

Rapport d'activités 2023

Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie
Laboratoire National de Référence Microbiologie des
coquillages

Auteurs :

Garry Pascal, Le Guyader Soizick, juin 2024

Collaborateurs :

Desdouits Marion, Kaelin Gaëlle, Le Mennec Cécile, Maillot Jessica, Ollivier Joanna, Parnaudeau Sylvain, Philippe Cécile, Reynaud Yann, Rocq Sophie, Schaeffer Julien, Vallade Emilie, Véron Antoine, Vincent-Hubert Françoise, Wacrenier Candice.

Fiche documentaire

Titre du rapport : Rapport d'activités 2023 – Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie

Référence interne :

Diffusion

- libre (internet)
- restreinte (intranet)
 - levée d'embargo : AAAA/MM/JJ
- interdite (confidentielle)
 - levée de confidentialité : AAAA/MM/JJ

Date de publication :

2024/06/30

Version : 1.1.0

Référence de l'illustration de couverture

Crédit photo/ titre / date

Langue(s) :

Résumé / Abstract :

Ce rapport présente une synthèse des actions et travaux réalisés par le laboratoire Santé Environnement et Microbiologie (LSEM) pendant l'année 2023. Les actions du Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages, les activités de la coordination du réseau REMI sont présentées, et s'accompagnent de résumés des projets de recherche et des derniers développements de méthodes

Mots-clés / Key words :

Microbiologie sanitaire, bactéries entériques, vibrions, virus entériques humains, norovirus, coquillages, activité de référence, REMI.

Comment citer ce document :

P. Garry, F. S. Le Guyader, (2024), rapport d'activités 2023, laboratoire Santé, Environnement et Microbiologie, Laboratoire National de Référence de Microbiologie des coquillages.

Disponibilité des données de la recherche :

DOI :

Commanditaire du rapport :

Nom / référence du contrat :

- Rapport intermédiaire (Réf. Bibliographique : XXX)
 Rapport définitif

Réf. Interne du rapport intermédiaire : /

Projets dans lesquels ce rapport s'inscrit (programme européen, campagne, etc.) :

Auteur(s) / adresse mail

Affiliation / Direction / Service, laboratoire

Garry Pascal,
pascal.garry@ifremer.fr

RBE/MASAE/LSEM

Le Guyader Soizick,
soizick.le.guyader@ifremer.fr

RBE/MASAE/LSEM

Encadrement(s) :

/

Destinataires :

/

Validé par :

Soizick Le Guyader

Sommaire

1. Introduction.....	6
2. Rappel des objectifs.....	6
3. Moyens et effectifs.....	7
3.1. Personnel Ifremer	7
3.2. Personnel titulaire d'un contrat à durée déterminée.....	8
3.3. Doctorants.....	8
3.4. Post-doctorants	8
3.5. Stagiaires	8
3.6. Apprentis en alternance	9
3.7. Accueil chercheurs étrangers.....	9
4. Actions liées aux missions de LNR.....	10
4.1. Démarche qualité.....	10
4.2. Coordination technique des laboratoires agréés	10
4.2.1. Organisation des essais inter-laboratoires pour les laboratoires agréés - Appui à la démarche d'accréditation des laboratoires.....	10
4.2.2. Expertises, avis, assistance technique	11
4.3. 27ème EURL-Salmonella workshop les 22 et 23 mai 2023	12
4.4. Assistance à l'administration	12
4.5. Normalisation.....	12
4.6. Analyses officielles	12
4.7. Participation aux essais des LRUE, Cefas et PHE	13
4.8. Diffusion de l'information à l'administration et/ou aux laboratoires agréés.	14
4.9. Développement /validation de méthode.....	15
4.9.1. Culture cellulaire et infectiosité virale.....	15
4.9.2. Estimation de la limite de détection et de quantification de méthode de quantification des norovirus.....	15
4.9.3. Dénombrement des <i>Vibrio</i> enteropathogènes	15
4.10. Etude exploratoire pour la prise en compte des apports en norovirus sur les zones de production.....	16
5. Coordination REMI et études sanitaires.....	17
5.1. Projet de recherche REMI-TK.....	19
6. Actions liées aux projets de recherche.....	19
6.1. Goyave (Projet ANR n°19-CE35-0014)	19
6.2. ROME (Projet institut).....	20
6.3. VEO (Projet H2020 n° 874735).....	21
6.4. APINOV (Projet Feamp n°509528).....	22

6.5. Projet OBEPINE-RATVAR	23
6.6. Noroban (projet institut Direction Scientifique).....	25
6.7. Projet PEACH (Région Pays de la Loire).....	25
7. Veille d'urgence	26
8. Conclusion et perspectives 2024.....	27

1. Introduction

Ce rapport présente nos différentes actions et résultats dans le cadre de notre mission de laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages, ainsi qu'un résumé de nos projets de recherche. Nos actions de LNR sont diverses entre les échanges avec les laboratoires agréés, l'organisation de la journée pour la Microbiologie et l'Environnement ou les interactions avec les différents LRUEs en charge des microorganismes d'intérêt pour notre thématique. La Microbiologie sanitaire, thème de recherche fédérant notre laboratoire, thématique à l'interface de la santé publique, de la qualité des eaux côtières et des coquillages, nous permet d'exercer notre activité de Laboratoire National de Référence, en apportant connaissance scientifique et expertise technique. La connaissance de la qualité microbiologique des zones littorales obtenue via le REMI contribue à notre approche intégrée de la compréhension des facteurs liés à la contamination des coquillages.

2. Rappel des objectifs

Au titre de Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des coquillages, les missions et objectifs sont les suivants :

- coordonner des activités des laboratoires réalisant des analyses microbiologiques sur des coquillages dans le cadre des contrôles officiels exercés par la puissance publique,
- appuyer la puissance publique dans le suivi de réseaux de laboratoires agréés pour la recherche des norovirus, des *Salmonella* et le dénombrements des *E. coli* dans les coquillages, notamment par l'organisation d'essais inter-laboratoires.
- assister l'administration par l'expertise et l'appui scientifiques et techniques au plan national, européen (DG Sanco) ou international (OMS, FAO, Codex), notamment concernant les projets de réglementation ou de normalisation,
- Réaliser, à la demande de l'administration, des analyses bactériologiques et virologiques de contrôle officiel sur les échantillons de coquillages notamment lors des épisodes de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) liées à la consommation de coquillages, en relation avec Santé Publique France et la DGAI (Sous-Direction de la Sécurité Sanitaire des Aliments), à la collecte et à la gestion des informations nationales et européennes liées à des alertes sanitaires,
- réaliser des analyses bactériologiques et virologiques sur des échantillons qui lui sont confiées directement par le ministère ou à sa demande dans des situations qui ont ou peuvent avoir des incidences sur la santé publique.

Ces activités de référence s'appuient sur des projets de recherche permettant de :

- développer des techniques de détection des microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme, connus ou émergents. A cette fin, des techniques de biologie moléculaire visant les principaux virus et bactéries entériques ainsi que les vibrions sont évaluées;
- étudier les mécanismes de persistance et de dissémination en milieu marin des microorganismes présentant des risques pour la santé humaine et en particulier de rechercher des moyens analytiques pour évaluer leur pouvoir pathogène, qu'ils soient cultivables ou non ;
- effectuer des travaux de recherche sur des systèmes de prévention de la contamination des zones de production et des techniques de purification des coquillages et de les valider ;
- anticiper l'apparition de nouveaux agents pathogènes en développant des outils pour une surveillance de l'émergence (veille bibliographique et épidémiologique).

3. Moyens et effectifs

<i>Nom</i>	Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie - LNR Ifremer
<i>Adresses</i>	Rue de l'Île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 03
<i>Téléphone</i>	(33) 2 40 37 40 52
<i>Mail</i>	Soizick.Le.Guyader@ifremer.fr
<i>Site internet</i>	https://lsem.ifremer.fr/

3.1. Personnel Ifremer

Personnel permanent (pendant la période)

Responsable du laboratoire : LE GUYADER Soizick

DESDOITS Marion	C - 100%
GARRY Pascal	C - 100%
HUBERT Françoise	C - 91%
KAELIN Gaëlle	C - 100%
LE MENNEC Cécile	T - 100%
MAILLOT Jessica	T – 80%
OLLIVIER Joanna	C - 100%
PARNAUDEAU Sylvain	T - 100%
*PHILIPPE Cécile	C –100%
REYNAUD Yann	C –100%
ROCQ Sophie	C – 100%
SCHAEFFER Julien	C - 100%
VALLADE Emilie	T - 80%
VERON Antoine	T - 100%
WACRENIER Candice	T- 100%

C: cadre, T : technicien

*arrivée au 1er février 2023

3.2. Personnel titulaire d'un contrat à durée déterminée

Nom – Prénom	Qualification	Date arrivée	Date départ	Projet
GAUFFRIAU Mathias	Technicien	16/01/23	04/11/23	Projet APINOV
LE GALLUDEC Quentin	Ingénieur	01/08/22	01/08/23	Dénombrement des <i>Vibrio</i> entéro-pathogènes

3.3. Doctorants

Nom – Prénom	Début de thèse	Date de soutenance	Sujets	Ecoles Doctorales d'inscription	Encadrement scientifique
Euller Gabriel	01/10/19	17/05/23	Rôle des glycanes dans la sélection et de la persistance des virus entériques humains dans les huîtres et le milieu littoral	Université de Nantes	S. Le Guyader, M. Desdouits
Marteau Flora	02/10/23		Influence du microbiote sur la diversité et la persistance des norovirus dans les aliments	Université de Nantes	M. Desdouits S. le Guyader et S. Perelle (ANSES)

3.4. Post-doctorants

Nom – Prénom	Date début	Date fin	Sujet	Encadrement scientifique

3.5. Stagiaires

Nom – Prénom	Début du stage	Fin du stage	Sujet	Niveau d'étude	Ecole	Encadrement scientifique au LSEM
Guerry Capucine	03/01/23	30/06/23	L'activité antivirale des bactéries (Projet Noroban)	M2	Université de Tours	M. Desdouits D.Passerini (EM3B)

3.6. Apprentis en alternance

Nom – Prénom	Date début	Date fin	Niveau d'étude	Sujet		Encadrement scientifique
Galvao Elise	04/09/23	30/08/24	L3	Projet ROME	Université de Nantes	S. Parnaudeau

3.7. Accueil chercheurs étrangers

Début de l'accueil	Fin de l'accueil	Nom – Prénom	Nationalité	Organisme	Encadrement scientifique
06/02/23	06/07/23	Troja Fulvia	Italienne	Doctorante université de Bologne	J. Schaeffer S. Le Guyader

4. Actions liées aux missions de LNR

4.1. Démarche qualité

L'année 2023 a été marquée par un effort important documentaire du LSEM concernant 3 axes d'amélioration du système de management de la qualité :

1. Evolution de la flexibilité de la portée d'accréditation pour les essais en biologie moléculaire (les analyses norovirus et VHA) et passage de la portée fixe en portée Flex3 ;
2. Intégration de l'outil Labcollector pour une gestion des équipements centralisée au niveau de l'Ifremer ;
3. Simplification et centralisation de la procédure des achats.

