



Détection du génome de SARS-CoV-2 dans l'environnement : applications concrètes

Bruno Lina

Laboratoire de Virologie, CNR des virus respiratoires, Institut des Agents Infectieux, Hôpital de la Croix-Rousse, HCL, F-69004, Lyon

Laboratoire Virpath, CIRI, INSERM U1111, CNRS 5308, ENS de Lyon, UCBL, Faculté de Médecine Lyon Est, Université de Lyon, F-69372, Lyon

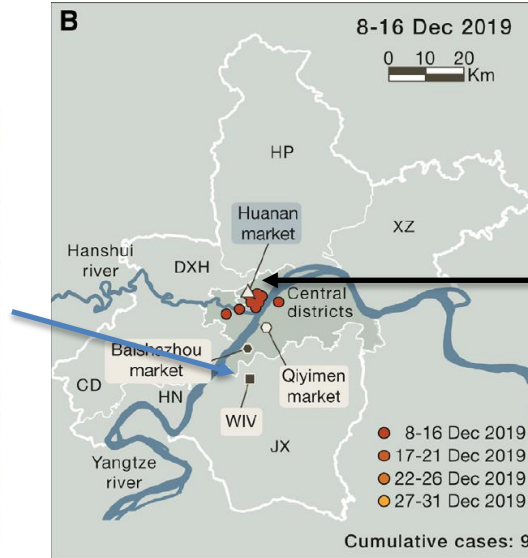
Introduction

Pour tout virus zoonotique, la question de la surveillance de l'ARNe/ADNe est une évidence

Avec l'émergence du SARS-CoV-2, la détection par PCR et le séquençage des ARN viraux dans l'environnement sont des méthodes qui ont été développées puis utilisées pour comprendre la dynamique d'évolution et de dissémination des virus

Ces méthodes encore complexes se « démocratisent » de plus en plus, montrant leur intérêt tant pour la compréhension des étapes précoces de la pandémie que pour la surveillance du virus

1 – COMPRÉHENSION DE L'ORIGINE DU SARS-COV-2



Vente d'animaux de la faune sauvage sur le marché de Huanan

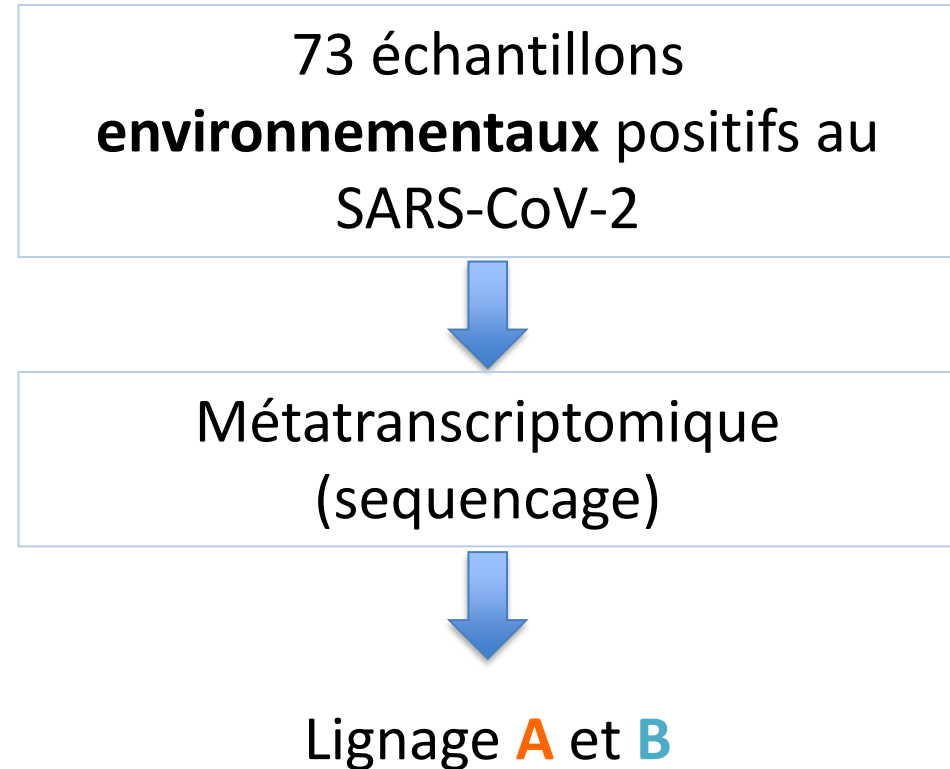
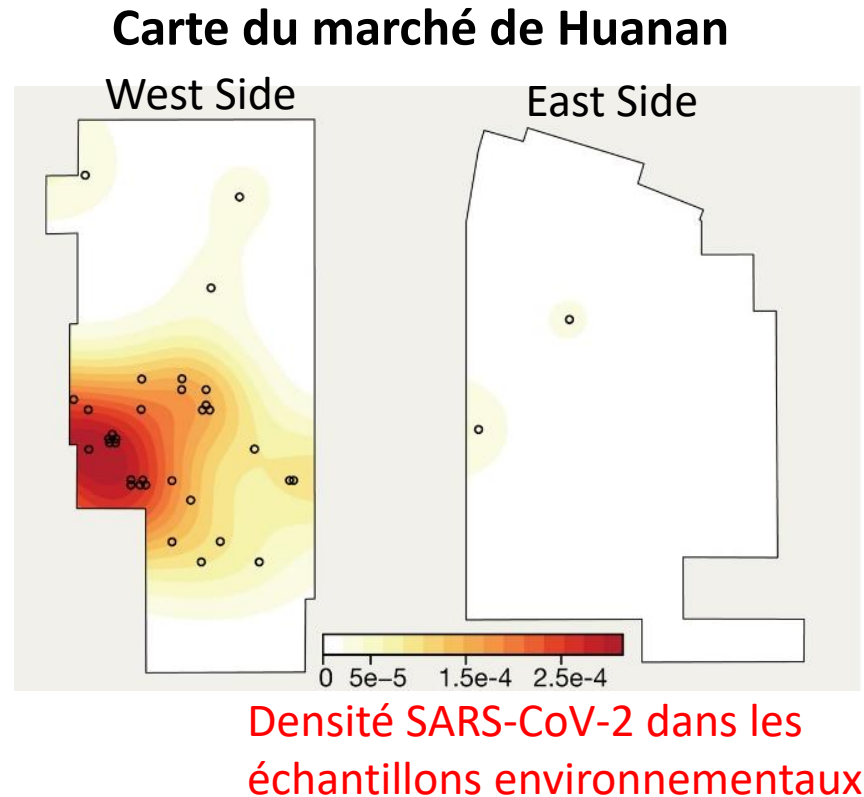
Hyp#1 :Création dans un laboratoire (gain of function)

