

Direction générale

Maisons-Alfort, le 1^{er} avril 2016

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'étude européenne de prévalence de norovirus dans les huîtres

L'Anses a été saisie le 13 janvier 2016 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation d'un appui scientifique et technique dans le cadre de l'étude européenne de prévalence de norovirus dans les huîtres.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

Les norovirus sont les principaux agents responsables de gastroentérites humaines, se caractérisant par des épidémies de gastroentérites hivernales. Le virus se transmet principalement par voie interhumaine mais aussi par voie alimentaire (Karst, 2010 ; Arena et al., 2014). Les aliments sont contaminés soit directement (par contact avec des mains sales) soit indirectement par des rejets humains qui contaminent l'environnement (Batz et al., 2012). En France, 9% des TIAC (Toxi Infections Alimentaires Collectives) rapportées en 2013 étaient liées à une consommation de coquillages (InVS, 2013). Selon les données de TIAC à coquillages pour les années 1996 à 2010, les norovirus sont la première cause identifiée et représentent 31% des cas dont l'origine est précisée, devant les phycotoxines diarrhéiques (DSP, Diarrheic Shellfish Poisoning,) (Vaillant et al., 2012).

En 2011, l'EFSA (European Food Safety Authority) a publié un premier rapport sur le risque lié à la présence de virus dans les aliments, identifiant les coquillages, avec les aliments prêts à être consommés et les produits frais (végétaux), comme les aliments les plus concernés par le risque viral (EFSA, 2011). Les seuils microbiologiques acceptables dans les huîtres sont actuellement basés sur la recherche des *Escherichia coli*, utilisées comme indicateur de contamination fécale. Néanmoins, des contaminations problématiques en norovirus ne sont pas toujours associées à des niveaux d'indicateur en *Escherichia coli* supérieurs aux seuils réglementaires. Le développement d'outil de quantification des génomes de norovirus dans les huîtres (par PCR quantitative) soulève la question de l'utilisation des norovirus en tant que critère microbiologique. En France, cet outil a été utilisé régulièrement dans le cadre d'investigations de TIAC, mais aussi pour quelques études ponctuelles dans le milieu ou pour des huîtres mises sur le marché (Leguyader et al., 2006 ; 2008 ; 2010 ; Shaeffer, 2013). Par ailleurs, les norovirus des génogroupes I et II sont non cultivables, et il n'existe pas de mesure d'infectiosité à ce jour disponible pour l'analyse de routine.

Dans un avis de 2012, l'EFSA « recommande aux gestionnaires des risques d'envisager d'établir une limite acceptable pour les norovirus dans les huîtres destinées à être récoltées et mises sur le marché dans l'UE (...). Les scientifiques recommandent en outre la réalisation d'une étude de référence à l'échelle de l'UE sur la contamination des huîtres par les norovirus, afin d'estimer l'exposition globale du consommateur. Une telle étude fournirait également des informations qui pourraient servir à évaluer l'impact sur la santé publique des mesures de contrôle mises en place au fil du temps » (EFSA, 2012).

En 2016, l'EFSA a défini les spécifications techniques du protocole pour l'étude européenne sur la contamination des huîtres en norovirus (EFSA, 2016). Les objectifs de cette étude sont d'apporter des éléments au gestionnaire de risque permettant d'évaluer la contamination par les norovirus dans le milieu et dans les lots d'huîtres destinés à la consommation humaine. De tels éléments devraient permettre au gestionnaire d'évaluer les possibilités et les conséquences du choix de différents seuils microbiologiques basés sur des résultats exprimés en génomes de norovirus.

L'objectif du protocole défini par l'EFSA ne vise donc pas, *a priori*, à caractériser l'exposition des consommateurs, au regard du choix de différents seuils. La question posée par la DGAL à l'Anses est donc d'identifier les informations complémentaires à acquérir dans le cadre du protocole européen afin de pouvoir estimer l'exposition du consommateur et *in fine* permettre de définir le bénéfice en termes de santé publique d'un critère microbiologique pour les norovirus dans les huîtres.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

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) ». L'appui scientifique et technique a été effectué en interne à l'Anses, et les travaux ont été présentés pour commentaires au comité d'experts spécialisés « Evaluation des risques biologiques liés aux aliments » (CES Biorisk) le 15 mars 2016.