Les évolutions ont été examinées en décembre par une équipe d'auditeurs Cofrac qui ont mené une évaluation de renouvellement d'accréditation par le COFRAC (Comité Français d'Accréditation) pour la réalisation d'essais sur les paramètres *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., norovirus et virus de l'hépatite A dans les coquillages (Cofrac essais, portée disponible sur www.cofrac.fr, n° accréditation 1-5451). Les auditeurs ont exprimé leur confiance dans le système de management de la qualité, l'aptitude du laboratoire à réaliser ces essais en conformité avec les exigences de l'accréditation pour les méthodes présentes dans sa portée actuelle ainsi que dans la capacité du laboratoire à réaliser les essais en portée Flex3 sur le programme LAB GTA 59 virologie.

4.2. Coordination technique des laboratoires agréés

4.2.1. Organisation des essais inter-laboratoires pour les laboratoires agréés - Appui à la démarche d'accréditation des laboratoires

Dans le cadre de la coordination des laboratoires agréés, le laboratoire a organisé une campagne d'essais inter-laboratoires d'aptitude, pour les critères *E. coli*, *Salmonella* et norovirus le 27 mars 2023. Les laboratoires agréés ont pour obligation de participer aux essais organisés par le LNR. D'autres laboratoires peuvent également y participer.

L'essai inter-laboratoires portant sur les deux paramètres réglementaires (*E. coli* et *Salmonella*) a été réalisé sur la matrice huître. Chacun des laboratoires peut utiliser une ou deux méthodes pour chacune des bactéries cibles. Les laboratoires agréés devant à minima utiliser la méthode de référence (NF EN ISO 16649-3 pour *E. coli* et NF EN ISO 6579-1 pour *Salmonella*). L'envoi aux participants comportait cinq échantillons pour l'essai *E. coli* (contaminés à environ 2 500 *E. coli*/100g de CLI) et deux échantillons positifs pour l'essai *Salmonella*.

Le nombre de participants est donné dans le Tableau 1 et les résultats obtenus par les laboratoires sont reportés dans le Tableau 2.

Tableau 1 : Bilan des participations aux essais d'aptitude *E. coli* et *Salmonella*

<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>
28 laboratoires	23 laboratoires
(38 couples laboratoire/méthode)	(35 couples laboratoire/méthode)

Tableau 2 : Résultats des participants (couples laboratoire/méthode) aux essais d'aptitude *E. coli* et *Salmonella*

<i>Escherichia coli</i>			<i>Salmonella</i>	
Satisfaisant	Discutable	Non satisfaisant	Satisfaisant	Non satisfaisant
35 couples	7 couples	4 couples	35 couples	0 couple

Des résultats non satisfaisant pour le dénombrement des *E. coli* ont été obtenus pour quatre laboratoires utilisant la méthode NF EN ISO 16649-3, pour trois d'entre eux des problèmes de fidélité ont été observés et la justesse pour le dernier. Cinq laboratoires étaient discutables pour la fidélité et deux pour la justesse. Le LNR a apporté son appui à ces laboratoires pour identifier les causes de ces non conformités et définir les actions correctives à mettre en place.

L'ensemble des laboratoires a été satisfaisant pour *Salmonella*.

Concernant l'essai inter-laboratoires pour la recherche des norovirus dans les coquillages, les 8 laboratoires (5 laboratoires agréés) ont reçu cinq échantillons d'huîtres creuses vivantes, contaminées par des norovirus des génogroupes (G)I et II. Les huit laboratoires ont obtenu des résultats satisfaisant pour cet essai inter-laboratoires.

Pour la première fois le LNR a organisé un essai inter-laboratoires pour la quantification des norovirus dans les coquillages vivants. Sept laboratoires ont participé à cet essai. Chacun des participants a reçu cinq échantillons identiques, composés des huîtres vivantes contaminés par des norovirus des deux génogroupes GI et GII. Les laboratoires ont été évalués sur les critères qualité basés sur la norme NF EN ISO 15216-1 (rendement d'extraction, poids de prise d'essai et contrôle d'inhibition), la justesse et la fidélité.

Pour cet essai, six laboratoires ont démontré une performance globale satisfaisante.

Un laboratoire a obtenu un résultat discutable en fidélité pour la quantification des norovirus GI.

4.2.2. Expertises, avis, assistance technique

Comme les années précédentes, l'assistance technique a concerné essentiellement le suivi de la performance des laboratoires participants aux essais inter-laboratoires d'aptitude avec les deux méthodes de référence pour le dénombrement des *E. coli* (NF EN ISO 16649-3 – Technique du Nombre le Plus Probable (NPP) et NF V08-106 - Technique par impédancemétrie).

Le LNR a porté assistance aux laboratoires dans l'application de la norme ISO 15216-1 pour le dénombrement des norovirus.

Le laboratoire a reçu Andrew Manson du North Atlantic Fisheries College (NAFC), Iles Shetland, Ecosse. Cet institut est en charge du classement et de la surveillance des zones conchylicoles (la production majoritaire étant des moules). L'objectif premier de cette visite était de former Andrew à la technique d'impédancemétrie pour le dénombrement des *E. coli* dans les coquillages et d'échanger sur les pratiques de classement et de surveillance dans les deux pays. Le NAFC doit à terme utiliser l'impédancemétrie pour les analyses de coquillage.

4.3. 27ème EURL-Salmonella workshop les 22 et 23 mai 2023

Un bilan des TIAC à *Salmonella* au niveau européen a été présenté. *Salmonella* reste le premier agent responsable de TIAC au niveau européen.

En ce qui concerne les méthodes d'analyse pour les analyses officielles beaucoup de LNR utilisent des méthodes alternatives (Screening) et confirment par la méthode ISO en cas de résultat positif. Différents travaux sur la métagénomiques ont fait l'objet de présentations.

Aucune présentation sur les produits de la mer n' a été faite.

Le LRUE n'ayant pas organisé d'essai inter-laboratoires sur les coquillages en 2023, devrait en réaliser un en 2024.

4.4. Assistance à l'administration

En tant que Laboratoire National de Référence, le laboratoire a assisté à différentes réunions et émis des avis :

- En novembre présentation scientifique des connaissances sur les norovirus aux commissions culture marine de la Rochelle et de Marennes Oléron,
- Les 27 et 28 mars Participation au conseil de filière coquillages à Nantes (Présentation du projet APINOV et table ronde sur la gestion du risque norovirus),
- Le 5 juin, réunion pour la programmation des PSPC 2024 organisée par la DGAI en présentiel
- Le 6 juillet, copil de la surveillance organisée par la DGAI,
- Le 28 novembre, coordination des EILA, organisée par l'Anses, en visioconférence,
- Le 30 novembre séminaire de la référence organisée par la DGAI en visioconférence.

4.5. Normalisation

- Le laboratoire est membre de la Commission Afnor V08B et de ses groupes de travail (GT), ainsi que ceux du CEN:
- GT « Statistiques - Incertitudes de mesure » et GT « Validation » sur les questions statistiques relatives aux normes CEN et ISO et sur la révision de la norme EN ISO16140 validation des méthodes d'analyse ;
- GT « *Vibrio* » : pour préparer les propositions françaises concernant les normes ISO pour la recherche des *Vibrio* spp, potentiellement entéropathogènes ; Recherche des *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* dans les aliments;
- CEN/TC 275 WG 6 TAG4 "Les virus dans les aliments".

Les Groupes de travail *Vibrio* et virus ne se sont pas réunis en 2023.

4.6. Analyses officielles

Toxi-infections alimentaires collectives

En 2023, dans le cadre des analyses officielles, le LSEM a analysé trente-deux échantillons liés à des suspicions de Toxi-infection alimentaires collectives (TIAC). Vingt-deux échantillons ont été réceptionnés en début d'année (janvier-février), et dix en fin d'année (décembre). Ces échantillons correspondaient à 16 TIAC différentes dans lesquelles l'agent pathogène suspecté étaient les norovirus.

Le LNR a reçu vingt-trois échantillons d'huîtres, trois échantillons de coques, trois échantillons de palourdes, et trois échantillons de coquillages cuits. Parmi ces échantillons quinze étaient des restes

de repas, douze ont été prélevés sur les zones de production, trois chez le professionnel et deux dans un point de vente.

Tableau 3 : Résultats des analyses officielles réalisées par le LNR dans le cadre de TIAC

Origine des coquillages	Nombre d'échantillons positifs	Nombre d'échantillons négatifs	Nombre total d'échantillons analysés
Reste de repas	7	7 (+1 résultat ininterprétable*)	15
Zone de production	12	0	12
Etablissement	3	0	3
Point de vente	0	2	2

* résultat ininterprétable = rendement d'extraction non conforme et résultats négatifs pour les virus cibles

Notifications RASFF

Aucune notification RASFF n'a conduit à des analyses.

4.7. Participation aux essais des LRUE, Cefas et PHE

Le LSEM a participé à différents essais inter-laboratoires européens au cours de l'année 2023. Ces essais sont organisés par le Cefas, PHE (Public Health England, Londres, Royaume-Uni), le LRUE *Salmonella* (RIVM, Utrecht, Pays-Bas) ou encore par le LRUE virus dans les aliments (Swedish Food Agency, Uppsala, Suède). Les résultats des participations à ces comparaisons inter-laboratoires sont satisfaisants (Tableau 4).

