

EVALUATION DE LA CONTAMINATION DES MOLLUSQUES BIVALVES VIVANTS ET DES PRODUITS DE LA PECHE PRELEVES AU STADE DE LA DISTRIBUTION EN FRANCE PAR DES *VIBRIO* POTENTIELLEMENT ENTEROPATHOGENES

Stéphanie Copin ¹, Virginie Ragueneau ¹, Antoine Véron ², Candice Wacrenier ², Mélanie Gay¹, Graziella Midelet ¹, Dominique Hervio Heath ³, Pascal Garry ²

Auteurs correspondants : stephanie.copin@anses.fr ; pascal.garry@ifremer.fr

- ¹ Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Unité Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture, Boulogne sur Mer, France
- ² Ifremer, Laboratoire de Microbiologie, LSEM/SG2M, Nantes, France
- ³ Ifremer, Laboratoire Adaptation, Reproduction et Nutrition des poissons, LARN/PFOM, Plouzané, France

Résumé

Les vibrions, bactéries de la famille des *Vibrionaceae*, sont présents naturellement dans les eaux côtières et estuariennes du monde entier et chez de nombreuses espèces de coquillages et de crustacés fréquemment consommés en France. Certaines espèces (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139) peuvent induire des phénomènes pathologiques chez l'Homme suite à la consommation de produits de la mer crus, insuffisamment cuits ou contaminés après cuisson. Le plan exploratoire mis en œuvre en 2019 par la Direction générale de l'Alimentation du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation avait pour objectif d'estimer la contamination de produits de la mer prélevés au stade de la distribution en France par ces trois espèces de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes et par conséquent l'exposition potentielle des consommateurs. La contamination des échantillons a été déterminée selon la méthode décrite dans la norme ISO 21872-1:2017. Parmi les 92 échantillons de coquillages vivants et les 95 échantillons de produits de la pêche crus ou cuits analysés, seuls des produits crus (moules, huîtres et crevettes) étaient contaminés par *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et/ou *V. cholerae*. Des souches *V. parahaemolyticus* potentiellement entéropathogènes (présence de *tdh* et/ou *trh*) ont été isolées de moules (n=5) et d'huîtres (n=10). Dans le futur, il sera essentiel d'évaluer les niveaux de contamination de tels produits afin de mieux estimer le risque pour le consommateur.

Mots clés : *Vibrio* spp. entéropathogènes, coquillages, crustacés, contamination, distribution

Abstract

Contamination of seafood products collected at the retail level in France by enteropathogenic *Vibrio* spp.

Vibrios, bacteria of the *Vibrionaceae* family, are naturally present in coastal and estuarine waters worldwide and in many species of shellfish and crustaceans frequently consumed in France. Some species (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139) can induce pathological phenomena in humans following the consumption of raw, undercooked or seafood contaminated after cooking. The objective of the 2019 exploratory plan of the general Directorate for Food of the ministry for Agriculture and Food was to estimate the contamination of seafood collected at the retail level in France by these three species of potentially enteropathogenic *Vibrio* and therefore the potential exposure of the consumer. Contamination was assessed according to the method described in standard ISO 21872-1:2017. Among the 92 samples of live shellfish and 95 samples of raw or cooked seafood products analyzed, only some raw products (mussels, oysters and shrimps) were contaminated with *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and / or *V. cholerae*. Potentially enteropathogenic *V. parahaemolyticus* strains (presence of *tdh* and / or *trh*) were isolated from mussels (n=5) and oysters (n=10). Future studies should include determination of contamination levels of such products in order to better estimate the risk for the consumer.

Keywords : Enteropathogenic *Vibrio* spp., shellfish, seafood products , contamination, retail

Le genre *Vibrio* (famille des *Vibrionaceae*) comprend 129 espèces recensées par le site List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN 2020). Les *Vibrio* sont présents naturellement dans les eaux côtières et estuariennes du monde entier (eaux douces et saumâtres) où ils se trouvent à l'état libre ou associés à différents supports (plancton, sédiment, organismes marins, poissons, mollusques, éponges, coraux, etc.). Une combinaison de facteurs environnementaux propre à chaque habitat détermine la saisonnalité des vibrions (Vezzulli *et al.* 2009). Hormis les souches de *Vibrio cholerae* O1 ou O139, agents du choléra, l'espèce *V. cholerae* comporte des souches associées à des pathologies moins graves. Ces dernières souches sont nommées « *V. cholerae* non-O1/non-O139 » et font partie des « vibrions non cholériques » (VNC), tout comme *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio vulnificus* (Anses 2019). Parmi les souches considérées comme potentiellement entéropathogènes sont répertoriées celles appartenant aux espèces :

- *V. parahaemolyticus*, qui possèdent le gène d'au moins une des deux hémolysines produites dans le tube digestif humain : la TDH (Thermostable Direct Hemolysin) ou la TRH (TDH-Related Hemolysin) ;
- *V. cholerae*, appartenant aux sérogroupes O1 ou O139 ;
- *V. cholerae* non-O1 et non-O139, qui possèdent les gènes de la toxine cholérique ;
- *V. vulnificus*.