Diffusion intentionnelle (dual use)?
Accident de laboratoire ?

Hyp#2 : Emergence zoonotique depuis la chauve-souris (réservoir animal)

Transmission directe à l'homme ?
Avec un hôte intermédiaire ?

SURVEILLANCE DU MARCHÉ DE HUANAN APRÈS SA FERMETURE



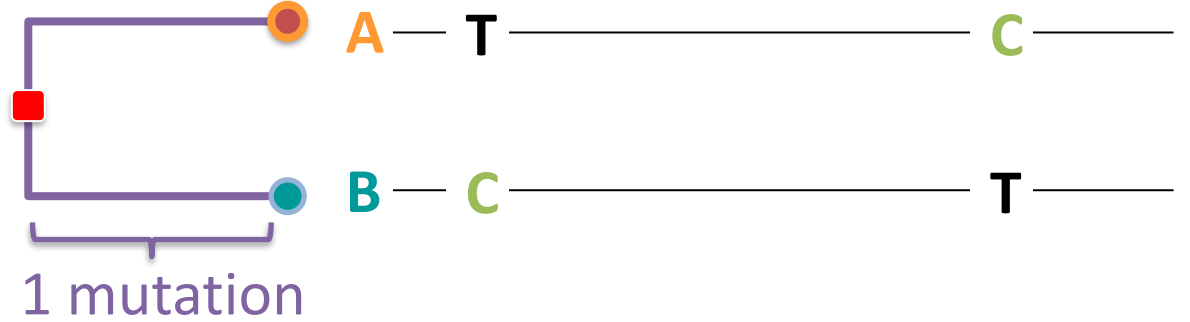
Deux lignages A et B ont été retrouvés dans l'aile Ouest du marché où était vendue de la faune sauvage vivante.

COMMENT LES SÉQUENCES D'UN VIRUS ÉMERGENT PERMETTENT DATER SON INTRODUCTION?

Ancêtre commun le plus récent
(*Most Recent Common Ancestor*)

— T ————— T — MRCA

Arbre
phylogénétique

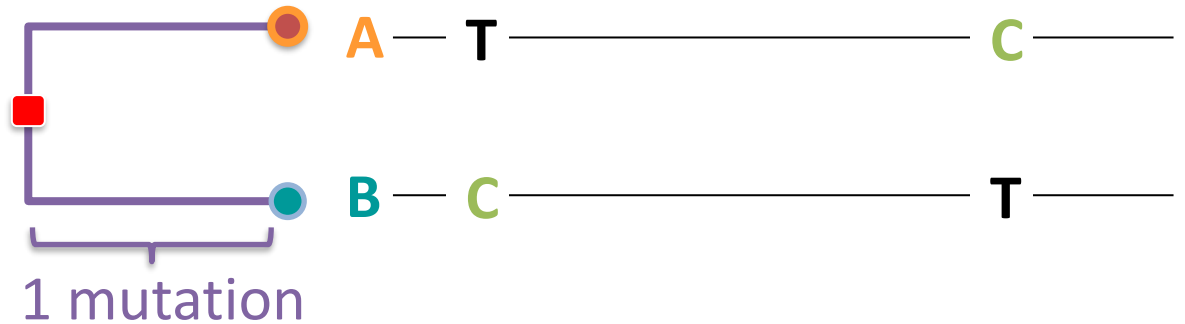


COMMENT LES SÉQUENCES D'UN VIRUS ÉMERGENT PERMETTENT DATER SON INTRODUCTION?

Ancêtre commun le plus récent
(*Most Recent Common Ancestor*)

