

**MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS ET DE LA SANTÉ
DIRECTION GÉNÉRALE DE LA SANTÉ
CENTRE DE CRISE SANITAIRE**

DATE : 30/03/2021

REFERENCE : MINSANTE N°2021-48

OBJET : SEQUENÇAGE : EVOLUTION DES OBJECTIFS ET OPERATIONNALISATION

Pour action

Pour information

Mesdames, Messieurs,

L'identification et le suivi des variants d'intérêt du SARS-CoV-2 constitue un enjeu important de contrôle de l'épidémie. Ces variants peuvent être plus (ou moins) transmissibles, éventuellement plus (ou moins) pathogènes, toucher des populations plus jeunes, échapper à l'immunité acquise après infection ou induite par la vaccination ou avoir un impact sur les performances des tests diagnostiques. Actuellement, les variants **20I/501Y.V1**, **20H/501Y.V2** et **20J/501Y.V3** partagent certaines de ces caractéristiques et sont qualifiés du titre de variants d'intérêt. Ils font à ce titre l'objet d'une surveillance spécifique.

Par ailleurs, l'identification précoce de nouveaux variants d'intérêt est essentielle pour retarder au maximum leur diffusion au sein de la population, anticiper l'adaptation des capacités diagnostiques et éventuellement la stratégie vaccinale. Cette identification de nouveaux variants d'intérêt est l'objectif principal de la stratégie de surveillance génomique définie par Santé Publique France (SPF) et l'ANRS Maladies Infectieuses Émergentes : elle repose sur une centralisation de toute séquence produite dans une base de données nationale, et son partage au niveau international, qui permettra au Centre national de référence (CNR) Virus des infections respiratoires et à SPF de conduire des analyses de risque, sur la base d'une analyse de ces données de séquençage au regard de celles issues de la surveillance épidémiologique ou d'analyses fonctionnelles virologiques conduites par le CNR.

Ce message MINSANTE précise la doctrine nationale en matière de séquençage, selon trois grandes types d'indication : surveillance, intervention ou orientation clinique. Il fournit également des éléments opérationnels sur ces différentes indications.

a. Objectifs et périmètre du projet

Un projet national de surveillance génomique moléculaire, coordonné par Santé publique France et l'ANRS | Maladies Infectieuses Émergentes (MIE), est en cours de déploiement. Ce projet, désormais dénommé EMERGEN (Consortium pour la surveillance et la recherche sur les infections à pathogènes EMERgents via la GENomique microbienne), s'appuie sur un réseau de quatre plateformes à visée nationale : le CNR Virus des infections respiratoires (Laboratoires de l'Institut Pasteur et des Hospices Civils de Lyon), le CHU Henri Mondor (AP-HP) et l'IHU Méditerranée Infection à Marseille. Ces plateformes nationales sont complétées par un réseau de proximité composé d'environ quarante laboratoires de virologie (CHU, CH, SSA) répartis sur l'ensemble du territoire, coordonnés par l'ANRS | MIE.

Le pilotage opérationnel du consortium EMERGEN est assuré par Santé Publique France, en association avec l'ANRS|MIE. SpF s'appuiera pour la conduite opérationnelle des campagnes d'échantillonnage sur son réseau de cellules régionales en lien étroit avec les Agences Régionales de Santé.

Du fait de l'évolution de la situation sanitaire et de la généralisation du criblage, le séquençage voit ses objectifs en terme quantitatif évoluer par rapport aux éléments transmis dans le MINSANTE du 22 janvier dernier. En effet, dès sa mise en place, ce projet poursuivait le double objectif de suivre la diffusion des variants d'intérêt déjà connus et d'en identifier de nouveaux. Le séquençage s'articule désormais avec le criblage, qui s'attache à l'identification des virus SARS-CoV-2 porteurs de certaines mutations déjà connues permettant de suspecter la présence de variants d'intérêt. Le criblage permet ainsi de mettre en place une politique de contact tracing renforcé pour un certain nombre de variants d'intérêt, mais il ne donne pas une vision complète du virus et ne permet pas d'identifier formellement le variant. Par ailleurs, il ne peut pas contribuer à la détection de nouveaux variants sur le territoire.