Concernant *V. vulnificus*, les facteurs de pathogénicité majeurs n'étant pas clairement identifiés à ce jour, toutes les souches sont considérées comme pathogènes.

Du fait de leur habitat, ces vibrions peuvent provoquer des phénomènes pathologiques chez l'Homme après ingestion de produits de la mer crus, insuffisamment cuits ou contaminés après

cuisson ou à la suite d'un contact avec l'environnement côtier et estuarien. De récentes études menées sur des coquillages et des produits de la pêche (crustacés, poissons) mis sur le marché ou prélevés dans des zones de production ont révélé la présence des trois principaux vibrions non cholériques pathogènes pour l'Homme dans ces produits et dans les eaux littorales françaises (Hervio-Heath D. 2017) (Copin S. 2015). Dans ce contexte, le risque sanitaire potentiel pour l'Homme associé aux *Vibrio* spp. justifie la mise en place d'une vigilance accrue sur ces pathogènes potentiellement émergents. De plus, il est important de souligner qu'en France, comme dans les autres pays européens, l'incidence des infections à vibrions non cholériques est probablement sous-estimée, y compris pour les formes les plus sévères. En effet, ces infections sont probablement sous-diagnostiquées car elles ne sont pas à déclaration obligatoire, excepté dans le cadre d'investigation de toxi-infection alimentaire collective (TIAC).

Actuellement, la réglementation européenne en matière de sécurité des aliments (Règlement (CE) N°2073/2005 modifié ⁽¹⁾) ne prévoit pas de critère microbiologique spécifique applicable aux vibrions pathogènes pour l'Homme dans les aliments d'origine marine mais préconise d'élaborer des méthodes d'analyse fiables pour l'évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus* dans les produits de la mer. En France, il n'existe pas de plan de surveillance ou plan de contrôle systématique défini par la Direction générale de l'Alimentation (DGAl) ou la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) pour les bactéries du genre *Vibrio* dans les produits de la pêche ou les coquillages vivants.

Entre 1961 et 2011, la production de produits de la mer (crustacés, mollusques et échinodermes inclus) a quasiment quadruplé dans le monde (Lewandowski 2018). En France, la production nationale ne satisfait pas toujours la demande des consommateurs et nécessite d'avoir recours aux importations, souvent de régions chaudes ou de pays en développement. En parallèle, le mode de consommation des produits de la mer a évolué et le volume de produits consommés crus est en augmentation, y compris pour la préparation à domicile de plats à base de poissons crus ou marinés. Depuis 2012, la consommation des ménages français en sushis/sashimis/makis est en hausse, avec une stabilisation en 2018 et 2019 (FranceAgrimer Editions Août 2020).

Compte tenu du développement croissant des *Vibrio* spp. observé depuis quelques années dans les eaux côtières, consécutif à l'anthropisation du littoral et au réchauffement climatique (Ferchichi H. 2021), les produits de la mer peuvent présenter un risque sanitaire pour la sécurité des consommateurs. De plus, l'évolution des modes de consommation (consommation de produits crus ou peu cuits) et l'explosion de l'aquaculture pourraient entraîner une augmentation du risque de vibriose dans les années à venir.

Tous ces éléments ont conduit à la mise en œuvre d'un plan exploratoire en 2019, dont l'objectif était d'estimer la contamination des produits de la mer par des *Vibrio* potentiellement entéropathogènes au stade de la distribution sur l'ensemble du territoire français métropolitain. Ce plan a été mis en place et financé par la Direction générale de l'Alimentation du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation. Cet article présente le bilan des résultats obtenus dans le cadre de ce plan relatif à la contamination de mollusques bivalves vivants, de crustacés et de coquillages décoquillés par *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio vulnificus* au stade de la distribution. Il permettra de mieux apprécier l'exposition potentielle du consommateur à ces pathogènes potentiellement émergents.

(1) [Règlement \(CE\) N°2073/2005 \(modifié\)](#) de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (JO L 338 du 22.12.2005, p. 1)

MATERIEL ET METHODE

Echantillonnage

Le plan d'échantillonnage et les conditions de conservation et d'acheminement des échantillons ont été décrits dans le cadre de l'instruction technique n° 2018-957 du 27 décembre 2018 ⁽²⁾. Il prévoyait le prélèvement, au stade de la distribution (grandes et moyennes surfaces (GMS) ou commerce de détail), de 100 échantillons de mollusques bivalves vivants (70 échantillons d'huîtres et 30 échantillons de moules) et de 100 échantillons de produits de la pêche (75 échantillons de crustacés et 25 échantillons de coquillages décortiqués). La répartition des échantillons dans les treize régions métropolitaines a été définie proportionnellement à la densité de population humaine présente dans chaque région. L'ensemble des prélèvements a été réalisé par les agents des Directions Départementales en charge de la Protection des Populations (DDecPP).

