

Séquençage génomique du SARS-CoV-2 à des fins de santé publique

Orientations provisoires

8 janvier 2021



Messages clés :

- La surveillance mondiale des séquences génétiques du SARS-CoV-2 et des métadonnées associées est une composante importante de la riposte à la pandémie de COVID-19, permettant notamment de suivre la propagation géographique du SARS-CoV-2 au cours du temps et de détecter et évaluer rapidement les mutations susceptibles d'influer sur la pathogénicité et la transmission du virus, ainsi que sur les contre-mesures à adopter (vaccins, traitements, diagnostic).
- Le coût et la complexité du séquençage génétique ont considérablement diminué avec le temps, mais la mise en œuvre de programmes efficaces de séquençage exige encore des investissements substantiels en termes de personnel, d'équipements, de réactifs et d'infrastructures bioinformatiques. En outre, une collaboration solide est nécessaire pour vérifier que les données produites sont de bonne qualité et sont utilisées de manière pertinente.
- Les pays sont encouragés à enregistrer rapidement les séquences du SARS-CoV-2 dans une base de données publique pour qu'elles puissent être partagées avec la communauté scientifique à des fins de santé publique. Les investissements consacrés à la mise en place d'un réseau mondial à plusieurs niveaux pour le séquençage du SARS-CoV-2 contribueront au développement de programmes de séquençage mondiaux robustes et de qualité qui permettront de détecter et d'endiguer d'autres agents pathogènes à potentiel épidémique à l'avenir.

Contexte

Au cours de la dernière décennie, les données de séquençage génétique des agents pathogènes ont gagné en importance et contribuent désormais de façon déterminante à la détection et à la maîtrise des flambées de maladies infectieuses, en facilitant la mise au point de produits de diagnostic, de médicaments et de vaccins et en guidant les activités de riposte aux flambées (1-11). L'émergence du nouveau coronavirus, par la suite désigné « coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère » (SARS-CoV-2), a encore accentué l'importance des données de séquençage génétique. Plus de 280 000 séquences du génome complet ont été partagées dans des bases de données accessibles au public au cours de l'année qui a suivi l'identification initiale du SARS-CoV-2 (12). L'analyse de ces données en temps quasi réel a eu une incidence directe sur la riposte de santé publique (12-16). Les objectifs de santé publique du séquençage génomique du SARS-CoV-2 sont présentés dans le Tableau 1.

Le rôle que peuvent jouer les informations de séquençage pour améliorer la santé publique est de mieux en mieux reconnu, ce qui a conduit à des investissements dans les infrastructures et programmes de séquençage à l'échelle mondiale. La production des données de séquençage génétique est devenue moins coûteuse et moins complexe, permettant une expansion des capacités de séquençage ; toutefois, la mise en œuvre à grande échelle se heurte encore à des difficultés, et les capacités et les données de séquençage ne sont pas réparties de manière uniforme dans le monde : on constate une surreprésentation des données de séquençage génétique du SARS-CoV-2 issues des pays à revenu élevé.

Tableau 1. Objectifs de santé publique du séquençage génomique du SARS-CoV-2

Activités exigeant un effort limité qui, une fois réalisées, peuvent ne nécessiter aucun séquençage ou uniquement un séquençage occasionnel à des fins de suivi	Activités qui nécessitent des efforts durables de séquençage sur une plus longue période	
<ul style="list-style-type: none"> - Identification du SARS-CoV-2 comme agent étiologique de la maladie. - Mise au point de produits de diagnostic du SARS-CoV-2. - Contribution à la mise au point de traitements et de vaccins. - Enquêtes sur la date d'introduction chez l'homme et sur l'origine du SARS-CoV-2 (en cours). - Réinfection : <ul style="list-style-type: none"> • Évaluer et mieux comprendre ce phénomène. • Au niveau individuel, distinguer une infection prolongée d'une réinfection. 	Évolution du SARS-CoV-2 et impact sur les aspects suivants : <ul style="list-style-type: none"> - Changement du comportement viral (changement phénotypique), notamment transmissibilité ou pathogénicité ; - Immunité (induite par la vaccination ou par une infection naturelle) ; - Diagnostic (tests moléculaires, sérologiques, antigéniques) ; - Interventions thérapeutiques (p. ex. anticorps monoclonaux). 	Surveillance de la circulation et de l'activité du virus : <ul style="list-style-type: none"> - Étude de la propagation géographique et des réintroductions entre populations. - Investigation des flambées dans des milieux ou des groupes de population particuliers (p. ex. en milieu hospitalier). - Suivi des réintroductions zoonotiques des deux côtés de la barrière des espèces. - Surveillance des eaux usées et de l'environnement. - Soutien à la surveillance traditionnelle grâce à la quantification de la période de transmission, l'évaluation des facteurs de transmission et l'estimation des niveaux de transmission dans la population.