Tableau 4 : Résultats des participations à des CIL pour le LSEM en 2023

Caractéristique ou grandeur	Matrice	Date	Organisateur de la CIL	Résultat	Commentaires
Recherche du génome du virus de l'hépatite A	Broyat de tissus digestifs	28/11/23	EURL NFA Sweden	Satisfaisant selon la note « Intended results Notification » du 19/12/2023.	Analyse de 2 échantillons, en attente du rapport
	Coquillages entiers	28/11/23	EURL NFA Sweden	Satisfaisant selon la note « Intended results Notification » du 19/12/2023.	Analyse de 1 échantillon, en attente du rapport
Recherche du génome des norovirus GI et GII	Broyat de tissus digestifs	28/11/23	EURL NFA Sweden	Satisfaisant selon la note « Intended results Notification » du 19/12/2023.	Analyse de 2 échantillons, en attente du rapport
	Coquillages entiers	28/11/23	EURL NFA Sweden	Satisfaisant selon la note « Intended results Notification » du 19/12/2023.	Analyse de 1 échantillon, en attente du rapport

Caractéristique ou grandeur	Matrice	Date	Organisateur de la CIL	Résultat	Commentaires
		27/03/23	Ifremer	Satisfaisant	Analyse de 5 échantillons. Rapport 23/01_Norovirus-recherche
Quantification du génome des norovirus GI et GII	Broyat de tissus digestifs	28/11/23	EURL NFA Sweden	Satisfaisant selon la note « Intended results Notification » du 19/12/2023.	Analyse de 2 échantillons, en attente du rapport
	Coquillages entiers	28/11/23	EURL NFA Sweden	Satisfaisant selon la note « Intended results Notification » du 19/12/2023.	Analyse de 1 échantillon, en attente du rapport
		27/03/23	Ifremer	Satisfaisant	Analyse de 5 échantillons. Rapport 23/02_Norovirus-quantification
Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> β -glucuronidase positive	Coquillages vivants	27/03/23	Ifremer	Satisfaisant	Analyse de 5 échantillons. Rapport 23/01_Ec-Hu du 21/06/2023
	Lenticules	27/11/23	PHE	Satisfaisant	Analyse de 2 échantillons. Rapport SF075 du 13/12/2023
Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> impédancemétrie	Coquillages vivants	27/03/23	Ifremer	Satisfaisant	Analyse de 5 échantillons. Rapport 23/01_Ec-Hu du 21/06/2023
Recherche de <i>Salmonella spp.</i>	Coquillages vivants	27/03/23	Ifremer	Satisfaisant	Analyse de 2 échantillons. Rapport 23/02_Sa-Hu du 07/07/2023
	Lenticules	27/11/23	PHE	Satisfaisant	Analyse de 2 échantillons. Rapport SF075

4.8. Diffusion de l'information à l'administration et/ou aux laboratoires agréés.

Liste des documents diffusés :

- Rapport d'activités LNR 2022 et relevé des dépenses (Convention LNR – DGAI 2022),
- Rapports des essais d'aptitude *E. coli* et *Salmonella* sur des échantillons d'huîtres,
- Rapport de l'essai d'aptitude pour la détection des norovirus sur des échantillons d'huîtres huîtres,
- Rapport de l'essai d'aptitude pour la quantification des norovirus sur des échantillons d'huîtres,
- Organisation journée SEM le 10 octobre.

4.9. Développement /validation de méthode

4.9.1. Culture cellulaire et infectiosité virale

Afin d'évaluer la présence de norovirus infectieux dans les coquillages contaminés, l'équipe travaille depuis plusieurs années sur un protocole permettant d'extraire ces virus depuis les tissus d'huître sans les inactiver. L'optimisation du protocole le plus prometteur butte sur la co-purification, avec les norovirus, d'un composé qui inhibe leur réplication sur les cellules intestinales humaines in vitro (entéroïdes). Nous avons testé l'ajout d'une étape à ce protocole pour retirer ou empêcher l'effet de ce composé, sans succès pour l'instant. Dans le cadre du projet MINORAL (Thèse de Flora Marteau), une autre approche est évaluée.

4.9.2. Estimation de la limite de détection et de quantification de méthode de quantification des norovirus

Les guides de vérification de LOD et/ou LOQ pour les méthodes ISO 15216 partie 1 et 2 ont été publiés par LRUE virus dans les aliments en juillet 2023. Les protocoles proposés sont différents du protocole appliqué lors de validation et l'accréditation de méthodes internes I.DE.21 pour la recherche et I.DE.2.22 pour la quantification des norovirus et VHA dans les coquillages. Les protocoles LRUE ont été mis en œuvre afin de redéfinir les limites des méthodes internes du LSEM. L'interprétation des résultats a mis en évidence la nécessité d'évolution de l'arbre de décision de méthodes I.DE.2.21 et I.DE.2.22. L'analyse des données obtenues et le traitement statistique seront achevés courant premier trimestre 2024.

4.9.3. Dénombrement des *Vibrio* enteropathogènes

Le LNR a poursuivi les travaux de caractérisation de la méthode développée au laboratoire pour quantification des *Vibrio* potentiellement pathogènes pour l'homme (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 et *Vibrio vulnificus*) dans les coquillages. Cette méthode d'analyse est une méthode NPP-PCR en temps réel sur plaques de 96 puits pour la quantification de *V. parahaemolyticus* totaux et entéropathogènes et est également appliquée à la quantification de *V. cholerae* non-O1/non-O139 et *Vibrio vulnificus* dans les coquillages. Les principaux travaux initiés en 2022 se sont poursuivis en 2023, et ont portés sur la vérification de la linéarité et les profils d'exactitude de la méthode.

La linéarité de la méthode pour les trois espèces a pu être démontrée, et les profils d'exactitude obtenus sont satisfaisants. Il est à noter qu'au cours de ce travail de l'inhibition de la PCR a pu être observée.

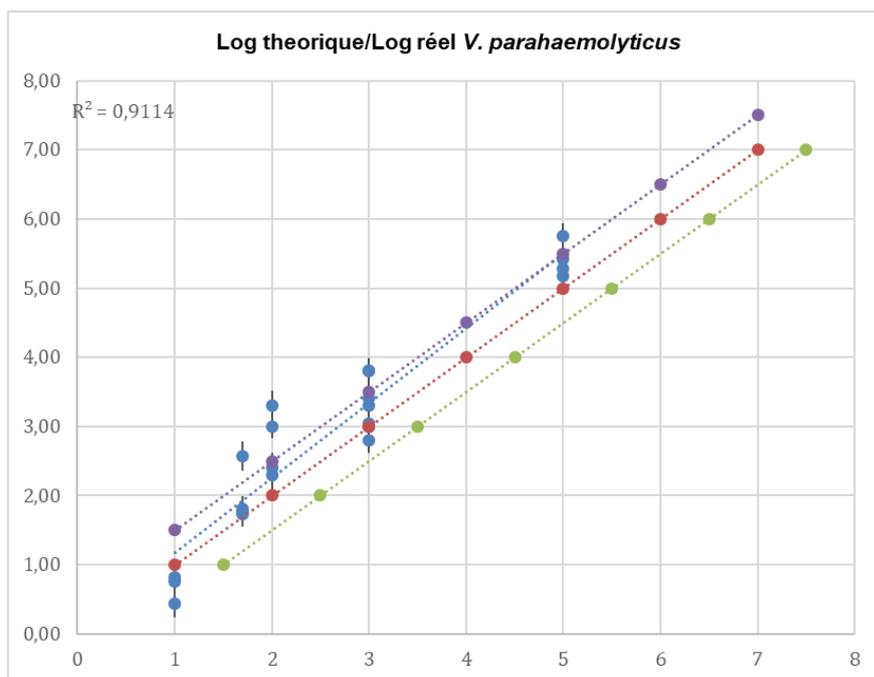


Figure 1 : Linéarité de la méthode NPP-PCR pour *Vibrio parahaemolyticus*

La méthode est lourde à utiliser et ne peut pas être appliquée dans le cadre d'analyses de routine, notamment si les trois espèces doivent être quantifiées sur un même échantillon. L'analyse est rendue compliquée et lourde si les gènes de virulence TRH et TDH pour *Vibrio parahaemolyticus* et les gènes codant pour les toxines CTXA et CTX de *Vibrio cholerae* doivent être également recherchés.

4.10. Etude exploratoire pour la prise en compte des apports en norovirus sur les zones de production

En réponse à la réglementation européenne, des études sanitaires doivent être réalisées sur les zones conchylicoles pour analyser les sources de contamination afin d'évaluer la qualité sanitaire de la zone. Ces études, tout comme les programmes de surveillance, sont basées sur le dénombrement des *Escherichia coli* (*E. coli*). Cependant le nombre important de coquillages contaminés par les norovirus suggère que ce seul indicateur n'est sans doute pas suffisant.

Une étude pilote a été menée, pendant un an, en parallèle d'une étude sanitaire réalisée en baie de Quiberon. Des prélèvements réguliers d'huîtres sur cinq points de la zone ont été effectués pour réaliser la recherche de norovirus en parallèle du dénombrement des *E. coli*.

Au sens réglementaire (concentration en *E. coli*), la zone de production est considérée de bonne qualité microbiologique. Cependant, pour plus de 50% des campagnes (11/19) des norovirus ont été détectés sur au moins 1 des 5 points suivis, chacun des points échantillonnés ayant été détectés au moins une fois contaminés par les norovirus. L'approche quantitative de cette contamination a montré des concentrations très variables allant jusqu'à plus de 10 000 copies de génomes par gramme de tissus digestifs.

Si l'analyse des données pluviométriques n'a pas permis de mettre en évidence de lien direct avec la détection des norovirus dans les échantillons, une corrélation positive entre les déversements d'eau usée brute et la présence de norovirus a été observée, même en période estivale. Cette étude montre l'intérêt, dans le cadre des études sanitaires, d'associer l'analyse de l'indicateur *E. coli* à celui des norovirus, qui peuvent persister plus longtemps qu'*E. coli* dans les tissus d'huîtres suite à des événements contaminants.

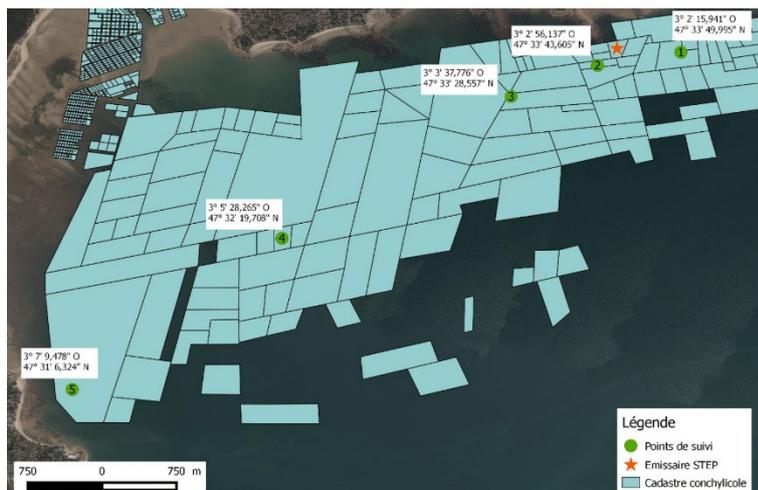


Figure 2 : Point de suivis pour le suivi norovirus et *E. coli*.

5. Coordination REMI et études sanitaires

L'Ifremer apporte un appui scientifique et technique à la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) et aux Directions Départementales Interministérielles (DDi) pour la mise en œuvre du dispositif de surveillance REMI. L'appui fourni par l'Ifremer comprend notamment le suivi d'indicateurs (taux de réalisation, respect des délais de prélèvement et de la localisation des points à échantillonner) qui contribuent au bon déroulement des opérations à la fois à l'échelle nationale mais aussi pour chaque département.

Au cours de l'année 2023, la surveillance régulière REMI s'est appuyée sur 403 lieux de suivi prélevés régulièrement (hors zones à exploitation occasionnelle), représentant environ 4200 résultats obtenus dans le cadre d'une surveillance programmée. Un total de 465 alertes en cas de risque de contamination ou de contamination avérée ont été déclenchées.

