

Vibrio impliqués en pathologie humaine : une étude de leur répartition dans des produits de la mer consommés en France

Stéphanie Copin (1) (stephanie.copin@anses.fr), Annick Robert-Pillot (1, 2), Mélanie Gay (1), Marie-Laure Quilici (2)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Département des produits de la pêche et de l'aquaculture, Unité Bactériologie et parasitologie des produits de la pêche et de l'aquaculture, Boulogne-sur-Mer, France

(2) Institut Pasteur, Laboratoire des Bactéries pathogènes entériques, Centre national de référence des vibrions et du choléra, Paris, France

Résumé

Les *Vibrio* spp représentent une menace sérieuse et mondiale pour la santé humaine. Trois espèces, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*, sont plus particulièrement impliquées en pathologie humaine, à l'origine de gastro-entérites, de septicémies, plus rarement de toxi-infections alimentaires collectives, après ingestion ou manipulation d'aliments contaminés, fruits de mer crus ou insuffisamment cuits. Afin d'estimer le risque sanitaire associé à la consommation de produits de la mer en France, une étude exploratoire a porté sur 167 échantillons de crustacés, poissons et coquillages frais ou congelés importés ou produits localement. Parmi eux, 58 échantillons étaient positifs pour *Vibrio* (34,7 %). *V. parahaemolyticus* était le plus fréquent, dans 52 des échantillons, suivi par *V. vulnificus* dans 21 échantillons et *V. cholerae* dans un seul échantillon. *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus* étaient présents simultanément dans seize échantillons. Les gènes de virulence (séquences *tdh* et *trh*) étaient présents dans treize des échantillons positifs pour *V. parahaemolyticus*. *V. cholerae* n'était pas toxigène. Ces premiers résultats révèlent que les produits de la mer peuvent présenter un danger potentiel pour la sécurité du consommateur en France et soulignent l'importance d'une surveillance de ces espèces.

Mots-clés

Vibrio pathogènes, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, produits de la mer

Abstract

Vibrio bacteria involved in human pathology: a study of their distribution in seafood consumed in France
Vibrio spp have emerged as a serious and global threat to human health. Of particular concern are *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* and *V. vulnificus*, linked to gastrointestinal infections and septicemia following the consumption of raw or undercooked seafood. The prevalence of these species was investigated in a total of 167 fresh or frozen crustacean, fish and shellfish samples locally produced or imported into France. These species were detected in 34.7% (n=58) of the samples (*V. parahaemolyticus* in 31.1%, *V. vulnificus* in 12.6% and *V. cholerae* in 0.6%). *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* were simultaneously detected in 9.6% of the samples. Virulence genes (*tdh* and *trh* sequences) were present in 25% of the *V. parahaemolyticus*-positive samples. The *V. cholerae* strain was non-toxigenic. Our study highlights that seafood consumption might represent a risk for human health in France, and underlines the importance of surveillance of these species.

Keywords

Pathogenic *Vibrio*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, Seafood products

Bien que la France soit le quatrième producteur de produits de la mer et de l'aquaculture au sein de l'Union européenne (France Agrimer, 2014) la production nationale ne satisfait pas la demande intérieure. Les importations proviennent souvent des pays en voie de développement et des régions chaudes dans lesquels les produits de la mer sont exposés à des dangers particuliers inhérents au milieu ou consécutifs à des contaminations lors de leurs premières manipulations. Parmi ces dangers, les vibrions constituent un sujet de préoccupation par leur présence régulière dans les produits de la mer, et ces dix dernières années, par l'augmentation constante dans le monde du nombre d'infections qui leur sont liées (CDC, 2010). Cette progression pourrait être en relation directe avec le développement croissant de ces bactéries dans les eaux côtières et estuariennes, consécutif à l'anthropisation du littoral et au réchauffement planétaire. Mais, il est vraisemblable que la modification des habitudes alimentaires (augmentation de la consommation des produits crus), la mondialisation des échanges commerciaux, le développement de l'aquaculture intensive et l'augmentation de la proportion de sujets immunodéprimés, y contribuent de façon substantielle (Sims *et al*, 2011). Aussi, l'ensemble de ces éléments justifie pleinement de mettre en place une vigilance accrue sur ces pathogènes potentiellement émergents.

