

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Décembre 2012

Édition scientifique





Évaluation du risque lié à *Vibrio* *parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Décembre 2012

Édition scientifique

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

relatif une demande d'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 22 décembre 2010 par la Direction générale de l'alimentation pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Vibrio parahaemolyticus est une bactérie spécifique du milieu marin et estuarien que l'on trouve dans le monde entier. On estime que 0,2 à 5% des souches possèdent les gènes de pathogénicité (tdh et trh). Les souches de *Vibrio parahaemolyticus* productrices de facteurs de virulence (TDH et/ou TRH), notamment en Asie, sont à l'origine de maladies infectieuses consécutives à la consommation de coquillages ou de poissons crus ou insuffisamment cuits. Des enquêtes et des publications ayant démontré la présence de cette bactérie sur les côtes françaises et dans des produits de la mer mis sur le marché en France, la Direction générale de l'alimentation a saisi l'Anses des questions suivantes :

« 1 : Considérant (i) les études démontrant la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans le milieu, et (ii) la quasi absence de TIAC à *V. parahaemolyticus* recensées en France,

- Quel est le risque lié à la présence de *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants en France ?
- Si ce risque s'avère faible, peut-on alors considérer qu'il n'y a pas de problème de santé publique liée à *V. parahaemolyticus* dans les coquillages en France ?
- A contrario, si le risque s'avérait non négligeable, quelles mesures de prévention efficaces pourraient être mises en œuvre ? (réfrigération, cuisson ...).
- Si l'évaluation du risque s'avérait difficile, quelles données devraient être acquises afin de permettre une bonne évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants provenant des zones de production françaises ?

- Au regard du risque estimé, est-il pertinent et nécessaire de mettre en place une surveillance de *V. parahaemolyticus* dans le milieu marin (zones conchylicoles) et/ou un plan de surveillance de *V. parahaemolyticus* dans les mollusques bivalves vivants à la production ou à la mise sur le marché ?

2 : Les méthodes de recherche de cette bactérie n'étant pas encore normalisées,

- Quelle méthode de détection disponible devrait être utilisée pour la détection de *V. parahaemolyticus* dans l'eau et dans les coquillages? Quelle méthode de numération disponible devrait être utilisée afin de quantifier la présence de *V. parahaemolyticus* dans les coquillages ?
- A partir de ces méthodes, quel seuil pourrait être considéré comme une dose infectieuse, au-delà de laquelle des mesures de gestion de coquillages et/ou de zones devraient être prises? ».

Il est souligné qu'il pourrait être intéressant, dans un second temps, d'étendre le champ des investigations aux autres espèces marines, susceptibles d'être consommées, et pouvant présenter un risque *Vibrio*.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'Anses a confié au groupe de travail « Évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer », rattaché au comité d'experts spécialisé « Microbiologie » puis au comité d'experts spécialisés « Biorisk » l'instruction de cette saisine.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

Le groupe de travail s'est réuni six fois entre septembre 2011 et juillet 2012, il a rassemblé des éléments d'information sur :

- Les vibrions non cholériques
- La prévalence de *Vibrio parahaemolyticus* dans différents produits de la mer
- Les méthodes de détection de cette bactérie
- Les données de consommation des produits de la mer concernés
- Les circuits commerciaux des produits de la mer considérés

Deux auditions par le groupe de travail ont été organisées :

- Une audition d'un représentant du service commun des laboratoires des DGDDI et DGCCRF de Montpellier organisée le 16 janvier 2012.
- Une audition d'une représentante de la DGAL organisée le 19 mars 2012.

Sollicités par courriel le 21 décembre 2011 et par courrier le 6 février 2012, le CNC et la DGAL ont fourni des éléments de réponse aux questions posées par le groupe de travail, portant sur les circuits commerciaux pratiqués, l'impact de la mortalité des huîtres sur les circuits de commercialisation, les résultats de données d'autocontrôles et des informations relatives aux coquillages importés. Ces éléments de réponse ont été discutés par les membres du groupe de travail.

Des éléments d'information ont également été fournis par l'Ifremer concernant les données de température de l'eau de mer. Ces données ont été utilisées dans le modèle développé.

Le rapport comporte :

- Une présentation générale relative aux vibrions non cholériques

- Sur la base des données françaises actuelles incomplètes et de l'extrapolation d'un modèle américain aux données françaises, un plan d'échantillonnage à la sortie des établissements conchylicoles, fondé sur une appréciation quantitative du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* potentiellement pathogène, pour les consommateurs concernés par la vente directe des coquillages
- Les méthodes d'analyse préconisées par le groupe de travail pour la réalisation d'analyses permettant d'acquérir des données de contamination quantifiées relatives à la production conchylicole française.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Le rapport a été validé à l'unanimité par le Comité d'experts spécialisé « Biorisk » le 29 novembre 2012.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

A.

B. Analyse du rapport du groupe de travail

Identification des dangers

Le groupe de travail a examiné les données relatives à l'épidémiologie et aux pathologies (causées par les *Vibrio* autre que *Vibrio cholerae* O1 ou O139 (*Vibrio* cholérique) à savoir (*Vibrio cholerae* non O1, non O139 ou *Vibrio* non cholérique, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*), le terme *Vibrio* non cholérique, signifiant *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 et pas les autres espèces de *Vibrio*). Les données de la littérature scientifique relatives à leur prévalence dans les produits de la mer mis sur le marché et dans le milieu marin sont rassemblées. Les données récentes montrent que la prévalence de vibrions potentiellement pathogènes est globalement faible en Europe, notamment en France. Toutefois, leur prévalence peut être localement plus forte du fait d'une forte dépendance aux paramètres environnementaux, notamment la température de l'eau, et la possibilité de situations particulières locales.

Les données ne mettent pas en évidence l'existence d'un problème de santé publique grave identifié par l'épidémiosurveillance en France, contrairement à d'autres régions du Monde. Toutefois, la recherche des *Vibrions* dans les cas de gastro-entérites est rarement effectuée, et leur incidence est certainement sous-estimée.

Le groupe de travail conclut qu'une enquête paraît donc nécessaire pour mieux évaluer le risque en France métropolitaine, plus particulièrement sur *V. parahaemolyticus* dans les huîtres et les moules.

Appréciation quantitative du risque (AQR) lié à *Vibrio parahaemolyticus*

Pour identifier les données nécessaires à une appréciation quantitative du risque appliquée à la situation française, un modèle a été développé. Si beaucoup d'éléments du calcul d'estimation du risque sont connus de façon satisfaisante, d'autres sont imprécis, et certains sont empruntés à des AQR relatives aux États-Unis d'Amérique. La présente AQR ne peut donc prétendre à fournir une estimation réaliste de la probabilité d'acquérir une maladie infectieuse du fait de la consommation de coquillages contaminés en France. En revanche elle permet d'étudier l'influence des saisons et les conséquences de certaines mesures de maîtrise du risque, et de proposer un plan d'échantillonnage.

La modélisation est faite au moyen de simulations de Monte Carlo de second ordre (propagation séparée de la variabilité et de l'incertitude). Elle utilise les données suivantes : la production conchylicole par région littorale, les températures de l'eau de mer par saison et région, une corrélation entre la température et la présence de *V. parahaemolyticus*, la probabilité de présence de gènes de pathogénicité dans les cellules bactériennes, l'évolution de la quantité de *V. parahaemolyticus* pathogènes (VPP) après la sortie de l'eau (croissance et/ou survie en fonction du temps et de la température), le nombre de repas en fonction des saisons, la taille des portions, et

une relation dose-réponse réajustée (la relation dose-réponse est la relation entre la quantité ingérée de *V. parahaemolyticus* ingérée et la probabilité de maladie) (Figure 6). Il ressort de cette relation que la dose moyenne qui provoque une gastro-entérite chez 1% des personnes exposées a pour ordre de grandeur 2.10^5 cellules. La probabilité de gastro-entérite, si une seule cellule de VPP est ingérée, a pour ordre de grandeur moyen 5.10^{-7} .

Le tableau suivant illustre l'utilisation du modèle pour évaluer les conséquences, exprimées en nombre de cas théoriques de gastro-entérites liés à la consommation d'huîtres, d'une élévation de la température de l'eau de mer de +2°C, ou de l'allongement de la durée d'émersion de 12 heures à la température ambiante, en fonction de la saison. Dans chaque case du tableau, le premier chiffre est l'estimation médiane, les deux chiffres suivants sont les bornes de l'intervalle de crédibilité 95%.

	Printemps	Eté	Automne	Hiver	Total
Conditions actuelles	1 [0-140]	125 [4 -1711]	77 [1-1479]	0 [0-1]	237 [8-3071]
Augmentation de 2°C	16 [0-583]	847 [59-7740]	551 [16-5011]	0 [0-5]	1452 [97-13 023]
Augmentation de 12 heures	445 [13-3223]	5837 [606-31 067]	3874 [304-19 122]	0 [0-6]	10221 [1027-51 841]

Les résultats de l'AQR vont dans le sens d'un risque accru pour les consommateurs en été et en automne pour les huîtres et les moules. Ainsi, le risque causé par une élévation de 2°C de l'eau de mer par rapport à la température moyenne observée en été est 10 fois supérieur, et 12 heures de conservation à température ambiante multiplie encore ce risque par 6.

Les chiffres théoriques relatifs aux moules figurant dans le tableau ci-dessous, calculés pour les conditions actuelles, ne tiennent pas compte des modalités de cuisson auxquelles, les moules sont soumises avant consommation.

Printemps	Eté	Automne	Hiver	Total
2 [0-179]	742 [28-26 875]	158 [5-8842]	0 [0-0]	963 [37-34 567]

Le plan d'échantillonnage recommandé par le groupe de travail tient compte des résultats de l'AQR relatifs à la probabilité de présence de VPP par région et par saison. Le nombre total d'analyses suggéré pour les huîtres est de 690. Le nombre total d'analyses suggéré pour les moules est de 340. Le rapport détaille les conditions de prélèvement recommandées. L'AQR montre aussi qu'une approche par bassin et saison ou par zone hydrologique homogène est nécessaire pour évaluer le risque.

L'AQR menée dans cette approche, ne permet pas, à ce stade d'évaluer le risque pour le consommateur même à la sortie des établissements. Elle ne permet pas non plus de différencier un risque *tdh/trh*. Une étude permettant d'évaluer quantitativement la contamination en VPP des coquillages apparaît comme un préalable à une AQR visant à évaluer le risque pour les consommateurs. La technique de quantification devrait être comparée à l'outil utilisé par la FDA, permettant ainsi d'ajuster la dose-réponse.

Par ailleurs l'AQR a montré que d'autres données pourraient apporter des informations utiles comme par exemple la connaissance de la production conchylicole mise sur le marché, par origine de bassin, type de coquillages et par saison ou les conditions de vie des coquillages depuis leur sortie de l'eau jusqu'au consommateur.

Le rapport suggère au gestionnaire du risque de faire réaliser des analyses à la sortie des établissements, lors de leur entrée dans le circuit de commercialisation. Un plan d'échantillonnage est proposé pour les huîtres et moules, privilégiant la période où la prévalence et la concentration des *Vibrio* sont les plus élevées, c'est-à-dire de mai à octobre, en privilégiant les bassins les plus *a priori* à risque. Cependant l'AQR s'étant limitée aux productions françaises, le plan d'échantillonnage a été établi sur la base de données relatives à la situation française. Toutefois

l'échantillonnage lui-même ne distingue pas l'origine des coquillages (productions autochtones ou importées).

Mesures de prévention

En s'appuyant sur les données de la littérature scientifique, les rapports d'institutions des Nations unies et la réglementation européenne, le groupe de travail indique les conditions de cuisson efficaces pour prévenir les conséquences sanitaires d'une contamination par des VPP.

Le groupe de travail recommande aux exploitants de limiter le temps entre la récolte et la mise en bourriches des coquillages, puis de respecter une température inférieure à 10°C pendant la commercialisation. Le groupe de travail rappelle que la consommation de coquillages en été augmente le risque de gastro-entérite et recommande de limiter à deux heures le temps séparant la sortie du réfrigérateur et la consommation. Pour les personnes venant en consultation pour une gastro-entérite, le groupe de travail suggère au corps médical de les interroger sur la consommation éventuelle de produits de la mer, et de penser à l'analyse de *V. parahaemolyticus*.

Méthodes d'analyse

Le groupe de travail décrit en détail les méthodes d'analyse qui sont actuellement disponibles. Pour la détection des *V. parahaemolyticus*, ce sont, d'une part, la méthode expérimentale ISO/TS 21872 et d'autre part celle préconisée par une note de service SDSSA/MCSI/N2004-8255 du 28 octobre 2004 de la Direction générale de l'alimentation. Pour le dénombrement, il existe la méthode de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis d'Amérique considérée comme la méthode de référence, et une méthode mise au point par l'IFREMER. Cette dernière fournit des résultats plus rapidement, a une meilleure spécificité du fait du choix des amorces et ses sondes spécifiques, et est plus précise du fait qu'elle utilise plus de réplicats. C'est donc cette méthode qui est proposée pour une comparaison avec la méthode FDA, préalablement à son utilisation pour une enquête selon le plan d'échantillonnage proposé plus haut.

C. Réponses aux questions de la saisine

« 1 : Considérant (i) les études démontrant la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans le milieu, et (ii) la quasi absence de TIAC à *V. parahaemolyticus* recensées en France,

- **Quel est le risque lié à la présence de *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants en France ?**

Les données recensées par l'épidémiologie ne mettent pas en évidence l'existence d'un problème de santé publique grave en France (contrairement à d'autres régions du Monde). Toutefois, la recherche des vibrions dans les cas de gastroentérites est rarement effectuée en France, et leur incidence est certainement sous-estimée.

- **Si ce risque s'avère faible, peut-on alors considérer qu'il n'y a pas de problème de santé publique liée à *V. parahaemolyticus* dans les coquillages en France ?**

Compte tenu de données de prévalence encore trop restreintes pour être considérées comme représentatives et de l'absence de données sur les niveaux de contamination, une enquête paraît nécessaire pour mieux évaluer la prévalence et le niveau de contamination des coquillages par les *V. parahaemolyticus* et les *V. parahaemolyticus* pathogènes. Il conviendrait de rechercher notamment les souches *trh+* ou portant d'autres facteurs de virulence que l'évolution des connaissances recommanderait d'étudier, afin d'être en mesure d'apprécier le risque. Toute enquête devrait distinguer les produits importés des produits autochtones.

La forte dépendance des vibrions aux paramètres environnementaux, notamment la température (réchauffement climatique), et la possibilité de situations particulières locales (dessalure importante associée à une forte pluviométrie en période estivale, conditions d'entreposage très défavorables, par exemple), sont une cause potentielle d'augmentation du risque.

- **A contrario, si le risque s'avérait non négligeable, quelles mesures de prévention efficaces pourraient être mises en œuvre ? (réfrigération, cuisson ...).**

En tout état de cause, des recommandations suivantes sont émises par le groupe de travail :

Recommandations aux exploitants du secteur alimentaire

- Limiter le temps entre la sortie de l'eau des huîtres et l'arrivée à l'établissement conchylicole, en particulier en période chaude.
- Appliquer les bonnes pratiques d'hygiène, utiliser de l'eau de mer propre ou de l'eau propre.
- Lors de l'application des principes HACCP, prendre en considération le danger *Vibrio* pouvant aller jusqu'à des études de prévalence concernant ce danger.
- Respecter scrupuleusement les températures réglementaires lors des manutentions et du transport, ainsi que lors de la présentation dans les magasins. Il est recommandé de maintenir les coquillages en dessous de 10°C.

Recommandation aux professionnels de santé

- Lors de l'anamnèse des cas de gastro-entérites avec notion de cas dans l'entourage, interroger le patient sur la consommation éventuelle de produits de la mer. Penser aussi à la déclaration obligatoire de TIAC (toxi-infection alimentaire collective) auprès de l'ARS (Agence Régionale de Santé)

Recommandations aux consommateurs de produits de la mer

- La consommation des coquillages vivants en été augmente le risque de gastro-entérite causée par *Vibrio*.
 - Consommer dans les deux heures qui suivent la sortie du réfrigérateur ou du lit de glace.
 - Pour les patients atteints de maladies sous-jacentes, maladies hépatiques chroniques (hépatite, cirrhose, alcoolisme), maladies exposant à une surcharge en fer, ou pour les patients immunodéprimés (diabète, cancers), présentant une sensibilité accrue aux infections à *Vibrio*, particulièrement à *V. vulnificus*
 - éviter de manger des fruits de mer crus ou insuffisamment cuits (p.ex. huîtres, moules, palourdes, crevettes),
 - éviter le contact entre des aliments cuits et des fruits de mer crus pour limiter les transferts de contaminations.
- **Si l'évaluation du risque s'avérait difficile, quelles données devraient être acquises afin de permettre une bonne évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants provenant des zones de production françaises ?**

Le groupe de travail recommande de porter une attention particulière sur :

- *V. parahaemolyticus*, et dans la mesure du possible *V. vulnificus* et *V. cholerae* non O1/non-O139 ;
- Les huîtres, et dans la mesure du possible les moules.

A cette fin, il est nécessaire de :

- mieux estimer la proportion des vibrions portant les facteurs de pathogénicité (TDH essentiellement et TRH) dans les conditions environnementales françaises.
 - disposer d'une technique de quantification qui aura notamment été comparée à la technique utilisée par l'US-FDA.
 - mener une enquête pour estimer le niveau de contamination à la sortie des établissements conchylicoles.
 - connaître les flux de circulation des coquillages sur le marché français depuis leur sortie de l'eau, et leurs modalités (temps, températures).
- **Au regard du risque estimé, est-il pertinent et nécessaire de mettre en place une surveillance de *V. parahaemolyticus* dans le milieu marin (zones conchylicoles)**

et/ou un plan de surveillance de *V. parahaemolyticus* dans les mollusques bivalves vivants à la production ou à la mise sur le marché ?

A ce stade, ni la pertinence d'une surveillance pérenne, ni ses modalités ne peuvent être évaluées. En revanche, un plan de surveillance ponctuel permettant de décrire la situation française actuelle, est nécessaire pour répondre aux questions posées.

« 2 : Les méthodes de recherche de cette bactérie n'étant pas encore normalisées, »

- **Quelle méthode de détection disponible devrait être utilisée pour la détection de *V. parahaemolyticus* dans l'eau et dans les coquillages? Quelle méthode de numération disponible devrait être utilisée afin de quantifier la présence de *V. parahaemolyticus* dans les coquillages ?**

Pour la détection, s'il existe une méthode particulièrement adaptée pour les poissons et crustacés frais ou congelés (Protocole provisoire défini par l'Afssa, le CNR des vibrions et du choléra et l'ENSP pour la détection des vibrions dans les produits de la mer, révisé en 2010), son utilité pour les coquillages n'est pas encore démontrée. La révision de la méthode ISO (en cours) devrait permettre de disposer d'une méthode de détection dans les coquillages.

Dans le cadre de l'évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus*, la seule détection est moins utile que le dénombrement. Une technique de quantification d'utilisation plus simple et plus rapide que celle utilisée par l'US-FDA serait nécessaire, sous réserve qu'elle soit comparée à cette dernière et permette de distinguer les *V. parahaemolyticus* et les *V. parahaemolyticus* pathogènes.

- **A partir de ces méthodes, quel seuil pourrait être considéré comme une dose infectieuse, au-delà de laquelle des mesures de gestion de coquillages et/ou de zones devraient être prises? »**

La notion de dose infectieuse est généralement utilisée comme outil de gestion du risque pour prévenir les TIAC. Toutefois, cette notion de seuil en dessous duquel le risque serait nul n'a pas de valeur scientifique en microbiologie des aliments. En effet, il convient d'utiliser une relation dose-réponse, qui associe la probabilité de maladie dans la population exposée à chacune des doses de dangers microbiologiques ingérées.

Le rapport présente dans son chapitre 2.2 la relation dose-réponse utilisée par la l'US-FDA, dans son modèle d'AQR, pour comparer différentes stratégies de gestion de risque. Toutefois, ce modèle, incluant cette relation dose-réponse, est actuellement en cours de révision (travaux en cours au JEMRA). En attendant cette révision, la figure 6 du rapport fournit une relation dose-réponse qui peut être utilisée à titre provisoire par le gestionnaire pour illustrer la façon dont la dose ingérée influe sur le risque. Il reste nécessaire d'estimer d'une part la quantité de *Vibrio* par gramme de coquillages selon une technique de quantification analogue à celle utilisée par l'US-FDA et d'autre part les quantités consommées.

L'Anses pourra, par exemple à la demande du gestionnaire, apprécier quantitativement l'efficacité de différentes mesures de gestion, prenant en considération les différents modes de production et de consommation.

Par la suite, le gestionnaire pourra choisir le scénario de gestion correspondant au risque acceptable qu'il aura fixé.

4. CONCLUSIONS DE L'EXPERTISE COLLECTIVE

Le comité d'experts spécialisé « Biorisk » a adopté les travaux d'expertise du groupe de travail « Évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer » ainsi que ses conclusions et recommandations, objets du présent rapport lors de la séance du 29 novembre 2012.

5. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES « Biorisk ».

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Vibrio parahaemolyticus, produits de la mer, coquillages, huitres, moules, modélisation, méthode de détection.

BIBLIOGRAPHIE

Ardilly P (1994) 'Les techniques de sondage.' (Technip: Paris) 393

Barker Jr WH (1974) *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in the United States. *Lancet* **1**(7857), 551-554.

Bauer A, Østensik Ø, Florvåg M, Ørmen Ø, Rørvik LM (2006) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*, and *V. vulnificus* in Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis*). *Applied and Environmental Microbiology* **72**(4), 3058-3061.

Beneduce L, Vernile A, Spano G, Massa S, Lamacchia F, Oliver JD (2010) Occurrence of *Vibrio vulnificus* in mussel farms from the Varano lagoon environment. *Letters in Applied Microbiology* **51**(4), 443-449.

Beuchat LR, Worthington RE (1976) Relationships between heat resistance and phospholipid fatty acid composition of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology* **31**(3), 389-394.

Blanco-Abad V, Ansedo-Bermejo J, Rodriguez-Castro A, Martinez-Urtaza J (2009) Evaluation of different procedures for the optimized detection of *Vibrio parahaemolyticus* in mussels and environmental samples. *International Journal of Food Microbiology* **129**(3), 229-236.

Bradshaw JG, Francis DW, Twedt RM (1974) Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Cooked Seafood at Refrigeration Temperatures. *Applied Microbiology* **27**(4), 657-661.

Broberg C.A., Calder T.J., Orth, K (2011) *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants. *Microbs and infection*, **13**, 992-1001

Cañigral I, Moreno Y, Alonso JL, González A, Ferrús MA (2010) Detection of *Vibrio vulnificus* in seafood, seawater and wastewater samples from a Mediterranean coastal area. *Microbiological Research* **165**(8), 657-664.

Chen J (2005) *Vibrio parahaemolyticus* in tuna (*Thunnus* spp) traded in the city of São Paulo *Veterinária e zootecnia* **12**, 89-95.

Cohen N, Karib H, Ait Saïd J, Lemee L, Guenole A, Quilici ML (2007) Occurrence of potentially pathogens vibrio from sea products marketed in Casablanca (Morocco). *Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca (Maroc)* **158**(11), 562-568.

Collin B, Rehnstam-Holm AS (2011) Occurrence and potential pathogenesis of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* on the South Coast of Sweden. *FEMS Microbiology Ecology* **78**(2), 306-313.

Cook DW, Bowers JC, DePaola A (2002) Density of total and pathogenic (*tdh+*) *Vibrio parahaemolyticus* in Atlantic and Gulf Coast molluscan shellfish at harvest. *Journal of Food Protection* **65**(12), 1873-1880.

Copin S, Robert-Pillot A, Malle P, Quilici ML, Gay M (2012) Evaluation of Most-Probable-Number-PCR method with internal amplification control for the counting of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in frozen shrimps. *Journal of Food Protection* **75**(1), 150-153.

Delignette-Muller M-L, Pouillot R, Denis J-B, Dutang C (2010) Fitdistrplus: Help to fit of a parametric distribution to non-censored or censored data. <http://riskassessment.r-forge.r-project.org>.

DePaola A, Jones JL, et al. (2010) Bacterial and viral pathogens in live oysters: 2007 United States market survey. *Applied and Environmental Microbiology* **76**(9), 2754-2768.

DePaola A, Kaysner CA, Nordstrom JL, Blackstone GM, Vickery M, Bowers JC (2002) Harvest practices and ecological factors affecting the risk of *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific Northwest oysters.

Deter J, Lozach S, Véron A, Chollet J, Derrien A, Hervio-Heath D (2010) Ecology of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* on the French Atlantic coast. Effects of temperature, salinity, turbidity and chlorophyll a. *Environmental Microbiology* **12**(4), 929-937.

Di Pinto A, Ciccarese G, De Corato R, Novello L, Terio V (2008) Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in southern Italian shellfish. *Food Control* **19**(11), 1037-1041.

FAO-OMS (2002) Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok, Thailand, 5–9 August 2002.

FAO/WHO Discussion Paper on Risk Management Strategies for *Vibrio* spp. in Seafood - CX/FH 03/5 - Add.3. In 'Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Hygiene Thirty-fifth Session', (27 January - 1 February 2003) 2003, Orlando, U.S.A.,

Fernandez-Piquer J, Bowman JP, Ross T, Tamplin ML (2011) Predictive models for the effect of storage temperature on *Vibrio parahaemolyticus* viability and counts of total viable bacteria in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Applied and Environmental Microbiology* **77**(24), 8687-8695.

Furumoto WA, Mickey R (1967) A mathematical model for the infectivity-dilution curve of Tobacco Mosaic virus : theoretical considerations. *Virology*(32), 216-223.

Gugliandolo C, Lentini V, Spanò A, Maugeri TL (2011) Conventional and molecular methods to detect bacterial pathogens in mussels. *Letters in Applied Microbiology* **52**(1), 15-21.

Hara-Kudo Y, Saito S, *et al.* (2012) Characteristics of a sharp decrease in *Vibrio parahaemolyticus* infections and seafood contamination in Japan. *International Journal of Food Microbiology*.

Hara-Kudo Y, Takatori K (2011) Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiol Infect* **139**(10), 1505-10. [In eng]

Henigman U, Biasizzo M, Vadnjal S, Kirbis A, Toplak I, Barlic-Maganja D (2011) Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Slovenia. *Acta Vet Hung* **59**(2), 155-64. [In eng]

Hervio-Heath D, Colwell RR, Derrien A, Robert-Pillot A, Fournier JM, Pommepuy M (2002) Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *J Appl Microbiol* **92**(6), 1123-1135.

Hervio-Heath D, Constantin de Magny G, Deter J, Teillon A, Lozach S, Derrien A (2012) A survey of *Vibrio parahaemolyticus* in French Atlantic coastal waters. In 'Proceedings of the International Symposium "Pathogenic *Vibrio* spp. in Northern European Waters". ' Koblenz, Germany, May 2012)

Ifremer (2011) Moule. In 'Decouvertes mollusques. Vol. <http://aquaculture.ifremer.fr/les-Filieres/Filiere-Mollusques/Decouverte-mollusques/Moule>).

Kaufman GE, Bej AK, Bowers J, DePaola A (2003) Oyster-to-oyster variability in levels of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection* **66**(1), 125-129.

Kaysner CA, Tamplin ML, Wekell MM, Stott RF, Colburn KG (1989) Survival of *Vibrio vulnificus* in shellstock and shucked oysters (*Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica*) and effects of isolation medium on recovery. *Applied and Environmental Microbiology* **55**(12), 3072-3079.

Kim CM, Jeong KC, Rhee JH, Choi SH (1997) Thermal-death times of opaque and translucent morphotypes of *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology* **63**(8), 3308-10.

Lemoine T, Germanetto P, Giraud P (1999) Toxi-infection alimentaire collective à *Vibrio parahaemolyticus*. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH)* **10**, 37-38.

Lhafi SK, Kühne M (2007) Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. *International Journal of Food Microbiology* **116**(2), 297-300.

Martinez-Urtaza J, Lozano-Leon A, Varela-Pet J, Trinanes J, Pazos Y, Garcia-Martin O (2008) Environmental determinants of the occurrence and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the rias of Galicia, Spain. *Applied and Environmental Microbiology* **74**(1), 265-274.

