EILs organisés par le LSEM

Paramètre / Matrice	Nombre d'échantillons /par laboratoire	Nombre de laboratoires participants
<i>E. coli</i> (huîtres vivantes)	5 échantillons	31 laboratoires
<i>Salmonella spp.</i> (huîtres vivantes)	2 échantillons	24 laboratoires
Norovirus et virus de l'hépatite A (huîtres congelées)	3 échantillons	9 laboratoires

Pour le dénombrement des *E. coli* selon la méthode NF EN ISO 16649-3 la performance de 3 laboratoires a été jugée discutable (2 pour la justesse et 1 pour la fidélité). La performance des laboratoires est en amélioration par rapport aux années précédentes.

Pour *Salmonella* l'ensemble des laboratoires a obtenu une performance satisfaisante.

Pour les norovirus, un laboratoire a présenté une performance discutable en raison d'un rendement d'extraction non conforme pour un échantillon et un laboratoire a présenté une performance non satisfaisante basée sur un rendement d'extraction non conforme pour deux échantillons.

Depuis 2019 le laboratoire mène différentes actions de simplification comme l'harmonisation des documents entre les différents EILs (norovirus, *E. coli* et *Salmonella spp*), la simplification des rapports d'essais d'aptitude et la création et mise à disposition de formulaires informatiques (formulaires d'inscription, d'enquête de satisfaction et de saisie en ligne des résultats). L'automatisation des traitements statistiques a également été réalisée.

Le prochain EIL se déroulera le 28 mars 2022 (date d'envoi des échantillons).

2.3 Point sur la normalisation (Pascal Garry, Ifremer)

Le laboratoire est membre de la Commission Afnor V08B et de différents groupes de travail, ainsi que ceux du CEN. A ce titre, il participe aux groupes de travail « Statistiques - Incertitudes de mesure », validation de méthode. Il participe également aux travaux du CEN/TC 275 WG 6 TAG3 « Recherche des *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* dans les aliments » et CEN/TC 275 WG 6 TAG4 "Les virus dans les aliments" : norovirus et virus de l'hépatite A.

Un focus a été fait sur la NF EN ISO 19036 : Microbiologie de la chaîne alimentaire - Estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives (novembre 2019). Le LNR a estimé les incertitudes de mesure pour le dénombrement des *E. coli* dans les coquillages par les méthodes NF EN ISO 16649-3 (NPP) et NF V08-106 (Impédancemétrie) (**Tableau 2**) et pour la quantification des norovirus dans les coquillages (**Tableau 3**).

Tableau 2 : Incertitudes de mesure (IM) pour le dénombrement des *E. coli* dans les coquillages

Méthode	IM Matrice	IM technique	Uc incertitude composée	U élargie
NF EN ISO 16649-3	0,23 log/100g	0,27 log/100g	0,35 log/100g	0,70 log/100g
NF V08-106	0,19log/100g	0,27 log/100g	0,33 log/100g	0,65 log/100g

Tableau 3 : Incertitudes de mesure (IM) pour la quantification des norovirus GI et GII dans les coquillages

Méthode	IM Matrice	IM technique	Uc incertitude composée	U élargie
Norovirus GI NF EN ISO 15216-1	0,12 logcARN/g	0,27 logcARN/g	0,30 logcARN/g	0,59 log cARN/g
Norovirus GII NF EN ISO 15216-1	0,13 logcARN/g	0,27 logcARN/g	0,30 logcARN/g	0,60 log cARN/g

2.4 Plan exploratoire sur la prévalence des *Vibrio* entéropathogènes dans les coquillages mis sur le marché (Pascal Garry, Ifremer)