A l'inverse, le séquençage répond précisément aux objectifs suivants :

- Identifier formellement la part des différents variants sur le territoire
 - Séquençage après échantillonnage aléatoire des prélèvements sur le territoire ; cela permet de décrire la distribution et la circulation des différents types de virus (clades, variants à l'intérieur des clades), et leur évolution dans le temps sur le territoire ;
- Identifier de nouveaux variants par l'analyse de la base nationale constituée des données issues du :
 - Séquençage après échantillonnage aléatoire des prélèvements sur le territoire ;
 - Séquençage des échantillons issus de clusters ou toute autre situation anormale (incidence élevée) ;
 - Séquençage des cas d'échecs des traitements antiviraux ou de vaccination ;
 - Séquençage des cas de réinfection ;
 - Séquençage des cas d'infections avec des excréctions virales prolongées, en particulier chez les personnes immunodéprimées ;
- Nourrir des projets de recherche à partir de capacités de séquençage renforcées et de données de génomique normalisées, centralisées et partagées.

Les capacités de ce réseau de séquençage ont déjà permis de réaliser plus de 4000 séquençages sur la semaine 10 ; l'objectif est d'atteindre et maintenir un rythme de plus de 6 000 séquençages par semaine en avril, rythme qui pourra évoluer en fonction de l'intensité de la circulation virale. Des capacités supplémentaires sont identifiées et pourront être sollicitées en cas de besoin. La situation pourra évoluer, notamment en cas de saturation des capacités des quatre plateformes et du réseau de l'ANRS|MIE.

b. Organisation du séquençage à visée de surveillance (échantillonnage aléatoire)

L'échantillonnage des cas positifs envoyés pour séquençage repose sur l'organisation d'enquêtes Flash régulières, c'est-à-dire l'envoi pour séquençage d'une sélection aléatoire des prélèvements testés positifs par RT-PCR sur une journée. Cinq enquêtes Flash ont été organisées jusqu'ici ; **à partir de l'enquête Flash #5, conduite le mardi 16 mars, les enquêtes Flash auront lieu un mardi sur deux. Dans quelques semaines, leur rythme deviendra hebdomadaire (tous les mardis)**. Ces enquêtes Flash feront l'objet d'annonces de SPF anticipées la semaine précédant leur conduite ; les laboratoires de biologie médicale et les ARS seront prévenus à l'avance de toute évolution.