Miles DW, Ross T, Olley J, McMeekin TA (1997) Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology* **38**(2-3), 133-142.

Molenda JR, Johnson WG, Fishbein M, Wentz B, Mehlman IJ, Dadisman Jr TA (1972) *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland: laboratory aspects. *Applied microbiology* **24**(3), 444-448.

Oberbeckmann S, Wichels A, Wiltshire KH, Gerdt G (2011) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in the German Bight over a seasonal cycle. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* **100**(2), 291-307.

Ofimer (2006) Bilan annuel - Consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture. In. ')

Oliver JD (2006) *Vibrio vulnificus*. In 'The biology of Vibrios. Vol. 1.' Ed. BA F. L. Thompson, and J. Swings (ed.) pp. 349-366. (ASM Press: Washington)

Ottaviani D, Leoni F, Rocchegiani E, Canonico C, Potenziani S, Santarelli S, Masini L, Mioni R, Carraturo A (2010) Prevalence, serotyping and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* in mussels from Italian growing areas, Adriatic Sea. *Environmental Microbiology Reports* **2**(1), 192-197.

Pal D, Das N (2010) Isolation, identification and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fish samples in Kolkata. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* **14**(6), 545-549.

Parker RW, Maurer EM, Childers AB, Lewis DH (1994) Effect of Frozen Storage and Vacuum-Packaging on Survival of *Vibrio vulnificus* in Gulf Coast Oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of Food Protection* **57**(7), 604-606.

Popovic NT, Skukan AB, Dzidara P, Coz-Rakovac R, Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, Jadan M, Brlek-Gorski D (2010) Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina* **55**(5), 233-241.

Pouillot R, Beaudreau P, Denis JB, Derouin F (2004) A quantitative risk assessment of waterborne cryptosporidiosis in France using second-order Monte Carlo simulation. *Risk Anal* **24**(1), 1-17.

Quilici ML, Robert-Pillot A (2011) Infections à vibrions non cholériques. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses* **8-026-F-15**.

R version 2.14.1: A Language and Environment for Statistical Computing (2011) R Foundation for Statistical Computing. *R Development Core Team*, available at : <http://R-project.org>.

Robert-Pillot A, Copin S, Gay M, Malle P, Quilici ML (2010) Total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp: Fast and reliable quantification by real-time PCR. *International Journal of Food Microbiology* **143**(3), 190-197.

Roque A, Lopez-Joven C, et al. (2009) Detection and identification of *tdh*- And *trh*-positive *Vibrio parahaemolyticus* strains from four species of cultured bivalve molluscs on the Spanish Mediterranean coast. *Applied and Environmental Microbiology* **75**(23), 7574-7577.

Rosec J-P, Causse V, Cruz B, Rauzier J, Carnat L (2012) The international standard ISO/TS 21872-1 to study the occurrence of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in seafood: ITS improvement by use of a chromogenic medium and PCR. *International Journal of Food Microbiology* **157**(2), 189-194.

Rumeau-Rouquette C, Blondel B, Kaminski M, Bréart G (1993) 'Epidémiologie : méthodes et pratiques.' (Flammarion: Paris) 312p

Schärer K, Savioz S, Cernela N, Saegesser G, Stephan R (2011) Occurrence of *Vibrio* spp. in fish and shellfish collected from the Swiss market. *Journal of Food Protection* **74**(8), 1345-1347.

Schets FM, Van Den Berg HHJL, Rutjes SA, De Maria Roda Husman ANA (2010) Pathogenic *Vibrio* species in dutch shellfish destined for direct human consumption. *Journal of Food Protection* **73**(4), 734-738.

Serracca L, Battistini R, Rossini I, Prearo M, Ottaviani D, Leoni F, Ercolini C (2011) *Vibrio* virulence genes in fishes collected from estuarine waters in Italy. *Letters in Applied Microbiology*, no-no.

Teunis PF, Havelaar AH (2000) The Beta Poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Anal* **20**(4), 513-20.

Trevors JT (2011) Viable but non-culturable (VBNC) bacteria: Gene expression in planktonic and biofilm cells. *Journal of Microbiological Methods* **86**(2), 266-273.

US-FDA (2005) 'Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters.' In Available at <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm050421.htm> [Verified may 2012]

Vaillant V, Jourdan-da-Silva N, Quilici M-L, Couturier E, Le Guyader S, Delmas G, Le Saux J-C (2012) Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, Hors-série/9 mai 2012, 34-37.

Vasudevan P, Marek P, Daigle S, Hoagland T, Venkitanarayanan KS (2002) EFFECT OF CHILLING AND FREEZING ON SURVIVAL OF VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS ON FISH FILLETS1. *Journal of Food Safety* **22**(4), 209-217.

Vose D (2000) 'Risk analysis : a quantitative guide.' 3rd edn. (John Wiley and sons: New York) 735

Wagley S, Koofhethile K, Wing JB, Rangdale R (2008) Comparison of *V. parahaemolyticus* isolated from seafoods and cases of gastrointestinal disease in the UK. *International Journal of Environmental Health Research* **18**(4), 283-293.

Wang F, Jiang L, Yang Q, Han F, Chen S, Pu S, Vance A, Ge B (2011) Prevalence and antimicrobial susceptibility of major foodborne pathogens in imported seafood. *Journal of Food Protection* **74**(9), 1451-1461.

Wong HC, Chen MC, Liu SH, Liu DP (1999) Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *International Journal of Food Microbiology* **52**(3), 181-188.

Xu HS, Roberts N, Singleton FL (1982) Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microbial Ecology* **8**(4), 313-323.

Yang Zq, Jiao Xa, Li P, Pan Zm, Huang JI, Gu Rx, Fang Wm, Chao Gx (2009) Predictive model of *Vibrio parahaemolyticus* growth and survival on salmon meat as a function of temperature. *Food Microbiology* **26**(6), 606-614.

Yano Y, Kaneniwa M, Satomi M, Oikawa H, Chen SS (2006) Occurrence and density of *Vibrio parahaemolyticus* in live edible crustaceans from markets in China. *Journal of Food Protection* **69**(11), 2742-2746.

Yoon KS, Min KJ, Jung YJ, Kwon KY, Lee JK, Oh SW (2008) A model of the effect of temperature on the growth of pathogenic and nonpathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters in Korea. *Food Microbiology* **25**(5), 635-641.

Zarei M, Borujeni MP, Jamnejad A, Khezzadeh M (2012) Seasonal prevalence of *Vibrio* species in retail shrimps with an emphasis on *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control* **25**(1), 107-109.

ANNEXE(S)

*Rapport d'expertise collective du Groupe de travail « Evaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer »*

Evaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants

Saisine n°2010-SA-0301

RAPPORT d'expertise collective

Comité d'experts spécialisé « Microbiologie »

Groupe de travail « évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer »

Décembre 2012

Mots clés

Vibrio, coquillages, risques sanitaires.

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

M. Olivier CERF, Professeur émérite, École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort (évaluation des risques sanitaires)

Membres

Mme Stéphanie COPIN, Anses, Boulogne-sur-Mer (microbiologie des produits de la mer, surveillance et méthodes d'analyse, connaissance de la filière produits de la mer)

Mme Malika GOUALI, Institut Pasteur, Paris (microbiologie des produits de la mer, surveillance et méthodes d'analyse)

Mme Dominique HERVIO-HEATH, Ifremer, Plouzané (microbiologie des produits de la mer, surveillance et méthodes d'analyse, connaissance de la filière produits de la mer)

M. Laurent GUILLIER, Anses, Maisons-Alfort (évaluation des risques sanitaires, biostatistiques/biomathématiques)

RAPPORTEURS

M. Jean-Christophe AUGUSTIN – École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort

Mme Monique POMMEPUY – Ifremer, Plouzané

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES « Microbiologie » (10 juillet 2012)

Présidente

Mme Isabelle VILLENA - CHU de Reims

Membres

M. Jean-Christophe AUGUSTIN - École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort

Mme Annie BEAUFORT - Anses, Maisons-Alfort

M. Hubert BRUGERE - École nationale vétérinaire de Toulouse

M. Philippe CARTIER - Institut de l'élevage, Villers-Bocage

M. Olivier CERF - Professeur émérite - École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort

M. Pierre COLIN - École supérieure de microbiologie et de sécurité alimentaire de Brest

M. Philippe DANTIGNY - Université Claude Bernard Lyon I, IUT de technologie, Bourg-en-Bresse

M. Michel FEDERIGHI - ONIRIS, Nantes

M. Pascal GARRY - Ifremer, Nantes

M. Alexandre LECLERCQ - Institut Pasteur, Paris

M. Pierre MALLE - Anses, Boulogne-sur-Mer

M. Alain MIMOUNI - Centre technique de la conservation des produits agricoles, Paris

M. Bernard PICOCHÉ - ADRIA Normandie, Villers Bocage

M. Etienne PIERRON - Institut du porc - IFIP, Vannes

Mme Monique POMMEPUY - Ifremer, Plouzané

M. Jean-Philippe ROSEC - Service commun des laboratoires, ministères chargés des fraudes et des douanes, Montpellier

M. Henry-Eric SPINLER - AgroParisTech, Thiverval Grignon

Mme Véronique VAILLANT - Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Sonia TENAILLEAU - Direction de l'évaluation des risques – Anses

Mme Coralie BULTEL - Direction de l'évaluation des risques – Anses

Contribution scientifique à l'appréciation quantitative des risques

Mme Anne THEBAULT - Direction de l'évaluation des risques - Anses

Contribution scientifique

Mme Françoise GAUCHARD - Direction de l'évaluation des risques - Anses

M. Jean-Charles LEBLANC - Direction de l'évaluation des risques - Anses

M. Moez SANAA - Direction de l'évaluation des risques - Anses

Secrétariat administratif

Mme Françoise LOURENCO - Direction de l'évaluation des risques – Anses

AUDITION DE PERSONNALITES EXTERIEURES

Service commun des laboratoires (16 janvier 2012)

M. Jean-Philippe ROSEC - responsable de l'Unité Biologie - Laboratoire de Montpellier

Direction générale de l'alimentation (19 mars 2012)

Mme Charlotte GRASTILLEUR - Bureau des produits de la mer et d'eau douce

CONTRIBUTIONS EXTERIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

Suite à une sollicitation par courriel en date du 21 décembre 2011 puis par courrier en date du 6 février 2012, le Comité national de la conchyliculture (CNC) a apporté des éléments de réponse à différentes questions posées par le groupe de travail, portant sur les circuits commerciaux pratiqués, l'impact de la mortalité des huîtres sur les circuits de commercialisation, les résultats de données d'autocontrôles et des informations relatives aux coquillages importés.

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Liste des tableaux	7
Liste des figures	8
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	9
1.1 Contexte	9
1.2 Objet de la saisine	10
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	11
2 Expertise.....	12
2.1 Identification des dangers	12
2.1.1 Les espèces bactériennes à prendre en considération	12
2.1.2 Les aliments à prendre en considération.....	14
2.1.3 Conclusion de l'identification des dangers.....	19
2.2 Appréciation quantitative du risque (AQR) lié à <i>Vibrio parahaemolyticus</i> : résultats, limites, et propositions pour l'acquisition de données	19
2.2.1 Démarche d'appréciation quantitative des risques théoriques liés à la consommation d'huîtres ou de moules, à la sortie des établissements conchylicoles expéditeurs avant réfrigération, en fonction des saisons et du type de coquillage	20
2.2.2 Évaluation a priori de la quantité de <i>V. parahaemolyticus</i> /g d'huîtres ou de moules à la sortie de l'eau.....	23
2.2.3 Évaluation de la proportion <i>Vibrio parahaemolyticus</i> pathogènes (VPP)/g d'huîtres à la sortie de l'établissement conchylicole.....	25
2.2.4 Évolution de la quantité de VPP jusqu'à la sortie de l'établissement en absence de réfrigération (conservation en température ambiante).....	26
2.2.5 Nombre de repas par saison.....	28
2.2.6 Relation dose réponse	30
2.2.7 Résultats de l'estimation du risque, résultats par saison, par type de coquillage, et pour d'autres scénarios.....	32
2.2.8 Limites de l'AQR et perspectives d'études	34
2.2.9 Modalités pratiques d'une étude portant sur la contamination des produits en sortie d'établissement conchylicole	38
2.2.10 Conclusion.....	41
2.3 Mesures de prévention vis-à-vis du danger	42
2.3.1 Critères réglementaires.....	42
2.3.2 Mesures de maîtrise	42
2.3.3 Recommandations	43
2.4 Méthodes d'analyse	44
3 Réponses aux questions de la saisine	47
4 Publications	50
4.1 Références bibliographiques	50
4.2 Normes	55
4.3 Législation et réglementation	55

ANNEXES 56

Annexe 1 : Lettre de saisine.....57

Annexe 2 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts.....61

Annexe 3 : nombre d'analyses nécessaires à différentes précisions de l'estimation des paramètres de contamination des coquillages à la sortie de l'eau.....64

Annexe 4 : origine des coquillages70

Liste des tableaux

Tableau 1 : Souches de vibrions non cholériques responsables d'infections humaines survenues en France métropolitaine. Centre national de référence (CNR) 1995-2009.....	13
Tableau 1bis : Souches de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> responsables d'infections humaines survenues en France métropolitaine. Centre national de référence (CNR) 1995-2012.....	14
Tableau 2 : Résultats d'enquêtes publiées sur la présence de vibrions non cholériques dans les produits de la mer.....	14
Tableau 3 : Prévalences dans les coquillages en milieu marin (Europe).....	17
Tableau 4 : % de production par zone conchylicole pour les huîtres et les moules.....	23
Tableau 5: Températures théoriques de l'eau de mer par saison pour l'élevage des huîtres et des moules, utilisées pour l'AQR.....	24
Tableau 6 : Estimation des paramètres de régression entre température de l'eau de mer et VP.....	25
Tableau 7 : Valeur de différences de moyenne et d'écart type à prendre en compte pour évaluer la température de l'air à partir de la température de l'eau de mer.....	26
Tableau 8: Modèles de croissance et décroissance de <i>V. parahaemolyticus</i> en fonction de la température.....	27
Tableau 8 bis : Estimation de la production comestible en tonnes par an et du nombre de repas, en fonction des données disponibles.....	28
Tableau 9: Saisonnalité de la consommation d'huîtres et de moules en fonction du mois de l'année. D'après (Ofimer 2006).....	29
Tableau 10 : Données utilisées pour l'ajustement de la dose-réponse de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ...	31
Tableau 11 : Estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par <i>Vibrio parahaemolyticus</i> . Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]...	33
Tableau 12 : Estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par <i>Vibrio parahaemolyticus</i> pour une élévation de 2°C en moyenne de la température de l'eau de mer. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]	33
Tableau 13 : Estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par <i>Vibrio parahaemolyticus</i> pour une durée d'émersion supplémentaire de 12 heures à température ambiante (température de l'eau de mer comme dans tableau 12). Résultats exprimés : médiane [IC 95 %].....	33
Tableau 14 : Estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation de moules contaminées par <i>Vibrio parahaemolyticus</i> . Résultats exprimés : médiane [IC 95 %])	33
Tableau 15 : Estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation de moules contaminées par <i>Vibrio parahaemolyticus</i> sans le sud de la France. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]).....	34
Tableau 16 : Influence de la température de l'eau et de l'air sur l'estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , les autres conditions étant celles du Tableau 11. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]).....	34
Tableau 17: Distributions Normales de la température de l'eau de mer prises en considération	64
Tableau 18 : Distributions Normales en log ₁₀ de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (VP)	64

Liste des figures

Figure 1 : schéma général de l'AQR	21
Figure 2: densité de probabilité de la durée d'émersion des huîtres à température ambiante.....	26
Figure 3 : taille du repas d'huîtres ajustée sur les données INCA	30
Figure 4: taille du repas de moules, en grammes, ajustée sur les données INCA	30
Figure 5 : qualité de l'ajustement de la dose-réponse pour <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	31
Figure 6 : Dose-réponse <i>Vibrio parahaemolyticus</i> utilisée pour l'AQR	32
Figure 7 : données à acquérir (rectangle contours bleus) pour une AQR sur VPP pouvant être utilisée pour la gestion du risque	36
Figure 8 : probabilité d'avoir 3 résultats quantifiables en VP en fonction du nombre d'échantillons .	67
Figure 9: effet de la taille de l'échantillon sur l'incertitude des paramètres (moyenne et écart type) de contamination de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> /g de coquillages, fonction de la température de l'eau	68
Figure 10 : estimation de l'incertitude sur la proportion de VP pathogènes/VP en fonction du nombre d'échantillons et de la température théorique de l'eau	69

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 22 décembre 2010 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer.

Le contexte précisé dans la saisine est le suivant :

« Contexte

« *Vibrio parahaemolyticus* est une bactérie spécifique du milieu marin et estuarien ; elle se trouve dans les eaux côtières et les estuaires du monde entier. Le pouvoir pathogène de cette bactérie est lié à la présence de deux hémolysines, la TDH et la TRH. Dans le milieu naturel, les souches porteuses des gènes *tdh* et *trh* codant pour ces hémolysines sont rares et représentent 0,2 à 5% des souches isolées (les souches portant le gène *tdh* étant plus virulentes – retrouvées dans 95% des cas d'infections humaines). Les infections alimentaires à *V. parahaemolyticus* sont principalement causées par la consommation de poissons ou de coquillages crus ou insuffisamment cuits. Alors que *Vibrio parahaemolyticus* est un des principaux agents pathogènes associés aux toxi-infections alimentaires en Asie et en Amérique, les infections à *V. parahaemolyticus* sont rares en Europe. Seuls quelques cas sporadiques ont été répertoriés en France, et aucun lien n'a, à ce jour, pu être établi entre la présence d'une souche pathogène dans le milieu naturel et une toxi-infection alimentaire.

« Données disponibles en France

« Données environnementales (Ifremer)

« Une étude réalisée en 1999 indique la présence de *V. parahaemolyticus* dans des moules et des eaux prélevées sur 8 des sites côtiers français, Méditerranée (2 sites), côte Atlantique (3 sites), et Manche (3 sites) – (Hervio-Heath *et al.*, 2002). Sur l'ensemble des souches isolées dans l'environnement, seules 2 souches de *V. parahaemolyticus* sont entéropathogènes (porteuses du gène *trh*).

« En 2001, une épidémie à *V. parahaemolyticus* (10 foyers de TIAC, 100 cas) a été reliée à la consommation de moules en provenance d'Irlande. Une enquête environnementale au site de re-trempage de ces coquillages (Bretagne sud) a montré que les souches entéropathogènes (porteuses du gène *tdh*) isolées des moules ne s'étaient pas implantées dans l'environnement (Hervio-Heath *et al.* 2005).

« De janvier 2006 à juin 2008, lors d'un suivi mensuel de 3 à 6 sites sur la côte méditerranéenne (eau et coquillages, pendant 18 mois, VibrioSea), *V. parahaemolyticus* est isolé dans 8 des 60 prélèvements et des espèces entéropathogènes (porteuses du gène *trh*) sont isolées dans 2 de ces 8 prélèvements (soit une prévalence d'environ 3%).

« De juin 2006 à décembre 2008 (VibrioMed), un suivi de 3 lagunes méditerranéennes est réalisé visant à rechercher la présence de *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus* dans les coquillages, l'eau et les sédiments (3 campagnes, septembre 2006, janvier et juin 2007). *V. parahaemolyticus* est détecté dans les 3 lagunes lors des 3 campagnes : présence de souches entéropathogènes (porteuses du gène *trh*) dans des moules de 2 des 3 lagunes en septembre 2006 et juin 2007.

« D'avril 2008 à septembre 2010 (Vibrio Pertuis), un suivi de 3 sites sur la côte Atlantique est réalisé (Pertuis Breton, 17) avec une recherche mensuelle de *V. parahaemolyticus* dans l'eau, les coquillages et le sédiment : présence de *V. parahaemolyticus* dans les 3 sites d'avril à novembre et de *V. parahaemolyticus* entéropathogènes (*trh*) de mai à octobre 2008, 2009 et 2010.

« Ces résultats indiquent la présence potentielle de *V. parahaemolyticus* et des souches de *V. parahaemolyticus* entéropathogènes sur toutes les côtes françaises et sous sa forme cultivable environ 6 à 9 mois de l'année. Or peu d'infections à *V. parahaemolyticus* ont été recensées pendant toutes ces

années d'après les données épidémiologiques de l'InVS et du CNR des Vibrions et du Choléra (Institut Pasteur, Paris).

« Plans de surveillance de la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) »

« Des plans de surveillance ont été mis en œuvre sur des échantillons de coquillages mis sur le marché en 2008, 2009 et 2010 par la DGCCRF. En 2010, 46 échantillons d'huîtres ont été analysés de mai à septembre. *V. parahaemolyticus* a été détecté dans 16 échantillons, dont des souches entéropathogènes (5 *trh* + et 1 *tdh* +). La découverte de ces souches a donné lieu à des investigations dans les départements de production des coquillages correspondants.

« Etude sur des huîtres réalisée de juin à octobre 2010 dans le cadre d'investigations suite aux résultats obtenus par la DGCCRF (Ifremer) »

« Cinq sites ont été suivis en Vendée, et deux sites en Bretagne Sud. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	07.2010	08.2010	09.2010	10.2010
Vendée	4 / 5 sites Vp+ 2 / 4 sites Vp <i>trh</i> +	4 / 4 sites Vp+ 3 / 4 sites Vp <i>trh</i> + 1 / 4 sites Vp <i>tdh</i> +	2 / 2 sites Vp+ 1 / 2 sites Vp <i>trh</i> +	3 / 3 sites Vp+ 3 / 3 sites Vp <i>trh</i> + 1 / 3 sites Vp <i>tdh</i> +
Bretagne Sud		2 / 2 sites Vp+ 1 / 2 sites Vp <i>trh</i> +	1 / 1 sites Vp+	

Source : Dominique Hervio-Heath, 2010

« On constate la présence de *V. parahaemolyticus* dans 4 des 5 sites de la côte vendéenne, avec un isolement de souches entéropathogènes *trh*+ dans ces 4 sites et de souches entéropathogènes *tdh*+ dans un des sites à deux reprises (en août et octobre 2010). Ces souches *tdh*+ seront expédiées au CNRVC en janvier 2011 pour complément de caractérisation (sérotypage). C'est la seconde fois en 10 ans que des souches *V. parahaemolyticus* entéropathogènes *tdh*+ sont isolées d'échantillons du milieu marin sur la côte Atlantique. »

1.2 Objet de la saisine

Cette demande, enregistrée sous le numéro **2010-SA-0301**, porte sur les questions suivantes :

« 1 : Considérant (i) les études démontrant la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans le milieu, et (ii) la quasi absence de TIAC à *V. parahaemolyticus* recensées en France,

- Quel est le risque lié à la présence de *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants en France ?
- Si ce risque s'avère faible, peut-on alors considérer qu'il n'y a pas de problème de santé publique liée à *V. parahaemolyticus* dans les coquillages en France ?
- A contrario, si le risque s'avérait non négligeable, quelles mesures de prévention efficaces pourraient être mises en œuvre ? (réfrigération, cuisson ...).
- Si l'évaluation du risque s'avérait difficile, quelles données devraient être acquises afin de permettre une bonne évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants provenant des zones de production françaises ?
- Au regard du risque estimé, est-il pertinent et nécessaire de mettre en place une surveillance de *V. parahaemolyticus* dans le milieu marin (zones conchylicoles) et/ou un plan de surveillance de *V. parahaemolyticus* dans les mollusques bivalves vivants à la production ou à la mise sur le marché ?

2 : Les méthodes de recherche de cette bactérie n'étant pas encore normalisées,

- Quelle méthode de détection disponible devrait être utilisée pour la détection de *V. parahaemolyticus* dans l'eau et dans les coquillages? Quelle méthode de numération disponible devrait être utilisée afin de quantifier la présence de *V. parahaemolyticus* dans les coquillages ?

- A partir de ces méthodes, quel seuil pourrait être considéré comme une dose infectieuse, au-delà de laquelle des mesures de gestion de coquillages et/ou de zones devraient être prises? ».

Il est souligné qu'il pourrait être intéressant, dans un second temps, d'étendre le champ des investigations aux autres espèces marines, susceptibles d'être consommées, et pouvant présenter un risque *Vibrio*.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail « Évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer », rattaché au comité d'experts spécialisé « Microbiologie » l'instruction de cette saisine.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

Le groupe de travail s'est réuni six fois entre septembre 2011 et juillet 2012, il a rassemblé des éléments d'information sur :

- Les vibrions non cholériques
- La prévalence de *Vibrio parahaemolyticus* dans différents produits de la mer
- Les méthodes de détection de cette bactérie
- Les données de consommation des produits de la mer concernés
- Les circuits commerciaux des produits de la mer considérés

Deux auditions par le groupe de travail ont été organisées :

- Une audition de M. Jean-Philippe ROSEC (Service commun des laboratoires, DGDDI et DGCCRF Montpellier) organisée le 16 janvier 2012.
- Une audition de Mme Charlotte GRASTILLEUR (DGAL) organisée le 19 mars 2012.

Sollicités par courriel le 21 décembre 2011 et par courrier le 6 février 2012, le CNC et la DGAL ont fourni des éléments de réponse aux questions posées par le groupe de travail, portant sur les circuits commerciaux pratiqués, l'impact de la mortalité des huîtres sur les circuits de commercialisation, les résultats de données d'autocontrôles et des informations relatives aux coquillages importés. Ces éléments de réponse ont été discutés par les membres du groupe de travail.

Des éléments d'information ont également été fournis par M. Jean-Claude LE SAUX (Ifremer) concernant les données de température de l'eau de mer. Ces données ont été utilisées dans le modèle développé.

Ce rapport comporte :

- Une présentation générale relative aux vibrions non cholériques
- Sur la base des données françaises actuelles incomplètes et de l'extrapolation d'un modèle américain aux données françaises, un plan d'échantillonnage à la sortie des établissements conchylicoles, fondé sur une appréciation quantitative du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* potentiellement pathogène, pour les consommateurs concernés par la vente directe des coquillages
- Les méthodes d'analyse préconisées par le groupe de travail pour la réalisation d'analyses permettant d'acquérir des données de contamination quantifiées relatives à la production conchylicole française.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

2 Expertise

2.1 Identification des dangers

2.1.1 Les espèces bactériennes à prendre en considération

Ce qui suit présente les éléments de connaissance utilisés par les membres du groupe de travail, tirés de la publication de (Quilici and Robert-Pillot 2011) avec l'accord des auteurs.

Le genre bactérien *Vibrio* comporte douze espèces pathogènes pour l'homme que l'on trouve dans les milieux marins du monde entier, notamment dans les eaux côtières et les estuaires. Les espèces les plus fréquemment impliquées dans les infections humaines sont *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*. En plus des souches qui provoquent le choléra (non pris en compte dans ce rapport), l'espèce *V. cholerae* comporte des souches associées à des pathologies moins graves. Ces dernières souches sont nommées « *V. cholerae* non-O1/non-O139 ». *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* non-O1/non-O139 font partie des « vibrions non cholériques ».

Les vibrions non cholériques sont rarement mis en cause en Europe, mais l'incidence des infections a fortement augmenté depuis 1996 en Asie et en Amérique du Nord. Les hypothèses relatives à cette augmentation sont : le réchauffement du climat, l'anthropisation des eaux côtières, l'augmentation de la consommation de produits de la mer crus, des modifications de la virulence des souches, l'augmentation de la proportion des sous-populations à risque (définies plus loin). Cependant l'incidence a baissé récemment au Japon. Ceci est attribué pour partie à la baisse de la contamination des eaux de mer, et surtout aux mesures d'hygiène prises en aval de la récolte (Hara-Kudo, Saito *et al.* 2012).

La survie de *V. parahaemolyticus* et de *V. vulnificus* pendant la conservation aux températures inférieures à 13°C et lors de la congélation a été étudiée : La concentration des bactéries de ces deux espèces décroît à une vitesse d'autant plus grande que la température est plus froide. Toutefois on ne peut utiliser le froid pour assainir complètement les produits (Bradshaw, Francis *et al.* 1974; Kaysner, Tamplin *et al.* 1989; Parker, Maurer *et al.* 1994; US-FDA 2005; Vasudevan, Marek *et al.* 2002).