Les vibrions, bactéries de la famille des *Vibrionaceae*, sont présents naturellement dans les eaux côtières et estuariennes du monde entier et chez de nombreuses espèces de coquillages et de crustacés fréquemment consommés en France. Certaines espèces (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139) peuvent induire des pathologies chez l'Homme suite à la consommation de produits de la mer crus, insuffisamment cuits ou contaminés après cuisson. Le plan exploratoire mis en œuvre en 2019 par la DGAl avait pour objectif d'estimer la contamination de produits de la mer, prélevés au stade de la distribution en France, par ces trois espèces de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes et par conséquent l'exposition potentielle des consommateurs. L'étude a été menée par le LSEM pour les coquillages vivants et l'ANSES pour les crustacés/coquillages décoquillés-congelés. Les résultats présentés lors de cette journée ne concernent que les coquillages. Les prélèvements (59 lots d'huîtres et 33 lots de moules) ont été répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain et réalisés entre le 1^{er} avril et 30 novembre.

La contamination des échantillons a été déterminée selon la méthode décrite dans la norme ISO 21872-1:2017.

Des souches de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes ont été isolées (**Figure 2**) dans les moules et dans les huîtres. Deux échantillons de moules étaient contaminés par *V. cholerae* non-O1/non-O139 mais les souches isolées ne possédaient pas les gènes codant pour la toxine cholérique (ctxA et ctxB). *Vibrio vulnificus* a été isolé à partir d'un échantillon de moules et un échantillon d'huîtres. *Vibrio parahaemolyticus* porteur d'au moins un gène codant pour une hémolysine (TDH ou TRH) a été isolé dans 19 échantillons.

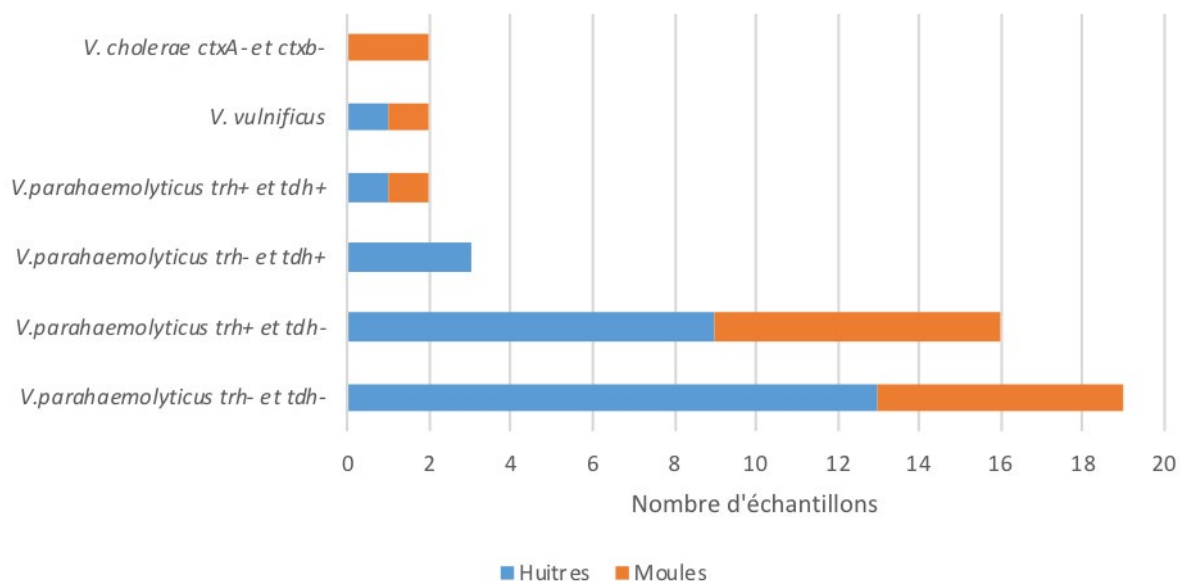


Figure 2 : Détection de *Vibrio* spp. potentiellement entéro-pathogène (colonies) selon l'espèce de coquillage.

3 Les activités de surveillance

3.1 Bilan et indicateurs de mise en œuvre REMI 2020 (Jean-Côme Piquet, Ifremer)

Depuis 2018, l'Ifremer apporte un appui scientifique et technique à l'Etat pour la mise en œuvre du REMI (Réseau de contrôle microbiologique des zones de production de coquillages), à travers une mission d'assistance à maîtrise d'ouvrage (AMO).

