



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

**Évaluation 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**

- Février 2008 -

Composition du groupe de travail

- Présidence :

Virginie FERRE-AUBINEAU Centre Hospitalier Universitaire de Nantes

- Membres du Comité d'experts spécialisé "Microbiologie"

Eduardo DEI-CAS	Faculté de médecine Lille - Institut Pasteur Lille
Christophe GANTZER	Université Henri Poincaré Nancy
Jean LESNE	Afssat Maisons-Alfort
Pierre MALLE	Afssa Boulogne sur mer
Véronique VAILLANT	InVS Saint Maurice
Isabelle VILLENA	Centre Hospitalier Universitaire de Reims

- Autre expert

Anne THEBAULT PASER – DERNS - Afssa - Maisons-Alfort

- Organismes extérieurs consultés

Ifremer (Isabelle AMOUROUX et Monique POMMEPUY)
LNR Microbiologie des coquillages (Martial CATHERINE)

- Coordination scientifique

Coralie BULTEL	
Hélène AUBRY-DAMON	
Laurent GUILLIER	UERB – DERNS - Afssa - Maisons-Alfort
Sonia TENAILLEAU	

AGENCE FRANÇAISE DE SECURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

**Décision n°2006/12/575
portant création du groupe de travail
« Surveillance microbiologique des coquillages »**

La Directrice générale de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.1323-22 ;

Vu l'arrêté du 17 octobre 2006 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 4 août 2006 portant nomination des membres des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

DECIDE :

Article premier. Il est créé sur proposition de la Directrice générale et en concertation avec la présidente du comité d'experts spécialisé « Microbiologie » (MIC) un groupe de travail dénommé « Surveillance microbiologique des coquillages », dans le cadre de la saisine **2006-SA-0254** : « Demande d'avis sur le dispositif de surveillance du milieu et d'évaluation du risque lié à la consommation des coquillages, notamment dans la situation du bassin d'Arcachon », datée du 16 septembre 2006 (« *L'agence donnera son avis sur le dispositif de surveillance du milieu et d'évaluation du risque lié à la consommation des coquillages, en prenant en compte les caractéristiques environnementales complexes du bassin d'Arcachon. A la lumière de cet avis, l'Agence fournira également des recommandations sur le dispositif général de la gestion de la sécurité sanitaire des coquillages* »).

Le GT « Surveillance microbiologique des coquillages » a en charge de procéder à une évaluation du dispositif de la surveillance microbiologique du milieu et à l'évaluation du risque microbiologique lié à la consommation des coquillages, notamment dans la situation du bassin d'Arcachon.

Article 2. Le groupe mentionné à l'article premier est composé des membres suivants :

- Membres de la liste d'experts :

M. Eduardo Dei-Cas (CES « MIC »)
Mme Virginie Ferré (CES « MIC »)
M. Christophe Gantzer (CES « MIC »)
M. Jean Lesne (CES « MIC »)
M. Pierre Malle (CES « MIC »)
Mme Véronique Vaillant (CES « MIC »)
Mme Isabelle Villena (CES « MIC »)

- Personnalités scientifiques :

Mme Anne Thébault (Afssa/Paser)

Article 3. Mme Virginie Ferré est nommée présidente du groupe mentionné à l'article premier.

Article 4. Les coordinateurs des réseaux de surveillance *ad hoc* (REMI : réseau de surveillance microbiologique de l'Ifremer et réseau des laboratoires vétérinaires départementaux) seront auditionnés par le groupe mentionné à l'article premier.

Article 5. Les conclusions du groupe seront émises sous la forme d'un avis et seront présentées au comité d'experts spécialisé « Microbiologie » dans les meilleurs délais.

Article 6. La coordination scientifique du groupe mentionné à l'article premier est assurée par Mme Coralie Bultel, de la Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires.

Article 7. La présente décision sera publiée dans le *Bulletin officiel* de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Fait à Maisons-Alfort, le 19 JAN. 2007

La Directrice générale de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments



Pascale BRIAND

Sommaire détaillé

Composition du groupe de travail	2
Lettre de décision	3
Sigles	6
Quelques chiffres	7
Bilan des informations relatives à la description du dispositif de surveillance français	8
Chapitre I : Rappel de la réglementation en vigueur au regard de la surveillance microbiologique (communautaire et nationale)	10
A. Rappel des modalités de classement et de surveillance microbiologique des zones de production.....	10
B. Règlement (CE) n° 854/2004 du 29 avril 2004, annexe II.....	10
C. Règlement (CE) n° 2073/2005 du 15 novembre 2005.....	14
D. Guide européen des bonnes pratiques de surveillance microbiologique.....	14
Chapitre II : Données d'épidémiologie	18
A. Epidémiologie des maladies infectieuses liées à la consommation de coquillages en France	18
B. Epidémiologie des maladies infectieuses liées à la consommation de coquillages dans le monde	24
Chapitre III : Description et analyse du système de surveillance microbiologique du milieu et des coquillages (notamment du réseau Remi)	30
A. Identification des dangers microbiologiques dans les coquillages.....	30
B. Description du Remi	39
C. Evaluation du Remi	46
D. Analyse critique du système de surveillance / Pertinence des dispositifs de purification microbiologique des coquillages (bassins de purification).....	47
E. Pertinence de l'indicateur <i>E. coli</i> et nécessité éventuelle d'autres indicateurs.....	53
F. Pertinence de l'utilisation de la surveillance des gastroentérites comme critère d'alerte sur la dégradation des zones de production de coquillages.....	55
Chapitre IV : Surveillance assurée par les producteurs	58
A. Autocontrôles.....	58
B. Traçabilité des produits	58
C. Echanges d'information	58
Chapitre V : Classification des zones de production conchylicole et analyse des décisions de gestion	60
A. Le classement des zones de production conchylicole	60
B. Analyse historique des décisions de gestion.....	64
Chapitre VI : Organisation et mise en œuvre des contrôles officiels	67
A. Organisation	67
B. Inspections des établissements	67
C. Les plans de surveillance des coquillages mis sur le marché.....	68
D. Résultats des contrôles officiels	68
E. Missions OAV	69
Chapitre VII : Travaux en cours à l'échelon européen et international	71
A. Travaux en cours au LCR Microbiologie	71
B. Travaux à l'échelon européen et international	71
C. Normalisation européenne	72
D. Normalisation internationale	72
E. Travaux de validation d'une méthode alternative selon le protocole NF EN ISO 16140	73
Chapitre VIII : Traitements de l'eau d'approvisionnement des établissements	74
Conclusions et recommandations	75
A. Conclusions	75
B. Recommandations.....	75
Références bibliographiques	76
A. Références citées dans le texte	76
B. Autres références utilisées	79

ADN	Acide désoxyribonucléique
Afnor	Association française de normalisation
Afssa	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
ARN	Acide ribonucléique
Cefas	Centre for environment, fisheries and aquaculture science
Cen	Comité européen de normalisation
Cire	Cellule interrégionale d'épidémiologie
CLI	Chair et liquide intervalvaire
CNC	Comité national de la conchyliculture
CNR	Centre national de référence
DDAM	Direction départementale des affaires maritimes
Ddass	Direction départementale des affaires sanitaires et sociales
DDCCRF	Direction départementale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes
DDSV	Direction départementale des services vétérinaires
DGAI	Direction générale de l'alimentation
DG Sanco	Direction générale de la santé des consommateurs
DO	Déclaration obligatoire
DPMA	Direction des pêches maritimes et de l'aquaculture
Efsa	European food safety authority / Autorité européenne de sécurité des aliments
EILA	Essai inter-laboratoires d'aptitude
GEA	Gastro-entérite aiguë
HACCP	Hazard analysis critical control point / Analyse des dangers, points critiques pour la maîtrise
Ifremer	Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer
InVS	Institut de veille sanitaire
LCR	Laboratoire communautaire de référence
LER	Laboratoire environnement ressources
LNR	Laboratoire national de référence
MG	Médecins généralistes
MISSA	Mission interservices de sécurité sanitaire des aliments
NPP	Nombre le plus probable
OAV	Office alimentaire et vétérinaire
Oscour	Organisation de la surveillance coordonnée des urgences
OSTPM	Office scientifique et technique des pêches maritimes
PCR	Polymerase chain reaction / réaction en chaîne par polymérase
PCRD	Programme cadre de recherche et développement
PIF	Poste d'inspection frontalier
ppt	Parts per thousand / partie par millier
Remi	Réseau de surveillance microbiologique
Rephy	Réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines
RNO	Réseau national d'observation de la qualité du milieu marin
RT-PCR	Reverse transcriptase PCR
SMN	Service maritime et de navigation
Step	Station d'épuration des eaux usées
Tia	Toxi-infection alimentaire
Tiac	Toxi-infection alimentaire collective
VHA	Virus de l'hépatite A
VHE	Virus de l'hépatite E
UFC	Unités Formant Colonies
UK	United kingdom / Royaume uni
USA	United states of America / Etats Unis d'Amérique
UV	Ultraviolets

Quelques chiffres

Dans cette partie sont présentés les chiffres clés de la conchyliculture française, selon le Comité National de la Conchyliculture¹ (CNC), pour 2005-2006.

Avec une production annuelle moyenne de 200 000 tonnes de coquillages, la conchyliculture française se situe au 2^{ème} rang européen :

- l'ostréiculture française, avec en moyenne 130 000 tonnes d'huîtres annuelles, occupe la 1^{ère} place européenne et la 4^{ème} place mondiale après la Chine, le Japon et la Corée
- la mytiliculture française produisant en moyenne 65 000 tonnes par an, vient en 2^{ème} position européenne derrière l'Espagne
- la production concerne également 3 000 tonnes de palourdes et 2 500 tonnes de coques
- 650 millions d'euros de chiffre d'affaires annuel,
- 5 451 détenteurs de concessions sur le domaine public maritime,
- 18 000 hectares de parcs,
- 1 600 km de lignes de bouchots,
- 2 500 hectares sur le domaine privé,
- 3 750 entreprises dont 2 776 entreprises détiennent un agrément sanitaire d'expédition et 1 200 sont agréées centres de purification, 20 000 personnes employées soit 10 000 équivalents temps plein.

¹ <http://www.cnc-france.com/>

Bilan des informations relatives à la description du dispositif de surveillance français

En France, la surveillance sanitaire des zones de production conchylicoles est assurée au sein du ministère de l'Agriculture et de la Pêche par les services de la Direction des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture, qui préparent la réglementation relative au suivi de la salubrité des coquillages et veillent à son application. La mise en œuvre du dispositif repose localement sur :

- des laboratoires de l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer), pour la surveillance Remi, Réseau de contrôle microbiologique des zones de production de coquillages. Le Remi a pour objet la validation en continu du classement de zone par l'évaluation des niveaux de contamination fécale et de leur évolution mesurées dans les coquillages (dénombrement des *Escherichia coli* dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire) ;
- des Directions Départementales des Affaires maritimes (DDAM) qui, sous l'autorité des Préfets, assurent l'application locale de la réglementation sur la base des données récoltées par les laboratoires. Les DDAM sont donc chargées de proposer au Préfet de département les mesures de gestion qui s'imposent (fermeture et réouverture) et de veiller à leur application.

Par ailleurs, dès lors que les coquillages sont considérés comme des produits et font l'objet d'une manipulation, d'un traitement préalable (purification des coquillages par exemple) ou d'un conditionnement en vue de leur commercialisation dans les établissements conchylicoles, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) devient compétente pour s'assurer que les normes d'hygiène en matière de produits alimentaires sont bien respectées. Localement, ce sont les Directions Départementales des Services Vétérinaires (DDSV) qui sont chargées de l'application de la réglementation.

La stratégie de surveillance des risques microbiologiques (*confer* Figure 1) repose sur la combinaison de :

- un système de classement des zones de production,
- un système de surveillance de la qualité de ces zones,
- un système de gestion de mesures ponctuelles et
- des contrôles de la salubrité au niveau des établissements (autocontrôles et contrôles officiels à la sortie des établissements)

Le classement de salubrité des zones de production et des zones de reparcage des coquillages vivants est une décision du Préfet prononcée par un arrêté préfectoral. La Direction Départementale des Affaires Maritimes (DDAM) est chargée d'établir la proposition de classement des zones, elle fait appel pour cela à l'appui scientifique et technique de l'Ifremer et prend avis auprès du Directeur Départemental des Affaires Sanitaires et Sociales.

Le classement est propre à un groupe de coquillages (arrêté du 21 mai 1999) : groupe 1 : gastéropodes, échinodermes, tuniciers ; groupe 2 : bivalves fouisseurs ; groupe 3 : bivalves non-fouisseurs. Quatre catégories de classement sont définies :

- Zone A (salubre) : la vente directe des coquillages est autorisée,
- Zone B (peu contaminée) : une purification ou un reparcage est nécessaire,
- Zone C (très contaminée) : un reparcage de longue durée (minimum deux mois) est nécessaire. L'exploitation (octroi de concessions) n'est pas autorisée sauf dérogation,
- Zone D (zone interdite) : l'exploitation de coquillage est interdite.

La surveillance a pour objectif d'assurer le suivi des zones de production de coquillages exploitées par les professionnels et classées par les administrations. La finalité est de vérifier la conformité des classements aux estimations de la qualité des zones sur la base du dénombrement dans les coquillages vivants des bactéries *E. coli*. Ceci permet de :

- évaluer le niveau de contamination microbiologique des coquillages,
- suivre son évolution et
- détecter et suivre les épisodes de contamination.

Les contaminations font l'objet de bulletins d'alertes transmis aux autorités compétentes locales et nationales. La persistance de la contamination peut faire l'objet d'une mesure de gestion par le préfet (fermeture temporaire de zone ou modification du classement).

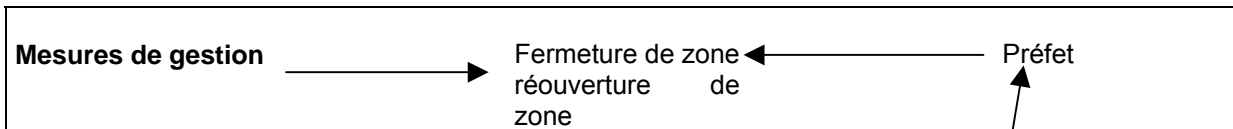
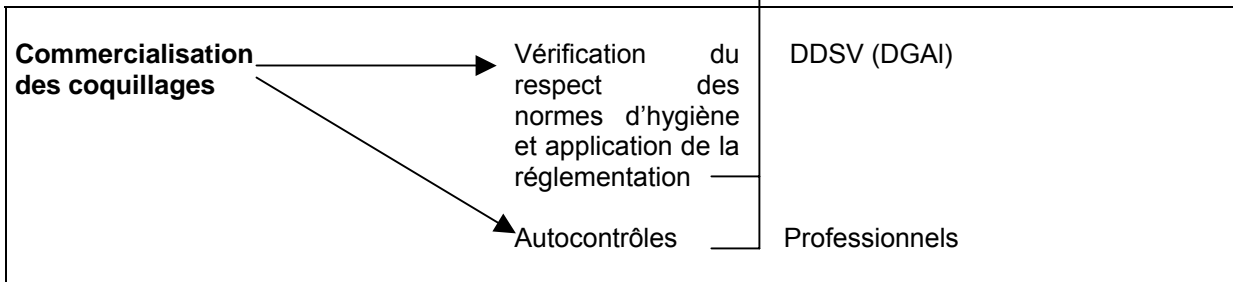
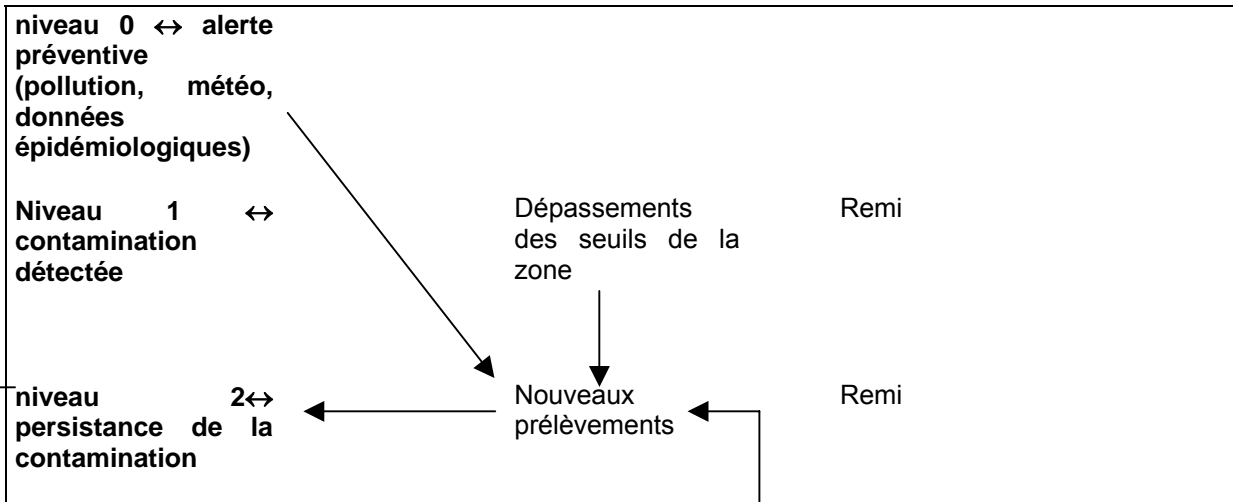
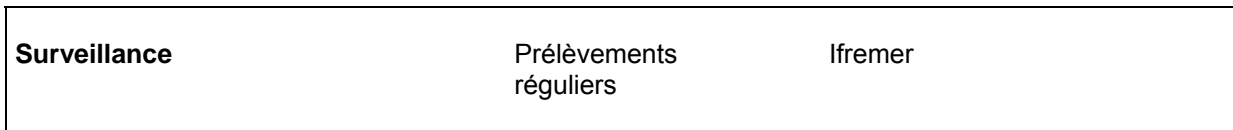
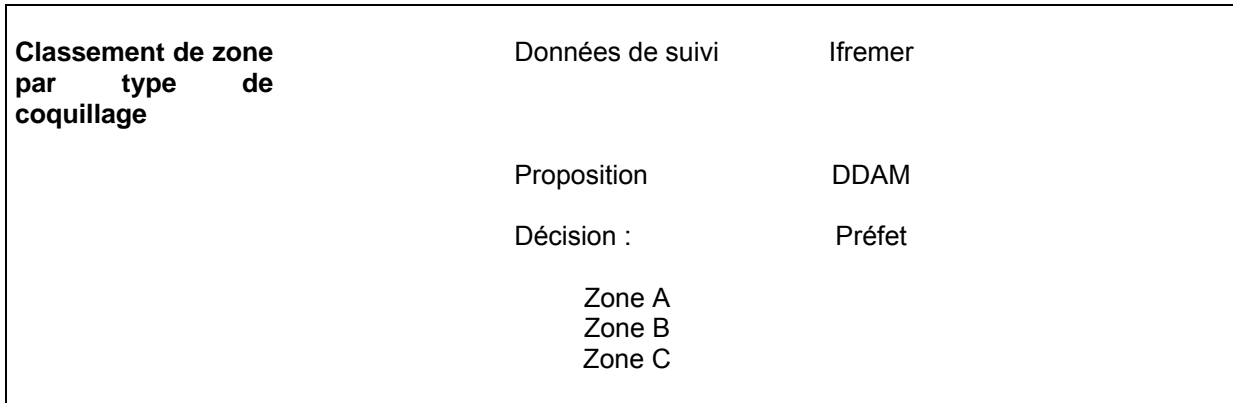


Figure 1 : Schéma synthétique du dispositif national de surveillance microbiologique des coquillages

Chapitre I : Rappel de la réglementation en vigueur au regard de la surveillance microbiologique (communautaire et nationale)

A. Rappel des modalités de classement et de surveillance microbiologique des zones de production

Le fondement réglementaire de la surveillance sanitaire des zones de production s'appuie sur deux textes français :

- l'arrêté du 21 mai 1999 relatif au classement de salubrité et à la surveillance des zones de production et des zones de reparcage des coquillages vivants ;
- le code rural articles R.231-35 à 231-59 relatif aux conditions sanitaires de production et de mise sur le marché des coquillages vivants.

Le règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 applicable depuis le 1^{er} janvier 2006, fixe les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. Le guide européen des bonnes pratiques de surveillance microbiologique constitue le document d'application de ce règlement. Il a été élaboré sous l'égide du Laboratoire Communautaire de Référence de surveillance sanitaire des coquillages par les experts européens et validé par les LNR européens. Ce document nécessite à présent la validation de la Commission Européenne (DG Sanco - Direction Générale de la Santé des Consommateurs).

Afin de définir les règles spécifiques d'hygiène applicables à la production des mollusques bivalves vivants (règlement (CE) n° 853/2004) et les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les mollusques bivalves vivants destinés à la consommation humaine (règlement (CE) n° 854/2004), les règlements européens ont repris les définitions précédemment en usage dans la directive 91/492/CEE du Conseil du 15 juillet 1991 :

- « zone de production » : *toute zone maritime, estuarienne ou lagunaire comportant des bancs naturels de mollusques bivalves ou des sites utilisés pour la culture des mollusques bivalves, dans lesquels des mollusques bivalves vivants sont récoltés*¹ ;
- « zone de reparcage » : *toute zone maritime, estuarienne ou lagunaire, clairement délimitée et signalisée par des bouées, des piquets ou tout autre dispositif fixe et consacrée exclusivement à la purification naturelle des mollusques bivalves vivants ;*

Le champ d'application de la réglementation relative aux mollusques bivalves s'applique, par analogie, aux échinodermes vivants, aux tuniciers vivants et aux gastéropodes marins vivants à l'exception des dispositions concernant la purification.

Les définitions ci-dessus sont reprises en droit national, sous une rédaction légèrement plus détaillée dans le code rural (articles R.231-35 à R.231-59), le décret n°2003-768 du 1^{er} août 2003 ayant abrogé et remplacé le décret n° 94340 du 28 avril 1994 relatif aux conditions sanitaires de production et de mise sur le marché des coquillages vivants. La notion de « transfert », qui ne figure pas dans le règlement (CE) n° 853/2004, est définie dans le décret comme étant « l'opération consistant à transporter des coquillages vivants d'une zone de production à une autre zone de production pour élevage, complément d'élevage ou affinage ».

L'estimation de la qualité microbiologique des zones de production indiquée dans ce rapport se fera successivement par rapport aux seuils microbiologiques fixés par l'arrêté du 21 mai 1999 (Tableau 1), et le règlement CE n° 854/2004 (Tableau 2).

B. Règlement (CE) n° 854/2004 du 29 avril 2004, annexe II

Ci-dessous en italique sont présentés des extraits du règlement (CE) n° 854/2004, « CHAPITRE II - Contrôles officiels relatifs aux mollusques bivalves vivants provenant des zones de production classées » ainsi que des passages extraits du règlement (CE) n° 1666/2006.

1. Classement des zones de production et de reparcage

1. *L'autorité compétente doit fixer l'emplacement et les limites des zones de production et de reparcage qu'elle classe.*

¹ Les références aux textes réglementaires sont notées en italique

L'emplacement de la zone de production (gisements naturels, concessions d'élevage) à l'intérieur des limites définies pour ladite zone est une exigence nouvelle absente de la réglementation nationale (article 3 de l'arrêté du 21 mai 1999).

3. L'autorité compétente peut classer en zones de classe A les zones dans lesquelles les mollusques bivalves vivants peuvent être récoltés pour la consommation humaine directe. Les mollusques bivalves vivants provenant de ces zones doivent satisfaire aux normes sanitaires applicables aux mollusques bivalves vivants [...].

Ce paragraphe renvoie au règlement (CE) n° 2073/2005 du 15 novembre 2005 (annexe 1, chapitre 1, point 1.24 Mollusques bivalves vivants et échinodermes, tuniciers et gastéropodes vivants) qui définit le critère microbiologique soit 230 *E. coli* par 100 g de chair et de liquide intervalvaire (C.L.I.) mesuré par la méthode d'analyse de référence ISO/TS 16649-3:2005. Ce critère est applicable aux denrées alimentaires mises sur le marché pendant leur durée de conservation, ainsi que le plan d'échantillonnage ($n=1^2$ et $c=0$).

*4. L'autorité compétente peut classer en zones de classe B les zones dans lesquelles les mollusques bivalves vivants peuvent être récoltés, mais ne peuvent être mis sur le marché pour la consommation humaine qu'après avoir subi un traitement dans un centre de purification ou après reparcage en vue de satisfaire aux normes sanitaires mentionnées au point 3. Les mollusques bivalves vivants provenant de ces zones ne peuvent dépasser la limite de 4 600 *E. coli* par 100 g de chair et de liquide intravalvaire. La méthode de référence pour cette analyse est le test du nombre le plus probable (NPP) à cinq tubes et trois dilutions spécifié par la norme ISO 16649-3. D'autres méthodes peuvent être utilisées si elles sont validées au regard de la méthode de référence, conformément aux critères fixés par la norme EN/ISO 16140.*

*Par dérogation à l'annexe II, chapitre II, point A.4, du règlement (CE) n° 854/2004, l'autorité compétente peut continuer à classer en zones de classe B les zones dans lesquelles la limite applicable de 4 600 *E. coli* par 100 g n'est pas dépassée dans 90 % des échantillons (règlement (CE) n° 1666/2006 du 6 novembre 2006).*

Formellement, cette disposition dérogatoire du règlement (CE) n° 1666/2006, récemment publié, est moins restrictive que la tolérance figurant dans l'arrêté du 21 mai 1999 (article 12) concernant les zones B pour lesquelles aucun résultat ne devrait dépasser la limite de 46 000 *E. coli* par 100 g de C.L.I.. En raison de l'absence de limite supérieure à la tolérance maximale de 10 % au dépassement de la limite de 4 600 *E. coli* par 100 g de C.L.I., certaines zones pourront être classées B si le critère est respecté pour la limite de 4 600 *E. coli* par 100 g de C.L.I. alors qu'elles devraient être classées C selon le critère défini au point 5. De fait, rien n'empêche d'effectuer un classement en catégorie C dans ce cas.

Bien que le règlement (CE) n° 1666/2006 du 6 novembre 2006 stipule au point (5) de ses considérants, que pour une période transitoire, « [...] il convient d'accorder une tolérance dans 10 % des échantillons pour les mollusques bivalves vivants provenant de ces zones. Étant donné que la tolérance dans 10 % des échantillons ne présente pas de risque pour la santé publique [...] », l'absence de limite supérieure à 46 000 *E. coli* par 100 g est critiquable. En effet, il est difficile de purifier des coquillages très contaminés y compris pour des teneurs en *E. coli* inférieures à cette limite et, en l'absence d'un critère pathogène pertinent, les LNR européens se sont exprimés en faveur d'une limite maximale bien inférieure à 46 000 *E. coli* par 100 g pour les zones B.

*5. L'autorité compétente peut classer en zones de classe C les zones dans lesquelles les mollusques bivalves vivants peuvent être récoltés, mais ne peuvent être mis sur le marché qu'après un reparcage de longue durée en vue de satisfaire aux normes sanitaires mentionnées au point 3. Les mollusques bivalves vivants provenant de ces zones ne peuvent dépasser la limite de 46 000 *E. coli* par 100 g de chair et de liquide intravalvaire. La méthode de référence pour cette analyse est le test du NPP à cinq tubes et trois dilutions spécifié par la norme ISO 16649-3. D'autres méthodes peuvent être utilisées si elles sont validées au regard de la méthode de référence, conformément aux critères fixés par la norme EN/ISO 16140.*

L'arrêté du 21 mai 1999 (article 1) introduit une tolérance maximale de 10% au dépassement de la limite de 46 000 *E. coli* par 100 g de C.L.I. sans qu'il y ait de limite supérieure. Le règlement (CE) n° 854/2004, qui n'introduit pas de tolérance en zone de classe C, conduira à une diminution des zones

² Echantillon groupé contenant au moins 10 animaux différents

actuellement classées C. Ces zones, qui concernent des gisements coquilliers naturels devront être interdites à l'exploitation.

Tableau 1 : Classes et seuils de qualité microbiologique suivant l'arrêté du 21/05/1999

Nombre d' <i>Escherichia coli</i> dans 100 g (C.L.I) ⁻¹				
Classe	230	1 000	4 600	46 000
A	≥ 90 %	≤ 10 %	0 %	
B	≥ 90 %		≤ 10 %	0 %
C	≥ 90 %			≤ 10 %
D	> 10 %			

Tableau 2 : Classes et seuils de qualité microbiologique suivant le règlement (CE) n° 854/2004 modifié par le règlement (CE) n° 1666/2006

Nombre d' <i>Escherichia coli</i> dans 100 g (C.L.I) ⁻¹				
Classe	230	1 000	4 600	46 000
A	100 %	0 %		
B	≥ 90 %		≤ 10 %	
C	100 %			0%

6. Si l'autorité compétente décide, en principe, de classer une zone de production, elle doit :

- a) dresser un inventaire des sources de pollution d'origine humaine ou animale susceptible de constituer une source de contamination de la zone de production ;

Cette exigence ne figure ni dans le code rural (articles R.231-35 à R.231-59), ni dans l'arrêté du 21 mai 1999. Des inventaires visant à recenser les sources de pollution sont réalisés localement par les services déconcentrés des ministères chargés de l'équipement, de la santé et de l'agriculture. La mise à jour et la tenue de tels inventaires nécessite d'organiser la collaboration des différents services de l'Etat à l'échelle des bassins hydrographiques concernés par les zones de production de coquillages.

- b) examiner les quantités de polluants organiques* émises au cours des différentes périodes de l'année, en fonction des variations saisonnières de la population humaine et de la population animale dans le bassin hydrographique, des précipitations, du traitement des eaux résiduaires, etc. ;

* il s'agit de polluants (matières organiques et non composés chimiques du carbone) à l'origine de contaminations microbiologiques.

Cette disposition ne figure ni dans le code rural (articles R.231-35 à R.231-59), ni dans l'arrêté du 21 mai 1999. Outre qu'elle nécessite la collaboration des différents services de l'État à l'échelle des bassins hydrographiques concernés, elle conduit à évaluer les quantités de polluants rejetés en amont du milieu marin, voire à des mesures *in situ*. Il convient que l'autorité compétente précise les services en charge de la collecte, de la mise à jour et de la fourniture de ce type de données.

- c) déterminer les caractéristiques de circulation des polluants sur la base des modèles connus de la courantologie (science qui étudie les courants marins), de la bathymétrie³ et du cycle des marées dans la zone de production,

Cette exigence ne figure ni dans le code rural (articles R.231-35 à R.231-59), ni dans l'arrêté du 21 mai 1999. Si des relevés cartographiques sont disponibles concernant la bathymétrie ainsi que des annuaires de marée, cette disposition réglementaire requiert l'étude de l'hydrodynamique côtière afin de déterminer les caractéristiques de circulation des polluants dans le secteur considéré. Elle peut nécessiter des moyens importants, l'utilisation de modèles de simulation du transport (modèle hydrodynamique) et de la dispersion de l'indicateur de contamination fécale (*E. coli*). L'utilisation de ces modèles apporte généralement une aide au positionnement des points de prélèvement voire au choix de la fréquence d'échantillonnage. Les résultats de la simulation numérique doivent être confrontés aux données observées en surveillance ou lors d'études. L'application de cette exigence nécessite en particulier que l'autorité compétente détermine les priorités et les moyens nécessaires afin de caractériser la circulation des polluants dans les secteurs où ces données font défaut.

³ La bathymétrie est la science de la mesure des profondeurs de l'océan pour déterminer la topographie du sol de la mer

- d) *mettre en place un programme d'échantillonnage des mollusques bivalves dans la zone de production, basé sur l'examen de données établies, avec un nombre d'échantillons, une répartition géographique des points d'échantillonnage et une fréquence d'échantillonnage qui doit assurer que les résultats des analyses sont les plus représentatifs possible pour la zone considérée.*

Il découle de cette exigence que les classements sanitaires doivent être prononcés sur la base de résultats d'analyse (données établies). De même, la répartition géographique des points d'échantillonnage, ainsi que la fréquence de prélèvement, doivent conduire à des résultats le plus représentatifs possible de la zone considérée, l'objectif étant la protection de la santé publique. Bien que figurant dans le code rural (articles R.231-35 à R.231-59), cette exigence est peu respectée car bon nombre de zones de production, en particulier pour les coquillages du groupe 1 (gastéropodes, échinodermes et tuniciers), ont été classées systématiquement en catégorie A sans que des résultats aient été acquis, voire en l'absence de coquillages.

L'exigence relative à la mise en place d'un programme d'échantillonnage figure dans l'article R.231-40 du code rural : « *Des arrêtés conjoints du ministre chargé des pêches maritimes et des cultures marines et du ministre chargé de la santé, pris après avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France, fixent, pour chaque classe de salubrité, les paramètres prévus à l'article R.231-37 et les valeurs qui leur correspondent, les plans d'échantillonnage mis en oeuvre, les méthodes d'analyses de référence, les règles d'interprétation et d'exploitation des résultats ainsi que les modalités selon lesquelles s'exerce la surveillance sanitaire régulière des zones de production* ».

La complexité des exigences réglementaires (point d) du règlement (CE) n° 854/2004 ou du code rural, en regard de la grande hétérogénéité des secteurs ou zones de production de coquillages (limites géographiques, caractéristiques hydrologiques, activités d'élevage sur domaine maritime, bancs naturels, affinage en claires sur domaine maritime ou privé), nécessite la mise en œuvre de procédures opérationnelles détaillées. C'est la raison pour laquelle un guide européen des bonnes pratiques de surveillance microbiologique intitulé « Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas – Guide to Good Practice : Technical application » a été préparé à la demande de la Direction générale Santé et protection des consommateurs (DG Sanco, Commission européenne). Ce guide européen (voir paragraphe 3 de la partie D du rapport) définit les modalités de mise en œuvre de la surveillance microbiologique des zones de production de mollusques bivalves dans les États membres en application du règlement (CE) n° 854/2004 (annexe II). Il doit servir de document support lors des inspections de l'Office Alimentaire Vétérinaire (OAV) dans les États membres.

L'arrêté du 21 mai 1999 définit certaines modalités relatives aux études pour le classement de salubrité des zones de production (chapitre II), à la surveillance sanitaire des zones de production (chapitre III). Les modalités pratiques de mise en œuvre de cette surveillance sanitaire sont définies dans le Cahier des spécifications techniques et méthodologiques Remi et dans l'Inventaire cartographique des points de prélèvements Remi et des listes de zones classées et surveillées (Département Environnement Microbiologie et Phycotoxines de l'Ifremer). Ces procédures concernent notamment le plan d'échantillonnage mis en œuvre et les modalités pratiques de surveillance des zones de production, les références des méthodes d'analyse, les règles d'interprétation des résultats.

2. Contrôle des zones de production et de reparcage

Les observations faites pour le classement des zones de production et de reparcage (paragraphe A du règlement (CE) n° 854/2004) valent pour le contrôle de ces zones (paragraphe B du même règlement).

3. Décisions consécutives au contrôle

Les exigences relatives à ce paragraphe du règlement (CE) n° 854/2004 (fermeture de zone en cas de risque pour la santé humaine, reclassement,...) figurent dans la réglementation nationale.

4. Prescriptions supplémentaires en matière de contrôle

Les exigences relatives à ce paragraphe du règlement (CE) n° 854/2004 (surveillance des zones de production classées où la récolte de mollusques bivalves est interdite ou soumise à des conditions spéciales, système de contrôles des produits finaux,...) figurent dans la réglementation nationale, cependant il convient que l'autorité compétente précise comment est assurée la surveillance des zones où la récolte des mollusques bivalves est interdite en permanence (zones D) afin d'éviter la commercialisation de produits dangereux pour la santé humaine.

5. Enregistrement et échange d'informations

Les exigences relatives à ce paragraphe (tenue des listes des zones de production et de reparcage classées et des mises à jour, réactivité lors de modifications temporaires du statut des zones, etc.) figurent dans la réglementation nationale à l'exception de l'indication précise de l'emplacement réel des gisements naturels coquilliers classés à l'intérieur des limites à terre et vers le large, indication qui est fort utile pour la détermination des points d'échantillonnage.

6. Autocontrôle exercé par les exploitants du secteur alimentaire

Les exigences relatives à ce paragraphe figurent dans la réglementation nationale en ce qui concerne le classement des zones. Le dispositif d'agrément et de reconnaissance des laboratoires d'analyses est en cours de préparation, cependant il convient que le protocole convenu localement pour les autocontrôles (échantillonnage, analyse et laboratoire) entre le représentant de l'autorité compétente et certains exploitants ou leur organisation, soit étendu à l'ensemble du littoral.

C. Règlement (CE) n° 2073/2005 du 15 novembre 2005

Ce règlement introduit un critère *Listeria monocytogenes* (n=5 et c=0 avec pour limite 100 ufc/g – méthode EN/ISO 11290-2) en tant que critère de sécurité des denrées alimentaires pour les mollusques bivalves vivants au motif qu'il s'agit de denrées prêtes à être consommées en l'état.

Toutefois, ce règlement précise que des contrôles périodiques fondés sur ce critère ne sont pas utiles en temps normal pour les mollusques bivalves vivants. Aucune indication n'est donnée quant aux conditions imposant une recherche de *L. monocytogenes* dans les coquillages mis sur le marché. Les membres du groupe de travail n'ont pas identifié de justification scientifique particulière pour ce critère.

D. Guide européen des bonnes pratiques de surveillance microbiologique

Ce guide (56 pages + annexes) a pour objet de fournir une base commune pour la surveillance microbiologique des zones de production de mollusques bivalves dans les Etats membres (règlement (CE) n° 854/2004, annexe II), dans le cadre de la protection de la santé publique et de la promotion du commerce intra-communautaire.

