

Évaluation du danger viral dans les matrices alimentaires

Nicolas Boudaud (1) (n.boudaud@actalia.eu), Christophe Gantzer (2, 3)

(1) Actalia, Institut technique agro-industriel, Département sécurité des aliments, Villers-Bocage, France

(2) Université de Lorraine, Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour l'environnement (LCPME), UMR 7564, Faculté de Pharmacie, Nancy, France

(3) CNRS, LCPME, UMR 7564, Faculté de Pharmacie, Nancy, France

Résumé

Les norovirus et le virus de l'hépatite A sont fréquemment incriminés dans les épidémies alimentaires. Actuellement, le Comité européen de normalisation travaille à la mise en place de la norme ISO 15216 permettant de rechercher du génome de ces virus dans les aliments à risque. Les méthodes proposées par cette norme sont incontournables et parfaitement adaptées pour la recherche de l'origine alimentaire d'une épidémie virale. En revanche, le niveau de connaissance actuel ne permet pas encore de proposer une approche pertinente sur des aspects plus prospectifs d'estimation d'un danger viral, surtout dans le cas d'une réponse positive (par ex. en cas de génome viral détecté). En effet, en l'absence d'information sur le caractère infectieux de ces virus, l'application routinière de cette norme risque de surestimer le danger viral dans les aliments en entraînant le retrait potentiellement injustifié des lots du marché.

Cette surestimation est réelle car de fortes prévalences dans certaines matrices sont rapportées dans la littérature. Il convient donc dans les années à venir de préciser l'interprétation de ce type d'analyses ou de les compléter avec des outils permettant d'évaluer le caractère infectieux.

Mots-clés

Virus entériques, aliments, infectivité virale, génome viral, détection

Abstract

Viral hazard assessment in food matrices

Noroviruses and Hepatitis A virus are commonly implicated in foodborne disease outbreaks. The European Committee for Standardization is currently drafting the ISO 15216 standard enabling the detection of the genome of these viruses in vulnerable foodstuffs. The methods proposed by the standard are indispensable and perfectly adapted to detection of the dietary origin of a viral outbreak. However, based on the current state of knowledge, no relevant approach exists regarding prospective assessment of viral hazards, especially in cases with a positive response (e.g. when a viral genome is detected). Despite the lack of information regarding the infectivity of these viruses, the routine application of the ISO 15216 standard could lead to an overestimation of the dietary viral hazard and potentially cause unjustified foodstuff lot withdrawals from the market.

This overestimation is a reality, since high prevalences in certain matrices have been reported in the literature. It is therefore necessary in the coming years to specify the interpretation of such analyses or supplement them with tools for evaluating viral infectivity.

Keywords

Enteric viruses, Food, Viral infectivity, Viral genome, Detection

Depuis une dizaine d'années, les norovirus et le virus de l'hépatite A (VHA) sont les virus entériques les plus fréquemment incriminés dans les épidémies alimentaires. En 2013, la proportion d'épidémies causées en Europe par ces virus entériques a légèrement augmenté par rapport à l'année précédente, passant de 14 % à 18 % (EFSA, 2015). C'est ainsi que le risque viral dans les aliments ou l'eau n'est plus considéré comme un risque émergent, mais plutôt comme un risque avéré au regard des données de surveillance épidémiologiques et des alertes sanitaires diffusées par l'Institut national de veille sanitaire (InVS), le réseau européen *Rapid Alert System for Food and Feed* (RASFF) ou la revue Eurosurveillance. Par exemple, il est désormais bien établi que les toxi-infections liées à la consommation de coquillages sont majoritairement d'origine virale (par ex. norovirus). Entre 1996 et 2010, le nombre de foyers où les virus entériques étaient impliqués dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à coquillages s'élevait à 251 en France, représentant près de 54 % du total de ces TIAC (Vaillant *et al.*, 2012b). Pour les végétaux, des toxi-infections d'origine virale liées à la consommation de fruits rouges ou de salades sont aussi rapportées. Par exemple en Allemagne, une large épidémie alimentaire à norovirus a eu lieu en 2012 dans des cantines scolaires. Pas moins de 10 950 personnes contaminées, dont 38 cas d'hospitalisation, ont été enregistrées suite à la consommation de fraises congelées importées de Chine (Mäde *et al.*, 2013). Aux États-Unis, 67,7 % des épidémies alimentaires ont été imputées aux norovirus entre 2009 et 2010 (Hall *et al.*, 2013).