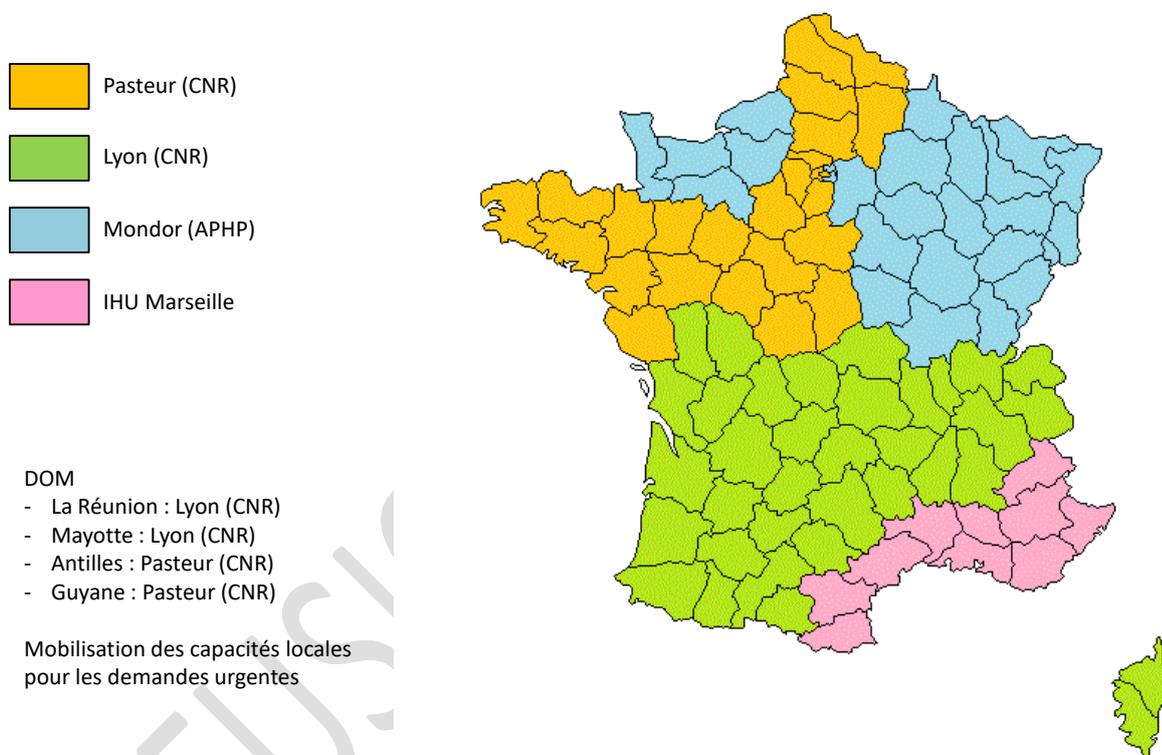
L'objectif est d'obtenir pour chaque enquête Flash la remontée d'au moins 4 000 échantillons à séquencer. Le taux d'échantillonnage transmis aux laboratoires sera régulièrement actualisé en fonction du nombre de cas positifs quotidiens de manière à atteindre cet objectif. Les prélèvements inclus devront être répartis de manière appropriée sur le territoire afin d'obtenir un échantillon représentatif au niveau national et régional, et des actions seront conduites en lien avec les cellules régionales de SPF et les ARS pour renforcer la participation dans les régions où la participation serait insuffisante. Ainsi, une remontée de la répartition géographique de l'échantillonnage sera

transmise aux cellules régionales de SPF pour s'assurer de la bonne représentativité de celui-ci. A défaut, un ajustement sera proposé par la cellule régionale de SPF en lien avec l'ARS compétente pour la campagne suivante d'échantillonnage.

Les métadonnées nécessaires à l'analyse devront être fournies via un fichier Excel d'accompagnement, pour lequel un modèle sera envoyé aux laboratoires. Les données demandées sont présentes dans les systèmes d'information des laboratoires. Il ne sera donc plus nécessaire de saisir manuellement des bordereaux d'accompagnement.

Les prélèvements pour séquençage à visée de surveillance doivent être envoyés à l'une des quatre plateformes nationales en fonction de leur région de collecte. La carte ci-après, réalisée en fonction des capacités de chaque plateforme et des populations desservies, indique la répartition géographique actuelle entre ces quatre plateformes ; la seule exception à cette règle concerne ici les laboratoires de l'APHP qui adressent leurs prélèvements à la plateforme Henri Mondor.

Cette cartographie pourra évoluer en tant que de besoin. Le cas échéant, vous en seriez immédiatement informés et une version actualisée sera mise en ligne sur les sites de SPF et du CNR.



L'acheminement des prélèvements est organisé par chaque plateforme (coordonnées en annexe 1).

D'autres sélections aléatoires de prélèvements pour séquençage pourront être décidées ultérieurement, dans le cadre notamment des actions de dépistage de masse conduites dans certaines populations (écoles ou lycées, par exemple) ou territoires. Vous en serez alors tenus informés.

c. Organisation du séquençage à visée interventionnelle

Le séquençage à visée interventionnelle vise à contribuer à l'investigation de situations particulières (ex : clusters) ou toute autre situation qualifiée d'anormale (ex : incidence anormalement élevée, suspicion de transmission de l'animal à l'homme ou inversement, etc.). Pour ces situations, le séquençage du génome viral complète les données épidémiologiques recueillies et contribue à l'orientation des actions de santé publique mises en œuvre.