Ecologie et risque sanitaire

Les *Vibrio* sont des bactéries Gram négatif, hôtes naturels du milieu marin. Ils y sont présents soit à l'état libre, soit associés à différents supports, sédiments, particules en suspension, plancton. Ils sont

également retrouvés dans l'intestin et les tissus des poissons, des crustacés et des coquillages, et sont donc présents naturellement dans la matière première de produits alimentaires. Leur densité dans l'environnement marin évolue en fonction de divers facteurs climatiques et environnementaux, tels que la température de surface de l'eau, la salinité, la turbidité, le pH, la chlorophylle A. Le caractère saisonnier de l'augmentation de la densité des vibrions dans l'environnement marin, observée durant les mois les plus chauds de l'année, correspond au caractère saisonnier des infections chez l'Homme. Les *Vibrio* sont fréquemment isolés des produits de la mer à de faibles concentrations. Le risque sanitaire est alors essentiellement lié à leur capacité à se multiplier dans les aliments pendant leur stockage ou leur transformation, ces bactéries ayant une croissance rapide dans les produits de la mer, y compris les coquillages vivants. Un produit faiblement contaminé mais stocké dans de mauvaises conditions de température pourra rapidement atteindre une dose infectieuse pour l'Homme. Il est à noter que peu de données sont connues à ce jour concernant la dose réponse, quelles que soient l'espèce considérée et la voie de contamination.

Principales espèces pathogènes pour l'Homme

La reconnaissance du rôle des vibrions en pathologie humaine est surtout due à l'existence du « vibron cholérique », agent du choléra, appartenant aux sérogroupes O1 et O139 de l'espèce *V. cholerae*. Les souches de *V. cholerae* non-O1 et non-O139, et appartenant

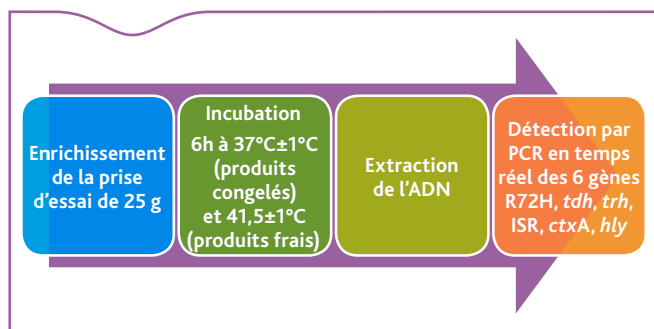


Figure 1. Principales étapes de la recherche des *Vibrio* potentiellement pathogènes pour l'Homme

à d'autres espèces de *Vibrio*, notamment *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*, désignées par le terme de « vibrions non cholériques », sont responsables de toxi-infections alimentaires à l'origine de gastroentérites, ou d'infections extra-intestinales sévères dont des septicémies (Quilici et Robert-Pillot, 2011).

Une étude récente menée en Italie a montré que 3,4 % des cas hospitalisés pour gastroentérites aiguës après consommation de produits de la mer étaient dus à *V. cholerae* non-O1/non-O139 (Ottaviani *et al*, 2009). De nombreux facteurs de virulence sont associés aux infections à *V. cholerae* non-O1/non-O139, dont le pouvoir pathogène s'exprime par des mécanismes différents de ceux des vibrions cholériques. Dans de très rares cas, ces souches possèdent les gènes de la toxine cholérique.

V. parahaemolyticus est aujourd'hui reconnu comme la principale cause de gastroentérite associée à la consommation de produits de la mer aux États-Unis et au Japon. Le pouvoir pathogène de cette bactérie est lié à la présence de deux hémolysines, une hémolysine thermostable directe (thermostable direct hemolysin ou TDH) et une hémolysine apparentée à l'hémolysine thermostable directe (tdh-related hemolysin tdh-related

hemolysin ou TRH). Selon les données publiées, pratiquement tous les isolats de *V. parahaemolyticus* associés à une gastro-entérite produisent l'une et/ou l'autre des deux hémolysines.

La toxine cholérique de *V. cholerae* et les hémolysines TDH et TRH de *V. parahaemolyticus* ne sont pas préformées dans les aliments mais produites dans l'intestin suite à la colonisation par ces souches.