Ces deux espèces sont détruites par la chaleur dès les températures supérieures à la température maximale de croissance, soit 43°C (Beuchat and Worthington 1976; Kim, Jeong *et al.* 1997; US-FDA 2005).

V. parahaemolyticus présente des formes pathogènes (VPP *tdh+* et/ou VPP *trh+*) et non-pathogènes (VP) basées sur la présence de gènes de la virulence spécifiques: *tdh* (hémolysine directe thermostable, TDH) et *trh* (hémolysine apparentée au TDH). Il cause des gastro-entérites d'origine alimentaire liées à l'ingestion de produits de la mer. Après 3 à 48 heures d'incubation, l'infection généralement bénigne dure trois jours en moyenne, parfois jusqu'à sept jours. Exceptionnellement, des septicémies peuvent survenir chez des sujets présentant un terrain prédisposant (immunodépression, diabète, pathologies hépatiques, cirrhose).

V. vulnificus est surtout redouté pour les septicémies et les infections cutanées qu'elle provoque. Toutefois il cause aussi des gastro-entérites, généralement de faible gravité mais pouvant évoluer vers des septicémies sévères. Ces dernières peuvent avoir une létalité supérieure à 50% (Oliver 2006).

Les *V. cholerae* non-O1/non-O139 sont également associés à des gastro-entérites de gravité modérée, évoluant parfois vers des formes sévères.

Les cas de septicémies recensés sont plus fréquemment associés à des populations immunodéprimées.

La caractérisation des espèces et, pour *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* de leur caractère pathogène, est réalisé préférentiellement par voie moléculaire¹. Elle se fait en cherchant :

- pour *V. parahaemolyticus*, le fragment d'ADN R72H ou le gène *toxR* pour l'espèce (formes pathogènes et non pathogènes) et les gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH pour le caractère pathogène ; De nouvelles séquences de facteurs de pathogénicité (T3SS1 et T3SS2) ont été récemment mises en évidence (Broberg *et al.*, 2011) mais ne sont pas actuellement systématiquement recherchées par le Centre national de référence.
- pour *V. vulnificus* : le gène *hly* codant pour l'hémolysine

¹ Compte tenu des difficultés et des imprécisions de l'identification des espèces par voie biochimique.

- pour *V. cholerae* : la région intergénique 16S-23S rRNA pour l'espèce et les facteurs de pathogénicité *ctxA* et/ou *ctxB*
- pour les *V. cholerae* non-O1/non-O139 : ils sont distingués des vibrions cholériques par l'absence d'agglutination avec les sérums anti-O1 et anti-O139.

Le Tableau 2 répertorie les cas de maladies connus du Centre national de référence des vibrions et du choléra entre 1995 et 2009 (Quilici et Robert-Pillot, 2011). Les gastro-entérites non acquises à l'étranger étaient dues majoritairement à *V. parahaemolyticus*, et minoritairement à *V. cholerae* non-O1/non-O139. Aucune gastro-entérite causée par *V. vulnificus* n'a été répertoriée pendant la période considérée. De 1995 à 2010, *V. parahaemolyticus* a été impliqué dans 13 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), confirmés et 3 foyers suspectés (Vaillant, Jourdan-da-Silva *et al.* 2012).. Ces 16 foyers représentaient 3% de l'ensemble des foyers de TIAC déclarées pour lesquelles des coquillages ont été confirmés ou suspectés comme source de contamination. Onze de ces foyers dus à *V. parahaemolyticus* étaient liés à la consommation de moules en provenance de deux zones de production en Irlande en 2001. Au total 142 cas d'infections à vibrions non cholériques ont été recensés par le CNR entre 1995 et 2010 (Vaillant, Jourdan-da-Silva *et al.* 2012). Parmi les 94 cas pour lesquels l'information concernant la source probable de contamination était disponible, 37 (39%) (24 à *V. cholerae* et 13 à *V. parahaemolyticus*) avaient rapporté la consommation de produits de la mer. Parmi ces 37 cas, 26 étaient des cas autochtones qui avaient consommé des produits de la mer en France (14 à *V. cholerae* non-O1/non-O139 et 12 à *V. parahaemolyticus*).

Tableau 2 : souches de vibrions non cholériques responsables d'infections humaines survenues en France métropolitaine. Centre national de référence (CNR) 1995-2009

Espèce	Nombre de souches reçues au CNR	Formes cliniques (nombre de cas)	Nombre de décès	Contexte de contamination (nombre de cas)
<i>Vibrio cholerae</i> non-O1/non-O139	69	Gastroentérite (19)	-	Voyage à l'étranger (15), consommation de produits de la mer (2), ND (2)
		Gastroentérite + septicémie (13)	1	Voyage à l'étranger (8), consommation de produits de la mer (3), ND (1), NE (1)
		Septicémie (19)	3	Voyage à l'étranger (2), consommation de produits de la mer (3), contact avec l'eau de mer (1), ND (10), NE (3)
		Suppurations diverses (13)	-	Voyage à l'étranger (4), contact avec l'eau (3), ND (4), NE (2)
		Plaie + septicémie (2)	-	Voyage à l'étranger (1), NE (1)
		Autres (3)	1	Voyage à l'étranger (1), consommation de produits de la mer (1), ND (1)
<i>Vibrio alginolyticus</i>	25	Suppurations – otite (23)	-	contact avec l'eau de mer (12), ND (9), NE (2)
		Septicémie (2)	-	contact probable avec l'eau de mer (1), ND (1)
<i>Vibrio vulnificus</i>	13	Plaie + septicémie (10)	2	Voyage à l'étranger (1), contact avec l'eau de mer (8), ND (1)
		Suppurations diverses (2)	-	contact avec l'eau de mer (1), ND (1)
		Septicémie (1)	1	contact avec l'eau de mer (1)
<i>Vibrio fluvialis</i>	2	Gastroentérite (1)	-	contact avec l'eau (1)
		Septicémie (1)	-	ND (1)
<i>Vibrio hollisae</i>	2	Gastroentérite + septicémie (1)	1	ND (1)
		Septicémie (1)	1	ND (1)

ND : non documenté, NE : contexte de contamination non établi. Ces données ont été obtenues dans le cadre des activités du Centre national de référence des vibrions et du choléra, désigné par le Ministère de la Santé et subventionné par l'Institut de veille sanitaire et l'Institut Pasteur. Tous droits réservés.

Espèce	Nombre de souches reçues au CNR	Formes cliniques (nombre de cas)	Nombre de décès	Contexte de contamination (nombre de cas)	Présence de gènes codant pour des facteurs de pathogénicité (nbre de souches)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	23	Gastro-entérite (18)	-	Consommation de produits de la mer (11), ND (6), NE (1)	tdh(13) ; trh (4) tdh et trh (1)
		Septicémie (2)	1	ND (2)	tdh(1)
		Suppurations diverses (2)	-	Consommation de produits de la mer (1) Contact avec l'eau de mer (1)	trh (1) -
		Plaie + septicémie (1)	1	Contact avec l'eau de mer (1)	-

Tableau 3bis : souches de *Vibrio parahaemolyticus* responsables d'infections humaines survenues en France métropolitaine. Centre national de référence (CNR) 1995-2012

Par ailleurs, parmi les 48 cas d'infection à vibrions non cholériques pour lesquels l'information concernant la source probable de contamination n'était pas disponible, 15 cas de gastro-entérite (potentiellement d'origine alimentaire et liés à la consommation de produits de la mer) étaient dus aux espèces *V. cholerae* (9 cas, 2 contractés en France, 7 à l'étranger) et *V. parahaemolyticus* (6 cas, 5 contractés en France, 1 à l'étranger). On ne note pas d'évolution notable du nombre d'infections à vibrions non cholériques après consommation de produits de la mer identifiées ou confirmées au CNR

2.1.2 Les aliments à prendre en considération

Le **Tableau 4** présente les résultats d'enquêtes qui ont été publiées sur la présence de vibrions non cholériques dans des produits de la mer prélevés à la sortie de bassins de production ou mis sur le marché (distributions, restaurants, marchés, grossistes). Les aliments les plus susceptibles d'être en cause dans les gastro-entérites sont les coquillages, notamment les huîtres et secondairement les moules consommées crues ou insuffisamment cuites. Le groupe de travail considère les poissons et les crustacés comme moins préoccupants, du fait qu'ils sont majoritairement consommés après cuisson, et compte tenu du fait que les vibrions ne sont pas considérés comme thermorésistants.

Une recontamination par *Vibrio parahaemolyticus* est possible après cuisson des coquillages ou crustacés, conservés trop longtemps ou à une température trop élevée (Barker Jr 1974) (Lemoine, Germanetto *et al.* 1999) (Molenda, Johnson *et al.* 1972)

Tableau 4 : résultats d'enquêtes publiées sur la présence de vibrions non cholériques dans les produits de la mer

Nature du produit	Pays Année	Stade de la chaîne	Prévalence				Rapport patho/non patho**	Référence
			n (nombre d'analyses)	Espèce *	%	Méthode utilisée		
Moules	Slovénie 2006 à 2008	Bassins de production	168	Vp	14.2	Enrich+isolement+PCR	1/168, 1TRH+	(Henigman, Biasizzo <i>et al.</i> 2011)
Moules	Norvège 2002 à 2004	Bassins de productions	885	Vp	10.3	enrich+isolement+PCR	4/138 (colonies)	(Bauer, Æstensik <i>et al.</i> 2006)
Huîtres	USA 2007	Distribution	396 394	Vp Vv	77.0 73.9	enrich+isolement+PCR	Sans objet	(DePaola, Jones <i>et al.</i> 2010)

Bivalves	Suisse 2010 (septembre à décembre)	Distribution	34	Vp	20,5	ISO	0/7 (colonies)	(Schärer, Savioz <i>et al.</i> 2011)	
Poissons d'eau de mer	Suisse 2010 (septembre à décembre)	Distribution	66	Vp	1.5		0/1 (colonies)		
Huîtres	Pays-Bas 2006 (août à octobre)	Distribution	9	Vp	44.4	enrich+isolement+PCR	0/24 (colonies)	(Schets, Van Den Berg <i>et al.</i> 2010)	
Huîtres	Pays-Bas 2007 (Juin à décembre)	Bassins de production	15	Vp	20.0				
Moules	Pays-Bas 2007 (Juin à décembre)	Bassins de production	15	Vp	1				
Poissons d'estuaires (<i>Mugil cephalus</i> et <i>Liza aurata</i>)	Italie 2008 (Juin à Septembre)	Estuaires	154	Vp trh+ Vv vvh+	12 2	FDA-BMA (enrich+isolement+API)+PCR	Sans objet	(Serracca, Battistini <i>et al.</i> 2011)	
	Italie 2009 (Juin à Septembre)	Estuaires	141	Vp trh+ Vv vvh+	20 0.7	FDA-BMA (enrich+isolement+API)+PCR			
	Italie 2008 et 2009 (Juin à Septembre) (Italie)	Estuaires	295	Vp Vv	55 1	FDA-BMA (enrich+isolement+API)			
Moules	Allemagne Juin 2004 à mai 2005	Aires de production	90	Vp Vv	29.4** 3.5	isolement+PCR	0/34 (colonies)	(Lhafi and Kühne 2007)	
Crustacés	Chine juin 2002 à septembre 2003	Marchés	45	Vp	48.9	Détection+PCR	Sans objet	(Yano, Kaneniwa <i>et al.</i> 2006)	
Produits de la mer (poissons/calamars/crevettes)	Maroc avril 2002 à avril 2004	Marché	170	Vp	0	Détection+PCR	Sans objet	(Cohen, Karib <i>et al.</i> 2007)	
Huîtres			25	Vp	20				0/4*** (colonies)
Moules			25	Vp	4				0/1*** (colonies)
Crevettes	France	Marché et société import	85	Vp	76,5	PCR temps réel	?	(Robert-Pillot, Copin <i>et al.</i> 2010)	
Crevettes	France	Sans objet	36	Vp	77,7	NPP PCR	0/24*** (tubes)	(Copin, Robert-Pillot <i>et al.</i> 2012)	

Huîtres Palourdes Moules	France (avril à octobre 2008)	Aires de production	69	Vp	30.4	ISO 21872-1 + PCR	1 TRH+/69	Rosec, Causse <i>et al.</i> 2012
Huîtres Crevettes et crustacés Poissons (filets et sushi, sashami)	France (2009)	Vente établisseme nt de production et Grossiste	43 20 20	Vp Vp Vp	32.6 45 0		4 TRH+/43 0/20 0/20	
Crevettes	USA Juillet 2009 à janvier 2010	Grossiste	38	Vp	21,1	Détection + PCR	0/30 (colonies)	(Wang, Jiang <i>et al.</i> 2011)
Poissons			133	Vp	0		Sans objet	
Poissons	Croatie	Marchés	60	Vp	5	ISO	Sans objet	(Popovic, Skukan <i>et al.</i> 2010)
Crustacés	Juillet-août		60		0			
Coquillages	et		60		15			
Mollusques	décembre- janvier		60		0			
Thon	Brésil Juin 2003 à Janvier 2004	Marché	112	Vp	2.68	NPP	0/3	(Chen 2005)
Produits de la mer	Inde (Calcutta) 2010	vente	885	Vp	60	enrich+is olement+ PCR	21/60 (35%) TDH+ 1/60 (1,7%) TRH+	(Pal and Das 2010)
Coquillages (produits importés)	USA (juin 1998 à juillet 1999)	370 lots au niveau de 275 établisseme nts de vente (restaurants, bars, marchés)	370	Vp		Dénombr ement pat NPP (Méthode FDA modifiée) + Elisa	8/198 (4%) TDH+	(Cook, Bowers <i>et al.</i> 2002)
Produits de la mer importés	Taiwan (juillet 1996 à avril 1997)	686 lots à la vente	315	Vp	315/6 86 (45,9 %)	Enrichiss ement en bouillon + isolement (techniqu e conventio nnelle)	0/315	(Wong, Chen <i>et al.</i> 1999)
Crevettes	Iran 2010 Printemps	Marchés	75	Vp	13,3	enrich+is olement+ PCR	0/10*** (colonies)	(Zarei, Borujeni <i>et al.</i> 2012)
	Eté		75	Vp	18,6		2/14*** (colonies)	
	Automne		75	Vp	8		0/6*** (colonies)	
	Hiver		75	Vp	4		0/3*** (colonies)	

*Vp = *V. parahaemolyticus*, Vv = *V. vulnificus*, Vc = *V. cholerae*

** Souche de Vp possédant les gènes codant pour les hémolysines TDH et/ou TRH

*** nombre de colonies/tubes testés inconnus – hypothèse qu'un seul tube ou colonie positif pour Vp a été testé

Le **Tableau 5** présente les résultats d'étude de prévalence des vibrions non cholériques dans les coquillages prélevés dans le milieu marin (environnement)

Tableau 5 : prévalences dans les coquillages en milieu marin (Europe)

Nature du produit	Pays Année	Prévalence				Rapport patho/non patho**	Référence		
		n (nombre d'analyses)	Espèce *	%	Méthode utilisée				
Moules, <i>Mytilus galloprovincialis</i>	Italie, Golfe de Toranto (juin 2006-juin 2007)	144	Vp	16.0	enrich+PCR enrich+isolement+tests biochimiques+PCR	7/23 (bouillons d'enrich.) 3 TDH+/9 (colonies)	(Di Pinto, Ciccacese <i>et al.</i> 2008)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i>	Italie, côte Adriatique (3 sites) 2007	559	Vp	11.6	ISO/TS 21872-1 (juin 2007)	5 TRH+/65	(Ottaviani, Leoni <i>et al.</i> 2010)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i>	Italie, Lagon Varano, Adriatique (mai à novembre)	24	Vv	8.0	Enrich+isolement+PCR	Sans objet	(Beneduce, Vernile <i>et al.</i> 2010; Cañigral, Moreno <i>et al.</i> 2010)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i> Huitres, <i>C. gigas</i>	Espagne, Méditerranée 2007 (mai à septembre)	12 4	Vv Vv	16.6 50.0	enrich+isolement+tests biochimiques+PCR	Sans objet	(Cañigral, Moreno <i>et al.</i> 2010)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i>	Espagne, Galice (janvier 2002-décembre 2004)	1551	Vp	12.5	NPP+isolement+tests biochimiques+PCR multiplex	2 TDH+/464	(Martinez-Urtaza, Lozano-Leon <i>et al.</i> 2008)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i>	Espagne, Galice (Juillet 2005-juin 2006)	48	Vp	45.8	NPP-PCR et NPP+isolement+PCR	2TDH+ et 1TRH+/48	(Blanco-Abad, Ansedo-Bermejo <i>et al.</i> 2009)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i> Huitres, <i>Crassostrea gigas</i> Palourdes, <i>Ruditapes decussatus</i> Palourdes, <i>Ruditapes philliplinarum</i>	Espagne, côte Méditerranéenne 2006	127 180 30 30	Vp Vp Vp Vp	5.5 18.9 56.7 0.0	Enrich+isolement+PCR	7 TDH+ et 4 TRH+/58 (colonies)	(Roque, Lopez-Joven <i>et al.</i> 2009)		
Moules, <i>M. galloprovincialis</i> Huitres, <i>C. gigas</i> Palourdes, <i>R. decussatus</i> Palourdes, <i>R. philliplinarum</i>	Espagne, côte Méditerranéenne 2008	89 88 30 30	Vp Vp Vp Vp	49.4 35.2 30.0 40.0		17 TDH+ et 7 TRH+/96 (colonies)			
Moules, <i>M. edulis</i>	France, Manche 1999 (Juillet à Septembre)	6	Vp Vv Vc non-O1/non-O139	50 16.7 33.3		Etalement direct+isolement+tests biochimiques+PCR		1 TRH+/ 4 Sans objet 0/2 (colonies)	(Hervio-Heath, Colwell <i>et al.</i> 2002)

Moules, <i>M. edulis</i>	France, côte Atlantique 1999 (Juillet à Septembre)	6	Vp Vv Vc non-O1/non-O139	100 33.3 16.7	Etalement direct+ isolement+tests biochimiques+PCR	1 TRH+/25 Sans objet 0/2 (colonies)	
Moules, <i>M. galloprovincialis</i>	France, côte Méditerranéenne 1999 (Juillet à Septembre)	5	Vp	60	Etalement direct+ isolement+tests biochimiques+PCR	0/7 (colonies)	
Moules, <i>M. edulis</i>	France, côte Atlantique Avril 2008 à mars 2009	48	Vp	70.8	NPP+isolement+PCR	1 TDH+ et 15 TRH+ (bouillons d'enrich.)	(Deter, Lozach <i>et al.</i> 2010)
Huîtres, <i>C. gigas</i> et <i>Ostrea edulis</i> ; Moules, <i>M. edulis</i> , Coquille St Jacques, <i>Pecten maximus</i> et crabes	Royaume Uni (2002-2006)	155	Vp	24.5 (coquillages) 11.6 (crabes)	ISO/TS 21872-1 (juin 2007) + PCR	5/38 coquillages 8/18 crabes	(Wagley, Koofhethile <i>et al.</i> 2008)
Moules, <i>M. edulis</i>	Allemagne, Wadden Sea Juin 2004-avril 2005	61	Vp Vv Vc non-O1/non-O139		Enrich.+isolement+tests biochimiques+PCR	0/34 0/4 0/3 (colonies)	(Lhafi and Kühne 2007)
Moules, <i>M. edulis</i>	Allemagne, Helgoland Mai 2009 à janvier 2010	14	Vp		NPP + FISH+PCR	0/15 (colonies)	(Oberbeckmann, Wichels <i>et al.</i> 2011)
Huîtres, <i>C. gigas</i>	Pays-Bas, Oosterschelde Août à octobre 2006	4	Vp	50.0	enrich+isolement+PCR	0/10 (colonies)	(Schets, Van Den Berg <i>et al.</i> 2010)
Huîtres, <i>C. gigas</i>	Juin à décembre 2007	8	Vp	25.0		0/7 (colonies)	
Moules, <i>M. edulis</i>		8	Vp	12.5		0/7 (colonies)	
Huîtres, <i>C. gigas</i>	Mai à décembre 2008	7	Vp	14.3		0/7 (colonies)	
Moules, <i>M. edulis</i>	Suède Juin à septembre 2006	19	Vc Vv Vp	53 63 79	extraction ADN directe+PCR enrichissement+isolement+API 20NE+PCR (colonies)	8 TDH+ et/ou TRH+/15 (colonies)	(Collin and Rehnstam-Holm 2011)
Moules, <i>M. edulis</i>	Suède (Juillet 2002 à septembre 2004)	885	Vp Vc Vv	10.3 1.0 0.1	Enrichissement+isolement+API 20 ^E + hybridation sur colonies ou PCR	4 TRH+/ ?	(Bauer, Østensik <i>et al.</i> 2006)

*Vp = *V. parahaemolyticus*, Vv = *V. vulnificus*, Vc = *V. cholerae*

** Souche de Vp (colonie) possédant les gènes codant pour les hémolysines TDH et/ou TRH ou bouillons d'enrichissement positifs les gènes codant pour les hémolysines TDH et/ou TRH.

Les tableaux 2 et 3 proposent une synthèse des données de prévalence des vibrions non cholériques dans les produits de la mer mais aussi dans l'environnement (mollusques bivalves vivants). Il est important de distinguer dans ces données les taux en *V. parahaemolyticus* totaux et ceux des *V. parahaemolyticus* potentiellement pathogènes (TDH+ et/ou TRH+). Il convient de noter que les données de prévalence en *V. parahaemolyticus* pathogènes sont globalement faibles en Europe, mais elles peuvent néanmoins être parfois non négligeables, notamment du fait de leur forte dépendance aux paramètres environnementaux.

2.1.3 Conclusion de l'identification des dangers

Les données du Tableau 2 ne mettent pas en évidence l'existence d'un problème de santé publique grave identifié par l'épidémiosurveillance en France (contrairement à d'autres régions du Monde).

Toutefois, la recherche des vibrions dans les cas de gastroentérites est rarement effectuée, et leur incidence est certainement sous-estimée.

Les données des tableaux 2 et 3 montrent que la prévalence de vibrions potentiellement pathogènes est globalement faible en Europe, notamment dans les études effectuées ces dernières années en France avec une prévalence nettement supérieure des VPP *trh+* par rapport aux VPP *tdh+*.

Toutefois leur prévalence peut être localement plus forte du fait de leur forte dépendance aux paramètres environnementaux, (notamment la température), et de la possibilité de situations particulières locales.

Une enquête paraît donc nécessaire pour mieux évaluer le risque en France métropolitaine, plus particulièrement sur *V. parahaemolyticus* dans les huîtres et les moules.

2.2 Appréciation quantitative du risque (AQR) lié à *Vibrio parahaemolyticus* : résultats, limites, et propositions pour l'acquisition de données

Dans cette partie, la méthodologie de l'appréciation quantitative du risque sera utilisée. Mais il doit être précisé que le risque estimé à l'aide du modèle n'est qu'un outil numérique et non une valeur prédictive dont la valeur absolue doit donc être utilisée avec prudence pour la gestion du risque. Le modèle ci-après ne prend en considération que la production française.

Dans un premier temps, l'objectif de cette partie est de réaliser une AQR théorique à partir, principalement, d'un modèle utilisé aux États-Unis (US-FDA) (agence fédérale étatsunienne des produits alimentaires et médicamenteux) en 2000 et 2005, d'en expliquer les limites et les faiblesses. Cette étape permettra d'identifier plus précisément les données qui restent à acquérir pour mener une AQR appliquée à la situation française qui puisse servir à l'évaluation et à la gestion du risque en France, sur les huîtres d'origine française, tout en respectant des conditions de qualité similaires à celles de l'US-FDA. Le modèle a donc principalement une visée explicative et d'identification du (des) manque(s) de données mais n'a pas l'ambition d'évaluer le risque (morbidité et mortalité) en France.

L'AQR proposée montre les différentes étapes et les mécanismes impliqués dans le risque *Vibrio parahaemolyticus* pathogène dans les coquillages. Cette AQR montrera les limites de l'extrapolation du modèle américain aux données françaises. A titre d'illustration on examinera les résultats au regard de quelques changements d'hypothèses ou de contexte environnemental (élévation de la température de l'eau, durée d'émersion) sur le résultat final. Les principales données manquantes pour établir une AQR sur la production conchylicole française vis-à-vis du risque *Vibrio parahaemolyticus* seront clairement identifiées à la fin de cette partie.

Dans un second temps, l'objectif quantitatif de cette AQR est d'examiner la saisonnalité du risque, et d'identifier si des éléments permettent de privilégier ou non les huîtres ou les moules en vue d'établir une stratégie d'échantillonnage permettant d'acquérir les données nécessaires pour décrire la contamination des aliments.

A cette fin, les modalités pratiques d'une stratégie d'échantillonnage des coquillages en sortie d'établissement seront explicitées. Une telle étude permettrait d'évaluer de façon représentative la prévalence et la quantité de *V. parahaemolyticus* pathogènes par gramme de coquillage (partie comestible) en sortie d'établissement expéditeur de coquillage (avant réfrigération éventuelle).

Le nombre d'analyses nécessaires pour estimer les paramètres de la distribution de contamination dans une population de coquillages supposée homogène issue d'un milieu lui-même homogène sera évalué. Les

coquillages sont censés venir d'une grande zone hydrologique. Dans cette zone, la température quotidienne de l'eau de mer où résident les coquillages est supposée suivre une même distribution normale. La contamination résultante en *Vibrio parahaemolyticus* à la sortie de l'eau est supposée suivre une distribution Lognormale (US-FDA 2005). La précision des paramètres de cette distribution est fonction du nombre d'analyses. Ceci va nous permettre de déterminer un ordre de grandeur du nombre d'échantillons minimal pour une population homogène, pour une saison, un site.

Les modalités souhaitées du tirage au sort permettant d'obtenir un échantillon représentatif seront précisées. Les commémoratifs à joindre aux prélèvements seront préfigurés, en vue d'une meilleure compréhension du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* par la consommation de coquillages (huîtres et moules, produits en France).

Enfin en annexe sont fournis les estimations et les pays d'origine des huîtres et des moules échangés ou importés, non pris en compte dans ce plan d'échantillonnage. La pêche à pied n'est pas non plus prise en compte dans ce plan d'échantillonnage.

Les calculs ont été effectués avec le logiciel R (R version 2.14.1: A Language and Environment for Statistical Computing 2011), à l'aide du package *fitdistrplus* 02.2 (Delignette-Muller, Pouillot *et al.* 2010). La formulation est explicite, de façon à pouvoir être reproduite sur d'autres outils.

2.2.1 Démarche d'appréciation quantitative des risques théoriques liés à la consommation d'huîtres ou de moules, à la sortie des établissements conchylicoles expéditeurs avant réfrigération, en fonction des saisons et du type de coquillage

L'AQR décrite ici correspond à une vente directe, au niveau de l'établissement conchylicole (30% des ventes).