Il reprend les exigences de la réglementation et effectue des recommandations en expliquant le raisonnement ayant conduit à celles-ci. Le guide est basé sur les connaissances scientifiques et l'expérience acquise dans les programmes de surveillance en cours. Il a été validé par les LNR européens et est disponible, en version anglaise, sur le site web du laboratoire communautaire de référence (LCR) du Cefas (U.K.).

Cependant, ce guide n'est toujours pas officialisé par la DG Sanco qui souhaite disposer d'une synthèse pouvant être mise à disposition sur le site web de la Commission. Il nécessite une remise à jour du fait de l'évolution récente de la réglementation en faveur d'une tolérance allant jusqu'à 10 % de résultats supérieurs à la limite de 4 600 *E. coli* par 100 g de C.L.I. pour les zones de classe B. Par ailleurs, un avis relatif à l'extension de cette tolérance de 10 % a été demandé à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA).

Ce guide décrit (i) les éléments à recenser pour caractériser les zones de production (données de production) et les informations à collecter sur les activités du bassin versant et les sources de pollution, (ii) puis les modalités de l'inspection du littoral, de l'étude de surveillance bactériologique permettant d'établir le plan d'échantillonnage des zones de production. Il précise également les conditions pratiques de prélèvement des échantillons (points de prélèvements et espèces, fréquence) type de classement, conditions de transport des échantillons et instructions, méthodes d'analyse et contrôles qualité, saisie et stockage des données, interprétation des données et révision des classements.

Le guide européen des bonnes pratiques de surveillance microbiologique reprend certains concepts des modalités de surveillance définies dans le Cahier des spécifications techniques et méthodologiques Remi : la fréquence minimale mensuelle en surveillance régulière, le dispositif d'alerte, l'adaptation des fréquences de prélèvement en fonction de la stabilité ou non du niveau de contamination d'une zone donnée, la révision annuelle du statut des zones de production.

Quelques points majeurs de ce guide méritent d'être soulignés :

1. Surveillance sanitaire

Afin d'éviter la superposition de deux modes de surveillance, un programme doit être établi au 1^{er} janvier 2009 afin de compléter les études sanitaires pour les zones déjà classées fin 2005, incluant :

- les données sur les sources de pollution et les activités du bassin versant à partir des travaux disponibles dans les services administratifs concernés,
- les caractéristiques hydrodynamiques de la circulation des polluants, la modélisation étant utilisée en priorité pour les grandes zones de production pour des raisons de pertinence et de moyens,
- une étude bactériologique, si nécessaire, afin de déterminer le plan d'échantillonnage pour la surveillance régulière de la zone concernée et ajuster les délimitations des zones,
- la rédaction d'un rapport de synthèse pour l'évaluation qualitative et quantitative des données recueillies permettant de conclure au plan d'échantillonnage définitif pour la surveillance régulière.

Une ré-évaluation annuelle des données acquises n'est pas nécessaire si les données de mise à jour sont fournies régulièrement par les différents services concernés. Une ré-évaluation complète de la surveillance sanitaire devra être faite tous les trois ans incluant, si nécessaire, une révision du plan d'échantillonnage. Il est recommandé de réviser le classement sanitaire des zones sur une base annuelle.

Le guide prévoit la réalisation d'un tel programme, qui nécessite d'organiser au plan local la collaboration des services concernés, pour le 1^{er} janvier 2011 au plus tard.

2. Espèces de coquillage prélevées

Deux alternatives sont possibles :

- soit chacune des espèces commercialisées fait l'objet d'un échantillonnage en vue du classement sanitaire et de la surveillance (c'est la recommandation par défaut),
- soit une, ou plusieurs, espèce indicatrice pour la zone considérée est utilisée à ces fins, sachant que l'espèce indicatrice doit montrer des résultats au moins aussi élevés que les autres espèces qu'elle représente. Dans ce cas, chacune des espèces commercialisées doit être identifiée séparément dans l'arrêté de classement.

La notion d'espèce indicatrice remplace celle des groupes de coquillages figurant dans l'arrêté du 21 mai 1999 qui est moins précise sur un plan opérationnel.

3. Classement provisoire et classement initial

Un classement provisoire peut être prononcé sur la base des résultats obtenus dans le cadre d'un échantillonnage à fréquence bimensuelle dans la zone concernée pendant une durée de six mois, le classement initial étant prononcé à l'issue d'une période de 12 mois.

Cette recommandation, qui concerne de nouvelles zones et en particulier les gisements naturels, est légèrement plus souple que la réglementation nationale qui prévoit une étude de zone comportant 26 séries de résultats bimensuels préalablement au classement initial.

4. Echantillonnage saisonnier

Un échantillonnage saisonnier peut être effectué pour les pêcheries qui sont exploitées sur une base saisonnière, en particulier dans le cadre d'un règlement de pêche. Dans ce cas, l'échantillonnage devra débuter un mois avant la saison d'exploitation pour une zone A et deux mois avant pour une zone B, sachant que la fréquence de prélèvement devra être augmentée pendant la période d'exploitation de manière à acquérir le nombre approprié de résultats.

Les contraintes opérationnelles de l'échantillonnage saisonnier doivent être bien maîtrisées en ce qui concerne la programmation.

5. Température de transport des échantillons

Si le délai de transport vers le laboratoire d'analyse est supérieur à quatre heures, la température mesurée dans le coffret isotherme réfrigéré, au niveau des échantillons de coquillages, doit être inférieure à 10 °C.

Cette recommandation, qui ne s'appuie pas sur des mesures *in situ* acquises dans des programmes de surveillance, ne peut manifestement pas être respectée en toute saison en condition de routine.

6. Instructions pour l'échantillonnage

Le règlement (CE) n° 882/2004 stipule que tous les agents prélevant des échantillons pour les contrôles officiels doivent suivre un stage de formation.

Dans le cas où il est fait appel à des professionnels pour la réalisation de prélèvement, un agent de contrôle de l'autorité compétente (ou son délégué) doit superviser l'échantillonnage. Quand cela n'est pas possible, un accord écrit entre le professionnel et l'autorité compétente (ou son délégué) définit les modalités de fourniture des échantillons selon un protocole établi.

Dans tous les cas, des audits annuels de chaque agent préleveur, dont ceux de la profession, doivent être réalisés afin de vérifier l'application des protocoles définis pour les opérations d'échantillonnage et de transport. S'il apparaît qu'il n'a pas été observé d'écart par rapport aux protocoles à appliquer la période entre deux audits peut être étendue à trois ans.

7. Classement saisonnier

Un classement saisonnier alternatif peut être effectué dès lors qu'une tendance saisonnière est clairement observée sur au moins deux ans de données. La saison classée comme étant la moins contaminée des deux doit être précédée d'une période d'échantillonnage de deux mois où l'on vérifie que les résultats sont conformes à la catégorie B si l'autre classement saisonnier est de catégorie C, et d'une période d'un mois si ce classement est de catégorie B.

La fréquence de prélèvement recommandée étant mensuelle, la contrainte opérationnelle porte essentiellement sur le suivi de l'évolution des résultats et la gestion administrative des classements qu'il est nécessaire de bien maîtriser.

8. Déclenchement de la procédure d'alerte

Tout dépassement de la limite de 230 *E. coli* par 100 g de C.L.I. pour la catégorie A doit conduire à un déclenchement de la procédure d'alerte. Il est essentiel que le classement administratif tienne strictement compte des résultats de la surveillance afin de ne pas conduire à des déclenchements permanents de cette procédure en zones classées A alors que leur véritable statut est B.

POINTS CLES :

État des lieux des principaux points de la réglementation

La réglementation européenne dite du « paquet hygiène » ne remet pas en cause la surveillance microbiologique des zones de production de mollusques bivalves telle qu'elle est pratiquée sur le plan national d'autant que, pour l'essentiel, on y retrouve des principes déjà mis en œuvre depuis une quinzaine d'années.

Le règlement (CE) n° 854/2004 introduit des exigences nouvelles. L'autorité compétente doit fixer l'emplacement et les limites des zones de production et de reparcage qu'elle classe. Pour cela elle a l'obligation de :

- 1) dresser un inventaire des sources de pollution d'origine humaine ou animale susceptible de constituer une source de contamination de la zone de production
- 2) examiner les quantités de polluants organiques émises au cours des différentes périodes de l'année, en fonction des variations saisonnières de la population humaine et de la population animale dans le bassin hydrographique, des précipitations, du traitement des eaux résiduaires, etc.
- 3) déterminer les caractéristiques de circulation des polluants sur la base des modèles connus de la courantologie, de la bathymétrie et du cycle des marées dans la zone de production,
- 4) mettre en place un programme d'échantillonnage des mollusques bivalves dans la zone de production, basé sur l'examen de données établies, avec un nombre d'échantillons, une répartition géographique des points d'échantillonnage et une fréquence d'échantillonnage qui doit assurer que les résultats des analyses sont les plus représentatifs possible pour la zone considérée.

Ces modifications de la réglementation ont d'importantes conséquences en terme d'organisation et de prise de décision. Elles impliquent d'organiser la collaboration des différents services de l'Etat à l'échelle des bassins hydrographiques concernés par les zones de production de coquillages afin de recueillir toutes les données "environnementales" des zones de production et de reparcage (*confer* points 1, 2 et 3 ci-dessus).

Critiques et pistes d'améliorations potentielles

Les principales conclusions sont les suivantes :

- 1) Pour une zone de production classée en catégorie B, il est toléré que 10% des échantillons aient un niveau de contamination supérieur au seuil de 4 600 *E. coli* par 100 g de C.L.I., sans limite supérieure. Cette tolérance est critiquable car il est difficile de purifier des coquillages très contaminés. En outre, quand bien même la purification serait efficace sur l'indicateur *E. coli*, elle ne garantit pas nécessairement l'élimination des agents infectieux.
- 2) L'absence de tolérance analytique pour le classement des zones de production en catégorie A, malgré une importante incertitude de mesure pour des valeurs inférieures à 230 *E. coli* par 100 g de C.L.I. de coquillages n'est pas en cohérence avec la tolérance de 10% accordée pour la catégorie B.
- 3) Les conditions opérationnelles de la surveillance microbiologique relèvent d'un guide européen des bonnes pratiques de surveillance, non encore officialisé, sous la forme de recommandations et d'explications techniques. Pour l'essentiel, ce guide reprend les spécifications du Cahier REMI. Il ajoute la possibilité de pratiquer une surveillance saisonnière et un classement saisonnier des zones exploitées seulement sur une partie de l'année. Ce type de surveillance saisonnière pourrait entraîner une moins bonne maîtrise du risque dûe à une connaissance amoindrie des possibles variations de qualité de ces zones.

Chapitre II : Données d'épidémiologie

A. Epidémiologie des maladies infectieuses liées à la consommation de coquillages en France

Les trois principales sources de données épidémiologiques pour les micro-organismes ou les maladies infectieuses avec une possible transmission par consommation de coquillages sont la déclaration obligatoire (DO), les centres nationaux de référence, et les investigations d'épidémies.

1. Déclaration obligatoire

Les maladies infectieuses possiblement transmises par consommation de coquillages à DO sont les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac), les fièvres typhoïde et paratyphoïde, le choléra et l'hépatite A.

a) Déclaration obligatoire des toxi-infections alimentaires collectives

Description

Un foyer de Tiac est défini par la survenue d'au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Toute Tiac doit faire l'objet d'une déclaration à la Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass) ou à la Direction départementale des services vétérinaires (DDSV). Cette déclaration est obligatoire : "... d'une part pour tout docteur en médecine ou biologiste qui en a constaté l'existence, d'autre part, pour le principal occupant, chef de famille ou d'établissement, des locaux où se trouvent les malades...".

La DO des Tiac permet aux Ddass et aux DDSV des départements de survenue des foyers de réaliser une enquête épidémiologique et vétérinaire destinée à identifier les aliments responsables et les facteurs ayant éventuellement favorisé la survenue de la Tiac, comme les défauts d'hygiène, ou les ruptures de chaîne de froid ou de chaud, afin de prendre des mesures spécifiques pour contrôler l'épisode et prévenir les récurrences.

L'analyse et la synthèse des données sont réalisées par l'InVS après mise en commun des DO reçues par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) et l'InVS.

L'exhaustivité (proportion de Tiac déclarées par rapport à la totalité des Tiac survenues) de la DO des Tiac est faible. Elle a été estimée en 2000 à 26 % [IC95 % : 22-31] pour les Tiac à salmonelles ayant donné lieu à la réalisation d'une coproculture (Gallay, 2000). Cette estimation est une estimation haute. En effet, les infections à salmonelles qui entraînent une symptomatologie marquée, donnant fréquemment lieu à une consultation médicale sont probablement mieux diagnostiquées et les Tiac dues à cet agent mieux déclarées que celles liées à des agents responsables de symptomatologies moins sévères comme les virus entériques.

L'agent responsable des Tiac n'est recherché et mis en évidence que pour une partie des Tiac déclarées. Les agents comme les virus entériques, *Vibrio* ou les parasites sont rarement recherchés dans les coprocultures. De plus, l'agent est le plus souvent mis en évidence chez les patients et non dans l'aliment. Parmi les 5 847 foyers de Tiac, déclarés de 1996 à 2005, un agent a été mis en évidence microbiologiquement dans 2 667 foyers (46 %). Il a été suspecté sur des critères cliniques et épidémiologiques dans 2 074 foyers (35 %) ; aucun agent n'a pu être mis en évidence ou suspecté dans 1 106 foyers (19 %).

Par ailleurs, toutes les Tiac déclarées ne donnent pas lieu à une véritable investigation permettant d'identifier l'aliment en cause avec un bon niveau d'imputabilité. Parmi les Tiac déclarées de 1996 à 2005, un aliment a été incriminé dans 1 255 foyers (21 %), et suspecté dans 3 005 foyers (51 %). Aucun aliment n'a pu être incriminé ni suspecté dans 1 587 foyers (28 %). En l'absence totale d'investigation ou avec une investigation limitée, l'attribution de la Tiac à un aliment donné est le plus souvent basée sur l'opinion du médecin déclarant ou des malades. Dans ces conditions la validité de l'attribution est limitée. En effet, les patients peuvent se référer aux aliments les plus connus du grand public comme pouvant être responsables de Tiac comme les coquillages ou les œufs.

Au total, la DO des Tiac ne permet pas d'avoir une bonne connaissance des Tiac liées à la consommation de coquillages, en quantité (en termes de nombre probablement très sous-estimé) et en qualité (en termes d'agents ou d'aliments responsables). Les données présentées ci-dessous doivent être interprétées avec précaution.

Données de la DO des Tiac attribuées à la consommation de coquillages

De 1996 à 2005, des coquillages ont été incriminés (confirmés ou suspectés) dans 250 (6 %) des 4 260 Tiac pour lesquels un aliment a été mis en cause.

De 1999 à 2005, 237 foyers (à l'origine de 1628 cas) imputés à des coquillages ont été déclarés (Tableau 3). Les agents les plus fréquemment confirmés ou suspectés étaient *Norovirus* et *Salmonella* (Tableau 4).

Tableau 3 : Nombre de foyers de Tiac déclarées en France de 1999 à 2005 pour lesquelles des coquillages ont été incriminés (confirmés ou suspectés)

Année	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Total
Nombre de foyers	32	35	30	64	33	18	25	237
Nombre de cas	314	449	240	164	208	144	109	1628

Tableau 4 : Répartition des foyers de Tiac déclarées en France de 1999 à 2005 pour lesquelles des coquillages ont été incriminés (confirmés ou suspectés) en fonction du germe en cause

Nombre de foyers par germe en cause (1999 - 2005)			
	Confirmé	Suspecté	Total
Virus, dont	16	63	79
<i>Norovirus</i>	15	1	16
<i>Salmonella spp</i>	19	3	22
<i>Clostridium perfringens</i>	4	1	5
<i>Bacillus cereus</i>	1		1
Histamine	1		1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5	6
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	12*	2	14
DSP**	19	20	39
Autre agent non précisé	4	4	8
Total agent connu	77	98	175
Agent inconnu			62
Total			237

* 11 foyers liés à la même source (consommation de moules irlandaises)

**Diarrheic Shellfish Poisoning

b) DO des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et DO du choléra

L'incidence des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et du choléra est actuellement très basse en France et la majorité des cas surviennent au retour de séjour en pays d'endémie. L'origine de la contamination (dont la consommation de coquillages) des cas autochtones doit être recherchée systématiquement. Aucun cas de fièvre typhoïde ni de choléra lié à la consommation de coquillages n'a été rapporté par la DO.

c) DO de l'hépatite A

L'hépatite aiguë A est à déclaration obligatoire depuis novembre 2005 (décret N° 2005-1395 du 10/11/2005 paru le 11/11/2005 au JO N° 563, circulaire N° DGS/SD5C/2005/519 du 23 novembre 2005). Le critère de notification est défini par la mise en évidence d'IgM anti-VHA dans le sérum. Les objectifs de cette DO sont : détecter les cas groupés au niveau départemental afin de prendre les mesures de contrôle ; estimer les taux d'incidence et ses tendances au niveau départemental et national ; décrire l'évolution des distributions par classe d'âge et groupe à risque. Mille-trois-cents treize cas d'hépatite A ont été déclarés en 2006. Sur les vingt-deux épisodes de cas groupés investigués en 2006, aucun n'était lié à la consommation de coquillages. En 2007, un des épisodes était lié à la consommation de coquillage.

2. Centres nationaux de référence (CNR)

Neuf CNR contribuent à la surveillance épidémiologique (dont six en collaboration avec l'InVS) et à l'investigation des épidémies de micro-organismes qui peuvent être transmis par la consommation de

coquillage : CNR des vibrions et du choléra, CNR des virus entériques, CNR des hépatites A et E, CNR des *Salmonella*, CNR du *Campylobacter* et *Helicobacter*, CNR des *Escherichia coli* et *Shigella*, CNR des *Yersinia*, CNR des entérovirus.

Les missions des CNR sont l'expertise concernant la microbiologie, la pathologie des agents infectieux et leur sensibilité aux agents anti-infectieux ; la contribution à la surveillance épidémiologique ; l'alerte par l'information immédiate de l'InVS et du ministre chargé de la santé de toute constatation pouvant avoir des répercussions sur l'état sanitaire de la population ; le conseil des pouvoirs publics, des agences de sécurité sanitaire et des professionnels de santé.

La surveillance des micro-organismes réalisée par ces CNR s'appuie sur des réseaux volontaires de laboratoires hospitaliers et d'analyses biologiques médicales qui envoient leurs souches ou prélèvements aux CNR pour identification ou caractérisation. Ces envois sont accompagnés de fiches de renseignements contenant des informations épidémiologiques, dont la notion de contexte de cas groupés. Cette surveillance permet également de détecter un excès de cas observé par rapport à un nombre attendu pour une même période et un même lieu. L'exhaustivité de ces réseaux est cependant le plus souvent faible et variable, en fonction de la proportion de laboratoires volontaires qui y participent. Ces systèmes qui recensent des cas confirmés sont très spécifiques mais peu sensibles.

Treize cas sporadiques d'infection à *V. parahaemolyticus* ont été recensés par le CNR des vibrions de 1998 à 2005. La consommation de produits de la mer a été retrouvée pour 7 cas. Les patients étaient âgés de 31 à 91 ans. Des gènes codant pour les hémolysines (*tdh* ou *trh*) ont été retrouvés pour 12 cas (source CNR Marie-Laure Quilici).

3. Investigation d'épidémies

Les systèmes de surveillance et d'alerte listés ci-dessus permettent la détection d'épidémies communautaires qui sont investiguées par les Ddass concernées avec depuis 1998 l'appui de l'InVS ou de ses cellules interrégionales d'épidémiologie (Cires) en fonction de l'importance de l'épidémie et de son extension géographique. Le nombre d'épidémies liées à des coquillages recensées est faible et probablement largement sous-évalué pour les raisons évoquées précédemment. Cependant, les données issues de ces épidémies qui ont le plus souvent fait l'objet d'une investigation complète sont les plus fiables.

La majorité des épidémies liées à des coquillages investiguées et publiées est d'origine virale (virus entériques et virus de l'hépatite A).

a) Epidémies dues aux virus entériques

Douze épisodes épidémiques de gastro-entérites virales associés à la consommation de coquillages survenus en France entre 1992 et 2006 ont été investigués et publiés (Charlet et Ferchaud, 1994 ; Daurat, 1994 ; Miossec et Vaillant ; 1998 ; Miossec *et al*, 2001 ; Gilles *et al*, 2003 ; Barataud *et al*, 2003 ; Lapidus *et al*, 2003) (Tableau 5).

Ces épisodes sont tous survenus en hiver, principalement en février-mars. L'huître consommée crue était l'espèce en cause dans 11 des 12 (92 %) des épisodes. Les coquillages suspectés provenaient des principaux bassins conchylicoles français : Manche, Atlantique et Méditerranée. Dans 11 cas sur 12, il s'agissait de coquillages de production (1 cas de coquillages de pêche à pied). Tous les lots pour lesquels l'information était disponible, respectaient les conditions sanitaires de mise en marché (moins de 230 *Escherichia coli* par 100 g de C.L.I.). Certains d'entre eux avaient séjourné 48 heures en bassin de purification. Cette pratique, obligatoire uniquement pour les coquillages provenant de zones B, n'avait pas permis d'éliminer les virus présents dans les coquillages.

Tableau 5 : Épisodes épidémiques de gastro-entérites virales associées à la consommation de coquillages. France 1992-2006

Origine des épidémies	Année	Nombre de cas	Espèces de coquillages	Mois	Virus mis en évidence	Conditions suspectées de la contamination	Origine suspectée des coquillages	Colimétrie dans les coquillages	Références
Hérault (34)	1992	61	huîtres	12	<i>Calicivirus</i>	?	Étang de Thau (34) zone A souvent B	?	Daurat (1994)
La Rochelle (17)	1994	21 (1 Tiac)	palourdes	03	<i>Calicivirus</i>	?	inconnue	?	Charlet & Ferchaud (1994)
Nantes (44)	1995	23	huîtres	03		fortes pluies et inondations en janvier sur tout le territoire français	St Vaast-La Hougue (50) Bouin (85) zones A	Correcte (purification : 48 h)	Miossec <i>et al.</i> (1997)
Pornic (44)	1996	12	huîtres	02		?	Pornic (44) pêche à pied	correcte	Miossec <i>et al.</i> (1997)
Arcachon (33)	1996	7	huîtres	02		?	Bassin d'Arcachon (33) zone A	correcte	Données non publiées (Ifremer)
Nantes (44)	1996	23	huîtres	03 - 04		?	inconnue	Correcte (purification : 48 h)	Miossec <i>et al.</i> (1997)
Poitiers (86)	1997	120 (1 Tiac)	huîtres	03	<i>Calicivirus</i> (2 souches) <i>Rotavirus</i> groupe A	fortes pluies ayant entraîné un débordement du réseau de collecte des eaux usées en mer	Rivière de St Philibert (56) zone A	correcte	Miossec <i>et al.</i> (1998)
3 départements (59, 62, 69)	2000	?	huîtres	02 - 03		dysfonctionnement de la station d'épuration placée en amont du lieu de stockage	Rivière du Jaudy (22) zone B	correcte après purification 48 h	Données non publiées (Ifremer - Université Dijon)
Somme (80)	2001	19 (1 Tiac)	huîtres	01	<i>Norovirus</i> génogroupe II (3 génotypes différents) et génogroupe I (2 génotypes différents) patients et huîtres	?	?	?	Gilles <i>et al.</i> (2003)

4 départements (11, 21, 34, 75)	2002	69 (répartis dans 13 Tiac)	huîtres	11- 12	<i>Norovirus</i> genogroupe II (3 géotypes différents) patients et huîtres		Étang de Thau (34) 3 sites Marseillan, Bouzigues Meze		Barataud <i>et al</i> (2003)
2 départements (76, 85)	2003	75 (répartis dans 34 Tiac)	huîtres	12	<i>Norovirus</i> génogroupe I <i>Rotavirus</i> Huîtres		Ile de Ré		Lapidus <i>et al</i> (2003)
8 départements (34, 30, 31, 7, 54, 6, 13)	2006	203 (36 foyers de Tiac)		02	8 virus entériques <i>Norovirus</i> (6 souches différentes), <i>Astrovirus</i> (2 souches), <i>Rotavirus</i> (2 souches) <i>Aichivirus</i> , entérovirus patients huîtres.	dysfonctionnements sur les réseaux d'eaux usées littorales lors de 2 jours de fortes précipitations pendant une période d'épidémie hivernale de gastro-entérite.	Étang de Thau (34) 3 sites Marseillan, Bouzigues Meze	alerte microbiologique Remi le 31/01. mesures prises inefficaces pour éviter l'épidémie.	Faillie <i>et al</i> (2006)

Source : Miossec et Vaillant (2001)

b) Epidémies dues au virus de l'hépatite A

Six épidémies d'hépatite A imputées à la consommation de coquillage ont été investiguées et rapportées depuis 1991 en France (Tableau 6). Cinq épidémies sont survenues en période hivernale. Cinq sont survenues dans des départements littoraux.

Pour les deux épidémies de plus de 400 cas en 1992 dans le Morbihan et en Loire-Atlantique (Nuiaouet *et al*, 1993), l'implication de la consommation de coquillages était suspectée mais n'a pas été confirmée par une enquête analytique à visée étiologique.

Tableau 6 : Epidémies d'hépatite A imputées à la consommation de coquillages en France 1991-2007

Période	Lieu	Nombre de cas	Coquillage incriminé ou suspecté	Imputabilité	Référence
Décembre 1991 - février 1992 (1)	Loire-Atlantique	402 sur 4 mois (décembre 1991 mars 1992) recensés par les MG du département	Coquillages crus, huîtres Provenance : baie de la Vilaine ? 81 % de consommateurs parmi 249 cas	(+/-) Enquête descriptive	Nuiaouet <i>et al</i> (1993)
Décembre 1991-mars 1992 (2)	Morbihan	469 sur 7 mois de décembre 1991 à juillet 1992 recensés par les 32 laboratoires d'analyse de biologie médicale du département	Coquillages crus, huîtres Provenance ? 80% de consommateurs d'huîtres	(+/-) Enquête descriptive	Nuiaouet <i>et al</i> (1993)
Décembre 1996 - mai 1997	Midi-Pyrénées	205	Huîtres Origine ???	+ Enquête analytique	Delarocque-Astagneau <i>et al</i> (1998)
1998	Côtes d'Armor	33	Huîtres Origine ??? (eaux usées)	+ Enquête analytique + Enquête analytique et mise en évidence dans les coquillages (PCR VHA et noro + dans des huîtres de l'étang)	Costa-Mattioli <i>et al</i> (2001)
Décembre 1997-avril 1998	Hérault	45	Huîtres/moules Origine : étang de Thau	+ Enquête analytique	Armengaud <i>et al</i> (1998)
Juillet – août 2007	Côtes d'Armor	104	Coquillages crus (majoritairement huîtres) Origine ?	+ Enquête analytique	Guillois-Becel (à paraître) Rapport en cours de rédaction

(1), (2) : L'imputabilité aux huîtres de ces deux épidémies n'est pas certaine en raison de la méthodologie descriptive mise en œuvre (la fréquence élevée de consommation d'huîtres mis en évidence parmi les cas recensés étaient potentiellement une fréquence normale pour la saison).

c) Epidémies dues à *Vibrio parahaemolyticus*

Deux épisodes épidémiques à *Vibrio parahaemolyticus* liés à la consommation de coquillages ont été rapportés en France :

- En 1997, une Tiac dans un régiment du Var à l'origine de 40 cas de gastro-entérite qui a été imputée à la consommation d'une sauce crustacés préparée avec des moules et des crevettes surgelées. *V. parahaemolyticus* a été isolé dans les coprocultures des malades sans recherche d'hémolysine (Lemoine *et al*, 1999) ;

- En 2001, onze Tiac à l'origine de 100 cas de gastro-entérite liées à la consommation de moules en provenance de deux zones de production irlandaises (Haeghebaert *et al*, 2002 ; Hervio-Heath *et al*, 2005).

d) Epidémies dues à *Shigella*

Une épidémie de shigellose à *Shigella flexneri* imputée à la consommation d'une salade composée contenant des moules et des crevettes congelées importées d'Asie est survenue en juillet 1995 parmi une brigade de sapeurs-pompiers parisienne (Cheftel *et al*, 1997).

4. Facteurs de risque des gastro-entérites hivernales

Une étude cas-témoin a été réalisée au cours de l'hiver 1995-96 sur 568 paires de cas (consultant pour une gastro-entérite) et de témoins (sans gastro-entérite) ayant consulté un médecin généraliste du Réseau Sentinelles afin d'évaluer le rôle potentiel de la consommation de coquillages et de l'eau du robinet lors de la recrudescence des gastro-entérites hivernales. Cette étude n'a pas montré d'augmentation du risque de survenue de gastro-entérite chez les consommateurs récents de coquillage ni d'eau du robinet (Letrillard *et al*, 1997).

B. Epidémiologie des maladies infectieuses liées à la consommation de coquillages dans le monde

Quatre-vingt-sept publications rapportant des épidémies associées à la consommation de coquillages survenues dans le monde entre 1966 et 2006 ont été recensées (Tableau 7). Certaines publications rapportent plusieurs épidémies.

Tableau 7 : Caractéristiques épidémiologiques des épidémies associées à la consommation de coquillages dans le monde par agent pathogène. 1966-2006

Agent	Nombre d'épidémies †	Pays de survenue : (nombre d'épidémies)	Type de coquillage (nombre d'épidémies)
<i>Norovirus</i> *	36	Etats-Unis (17) Japon (7) Grande-Bretagne (4) Australie (2) France (2) Singapour (1) Nouvelle Zélande (2) Italie (1) Espagne (1)	Huîtres (31) Palourdes (5 dont 2 en association avec des huîtres) Moules crues (2)
Hépatite A	22	Etats-Unis (7) Italie (4) Shanghai (Chine) (2) Japon (2) Philippines (1) Australie (1) Espagne (1) France (1) Croatie (1) Grande-Bretagne (1) Singapour (1)	Huîtres (11 dont 1 en association avec des moules) Palourdes (8) Moules crues (3 dont 1 en association avec des huîtres) Coques (2 dont 1 en association avec des huîtres)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	11	USA (7) Canada (1) Espagne (1) Chili (2)	Huîtres (7 dont 1 en association avec des palourdes) Palourdes (2 en association avec des huîtres) Moules (1)
<i>Vibrio cholerae</i> O1	3	Etats-Unis (1) Portugal (1)	Crevettes crues , crabes cuits (1) Coques (1)

		Italie (1)	Moules (1) + autres coquillages
<i>Vibrio cholerae</i> non O1	2	Etats-Unis (1) Italie (1)	Huîtres (2)
<i>Vibrio hollisae</i>	1	Etats-Unis	Huîtres
<i>Salmonella</i> non Typhi	3	Grande-Bretagne (1) Japon (1) Singapour (1)	Coques (1) Huîtres (2)
<i>Salmonella</i> Paratyphi	1	Singapour	Huîtres
<i>Shigella flexneri</i>	1	France	Moules, crevettes
<i>Shigella sonnei</i>	2	Etats-Unis Japon	Huîtres
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2	Etats-Unis Canada	huîtres
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	Etats-Unis	Palourdes
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	Nouvelle-Zélande	Moules fumées

* aussi dénommé Norwalk like virus ou Small round structured virus dans les publications recensées

† = nombre de publications : plusieurs épidémies pour certaines publications

Ces épidémies ont été rapportées dans 15 pays, dont près de la moitié (47 %) aux États-Unis et un quart en Europe (Figure 2).

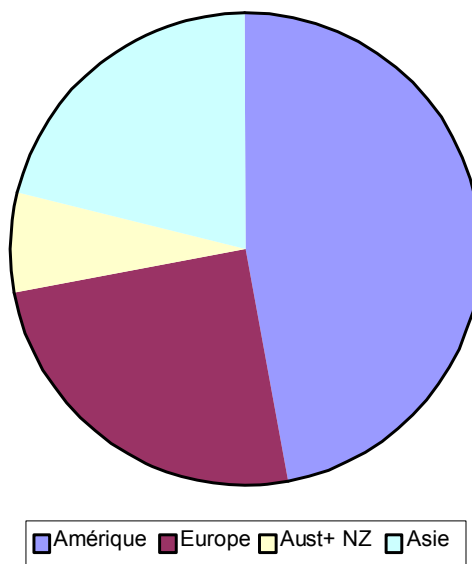


Figure 2 : Répartition des épidémies associées à la consommation de coquillages dans le monde en fonction de la zone géographique, 1966-2006

La majorité des épidémies publiées recensées est survenue au cours des 20 dernières années et celles dues aux *Vibrio* non cholerae depuis les 10 dernières années (Figure 3).

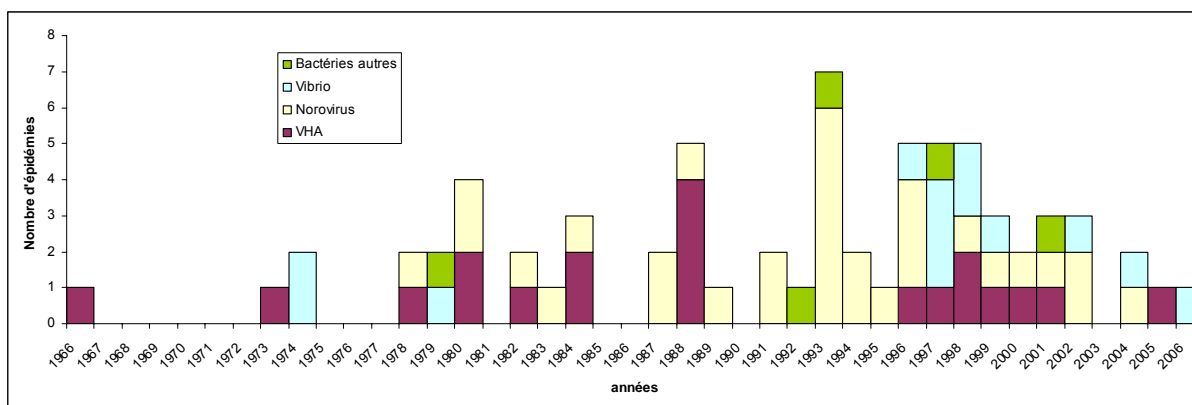


Figure 3 : Répartition annuelle des épidémies associées à la consommation de coquillages dans le monde, 1966-2006

1. Les agents en cause

Les virus (*Norovirus* et virus de l'hépatite A) et parmi les bactéries, les *Vibrio* en particulier *Vibrio parahaemolyticus* sont les agents pathogènes les plus fréquemment retrouvés (Figure 4).

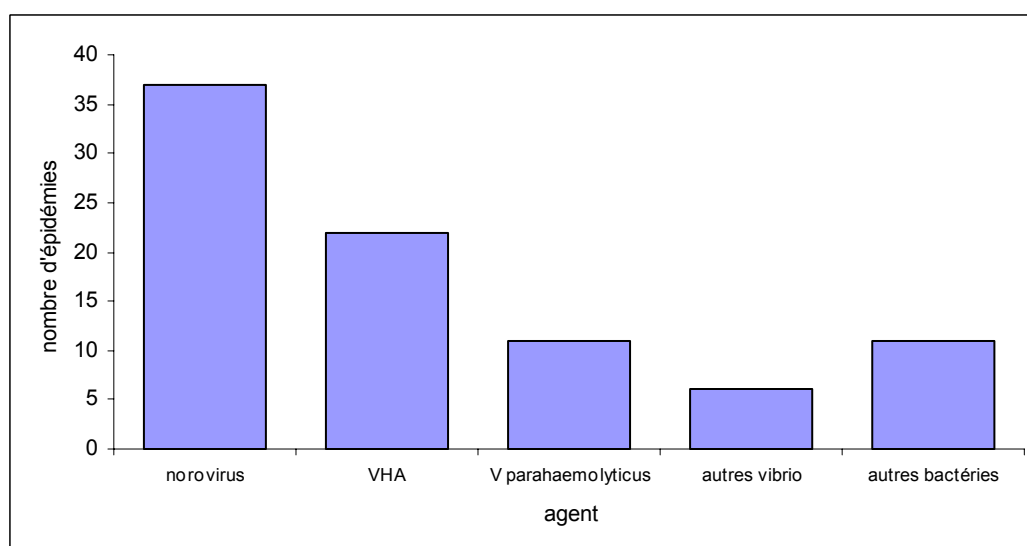


Figure 4 : Répartition des épidémies associées à la consommation de coquillages dans le monde en fonction de l'agent pathogène, 1966-2006

a) Virus

Norovirus

Ces virus sont à l'origine de 43 % des épidémies recensées associées à la consommation de coquillages. Le lien entre ces virus et la consommation de fruits de mer (coques) a été suspecté pour la 1^{ère} fois au cours de l'hiver 1976-77 au Royaume-Uni (Appleton *et al*, 1977) par la mise en évidence, dans les fèces des patients, de petites particules rondes de type viral (small round structured virus). Grâce au développement des méthodes de biologie moléculaire qui ont facilité depuis les années 1990 leur identification, ces virus (auparavant dénommés SRSV ou Norwalk like virus) sont maintenant bien reconnus comme le principal agent des épidémies transmises par la consommation de coquillages. La majorité des épidémies dues à ces virus surviennent en hiver de façon contemporaine aux épidémies de gastro-entérite virales hivernales. Elles sont dues à la consommation de coquillages consommés crus (le plus souvent des huîtres) prélevés dans des eaux de mer contaminées par des égouts ou par des effluents (déjections) provenant de bateaux de loisirs ou de pêches (bateaux des ostréiculteurs en particulier).