L'objectif est de permettre le calcul de l'exposition alimentaire à partir des données récoltées dans le cadre de l'enquête européenne de prévalence planifiée par l'EFSA. Les données collectées dans le milieu ne peuvent pas être rattachées de façon précise à des volumes de production mis sur le marché et ne seront donc pas directement utilisables pour le calcul d'exposition.

Le nombre d'analyses qui sera réalisé en deux ans à partir de prélèvements au niveau des établissements expéditeurs est relativement important (de l'ordre de 2000 analyses). Ces prélèvements seront issus de 167 établissements tirés au sort (EFSA, 2016). Ces établissements sont le maillon par lequel transite la totalité de la production ostréicole après sa sortie de l'eau. Une liste de sondage permettra d'effectuer un tirage au sort parmi ceux-ci.

En France, les huîtres étant consommées fraîches et vivantes, le temps entre la sortie de l'établissement et la consommation est de l'ordre d'une semaine. Le virus ne se multiplie pas dans l'huître, mais se conserve assez bien et le temps nécessaire à inactiver 90 % des norovirus (T90) en eau de mer a été estimé entre 8 et 17 jours (Le Guyader et al., 2008 ; Dore et al., 2010, Thebault, 2013 a pp136). La survie de norovirus dans l'environnement est forte mais peut être différente suivant les génogroupes (Da Silva et al., 2007). Au regard de tous ces éléments, la contamination relevée en sortie d'établissement peut être considérée comme assez proche du niveau auquel seront exposés les consommateurs.

Les établissements conchylicoles expéditeurs peuvent traiter des lots de différentes origines, le lien entre l'établissement conchylicole expéditeur et l'origine géographique des huîtres n'est pas direct.

Ainsi, **seuls les échantillonnages en sortie d'établissement expéditeur sont considérés comme pouvant être directement exploitables pour un calcul d'exposition.**

Afin de permettre le calcul d'exposition des consommateurs français, les informations complémentaires à acquérir sont présentées selon le plan suivant :

- 1) mesure de la contamination d'un échantillon d'huîtres dans un lot ;
- 2) estimation de la contamination d'un lot ;
- 3) estimation de la contamination des lots à la contamination des huîtres à la distribution ;
- 4) estimation de la contamination au cours du temps et facteurs de risque ;
- 5) données de consommation pour le calcul d'exposition ;
- 6) indicateurs de l'exposition et liens avec un critère microbiologique ;
- 7) récapitulatif des données complémentaires nécessaires pour évaluer l'exposition des consommateurs de façon optimale.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

3.1 Mesure de la contamination d'un échantillon d'huîtres dans un lot

Dans les spécifications techniques du protocole pour l'étude de prévalence européenne sur la contamination des huîtres en norovirus (EFSA, 2016), il est précisé que la contamination est exprimée en concentration de génomes d'huîtres par real-time RT-PCR de norovirus GI et GII par gramme de glande digestive (GD). D'après le protocole décrit en annexe du document, il peut s'agir de deux grammes ou de quatre grammes de prise par prélèvement, et le nombre d'huîtres utilisées par prélèvement sera supérieur à dix et inférieur à 15.

Afin d'estimer correctement le niveau de contamination, il est nécessaire de **peser la glande digestive et le reste de l'huître (partie comestible, en frais)** pour toutes les huîtres ayant servi à l'analyse, et de relever le nombre d'huîtres ayant effectivement été utilisées pour l'analyse. Le poids relatif de la glande digestive vis-à-vis des autres tissus pouvant être variable, cette information est classiquement mesurée au moment des analyses et publiée (Schaeffer et al., 2013). Ceci permet d'extrapoler la contamination par gramme de glande digestive (GD) à des grammes d'huîtres comestibles (animal complet) par des relations spécifiques différentes entre les deux génogroupes GI et GII, liées à des bioaccumulations différentes (Maalouf et al., 2011).