Objet du présent document

Le présent document fournit des orientations destinées aux décideurs nationaux et autres parties prenantes sur les moyens à déployer à court terme et à long terme pour tirer le meilleur parti des avantages qu'offrent les activités de séquençage génomique du SARS-CoV-2 pour la santé publique, alors même que la pandémie se poursuit. Il aborde les considérations pratiques relatives à la mise en œuvre d'un programme de séquençage génomique viral et fournit un aperçu des objectifs de santé publique du séquençage génomique. Ces orientations sont axées sur le SARS-CoV-2, mais sont applicables à d'autres agents pathogènes présentant un danger pour la santé publique. Il est recommandé aux pays qui souhaitent se doter de capacités de séquençage du SARS-CoV-2 de le faire dans le cadre d'un plan plus large de renforcement des capacités de détection et de surveillance d'autres agents pathogènes préoccupants pour la santé publique.

Autres documents d'orientation de l'OMS

En collaboration avec des experts du séquençage du monde entier, l'OMS a élaboré un guide de mise en œuvre (en anglais), intitulé [Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health](#). Ce guide, qui fournit des informations plus complètes sur le séquençage du SARS-CoV-2, est destiné aux personnes qui sont activement impliquées dans la mise en œuvre de programmes de séquençage (17). Il examine en détail les différentes utilisations du séquençage et donne des conseils techniques sur le séquençage des agents pathogènes dans le contexte du SARS-CoV-2. Outre la lecture de ces documents et d'autres publications, il est recommandé aux laboratoires dont l'expérience du séquençage est limitée de chercher activement à collaborer avec des laboratoires expérimentés et/ou d'intégrer ou de former des réseaux de laboratoires dotés d'une expertise en matière de séquençage.

1. Présentation générale du SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 est classé dans le genre *Betacoronavirus* (sous-genre *Sarbecovirus*) de la famille des *Coronaviridae* (18). Il s'agit d'un virus enveloppé dont le génome est constitué d'un acide ribonucléique (ARN) simple brin de polarité positive, d'une longueur d'environ 30 kb (19). Le séquençage génétique permet la lecture des génomes viraux. Étant donné que chaque agent pathogène possède une séquence génomique unique, cette méthode peut être utilisée pour identifier de nouveaux agents pathogènes (comme dans le cas du SARS-CoV-2) (20). Le génome du SARS-CoV-2 code pour des protéines non structurales, quatre protéines structurales (spicule ou « spike » (S), enveloppe (E), membrane (M), nucléocapside (N)) et plusieurs protéines accessoires putatives (21–23). Pour que le SARS-CoV-2 puisse pénétrer dans la cellule hôte, il faut que sa protéine S se fixe sur le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE-2) de la cellule hôte (24–27). La protéine S du SARS-CoV-2, en particulier le domaine de liaison au récepteur (RBD), est une cible déterminante de la réponse immunitaire, qu'elle soit naturelle ou induite par la vaccination (28–32). Par conséquent, toute diversification du gène codant pour la protéine S pourrait avoir un impact sur l'efficacité des vaccins, l'immunité naturelle et les traitements à base d'anticorps (monoclonaux) (33).