22 % des zones surveillées sont de bonne qualité (A), 72% de qualité moyenne (B) et 6 % de qualité dégradée (C ou non classées). Les tendances sur les 10 dernières années sont majoritairement à l'amélioration.

Dans le cadre de l'AMO, l'Ifremer a mis en place différents indicateurs tels que le taux de réalisation en surveillance régulière et en alerte, le respect des délais pour le premier prélèvement suite à une alerte, le taux de conformité des lieux de prélèvement, le taux de renseignement des coordonnées des lieux et enfin le taux de transmission des documents d'enregistrement « terrain » (**Figure 3**). Globalement ces indicateurs montrent une mise en œuvre maîtrisée et en amélioration.

Pour conclure une synthèse des faits marquants pour la mise en œuvre 2020 a été présentée :

- ✓ augmentation continue et régulière de l'effort de surveillance
- ✓ mise en œuvre maîtrisée par les opérateurs et en amélioration
- ✓ continuité de la surveillance malgré la pandémie
- ✓ vigilance et des progrès identifiés pour le respect des coordonnées des lieux de prélèvements
- ✓ grand nombre d'alertes en 2020 avec un recours accru aux alertes préventives (N0)
- ✓ meilleure efficacité des alertes pluviométriques par rapport aux autres signaux en surveillance événementielle

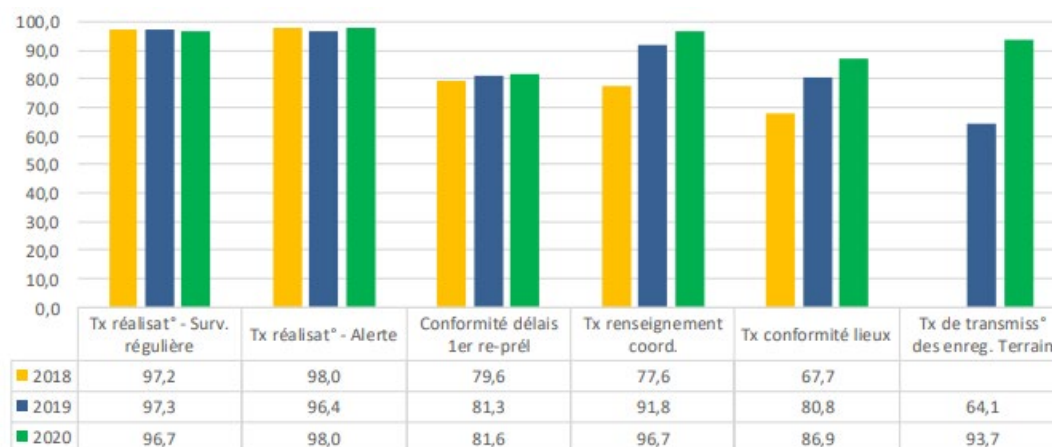


Figure 3 : Evolution annuelle des indicateurs de mise en oeuvre (%) de la surveillance

3.2 Point sur les études sanitaires (Sophie Rocq, Ifremer)

Le principe du déroulement d'une étude sanitaire (définie par le Règlement (UE) 2017/625 et Règlement d'exécution (UE) 2019/627 - article 56) a été rappelé (**Figure 4**).