Ces virus sont des virus nus, constitués d'une capsid protéique de vingt à trente nanomètres et d'un génome à acide ribonucléique (ARN) simple brin de polarité positive (environ 7 500 nucléotides). Comme tous les virus entériques humains, ils pénètrent chez l'Homme par voie orale. La réplication des virus s'effectue alors soit au niveau des cellules intestinales (norovirus, VHA), soit au niveau des cellules hépatiques (VHA). La capsid virale reconnaît spécifiquement un récepteur de la cellule permissive et le génome, une fois libéré dans le

cytoplasme, permet à lui seul de synthétiser de nouvelles particules virales. C'est ainsi que le cycle infectieux peut être à l'origine chez l'hôte des symptômes de gastro-entérite ou d'hépatite. Les virus néoformés sont rejetés dans l'environnement par l'intermédiaire des selles et des vomissures. Comme pour tout virus, les virus entériques n'ont aucun moyen de se répliquer à l'extérieur de l'hôte. Pour que le pouvoir pathogène s'exprime au sein d'un nouvel hôte, il est indispensable que les virus ingérés possèdent à la fois une capsid et un génome viral intègres. Si tel est le cas, les virus sont considérés comme infectieux. Par analogie avec d'autres virus entériques (par ex. *rotavirus*, *enterovirus*), la dose infectieuse pour l'Homme évaluée avec un modèle *in vivo* devrait se situer entre un et cent virus infectieux (Afssa, 2007). Cette dose infectieuse n'a pas encore été quantifiée avec précision par culture cellulaire pour les norovirus, car les seuls systèmes *in vitro* potentiellement disponibles pour les cultiver n'ont été décrits que récemment (Jones *et al.*, 2014). En utilisant une approche moléculaire par Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), la dose infectieuse 50 % (ID_{50}) a été estimée à dix-huit particules pour les norovirus humains (Teunis *et al.*, 2008). Dans ce cas, la part de virus réellement et strictement infectieux demeurerait inconnue.

L'enjeu des traitements de désinfection (*i.e.* eau, aliments) a pour objectif d'inactiver les particules virales infectieuses en altérant la capsid et/ou le génome du virus pour empêcher le cycle viral et rendre ainsi le virus non infectieux. Pendant des décennies, la communauté scientifique a défini des conditions de traitement permettant d'inactiver des modèles de virus cultivables sans pour autant en préciser les mécanismes. Ce n'est que depuis quelques années que l'on commence à explorer les réels sites d'action de certains traitements au niveau de la capsid et/ou du génome.

La surveillance et la gestion du risque viral dans les aliments traités ou non sont une préoccupation de santé publique et représentent un enjeu

économique important pour les filières de production considérées comme à risque: coquillages (huîtres et moules essentiellement) et produits végétaux (fruits rouges et salades) en particulier.

L'objectif de cet article consiste à positionner, dans les contextes réglementaire et normatif actuels, l'interprétation du danger viral dans les aliments reposant sur la recherche du génome des virus dans les approches rétrospectives et prospectives. Il vise également à présenter les différentes voies de recherche destinées à préciser le caractère infectieux des virus dont le génome a été détecté dans l'aliment.

Contextes réglementaire et normatif

D'un point de vue réglementaire, aucun critère n'est établi à ce jour concernant les virus entériques. Cependant, les virus entériques entrent parfaitement dans le cadre réglementaire de l'article 14 du règlement CE 178/2002 du 28 janvier 2002, qui est à la base du Paquet hygiène en vigueur depuis 2006 au niveau européen.

Pour les filières conchylicoles et légumières, le danger viral n'est pris en compte que de manière indirecte à travers l'utilisation d'indicateurs bactériens de pollution fécale tel qu'*Escherichia coli*. Or, il est largement démontré dans la littérature que ce type de bactéries est moins résistant que les virus, aussi bien dans l'environnement que vis-à-vis des traitements de désinfection. Des épidémies liées aux fruits de mer ont d'ailleurs été décrites alors même que leur concentration en *E. coli* permettait de les classer dans la meilleure catégorie (catégorie A, < 230 Unités formant colonies (UFC) / 100 grammes de chair et liquide inter-valvaire (CLI)).