Virus de l'hépatite A

Ce virus représente 25 % des épidémies recensées associées à la consommation de coquillages. Pour 2 épidémies, des palourdes (importées de Chine) contaminées ont donné lieu à des cas de

gastro-entérite à *Norovirus* dans les jours suivant la consommation des palourdes puis à quelques cas d'hépatite A dans les semaines suivantes (Kingsley *et al*, 2002 ; Furuta *et al*, 2003). La 1^{ère} épidémie documentée d'hépatite A est survenue en Suède en 1955 avec 629 cas imputés à la consommation d'huîtres (Roos, 1956). De nombreuses épidémies ont été rapportées depuis.

Ce virus est à l'origine d'épidémies massives. La plus importante épidémie liée à la consommation de coquillages jamais décrite est une épidémie d'hépatite A responsable de 300 000 cas (dont 47 décès) survenue à Shanghai en 1988 due à la consommation de palourdes (Tang *et al*, 1991 ; Halliday *et al*, 1991 ; Xu *et al*, 1992 ; Cooksley, 2000). D'autres importantes épidémies d'hépatite A ont été rapportées en Italie [5620 cas dans les Pouilles en 1996 liées à la consommation d'huîtres (Malfait *et al*, 1996) et de moules crues (Lopalco, 1997)], en Australie [467 cas en 1997 liées à la consommation d'huîtres (Conaty *et al*, 2000)] et au Japon [225 cas en 1982 liées à la consommation d'huîtres (Fujiyama *et al*, 1985)].

Comme pour les norovirus, les huîtres sont le coquillage le plus souvent incriminé (11/22, 50 %) mais les palourdes (*Coquina clams*) le sont aussi fréquemment (8/22, 36 %). Par exemple, des palourdes importées du Pérou ont été responsables d'environ 200 cas d'hépatite A dans la région de Valence (Espagne) (Bosch *et al*, 2001).

b) Bactéries

Les bactéries sont beaucoup moins fréquemment en cause que les virus dans les épidémies rapportées.

Les Vibrio

Vibrio parahaemolyticus

La grande majorité des épidémies bactériennes causées par la consommation de coquillages est due à *Vibrio parahaemolyticus* (13 % de l'ensemble des épidémies rapportées, 41 % des épidémies bactériennes). Elles ont surtout été rapportées en Amérique du Nord et sont majoritairement dues à des huîtres. Elles sont survenues en été et sont associées au réchauffement de l'eau de mer et une diminution de la salinité à cette période. Une tendance au réchauffement de l'eau de mer au cours du temps a été évoquée comme facteurs favorisant dans une épidémie due à des huîtres d'Alaska survenue aux États-Unis en 2004 (McLaughlin *et al*, 2005).

Vibrio cholerae

Historiquement, les huîtres ont joué un rôle important dans la transmission du choléra aux États-Unis entre 1895 et 1905 (Morris & Black, 1985 ; Blake, 1983). Depuis 1973, des cas groupés et des cas sporadiques de choléra à *V. cholerae* O1 ont été rapportés au Texas, en Louisiane, en Floride et dans le Colorado (Blake *et al*, 1980 ; Kaper *et al*, 1982 ; Shandera *et al*, 1982). Différentes études cas-témoins (Weber *et al*, 1994 ; Lowry, 1989) et l'investigation de cas sporadiques (Klontz *et al*, 1987 ; Lin *et al*, 1986) ont montré que la consommation de fruits de mer en particulier de chair de crabe cuite mais aussi de crevettes et d'huîtres crues étaient des facteurs de risque d'acquisition de ces infections. Ces fruits de mer provenaient du Golfe du Mexique qui semble jouer un rôle important de réservoir de *V. cholerae* O1 aux États-Unis.

En Équateur, pays épidémique pour le choléra, une étude réalisée en 1991 a montré que la consommation de fruits de mer crus et de chair de crabe cuite était le 2^{ème} facteur de risque après la consommation d'eau non bouillie (Weber *et al*, 1994).

Des épidémies de choléra chez des consommateurs de coquillages ont été rapportées en Europe, en Italie en 1973 [278 cas en Sardaigne, Pouilles et Campanie dus à la consommation de moules crues et d'autres bivalves (Baine *et al*, 1974)] et 1979 (Desenclos, 1996) et au Portugal en 1974 [2467 cas dont 48 décès associés à la consommation de coques crues ou peu cuites (Blake *et al*, 1977)].

Deux petits épisodes de cas groupés d'infection à *V. cholerae* non O1 dus à des huîtres ont été rapportés en Italie (Piergentili *et al*, 1984) et aux États-Unis (Wilson *et al*, 1981).

Vibrio vulnificus

V. vulnificus n'a pas été retrouvé dans les épidémies recensées. Cependant, la consommation de fruits de mer (ainsi que le contact de blessures avec l'eau de mer) a été retrouvée comme facteur de risque de cas sporadiques dans plusieurs études (Tacket *et al*, 1984 ; Blake *et al*, 1979 ; CDC, 1996 ; Klontz *et al*, 1988). Ces infections touchent plus particulièrement les personnes présentant un terrain fragilisé en particulier une hépatopathie chronique et ont la létalité la plus élevée parmi les agents transmis par la consommation de coquillages (50 % en moyenne, 23 % chez les sujets sans terrain, 60 % chez les sujets avec hépatopathie) (Hlady *et al*, 1993).

Vibrio hollisae

V. hollisae a été retrouvé aux États-Unis chez des malades souffrant de gastro-entérite qui avait consommé des huîtres dans les jours précédents (Abbott & Janda, 1994 ; Carnahan *et al*, 1994).

Vibrio mimicus

V. mimicus a été identifié récemment en 1981. Aucune épidémie liée à la consommation de coquillage, due à ce *Vibrio* n'a été retrouvée. Cependant, il a été isolé dans des huîtres du Golfe du Mexique aux États-Unis (Davis *et al*, 1981).

Autres bactéries

Les coquillages ont au 19^{ème} et début du 20^{ème} siècle été à l'origine de grandes épidémies de fièvre typhoïde en Europe (Grande-Bretagne, Suède, France) (Desenclos, 1996 ; Morabia, 2005) et aux États-Unis (Allen, 1899). La plus importante (1500 cas dont 150 décès) liée à la consommation d'huîtres est survenue aux États-Unis en 1924-1925 (Lumsden *et al*, 1925). Plus récemment, en Italie à Naples, une étude sur 51 cas de fièvre typhoïde survenus de janvier à juin 1990 a montré que le principal facteur de risque était la consommation de fruits de mer crus (Stroffolini *et al*, 1992).

Les coquillages ont très rarement été mis en cause dans la survenue des infections à *Salmonella* non Typhi, *Shigella* et *Campylobacter* bien qu'elles soient les causes les plus fréquentes de gastro-entérite bactérienne d'origine alimentaire.

Trois épidémies de salmonellose ont été rapportées en Grande-Bretagne (Greenwood *et al*, 1998) au Japon et à Singapour (Potasman *et al*, 2002). Des cas sporadiques de salmonellose suite à la consommation d'huîtres ont été rapportés en Floride (Desenclos, 1996).

Quatre épidémies de shigellose ont été recensées dont une en France (40 cas dus à *Shigella flexneri*) en 1997 attribuée à la consommation de moules et de crevettes congelées importées d'Asie (Cheftel *et al*, 1997). Les autres épidémies, deux aux USA, en 1978 (Desenclos, 1996) et en 1986 (Reeve *et al*, 1989) et une autre au Japon en 2001 (Terajima *et al*, 2004) étaient attribuées à la consommation d'huîtres.

Le rôle du *Campylobacter* dans la survenue de gastro-entérites transmises par les coquillages apparaît très limité. Une épidémie à *C. jejuni* imputée à la consommation de palourdes crues a été rapportée aux États-Unis (Griffin *et al*, 1983). Une série de cas sporadiques de campylobactériose survenus après la consommation d'huîtres a été rapporté en Floride (Desenclos, 1996).

Une épidémie aux États-Unis et au Canada (Rutala *et al*, 1982) et plusieurs cas sporadiques (Potasman *et al*, 2002) d'infections à *Plesiomonas shigelloides* ont été rapportés.

Quatre cas groupés d'infections à *Listeria monocytogenes* dus à la consommation de moules fumées sont survenus en Nouvelle Zélande en 1992 (Brett *et al*, 1998).

Aucun épisode épidémique ou cas sporadique d'infection à *Escherichia coli* pathogène dû à la consommation de coquillage n'a été rapporté à notre connaissance.

c) Parasites

Aucunes épidémies (Tiac ou Tia) imputées à la consommation de coquillage ayant identifié des parasites comme responsables n'ont été recensées. Dans les Tiac liées aux produits de la mer et en particulier aux coquillages, les parasites ne paraissent donc pas impliqués mais probablement par défaut de recherche spécifique de ces agents comme cause d'infection.

2. Les coquillages en cause

La Figure 5 apporte la contribution des espèces de coquillage dans les épidémies recensées dans le monde. Près des 2/3 (65 %) des épidémies ont été imputées à la consommation d'huîtres consommées crues (à l'exception de trois épidémies où elles ont été consommées pochées ou cuites). Les palourdes consommées crues sont le 2^{ème} coquillage impliqué (19 %) ; elles semblent relativement plus fréquemment en cause dans les épidémies d'hépatite A (36 %). Les moules (9 %) consommées crues le plus souvent et les coques (4 %) sont moins fréquemment impliquées.

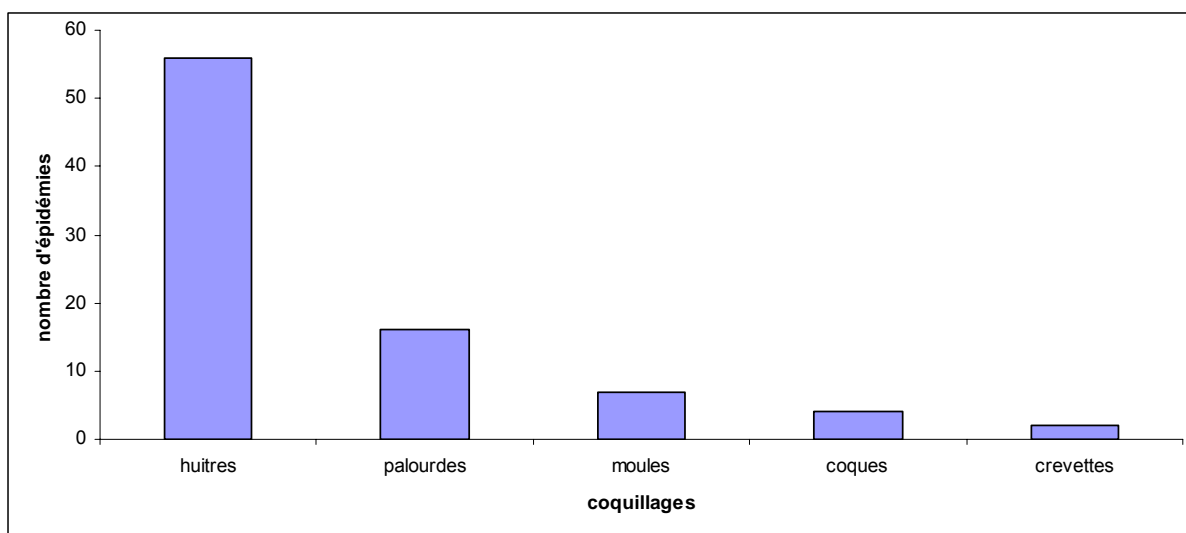


Figure 5 : Répartition des épidémies associées à la consommation de coquillages dans le monde en fonction du type de coquillage, 1966-2006

POINTS CLES :

En France :

La déclaration obligatoire des toxi-infections collectives (Tiac) ne permet pas d'avoir une bonne connaissance des Tiac liées à la consommation de coquillages en raison du manque d'exhaustivité de la déclaration et des limites des investigations réalisées.

Le nombre d'épidémies investiguées et publiées est faible (18 depuis 1992). La majorité de ces épidémies est due aux *Norovirus* (12 épidémies) puis secondairement au virus de l'hépatite A (5). Ces épidémies sont majoritairement dues à la consommation d'huîtres et surviennent en hiver.

Dans le monde :

Parmi les épidémies publiées dans le monde, les norovirus sont, comme en France, le principal agent en cause suivi par le virus de l'hépatite A. Le rôle des bactéries est aussi limité ; *Vibrio parahaemolyticus* est très largement prédominant, en particulier aux Etats-Unis. Aucune épidémie d'origine parasitaire n'a été publiée à ce jour.

Les huîtres (2/3 des épidémies) puis les palourdes (1/5 des épidémies) sont les principaux coquillages en cause. Des épidémies ont été rapportées dans 15 pays dont la moitié aux USA et un quart en Europe.

Chapitre III : Description et analyse du système de surveillance microbiologique du milieu et des coquillages (notamment du réseau Remi)

Les données épidémiologiques (confère Chapitre II) ne permettent que de rendre compte partiellement des dangers microbiologiques présents dans les coquillages. Aussi avant de décrire et analyser le système de surveillance microbiologique du milieu et des coquillages (parties B. à F.), le groupe de travail a établi un bilan des connaissances sur ces dangers (partie A.).

A. Identification des dangers microbiologiques dans les coquillages

La concentration des bactéries dans les coquillages est intimement liée à la physiologie des mollusques bivalves filtreurs. En effet, pour satisfaire leurs exigences nutritionnelles et respiratoires, les coquillages filtrent des volumes d'eau importants et concentrent ainsi dans leur tractus digestif et leurs tissus, les polluants chimiques et les microorganismes présents dans le milieu naturel. Aussi, les coquillages présentent ils une plus grande sensibilité analytique et des fluctuations temporelles moins marquées que l'eau dans laquelle ils sont élevés, ce qui leur confèrent un rôle de sentinelle de l'environnement, mis à profit dans la surveillance des eaux littorales que ce soit en France ou à l'étranger (exemple du réseau *mussel watch* aux Etats-Unis).

Trois grandes catégories de microorganismes peuvent contaminer les coquillages : les bactéries, virus et parasites. Les principaux représentants de ces catégories sont décrits ci-dessous.

1. Bactéries

Le risque bactérien associé aux coquillages, et plus particulièrement aux bivalves, est lié à la contamination de l'eau de mer et à la filtration d'importants volumes de cette eau.

Les origines des bactéries pathogènes pour l'homme rencontrées dans les coquillages sont diverses :

- Il s'agit généralement de bactéries rejetées en mer par la voie hydrique et provenant soit directement de l'homme (rejets domestiques), soit des activités industrielles ou agricoles.
- Il s'agit parfois de bactéries de l'environnement, par exemple des bactéries marines comme *Vibrio parahaemolyticus*, dont certaines souches peuvent produire des toxines responsables de troubles sanitaires chez l'homme.

a) Bactéries pathogènes liées au « péril fécal »

Les bactéries pathogènes associées au « péril fécal » sont essentiellement des Entérobactéries (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*) et accessoirement des bactéries du genre *Campylobacter*.

Salmonella

Les *Salmonella* ne survivent pas longtemps en eau de mer (Gabutti *et al.*, 2000), mais il y a des zones particulièrement exposées à des rejets liés aux activités humaines. C'est le cas de certaines zones littorales, ce qui explique la présence possible de *Salmonella* dans les coquillages.

Des études correspondant à des zones géographiques diverses confirment qu'il peut y avoir des contaminations importantes des bivalves au stade de la production. La fréquence d'échantillons positifs a parfois atteint des valeurs élevées dans certaines régions de différents pays : 11 % à 17 % aux USA ; jusqu'à 41 % en Italie ou 54 % en Inde.

En France, la présence de *Salmonella* est parfois constatée dans les bivalves au niveau de la production (d'après l'Ifremer : la recherche de présence de salmonelles a été faite en surveillance régulière et en alerte Remi de 1989 à 1997, de l'ordre de 12 000 analyses ont été réalisées, avec identification de salmonelles sur une centaine d'échantillons).

Les *Salmonella* sont les bactéries pathogènes qui sont le plus souvent évoquées dans le cadre de la contamination des coquillages. Cette vigilance est justifiée compte-tenu des gastro-entérites graves qu'elles peuvent entraîner et compte-tenu également du caractère diffus de cette pollution bactérienne. Les animaux d'élevage constituent un réservoir important et l'évolution de la dissémination des *Salmonella* dans l'environnement peut avoir sur la contamination des bivalves des conséquences sanitaires qui ne peuvent être écartées.

Shigella

Il convient de rappeler que pour *Shigella*, en comparaison avec *Salmonella*, la dose infectante est relativement faible. Le réservoir de *Shigella* est presque exclusivement humain. La transmission la plus fréquente a lieu de personne à personne, mais peut s'effectuer également par voie hydrique. L'implication des coquillages dans des cas de shigellose est possible, mais rare (Reeve *et al.*, 1989). Deux cas ont été rapportés, associés à la consommation d'huîtres crues, et mettant en cause une contamination fécale d'origine humaine des bancs d'huîtres correspondants (Wachsmuth & Morris, 1989).

Escherichia coli pathogènes

Escherichia coli est l'indicateur fécal de référence pour les coquillages, mais certaines souches ont un pouvoir pathogène et peuvent être à l'origine de gastro-entérites.

S'agissant d'*E. coli* O157:H7, qui peut être responsable de syndromes de colites hémorragiques, la transmission aux bivalves par l'intermédiaire des rejets d'élevages n'est pas exclue puisque le principal réservoir de cette bactérie pathogène est le cheptel bovin.

Des travaux récents (Gourmelon *et al.*, 2006) indiquent la présence d'*E. coli* STEC (producteurs de Shiga-toxines) non O157 dans des coquillages provenant des côtes françaises. La présence d'*E. coli* entéropathogènes dans les coquillages est toutefois marginale.

Campylobacter

Campylobacter jejuni et *Campylobacter coli* sont des agents non négligeables de diarrhées infectieuses d'origine alimentaire. Toutefois il a été démontré que la capacité de survie de *Campylobacter jejuni* en eau de mer est assez faible (Obiri-Danso *et al.*, 2001). La présence de *Campylobacter* a certes été détectée dans les huîtres (0,9 % d'échantillons positifs - Federighi, 1999), mais la probabilité de rencontrer cette bactérie dans les coquillages à dose infectante est faible, cette bactérie n'est pas actuellement une préoccupation sanitaire dans les coquillages.

b) Autres bactéries pathogènes

Vibrio

Dans l'eau de mer, les vibrions, bactérie marine, contaminent les bivalves en dehors de toute pollution d'origine humaine ou animale. Leur présence dans l'eau et dans les mollusques est très dépendante de la température de l'eau. La question est de savoir si certains d'entre eux sont pathogènes. Si le réchauffement climatique se confirmait, une vigilance plus importante encore s'imposerait.

Dans son avis de décembre 1999, l'Afssa indiquait que les seuls vibrions potentiellement pathogènes par voie alimentaire dans les produits de la pêche sont *Vibrio cholerae* O1 et O139 et certains *Vibrio parahaemolyticus*. Dans son avis de juin 2003, l'Afssa considérait pour *V. parahaemolyticus* que seules les souches de *V. parahaemolyticus* possédant les gènes codant pour les hémolysines TDH et/ou TRH sont pathogènes.

S'agissant de *V. parahaemolyticus*, la mise en œuvre d'analyses est actuellement très lourde à la fois pour la détection, le dénombrement (par la méthode NPP) et la caractérisation (par des méthodes moléculaires). La mise en œuvre d'une méthode fiable et spécifique de PCR quantitative serait nécessaire pour pouvoir faire des propositions de critères *Vibrio*. Pour information, les vibrions ne sont pas actuellement retenus dans les critères microbiologiques du règlement communautaire, mais un considérant du règlement (CE) n° 2073/2005 mentionne la nécessité d'élaborer des méthodes pour détecter *V. parahaemolyticus*.

La possibilité de détecter les pathogènes au sein de la population de *V. parahaemolyticus* est récente et la possibilité de les dénombrer de manière rapide et fiable n'est pas encore opérationnelle. Aujourd'hui on ne dispose donc pas de données significatives concernant la contamination des coquillages.

Le Tableau 8 réunit quelques données bibliographiques relatives à la présence de *V. parahaemolyticus* pathogènes dans les coquillages. Les zones géographiques explorées sont limitées, des travaux devront être développés dans d'autres zones.

Tableau 8 : Études caractérisant le pourcentage de *V. parahaemolyticus* pathogènes dans les coquillages

Source	Échantillons de coquillages		Isolats de <i>V. parahaemolyticus</i>		Zone de prélèvement
	Quantité testée	Nombre de coquillages contaminés par <i>V. parahaemolyticus</i> pathogènes	Quantité testée	% d'isolats pathogènes	
DePaola <i>et al.</i> , 2000	106	3	5600	0,3	Texas
FDA/ISSC, 2000 Cook <i>et al.</i> , 2002	198	8	3429	0,3	Golfe du Mexique et Atlantique
DePaola <i>et al.</i> , 2002	65	13	1103	2,3	Pacifique
DePaola <i>et al.</i> , 2003	156	34	6018 6992	0,76 0,44	Golfe du Mexique
Kaufman <i>et al.</i> , 2003	60	13	5159	0,18	Golfe du Mexique

La détermination des pourcentages d'isolats pathogènes est très dépendante des méthodes. Compte-tenu de l'évolution récente de celles-ci, il est important pour pouvoir comparer les résultats de préciser la technique moléculaire utilisée : par exemple "hybridation sur colonies" pour les études citées dans le tableau, et "techniques PCR" pour les travaux français cités ci-après.

D'autre part, dans les études américaines présentant pour les coquillages des pourcentages de vibrions pathogènes par rapport aux vibrions totaux, seule le gène codant pour l'hémolysine TDH a été prise en compte.

Des travaux effectués en France (Hervio-Heath *et al.*, 2002 ; Robert-Pillot *et al.*, 2004) ciblent à la fois le gène codant pour la TDH et celui codant pour l'hémolysine TRH. Les résultats ne sont pas intégrés dans le tableau car ils portent à la fois sur des échantillons d'eau et de coquillages. Il est toutefois intéressant de noter qu'aucune des souches de *V. parahaemolyticus* testées ne contient le gène codant pour la TDH alors que 3 % contiennent le gène codant pour la TRH.

Ainsi les pourcentages d'isolats pathogènes sont très probablement sous-estimés en l'état actuel des techniques.

Listeria

Comme *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* résiste mal à la salinité de l'eau de mer. Cette bactérie peut toutefois être détectée dans des zones littorales : à titre d'exemple une prévalence de 3,1 % a été observée dans des prélèvements d'eau de mer sur différents sites du littoral de la région d'Agadir (El Marrakchi *et al.*, 2005). Une présence temporaire n'est donc pas exclue dans l'eau de mer.

Il existe très peu de données relatives à la contamination des coquillages par *L. monocytogenes* : leur présence a été rarement signalée. Une étude a démontré l'absence de ce pathogène dans les huîtres dans un environnement où l'eau et les sédiments étaient contaminés (Colburn *et al.*, 1990). *L. monocytogenes* ne semblerait pas poser problème aujourd'hui dans les coquillages.

c) Bactéries pathogènes sporulées

Clostridium perfringens est considéré comme un microorganisme d'origine tellurique et son caractère sporulé lui permet de survivre très longtemps dans les sédiments. Lorsque cette bactérie est détectée dans les bivalves, les concentrations ne sont pas suffisantes pour provoquer des symptômes.

Clostridium botulinum de type E peut être associé au milieu marin dans certaines zones géographiques. De ce fait, il peut être détecté dans les bivalves, mais avec une faible fréquence.

Bacillus cereus s'est trouvé impliqué dans des cas de gastro-entérites liés à la consommation d'huîtres.

Ces bactéries sporulées peuvent donc être présentes dans les bivalves. Les seules toxi-infections identifiées concernaient *Bacillus cereus* et ne présentaient pas de caractère de gravité.

2. Virus

Le risque de transmission de virus à l'homme par des denrées alimentaires et ou des eaux de consommation est, en l'état actuel des connaissances, limité exclusivement aux virus appartenant au « péril fécal » : virus de l'hépatite A, virus de l'hépatite E, *Caliciviridae* (*Norovirus* et *Sapovirus*), *Rotavirus*, *Astrovirus*, adénovirus des sous-types 40 et 41, *Réovirus*, *Enterovirus* et *Parechovirus*. Il s'agit d'agents viraux de transmission inter humaine, pour lesquels la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, et qui dans ce contexte, sont responsables d'épidémies parfois très étendues.

Ces virus sont excrétés dans les selles et contaminent l'environnement. Incapables de se multiplier en l'absence de cellules-hôtes, ils peuvent persister et rester infectieux plusieurs jours voire semaines, notamment à basses températures et en présence de particules. Ces virus sont donc susceptibles d'être rejetés dans l'eau de mer et d'y persister.

Les coquillages par filtration de quantité parfois importante d'eau vont pouvoir concentrer les virus présents. Le coquillage devient alors un vecteur passif (pas de multiplication au sein du coquillage) de ce virus vers le consommateur. La stabilité de ces virus sans enveloppe, aux pH acides permet l'infection de l'intestin et le passage de la barrière gastrique et d'autres organes cibles chez l'homme.

Les virus entériques sont responsables de gastro-entérites ou d'hépatites. Toutefois, il existe des formes cliniques variées et les infections asymptomatiques sont fréquentes. Il n'y a pas un groupe de population à risque pour l'ensemble de ces virus même si les individus les plus faibles (très jeunes enfants, personnes âgées ou souffrant de malnutrition) sont exposés aux conséquences néfastes des infections par les virus de gastro-entérites.

Certains des virus cités ci-dessus sont toutefois plus fréquemment incriminés ou suspectés dans des transmissions par la consommation de coquillages, ce sont le virus de l'hépatite A et les norovirus puis les entérovirus et les astrovirus. Le Tableau 9 répertorie ces familles virales, les signes cliniques associés et les autres modes de transmission.

Tableau 9 : Virus entériques humains responsables de pathologies liées aux coquillages

Virus	Famille/genre	Caractéristiques	Clinique
VHA	<i>Picornaviridae</i> <i>Hepatovirus</i>	ARN Non enveloppé Difficilement cultivable (14 à 21j)	DI* : 4 semaines Asymptomatique (< 6 ans) Hépatite aiguë Hépatite fulminante (1/1000) Pas de forme chronique Epidémies décrites
<i>Calicivirus</i>	<i>Caliciviridae</i> <i>Norovirus</i> (virus de type Norwalk) 2 génogroupes chez l'homme (I et II) <i>Sapovirus</i> (sapporo-like virus ou SoV) ; 4 génogroupes	ARN Non enveloppé Non cultivable	DI : 1 à 2 jours Epidémies de Noro liées à la consommation de produits de la mer Epidémies de SoV décrites
<i>Enterovirus</i>	<i>Picornaviridae</i> <i>Human enterovirus A</i> (11 Coxsackie A et enterovirus 71) <i>Human enterovirus B</i> (6 Coxsackie B, 29 echovirus, entero 69) <i>Human enterovirus C</i> (8 Coxsackie A ; 3 poliovirus) <i>Human enterovirus D</i> (enterovirus 68 et 70)	ARN Non enveloppé Cultivable (sauf certains Cox A appartenant au génogroupe C)	Asymptomatique Fièvre Neurologie Diarrhée rare Epidémies à Coxsackie A/B et Echovirus
<i>Astrovirus</i>	<i>Astroviridae</i> 8 sérotypes	ARN Non enveloppé Difficilement cultivable	DI : 1 à 4 jours Gastroentérite aiguë Fréquence chez les immunodéprimés Epidémies décrites
<i>Adenovirus</i>	<i>Adenoviridae</i> <i>Mastadenovirus</i> 6 espèces (A à F) ; >50 sérotypes ; 40 et 41 responsables de diarrhée	ADN Non enveloppé Cultivable sauf sérotypes 40 et 41	DI : 3 à 10 jours Gastroentérites aiguës de l'enfant Signes respiratoires dans 20 % des cas Epidémies décrites

Rotavirus	<i>Reoviridae</i> 7 groupes mais seuls A,B et C chez l'homme	ARN segmenté Non enveloppé Cultivable	DI : 3 jours Gastroentérite aiguë (enfant) Asymptomatique (adulte) Epidémies hivernales en collectivité
Parechovirus	<i>Picornaviridae</i> <i>Human parechovirus</i> (echovirus 22 et 23)	ARN Non enveloppé Cultivable	Asymptomatique Fièvre Neurologie Diarrhée rare
Reovirus	<i>Reoviridae</i> <i>Orthoreovirus</i> 3 sérotypes (1,2 et 3)	ARN segmenté Non enveloppé Cultivable	Asymptomatique le plus souvent Infections de la sphère ORL Gastroentérites bénignes
VHE	<i>Hepeteviridae</i> <i>Hepevirus</i>	ARN Non enveloppé Difficilement cultivable	DI : 40 jours Hépatite aiguë Hépatite fulminante (1 % jusqu'à 30 % chez la femme enceinte) Pas de forme chronique Epidémies décrites en zone d'endémie

l'ancienne classification virale est indiquée dans les parenthèses

**DI = Délai d'incubation*

Dans les paragraphes suivants, seuls les virus qui représente un danger avéré pour l'homme lors de la consommation des coquillages seront abordés. Pour d'autres informations sur les virus, l'Afssa a rédigé des fiches de description de danger (disponible sur son site internet - www.afssa.fr), et des informations plus détaillées sont également disponibles dans le rapport du groupe de travail *Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale* de l'Afssa (2007).

a) Hépatite A

Ce virus est sans doute celui pour lequel, nous disposons du plus grand nombre d'étude, notamment sur sa présence dans l'eau, dans les sédiments et dans les coquillages. Il est très résistant aux systèmes de désinfection et aux conditions rencontrées dans le milieu extérieur. L'homme est la principale source de VHA. La personne infectée peut propager le virus par ses mains sales ou bien contaminer les eaux usées par ses selles. Les procédés de traitement des eaux usées ne sont pas totalement efficaces sur le VHA. Le re-largage des eaux usées contaminées dans l'eau de mer peut être ainsi à l'origine d'une contamination des fruits de mer, en particulier des coquillages bivalves (palourdes, huîtres, coques et moules). Leurs branchies retiennent les virus adsorbés aux particules, lesquels se retrouvent ensuite concentrés dans la sphère digestive du mollusque.

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 les virus survivent longtemps. 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 survie du VHA dans l'eau de mer contaminée expérimentalement ont montré que le virus peut persister 8 semaines à 25°C, les variations de salinité ne semblant pas influencer sa survie (Garin *et al*, 1994). La stabilité du virus dans les milieux liquides dépend en fait de nombreux facteurs : pH, degré d'ensoleillement ou d'éclairage, concentration en protéine, adsorption éventuelle sur des matériaux inertes en suspension. De plus, le temps d'épuration virale des coquillages semble plus long que celui nécessaire pour éliminer les coliformes fécaux (indicateurs de contamination fécale). Les eaux de surfaces et les eaux du littoral marin reçoivent les virus adsorbés à des sédiments et les transportent parfois sur de longues distances. Les particules finissent par se déposer à la surface des sédiments où la concentration virale peut être 10 à 10 000 fois plus importante que celle de l'eau sus-jacente. Une remise en suspension des particules est possible notamment en cas de tempête.

La désinfection par chloration inactive les virus mais son efficacité est souvent réduite par la présence de matières organiques dans l'eau. Les eaux épurées rejetées dans l'environnement peuvent donc encore contenir des virus, en revanche les traitements de désinfection des eaux de boisson sont généralement efficaces.

Une récente étude réalisée dans le sud de la France sur trois années indique que 13 % des moules issues de zones polluées par des eaux usées étaient contaminées par le VHA, alors qu'aucun VHA n'était détecté dans les coquillages issus de zones salubres.

b) Norovirus

Les norovirus sont responsables de gastroentérites aiguës se présentant sous forme d'un début brutal de vomissement ou diarrhée ou les deux associés. Les symptômes les plus courants sont des nausées, vomissements, crampes abdominales et diarrhées. Les études chez les volontaires ont montré que certains individus peuvent excréter du virus dans leurs selles, avec une augmentation d'anticorps spécifiques sans présenter de symptômes cliniques. Ces personnes peuvent, tout comme les malades, excréter du virus pendant 7 à 10 jours après l'exposition (Hutson *et al*, 2004).

Beaucoup moins de données sont disponibles pour les norovirus par rapport au VHA. Cette différence s'explique par la technique de mise en évidence (RT-PCR), de description plus récente, et par le nombre important de génogroupes et de génotypes.

Un lien entre l'abondance des pluies entraînant le débordement de stations d'épuration ou limitant leur efficacité et l'importance de la contamination virale des coquillages a été montré (Miossec *et al*, 2000 ; Doyle *et al*, 2004).

Les norovirus sont très résistants après rejet dans l'environnement. Ils ont la capacité de s'agréger sur des particules organiques leur permettant de persister dans les rejets urbains et de résister aux traitements d'épuration (chlore, ozone, UV) et dans l'environnement et les coquillages. Cela a été mis en évidence à la suite d'une épidémie en France en 2002 (Doyle *et al*, 2004) : des norovirus ont été retrouvés par biologie moléculaire dans les coquillages de la zone de pêche d'où provenaient les coquillages à l'origine de l'épidémie plus de 2 mois après celle-ci (Le Guyader *et al*, 2003).

Très peu de données sont disponibles sur leur persistance dans les aliments (Rzezutka & Cook, 2004) mais les norovirus sont particulièrement résistants aux variations de pH et à de nombreux produits chimiques. Ils restent infectieux après une exposition à pH 3 pendant 3 h à température ambiante, une incubation à 60°C pendant 30 min, un traitement avec 20 % d'éther pendant 18 h à 4°C (Koopmans *et al*, 2003 ; Duizer *et al*, 2004).

Leur présence a ainsi été rapportée dans l'eau de boisson, les eaux usées et les eaux récréatives (Hoebe *et al*, 2004 ; Loisy *et al*, 2000 ; Haramoto *et al*, 2004). Les coquillages, mollusques filtreurs, peuvent concentrer ces virus et constituer un risque sanitaire pour l'homme puisqu'ils sont le plus souvent consommés crus ou peu cuits (Lees, 2000 ; Butt *et al*, 2004).

c) Les enterovirus

Les entérovirus sont des pathogènes largement ubiquitaires, présents dans toutes les régions du monde. Leur mode de transmission principal est oro-fécal (via des objets, aliments liquides ou solides souillés par la salive ou les matières fécales), ce qui explique une prévalence élevée des infections pendant la petite enfance, notamment dans les pays à bas niveau socio-économique et d'hygiène. La transmission des entérovirus est d'autant facilitée que ces virus sont extrêmement résistants aux conditions extérieures telles que les pH acides, les températures extrêmes. Ces propriétés assurent aux entérovirus une très bonne dissémination dans les sols, les eaux de surface ou encore les eaux usées de stations d'épurations. Notons que les entérovirus humains ne sont pas inactivés dans l'eau de mer et se retrouveront donc souvent captés par les mollusques filtreurs tels que les huîtres.

L'excrétion virale chez les personnes infectées est souvent prolongée, pendant au moins quatre à six semaines. Chez le patient immunodéprimé, cette excrétion fécale peut être prolongée pendant plusieurs mois, voire années.

La plus importante source de contamination alimentaire est constituée par les coquillages bivalves filtreurs. Pour ces coquillages, la concentration en virus est parfois très élevée ; les virus persistent essentiellement dans le tractus digestif du coquillage. Le degré de contamination dépend de nombreux facteurs (saison, pluies, *etc.*). Cette contamination est liée à l'exposition des coquillages à des sources de contamination d'origine tellurique ou humaine. Ainsi, des coquillages élevés dans un site souillé par des rejets peuvent concentrer les virus.

3. Parasites

La présence des parasites dans les coquillages est avérée (Tableau 10). Ces agents pathogènes sont principalement mis en évidence dans les mollusques bivalves. Ces organismes filtrant des grandes quantités d'eau de mer, ils concentrent les parasites présents dans l'environnement de façon naturelle ou secondairement à une dissémination induite par les rejets des effluents urbains (stations d'épuration par exemple) et industriels, ou secondaires à l'épandage d'effluents d'élevages agricoles.

Parmi les formes infectantes de parasites pathogènes pour l'homme ou d'autres mammifères retrouvés dans les coquillages, les protozoaires représentent le risque majeur notamment parce qu'ils présentent dans leur cycle une phase de dissémination environnementale. Ces parasites sont excrétés par différents hôtes (mammifères domestiques, sauvages, hommes) sous forme de kystes ou d'oocystes dont la caractéristique majeure est d'être particulièrement résistants aux conditions environnementales de température, ensoleillement, hygrométrie, salinité, etc.

Cryptosporidium est un parasite excrété en grande quantité sous la forme d'oocystes par les animaux (10^7 à 10^9 par gramme de selles pour un veau) ou les humains infectés. Les oocystes disséminent dans l'environnement et peuvent polluer le milieu marin. La salinité de l'eau de mer pourrait affecter la viabilité de ces parasites. En effet, une salinité de 45 ppt (*versus* 5 ppt) accélère la perte de viabilité d'oocystes de *Cryptosporidium* stockés à 4°C (par un facteur 2), ou à 30°C (par un facteur 1,2). Cependant, d'autres données indiquent que les oocystes de *C. parvum* peuvent demeurer vivants dans l'eau de mer à 6-8°C pendant une année (Erickson & Ortega, 2006). Leur identification dans les coquillages a été rapportée de façon expérimentale dans les huîtres (Graczyk *et al*, 2006), les moules (Graczyk *et al*, 2001) et les praires (Freire-Santos *et al*, 2002) mais également de façon naturelle aux USA (Fayer *et al*, 1998 ; Graczyk *et al*, 2003 ; Graczyk *et al*, 2006) et en Europe (Li *et al*, 2006 ; Gomez-Couso *et al*, 2006a ; Pereira *et al*, 2006 ; Melo *et al*, 2006 ; Schets *et al*, 2007). Peu d'auteurs se sont intéressés au risque sanitaire lié à la présence de ces espèces dans les coquillages. Les méthodes de détection des parasites dans les coquillages doivent prendre en compte la viabilité et le rendement de détection, dans le but d'obtenir une information effective sur le risque associé.