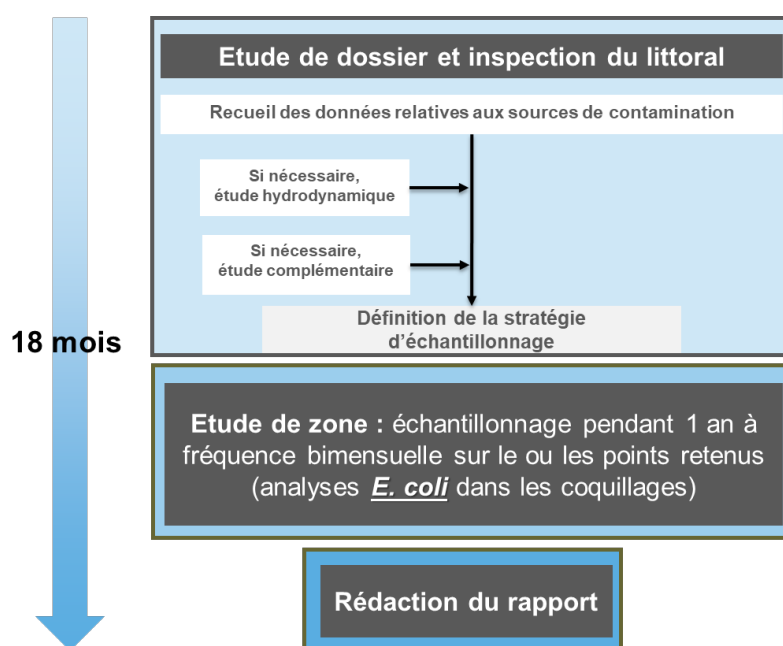


Figure 4 : Déroulement d'une étude sanitaire

Les différentes études sanitaires en cours et leur degré d'accomplissement ont été rappelés (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Etudes sanitaires en cours

Convention DGAL-Ifremer	N° / nom zone	Groupe de coquillages
2019-2020	14.041 - Pointe du Siège à Ouistreham	2 (+ groupe 3)
	2956.08.100 – Rivière de la Laïta aval	2 et 3
	56.01.1 – Zone du large (Quiberon), dont zone de parcs à Houat	2 et 3
	50.04 - Utah-Beach-Quinéville	2 (+ groupe 3)
	50.14, 50.14.01, 50.14.02 – Gouville à Blainville	2 et 3
	50.24 – Baie du Mont-Saint-Michel	2
	76 - Saint-Aubin-sur-Mer, Quiberville-sur-Mer	3
2020-2021	Sud de la zone 17.10.04 - Daire	2
	17- Château sud	2
	29.08.061 et 62 – Rivière du Bélon intermédiaire et aval	2 et 3
	85.01.01 et 03 – Nord-ouest et nord-est baie de Bourgneuf	2 et 3
	56.08.1 – Baie de Plouharnel	2 et 3
2021-2022	56.08.2 – Baie de Quiberon	2 et 3
	33 – Ensemble des zones (9) du bassin d’Arcachon + zone du banc d’Arguin	2 et 3
	85.07 – Chenaux du Payré	3

Pour la période 2022-2023, 7 demandes d’études sont parvenues à la DGAL et sont en cours d’examens.

De nombreuses zones de production classées n’ont jamais fait l’objet d’étude sanitaire, une réflexion est en cours pour établir un plan de travail et intégrer ces zones dans les conventions futures.

4 Réglementation *(Charlotte Chabanne, BPMED DGAL)*

Le bureau des produits de la mer (BPMED) de la DGAL a fait un point sur les activités réglementaires.

Ainsi, le règlement (UE) 2017/625 a été modifié par le règlement (UE) 2021/1756 du 6 octobre 2021. Il y est précisé que tous les échinodermes non filtreurs peuvent désormais être récoltés en dehors des zones classées, de même que les gastéropodes marins non filtreurs et les pectinidés. Les oursins sont donc de nouveau concernés par cette dérogation. Il est cependant nécessaire de mettre en cohérence le règlement (CE) n°853/2004 et des actes secondaires liés au règlement (UE) 2017/625.