Afin d'établir des systèmes harmonisés de surveillance des virus entériques dans les aliments par les laboratoires de référence (laboratoires nationaux de référence (LNR), laboratoires de référence de l'Union européenne (LRUE)) et d'assurer une pression de contrôle sur

les productions nationales ou issues de pays tiers, le groupe de travail CEN / TC 275 / WG 6 / TAG 4 du Comité européen de normalisation (CEN) a élaboré des procédures consensuelles d'extraction, de détection et de quantification du génome des norovirus et du VHA par RT-PCR en temps réel dans des matrices alimentaires à risque. En 2013, la norme XP CEN ISO/TS 15216-(1-2) a été diffusée par le CEN (Organisation internationale de normalisation, 2013). Elle est encore sous le statut temporaire (TS) et expérimental (XP) car elle doit être validée selon un référentiel précis en termes de performances et de critères d'acceptabilité. La publication du document définitif est programmée pour 2016.

Le choix d'une détection du génome viral par RT-PCR est lié au fait qu'en l'absence de lignée cellulaire permissive *in vitro* utilisable à ce jour, seule cette approche permet de rechercher ces virus dans l'eau et les aliments. De plus, il s'agit de méthodes spécifiques et rapides. Néanmoins, le terme « *génome du virus détecté* » est imprécis puisque la détection ne concerne qu'une centaine de bases du génome viral (0,01 % du génome viral). Un résultat positif ne peut donc en aucun cas témoigner de l'intégrité structurale de la capsid, ni même de celle du génome, et ne témoigne donc pas du caractère infectieux du virus. Ainsi, l'interprétation de résultats positifs n'est pas du tout la même selon qu'il s'agisse d'une approche rétrospective ou prospective.

Estimation du danger viral dans les approches rétrospectives

Dans les approches rétrospectives, c'est-à-dire dans le cas des enquêtes épidémiologiques lors de TIAC, l'Agence régionale de santé (ARS) met en œuvre une investigation avec les structures compétentes dans le domaine de la santé humaine et alimentaire pour rechercher la source de contamination commune. Les enquêtes auprès des cas et des enquêtes

Tableau 1. Prévalence virale dans les coquillages et les végétaux pour des échantillonnages représentatifs entre 2007 et 2012 en Europe

Caractéristiques de l'échantillonnage					Virus entériques	Nombre d'échantillons		Prévalence (%)	Références
Aliment	Espèce / variété	Lieu de prélèvement	Origine	Date		Analysés	Positifs		
Coquillages	Huîtres	Marché, supermarché	France	2010-2011	Norovirus GI et GII	387	35	9,0	Schaeffer <i>et al.</i> , 2013
Coquillages	Moules	Zone de production, produits importés	Espagne, Grèce, Finlande	2010	Norovirus GI et GII, VHA	153	26	17,0	Diez-Valcarce <i>et al.</i> , 2012
Coquillages	Huîtres, moules, palourdes	Zone de production	Italie	2008-2012	Norovirus GI et GII	336	173	51,5	Suffredini <i>et al.</i> , 2014
Coquillages	Moules, palourdes, coques	Zone de production	Espagne	2011-2012	Norovirus GI et GII, VHA	168	93	55,4	Polo <i>et al.</i> , 2015
Coquillages	Huîtres, moules, couteaux, palourdes, amandes de mer	Zone de production, restauration, détaillant	Italie	2007-2010	Norovirus GI et GII	163	94	57,7	Pepe <i>et al.</i> , 2012
Coquillages	Huîtres	Zone de production	Grande-Bretagne	2007-2010	Norovirus GI et GII	873	625	71,6	Lowther <i>et al.</i> , 2012
Coquillages	Moules, palourdes, praires	Marché, supermarché	Espagne	2009-2010	VHA	329	28	8,5	Moreno Roldan <i>et al.</i> , 2013
Salades	Laitues (matières premières et produits de 4 ^e gamme)	Producteurs industriels	Espagne	2010-2012	Norovirus GI et GII	120	6	5,0	Perez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2014
Salades	Laitues, chicorées, mâche (matières premières)	Producteurs industriels	Espagne, Italie, Belgique, France, Tunisie	2011	Norovirus GI et GII	210	26	12,4	Loutreul <i>et al.</i> , 2014
Salades	Laitues, roquette, radicchio	Supermarché	Canada	2009-2010	Norovirus GI et GII	641	181	28,2	Baert <i>et al.</i> , 2011
Fruits rouges	Framboises, fraises	Industries alimentaires	<i>Non précisé</i>	2009-2010	Norovirus GI et GII	150	10	6,7	Baert <i>et al.</i> , 2011
Fruits rouges	Framboises, fraises, mûres (produits congelés)	Producteurs industriels	Serbie, Chili, Bulgarie, Pologne, France, Espagne, Maroc, Turquie	2009-2010	Norovirus GI et GII	200	32	16,0	Loutreul <i>et al.</i> , 2014