— T ————— T ————— MRCA

Arbre
phylogénétique

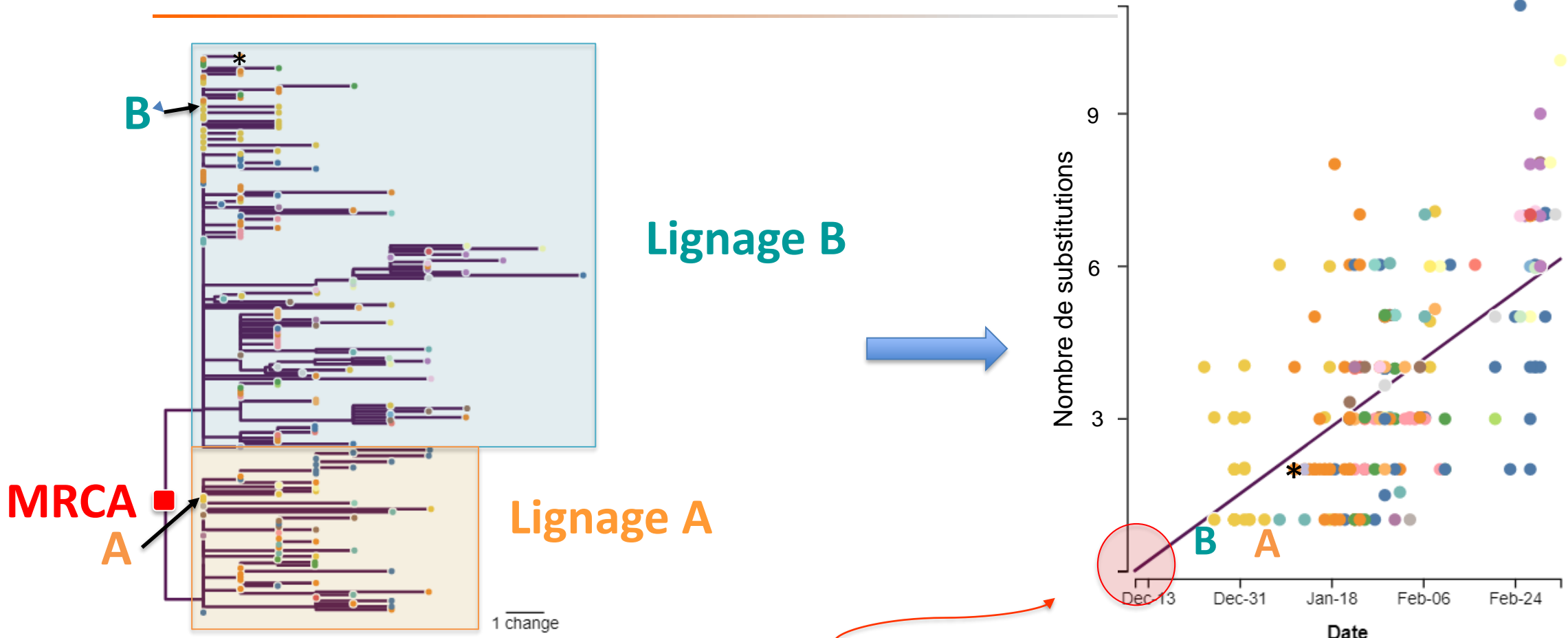


Hypothèse de l'**horloge moléculaire** : les mutations génétiques s'accumulent dans un génome à une vitesse constante



L'horloge moléculaire permet d'estimer la date de l'ancêtre commun d'une phylogénie.

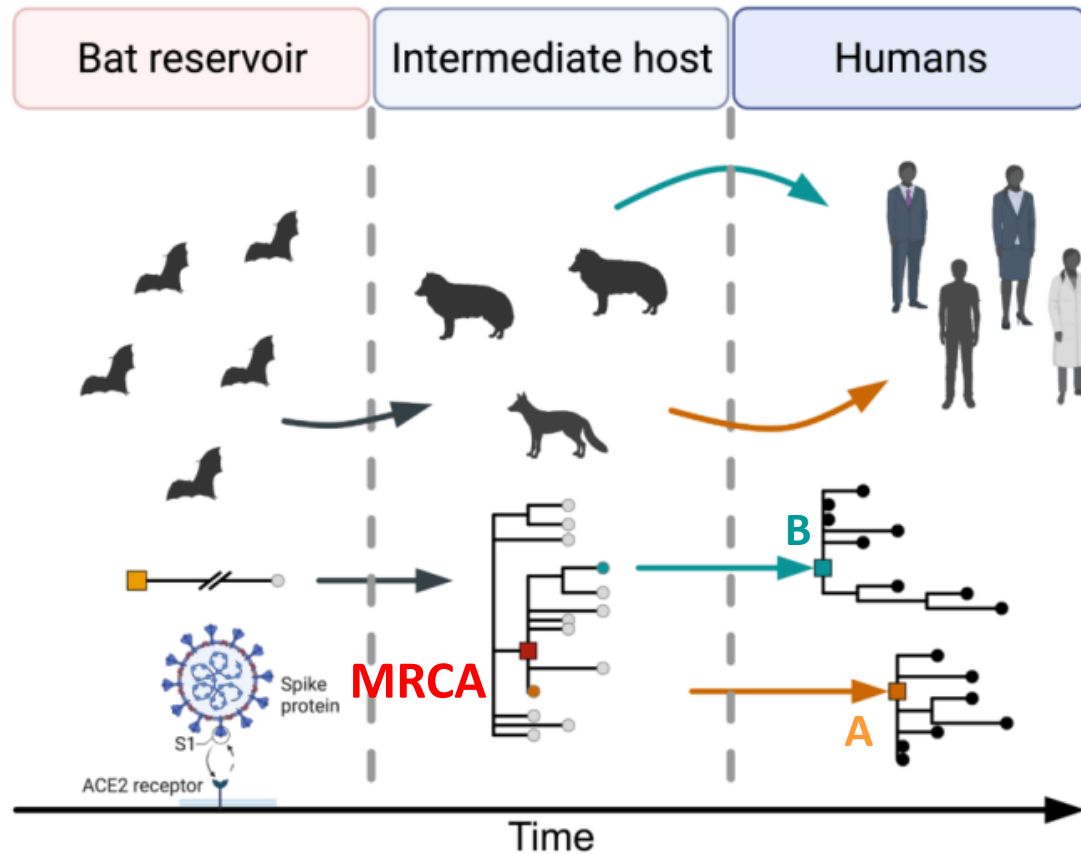
PREMIÈRE ESTIMATION DE LA DATE D'INTRODUCTION DU SARS-COV-2



Date de l'ancêtre commun du SARS-CoV-2 (tMRCA) = 17 Nov 2019 (95% HPD : 27/08/2019 – 19/12/2019)