Lorsque les virus se répliquent, en particulier les virus à ARN comme le SARS-CoV-2, des modifications (mutations) se produisent dans le génome. Si une mutation acquise n'est pas désavantageuse en termes d'évolution, elle peut s'introduire durablement dans les populations de SARS-CoV-2. Le taux de mutation évolutive du SARS-CoV-2 est actuellement estimé à 1×10^{-3} substitution nucléotidique par site par an (34). Cela équivaut à environ une substitution toutes les deux semaines dans le génome (35). Ce taux d'évolution relativement faible limite la résolution temporelle des événements de transmission individuels (35). L'étude de l'évolution du SARS-CoV-2 et l'identification rapide des substitutions, insertions ou délétions susceptibles d'avoir une incidence sur les propriétés du virus (changement phénotypique) jouent un rôle important dans la surveillance de l'épidémie. Ces travaux permettent de tirer des enseignements utiles, en particulier de détecter les mutations associées à une modification de la transmissibilité et/ou de la pathogénicité du virus, ainsi que les mutations susceptibles de réduire l'utilité des contre-mesures médicales (diagnostic, vaccins et traitements). L'étude des mutations virales dans le temps et dans l'espace peut également aider à suivre la propagation de l'agent pathogène et à mieux comprendre les voies de transmission potentielles et la dynamique de la transmission. Les analyses phylogénétiques permettent de reconstituer la chronologie de l'évolution des agents pathogènes. Les analyses phylogénétiques et phylodynamiques (étude de l'influence exercée par les processus épidémiologiques et évolutifs sur la phylogénie des virus) fournissent des informations exhaustives qui peuvent être précieuses dans la riposte aux flambées.

2. Mise en place d'une approche optimale de séquençage du SARS-CoV-2 dans le contexte local

2.1 Établissement des priorités parmi les objectifs et approches de séquençage selon le contexte

Bien que le coût du séquençage génétique ait considérablement baissé au cours des dernières décennies, il nécessite encore un investissement substantiel en termes de ressources (financières, infrastructurelles et humaines). Avant de lancer un projet de séquençage, la première étape essentielle consiste à déterminer si le séquençage est réellement utile pour atteindre un objectif spécifique ou s'il existe d'autres approches plus efficaces en termes de temps ou de coût. Pour prendre cette décision, on pourra examiner si le séquençage des virus est suffisant à lui seul pour atteindre l'objectif fixé ou s'il s'agit d'une composante à intégrer dans une approche multidisciplinaire plus large. Lorsque des analystes des données génomiques sont inclus dans les équipes d'investigation et de riposte de santé publique, les activités épidémiologiques sont susceptibles d'avoir un impact immédiat plus important que lorsque l'analyse génomique des virus est effectuée en tant qu'activité distincte ou secondaire.

Lorsque les ressources disponibles pour le séquençage sont limitées, il peut être nécessaire de restreindre les objectifs du programme de séquençage aux activités présentant un fort potentiel clinique et/ou de santé publique et pouvant être menées durablement. Dans ce cas, le séquençage du SARS-CoV-2 pourra être effectué en priorité : i) chez les personnes qui ont été vaccinées contre le SARS-CoV-2 mais qui sont ensuite infectées par le virus malgré une réponse immunitaire adéquate au vaccin ; ii) dans les milieux à risque, notamment ceux caractérisés par des contacts étroits entre l'homme et l'animal avec un grand nombre d'animaux sensibles à l'infection à SARS-CoV-2, ou en présence de patients immunodéprimés présentant une excrétion virale prolongée, en particulier lorsqu'ils reçoivent un traitement à base d'anticorps contre le SARS-CoV-2 ; iii) lorsqu'on observe une augmentation ou une évolution inattendues de la transmissibilité et/ou de la virulence du SARS-CoV-2 ; iv) lorsqu'on soupçonne un changement de la performance des méthodes de diagnostic (tests sérologiques, antigéniques, moléculaires) ou des traitements ; et v) lors d'enquêtes sur des groupes de cas dans la mesure où le séquençage permet de mieux comprendre les événements de transmission et/ou d'évaluer l'efficacité des mesures de lutte contre l'infection.

La Figure 1 donne un aperçu des principaux piliers nécessaires au séquençage. Si les capacités requises sont inexistantes ou limitées dans l'ensemble des trois piliers, des partenariats devront vraisemblablement être établis avec d'autres groupes afin d'atteindre les objectifs de séquençage. À l'inverse, si un laboratoire possède des capacités et des ressources suffisantes dans un ou plusieurs piliers, il pourra envisager d'appuyer d'autres partenaires dont les programmes de séquençage sont encore en phase de démarrage. Les besoins peuvent varier au cours des différentes phases d'une flambée, ce qui peut obliger les laboratoires à changer de stratégie.