V. vulnificus est naturellement présent dans le milieu marin. Cette espèce produit un grand nombre de facteurs de virulence et est à l'origine d'un nombre croissant d'infections graves, essentiellement des septicémies primaires et des infections cutanées, dont l'évolution peut être extrêmement rapide et souvent mortelle, beaucoup plus rarement des infections gastro-intestinales.

Contexte réglementaire national

Les risques liés aux *Vibrio* dans les produits de la pêche dépendent des espèces et des souches susceptibles d'être détectées. Faute de réglementation au niveau européen, des modalités de gestion spécifiques, proportionnées et harmonisées des lots de produits de la mer ont été établies au niveau national par les autorités sanitaires. Quatre catégories principales de souches de *Vibrio* présentant un niveau de risque pour l'Homme par voie alimentaire sont répertoriées :

- *V. parahaemolyticus* possédant au moins l'un des gènes des hémolysines TDH ou TRH,
- *V. cholerae* appartenant aux sérogroupes O1 ou O139,
- *V. cholerae* non-O1 et non-O139 possédant les gènes de la toxine cholérique,
- *V. vulnificus* (uniquement pour des produits de la pêche et des coquillages importés des régions du monde où des cas humains dus à la consommation de produits contaminés par *V. vulnificus* ont été documentés).

Les lots contaminés par ces souches doivent être détruits.

Tableau 1. Échantillons analysés par type de produits et par origine géographique

Type de produit	Conservation	Matrice	Origine géographique
Poissons	Congelé (n=37)	Espadon (n=5)	Inconnue (n=5)
		Mahi-mahi (n=1)	Inconnue (n=1)
		Pangas (n=14)	Asie (n=14)
		Perche (n=3)	Ouganda (n=3)
		Plie (n=1)	Manche (n=1)
		Saumon (n=4)	Norvège (n=2), Pologne (n=2)
		Thon (n=9)	Inconnue (n=4) Équateur (n=5)
	Frais (n=27)	Bar (n=3)	Atlantique (n=3)
		Panga (n=2)	Asie (n=2)
		Plie (n=1)	Atlantique Nord Est (n=1)
		Saumon (n=10)	Norvège (n=7), Écosse (n=2), Atlantique Nord Est (n=1)
		Sandre (n=1)	Atlantique Nord Est (n=1)
		Sardine (n=5)	Atlantique Nord Est (n=3), France (n=2)
		Tilapia (n=1)	Équateur (n=1)
		Thon (n=1)	Équateur (n=1)
Truite (n=3)	France (n=3)		
Coquillages	Congelé (n=2)	Coquille Saint-Jacques (n=1)	Inconnue (n=1)
		Huître (n=1)	France (n=1)
	Frais (n=10)	Coquille Saint-Jacques (n=5)	Atlantique Nord Est (n=2), France (n=2), Danemark (n=1)
		Moule (n=5)	France (n=5)
Crustacés	Congelé (n=91)	Crabe (n=5)	Océan Indien (n=5)
		Crevette (n=82)	Asie (n=2), Bangladesh (n=5), Colombie (n=2), Équateur (n=11), Honduras (n=3), Inconnue (n=9), Inde (n=2), Madagascar (n=37), Nicaragua (n=1), Pérou (n=1), Océan indien (n=9)
		Gambas (n=4)	Argentine (n=1), Asie (n=2), Océan Indien (n=1)
Total	n=167		

Jusqu'en 2014, l'espèce *V. vulnificus* n'était pas prise en compte comme agent pathogène par voie alimentaire, car seuls les États-Unis et le Japon rapportaient des cas d'infection à *V. vulnificus* par voie digestive chez des groupes à risques (hôtes présentant essentiellement des pathologies hépatiques). De récentes données épidémiologiques ont fait évoluer cette position. En effet, en 2008, trois cas de chocs septiques dus à *V. vulnificus*, clairement liés à la consommation d'huîtres crues, et ayant entraîné trois décès en quelques heures, ont été signalés en Nouvelle-Calédonie (Cazorla *et al.*, 2009). C'est pourquoi les autorités compétentes ont décidé de prendre des mesures de destruction et de retrait du marché de tout lot contaminé par des souches de *V. vulnificus* lorsque celui-ci correspond à un des couples produits de la mer - région pour lesquels la contamination par *V. vulnificus* par voie digestive a été rapportée ou si les conditions épidémiologiques le justifient. Les facteurs de pathogénicité associés à *V. vulnificus* sont mal caractérisés et semblent être multiples. Les experts mondiaux considèrent donc toutes les souches comme potentiellement virulentes (FAO, 2005).