- Horloge moléculaire du SARS-CoV-2 : ~2 mutations / mois
- Date de l'ancêtre commun : mi Novembre 2019

AU TOTAL, AU MOINS 2 INTRODUCTIONS SUCCESSIVES



Inférence phylodynamique bayésienne
Simulations de l'épidémie

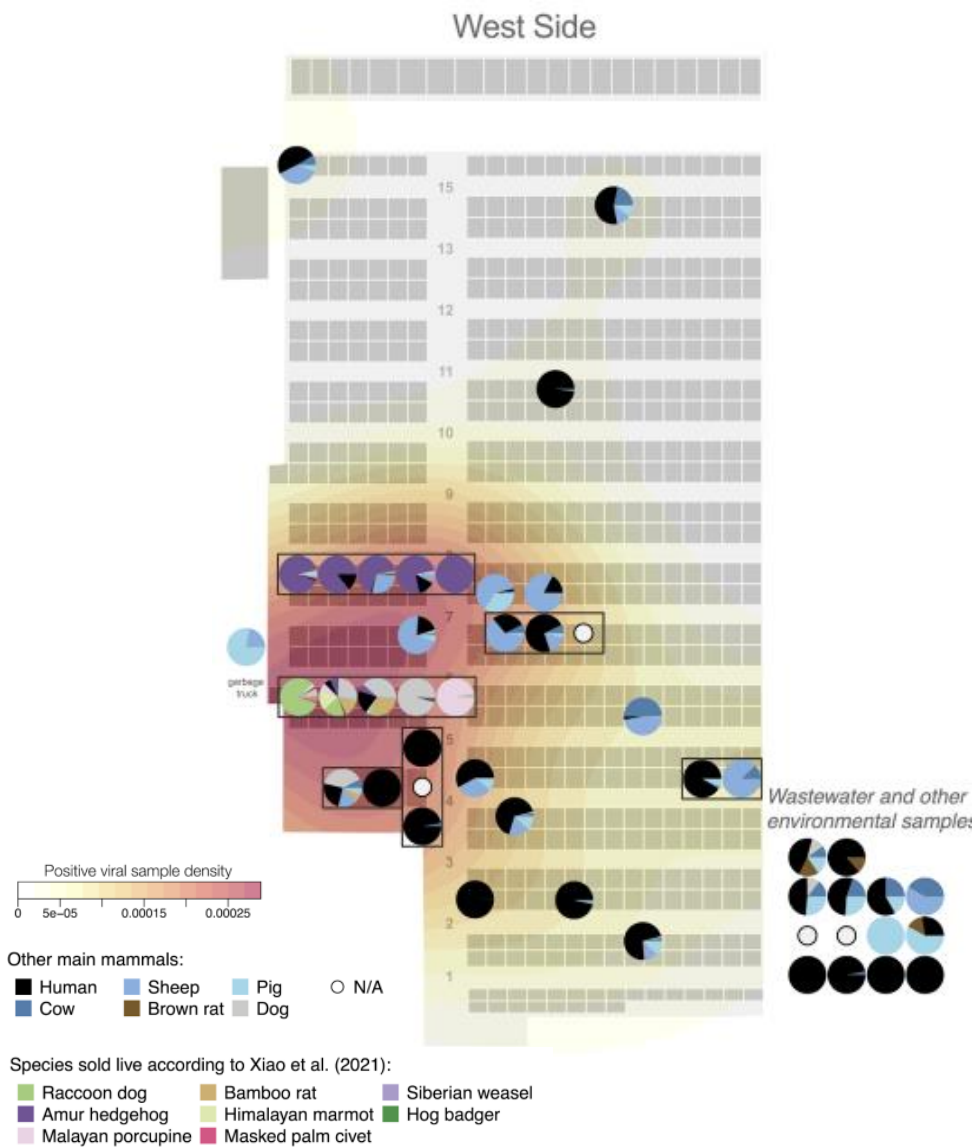
Estimation de la date des premiers cas humains

Au minimum 2 introductions successives du SARS-CoV-2 entre :

- Mi-novembre 2019 pour le lignage **B**
- Fin novembre 2019 pour le lignage **A**

Si plusieurs introductions successives du SARS-CoV-2 l'Hyp#2 (Zoonose) est plus vraisemblable que l'Hyp#1 (Accident de laboratoire)