Pour les mollusques bivalves, afin de cibler la période la plus à risque (période estivale), la majorité des prélèvements a été réalisée du 1^{er} avril au 31 octobre 2019. Les échantillons étaient constitués *a minima* de douze huîtres ou de 30 moules afin d'obtenir au moins 50 g de matrice à analyser. Pour les produits de la pêche, de toutes origines géographiques à travers le monde (crus réfrigérés, crus congelés, cuits réfrigérés, cuits congelés), les prélèvements se sont déroulés du 2 janvier au 31 octobre 2019. Les prélèvements étaient constitués *a minima* de 150 g de matrice et devaient être immédiatement congelés et acheminés au laboratoire sous froid négatif dans un délai maximal de 60 heures ⁽²⁾.

Analyses

- **Méthodes de détection**

Pour être détectées et isolées, certaines espèces de *Vibrio* stressées par la déshydratation ou la congélation des aliments nécessitent une étape préalable de revivification pour améliorer la détection et l'isolement de ces bactéries. Dans les produits frais, la récupération de *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* est améliorée par un pré-enrichissement à 41,5 ±1°C et la récupération de *V. vulnificus* est améliorée par un pré-enrichissement à 37 ±1°C. Dans les produits congelés, séchés ou salés, la récupération de *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* est améliorée par un pré-enrichissement à 37 ±1°C.

Tous les échantillons du plan exploratoire ont été analysés selon la norme ISO 21872-1:2017 (ISO 2017). Brièvement, cette méthode est basée sur deux enrichissements successifs en milieu sélectif liquide à base d'eau peptonée alcaline salée (EPAS) à deux températures (37±1°C et 41,5±1°C), suivis d'un isolement sur deux milieux sélectifs solides (sur le thiosulfate, citrate, bile et saccharose (TCBS) et sur un deuxième milieu au choix du laboratoire, ici le milieu CHROMagar™ *Vibrio*) sur lesquels les *Vibrio* potentiellement entéropathogènes forment des colonies caractéristiques. Les colonies présomptives de *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* isolées sur les deux milieux sélectifs et positives au test de l'oxydase (Ox+), ont été sélectionnées pour être analysées par des techniques de biologie moléculaire, conformément à la norme ISO 21872-1:2017.

(2) [Instruction technique DGAL/SDSSA/2018-957](#) du 27 décembre 2018 concernant le plan exploratoire relatif à la surveillance de la contamination des produits de la pêche et des mollusques bivalves par les *Vibrio* spp.

- **Identification moléculaire**

Chaque souche bactérienne qu'elle soit isolée de crustacés ou de coquillages a été identifiée selon le protocole suivant. Après extraction de l'ADN des colonies présomptives Ox+ par lyse thermique, des PCR ciblant des marqueurs d'espèce (*V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae*) et de pathogénicité (TDH et TRH pour *V. parahaemolyticus* ; *ctxA* et *ctxB* pour *V. cholerae*) ont été réalisées (Tableau 1). Le sérotypage (O1 et O139) des colonies appartenant à l'espèce *V. cholerae* a été systématiquement réalisé.

Pour les coquillages vivants uniquement, en plus des analyses effectuées sur les colonies isolées, les ADN des bouillons d'enrichissement en EPAS ont également été extraits pour procéder à un criblage par PCR (Tableau 1), comme proposé dans le paragraphe 4.5 de la norme ISO 21872-1:2017 (étape optionnelle). La faisabilité de ce criblage a été validée uniquement sur les coquillages.

Tableau 1. Espèces de *Vibrio* et cibles et régions géniques retenues pour les analyses PCR ; les références bibliographiques des PCR sont disponibles auprès des LNR

Espèces ciblées par la PCR	Cible
<i>V. parahaemolyticus</i>	R72H
	<i>tdh</i> *
	<i>trh</i> *
<i>V. cholerae</i>	ISR
	<i>ctxA</i> *
	<i>ctxB</i> *
<i>V. vulnificus</i>	<i>hly</i>
	<i>vvha</i>

tdh et *trh* * : gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH de *Vibrio parahaemolyticus*

ctxA et *ctxB** : gènes codant pour les sous-unités A et B de la toxine cholérique de *Vibrio cholerae*