Étude de la distribution des *Vibrio* dans les produits de la mer

Compte tenu du contexte mentionné dans les paragraphes précédents et du potentiel de virulence de certaines souches, il est apparu nécessaire de développer des méthodes adaptées à la détection et à la caractérisation de ces agents pathogènes afin de mieux estimer la situation en Europe et le risque sanitaire associé à la consommation de produits de la mer. Ce risque a été étudié, particulièrement en Espagne, en Italie, en Suisse et en Allemagne (Canigral *et al.*, 2010; Ottaviani *et al.*, 2009; Schärer *et al.*, 2011; Huehn *et al.*, 2014), mais peu de données sont actuellement disponibles en France (Rosec *et al.*, 2012).

Dans ce contexte, une étude a été mise en œuvre en 2009 dans le cadre d'un projet visant à déterminer globalement la prévalence des *Vibrio* pathogènes pour l'Homme dans les produits de la mer, locaux ou importés, consommés en France et pour caractériser l'exposition des consommateurs au risque *Vibrio*. Un total de 167 échantillons

de produits de la mer (130 échantillons congelés et 37 échantillons frais) représentatifs du marché français ont été collectés avant leur commercialisation, de façon échelonnée dans le temps durant la période de 2009 à 2012 (Robert-Pillot *et al.*, 2010, 2014). Trois types de produits ont été étudiés : les crustacés, les poissons et les coquillages (Tableau 1) selon le protocole schématisé dans la Figure 1.

Parmi ces 167 échantillons, 58 (34,7 %) se sont révélés positifs pour au moins une des trois espèces de *Vibrio* recherchées (Tableau 2). L'espèce *V. parahaemolyticus* était prédominante et retrouvée dans 52 échantillons (31,1 %). *V. vulnificus* était présent dans 21 échantillons (12,6 %) et *V. cholerae* n'a été retrouvé que dans un seul échantillon (0,6 %). *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus* étaient présents simultanément dans seize échantillons (9,6 %). L'analyse des résultats a montré que sept échantillons (18,9 %) des produits frais et 51 échantillons (30,5 %) des produits congelés étaient positifs pour au moins une des trois espèces de *Vibrio* étudiées.

Les échantillons les plus fréquemment contaminés étaient issus des crustacés congelés pour lesquels *V. parahaemolyticus* (porteurs ou non des gènes codant pour les hémolysines) et *V. vulnificus* étaient présents respectivement dans 46 échantillons (50,54 %) et quinze échantillons (16,48 %) (Figures 2 et 3). Des résultats comparables ont déjà été décrits dans la littérature et pourraient s'expliquer par la capacité des *Vibrio* à produire une chitinase et à adhérer et coloniser la carapace riche en chitine des crevettes et des crabes (Castro-Rosas and Escartin, 2002). D'autre part, le tube digestif des crevettes est étroitement associé au muscle caudal prélevé pour réaliser ces analyses, cette proximité induisant un fort risque de contamination. Le rôle de la matrice a également été mis en évidence dans une étude que nous avons menée sur des filets frais de saumons et de sardines dans lesquels peu de *Vibrio* potentiellement pathogènes ont été mis en évidence (Copin, communication personnelle). Le type de matrice (poissons, coquillages ou crustacés) pourrait avoir un impact important sur la présence des *Vibrio* dans les produits de la mer. Enfin, il semble que, quelle que soit la pratique de conservation (frais ou congelé), la présence de *Vibrio* peut être mise en évidence en cas de contamination,

Tableau 2. Détection des *Vibrio* totaux et pathogènes dans les produits de la mer