Deux instructions techniques devraient être mises à jour

- ✓ IT DGAL/SDSSA/2020-759 du 8 décembre 2020 : « Mise en œuvre technique et financière du dispositif de surveillance sanitaire microbiologique et phycotoxinique des zones de production de coquillages (REMI et REPHYTOX). »
- ✓ IT DGAL/SDSSA/2020-785 du 17 décembre 2020 : « Gestion du risque norovirus en lien avec la consommation de coquillages. » (demande de prélèvement en double des échantillons à des fins de recherche)

Un bilan des TIACs à norovirus pour les hivers 2019/2020 et 2020/2021 a été fait. Les épidémies de gastroentérite ont été particulièrement nombreuses pendant l’hiver 2019/2020 entraînant 37 fermetures de zones de production dont certaines supérieures à 40 jours. Pour l’hiver 2020/2021 le nombre de TIACs et en conséquence de fermetures était moins nombreux et concernait des zones connues pour « leur sensibilité ».

Un point a ensuite été fait sur les discussions en cours sur la réglementation des norovirus dans les coquillages. Deux réunions de discussions ont eu lieu l'une le 14 février 2020 et l'autre le 16 novembre 2021.

Les propositions de la commission étaient les suivantes :

- ✓ Inscription d'obligations pour les professionnels dans le règlement (CE) n°853/2004
- ✓ Prise en compte du danger « norovirus » dans le plan de maîtrise sanitaire
- ✓ Autocontrôles sur 10% des lots d'huîtres mis sur le marché entre novembre et avril, au niveau du centre d'expédition (ou de la zone de production)
- ✓ Seuil d'acceptabilité : 500 copies par g (chair ou de tissus digestifs ?)

Restent soumis à discussion différents points : le stade des autocontrôles, le pourcentage d'autocontrôles et le seuil.

La position de l'administration française est prudente et rappelle qu'il n'y a pas d'information sur l'infectiosité des virus détectés et peu de données sur la relation dose/réponse et qu'il est donc difficile de proposer un critère permettant de prévenir les cas humains. Le seuil des 500 copies permettrait d'écarter du marché des produits fortement contaminés. La France demande également de prévoir le devenir des lots contaminés (ré-immersion, purification, ...).

5 La contamination des zones conchylicoles : anticiper, diagnostiquer

5.1 Un outil statistique pour mieux anticiper les contaminations microbiologiques des coquillages liées à la pluviométrie *(Jean-Côme Piquet, Ifremer)*

La pluviométrie peut générer une augmentation des apports microbiologiques soit par lessivage des sols et/ou saturation des réseaux eaux usées et des stations d'épuration mais aussi en diminuant les temps de transfert sur les bassins versants. La pluviométrie reste cependant un facteur indirect de risque de contamination et est très site-dépendant.

Les objectifs de cette étude sont multiples, il s'agit de développer un outil statistique pour mieux anticiper les contaminations microbiologiques des coquillages liées à la pluviométrie.

Cet outil permet d'identifier les lieux REMI sensibles à la pluviométrie, et pour ces lieux, de déterminer la variable de cumul pluviométrique la mieux corrélée à la contamination ainsi que les probabilités de dépassement des seuils d'alerte en fonction de la pluviométrie. Pour cela, une analyse rétrospective des données REMI et des données de pluviométrie a été faite. Un travail de modélisation (modèles Bayésiens) de la contamination microbiologique en fonction de la pluviométrie a été mené.

Cette analyse a permis de classer les sites en fonction de leur sensibilité à la pluviométrie en 5 classes (très sensible, sensible, moyennement sensible, peu sensible et non significatif). Pour les zones identifiées comme sensibles ou très sensibles, un tableau d'aide à la décision sera créé. Il indiquera les probabilités de dépassement des seuils d'alerte pour quelques valeurs repères de pluviométrie, choisies en fonction du nombre moyen d'alertes qu'elles généreraient par an. Ces valeurs seront données pour la variable de cumul pluviométrique présentant la meilleure corrélation avec la contamination et pour la pluviométrie de la veille (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Exemple d'éléments d'aide pour le déclenchement d'alerte 0

Lieu REMI (mnémo – libellé / taxon)	Station météo	Période de cumul pluie	Seuil (mm)	Nb annuel d'alertes (moyenne)	Probabilité médiane de dépassement des seuils (%)		
					700 <i>E. coli</i>	4 600 <i>E. coli</i>	
095-P-089 Etang d'Ayguades - Ciné	Palourdes	Narbonne	Pluie_72	51	5	84%	61%
			(meilleure corrélation)	67	3	88%	67%
			93	1	91%	73%	
			Pluie la veille (Jm1)	24	5	85%	65%
			33	3	89%	71%	
52	1	93%	79%				

Si on fixe un seuil d'alerte pluviométrique à 93 mm sur 72h, la probabilité médiane de dépasser le seuil de 4 600 *E. coli* est de 73% et ce seuil générerait en moyenne une alerte par an.