cas-témoins permettent de suspecter certains aliments pouvant être à l'origine de l'épidémie. La recherche du génome des norovirus et/ou du VHA peut alors être effectuée dans les échantillons cliniques par les Centres nationaux de référence (CNR) d'une part et dans les aliments par les LNR, l'Anses ou les laboratoires départementaux d'autre part. La détection de génome viral dans l'un des aliments suspectés permet dans ce cas une interprétation assez aisée puisqu'un résultat positif a une forte probabilité de correspondre à des virus infectieux, ceux-ci ayant infectés leur hôte et provoqués l'épidémie. De plus, le séquençage des fragments de génome amplifiés par RT-PCR dans les selles des sujets infectés et dans l'aliment incriminé peut permettre ensuite d'établir un lien direct entre l'aliment et l'épidémie si la quantité extraite de génome viral est suffisante (Vaillant *et al.*, 2012a). Dans ces situations, les méthodes proposées par la norme XP CEN ISO/TS 15216 (2013) sont incontournables et parfaitement adaptées.

Estimation du danger viral dans les approches prospectives

Les données de prévalence en norovirus et VHA dans les matrices alimentaires à risque, basées sur la détection du génome viral, commencent à être documentées. Le **Tableau 1** regroupe un ensemble d'études d'occurrence virale réalisées à partir d'échantillonnages représentatifs ($n > 120$) entre 2007 et 2012. Même si les protocoles d'extraction et de détection du génome viral par RT-PCR en temps réel peuvent présenter certaines variations d'une étude à l'autre pour une matrice donnée, les stratégies développées sont en accord avec l'approche méthodologique décrite dans la norme XP CEN ISO/TS 15216 (2013) (Organisation internationale de normalisation, 2013). Les prévalences virales sont très hétérogènes au sein des trois catégories d'aliments présentées. Pour les coquillages, la prévalence en norovirus humains oscille entre 9,0 % et 71,6 %. Pour les salades et les fruits rouges, les proportions sont respectivement comprises entre 5,0 % et 28,2 % et entre 6,7 % et 16 %.

Dans ces situations, l'analyse des résultats négatifs est *a priori* relativement aisée si les critères d'acceptabilité de la méthode XP CEN ISO/TS 15216 (2013) sont valides et si la représentativité de l'échantillonnage est maîtrisée. En fait, l'absence de génome viral traduit l'absence de virus infectieux.

En revanche, la présence de génome viral est beaucoup plus délicate à interpréter en termes de danger viral, car aucune information sur le caractère infectieux des virus détectés n'est donnée. De très nombreuses données de la littérature démontrent que le génome viral persiste plus longtemps que le caractère infectieux (par ex. capsid et génome intègres) lorsque le virus est soumis à des facteurs d'inactivation environnementaux (par ex. UV, température) ou à des traitements de désinfection (par ex. dioxyde de chlore, chlore, peroxyde d'hydrogène). Cette différence peut être très importante puisque certaines études montrent par exemple que pour le poliovirus 1 à 35°C dans une eau souterraine, la diminution est de deux unités logarithmiques (Log_{10}) en 125 jours pour le génome alors que la même diminution est obtenue en 19 jours pour le caractère infectieux (Gassilloud *et al.*, 2003). Ces données ont été confirmées sur des virus modèles cultivables de la même famille que les norovirus (calicivirus félin) mais aussi sur des norovirus humains (Gassilloud *et al.*, 2003; Seitz *et al.*, 2011). Des résultats comparables ont aussi été largement publiés pour les traitements de désinfection, comme par exemple le dioxyde de chlore (ClO_2) ou même les ultraviolets (UV) qui ont une action directe sur le génome (Simonet and Gantzer, 2006a, 2006b).