Pour *Giardia*, les mêmes sources de parasites (humaines et animales) que celles évoquées pour les oocystes de *Cryptosporidium* peuvent être incriminées ; la même dissémination environnementale est également retrouvée. Comme pour *Cryptosporidium*, les kystes de *Giardia* ont été retrouvés de façon expérimentale dans les huîtres (Graczyk *et al*, 1998a) et dans les moules et les clams (Graczyk *et al*, 2001) mais également de façon naturelle dans les huîtres (Graczyk *et al*, 2006) et les moules (Gomez-Couso *et al*, 2005). A titre d'exemple, Schets *et al* (2007) ont rapporté la présence de ces deux parasites dans des huîtres destinées à la consommation humaine. Même des microcrustacés comme le branchiopode *Artemia franciscana* pourraient jouer un rôle dans la dissémination des oocystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia* dans les écosystèmes marins (Méndez-Heredia *et al*, 2006).

Toxoplasma gondii, autre protozoaire parasite de la famille des *Apicomplexa*, est nouvellement reconnu comme agent pathogène à transmission hydrique et potentiellement contaminant pour les coquillages. La contamination est due aux oocystes, excrétés par les félinés au décours d'une infection. Ces parasites sont ainsi disséminés dans l'environnement sous formes non sporulées (non directement infectantes), la sporulation se produisant en quelques jours (selon les conditions de température et d'hygrométrie du milieu) conduisant à des formes infectantes qui sont extrêmement résistantes dans l'environnement. Les conditions de survie dans l'eau ont été évaluées expérimentalement, pour des températures pouvant être observées en conditions naturelles. Les oocystes non sporulés ne perdent pas leur infectiosité après conservation à 4°C pendant 6 à 11 semaines (Lindsay, 2002). La sporulation est possible dans l'eau de mer à 24°C (eau de mer artificielle à 15 et 32 ppt de salinité) (Lindsay, 2003). Les oocystes sporulés peuvent survivre et rester infectieux dans l'eau à température ambiante pendant 15 mois, à 4°C pendant au moins 54 mois et sans perte d'infectiosité pendant 18 mois (Dubey, 1998), après 6 mois dans l'eau de mer (15 ppt) à température ambiante ou à 4°C (Lindsay, 2003). Le rôle des huîtres dans la clairance d'oocystes de *T. gondii* de l'eau de mer et la survie de ces derniers dans les huîtres ont été bien étudiés (Lindsay *et al*, 2001 ; Lindsay *et al*, 2004). Des études similaires ont été développées chez des moules, *T. gondii* étant un agent reconnu de méningo-encéphalite sévère chez la loutre de mer (*Enhydra lutris nereis*) (Arkush *et al*, 2003).

Tableau 10 : Principaux parasites identifiés dans les coquillages en conditions naturelles (N) ou expérimentales (E)

Pathogène	<i>Crassostrea ariakensis</i> (huitre)	<i>Crassostrea gigas</i> (huitre)	<i>Crassostrea virginica</i> (huitre)	<i>Ostrea edulis</i> (huitre)	<i>Dreissena polymorpha</i> (moule zébrée)	<i>Mytilus</i> spp (moule)	<i>Ischadium recurvum</i> (moule recourvée)	<i>Corbicula fluminea</i> (palourde asiatique)	<i>Tapes decussatus</i> (palourde)	<i>Dosinia exoleta</i> (dosinia) <i>Ruditapes philippinarum</i> (palourde), <i>Venerupis rhomboideus</i> , <i>V. pullastra</i> , <i>Venus verrucosa</i> (praire)	<i>Artemia franciscana</i> (Crustacea: Banchiopoda)
<i>C. parvum</i> ou <i>C. hominis</i>	Graczyk <i>et al</i> , 2006 (E)	Schets <i>et al</i> , 2007 (N)	Fayer <i>et al</i> , 1998 (N) ; Fayer <i>et al</i> , 1999 (N) ; Graczyk <i>et al</i> , 1998a (E) ; Graczyk <i>et al</i> , 2007 (N)	Freire-Santos <i>et al</i> , 2002 (E) ; Freire-Santos <i>et al</i> , 2000 (N)	Graczyk <i>et al</i> , 2001 (E) ; Graczyk <i>et al</i> , 2004 (N)	Freire-Santos <i>et al</i> , 2000 (N) (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) ; Li <i>et al</i> , 2006 (N) (<i>Mytilus edulis</i>)	Graczyk <i>et al</i> , 1999 (N)	Graczyk <i>et al</i> , 2001 (E)	Freire-Santos <i>et al</i> , 2002 (E),	Molini <i>et al</i> , 2007 (N) ; Freire-Santos <i>et al</i> , 2000 (N)	Méndez-Hermida <i>et al</i> , (2006) (E)
<i>Giardia</i>	Graczyk <i>et al</i> , 2006 (E)	Schets <i>et al</i> , 2007 (N)	Graczyk <i>et al</i> , 1998a (E)		Graczyk <i>et al</i> , 2001 (E) ; Graczyk <i>et al</i> , 2004 (N)			Graczyk <i>et al</i> , 2001 (E)			Méndez-Hermida <i>et al</i> (2006) (E)
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	Graczyk <i>et al</i> , 2006 (E)				Graczyk <i>et al</i> , 2004 (N)						
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Graczyk <i>et al</i> , 2006 (E)				Graczyk <i>et al</i> , 2004 (N)						
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	Graczyk <i>et al</i> , 2006 (E)				Graczyk <i>et al</i> , 2004 (N)						
<i>Toxoplasma gondii</i>			Lindsay <i>et al</i> , 2004 (E) ; Lindsay <i>et al</i> , 2001 (E)			Arkush <i>et al</i> , 2003 (E)					
<i>Eimeria acervulina</i>			Lee & Lee, 2003 (E)								
<i>Cyclospora cayetanensis</i>								Graczyk <i>et al</i> , 1998b (E)			

D'autres micro-organismes eucaryotes qualifiés d'émergents peuvent être responsables de contamination par les coquillages : les microsporidies, parasites qui constituent un risque surtout pour les patients immunodéprimés. Ces organismes constituent un groupe très vaste comprenant plus de 100 genres regroupant plus de 1000 espèces différentes dont seulement un faible pourcentage (11 espèces) sont responsables d'infection chez l'homme. Si de très nombreuses espèces infectent le monde animal, principalement quatre espèces se partagent la pathologie humaine : *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis*, *E. hellem* et *E. cuniculi*. Parasitoses opportunistes, les microsporidies sont essentiellement observées chez les patients atteints de SIDA présentant une profonde immunodépression. Toutefois, des cas de microsporidiose intestinale ont été rapportés chez des sujets immunocompétents revenant de zones tropicales. Le portage asymptomatique fécal est également signalé. Les microsporidies pathogènes pour l'homme peuvent donc se retrouver dans le littoral marin, elles sont d'ailleurs présentes chez des bivalves d'eau douce en Irlande (Graczyk *et al*, 2004).

Parmi les autres parasites à transmission féco-orale, *Cyclospora cayetanensis* est considéré avant tout comme un agent pathogène à transmission hydrique, puisqu'il est en grande partie transmis par l'eau contaminée par les fèces. Expérimentalement, les oocystes de *Cyclospora* ont pu être mis en évidence dans des clams (Graczyk *et al*, 1998b).

Le degré de contamination des coquillages par les protozoaires est méconnu en raison principalement de la lourdeur des techniques de détection comparativement aux méthodes usuelles de détection des autres micro-organismes. Les méthodes habituelles s'appuient soit sur la détection des parasites par microscopie en lumière blanche ou en immunofluorescence sur des homogénats de la chair des mollusques, soit sur la détection de l'ADN parasitaire par PCR sur le même type de substrat (Li *et al*, 2006 ; Gomez-Couso *et al*, 2006b).

La détection, notamment de *Cryptosporidium* et *Giardia* dans les eaux n'est pas directement corrélée à celle des bactéries, indicateurs usuels de contamination fécale (*E. coli*, coliformes totaux ou entérocoques) ; on peut donc supposer qu'il n'y a pas de corrélation entre la présence d'*E. coli* dans les coquillages et la présence de parasites. D'autre part, la grande résistance des parasites aux procédés de désinfection couramment utilisés pour le traitement des eaux peut être un élément à prendre en considération pour les traitements applicables à la purification des coquillages.

Il conviendrait donc de rechercher spécifiquement ces parasites dans les élevages de coquillages pour évaluer le risque sanitaire réel associé à leur présence dans les espèces destinées à la consommation.

POINTS CLES ET RECOMMANDATIONS SUR LES DIFFERENTS DANGERS MICROBIOLOGIQUES

- 1)** Certains virus présentent un risque sanitaire important : ce sont les norovirus et le virus de l'hépatite A. D'autres virus peuvent être retrouvés dans les coquillages, mais leur impact sanitaire est à l'heure actuelle moins important.
- 2)** La poursuite de la surveillance par l'Ifremer de la présence *Salmonella* devrait être reconsidérée au regard des résultats d'analyse des dernières années. En revanche la mise en œuvre d'études concernant les *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes apparaît tout à fait nécessaire.
- 3)** Les niveaux de risque associés à d'autres bactéries dans les coquillages peuvent être considérés comme faibles. C'est le cas pour *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, les *E. coli* entéropathogènes et *Campylobacter*. Il est cependant nécessaire de poursuivre des études afin d'améliorer l'estimation de leur prévalence.
- 4)** La présence de dangers parasitaires est avérée. Elle concerne principalement les mollusques bivalves, qui concentrent les parasites présents dans l'environnement. Parmi les formes infectantes de parasites pathogènes retrouvés dans les coquillages, les protozoaires représentent un risque potentiel important du fait d'une phase de dissémination environnementale dans leur cycle et de leur extrême résistance dans le milieu extérieur. Parmi eux, les principaux parasites retrouvés sont *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Toxoplasma gondii*. Le degré de contamination des coquillages par les kystes ou oocystes de protozoaires est toutefois méconnu en raison principalement de la lourdeur des techniques de détection comparativement aux méthodes usuelles de détection des autres micro-organismes.
- 5)** Pour une meilleure caractérisation des dangers microbiologiques il s'avère nécessaire de développer :

- des méthodes quantitatives utilisant les techniques moléculaires, notamment pour les vibrions pathogènes, ainsi que le logigramme d'interprétation d'une détection par ces techniques,
- des techniques de détection prenant en compte les facteurs de virulence, en particulier pour *Vibrio parahaemolyticus*,

B. Description du Remi

L'Ifremer a mis en place et organise le fonctionnement de réseaux pour l'observation et la surveillance du milieu marin côtier. Les trois réseaux de surveillance nationaux du milieu marin côtier sont : le Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO), le Réseau de surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines (Rephy) et le Réseau de contrôle Microbiologique des zones de production de coquillages (Remi).

Le Remi a été mis en place en vue de préparer le classement des zones conchylicoles et d'effectuer la surveillance sanitaire des dites zones dans les conditions prévues par l'arrêté du 21 mai 1999. Depuis sa création en 1989, plusieurs révisions des stratégies d'échantillonnage du Remi ont été conduites en 1993, 1997 et 2004.

1. Objectifs et organisation du Remi

Le Remi a pour objectif de surveiller les zones de production de coquillages exploitées par les professionnels. Sur la base du dénombrement dans les coquillages vivants des bactéries *E. coli*, le Remi permet :

- d'évaluer les niveaux de contamination microbiologique dans les coquillages et de suivre leurs évolutions,
- de détecter et suivre les épisodes de contamination.

Les *E. coli*, bactéries communes du système digestif humain et des animaux à sang chaud, sont recherchées comme indicateurs de contamination fécale des zones de production.

Pour répondre à ces objectifs, le Remi s'articule en deux volets :

- la surveillance régulière permet d'estimer la qualité de la zone de production et de suivre son évolution dans le temps,
- la surveillance en alerte permet de mettre en évidence et de suivre les épisodes inhabituels de contamination ou de risque de contamination.

L'ensemble des modalités d'intervention de l'Ifremer dans le cadre du Remi est défini dans les documents de prescription et les procédures Remi. Le Cahier Remi (cahier des spécifications techniques et méthodologiques Remi) définit les principes généraux et les modalités pratiques de mise en œuvre opérationnelle de la surveillance sanitaire des zones de production et de reparcage. Il définit notamment la stratégie d'échantillonnage (localisation, fréquence de prélèvement), les modalités de réalisation des prélèvements, des analyses, de traitement et de diffusion des données. Le stockage des données dans la base de données nationale Quadrige, ainsi que les modalités de contrôle des données avant mise à disposition du public sont définies dans une procédure spécifique.

L'inventaire cartographique des points de prélèvement et des listes des zones classées et surveillées présente la position géographique de l'ensemble des points de prélèvement Remi et les listes des zones classées pour chaque Laboratoire Environnement Ressources (LER) par département avec l'indication du classement administratif, des points de surveillance, de leur fréquence de prélèvement respective et du coquillage prélevé.

Ces deux documents ont été créés en 1998, dans le cadre de la mise sous assurance qualité des activités de surveillance à l'Ifremer. Ces documents font l'objet d'une révision annuelle et sont soumis annuellement à la DPMA et la DGAI.

Le réseau s'appuie sur neuf LER Ifremer répartis dans 11 sites⁴, qui opèrent, en 2006, le suivi sur 345 points Remi. Les laboratoires interviennent dans les prélèvements, les analyses (hors LER/Provence-Azur-Corse), le traitement des données et la diffusion de l'information.

Tous les laboratoires sont engagés dans une démarche d'assurance qualité et trois laboratoires⁵ sont accrédités sur le programme 59 pour les méthodes :

⁴ Boulogne, Normandie, Saint-Malo, Concarneau, Morbihan Pays de Loire sites de La Trinité sur Mer et Nantes, Pertuis Charentais sites de La Rochelle et La Tremblade, Arcachon, Languedoc Roussillon, Provence Azur Corse

⁵ le LER Pertuis Charentais - site de La Tremblade, LER Languedoc Roussillon, et le LER Morbihan Pays de Loire - site de la Trinité

- NF V 08 600 - Microbiologie des aliments - Dénombrement des *Escherichia coli* présumés dans les coquillages vivants - Technique du Nombre le Plus Probable
- et NF V 08 106 - Microbiologie des aliments - Dénombrement des *Escherichia coli* présumés dans les coquillages vivants - Technique indirecte par impédancemétrie directe.

Tous les laboratoires réalisant des analyses dans le cadre du Remi participent annuellement aux essais inter-laboratoires d'aptitude organisés par le LNR (dénombrement des *E. coli* dans les coquillages vivants).

2. Dispositif de surveillance régulière

a) Stratégie d'échantillonnage : localisation des points et fréquence d'échantillonnage

Le zonage

Le plan d'échantillonnage doit permettre de caractériser et d'être représentatif des caractéristiques sanitaires d'une zone de production. La définition de celle-ci est donc essentielle et constitue un préalable à la stratégie d'échantillonnage.

Le découpage en zones, utilisé dans la base de données Quadrigé résulte de deux découpages préexistants, celui du RNO établi en 1978 sur 43 sites et d'autre part le découpage en 119 bassins établis en 1984 pour les besoins des réseaux RePHY et Remi (Morel, 1999). En 1993 les limites ont été revues et harmonisées pour former un découpage unique cohérent à 2 niveaux, en sites et bassins, un site pouvant comprendre plusieurs bassins, qui sert notamment pour le codage des points de prélèvement de la base Quadrigé (Morel, 1999). Le zonage, dont la délimitation est de la compétence des DDAM a été établi dans le souci de différentes contraintes, en général après consultation du laboratoire Ifremer (données Ifremer, 2006) :

- Préserver une cohérence sur le plan physique et hydrologique, visant à assurer l'homogénéité des caractéristiques recherchées à l'intérieur d'une zone (Ifremer, Amouroux, 2006)
- Permettre une gestion facilitée de celles-ci sur le plan administratif, (Morel, 1999), et tenir compte des caractéristiques techniques et socioéconomiques des activités de production
- Etre accessibles et repérables (Ifremer, Amouroux, 2006)

Le nombre de sites à suivre conditionne aussi le coût de la surveillance en raison du coût analytique associé à la création de nouvelles zones à suivre.

En 2006, 239 zones sont définies par un point de prélèvement ; 50 zones sont suivies par deux points, soit donc un total de 289 zones suivies et classées. Les zones sont réputées homogènes sur le plan de leur qualité sanitaire, dans les limites de qualité définies par les seuils réglementaires, un seul point de prélèvement est donc généralement défini pour caractériser une zone (données Ifremer, Amouroux, 2006). Il n'existe pas de procédure décrivant l'approche de la délimitation des zones or c'est un point fondamental, ce qui est souligné par Ifremer, dans un rapport datant de 2004, l'Etude prospective sur l'organisation et l'évolution du Remi – recommandations pour une optimisation de la surveillance microbiologique » – RST –DEL/04.03/MP-LNR.

Dans ce rapport il est noté : « *en pratique, l'approche en matière de zonage est très hétérogène suivant les départements* ». Ceci peut s'expliquer par l'historique des pratiques locales liées aux anciennes zones salubres et insalubres. Globalement, trois types d'approches génèrent des difficultés dans la mise en œuvre de la surveillance :

- *Délimitation de l'ensemble du littoral en zone de production*

Certains secteurs du littoral sont divisés en zones classées, parfois pour les trois groupes de coquillages (gastéropodes, échinodermes et tuniciers, fousseurs et non fousseurs) alors qu'il n'y a ni producteur identifié, ni production connue.

Cela pose le problème, d'une part, du classement qui ne repose sur aucun résultat et, d'autre part, du suivi ultérieur qui n'est pas possible compte tenu de l'absence de coquillages dans ces zones.

- *Délimitation circonscrite au contour des limites de concessions*

Lorsque les zones sont délimitées suivant le contour exact des concessions, alors l'extension du domaine public concédé conduit à la création d'une nouvelle zone et à une demande d'étude sanitaire

à l'Ifremer. Il arrive qu'en cas de résultats non satisfaisants l'opération soit renouvelée sur une nouvelle zone à proximité.

- *Délimitation en petites zones ou en très grandes zones*

Les délimitations en très petites ou très grandes zones ne tiennent pas compte de la nécessité de constituer des entités cohérentes selon les critères réglementaires, en particulier du point de vue hydrologique ou sanitaire. La pratique du sous-zonage est relativement courante dans certains départements. De très petites zones sont parfois créées à l'échelle d'un exploitant ou de quelques exploitants, entraînant une création exagérée de points de prélèvement et une augmentation des coûts de la surveillance qui ne sont pas justifiés pour des raisons de protection de la santé publique. »(..) L'avis de l'Ifremer sur la délimitation des zones de production doit être pris en compte de façon à asseoir la décision administrative sur des données techniques et scientifiques : zones cohérentes aux niveaux hydrologique et sanitaire et en terme de comportement des pollutions microbiologiques. »

L'application du Guide Européen des Bonnes pratiques une fois validé, devrait permettre de formaliser au travers de rapports les choix faits en matière de surveillance : description de la zone, des activités, des impacts, facteurs environnementaux, données disponibles sur l'hydrodynamisme, permettant d'étayer et de décrire les choix faits en matière de stratégie d'échantillonnage.

L'étude sanitaire, en particulier, doit être conduite sur les zones avant leur classement, et sur l'ensemble des zones classées d'ici 2011.

Cette étude sanitaire prévoit quatre étapes (source Ifremer, 2006) :

- L'étude de dossier : études des données existantes et disponibles sur la zone, la production (établissements conchylicoles, délimitation de la zone, espèces commercialisables, tonnages...), sur les sources de contaminations et les variations intra annuelles (Step, sources de rejets, données relatives au tourisme, à l'agriculture) les activités sur le bassin versant, les activités portuaires (pêche, plaisance, industries...), la météorologie, permettent de définir à priori les points de suivi les plus sensibles ;
- L'inspection du littoral : consiste à une inspection physique du site visant à vérifier/ corriger les sources principales de contamination identifiée lors de l'étude de dossier (inspection à réaliser deux fois par an la première fois) ;
- L'étude bactériologique (si nécessaire) : cette étude préliminaire a pour objet de définir le plan d'échantillonnage (localisation du point de suivi) lorsqu'on hésite entre plusieurs localisations ;
- L'étude hydrodynamique (si nécessaire).

La majorité des informations existe au sein de différents organismes ou administration, mais leur accessibilité n'est pas évidente et dans certaines zones ces informations sont à diffusion restreinte, de plus la formalisation du recueil de l'information et du qui fait quoi dans ce cadre n'est actuellement pas défini par l'autorité compétente. Par exemple, la mise à disposition par Ifremer de la visualisation des délimitations géographiques des zones classées, l'information sur les délimitations de zone étant à la charge de l'OIEau, informations préalablement transmises par les DDAM, nécessite que les informations soient disponibles et à jour sur le site de l'OIEau.

La conduite de ces études de zones nécessitent du temps agent et un financement spécifique (source Ifremer, 2006) qui n'ont pas été évalués.

Il n'existe pas de réglementation ou de procédure établie permettant à Ifremer d'être systématiquement averti de tout changement susceptible d'influer sur la zone (par exemple le dysfonctionnement d'une Step, installation élevage porcin).

Le Guide Européen (en cours de validation) définit la nature des informations pouvant être intéressantes pour la définition d'une zone et reprend en grande partie les critères évoqués plus hauts. Une zone classée doit être précisément définie (avec une précision de 10 mètres) incluant une partie maritime et d'estuaire. Elle doit idéalement être homogène, avec en particulier prise en compte des contraintes d'accès, d'activité de production, des caractéristiques hydrographiques et de circulation des polluants microbiologiques. La zone doit couvrir pour tout ou partie une zone de production. Une zone de reparcage doit être incluse dans une seule zone. Quand toutes ces caractéristiques ne sont pas atteintes, et qu'une ou plusieurs zones peuvent être créées dans un même secteur c'est l'autorité compétente qui tranche en raison notamment de critères d'applicabilité. Les résultats de contrôles sanitaires et microbiologiques doivent être pris en compte.

La multiplicité des critères, surtout quand tous ne peuvent être atteints peut être une limite à l'harmonisation des zones au sein d'un pays ou même entre pays. Peut-être serait-il judicieux d'expliciter davantage les règles de décision, voire de considérer des éléments prioritaires sur d'autres, voire d'envisager des tailles ou des productions limites pour la définition de zones à caractériser. L'apport d'information demandée dans le guide de bonnes pratiques devrait cependant permettre de mieux justifier la délimitation des zones. Pour chaque définition de zones, les arguments ayant servi à leur délimitation pourraient faire l'objet d'un document, ce qui permettrait un travail d'analyse et d'harmonisation au niveau national.

Le classement et la surveillance ont pour objet de répondre à la réglementation européenne. L'objectif sera de mettre dans la mesure du possible en pratique les recommandations du Guide Européen des Bonnes pratiques de surveillance visant à harmoniser les procédures de classement et de surveillance au niveau européen dans un objectif final de protection de la santé des consommateurs.

L'échantillonnage au sein des zones

Le choix des espèces indicatrices à prélever a été explicité dans le guide européen de bonnes pratiques de surveillance et ne sera pas repris ici. Des études particulières peuvent être menées pour mieux justifier ou compléter les choix actuels. De même, les conditions de prélèvement, pouvant être liés à des pratiques culturelles sont rappelés dans le guide de bonnes pratiques de la surveillance. Le fait de pouvoir utiliser des coquillages présents depuis 15 jours sur site est compatible avec l'indicateur recherché. Mais si d'autres agents devaient être recherchés, comme des virus, ce délai pourrait s'avérer insuffisant.

Les prélèvements de coquillages s'effectuent sur des points pérennes, dont les coordonnées sont définies géographiquement, ce qui permet d'établir des séries chronologiques et d'estimer des tendances. Il est entendu qu'un point de prélèvement se situe à une profondeur identifiée de la surface et que des différences significatives de contamination peuvent être décelées à l'échelle du mètre (Belaieff, 1992 ; Lart & Hudson, 1993 ; Belaieff & Cochard, 1995).

Les zones sont réputées homogènes sur le plan de leur qualité sanitaire, dans les limites de qualité définies par les seuils réglementaires, un seul point de prélèvement est donc généralement défini pour représenter une zone (source Ifremer, Amouroux, 2006). Ce point doit être placé de telle sorte qu'il permette la mise en alerte sur la zone : il est donc situé dans un secteur exposé à un risque d'insalubrité dû à un éventuel apport contaminant. Dans le cas de zones étendues, un nombre minimal de points, tenant compte des principales sources de contamination, est déterminé. En 2006, 239 zones sont suivies par un point ; 50 zones suivies par deux points minimum totalisant 130 points. Quand une zone est suivie par plusieurs points, il est souhaitable de prendre en compte le point présentant la plus forte contamination pour le suivi de la zone. L'espèce de coquillage prélevée est définie pour chaque zone classée et suivie.

La représentativité temporelle pose les mêmes difficultés que la représentativité spatiale. La fréquence de base est la fréquence mensuelle (dans certains cas – confère note de bas de page⁶ – la fréquence peut être bimestrielle), et cette fréquence est reprise comme satisfaisante par le guide européen de bonnes pratiques de la surveillance. Des intervalles de temps trop importants peuvent conduire à ne pas détecter des contaminations de courtes durées, compte tenu de la dépurabilité rapide des coquillages en indicateurs.

Une fréquence adaptée est définie pour les gisements naturels exploités seulement une partie de l'année. Le principe est de débiter la surveillance de la zone un mois avant la date d'ouverture du gisement à l'exploitation professionnelle et durant toute la période d'exploitation. Les classements saisonniers devraient être élaborés en fonction de la durée d'épuration la plus longue connue pour les agents infectieux pouvant être rencontrés (virus, parasites) et de niveaux de contamination trouvés quand la zone est la plus contaminée, ce qui suppose un travail préalable de recherche afin d'évaluer le risque associé à ce type de dispositif.

Le nombre d'analyses requis et la fréquence d'échantillonnage pour le classement des zones par le Remi sont en accord avec les recommandations du guide européen de bonnes pratiques de surveillance.

b) Stabilité de la qualité bactériologique des zones – adaptation de la fréquence d'échantillonnage

Cet argument technique est retenu dans le § 3.10 du Guide européen de bonnes pratiques, élaboré sous la responsabilité du LCR (CEFAS). La procédure consiste à calculer la moyenne géométrique

des concentrations en *E. coli* obtenues sur la période considérée pour établir la qualité (trois ans). Cette moyenne géométrique est confrontée à des seuils prédéfinis⁶.

Les seuils sont déterminés de telle façon qu'ils minimisent la probabilité de se tromper en déclarant qu'une zone est de tel classement alors qu'en réalité son classement est autre en raison de l'incertitude analytique. Les seuils déterminent donc des régions où le risque de se tromper est considéré comme plus fort, et où il est nécessaire d'augmenter la fréquence pour une estimation plus précise de la qualité⁷. Dans ce cas et pour ne pas pénaliser le producteur, il est justifié d'augmenter la fréquence d'échantillonnage de façon à obtenir une estimation plus précise de la qualité. Les probabilités sont estimées sur la base de distributions lognormales des concentrations en *E. coli*, avec une variance estimée à partir de l'incertitude analytique. S'il est tenu compte ici de l'incertitude analytique, il n'est pas tenu compte de la distribution des valeurs obtenues sur le site, notamment en terme de variabilité. Une autre approche consisterait à ajuster sur la distribution observée sur un site une distribution paramétrique, par exemple lognormale, et à calculer la probabilité d'un dépassement d'une valeur limite (celle du classement de zone), en tenant compte de la variabilité des valeurs observées et de l'incertitude analytique, comme cela a été fait pour *Cryptosporidium* pour les ressources en eau (Afssa, 2002). On aurait ainsi clairement le risque d'erreur de classement d'une zone donnée en fonction de toutes les données microbiologiques du point disponibles, et de l'incertitude de mesure. Le seuil pour diminuer ou non une fréquence serait choisie en fonction du risque d'erreur. Cette approche est cependant plus complexe à mettre en œuvre que l'approche développée ici, pour lesquels les valeurs limites ont été choisies à 10 % de risque d'erreur.

c) Méthodes analytiques utilisées

L'évaluation de la contamination, basée sur la recherche des bactéries *Escherichia coli*, est exprimée par le nombre de germes cultivables dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire. Les méthodes d'analyses utilisées sont normalisées : NF V 08-600 - Technique du nombre le plus probable (NPP 3x5 Tubes) et NF V 08-106 – Technique par impédancemétrie directe. L'analyse doit débuter dans les 24 heures suivant la réalisation du prélèvement. Depuis 1992, les LER utilisent en majorité la méthode impédancemétrique, cette méthode est actuellement étalonnée par rapport à la méthode NF V 08 600, et mise en service dans les LER après contrôle de l'étalonnage et évaluation des performances de la technique impédancemétrique comparativement à la technique NPP, selon la norme NF EN ISO 16140, par des essais inter-laboratoires d'aptitude organisés par le LNR avec la participation de cinq LER.

L'impédancemétrie présente des avantages majeurs dans le cadre d'un réseau de surveillance national, présentant des contraintes fortes en terme de réalisation de prélèvement et de délai d'analyse :

- en terme de rapidité : les résultats sont disponibles en moins de 10 h au lieu de 72 h pour la méthode NF V 08 600, cela permet au LER d'être réactif en cas d'alerte et de pouvoir (si les conditions le permettent) déclencher de nouveaux prélèvements dans les 48 h suivant le précédent prélèvement, au lieu d'une semaine avec la méthode NF V 08 600,
- en terme de logistique : les échantillons à analyser peuvent être acceptés au laboratoire tous les jours de la semaine au lieu des seuls lundi et mardi du fait des contraintes temporelles (72 h de délai pour les résultats) pour les laboratoires utilisant la méthode NF V 08 600, ce qui est un élément fondamental pour le Remi où les contraintes sont fortes sur les prélèvements (contrainte d'accès aux points, la majorité des points ne sont accessibles qu'en période de fort coefficient de marée – soit pendant deux périodes de trois jours chaque mois).

La méthode ISO/TS 16649-3:2005 est réglementairement la méthode de référence, néanmoins s'agissant d'une méthode NPP, des délais sont nécessaires pour que les laboratoires puissent s'adapter à cette nouvelle méthode. Le travail de validation de la méthode impédancemétrique sur équipement BacTrac est en cours par le LNR microbiologie coquillages selon la norme NF EN ISO 16 140 avec pour objectif la reconnaissance de cette méthode impédancemétrique en tant que méthode alternative équivalente à la méthode de référence.

⁶ Par exemple, si la moyenne géométrique est de 100 *E. coli*.100 g⁻¹ de C.L.I., et que la zone est classée B, on considèrera la zone stable et on pourra proposer une fréquence d'échantillonnage bimestrielle. A l'inverse pour une moyenne géométrique de 500 *E. coli*.100 g⁻¹ de C.L.I. ; une zone B sera considérée comme instable et un échantillonnage mensuel sera requis.

⁷ Par exemple, si la qualité estimée correspond à un classement B et que la moyenne géométrique est supérieure à 200 *E. coli*.100 g⁻¹, cela signifie qu'on a plus de 10% de chances que la qualité vraie soit "C", ce qui présente donc un certain risque et justifie une augmentation de fréquence pour une estimation plus précise. Inversement, supposons que la qualité estimée corresponde à un classement en C et que la moyenne géométrique soit inférieure à 750 *E. coli*.100 g⁻¹ de C.L.I., alors il y a plus de 10% de chances que la vraie qualité soit "B".

3. Dispositif de surveillance en alerte

Le dispositif d'alerte est organisé en niveaux d'alerte. Il peut être déclenché de façon préventive en cas de risque de contamination (niveau 0), en cas de contamination détectée, par exemple en cas de résultat défavorable dans le cadre de la surveillance régulière (niveau 1), et peut être maintenu en cas de contamination persistante (niveau 2). Un résultat est considéré comme défavorable lorsqu'il est supérieur ou égal au seuil défini pour chaque classe de qualité :

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

Le déclenchement du dispositif d'alerte (niveau 0 ou 1) se traduit par :

- l'émission immédiate d'un bulletin d'alerte (niveau 0 ou 1) vers une liste de destinataire comprenant notamment des administrations (DPMA, Préfecture, DDAM, DDSV, DDASS...) 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 prélèvements sur le ou les points de suivi de la zone concernée (sous réserve de possibilité d'accès aux points).

Si les résultats sont favorables, le dispositif d'alerte est levé.

S'ils sont défavorables 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 de destinataires comprenant en plus des destinataires précédemment cités, des administrations centrales : DGAI, DGS et des organismes nationaux (dont l'Afssa).
- une surveillance renforcée : la fréquence de suivi des points de la zone est hebdomadaire (sous réserve de possibilité d'accès aux points), jusqu'à la levée de l'alerte qui intervient suite à deux séries consécutives de résultats favorables.

Les points de prélèvement du dispositif d'alerte sont les mêmes que ceux du dispositif de surveillance régulière. L'efficacité du dispositif d'alerte peut être significativement améliorée par des informations préventives transmises par les partenaires des services administratifs intervenants sur le littoral (DDAM, DDASS, DDSV, DDCCRF, SMN), ainsi que par les professionnels de la conchyliculture. Il s'agit en particulier de toute information sur des circonstances pouvant conduire à une augmentation du risque sanitaire (rejets polluants, incident sur un réseau d'assainissement, événement météorologique, épidémie constatée ou présumée d'origine coquillière).

Le niveau 0 de préalerte peut correspondre à différents événements, comme un événement météorologique. Les motifs de cette préalerte sont différents d'un site à l'autre, car par exemple le bassin hydrographique sera différent dans ces caractéristiques entre sites. Il serait cependant intéressant de formaliser ces motifs d'alerte dans un document national, en vue, par exemple, d'une analyse globale et pour aider l'interprétation d'une éventuelle augmentation ou diminution des alertes.

4. Traitement des données

a) Evaluation de la qualité d'une zone

Chaque année, le laboratoire vérifie la conformité des résultats obtenus dans le cadre de la surveillance régulière par rapport au classement de la zone et transmet ces informations à l'Administration.

L'estimation de la qualité microbiologique de la zone utilise les données acquises en surveillance régulière Remi sur des périodes de trois années consécutives (année calendaire). L'interprétation se fait ensuite par rapport aux critères microbiologiques définis réglementairement.

L'estimation de la qualité microbiologique des zones de production indiquée dans ce rapport est faite successivement par rapport aux seuils microbiologiques fixés par l'arrêté du 21 mai 1999, et le règlement (CE) n° 854/2004.

b) Mesure de l'évolution de la qualité microbiologique d'une zone

La mesure de l'évolution de la qualité microbiologique d'une zone classée, pour un groupe de coquillage donné, est basée sur une analyse de tendance. Cette analyse prend en compte les données acquises sur une période de 10 ans et s'appuie sur le test non paramétrique de Mann Kendall. Les données de surveillance des différents points de suivi de la zone sur les dix dernières années sont agrégées avant traitement. Ce choix permet d'éviter l'influence d'une brève modification due, par exemple, à des circonstances climatiques particulières. Ce test permet aux gestionnaires, par

exemple en cas d'élévation de la contamination, d'en rechercher l'origine et de chercher à diminuer les rejets.

c) Révision de la fréquence d'échantillonnage

Annuellement, la fréquence d'échantillonnage (année n) est réévaluée sur la base des résultats acquis en surveillance régulière durant les trois dernières années calendaires (années n-3 à n-1). La fréquence est adaptée au classement, au risque de dégradation épisodique de la qualité sanitaire de la zone classée. L'approche statistique permet d'aboutir à une grille de lecture permettant suivant la moyenne géométrique des résultats obtenus en surveillance régulière pour la zone, d'identifier la fréquence de suivi sur la zone. Cette approche statistique est une aide à la décision lorsqu'il s'agit d'alléger la fréquence.

La moyenne géométrique et l'incertitude de la mesure pourraient être complétées par l'analyse de la variabilité sur le point de mesure, et par exemple par la prise en compte du nombre d'alertes déclenchées sur un point de suivi au cours des périodes précédentes.

d) Diffusion des résultats

Des rapports annuels sont effectués par les LER à l'échelon départemental ou régional : *Évaluation de la qualité des zones de production conchylicole*. Ce rapport présente pour chacune des zones classées suivies : l'estimation de qualité microbiologique suivant les règles définies, l'évolution du niveau de contamination de la zone sur les 10 dernières années, et compare la qualité estimée à la décision administrative de classement. Ce rapport est fourni en vue de la révision du classement de zone, la liste de diffusion est restreinte à une liste de destinataires comprenant notamment les administrations suivantes : DPMA, DGAI, préfecture, sous-préfecture, Direction Régionale ou Départementale des Affaires Maritimes, DDSV, DDASS, etc.

Résultats de la surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral. Ce bulletin de la surveillance présente les résultats acquis par les différents réseaux nationaux ou locaux, en l'occurrence pour le Remi, résultats sur les dix dernières années et test de tendance par point de suivi. Les bulletins sont directement téléchargeables à partir de : <http://www.ifremer.fr/envlit/index.htm>, rubrique « Bulletins régionaux de la surveillance ».

De plus, l'ensemble des résultats de la surveillance est accessible et téléchargeable à partir de <http://www.ifremer.fr/envlit/index.htm>, rubrique « Surveillance/Données ».

Au niveau national, un bilan des alertes est transmis mensuellement à la DPMA et la DGAI. Un bilan annuel de la surveillance Remi est également fait, permettant de suivre l'évolution de la surveillance Remi (points, zones), faire le point sur la surveillance réalisée par rapport à la surveillance programmée, le traitement des données – estimation de la qualité, tendance par zone – les difficultés rencontrées. Ce rapport est transmis notamment à la DPMA et à la DGAI.