Si on fixe un seuil d'alerte pluviométrique à 52 mm la veille, la probabilité médiane de dépasser le seuil de 4 600 *E. coli* est de 79% et ce seuil générerait en moyenne une alerte par an.

5.2 Présentation du réseau OBEPINE, (Vincent Marechal, Sorbonne Université, Réseau OBEPINE)

Le consortium **OB**servatoire **ÉPI**démiologique daNs les **E**aux usées (OBEPINE) fondé par Eau de Paris, Sorbonne université, le Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour les Matériaux et l'Environnement (LCPME), l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) et l'Ifremer a proposé d'utiliser la quantification du SARS-CoV-2 dans les eaux usées (le virus est excrété dans les selles) comme outil épidémiologique pour le suivi de la progression de l'épidémie dans la population dès avril 2020. Après la démonstration de l'intérêt épidémiologique du suivi de SARS-Cov-2 sur un nombre réduit de stations d'épuration (suivi bi-hebdomadaire), le nombre de stations d'épuration suivies sur l'ensemble du territoire représente maintenant 150 stations réparties sur tout le territoire métropolitain mais également des territoires d'outre-mer. Pour assurer une bonne homogénéité des résultats un réseau de 12 laboratoires a été constitué, avec mise à disposition de méthodes. L'expérience du LSEM a permis la réalisation d'essais inter-laboratoires sur l'approche quantitative du SAR-CoV-2 et ainsi de valider la capacité des laboratoires à rendre des résultats fiables. Ce suivi bi-hebdomadaire a clairement montré l'intérêt de ces analyses pour anticiper les différents pics qui ont pu ensuite être observés dans la population, mais aussi l'impact de différents facteurs (confinement, congés...). Ces observations doivent permettre d'anticiper des actions à mettre œuvre pour maîtriser le risque lié au SARS-CoV-2.

Afin de pérenniser les activités de recherche dans le domaine des eaux usées sur le SARS-CoV-2 et ses variants, ou plus largement sur d'autres agents pathogènes ou chimiques, les membres fondateurs ont constitué un **G**roupement d'**I**ntérêt **S**cientifique (GIS).

5.3 Suivi en milieu côtier de la dispersion du SARS-CoV-2 (Candice Wacrenier, Sophie Rocq Ifremer)

Dès le début de l'épidémie de SARS-CoV-2, un plan d'action Ifremer a été mis en place par le LSEM pour évaluer une éventuelle contamination du littoral par ce virus. Pour répondre à cette question les coquillages ont été proposé comme sentinelle de la contamination considérant leur capacité de filtration.

Après analyse des données du Remi et basé sur la connaissance de la sensibilité à la contamination par les rejets humains de certaines zones du littoral, 21 sites ont été sélectionnés avec les collègues des Laboratoires Environnement Ressource de l’Ifremer. Les sites sélectionnés, assurant une couverture équilibrée des façades maritimes ont été échantillonnés tous 15 jours y compris en période de confinement entre avril et août 2020. Des prélèvements complémentaires ont été réalisés lors d’alertes microbiologiques liées à une contamination avérée ou suspectée par des eaux usées (dysfonctionnements des stations d’épuration ou réseaux d’eaux usées, pluie abondante). Dans un deuxième temps (septembre 2020 à mai 2021) le plan d’échantillonnage a été réduit aux 12 sites ayant présenté une contamination d’origine humaine la plus fréquente basée sur la détection de norovirus.