Le traitement des données à l'échelle nationale indique une bonne qualité microbiologique (A) pour 24 % des 316 zones de production pour lesquelles la qualité peut être estimée sur la période 2021 à 2023, 68% sont de qualité moyenne (B), et 8% sont de mauvaise ou très mauvaise qualité (C ou au-delà).

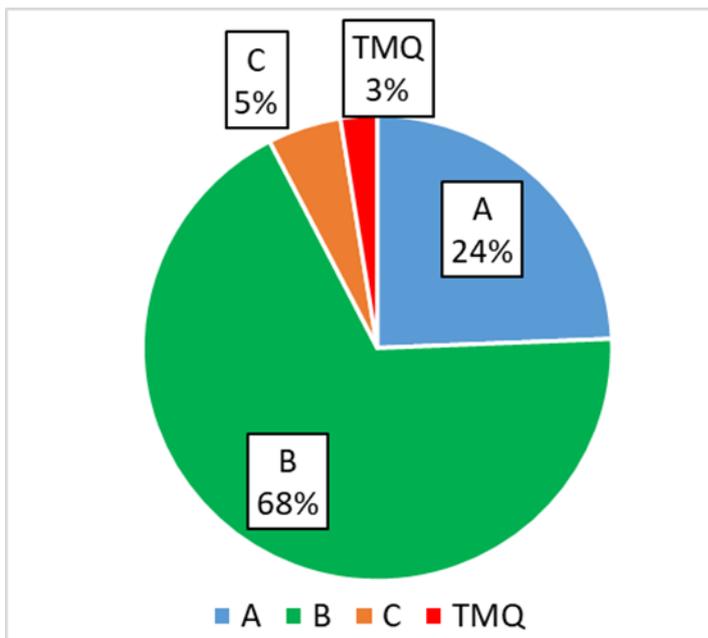


Figure 3 : Qualité microbiologique (A, B, C ou Très mauvaise qualité) des zones de production de coquillages suivies par le REMI, dont la qualité peut être estimée sur la période 2021-2023.

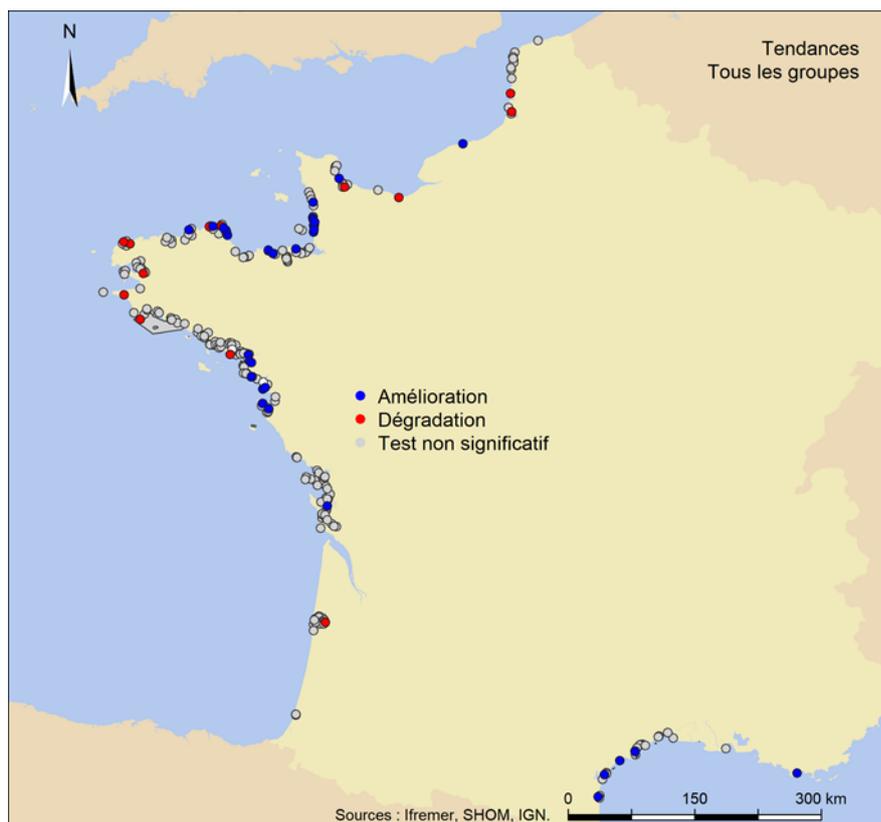


Figure 4 : Tendances d'évolution des niveaux de contamination sur les lieux REMI, période 2014-2023.

L'analyse des tendances sur la période 2014-2023 (10 ans) indique une amélioration de la qualité bactériologique sur 36 lieux de prélèvement, une dégradation sur 13 lieux et l'absence de tendance significative ou un historique inférieur à 10 années sur les autres lieux.

Contribuant à l'optimisation de la stratégie d'échantillonnage pour évaluer la contamination des zones littorales, le LSEM a réalisé des études sanitaires pour trois zones de production en Vendée, finalisées en 2023 : nord-ouest et nord-est du Gois (groupes 2 et 3) et les chenaux du Payré (groupe 3). Plusieurs autres zones ont bénéficié d'études sanitaires, réalisées par les LER et coordonnées par le LSEM : en Charente-Maritime, l'étude sanitaire de la zone « La Moulinatte » (groupe 3) a été réalisée par le LER Pertuis Charentais ; en Ile-et-Vilaine, l'étude sanitaire de la zone « Baie du Mont Saint Michel - Rivage » (groupes 2 et 3) a été réalisée par le LER Bretagne nord ; et le LER d'Arcachon a finalisé l'étude sanitaire de l'ensemble des zones du Bassin d'Arcachon en Gironde (groupes 2 et 3).

Plusieurs autres études sanitaires sont en cours et devraient aboutir en 2024 : deux zones dans le Morbihan (baie de Plouharnel-groupes 2 et 3, baie de Quiberon-groupes 2 et 3), deux zones en baie du Mont-Saint-Michel (Zone conchylicole Hirel et Zone conchylicole Cherrueix, groupes 2 et 3), une zone dans le Finistère (Eaux profondes Guilvinec-Bénodet, groupe 3), une zone dans les bouches du Rhône (Anse de Carteau sud, groupe 2), trois zones dans le Calvados en Baie de Veys (Grandcamp Maisy est, groupe 3 / Grandcamp Maisy ouest et Gefosse-Fontenay, groupes 2 et 3 / Gefosse-Fontenay sud (le Wignam), groupe 2), une zone dans l'Hérault (Lotissement conchylicole des Aresquiers, groupe 3), une zone en Seine-Maritime (Le Tréport, groupe 2), une zone dans la Somme (nouvelle zone, groupe 2) et enfin, une zone en Vendée (Paillard-La Guérinière, groupe 3).

5.1. Projet de recherche REMI-TK

Ce projet – financé par la direction scientifique de l'Ifremer (2023-2025) et développé en collaboration avec le service VIGIES – vise à objectiver les tendances de contaminations des zones de production de coquillages suivis dans le cadre du REMI, en adaptant/optimisant un modèle statistique (Tobit-Kalman) développé dans le cadre du GIS Obépine pour le suivi du SARS-CoV-2, et en le couplant à un nouveau modèle INLA. Ce projet doit faire preuve de concept de l'efficacité du modèle sur des lieux REMI ciblés, avant un déploiement par la suite à l'échelle nationale. In fine, le modèle constituera un outil en appui aux politiques publiques (éléments d'aide à la décision et éventuelles évolutions réglementaires : classement des zones de production de coquillages, fréquences de prélèvement, priorisation enquêtes sanitaires), et pourra être transféré aux autres réseaux de surveillance REPHYTOX et ROCCH.

6. Actions liées aux projets de recherche

6.1. Goyave (Projet ANR n°19-CE35-0014)

Le projet GOyAVE, initié en 2019, s'est terminé cette année sur trois points forts :

- La publication d'un article du consortium présentant la caractérisation structurale des N-glycannes de deux espèces d'huîtres, *Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis*, et les conséquences de différences subtiles de ces structures sur les interactions entre les norovirus et ces deux espèces (Auger et al, <https://doi.org/10.3390/md21060342>) ;

- La soutenance de thèse de Gabriel Euler (doctorant au LSEM) en mai, qui a montré, dans le cadre de ce projet, des interactions directes entre cellules d'huîtres et norovirus médiées par ces glycanes,
- La réunion de clôture du projet en décembre.

Plusieurs tâches prévues dans ce projet sont encore en cours, notamment pour comprendre l'impact de ces glycanes d'huîtres sur la persistance des norovirus infectieux. D'autres articles scientifiques sont en cours de rédaction pour valoriser les résultats obtenus, dont celui concernant les interactions entre cellules d'huîtres et norovirus.



Figure 5. Epitopes terminaux majeurs identifiés chez *C gigas* (gauche) et *O edulis* (droite) impliqués dans la reconnaissance des tissus par les norovirus.

6.2. ROME (Projet institut)

Le réseau ROME (Réseau d'Observatoires pour la recherche en Microbiologie Environnementale intégrée) est basé sur l'utilisation des méthodes de NGS sur l'ADN environnemental. Des échantillons d'eau et d'huîtres creuses sont prélevés mensuellement sur quatre sites sélectionnés et analysés pour la recherche de virus ARN et ADN, de bactéries, de protistes et de phytoplancton. Ces sites sont l'Étang de Thau, Marennes Oléron, la rade de Brest et la Baie des Veys.

Démarré en septembre 2021, l'étude des différents échantillons ROME pour la recherche de virus d'intérêt sanitaire, réalisée au sein du LSEM, a démontré que les méthodes mises au point au laboratoire dans le cadre de deux thèses (S. Strubbia, P. Bony) et de différents projets sont efficaces pour l'étude de ces virus dans ces échantillons d'eau et de coquillages. Cependant pour une analyse plus précise des familles virales d'intérêts (*Caliciviridae*, *Astroviridae*, *Picornaviridae*...) présentes dans les échantillons, un enrichissement en séquences virales lors des étapes de préparation des bibliothèques est nécessaire. Après une comparaison, le choix de la solution d'enrichissement s'est porté sur le Comprehensive Viral panel de Twist®. Ce kit comprend environ 1 million de sondes ciblant plus de 3100 genre viraux humains et non humains. Dans un premier temps afin de valider cette approche, une sélection des échantillons les plus impactés par une contamination humaine a été faite: sélection des échantillons d'huîtres de l'étang de Thau (Méditerranée) et celles de la Baie des Veys (Normandie).

Les premiers résultats montrent que l'enrichissement des bibliothèques par le kit Twist permet d'augmenter le nombre de reads viraux dans les bibliothèques (figure 6A) mais également d'augmenter le nombre d'échantillons contenant des reads viraux (figure 6B).