Au vu de ces résultats, certaines études suggèrent d'utiliser un critère quantitatif plutôt que qualitatif pour la gestion du risque viral (Lowther *et al.*, 2012). Ainsi des seuils de l'ordre de 10^2 à 10^3 copies de génome viral/gramme en dessous desquels le risque viral semble faible sont parfois proposés. Tout le paradoxe est alors d'accepter dans les aliments des quantités de génome viral supérieures aux doses minimales infectantes proposées pour les virus entériques infectieux (Afssa, 2007; Teunis *et al.*, 2008). Le rapport virus infectieux/génome viral dans

l'environnement ou les aliments varie non seulement dans le temps, mais aussi en fonction des types de facteurs d'inactivation auxquels le virus a été soumis. Il est donc clair qu'il existe un risque d'infection virale élevé si la totalité des 10^2 à 10^3 copies de génome viral/gramme correspondent à des virus infectieux, alors que le risque est faible s'il s'agit de virus inactivés naturellement (par ex. UV, température) ou par traitement (par ex. désinfection). L'utilisation de tels seuils ne peut donc être qu'empirique et spécifique à certaines situations.

Il semble donc que le logigramme proposé par l'Anses en 2007 (Afssa, 2007) est toujours valable dans le sens où la détection de génome viral doit impérativement être accompagnée d'autres informations microbiologiques, épidémiologiques ou environnementales pour être interprétée en termes de danger viral. Par exemple, le danger viral est avéré si la présence de génome viral est associée à la présence excessive d'indicateurs de pollution fécale, à la déclaration d'une épidémie alimentaire ou à un défaut de traitement appliqué à l'aliment.

C'est ainsi qu'à la différence des approches rétrospectives, l'analyse du danger viral dans les approches prospectives laisse apparaître la nécessité d'intégrer notamment la notion de caractère infectieux dans les protocoles de surveillance et dans les démarches d'autocontrôles des aliments à risque.

La **Figure 1** représente schématiquement une synthèse de l'interprétation du risque viral dans les approches rétrospectives et prospectives.

Perspectives pour une meilleure caractérisation du danger viral

De manière à préciser le danger viral véhiculé par les aliments, il est nécessaire de compléter les résultats obtenus au moyen de la norme, par des informations sur le caractère infectieux. Les alternatives ne sont pas très nombreuses.

La première possibilité consiste à utiliser un traitement permettant d'éliminer le génome des virus non infectieux soit en les dégradant (par ex. RNases avec ou sans protéinase K), soit en empêchant leur amplification (par ex. agents intercalants de l'ARN), soit en sélectionnant les virus capables de reconnaître leur récepteur cellulaire (Histo-Blood Antigen Group pour les norovirus) avant la détection des génomes de virus infectieux (Dancho *et al.*, 2012; Escudero-Abarca *et al.*, 2014; Nuanalsuwan and Cliver, 2003). Ces approches donnent quelques bons résultats dans des situations particulières, mais la méconnaissance des mécanismes d'inactivation virale au niveau moléculaire empêche de préciser les conditions optimales d'utilisation. La deuxième possibilité, bien que controversée, serait d'utiliser un marqueur indirect de viabilité de nature virale comme les bactériophages fécaux dont le caractère infectieux est très facile à démontrer. C'est ainsi que la détection de génome viral, associée à la présence de bactériophages fécaux (phage ARN F-spécifiques, coliphages somatiques, phages de *Bacteroides fragilis*), pourrait être reliée à une probabilité forte de présence de virus entériques infectieux dont le génome seul a été détecté (logigramme Anses (Afssa, 2007)).