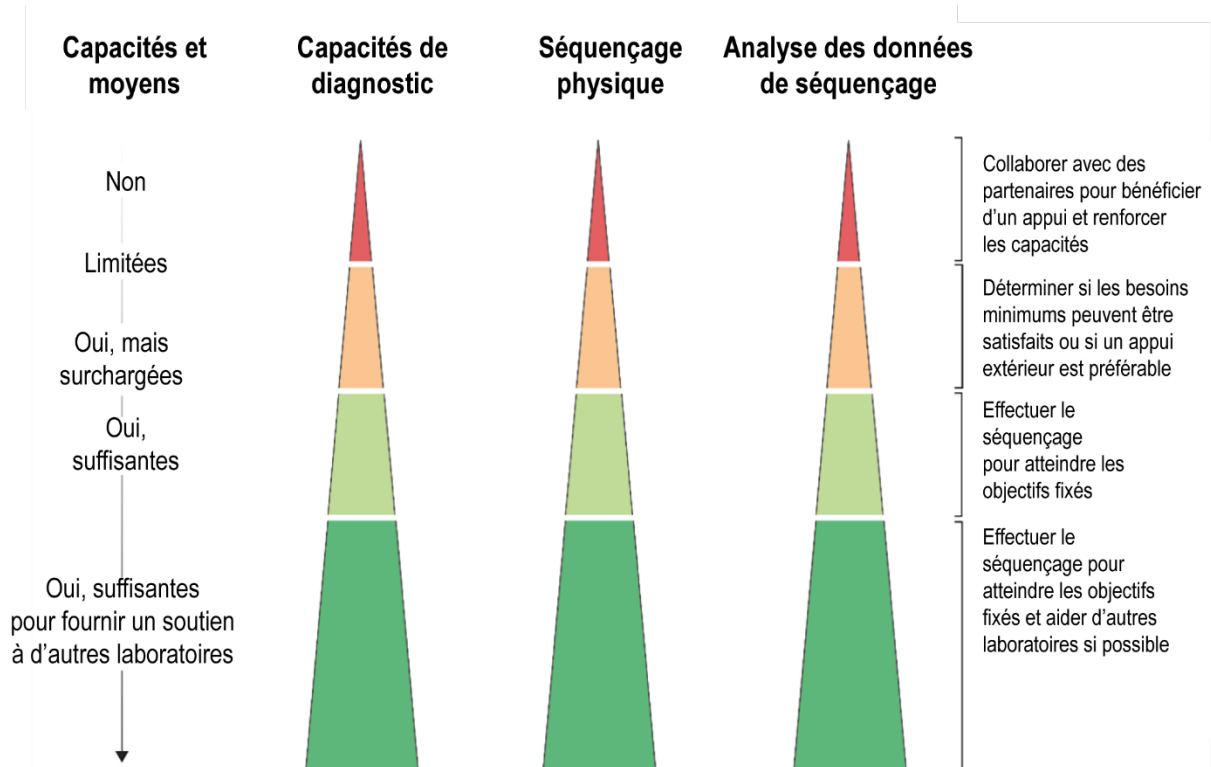


Figure 1. Détermination des capacités requises dans différents piliers afin de choisir la meilleure approche pour la mise en place d'un programme de séquençage

2.2 Investissement dans des capacités mondiales durables de séquençage pour le SARS-CoV-2 et pour d'autres agents pathogènes (émergents/réémergents) préoccupants pour la santé publique