Cette indication de séquençage relève d'une décision de l'ARS ou de Santé publique France. Un séquençage du génome entier (NGS) doit ici être privilégié par rapport à un séquençage partiel (par NGS ou SANGER). Dans le cadre de

l'investigation d'un cluster, la sélection des prélèvements à transmettre pour séquençage peut faire l'objet d'un échange préalable avec SPF et le laboratoire qui séquence pour en définir le nombre. L'envoi d'une dizaine de prélèvements est généralement indiqué, et un échantillonnage peut être décidé selon la taille du cluster.

Les prélèvements pour séquençage à visée interventionnelle peuvent être réalisés localement par l'un des laboratoires du réseau de l'ANRS|MIE s'il dispose d'une capacité de séquençage de génomes entiers par NGS (voir Annexe 2) ; si ce n'est pas le cas ou sur demande spécifique de l'ARS ou de Santé publique France, l'une des quatre plateformes nationales territorialement compétente (voir carte ci-dessus) pourra être mobilisée en renfort.

Indépendamment du laboratoire effectuant ce séquençage, le CNR Virus des infections respiratoires (Laboratoire de l'Institut Pasteur ou Laboratoire des Hospices Civils de Lyon) devra être tenu informé de l'investigation en cours, quelle que soit sa zone géographique de survenue, afin de récupérer tout type de matériel biologique nécessaire à l'exercice de ses missions. Pour rappel, la répartition géographique entre les laboratoires de l'Institut Pasteur ou de Lyon est la suivante :

- CNR Nord (Institut Pasteur) : Ile de France, Hauts de France, Normandie, Grand Est, Bretagne, Pays de la Loire, Centre Val de Loire, Bourgogne Franche Comté, Antilles, Guyane.
- CNR Sud (Hospices civils de Lyon) : Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, Provence Alpes Côte d'Azur, Corse, la Réunion, Mayotte.

d. Organisation du séquençage orienté par la clinique

Il s'agit ici de la dernière catégorie d'indications dans le cadre de la stratégie nationale de surveillance génomique du SARS-CoV-2 qui concerne un nombre plus réduit de prélèvements concernant des situations cliniques particulières. Ces situations sont les suivantes :

- Les infections respiratoires aiguës (IRA) en médecine de ville, dont la surveillance est assurée par le Réseau Sentinelles : **les prélèvements réalisés par les médecins Sentinelles sont acheminés directement au CNR via un circuit dédié, déjà en place, et selon la répartition habituelle Nord-Sud rappelée ci-dessus ;**
- Les cas graves hospitalisés en réanimation : Santé publique France coordonne un réseau de surveillance des cas graves de COVID-19 ou de grippe, associant 226 services de réanimation et 44 laboratoires de biologie médicale (voir annexe 3) qui se sont portés volontaires pour participer au volet virologique de cette surveillance. Dans le cadre du protocole de cette surveillance (disponible sur le site de Santé publique France et qui peut évoluer : <https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/covid-19-outils-pour-les-professionnels-de-sante>) ces laboratoires sont sollicités pour transmettre pour séquençage 20 prélèvements par mois (soit un objectif d'environ 10 000 séquençages par an). **Les prélèvements issus de cette surveillance sont acheminés vers le CNR, selon la répartition habituelle Nord-Sud rappelée ci-dessus ;** les indications de séquençage au sein de l'AP-HP ou de l'AP-HM seront respectivement traitées par la plateforme d'Henri Mondor et de l'IHU de Marseille. Le CNR devra être tenu informé de ces analyses.
- Les suspicions de réinfection, les infections après vaccination (échecs vaccinaux) et les échecs de traitement par anticorps monoclonaux :
 - o Les suspicions de réinfection font l'objet d'une conduite à tenir définie par Santé publique France, le CNR et la Direction générale de la santé, disponible également sur le site de Santé publique France (<https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/covid-19-outils-pour-les-professionnels-de-sante> ; documents actualisés le 16 mars 2021). Dans le cadre de cette conduite à tenir, un séquençage est systématiquement indiqué pour pouvoir confirmer une réinfection.
 - o Les échecs vaccinaux (infections 15 jours après la 2e dose) font l'objet d'un message MINSANTE n°2021-44 dédié qui précise leur circuit de signalement. Tout prélèvement RT-PCR positif associé à un échec