RESULTATS

Échantillonnage

- **Mollusques bivalves vivants**

Un total de 108 échantillons a été réceptionné, parmi lesquels 92 ont pu être analysés. Seize échantillons n'ont pu être analysés pour les raisons suivantes : prélèvements réalisés hors période du plan exploratoire (3), prélèvements congelés (3), mollusques morts (6) ou délai de transmission au laboratoire excessif (4). Les 92 échantillons analysables correspondaient à 59 lots d'huîtres et 33 lots de moules. Pour la période de juin à octobre 2019, le laboratoire a reçu 60 échantillons. Les températures à réception des échantillons analysables étaient comprises entre 2,6 et 15,8 °C avec une moyenne à 9,3 °C. Le délai de transport était inférieur à 24h à l'exception de deux échantillons pour lesquels le délai de transport était de 48h. L'ensemble des échantillons d'huîtres étaient d'origine française ; pour les moules, 25 d'entre eux provenaient de France, six d'Espagne, un d'Italie et un des Pays Bas.

- **Produits de la pêche**

Au total, 104 échantillons de produits de la pêche ont été prélevés sur les 100 prescrits. Seuls 95 échantillons ont été analysés. En effet, neuf d’entre eux ne correspondaient pas aux critères d’acceptabilité définis dans le plan exploratoire : ils sont arrivés décongelés au laboratoire et ont été exclus. Les 95 échantillons analysables correspondaient à 35 échantillons de produits de la mer crus et 60 échantillons de produits cuits, conditionnés en barquettes sous vide, en cartons ou en vrac à l’étal tel que proposé au consommateur final. La catégorie et l’état (cru, cuit) de chacun des produits réceptionnés sont illustrés dans le Tableau 2.

Tableau 2. Répartition par catégorie et par état des 95 produits de la pêche analysés

Catégorie de produits de la pêche	Etat du produit lors du prélèvement		Total
	cru	cuit	
crevettes	13	46	59
langoustines	6	2	8
crabes	1	1	2
homards	1	1	2
coquillages *	14	10	24
Total	35	60	95

* Coquillages décoquillés : moules et noix de St Jacques

Contamination des produits de la mer par des *Vibrio* potentiellement entéropathogènes

- **Résultats des PCR sur les colonies isolées des bouillons d’enrichissement pour les mollusques bivalves vivants et les produits de la pêche**

Pour l’ensemble des matrices analysées dans le plan exploratoire, les colonies présomptives *Vibrio* spp. Ox+ issues des isollements des bouillons d’enrichissement ont été confirmées par les techniques de biologie moléculaire précitées. L’ensemble des résultats est présenté sur la Figure 1.

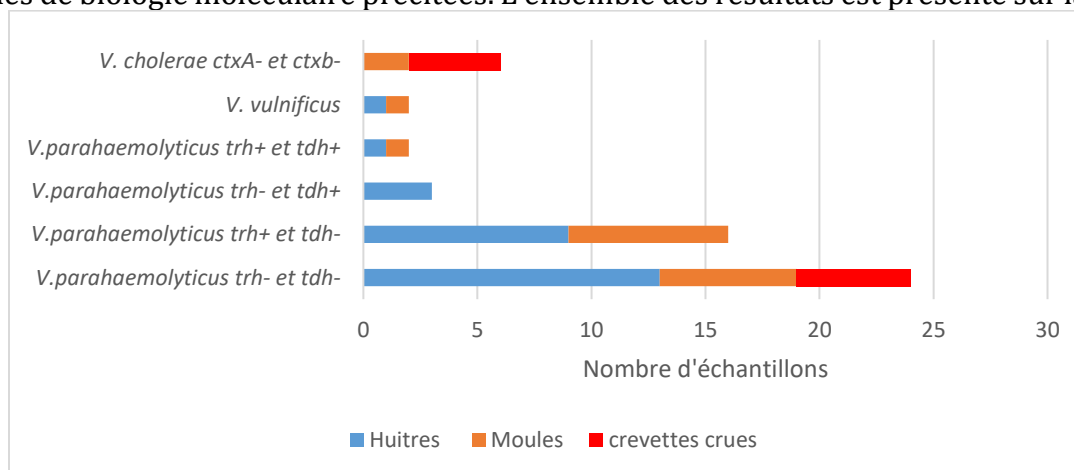


Figure 1. Répartition par type de produits des échantillons dans lesquels *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogène a été isolé (colonies)

Pour les mollusques bivalves vivants, des souches de *V. parahaemolyticus* ont pu être isolées dans 40 échantillons dont 21 d'entre elles possédaient des gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH. Des souches de *V. vulnificus* ont pu être isolées dans deux échantillons. *V. cholerae* a été isolée dans deux échantillons. Deux échantillons (1 lot d'huîtres et 1 lot de moules) étaient contaminés à la fois par *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*. La quasi-totalité de ces souches a été isolée de prélèvements effectués entre juin et octobre 2019 (41 échantillons sur 44) (Tableau 3).