Les réseaux de laboratoires à plusieurs niveaux de l'OMS ont fait leurs preuves et favorisent la collaboration mondiale tout en permettant une adaptation régionale pour répondre à des besoins nationaux et régionaux spécifiques (36-39). La mise en place d'un réseau de séquençage mondial solide et résilient peut maximiser l'impact du séquençage sur la santé publique, tant pour le SARS-CoV-2 que pour d'autres agents pathogènes émergents/réémergents. Actuellement, les laboratoires de référence de l'OMS qui réalisent les tests de confirmation de la COVID-19 répondent à certains de ces besoins de séquençage et d'analyse (40). Plusieurs régions comptent des établissements qui sont dotés de capacités de séquençage ou qui sont en train de les acquérir, de sorte qu'ils pourront se joindre au réseau mondial de laboratoires/groupes de séquençage. Afin de déterminer la contribution potentielle des laboratoires du réseau, une estimation mondiale des capacités peut être effectuée pour chacun des piliers indiqués dans la Figure 1. Divers réseaux de laboratoires dont le travail est axé sur des agents pathogènes particuliers (par exemple, laboratoires spécialisés dans la résistance aux antimicrobiens, le MERS-CoV, la grippe, la rougeole, la rubéole, les poliovirus et la tuberculose) ont procédé à des investissements pour se doter de moyens de séquençage dans le cadre de leurs activités de surveillance (8, 9, 41-43). Étant donné que le séquençage reste coûteux et que de nombreuses composantes de ce domaine d'activité peuvent être utiles pour différents agents pathogènes ou objectifs de séquençage, une collaboration nationale est recommandée afin de garantir une utilisation optimale des capacités existantes. Les programmes de renforcement des capacités devraient se concentrer sur une approche progressive d'acquisition des compétences et se fixer des priorités adaptées au contexte local. Pour certains pays, il sera judicieux de renforcer les capacités des laboratoires humides, tandis que dans d'autres, un impact plus important sera obtenu en externalisant le séquençage proprement dit et en mettant l'accent sur la bioinformatique ou la gestion et l'interprétation des données. Le partage des données, l'utilisation de protocoles standardisés de séquençage, l'organisation de réunions et de formations conjointes, d'audits et de tests d'aptitude (séquençage et analyse) et l'élaboration de normes de référence pour l'évaluation de différentes procédures permettront une collaboration efficace et contribueront au développement de programmes de séquençage de qualité, non seulement pour le SARS-CoV-2 mais aussi pour détecter et combattre de futurs agents pathogènes émergents. Lorsque des échantillons sont échangés au sein d'un réseau, des mécanismes appropriés doivent également être établis pour que les échantillons soient expédiés dans des conditions adéquates.

3. Considérations pratiques pour la mise en œuvre d'un programme de séquençage génomique viral

Nous donnons ici un aperçu général des conditions techniques requises pour l'établissement d'un programme de séquençage. Des informations plus détaillées sur le séquençage du SARS-CoV-2 sont fournies dans le guide complet de mise en œuvre du séquençage du SARS-CoV-2 (17).

3.1 Considérations pratiques pour l'élaboration d'un programme de séquençage du SARS-CoV-2

Le plan de travail sera conçu en fonction des objectifs fixés pour le séquençage (Tableau 1). Les principales questions à aborder pour faciliter ce processus figurent à l'annexe I. L'annexe II contient une liste de contrôle recensant les éléments à prendre en considération pour la planification d'un programme de séquençage du SARS-CoV-2. La Figure 2 illustre le plan de travail pour le séquençage du génome complet du SARS-CoV-2. Tout le personnel participant à un programme de séquençage doit recevoir une formation et des instructions appropriées pour pouvoir s'acquitter des tâches requises. Les principales parties prenantes doivent être identifiées, consultées et impliquées à un stade précoce. Les parties prenantes à associer à l'élaboration des programmes de séquençage sont notamment les organismes de santé publique, les laboratoires de diagnostic, les centres de séquençage, les groupes d'analyse et, selon le contexte, les équipes de lutte anti-infectieuse ou les services de santé au travail, les groupes de défense des patients et d'autres institutions œuvrant dans la recherche sur l'interface homme-animal, le cas échéant. Des canaux et des voies de communication conformes aux objectifs du programme devraient être établis et maintenus tout au long du projet afin de tirer le meilleur parti possible des données de séquençage. Il est essentiel d'évaluer régulièrement les progrès accomplis et de procéder à une évaluation finale du projet pour en tirer des enseignements et apporter des améliorations si nécessaire. Pour atteindre ses objectifs, tout programme de séquençage portant sur des pathogènes émergents doit s'appuyer sur la participation d'experts dans les différents domaines suivants : i) séquençage en laboratoire humide et manipulation sûre des échantillons viraux ; ii) détermination exacte des génomes à partir de données brutes ; iii) analyse des génomes pour produire des résultats significatifs qui seront utiles pour les activités de riposte aux flambées ; et iv) agents pathogènes. La plupart des experts n'auront des compétences que dans un ou deux de ces domaines. Dans les domaines ii) et iii), des moyens informatiques puissants sont nécessaires pour obtenir des résultats rapides. La collaboration entre des experts aux compétences différentes et la mise en commun des ressources sont donc souvent indispensables pour générer des résultats rapides, fiables et efficaces susceptibles d'avoir un impact réel sur la santé publique.