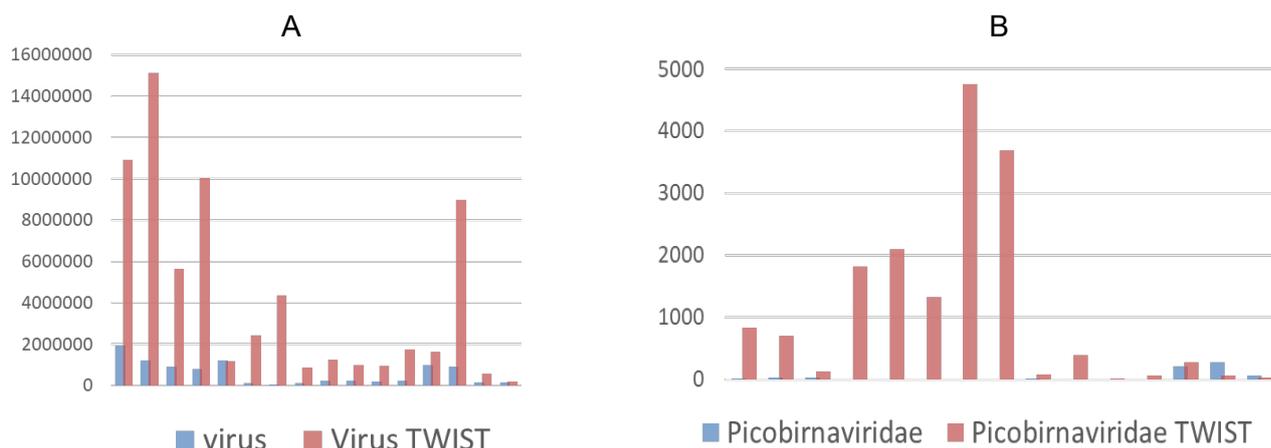


Figure 6 nombre de reads par millions (RPM) viraux avec et sans enrichissement Twist

Ces données de séquençage métagénomique ont permis la mise en évidence de séquences virales d'intérêt sanitaires dans les deux sites sélectionnés. Pour la famille des *Caliciviridae*, des différences sont observées entre la Baie des Veys avec une présence de sapovirus lors des périodes hivernales, alors que dans les échantillons de l'étang de Thau les séquences identifiées étaient majoritairement des norovirus. Dans la fraction virale, de nombreuses séquences de protistes marins et de phages ont été identifiées.

Le projet se poursuit avec l'analyse des deux autres sites de prélèvement de coquillages avec l'utilisation de la solution d'enrichissement Twist.

6.3. VEO (Projet H2020 n° 874735)

Le projet VEO (Versatile Emerging Infectious Disease Observatory), débuté en 2020 pour une durée de 5 ans est coordonné par M. Koopmans (EMC) et F. Aarestrup (DTU).

Le LSEM intervient principalement dans le WP8 qui propose l'étude et la surveillance des agents pathogènes dans les eaux usées comme outils de détection des émergences.

L'analyse de la diversité virale par des approches omiques suscite un intérêt grandissant en particulier pour l'identification des virus d'origine humaine présents dans les eaux usées et pouvant contaminer les coquillages. Cependant, la fraction virale, en particulier celle correspondant aux virus entériques humains ne représente qu'une infime partie de la diversité des séquences obtenues par des approches de métagénomique. Les génomes viraux étant petits (7-10 kb) comparés aux génomes bactériens ou eucaryotes (plusieurs Mb), leurs acides nucléiques représentent une très faible proportion après extraction et explique en partie la difficulté à décrire la diversité virale par ce type d'approche. C'est dans ce contexte que le laboratoire poursuit l'optimisation des protocoles de préparation des échantillons. Une étape clé du process est l'enrichissement des bibliothèques à l'aide des kits de capture commerciaux. En collaboration avec l'université de Bologne (Thèse de Fulvia Troja, étudiante venue pendant 6 mois au laboratoire) une comparaison de trois kit de capture a été réalisée sur deux matrices eaux usées et tissus digestifs de coquillages. Pour chacune de ces matrices cinq échantillons ont été sélectionnés et analysés en triplicats biologiques pour les eaux et techniques pour les coquillages. Les bibliothèques ont été préparées en suivant le protocole de trois kit : Twist Biosciences, Illumina et Roche. Dans les échantillons d'eaux usées la capture Twist Bioscience permet d'obtenir une plus grande proportion de reads viraux que les deux autres kits. Dans les échantillons de

coquillages les proportions entre les trois kits de capture sont relativement similaires. L'étude plus détaillée des contigs obtenus après assemblage pour quatre familles virales ayant un intérêt sanitaire, *Astroviridae*, *Caliciviridae*, *Picornaviridae* et *Sedoreoviridae*, montre une plus grande diversité de séquences pour les échantillons analysés avec la capture Twist Bioscience.

Cette année le LSEM a aussi pris part au WP7 (The Changing Cryosphere), avec l'analyse d'eaux de fonte glacière prélevées au Groenland. Le laboratoire a été sollicité pour son expertise dans la concentration des eaux et pour la préparation des échantillons en vue de l'étude du virome, le volet bactériologique a été pris en charge par une équipe du DTU après avoir récupéré les concentras produit par le LSEM.

6.4. APINOV (Projet Feamp n°509528)

La contamination des huîtres par les norovirus constitue un enjeu de santé publique important mais aussi économique pour les professionnels de l'ostréiculture. L'objectif de ce projet était de développer différents outils pour améliorer la qualité microbiologique des coquillages.

La première partie de l'étude portait sur l'identification des sources de contamination par les norovirus au niveau du bassin versant et de la zone conchylicole étudiée. Pour cela, nous avons mis en place des échantillonneurs passifs (membranes de nylon) sur 7 sites en eau douce et 5 sites en eau de mer. Le suivi sur 18 mois a permis de mettre en évidence deux sites (un en eau douce et un en eau salée) ayant une fréquence de contamination par les norovirus plus importante que les autres sites. Ainsi lors de ce projet, nous avons pu démontrer pour la première fois de l'intérêt de l'échantillonnage passif pour réaliser un diagnostic d'un bassin versant. Cette méthode qualitative est facile à mettre en œuvre et peu coûteuse. Elle permet de hiérarchiser les voies d'apport, mais doit néanmoins être couplée à d'autres données (connaissance des réseaux d'eau usée, débit des cours d'eau, connaissance des courants afin de réaliser des diagnostics de bassin versant).

Dans un deuxième temps nous avons travaillé sur l'impact de la température de l'eau de mer (18°C vs 8°C) sur la purification des coquillages contaminés par les norovirus. Nos travaux, réalisés sur des huitres contaminées au laboratoire confirment des études antérieures montrant l'impact de la température de l'eau de mer sur la purification des NoV. Cependant, la purification reste faible ainsi les valeurs de T_{90} (temps nécessaire pour diviser par 10 la concentration en norovirus) sont de 41 jours à 8°C et 24 jours à 18°C. Nos travaux montrent donc une meilleure dépuración à 18°C qu'à 8°C.

Des essais de purification à 18°C ont également été menés sur trois lots d'huitres contaminées en milieu naturel. Le calcul des valeurs de T_{90} montre une performance variable en fonction du lot mis en purification. Ainsi il n'a pas été possible de calculer une valeur de T_{90} pour un lot et pour les deux autres lots les valeurs calculées sont respectivement de 21 et 23 jours.

Enfin le projet Apinov a montré l'intérêt de l'ultrafiltration comme un outil efficace pour répondre à la décontamination de l'eau de mer présentant une contamination par les norovirus. En effet, l'abattement de 4 Log de la concentration en norovirus a été démontré et cela devrait suffire pour répondre à des contaminations éventuelles de la zone côtière. Cependant, un frein à l'utilisation de cet outil a été observé avec la gestion des rétro-lavages et la gestion de produits chimiques nécessaires. Des discussions sur ce point pourront se poursuivre afin de compléter et valider ce procédé.

En 2023 les travaux se sont essentiellement concentrés sur l'analyse de la diversité des norovirus à l'échelle d'un bassin versant en amont de sites ostréicoles. Afin de comparer la diversité des norovirus

GI et GII entre les différents sites, l'analyse de leur diversité a été réalisée en ciblant deux régions du génome codant la capsid (VP1) et la polymérase (RdRp). Ces régions ont été amplifiées par RT-PCR pour les échantillons de capteurs et d'huîtres puis séquencées par Illumina MiSeq. L'analyse bioinformatique a été réalisée avec le pipeline SAMBA adapté aux norovirus (en cours de développement au sein du SEBIMER). Les séquences des ASV de GI-VP1, GII-VP1, et GI-RdRp ont été analysées selon plusieurs procédés de sélection et de clustering. Les séquences obtenues pour GII-RdRp n'ont pas donné de résultats satisfaisants. Les résultats obtenus avec les deux procédés de clustering montre une grande diversité, avec six génotypes pour GI-VP1 (GI.1 - GI.2 - GI.3 - GI.4 - GI.5 - GI.6), 9 génotypes pour GII-VP1 (GII.1 - GII.2 - GII.3 - GII.4 - GII.6, GII.7, GII.12, GII.13, GII.17) et 5 génotypes pour GI-RdRp (GI.P1 - GI.P2 - GI.P4 - GI.P5 - GI.P11). Des exemples des résultats obtenus sont présentés ci-dessous (alpha-diversité par site et par matrice) et sont en cours d'analyse statistique.

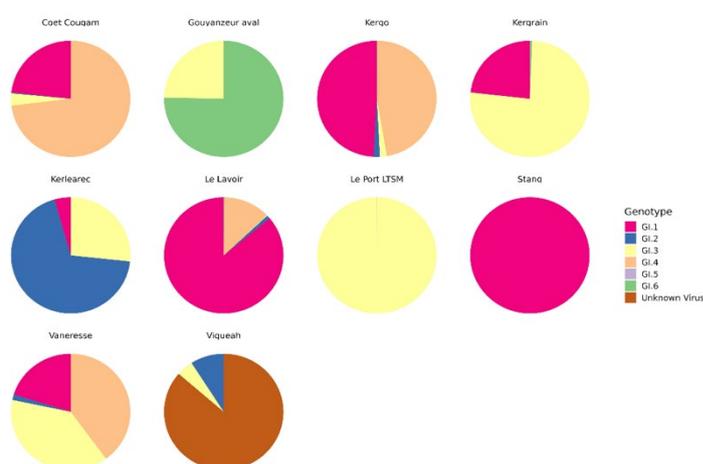


Figure 7 : Diversité des norovirus GI basée sur la capsid (GI-VP1) par point de prélèvement sur les échantillonneurs passifs et les huîtres.