5. Bilan quantitatif synthétique de la surveillance Remi

En 2005, sur les 3 420 analyses de coquillages planifiées en surveillance régulière, 3 335 ont été réalisées, néanmoins 219 résultats sont manquants (manque de ressources en quantité ou taille suffisante sur le point, absence d'échantillons transmis par les professionnels, conditions météorologiques défavorables ne permettant pas la réalisation de prélèvement), la surveillance programmée a été réalisée à 93 %.

Le dispositif d'alerte 2005 a donné lieu à 279 prélèvements et analyses supplémentaires, soit 8,6 % en plus de la surveillance programmée, et 226 bulletins d'alertes (déclenchement et suivi) vers les administrations locales et les partenaires (suivant les listes de diffusion définies).

L'estimation de la qualité microbiologique des zones de production suivies fin 2005 a été réalisée sur les résultats obtenus en surveillance régulière Remi sur la période 2003-2005, par groupe de coquillages et interprétés suivant les seuils microbiologiques fixés par l'arrêté du 21/05/1999 et les seuils microbiologiques fixés par le règlement (CE) n° 854/2004 du 29/04/2004.

En 2006, 158 alertes Remi ont été déclenchées contre 96 en 2005, 25 alertes de niveau 2. On observe une augmentation importante du nombre d'alertes déclenchées de façon préventive (53 contre 31 en 2005) soit 34 % des alertes déclenchées. 105 alertes ont été déclenchées suite à des contaminations détectées dans le cadre de la surveillance régulière (contre 65 en 2005). Une des caractéristiques notables en 2006 est le nombre important d'alertes déclenchée au cours du 1^{er} trimestre (45 alertes)

alors que depuis 2002 le nombre d'alerte déclenché est relativement faible (11 en 2002, 7 en 2003, 19 en 2004, 3 en 2005).

Il serait intéressant pour ce bilan, de connaître les productions conchylicoles au regard des classements. Il est évident que le risque minimum serait qu'un maximum de zones soient de qualité optimales, c'est-à-dire en zone classée A, car les mesures de dépuración pour les zones classées B peuvent être insuffisantes pour certains agents comme les virus et les parasites. Ceci voudrait aussi dire que les mesures en amont visant à diminuer les rejets sont efficaces.

Une centaine d'agents Ifremer interviennent dans la mise en œuvre opérationnelle du Remi pour l'équivalent de 19 temps plein. Le budget annuel du Remi (hors coût généraux et frais de structure) est de l'ordre d'un million d'euros ; il est financé entièrement par l'Ifremer.

C. Evaluation du Remi

Plusieurs grilles d'évaluation de l'efficacité des réseaux de surveillance existent. Des indicateurs quantitatifs de l'efficacité des réseaux garantissent les échanges internationaux de produits de qualité sanitaires équivalents, et permettent des comparaisons d'un pays à l'autre, ou au sein d'un même pays de l'évolution d'une période à l'autre. Le réseau Remi correspond aux spécifications requises du guide européen de bonnes pratiques de la surveillance en terme d'effort d'échantillonnage et d'analyse, et constitue une référence dans le domaine sur le plan international, compte tenu du nombre d'analyses réalisées par un dispositif transparent puisque les résultats sont disponibles en ligne sur internet.

Le Remi est un réseau de surveillance et de vigilance. Un réseau de surveillance est destiné à durer longtemps, à recueillir un faible nombre de données par sujet, à utiliser des méthodes standardisées de prélèvements et d'analyses, et à diffuser rapidement et régulièrement ces résultats. Le réseau est aussi un réseau d'épidémiologie visant à détecter le plus précocement et le plus efficacement possible des phénomènes anormaux. Ce double objectif n'est pas évident à remplir, dans un milieu ouvert à des contaminations variées et avec des moyens forcément limités. Le lien avec la recherche épidémiologique est évidente ; les alertes peuvent aboutir à la découverte de nouveaux mécanismes de contamination, la comparaison entre la présence d'agents infectieux et indicateurs, de liens entre cas de gastro-entérites et indicateurs. Elles permettent également une meilleure interprétation des résultats du réseau, voir modifier ou compléter l'activité du réseau.

Les valeurs seuils utilisées par la réglementation sur les indicateurs, pour le classement des zones pourraient faire l'objet de programmes de recherche visant à les valider, afin d'établir, si possible, un lien avec un risque sanitaire, soit par des études de mise en évidence d'agents infectieux et modélisation de type AQR (appréciation quantitative des risques), soit par des études épidémiologiques. Une validation des valeurs seuils par une approche AQR a été effectuée aux USA sur *Vibrio parahaemolyticus*, même si un certain nombre d'hypothèses utilisées par le modèle nécessiteraient d'être validés (FDA CFSAN, 2000). Ceci permettrait de mieux évaluer l'impact de tolérances au dépassement de ces valeurs.

En outre, le Remi, comme tous les réseaux de surveillance, devrait être évalué régulièrement en vue d'éviter les dérives (Hendrickx et Dufour, 2004). L'objet de l'évaluation est d'apporter des éléments objectifs et si possible quantifiés pour faciliter les choix et les décisions.

Les objectifs, les protocoles et les procédures de surveillance du Remi sont parfaitement formalisées. Il est donc envisageable pour ce réseau de bâtir des indicateurs de performances en relation avec les objectifs de sécurité sanitaire du Remi. L'objectif serait d'améliorer l'efficacité du réseau, et de mener par exemple des approches de coût-efficacité pour des stratégies d'échantillonnages différentes, par exemple en fonction de la production, des caractéristiques de la contamination, de la période de consommation maximale ou du devenir de la production. Des indicateurs de performances devraient permettre d'évaluer de façon quantitative l'utilité du réseau par rapport à des objectifs sanitaires, en relation par exemple avec des programmes de recherches ponctuels. Des audits externes peuvent aussi être réalisés. Une grille d'évaluation est élaborée à partir de l'identification de points critiques, selon une approche HACCP (Hendricks et Dufour, 2004). Un poids est ensuite attribué à chaque point critique par un groupe d'experts, afin d'établir un score final qui est une combinaison des scores obtenus pour chaque point critique. Enfin une note est attribuée pour chaque point du réseau selon une méthode de consultation d'experts, par exemple la méthode Delphi. Des approches économiques peuvent compléter l'évaluation. On aboutit ainsi à un score final permettant de comparer des réseaux entre eux. Ce système a été utilisé pour évaluer des réseaux de surveillance en santé animale. A

notre connaissance ce système n'a jamais été utilisé pour évaluer un système de surveillance de la contamination des aliments ou d'un milieu. Ce type d'évaluation dépassait le cadre de cette expertise.

Des systèmes d'évaluation des systèmes de surveillance de santé publique peuvent aussi être utilisés pour un réseau comme le Remi, comme celui proposés par le CDC (Center for Disease Control, 2001). Les critères sont plutôt d'ordre qualitatif et légèrement différents de ceux utilisés :

- Simplicité
- Souplesse
- Qualité des données
- Acceptabilité
- Sensibilité du réseau
- Représentativité
- Rapidité
- Stabilité.

POINTS CLES :

1) Le Remi a pour objectif de surveiller les zones de production de coquillages exploitées par les professionnels. Ces zones sont classées A, B et C par l'administration sur la base du dénombrement dans les coquillages vivants des *E. coli*. Le Remi permet :

- d'évaluer les niveaux de contamination microbiologique dans les coquillages et de suivre leur évolution dans le temps,
- de détecter et suivre les épisodes de contamination.

Ce réseau assure donc à la fois une surveillance régulière qui permet d'estimer la qualité de la zone de production et de suivre son évolution dans le temps, et une surveillance en alerte qui permet de mettre en évidence et de suivre les épisodes inhabituels de contamination.

2) Le réseau Remi permet de satisfaire à la plupart des critères qui seront exigés dans le guide européen de bonnes pratiques de surveillance proposé par le Laboratoire communautaire de référence. Cependant le zonage nécessitera d'être revu au regard des informations requises par le guide et harmonisé le long du littoral français par les Affaires Maritimes. Une taille limite maximale de zone ou une production limite pourraient être pris en compte. La justification du choix des différents points et des fréquences d'échantillonnage ainsi que des motifs de pré-alerte devrait être également formalisée.

3) Il n'existe pas de grille d'évaluation spécifique pour ce type de réseau. Cependant il pourrait être intéressant de mener une évaluation en s'inspirant de grilles d'évaluation existant pour des réseaux épidémiologiques de santé animale et de santé publique.

D. Analyse critique du système de surveillance / Pertinence des dispositifs de purification microbiologique des coquillages (bassins de purification)

1. Contexte réglementaire et objectifs des dispositifs de purification

L'objectif de la purification est d'éliminer les contaminants microbiologiques pour réduire la contamination afin de rendre les coquillages propres à la consommation humaine. Seuls les coquillages en provenance des zones classées A peuvent être commercialisés directement. Les coquillages de zone B doivent être soumis à une purification, tandis que les coquillages provenant de zones C doivent être soumis à un traitement de purification par un reparcage pendant une longue durée (dans une zone naturelle agréée pour cette fonction).

L'opération de purification consiste à immerger des coquillages vivants dans des bassins alimentés en eau de mer propre, pendant le temps nécessaire à l'élimination des contaminants microbiologiques pour les rendre aptes à la consommation humaine immédiate. Cette opération n'est possible que pour les mollusques bivalves et non pour les gastéropodes, les échinodermes et les tuniciers (cf. point 1 de la section VII de l'annexe III du règlement (CE) n° 853/2004). Selon les systèmes, les temps de purification varient de deux à plusieurs jours. En France le principe retenu est celui des 48 heures (recommandations de la profession), temps suffisant pour limiter le nombre de bactéries. Il peut être

inférieur pour certaines espèces de coquillages plus fragiles (tellines, palourdes...) mais il faut noter qu'aucun délai minimum n'est imposé par la réglementation.

De manière générale, les traitements de purification ne sont à l'heure actuelle efficaces que pour diminuer les contaminations bactériologiques. Par ailleurs, comme le rappelle le considérant 12 du règlement (CE) n° 2073/2005, « le recours à l'élimination des indicateurs bactériens fécaux pour déterminer les durées de purification des coquillages constitue une pratique dangereuse ».

2. Bassins de purification

Le principe général de la purification est présenté dans la Figure 6. La purification correspond à l'entreposage de coquillages en bassin insubmersible alimenté en eau de mer propre ou rendue propre par un traitement bactéricide, durant un temps suffisant pour stimuler l'auto-épuration des coquillages. La purification est obligatoire pour les coquillages élevés ou stockés en provenance de zones de classe B.

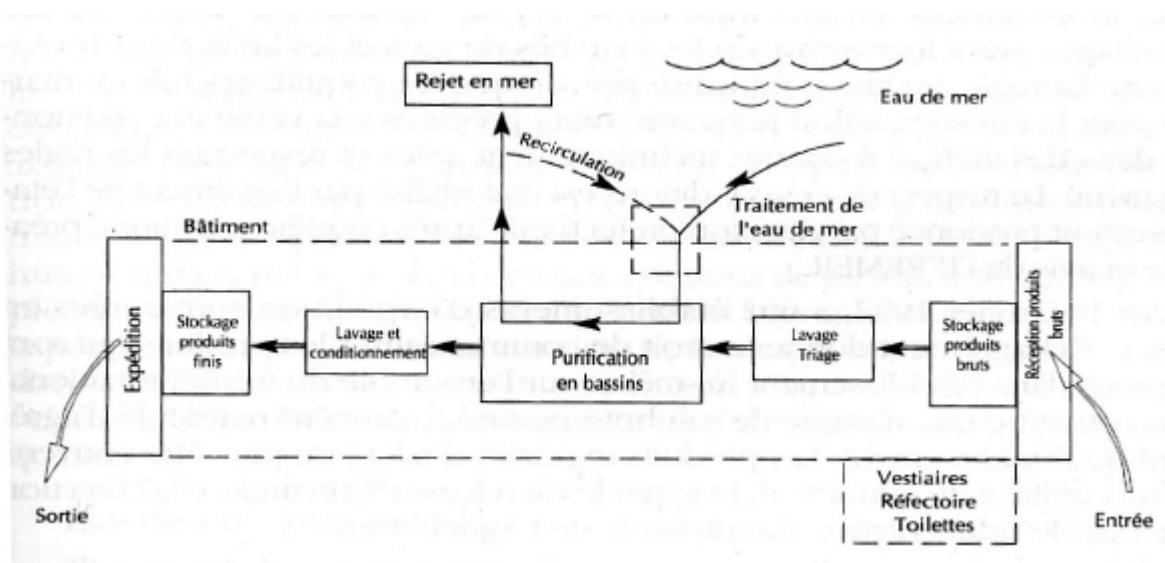


Figure 6 : Principe général de la purification

D'après Le Saux et Pommepuy, 2003.

a) Les équipements

Les bassins les plus couramment utilisés sont en béton, peu profonds (0,80 / 1 m), avec pente pour l'évacuation totale des eaux. Ils sont alimentés en direct du milieu ou par l'intermédiaire de réserve permettant une décantation des matières en suspension. Deux systèmes sont utilisés :

- un circuit ouvert (alimentation permanente),
- un circuit fermé (re-circulation de l'eau).

Les équipements annexes et indispensables sont constitués de systèmes d'aération de l'eau des bassins et de systèmes de re-circulation interne, permettant d'adapter débit et oxygénation aux espèces et aux volumes de coquillages traités.

b) Purification en eau de mer

La plupart des établissements professionnels utilise un dispositif identique à celui présenté sur la Figure 7. Il consiste en un simple bassin insubmersible aéré.

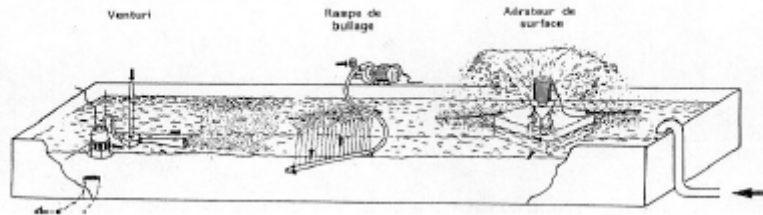


Figure 7 : Procédés d'aération les plus couramment utilisés en bassins insubmersibles

Source : Lesne, 1992

Ce type d'équipement donne des résultats satisfaisants en terme de décontamination par rapport au germe indicateur de contamination fécale *E. coli*. Les services compétents préconisent une stabulation d'au moins 48 heures. A partir de cette base, plusieurs adaptations ont été apportées dont principalement :

- La re-circulation permanente complémentaire à l'aération : un flux lamellaire traverse le bassin, permettant l'évacuation des fécès, pseudo fécès et autres déchets libérés par les coquillages.
- Le système d'écumage de l'eau de mer : ce procédé retire la matière organique et les particules fines de l'eau en les concentrant dans l'écume. L'écume ainsi obtenue est transférée en dehors du bassin de purification.

c) Les équipements de désinfection de l'eau de mer

Dans le cadre de l'obligation de traitement de l'eau de mer d'approvisionnement, deux types de procédés sont utilisés :

- les procédés chimiques de désinfection par l'ozone ou le chlore.
- les procédés physiques de désinfection par les ultra-violets (UV).

Pour les deux procédés chimiques, anciennement les plus utilisés, le principe de la désinfection de l'eau est basé sur l'action bactéricide du brome contenu dans l'eau de mer. Pour les UV, c'est l'utilisation du rayonnement germicide des lampes UV, basses ou hautes pressions. A ce jour, la désinfection aux ultra-violets est largement utilisée par les établissements conchylicoles. La pratique de ce procédé, particulièrement lors de l'alimentation à partir d'eaux estuariennes, nécessite un équipement annexe constitué d'un filtre pour éliminer le maximum de matières en suspension, et ainsi augmenter le pouvoir germicide du rayonnement.

Par ailleurs, d'autres systèmes de traitement de l'eau ont vu le jour. Les dossiers techniques ont été transmis à l'Afssa pour évaluation (confère Chapitre IX).

En conclusion, l'opération de purification exige de l'opérateur, une parfaite connaissance des risques sanitaires, une rigueur importante tout au long de la procédure complétée d'un contrôle continu des installations.

3. Performances et limites de la purification

a) Paramètres impliqués dans la purification

La purification des coquillages est basée sur le principe que le coquillage immergé dans une eau propre va "dégorgé" naturellement les contaminants qu'il a pu séquestrer dans ses tissus et en particulier dans son système digestif. La spécificité de la contamination est liée au fait que les coquillages peuvent concentrer plusieurs dizaines de fois, bactéries et virus présents dans l'eau environnante. Ces microorganismes s'accumulent préférentiellement dans les tissus digestifs et semblent plus facilement assimilés par le coquillage s'ils sont associés à des particules ou des fécès.

L'accumulation des microorganismes dans les coquillages est très rapide (quelques heures). Les virus, par leurs propriétés physico-chimiques, ont tendance à s'adsorber ou s'agréger entre eux, ce qui favorise le phénomène de concentration par les coquillages. La concentration dans le coquillage est plusieurs dizaines de fois supérieure à celle de l'eau dans laquelle il est immergé.

L'état physiologique du coquillage, (mais aussi l'espèce) joue un rôle prépondérant sur la concentration et la purification.

La charge bactérienne et virale varie également fortement d'un individu à l'autre, au sein d'un même groupe. Ainsi sur un même lot (ou dans une même assiette) certains coquillages peuvent être sains et un seul contaminé.

Les microorganismes pathogènes strictement humains ne pénètrent pas dans les tissus et restent essentiellement dans le tractus digestif, en particulier dans la glande digestive et le pancréas. Les résultats d'études expérimentales suggèrent que les pathogènes faiblement attachés aux tissus (contamination récente), s'éliminent plus vite lors de la purification que ceux profondément enfouis et attachés aux parois et diverticules intestinaux (contamination ancienne).

Les paramètres jouant un rôle important sur la purification sont présentés ci-dessous :

- *La température* commande la physiologie du coquillage et de ce fait joue un rôle important dans l'efficacité de sa purification. Ainsi pour des températures inférieures à 14°C, les coquillages ont une activité physiologique très diminuée et des fonctions de re-largage faibles.
- *La salinité* comme le paramètre précédent, affecte les fonctions de pompage et des changements de salinité peuvent entraîner des périodes d'acclimatation qui défavorisent la rapidité de la purification (une variation de 10 % suffit à réduire la filtration).
- *Le taux d'oxygène dissous*. La demande en oxygène des coquillages en bassin est très élevée, surtout si la charge est importante. Aussi, il est recommandé que des valeurs supérieures à 2 mg/mL soient maintenues pendant toute la durée de la purification (à l'aide de système d'oxygénation et/ou en modulant la circulation de l'eau).
- *Le taux de filtration*. Il peut varier d'une huître à l'autre, d'un coquillage à l'autre, il doit être favorisé en ajustant les paramètres précités pour que l'activité physiologique soit la plus importante possible.
- *la turbidité*. Son rôle dans la purification est moins bien défini. A faible taux elle pourrait être favorable (source d'aliment pour le coquillage) ; mais à forte concentration les matières en suspension empêchent la pénétration des UV dans l'eau, et ainsi leur action de désinfection est amoindrie.
- *L'alimentation en algues* peut avoir certains effets positifs sur la purification en accélérant le transit intestinal, mais seulement lorsque les températures ne sont pas trop basses.
- *La concentration initiale en microorganismes* : les résultats montrent que plus le coquillage est contaminé, plus la purification sera longue et souvent inefficace pour certains microorganismes.

b) Sensibilité des microorganismes à la purification

Comme indiqué ci-dessus, l'efficacité de la purification va dépendre du type de microorganismes qui contamine le coquillage (confère chapitres II et III).

Afin de pallier l'inefficacité d'*E. coli* à rendre compte du risque viral, certains auteurs ont proposé d'utiliser les bactériophages (Lees, 2000) et en particulier les phages ARN F-spécifiques pour "mimer" la contamination virale et ainsi prévenir le risque. Ces phages, appartenant à la famille des *Leviviridae* sont des virus de bactéries et de ce fait ils possèdent des caractères proches des virus : taille, structure, spécificité d'hôte, résistance aux produits chimiques, à l'eau de mer, etc. Par ailleurs leur détection utilisant des méthodes plus faciles que pour les virus, ils ont servi de modèles de virus dans de nombreuses études concernant la désinfection des eaux ou la purification.

Les microorganismes susceptibles d'être retrouvés dans les coquillages n'ont pas tous la même résistance à la purification. Ceci est dû soit à des raisons mécaniques (taille, adhésion aux parois intestinales du coquillage), soit à des raisons biologiques, certains microorganismes ayant une plus ou moins forte sensibilité à l'eau de mer et aux conditions hostiles du milieu. On peut les classer ainsi (Le Saux et Pommepuy, 2003) :

1. Sensibles : *E. coli*, *Listeria*
2. Assez sensibles : salmonelles, bactériophages,
3. Peu sensibles: virus entériques,
4. Résistants : *Vibrio*

Sensibilité à l'eau de mer

Le Tableau 11 rapporte la sensibilité des microorganismes à l'eau de mer. Elle est exprimée en T90 (temps calculé en heure), nécessaire pour diminuer d'un facteur dix la concentration de la bactérie ou du virus dans l'eau. On peut constater que par rapport à d'autres pathogènes, *E. coli* est moins résistant qu'une salmonelle, un bactériophage ou un virus.

Tableau 11 : Survie des microorganismes en mer : T90, temps - exprimé en heure - nécessaire pour que leur concentration du microorganisme diminue dans l'eau de mer d'un facteur dix (minimum - maximum)

Microorganisme	Eau de mer, 18-22 °C
<i>Listeria monocytogenes</i> 1	22-39
<i>Escherichia coli</i> 2, 3	5-35
<i>Salmonella</i> Panama 1	13-72
<i>Cryptosporidium</i> 6	48-96
Poliovirus-1 4, 6	10-72
Phage (ARN F-spécifiques) 4	60-76
Hépatite A virus 4, 5	72-300
<i>Astrovirus</i> 5	384-432

1. Montfort et al, 2000 ; 2. Salomon et Pommepuy, 1991 ; 3. Troussellier et al, 1998 ; 4. Callahan et al, 1995 ; 5. Bosch et al, 1996 ; 6. Johnson et al, 1996

D'après Le Saux et Pommepuy, 2003

Sensibilité à la purification

Escherichia coli

La majorité des Etats Européens considère 48 heures comme le temps suffisant pour limiter le nombre de bactéries (le but de la purification étant d'obtenir des produits conforme à la réglementation en vigueur < 230 *E. coli* par 100 g de C.L.I.). La plupart des travaux réalisés sur le sujet montre qu'en effet, si les règles HACCP sont respectées, les produits issus de ces temps passés en bassins respectent les normes de mise en marché.

Salmonelles

La purification, lorsqu'elle est réalisée correctement, semble s'avérer efficace vis à vis du risque bactérien, preuve en est la baisse de salmonelloses ou typhoïdes ces quinze dernières années en Europe. On considère d'une manière générale que 48 heures sont suffisantes pour éliminer cette bactérie.

Virus des gastro-entérites et de l'hépatite A

Pour les virus entériques, l'efficacité de la purification telle qu'elle est pratiquée aujourd'hui est assez réduite. D'une manière générale les résultats montrent que les virus sont éliminés plus lentement que les bactéries. L'élévation de la température de l'eau du bassin (20 °C) est favorable à la décontamination virale des huîtres. Cependant, même dans ces conditions, il faudrait plusieurs jours pour s'assurer de la qualité sanitaire du coquillage. Lorsque la température de l'eau de mer est très basse (< 14°C) les virus entériques peuvent persister dans le coquillage plusieurs semaines et pour le VHA, plusieurs mois.

Bactériophages

Utilisé comme modèle de virus, le bactériophage ARN F-spécifique a donné lieu à de récentes études tendant à valider des conditions favorables à la décontamination virale : les travaux ont été essentiellement réalisés par des équipes anglaises (Cefas) et françaises (Ifremer). Le tableau 12 et la Figure 8 présentés ci-dessous montrent la sensibilité de *E. coli* et du bactériophage à la désinfection (Le Saux et Pommepuy, 2003).

Tableau 12 : Effet de la température sur la persistance dans des huîtres d'*E coli* et du bactériophage ARN F- spécifique

Température	<i>E. coli</i>	F+RNA spécifique
8-10 °C	48 heures	> 10 jours
15 °C	< 48 heures	~ 8 jours
20 °C	< 48 heures	~ 6 jours
25 °C	< 48 heures	2 - 5 jours

source : Le Saux et Pommepuy, 2003

On notera que dans l'expérience rapportée sur la Figure 8, les huîtres répondant aux normes de salubrité (< 230 *E. coli*) étaient fortement chargées en bactériophages. Ces derniers ont persisté dans les coquillages pendant plusieurs jours. L'effet de la purification en eau réchauffée à 25°C - avec forte aération et circulation d'eau - a été plus rapide que pour les huîtres immergées dans de l'eau de mer à température ambiante (15°C).

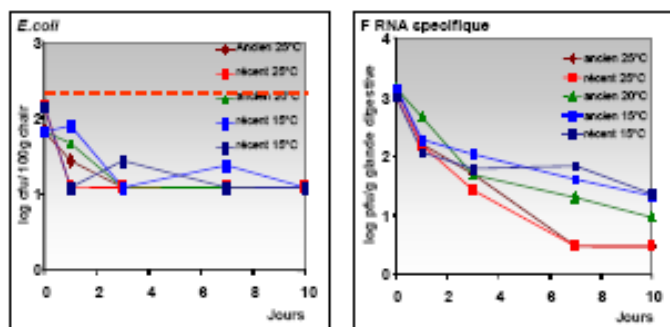


Figure 8 : Cinétique de purification des huîtres naturellement contaminées pour *E. coli* et les bactériophages ARN F-spécifique

D'après Le Saux et Pompepu, 2003

4. Conclusions et perspectives

Les traitements de purification des coquillages vivants, même lorsqu'ils sont mis en œuvre selon les bonnes pratiques (conformité des équipements de taille à la quantité de produits traités par exemple), peuvent constituer une fausse sécurité, car à l'heure actuelle ils ne sont efficaces que pour diminuer la contamination par les bactéries pathogènes d'origine fécale.

Ainsi, comme le rappelle le considérant 12 du règlement (CE) n° 2073/2005, le recours à l'élimination des indicateurs bactériens fécaux pour déterminer les durées de purification des coquillages « *constituait une pratique dangereuse* ».

Il convient donc de démontrer l'efficacité des méthodes actuelles ou futures de purification des coquillages pour d'autres pathogènes. Pour cela, Il est indispensable de bien connaître les cinétiques de décontamination des différents agents dangereux, en fonction des espèces de mollusques, de leurs conditions physiologiques (métabolisme, cycle sexuel, ...) ou immunitaires.

Par ailleurs, il serait utile de disposer d'indicateurs de contamination virale applicables à l'évaluation en routine de l'efficacité de ces traitements ; ceci n'est pas le cas à ce jour.

Des conditions d'utilisation des eaux utilisées pour la décontamination des coquillages devraient être précisées dans le guide de bonnes pratiques de purification. En outre, si la purification utilise une eau de mer traitée, il convient de vérifier que le traitement n'induit pas d'effets secondaires sur les mollusques ou sur les consommateurs.

Il conviendrait de prendre garde à ce que les bassins de purification ne constituent pas des écosystèmes anthropisés favorisant l'évolution adaptative et la sélection de clones particuliers de bactéries pathogènes marines. Par ailleurs, les rejets des installations de purification devront également être pris en considération. Il conviendra de prendre en compte en particulier le risque éventuel de pollution des eaux littorales par le phytoplancton toxique relargué.

Ces considérations font apparaître comme aventureux le recours à la purification des coquillages comme unique moyen pour assurer la sécurité sanitaire de la filière des coquillages vivants - même en allongeant les durées et les températures de traitement - comme tendent à l'encourager les dernières évolutions réglementaires européennes.

Il faut au contraire défendre le principe de la protection de la qualité des eaux littorales. Idéalement, il ne faudrait cultiver les coquillages que dans les zones totalement exemptes de rejets d'eaux usées, de quelque nature qu'elles soient (eaux pluviales, rejets agricoles diffus, rejets industriels, rejets domestiques).

Traiter avant rejet tous les effluents contenant des matières fécales pour l'abattement effectif des pathogènes qu'ils peuvent contenir, en réduisant en particulier les facteurs de survie de ces micro-organismes (matières en suspension, sur lesquelles ils s'adsorbent et qui les protègent des facteurs d'inactivation dans les eaux littorales, matière organique fécale source de nutriments pour les bactéries), est la seule solution. Ceci est certes devenu complexe, compte-tenu de la forte pression des usages humains sur les façades littorales européennes. Le reparcage des coquillages provenant d'une zone classée B reste nécessaire, il conviendra d'exiger que les eaux utilisées soient des eaux de mer propres.

Il faut noter que la mise à disposition, par la profession, d'un guide de bonnes pratiques et d'application des principes HACCP précisant la conduite de la purification s'avère indispensable. En l'absence d'un guide de bonnes pratiques, un protocole est proposé dans la note de service du 27 mars 2003 déjà mentionnée : validation du procédé pendant la période d'agrément provisoire (3 mois) et surveillance de l'efficacité du procédé en routine, notamment en fonction des conditions environnementales suspectées de pouvoir impacter la qualité sanitaire des coquillages d'une zone de production.

POINTS CLES :

- 1) L'objectif de la purification est de diminuer la contamination microbiologique afin de rendre les coquillages propres à la consommation humaine. Seuls les coquillages en provenance des zones classées A peuvent être commercialisés directement pour la consommation humaine. Les coquillages provenant des zones B et C doivent être soumis à une purification. Néanmoins, même lorsqu'ils sont mis en œuvre selon les bonnes pratiques, les traitements de purification peuvent constituer une fausse sécurité, car leur efficacité est démontrée uniquement pour la réduction des indicateurs de contamination fécale.
- 2) L'efficacité et la rapidité de la purification dépendent du type de virus ou de bactéries qui contamine le coquillage.
- 3) La mise à disposition, par la profession, d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène pour la conduite de la purification s'avère indispensable ; il devra inclure une démarche de validation de l'efficacité du procédé de purification.
- 4) Enfin, le principe de la protection de la qualité des eaux littorales doit être défendu. La qualité sanitaire des coquillages dépend directement de tous les effluents contenant des matières fécales d'origine animale ou humaine.

E. Pertinence de l'indicateur *E. coli* et nécessité éventuelle d'autres indicateurs

Le système actuel de surveillance des coquillages à la production se limite à mesurer le niveau de contamination d'un seul indicateur bactérien de contamination fécale *E. coli*, de coquillages prélevés *in situ* dans la zone de production.

La méthode actuellement utilisée par les laboratoires de l'Ifremer pour le dénombrement des *E. coli* dans les coquillages vivants, pour le classement sanitaire et la surveillance des zones de production, est une technique de mesure rapide par impédance (systèmes Malthus 2000 et BacTrac 4300). Cette technique a été validée par des essais inter-laboratoires d'aptitude organisés entre les laboratoires Ifremer, par rapport à la méthode NF V 08-600 (technique NPP). Elle est vérifiée périodiquement lors des essais d'aptitude organisés deux fois par an, incluant les méthodes NPP (NF V 08-600 et ISO/TS 16649-3). La validation européenne de cette technique alternative de dénombrement des *E. coli* dans les mollusques bivalves sur système BacTrac 4300 est en cours, selon le protocole de la norme NF EN ISO 16140, en collaboration avec le LCR du Cefas (échéance 2008).

En outre, il convient de noter l'imprécision de la technique de dénombrement dite du NPP ($\pm 0,6$ u. log à $\pm 0,8$ u. log pour les très basses valeurs). Les résultats NPP sont donnés en gramme dans les tables de De Man (1983) puis, selon l'usage, exprimés par 100 g de C.L.I. dans la réglementation et les rapports d'essai. La norme réglementaire pour la catégorie A (2,3 ou 230 *E. coli* par g ou par 100 g de C.L.I.) est ainsi proche du seuil de détection de la méthode. En effet, le seuil de détection de la méthode de référence pour le dénombrement des *E. coli* dans les mollusques bivalves (ISO/TS 16649-3:2005) est d'une bactérie dans 5,55 g de chair et de liquide intervalvaire, soit 0,18 par g (1/5,55) ou 0,20 par g (résultat de catégorie 1) dans la table de De Man (5 tubes et 3 dilutions).

Nous avons vu précédemment que les principales causes de gastroentérites sont d'origine virale (hépatite A et *Norovirus*) et que les bactéries ne représentent qu'une faible part des contaminations (Chapitre II). *E. coli* est une bactérie beaucoup moins résistante dans le milieu extérieur que les virus sus-cités qui font partie des plus résistants connus dans l'environnement (survie de plusieurs semaines dans l'eau de mer). Sur cette approche pratique, il apparaît donc que *E. coli* n'est pas un marqueur de choix de la présence possible de virus pathogènes.

Une étude a tenté d'établir la relation entre le niveau de contamination fécale des coquillages, mesuré par *E. coli*, et la survenue de gastro-entérites chez les consommateurs. Les résultats de cette étude

multicentrique « *Coquillages et santé* »⁸ (1997) de type éco-épidémiologique, d'une durée de deux ans, a porté sur quatre secteurs du littoral Manche-Atlantique français, qui joignaient chacun un gisement naturel de coquillages et une zone de résidence proche, dont la population était surveillée par un réseau de médecins locaux. Le choix des sites a été fait de façon à couvrir une grande variété de situations avec trois sites sur quatre présentant une contamination bactériologique fécale élevée (proportion d'échantillons de coquillages avec une concentration de *E. coli* supérieure à 230 par 100 g de C.L.I. variant d'un site à l'autre entre 56,7 % et 88,5 %, et proportion avec une concentration en *E. coli* supérieure à 4 600 par 100 g de C.L.I. variant respectivement entre 10,2 % et 19,8 %) (deux sites sont classés B), et un site témoin (classé A) présentant une contamination bactériologique fécale faible (proportion d'échantillons de coquillages avec *E. coli* supérieur à 230 par 100 g de C.L.I. égale à 8,6 % et une proportion avec une concentration de *E. coli* supérieure à 4 600 par 100 g égale à 0,4 %). Chaque zone de production a été visitée à fréquence hebdomadaire avec prélèvement de coquillages pour dénombrement d'*E. coli* et de streptocoques fécaux (un prélèvement en semaine de mortes eaux et deux prélèvements en vives eaux). La pluviométrie et les coefficients de marée ont été relevés quotidiennement. Le réseau sentinelle de médecins libéraux de chaque site a réalisé le relevé quotidien des cas de gastroentérite, accompagné d'un questionnaire pour renseigner l'éventuelle consommation de coquillages du site. Pour mettre en relation sur chaque site les données issues de cette double surveillance environnementale et sanitaire, une méthode statistique a été développée. Elle permet d'estimer la proportion minimale de cas attribuables aux coquillages chez les consommateurs du site au-delà d'un niveau donné de contamination des coquillages de ce site.

Pour les trois sites pollués, cette proportion minimale de cas attribuables augmente régulièrement en fonction du niveau de contamination microbiologique de la zone de production. Il existe donc pour ces sites une relation entre l'élévation du niveau de contamination des coquillages - mesuré *in situ* par un indicateur fécal bactérien - et l'accroissement du nombre de cas de gastro-entérites chez les consommateurs. Sur ces trois sites, les indicateurs bactériens classiques de contamination fécale peuvent donc être utilisés pour prédire les cas de gastroentérite liés à la consommation de coquillages contaminés.

Mais aucune des relations obtenues ne permet de définir un seuil de contamination des coquillages en dessous duquel le risque de gastroentérite serait nul pour les consommateurs. De plus, l'étude ne fournit aucun élément de validation pour l'utilisation des valeurs limites de la réglementation comme garantie d'absence de risque de gastro-entérite. Enfin, les relations mises en évidence dans cette étude ne peuvent pas *a priori* être étendues à d'autres sites, du fait que le lien entre niveau d'indicateurs microbiens et effet sur la santé peut mettre en jeu des facteurs géographiques inconnus. Les résultats de cette étude ne permettent donc pas de donner un avis sur la pertinence du classement de l'ensemble du littoral français, sur les valeurs de classement, ni sur les niveaux seuil de la réglementation.

De même, l'étude « *Coquillages et santé* » (Lesne, 1992) a montré que les bactéries témoins de contamination fécale (*E. coli* et streptocoques fécaux) pouvaient être des indicateurs environnementaux prédictifs du danger de gastroentérite aiguë dans le contexte de zones de production fortement et régulièrement exposées à une pollution fécale (par exemple en cas de sous-capacité de traitement des eaux résiduaires en été, ou en cas de rejets directs diffus).

En vue de faire évoluer le classement actuel des zones de production dans le sens d'une prévention plus efficace contre les gastroentérites aiguës, sans changer sa logique, il serait intéressant de poursuivre ce type d'étude pour d'autres zones de production. Il est à noter que l'Ifremer préconise suite à ses travaux sur sites et dans le cadre Européen (projets EU, Virus Safe Seafood et Redrisk) de s'appuyer sur des critères environnementaux : surveillance des pluies (données Météo-France), des épidémies dans la population (sentiweb) et des incidents locaux (défaillance de réseaux ou de station d'épuration) pour prévenir le risque sanitaire (Le Guyader *et al*, 2006 ; Le Saux *et al*, 2006 ; Riou *et al*, 2007).

Il est donc raisonnable actuellement de poursuivre la surveillance microbiologique des coquillages au travers de l'indicateur réglementaire dans ce type de zone de production, même si les délais d'obtention des résultats n'en font pas des indicateurs utilisables pour l'alerte en cas de pollution sporadique (par exemple rupture de réseau d'assainissement, panne de pompe de relevage, by-pass d'eaux brutes, épandage agricole sauvage).