A LA RECHERCHE DE L'HÔTE DANS LES SÉQUENCES OBTENUES EN METATRANSCRIPTOMIQUE



73 échantillons
environnementaux positifs au
SARS-CoV-2

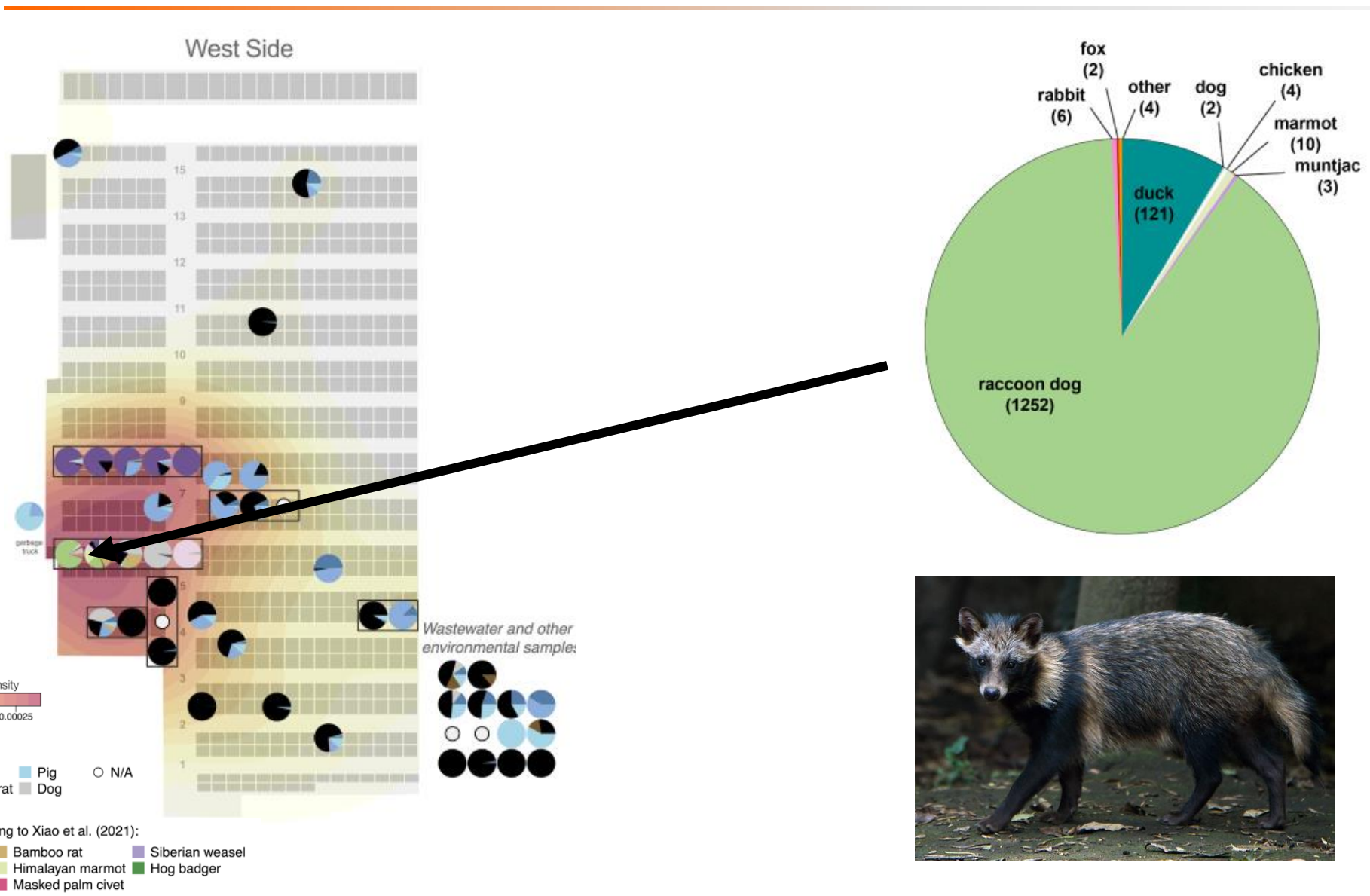


Métatranscriptomique

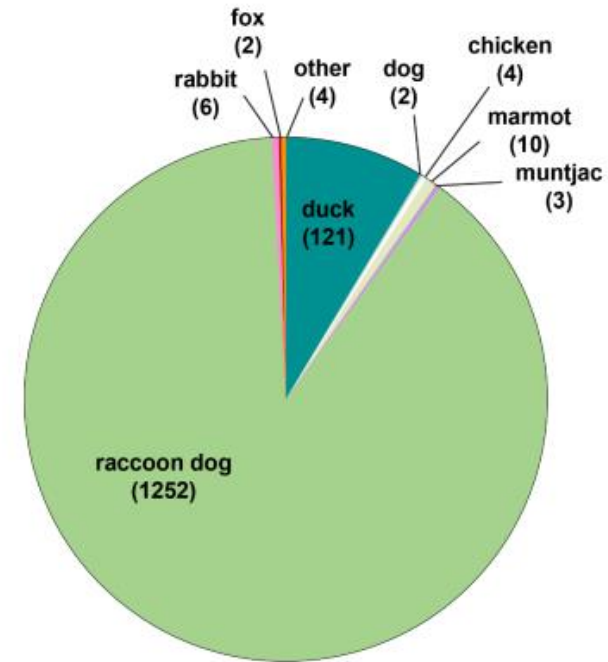
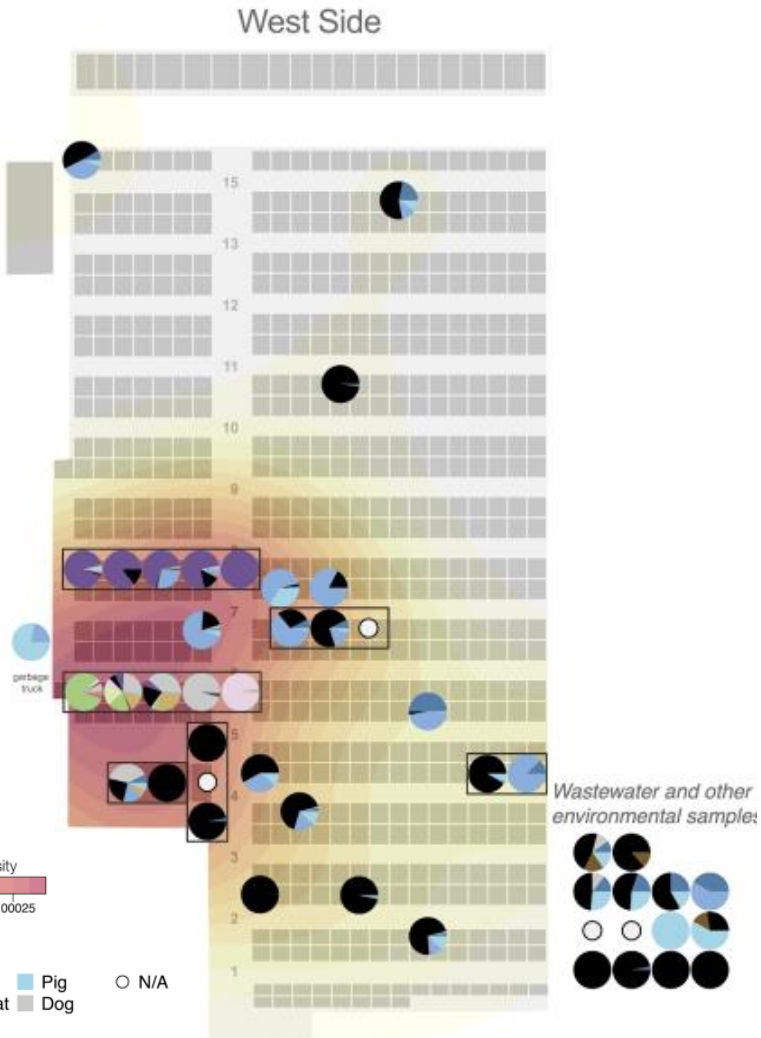