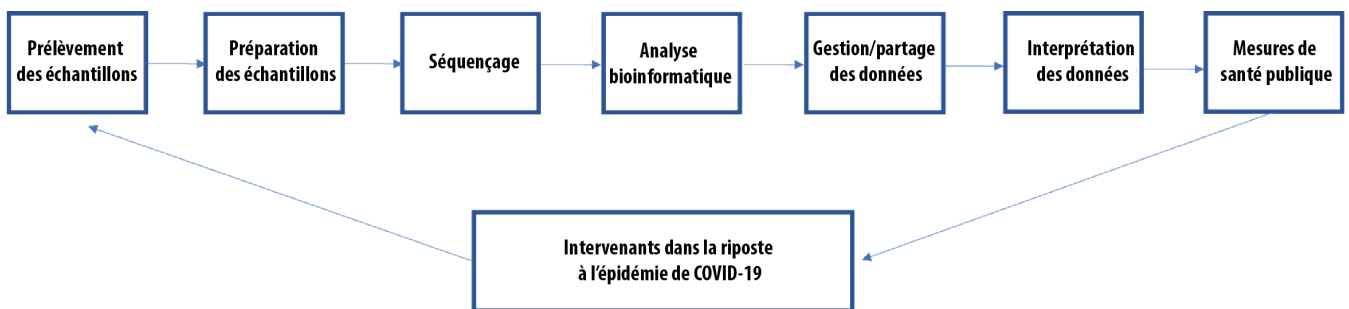


Figure 2. Plan de travail pour le séquençage du génome complet du SARS-CoV-2. Il convient de noter que la mise en œuvre réussie de ce plan de travail exige une communication bilatérale entre les experts participant à différentes étapes du processus ; par exemple, dans l'idéal, ceux qui interprètent les données devraient être en contact direct avec ceux qui sont chargés de la sélection et de la préparation des échantillons pour discuter des échantillons à choisir.

3.2 Considérations éthiques

Il est important d'examiner les questions d'ordre éthique lors de la conception d'un programme de séquençage. Il convient d'identifier les risques potentiels de préjudice social pour les participants aux études et de définir des stratégies d'atténuation de ces risques. Toute étude proposée doit faire l'objet d'une évaluation et d'une approbation par un comité d'examen éthique, en tenant compte des aspects suivants : intérêt social, validité scientifique, sélection des participants, rapport risque-bénéfice, consentement éclairé et respect systématique des participants (44-46).

Lorsque les chercheurs ne disposent pas de l'expérience requise pour identifier les problèmes éthiques pouvant se poser dans le cadre du séquençage d'agents pathogènes à potentiel épidémique comme le SARS-CoV-2, il est fortement recommandé de recourir à la collaboration internationale et à des consultations afin de mobiliser cette expertise (44). On veillera à ce que la collaboration internationale entre les chercheurs repose sur des partenariats de recherche participative équitables et mutuellement bénéfiques. Il convient d'encourager les chercheurs locaux à jouer un rôle actif de premier plan tout au long de la recherche, car ils sont mieux à même de comprendre les systèmes locaux de santé et de recherche et de veiller à la transposition des résultats en politiques (44, 45). Les considérations éthiques relatives au partage des séquences génomiques et des métadonnées sont abordées au point 3.7.