Le schéma général de l'AQR est donné dans la figure ci-dessous :

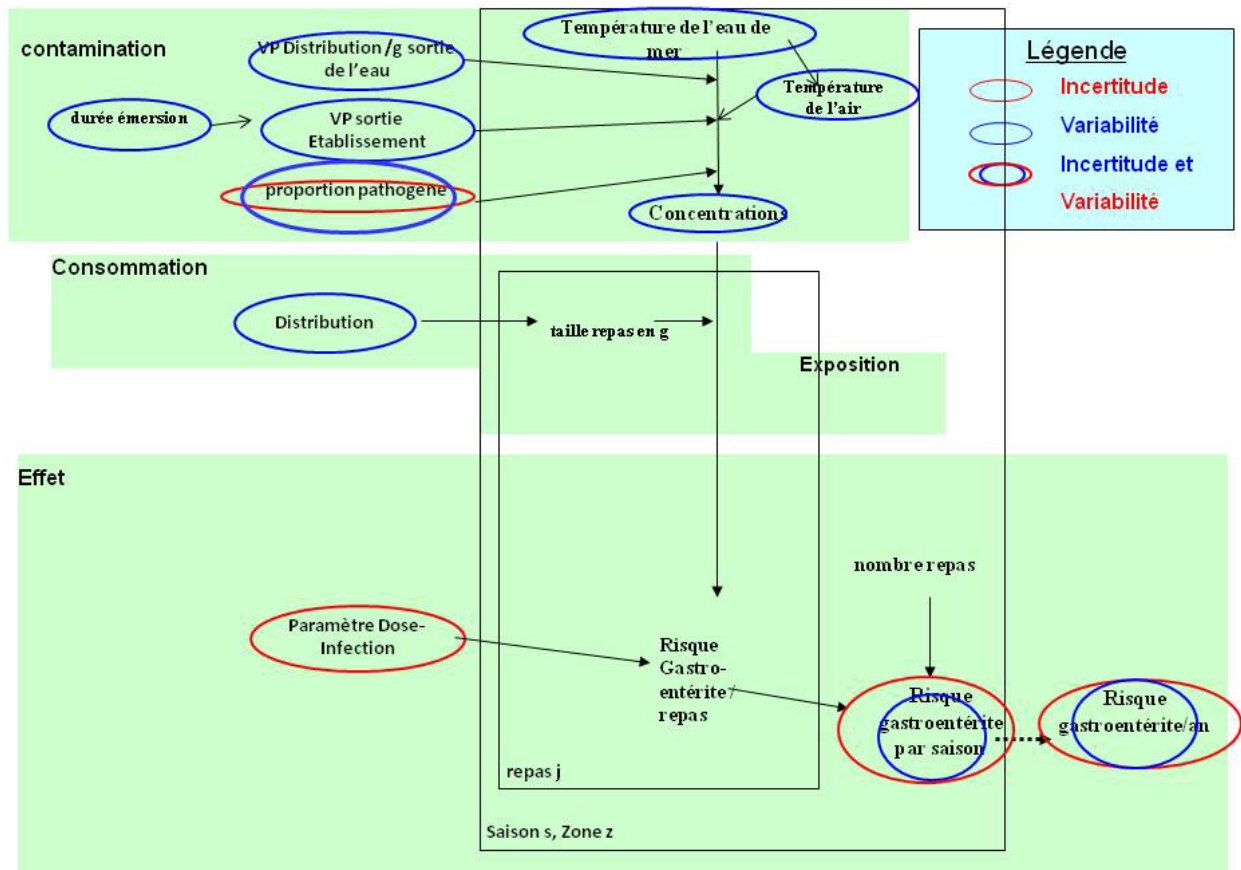


Figure 1 : schéma général de l'AQR

- **Principes de l'AQR réalisée :**

Pour un certain nombre de repas et de valeurs de contamination, décrivant la variabilité, la moyenne du nombre de cas est évaluée.

Pour cette estimation, une valeur est échantillonnée pour chacun des paramètres pour lesquels on a décrit une distribution de leur incertitude.

Pour x tirages au sort de valeurs décrivant l'incertitude on aura x moyennes. On pourra donc décrire une médiane et un intervalle de confiance (IC) 95 de ces moyennes, l'IC 95 décrivant l'incertitude de l'estimation.

Ce rapport décrit successivement l'appréciation de l'exposition, avec l'estimation de la contamination des coquillages et de la consommation de ceux-ci, l'appréciation des conséquences avec la dose-réponse utilisée, l'estimation du risque. Les résultats et leur interprétation pour l'échantillonnage proposé sont ensuite indiqués.

Il s'agit d'une AQR du second ordre, séparant variabilité² et incertitude³. La variable d'intérêt est le nombre moyen de cas humain par saison, avec son incertitude.

La variabilité est prise en compte pour la distribution de la température de l'eau, de l'air, de la durée d'émersion, qui vont avoir un impact sur la distribution de contamination en *V. parahaemolyticus* /g. La distribution du % de *V. parahaemolyticus* pathogènes/g, la taille de s repas⁴, la proportion relative de chaque zone conchylicole sur la production mise sur le marché à chaque saison vont aussi intervenir sur la variabilité.

L'incertitude est prise en compte pour l'estimation des paramètres de la relation dose-réponse et sur l'estimation de la proportion de *V. parahaemolyticus* pathogène (VPP). D'autres paramètres auraient pu être pris en compte dans l'incertitude, comme par exemple l'incertitude portant sur l'estimation des paramètres de la moyenne et l'écart type de la température de l'eau, des paramètres portant sur la relation entre la température de l'eau et la concentration en VPP à la sortie de l'eau, sur les paramètres reliant la température de l'air et de l'eau, sur les paramètres de durée d'émersion (non réellement connus), sur les paramètres de croissance, sur les paramètres décrivant la taille des repas, etc. Trois critères ont servi à exclure ces autres facteurs d'incertitude.

Un des critères a été de ne retenir que les paramètres spécifiques à l'AQR *Vibrio parahaemolyticus* et donc d'exclure, par exemple, l'incertitude sur l'estimation des paramètres de la taille des repas, en sachant que ce facteur n'est pas de nature à changer fondamentalement l'analyse des résultats.

Le deuxième critère pour prendre en compte l'incertitude est d'avoir une confiance raisonnable dans le fait que la(les) valeur(s) réelle(s) du paramètre est(sont) incluse(s) dans la distribution de l'incertitude proposée. Pour le % de VPP, au regard du peu de données disponibles en France (**Tableau 5**), les valeurs proposées aux USA semblent crédibles. Cependant ce facteur est fortement incertain, et cette incertitude devait être prise en compte. Il nous paraît important de souligner que le % de VPP est dépendant du site (comme indiqué dans le rapport US- FDA) et probablement d'autres variables environnementales que la seule température. La dépendance aux facteurs environnementaux de ce % n'est pas prise en compte dans l'étude américaine, alors qu'elle a été démontrée en France. Ici ce n'est pas seulement la valeur des paramètres qui est remise en cause, mais la relation elle-même. De même pour la dose-réponse, il est communément admis que ces relations sont établies sur peu de données, et que la prise en compte de l'incertitude sur l'estimation des paramètres est importante. Comme cette dose-réponse a été utilisée aux USA (FDA, 2005), et qu'on ne voit pas *a priori* de raison de penser que cette relation serait différente en France, la prise en compte de l'incertitude pour ces paramètres ne posait pas de problème particulier. Pour les paramètres reliant la température de l'eau et la concentration en VP, la température de l'eau et de l'air (pour l'émersion mais aussi le stockage des huîtres dans les établissements), la relation n'est pas, à ce stade des connaissances, remise en cause. Par contre, même en prenant en compte les différentes relations proposées sur les différents bassins conchylicoles américains, il n'est pas du tout évident que la réalité des valeurs de paramètres pour ces relations en France soit prise en compte, en utilisant les différentes relations américaines, dans l'incertitude qui serait estimée. Il est donc préféré pour ces autres paramètres de formuler une hypothèse pour la modélisation, dont l'impact pourra être analysé, grossièrement, par l'impact d'hypothèses alternatives, dans l'attente de données précises mesurées en France.

² liée à la nature du phénomène observé

³ liée à l'imperfection des connaissances

⁴ quantités journalières consommées

Enfin, l'incertitude sur les autres paramètres ne nous est pas apparue, à ce stade, pour cette première approche, de nature à modifier l'interprétation des résultats attendus, c'est à dire les tendances saisonnières, ou l'impact de quelques changements environnementaux ou de contexte.

2.2.2 Évaluation a priori de la quantité de *V. parahaemolyticus*/g d'huîtres ou de moules à la sortie de l'eau

Par hypothèse on peut emprunter les relations liées aux huîtres pour les moules.

Les gammes de température sont évaluées par saison et par zone conchylicole, pour tout le littoral ostréicole français. Il faut noter qu'une partie des coquillages consommés en France peut être d'origine importée ou transférée, notamment pour les moules (**données de 2006 OFIMER Annexe 4**).

Il aurait fallu disposer de données mettant en relation, mois par mois, les quantités mises sur le marché pour ces deux types de production (huître et moule) par région conchylicole. En absence de ce type de données disponibles, il est proposé d'utiliser les données agrégées annuelles de % de production par région (données dans le **Tableau 6**). La proportion de telle ou telle origine est supposée la même pour tous les mois de l'année. Les huîtres plates (1 300 tonnes sur une production totale d'huîtres creuses et plates de 84.100 tonnes) sont négligées.

Tableau 6 : % de production par zone conchylicole pour les huîtres et les moules

% 2010 / 2011	Huîtres creuses	Moules (Bouchot et autres)
Normandie-Mer du Nord	19,57%	16,24%
Bretagne Nord	22,95%	23,27%
Bretagne Sud	7,25%	4,06%
Pays de La Loire	8,45%	13,53%
Poitou-Charentes	24,15%	2,3%
Arcachon-Aquitaine	8,45%	
Méditerranée	9,18%	40,6%
Total	100% (82.800 T)	100% (73.900 T)

à partir données de production 2010-2011 : Source CNC 2012. <http://www.cnc-france.com/La-Production-francaise.aspx>

Les données de température *in situ* pendant l'année pour chaque région conchylicole correspondante ont été recherchées (Le Saux J.-C., com. pers., Cochennec N., données de l'observatoire IFREMER 2009-2011) et analysées (8100 valeurs de moyenne quotidiennes de températures).

Comme dans l'approche préconisée par l'US-FDA (2005) la distribution des températures au sein d'une saison et d'une zone conchylicole est supposée suivre une loi normale.

Pour chacune des saisons et les zones concernées (soit 28 combinaisons pour les huîtres) une distribution normale a été ajustée. La valeur moyenne, minimale, maximale et la valeur de l'écart-type correspondante à une saison et une zone conchylicole sont données dans le **Tableau 7**.

Tableau 7: températures théoriques de l'eau de mer par saison pour l'élevage des huîtres et des moules, utilisées pour l'AQR

zone	saison	min*	max*	moyenne	écart-type
Arcachon	hiver	4,91	12,93	8,94	2,11
Arcachon	printemps	6,97	20,21	14,38	3,28
Arcachon	été	17,78	24,53	21,44	1,54
Arcachon	automne	12,86	22,66	17,91	3,09
Bretagne Nord	hiver	8,41	11,85	10,10	1,03
Bretagne Nord	printemps	7,93	16,42	12,34	1,97
Bretagne Nord	été	13,38	20,30	16,99	1,59
Bretagne Nord	automne	11,24	19,28	15,74	2,47
Bretagne Sud	hiver	4,76	13,14	8,86	2,08
Bretagne Sud	printemps	5,89	18,18	12,60	2,63
Bretagne Sud	été	14,38	21,83	18,16	1,39
Bretagne Sud	automne	11,79	19,82	16,67	1,84
Poitou-Charentes	hiver	4,55	13,52	9,24	2,43
Poitou-Charentes	printemps	3,31	18,61	12,98	2,96
Poitou-Charentes	été	16,27	23,03	19,72	1,42
Poitou-Charentes	automne	13,16	21,65	17,52	2,43
Normandie	hiver	4,09	11,85	6,98	1,97
Normandie	printemps	4,29	15,83	10,74	2,81
Normandie	été	13,49	20,33	18,05	1,49
Normandie	automne	11,66	19,37	16,86	1,73
étang de Thau	hiver	4,45	12,55	7,68	2,26
étang de Thau	printemps	6,88	23,16	14,57	4,12
étang de Thau	été	19,26	28,22	24,21	1,93
étang de Thau	automne	12,83	25,45	21,10	3,60
Pays de la Loire	hiver	4,12	12,58	8,14	2,15
Pays de la Loire	printemps	4,83	18,85	13,57	3,60
Pays de la Loire	été	16,71	23,24	19,85	1,39
Pays de la Loire	automne	12,28	20,30	16,46	2,49

*les min et les max sont les minima et les maxima des données observées, les moyennes et écarts-types sont calculés sur l'ensemble des observations

La concentration en *V. parahaemolyticus* (VP) (en \log_{10} VP/g) peut-être reliée à la température de l'eau de mer. La relation utilisée est empruntée à l'AQR menée aux USA (US-FDA 2005) :

$$\log_{10} VP/g = \alpha_{reg} + \beta_{reg} \cdot WTEMP + \varepsilon$$

où WTEMP est la température de l'eau de mer en degrés Celsius ; α_{reg} et β_{reg} sont les paramètres de la relation linéaire entre \log_{10} VP/g vis-à-vis de la température de l'eau de mer, et ε est une variable aléatoire normale, centrée de moyenne zéro et de variance σ_{reg}^2 .

Trois études permettent d'estimer les paramètres de cette relation par une régression Tobit. Le **Tableau 8**, extrait du rapport de l'US-FDA (2005) ci-dessous indique les résultats obtenus par maximum de vraisemblance (les intervalles de confiance à 95% sont donnés entre parenthèses).

Tableau 8 : estimation des paramètres de régression entre température de l'eau de mer et VP

Relation	Etude citées dans US-FDA (2005)	α_{reg}	β_{reg}	σ_{reg}
#1	DePaola <i>et al.</i> , 1990	-1,03 (-2,14,0,08)	0,12 (0,072,0,17)	1,07 (0,83,1,37)
#2	US-FDA/ISSC, 2001	-0,63 (-0,87,-0,39)	0,10 (0,092,0,11)	0,76 (0,71,0,82)
#3	Washington State DOH, 2000; 2001	-4,32 (-5,77,-2,88)	0,24 (0,16,0,32)	0,78 (0,61,0,99)

D'après US-FDA 2005

Pour estimer la concentration en VPP dans l'eau de mer, on décide, par hypothèse et de façon arbitraire, de prendre en compte la relation #3 (WSD,2000,2001 dans (US-FDA 2005). Il faut remarquer qu'il serait possible de court-circuiter cette phase par une analyse à la sortie des établissements pour une AQR ponctuelle. Les autres relations seront aussi testées en comparaison à ce scénario de base. Des analyses environnementales sur le littoral français associées à des analyses de VPP, permettraient de choisir une relation de manière plus objective.

- Distribution de contamination en \log_{10} de VP par saison et zone

La distribution de contamination en \log_{10} de VP par saison et zone est encore une distribution normale de moyenne μ_{VP} et d'écart-type σ_{VP} .

Si la température de l'eau de mer suit une normale (μ_{WT} , σ_{WT}), on peut en déduire les paramètres μ_{VP} et σ_{VP} par les relations suivantes :

$$\mu_{VP} = \alpha_{reg} + (\beta_{reg} \cdot \mu_{WT})$$

$$\sigma_{VP} = \sqrt{\beta^2 \times \sigma_{WT}^2 + \sigma_{reg}^2}$$

On peut donc déduire des distributions de contaminations théoriques pour chaque période de l'année et chaque zone en *V. parahaemolyticus* :

- Estimation du nombre de VP/g à la sortie de l'eau

$$VP_s / g = 10^{Normal(\mu_{vps}, \sigma_{vps})}$$

La quantité de VP est exprimée en nombre brut à la sortie de l'eau.

2.2.3 Évaluation de la proportion *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes (VPP)/g d'huîtres à la sortie de l'établissement conchylicole

Le pourcentage de *Vibrio* pathogènes est supposé variable mais sa distribution est liée à un type de site (US-FDA 2005). Il n'est pas possible de choisir à l'heure actuelle entre une estimation autour de 2,33% ou de 0,18% (suivant les sites) (US-FDA 2005).

L'incertitude porte sur le choix de la distribution Bêta à prendre en compte. Deux types de distribution Bêta sont possibles et équiprobables dans l'état actuel des connaissances.

On va donc échantillonner pour chaque itération de l'incertitude une distribution 1 ou 2 (équiprobable), puis pour chaque itération de la variabilité une valeur issue de la distribution 1 ou 2.

a~Binom(u, 1,0,5) On tire dans une Bernouilli un événement 0 ou 1 équiprobable

si a=1

Pi/ u~Bêta($\alpha=0.394$, $\beta=221$) (distribution 1)

Si a=0

Pi/ u2~Bêta($\alpha=0.283$, $\beta=11.86$) (distribution 2)

Cette relation est utilisée ici à la sortie de l'établissement conchylicole, après la prise en compte d'une phase de croissance des *Vibrio parahaemolyticus* après la sortie de l'eau.

2.2.4 Évolution de la quantité de VPP jusqu'à la sortie de l'établissement en absence de réfrigération (conservation en température ambiante)

- Estimation de la température de l'air par saison (T_{air_s})

Selon l'approche américaine, les températures de l'air et de l'eau sont corrélées. La différence entre la température de l'eau et de l'air a été caractérisée par une distribution normale. Les moyennes et les écarts-types ont été repris du rapport américain de 2005, par hypothèse avec les valeurs obtenues pour l'Atlantique Nord-Est (Port de New-York) (US-FDA 2005) (Tableau 9).

Tableau 9 : valeur de différences de moyenne et d'écart type à prendre en compte pour évaluer la température de l'air à partir de la température de l'eau de mer

	Printemps	Été	Automne	Hiver
	moyenne	moyenne	moyenne	moyenne
	(écart-type)	(écart-type)	(écart-type)	(écart-type)
Atlantique Nord Est	2,2 (3,2)	0,52 (2,7)	-3,2 (4,2)	-2,6 (5)
Baie de Cheseapeake	0,54(2,9)	-1,4(2,1)	-2,1(3,1)	-0,25(4)

*d'après US-FDA, 2005, Atlantique Nord-Est

Soit μ_{AT} et σ_{AT} la moyenne et l'écart-type de la température de l'air, $diff_{\mu}$ la différence de moyenne. On a, pour chaque saison (S)

$$\mu_{AT_s} = \mu_{WT_s} + diff_{\mu_s}$$

$$\sigma_{AT_s} = \sqrt{diff_{\sigma}^2 + \sigma_{WT}^2}$$

- Estimation de la durée de la phase émergée avant expédition à température ambiante La durée de la phase émergée ($durée_e$) est estimée par une distribution de type Pert (comme US-FDA). Les valeurs utilisées pour les huîtres sont :
 - Minimum 2 heures
 - Mode (valeur la plus probable) 6 heures
 - Maximum 20 heures

Les valeurs utilisées pour les moules sont les mêmes, sauf pour le maximum fixé à 12 heures.

La densité de probabilité de la distribution Pert correspondante pour les huîtres est donnée dans la **Figure 2**.

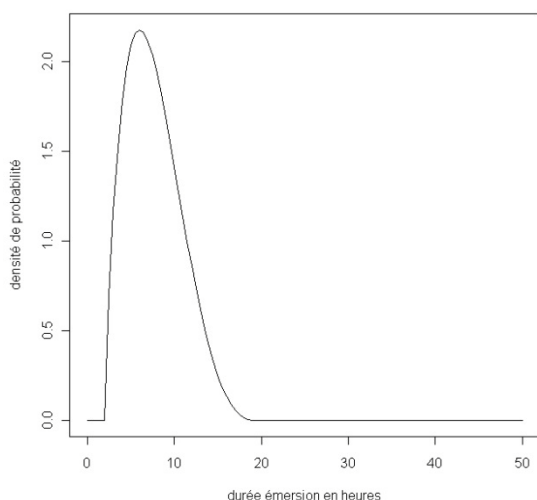


Figure 2: densité de probabilité de la durée d'émergence des huîtres à température ambiante

Ces chiffres sous-estiment probablement la durée entre la récolte et la mise en bourriche ou à l'expédition sous d'autres conditionnements. Ces chiffres pourront être améliorés avec des données réelles issues d'une étude *ad hoc* (à la sortie des établissements, par exemple).

- Estimation de la relation survie et croissance en fonction de la température

Il existe plusieurs modèles secondaires pour la croissance de *V. parahaemolyticus*. Deux études proposent des modèles décrivant l'inactivation de *V. parahaemolyticus* exposées à des températures inférieures à la température minimale de croissance. La liste de ces modèles et des facteurs environnementaux sur lesquels ils portent est présentée dans le **Tableau 10** ci-dessous.

Tableau 8 : Modèles de croissance et décroissance de *V. parahaemolyticus* en fonction de la température

Références	Milieu	Caractéristiques des souches de VP	Facteurs	Gamme de validité
Décroissance				
(Fernandez-Piquer, Bowman <i>et al.</i> 2011)	Huître du pacifique (<i>Crassostrea gigas</i>)	Cocktail de 5 souches	Température	3.6-12.6°C
(Yang, Jiao <i>et al.</i> 2009)	Saumon	1 souche pathogène (cas cliniques)	Température	0-12°C
Croissance				
(Fernandez-Piquer, Bowman <i>et al.</i> 2011)	Huître du pacifique (<i>Crassostrea gigas</i>)	Cocktail de 5 souches	Température	12.6-30°C
(Miles, Ross <i>et al.</i> 1997)	Milieu de culture	Quatre souches isolées de patients	Température Activité de l'eau	5,3-48,2°C 0,921-0,998
(Yoon, Min <i>et al.</i> 2008)	Milieu de culture Broyat d'huître (<i>Crassostrea gigas</i>)	2 souches : une pathogène, l'autre non	Température	5°C-30°C
(Yang, Jiao <i>et al.</i> 2009)	Saumon	1 souche pathogène (cas cliniques)	Température	12-35°C

Le modèle de Fernandez *et al.* a été retenu pour la prévision du taux de croissance à l'intérieur des huîtres. En effet l'estimation des paramètres de ce modèle comme les études de validation ont été conduites dans des huîtres vivantes. Ce modèle a donc été préféré aux autres établis sur des matrices alimentaires ou non alimentaires.

Le taux de croissance ou de décroissance (r) exprimé en \log_{10} (NPP⁵/h) est calculé en fonction de la température (T exprimée en °C) à l'aide de la relation suivante :

$$\text{if } T \leq T_{\min} \quad \log_{10}(r(T_{air_s})) = \log_{10}(A) - \frac{E_a}{RT_{air_s}}$$

$$\text{else} \quad \sqrt{r(T_{air_s})} = b \cdot (T_{air_s} - T_{\min})$$

Où $T_{\min}=13.37$, $b=0.0303$, $A=1.81 \cdot 10^{-9}$ et $E_a/R=4131.2$

⁵ NPP : nombre le plus probable estimé par la méthode des dilutions

A la sortie de l'établissement, la contamination en *V. parahaemolyticus* s'appelle $VP_{e,s,t}$ (e pour établissement, s pour saison, t pour type de coquillage) ; elle dépend du nombre de bactéries à la sortie de l'eau (VP), de la température de l'air (T_{air_s}) et de la durée de l'émersion ($durée_e$).

$$VP_s / g = 10^{Normale(\mu_{vp_s}, \sigma_{vp_s})}$$

$$VP_{e,s,t,z} = 10^{\log_{10}(VP_s) + r(T_{air_s}) \cdot durée_e}$$

2.2.5 Nombre de repas par saison

Les estimations de la production en tonnes de coquillages comestibles proviennent des données de France-Agrimer (ex-Ofimer) (Ofimer 2006), en tenant compte de la partie comestible des coquillages (poids de coquille retiré du poids total). L'estimation de la moyenne du nombre de repas est évaluée en fonction de la moyenne de la taille des repas⁶ issue de l'enquête de consommation (donnée par la suite). Les consommateurs INCA1 sont issus d'un échantillon représentatif de la population générale, ce qui est la « cible » de l'AQR proposée.

Tableau 10 : Estimation de la production comestible en tonnes par an et du nombre de repas, en fonction des données disponibles

	Production comestible en tonnes (2006 à 2008)	Moyenne du nombre de repas en million/an	Nombre de consommateurs de coquillages dans INCA1/Nombre de consommateurs enquêtés
<u>Huîtres</u>			
Estimation Bilan approvisionnement	11.731	118	56 / 2.492
<u>Moules</u>			
Estimation Bilan approvisionnement	13.720	243	216 / 2.492

La saisonnalité de la consommation d'huîtres creuses et de moules est issue des données de France-Agrimer (ex-Ofimer) (Ofimer 2006). Les données utilisées pour l'AQR sont présentées dans le tableau ci-dessous.

⁶ quantités journalières consommées

Tableau 11: saisonnalité de la consommation d'huîtres et de moules en fonction du mois de l'année. D'après (Ofimer 2006)

Mois	% achats huîtres	% achats moules
Janvier	12,3	8,4
Février	7,1	6,6
Mars	6	7,6
Avril	5,78	5,0
Mai	2,16	4,4
Juin	1,48	6,3
Juillet	1,43	7,9
Août	1,45	13,1
Septembre	3,45	13,3
Octobre	5,4	10,9
Novembre	7,8	8,8
Décembre	45,65	7,7
Total	100	100

Les saisons ont été regroupées de la façon suivante (selon hypothèse d'homogénéité de la température de l'eau) :

- Printemps : mars, avril, mai
- Été : juin, juillet, août
- Automne : septembre, octobre, novembre
- Hiver : décembre, janvier, février

Pour chaque saison, et chaque type de coquillage, le %_s de la saison est la somme des % des mois correspondants dans le tableau ci-dessus. Pour estimer le nombre de repas correspondant à la zone et à la saison (28 combinaisons), le nombre de repas pour chaque saison suit la moyenne du nombre de repas du **Tableau 10** multiplié par le % de la saison correspondante et par le % de la production correspondante (**Tableau 6**, différent pour les huîtres et les moules).

- Taille des repas (quantités journalières consommées) en grammes de coquillages

Les quantités journalières en grammes de coquilles sont ajustées par une distribution Gamma à partir des données INCA1. Les estimations des paramètres de la gamma utilisent la méthode Nelder-Mead [package fitdistrplus de R, (Delignette-Muller, Pouillot *et al.* 2010)].

Le paramétrage de la distribution Gamma dans R est la suivante :

La distribution Gamma avec les paramètres shape = a et scale = $1/\text{rate} = s$ a la densité de probabilité :

$$f(x) = \frac{1}{\Gamma(a) \cdot s^a} x^{a-1} e^{-x/s}$$

où $\Gamma()$ est la fonction gamma.

La loi Gamma est définie pour $x \geq 0$, $a > 0$ et $s > 0$;

Pour les huîtres, la distribution Gamma ajustée est la suivante :

Taille repas_h ~Gamma (shape=1,936, rate=0,0195)

La moyenne de cette distribution est de 99,5 g, Les quantiles à 95% sont : 11,7g-277,9g. La **Figure 3** représente la densité de probabilité.

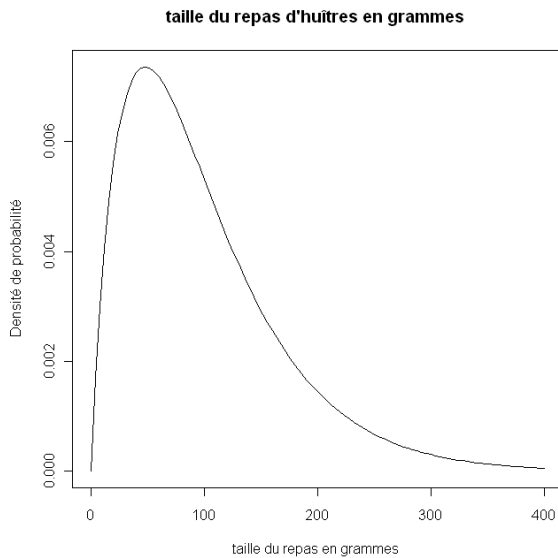


Figure 3 : taille du repas d'huîtres ajustée sur les données INCA

Pour les moules, la distribution Gamma ajustée est la suivante :

Taille repas_m ~Gamma(shape=3,12,rate=0,055)

La moyenne de cette distribution est de 56,5 g. Les quantiles à 95% sont : 11,7g-134,5g.