Sur l’ensemble de l’étude, il n’y a eu aucune détection de génome du SARS-CoV-2 dans les coquillages y compris lors de pollutions suspectées par des eaux usées (28 échantillons) (**Tableau 6**). Certains de ces points étaient fréquemment contaminés par des norovirus confirmant l’exposition de ces sites à des contaminations fécales humaines.

Tableau 6 : Nombre d’échantillons de coquillages prélevés et résultats de la recherche de SRAS-CoV-2 en fonction des régions.

Région	Nb d’échantillons prélevés	Nombre d’échantillons positifs en SARS-CoV-2
Normandie	47	0
Bretagne	80	0
Atlantique	128	0
Méditerranée	57	0

5.4 Profils de vulnérabilité conchylicole sur le secteur Auray Quiberon : méthodologie et actions engagées (Sonia Gachelin, Cédric Serres AQTA)

La réalisation d’un profil de vulnérabilité a pour objectif de réduire les risques de contamination par l’identification des potentielles sources de pollution aquatique du territoire, d’améliorer la qualité des eaux littorales par d’éventuels travaux, permettant ainsi le maintien et développement économique lié aux activités conchylicoles. Pour faciliter ces actions et les échanges, AQTA (Auray Quiberon Terre Atlantique) a mis en place des comités de rivière (Elus, Référents conchyliculture, CRC, représentants des administrations locales et nationales, véolia, agence de l’eau, SAGE (Schéma d’Aménagement et de Gestion des Eaux)) qui se réunissent deux fois par/an.

Ainsi pour 2021-2022 des suivis *E. coli* dans l’eau ont été effectués mensuellement sur 38 stations, et lors d’alertes pluviométriques. Des suivis ont été également réalisés au niveau d’exutoires pluviaux (29 points). Les résultats de ces suivis, présentés sous sur une carte ont montré des différences selon les points. Un suivi norovirus a été réalisé en parallèle sur des échantillons de coquillages et d’eaux. Lorsqu’un mauvais résultat en *E. coli* a été obtenu (>15 000 *E. coli*/100ml) des investigations sur le terrain ont été menées constituant un véritable travail de fourmi puisqu’il faut parfois remonter jusqu’à l’habitation non raccordée. Des contrôles de conformité de l’assainissement (collectif ou individuel) sont également réalisés.

Par ailleurs un protocole d'information et d'alerte en cas de débordement de station d'épuration ou poste de relèvement a été mis en place depuis avril 2021, afin d'avertir les professionnels de la conchyliculture d'un risque de pollution.

5.5 Les marqueurs d'identification de sources de contaminations fécales : des communautés bactériennes aux marqueurs qPCR (Michèle Gourmelon, Ifremer)

Le littoral peut être soumis à des apports de bactéries ou de virus entériques potentiellement pathogènes pour l'Homme. Ces contaminations peuvent avoir un impact sur les activités en zones côtières et des conséquences économiques importantes par la fermeture et/ou le déclassement des zones conchylicoles ou de baignade. Les sources de contamination fécale peuvent être d'origine animale ou humaine et les indicateurs utilisés (*E. coli* et entérocoques intestinaux), ne permettent pas de différencier l'origine de la contamination. Il existe différents marqueurs (bactéries, virus, bactériophages, composés chimiques) associés à l'hôte qui peuvent être utilisés comme traceurs de source de contamination.

Des travaux ont été menés pour identifier des bactéries cibles permettant de différencier une origine humaine ou animale, et discriminer la source animale de ces contaminations.

Différents marqueurs microbiens (*Bacteroidales*) ont été développés, validés et caractérisés (sensibilité, spécificité) et sont utilisés au LSEM dans le cadre de travaux de recherche (Tableau 7).