3.3 Considérations relatives à la stratégie d'échantillonnage et à la préparation des échantillons

Une fois les objectifs identifiés, une stratégie d'échantillonnage appropriée doit être élaborée avec les partenaires concernés. Des informations détaillées sur l'échantillonnage sont fournies dans le guide de mise en œuvre du séquençage du SARS-CoV-2 (17). Dans l'idéal, les considérations ayant motivé le choix des échantillons à séquencer devraient être enregistrées dans les métadonnées, car l'inclusion de sous-ensembles d'échantillons non aléatoires peut avoir une incidence sur la fiabilité de certaines analyses génétiques, notamment les analyses phylogénétiques et phylodynamiques. Des conseils pratiques sur le prélèvement des échantillons cliniques sont donnés dans le document d'orientation sur les tests diagnostiques pour le dépistage du SRAS-CoV-2 (47). Avant le séquençage, il est recommandé d'enrichir l'échantillon en matériel génétique du SARS-CoV-2 par rapport à d'autres matériels génétiques. Lors de cette étape, il faut veiller à ne pas contaminer l'échantillon (17, 48, 49). Les approches fondées sur la PCR, telles que celle conçue par le réseau ARTIC, sont un moyen peu coûteux, rapide et pratique d'accroître la quantité de matériel génétique viral disponible dans un échantillon avant le séquençage (51-53). Pour obtenir des détails techniques supplémentaires et comprendre comment choisir la méthode optimale selon le contexte, consulter le guide de mise en œuvre du séquençage du SARS-CoV-2 (17). Après l'étape initiale de préparation et d'enrichissement des échantillons en matériel génétique du SARS-CoV-2, les bibliothèques peuvent généralement être préparées à l'aide des protocoles de séquençage standard applicables à tous les virus.

3.4 Considérations relatives aux laboratoires

Parmi les stratégies de séquençage du SARS-CoV-2 figurent des approches ciblées qui reposent sur la connaissance du génome, ainsi que des approches métagénomiques qui n'exigent pas de connaissance préalable de la séquence génomique (54, 55). L'annexe III résume les principaux avantages et inconvénients de chacune des techniques courantes de séquençage. Avant d'investir dans des moyens de séquençage, il convient de tenir compte des exigences des différentes techniques dans les domaines suivants : ressources humaines, compétences du personnel, infrastructures de laboratoire, temps d'exécution, coûts, facilité d'utilisation, traitement ultérieur des données, débit (rythme de production des données) et degré d'exactitude du séquençage. Le nombre d'échantillons à analyser dépendra de l'objectif de séquençage. Lors du calcul des coûts, il faut tenir compte non seulement de l'achat de l'équipement de séquençage, mais également des coûts récurrents liés à l'approvisionnement en réactifs, à l'entretien et aux contrats de service. Les coûts ne sont pas abordés dans les présentes orientations, mais sont traités en détail dans le document (8). Une infrastructure de base doit être mise en place pour permettre un séquençage de qualité : connexion Internet et alimentation électrique fiables, espace de travail approprié (par exemple, sans vibrations ni poussière, avec un enregistrement et une régulation de la température et de l'humidité nécessaires pour certaines plateformes) et stockage consigné des échantillons. Des mesures adaptées de sécurité et de sûreté biologiques doivent être mises en œuvre. L'estimation des coûts et l'évaluation des besoins pour la mise en place d'une infrastructure de base permettront de décider s'il est préférable d'effectuer le séquençage sur place ou de l'externaliser. La technologie est en évolution constante et il faut donc s'attendre à ce que certaines méthodes deviennent obsolètes et à ce que les fabricants changent leurs appareils et/ou réactifs. Avant de procéder à de lourds investissements, il est recommandé de déterminer pendant combien de temps le fabricant s'engagera à fournir les réactifs et à assurer la maintenance et le dépannage des plateformes sélectionnées. Lors de la planification du programme, il convient également de tenir compte de la disponibilité des réactifs auxiliaires et équipements supplémentaires nécessaires au séquençage (par exemple, méthodes d'extraction [automatisées ou manuelles], instruments de quantification du matériel génétique, instruments d'amplification et d'incubation, purification des échantillons et stockage des échantillons et des réactifs). Les laboratoires pratiquant le séquençage génomique doivent avoir la capacité d'effectuer une PCR de qualité du SARS-CoV-2, confirmée par des évaluations internes et externes d'assurance de la qualité. En outre, des indicateurs de qualité doivent être établis et mesurés pour chaque étape du processus.