⁸ L'étude « *Coquillages et santé* » a été conduite par l'École Nationale de la santé publique en partenariat avec l'Ifremer et avec les DDASS littorales concernées. Elle a été financée par le fond d'intervention en Santé publique et par le Réseau National de Santé Publique. La collecte des données s'est étalée de mai 1994 à fin avril 1996. L'étude a fait l'objet d'un rapport remis au RNSP en 1997 mais n'a pas été publiée.

Un effort de recherche pour une analyse coût - bénéfique de santé du système actuel de surveillance de la salubrité des coquillages à la production doit aussi être envisagé.

A partir des résultats de ces travaux de recherche, et en s'appuyant par ailleurs sur les avancées méthodologiques qui permettront dans un proche avenir la détection et la quantification directe d'une large gamme de micro-organismes pathogènes à un coût acceptable, il est possible qu'il soit recommandé de réformer totalement les outils et le dispositif actuels de surveillance, mais cette surveillance restera nécessaire.

POINTS CLES :

1) Points forts et points faibles :

E. coli est un bon indicateur de contamination fécale humaine ou animale dans l'environnement. Cette bactérie apparaît être un indicateur environnemental prédictif du risque de gastroentérite aiguë dans le contexte de zones de production fortement et/ou régulièrement exposées à une pollution fécale *i.e.* : en cas de sous-capacité de traitement des eaux résiduaires en été, ou de rejets directs diffus. Néanmoins, il n'est pas encore envisageable de modéliser la survenue des épisodes de gastroentérites à partir du suivi de la qualité microbiologique des eaux du littoral. De plus, cet indicateur n'est pas un bon indicateur de la présence de virus ou de parasites.

2) La méthode actuellement utilisée par les laboratoires de l'Ifremer est une technique de mesure rapide par impédancemétrie (NF V08 106). Le règlement (CE) n°2073/2005 prévoit l'utilisation d'une nouvelle norme NPP (3 dilutions, 5 tubes) NF ISO/TS 16 649-3:2005 en remplacement de la NF V08-600. Il est important, comme cela est souligné dans le règlement (CE) n°2073/2005, que la possibilité soit ouverte d'utiliser une méthode équivalente.

3) Nécessité de compléter le critère *E. coli* par un autre indicateur ?

Il est actuellement raisonnable de poursuivre la surveillance microbiologique des coquillages au travers de l'indicateur *E. coli* dans les zones de production fortement et régulièrement exposées à une pollution fécale. Cependant cet indicateur n'est pas efficace pour les cas de pollution sporadique.

F. Pertinence de l'utilisation de la surveillance des gastroentérites comme critère d'alerte sur la dégradation des zones de production de coquillages

La faisabilité d'une mise en corrélation ou d'une complémentarité de données issues de la surveillance épidémiologique «humaine» avec celles issues de la surveillance des *E. coli* (comme indicateur de contamination microbiologique des coquillages) ou des phycotoxines dans les zones de production de coquillages pose tout d'abord la question de la capacité d'une surveillance épidémiologique à mettre en évidence des événements de santé induits par une contamination microbiologique ou par des phycotoxines des coquillages.

Dans une situation où l'on souhaite surveiller les effets d'un agent infectieux ou d'une phycotoxine contaminant les coquillages, l'objectif de la surveillance serait d'identifier des phénomènes inhabituels (apparition de pathologies aiguës communes suite à la consommation de coquillages, une augmentation du nombre de cas d'une même pathologie, la survenue de pathologies inhabituelles etc.), de décrire les cas, de suivre les évolutions spatio-temporelles et ainsi de contribuer à détecter une contamination des coquillages non mise en évidence par la surveillance du milieu ou d'évaluer l'impact sanitaire d'une contamination mise en évidence par la surveillance du milieu ou enfin d'évaluer l'impact d'éventuelles mesures de contrôle.

L'indicateur faisant l'objet de la surveillance doit être le plus spécifique possible, c'est-à-dire dans l'idéal, une ou des pathologies ou syndromes causés uniquement par le contaminant. Par ailleurs, afin de pouvoir alerter précocement, la surveillance devrait être réactive et exhaustive en terme de cas rapportés par le système.

La majorité des agents infectieux présents dans les coquillages et la majorité des phycotoxines provoquant des symptômes gastro-intestinaux, (la toxine la plus souvent identifiée dans le Bassin d'Arcachon est par exemple une toxine diarrhéique), et en raison du caractère inconnu des effets sur la santé humaine de toxine atypique comme observée dans les coquillages de la baie d'Arcachon en 2006, une surveillance exhaustive et réactive des gastro-entérites aiguës (GEA) parmi la population

exposée *i.e.* consommatrice des coquillages présents dans la zone contaminée pourrait être envisagée.

1. Surveillance locale des GEA dans la zone de production des coquillages

Il existe en France des systèmes nationaux de surveillance des GEA. Le Réseau Sentinelles recueille, analyse et diffuse des données épidémiologiques issues de l'activité de médecins généralistes libéraux répartis sur le territoire national (Flahault, 2006). L'autre système, le réseau OSCOUR, collecte des informations à partir des services d'urgences (réseau OSCOUR) (Josseran & Brucker, 2007). Cependant ces deux systèmes nationaux n'ont pas pour objectifs et ne permettent pas de surveiller les GEA à un niveau local comme la population résidant dans une zone de production de coquillages.

La mise en place d'une telle surveillance nécessite au préalable de discuter de la pertinence des GEA comme indicateur de morbidité liée à la consommation de coquillages contaminés.

Les GEA sont l'un des premiers motifs de consultations en médecine générale, avec en moyenne près de trois millions de patients estimés qui consultent chaque année un médecin généraliste pour diarrhée aiguë (Flahault, 1995). Les agents étiologiques sont multiples, principalement des virus, pour une part moins importante des bactéries pathogènes (salmonelles, campylobacters, etc.), des parasites (*Cryptosporidium*, etc.) ou des toxines (entérotoxine staphylococcique, etc.). Il existe aussi des diarrhées non infectieuses. Il n'est pas possible de distinguer cliniquement de façon fiable les GEA selon leur étiologie sans recours aux examens de laboratoires. Or la proportion des cas de GEA pour lesquels la cause est identifiée est très faible : la majorité des personnes souffrant de GEA ne consulte en effet pas de médecin et les examens de laboratoire sont réalisés pour une très faible proportion des patients consultants. Par ailleurs, les modes de transmission des GEA infectieuses sont multiples : de personne à personne, d'origine alimentaire ou hydrique. En conséquence, en raison de la diversité des agents et des modes de transmission, la spécificité de la GEA comme effet sanitaire éventuel d'une contamination des coquillages est très faible. De plus, en raison de la fréquence des GEA dues à d'autres causes, la sensibilité du système pour détecter un nombre limité de cas de GEA liés à la consommation des coquillages contaminés est également très faible, car il faudrait un nombre important pour que les cas puissent être distingués du bruit de fond.

Pour les raisons citées ci-dessus, l'interprétation des données de surveillance de GEA doit être très prudente. En effet, une augmentation du nombre de cas de GEA peut être d'origines diverses : pic épidémique saisonnier, cas groupés en collectivité d'origine virale avec une transmission majoritairement interhumaine, transmission alimentaire non due à la consommation de coquillages, épidémie d'origine hydrique, etc. Ainsi, la valeur prédictive positive d'une augmentation de cas de GEA est très faible pour la détection de cas de contamination par les coquillages. Il serait donc difficile d'interpréter une augmentation du nombre de cas de GEA mais encore plus difficile de conclure à l'imputabilité des coquillages de la zone sous surveillance. En effet, pour cela une investigation approfondie serait nécessaire, qui devrait recueillir l'ensemble des informations concernant les aliments consommés par les personnes malades durant les jours qui précèdent la maladie, et d'une population « témoin » afin de pouvoir conclure sur une éventuelle association avec la consommation de coquillages. La puissance d'une telle étude pour mettre en évidence une éventuelle association avec la consommation de coquillages sera extrêmement faible du fait que la majorité des cas de GEA qui pourrait être inclus seront non liés aux coquillages, et masquerait une éventuelle association. Enfin, la valeur prédictive négative est également faible. Ainsi, si aucune augmentation du nombre de cas de GEA n'est observée, il n'est pas non plus possible de conclure qu'il n'y a aucun effet pouvant être lié à la consommation de coquillages contaminés sachant qu'il faudra un nombre important de cas pour dépasser les seuils de fluctuation habituels dans le nombre de cas de GEA, qui permet d'identifier une augmentation inhabituelle.

Au total, il apparaît que l'apport de la surveillance des GEA est très limité pour la détection et l'examen de l'imputabilité des GEA liées à la consommation de coquillages. Cette surveillance ne permettrait de détecter que des événements impliquant un nombre de cas très élevé. De plus, la mise en place et surtout le maintien d'un tel système de surveillance basée majoritairement sur la participation volontaire des médecins généralistes, qui ont une très importante charge de travail par ailleurs, est très lourde et n'est pas faisable en routine avec les moyens actuellement disponibles.

2. Déclaration obligatoire des toxi-infections alimentaires collectives (Tiac)

La surveillance d'événements de santé liés à la consommation de coquillages (GEA ou autres pathologies groupées) peut s'appuyer sur la déclaration obligatoire (DO) des Tiac⁹. Cette DO est un système plus approprié pour la surveillance et la détection d'effets sanitaires liés à la consommation de coquillages que pour la surveillance des GEA. En effet, elle permet de juger de l'imputabilité aux coquillages et également de détecter d'autres effets sanitaires que les GEA, connus ou pas encore. Il présente également les meilleures valeurs prédictives positives et négatives. Le système de déclaration obligatoire des Tiac en France est cependant insuffisamment exhaustif car il existe une insuffisante notification des Tiac (Gallay, 2000) et les Tiac déclarées ne donnent pas toutes lieu à des investigations approfondies permettant de conclure de façon fiable sur l'aliment en cause.

3. Conclusion

Au regard de l'ensemble de ces éléments, le système le plus performant pour la surveillance et la détection d'effets sanitaires liés à la consommation de coquillages reste la déclaration obligatoire des Tiac. Ce système, déjà existant et ayant déjà fait ses preuves devrait cependant être renforcé en termes de déclaration et d'investigation dans la zone concernée par la surveillance. Ce renforcement nécessiterait :

- une sensibilisation des médecins et de tous les potentiels déclarants (consommateurs, restaurateurs, distributeurs, etc.) de la zone surveillée à la déclaration obligatoire des Tiac ;
- un renforcement des moyens des Directions départementales des affaires sanitaires et sociales (Ddass) et des directions départementales des services vétérinaires (DDSV) pour l'investigation des Tiac dans les départements concernés.

En complément, il serait utile d'améliorer la culture du signalement auprès de l'ensemble des professionnels de santé de la région pour qu'ils signalent tout phénomène inhabituel observé au cours de leur activité. Une implication des services qualité de la grande distribution, susceptibles de recevoir des plaintes des consommateurs concernant des effets sanitaires après consommation de coquillages, pourrait être étudiée afin de disposer d'une source supplémentaire de signalement.

Ces actions doivent être mises en œuvre :

- Dans une zone définie : la consommation des coquillages de la majorité des zones de production est très diffuse avec une circulation des produits qui dépasse largement les frontières administratives. Cependant, on peut supposer que l'exposition aux coquillages d'une zone de production donnée est maximale dans le département de la production et que la surveillance y sera la plus efficace.
- De façon continue : il est nécessaire de disposer d'une surveillance continue et pérenne afin de disposer de données permettant des comparaisons dans le temps et d'interpréter les fluctuations observées.

POINTS-CLES :

La surveillance locale des GEA dans la zone de production des coquillages présente un intérêt limité pour la détection et la surveillance d'effets sanitaires liées à la consommation de coquillages du fait de ses faibles spécificité et sensibilité. De plus, les moyens actuellement disponibles ne permettent pas la mise en place et le maintien de ce type de système.

Les systèmes nationaux de surveillance des GEA existants n'ont pas pour objectifs et ne sont pas adaptés à la surveillance des GEA à un niveau local.

La déclaration obligatoire des Tiac semble actuellement le système le plus performant pour la surveillance et la détection d'effets sanitaires liés à la consommation de coquillages. Ce système devrait cependant être renforcé en termes de déclaration et d'investigation dans la zone de production des coquillages concernée par la surveillance.

⁹ Une Tiac est définie comme la survenue d'au moins deux cas groupés d'une symptomatologie, le plus souvent digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Les médecins et les biologistes, mais aussi le principal occupant (chef de famille ou d'établissement) des locaux où se trouvent les malades, qui suspectent ou diagnostiquent une Tiac doivent la signaler sans délai au médecin inspecteur de santé publique de la Ddass de leur lieu d'exercice. La déclaration des Tiac déclenche une investigation réalisée par les Ddass et les DDSV, destinée à identifier les aliments responsables et les facteurs favorisants afin de prendre des mesures spécifiques pour prévenir les récurrences.

Chapitre IV : Surveillance de la qualité sanitaire des coquillages assurée par les producteurs

A. Autocontrôles

Dans les établissements, les analyses attendues et effectuées sont essentiellement microbiologiques, les autres contaminants ne sont pas recherchés en routine du fait de la surveillance des zones de production (de tels autocontrôles peuvent toutefois être réalisés en fonction de la connaissance d'un risque accru). Dans certaines régions, ces autocontrôles microbiologiques sont mutualisés (exemple de la Charente Maritime).

Les professionnels peuvent s'appuyer sur la note de service du 31 juillet 1995 qui expose la fréquence minimale et la nature des analyses dans les établissements conchylicoles pour les coquillages expédiés, ou en tant que matière première (notamment lorsque l'exploitant diversifie ses origines) et, la qualité de l'eau¹⁰ pour la purification.

La période d'agrément conditionnel (3 premiers mois du fonctionnement d'un nouvel établissement) est l'occasion de réaliser cette vérification. Pour les établissements de purification le protocole est défini dans la note de service du 27 mars 2003. En période d'agrément définitif, des autocontrôles sur la qualité de l'eau sont exigés, notamment lorsqu'il existe un risque de contamination de l'eau (du fait des conditions météorologiques par exemple).

Il est également prévu d'élargir cette approche (définition d'un protocole type) aux établissements d'expédition à l'aide d'un projet de note de service dont la parution a été volontairement retardée à la demande de la profession dans l'attente de la parution du guide de bonnes pratiques.

Seuls les résultats défavorables sont notifiés à l'administration (DDSV), conformément à l'article 19 du règlement (CE) n° 178/2002 et du Décret n° 2006-1364¹¹ du 9 novembre 2006. Néanmoins, il est prévu que des informations puissent être tenues à la disposition des autorités compétentes¹².

B. Traçabilité des produits

La traçabilité permet de gérer au mieux le retrait ou rappel de lots défectueux et de faciliter les contrôles.

Le suivi de la traçabilité peut poser des problèmes en cas de mélanges de lots de différentes origines, mais également lors de transferts entre zones au sein d'un même établissement. Le professionnel doit être en mesure d'identifier l'origine et la destination de ses produits. Cette demande rejoint celle déjà formulée pour des raisons zoonosaires pour les coquillages et transcrites dans une directive récente (directive 2006/88/CE).

Il faut rappeler l'obligation faite aux professionnels d'assurer la traçabilité de ses produits conformément à l'article 18 du règlement (CE) n° 178/2002.

C. Echanges d'information

Afin de gérer au mieux leur production, d'identifier les lots de coquillages à rappeler, les conchyliculteurs doivent être tenus informés des résultats d'analyses non conformes suivis dans le cadre du dispositif d'alerte par l'Ifremer et d'éventuels événements de contamination (pluviométrie, accidents sur Step, ...) par les services de l'Etat le plus tôt possible. A l'inverse, des résultats d'autocontrôles non satisfaisants devraient être transmis à l'ensemble des acteurs de la filière.

¹⁰ Pour les autocontrôles concernant la purification, la note de service du 27 mars 2003 rappelle et précise les objectifs recherchés (cf. également le point 7 de cette note).

¹¹ Décret n° 2006-1364 du 9 novembre 2006 relatif à l'épidémiologie dans le domaine de la sécurité sanitaire des denrées d'origine animale et des aliments pour animaux, de la santé animale et de la protection des végétaux et modifiant le code rural.

¹² « Art. R. 201-13. - Le propriétaire ou le détenteur d'animaux, de végétaux ou de produits végétaux, d'aliments pour animaux ou denrées alimentaires d'origine animale enregistre et conserve les informations relatives aux autocontrôles ainsi que les résultats des analyses correspondants et les tient à la disposition de l'autorité administrative mentionnée à l'article R. 201-5 pendant une durée de trois ans après la date de réalisation de l'autocontrôle ou du prélèvement. Cette durée peut être modifiée par arrêté du ministre chargé de l'agriculture en raison d'un risque sanitaire particulier ou en fonction de la durée d'utilisation des produits. »

POINTS CLES :

1) La note de service du 31 juillet 1995 expose la fréquence et la nature des analyses à effectuer par les établissements conchylicoles. Compte tenu des changements de la réglementation, les moyens à mettre en œuvre par les professionnels seront définis dans un guide de bonne pratique d'hygiène (actuellement en cours de rédaction).

2) Concernant la traçabilité, les professionnels doivent être en mesure d'identifier l'origine et la destination de leurs produits.

3) Afin de gérer au mieux leur production, et le rappel éventuel des lots de coquillages, les conchyliculteurs doivent être tenus informés des événements de contamination du milieu le plus tôt possible, par Ifremer et par les services de l'Etat. A l'inverse, des résultats d'autocontrôles non satisfaisants devraient être transmis à l'ensemble des acteurs de la filière.

Chapitre V : Classification des zones de production conchylicole et analyse des décisions de gestion

A. Le classement des zones de production conchylicole

Cette partie vise à évaluer le système actuel de classification des zones de production des coquillages en fonction des différentes législations communautaires et nationale.

Pour rappel, le classement des zones de production est établi sur la base d'une étude de zone réalisée par l'Ifremer, en prenant en compte les exigences de l'arrêté ministériel du 21 mai 1999. Un classement est associé à un groupe de coquillages (1- les gastéropodes, échinodermes et tuniciers, 2- les bivalves fouisseurs, 3- les bivalves non fouisseurs).

1. Le classement des zones de production conchylicole en France

La carte ci-dessous (Figure 9) montre l'étendue des zones classées sur le littoral français en 2005 : soit 515 zones classées, ce qui représente 337 points de prélèvements.

En 2005, la répartition des classements de zones françaises, eu égard aux seuils microbiologiques de l'arrêté du 21/05/1999 est la suivante : 40 % des zones de production sont classées en zone A, 44 % en zone B et 12 % en zone C.

L'application des seuils du règlement (CE) n° 854/2004 (hors tolérance de 10 % pour les zones de classe B introduit via le règlement (CE) n° 1666/2006 du 6 novembre 2006) conduit à la quasi disparition des zones de qualité A, puisque sur l'ensemble de 262 zones testées (au moins neuf résultats disponibles) le nombre de zones de qualité A passe de 42 à 12. Le nombre de zones de qualité B (hors tolérance) diminue de 196 à 157, dans le même temps le nombre de zones C passe de 24 à 89 et quatre zones de qualité D apparaissent.

Ces estimations ont été comparées aux décisions administratives de classement de zones correspondantes (au 01/01/2006) : 72 classements ne sont pas conformes à la qualité estimée si l'on considère l'arrêté du 21 mai 1999 et 147 classements ne seraient pas conformes à la qualité estimée au regard du règlement (CE) n° 854/2004.

L'introduction d'une tolérance de 10 % pour les zones classées B a encore modifié ce paysage (point abordé dans le chapitre VII). Il convient de souligner que cette mesure est d'application transitoire (*confer* les règlements (CE) n° 2076/2005 et n° 1666/2006).

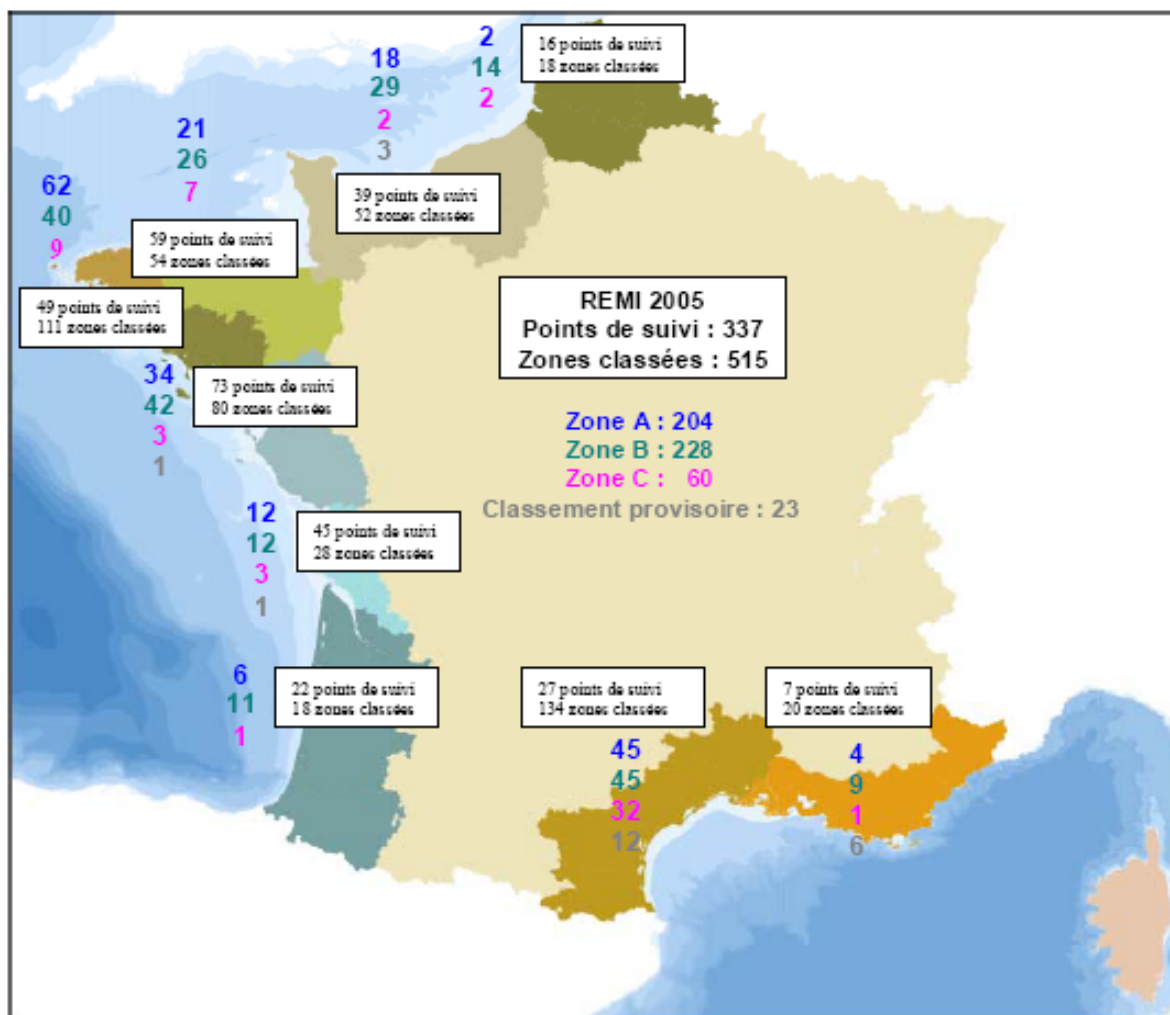


Figure 9 : Répartition des points de suivi et des classements de zone définis dans les arrêtés préfectoraux selon l'arrêté de 21 mai 1999.

2. Le classement des zones de production conchylicole du Bassin d'Arcachon

La situation du bassin d'Arcachon est particulière et complexe car elle combine de nombreuses zones exploitées, une présence humaine élevée, et un fort impact des précipitations sur le bassin. Son exemple est utilisé pour illustrer la démarche de suivi de la classification microbiologique des zones.

La carte ci-dessous (Figure 10) montre la localisation des zones d'exploitation des mollusques du groupe 3 (huîtres) dans le Bassin d'Arcachon, avec les points de surveillance.

Le rapport sur l'évaluation de la qualité des zones de production conchylicole en Gironde réalisé par l'Ifremer en 2006 (Ifremer, 2006) présente une analyse des résultats bactériologiques obtenus durant les trois dernières années calendaires sur l'ensemble des points. Elle a été menée en 2006, avec la prise en compte notamment des données de pluviométrie (Figure 11).

Le Tableau 13 présente une compilation de l'ensemble des résultats pour les zones classées et suivies, le nombre total de résultats obtenus en surveillance régulière et le pourcentage de résultats par classe de contamination entre 2003 et 2005. Il permet de vérifier l'adéquation du classement actuel par rapport à la qualité microbiologique estimée de la zone en fonction des deux textes réglementaires (arrêté du 21 mai 1999 et règlement (CE) n° 854/2004).

Globalement, la qualité bactérienne des coquillages échantillonnés est satisfaisante sur la période 2003-2005. Néanmoins certaines zones situées à proximité des estrans (exemple de la zone 33-01 Pirailan) présentent une augmentation de la contamination fécale notamment en période estivale. Il est donc intéressant de noter que le choix des points de suivi permet bien de mettre en évidence ces modifications saisonnières de la qualité d'une zone.

Selon les critères réglementaires pris en compte (arrêté du 21/05/1999 ou règlement (CE) n° 854/2004), l'évaluation de la qualité microbiologique estimée des zones de production conchylicole est sensiblement différente. L'introduction d'une tolérance de 10 % sur les résultats pour la classification en zone B seulement entraîne une perte de discrimination des classements ; seule une zone peut conserver le classement A alors que deux autres zones ne présentent qu'une seule fois une détection d'*E. coli* entre 230 et 1 000 et se retrouvent classées B. A l'inverse des zones avec des dépassements réguliers au dessus de 4 600 mais dans une limite de 10 % des analyses réalisées peuvent conduire l'administration à reclasser la zone de C vers B.

Il est donc légitime de s'interroger sur le rôle de cette tolérance 10 % uniquement pour la zone B.

Pour mémoire, en France les zones A sont définies par un taux inférieur à 230 *E. coli*, mais lors d'une alerte les autorités considèrent qu'un retour en dessous de 1 000 *E. coli* est suffisant pour autoriser la réouverture. Il apparaît donc que l'application de la nouvelle réglementation va être doublement pénalisante si une tolérance n'est pas appliquée aux zones A.

Toutefois une tolérance de 10 % de résultats hors limite sans valeur maximale présente un danger, en effet dans l'état actuel de la législation une zone peut être classée B avec un ou plusieurs (moins de 10 %) résultats supérieurs à 46 000 *E. coli* (valeur limite de classement en C).

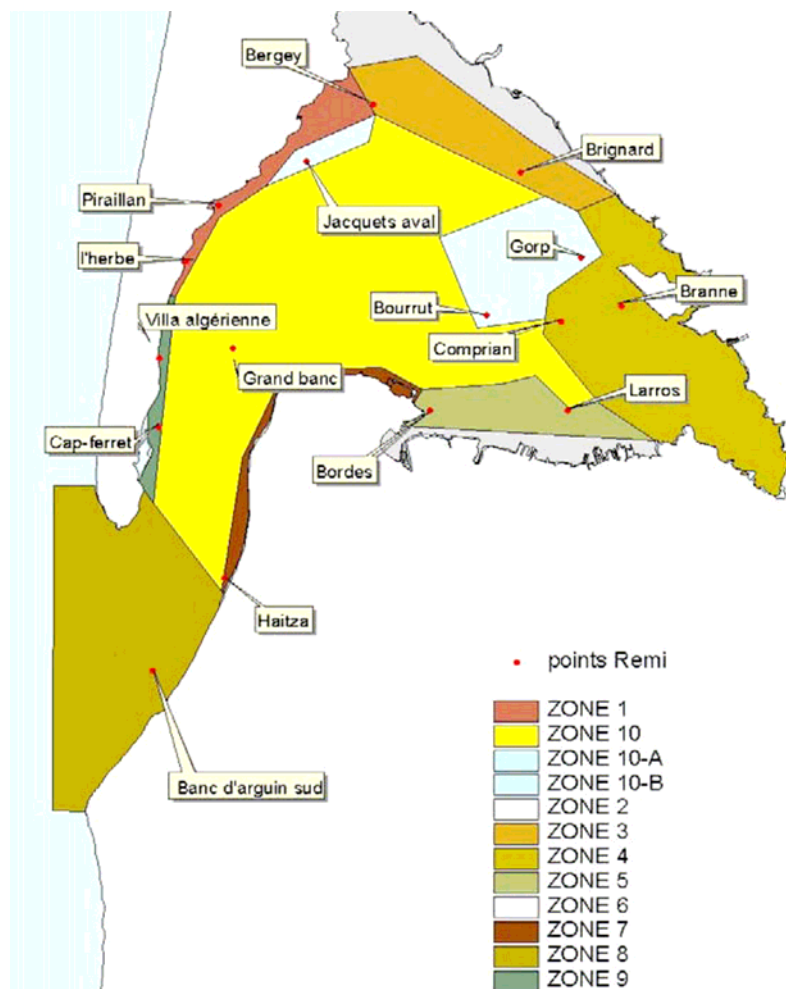


Figure 10 : Localisation des zones de production et des points de surveillance des mollusques du groupe 3 dans le Bassin d'Arcachon

Tableau 13 : Estimation de la qualité des zones classées dans le Bassin d’Arcachon suivant les seuils microbiologiques de l’arrêté du 21/05/1999 et du règlement (CE) n° 854/2004 - période 2003-2005, et du règlement (CE) n° 1666/2006

N° zone	nom	Nombre de données	Période 2003-2005 (pourcentage de résultats par classe)					Classement 01/08/2000	Qualité estimée		
			< 230	230-1 000	1 000-4 600	4 600-46 000	> 46 000		Arrêté 21/05/1999	Règlement (CE) n° 854/2004	Règlement (CE) n° 1666/2006
33.01	PIRAILLAN	96	58,3	29,2	9,4	3,1		B	B	C	B
33.03	MAUBIN	72	97,2	2,8				B	A	B	B
33.04	LE TEICH	72	55,6	34,7	9,7			B	B	B	B
33.05	ANGOULINS	72	81,9	18,1				B	B	B	B
33.07	ARCACHON	36	55,6	30,6	11,1	2,8		B	B	C	B
33.08	ARGUIN	43	97,7	2,3				A	A	B	B
33.09	LE FERRET	72	80,6	9,7	9,7			A	B	B	B
33.10	Intra Bassin	60	100					A	A	A	A
33.10A	GUIAN	36	97,2	2,8				A	A	B	B
33.10-B	GORP	72	91,7	8,3				A	A	B	B
33.11	ARGUIN	43	69,8	23,3	7			B	B	B	B
33.12	Intra Bassin	115	50,4	23,5	23,5	2,6		B	B	C	B



Figure 11 : Exemples de données de surveillance régulière et en cas d'alerte sur trois ans pour les zones (a) « Arguin » et (b) « Intra-Bassin » (2003-2005)

Source : rapport Ifremer. *Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole, département Gironde, édition 2006.*

Les données obtenues dans le cadre de la surveillance régulière (symbole rond) sont prises en compte dans le cadre de l'estimation de la qualité. Les données liées à des prélèvements supplémentaires (dispositif d'alerte - symbole étoile) sont indiquées. Les symboles (ronds ou étoiles) qui apparaissent encadrés permettent de visualiser les dates pour lesquelles la concentration en *E. coli* est concomitante à de fortes précipitations (cumul sur les deux jours précédant le prélèvement). Le terme "fortes précipitations" est utilisé lorsque les précipitations cumulées sur les deux jours précédant le prélèvement sont supérieures au 90^{ème} quantile, estimé sur l'ensemble des données de pluviométrie de la période considérée.

B. Analyse historique des décisions de gestion

1. Rappel de la législation et du rôle des différents acteurs

En matière de gestion de zone de production conchylicole, l'autorité compétente est le préfet de département. Les directeurs départementaux des affaires maritimes sont chargés de proposer aux préfets les mesures à prendre, en fonction des résultats des analyses effectuées selon les méthodes de référence prévues par la réglementation communautaire ou d'autres méthodes d'analyse lorsque ces méthodes sont validées par rapport à la méthode de référence.

Le règlement (CE) n° 854/2004 prévoit que, lorsque les normes sanitaires ne sont pas respectées, « l'autorité compétente doit fermer la zone de production concernée, empêchant ainsi la récolte de mollusques bivalves vivants. », par opposition avec l'ancienne réglementation, qui donnait une marge d'appréciation plus large à l'autorité compétente : « En cas de contamination momentanée d'une zone et en fonction de sa nature et de son niveau, le préfet, ... peut temporairement, soit soumettre son

exploitation à des conditions générales plus contraignantes, soit suspendre toutes ou certaines formes d'activités. ».

Tout résultat défavorable doit donc conduire à la fermeture de zone, par arrêté préfectoral proposé par la DDAM, dans la plupart des cas en concertation avec les membres de la Mission Interservices de Sécurité Sanitaire des Aliments (MISSA).

2. Recensement des épisodes de fermeture de zone de production de coquillages en relation avec les alertes déclenchées

Un bilan des alertes déclenchées dans le cadre du dispositif d'alerte Remi et des arrêtés préfectoraux pris en conséquence est synthétisé dans le tableau 14.

Le nombre de déclenchement d'alerte est en augmentation (Tableau 14). En effet, en 2006, 157 alertes Remi ont été déclenchées contre 96 en 2005, dont 25 alertes de niveau 2.

Parmi ces alertes en 2006, 105 alertes ont été déclenchées suite à des contaminations détectées dans le cadre de la surveillance régulière (contre 65 en 2005). Il faut également souligner une augmentation importante du nombre d'alertes préventives (niveau 0) ce qui représente 34 % du total des alertes déclenchées. Ceci traduit une meilleure prise en compte des phénomènes extérieurs (météorologie, accident de station d'épuration...) et un souci d'anticipation de ces pollutions sur la ressource.

Tableau 14 : Bilan des alertes déclenchées, des alertes niveau 2 et des décisions de gestion (2004-2006)

Secteurs	Alertes déclenchées			Alertes niveau 2			Arrêtés préfectoraux pris suite aux alertes niveau 2 Remi		
	2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006
Boulogne sur Mer	2	3	1	0	0	0	-	-	-
Normandie	9	14	15	0	0	0	-	-	2
Saint Malo	17	13	12	6	2	3	aucun	aucun	aucun
Concarneau	27	9	35	6	0	13	2		11
Morbihan	19	15	37	0	6	2	-	6	7
Pays de la Loire									
Pertuis Charentais	3	6	11	0	1	0	-	aucun	-
Arcachon	2	2	4	0	0	1	-	-	-
Languedoc	9	27	38	1	7	6	1	6	5
Roussillon									
Provence Azur	3	7	4	2	1	0	2	1	3
Corse									
Total	91	96	157	15	17	25	5	13	29

Globalement les décisions de gestion, avec fermeture des zones de récolte par les préfets sont aussi plus nombreuses, mais de grandes disparités existent en fonction des régions, Il est surprenant de constater que pour certains départements de nombreuses alertes sont signalées, confirmées et n'entraînent aucune décision administrative.

Il apparaît une discordance entre la prise de décision des gestionnaires, qui s'autorisent une marge d'interprétation importante des données de suivi qui leur sont fournies, alors que le règlement (CE) n° 854/2004 prévoit très clairement que, lorsque les normes sanitaires ne sont pas respectées, « l'autorité compétente doit fermer la zone de production concernée, empêchant ainsi la récolte de mollusques bivalves vivants ».

3. Conséquences sur la commercialisation d'une décision de fermeture

Compte tenu des délais entre la réalisation des prélèvements et le résultat de l'analyse entraînant la fermeture d'une zone de production, un retrait de la commercialisation des coquillages est à mettre en place. Ce retrait est sous la responsabilité du professionnel.

Le retrait de la commercialisation (voire le rappel) intervient lorsque des non-conformités sont constatées (auto-contrôles ou contrôles officiels, y compris effectués par des autorités compétentes d'autres Etats membres ou de pays-tiers).

De manière générale, au moment de la fermeture d'une zone, la DGAI émet un message à destination des fédérations nationales de la distribution, de la restauration et des producteurs (Comité National de la Conchyliculture) pour les informer que des mesures de retrait doivent être mises en place par les producteurs de la zone concernée.

S'il s'avère que le retrait opéré par les professionnels n'est pas efficace, la DGAI peut prendre des mesures afin d'améliorer l'effectivité du retrait (message d'alerte active à l'ensemble des DDSV et des professionnels de la distribution et de la restauration).

En pratique, même si le retrait est de la responsabilité des professionnels, il s'appuie sur une date fixée par le Préfet à partir de laquelle les coquillages de la zone ne peuvent être récoltés et commercialisés (retrait des coquillages récoltés dans la zone fermée à compter de cette date).

4. Description des conditions de ré-ouverture

En matière de gestion de zone de production conchylicole, l'autorité compétente est le préfet de département. Les directeurs départementaux aux affaires maritimes sont chargés de proposer aux préfets les mesures à prendre, en fonction des résultats des analyses effectuées selon les méthodes de référence prévues par la réglementation communautaire.

Pour rappel, les prélèvements sur zones sont poursuivis durant tout le temps de fermeture de la zone, à une fréquence adaptée à la zone et à la période (les modalités de surveillance sont précisées dans les procédures Remi). Pour la réouverture de la zone, tenant compte du temps de décontamination nécessaire aux coquillages, il est nécessaire d'obtenir deux résultats favorables successifs sur le critère *E. coli*.

POINTS CLES :

→ *Le classement des zones de production (France et bassin d'Arcachon)*

1) Le règlement (CE) n° 854/2004 modifie de façon significative les seuils microbiologiques de classification des zones d'exploitation en France, entraînant un glissement des zones de production de la qualité A vers B.