Présence de séquences de
différents mammifères

A LA RECHERCHE DE L'HÔTE DANS LES SÉQUENCES OBTENUES EN METATRANSCRIPTOMIQUE

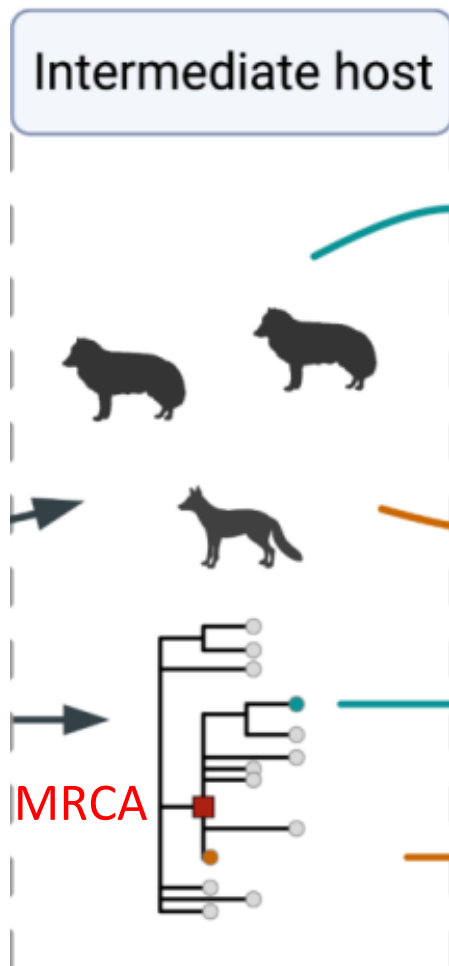


A LA RECHERCHE DE L'HÔTE DANS LES SÉQUENCES



- Métatranscriptomique : ARN de chien viverrin très abondant dans la zone très positive au SARS-CoV-2
- MAIS ne prouve pas que l'animal était infecté ni qu'il est l'hôte intermédiaire.