Dans le tableau 4 du protocole de l'EFSA, il n'y a pas de précision dans l'item « sampSize ». Or, **le nombre d'huîtres ayant servi à l'analyse** permet d'estimer le poids de chair comestible et le poids de la glande digestive en moyenne par huître, il serait donc intéressant de mieux connaître cette variable grâce à cette étude de grande ampleur.

La consommation peut être décrite soit par huître soit par g d'huître comestible.

Parmi les résultats analytiques à renseigner figure la prise en compte de la LOD (limite de détection), de la LOQ (limite de quantification), de l'incertitude de la mesure et son écart type. **La méthode de calcul de ces deux paramètres ne figure pas dans le protocole de l'EFSA.**

De plus, il serait intéressant de connaître **le rendement d'extraction** associé à chaque analyse, pour pouvoir le prendre en compte, notamment si celui-ci est variable d'une analyse à l'autre, afin de s'assurer de conditions d'analyses comparables. Si le rendement est trop faible, cela pourrait avoir un impact sur l'incertitude d'analyse. Ce rendement d'extraction est

d'ailleurs régulièrement associé aux résultats d'analyse dans des publications françaises décrivant des données de contamination en norovirus (Schaeffer et al., 2013 ; Le Guyader et al., 2010).

3.2 Estimation de la contamination d'un lot

Dans le protocole de l'EFSA, la définition du lot correspond à un ensemble d'huîtres ayant un étiquetage commun, ce qui permet le mélange d'origines géographiques différentes.

Le mode d'échantillonnage des huîtres au sein du lot n'est pas précisé. L'opérateur doit s'assurer par lui-même de la représentativité de l'échantillon qu'il prend, notamment en termes de taille d'huître et d'ordre le long de la chaîne d'emballage.

Il conviendrait de disposer d'un plan d'échantillonnage plus précis pour aider les opérateurs à effectuer un échantillon représentatif du lot et éviter d'éventuels biais d'échantillonnage.

Le fait de prélever plusieurs huîtres en vue d'obtenir une quantité suffisante de matériel d'analyse permet de tenir compte de la variabilité individuelle. Mais cette variabilité au sein du lot est peu étudiée et négligée dans le protocole de l'EFSA.

Le lot se définit par une standardisation au niveau de la taille (calibre des huîtres) mais il ne tient pas compte de l'origine (zone de production conchylicole). Un seul échantillon est effectué par lot et la prise en compte de l'**hétérogénéité du lot** au regard de sa définition qui permet le mélange d'origines pose alors question : en effet, des lots issus de TIAC ont montré une différence de contamination entre deux prélèvements pouvant aller de 0 à 955 ou de 275 à 6783 copies/huîtres (Le Guyader et al., 2008 ; 2010 ; Thébault et al., 2013). Les résultats d'une étude portant sur la **variabilité intra-lot** permettra d'affiner le plan d'échantillonnage afin de caractériser la contamination du lot. D'autres matrices alimentaires font l'objet de contrôles avec plusieurs analyses, comme les mycotoxines dans les céréales avec un nombre de prélèvements qui augmente avec la taille du lot (AFNOR, 2013).

Différents rapports de l'Anses traitent de ce problème de prise en compte de l'hétérogénéité du lot pour définir une stratégie d'échantillonnage adaptée, dans le cas d'un phénomène agrégatif des virus dans l'eau (AFSSA, 2007 ; Teunis et al., 2008), ou de l'hétérogénéité de contamination en intra-lot de steaks vis-à-vis des *Escherichia coli* entérohémorragiques (Anses, 2011).