Il faut néanmoins rappeler que la présence d'indicateurs bactériens de pollution fécale est clairement associée à un risque viral puisque les virus entériques sont eux aussi d'origine fécale et sont considérés comme plus résistants que ces bactéries dans l'environnement. Il n'est alors pas nécessaire de faire des recherches virologiques coûteuses, mais plutôt de tenter d'abaisser le niveau de pollution fécale par des procédures adaptées. Ce n'est qu'en l'absence d'indicateurs bactériens que le danger viral devrait être précisé par une recherche de génome associée ou non à des bactériophages fécaux car les indicateurs bactériens peuvent sous-estimer la présence de virus entériques.

Il est incontestable que la nouvelle norme XP CEN ISO/TS 15216 (2013) est une avancée majeure pour identifier l'origine des TIAC et pour accumuler des données de surveillance harmonisées. Néanmoins, il est impératif de mieux comprendre les mécanismes moléculaires qui conduisent à l'inactivation des virus pour limiter la surestimation

dans les approches prospectives et proposer des protocoles de discrimination des virus infectieux et des virus non infectieux sur des bases scientifiques solides. Par ailleurs, les marqueurs indirects de pollution fécale et d'estimation du caractère infectieux ont un rôle important à jouer dans de nombreuses situations pour estimer un danger viral dans les aliments mais aussi pour évaluer l'efficacité virucide des traitements. Enfin, la possibilité récente de pouvoir cultiver *in vitro* les norovirus humains ouvre, elle aussi, des perspectives.

Remerciements

Les auteurs, partenaires dans le cadre de l'unité mixte technologique (UMT) VIROcontrol (2011-2016), remercient l'Association de coordination technique pour l'industrie agro-alimentaire (ACTIA).

Références bibliographiques

Afssa, Bultel, C., Grimault, L., 2007. Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Maisons-Alfort.

Baert, L., Mattison, K., Loisy-Hamon, F., Harlow, J., Martyres, A., Lebeau, B., Stals, A., Van Coillie, E., Herman, L., Uyttendaele, M., 2011. Review: norovirus prevalence in Belgian, Canadian and French fresh produce: a threat to human health? *Int. J. Food Microbiol.* 151, 261–269. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.013.

Dancho, B.A., Chen, H., Kingsley, D.H., 2012. Discrimination between infectious and non-infectious human norovirus using porcine gastric mucin. *Int. J. Food Microbiol.* 155, 222–226. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.010.

Diez-Valcarce, M., Kokkinos, P., Söderberg, K., Bouwknecht, M., Willems, K., de Roda-Husman, A.M., von Bonsdorff, C.-H., Bellou, M., Hernández,

M., Maunula, L., Vantarakis, A., Rodríguez-Lázaro, D., 2012. Occurrence of human enteric viruses, in commercial mussels at retail level in three European countries. *Food Environ Virol* 4, 73–80. doi:10.1007/s12560-012-9078-9.

Escudero-Abarca, B.I., Rawsthorne, H., Goulter, R.M., Suh, S.H., Jaykus, L.A., 2014. Molecular methods used to estimate thermal inactivation of a prototype human norovirus: More heat resistant than previously believed? *Food Microbiol.* 41, 91–95. doi:10.1016/j.fm.2014.01.009.

European Food Safety Authority, 2015. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. *EFSA J* 2015, 13(1): 3991.

Gassilloud, B., Schwartzbrod, L., Gantzer, C., 2003. Presence of Viral Genomes in Mineral Water: a Sufficient Condition To Assume Infectious Risk? *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3965–3969. doi:10.1128/AEM.69.7.3965-3969.2003.

Hall, A.J., Wikswo, M.E., Manikonda, K., Roberts, V.A., Yoder, J.S., Gould, L.H., 2013. Acute Gastroenteritis Surveillance through the National Outbreak Reporting System, United States. *Emerg. Inf. Dis.* 19, 1305–1309. doi:10.3201/eid1908.130482.

Jones, M.K., Watanabe, M., Zhu, S., Graves, C.L., Keyes, L.R., Grau, K.R., Gonzalez-Hernandez, M.B., Iovine, N.M., Wobus, C.E., Vinjé, J., Tibbetts, S.A., Wallet, S.M., Karst, S.M., 2014. Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells. *Science* 346, 755–759. doi:10.1126/science.1257147.