2) Le classement attribué depuis 2000 aux zones de production du bassin d'Arcachon est globalement conforme aux résultats microbiologiques des années 2003 à 2005 avec les seuils de classement de l'arrêté du 21 mai 1999.

La mise en application du règlement (CE) n° 854/2004 et des dispositions d'application transitoire du règlement (CE) n° 1666/2006 (introduisant une tolérance de 10 % au delà du seuil de 4600 *E. coli* /100 g CLI pour la classe B), entraîne une perte de discrimination de la qualité des zones de production. Des zones classées A comme des zones classées C avec les seuils de l'arrêté de 1999 peuvent se retrouver dans la classe B avec les nouveaux seuils.

→ *Analyse des décisions de gestion*

Le nombre d'alertes déclenchées est en augmentation sur les trois dernières années. En parallèle, les décisions de gestion quant à la fermeture temporaire de zones de productions ont augmenté. Ce bilan met également en évidence des mesures de gestion différentes pour des situations pourtant similaires sur le littoral français.

Chapitre VI : Organisation et mise en œuvre des contrôles officiels

Avant-propos : à ce stade, le coquillage vivant est ici considéré comme denrée alimentaire.

A. Organisation

Le Règlement (CE) n° 882/2004 définit l'organisation des contrôles officiels applicables aux États membres, en particulier le titre II portant sur les points suivants :

- « Désignation des autorités compétentes et critères opérationnels (article 4),
- Délégation des tâches spécifiques liés aux contrôles officiels (article 5),
- Personnel effectuant des contrôles officiels (article 6),
- Transparence et confidentialité (article 7),

.....

- Activités, méthodes et techniques de contrôle (article 10),
- Echantillonnage et analyse (chapitre III),
- Gestion des crises (chapitre IV). »

En France, l'autorité compétente dans le domaine de la surveillance sanitaire des coquillages est le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Les compétences sont cependant réparties entre deux directions :

- la DPMA est responsable de la surveillance sanitaire des zones de production conchylicoles et coordonne l'action des Affaires Maritimes. Elle est maître d'œuvre du Remi. La mise en œuvre du dispositif repose localement sur des laboratoires de l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer), pour la partie prélèvements et analyses, et des DDAM qui, sous l'autorité des Préfets, assurent l'application locale de la réglementation sur la base des données récoltées par les laboratoires. Les DDAM sont donc chargées de proposer au Préfet de département les mesures de gestion qui s'imposent (fermeture et réouverture) et de veiller à leur application ;
- la DGAI assure la surveillance sanitaire des coquillages dès lors qu'ils sont considérés comme des produits et font l'objet d'une manipulation, d'un traitement préalable (une purification par exemple) ou d'un conditionnement en vue de leur commercialisation dans les établissements conchylicoles. Elle décide de la réalisation de plan de surveillance des coquillages mis sur le marché. Localement, ce sont les DDSV qui sont chargées de l'application de la réglementation. Les services vétérinaires ont également compétence pour inspecter les établissements qui mettent sur le marché des mollusques bivalves vivants et pour mettre en œuvre les plans de surveillance programmés par la DGAI.

B. Inspections des établissements

Chaque DDSV établit annuellement une programmation de ses inspections en fonction d'une analyse multifactorielle (activité, produits, volume, fonctionnement, notation de l'inspecteur). Une fréquence d'inspection est alors définie par établissement en fonction du nombre d'établissements à inspecter, des priorités définies soit au niveau central soit localement et des ressources disponibles. Lors des inspections, une attention particulière est portée à la vérification du plan de maîtrise sanitaire .

Pour les établissements conchylicoles, la note de service du 19 août 1998 détermine les contrôles prioritaires à effectuer, qui comportent notamment les points clés suivants :

- la traçabilité des coquillages : enregistrements des coquillages entrants (auto-production ou achat) et sortants (expédition) ; présence et conservation des copies des documents d'enregistrement correspondants aux lots arrivants dans l'établissement ;
- la qualité de l'eau et les modalités d'approvisionnement des établissements ;
- les autocontrôles.

L'inspection de ces établissements peut s'accompagner de la réalisation de contrôles microbiologiques sur les coquillages ou sur l'eau utilisée dans les établissements.

Dans l'attente de la mise en place effective par les laboratoires des méthodes officielles prévues par le règlement (CE) n° 2073/2005, sous la supervision du LNR, les méthodes utilisées actuellement sont précisées dans la note de service du 19 août 1998 (modifiée par la note de service DGAI/SDHA/N2001-8048 du 6 avril 2001) :

- pour le dénombrement d'*E. coli* : la méthode NPP selon la norme NF V 08-600 d'octobre 2000 ;

- pour les salmonelles : la méthode de référence (NF EN 12824 de février 1998), la méthode AFNOR de routine (NF V 08-052 de mai 1997) et les méthodes validées AFNOR pour la recherche des salmonelles dans tous les produits.

Enfin, des contrôles à l'import sont réalisés au sein des Postes d'Inspection Frontalier (PIF) pour tous les lots rentrants, incluant des prélèvements pour analyse. Par ailleurs, les établissements recevant des coquillages provenant d'autres États membres doivent se déclarer en tant qu'établissement « premier destinataire » et sont susceptibles d'être contrôlés (arrêté du 11 mars 1996).

C. Les plans de surveillance des coquillages mis sur le marché

Les mollusques bivalves sont soumis aux contrôles officiels prévus à l'annexe II du règlement (CE) n° 854/2004. Des plans de surveillance annuels sont mis en place par la DGAI pour évaluer la contamination des coquillages au stade de leur mise sur le marché.

Il n'y a pas de plans de surveillance annuels mis en place par la DGAI pour évaluer la contamination microbiologiques des coquillages au stade de leur mise sur le marché. Les autorités sanitaires ont jugé plus pertinent de mettre en place un système de surveillance basé, non pas sur un plan de surveillance ou un plan de contrôle, mais sur des prélèvements réalisés lors des inspections des établissements conchylicoles (confère partie D. ci-dessous).

Néanmoins, il serait intéressant de réaliser un plan de surveillance sur la contamination des coquillages mis sur le marché par *E. coli*, afin de vérifier l'efficacité de toutes les mesures prises en amont. Les informations collectées seraient complémentaires de celles générées par le dispositif de surveillance actuel. D'autres plans de surveillance concernant des micro-organismes pathogènes pourraient également être réalisés, mais seraient plus de l'ordre des pistes de recherche. L'ordre de priorité des dangers à surveiller reste à établir.

D. Résultats des contrôles officiels

Les mollusques bivalves sont soumis aux contrôles officiels prévus à l'annexe II du règlement (CE) n° 854/2004. Les tableaux 15, 16 et 17 présentent les résultats des contrôles officiels concernant les coquillages à l'expédition et avant purification et ceux concernant la qualité de l'eau utilisée dans les établissements conchylicoles. Il s'agit du bilan de trois années complètes de 2004 à 2006 à partir des données issues des DDSV intéressant 2 400 établissements agréés pour l'expédition, 300 pour la purification et 1 589 pour l'expédition et la purification.

Le total des contrôles effectués pour la recherche d'*E. coli* est de 2 984 analyses sur trois années (Tableau 15), ce qui représente moins d'un contrôle par établissement classé (76,6 % en trois ans). Les taux de non-conformités à l'expédition sont de l'ordre de 5%. La présence de salmonelles est exceptionnelle (2 sur 2 155).

Tableau 15 : Contrôles officiels concernant les coquillages vivants pour analyse bactériologique à l'expédition

Année	Espèces	Dénombrement d' <i>E. coli</i>			Recherche de salmonelles	
		Nombre de prélèvements	Nombre de non conformes	Dispersion de non conformes	Nombre de prélèvements	Nombre de non conformes
2004	Huîtres	547	5	232-3500	415	0
	Moules	205	14	270-5400	182	1
	Coques	45	8	450-3500	38	0
	Palourdes	80	11	3500-16000	52	0
	Autres	37	2	790-1700	26	0
	TOTAL	949	43		727	1
2005	Huîtres	581	5	270-330	335	0
	Moules	297	15	330-11000	276	0
	Coques	57	10	230-1300	43	0
	Palourdes	135	13	330-16000	92	0
	Autres	88	3	270-790	51	0
	TOTAL	1158	46		797	0
2006	Huîtres	475	11	230-3500	307	0

Moules	215	22	330-7000	204	0
Coques	25	6	330-2400	22	1
Palourdes	99	9	460-9200	67	0
Autres	63	6	330-4500	31	0
TOTAL	877	54		631	1

source DGAI, 2007

Tableau 16 : Contrôles officiels concernant les coquillages vivants pour analyse bactériologique avant purification

Année	Espèces	Dénombrement d' <i>E. coli</i>	
		Nombre de prélèvements	Nombre de non conformes
2004	Huitres	3	2
	Moules	15	2
	Coques	11	0
	Palourdes	12	0
	Autres	1	0
	TOTAL	42	4
2005	Huitres	43	1
	Moules	23	2
	Coques	4	1
	Palourdes	9	1
	Autres	4	0
	TOTAL	83	5
2006	Huitres	43	1
	Moules	23	2
	Coques	3	0
	Palourdes	6	0
	Autres	4	0
	TOTAL	79	3

source DGAI, 2007

Pour les établissements de purification le niveau de contrôle est plus bas : 204 analyses pour 1 800 établissements soit 11,3 % en trois ans (Tableau 16).

Tableau 17 : Contrôles officiels concernant la qualité de l'eau approvisionnant les établissements conchylicoles

Années	En période d'agrément provisoire		Établissements agréés	
	Nombre de prélèvements	Non conformités	Nombre de prélèvements	Non conformités
2004	12	0	0	0
2005	7	1	0	0
2006	11	0	26	7

Enfin, le nombre de contrôle sur l'eau approvisionnant les établissements conchylicoles est faible (Tableau 17). Aussi les résultats des auto-contrôles doivent être pris en compte lors des contrôles.

E. Missions OAV

En 2001 et 2004, la France a fait l'objet d'une inspection par l'Office Alimentaire et Vétérinaire (OAV) de la Commission européenne, à l'issue de laquelle certaines remarques ont été faites. Ces remarques portaient sur :

- les exigences auxquels doivent répondre les laboratoires chargés de réaliser les analyses (agrément et reconnaissance des laboratoires pour les échantillons officiels et les échantillons d'autocontrôle) ;
- l'absence de désignation de laboratoire national de référence (LNR) pour l'analyse microbiologique des mollusques ;

- le manque d'organisation d'essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) ;
- l'utilisation par les laboratoires de l'Ifremer d'une méthode de numération d'*E. coli* dans les mollusques autre que la méthode mentionnée dans la réglementation européenne ;
- la non adéquation entre le nombre de points de prélèvement et la taille de la zone surveillée ;
- le manque de prise en compte, dans l'organisation du système de surveillance, des changements rapides qui peuvent intervenir dans le milieu aquatique en matière de contamination microbiologique des mollusques bivalves vivants.

Au final, les inspecteurs de l'OAV soulignaient que les informations disponibles étaient insuffisantes pour garantir le déroulement correct des analyses de contrôle de la contamination microbiologique des mollusques bivalves vivants.

Par rapport à ces remarques, la France a réagi et répondu à la majeure partie des exigences communautaires :

- adoption du décret 2006-7 du 4 janvier 2006 pour les laboratoires chargés des analyses, officielles ou non, notamment pour les coquillages, qui repose sur l'application d'un système de qualité fondé sur la norme NF EN ISO 17025 version 2005 ;
- désignation du LNR microbiologie début 2003 ;
- organisation régulière, par le LNR, d'essais d'intercomparaison concernant *E. coli*, selon la méthode NPP et l'impédancemétrie, entre les laboratoires impliqués dans la surveillance microbiologique des zones de production de coquillages ;
- proposition à l'AFNOR d'un programme de normalisation, comprenant la révision de la technique NPP (norme publiée en octobre 2000) et la normalisation de l'impédancemétrie appliquée au dénombrement d'*E. coli* dans les coquillages (norme publiée en janvier 2002) ; cette norme prévoit les conditions d'une première utilisation de la technique impédancemétrique, la vérification périodique de l'étalonnage et son contrôle par rapport à la technique NPP.

POINTS CLES :

L'autorité compétente dans le domaine de la surveillance sanitaire des coquillages est le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Les compétences sont réparties entre deux directions : la DPMA et la DGAI

1) Le système actuel de surveillance microbiologique se fonde uniquement sur des prélèvements réalisés lors des inspections des établissements conchylicoles. Aussi, il est indispensable de réaliser un plan de surveillance national sur la contamination par *E. coli*, et éventuellement pour des microorganismes pathogènes, dans les coquillages mis sur le marché.

2) En 2001 et 2004, les inspecteurs de l'OAV soulignaient que les informations disponibles étaient insuffisantes pour garantir le déroulement correct des analyses de contrôle de la contamination microbiologique des mollusques bivalves vivants. La France a prioritairement répondu par la création d'un Laboratoire National de Référence « microbiologie des coquillages », initiateur d'un programme de normalisation de la technique par impédancemétrie (méthode rapide alternative à la technique NPP).

Chapitre VII : Travaux en cours à l'échelon européen et international

A. Travaux en cours au LCR Microbiologie

Les travaux de recherche et développement relatifs à la surveillance microbiologique des mollusques bivalves et aux méthodes d'analyse sont essentiellement réalisés dans le cadre du 6^{ème} programme cadre de recherche et développement (PCRD) de l'Union européenne (voir point B.) et des comités techniques des organismes de normalisation ISO et CEN et de leurs groupes de travail (voir points C. et D.).

Le guide européen de la surveillance microbiologique des zones de production de mollusques bivalves intitulé « Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas - Guide to Good Practice : Technical Application », réalisé par un groupe d'experts sous l'égide du LCR, est en cours d'officialisation par la Commission européenne. En mai 2007, à la demande de la Commission européenne (DG SANCO) les LNR européens ont adopté une résolution en faveur de la publication sur le site Internet de la DG SANCO du guide des bonnes pratiques définissant les principes de la surveillance microbiologique des zones de récoltes des mollusques bivalves et que le guide technique complet serait mis à disposition sur le site Internet du LCR du Cefas.

B. Travaux à l'échelon européen et international

Des travaux sont effectués dans le cadre de trois sous-projets du « Research and Technology Development (RTD) Pillar 3 - Seafood safety » du projet SEAFOODplus dont les travaux sont financés par le 6^{ème} PCRD (FP6-506359/01.2004-12.2008). Le « RTD Pillar 3 - Seafood safety », coordonné par Le Marine Institute d'Irlande, a pour objet d'effectuer des travaux sur la sécurité sanitaire des produits de la mer en identifiant les facteurs de risque de manière à permettre d'éviter les risques causés par les contaminations bactériennes et virales et les amines biogéniques (histamine) dans les produits de la mer.

- le projet REPHEPA (Development of standard reference methods for hepatitis A virus and norovirus in bivalve molluscan shellfish) vise à développer et normaliser une méthode d'analyse de référence pour la détection et la quantification par RT-PCR en temps réel des norovirus et du virus de l'hépatite A dans les mollusques bivalves.

Dès que la méthode sera complètement définie, elle devra être validée par des essais inter-laboratoires d'aptitude à partir d'échantillons artificiels et de coquillages naturellement contaminés. L'objectif final est la publication d'une norme EN ISO utilisable par tous les laboratoires.

Les méthodes d'analyse des virus par RT-PCR quantitative en temps réel et d'extraction des acides nucléiques mises au point au laboratoire Microbiologie de l'Ifremer ont été acceptées pour les essais inter-laboratoires de validation conduits par le LCR dans le cadre du mandat CEN pour la normalisation des méthodes de référence.

- Le projet Redrisk (Reduction of risk in shellfish harvesting areas) a pour objet d'identifier les principales sources de pollution ayant un impact sur les zones de production de coquillages et l'effet des paramètres environnementaux tels que la marée, la pluviométrie et le vent. Les méthodes d'analyse des virus par PCR (projet REPHEPA) seront utilisées pour évaluer le risque viral associé aux sources de pollution.

L'objectif final du projet est de développer une stratégie préventive permettant d'améliorer la gestion du risque viral associé aux coquillages.

- Le projet SEABAC (Seafood : Enhanced Assessment of Bacteriological Associated Contamination) concerne l'estimation des risques dus à la contamination bactérienne et particulièrement aux *Vibrio* (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*).

Ce projet vise à développer, à harmoniser et à normaliser des méthodes classiques et/ou moléculaires (PCR en temps réel) pour la détection et le dénombrement des *Vibrio* pathogènes pour l'Homme dans les coquillages ayant une incidence sur la santé des consommateurs, incluant la caractérisation des méthodes par des essais inter-laboratoires d'aptitude. L'empreinte génétique des diverses souches de l'environnement sera établie.

Le laboratoire d'Ifremer coordonne les travaux de développement et de standardisation de la PCR en temps réel pour la détection et le dénombrement de *Vibrio parahaemolyticus* dans les coquillages.

Cette méthode ainsi que les protocoles d'extraction des acides nucléiques mis au point au laboratoire de Microbiologie de l'Ifremer seront proposés pour des essais inter-laboratoires de validation.

C. Normalisation européenne

Le programme de travail pour 2007 comprend le suivi du mandat donné au CEN, par la Commission européenne, pour conduire la validation des méthodes d'analyse de référence en microbiologie alimentaire. Une quinzaine de méthodes de recherche des pathogènes est concernée dont notamment les méthodes suivantes, pour lesquelles l'appel d'offre est piloté par le LCR du Cefas (U.K.) :

- EN ISO/TS 21872-1 Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Vibrio* présumés pathogènes par voie digestive Partie 1 – Recherche de *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae*.
- EN ISO/TS 21872-2 Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Vibrio* présumés pathogènes par voie digestive Partie 2 – Recherche des espèces autres que *Vibrioparahaemolyticus* et *Vibrio cholerae*.
- Detection of food-borne viruses in food based on real-time PCR technique (cette méthode nécessite une validation de type NF EN ISO 16140 : une étude pour la caractérisation des méthodes (phase 1), suivie par une étude collaborative interlaboratoire (phase 2)).

Le LNR Microbiologie des coquillages, adhérent de la commission Afnor V08B Microbiologie des aliments, participe activement aux travaux de normalisation du CEN en suivant les travaux de divers groupes de travail européens du comité technique CEN/TC 275 WG 6 dans son domaine de compétence (TAG 3, TAG 4 et groupes miroirs). L'animation du WG 6 est sous la responsabilité française et le secrétariat est assuré par l'Afnor.

● CEN/TC 275 WG 6 TAG 3 « Utilisation de la PCR en microbiologie »

Ce groupe travaille sur les projets suivants :

- Microbiology of food and animal feeding stuffs - Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - Performance characteristics of molecular detection methods ;
- Microbiology of food and animal feeding stuffs - Real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - General requirements and definitions.

Les normes PCR EN ISO 20837 et EN ISO 20838 ont été publiées en 2006 en coopération avec le comité technique ISO/TC 34 SC 9 (voir point D.).

● CEN/TC 275 WG 6 TAG 4 « Les virus dans les aliments »

Ce groupe, présidé par le LCR du Cefas (U.K.), travaille sur les projets de norme suivants :

- recherche de deux familles de virus les plus fréquemment rencontrés (norovirus et virus de l'hépatite A) dans les matrices alimentaires suivantes (eau en bouteille, mollusques bivalves, laitues, fruits rouges) ;
- méthode de détection de type PCR en temps réel (méthodes qualitative et quantitative).

D. Normalisation internationale

Le LNR Microbiologie des coquillages participe également aux travaux de normalisation de l'ISO, dans son domaine de compétence, en suivant les travaux de divers groupes de travail du comité technique ISO/TC 34 SC 9 (WG 3, WG 4 et groupes miroirs). L'animation du SC 9 est sous la responsabilité française et le secrétariat est assuré par l'Afnor en coopération avec le CEN/TC 275 WG 6.

● ISO/TC34 SC 9 WG 4 « Proficiency testing for food microbiology »

Ce groupe rédige un projet de norme sur les compétences techniques requises pour les essais d'aptitudes des laboratoires : « Microbiology of food and animal feeding stuffs - Specific requirements for proficiency testing by interlaboratory comparison ».

● ISO/TC34 SC 9 WG 3 « Validation »

Des sous-groupes du WG 3, auxquels participe le LCR du Cefas, ont été constitués sur les projets de norme suivants :

- révision de la norme NF EN ISO 16140 – Microbiologie des aliments – Protocole pour la validation des méthodes alternatives ;
- validation d'une méthode intralaboratoire ;
- validation intermédiaire ;
- vérification des méthodes ;
- exigences minimales pour l'établissement d'une méthode de référence.

Les normes suivantes sont parues en 2006 et 2007 :

- NF EN ISO 20837 - Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments - Exigences relatives à la préparation des échantillons pour la détection qualitative.
- NF EN ISO 20838 - Microbiologie des aliments - Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments - Exigences relatives à l'amplification et à la détection pour les méthodes qualitatives.
- ISO/TS 20836 - Microbiologie des aliments - Réaction de polymérase en chaîne (PCR) pour la recherche des microorganismes pathogènes dans les aliments - Critères de performance pour les thermocycleurs.
- ISO/TS 21872-1 Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Vibrio* présumés pathogènes par voie digestive Partie 1 - Recherche de *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae*.
- ISO/TS 21872-2 Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Vibrio* présumés pathogènes par voie digestive Partie 2 - Recherche des espèces autres que *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae*.

Les projets suivants, identiques à ceux du CEN/TC WG 6 TAG 3, ont été récemment inscrits au programme de travail du comité technique ISO/TC 34 SC 9 :

- Microbiology of food and animal feeding stuffs - Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - Performance characteristics of molecular detection methods.
- Microbiology of food and animal feeding stuffs - Real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - General requirements and definitions.

E. Travaux de validation d'une méthode alternative selon le protocole NF EN ISO 16140

Le LNR Microbiologie des coquillages de l'Ifremer (Nantes) a lancé l'étude de validation de la méthode rapide de dénombrement des *E. coli* par impédance (système BacTrac 4300) dans les mollusques bivalves vivants, par rapport à la méthode de référence NPP ISO/TS 16649-3:2005. Cette technique permet d'obtenir des résultats en moins de neuf heures tandis que la méthode de référence nécessite plus de 48 heures d'analyse. Cette étude est conduite, sous l'égide du LCR du Cefas, selon le protocole NF EN ISO 16140 pour les méthodes quantitatives.

Chef de projet : LNR Microbiologie des coquillages de l'Ifremer (Nantes)

Partenaires : LCR du Cefas (Weymouth, UK), laboratoires vétérinaires départementaux de Saint-Lô (50), La Rochelle (17), Montpellier (34), laboratoires Environnement-Ressources de l'Ifremer à Port-en-Bessin (14), La Trinité-sur-Mer (56), La Tremblade (17) et Sète (34), Intechmar (Vilagarcía de Arousa, Espagne), Institut de zooprophyllaxie de Vénétie (Adria, Italie), LNR du Cefas (Weymouth, U.K.), LNR d'Agès (Vienne, Autriche).

En 2006, le LNR a étalonné la méthode de dénombrement des *E. coli* dans les mollusques bivalves vivants par rapport à la méthode NPP de référence, puis réalisé l'étude de comparaison des méthodes : sélectivité, limite de détection, linéarité et exactitude relative (phase 1). L'étude collaborative (phase 2) pour la détermination des caractéristiques de performance (exactitude relative ou biais, répétabilité et reproductibilité) de la méthode par impédance par rapport à la méthode de référence est en cours.

POINTS CLES :

De nombreux travaux sont actuellement en cours à l'échelon national comme international. Ceux-ci concernent aussi bien le domaine de la normalisation, que l'estimation des risques liés à un certain nombre de micro-organismes d'intérêt. Le résultat de ces travaux pourrait être décisif pour obtenir une image la plus fidèle possible de la contamination microbiologique des coquillages, et adapter le dispositif de surveillance aux méthodologies les plus pertinentes.

Chapitre VIII : Traitements de l'eau d'approvisionnement des établissements

En l'absence de critères d'eau de mer propre, l'évaluation de l'efficacité des systèmes de traitement pour la rendre propre est délicate. A l'heure actuelle, seuls sont reconnus et utilisés des dispositifs de traitement de l'eau pour réduire voire éliminer les contaminants microbiologiques.

En outre, la directive 91/492/CEE, désormais abrogée, indiquait que tout système de traitement de l'eau de mer doit être autorisé après que l'autorité compétente ait vérifié son efficacité. La transposition de cette disposition se trouve à l'article R.231-51 du code rural, indiquant que l'autorisation de ces traitements fait l'objet d'un arrêté conjoint du ministre chargé des pêches maritimes et des cultures marines et du ministre chargé de l'agriculture, pris après avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (remplacé par l'Afssa par le décret 2006-1675).

L'entrée en application du Paquet Hygiène entraîne l'abrogation des dispositions prescriptives de la réglementation puisque le partage des responsabilités entre les professionnels et les services de contrôle est clarifié : le professionnel doit apporter la preuve que les produits qu'il met sur le marché sont sans risque. Cette évolution réglementaire en la matière avec un passage d'une obligation de moyens à une obligation de résultats a pour conséquence :

- au niveau communautaire : de ne pas conditionner l'utilisation d'un traitement de l'eau à une autorisation de ce système de traitement par l'autorité compétente (de fait, cette disposition de la directive 91/492/CEE n'est pas reprise par le règlement (CE) n° 853/2004). La charge de la preuve de cette efficacité revient au professionnel (pouvant s'entendre comme individu ou représentant professionnel, à travers le guide de bonnes pratiques d'hygiène).
- au niveau national : par souci de cohérence, la suppression des obligations de moyens (en cours de modification).

Si certains traitements comme l'application de rayonnements ultra-violetts sont largement reconnus pour l'inactivation des différents pathogènes, dans les conditions normales d'utilisation, l'efficacité d'autres systèmes de traitement ou mode d'approvisionnement, sensés améliorer la qualité de l'eau, reste à évaluer (amélioration de la qualité par un dispositif d'aération forcée par exemple).

Par ailleurs, d'autres systèmes de traitement de l'eau ont vu le jour :

- Un système de filtration par microbullage associée à une oxygénation par écumage (SKIM) : ce système est destiné à éliminer les contaminants microbiologiques. Ce système est utilisé dans l'aquaculture et a été adapté aux exigences de la production conchylicole.
- Une technique de filtre à sable utilisée notamment pour approvisionner en eau le centre de Thalassothérapie d'Arcachon : cette technique est destinée en premier lieu à éliminer les contaminants microbiologiques. Les professionnels locaux de la conchyliculture souhaitent utiliser cette technique afin de disposer d'une eau de mer propre, tant du point de vue microbiologique que phytoplanctonique.

En l'état actuel du dossier, le CES « Eaux », réuni le 3 avril 2007, a émis un avis défavorable à l'utilisation de ces deux procédés pour le traitement de l'eau de mer et recommande l'élaboration de lignes directrices pour l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité de tels procédés de traitements.

POINTS CLES :

En l'absence de critères d'eau de mer propre, l'évaluation de l'efficacité des systèmes de traitement pour la rendre propre est délicate. Tout système de traitement de l'eau de mer doit être autorisé après que l'autorité compétente ait vérifié son efficacité. L'Afssa est amenée à évaluer ce type de procédés.

Conclusions et recommandations

A. Conclusions

Le travail du groupe « surveillance microbiologique des coquillages » avait pour objectif l'évaluation du dispositif de surveillance du milieu et l'évaluation du risque lié à la consommation des coquillages. En traitant ces deux questions, le groupe a été naturellement conduit à évaluer la sécurité sanitaire de l'intégralité de la filière coquillages depuis la zone de production en mer jusqu'à la mise sur le marché, et à bien cerner les spécificités du dispositif français que nous rappelons ici.

Le dispositif de surveillance est constitué de trois outils : le suivi du milieu par le Remi, les autocontrôles des professionnels et les contrôles officiels.

Certains points de ce dispositif méritent d'être soulignés et encouragés. Tout d'abord, la surveillance microbiologique des zones de production mise en place et mise en œuvre par l'Ifremer est un dispositif unique en Europe. Cet organisme public apporte dans le domaine une compétence scientifique reconnue qui lui permet d'adapter régulièrement la stratégie de surveillance au développement des connaissances et des méthodes, tout en participant à l'élaboration des nouvelles contraintes réglementaires. Ensuite, la démarche de rédaction d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène à l'usage de tous les producteurs, quelle que soit la taille des entreprises, a été initiée avec le concours de l'ensemble de la profession.

Le rapport a également permis de mettre en évidence les points qui restent à améliorer, à évaluer ou à adapter. Parmi ces points on retrouve : la recherche d'indicateur de contamination, l'impact du changement réglementaire des seuils de classement des zones, l'efficacité des procédés de purification vis-à-vis des pathogènes, la traçabilité, les contrôles assurés par les professionnels et les services de l'Etat et la coordination entre les acteurs du dispositif.

Ces points amènent à formuler les recommandations suivantes.

B. Recommandations

Avancées scientifiques attendues

- Poursuivre la recherche sur les pathogènes : développer un système de surveillance des parasites, des méthodes d'analyses microbiologiques des *Vibrio* pathogènes et des virus jusqu'à la standardisation de ces techniques au niveau européen ;
- Poursuivre la recherche d'indicateurs globaux de la pollution fécale du milieu.

Recommandations pour les exploitants

- Tester la performance de la purification ;
- Accélérer la rédaction et la validation d'un GBPH destiné à l'ensemble de la profession ;
- Améliorer la traçabilité au niveau de la production.

Recommandations pour le gestionnaire

- Vérifier la mise en œuvre de la purification ;
- Autoriser les systèmes de traitement de l'eau de mer dont l'efficacité a été prouvée ;
- Mettre l'accent sur la protection de la qualité des eaux du littoral ;
- Recenser l'importance des productions conchylicoles au regard des classements ;
- Harmoniser la délimitation des zones au niveau national, justifier les points de prélèvements choisis par des études *ad-hoc*, formaliser les critères de préalerte ;
- Elaborer un plan de surveillance microbiologique des coquillages au dernier point de contrôle, c'est-à-dire en sortie d'expédition pour avoir une image de la qualité sanitaire de la production conchylicole, et évaluer l'efficacité globale du système ;
- Faire le point sur la réglementation du transport des coquillages vivants et la réviser si besoin ;
- Renforcer le système de déclaration obligatoire des Tiac, en termes de déclaration et d'investigation dans la zone de production des coquillages ;
- Proposer un algorithme décisionnel unique afin d'uniformiser la gestion des alertes au niveau national.

A. Références citées dans le texte

- Abbott SL, Janda JL. Severe gastroenteritis associated with *Vibrio hollisae* infection: report of two cases and review. *Clin Infect Dis*. 1994; 18:310-12.
- Afssa. Rapport « Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale ». 2007.
- Afssa. Rapport « Evaluation quantitative du risque sanitaire lié à la présence de *Cryptosporidium* sp. dans l'eau distribuée ». 2002
- Afssa. Rapport « Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation ». 2005.
- Allen K. The transmission of typhoid by sewage polluted oysters. *Am Public Health Assoc*. 1899; 25:154-65.
- Appleton H, Pereira MS. A possible virus aetiology in outbreaks of food-poisoning from cockles. *Lancet*. 1977; 1:780-1.
- Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckeroth AR, Tenter AM, Barr BC, Conrad PA. Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Int J Parasitol*. 2003; 33:1087-97.
- Armengaud A, Daurat G, Guyonnet JP, Bourdiol Razes M, Lasalle JL. Epidémie d'hépatite virale A département de l'Hérault, Janvier-Avril 1998. XV^{ème} journées scientifiques Epiter, 25 sept 1999, Veyrier du Lac.
- Baine WE, Mazzotti M, Greco D *et al*. Epidemiology of cholera in Italy in 1973. *Lancet*. 1974; 2:1370-4.
- Barataud D, Doyle A, Gallay A, Thiolet JM, Le Guyader S, Kholi E, Vaillant V. Toxi-infections collectives à *Norovirus*, liées à la consommation d'huîtres de l'étang de Thau, France, décembre 2002. *BEH*. 2003; 38:177-9.
- Beliaeff B, Cochard ML. Applying geostatistics to identification of spatial patterns of fecal contamination in a mussel farming area (havre de la vanlée, France), *Water Research*. 1995; 29:1541-8.
- Beliaeff B. Contributions méthodologiques à un réseau de surveillance bactériologique de l'environnement marin littoral. Thèse Doctorat Université Paris VII. 1992; 43 p.
- Blake PA, Allegra DT, Snyder JD *et al*. Cholera - a possible endemic focus in the United-States. *N Engl J Med*. 1980; 302:305-9.
- Blake PA, Merson MH, Weaver RE, Hollis DG, Heublein PC. Disease caused by a marine *Vibrio*. Clinical characteristics and epidemiology. *N Engl Med*. 1979; 4:1-5.
- Blake PA, Rosenberg ML, Costa JB, Ferreira PS, Guimaraes CL, Gangarosa EJ. Cholera in Portugal, 1974. Modes of transmission. *Am J Epidemiol*. 1977; 105:37-43.
- Blake PA. *Vibrio* on the half shell : what the walrus and the carpenter did not know. *Ann Intern Med*. 1983; 99:558-9.
- Bosch A, Sanchez G, Le Guyader F, Vanaclocha H, Haugarreau L, Pinto RM. Human enteric viruses in Coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak. *Water Sci Technol*. 2001; 43:61-5.
- Brett MS, Short P, McLauchlin J. A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *Int J Food Microbiol*. 1998; 43:223-9.
- Butt AA, Aldridge KE, and Sanders CV. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. *The Lancet Infectious Diseases*. 2004; 4:201-212.
- Carnahan AM, Harding J, Watsky D, Hansman S. Identification of *Vibrio hollisae* associated with severe gastroenteritis after consumption of raw oysters. *J Clin Microbiol*. 1994; 32:1805-6.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for evaluating public health surveillance systems. Recommendations from the guidelines working group. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2001; 50:1-35.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Vibrio vulnificus* infections associated with eating raw oysters-Los Angeles, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1996; 45:621-4.
- Charlet F, Ferchaud R. Epidémie de gastro-entérites virales liée à la consommation de palourdes en Charente-Maritime. *BEH*. 1994; 37:169-70.
- Cheffel E, Spiegel A, Bornert G, Morell E, Michel A, Buisson Y. Toxic food infection caused by *Shigella flexneri* in a military unit. *Sante*. 1997; 7:295-9.
- Colburn KG, Kaysner CA, Abeyta C Jr, Wekell MM. *Listeria* species in a California coast estuarine environment. *Appl Environ Microbiol*. 1990; 56:2007-11.
- Conaty S, Bird P, Bell G, Kraa E, Grohmann G, McAnulty JM. Hepatitis A in New South Wales, Australia from consumption of oysters: the first reported outbreak. *Epidemiol Infect*. 2000; 124:121-30.
- Cook DW, Bowers JC, DePaola A. Density of total and pathogenic (tdh+) *Vibrio parahaemolyticus* in Atlantic and Gulf coast molluscan shellfish at harvest. *J Food Prot*. 2002; 65:1873-80.
- Cooksley WG. What did we learn from the Shanghai hepatitis A epidemic? *J Viral Hepat*. 2000; 7:1-3.
- Cordova JL, Astorga J, Silva W, Riquelme C. Characterization by PCR of *Vibrio parahaemolyticus* isolates collected during the 1997-1998 Chilean outbreak. *Biol Res*. 2002; 35:433-40.
- Costa-Mattioli M, Monpoeho S, Schvoerer C, Besse B, Aleman MH, Billaud S, Cristina J, Ferre V. 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*. 2001; 65:233-40.
- Daurat G. Une épidémie de gastro-entérite aiguë à virus Norwalk-like liée à la consommation d'huîtres dans l'Hérault, décembre 1992. *BEH*. 1994; 37:170-1.
- Davis B, Fanning R, Madden JM, Steigerwalt A, Bradford HB, Smith HL, Brenner DJ. Characterization of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of new pathogenic species *Vibrio mimicus*. *J Clin Microbiol* 1981;14:631-39.
- Delarocque-Astagneau E, Hemery C, Duchon C. Epidémie d'hépatite virale A Midi-Pyrénées-1997. Rapport d'investigation RNSP. Septembre 1998; 25p.
- DePaola A, Kaysner CA, Bowers J, Cook DW. Environmental investigations of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after outbreaks in Washington, Texas, and New York (1997 and 1998). *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66:4649-54.
- DePaola A, Kaysner CA, Nordstrom JL, Blackstone GM, Vickery M, Bowers JC. Harvest practices and ecological factors affecting the risk of *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific Northwest oysters. 2002; draft report.
- DePaola A, Nordstrom JL, Bowers JC, Wells JG, Cook DW. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama Oysters. *Appl Environ Microbiol*. 2003; 69:1521-6