Tableau 7 : Marqueurs bactériens et caractéristiques pouvant être utilisés comme traceur de source

Marqueurs qPCR bactériens	Hôtes	Cible bactérienne	Sensibilité	Spécificité
HF183Sybr Seurinck <i>et al.</i> , 2005	Humain	<i>Bacteroidales</i>	78% (n=41)	99% (n=98)
Rum2Bac Mieszkin <i>et al.</i> , 2010	Bovin & ovin	<i>Bacteroidales</i>	98% (n=40)	94% (n=97)
Pig2Bac Mieszkin <i>et al.</i> , 2009	Porcin	<i>Bacteroidales</i>	100% (n=48)	99% (n=81)
AV4143 Ohad <i>et al.</i> , 2016	Oiseaux General	<i>Lactobacillus</i>	47% (n=144)	99% (n=55)
GFD Green <i>et al.</i> , 2011	Oiseaux General	<i>Helicobacter</i>	52,8% (n=144)	96,4% (n=55)
AV43 Ohad <i>et al.</i> , 2016	Volaille	<i>Firmicutes</i>	70,2% (n=86)	98,8% (n=85)
Seal En cours (Phobi)	Phoque	<i>Bifidobacteriaceae</i>	88 % (n=50)	97,2 % (n=72)

Ces marqueurs ont démontré leur efficacité pour identifier les sources de contamination dans les eaux littorales et le bassin versant amont comme présenté avec l'exemple de la baie de la Frenaye (22). Ces outils ont été transférés à des laboratoires d'analyses où ils sont utilisés pour répondre à certaines questions sur des résultats de contamination avérées.

5.6 Les marqueurs d'identification de sources de contaminations fécales : application aux différentes problématiques environnementales (*Gaël Durand, Labocea*)

Après une présentation rapide de Labocea, l'historique du développement des marqueurs a été présenté. Les marqueurs utilisés ont été validés en regardant la spécificité, la sensibilité et la reproductibilité. Pour cela une banque de 250 échantillons de fécès représentant 20 espèces de différents animaux a été utilisée. Il a été rappelé que les marqueurs donnent un résultat qualitatif des sources mais qu'une seule analyse ne permet pas de hiérarchiser ces sources, seules des analyses répétées permettent de donner une occurrence. Les résultats obtenus sur les marqueurs doivent être croisés avec les caractéristiques du site (activité anthropique, connaissance des bassins versants...). Différents exemples d'applications et de transmission des résultats ont été présentés

6 Conclusion

Cette journée a permis de présenter le bilan d'une partie des activités du LSEM de l'Ifremer : référence (LNR), surveillance (REMI) et recherche, mais aussi des résultats de projets ou activités menés par d'autres acteurs. Elle a été également l'occasion d'échanger entre les différents acteurs de la filière conchylicole (producteurs, laboratoires et administration, agence de l'eau). En cette période de pandémie, il est important de partager les connaissances permettant de mieux analyser les échantillons de l'environnement, pour limiter les risques de transmission des agents pathogènes via l'usage du littoral.

Liste des intervenants

<i>NOM / PRENOM</i>	<i>ORGANISME</i>	<i>CONTACT</i>
CHABANNE Charlotte	DGAI - Direction Générale de l'Alimentation	bpmed.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr
DURAND Gaël	Labocéa	gael.durand@laboce.fr
GACHELIN Sonia	AQTA	sonia.gachelin@auray-quiberon.fr
GARRY Pascal	IFREMER Nantes - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie	pascal.garry@ifremer.fr
GOURMELON Michèle	IFREMER Nantes - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie	michele.gourmelon@ifremer.fr
KAELIN Gaëlle	IFREMER Nantes - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie	gaelle.kaelin@ifremer.fr
MARECHAL Vincent	Sorbonne Université, Réseau OBEPINE	vincent.marechal@sorbonne-universite.fr
PIQUET Jean-Côme	IFREMER Nantes - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie	jean.come.piquet@ifremer.fr
ROCQ Sophie	IFREMER Nantes - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie	sophie.rocq@ifremer.fr
SERRES Cédric	AQTA	cedric.serres@auray-quiberon.fr
WACRENIER Candice	IFREMER Nantes - Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie	candice.wacrenier@ifremer.fr