Toutefois, la prise en compte systématique d'une possible hétérogénéité du lot aurait augmenté le nombre d'analyses et donc le coût global du projet. En dehors de cette étude, il serait possible de mieux appréhender ce sujet par l'acquisition de données sur l'hétérogénéité des lots, en essayant de tenir compte de la taille du lot ou de l'information sur le mélange d'origines. A terme, des données sur ce sujet pourraient prévenir de futures difficultés à l'interprétation de résultats discordants sur un même lot.

Pour l'indicateur *E. coli*, l'existence d'un plan à trois classes permet de gérer l'hétérogénéité de contamination au cours du temps pour le classement de zone, ce qui revient à gérer une mesure pouvant être variable pour une même zone.

3.3 De l'estimation de la contamination des lots à l'estimation de la contamination des huîtres à la distribution

Une fois le jour d'échantillonnage déterminé pour un établissement donné, plusieurs situations sont possibles suivant le nombre de lots disponibles pour l'analyse. **Un protocole d'échantillonnage précis** doit permettre de choisir un lot de façon représentative et d'éviter des biais liés à l'orientation de l'échantillonnage vers une seule partie des lots (les plus gros ou les plus petits lots par exemple). Pour l'instant, aucune précision n'est donnée sur ce point dans le protocole de l'EFSA. Il pourrait être envisageable de **recueillir les caractéristiques des différents lots présents le jour de l'échantillonnage**, pour avoir une meilleure idée de la représentativité du lot échantillonné.

Le protocole de l'EFSA requiert la connaissance du nombre de lots vendus chaque mois ainsi que le tonnage correspondant par mois pour tous les établissements échantillonnés ainsi que pour tous les autres établissements expéditeurs français.

A partir des données de contamination obtenues sur les lots échantillonnés et sans prendre en compte les facteurs de risque significatifs sur les caractéristiques des lots (taille, origine), **l'extrapolation des résultats obtenus sur les lots à la contamination des huîtres mises sur le marché** mensuellement paraît pertinente et n'introduit pas de biais significatifs.

Les données de FranceAgriMer¹ sur les achats des ménages permettraient de tenir compte d'une variabilité de vente à l'intérieur du mois.

3.4. Estimation de la contamination au cours du temps et facteurs de risque associés

La contamination par les norovirus suit, globalement, celle des gastro-entérites hivernales et des possibles rejets accidentels dans l'environnement.

La stratégie suivie par le groupe de travail de l'EFSA a été de prendre en compte une variabilité inter-annuelle plutôt qu'une variabilité intra-annuelle. Chaque établissement doit être échantillonné une fois tous les deux mois. Il ne sera donc pas possible d'examiner avec précision une variabilité de contamination qui aurait un pas de temps inférieur à deux mois. Pour le moment, tel que défini dans le protocole de l'EFSA, le choix du jour de prélèvement doit être variable durant les deux mois, doit prendre en compte les problèmes d'envoi aux laboratoires, et pourrait être lié à la localisation géographique de l'établissement.

Le problème du suivi des établissements se pose en particulier dans le cas des établissements ayant une production saisonnière :

- si le pas de temps est, après définition du premier jour (tiré au sort), systématique tous les deux mois, la date n'est plus aveugle pour l'établissement,
- s'il y a un tirage au sort de la date, pour chaque établissement, pour chaque période de deux mois, le pas de temps de suivi sera alors irrégulier.

L'analyse statistique devrait être différente suivant les situations.

Enfin, en inter-établissement, au sein de la période de deux mois pendant laquelle doit avoir lieu l'échantillonnage, la représentation temporelle des différents établissements doit si possible être répartie de façon régulière, afin d'avoir des données sur l'ensemble de la période de deux mois, et ainsi détecter des contaminations d'impact indécélable dans un pas de temps de deux mois.

¹ Consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture- Données et Bilan- Mai 2015. <http://www.franceagrimer.fr/content/download/38313/352902/file/STA-MER-CONSO%202014-mai2015.pdf>

La méthodologie à suivre pour fixer les dates de prélèvement au cours des périodes mériterait d'être précisée.