Matrice	Type de produit	Nombre d'échantillons	Congelé (C) ou Frais (F)	Présence (+) ou absence (-) par PCR en temps réel de				
				<i>V. parahaemolyticus</i>			<i>V. vulnificus</i>	<i>V. cholerae</i>
				R72h ⁽¹⁾	<i>tdh</i> ⁽²⁾	<i>trh</i> ⁽²⁾	<i>hly</i> ⁽³⁾	ISR ⁽⁴⁾
Crustacés	Crevette	27	C	+	-	-	-	-
	Crevette	2	C	+	+	-	-	-
	Crevette	1	C	+	+	-	+	-
	Crevette	3	C	+	+	+	+	-
	Crevette	8	C	+	-	-	+	-
	Crevette	2	C	-	-	-	+	-
	Crabe	1	C	+	+	-	-	-
	Crabe	1	C	+	-	-	-	-
	Gambas	1	C	+	-	-	+	-
	Gambas	2	C	+	-	-	-	-
Poissons	Thon	1	C	-	-	-	+	-
	Panga	1	C	-	-	-	+	-
	Panga	1	C	-	-	-	-	+
	Truite	1	F	+	+	+	+	-
	Saumon	1	F	+	+	-	+	-
	Saumon	1	F	+	+	-	-	-
	Sardine	1	F	+	+	+	+	-
	Sardine	1	F	+	+	-	-	-
	Sardine	1	F	-	-	-	+	-
Coquillages	Coquille Saint-Jacques	1	F	+	+	+	-	-

(1) R72H : séquence spécifique de l'espèce *V. parahaemolyticus* ; (2) *tdh* et *trh* : gènes associés à la virulence de *V. parahaemolyticus* ; (3) *hly* : séquence codant pour l'hémolysine HLY de *V. vulnificus* ; (4) ISR : séquence spécifique de l'espèce *V. cholerae*

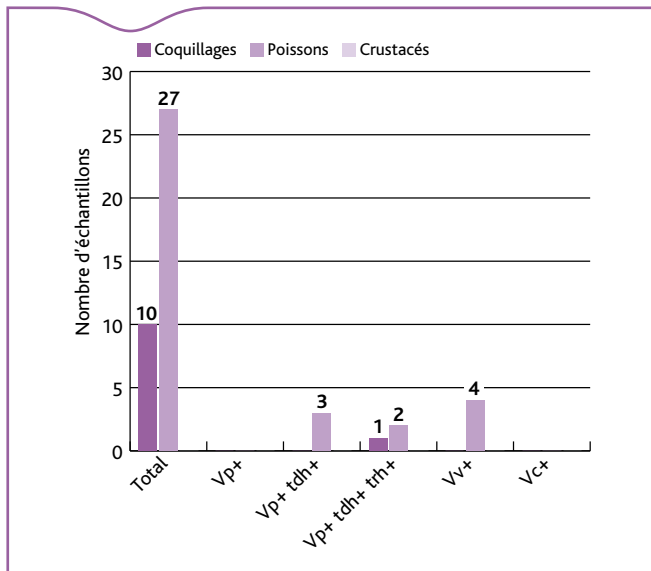


Figure 2. Nombre d'échantillons total analysés et positifs pour *Vibrio* par type de matrices dans les produits frais
 Vp : *Vibrio parahaemolyticus*, Vv : *Vibrio vulnificus*, Vc : *Vibrio cholerae*, tdh et trh : gènes des hémolysines TDH ou TRH