A LA RECHERCHE DE L'HÔTE DANS LES SÉQUENCES OBTENUES EN METATRANSCRIPTOMIQUE

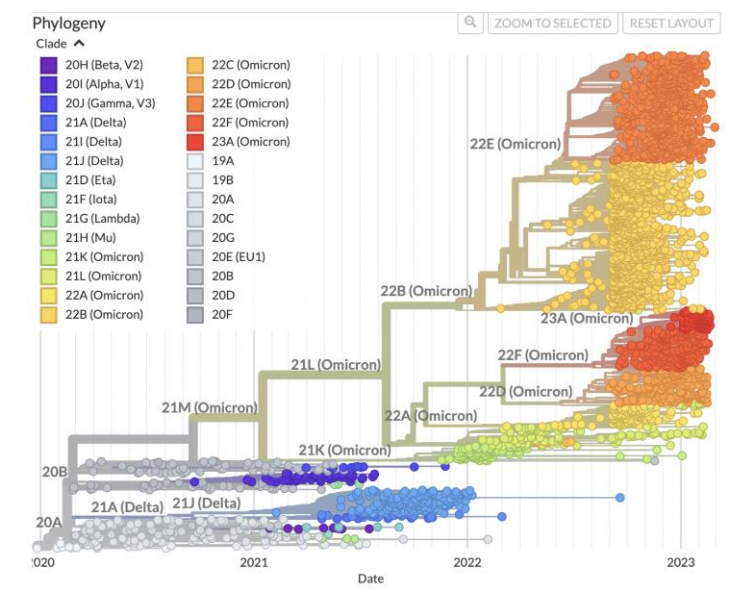
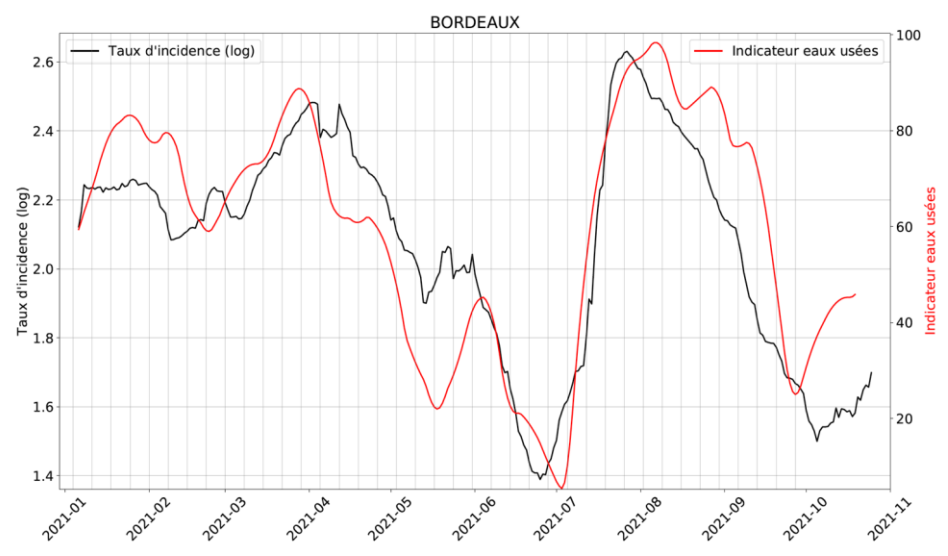


Métatranscriptomique

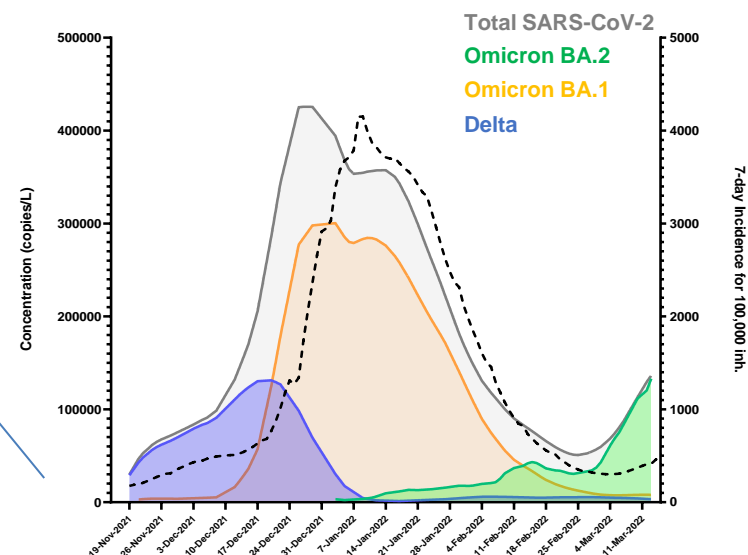
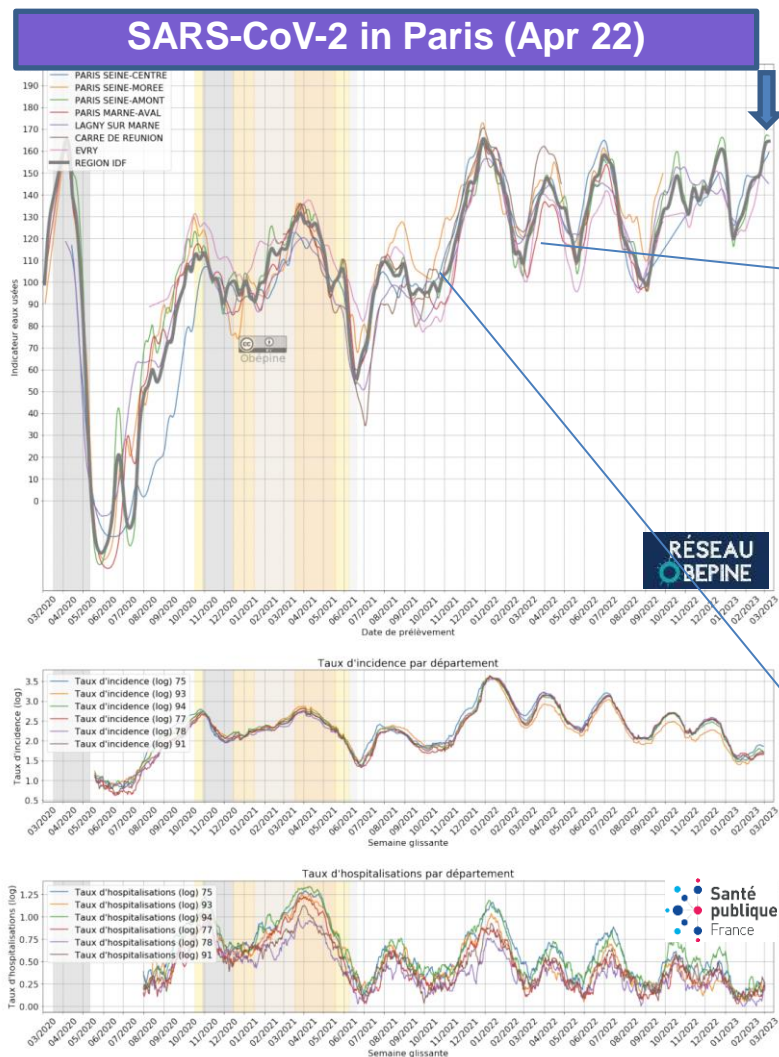
Identification de virus à haut risque pour l'homme mais pas du MRCA du SARS-CoV-2