vaccinal doit bénéficier d'un séquençage afin de caractériser la souche responsable de l'infection post-vaccination.

- Les échecs de traitement par anticorps monoclonaux prescrit dans le cadre de l'ATU de cohorte (voir site de l'ANSM).

Sur ces trois groupes d'indications cibles, suspicions de réinfection, échecs vaccinaux, échecs de traitement par anticorps monoclonaux, la doctrine est identique et porte sur la totalité des cas concernés. **Les prélèvements peuvent être séquencés localement par l'un des laboratoires du réseau de l'ANRS|MIE s'il dispose d'une capacité de séquençage de génomes entiers par NGS (voir Annexe 2), en lien avec le CNR, ou directement par le CNR, selon la répartition Nord-Sud habituelle rappelée ci-dessus.** Les indications de séquençage au sein de l'AP-HP ou de l'AP-HM seront respectivement traitées par la plateforme d'Henri Mondor et de l'IHU de Marseille.

Indépendamment du laboratoire effectuant ce séquençage, le CNR Virus des infections respiratoires (Laboratoire de l'Institut Pasteur ou Laboratoire des Hospices Civils de Lyon) devra être tenu informé de ces analyses, quelle que soit sa zone géographique de survenue, afin de récupérer tout type de matériel biologique nécessaire à l'exercice de ses missions (voir répartition Nord-Sud ci-dessus).

A noter qu'un travail de rapprochement des SI VACCIN COVID et SI-DEP est en cours et pourra permettre à terme aux laboratoires d'identifier les situations d'infections après vaccination.

Au-delà des indications cibles précédemment décrites, d'autres cibles pourront ultérieurement être ajoutées (patients avec excréctions virales prolongées, patients avec COVID longs, eaux usées) et vous en serez alors tenus informés.

Les envois de prélèvements doivent systématiquement être accompagnés d'un bon précisant l'indication de la demande de séquençage et les données minimales devant l'accompagner. Il est essentiel que ces bons soient précisément renseignés, en particulier en ce qui concerne l'indication du séquençage. Ce bon de prélèvement est disponible sur le site du CNR Virus des infections respiratoires (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/centres-nationaux-referance/cnr/virus-infections-respiratoires-dont-grippe>)

e. Traitement des données

Les données de séquençage produites par les plateformes sont versées sur une base de données centralisée en cours de déploiement. Ce système est transitoire, dans l'attente de la construction d'un système d'information complet, qui permettra notamment le versement des données dans les bases internationales, en particulier GISAID. Dans cette attente, le versement des données dans GISAID est assuré par chaque plateforme.

Ces données font l'objet d'une analyse par Santé publique France et le CNR, en lien avec leurs contributeurs, et sont notamment restituées dans les points épidémiologiques COVID-19 hebdomadaires. Les résultats des enquêtes Flash #2 et #3 figurent dans le point épidémiologique hebdomadaire du 11 mars et les résultats de l'enquête Flash #4 dans celui du 18 mars (<https://www.santepubliquefrance.fr/>).