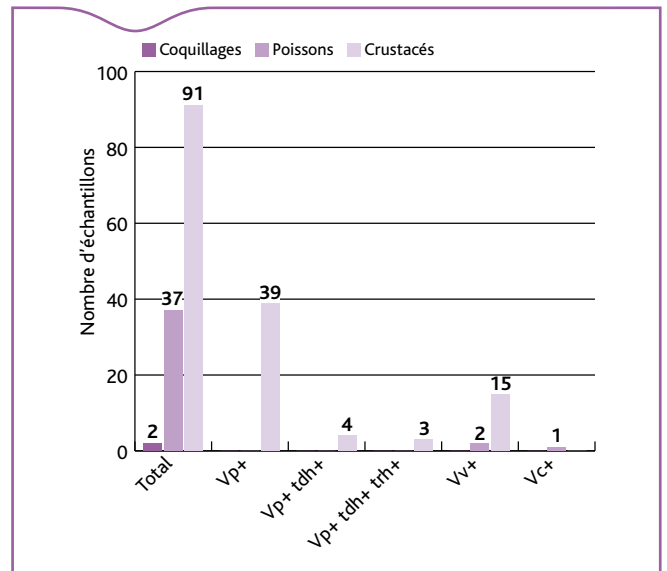


Figure 3. Nombre d'échantillons total analysés et positifs pour *Vibrio* par type de matrices dans les produits congelés
 Vp : *Vibrio parahaemolyticus*, Vv : *Vibrio vulnificus*, Vc : *Vibrio cholerae*, tdh et trh : gènes des hémolysines TDH ou TRH

notamment grâce à une étape d'enrichissement qui permet de revivifier les bactéries stressées, même dans les produits congelés.

Les gènes de virulence (séquences *tdh* et/ou *trh*) ont été détectés dans treize échantillons sur les 52 positifs pour *V. parahaemolyticus* (25 %), avec une proportion plus importante dans les produits frais que dans les produits congelés. En effet, les six échantillons de produits frais positifs pour *V. parahaemolyticus* étaient tous porteurs des gènes de virulence, alors que seulement sept des 46 échantillons de produits congelés positifs pour *V. parahaemolyticus* étaient porteurs des gènes codant pour les hémolysines. Ces résultats sont en accord avec ceux d'études antérieures dans lesquelles des variations de 1 % à 45 % ont été rapportées en fonction des zones géographiques étudiées, suggérant que certains secteurs de l'environnement peuvent constituer des écosystèmes particuliers dans lesquels les *Vibrio* seraient plus abondants (Robert-Pillot *et al.*, 2004; Cantet *et al.*, 2013). La grande variation observée dans la proportion de souches porteuses des gènes *tdh* et *trh* pourrait aussi s'expliquer par l'utilisation de méthodes de détection très différentes selon les études (hybridation sur colonies, PCR en temps réel basée sur l'utilisation d'agents intercalants type SYBR Green ou de sondes d'hydrolyse). *V. cholerae* détecté dans cette étude était non toxigène, mais pas forcément dénué de tout pouvoir pathogène. Le Centre national de référence des vibrions et du choléra identifie régulièrement des souches appartenant à cette espèce à l'origine d'infections humaines. À ce jour, aucun marqueur ne permettant de distinguer les souches virulentes de *V. vulnificus* des souches avirulentes, toutes ont été considérées comme ayant le même potentiel de pathogénicité. La proportion de *V. vulnificus* détectée dans cette étude (12,6 %) est plus élevée que celle décrite dans la littérature (Serracca *et al.*, 2011) mais peu de données sont disponibles actuellement, les études réalisées sur cette espèce restant rares.

Les résultats provenant de cette étude exploratoire doivent être interprétés avec précaution du fait du petit nombre d'échantillons prélevés dans chacune des trois grandes catégories de produits (crustacés, coquillages et poissons) analysés au cours des trois années d'étude. Les données obtenues en termes de types d'échantillon dans lesquels il a été possible d'isoler les trois espèces de *Vibrio* recherchées, doivent donc être analysées en tant que données qualitatives et peuvent difficilement permettre de calculer des valeurs de prévalence par type de produits avec une bonne précision. Néanmoins, il s'agit d'une première étude exploratoire qui permettra d'orienter les travaux complémentaires à mener, en particulier en termes de type de produits ou de mode de conservation.

De plus, au vu du nombre important de pays exportateurs, empêchant toute possibilité d'analyse statistique, il n'a pas été possible de corréler la provenance des échantillons avec leur degré de contamination, ni d'identifier des sites écologiques particuliers.

Conclusion

Les résultats collectés au cours de cette étude donnent une indication intéressante sur la présence des espèces *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* et *V. vulnificus* dans les produits locaux ou importés mis en vente sur le marché français, et en particulier sur la présence de souches portant des gènes codant pour des facteurs de pathogénicité connus. Ceci souligne la nécessité d'une vigilance accrue et d'un contrôle régulier des produits régionaux ou importés, dont la mise en œuvre systématique pourrait évoluer à la faveur du développement récent de méthodes de détection et de quantification. Un renforcement de la surveillance des produits de la mer permettra de mieux anticiper la menace potentielle de ces pathogènes en santé humaine.