6.5. Projet OBEPINE-RATVAR

Suite au développement des méthodes d'éluion virale à partir des échantillonneurs passifs sur des membranes de référence réalisé en 2022, des analyses en métagénomique ciblée ont été réalisées pour cibler le SARS-CoV-2 et les norovirus. Des échantillons d'eau usée avaient été exposés en laboratoire et trois protocoles de récupération du SARS-CoV-2 et des norovirus ont été comparés (lyse directe, éluion Tween 20 ± sonication). De plus des échantillons de membranes terrain ont été analysés par un protocole d'éluion au pyrophosphate +sonication (norovirus uniquement).

Le génome complet du SARS-CoV-2 a été amplifié par PCR multiplexe ARTIC et séquencé par Illumina MiSeq avec une efficacité similaire selon le protocole d'éluion virale appliqué (lyse directe, éluion Tween 20 ± sonication) (Tableau 5). L'analyse de la diversité des norovirus GI et GII a été réalisée en ciblant la capsid (VP1) et la polymérase (RdRp) après amplification par RT-PCR et séquençage Illumina Mi Seq. Des résultats comparables ont été obtenus pour les trois cibles GI-VP1, GI-RdRp, GII-VP1 et GII-RdRp. L'exploitation des résultats statistiques est en cours pour norovirus. Les différents protocoles d'éluion virale permettent de réaliser des analyses de métagénomique ciblées, et pourront être validés sur un plus grand nombre d'échantillons de terrain.

Tableau 5: Optimisation du protocole d'éluion viral à partir des membranes de référence : métriques de séquençage obtenues par Illumina MiSeq

Protocole d'éluion	Ct moyen	reads totaux (10 ⁶)	Reads SARS-CoV-2 (%)	Profondeur moyenne	Couverture_10 (%)
Lyse directe	33±0.1	0.3	90±11	2719±1125	81±19
Elution	33.9±2.5	0.3	97±0.6	2458±145	96±0.5
Elution + Sonication	34.5±0.3	0.33	79±17	2254±456	92±3

Lyse directe: NucliSens; Elution: Tween20 ±sonication suivi du protocole NucliSens. Séquençage MiSeq™ (Illumina), analyse bio-informatique sur le pipeline ASPICov.

Afin de suivre la circulation et l'émergence des variants du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de métropoles françaises, la préparation des bibliothèques a été optimisée pour cette matrice complexe après échantillonnage passif. Des échantillons d'eau ont été collectés dans les égouts par échantillonnage passif 24h et par échantillonnage ponctuel. Le virus a été détecté dans les quartiers des deux villes par les deux procédés d'échantillonnage à des concentrations similaires. Le génome complet a été amplifié par PCR multiplexe ARTIC et séquençé par Illumina MiSeq. La circulation du variant omicron sous-lignée BA.2.1 était largement majoritaire et de multiples mutations avec des fréquences variables ont été observées (Figure 8) (Vincent-Hubert, 2023 et Vincent-Hubert en préparation). Les deux procédés d'échantillonnage donnent des résultats similaires pour les valeurs des métriques de séquençage et pour l'assignation taxonomique réalisé avec le pipeline AspicoV puis par le pipeline Freyja qui a permis une assignation plus fine des différents variants par échantillon d'eau usée. Le protocole développé a permis pour la première fois de séquencer le génome du SARS-CoV-2 dans des échantillons d'eau usée collectés par échantillonnage passif. Ces études confirment l'intérêt de l'échantillonnage passif et son application sur des sites difficiles à échantillonner et à partir d'une matrice complexe.

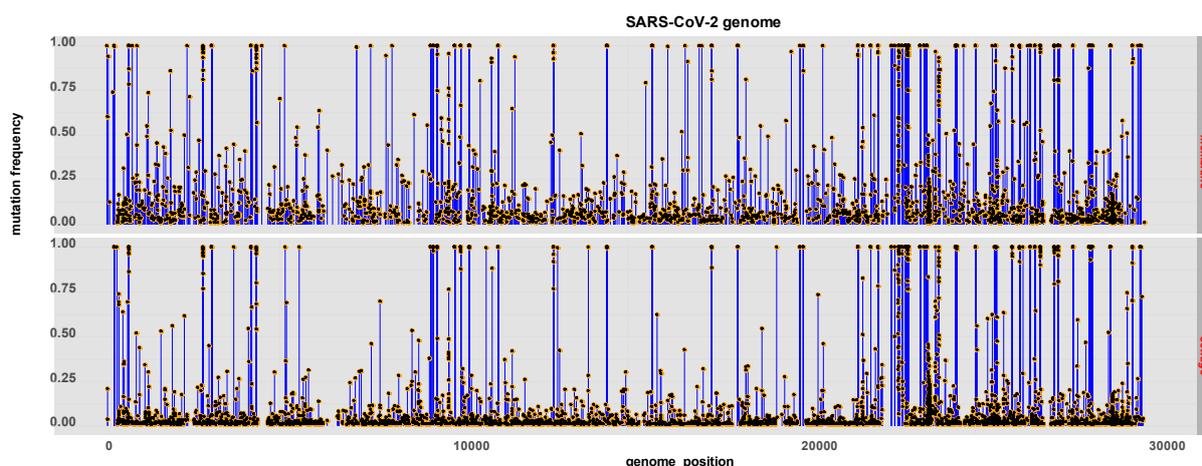


Figure 8 : Distribution des mutations sur le génome complet du SARS-CoV-2 dans les eaux usées collectées par échantillonnage passif (membrane) et ponctuel (sewage)

6.6. Noroban (projet institut Direction Scientifique)

Le projet NOROBAN, financé par la Direction Scientifique de l'Ifremer, et coordonné par le LSEM et EM3B, a pour objectif d'identifier des bactéries marines pouvant avoir un effet antiviral efficace contre les norovirus humains. Ce projet tire parti de la souchothèque bactérienne du laboratoire EM3B et de l'expérience de cette équipe dans la biopréservation des produits de la mer à l'aide de bactéries à activité anti-bactérienne, combiné au modèle de culture cellulaire des norovirus maîtrisé au LSEM. 109 souches bactériennes appartenant à différentes espèces d'origine marine, non pathogènes, ont ainsi été criblées pour leur impact sur la réplication du virus Tulane, utilisé comme substitut des norovirus. Plus de dix d'entre elles ont entraîné une diminution de la réplication du virus Tulane. Deux de ces souches bactériennes ont alors été testées contre les norovirus GII.3 et GII.4, et ont montré une diminution de leur réplication sur entéroïdes (Figure 9). Ces résultats restent à confirmer et consolider, avec notamment l'étude du mécanisme mis en jeu. A terme, ce projet « preuve de concept » pourrait avoir des applications notamment dans la purification des coquillages ou la décontamination de l'eau de mer.

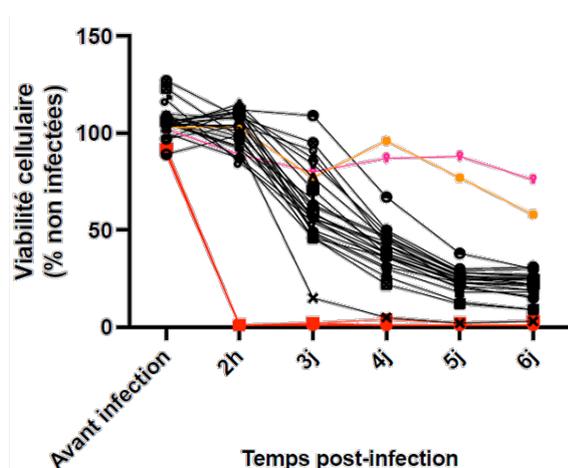


Figure 9 : Crible de 29 souches bactériennes pour leur activité antivirale. Suivi de la viabilité (en % des cellules non-infectées) de cultures de cellules simiennes infectées par un virus Tulane pré-incubé avec 29 souches bactériennes différentes testées en parallèle. La plupart des souches ne modifient pas le cours de l'infection (courbes noires) qui conduit à la mort des cellules, avec une viabilité qui décroît progressivement à partir de 3 jours post-infection. Trois souches ont un effet cytopathique direct sur les cellules avec la mort des cultures dès 2 heures post-infection (rouge). Deux permettent la survie des cellules à 5 jours post-infection (rose et orange) et sont ainsi identifiées comme potentiellement antivirales.

6.7. Projet PEACH (Région Pays de la Loire)

Le projet PEACH (Pathogènes Entériques Associés à l'environnement Côtier et aux Huîtres), financé par la Région Pays de Loire (Programme Pulsar) a débuté le 1^{er} septembre 2023. Son objectif est de caractériser les bactéries entériques pathogènes contaminant les coquillages. Compte tenu des sources de contamination du littoral, liées aux activités anthropiques, nous pouvons anticiper une diversité. Un travail exploratoire est donc primordial pour mieux appréhender cette diversité et détecter d'éventuels pathogènes émergents. L'optimisation de l'isolement d'*Enterobacteriaceae* (dont *Salmonella*) et de *Campylobacter* à partir de coquillages et le séquençage de leur génome permettra d'évaluer leur diversité génomique et de rechercher les facteurs de virulence et de résistance aux antimicrobiens. La combinaison des approches culturales, de NGS et de bio-informatique permettra de développer les outils nécessaires pour le suivi de pathogènes d'intérêt.

8. Conclusion et perspectives 2024

Comme montré dans ce rapport, l'activité de notre équipe a été intense et fructueuse au cours de l'année 2023 tant pour notre activité de Laboratoire National de Référence, des études sanitaires et REMI mais également pour nos projets de recherche. Les développements en métagénomique sont prometteurs et laissent envisager une approche plus globale de la diversité de la contamination. Cette approche appliquée à des outils innovants comme les capteurs passifs a montré tout son intérêt et trouveront rapidement une application dans nos actions de référence comme lors de l'analyse d'échantillons ayant entraînés des gastroentérites chez les consommateurs. L'autre point notable de cette année 2023 est la mise en place de projets sur les bactéries pathogènes pour l'homme, complément important pour nos actions de référence mais également de recherche.

Cette année 2023 s'est conclue par une activité importante au mois de décembre concernant l'analyse d'échantillon impliqués dans des épidémies, soulignant l'intérêt des actions de recherche développée au LSEM et le besoin de poursuivre ces activités pour mieux appréhender la qualité sanitaire du milieu littoral. Ces actions vont donc se poursuivre au cours de l'année à venir en intégrant l'utilisation des nouveaux outils omiques à notre connaissance du milieu côtier.

ANNEXES

Participation à la formation

Participation à un jury de thèse

Soizick Le Guyader

- Patrice Bonny, Diversité des virus à ARN contaminant les palourdes de la Sanaga Galatea paradoxa (Born 1778). Université de Yaoundé I, Faculté des Sciences, 9 janvier 2023, co-encadrante.
- Gabriel Euller-Nicolas, Norovirus, sapovirus et les huîtres : apport du modèle entéroïde intestinal et interactions avec les glycanes, Nantes université, 17 mai 2023, co-encadrante.