Pour les produits de la pêche, *V. parahaemolyticus* était présent dans deux échantillons, *V. cholerae* dans un échantillon ; *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* étaient présents dans trois échantillons simultanément. Cependant, aucune souche isolée de *V. parahaemolyticus* ne portait de gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH et aucune souche de *Vibrio cholerae* ne possédait de gènes codant pour la toxine cholérique (*ctxA* et *ctxB*).

Tableau 3. Répartition en fonction de la période de prélèvement des échantillons de mollusques bivalves vivants dans lesquels *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogène a été détecté, soit directement par PCR dans les bouillons d'enrichissement (criblage), soit avec isolement de colonies confirmées par PCR

	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Nombre total d'échantillons reçus	10	8	13	16	9	24	10	2
Nombre d'échantillons Vp+								
- par criblage PCR dans le BE	1	0	8	12	7	22	6	2
- avec colonies isolées	1	0	7	9	4	15	2	2
Nombre d'échantillons Vv+								
- par criblage PCR dans le BE	0	0	0	0	6	5	0	0
- avec colonies isolées	0	0	0	0	1	1	0	0
Nombre d'échantillons Vc+								
- par criblage PCR dans le BE	0	0	1	1	1	3	0	0
- avec colonies isolées	0	0	0	0	1	1	0	0

BE = bouillon d'enrichissement ; Vp+ : échantillons détectés contaminés par *V. parahaemolyticus* ; Vv+ : échantillons détectés contaminés par *V. vulnificus* ; Vc+ : échantillons détectés contaminés par *V. cholerae*

- **Résultats des PCR sur les bouillons d'enrichissement pour les mollusques bivalves vivants**

Pour les mollusques bivalves vivants uniquement, les ADN de l'ensemble des bouillons d'enrichissement ont été extraits et les espèces *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* et *V. vulnificus* ainsi que les gènes de pathogénicité associés, précédemment cités, ont été recherchés par PCR. La présence de *V. parahaemolyticus* a été mise en évidence dans 58 des 92 échantillons de moules (n= 26) et d'huîtres (n= 32) analysés. La présence de gènes de pathogénicité a été détectée dans

51 de ces 58 échantillons. Les gènes *tdh* et *trh* ont été détectés simultanément dans vingt de ces 51 échantillons. Le gène *trh* a été détecté seul dans 30 échantillons et le gène *tdh* seul dans un échantillon. *Vibrio vulnificus* et *V. cholerae* ont été détectés dans respectivement onze et six échantillons. Lorsque *V. cholerae* a été détecté, les gènes de pathogénicité *ctxA* et *ctxB* n'ont pas été mis en évidence. Des échantillons étaient contaminés par plusieurs espèces : dix échantillons (6 moules et 4 huîtres) par *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*, cinq échantillons (3 huîtres et 2 moules) par *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* et un échantillon de moules pour les trois espèces de *Vibrio*. Pour ces seize échantillons, au moins un des deux gènes codant pour une hémolysine de *Vibrio parahaemolyticus* a été détecté. La répartition des échantillons positifs selon le type de mollusques bivalves est présentée sur la Figure 2. Les *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes dans les mollusques bivalves vivants (huîtres et moules) ont été principalement détectés entre juin et octobre (Tableau 3). L'ensemble des échantillons positifs avec isolement de colonies s'est avéré positif par criblage sur bouillon d'enrichissement.