Remerciements

L'étude de prévalence a bénéficié d'un financement de FranceAgrimer (2010-1254).

Références bibliographiques

- Cañigral, I., Moreno, Y., Alonso, J.L., González, A., Ferrús, M.A., 2010. Detection of *Vibrio vulnificus* in seafood, seawater and wastewater samples from a Mediterranean coastal area. *Microbiol Res* 165(8):657-64.
- Cantet, F., Hervio-Heath, D., Caro, A., Le Menec, C., Monteil, C., Quéméré, C., Jolivet-Gougeon, A., Colwell, R.R., Monfort, P., 2013. Quantification of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* in French Mediterranean coastal lagoons. *Res Microbiol* 164, 867-874.
- Castro-Rosas, J., Escartin, E.F., 2002. Adhesion and colonisation of *Vibrio cholerae* O1 on shrimp and crab carapaces. *J Food Prot* 65, 492-498.
- Cazorla, C., Guigon, A., Mikulski, M., Scotet, J., Lacassin, F., 2009. O-01 Infection à *Vibrio Vulnificus* : à propos de 3 cas mortels. *Med Mal Infect* 39, S64-S64.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food – 10 States, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; 59 (14): 418-22.
- Huehn, S., Eichhorn, C., Urmersbach, S., Breidenbach, J., Bechlers, S., Bier, N., Alter, T., Bartelt, E., Frank, C., Oberheitmann, B., Gunzer, F., Brennholt, N., Böer, S., Appel, B., Dieckmann, R., Strauch, E., Pathogenic vibrios in environmental, seafood and clinical sources in Germany. *Int J Med Microbiol*. 304(7):843-50.

France Agrimer 2014. Les filières pêche et aquaculture en France, Edition avril 2014. 36 pp.

Ottaviani, D., Leoni, F., Rocchegiani, E., Santarelli, S., Masini, L., Di Trani, V., Canonico, C., Pianetti, A., Tega, L., Carraturo, A., 2009. Prevalence and virulence properties of non-O1 non-O139 *Vibrio cholerae* strains from seafood and clinical samples collected in Italy. *Int J Med Microbiol* 132, 47-53.

Quilici ML, Robert-Pillot A. 2011. Infections à vibrions non cholériques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-026-F-15, 12pp.

Robert-Pillot, A., Copin, S., Gay, M., Malle, P., Quilici, M.L., 2010. Total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp: Fast and reliable quantification by real-time PCR. *Int J Food Microbiol*, 143, 190-197.

Robert-Pillot, A., Copin, S., Himber, C., Gay, M., Quilici, M.-L., 2014. Occurrence of the three major *Vibrio* species pathogenic for human in seafood products consumed in France using real-time PCR. *Int J Food Microbiol*, 189, 75-81.

Robert-Pillot, A., Guérolé, A., Lesne, J., Delesmont, R., Fournier, J.M., Quilici, M.L., 2004. Occurrence of the tdh and trh genes in *Vibrio parahaemolyticus*

isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *Int J Food Microbiol* 91, 319-325.

Rosec, J.-P., Causse, V., Cruz, B., Rauzier, J., Carnat, L., 2012. The international standard ISO/TS 21872-1 to study the occurrence of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in seafood: ITS improvement by use of a chromogenic medium and PCR. *Int J Food Microbiol*, 157(2):189-94.

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

Serracca, L., Battistini, R., Rossini, I., Prearo, M., Ottaviani, D., Leoni, F., Ercolini, C., 2011. *Vibrio* virulence genes in fishes collected from estuarine waters in Italy. *Letters Appl Microbiol*, 53(4):403-8.

Sims, J.N., Isokpehi R.D., Cooper G.A., Bass M.P., Brown S.D., St. John A.L., Gulig P.A., Cohly H.H.P., 2011. Visual Analytics of Surveillance Data on Foodborne Vibriosis, United States, 1973–2010. *Environ Health Insights*, 5, 71-85.