Marion Desdouits :

- Audrey Auger, 8 décembre 2023, « Rôle des oligosaccharides dans les interactions virus-hôte. Application à la contamination des huîtres par les norovirus ». Université de Lille. Directeur de thèse : Dr Frédéric Chirat.
- Gabriel Euller-Nicolas, Norovirus, sapovirus et les huîtres : apport du modèle entéroïde intestinal et interactions avec les glycanes, Nantes université, 17 mai 2023, co-encadrante.
-

Participation à un jury d'HDR

Soizick Le Guyader

- Soutenance de Nabil Abid, réseaux de dépendance et la recherche de relations séquence-structure-fonction des protéines virales de rotavirus groupe A et SARS-CoV2. Université Toulouse III Paul sabatier, 29 mars 2023. Rapporteur.

Participation à un comité de thèse

Françoise Vincent-Hubert

- Comité de thèse de Julie DO NASCIMENTO, Université de Reims-Champagne-Ardenne UMR-I 02 SEBIO, école doctorale ABIES

Soizick Le Guyader

- Thèse de Ludivine Percevault Apports des organoïdes porcins dans l'étude des interactions moléculaires hôtes pathogènes de virus de la gastro entérite transmissible (GET) Université de Rennes

Pascal Garry

Thèse d'Antoine Régnier : Analyses du mobilome, virulome et resistome de *Vibrio parahaemolyticus* isolées de produits de la mer en lien avec des caractéristiques phénotypiques , Université du Littoral Côte d'Opale

Formation donnée

Nom	Organisme	Niveau	Sujet	Durée
Marion Desdouits	Université de Reims	Master 1	Virus entériques et environnement	2h
Marion Desdouits	Sorbonne Université et Museum National d'Histoire Naturelle	Master 2	Les virus humains dans les milieux aquatiques	2h
Marion Desdouits	Oniris	Ecole vétérinaire	Qualité microbiologique des eaux littorales et des coquillages	1h
Soizick Le Guyader	Université François Rabelais, Tours	Master 2 ICMVAT et IDOH conjoints (en anglais)	Viral contamination of the environment	2h
Soizick Le Guyader	Université Pierre et Marie Curie, Paris VI	Master 2 MAPES-QUESS, Composantes hygiéniques de la qualité, maîtrise des risques	Virus entériques humains et environnement	2h
Soizick Le Guyader	Université de Nantes et Rennes	Master 2 Science de l'Aliment (en visio)	Les virus dans les produits de la mer : épidémiologie et techniques de détection	2h
Soizick Le Guyader	Université de Nantes	Manimal (en anglais)	Viral contamination of the coastal environment	3h
Yann Reynaud	Oniris	Ecole vétérinaire	Qualité microbiologique des eaux littorales et des coquillages	1h

Expertise

Pascal Garry :

- Commission AFNOR V08B - Microbiologie des aliments
- Communauté Européenne, Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages

- Membre du bureau Microbiologie des aliments de la Société Française de microbiologie

Soizick F. Le Guyader:

- Communauté Européenne, Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages (depuis 2002)

Françoise Vincent- Hubert

- Avis et expertise sur les perspectives du projet ISM. Participation à la restitution du projet ISM (CENOPAC)

Articles

Auger Audrey, Yu Shin-Yi, Guu Shih-Yun, Quéméner Agnès, Euller Gabriel, Ando Hiromune, Desdouits Marion, Le Guyader Soizick, Khoo Kay-Hooi, Le Pendu Jacques, Chirat Frédéric, Guerardel Yann (2023). **Species-Specific N-Glycomes and Methylation Patterns of Oysters *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* and Their Possible Consequences for the Norovirus–HBGA Interaction.** *Marine Drugs*, 21(6), 342 (25p.). Open Access version : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00840/95215/>

Contrant Maud, Bigault Lionel, Andraud Mathieu, Desdouits Marion, Rocq Sophie, Le Guyader Soizick, Blanchard Yannick (2023). **Porcine Epidemic Diarrhea Virus, Surrogate for Coronavirus Decay Measurement in French Coastal Waters and Contribution to Coronavirus Risk Evaluation.** *Microbiology Spectrum*, 11(4), 13p. Publisher's official version : <https://doi.org/10.1128/spectrum.01844-23> , Open Access version : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00845/95719/>

Cordier Clémence, Stavrakakis Christophe, Monnot Mathias, Garry Pascal, Chenier Frédéric, Moulin Philippe (2023). **Nouvelles applications de l'ultrafiltration pour la biosécurisation des établissements conchycoles.** *L'Eau, l'industrie, les nuisances*, (464), 34-39.

Desdouits Marion, Reynaud Yann, Philippe Cecile, Le Guyader Soizick (2023). **A Comprehensive Review for the Surveillance of Human Pathogenic Microorganisms in Shellfish.** *Microorganisms*, 11(9), 2218 (24p.). Publisher's official version : <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092218> , Open Access version : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00851/96297/>

Euller Gabriel, Le Mennec Cecile, Schaeffer Julien, Zeng Xi-Lei, Ettayebi Khalil, Atmar Robert L., Le Guyader Soizick, Estes Mary K., Desdouits Marion (2023). **Human Sapovirus Replication in Human Intestinal Enteroids.** *Journal of Virology*, 97(4), e00383-23 (14p.). Publisher's official version : <https://doi.org/10.1128/jvi.00383-23> , Open Access version : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00839/95134/>

Schaeffer Julien, Desdouits Marion, Besnard Alban, Le Guyader Soizick (2023). **Looking into sewage: how far can metagenomics help to detect human enteric viruses?** *Frontiers In Microbiology*, 14, 1161674 (17p.). Publisher's official version : <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1161674> , Open Access version : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00834/94622/>

Thèse

Euller Gabriel (2023). **Norovirus, sapovirus et les huîtres : apport du modèle entéroïde intestinal et interactions avec les glycanes / Norovirus, sapovirus and oysters : contribution of the human intestinal enteroid model and interactions with glycans.** PhD Thesis, Université de Nantes. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00842/95389/>

Rapports

Garry Pascal, Kaelin Gaelle, Vallade Emilie, Parnaudeau Sylvain, Schaeffer Julien, Veron Antoine (2023). **Rapport de comparaison interlaboratoire (Dénombrement des Escherichia coli dans les coquillages vivants)**. Rapport définitif n° 23/01 Ec-Hu.

Garry Pascal, Kaelin Gaelle, Parnaudeau Sylvain, Schaeffer Julien, Vallade Emilie, Veron Antoine (2023). **Rapport comparaison interlaboratoire. Recherche des Salmonella spp. dans les coquillages vivants**. Rapport amendé n° 23/02 Sa-Hu.

Guerry Capucine (2023). **NOROBAN: Identification de bactéries actives contre les norovirus humains**. rapport de Master II Sciences du Vivant. Parcours Infectiologie, Immunité, Vaccinologie et Biomédicaments (I2VB). Université de Tours.

Kaelin Gaelle, Rocq Sophie, Reynaud Yann (2023). **Plan d'échantillonnage national de la surveillance sanitaire microbiologique des zones de production de coquillages (REMI)**. Prescription du réseau de surveillance microbiologique des zones de productions (REMI). <https://archimer.ifremer.fr/doc/00830/94160/>

Le Fur Ines, Grizon James, Vallee Pierre, Costes Louis, Pepin Jean-Francois, Bruneau Audrey, Grouhel Anne, Rocq Sophie, Reynaud Yann (2023). **Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole. Département de la Charente-Maritime. Période 2020-2022**. RST/ODE/UL/LER.PC/23.004. <https://doi.org/10.13155/94615>

Le Fur Ines, Costes Louis, Lasbleiz Regis, Seugnet Jean-Luc, Grizon James, Vallee Pierre, Geairon Philippe, Rocq Sophie (2023). **Etude sanitaire de la zone de production conchylicole 17.04.02 "La Moulinatte" - Groupe 3 (bivalves non fousseurs)**. Département de Charente-Maritime. RST/ODE/UL/LERPC 23.05. <https://doi.org/10.13155/97989>

Ollivier Joanna, Parnaudeau Sylvain (2023). **Rapport comparaison interlaboratoire (Recherche des norovirus dans les coquillages)**. 23/01_Norovirus-recherche.

Ollivier Joanna, Parnaudeau Sylvain, Schaeffer Julien (2023). **Rapport de comparaison interlaboratoire. Quantification des norovirus dans les coquillages**. 23/02_Norovirus-quantification.

Rocq Sophie (2023). **Etude sanitaire de la zone 85.07 « Chenaux du Payré » - groupe 3 (coquillages bivalves non fousseurs)**. RBE/MASAE/LSEM 23-03. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00863/97481/>

Rocq Sophie (2023). **Etude sanitaire des zones 85.01.01 « Baie de Bourgneuf - nord-ouest du Gois » et 85.01.03 « Baie de Bourgneuf - nord-est du Gois » – Groupes 2 et 3 (coquillages bivalves fousseurs et non fousseurs)**. RBE/MASAE/LSEM 23-02. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00843/95467/>

Rocq Sophie, Brun Mélanie, Kaelin Gaelle, Reynaud Yann (2023). **Eléments d'aide à la décision pour le déclenchement d'alertes préventives dans le cadre du REMI**. <https://doi.org/10.13155/93218>

Serais Ophelie, Crottier Anaïs, Gueguen Yannick, Rocq Sophie (2023). **Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole d'Occitanie. Période 2020-2022.** ODE/UL/LER/LR/23.06. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00839/95123/>

Serais Ophelie, Crottier Anaïs, Rocq Sophie, Gueguen Yannick (2023). **Stratégie d'échantillonnage REMI en Occitanie - Année 2023. Réseau de surveillance microbiologique des zones de production de coquillages (REMI).** Version 1 du 04/10/2023. ODE/UL/LER/LR/23.08. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00834/94560/>

Serais Ophelie, Gianaroli Camille, Crottier Anaïs, Rocq Sophie, Reynaud Yann, Gueguen Yannick (2023). **Procédure de déclenchement des alertes REMI préventives « Pluviométrie » en Occitanie. Réseau de surveillance microbiologique des zones de production de coquillages (REMI).** Version 0 du 17/04/2023. ODE/UL/LER-LR/23.05. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00833/94521/>

Rapport d'activités

Garry Pascal, Le Guyader Soizick (2023). **Rapport d'activités 2022. Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie, Laboratoire National de Référence Microbiologie des coquillages.** RBE/MASAE/LSEM 23-01. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00831/94264/>

Chapitre de livre

Boni M., Wurtzer S., Mouchel J. M., Maday Y., Le Guyader Soizick, Garry Pascal, Bertrand I., Cluzel N., Courbariaux M., Wang S., Gantzer C., Maréchal V., Moulin L. (2023). **Implementation of a National Wastewater Surveillance System in France as a Tool to Support Public Authorities During the Covid Crisis: The Obepine Project.** In Manish Kumar, Keisuke Kuroda, Santanu Mukherjee, Long D. Ngiehm, Meththika Vithanage, and Vinay Kumar Tyagi (eds.) 2023 Wastewater Surveillance for Covid-19 Management. Part of The Handbook of Environmental Chemistry. 2023. Damià Barceló, Andrey G. Kostianoy (Eds.). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/698_2023_994. 29p. (Springer Berlin Heidelberg).

