

---

## ÉTUDE DE L'INTERACTION DES NOROVIRUS AVEC LES ANTIGÈNES TISSULAIRES DE GROUPES SANGUINS HUMAINS (HBGA) AU COURS DE L'INACTIVATION VIRALE

Thèse de Manon **CHASSAING**<sup>1</sup>

Analysée par Dominique **PARENT-MASSIN**<sup>2</sup>

Directeur de thèse : M. Christophe **GANTZER**, Professeur, LCPME UMR 7564, CNRS, Nancy

Co-directeur de thèse : M. Nicolas **BOUDAUD**, Responsable Projets Virologie, ACTALIA, St- Lô

L'objectif de cette thèse était de mieux caractériser les liaisons HBGA-norovirus dans le but d'évaluer leur utilisation potentielle à des fins de détection des norovirus infectieux. Cependant, les travaux ont évolué ou nécessité une meilleure connaissance des interactions des NoV avec les antigènes tissulaires de groupes sanguins humains (HBGA ou *histo blood group antigens*) au cours du cycle de vie du virus comprenant des étapes chez l'Homme et dans l'environnement.

En effet, parmi les virus entériques, les norovirus humains (NoV) constituent la principale cause de gastro-entérite chez l'Homme avec chaque année plus de 700 millions de cas et 200 000 morts. Ils sont aussi responsables de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Les principaux aliments et boissons contaminés par les NoV sont l'eau, les mollusques bivalves vivants comme les huîtres ou les moules, certains légumes comme les salades et les fruits à baies. Cependant, si les mollusques bivalves sont principalement contaminés sur les zones de production influencées par une pollution fécale d'origine humaine (e.g. rejets de stations d'épuration), les végétaux ont plus de risque d'être contaminés par de l'eau souillée ou par le manuportage.

Des méthodes normalisées de détection et de quantification du génome des NoV dans les aliments à risque (salades, fruits rouges, mollusques bivalves, eaux embouteillées, surfaces alimentaires) ont été publiées à partir de 2013 (ISO 15216-1 en 2017 ; ISO 15216-2 en 2019). Le principal point faible de cette norme ISO 15216 concerne l'absence d'information sur le caractère infectieux des virus détectés dans les échantillons et donc de son incapacité à pouvoir discriminer les virus infectieux des virus non infectieux dans les aliments et l'eau, conduisant à une surestimation du danger viral.

---

<sup>1</sup> Thèse de doctorat de l'Université de Lorraine, mention « Science de la Vie et de la Santé », Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement), présentée et soutenue publiquement le 18 février 2021.

<sup>2</sup> Membre de l'Académie d'agriculture de France, section 8 « Alimentation humaine ».

Quelle est la relation entre les HBGA et les NOV pour qu'on puisse imaginer un test de détection plus faible, plus sensible que ceux existants ?

Il faudrait pouvoir sélectionner uniquement les virus capables de reconnaître leur récepteur cellulaire au niveau de la cellule hôte, car il s'agit de la première étape du cycle de vie des virus, témoin de l'intégrité de la capsid du virus, donc de sa capacité à induire une infection. Le récepteur cellulaire des NoV n'est pas encore identifié avec certitude, mais il a été largement montré que l'interaction avec des HBGA peut participer au cycle infectieux des NoV chez l'Homme. Les HBGA sont des sucres complexes, retrouvés à la surface des érythrocytes et des cellules épithéliales des muqueuses de l'intestin de l'Homme. Ils sont considérés comme des facteurs d'attachement facilitant l'infection des NoV au niveau du site de réplication cellulaire situé dans l'intestin grêle.

La première partie du travail expérimental vise à évaluer la capacité des HBGA à protéger les norovirus des facteurs inactivant protéolytiques (pepsine, trypsine, chymotrypsine) sur les particules de type virus G.II4 (VLP : Pseudo particule-virale ou *Virus-like particle*) et les norovirus GII.4. Les VLP sont obtenues à l'aide de techniques de biologie moléculaire combinées à un système d'expression. Elles sont produites par l'expression de la protéine majeure de capsid VP1 avec ou sans la protéine mineure de capsid VP2. Les protéines ainsi obtenues s'auto-assemblent pour former des VLP qui expriment des propriétés morphologiques, antigéniques et biochimiques similaires à celles des NoV. C'est la raison pour laquelle les VLP sont fréquemment utilisées comme modèle pour étudier le comportement des NoV. La seconde partie du travail porte sur l'évolution de l'interaction entre les norovirus et les HBGA au cours de l'inactivation virale (vieillessement naturel, traitement thermique, traitement oxydants).

Les résultats ont montré que la fixation spécifique des norovirus aux HBGA peut permettre de sélectionner les virus possédant encore des capsides structurées. Cependant, cette approche présente certaines limites lorsque les traitements induisent des modifications mineures au niveau de la capsid, indiquant que la perte de la fixation aux HBGA par les capsides ne peut pas toujours être corrélée à la perte du caractère infectieux des norovirus. Les VLP apparaissent comme des substituts pertinents des norovirus pour l'évaluation des traitements d'inactivation induisant des changements significatifs dans la structure de la capsid.

Cette thèse, qui fait appel à de nombreuses techniques de biologie moléculaire de haut niveau, a permis de mieux comprendre les interactions des NoV avec les HBGA. Cependant, trop ambitieuse peut-être compte tenu de l'état des connaissances de ces dernières, elle n'a pas permis d'ébaucher la mise au point d'un test plus sensible de détection de norovirus réellement infectieux, permettant une diminution du nombre de tests faux positifs et ainsi une meilleure sélection des denrées contaminées. C'est bien dommage pour les producteurs de fruits et légumes potentiellement contaminés qui éliminent sûrement des lots non contaminés de leur production au vu des faux positifs, entraînant bien sûr une perte financière.

Ce travail innovant, conséquent, original et difficile, qui ouvre malgré tout de nouvelles perspectives, a donné lieu à plusieurs publications dans des revues à comité de lecture. Il mérite que cette analyse figure sur le site de l'Académie à titre de valorisation.