Après ajustement des données à un modèle, comme prévu dans le protocole de l'EFSA, le modèle obtenu devrait permettre de prédire une distribution de contamination au cours de l'année. Si, en dehors de l'aspect temporel, certains facteurs de risque de contamination se révèlent significatifs (par exemple la taille de lot, le tonnage annuel ou l'origine des lots), et que l'on souhaite en tenir compte dans l'analyse, il faudrait alors être en mesure de ramener chaque catégorie d'huîtres à sa part de production mise sur le marché.

3.5 Données de consommation pour le calcul d'exposition

L'exposition alimentaire est estimée à partir de données de contamination et de consommation d'huîtres. Or, la consommation française d'huîtres est irrégulière, au cours de l'année et selon les zones géographiques. Les populations côtières sont *a priori* les plus consommatrices, et la consommation plutôt hivernale (période de fêtes). Plusieurs sources de données françaises de consommation peuvent être utilisées (INCA pour la population générale, CALIPSO pour les consommateurs côtiers de produits de la mer, OFIMER) isolément ou en combinaison (Thebault et al., 2012 ; 2013 a).

3.6 Indicateurs de l'exposition et liens avec un critère microbiologique

Les critères pouvant servir d'indicateurs d'exposition pourraient être calculés annuellement, sur la base des deux années de l'étude.

Les critères pourraient être :

- le nombre de personnes / 1000 individus de la population française exposées au moins une fois à une dose supérieure à un seuil déterminé ;
- le nombre de fois / 1000 individus de la population française exposées à une dose supérieure à un seuil déterminé.

En effet, le risque sanitaire est lié à la répétition de l'évènement, et d'autre part, pour un même individu, il est possible d'avoir plusieurs épisodes de gastroentérites au cours d'un même hiver. L'immunité à norovirus est mal connue et ne serait pas forcément efficace vis-à-vis d'un virus à vitesse de mutation rapide.

La caractérisation du risque sanitaire nécessiterait l'application d'une relation dose-réponse. La forte incertitude des estimations est liée au manque de données pouvant être utilisées pour ce type d'analyse (données de TIAC par exemple) et constitue un frein à l'utilisation des dose-réponse existantes (Teunis et al., 2008, Thébault et al., 2013 a et b). Cependant, la prise en compte d'une relation dose-réponse, malgré son imperfection, permettrait de quantifier le risque sanitaire de gastro-entérite liée à une contamination des huîtres par norovirus.

En effet, de façon plus réaliste, le risque microbiologique est un risque sans seuil : le risque n'est jamais nul et la probabilité de tomber malade augmente avec la dose ingérée (Haas et al., 1999). L'indicateur serait alors la diminution d'un risque relatif sanitaire, à savoir le rapport du risque tenant compte de l'application d'un seuil « X » vis-à-vis d'un risque correspondant à la situation actuelle. Cette approche avait déjà été proposée pour comparer différentes méthodes de suivi de l'hépatite A (Anses, 2010 ; Thebault *et al.*, 2012).

L'autre problématique est la prise en compte **de l'infectiosité de ces génomes viraux**. Si celle-ci est variable d'un contexte à l'autre, la question est de savoir si le résultat en génomes doit être considéré comme un indicateur du risque à norovirus ou comme la mise en évidence d'un pathogène.

Si le critère microbiologique doit être considéré comme un FSO (Food Safety Objective), l'application du seuil et son effet potentiel sur la diminution du risque sanitaire revient à enlever de la production tous les lots qui dépassent le seuil, avec l'hypothèse d'un contrôle et retrait efficace à 100% et la capacité de remplacement des huîtres contaminées à un niveau inacceptable par des huîtres non contaminées.

Il est aussi possible de travailler sur d'autres scénarios, si ceux-ci peuvent être élaborés. Le fait d'appliquer un critère dans les zones de production de l'Union européenne et dans les produits permettra, sans aucun doute, de mieux maîtriser le risque.