McLeod Catherine, Le Guyader Soizick (2023). **Need to Know More About Foodborne Viruses?** In Reference Module in Food Science. ISBN 978-0-08-100596-5. 11p. (Elsevier).

Expertises

Compte rendu d'analyse

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Olivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/21 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages.** DDPP 75 - Direction Départementale de la Protection des Populations de Paris, Ref. TIAC n° 25 75 85, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Olivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/08 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages.** DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Population de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC MLP 2023/06A, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/27 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Populations de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC 23-044-013, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/26 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 74, Direction Départementale de la Protection des Populations de Haute-Savoie, Ref. TIAC 23-074-009, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/13 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 75 - Direction Départementale de la Protection des Populations de Paris, Ref. 23-067, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/07 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Populations de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC MLP 20230106 A, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/05 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP59, Direction Départementale de la Protection des Populations du Nord, Lille, Ref. TIAC 22/059/063, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/03 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Populations de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC -CD-20230104A, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/01 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 34 - Direction de la Protection des Populations de l'Hérault, Montpellier, Ref. TIAC 22/034/035, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/25 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 16, Direction Départementale de la Protection des Populations de Charente, Ref. TIAC 23-016-012, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/24 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Populations de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC 23-044-010, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/23 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Populations de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC 23-085-15, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/20 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDCSPP 31 - Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations de Haute-Garonne, Ref. TIAC 23-031-041, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/14 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. ARS Pays de la Loire - Agence Régionale de Santé des Pays de la Loire, Ref. TIAC 466953, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/12 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP11 - Direction Départementales de la Protection des Populations de l'Aude, Ref. TIAC 466953, 2p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/11 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 71 - Direction Départementales de la Protection des Populations de Saone et Loire, Ref. TIAC 23-071-001, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/10 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Population de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC CD 20230118A, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/09 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 14, Direction Départementale de la Protection des Populations du Calvados, Ref. SI-VSS 465 315, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/06 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Population de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC CD20230104 A, 4p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/04 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 72, Direction Départementale de la Protection des Population de la Sarthe, Le Mans, Ref. TIAC 23/072/001, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2023). **Rapport d'essai n°23/02 - Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages**. DDPP 44, Direction Départementale de la Protection des Population de Loire-Atlantique, Nantes, Ref. TIAC -MLP-2022/229/A, 1p.

Avis

Le Fur Ines, Rocq Sophie, Reynaud Yann, Bruneau Audrey (2023). **Demande d'avis sur l'adaptation du suivi REMI (changement de lieu et taxon) de la zone 85.08.42 "Côte de l'Aiguillon" en fonction de la saisonnalité de l'exploitation**. DDTM85 & DDPP85 - Direction Départementale des Territoires et de la Mer de Vendée, Service Mer et Littoral, Unité Ressources Halieutiques, Les Sables d'Olonne & Direction Départementale de la Protection des Populations de Vendée, Service Sécurité Sanitaire des Aliments, Unité Pêche, coquillages, remise directe, restauration, La Roche sur Yon, Ref. ODE/LITTOORAL/LERPC 23.03, avis ifremer n° 22-074, 9p.<https://archimer.ifremer.fr/doc/00824/93596/>

Serais Ophelie, Gueguen Yannick, Reynaud Yann, Rocq Sophie, Ruysen Maria (2023). **Avis sur la mise en place d'un classement alternatif dans la zone de pêche n°34.02 « Bande littorale de l'embouchure de l'Aude au Grau d'Agde »**. DDPP34 - Direction de la Protection des Populations de l'Hérault, Unité territoriale de Sète, Montpellier, Ref. 22-058 Ifremer Sète - ODE/UL/LERLR, 16p.<https://archimer.ifremer.fr/doc/00818/93027/>

Posters

Bednarek Gaëlle, Schaeffer Julien, Veron Antoine, Wacrenier Candice, Philippe Cecile, Le Guyader Soizick, Garry Pascal (2023). **Diversité génomique des *Vibrio parahaemolyticus* entéropathogènes dans les mollusques bivalves**. MICROBES 2023 - 18e Congrès National de la SFM (Société Française de Microbiologie) « Un monde à explorer ». 4-6 octobre 2023, Rennes.

Le Mennec Cecile, Desdouits Marion, Schaeffer Julien, Goraguer Herle, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick (2023). **Les phoques : source potentielle de contamination virale en zone côtière?** MICROBES 2023 - 18e Congrès National de la SFM (Société Française de Microbiologie) « Un monde à explorer » . 4-6 octobre 2023, Rennes.

Ollivier Joanna, Lowther James, Desdouits Marion, Schaeffer Julien, Wacrenier Candice, Oude Munnink Bas B., Mota Batista Frederico, Koopmans Marion, de Graaf Miranda, Le Guyader Soizick (2023). **High genomic diversity of norovirus strains in contaminated oysters revealed by amplicon-based metagenomics**. Calicivirus Conference 2023. 7-11 mai 2023, Rotterdam, Netherlands.

Schaeffer Julien, Desdouits Marion, Besnard Alban, Le Guyader Soizick (2023). **Exploration des eaux usées : apport de la métagénomique pour l'étude des virus entériques humains**. MICROBES 2023 - 18e Congrès National de la SFM (Société Française de Microbiologie) « Un monde à explorer ». 4-6 octobre 2023, Rennes.

Schaeffer Julien (2023). **Can we use metagenomic to identify calicivirus sequences in sewage samples?** Calicivirus Conference 2023. 7-11 mai 2023, Rotterdam, Netherlands.

Résumés de congrès

Desdouits Marion, Reynaud Yann (2023). **Qualité microbiologique des eaux littorales et des coquillages**. Hackathon Eau'Niris 2023. 07 décembre 2023, Nantes.

Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Veron Antoine, Piquet Jean-Come, Rocq Sophie, Parnaudeau Sylvain, Hubert Françoise, Ollivier Joanna, Wacrenier Candice, Gauffriau Mathias, Gabellec Raoul, Bouget Jean-François, Allenou Jean-Pierre, Stavrakakis Christophe, François Virginie, Papin Mathias, Moulin Philippe, Monnot Mathias, Cordier Clémence, Arrignon Sandy (2023). **Applications Innovantes pour prévenir la contamination des huîtres par les NOROVIRUS. Projet FEAMP APINOV**. Conseil de Filière Coquillages. 27 et 28 mars 2023, Centre Ifremer Nantes.

Hubert Françoise, Desdouits Marion, Lattard Virginie, Soro Sionfoungo, Schaeffer Julien, Tilloy Valentin, Durand Patrick, Monchatre-Leroy Elodie, Gis Obepine, Marechal Vincent, Le Guyader Soizick (2023). **Identification de variants du SARS-CoV-2 par séquençage MiSeq dans les eaux usées de métropoles françaises : Intérêt de l'échantillonnage passif**. MICROBES 2023 - 18e Congrès National de la SFM (Société Française de Microbiologie) « Un monde à explorer » . 4-6 octobre 2023, Rennes.

Le Guyader Soizick (2023). **Molecular Epidemiology: Diversity of enteric viruses from contaminated shellfish using NGS**. Don't be Shellfish! Use Next Generation Sequencing to Improve Seafood Safety and Quality, Webinar IAFP (International Association for Food Protection). 27 juin 2023.

Le Guyader Soizick (2023). **Optimisation des approches génomiques pour décrire le virome humain après rejet dans l'environnement**. Journée du Microbiome. 29 juin 2023, Ifremer, Nantes.

Le Guyader Soizick (2023). **Caliciviridae sequences identified in seal faeces: any possible impact on coastal contamination ?** Calicivirus Conference 2023. 7-11 mai 2023, Rotterdam, Netherlands.

Le Guyader Soizick (2023). **Premières approches pour évaluer les risques sanitaires émergents**. Comité de Pilotage sanitaire, Direction Générale de l'Alimentation, Ministère de l'Agriculture, Paris, le 6 juillet 2023.

Ollivier Joanna (2023). **L'approche métagénomique ciblée révèle la grande diversité génomique des souches de norovirus dans les huîtres contaminées**. MICROBES 2023 - 18e Congrès National de la SFM (Société Française de Microbiologie) « Un monde à explorer » 4-6 octobre 2023, Rennes.

Reynaud Yann, Kaelin Gaele, Rocq Sophie (2023). **Bilan REMI 2022**. Journées pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2023 - Journées internes REMI. 10 octobre 2023, Nantes.

Siano Raffaele, Arzul Isabelle, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick, Durand Patrick, The Rome Consortium (2023). **Coastal microbiomes in estuarine ecosystems of France: the eDNA network ROME**. ASC 2023 - ICES Annual Science Conference 2023. 11–14 September 2023 Bilbao, Spain.

Serais Ophelie, Munaron Dominique, Crottier Anaïs, Rocq Sophie, Gueguen Yannick (2023). **Evaluations de la qualité des zones de pêche et d'élevage de coquillages d'Occitanie. Période 2020-2022**. Restitution des évaluations de la qualité des zones de pêche et d'élevage en région Occitanie - Résultats REMI et ROCCH sanitaire. 21 juin 2023, Sète.

Serais Ophelie, Gianaroli Camille, Crottier Anaïs, Reynaud Yann, Gueguen Yannick, Brun Mélanie, Rocq Sophie (2023). **Procédure de déclenchement des alertes REMI préventives « Pluviométrie » en Occitanie**. Journées pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2023 - Journées internes REMI. 9 octobre 2023, Nantes.

Siano Raffaele, Arzul Isabelle, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick, Durand Patrick, Serghine Joelle, Parnaudeau Sylvain, Quere Julien, Schmitt Sophie, Françoise Sylvaine, Mary Charlotte, Hernandez Farinas Tania, Terre Terrillon Aouregan, Lebrun Luc, Chomerat Nicolas, Seugnet Jean-Luc, Pepin Jean-François, Felix Christine, Serais Ophelie, Gobet Angélique, Chevalier Mathieu, Chevignon Germain, Lecadet Cyrielle, Morga Benjamin, Piquet Jean-Côme, Lemoine Maud, Leroi Laura, Noel Cyril (2023). **Coastal microbiomes in estuarine ecosystems of France: the eDNA network ROME**. ASLO - Aquatic Sciences Meeting 2023 "Resilience and Recovery in Aquatic Systems". 4-9 June 2023, Palma de Mallorca, Spain.

Siano Raffaele, Arzul Isabelle, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick, Durand Patrick, The Rome Consortium (2023). **Coastal microbiomes in estuarine ecosystems of France: the eDNA network ROME**. ASC 2023 - ICES Annual Science Conference 2023. 11–14 September 2023 Bilbao, Spain.