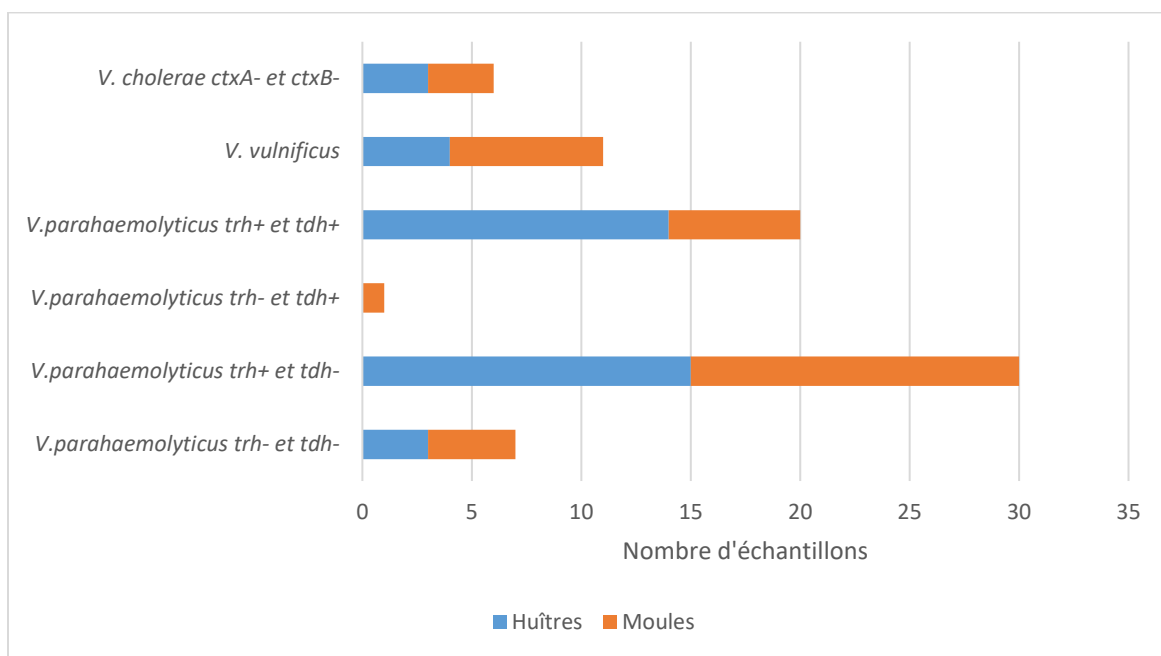


Figure 2. Répartition par type de produits des échantillons dans lesquels *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogène a été détecté par criblage PCR dans les bouillons d'enrichissement

DISCUSSION – CONCLUSION

Cette première étude à visée exploratoire a été mise en œuvre pour estimer la présence des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes dans les produits de la mer (coquillages vivants et décoquillés, crustacés) au stade de la distribution sur l'ensemble du territoire métropolitain français. Ces *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes ont été détectés dans 59 échantillons de mollusques bivalves vivants (huîtres et moules) et dans six échantillons de crevettes crues. L'échantillonnage des prélèvements réalisés en 2019 par les DDecPPs reposait sur la disponibilité des produits dans les magasins de commerce de détail ou en grandes et moyennes surfaces. Selon les données du rapport de FranceAgrimer (FranceAgrimer Editions Août 2020), les espèces sélectionnées pour cette étude reflétaient le marché français, tant pour les mollusques bivalves

vivants que pour les crustacés. En effet, en 2019, les ménages français ont acheté 74 801 tonnes de coquillages frais (dont 36 743 tonnes de moules et 21 754 tonnes d'huîtres), 11 188 tonnes de crustacés frais (dont 2 619 tonnes de crevettes crues) et 35 971 tonnes de crevettes cuites (FranceAgrimer Editions Août 2020). L'ensemble des échantillons (mollusques bivalves vivants et produits de la pêche) a été analysé selon les protocoles appropriés décrits dans la norme ISO 21872-1:2017.

Le plan exploratoire a permis de montrer, à partir des PCR réalisées sur les bouillons d'enrichissement, que sur les 92 échantillons de mollusques bivalves vivants, 58 étaient contaminés par *V. parahaemolyticus*, les moules étant contaminées dans une proportion plus importante (26/33) que les huîtres (32/59). Une grande majorité de ces produits étaient contaminés par des *V. parahaemolyticus* porteurs d'au moins un gène codant pour une des hémolysines TDH ou TRH. Le gène *trh* a été détecté dans 86 % (n=50/58) d'entre eux. Ceci est cohérent avec ce qui a été observé dans des études réalisées en France métropolitaine pour lesquelles moins de 1 % des souches *V. parahaemolyticus* isolées de l'environnement portaient le gène *tdh* et entre 10-80 % le gène *trh* (Hervio-Heath D. 2017).

Cette étude a également permis de confirmer la saisonnalité de la contamination des mollusques bivalves par les *Vibrio*, ainsi la majorité des échantillons contaminés par *V. parahaemolyticus* a été prélevée entre juin et octobre (Tableau 3). L'apparition de *V. vulnificus* est plus tardive puisque les premiers échantillons positifs ont été mis en évidence en août et septembre. Cette saisonnalité dans le milieu marin et les produits de la mer est principalement liée à la température de l'eau (Ferchichi *et al.* 2021; Anses 2019). Pour les mollusques bivalves vivants, il est important de souligner que la présence de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* a été détectée beaucoup plus souvent par criblage PCR direct sur bouillon d'enrichissement (75 échantillons) que par isolement de colonies confirmées (44 échantillons). Cette discordance pourrait être expliquée par le faible niveau de contamination des échantillons concernés par les espèces recherchées et la difficulté à isoler celles-ci des bouillons d'enrichissement obtenus, notamment lorsque la flore interférente est importante au regard des espèces recherchées. Cela souligne l'intérêt de disposer d'une méthode qui permettrait d'évaluer les niveaux de contamination et ainsi de mieux estimer le risque pour le consommateur lié à la présence de ces *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes dans les mollusques bivalves vivants.