Pr. Jérôme Salomon
Directeur Général de la Santé

Signé

Annexe 1 – Coordonnées des quatre plateformes nationales

CNR Institut Pasteur

CNR coordonnateur (CNR-IPP)
Unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN
Institut Pasteur
25-28 rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15
grippe@pasteur.fr

CNR Hospices Civils de Lyon

HIA Desgenettes
Plateforme HCL MGI-COVID
Bâtiment G, 108 Boulevard Pinel
69003 Lyon
ghe.grippe-france-sud@chu-lyon.fr

Hôpital Henri Mondor (APHP)

Laboratoire de virologie
Entresol 1
CHU Henri Mondor
51, Av du Mal De Lattre de Tassigny
94010 CRETEIL
christophe.rodriquez@aphp.fr

Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) Marseille

Laboratoire de microbiologie
IHU Méditerranée Infection
19-21 Bd jean Moulin
13005 Marseille
pierre-edouard.fournier@univ-amu.fr

Annexe 2 – liste des laboratoires du réseau ANRS

| Ville | Centre | Capacité | | Contact |
|-------------------|------------------------|----------|-----|--|
| | | Sanger | NGS | |
| Angers | CHU Angers | OUI | NON | AlDucancelle@chu-angers.fr |
| Besançon | CHU Besançon | OUI | NON | g1lepiller@chu-besancon.fr |
| Bordeaux | CHU Bordeaux | OUI | OUI | marie-edith.lafon@chu-bordeaux.fr |
| Brest | CHU Brest | OUI | OUI | christopher.payan@chu-brest.fr |
| Brétigny-sur-Orge | IRBA | NON | OUI | olivier.gorge@intradef.gouv.fr |
| Caen | CHU Caen | NON | OUI | vabret-a@chu-caen.fr |
| Clamart | HIA Percy | OUI | NON | vincent.foissaud@intradef.gouv.fr |
| Clermont Ferrand | CHU Clermont Ferrand | OUI | OUI | chenquell@chu-clermontferrand.fr |
| Dijon | CHU Dijon | OUI | OUI | alexis.de-rougemont@chu-dijon.fr |
| Grenoble | CHU Grenoble | OUI | NON | PMorand@chu-grenoble.fr |
| Lille | CHU Lille | OUI | NON | Laurence.BOCKET@chru-lille.fr |
| Limoges | CHU Limoges | OUI | NON | s.rogez@unilim.fr |
| Martinique | CHU Martinique | OUI | NON | georges.dos-santos@chu-fortdefrance.fr |
| Metz | CHR Metz-Thionville | OUI | NON | c.delamare@chr-metz-thionville.fr |
| Montpellier | CHU Montpellier | OUI | NON | e-tuailion@chu-montpellier.fr |
| Nancy | CHU Nancy | OUI | OUI | e.schvoerer@chu-nancy.fr |
| Nantes | CHU Nantes | OUI | OUI | vferre@chu-nantes.fr |
| Nice | CHU Nice | OUI | NON | giordanengo.v@chu-nice.fr |
| Orléans | CHR Orléans | OUI | NON | jerome.guinard@chr-orleans.fr |
| Paris | APHP Pitié-Salpêtrière | OUI | OUI | vincent.calvez@me.com |
| Paris | APHP Saint Louis | OUI | NON | constance.delaugerre@aphp.fr |
| Paris | APHP Cochin | OUI | NON | flore.rozenberg@aphp.fr |
| Paris | APHP HEGP | OUI | OUI | laurent.belec@aphp.fr |
| Paris | APHP Bichat | OUI | OUI | diane.descamps@aphp.fr |
| Paris | APHP Avicenne | OUI | NON | etienne.carbonelle@aphp.fr |
| Paris | APHP Saint-Antoine | OUI | NON | laurence.morand-joubert@aphp.fr |
| Poitiers | CHU Poitiers | OUI | OUI | nicolas.leveque@chu-poitiers.fr |
| Reims | CHU Reims | OUI | NON | vbrodard@chu-reims.fr |
| Rennes | CHU Rennes | NON | OUI | vincent.thibault@chu-rennes.fr |
| Rouen | CHU Rouen | OUI | NON | jean-Christophe.Plantier@chu-rouen.fr |
| Saint Etienne | CHU Saint Etienne | OUI | OUI | thomas.bourlet@chu-st-etienne.fr |
| Sainte Clotilde | PIMIT - La Réunion | NON | OUI | patrick.mavingui@cnsr.fr |
| Saint-Mandé | HIA Begin | OUI | NON | audrey.merens@intradef.gouv.fr |
| Strasbourg | CHU Strasbourg | OUI | NON | samira.fafi-kremer@chru-strasbourg.fr |
| Toulon | CH Toulon | OUI | NON | cecile.poggi@ch-toulon.fr |
| Toulouse | CHU Toulouse | NON | OUI | izopet.j@chu-toulouse.fr |
| Tours | CHU Tours | OUI | OUI | gaudy_c@med.univ-tours.fr |
| Versailles | CH Versailles | OUI | OUI | BMANGLIER@ch-versailles.fr |
| Villejuif | APHP Paul Brousse | OUI | NON | anne-marie.roque@aphp.fr |