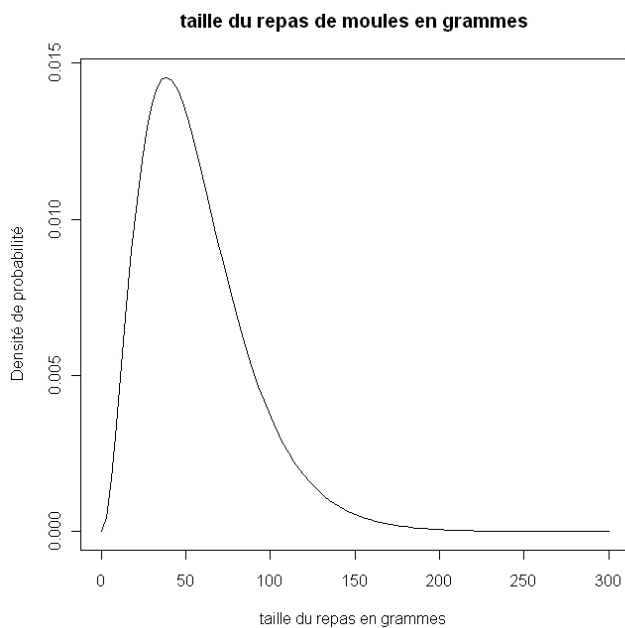


Figure 4: taille du repas de moules, en grammes, ajustée sur les données INCA

2.2.6 Relation dose réponse

Les données utilisées pour ajuster la dose-réponse sont les suivantes, déjà utilisées pour le rapport de l'US-FDA (US-FDA 2005). La relation dose-réponse et son ajustement ont été reproduites de la même façon que la méthode utilisée pour la FDA, nous permettant d'utiliser les distributions correspondant à l'incertitude sur les paramètres de la dose-réponse.

Tableau 12 : données utilisées pour l'ajustement de la dose-réponse de *Vibrio parahaemolyticus*

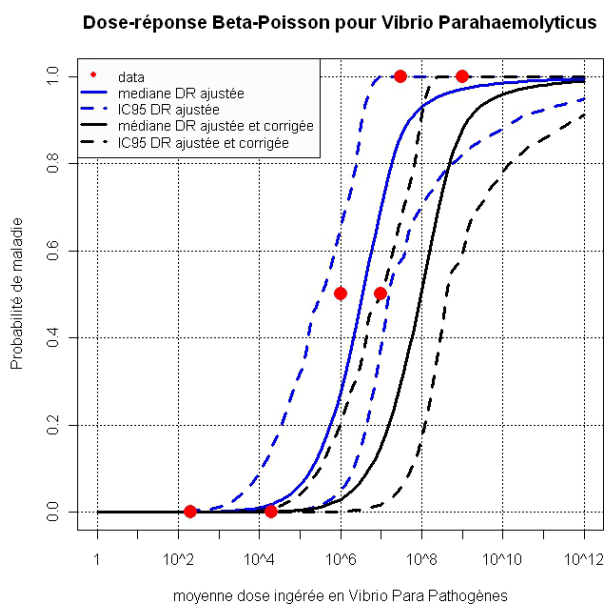
Dose (cfu)	Nombre exposés	Nombre de malades	proportion de malades	Références issues de (US-FDA 2005)
2×10^2	4	0	0	Sanyal and Sen (1974)
2×10^5	4	0	0	Sanyal and Sen (1974)
1×10^6	2	1	0,5	Takikawa (1958)
1×10^7	4	2	0,5	Takikawa (1958)
3×10^7	2	2	1,0	Sanyal and Sen (1974)
1×10^9	4	4	1,0	Aiso and Fujiwara (1963)
Total exposés = 20		Total malades = 9		

La dose-réponse utilisée est la relation Bêta-Poisson, utilisant l'approximation de Furumoto-Mickey (Furumoto and Mickey 1967) sous certaines conditions ($\beta \gg 1$ et $\alpha < \beta$) (Teunis and Havelaar 2000).

$$P_{\text{inf/d}} = 1 - \left(1 + \frac{D}{\beta}\right)^{-\alpha}$$

$$DMI_{50} = \beta(2^{1/\alpha} - 1)$$

L'ajustement est effectué à partir des données brutes par le maximum de vraisemblance pour estimer α et β . La qualité de l'ajustement peut être évaluée sur la figure ci-dessous :

Figure 5 : qualité de l'ajustement de la dose-réponse pour *Vibrio parahaemolyticus*

En bleu : courbe ajustée sur les données

En noir : courbe réévaluée à partir de données de surveillance

Les estimations obtenues par le maximum de vraisemblance sont :

$$\alpha = 0,5821452$$

$$\beta = 1\,315\,894$$

L'approximation de Furumoto-Mickey est bien rétrospectivement justifiée.

L'estimation du paramètre β a été rétrospectivement ajustée, comme le préconise l'US-FDA, au regard des données de surveillance épidémiologiques obtenue aux USA (US-FDA,2005). Le modèle américain prédisait trop de malades par rapport aux observations américaines. Pour corriger ce problème, le paramètre β a été multiplié par 27 (US-FDA 2005). Par une méthode analogue, en reproduisant les calculs, la dose pour

laquelle le risque de tomber malade est de 50% est de 81 337 210 (DI₅₀ corrigée) au lieu de 3 012 489 (DI₅₀ non corrigée).

L'estimation américaine est très proche : 2,8.10⁶ pour la DI₅₀ non corrigée, 80.10⁶ pour la DI₅₀ corrigée.

Les valeurs finalement utilisées pour la dose-réponse Bêta-Poisson sont (corrigées pour le paramètre β):

$$\alpha = 0,5821452$$

$$\beta = 35\,529\,151$$

L'incertitude sur l'estimation des paramètres est effectuée par un ré-échantillonnage (bootstrap) paramétrique à partir de ces dernières estimations (Pouillot, Beaudou et al. 2004).

Les doses sont par la suite exprimées en log₁₀. La dose-réponse utilisée est représentée ci-dessous.

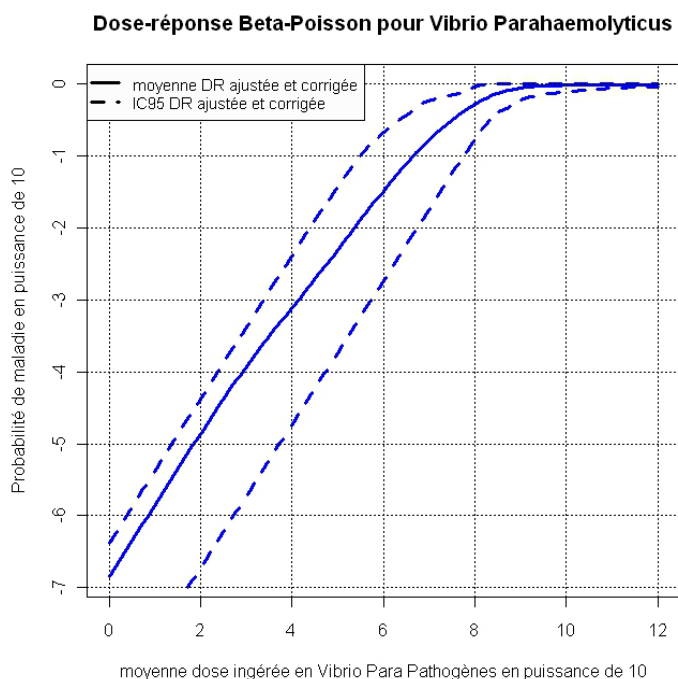


Figure 6 : Dose-réponse *Vibrio parahaemolyticus* utilisée pour l'AQR

2.2.7 Résultats de l'estimation du risque, résultats par saison, par type de coquillage, et pour d'autres scénarios

Pour chaque saison, et chaque zone on simule x taille repas(en grammes), (tirée de la distribution Gamma), multiplié par x valeurs de contamination en VP/grammes à la sortie d'établissement, multiplié par une valeur de proportion de VPP, on obtient x doses (qui représentent la dimension de la variabilité).

Soit i lié à la variabilité et u à l'incertitude, s lié à la saison, z lié à la zone de production, t, lié au coquillage

$$dose_{i,u,s,t,z} = VP_{e,s,z,t} [i] \times P[i / u] \times taillerepas[i]$$

On évalue le risque associé à ces x doses par la relation Bêta-Poisson précédente. La moyenne du risque est alors multipliée par le nombre de repas par saison, ce qui revient à estimer le nombre de cas par saison.

$$R_{s,z,u} = mean(Betapoisson(dose_{i,u,s,t,z}, \alpha_u, \beta_u))$$

$$espérance\ du\ nbcas_{s,z,u,t} = \overline{R_{s,z,u,t}} \times nbrepas_{t,s,z}$$

i pour indice variabilité, u indice incertitude, s indice saison, z indice zone, t indice type de coquillage.

On refait ce calcul pour chacune des u valeurs pour les paramètres présentant de l'incertitude.

On peut alors évaluer l'intervalle de crédibilité à 95% du nombre de cas, qui est donné dans les tableaux ci-après, pour 2 valeurs du nombre d'itérations (la même pour la variabilité et l'incertitude). Pour chaque saison, on évalue la somme du nombre de cas issue de chacune des régions de production.

Plusieurs scénarios et leurs principales conclusions sont présentés ci-après et permettent de mettre en évidence l'impact de certains paramètres tels que la saisonnalité (**Tableau 13** à **Tableau 18**), le nombre d'itérations (**Tableau 13**), la température de l'eau de mer (**Tableau 14**), la durée d'immersion (**Tableau 15**) ou le choix de certaines hypothèses alternatives liées à la température de l'eau (**Tableau 18**) sur le nombre de cas théoriques de gastro-entérites.

Tableau 13 : estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par *Vibrio parahaemolyticus*. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]

Nombre d'itérations (variabilité et incertitude)	Printemps	Eté	Automne	Hiver	Total
1000	1 [0-140]	117 [3-1773]	43 [1-1764]	0 [0-1]	208 [5-3342]
2000	1 [0-172]	131 [4-2088]	72 [1-1877]	0 [0-2]	256 [8-3897]
3000	1 [0-140]	125 [4-1711]	77 [1-1479]	0 [0-1]	237 [8-3071]
5000	1 [0-150]	137 [6-1898]	98 [2-1462]	0 [0-1]	257 [10-3314]
7000	2 [0-149]	136 [6-1861]	112 [2-1389]	0 [0-1]	268 [12-3228]

Les ordres de grandeur sont stables après 2000 itérations (IC 95).

Tableau 14 : estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par *Vibrio parahaemolyticus* pour une élévation de 2°C en moyenne de la température de l'eau de mer. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]

Nombre d'itérations (variabilité et incertitude)	Printemps	Eté	Automne	Hiver	Total
3000	16 [0-583]	847 [59-7740]	551 [16-5011]	0 [0-5]	1452 [97-13 023]

Si la température estivale est plus élevée de 2 degrés en moyenne (**Tableau 14**), le risque augmenterait fortement. Ceci pourrait se produire par période de canicule, pour une localisation défavorable prolongée (par exemple zones de dépôt hautes sur estran) ou en raison d'un changement climatique.

Tableau 15 : estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par *Vibrio parahaemolyticus* pour une durée d'émersion supplémentaire de 12 heures à température ambiante (température de l'eau de mer comme dans tableau 12). Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]

Nombre d'itérations (variabilité et incertitude)	Printemps	Eté	Automne	Hiver	Total
3000	445 [13-3223]	5837 [606-31 067]	3874 [304-19 122]	0 [0-6]	10221 [1027-51 841]

De mauvaises conditions de récolte-stockage-entreposage (exposition prolongée à des températures estivales ambiantes) avant la vente peuvent aussi conduire à des niveaux de risques plus élevés (résultats **Tableau 15**).

Tableau 16 : estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation de moules contaminées par *Vibrio parahaemolyticus*. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]

Nombre d'itérations (variabilité et incertitude)	Printemps	Été	Automne	Hiver	Total
3000	2	742	158	0	963
	[0-179]	[28-26 875]	[5-8842]	[0-0]	[37-34 567]

Tableau 17 : estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation de moules contaminées par *Vibrio parahaemolyticus* sans le sud de la France. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]

Nombre d'itérations (variabilité et incertitude)	Printemps	Été	Automne	Hiver	Total
3000	0	4	0	0	4
	[0-12]	[0-197]	[0-62]	[0-0]	[0-265]

Le modèle relatif aux moules surestime probablement le nombre de cas, liés au sud de la France (**Tableau 16** et **Tableau 17**). Ceci peut être lié à un % de VPP lié à des facteurs environnementaux autres que la température, ce qui a été montré par des études récentes, comme la salinité ou le phytoplancton. L'effet de ce % sur les estimations est montré sur le **Tableau 18** et fait apparaître un besoin d'acquisition de données à la sortie des établissements sur la concentration en VP et VPP pour mener une AQR réaliste. La compréhension des mécanismes environnementaux permettrait d'améliorer la valeur prévisionnelle du modèle pour des situations variées (environnementales ou anthropiques).

Enfin pour les moules il faudrait déterminer l'efficacité de la cuisson.

Tableau 18 : Influence de la température de l'eau et de l'air sur l'estimation du nombre de cas théoriques de gastroentérites liés à la consommation d'huîtres contaminées par *Vibrio parahaemolyticus*, les autres conditions étant celles du Tableau 11. Résultats exprimés : médiane [IC 95 %]

	Nombre d'itérations (variabilité et incertitude)	Printemps	Été	Automne	Hiver	Total
Température eau / VP (relation 1)	3000	2 [0-20]	742 [28-26 875]	158 [5-8842]	0 [0-0]	963 [38-34 567]
Température eau / VP (relation 2)	3000	17 [0-667]	176 [7-2655]	161 [3-2577]	4 [0_232]	402 [15-5747]
Température eau / Température air (Chesapeake)	3000	0 [0-42]	17 [1-527]	42 [1-1194]	0 [0-1]	71 [2-1701]

Le **Tableau 18** montre l'impact d'hypothèses alternatives sur le résultat final. Un facteur multiplicatif au maximum entre 10 à 70 sépare les différentes estimations en période estivale.

Cependant ces différentes hypothèses ne correspondent peut-être pas à la situation française.

On a au final trois niveaux de risques à considérer en fonction des saisons : l'été, malgré le plus faible nombre de repas, est la saison la plus à risque, l'automne est une saison intermédiaire, l'hiver et le printemps sont des périodes à moindre risque.

Bien que le risque évalué soit quasi nul pour l'hiver, il convient de vérifier par un minimum d'analyses ce qui a été prévu par un modèle dont les limites sont réelles. Les résultats de l'AQR sont destinés ici à hiérarchiser les ordres de grandeur, notamment entre les saisons. **Des données réelles sur la contamination, sur l'environnement et sur les procédures mises en place par les professionnels permettraient de comparer des scénarios de gestion de façon plus réaliste (cf. limites de l'AQR).**

2.2.8 Limites de l'AQR et perspectives d'études

La liste ci-dessous, non exhaustive, précise les limites du modèle.

- Limites relatives au modèle

- Le modèle ne tient pas compte des produits importés.
 - Le modèle est totalement extrapolé du modèle bâti aux USA (par exemple le conditionnement de la quantité de VP aux données environnementales peut être différent).
 - L'AQR s'arrête à la sortie de l'établissement. Ceci peut s'appliquer à la vente directe, mais pas aux autres circuits commerciaux, comme les distributeurs de grande ou moyenne surface (GMS), la restauration, les marchés. Le groupe de travail n'a pu disposer d'aucune donnée sur les conditions (température, durée) liées à ces circuits commerciaux après la sortie des établissements conchylicoles.
 - La même modélisation d'AQR a été appliquée aux huîtres et aux moules, à la consommation près, en négligeant la cuisson des moules ; la durée de récolte maximale aussi (circuit un peu plus court entre la zone de production et établissement expéditeur). Ces hypothèses seront à revalider par la réalisation des plans d'analyse.
- Limites relatives aux données environnementales
- Les données de température de l'eau sont des données mesurées en France mais de façon incomplète (certaines zones non représentées et données de production non détaillées par saison et origine de production). La relation entre VP en fonction de la température et la proportion de VPP n'est pas établie pour la France. La relation et la proportion de VPP proviennent de données américaines (US-FDA 2005). Une étude française, menée sur quelques sites, montre que la température de l'eau est la seule variable environnementale ayant un effet significatif sur la présence de *V. parahaemolyticus* totaux dans l'eau et les coquillages. La salinité, la concentration en chlorophylle a et la combinaison de ces deux facteurs expliqueraient 68% de la présence de *V. parahaemolyticus* potentiellement pathogènes (*trh+*) dans les coquillages (Hervio-Heath, Constantin de Magny et al. 2012). Le même type de question peut être évoqué pour le facteur de virulence *tdh+*. Un modèle d'AQR devrait tenir compte, pour les eaux françaises, de la température, de la salinité et de la chlorophylle a pour les zones de production.
 - Les données de température de l'air ne sont pas des données disponibles pour la situation française.
 - La température dans les huîtres ou les moules est considérée comme identique à celle de l'eau de mer pendant l'immersion, et à la température de l'air pendant l'émersion.
 - Les durées de l'émersion ne sont pas disponibles en France.
 - Les conditions d'émersion et de transport pour les moules comme pour les huîtres entre la zone d'élevage et l'établissement, les conditions de stockage jusqu'à la sortie de l'établissement, ne sont pas bien connues.
- Limites relatives à la consommation
- Les estimations de nombres de repas sont incertaines. La production a pu évoluer ces dernières années. Les données de consommation (taille de la ration) sont bâties sur des effectifs faibles, notamment pour les huîtres (cf. **Tableau 11**).
 - La taille des rations n'est pas censée varier entre les saisons, notamment pour les repas des fêtes de fin d'année.
 - L'hypothèse de la non-destruction thermique pour les moules, par léger chauffage, est vraisemblablement pessimiste.
 - Le temps de latence de VPP avant la croissance exponentielle a été fixé à zéro.
 - La croissance de VPP dans les moules et les huîtres est considérée comme identique (le modèle utilisé a été construit sur des données acquises dans les huîtres uniquement).
- Limites relatives à la relation dose-réponse
- Les données ayant servi à établir la relation dose-réponse sont très peu nombreuses (20 personnes), issues de différentes études sur volontaires et non sur des cas observés de contamination (US-FDA 2005).
 - Les méthodes analytiques de quantification utilisées aux États-Unis pour cette dose-réponse étaient différentes de celles qui sont proposées dans ce rapport pour une étude sur la contamination des coquillages à la sortie des établissements conchylicoles. La comparaison des méthodes analytiques permettrait l'usage d'une relation dose réponse qui tienne compte de la différence entre leurs performances analytiques respectives.

- La correction de la dose-réponse sur les données de surveillance pourrait être envisagée si les données épidémiologiques françaises le permettent (estimation des cas sporadiques, recherche dans les selles des malades).
- Le risque de septicémie est pris en compte par l'US-FDA (2005) notamment pour les populations immunodéprimées. En cas de gastro-entérite à VPP le risque de septicémie est de 2,5% pour un immunodéprimé et de 0,063% pour la population générale (US-FDA 2005). La population immunodéprimée représente 7% de la population américaine (US-FDA 2005). La définition de l'immunodépression et le % d'immunodéprimés pour la population française est à définir pour une prise en compte par l'AQR en France.

Propositions d'études visant à acquérir les données résultant du travail d'AQR

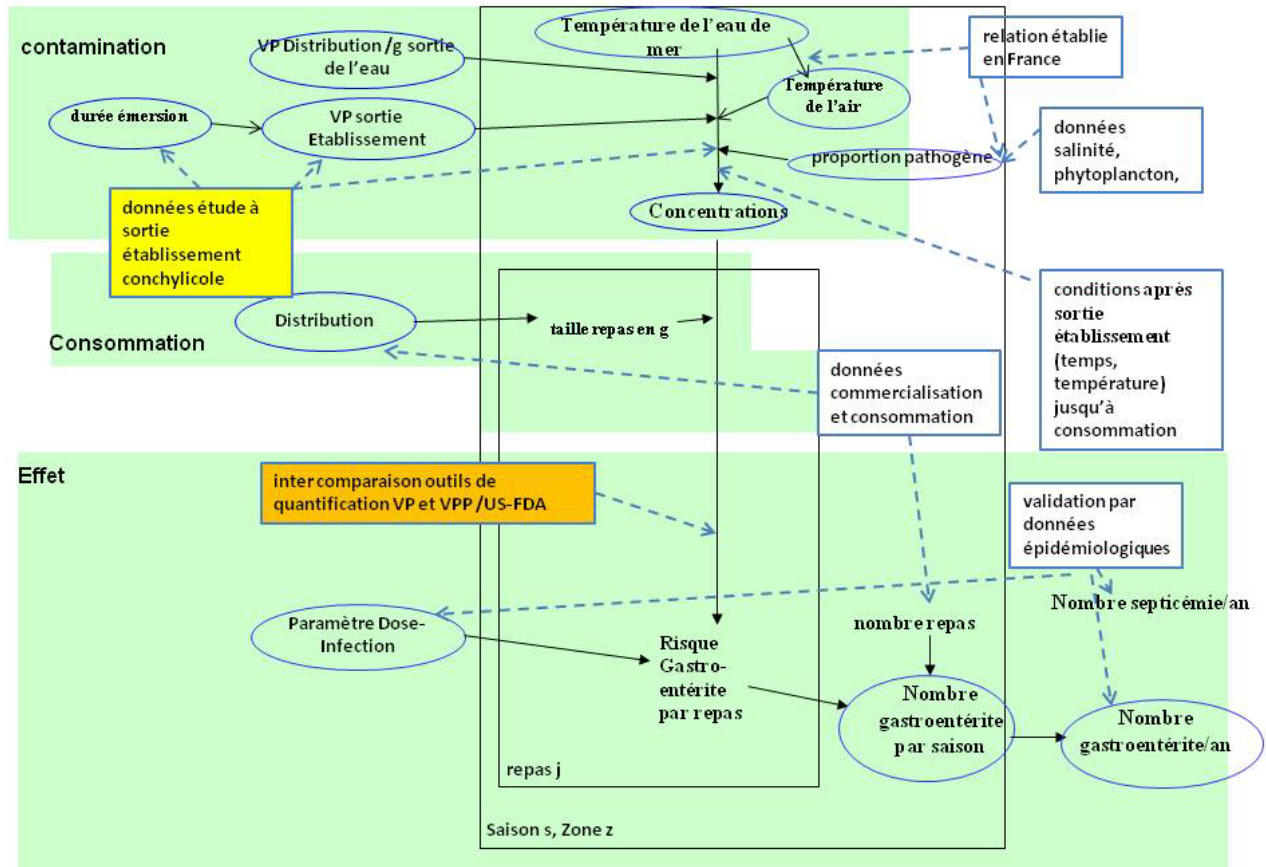


Figure 7 : données à acquérir (rectangle contours bleus) pour une AQR sur VPP pouvant être utilisée pour la gestion du risque

Rectangle jaune : intérêt d'une étude menée à la sortie des établissements.

Rectangle orange : données inter-comparaisons entre technique de quantification française et américaine avant d'utiliser dose-réponse.

Ellipses contours bleus : variable aléatoire.

Flèches noires relations dans AQR.

Flèches bleues pointillées apport des informations sur le modèle.

La **Figure 7** ci-dessus résume les données à acquérir et le modèle d'AQR à envisager sur les données françaises, visant à évaluer le risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* pathogène lors de la consommation d'huîtres en coquille.

Les données à acquérir sont représentées par des rectangles de contour bleu.

Pour les moules il faut ajouter l'information sur l'efficacité potentielle d'une cuisson.

Pour une AQR qui évalue la contamination à la sortie des établissements, il y a deux possibilités :

i) La mesure directe à la sortie des établissements (rectangle jaune de la **Figure 7**) le plan d'échantillonnage et les conditions d'une telle étude sont précisées par la suite. Elle apporterait des informations sur les conditions de récolte et de stockage des huîtres (durée, température) et sur les niveaux réels de contamination des produits conchylicoles en VP et VPP (*tdh+* et *trh+*) à la sortie des établissements. Elle pourrait également apporter des informations sur la suite de la commercialisation après la sortie de l'établissement. Faire une étude à la sortie des établissements permettrait de disposer, en outre, d'une liste de sondage exhaustive de la production mise sur le marché, ce qui serait difficile pour la suite de la commercialisation vu la diversité des circuits (restauration, GMS, poissonneries) (voir recommandations liées aux modalités de l'étude). Elle permettrait de court-circuiter les étapes environnementales, et d'avoir à étudier la relation, par exemple, de l'effet de la température de l'eau et de la concentration en VP dans différents bassins. Elle nécessiterait, pour que les résultats soient pris en compte dans une AQR, une comparaison de la technique de quantification suggérée dans ce rapport avec la méthode de quantification utilisée pour la dose-réponse aux USA (rectangle orange **Figure 7**) (en supposant l'outil de quantification valide).

Cette approche a cependant ses avantages et ses limites :

- Le principal avantage est de faire une AQR sur des données représentatives de la période étudiée.
- La limite, c'est que ce résultat ne sera pas extrapolable d'une année sur l'autre, si les conditions environnementales évoluent, et qu'elle n'apportera pas d'information supplémentaire sur les relations entre paramètres environnementaux et contamination.

ii) la modélisation à partir des données environnementales, en étudiant pour chaque grand bassin ou type de production, les relations entre les paramètres environnementaux et les concentrations en VPP (*tdh+* et *trh+*). Cette deuxième approche nécessite encore une fois la connaissance des performances relatives de l'outil de quantification en VP et VPP (TDH et TRH) utilisées au regard de celui utilisé aux USA pour la dose-réponse.

Cette approche a aussi ses avantages et ses limites :

- Le principal avantage est de pouvoir mieux prévoir l'impact de changements environnementaux sur le risque.
- La limite, c'est que les résultats, s'ils ne sont pas validés par une étude représentative à un stade de la production (étude à la sortie des établissements), seraient difficilement exploitables pour définir une contamination « représentative » de la production, et donc pour évaluer le risque pour une population générale. Par contre, elle permettra d'envisager le risque pour des situations environnementales identifiées.

De plus, d'autres données sur la production mise sur le marché, par origine de bassin, par type de coquillages et par saison ne sont pas connues et seraient des éléments utiles à la compréhension du risque (**Figure 7**).

Par ailleurs, la traçabilité des conditions de vie des coquillages après leur sortie de l'établissement permettrait d'établir une AQR pour les différents types de consommation (**Figure 7**).

Enfin la validation des résultats de l'AQR (voire de la dose-réponse) par la surveillance épidémiologique serait certainement un plus.

En résumé, la démarche d'AQR proposée ici avait pour premier objectif d'aider à décrire la saisonnalité du risque et de l'espèce de coquillage (huître, moule).

La description de la méthode comporte successivement l'appréciation de l'exposition, avec l'estimation de la contamination des coquillages et de la consommation de ceux-ci, la relation dose-réponse, et l'estimation du risque. Les résultats et leur interprétation pour l'échantillonnage proposé sont ensuite indiqués.

La méthode utilisée est globalement identique à celle menée par l'US-FDA. Elle utilise des données relatives à des températures mesurées dans quelques sites conchylicoles français. Toutefois, la validation de la relation entre la température de l'eau et la contamination en *V. parahaemolyticus*, la relation entre la température de l'eau et de l'air ont été évaluée aux États-Unis mais pas en France.

Cependant, on peut considérer que, sous réserve de données de contamination acquises par une technique aux performances connues vis-à-vis de la méthode américaine, on pourrait obtenir des ordres de grandeur d'une AQR réaliste au stade de la sortie des établissements conchylicoles (vente directe). La vente directe représente à peu près 30% du bilan d'approvisionnement pour les huîtres et 6% pour les moules (données CNC, 2005). La pêche à pied n'est pas prise en compte.

Le détail d'une étude permettant d'acquérir des données de contamination à la sortie des établissements est précisé ci-après.

2.2.9 Modalités pratiques d'une étude portant sur la contamination des produits en sortie d'établissement conchylicole

- **Nombre d'analyses nécessaires à différentes précisions de l'estimation des paramètres de contamination des coquillages à la sortie de l'eau**

Le détail des calculs de cette partie figure en **Annexe 3**.

Les résultats indiquent qu'une valeur d'échantillon de taille supérieure à 50 et inférieure à 100 semble être suffisante pour que la moyenne théorique soit bien dans l'intervalle de crédibilité (IC) 95% de l'échantillon, et que la précision se stabilise, pour les deux scénarios envisagés (température moyenne de l'eau à 17°C et 24°C).

La valeur arbitrairement retenue est au minimum de 60 analyses pour le dénombrement de *Vibrio parahaemolyticus*, suivi de l'estimation de la concentration en *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes (TDH+) (pour tout résultat détecté positif et quantifiable en *Vibrio parahaemolyticus*) pour une population homogène.