Pour les produits de la pêche, les résultats obtenus lors de ce plan exploratoire ont souligné l'absence de *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogène dans 89 des 95 échantillons analysés (84,55 %). Les six échantillons (6,31 % du total des échantillons analysés) pour lesquels des *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* ont été détectés provenaient de lots de crevettes crues importés. Pour ces six échantillons, aucune souche de *V. parahaemolyticus* n'était porteuse des gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH et aucune souche de *V. cholerae* n'était porteuse des gènes codant pour la toxine cholérique. Aucune souche de *V. vulnificus* n'a été détectée. Par ailleurs, cette étude a permis de montrer qu'aucun des 60 produits de la pêche cuits (63 %) analysés au stade de la distribution n'était contaminé par des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes. Enfin, la prévalence des *Vibrio* spp. détectés dans les crevettes était relativement faible (6 sur 59) : ce niveau est probablement dû au fait que 78 % des crevettes analysées au cours de cette étude étaient cuites (Tableau 2). Toutefois, il est recommandé d'appliquer les bonnes pratiques d'hygiène lors de la manipulation de produits crus et produits cuits : une contamination post cuisson n'est pas à exclure (transfert par contact entre produits crus et cuits) à la vente et/ou chez

le consommateur (exemple : préparation d'étal de poissonnerie et de plateaux de fruits de mer (Martinez-Urtaza *et al.* 2016)).

Du fait du petit nombre d'échantillons analysés par type de produit, en particulier pour les produits de la pêche (crustacés), les résultats des premiers éléments chiffrés devront être consolidés. De plus, en raison de ce petit nombre d'échantillons et de la grande variété d'origine géographique des échantillons, notamment pour les crustacés (importés de 16 pays différents), il n'a pas été possible d'analyser les résultats en fonction des zones ou des régions d'origine. La présence de *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes dans les mollusques bivalves a été observée quelle que soit la zone géographique d'origine des coquillages. Cependant, l'absence de données concernant les niveaux de contamination des huîtres et moules ne permet pas de définir des zones plus à risque que d'autres pour mettre en place des moyens de maîtrise vis-à-vis des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes.

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude exploratoire montre que l'état du produit pourrait avoir un impact important puisqu'un plus grand nombre d'échantillons contaminés par *Vibrio* spp. a été observé pour les produits crus. Compte tenu de la modification des habitudes alimentaires et de l'augmentation de la consommation de produits crus par les consommateurs depuis quelques années et au vu de ces résultats, le risque lié aux *Vibrio* spp. pour les consommateurs pourrait croître à l'avenir. Selon des études récentes, le réchauffement climatique pourrait entraîner des conditions de plus en plus favorables à la prolifération des vibrions dans les eaux européennes avec des pics de concentration durant les mois les plus chauds, entraînant une probable augmentation des infections (Anses 2019; Baker-Austin *et al.* 2010). Récemment, l'émergence d'infections alimentaires à *V. parahaemolyticus* associée aux produits de la mer a été décrite en Galice, dans le nord-ouest de l'Espagne, où une TIAC (100 malades) est survenue après la consommation de crustacés (importés) et coquillages (locaux) contaminés par *V. parahaemolyticus* (Martinez-Urtaza *et al.* 2016). En Italie, des cas d'intoxications ont été signalés suite à la consommation de moules contaminées par *V. parahaemolyticus* (Ottaviani *et al.* 2010). En France, malgré la prévalence relativement élevée de *V. parahaemolyticus* dans les mollusques bivalves vivants (Anses 2013), le nombre de cas reportés de vibrioses liées à leur consommation est très faible (Anses 2019).

Si l'on considère que la croissance de *Vibrio* est importante à des températures supérieures à 18-20°C, une attention particulière doit être apportée par les opérateurs et les consommateurs pour maintenir la maîtrise des *Vibrio* spp. dans leurs procédés. La congélation immédiate ou le maintien des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche à une température réduite, tout en maintenant leur viabilité tout au long des étapes de ramassage ou de collecte dans les zones de production, de manutentions, de transport, de mise en vente, ou de stockage chez les consommateurs permet de réduire la multiplication des *Vibrio* dans ces produits et par conséquent le risque d'apparition de cas humains / vibrioses (TIAC ou cas isolés) (FAO/WHO 2020). Il pourrait être intéressant dans une future étude d'intégrer des prélèvements en restauration hors foyer, afin de prendre en compte l'ensemble de la chaîne de consommation et des conditions de conservation de ce type de produits, d'autant plus qu'il n'existe pas de données sur ce maillon en France.

A l'avenir, afin d'être en mesure d'évaluer le risque pour le consommateur, des travaux complémentaires seraient à mener pour accumuler des données pour estimer le niveau de contamination des coquillages et des produits de la pêche. Sachant, que la recherche des *Vibrio* spp. en cas de gastroentérites est rarement effectuée en France et que leur incidence est en conséquence très probablement sous-estimée, il serait intéressant de mettre en lien les niveaux de

contamination (concentrations) des coquillages et produits de la pêche avec les cas humains répertoriés et de les confronter aux valeurs de dose-réponse (Anses 2019).