- Desenclos JC. Epidémiologie des risques toxiques et infectieux liés à la consommation de coquillages. Rev Epidemiol Santé Publique. 1996; 44:437-54.
- Doyle A, Barataud D, Gallay A, Thiolet JM, Le Guyaguer S, Kohli E, Vaillant V. *Norovirus* foodborne outbreaks associated with the consumption of oysters from the Etang de Thau, France, December 2002. Euro Surveill. 2004; 9:24-6.
- Dubey JP. *Toxoplasma gondii* oocysts survival under defined temperatures. J. Parasitol. 1998; 84:862- 65
- Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De Groot A, Twisk F, Koopmans M. Inactivation of calciviruses. Appl Environ Microbiol. 2004; 70:4538-43.
- El Marrakchi A, Boum'handi N, Hamama A. Performance of a new chromogenic plating medium for the isolation of *Listeria monocytogenes* from marine environments. Lett Appl Microbiol. 2005; 40:87-91
- Erickson MC, Ortega YR. Inactivation of protozoan parasites in food, water, and environmental systems. J Food Prot. 2006; 69:2786-808
- Faillie JL, Cicchelerio V, Serais O, Le Saux JC. Toxi-infections alimentaires collectives liées à la consommation d'huîtres de l'étang de Thau, France, février 2006. Rapport InVS/CIRE Languedoc Roussillon , septembre 2006.
- Fayer R, Graczyk TK, Lewis EJ, Trout JM, Farley CA. Survival of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. Appl Environ Microbiol. 1998; 64:1070-4.
- Fayer R, Lewis EJ, Trout JM, Graczyk TK, Jenkins MC, Higgins J, Xiao L, Lal AA. *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake Bay. Emerg Infect Dis. 1999; 5:706-10.
- FDA CFSAN. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. 2000; <http://www.cfsan.fda.gov/~acrobat/vprisk.pdf>.
- FDA ISSC. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in retail shell oysters - a national survey, June 1998-July 1999. 2000.
- Federighi M. *Campylobacter* et denrées alimentaires. In *Campylobacter* et hygiène des aliments (ISBN 2-84054-061-4), éditions Polytechnica, Paris, 1999. p. 97-124.
- Flahault A, Blanchon T, Dorleans Y, Toubiana L, Vibert JF, Valleron AJ. Virtual surveillance of communicable diseases: a 20-year experience in France. Stat Methods Med Res. 2006;15:413-21.
- Flahault A, Garnerin P, Chauvin P, Farran N, Saidi Y, Diaz C, Toubiana L, Drucker J, Valleron AJ. Sentinelle traces of an epidemic of acute gastroenteritis in France. Lancet. 1995; 346:162-3.
- Freire-Santos F, Gomez-Couso H, Ortega-Inarrea MR, Castro-Hermida JA, Oteiza-Lopez AM, Garcia-Martin O, Ares-Mazas ME. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from experimentally contaminated oysters (*Ostrea edulis*) and clams (*Tapes decussatus*). Parasitol Res. 2002; 88: 130-3.
- Freire-Santos F, Oteiza-Lopez AM, Vergara-Castiblanco CA, Ares-Mazas E, Alvarez-Suarez E, Garcia-Martin O. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in bivalve molluscs destined for human consumption. Parasitol. 2000; 86:853-4.
- Fujiyama S, Akahoshi M, Sagara K, Sato T, Tsurusaki R. An epidemic of hepatitis A related to ingestion of raw oysters. Gastroenterol Jpn. 1985; 20:6-13.
- Furuta T, Akiyama M, Kato Y, Nishio O. A food poisoning outbreak caused by purple Washington clam contaminated with norovirus (Norwalk-like virus) and hepatitis A virus. Kansenshogaku Zasshi. 2003; 77:89-94.
- Gabutti G, De Donno A, Bagordo F, Montagna MT. Comparative survival of faecal and human contaminants and use of *Staphylococcus aureus* as an effective indicator of human pollution. Mar Pollut Bull. 2000; 40:697-700.
- Gallay A, Vaillant V, Bouvet P, Grimont P, Desenclos JC. How many foodborne outbreaks of *Salmonella* infection occurred in France in 1995? Application of the capture-recapture method to three surveillance systems. Am J Epidemiol. 2000; 152:171-7.
- Garin D, Fuchs F, Crance JM, Rouby Y, Chapalain JC, Lamarque D, Gounot AM, Aymard M. Exposure to enteroviruses and hepatitis A virus among divers in environmental waters in France, first biological and serological survey of a controlled cohort. Epidemiol Infect. 1994; 113:541-9.
- Gilles C, de Casnové JN, Dubois E, Bon F, Pothier P, Khohi E, Vaillant V. Épidémie de gastro-entérites à *Norovirus* liée à la consommation d'huîtres, Somme, janvier 2001. BEH. 2003; 8:47-8.
- Gomez-Couso H, Mendez-Hermida F, Ares-Mazas E. Levels of detection of *Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) by IFA and PCR methods. Vet Parasitol. 2006b; 141:60-5.
- Gomez-Couso H, Mendez-Hermida F, Castro-Hermida JA, Ares-Mazas E. *Giardia* in shellfish-farming areas: detection in mussels, river water and waste waters. Vet Parasitol. 2005; 133:13-8.
- Gomez-Couso H, Mendez-Hermida F, Castro-Hermida JA, Ares-Mazas E. *Cryptosporidium* contamination in harvesting areas of bivalve molluscs. J Food Prot. 2006a; 69:185-90.
- Gourmelon M, Montet MP, Lozach S, Le Mennec C, Pommepuy M, Beutin L, Vernozy-Rozand C. First isolation of Shiga toxin 1d producing *Escherichia coli* variant strains in shellfish from coastal areas in France. J Appl Microbiol. 2006; 100:85-97.
- Graczyk TK, Conn DB, Lucy F, Minchin D, Tamang L, Moura LN, DaSilva AJ. Human waterborne parasites in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) from the Shannon River drainage area, Ireland. Parasitol Res. 2004; 93:385-91.
- Graczyk TK, Conn DB, Marcogliese DJ, Graczyk H, de Lafontaine Y. Accumulation of human waterborne parasites by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and Asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*). Parasitol Res. 2003; 89:107-112. .
- Graczyk TK, Farley CA, Fayer R, Lewis EJ, Trout JM. Detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the tissues of eastern oysters (*Crassostrea virginica*) carrying principal oyster infectious diseases. J Parasitol. 1998a; 84:1039-42.
- Graczyk TK, Fayer R, Lewis EJ, Trout JM, Farley CA. *Cryptosporidium* oocysts in Bent mussels (*Ischadium recurvum*) in the Chesapeake Bay. Parasitol Res. 1999; 85:518-21.
- Graczyk TK, Girouard AS, Tamang L, Nappier SP, Schwab KJ. Recovery, bioaccumulation, and inactivation of human waterborne pathogens by the Chesapeake Bay nonnative oyster, *Crassostrea ariakensis*. Appl Environ Microbiol. 2006; 72:3390-5.
- Graczyk TK, Lewis EJ, Glass G, Dasilva AJ, Tamang L, Girouard AS, Curriero FC. Quantitative assessment of viable *Cryptosporidium parvum* load in commercial oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. Parasitol Res. 2007; 100:247-53.
- Graczyk TK, Marcogliese DJ, de Lafontaine Y, Da Silva AJ, Mhangami-Ruwende B, Pieniazek NJ. *Cryptosporidium parvum* oocysts in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*): evidence from the St Lawrence River. Parasitol Res. 2001; 87:231-4.
- Graczyk TK, Ortega YR, Conn DB. Recovery of waterborne oocysts of *Cyclospora cayentanensis* by Asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*). Am J Trop Med Hyg. 1998b; 59:928-32.

- Graczyk TK, Thompson RC, Fayer R, Adams P, Morgan UM, Lewis EJ. *Giardia duodenalis* cysts of genotype A recovered from clams in the Chesapeake Bay subestuary, Rhode River. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 61:526-9.
- Greenwood M, Winnard G, Bagot B.. An outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 19 infection associated with cockles. *Commun Dis Public Health.* 1998; 1:35-7.
- Griffin MR, Dalley E, Fitzpatrick M, Austin SH. *Campylobacter jejuni* gastro-enteritis associated with raw clams. *J Med Soc* 1983;80:607-9.
- Haeghebaert S, Le Querrec F, Bouvet P, Gallay A, Espiè E, Vaillant V. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. *BEH.* 2002; 50:249-53.
- Halliday ML, Kang LY, Zhou TK, Hu MD, Pan QC, Fu TY, Huang YS, Hu SL. An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J Infect Dis.* 1991; 164:852-9.
- Haramoto E, Katayama H, Ohgaki S. Detection of noroviruses in tap water in Japan by means of a new method for concentrating enteric viruses in large volumes of freshwater. *Appl Environ Microbiol.* 2004; 70:2154-60.
- Hervio-Heath D, Colwell RR, Derrien A, Robert-Pillot A, Fournier JM, Pommepuy M. Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *J Appl Microbiol.* 2002; 92:1123-35.
- Hervio-Heath D, Zidane M, Le Saux JC, Lozach S, Vaillant V, Le Guyader S, Pommepuy M. Toxi-infections alimentaires collectives liées à la consommation de moules contaminées par *Vibrio parahaemolyticus* : enquête environnementale. *Bulletin épidémiologique Afssa.* 2005; 17:1-2.
- Hlady WG, Mullen RC, Hopkin RS. *Vibrio vulnificus* from raw oysters. Leading cause of reported deaths from foodborne illness in Florida. *J Fla Med Assoc.* 1993; 80:536-8.
- Hoebé CJ, Vennema H, de Roda Husman AM, van Duynhoven YT. *Norovirus* outbreak among primary schoolchildren who had played in a recreational water fountain. *J Infect Dis.* 2004;189:699-705.
- Hutson AM, Atmar RL, Estes MK. Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends Microbiol.* 2004; 12:279-87.
- Josseran L, Brucker G. Le réseau Oscour : la surveillance sanitaire fondée sur les services d'urgence. *Gestions hospitalières.* 2007; janvier:66-70.
- Kaper JB, Bradford HB, Roberys NC, Falkow S. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* in the US Gulf Coast. *J Clin Microbiol.* 1982; 16:129:34.
- Kaufman GE, Bej AK, Bowers J, DePaola A. Oyster-to-oyster variability in levels of *Vibrio parahaemolyticus*. *J Food Prot.* 2003; 66:125-9.
- Kingsley DH, Meade GK, Richards GP. Detection of both hepatitis A virus and Norwalk-like virus in imported clams associated with foodborne illness. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68:3914-8.
- Klontz KC, Lieb S, Schreiber M, Janowski HT, Baldy LM, Gunn RA. Syndromes of *Vibrio vulnificus* infections. Clinical and epidemiologic features in Florida cases, 1981-1987. *Ann Intern Med.* 1988; 109:318-23.
- Klontz KC, Tauxe RV, Cook WL, Riley WH, Wachmuth K. Cholera after the consumption of raw oysters. *Ann Intern Med.* 1987; 107:846-8.
- Koopmans M, Vennema H, Heersma H, van Strien E, van Duynhoven Y, Brown D, Reacher M, Lopman B; European Consortium on Foodborne Viruses. Early identification of common-source foodborne virus outbreaks in Europe. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9:1136-42.
- Lapidus N, Delmas G, Gallay A. Toxi-infections alimentaires collectives liées à la consommation d'huîtres de l'île de Ré, France, décembre 2003. *Rapport InVS, décembre 2003.*
- Lart WJ, Hudson SA. Factors affecting *Escherichia coli* levels in shellfish with reference to E.E.C. Directive 91/492. *Seafish Industry Authority, Hull, England* 1993.
- Le Guyader FS, Bon F, DeMedici D, Parnaudeau S, Bertone A, Crudeli S, Doyle A, Zidane M, Suffredini E, Kohli E, Maddalo F, Monini M, Gallay A, Pommepuy M, Pothier P, Ruggeri FM. Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. *J Clin Microbiol.* 2006; 44:3878-82.
- Le Guyader FS, Neill FH, Dubois E, Bon F, Loisy F, Kohli E, Pommepuy M, Atmar RL. A semiquantitative approach to estimate Norwalk-like virus contamination of Oysters implicated in an outbreak. *Int J Food Microbiol.* 2003; 87:107-12.
- Le Saux JC, Derolez V, Brest G, Le Guyader F, Pommepuy M. Elaboration of a strategy to limit shellfish viral contamination. *Molluscan Safety, Galway, ed Marine Institute, Ir.* 2006; 342-349.
- Le Saux JC, Pommepuy M. La purification des coquillages. Risques sanitaires liés aux coquillages. *Dossier S.I.A - pour le F.C.D., Janvier 2003.*
- Lee MB, Lee EH. Passage of a coccidial parasite (*Eimeria acervulina*) through the Eastern oyster (*Crassostrea virginica*). *J Food Prot.* 2003; 66:679-81.
- Lees D. Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol.* 2000; 59:81-116.
- Lemoine T, Germanetto P, Giraud P. Toxi-infection alimentaire collective à *Vibrio parahaemolyticus*. *BEH.* 1999; 10:37-8.
- Lesne J. Coquillages et santé publique : du risque à la prévention. Editions de l'Ecole Nationale de la Santé Publique (ENSP). 1992.
- Letrillard L, Desenclos JC, Flahault A. Risk factors for winter outbreak of acute diarrhoea in France : case-control study. *BMJ.* 1997; 315:1645-9.
- Li X, Guyot K, Dei-Cas E, Mallard JP, Ballet JJ, Brasseur P. *Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus edulis*) from Normandy (France). *Int J Food Microbiol.* 2006; 108:321-5
- Lin FY, Morris JG, Kaper JB, Michalski J, Morrison C, Libonati JP, Israel E. Persistence of cholera in the United States : isolation of *Vibrio cholerae* O1 from a patient with diarrhea in Maryland. *J Clin Microbiol.* 1986; 23:624-6.
- Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Wetch CN, Rosypal AC, Flick GJ, Zajac AM, Lindquist A, Dubey JP. Survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in Eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *J Parasitol.* 2004; 90:1054-7.
- Lindsay DS, Phelps KK, Smith SA, Flick G, Sumner SS, Dubey JP. Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *J Eukaryot Microbiol.* 2001; Suppl:197S-198S.
- Loisy F, Le Cann P, Pommepuy M, Le Guyader F. An improved method for the detection of Norwalk-like caliciviruses in environmental samples. *Lett Appl Microbiol.* 2000; 31:411-5.
- Lopalco L, Malfait P, Salmaso S, Germinario C, Quarto M, Barbuti S et l'équipe de terrain (Cipriani R, Mundo A, Pesole G). Une épidémie d'hépatite A persistante en Italie dans les Pouilles, 1996 : suivi épidémiologique. *Euro Surveill.* 1997; 2:31-2.

- Lumsden LL, Hasseltine HE, Leake JP *et al.* A typhoid fever epidemic caused by oyster-borne infection (1924-1925). *Public Health Report.* 1925; 50:1-102.
- Malfait P, Lopalco PL, Salmaso S, Germinario C, Salamina G, Quarto M, Barbuti S et l'équipe de terrain (Cipriati R, Mundo A, Pesone G). Epidémie d'hépatite A en Italie dans les Pouilles, 1996. *Euro Surveill.* 1996; 1:33-5.
- McLaughlin JB, DePaola A, Bopp CA, Martinek KA, Napolilli NP, Allison CG, Murray SL, Thompson EC, Bird MM, Middaugh JP. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *N Engl J Med.* 2005; 353:1463-70.
- Melo PC, JTeodosio, J Reis, A Duarte, JC. Costa, IP. Fonseca. *Cryptosporidium* spp. in Freshwater Bivalves in Portugal. *J Eukaryot Microbiol.* 2006; 53:1-28.
- Méndez-Hermida F, Gomez-Couso H, Ares-Mazas E. *Artemia* is capable of Spreading Oocysts of *Cryptosporidium* and the Cysts of *Giardia*. *J Eukaryot Microbiol.* 2006; 53:432-434.
- Miossec L, Le Guyader F, Haugarreau L, Pommepuy M. Magnitude of rainfall on viral contamination of the marine environment during gastroenteritis epidemics in human coastal population. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2000; 48:62-71.
- Miossec L, Vaillant V. Épidémiologie des gastro-entérites virales associées à la consommation des coquillages. *Bull Soc Microbiol.* 2001; 16:103-14.
- Miossec L, Le Guyader F, Haeghebaert S, Gasnier P, Bellier JY, Vaillant V, Camus P, Pommepuy M, Abou-Saleh MJ, Clavelin P, Bobo JP, Masson D, Désenclos JC. Contamination virale de coquillages responsables d'une épidémie de gastro-entérites à Poitiers en mars 1997. *BEH.* 1998; 30:129-30.
- Miossec L, Le Guyader F, Haugarreau L, Pommepuy M. Importance de la pluviométrie sur la contamination virale du milieu littoral lors de phénomènes épidémiques dans la population. *Rev. Epidemiol. Santé Pub.* 2000; 48:62-71.
- Miossec L, Le Guyader F, Pommepuy M. Gastro-entérites et consommation de coquillages. Existe-t-il une relation? *in* « Faut-il craindre les microorganismes présents dans les aliments ? ». *Coll Soc Microbiol Alim.* 1997; 11:17-26.
- Molini U, Traversa D, Ceschia G, Iorio R, Boffo L, Zentilin A, Capelli G, Giangaspero A. Temporal occurrence of *Cryptosporidium* in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* in northern Adriatic Italian lagoons. *J Food Prot.* 2007; 70:494-9.
- Morabia, A, Hardy A. Oysters and enteric fever aetiology in 1900 England. *J Epidemiol Community Health.* 2005; 59:100.
- Morris JM, Black RE. Cholera and other vibrios in the United States. *N Engl J Med.* 1985; 312:343-50.
- Nuiaouet C, Ponge A, Chambaud L, Raimondeau J. La surveillance et l'investigation: à propos de 2 épidémies d'hépatite virale dans les départements littoraux. *BEH.* 1993; 29:129-30.
- Obiri-Danso K, Paul N, Jones K. The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *Camp. coli*, *Camp. lari* and urease-positive thermophilic campylobacters (UPTC) in surface waters. *J Appl Microbiol.* 2001; 90:256-67.
- Pereira Da Fonseca I, Ramos PS, Ruano FA, Duarte AP, Costa JC, Almeida AC, Falcão ML, Fazendeiro MI. Efficacy of Commercial Cleansing Procedures in Eliminating *Cryptosporidium parvum* Oocysts from Bivalves. *J Euk Microbiol.* 2006; 53:1-49.
- Piergentili P, Castellani-Pastoris M, Fellini RD, Farisano G, Bonello C, Rigoli E, Zampieri A. Transmission of non O group 1 *Vibrio cholerae* by raw oyster consumption. *Int J Epidemiol.* 1984; 13:340-3.
- Potasman I, Paz A, Odeh M. Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective. *Clin Infect Dis.* 2002; 35:921-8.
- Reeve G, Martin DL, Pappas J, Thompson RE, Greene KD. An outbreak of shigellosis associated with the consumption of raw oysters. *N Engl J Med.* 1989; 321:224-7.
- Riou P, Le Saux JC, Dumas F, Caprais MP, Le Guyader SF, Pommepuy M. Microbial impact of small tributaires on water and shellfish quality in shallow coastal areas. *Water Research.* 2007; 12:2774-86.
- Robert-Pillot A, Guenolé A., Lesne J, Delesmont R, Fournier JM, Quimici ML. Occurrence of the tdh and trh genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *Int J Food Microbiol.* 2004; 91:319-325.
- Roos R. Hepatitis epidemic conveyed by oysters. *Sven Lakartidningen.* 1956; 53:989-1003.
- Rutala WA, Sarubi FA Jr, Finch CS, McCormack JN, Steinkraus GE. Oyster-associated outbreak of diarrhoeal disease possibly caused by *Plesiomonas shigelloides*. *Lancet.* 1982; 1:739.
- Rzezutka A, Cook N. Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiol Rev.* 2004; 28:441-53.
- Schets FM, van den Berg HH, Engels GB, Lodder WJ, de Roda Husman AM. *Cryptosporidium* and *Giardia* in commercial and non-commercial oysters (*Crassostrea gigas*) and water from the Oosterschelde, The Netherlands. *Int J Food Microbiol.* 2007; 113:189-94.
- Shandera WX, Hafkin B, Martin DL *et al.* Persistence of Cholera in the United States. *Am J Trop Hyg.* 1982; 32:812-7.
- Stroffolini T, Manzillo G, Desena R *et al.* Typhoid fever in the Neapolitan area: a case control study. *Eur J Epidemiol.* 1992; 8:539-42.
- Tacket CO, Brenner F, Blake P. Clinical features and epidemiological study of *Vibrio vulnificus* infections. *J Infect Dis.* 1984; 149:558-61.
- Tang YW, Wang JX, Xu ZY, Guo YF, Qian WH, Xu JX. A serologically confirmed, case-control study, of a large outbreak of hepatitis A in China, associated with consumption of clams. *Epidemiol Infect.* 1991; 107:651-7.
- Terajima J, Tamura K, Hirose K, Izumiya H, Miyahara M, Konuma H, Watanabe H A multi-prefectural outbreak of *Shigella sonnei* infections associated with eating oysters in Japan. *Microbiol Immunol.* 2004; 48:49-52.
- Wachsmuth K, Morris GK. Shigella. In: Doyle MP (ed) *Foodborne bacterial pathogens.* Marcel Dekker, New York. 1989; pp 447-462
- Weber JT, Mintz ED, Canizares R, Semiglia A, Gomez I, Sempertegui R, Davila A, Greene KD, Puhar ND, Cameron DN, *et al.* Epidemic cholera in Ecuador: multidrug-resistance and transmission by water and seafood. *Epidemiol Infect.* 1994; 12:1-11.
- Wilson R, Lieb S, Roberts A, Stryker S, Janowski H, Gunn R, Davis B, Riddle CF, Barret T, Morris JG, Blake PA. Non-O group *Vibrio cholerae* gastroenteritis associated with eating raw oysters. *Am J Epidemiol* 1981; 114:293-8.
- Xu ZY, Li ZH, Wang JX, Xiao ZP, Dong DX. Ecology and prevention of a shellfish-associated hepatitis A epidemic in Shanghai, China. *Vaccine.* 1992; 10:67-8.

B. Autres références utilisées

- Ando T, Jin Q, Gentsch JR, Monroe SS, Noel JS, Dowell SF, Cicirello HG, Kohn MA, Glass RI. Epidemiologic applications of novel molecular methods to detect and differentiate small round structured viruses (Norwalk-like viruses). *J Med Virol.* 1995; 47:145-52.

Ang LH. An outbreak of viral gastroenteritis associated with eating raw oysters. *Commun Dis Public health*. 1998; 1:38-40.

Berg DE, Kohn MA, Farley TA, McFarland LM. Multi-state outbreaks of acute gastroenteritis traced to fecal-contaminated oysters harvested in Louisiana. *J Infect Dis*. 2000; 181:381-6.

Bialek S, George P, Xia GL, Glatzer M, Motes M, Veazey J, Hammond R, Jones T, Shieh Y, Janet Wamnes, Gilberto Vaughan, Yury Khudyakov, and Anthony E. Fiore. Use of molecular epidemiology to confirm a multistate outbreak of hepatitis A caused by consumption of oysters. *Clin Infectious Diseases*. 2007; 44:838-40.

Burkhardt W 3rd, Calci KR. Selective accumulation may account for shellfish-associated viral illness. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66:1375-8.

Centers for Disease Control (CDC). Gastroenteritis associated with consumption of raw shellfish--Hawaii, 1991. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1991; 40:303-5.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epidemiologic notes and reports foodborne Hepatitis A- Alaska, Florida, North-Carolina, Washington. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1990; 39:228-32.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of viral gastroenteritis associated with consumption of oysters--Apalachicola Bay, Florida, December 1994-January 1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1995; 44:37-9.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of viral gastroenteritis related to consumption of oysters--Louisiana, Maryland, Mississippi and North Carolina, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1993; 42:945-8.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infection associated with eating raw oysters and clams harvested from Long Island Sound--Connecticut, New Jersey, and New-York, 1998. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1999; 48:48-51.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with consumption of raw shellfish--three states, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2006; 55:854-6.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Viral gastroenteritis associated with consumption of raw oysters - Florida, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1994; 43:446-9.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Viral gastroenteritis associated with eating oysters - Louisiana, December 1996-January 1997. : *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1997; 46:1109-12.

Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of viral gastroenteritis associated with consumption of oysters--Apalachicola Bay, Florida, December 1994-January 1995. *JAMA*. 1995; 273:452.

Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infection associated with eating raw oysters and clams harvested from Long Island Sound--Connecticut, New Jersey, and New York, 1998. *JAMA*. 1999; 281:603-4.

Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with eating raw oysters - Pacific Northwest, 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1998 ;47:457-62.

Centers for Disease Control and Prevention. Viral gastroenteritis associated with eating oysters--Louisiana, December 1996-January 1997. *JAMA*. 1998; 279:10-1.

Centers for Disease Control and Prevention. Viral gastroenteritis associated with consumption of raw oysters - Florida, 1993. *JAMA*. 1994; 272:510-1.

Chalmers JW, McMillan JH. An outbreak of viral gastroenteritis associated with adequately prepared oysters. *Epidemiol Infect*. 1995; 115:163-7.

Dalton C. An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis following consumption of oysters. *Commun Dis Intell*. 1997; 21:321-2

Daniels NA, Ray B, Easton A, Marano N, Kahn E, McShan AL 2nd, Del Rosario L, Baldwin T, Kingsley MA, Puhr ND, Wells JG, Angulo FJ. Emergence of a new *Vibrio parahaemolyticus* serotype in raw oysters: A prevention quandary. *JAMA*. 2001; 285:42-3.

Davis CR, Heller LC, Peak KK, Wingfield DL, Goldstein-Hart CL, Bodager DW, Cannons AC, Amuso PT, Cattani J. Real-time PCR detection of the thermostable direct hemolysin and thermolabile hemolysin genes in a *Vibrio parahaemolyticus* cultured from mussels and mussel homogenate associated with a foodborne outbreak. *J Food Prot*. 2004; 67:1005-8.

Desenclos JC, Klontz KC, Wilder MH, Gunn RA. The protective effect of alcohol on the occurrence of epidemic oyster-borne hepatitis A. *Epidemiology*. 1992; 3:371-4.

Desenclos JC, Klontz KC, Wilder MH, Nainan OV, Margolis HS, Gunn RA. A multistate outbreak of hepatitis A caused by the consumption of raw oysters. *Am J Public Health*. 1991; 81:1268-72.

Dienstag JL, Gust ID, Lucas CR, Wong DC, Purcell RH. Mussel-associated viral hepatitis, type A: serological confirmation. *Lancet*. 1976; 1:561-3.

Dismukes W, Bisno A, Katz S, Johnson R. An outbreak of infectious hepatitis attributed to raw clams. *Am J Epidemiol*. 1969; 89:555-61.

Dowell SF, Groves C, Kirkland KB, Cicirello HG, Ando T, Jin Q, Gentsch JR, Monroe SS, Humphrey CD, Slemp C, *et al*. A multistate outbreak of oyster-associated gastroenteritis: implications for interstate tracing of contaminated shellfish. *J Infect Dis*. 1995; 171:497-503.

Fankhauser RL, Noel JS, Monroe SS, Ando T, Glass RI. Molecular epidemiology of "Norwalk-like viruses" in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis*. 1998; 178:1571-8.

Fayer R, Trout JM, Lewis EJ, Santin M, Zhou L, Lal AA, Xiao L. Contamination of Atlantic coast commercial shellfish with *Cryptosporidium*. *Parasitol Res*. 2003; 89:141-145.

Fuenzalida L, Hernandez C, Toro J, Rioseco ML, Romero J, Espejo RT. *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish and clinical samples during two large epidemics of diarrhoea in southern Chile. *Environ Microbiol*. 2006; 8:675-83.

Fyfe M, Yeung ST, Daly P, Schallie K, Kelly MT, Buchanan S. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* related to raw oysters in British Columbia. *Can Commun Dis Rep*. 1997; 23:145-8.

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

Gill ON, Cubitt WD, McSwiggan DA, Watney BM, Bartlett CL. Epidemic of gastroenteritis caused by oysters contaminated with small round structured viruses. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983; 287:1532-4.

Godoy P, Torres J, Guix S, Prat A, Alseda M, Dominguez A, Bosch A, Salleras L. Norwalk virus-like food poisoning after eating oysters. *Med Clin (Barc)*. 2000; 114:765-8

- Goh KT, Chan L, Ding JL, Oon CJ. An epidemic of cockles-associated hepatitis A in Singapore. *Bull World Health Organ.* 1984 ;62:893-7.
- Goh KT. An outbreak of paratyphoid A in Singapore: clinical and epidemiological studies. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1981; 12:55-62.
- Goh KT. Epidemiological studies of Hepatitis A in Singapore. *Ann Acad Med Singapore.* 1981; 10:25-33.
- Gray SF, Evans MR. Dose-response in an outbreak of non-bacterial food poisoning traced to a mixed seafood cocktail. *Epidemiol Infect.* 1993; 110: 583-90.
- Gunn RA, Janowski HT, Lieb S, Prather EC, Greenberg HB. Norwalk virus gastroenteritis following raw oyster consumption. *Am J Epidemiol.* 1982; 115:348-51.
- Kawamoto H, Hasegawa S, Sawatari S, Miwa C, Morita O, Hosokawa T, Tanaka H. Small, round-structured viruses (SRSVs) associated with acute gastroenteritis outbreaks in Gifu, Japan. *Microbiol Immunol.* 1993; 37:991-7.
- Kirkland KB, Meriwether RA, Leiss JK, Mac Kenzie WR. Steaming oysters does not prevent Norwalk-like gastroenteritis. *Public Health Rep.* 1996; 111:527-30.
- Kohn MA, Farley TA, Ando T, Curtis M, Wilson SA, Jin Q, Monroe SS, Baron RC, McFarland LM, Glass RI. An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with eating raw oysters. Implications for maintaining safe oyster beds. *JAMA.* 1995; 273:1492.
- Lawrence DN, Blake PA, Yashuk JC, Wells JG, Creech WB, Hughes JH. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis outbreaks aboard two cruise ships. *Am J Epidemiol.* 1979; 109:71-80.
- Le Guyader F, Neill FH, Estes MK, Monroe SS, Ando T, Atmar RL. Detection and analysis of a small round-structured virus strain in oysters implicated in an outbreak of acute gastroenteritis. *Appl Environ Microbiol.* 1996; 62:4268-72.
- Leoni E, Bevini C, Degli Esposti S, Graziano A. An outbreak of intrafamilial hepatitis A associated with clam consumption: epidemic transmission to a school community. *Eur J Epidemiol.* 1998; 14:187-92.
- Levine WC, Griffin PM. *Vibrio* infections on the Gulf Coast: results of first year of regional surveillance. Gulf Coast *Vibrio Working Group.* *J Infect Dis.* 1993; 167:479-83.
- Linco SJ, Grohmann GS. The Darwin outbreak of oyster-associated viral gastroenteritis. *Med J Aust.* 1980; 1:211-3.
- Lozano-Leon A, Torres J, Osorio CR, Martinez-Urtaza J. Identification of tdh-positive *Vibrio parahaemolyticus* from an outbreak associated with raw oyster consumption in Spain. *FEMS Microbiol Lett.* 2003; 226:281-4.
- Mackowiak PA, Caraway CT, Portnoy BL. Oyster-associated hepatitis: lessons from the Louisiana experience. *Am J Epidemiol.* 1976; 103:181-91.
- Maretic Z, Burek V, Alambasic K, Golobic V. An epidemic of hepatitis A in Pula in 1984 caused by the consumption of mussels. *Lijec Vjesn.* 1986; (7-8):305-7.
- Martinez-Urtaza J, Lozano-Leon A, DePaola A, Ishibashi M, Shimada K, Nishibuchi M, Liebana E. Characterization of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolates from clinical sources in Spain and comparison with Asian and North American pandemic isolates. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:4672-8.
- McDonnell S, Kirkland KB, Hlady WG, Aristeguieta C, Hopkins RS, Monroe SS, Glass RI. Failure of cooking to prevent shellfish-associated viral gastroenteritis. *Arch Intern Med.* 1997; 157:111-6.
- McIntyre RC, Tira T, Flood T, Blake PA. Modes of transmission of cholera in a newly infected population on an atoll: implications for control measures. *Lancet.* 1979; 1:311-4.
- Mele A, Rastelli MG, Gill ON, di Bisceglie D, Rosmini F, Pardelli G, Valtriani C, Patriarchi. P Recurrent epidemic hepatitis A associated with consumption of raw shellfish, probably controlled through public health measures. *Am J Epidemiol.* 1989; 130:540-6.
- Morris JG Jr, Wilson R, Davis BR, Wachsmuth IK, Riddle CF, Wathen HG, Pollard RA, Blake PA. Non-O group 1 *Vibrio cholerae* gastroenteritis in the United States: clinical, epidemiologic, and laboratory characteristics of sporadic cases. *Ann Intern Med.* 1981; 94:656-8.
- Morris JG Jr. Cholera and other types of vibriosis: a story of human pandemics and oysters on the half shell. *Clin Infect Dis.* 2003; 37:272-80.
- Morse DL, Guzewish JJ, Hanrahan JP, Stricof R, Shayegani M, Deibel R, Grabau JC, Nowak NA, Herrmann JE, Cukor G, *et al.* Widespread outbreaks of clam- and oyster-associated gastroenteritis. Role of Norwalk virus. *N Engl J Med.* 1986; 314:678-81.
- Murao M. Food-borne outbreaks of gastroenteritis caused by small round structured viruses. Four outbreaks of gastroenteritis associated with oyster consumption. *Kansenshogaku Zasshi.* 1991; 65:1104-10.
- Murphy AM, Grohmann GS, Christopher PJ, Lopez WA, Davey GR, Millsom RH. An Australia-wide outbreak of gastroenteritis from oysters caused by Norwalk virus. *Med J Aust.* 1979; 2:329-33.
- Ng TL, Chan PP, Phua TH, Loh JP, Yip R, Wong C, Liaw CW, Tan BH, Chiew KT, Chua SB, Lim S, Ooi PL, Chew SK, Goh KT. Oyster-associated outbreaks of Norovirus gastroenteritis in Singapore. *J Infect.* 2005; 51:413-8.
- Ohara H, Naruto H, Watanabe W, Ebisawa I. An outbreak of hepatitis A caused by consumption of raw oysters. *J Hyg (Lond).* 1983; 91:163-5.
- Ohyama T, Yoshizumi S, Sawada H, Uchiyama Y, Katoh Y, Hamaoka N, Utogawa E. Detection and nucleotide sequence analysis of human caliciviruses (HuCVs) from samples in non-bacterial gastroenteritis outbreaks in Hokkaido, Japan. *Microbiol Immunol.* 1999; 43:543-50.
- O'Mahony MC, Gooch CD, Smyth DA, Thrussell AJ, Bartlett CL, Noah ND. Epidemic hepatitis A from cockles. *Lancet.* 1983; 1:518-20.
- Otsu R. Outbreaks of gastroenteritis caused by SRSVs from 1987 to 1992 in Kyushu, Japan: four outbreaks associated with oyster consumption. *Eur J Epidemiol.* 1999; 15:175-80.
- Perrett K, Kudesia G. Gastroenteritis associated with oysters. *Commun Dis Rep CDR Rev.* 1995; 5:153-4.
- Pollack CV Jr, Fuller J. Update on emerging infections from the Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infection associated with eating raw oysters and clams harvested from Long Island Sound--Connecticut, New Jersey, and New York, 1998. *Ann Emerg Med.* 1999; 34:679-80.
- Portnoy BL, Mackowiak PA, Caraway CT, Walker JA, McKinley TW, Klein CA Jr. Oyster-associated hepatitis. Failure of shellfish certification programs to prevent outbreaks. *JAMA.* 1975; 233:1065-8.
- Prato R, Lopalco PL, Chironna M, Barbuti G, Germinario C, Quarto M. *Norovirus* gastroenteritis general outbreak associated with raw shellfish consumption in south Italy. *BMC Infect Dis.* 2004; 4:37.

- Romalde JL, Torrado I, Ribao C, Barja JL.. Global market: shellfish imports as a source of reemerging food-borne hepatitis A virus infections in Spain. *Int Microbiol.* 2001; 4:223-6.
- Sanchez G, Pinto RM, Vanaclocha H, Bosch A. Molecular characterization of hepatitis a virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:4148-55.
- Sekine S, Okada S, Hayashi Y, Ando T, Terayama T, Yabuuchi K, Miki T, Ohashi M. Prevalence of small round structured virus infections in acute gastroenteritis outbreaks in Tokyo. *Microbiol Immunol.* 1989; 33:207-17
- Shapiro RL, Altekruze S, Hutwagner L, *et al.* The role of Gulf Coast oysters harvested in warmer months in *Vibrio vulnificus* infections in the United States, 1988–1996. *Vibrio Working Group. J Infect Dis.* 1998; 178:752–9.
- Shieh Y, Monroe SS, Fankhauser RL, Langlois GW, Burkhardt W 3rd, Baric RS. Detection of norwalk-like virus in shellfish implicated in illness. *J Infect Dis.* 2000;181:360-6.
- Simmons G, Greening G, Gao W, Campbell D. Raw oyster consumption and outbreaks of viral gastroenteritis in New Zealand: evidence for risk to the public's health. *Aust N Z J Public Health.* 2001; 25:234-40.
- Stafford R, Strain D, Heymer M, Smith C, Trent M, Beard J. An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis following consumption of oysters. *Commun Dis Intell.* 1997; 21:317-20.
- Stroffolini T, Biagini W, Lorenzoni L, Palazzesi GP, Divizia M, Frongillo R. An outbreak of hepatitis A in young adults in central Italy. *Eur J Epidemiol.* 1990; 6:156-9.
- Styliads S, Borczyk A. Typhoid outbreak associated with consumption of raw shellfish--Ontario. *Can Commun Dis Rep.* 1994; 20:63-5.
- Sugieda M, Nakajima K, Nakajima S. Outbreaks of Norwalk-like virus-associated gastroenteritis traced to shellfish: coexistence of two genotypes in one specimen. *Epidemiol Infect.* 1996; 116:339-46.
- Truman BI, Madore HP, Menegus MA, Nitzkin JL, Dolin R. Snow Mountain agent gastroenteritis from clams. *Am J Epidemiol.* 1987; 126:516-25.
- Wang JY, Hu SL, Liu HY, Hong YL, Cao SZ, Wu LF. Risk factor analysis of an epidemic of hepatitis A in a factory in Shanghai. *Int J Epidemiol.* 1990; 19:435-8.