Annexe 3 – liste des laboratoires participant au réseau de surveillance des cas graves en réanimation

| Région | Hôpital |
|----------------------------|---|
| Auvergne-Rhône-Alpes | CHU Grenoble |
| Auvergne-Rhône-Alpes | CHU Saint-Etienne |
| Bourgogne-Franche-Comté | CH Lons |
| Bourgogne-Franche-Comté | CHU Besançon |
| Bourgogne-Franche-Comté | CHU Dijon |
| Bourgogne-Franche-Comté | CH Chalon-sur-Saône (William Morey) |
| Bourgogne-Franche-Comté | Hôpital Nord Franche-Comté (HNFC Trévenans) |
| Bretagne | CHU Brest |
| Bretagne | CHU Rennes |
| Bretagne | HIA (Brest - Clermont-Tonnerre) |
| Centre-Val de Loire | CH Orléans |
| Centre-Val de Loire | CHU Tours |
| Corse | CH Ajaccio |
| Grand Est | CHU Strasbourg |
| Hauts-de-France | CH Arras |
| Hauts-de-France | CH Dunkerque |
| Hauts-de-France | CH Valenciennes |
| Hauts-de-France | CHU Amiens |
| Hauts-de-France | CHU Lille |
| Ile-de-France | AP-HP (Henri Mondor) |
| Ile-de-France | AP-HP (Tenon) |
| Ile-de-France | CH Versailles |
| Normandie | CHU Caen |
| Normandie | CHU Rouen |
| Nouvelle-Aquitaine | CH Guéret |
| Nouvelle-Aquitaine | CHU Bordeaux |
| Nouvelle-Aquitaine | CHU Limoges |
| Nouvelle-Aquitaine | CHU Poitiers |
| Nouvelle-Aquitaine | CH Angoulême |
| Occitanie | CH Mende |
| Occitanie | CH Perpignan |
| Occitanie | CH Rodez |
| Occitanie | CHU Montpellier |
| Occitanie | CHU Toulouse |
| Occitanie | CHU Nîmes |
| Pays de la Loire | CH Cholet |
| Pays de la Loire | CH Le Mans |
| Pays de la Loire | CH Saint-Nazaire |
| Pays de la Loire | CHU Angers |
| Pays de la Loire | CHU Nantes |
| Provence-Alpes-Côte d'Azur | CH Antibes Juan-les-Pins |
| Provence-Alpes-Côte d'Azur | CH Cannes (Pierre Nouveau) |
| Provence-Alpes-Côte d'Azur | CH Aix-en-Provence (Pays d'Aix) |
| Provence-Alpes-Côte d'Azur | CH Toulon (Hopital Sainte Musse) |
| Provence-Alpes-Côte d'Azur | CH Avignon (Henri Duffaut) |