Loutreul, J., Cazeaux, C., Levert, D., Nicolas, A., Vautier, S., Le Sauvage, A.L., Perelle, S., Morin, T., 2014. Prevalence of human noroviruses in frozen marketed shellfish, red fruits and fresh vegetables. *Food Environ Virol* 6, 157–168. doi:10.1007/s12560-014-9150-8.

Lowther, J.A., Gustar, N.E., Hartnell, R.E., Lees, D.N., 2012. Comparison of norovirus RNA levels in outbreak-related oysters with background environmental levels. *J. Food Prot.* 75, 389–393. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-360.

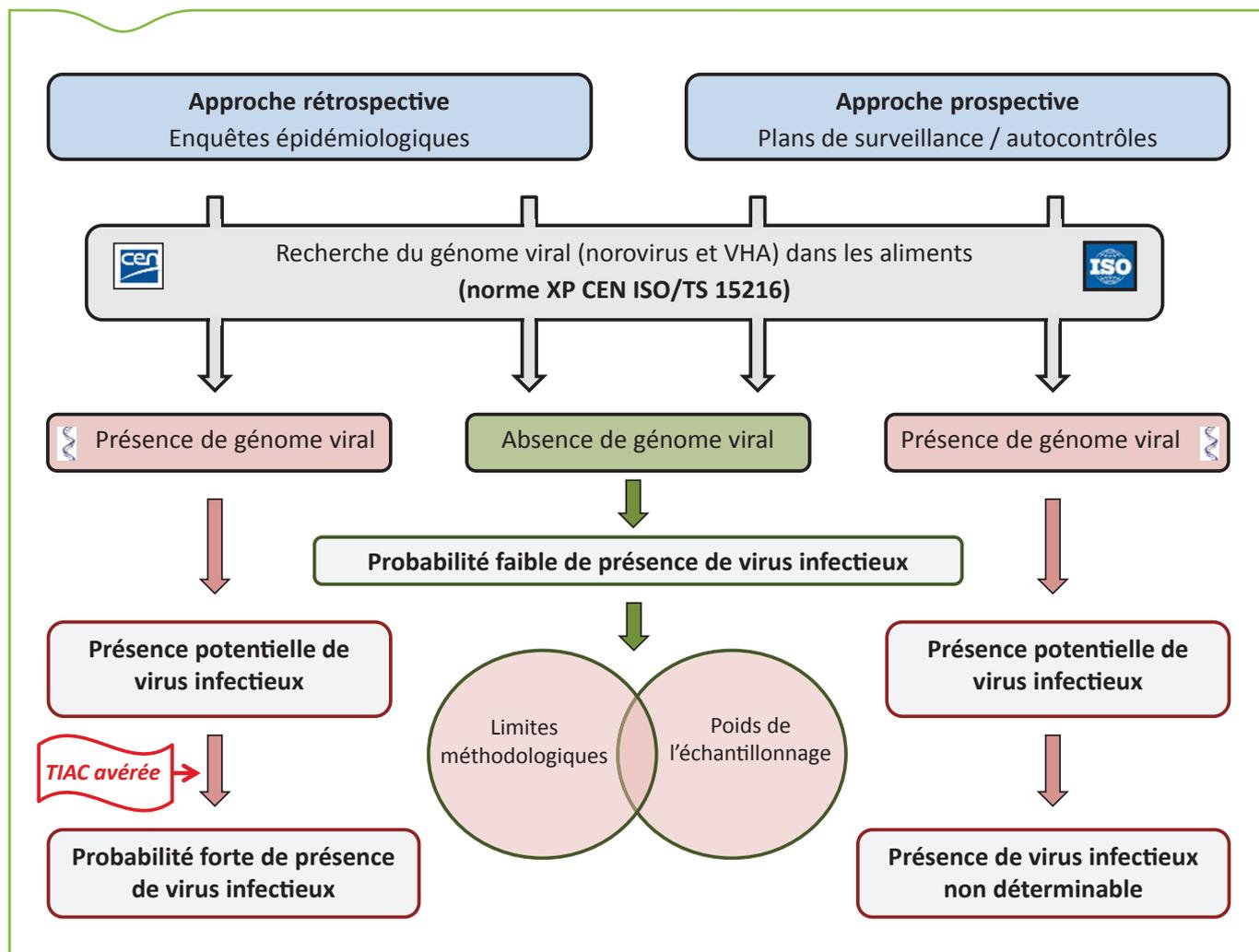


Figure 1. Analyse du risque viral dans les approches rétrospectives et prospectives