3.7 Récapitulatif des données complémentaires à acquérir pour une étude d'exposition alimentaire du consommateur, en plus des données à recueillir dans le cadre du protocole de l'EFSA 2016

- Dans le cadre de l'étude²

Données	Objectif
Nombre d'huîtres utilisées dans l'analyse	Augmenter la précision de l'estimation
Poids de chair comestible (en frais) de l'échantillon utilisé pour l'analyse	Améliorer l'estimation de la contamination/g comestible
Poids de la glande digestive (en frais) de l'échantillon utilisé pour l'analyse	Améliorer l'estimation de la contamination/g comestible
Définition de l'incertitude de mesure et de son écart-type	Améliorer l'interprétation des résultats
Rendement d'extraction	Prendre en compte l'incertitude liée à la mesure
Stratégie d'échantillonnage intra-lot	Prendre en compte la variabilité de la contamination (ce point sera peut être revu à l'occasion du séminaire organisé par l'EFSA en mai 2016)
Stratégie échantillonnage inter-lot	
Stratégie échantillonnage au cours de la période des deux mois (choix du pas de temps notamment)	
Caractéristiques des différents lots présents le jour du prélèvement à l'établissement	Vérification de la représentativité des lots, caractérisation des lots dans une population plus large que l'échantillon

² L'Anses a pris en compte le fait que le protocole de l'EFSA requiert la connaissance du nombre de lots vendus chaque mois ainsi que le tonnage correspondant par mois pour tous les établissements échantillonnés ainsi que pour tous les autres établissements expéditeurs français.

- En dehors de l'étude

Données	Objectif
Etude de l'hétérogénéité de la contamination d'un lot	Signification d'un critère appliqué à un lot. Peut faire l'objet d'une étude <i>ad hoc</i> .
Données de consommation	Estimer l'exposition des consommateurs (données disponibles à l'Anses)
Données TIAC à norovirus liées à la consommation de coquillages	Augmenter la précision sur les relations dose-réponse
Infectiosité	Pourrait être pris en compte pour améliorer le modèle si de nouvelles données sont accessibles et publiées

La directrice générale suppléante

Caroline GARDETTE

MOTS-CLES

Coquillages, norovirus, huîtres, étude de prévalence, exposition, critère microbiologique

BIBLIOGRAPHIE

AFNOR. Norme AFNOR NF V03-777. Décembre 2013. Céréales et produits céréaliers - Échantillonnage - Méthode simplifiée de routine.

AFSSA, 2007. Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale. Rapport de février 2007, 448 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-VirusOral.pdf>