- **Répartition des analyses en fonction du risque théorique associé, propositions de taille d'échantillon**

Le détail des calculs concernant le nombre d'analyses nécessaires à différentes précisions de l'estimation des paramètres de contamination des coquillages à la sortie de l'eau pour une même zone et une même période est précisé en **Annexe 3**.

- Répartition pour les huîtres

Pour les huîtres, les techniques d'élevage peuvent être différentes selon les régions et au sein d'une même région, sur table, à plat, finissage en claire, parcs plus ou moins profonds, passage dans un bassin de purification. L'élevage sous des tables, en cordes, est particulier aux lagunes de Méditerranée.

On va surreprésenter certaines zones en fonction de la température estivale supposée dans l'eau de mer. Pour une approche par AQR pour la population générale, la pondération de la production relative de chaque zone, permettra de corriger l'estimation de l'exposition des consommateurs. Pour les zones à risque, pour ne pas passer à côté d'une contamination, et mieux préciser les pourcentages de VPP, dans une situation un peu moins favorable que prévu, il est demandé par précaution une analyse de 70 échantillons au lieu des 60 minimum. De même il est prévu un nombre d'analyses inférieur à 60 pour d'autres périodes moins favorables, davantage pour confirmer la diminution ou l'absence de risque, compte tenu des valeurs de contamination élevées pour atteindre un niveau de risque non négligeable (cf. dose-réponse). Mais si le budget le permettait, un maximum de données, donc 60-100 analyses/bassin/saison serait bien sûr préférable et à adapter à la situation (si par exemple l'automne était exceptionnellement chaud). En fonction du budget disponible, il est recommandé de faire :

- 320 analyses pour la période estivale (juin, juillet, août)

Il faut obtenir une bonne précision surtout en été sur les zones à risque, on prévoit donc 70 analyses pour Arcachon, 70 analyses pour les étangs du sud de la France (Thau, Leucate). Les 180 analyses restantes seront réparties avec un minimum de 60 analyses pour la Normandie et la Bretagne Nord, 60 analyses pour la Bretagne Sud et la Vendée, 60 analyses pour la région de Marennes Oléron.

- 220 analyses en automne (septembre, octobre, novembre)

50 analyses pour le bassin d'Arcachon, 50 analyses pour les étangs du sud de la France (Thau, Leucate). Pour les 3 autres grandes régions, 40 analyses.

- 150 analyses en hiver (décembre, janvier, février) et au printemps (mars, avril, mai).

Celles-ci seront réparties par tirage au sort sur la liste des établissements expéditeurs avec un minimum de 30 analyses par zone.

On essaiera de répartir les analyses de façon équilibrées entre les mois, au sein de chaque saison, en particulier en été et en automne.

Répartition pour les moules

On peut prévoir 340 analyses de moules. La répartition par saison pourrait être la même que précédemment.

Les techniques d'élevage sont variées et dépendent des régions de production (Ifremer 2011) :

- Sur le sol
 - o à plat, sur estran ou en eau profonde - méthode peu fréquente en France (à partir de petites moules de pêche ou d'importation), mais très pratiquée aux Pays-Bas et en Allemagne,
 - o sur bouchots en Normandie, Bretagne et Poitou-Charentes.
- En pleine eau, sur cordes
 - o sous des tables dans les lagunes de Méditerranée,
 - o sur filières adaptées aux conditions des zones de production :
 - filière de surface en Bretagne,
 - filière sub-flottante en Poitou-Charentes,
 - filière de sub-surface en Méditerranée.

Pour chaque saison, l'échantillon sera fait par tirage au sort. En période estivale, sur 170 analyses, 50 échantillons de moules pourraient être faits à l'étang de Thau.

- **Recommandations liées aux modalités de l'étude**

- Assurer la représentativité de l'échantillonnage

Pour être représentatif, un échantillonnage doit permettre l'estimation d'un paramètre de la population sans biais (une moyenne, une fréquence). L'unité de base discrète la plus petite est le coquillage. Pour permettre l'estimation d'un paramètre sans biais, chaque coquillage devrait *a priori* ou *a posteriori* avoir la même probabilité d'être échantillonné. Les quantités en coquillages ou en masse doivent donc être connues, si possibles, à chaque niveau de l'échantillonnage, pour savoir ce qu'ils représentent et être pris en compte *a priori* ou *a posteriori*.

La garantie du caractère aléatoire (tirage probabiliste-sondage aléatoire) repose sur l'existence de listes (ou base de sondage) permettant un tirage au sort des unités échantillonnées (Ardilly 1994; Rumeau-Rouquette, Blondel *et al.* 1993). La qualité de cette liste repose notamment sur son exhaustivité vis à vis de la population concernée et doit être sans double compte, c'est à dire que les mêmes individus (coquillages) ne doivent pas être présents deux fois dans la même liste, sous deux identifiants différents (Ardilly 1994).

On va définir trois niveaux d'échantillonnage : l'établissement expéditeur, le lot de coquillages, et au sein du lot. Pour chacun de ces niveaux, il serait judicieux de s'assurer de leur représentativité.

- o *Concernant l'établissement expéditeur*

Pour assurer la représentativité, la base de données SIGAL de la DGAL peut constituer la base de sondage, sous réserve de son exhaustivité vis-à-vis des établissements expéditeurs de coquillages d'origine française. Les éléments suivants seront nécessaires à la stratégie d'échantillonnage : le code postal de l'établissement expéditeur, la nature (huîtres, moules) de la production expédiée, le tonnage respectif annuel.

- o *Concernant le lot*

Le lot doit être défini de la façon la plus précise possible, principalement sur la base d'une espèce (nomenclature latine) et d'une origine commune. Le bon de transport est un premier pas pour sa définition mais pas exclusivement. En théorie les mélanges de lots ne sont pas possibles. L'origine commune doit être au moins définie sur le mois précédant l'expédition. La classe de taille peut être prise en compte pour définir un lot (une origine, une espèce, une taille) pour des raisons de commodité (par exemple si les lots sont aussi regroupés par classe de taille). Le jour du prélèvement peut être choisi par le préleveur au cours du mois (on peut faire l'hypothèse que cela n'aura pas forcément d'impact sur la concentration). L'agent préleveur peut dénombrer le nombre de lots qui doivent être expédiés le jour du prélèvement (selon les critères ci-dessus). L'agent préleveur prélève ensuite si possible le lot dont le numéro correspond à celui d'une table de nombres au hasard.

- o *Concernant les coquillages*

Les coquillages doivent être prélevés de façon homogène ou aléatoire dans le lot, autant que possible. Le nombre d'unités primaires à prélever est fonction de la prise analytique.

- Informations à joindre au prélèvement et au résultat d'analyse
- Nature du lot : espèce huître creuse/plate, moule *M. galloprovincialis* / *M. edulis* (si possible), taille ou poids de six individus.
- En prenant une marge de sécurité, l'origine récente du lot de coquillages, c'est à dire tout l'historique de ré-immersion, remontant à au moins un mois serait donc requis pour caractériser l'origine d'un lot pour les huîtres et les moules. Ceci permettrait de croiser les informations avec celles obtenues localement dans le milieu. Il faut connaître les temps passés dans chacun des milieux, les questions posées étant fonctions de l'élevage concerné. L'unité de durée doit être précisée.
- Au niveau du(des) dernier(s) parc(s) : temps passé, coefficient de marée d'exondation, localisation (code postal de la commune terrestre la plus proche), élevage à plat, surélevé, filières (cordes).
- Si besoin de claire : temps passé, localisation (code postal de la commune terrestre la plus proche).
- Ruisson⁷, parc de dépôt : temps passé, coefficient de marée d'exondation, localisation (code postal de la commune terrestre la plus proche).
- Bassin de purification : temps passé, coefficient de marée d'exondation, localisation (code postal de la commune terrestre la plus proche).
- Dégorgeoir : temps passé, coefficient de marée d'exondation, localisation (code postal de la commune terrestre la plus proche).
- En particulier il pourrait être intéressant d'avoir les températures de l'eau de mer dans les claires, les bassins, dégorgeoirs, etc.)
- Conditions de transport entre chaque milieu (température ambiante, <8°C (isotherme), <4°C) et durée. Conditions de stockage (température ambiante, <8°C (isotherme), <4°C). Mesure de la température dans zones de stockage.
- Enfin durée entre la dernière sortie de l'eau (par exemple dégorgeoir) et sortie de l'établissement ou la réfrigération.
- Durée de réfrigération et température avant la sortie de l'établissement.
- Vers l'aval : après la sortie de l'établissement destination prévue du lot : restaurant, marché, poissonnier, distributeur GMS.
- Condition et durée du transport prévue (température ambiante, <8°C (isotherme), <4°C).

En conclusion, deux remarques :

Le plan de sondage proposé pour l'étude à la sortie des établissements écarte les lots importés. Il faut garder à l'esprit que la part d'importation est importante pour les moules, et que la température de l'eau de mer peut être plus élevée dans les pays exportateurs (**Annexe 4**).

Enfin l'approche AQR qui a été menée ici montre surtout l'intérêt de disposer de données réelles pour comparer des scénarios de gestion réalistes. Dans l'avenir elle pourrait tenir compte du volet qui part de l'établissement expéditeur à la remise au consommateur.

⁷ atilf.atilf.fr : « Petit canal alimenté par un chenal (...) dont l'eau se déverse dans les claires ou les salines ; Littré : « Petit canal servant à vider le marais.

2.2.10 Conclusion

Les résultats de l'AQR vont dans le sens d'un risque accru pour les consommateurs en été et en automne pour les huîtres et les moules. Ainsi, le risque causé par une élévation de 2°C de l'eau de mer par rapport à la température moyenne observée en été est 10 fois supérieur, et 12 heures de conservation à température ambiante multiplie encore ce risque par 6.

L'AQR montre aussi qu'une approche par bassin et saison ou par zone hydrologique homogène est nécessaire pour évaluer le risque.

L'AQR menée dans cette approche, ne permet pas, à ce stade d'évaluer le risque pour le consommateur même à la sortie des établissements. Elle ne permet pas non plus de différencier un risque *tdh/trh*. Une étude permettant d'évaluer quantitativement la contamination en VPP des coquillages apparaît comme un préalable à une AQR visant à évaluer le risque pour les consommateurs. La technique de quantification devrait être comparée à l'outil utilisé par la FDA, permettant ainsi d'ajuster la dose-réponse.

Par ailleurs l'AQR a montré que d'autres données pourraient apporter des informations utiles comme par exemple la connaissance de la production conchylicole mise sur le marché, par origine de bassin, type de coquillages et par saison ou les conditions de vie des coquillages depuis leur sortie de l'eau jusqu'au consommateur.

Le rapport suggère au gestionnaire du risque de faire réaliser des analyses à la sortie des établissements, lors de leur entrée dans le circuit de commercialisation. Un plan d'échantillonnage est proposé pour les huîtres et moules, privilégiant la période où la prévalence et la concentration des *Vibrio* sont les plus élevées, c'est-à-dire de mai à octobre, en privilégiant les bassins les plus *a priori* à risque. Cependant l'AQR s'étant limitée aux productions françaises, le plan d'échantillonnage a été établi sur la base de données relatives à la situation française. Toutefois l'échantillonnage lui-même ne distingue pas l'origine des coquillages (productions autochtones ou importées).

2.3 Mesures de prévention vis-à-vis du danger

2.3.1 Critères réglementaires

Le règlement 2073/2005 et ses actes modificatifs ne comporte pas de critère microbiologique vis-à-vis des *Vibrio*, mais préconise la mise au point de méthodes fiables pour l'évaluation des risques de *Vibrio parahaemolyticus* dans les produits de la mer.

Toutefois, la situation pourrait évoluer, car l'Autorité européenne de sécurité des aliments recommande l'établissement de critères microbiologiques relatifs à *Vibrio parahaemolyticus*, notamment pour l'eau de mer destinée au refroidissement rapide des mollusques après cuisson (EFSA, 2012)⁸.

2.3.2 Mesures de maîtrise

Les mesures qui peuvent être prises sont décrites pour les produits de la mer dans un rapport FAO/OMS (FAO-OMS 2002) et pour les huîtres dans un rapport de l'US-FDA (US-FDA 2005). Les deux rapports fournissent les mêmes recommandations. La principale mesure recommandée par l'US-FDA est, après la récolte, la réfrigération sur lit de glace, dix fois plus rapide que la réfrigération en chambre froide (US-FDA 2005). Il est recommandé de conserver les coquillages à une température inférieure à 10°C (FAO/WHO 2003). Il convient de noter que la température minimale de croissance de *V. parahaemolyticus*, mesurée dans un milieu de culture, est inférieure à 10°C (Miles, Ross *et al.* 1997). Toutefois, lorsqu'elle est mesurée dans des huîtres, elle est de 13,4°C (Fernandez-Piquer, Bowman *et al.* 2011). A l'attention des restaurateurs et détaillants, l'US-FDA (2005) indique que par cuisson à cœur des huîtres, il faut attendre 63°C pendant au moins 15s.

Le succès des mesures prises au Japon mérite d'être souligné (forte réduction de l'incidence des gastro-entérites causées par *V. parahaemolyticus*) : entreposage à 10°C, utilisation d'eau de mer propre ou d'eau propre, critère microbiologique pour les produits consommés crus au stade de la distribution avec limite de 100 NPP/g pour les VP totaux (Hara-Kudo and Takatori 2011), recommandation de ne pas attendre plus de deux heures une fois les coquillages sortis du réfrigérateur (Hara-Kudo, Saito *et al.* 2012).

L'épuration n'a que peu ou quasiment pas d'effet (moins d'une réduction décimale ou division par dix de la population bactérienne). Il en est de même de la réfrigération. En revanche, la congélation à -20°C diminue la population de *Vibrio* de deux réductions décimales, ou quatre si elle est suivie d'un maintien à cette température pendant 35 jours. Des traitements par haute pression (pascalisation) ou ionisation (irradiation) optimisés permettent d'obtenir plus de 5 réductions décimales.

La chaleur est efficace : 5 min à 50°C permettent $\geq 4,5$ réductions décimales, 30 s à $\geq 59^\circ\text{C}$ à l'intérieur de la coquille permettent ≥ 5 réductions décimales. A l'occasion d'une épidémie, les autorités de santé du comté de Monterey (Californie) (<http://www.kionrightnow.com/story/15429692/health-officials-dont-eat-raw-oysters-in-monterey-county>, consulté le 19-03-2012) recommandent les traitements thermiques suivants que nous fournissons à titre d'exemple :

Pour les huîtres en coquille :

- Faire bouillir les huîtres jusqu'à ouverture de la coquille. Une fois la coquille ouverte, faire bouillir 3-5 minutes en plus ;
- Dans un cuiseur à la vapeur (« cuit-vapeur »), placer les huîtres dans la vapeur. Une fois la coquille ouverte, maintenir dans la vapeur 4 à 9 minutes en plus ;
- Jeter les huîtres qui ne se sont pas ouvertes pendant la cuisson.

Pour les huîtres décoquillées :

- Faire bouillir les huîtres décoquillées pendant au moins 3 minutes ou jusqu'à ce que les huîtres se ratatinent ;
- Les faire frire à 191°C pendant au moins 3 minutes ;
- Les faire griller à 7,5 centimètres de la source de chaleur pendant 3 minutes ;
- Les placer au four à 232°C pendant 10 minutes.

⁸ EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) and EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on the minimum hygiene criteria to be applied to clean seawater and on the public health risks and hygiene criteria for bottled seawater intended for domestic use. EFSA Journal 2012;10(3):2613.

En Europe, le règlement 853/2004 autorise les traitements suivants pour les mollusques bivalves vivants provenant de zones de production classe B ou C, qui n'ont pas été soumis à un traitement de purification ou un reparcage et qui sont envoyés dans un établissement pour y subir un traitement destiné à éliminer les microorganismes pathogènes :

a) stérilisation dans des récipients hermétiquement fermés ;

b) traitements par la chaleur comprenant :

i) l'immersion dans l'eau bouillante pendant le temps nécessaire pour élever la température interne de la chair des mollusques au minimum à 90 °C et le maintien de cette température interne minimale pendant une durée égale ou supérieure à 90 secondes ;

ii) la cuisson pendant 3 à 5 minutes dans une enceinte fermée où la température est comprise entre 120 et 160 °C et où la pression est comprise entre 2 et 5 kg/cm², suivie d'un décoquillage et d'une congélation de la chair à -20 °C à cœur ;

iii) la cuisson par la vapeur sous pression dans une enceinte fermée où au moins les exigences de temps et de température interne de la chair des mollusques visées au point i) sont respectées. Une méthodologie validée doit être utilisée. Des procédures fondées sur les principes HACCP doivent être mises en place pour vérifier l'homogénéité de la distribution de la chaleur.

2.3.3 Recommandations

Les recommandations suivantes concernent *V. parahaemolyticus* ainsi que les vibrions non cholériques transmis par les aliments. **Les infections qu'ils peuvent causer par contact avec l'eau de mer ou avec les produits de la mer ne doivent cependant pas être oubliées.**

Recommandations aux exploitants du secteur alimentaire

- Limiter le temps entre la sortie de l'eau des huîtres et l'arrivée à l'établissement conchylicole, en particulier en période chaude.
- Appliquer les bonnes pratiques d'hygiène, utiliser de l'eau de mer propre ou de l'eau propre.
- Lors de l'application des principes HACCP, prendre en considération le danger *Vibrio* pouvant aller jusqu'à des études de prévalence concernant ce danger.
- Respecter scrupuleusement les températures réglementaires lors des manutentions et du transport, ainsi que lors de la présentation dans les magasins. Il est recommandé de maintenir les coquillages en dessous de 10°C.

Recommandation aux professionnels de santé

- Lors de l'anamnèse des cas de gastro-entérites avec notion de cas dans l'entourage, interroger le patient sur la consommation éventuelle de produits de la mer. Penser aussi à la déclaration obligatoire de TIAC (toxi-infection alimentaire collective) auprès de l'ARS (Agence Régionale de Santé)

Recommandations aux consommateurs de produits de la mer

- La consommation des coquillages vivants en été augmente le risque de gastro-entérite causée par *Vibrio*.
- Consommer dans les deux heures qui suivent la sortie du réfrigérateur ou du lit de glace.
- Pour les patients atteints de maladies sous-jacentes, maladies hépatiques chroniques (hépatite, cirrhose, alcoolisme), maladies exposant à une surcharge en fer, ou pour les patients immunodéprimés (diabète, cancers), présentant une sensibilité accrue aux infections à *Vibrio*, particulièrement à *V. vulnificus* éviter de manger des fruits de mer crus ou insuffisamment cuits (p.ex. huîtres, moules, palourdes, crevettes),
- Eviter le contact entre des aliments cuits et des fruits de mer crus pour limiter les transferts de contamination.

2.4 Méthodes d'analyse

Une méthode adaptée pour la numération des *Vibrio parahaemolyticus* totaux et entéropathogènes dans des mollusques bivalves vivants, et dans la mesure du possible *V. vulnificus* et *V. cholerae* non O1/non-O139, est nécessaire afin d'apprécier quantitativement le risque.

La méthode à privilégier, dont les performances devront être évaluées, devrait permettre le dénombrement rapide de *Vibrio* spp. pathogènes à partir d'un grand nombre d'échantillons dans le cadre d'enquête environnementale ou d'étude d'estimation des risques liés à la consommation de ces produits de la mer.

Plusieurs méthodes sont disponibles pour la recherche des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes :

1) La norme expérimentale XP ISO/TS 21872 (juin 2007) décrit une méthode horizontale pour la recherche des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes. Elle comporte deux parties :

- Partie 1 : recherche de *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae*
- Partie 2 : recherche des espèces autres que *Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus*

Ces méthodes comprennent deux étapes d'enrichissement et préconisent l'utilisation de deux milieux sélectifs pour l'isolement des colonies, et l'isolement de dix colonies caractéristiques sur chaque milieu (soit 40 colonies maximum au total pour un échantillon). L'identification des isolats est basée sur l'étude des caractères biochimiques et culturels. Cette identification est difficile, et il est recommandé de :

- faire confirmer l'appartenance des bactéries isolées à l'une des espèces de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes,
- réaliser un sérotypage pour *V. cholerae*,
- rechercher les gènes de production de la toxine cholérique et la présence de gènes d'hémolysine pour *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*, respectivement, pour affirmer le caractère pathogène des souches.

Ces étapes de confirmation sont réalisées par un laboratoire spécialisé ou de référence.

Ces méthodes fournissent des résultats exprimés en termes d'absence ou de présence. Elles sont lourdes à mettre en œuvre, coûteuses en temps et en ressources humaines et la réalisation des analyses est de dix jours minimum. De surcroît on observe de faibles taux de récupération des VP et VPP dans les huîtres (Rosec, Causse *et al.* 2012).

Cette norme expérimentale, qui n'est pas satisfaisante en l'état, est actuellement en cours de révision au CEN pour le compte de l'ISO. Il est prévu d'introduire plus largement des techniques de biologie moléculaire dans cette norme, aussi bien pour le criblage par PCR sur les bouillons d'enrichissement (qui aidera à la décision de poursuivre l'identification biochimique), que pour la confirmation directe de l'identification et la recherche des facteurs de pathogénicité par PCR en point final (l'identification basée sur l'étude des caractères biochimiques deviendrait optionnelle). Néanmoins, les résultats seront toujours exprimés par la présence ou l'absence de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes dans une prise d'essai, et cette méthode restera une méthode de détection.

Le laboratoire de référence de l'Union européenne (CEFAS) propose une méthode de détection/dénombrement directe par PCR en temps réel. Elle comprend 2 étapes : extraction des acides nucléiques à partir des tissus digestifs et détection de *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes par PCR en temps réel. Les premiers essais sur des coquillages naturellement contaminés révèlent la faible sensibilité de cette méthode. Des optimisations sont donc nécessaires avant toute standardisation et validation (introduction d'un témoin d'extraction, amélioration de la sensibilité, etc.).

2) Au niveau national, la note de service de la DGAI SDSSA/MCSI/N2004-8255 du 28 octobre 2004 concernant la gestion des produits de la pêche contaminés par des *Vibrio* propose aux laboratoires français de se rapprocher du laboratoire de l'ANSES de Boulogne-sur-Mer pour l'utilisation d'un protocole défini par l'ANSES, l'Institut Pasteur et l'École des hautes études en santé publique (EHESP, anciennement ENSP) pour la détection des *Vibrio cholerae* et *V. parahaemolyticus* dans les produits de la pêche. Ce protocole est particulièrement adapté à l'analyse des crustacés et poissons frais ou congelés ; il n'a pas été validé sur des mollusques bivalves vivants. Il est basé sur un enrichissement en bouillon sélectif, l'isolement de dix colonies caractéristiques maximum au total pour un échantillon et l'utilisation d'un seul milieu sélectif. L'identification des colonies caractéristiques est basée sur l'étude des caractères biochimiques et culturels. Une confirmation de l'identification et la recherche des facteurs de pathogénicité par PCR en point final à

partir de souche pure est recommandée. La réalisation de cette méthode nécessite également dix jours minimum d'analyse.

Les méthodes décrites ci-dessus sont lourdes à mettre en œuvre, et malgré la proposition de révisions pour la norme expérimentale ISO, elles permettent uniquement la recherche des *Vibrio* potentiellement entéropathogènes. L'établissement du caractère pathogène des souches isolées nécessite des étapes de confirmation supplémentaires :

- par voie moléculaire pour les *V. parahaemolyticus*,
- par voies moléculaire et sérologique pour les *V. cholerae*.

Concernant le dénombrement des *Vibrio spp.* dans les aliments, aucune méthode de référence normalisée n'est disponible. A ce jour, la méthode de référence est basée sur des cultures en milieu liquide et une estimation statistique de la croissance bactérienne (dénombrement par le nombre le plus probable ou NPP). Deux nouvelles méthodes pour la détection et la numération de *Vibrio parahaemolyticus* dans les produits de la mer sont en cours de développement et font l'objet de discussions au sein du Comité européen de normalisation (CEN/TC 275/WG 6 « Microbial contamination » /TAG 3 « PCR for the detection of food-borne pathogens in food and animal stuffs ») : l'une est basée sur l'hybridation sur colonies et l'autre sur la PCR en temps réel (sans étape préalable de culture).

La méthode de dénombrement de *V. parahaemolyticus* basée sur l'hybridation sur colonies comprend une étape de culture sur milieu sélectif non inhibiteur, un transfert des colonies sur membrane, une lyse bactérienne, et l'hybridation des acides nucléiques fixés sur la membrane par une sonde oligonucléotidique marquée. Cette méthode d'analyse comprend des sondes ciblant les gènes *tdh* et *trh* et conduit uniquement à la recherche spécifique et à la numération des *V. parahaemolyticus* pathogènes. Aucune sonde spécifique de l'espèce *V. parahaemolyticus* permettant le dénombrement des *V. parahaemolyticus* totaux (pathogènes et non-pathogènes) n'est proposée dans cette méthode. Cette méthode s'est avérée peu sensible lors de l'analyse de coquillages vivants contaminés naturellement par *V. parahaemolyticus*. Un délai de deux à trois jours minimum est nécessaire pour la réalisation des analyses.

Le dénombrement direct de *V. parahaemolyticus* par PCR en temps réel comprend l'extraction des acides nucléiques à partir des tissus de la glande digestive des mollusques bivalves vivants et la détection par PCR en temps réel des *V. parahaemolyticus* totaux. Bien que rapide et spécifique, cette méthode est peu sensible et à ce jour peu adaptée à la détection et à la numération directe des *V. parahaemolyticus* totaux et entéropathogènes dans des coquillages contaminés naturellement. Des optimisations seront nécessaires.

Ces méthodes ne sont ni standardisées, ni validées et restent au stade expérimental. Elles ne sont pas applicables en l'état dans le cadre de contrôles réglementaires relatifs à la qualité de produits de la mer ou dans le cadre d'études environnementales.

Deux autres méthodes sont actuellement disponibles pour l'identification et le dénombrement de *V. parahaemolyticus* dans des coquillages vivants :

1) La méthode d'analyse NPP-PCR en tubes (ici appelée **méthode de « référence »**) est recommandée par l'US-FDA (US-FDA 2005). Cette méthode est basée sur :

- un ensemencement du milieu d'enrichissement sélectif en tubes
- l'incubation de l'ensemble des tubes
- l'extraction des acides nucléiques pour chaque tube trouble
- l'identification de l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* et la recherche des facteurs de pathogénicité par PCR conventionnelle

Le dénombrement des vibrions par la méthode du nombre le plus probable en tubes est long et fastidieux. Un délai de trois à quatre jours minimum est nécessaire pour la réalisation des analyses.

2) Une **méthode « alternative »** pour le dénombrement des *Vibrio parahaemolyticus* totaux et entéropathogènes dans des mollusques bivalves vivants est disponible. La méthode d'analyse NPP-PCR en temps réel sur plaques de 96 puits mise au point par l'Ifremer comprend :

- un ensemencement du milieu d'enrichissement sélectif,
- l'incubation
- l'extraction des acides nucléiques en microplaques sans transfert des suspensions bactériennes

- l'identification de l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* et la recherche des facteurs de pathogénicité par PCR en temps réel (Hervio-Heath *et al.*, com. pers.).

La réalisation des analyses selon cette méthode est relativement rapide – elle permet de déterminer la prévalence et le dénombrement des *Vibrio parahaemolyticus* totaux et potentiellement entéropathogènes dans les coquillages en deux à trois jours.

Elle apporte une meilleure spécificité du fait de l'utilisation de la PCR en temps réel avec des amorces et une sonde oligonucléotidique plus spécifiques et ciblant le gène *toxR* et les gènes *tdh* et *trh* pour l'identification et le dénombrement des *Vibrio parahaemolyticus* totaux et potentiellement entéropathogènes, respectivement ; Hervio-Heath *et al.*, com. pers.).

Elle est aussi plus précise (huit réplicats par dilution *versus* cinq réplicats par dilution) que la méthode de « référence ».

C'est donc cette dernière méthode qui est retenue, pour comparaison avec la méthode de « référence » recommandée par la l'US-FDA. Elle sera proposée pour être utilisée dans le cadre d'une étude à la sortie des établissements conchylicoles.