- Mäde, D., Trübner, K., Neubert, E., Höhne, M., Johne, R., 2013. Detection and Typing of Norovirus from Frozen Strawberries Involved in a Large-Scale Gastroenteritis Outbreak in Germany. *Food Environ Virol.* doi:10.1007/s12560-013-9118-0.
- Moreno Roldán, E., Espigares Rodríguez, E., Espigares García, M., Fernández-Crehuet Navajas, M., 2013. Prevalence of hepatitis A virus in bivalve molluscs sold in Granada (Spain) fish markets. *Foodborne Pathog. Dis.* 10, 528–532. doi:10.1089/fpd.2012.1376.
- Nuanualsuwan, S., Cliver, D.O., 2003. Capsid functions of inactivated human picornaviruses and feline calicivirus. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 350–357.
- Organisation Internationale de Normalisation, 2013. Norme internationale, 1^{re} édition. *Microbiologie des aliments - méthode horizontale pour la recherche des virus de l'hépatite A et norovirus dans les aliments par la technique RT-PCR en temps réel. Partie 1: Méthode de quantification*, pp. 1-31 - partie 2: Méthode de détection qualitative, pp. 1-28, ISO-TS 15216-(1-2).
- Pepe, T., Ventrone, I., Suffredini, E., Ceruso, M., Croci, L., Anastasio, A., Cortesi, M.L., 2012. Norovirus monitoring in bivalve molluscs harvested and commercialized in southern Italy. *J. Food Prot.* 75, 976–981. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-424.
- Pérez-Rodríguez, F., González-García, P., Valero, A., Hernández, M., Rodríguez-Lázaro, D., 2014. Impact of the prevalence of different pathogens on the performance of sampling plans in lettuce products. *Int. J. Food Microbiol.* 184, 69–73. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.019.
- Polo, D., Varela, M.F., Romalde, J.L., 2015. Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int. J. Food Microbiol.* 193, 43–50. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.007.
- Schaeffer, J., Le Saux, J.-C., Lora, M., Atmar, R.L., Le Guyader, F.S., 2013. Norovirus contamination on French marketed oysters. *Int. J. Food Microbiol.* 166, 244–248. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.022.
- Seitz, S.R., Leon, J.S., Schwab, K.J., Lyon, G.M., Dowd, M., McDaniels, M., Abdulhafid, G., Fernandez, M.L., Lindesmith, L.C., Baric, R.S., Moe, C.L., 2011. Norovirus Infectivity in Humans and Persistence in Water. *Appl Environ Microbiol* 77, 6884–6888. doi:10.1128/AEM.05806-11.
- Simonet, J., Gantzer, C., 2006a. Degradation of the Poliovirus 1 genome by chlorine dioxide. *J. Appl. Microbiol.* 100, 862–870. doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02850.x.
- Simonet, J., Gantzer, C., 2006b. Inactivation of Poliovirus 1 and F-Specific RNA Phages and Degradation of Their Genomes by UV Irradiation at 254 Nanometers. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7671–7677. doi:10.1128/AEM.01106-06.
- Suffredini, E., Lanni, L., Arcangeli, G., Pepe, T., Mazzette, R., Ciccaglioni, G., Croci, L., 2014. Qualitative and quantitative assessment of viral contamination in bivalve molluscs harvested in Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 184, 21–26. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.026.
- Teunis, P.F.M., Moe, C.L., Liu, P., Miller, S.E., Lindesmith, L., Baric, R.S., Le Pendu, J., Calderon, R.L., 2008. Norwalk virus: how infectious is it? *J. Med. Virol.* 80, 1468–1476. doi:10.1002/jmv.21237.
- Vaillant, V., De Valk, H., Saura, C., 2012a. Les systèmes de surveillance des maladies d'origine alimentaire : sources, méthodes, apports, limites. *BEH Hors Série*, 3–6.
- Vaillant, V., Jourdan-Da Silva, N., Quilici, M.-L., Couturier, E., Le Guyader, S., Delmas, G., Le Saux, J.-C., 2012b. Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France. *BEH Hors Série*, 34–37.