- Anses, 2011. Avis du 11 janvier 2011 relatif à la révision de la définition des E. coli entéro-hémorragiques (EHEC) majeurs typiques, à l'appréciation quantitative des risques liés à ces bactéries à différentes étapes de la chaîne alimentaire, selon les différents modes de consommation des steaks hachés, et à la prise en compte du danger lié aux E. coli entéro-pathogènes (EPEC) dans les aliments (saisine 2010-SA-0031), 58p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0031-2.pdf>
- Anses, 2010. Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A. Recommandations pour l'amélioration de la maîtrise du risque. Rapport de septembre 2011, 119 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2009sa0044-2.pdf>
- Arena C, Amoros JP, Vaillant V, Ambert-Balay K, Chikhi-Brachet R, Jourdan-Da Silva N, et al. Acute diarrhea in adults consulting a general practitioner in France during winter: incidence, clinical characteristics, management and risk factors. *BMC Infect Dis.* (2014);14:574.
- Batz MB, Hoffmann S, Morris Jr., Glenn J. Ranking the Disease Burden of 14 Pathogens in Food Sources in the United States Using Attribution Data from Outbreak Investigations and Expert Elicitation (2012) *J.Food Protect.* **75**: 1278-1291.
- Da Silva, A.K, J.-C. Le Saux, S. Parnaudeau, M. Pommepuy, M. Elimelech, F.S. Le Guyader. Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment, using real-time reverse transcription-PCR: different behaviors of genogroups I and II. (2007) *Appl Environ Microbiol.* **73**:7891-7.
- Dore B, Keaveney S, Flannery J, Rajko-Nenow P. Management of health risks associated with oysters harvested from a norovirus contaminated area, Ireland, February-March 2010. (2010) *Euro Surveill.* **15**: pii/19567.
- EFSA. Scientific opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control to foodborne viruses. (2011) *EFSA Journal* **9**: 1-96. Web access link: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2190.pdf>.
- EFSA. Scientific Opinion on Norovirus (Nov) in oysters: methods, limits and control options. (2012) *EFSA Journal* **10**: 2500. Web access link: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2500.pdf>.
- EFSA. Scientific report on technical specifications for a European baseline survey on norovirus in oysters. *EFSA Journal* (2016);14(3):4414,62pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4414.
- Haas CN, Rose JB, Gerba CP. Quantitative microbial risk assessment. John Wiley and sons ed. New York: John Wiley and sons, USA; (1999).
- InVS. Surveillance des toxoinfections alimentaires collectives, Données de la déclaration obligatoire 2013. www.invs.sante.fr
- Karst S.M., Pathogenesis of noroviruses, emerging RNA viruses. (2010) *Viruses* **2** :748-81.
- Le Guyader FS, Bon F, DeMedici D, Parnaudeau S, Bertone A, Crudeli S, Doyle A, Zidane M, Suffredini E, Kohli E, Maddalo F, Monini M, Gallay A, Pommepuy M, Pothier P, Ruggeri FM. Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. (2006) *J Clin Microbiol.* **44**: 3878-82.
- Le Guyader FS, Le Saux J-C, Ambert-Balay K, Krol J, Serais O, Parnaudeau S, Giraudon H, Delmas G, Pommepuy M, Pothier P, Atmar RL. Aichi virus, norovirus, astrovirus, enterovirus, and rotavirus involved in clinical cases from a French oyster-related gastroenteritis outbreak. (2008) *J Clin Microbiol.* **46**: 4011-7.

- Le Guyader FS, Krol J, Ambert-Balay K, Ruvoen-Clouet N, Desaubliaux B, Parnaudeau S, Le Saux J-C, Ponge A, Pothier P, Atmar RL, Le Pendu J. Comprehensive analysis of a norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. (2010) *J Clin Microbiol.* **48**: 915-20.
- Maalouf H, Schaeffer J, Parnaudeau S, Le Pendu J, Atmar RL, Crawford SE, et al. Strain-dependent norovirus bioaccumulation in oysters. (2011) *Appl Environ Microbiol.* **77**:3189-96.
- Schaeffer J, Le Saux JC, Lora M, Atmar RL, Le Guyader FS. Norovirus contamination on French marketed oysters. *Int J Food Microbiol.* (2013) ;166(2):244-8.
- Teunis PFM, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, Le Pendu J, Calderon RL. Norwalk virus: how infectious is it? (2008) *J Med Virol.* **80**: 1468-76
- Thebault A, Le Saux JC, Pommepuy M, Le Guyader S, Lailier R, Denis JB. Quantitative approach of risk management strategies for hepatitis a virus-contaminated oyster production areas. (2012) *J Food Prot.* **75**:1249-57.
- Thébault. A. Modélisations probabilistes du risque d'infection virale associé à la consommation d'aliments contaminés : impact pour la santé publique de la contamination d'huîtres par Norovirus ou le virus de l'Hépatite A (2013a) .Thèse doctorat Agroparis Tech, 2013.
- Thébault A, P.F.M. Teunis, J Le Pendu, F S. Le Guyader, J-B Denis. b) Infectivity of GI and GII noroviruses established from oyster related outbreaks (2013b). *Epidemics* 5: 98-110. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1755436512000576>
- Vaillant V, Jourdan-Da Silva N, Quilici M-L, Couturier E, Le Guyader FS, Delmas G, Le Saux JC. Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages. (2012) *Bull. Epid. Hebd.* HS: 34-41.