Il faut être conscient que les méthodes ci-dessus ne comportent pas d'étape favorable au retour à la cultivabilité des formes viables mais non cultivables. L'état viable mais non cultivable présente une importance majeure en clinique car les bactéries viables mais non cultivables sont capables de retrouver leur virulence après infection de l'homme (Trevors 2011) (Xu, Roberts *et al.* 1982) (Quilici and Robert-Pillot 2011).

Dans le futur, la méthode de dénombrement des *Vibrio* devrait tenir compte de la présence possible de bactéries à l'état viable mais non cultivable, et donc la richesse nutritionnelle des milieux de culture utilisés et la température d'incubation devraient être optimisées pour favoriser leur cultivabilité, notamment sur les milieux d'isolement sélectifs.

3 Réponses aux questions de la saisine

« 1 : Considérant (i) les études démontrant la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans le milieu, et (ii) la quasi absence de TIAC à *V. parahaemolyticus* recensées en France,

- **Quel est le risque lié à la présence de *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants en France ?**

Les données recensées par l'épidémiologie ne mettent pas en évidence l'existence d'un problème de santé publique grave en France (contrairement à d'autres régions du Monde). Toutefois, la recherche des vibrions dans les cas de gastroentérites est rarement effectuée en France, et leur incidence est certainement sous-estimée.

- **Si ce risque s'avère faible, peut-on alors considérer qu'il n'y a pas de problème de santé publique liée à *V. parahaemolyticus* dans les coquillages en France ?**

Compte tenu de données de prévalence encore trop restreintes pour être considérées comme représentatives et de l'absence de données sur les niveaux de contamination, une enquête paraît nécessaire pour mieux évaluer la prévalence et le niveau de contamination des coquillages par les *V. parahaemolyticus* et les *V. parahaemolyticus* pathogènes. Il conviendrait de rechercher notamment les souches *trh+* ou portant d'autres facteurs de virulence que l'évolution des connaissances recommanderait d'étudier, afin d'être en mesure d'apprécier le risque. Toute enquête devrait distinguer les produits importés des produits autochtones.

La forte dépendance des vibrions aux paramètres environnementaux, notamment la température (réchauffement climatique), et la possibilité de situations particulières locales (dessalure importante associée à une forte pluviométrie en période estivale, conditions d'entreposage très défavorables, par exemple), sont une cause potentielle d'augmentation du risque.

- **A contrario, si le risque s'avérait non négligeable, quelles mesures de prévention efficaces pourraient être mises en œuvre ? (réfrigération, cuisson ...).**

En tout état de cause, les recommandations suivantes s'avèrent prudentes dans l'état actuel des connaissances :

Recommandations aux exploitants du secteur alimentaire

- Limiter le temps entre la sortie de l'eau des huîtres et l'arrivée à l'établissement conchylicole, en particulier en période chaude.
- Appliquer les bonnes pratiques d'hygiène, utiliser de l'eau de mer propre ou de l'eau propre.
- Lors de l'application des principes HACCP, prendre en considération le danger *Vibrio* pouvant aller jusqu'à des études de prévalence concernant ce danger.
- Respecter scrupuleusement les températures réglementaires lors des manutentions et du transport, ainsi que lors de la présentation dans les magasins de détail.

Recommandation aux professionnels de santé

- Lors de l'anamnèse des cas de gastro-entérites avec notion de cas dans l'entourage, interroger le patient sur la consommation éventuelle de produits de la mer. Penser aussi à la déclaration obligatoire de TIAC (toxi-infection alimentaire collective) auprès de l'ARS (Agence Régionale de Santé).

Recommandations aux consommateurs de produits de la mer

- La consommation des coquillages vivants en été augmente le risque de gastro-entérite causée par *Vibrio*.
- Consommer dans les deux heures qui suivent la sortie du réfrigérateur ou du lit de glace.
 - Pour les patients atteints de maladies sous-jacentes, maladies hépatiques chroniques (hépatite, cirrhose, alcoolisme), maladies exposant à une surcharge en fer, ou pour les patients immunodéprimés (diabète, cancers), présentant une sensibilité accrue aux infections à *Vibrio*, particulièrement à *V. vulnificus*, éviter de manger des fruits de mer crus ou insuffisamment cuits (p.ex. huîtres, moules, palourdes, crevettes),

- Eviter le contact entre des aliments cuits et des fruits de mer crus pour limiter les transferts de contaminations.

Les infections que les vibrions pathogènes peuvent causer par contact avec l'eau de mer ou avec les produits de la mer ne doivent cependant pas être oubliées.

- **Si l'évaluation du risque s'avérait difficile, quelles données devraient être acquises afin de permettre une bonne évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants provenant des zones de production françaises ?**

Le groupe de travail recommande de porter une attention particulière sur :

- *V. parahaemolyticus*, et dans la mesure du possible *V. vulnificus* et *V. cholerae* non O1/non-O139 ;
- Les huîtres, et dans la mesure du possible les moules.

A cette fin, il est nécessaire de :

- mieux estimer la proportion des vibrions portant les facteurs de pathogénicité (TDH essentiellement et TRH) dans les conditions environnementales françaises.
- disposer d'une technique de quantification qui aura notamment été comparée à la technique utilisée par l'US-FDA.
- mener une enquête pour estimer le niveau de contamination à la sortie des établissements conchylicoles.
- connaître les flux de circulation des coquillages sur le marché français depuis leur sortie de l'eau, et leurs modalités (temps, températures).
- **Au regard du risque estimé, est-il pertinent et nécessaire de mettre en place une surveillance de *V. parahaemolyticus* dans le milieu marin (zones conchylicoles) et/ou un plan de surveillance de *V. parahaemolyticus* dans les mollusques bivalves vivants à la production ou à la mise sur le marché ?**

A ce stade, ni la pertinence d'une surveillance pérenne, ni ses modalités ne peuvent être évaluées. En revanche, un plan de surveillance ponctuel permettant de décrire la situation française actuelle, est nécessaire pour répondre aux questions posées.

2 : Les méthodes de recherche de cette bactérie n'étant pas encore normalisées,

- **Quelle méthode de détection disponible devrait être utilisée pour la détection de *V. parahaemolyticus* dans l'eau et dans les coquillages? Quelle méthode de numération disponible devrait être utilisée afin de quantifier la présence de *V. parahaemolyticus* dans les coquillages ?**

Pour la détection, s'il existe une méthode particulièrement adaptée pour les poissons et crustacés frais ou congelés (Protocole provisoire défini par l'Afssa, le CNR des vibrions et du choléra et l'ENSP pour la détection des vibrions dans les produits de la mer, révisé en 2010), son utilité pour les coquillages n'est pas encore démontrée. La révision de la méthode ISO (en cours) devrait permettre de disposer d'une méthode de détection dans les coquillages.

Dans le cadre de l'évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus*, la seule détection est moins utile que le dénombrement. Une technique de quantification d'utilisation plus simple et plus rapide que celle utilisée par l'US-FDA serait nécessaire, sous réserve qu'elle soit comparée à cette dernière et permette de distinguer les *V. parahaemolyticus* et les *V. parahaemolyticus* pathogènes.

- **A partir de ces méthodes, quel seuil pourrait être considéré comme une dose infectieuse, au-delà de laquelle des mesures de gestion de coquillages et/ou de zones devraient être prises? »**

La notion de dose infectieuse est généralement utilisée comme outil de gestion du risque pour prévenir les TIAC. Toutefois, cette notion de seuil en dessous duquel le risque serait nul n'a pas de valeur scientifique en microbiologie des aliments. En effet, il convient d'utiliser une relation dose-réponse, qui associe la probabilité de maladie dans la population exposée à chacune des doses de dangers microbiologiques ingérées.

Le rapport présente dans son chapitre 2.2 la relation dose-réponse utilisée par la l'US-FDA, dans son modèle d'AQR, pour comparer différentes stratégies de gestion de risque. Toutefois, ce modèle, incluant cette relation dose-réponse, est actuellement en cours de révision (travaux en cours au JEMRA). En attendant cette révision, la **Figure 6** fournit une relation dose-réponse qui peut être utilisée à titre provisoire par le gestionnaire pour illustrer la façon dont la dose ingérée influe sur le risque. Il reste nécessaire d'estimer d'une part la quantité de *Vibrio* par gramme de coquillages selon une technique de quantification analogue à celle utilisée par l'US-FDA et d'autre part les quantités consommées.

L'Anses pourra, par exemple à la demande du gestionnaire, apprécier quantitativement l'efficacité de différentes mesures de gestion, prenant en considération les différents modes de production et de consommation.

Par la suite, le gestionnaire pourra choisir le scénario de gestion correspondant au risque acceptable qu'il aura fixé.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail le 15 septembre 2012

4 Publications

4.1 Références bibliographiques

Ardilly P (1994) 'Les techniques de sondage.' (Technip: Paris) 393

Barker Jr WH (1974) *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in the United States. *Lancet* **1**(7857), 551-554.

Bauer A, Østensik Ø, Florvåg M, Ørmen Ø, Rørvik LM (2006) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*, and *V. vulnificus* in Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis*). *Applied and Environmental Microbiology* **72**(4), 3058-3061.

Beneduce L, Vernile A, Spano G, Massa S, Lamacchia F, Oliver JD (2010) Occurrence of *Vibrio vulnificus* in mussel farms from the Varano lagoon environment. *Letters in Applied Microbiology* **51**(4), 443-449.

Beuchat LR, Worthington RE (1976) Relationships between heat resistance and phospholipid fatty acid composition of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology* **31**(3), 389-394.

Blanco-Abad V, Ansede-Bermejo J, Rodriguez-Castro A, Martinez-Urtaza J (2009) Evaluation of different procedures for the optimized detection of *Vibrio parahaemolyticus* in mussels and environmental samples. *International Journal of Food Microbiology* **129**(3), 229-236.

Bradshaw JG, Francis DW, Twedt RM (1974) Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Cooked Seafood at Refrigeration Temperatures. *Applied Microbiology* **27**(4), 657-661.

Broberg C.A., Calder T.J., Orth, K (2011) *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants. *Microbs and infection*, **13**, 992-1001

Cañigral I, Moreno Y, Alonso JL, González A, Ferrús MA (2010) Detection of *Vibrio vulnificus* in seafood, seawater and wastewater samples from a Mediterranean coastal area. *Microbiological Research* **165**(8), 657-664.

Chen J (2005) *Vibrio parahaemolyticus* in tuna (*Thunnus* spp) traded in the city of São Paulo *Veterinária e zootecnia* **12**, 89-95.

Cohen N, Karib H, Ait Saïd J, Lemee L, Guenole A, Quilici ML (2007) Occurrence of potentially pathogens vibrio from sea products marketed in Casablanca (Morocco). *Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca (Maroc)* **158**(11), 562-568.

Collin B, Rehnstam-Holm AS (2011) Occurrence and potential pathogenesis of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* on the South Coast of Sweden. *FEMS Microbiology Ecology* **78**(2), 306-313.

Cook DW, Bowers JC, DePaola A (2002) Density of total and pathogenic (*tdh+*) *Vibrio parahaemolyticus* in Atlantic and Gulf Coast molluscan shellfish at harvest. *Journal of Food Protection* **65**(12), 1873-1880.

Copin S, Robert-Pillot A, Malle P, Quilici ML, Gay M (2012) Evaluation of Most-Probable-Number-PCR method with internal amplification control for the counting of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in frozen shrimps. *Journal of Food Protection* **75**(1), 150-153.

Delignette-Muller M-L, Pouillot R, Denis J-B, Dutang C (2010) Fitdistrplus: Help to fit of a parametric distribution to non-censored or censored data. <http://riskassessment.r-forge.r-project.org>.

DePaola A, Jones JL, *et al.* (2010) Bacterial and viral pathogens in live oysters: 2007 United States market survey. *Applied and Environmental Microbiology* **76**(9), 2754-2768.

DePaola A, Kaysner CA, Nordstrom JL, Blackstone GM, Vickery M, Bowers JC (2002) Harvest practices and ecological factors affecting the risk of *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific Northwest oysters.

Deter J, Lozach S, Véron A, Chollet J, Derrien A, Hervio-Heath D (2010) Ecology of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* on the French Atlantic coast. Effects of temperature, salinity, turbidity and chlorophyll a. *Environmental Microbiology* **12**(4), 929-937.

Di Pinto A, Ciccarese G, De Corato R, Novello L, Terio V (2008) Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in southern Italian shellfish. *Food Control* **19**(11), 1037-1041.

FAO-OMS (2002) Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok, Thailand, 5–9 August 2002.

FAO/WHO Discussion Paper on Risk Management Strategies for *Vibrio* spp. in Seafood - CX/FH 03/5 - Add.3. In 'Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Hygiene Thirty-fifth Session', (27 January - 1 February 2003) 2003, Orlando, U.S.A.,

Fernandez-Piquer J, Bowman JP, Ross T, Tamplin ML (2011) Predictive models for the effect of storage temperature on *Vibrio parahaemolyticus* viability and counts of total viable bacteria in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Applied and Environmental Microbiology* **77**(24), 8687-8695.

Furumoto WA, Mickey R (1967) A mathematical model for the infectivity-dilution curve of Tobacco Mosaic virus : theoretical considerations. *Virology*(32), 216-223.

Gugliandolo C, Lentini V, Spanò A, Maugeri TL (2011) Conventional and molecular methods to detect bacterial pathogens in mussels. *Letters in Applied Microbiology* **52**(1), 15-21.

Hara-Kudo Y, Saito S, *et al.* (2012) Characteristics of a sharp decrease in *Vibrio parahaemolyticus* infections and seafood contamination in Japan. *International Journal of Food Microbiology*.

Hara-Kudo Y, Takatori K (2011) Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiol Infect* **139**(10), 1505-10. [In eng]

Henigman U, Biasizzo M, Vadnjak S, Kirbis A, Toplak I, Barlic-Maganja D (2011) Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Slovenia. *Acta Vet Hung* **59**(2), 155-64. [In eng]

Hervio-Heath D, Colwell RR, Derrien A, Robert-Pillot A, Fournier JM, Pommepuy M (2002) Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *J Appl Microbiol* **92**(6), 1123-1135.

Hervio-Heath D, Constantin de Magny G, Deter J, Teillon A, Lozach S, Derrien A (2012) A survey of *Vibrio parahaemolyticus* in French Atlantic coastal waters. In 'Proceedings of the International Symposium "Pathogenic *Vibrio* spp. in Northern European Waters". ' Koblenz, Germany, May 2012)

Ifremer (2011) Moule. In 'Decouvertes mollusques. Vol. <http://aquaquculture.ifremer.fr/les-Filieres/Filiere-Mollusques/Decouverte-mollusques/Moule>.'

Kaufman GE, Bej AK, Bowers J, DePaola A (2003) Oyster-to-oyster variability in levels of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection* **66**(1), 125-129.

- Kaysner CA, Tamplin ML, Wekell MM, Stott RF, Colburn KG (1989) Survival of *Vibrio vulnificus* in shellstock and shucked oysters (*Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica*) and effects of isolation medium on recovery. *Applied and Environmental Microbiology* **55**(12), 3072-3079.
- Kim CM, Jeong KC, Rhee JH, Choi SH (1997) Thermal-death times of opaque and translucent morphotypes of *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology* **63**(8), 3308-10.
- Lemoine T, Germanetto P, Giraud P (1999) Toxi-infection alimentaire collective à *Vibrio parahaemolyticus*. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH)* **10**, 37-38.
- Lhafi SK, Kühne M (2007) Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. *International Journal of Food Microbiology* **116**(2), 297-300.
- Martinez-Urtaza J, Lozano-Leon A, Varela-Pet J, Trinanes J, Pazos Y, Garcia-Martin O (2008) Environmental determinants of the occurrence and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the rias of Galicia, Spain. *Applied and Environmental Microbiology* **74**(1), 265-274.
- Miles DW, Ross T, Olley J, McMeekin TA (1997) Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology* **38**(2-3), 133-142.
- Molenda JR, Johnson WG, Fishbein M, Wentz B, Mehlman IJ, Dadisman Jr TA (1972) *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland: laboratory aspects. *Applied microbiology* **24**(3), 444-448.
- Oberbeckmann S, Wichels A, Wiltshire KH, Gerdt G (2011) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in the German Bight over a seasonal cycle. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* **100**(2), 291-307.
- Ofimer (2006) Bilan annuel - Consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture. In. ')
- Oliver JD (2006) *Vibrio vulnificus*. In 'The biology of Vibrios. Vol. 1.' Ed. BA F. L. Thompson, and J. Swings (ed.) pp. 349-366. (ASM Press: Washington)
- Ottaviani D, Leoni F, Rocchegiani E, Canonico C, Potenziani S, Santarelli S, Masini L, Mioni R, Carraturo A (2010) Prevalence, serotyping and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* in mussels from Italian growing areas, Adriatic Sea. *Environmental Microbiology Reports* **2**(1), 192-197.
- Pal D, Das N (2010) Isolation, identification and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fish samples in Kolkata. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* **14**(6), 545-549.
- Parker RW, Maurer EM, Childers AB, Lewis DH (1994) Effect of Frozen Storage and Vacuum-Packaging on Survival of *Vibrio Vulnificus* in Gulf Coast Oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of Food Protection* **57**(7), 604-606.
- Popovic NT, Skukan AB, Dzidara P, Coz-Rakovac R, Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, Jadan M, Brlek-Gorski D (2010) Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina* **55**(5), 233-241.
- Pouillot R, Beaudeau P, Denis JB, Derouin F (2004) A quantitative risk assessment of waterborne cryptosporidiosis in France using second-order Monte Carlo simulation. *Risk Anal* **24**(1), 1-17.

Quilici ML, Robert-Pillot A (2011) Infections à vibrions non cholériques. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses* **8-026-F-15**.

R version 2.14.1: A Language and Environment for Statistical Computing (2011) R Foundation for Statistical Computing. *R Development Core Team, available at : <http://R-project.org>*.

Robert-Pillot A, Copin S, Gay M, Malle P, Quilici ML (2010) Total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp: Fast and reliable quantification by real-time PCR. *International Journal of Food Microbiology* **143**(3), 190-197.

Roque A, Lopez-Joven C, *et al.* (2009) Detection and identification of *tdh*- And *trh*-positive *Vibrio parahaemolyticus* strains from four species of cultured bivalve molluscs on the Spanish Mediterranean coast. *Applied and Environmental Microbiology* **75**(23), 7574-7577.

Rosec J-P, Causse V, Cruz B, Rauzier J, Carnat L (2012) The international standard ISO/TS 21872-1 to study the occurrence of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in seafood: ITS improvement by use of a chromogenic medium and PCR. *International Journal of Food Microbiology* **157**(2), 189-194.

Rumeau-Rouquette C, Blondel B, Kaminski M, Bréart G (1993) 'Epidémiologie : méthodes et pratiques.' (Flammarion: Paris) 312p

Schärer K, Savioz S, Cernela N, Saegesser G, Stephan R (2011) Occurrence of *Vibrio* spp. in fish and shellfish collected from the Swiss market. *Journal of Food Protection* **74**(8), 1345-1347.

Schets FM, Van Den Berg HHJL, Rutjes SA, De Maria Roda Husman ANA (2010) Pathogenic *Vibrio* species in dutch shellfish destined for direct human consumption. *Journal of Food Protection* **73**(4), 734-738.

Serracca L, Battistini R, Rossini I, Prearo M, Ottaviani D, Leoni F, Ercolini C (2011) *Vibrio* virulence genes in fishes collected from estuarine waters in Italy. *Letters in Applied Microbiology*, no-no.

Teunis PF, Havelaar AH (2000) The Beta Poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Anal* **20**(4), 513-20.

Trevors JT (2011) Viable but non-culturable (VBNC) bacteria: Gene expression in planktonic and biofilm cells. *Journal of Microbiological Methods* **86**(2), 266-273.

US-FDA (2005) 'Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters.' In Available at <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm050421.htm> [Verified may 2012]

Vaillant V, Jourdan-da-Silva N, Quilici M-L, Couturier E, Le Guyader S, Delmas G, Le Saux J-C (2012) Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, Hors-série/9 mai 2012, 34-37.

Vasudevan P, Marek P, Daigle S, Hoagland T, Venkitanarayanan KS (2002) EFFECT OF CHILLING AND FREEZING ON SURVIVAL OF *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* ON FISH FILLETS¹. *Journal of Food Safety* **22**(4), 209-217.

Vose D (2000) 'Risk analysis : a quantitative guide.' 3rd edn. (John Wiley and sons: New York) 735

- Wagley S, Koofhethile K, Wing JB, Rangdale R (2008) Comparison of *V. parahaemolyticus* isolated from seafoods and cases of gastrointestinal disease in the UK. *International Journal of Environmental Health Research* **18**(4), 283-293.
- Wang F, Jiang L, Yang Q, Han F, Chen S, Pu S, Vance A, Ge B (2011) Prevalence and antimicrobial susceptibility of major foodborne pathogens in imported seafood. *Journal of Food Protection* **74**(9), 1451-1461.
- Wong HC, Chen MC, Liu SH, Liu DP (1999) Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *International Journal of Food Microbiology* **52**(3), 181-188.
- Xu HS, Roberts N, Singleton FL (1982) Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microbial Ecology* **8**(4), 313-323.
- Yang Zq, Jiao Xa, Li P, Pan Zm, Huang Ji, Gu Rx, Fang Wm, Chao Gx (2009) Predictive model of *Vibrio parahaemolyticus* growth and survival on salmon meat as a function of temperature. *Food Microbiology* **26**(6), 606-614.
- Yano Y, Kaneniwa M, Satomi M, Oikawa H, Chen SS (2006) Occurrence and density of *Vibrio parahaemolyticus* in live edible crustaceans from markets in China. *Journal of Food Protection* **69**(11), 2742-2746.
- Yoon KS, Min KJ, Jung YJ, Kwon KY, Lee JK, Oh SW (2008) A model of the effect of temperature on the growth of pathogenic and nonpathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters in Korea. *Food Microbiology* **25**(5), 635-641.
- Zarei M, Borujeni MP, Jamnejad A, Khezzzadeh M (2012) Seasonal prevalence of *Vibrio* species in retail shrimps with an emphasis on *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control* **25**(1), 107-109.

4.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

International Organization for Standardization (ISO), juin 2007. TS 21872: Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp.

4.3 Législation et réglementation

Note de service de la DGAI SDSSA/MCSI/N2004-8255 du 28 octobre 2004 concernant la gestion des produits de la pêche contaminés par des *Vibrio*

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE DE L'ALIMENTATION
DE LA PÊCHE DE LA RURALITÉ ET DE
L'AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE

2010 -SA- 0301

COURRIER ARRIVÉ

DG 1388 24 DEC. 2010

DIRECTION GÉNÉRALE

Direction générale de l'alimentation

Service de l'alimentation

Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments

La Directrice Générale de l'Alimentation

Bureau des produits de la mer et d'eau douce

à

Adresse : 251, rue de Vaugirard
75 732 PARIS CEDEX 15

Monsieur le Directeur Général de
l'agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et
du travail

Dossier suivi par : Pauline FAVRE – Jacques
MARCHAL

Tél. : 01 49 55 41 45 - 84 19

27-31 avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS ALFORT CEDEX

Réf. interne : 10-246

n° ~~10~~ - 1029

Paris, le 22 DEC. 2010

Objet : Saisine de l'ANSES en vue de l'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants.

Conformément aux articles L. 1323-1 et L. 1323-2 du code de la santé publique, j'ai l'honneur de saisir l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail en vue de l'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages.

1. Contexte

Vibrio parahaemolyticus est une bactérie spécifique du milieu marin et estuarien ; elle se trouve dans les eaux côtières et les estuaires du monde entier. Le pouvoir pathogène de cette bactérie est lié à la présence de deux hémolysines, la TDH et la TRH. Dans le milieu naturel, les souches porteuses des gènes *tdh* et *trh* codant pour ces hémolysines sont rares et représentent 0,2 à 5% des souches isolées (les souches portant le gène *tdh* étant plus virulentes – retrouvées dans 95% des cas d'infections humaines). Les infections alimentaires à *V. parahaemolyticus* sont principalement causées par la consommation de poisson ou de coquillages crus ou insuffisamment cuits. Alors que *Vibrio parahaemolyticus* est un des principaux agents pathogènes associés aux toxi-infections alimentaires en Asie et en Amérique, les infections à *V. parahaemolyticus* sont rares en Europe. Seuls quelques cas sporadiques ont été répertoriés en France, et aucun lien n'a jamais pu être établi entre la présence d'une souche pathogène dans le milieu naturel et une toxi-infection alimentaire.

2. Données disponibles en France

a) Etudes environnementales (Ifremer)

Une étude réalisée en 1999 indique la présence de *V. parahaemolyticus* dans des moules et des eaux prélevés sur 8 sites côtes françaises, Méditerranée (2 sites), Côte Atlantique (3 sites) et Manche (3 sites) – (Hervio-Heath *et al.*, 2002). Sur l'ensemble des souches isolées de l'environnement, seules 2 souches de *V. parahaemolyticus* sont entéropathogènes (porteuses du gène trh).

En 2001, une épidémie à *V. parahaemolyticus* (10 foyers de TIAC, 100 cas) a été reliée à la consommation de moules en provenance d'Irlande. Une enquête environnementale au site de re-trempage de ces coquillages (Bretagne sud) a montré que les souches entéropathogènes (porteuses du gène tdh) isolées des moules ne s'étaient pas implantées dans l'environnement (Hervio-Heath *et al.* 2005)

De janvier 2006 à juin 2008, lors d'un suivi mensuel de 3 à 6 sites sur la côte méditerranéenne (eau et coquillages, pendant 18 mois, VibrioSea), *V. parahaemolyticus* est isolé dans 8 des 60 prélèvements et des espèces entéropathogènes (porteuses du gène trh) sont isolées dans 2 de ces 8 prélèvements (soit une prévalence d'environ 3%)

De juin 2006 à décembre 2008 (VibrioMed), un suivi de 3 lagunes méditerranéennes est réalisé visant à rechercher la présence de *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus* dans les coquillages, l'eau et les sédiments (3 campagnes, septembre 2006, janvier et juin 2007). *V. parahaemolyticus* est détecté dans les 3 lagunes lors des 3 campagnes : présence de souches entéropathogènes (porteuses du gène trh) dans des moules de 2 des 3 lagunes en septembre 2006 et juin 2007.

D'avril 2008 à septembre 2010 (Vibrio Pertuis), un suivi de 3 sites sur la côte Atlantique est réalisé (Pertuis Breton, 17) avec une recherche mensuelle de *V. parahaemolyticus* dans l'eau, les coquillages et le sédiment : présence de *V. parahaemolyticus* dans les 3 sites d'avril à novembre et de *V. parahaemolyticus* entéropathogènes (trh) de mai à octobre 2008, 2009 et 2010.

Ces résultats indiquent la présence potentielle de *V. parahaemolyticus* et des souches de *V. parahaemolyticus* entéropathogènes sur toutes les côtes françaises et sous sa forme cultivable environ 6 à 9 mois de l'année. Or peu d'infections à *V. parahaemolyticus* ont été recensées pendant toutes ces années d'après les données épidémiologiques de l'InVS et du CNR des Vibrions et du Choléra (Institut Pasteur, Paris).

b) Plans de surveillance de la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF)

Des plans de surveillance ont été mis en œuvre sur des échantillons de coquillages mis sur le marché en 2008, 2009 et 2010 par la DGCCRF. En 2010, 46 échantillons d'huîtres ont été analysés de mai à septembre. *V. parahaemolyticus* a été détecté dans 16 échantillons, dont des souches entéropathogènes (5 trh + et 1 tdh +). La découverte de ces souches a donné lieu à des investigations dans les départements de production des coquillages correspondants.

c) Etude sur des huîtres réalisée de juin à octobre 2010 dans le cadre d'investigations suite aux résultats obtenus par la DGCCRF (Ifremer)

Cinq sites ont été suivis en Vendée, et deux sites en Bretagne Sud. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	07.2010	08.2010	09.2010	10.2010
Vendée	4 / 5 sites Vp+ 2 / 4 sites Vp trh+	4 / 4 sites Vp+ 3 / 4 sites Vp trh+ 1 / 4 sites Vp tdh+	2 / 2 sites Vp+ 1 / 2 sites Vp trh+	3 / 3 sites Vp+ 3 / 3 sites Vp trh+ 1 / 3 sites Vp tdh+
Bretagne Sud		2 / 2 sites Vp+ 1 / 2 sites Vp trh+	1 / 1 sites Vp+	

Source : Dominique Hervio-Heath, 2010

On constate la présence de *V. parahaemolyticus* dans 4 des 5 sites de la côte vendéenne, avec un isolement de souches entéropathogènes trh+ dans ces 4 sites et de souches entéropathogènes tdh+ dans un des sites à deux reprises (en août et octobre 2010). Ces souches tdh+ seront expédiées au CNRVC en janvier 2011 pour complément de caractérisation (sérotypage). C'est la seconde fois en 10 ans que des souches *V. parahaemolyticus* entéropathogènes tdh+ sont isolées d'échantillons de l'environnement sur la côte Atlantique.