Encadré 1. Modalités de surveillance des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes pour l'Homme

Cadre de la surveillance et de la réglementation

Les produits de la pêche et de l'aquaculture sont soumis à la réglementation Européenne du «Paquet Hygiène» dans lequel se trouvent les critères microbiologiques (Règlement (CE) N°2073/2005 modifié). Ce règlement ne définit aucun critère microbiologique spécifique aux *Vibrio* potentiellement pathogènes pour l'Homme.

Au niveau international, la seule méthode standardisée disponible est qualitative (ISO, 21872-1: 2017). En France, aucune modalité de surveillance spécifique n'est mise en œuvre en routine vis-à-vis des *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes pour l'Homme. Il n'existe pas de réseau de laboratoires agréés pour leur détection. Comme dans les autres pays européens, les infections à *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes ne sont pas à déclaration obligatoire, ce qui induit probablement un sous-diagnostic des pathologies induites par ces bactéries.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les différents acteurs du dispositif : les DDecPPs de l'ensemble des départements français de métropole, les services de la DGAL et du Bpmed. Les auteurs tiennent à remercier également Laurence Rudloff (DGAL) et Renaud Lailier (Anses) pour leur contribution.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anses. 2013. "Avis et rapport de l'Anses relatif à une demande d'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer. Saisine N°2010-SA-0301. [En ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2010sa0301Ra.pdf>."
- Anses. 2019. "Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : Vibrions entéropathogènes : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* non-O1/ non-O139 et *Vibrio vulnificus* [En ligne]. Disponible à l'adresse: <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0272Fi.pdf>."
- Baker-Austin, C., L. Stockley, R. Rangdale et J. Martinez-Urtaza. 2010. "Environmental occurrence and clinical impact of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*: A European perspective." *Environmental Microbiology Reports* 2 (1): 7-18.
- Copin S., Robert-Pillot Annick, Gay M., Quilici Marie-Laure. 2015. "Vibrio impliqués en pathologie humaine : une étude de leur répartition dans les produits de la mer consommés en France." *Bulletin Epidémiologique Santé animale – Alimentation* 68.

- FAO/WHO. 2020. "Risk assessment tools for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* associated with seafood. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Microbiological Risk Assessment series n°20.." *Microbiological Risk Assessment* n°20.
- Ferchichi, H., A. St-Hilaire, T. B. M. J. Ouarda et B. Lévesque. 2021. "Impact of the future coastal water temperature scenarios on the risk of potential growth of pathogenic *Vibrio* marine bacteria." *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 250. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.107094>.
- FranceAgrimer, 2019. Editions Août 2020. *La Consommation des produits aquatiques en 2019* https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/65202/document/STA_MER_CONSO_2019.pdf?version=1.
- Hervio-Heath D., Garry P. 2017. "*Vibrio*, espèces pathogènes." *Agents infectieux et/ou toxigènes avérés, émergents et réémergents. Editions Lavoisier.*
- ISO, 21872-1. 2017. *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la détermination des *Vibrio* spp. — Partie 1: Recherche des espèces de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* potentiellement entéropathogènes.*
- Lewandowski. 2018. *Bioeconomy: shaping the transition to a sustainable biobased economy.* Springer ed., édité par Springer.
- LPSN. 2020. "List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature." <https://lpsn.dsmz.de/text/introduction>.
- Martinez-Urtaza, J., A. Powell, J. Jansa, J. L. C. Rey, O. P. Montero, M. G. Campello, M. J. Z. López, A. Pousa, M. J. F. Valles, J. Trinanes, D. Hervio-Heath, W. Keay, A. Bayley, R. Hartnell et C. Baker-Austin. 2016. "Epidemiological investigation of a foodborne outbreak in Spain associated with U.S. West Coast genotypes of *Vibrio parahaemolyticus*." *SpringerPlus* 5 (1): 1-8. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1728-1>.
- Ottaviani, D., F. Leoni, E. Rocchegiani, C. Canonico, S. Potenziani, S. Santarelli, L. Masini, S. Scuota et A. Carraturo. 2010. "*Vibrio parahaemolyticus*-associated gastroenteritis in Italy: persistent occurrence of O3:K6 pandemic clone and emergence of O1:KUT serotype." *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 66 (4): 452-455.
- Vezzulli, L., E. Pezzati, M. Moreno, M. Fabiano, L. Pane, C. Pruzzo et Consortium The *Vibrio*Sea. 2009. "Benthic ecology of *Vibrio* spp. and pathogenic *Vibrio* species in a coastal Mediterranean environment (La Spezia Gulf, Italy)." *Microbial Ecology* 58 (4): 808-818. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9542-8>.