L'hôte intermédiaire du SARS-CoV-2 n'est pas encore identifié

2 - SURVEILLANCE DES EAUX USÉES – UN APPORT A LA SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE



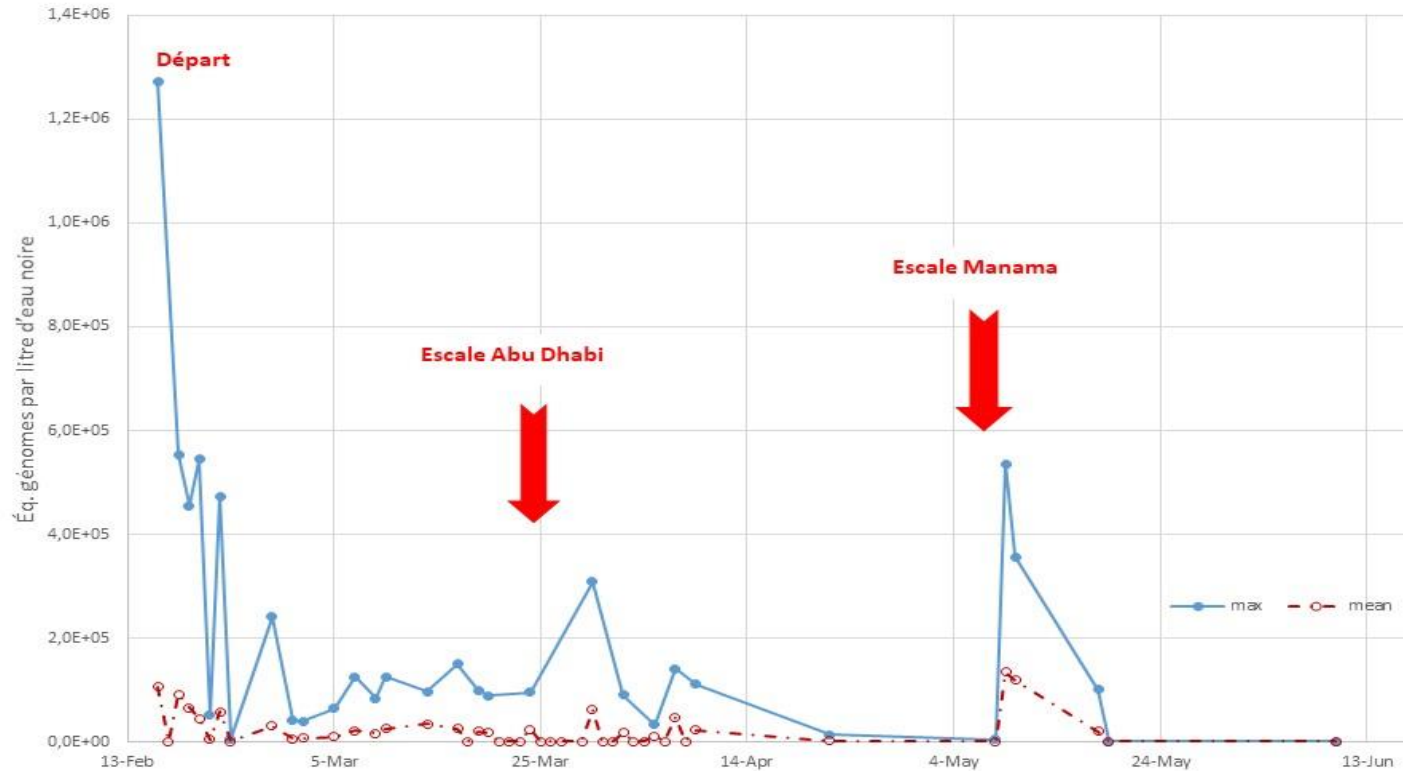
SURVEILLANCE DES EAUX USÉES – UN APPORT A LA SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE



Delta to Omicron switch (ddPCR - Emereau project)

**OBEPIE
SSA**

A CASE STUDY : LA SURVEILLANCE DU CHARLES DE GAULLE



- An increase after each stop
- Low epidemic diffusion

CONCLUSION

La détection de l'ARNe pour les virus émergents est un indicateur indispensable

- 1 – pour surveiller et comprendre l'émergence
- 2 – pour suivre la diffusion et l'évolution du virus

Les techniques restent complexes et encore difficiles à appliquer sur des prélèvements pour la surveillance de la faune sauvage (surveillance non ciblée)

La complexité ne réside pas que dans les aspects techniques du séquençage, mais aussi dans les méthodes d'analyse des jeux de données obtenues (bio-informatique)



MERCI

CNR des virus respiratoire et laboratoire de Virologie IAI des HCL:

NGS team (Dr Laurence Josset)

Antonin Bal

Grégory Destras

Grégory Quéromès

Hadrien Regue

Bruno Simon

Dr Alexandre Gaymard

Dr Emilie Frobort

Dr Martine Valette

Dr Vanessa Escuret

Dr Maude Bouscambert

Pr Florence Morfin

Virpath lab (Université de Lyon)

Dr Olivier Terrier

Dr Manuel Rosa-Calatrava

Dr Mario Andres Pizzorno



GENomique
EPIdémologique
des maladies
Infectieuses



Données Obépine
Pr Vincent Marechal

HCL
HOSPICES CIVILS
DE LYON