3. Questions posées

Je vous saurai gré de bien vouloir me fournir les résultats de votre expertise sur les points suivants.

1 : Considérant (i) les études démontrant la présence de *V. parahaemolyticus* dans le milieu, et (ii) la quasi absence de TIAC à *V. parahaemolyticus* recensées en France,

- Quel est le risque lié à la présence de *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants en France ?
- Si ce risque s'avère faible, peut-on alors considérer qu'il n'y a pas de problème de santé publique liée à *Vibrio parahaemolyticus* dans les coquillages en France ?
- *A contrario*, si le risque s'avérait non négligeable, quelles mesures de prévention efficaces pourraient être mises en œuvre ? (réfrigération, cuisson ...).
- Si l'évaluation du risque s'avérait difficile, quelles données devraient être acquises afin de permettre une bonne évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants provenant des zones de production françaises ?
- Au regard du risque estimé, est-il pertinent et nécessaire de mettre en place une surveillance de *Vibrio parahaemolyticus* dans le milieu marin (zones conchylicoles) et/ou un plan de surveillance de *V. parahaemolyticus* dans les mollusques bivalves vivants à la production ou à la mise sur le marché ?

2 : Les méthodes de recherche de cette bactérie n'étant pas encore normalisées,

- Quelle méthode de détection disponible devrait être utilisée pour la détection de *Vibrio parahaemolyticus* dans l'eau et dans les coquillages? Quelle méthode de numération disponible devrait être utilisée afin de quantifier la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans les coquillages ?
- A partir de ces méthodes, quel seuil pourrait être considéré comme une dose infectieuse, au-delà de laquelle des mesures de gestion de coquillages et/ou de zones devraient être prises?

Enfin, il pourrait être intéressant d'étendre, dans un second temps, le champ de vos investigations aux autres espèces marines, susceptibles d'être consommées, et pouvant présenter un risque *Vibrio*.

Je vous saurai gré de bien vouloir rendre votre avis pour le 31 août 2011.

Si certaines questions méritent une réflexion plus approfondie qui ne vous permettrait pas de répondre à la date demandée, ou si vous souhaitez préciser les attentes et le périmètre d'expertise de cette saisine, je vous remercie de prendre l'attache de mes services, qui se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

Je vous remercie de bien vouloir m'accuser réception de la présente demande.



Pascale BRIAND
Directrice générale de l'alimentation

Copies :

- DGAL BAST, SDASEI (SIVEP)
- DGS
- DGCCRF

Annexe 2 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts

Cette partie présente les liens déclarés par les experts dans le cadre de leur déclaration publique d'intérêts et précise d'une part comment ces liens ont été analysés par rapport au domaine sur lequel porte la saisine et d'autre part la manière dont ils ont été gérés, eu égard à un risque potentiel de conflit d'intérêts.

Les déclarations publiques d'intérêts sont mises à jour par les experts à chaque changement de situation. Au cours des expertises, les liens d'intérêts sont réexaminés au vu de l'ordre du jour au début de chaque réunion.

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

IF	Intérêts financiers dans le capital d'une entreprise
IP-A	Interventions ponctuelles : autres
IP-AC	Interventions ponctuelles : activités de conseil
IP-CC	Interventions ponctuelles : conférences, colloques, actions de formation
IP-RE	Interventions ponctuelles : rapports d'expertise
IP-SC	Interventions ponctuelles : travaux scientifiques, essais, etc.
LD	Liens durables ou permanents
PF	Participation financière dans le capital d'une entreprise
SR	Autres liens sans rémunération (relatifs à un parent)
SR-A	Autres liens sans rémunération)
VB	Activités donnant lieu à un versement au budget d'un organisme

Membres du CES « Microbiologie » et/ou du CES « Biorisk » ayant participé aux délibérations du rapport

VILLENA	Isabelle Présidente du CES « Microbiologie » mandat 2009-2012 Vice-présidente du CES « Biorisk » mandat 2012-2015 Analyse Anses : <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 12/06/2012
AUGUSTIN	Jean-Christophe Analyse Anses : <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 12/06/2012
BEAUFORT	Annie Analyse Anses : <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 15/02/2011
BRUGERE	Hubert Analyse Anses : <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la</i>	Date de déclaration des intérêts

Analyse Anses :	<i>thématique de la saisine</i>	27/06/2012
CARTIER Analyse Anses :	Philippe <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 21/12/2011
CERF Analyse Anses	Olivier Vice-président du CES « Microbiologie » mandat 2009-2012 Président du CES « Biorisk » mandat 2012-2015 <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 02/03/2012
COLIN Analyse Anses :	Pierre <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 17/03/2012
DANTIGNY Analyse Anses :	Philippe <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 26/01/2011
FEDERIGHI Analyse Anses :	Michel <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 21/12/2011
GARRY Analyse Anses :	Pascal <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 12/06/2012
LECLERCQ Analyse Anses :	Alexandre <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 27/03/2012
MALLE Analyse Anses :	Pierre <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 09/12/2010
MIMOUNI Analyse Anses :	Alain <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 05/05/2011
PICOCHÉ Analyse Anses :	Bernard <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 12/06/2012
PIERRON Analyse Anses :	Etienne <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 30/03/2012
POMMEPUY Analyse Anses :	Monique <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 28/06/2012

ROSEC	Jean-Philippe <i>V.B :</i> <i>Dans la mesure où le lien déclaré est susceptible de mener à une situation de conflit d'intérêts, Mr Rozec n'a participé à aucune séance de CES traitant de cette saisine. Il a fait l'objet d'une audition.</i>	Date de déclaration des intérêts 05/05/2011
SPINLER	Henry-Eric <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 31/03/2012
VAILLANT	Véronique <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 21/03/2012

 POUR LE GROUPE DE TRAVAIL

CERF	Olivier Président du GT « vibrio parahaemolyticus » <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 02/03/2012
-------------	--	--

COPIN	Stéphanie <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 10/03/2011
GOUALI	Malika <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 06/04/2011
HERVIO-HEATH	Dominique <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 18/04/2011
GUILLIER	Laurent <i>Pas de risque de conflit d'intérêt par rapport à la thématique de la saisine</i>	Date de déclaration des intérêts 20/09/2011

Annexe 3 : nombre d'analyses nécessaires à différentes précisions de l'estimation des paramètres de contamination des coquillages à la sortie de l'eau

Hypothèses sur la technique d'analyse

L'estimation de la concentration en *Vibrio parahaemolyticus* / gramme de tissu comestible est une technique quantitative avec une limite de détection estimée à 10 unités/g (qui est ici confondue avec une limite de quantification). La recherche de *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes n'est effectuée qu'en présence de la détection quantifiable de *Vibrio parahaemolyticus*.

La technique d'analyse suggérée étant la real-time RT-PCR, l'analyse des souches de *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes est considérée comme exhaustive de toutes les souches de *Vibrio parahaemolyticus* quantifiées (non effectuée sur un sous-échantillon, par exemple sur quelques colonies d'un échantillon x de colonies de VP).

Hypothèses pour les scénarios de contamination

Du fait de l'absence de données quantifiées de contaminations de coquillages dans les zones côtières françaises, le modèle USA (US-FDA 2005) sera utilisé et tiendra compte des données environnementales disponibles sur les côtes françaises. Deux scénarios ont été testés, connaissant la dépendance entre *Vibrio parahaemolyticus* et la température de l'eau de mer. La situation estivale, aboutissant à un risque de contamination plus élevée dans les coquillages est prise en référence pour deux zones hydrologiques distinctes.

- Températures théoriques de l'eau de mer

Un premier scénario pessimiste (24°C de température moyenne de l'eau), avec une température de l'eau de mer élevée, mais aboutissant à un grand nombre de résultats quantifiables, et un scénario plus optimiste (17°C de température moyenne de l'eau) aboutissant à un faible nombre de résultats quantifiables. Les caractéristiques de ces distributions sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 19: distributions Normales de la température de l'eau de mer prises en considération

Scénario	moyenne	écart-type
« pessimiste »	24	3
« optimiste »	17	4

- Contamination théorique en *V. parahaemolyticus* (VP)

Les paramètres de la distribution de la contamination en *V. parahaemolyticus* peuvent être déduits des distributions précédentes (méthode détaillée dans la partie AQR (US-FDA 2005)). Les caractéristiques des deux distributions de contamination par gramme de coquillages comestibles (une pour chaque scénario) sont données dans le **Tableau 20**, ainsi que la proportion de résultats quantifiables pour une limite de quantification à 10 copies. Les contaminations en \log_{10} sont normales et ce sont les caractéristiques de cette normale qui sont données dans le **Tableau 20** (Le 2,5^{ème} percentile peut aussi être évalué selon la formule : $m + 2\sigma$)

Tableau 20 : distributions Normales en \log_{10} de *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

Scénario	Moyenne (m)	écart-type (σ)	% quantifiable (>10 unités/g ou 1 en \log_{10})	2,5 ^{ème} percentile le plus élevé
« pessimiste »	1.44	1,615	66%	3,52
« optimiste »	-0.24	1,2369	15.8%	2,18

Ces scénarios sont confortés par une étude aux Pays-Bas (août à octobre) montrant une prévalence dans les huîtres entre 20 (juin à décembre, zones de production, 2006) à 44,4% (août à octobre, distribution,

2006) (Schets, Van Den Berg *et al.* 2010). Dans les moules, la prévalence observée était de 39,5% (Lhafi and Kühne 2007).

- Proportion de *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes (VPP)

Deux types de proportions ont été envisagées dans les rapports US-FDA et peuvent être exprimés en % (US-FDA 2005). La première publication de référence utilisée en 2005 pour la proportion de *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes est celle de De Paola *et al.* (DePaola, Kaysner *et al.* 2002) pour la région Pacifique, avec un % de l'ordre de 2,3% (27 VPP/1103 VP ajustés à une distribution Bêta). La deuxième publication est celle de Kaufman *et al.* (Kaufman, Bej *et al.* 2003) pour le golfe du Mexique, et estime un pourcentage de 0,18% (44/5159). Pour notre étude, nous avons pris la distribution Bêta, issue du rapport de l'US-FDA, qui donne la proportion moyenne de VPP la plus faible, de 0,18%, et utilisée par eux dans les régions atlantiques nord américaines.

Les paramètres $\alpha=0,394$ et $\beta=221$ sont ceux obtenus par maximum de vraisemblance [(US-FDA 2005) avec une distribution Bêta, pour une proportion moyenne de 0,18% (on ne tient pas compte de l'incertitude sur l'estimation de ces paramètres).

Constitution d'un échantillon théorique de VP à partir des populations définies précédemment

A partir des distributions définies précédemment, on crée un échantillon de résultats théoriques par simulation de Monte-Carlo pour n analyses. Deux types de résultats sont engendrés, n résultats pour VP (*Vibrio parahaemolyticus*), et autant de résultats de VPP quantifiés (*Vibrio parahaemolyticus* pathogènes) que de résultats *Vibrio parahaemolyticus* quantifiables sur les n analyses.

Les formules appliquées sont les suivantes pour l'analyse numéro (i) :

Si $\text{Log}_{10}(\text{VP}_i) = N_i > 1$;

$P_i \sim \text{Bêta}(\alpha=0,394, \beta=221)$

$\text{VPP} \sim \text{Binom}(10^{N_i}, P_i)$

Avec 10^{N_i} entier.

Si $\text{Log}_{10}(\text{VP})_i \leq 1 \Rightarrow \text{VPP} = \text{NA}$ non pris en compte pour estimation de la proportion de VPP

Ceci peut s'expliquer de la façon suivante : sur une analyse i de *Vibrio parahaemolyticus*, la proportion ou la probabilité d'être pathogène est relativement constante. Le nombre de souches VPP peut être déduit de VP par une distribution binomiale, avec un nombre d'essais égal au nombre de VP, et une probabilité d'être pathogène de P . Entre des analyses différentes, cette proportion peut être un peu différente, et la valeur de P pour chaque analyse est prise dans la distribution Bêta, décrivant la proportion de pathogènes et définie précédemment.

Comme on a bâti deux échantillons en fonction de la température de l'eau à 24°C en moyenne et 17°C, on obtient quatre séries de résultats.

Ré-estimation des paramètres de contamination à partir d'un échantillon de taille n issu du grand échantillon précédent et de leur incertitude

Pour un échantillon de taille n , on a autant de résultats que de nombre d'échantillons, tirés au sort parmi 2000 pour VP.

Les résultats en VP sont censurés, avec en \log_{10} , une limite à 1 (en deçà il peut y avoir une contamination non quantifiable).

La censure est prise en considération pour la ré-estimation des paramètres de contamination de la loi normale, (package fitdistrplus) avec une limite inférieure à -5 (en \log_{10}) et une limite supérieure à 1, ainsi qu'une optimisation de type Nelder-Mead (Delignette-Muller, Pouillot *et al.* 2010).

L'incertitude sur l'estimation des paramètres (moyenne et écart type) est évaluée par bootstrap.

La gamme de valeurs testées de taille d'échantillon est entre 40 et 200 (incrément 10).

A partir d'un échantillon de taille n , on a effectué ensuite une ré-estimation des paramètres de contamination en *Vibrio parahaemolyticus* et de leur incertitude à partir d'un sous-échantillon de taille n_c (non-censurés). Seuls les résultats au-dessus de la limite de quantification sont utilisés pour cette estimation. De la même façon que dans l'approche préconisée par l'US-FDA, le rapport entre le nombre de souches de VP/g et le

nombre de souches de VPP/g (somme sur toutes les analyses confondues) est utilisé pour ajuster une distribution Bêta.

Les paramètres de cette nouvelle distribution Bêta sont

$$\alpha_n = \sum_{1}^{nc} VPP + 1$$

$$\beta_n = \sum_{1}^{nc} VP - \sum_{1}^{nc} VPP + 1$$

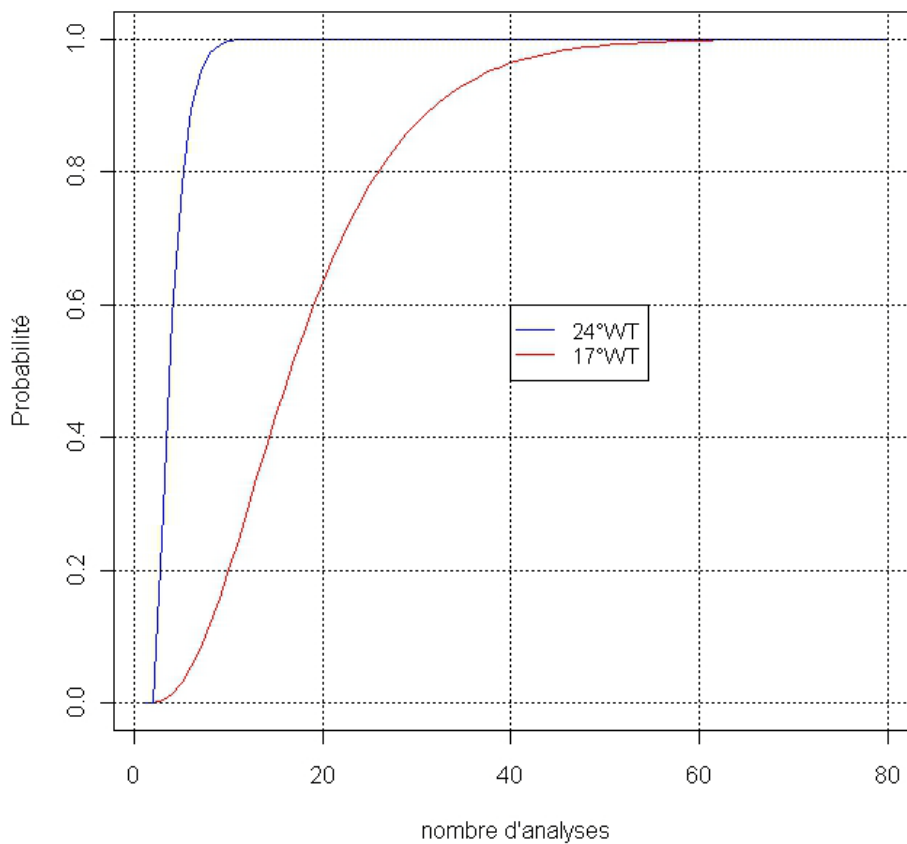
Cette formule est issue d'une approche bayésienne pour estimer l'incertitude sur une proportion par une distribution Bêta [(Vose 2000), page 168], avec une distribution *a priori* non informative (Bêta(1,1)).

Les quantiles de cette distribution Bêta(α_n, β_n) pour les deux scénarios utilisés (température de l'eau de mer à 24 ou 17°C), et en fonction du nombre d'analyses n pour quantification en VP, sont utilisés pour estimer l'incertitude relative à l'estimation de la proportion, qui peut être comparée à la distribution Bêta d'origine (US-FDA 2005).

Résultats et conclusion

Il faut au moins deux échantillons quantifiés (trois si possible) pour estimer les paramètres d'une normale (avec des données censurées à 10 copies). La **Figure 8** montre la probabilité d'avoir au moins trois résultats quantifiés dans un échantillon de taille n pour les deux scénarios de température estivale.

Pour le scénario pessimiste (moyenne température de l'eau à 17°C), pour avoir 95% de chance d'avoir un nombre de données quantifiables suffisant, il faut un nombre d'analyses supérieur à 38. Le principe du calcul est d'utiliser la probabilité ps pour un échantillon de dépasser la valeur seuil (>10 ou 1 en log10) (% quantifiable du tableau), et d'introduire cette probabilité dans une distribution binomiale (nombre d'essais = nb d'échantillons=n). On peut évaluer directement en fonction de n et de ps la probabilité que trois échantillons dépassent la valeur seuil.

Probabilité d'avoir au moins 3 résultats quantifiables dans échantillon**Figure 8 : probabilité d'avoir 3 résultats quantifiables en VP en fonction du nombre d'échantillons**

La **Figure 9** montre les résultats qui peuvent être obtenus pour une taille d'échantillon entre 40 et 200 pour l'estimation des paramètres de contamination (en \log_{10}) de *Vibrio parahaemolyticus*, à savoir la moyenne et l'écart type de la distribution normale, et leur incertitude associée par un quantile à 95% (IC95). Les valeurs théoriques, celles de la distribution d'origine, sont indiquées en noir. Les résultats sont à gauche pour le scénario « pessimiste » (température moyenne de l'eau à 24°C), à droite pour le scénario « optimiste » (température moyenne de l'eau à 17°C).

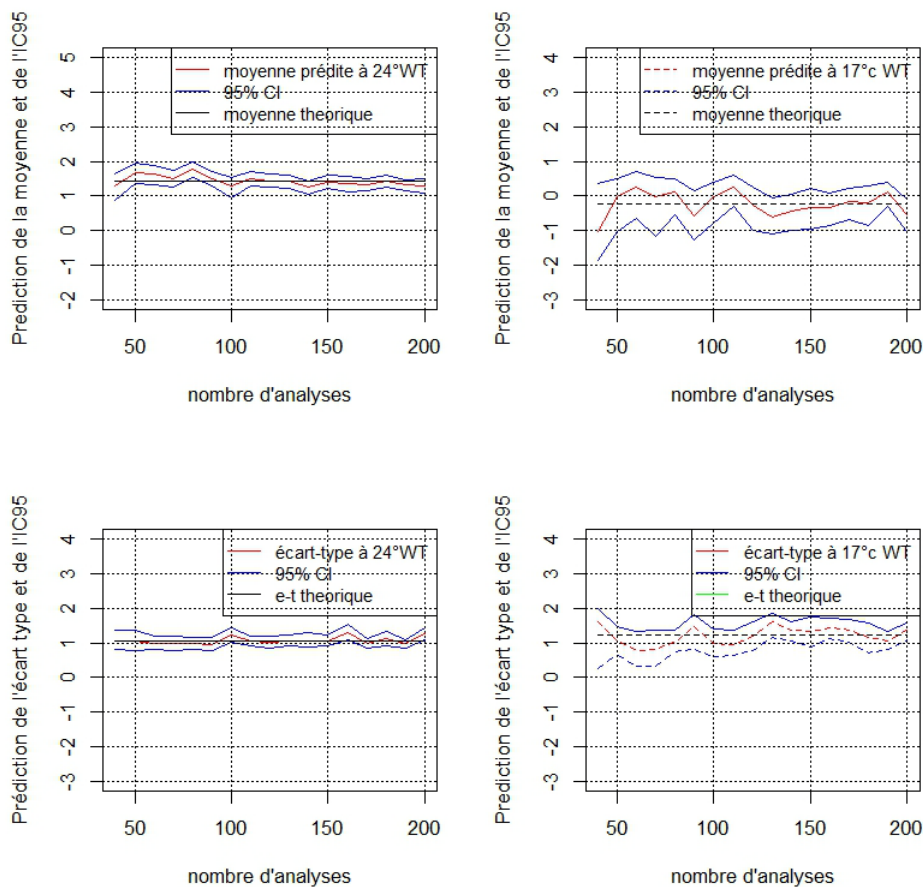


Figure 9: effet de la taille de l'échantillon sur l'incertitude des paramètres (moyenne et écart type) de contamination de *Vibrio parahaemolyticus*/g de coquillages, fonction de la température de l'eau

Les résultats indiquent qu'une valeur d'échantillon de taille supérieure à 50 et inférieure à 100 semble être suffisante pour que la moyenne théorique soit bien dans l'intervalle de l'IC 95 issu de l'échantillon, et que la précision se stabilise, pour les deux scénarios envisagés.

La Figure 10 ci-dessous montre les résultats qui peuvent être obtenus pour une taille d'échantillon entre 40 et 200 pour l'estimation de la proportion de *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes (TDH+), à savoir la médiane et l'IC d'une distribution Bêta, et leur incertitude associée par un quantile à 95% (IC95), représentée en \log_{10} , en haut à gauche pour le scénario à 24°C, en haut à droite pour le scénario à 17°C.

Le bas de la **Figure 10** indique à gauche l'estimation théorique d'origine, et son incertitude associée (IC 95) basée sur des données américaines.

Là encore, une taille d'échantillon entre 50 et 100 semble être suffisante, si on prend un critère un peu plus permissif que le premier. La médiane de l'échantillon (en haut à droite) est bien dans l'intervalle de l'IC 95 issu de la distribution théorique (en bas à gauche), proche de la valeur théorique, et la précision se stabilise, pour les deux scénarios envisagés entre 50 et 100. Cependant l'estimation est instable, car si un échantillon est très fortement contaminé (événement relativement rare), ou s'il y a peu de données non nulles (effet de la censure et du niveau de contamination) cela peut avoir un fort impact sur l'estimation finale. C'est ce qui se passe en haut à droite, ou peu de valeurs sont non-censurées, et si elles ne le sont pas, les valeurs de contamination peuvent être plus faibles que dans le cas précédent.

De surcroît, il peut paraître étonnant que l'estimation sur des tailles d'échantillons entre 50 et 100 soit plus précise (IC95 plus petit) que l'estimation théorique d'origine, basée sur des données de l'US-FDA. La méthode d'estimation des paramètres de la Bêta et de leur incertitude dans le cas de l'US-FDA n'est pas la même, plus complexe. A titre de comparaison, un exemple de distribution non informative [Bêta(1,1)] est indiqué en bas à droite.

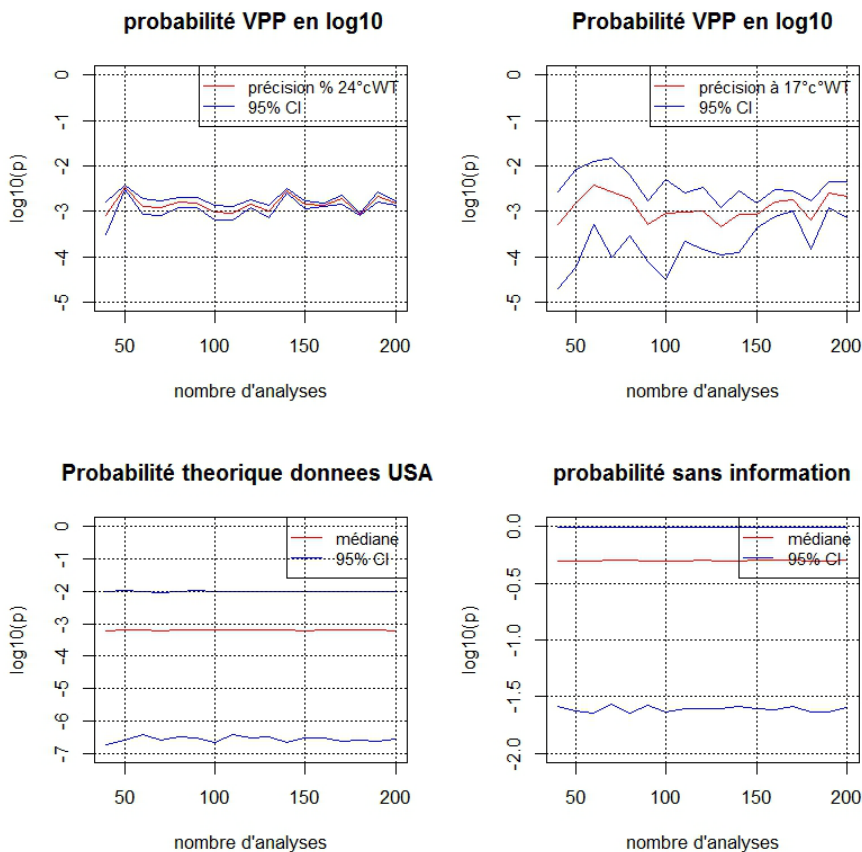


Figure 10 : estimation de l'incertitude sur la proportion de VP pathogènes/VP en fonction du nombre d'échantillons et de la température théorique de l'eau

Conclusion

La valeur arbitrairement retenue est au minimum de 60 analyses pour dénombrement de *Vibrio parahaemolyticus*, suivi de l'estimation de la concentration en *Vibrio parahaemolyticus* pathogènes (TDH+) (pour tout résultat détecté positif et quantifiable en *Vibrio parahaemolyticus*) pour une population homogène.

Annexe 4 : origine des coquillages

	Part import	Part élevage	Part Exportations/production
Huîtres	3%	100%	6%
Moules	63%	92%	8,7%
Coquilles saint Jacques*	99,4%	17%	96%

Origine des coquillages

Pays	%
IRLANDE	60,65
ESPAGNE	11,41
ROYAUME UNI	10,09

Huîtres

Moules /catégorie	total poids vif	%
vivant, frais, réfrigéré	44860	41
congelé, salé	13878	12,5
conserves	51526,35	46,50
total	110264,35	100

Dans la catégorie vivant, frais, réfrigéré, pour les moules

Pays	%
ESPAGNE	26,5
PAYS BAS	25,7
IRLANDE	13,1
GRECE	12,9
ITALIE	12,6
ROYAUME UNI	5,0
TOTAL	95,7

Répartition des importations par pays : moules fraîches

Pays	%
IRLANDE	36,37
ESPAGNE	16,17
NLLE ZELANDE	13,04
DANEMARK	10,47
ALLEMAGNE	9,36
total	85,42

Répartition des importations par pays: moules congelées, salées

Pays	%
CHILI	38,92
IRLANDE	18,53
DANEMARK	16,54
PAYS BAS	12,80
ESPAGNE	6,39
total	93,18

Répartition des importations par pays : moules conserves

Notes



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