3.5 Considérations relatives à la bioinformatique et aux moyens informatiques

Les besoins en matériel informatique diffèrent selon l'approche adoptée (pour plus de détails, consulter le guide de mise en œuvre (17)). Le volume de données brutes produites dépend de la méthode de séquençage (voir annexe III) et du nombre d'échantillons séquencés (56). La puissance de calcul requise pour l'analyse des données varie également selon l'objectif du séquençage et la méthode utilisée. Par exemple, l'analyse phylogénétique et l'alignement du génome peuvent nécessiter une puissance de calcul élevée, en particulier lorsque les ensembles de données sont volumineux. Les coûts de l'architecture informatique requise pour stocker et traiter ces données doivent être pris en compte lors de l'élaboration d'un pipeline de séquençage. Le pipeline bioinformatique dépendra des étapes de préséquençage en laboratoire, de la plateforme de séquençage et des réactifs utilisés. Pour une description détaillée des pipelines bioinformatiques, consulter le guide de mise en œuvre (17).

3.6 Considérations relatives à la désignation et à la nomenclature du virus

Aucune nomenclature uniforme n'a encore été établie pour le SARS-CoV-2. En l'absence de nomenclature uniforme convenue, trois grandes stratégies de nomenclature sont généralement employées. Des lignées ou clades peuvent être définis en se fondant sur les virus qui ont un ancêtre commun, tel que déterminé par une analyse phylogénétique. La GISAID et Nextstrain visent tous deux à établir une classification générale des divers virus circulant dans le monde par la désignation de différents clades phylogénétiques. Rambaut et al. ont proposé une nomenclature dynamique des lignées du SARS-CoV-2, qui se concentre sur les lignées de virus caractérisées par une circulation active et une propagation géographique (57). Il existe des logiciels qui permettent d'attribuer automatiquement les nouvelles séquences à une lignée et/ou à un clade (58-60). Face à la diversité croissante des génomes du SARS-CoV-2, il devient urgent d'établir une nomenclature uniforme (57, 61, 62). Tant qu'il n'existe pas de nomenclature uniforme, la meilleure approche consiste à recenser les lignées et/ou clades particuliers selon les trois systèmes couramment employés, ou au minimum d'indiquer explicitement quelle nomenclature est utilisée.

3.7 Partage des séquences génomiques et des métadonnées

Le partage rapide des données de séquençage génétique des agents pathogènes, ainsi que des métadonnées épidémiologiques et cliniques anonymisées pertinentes, permet de maximiser l'impact du séquençage génomique dans le cadre des interventions de santé publique (63-65). Le vaste partage des séquences du SARS-CoV-2, des protocoles de diagnostic, des protocoles de séquençage et des échantillons a largement contribué à la mise en place de capacités de diagnostic moléculaire à l'échelle mondiale (66-68). Il convient que la communauté scientifique/médicale continue de renforcer la collaboration mondiale et le partage en temps utile des données dans le cadre de la pandémie actuelle de SARS-CoV-2 et d'autres flambées futures de maladies émergentes. Les données sur les séquences génomiques du SARS-CoV-2 peuvent être partagées selon deux modalités distinctes : le « domaine public » et « l'accès public » (69). Les bases de données relevant du domaine public fournissent un accès aux données sans exiger d'identification de la part des personnes qui consultent et utilisent ces données. C'est notamment le cas de la base INSDC, exploitée par la DDBJ, l'EMBL-EBI et le NCBI. Dans les bases de données à accès public, telles que GISAID, les utilisateurs doivent s'identifier pour garantir une utilisation transparente des données, permettre une surveillance efficace, protéger les droits des contributeurs de données, promouvoir au mieux la collaboration avec les fournisseurs de données et reconnaître leur contribution dans les résultats publiés. Les exemples fournis sont gratuits et accessibles au public. Lors de l'élaboration d'un projet de séquençage d'un agent pathogène, il est impératif de déterminer laquelle de ces deux modalités est la plus appropriée et si d'autres méthodes d'accès et de partage des données de séquençage génétique sont nécessaires (44). Pour garantir un partage durable des données génétiques, il est essentiel que les personnes responsables du prélèvement des échantillons cliniques et de la production des séquences génomiques virales soient dûment reconnues. Les sources de données doivent systématiquement être mentionnées lorsque des données accessibles au public sont utilisées, et les publications et articles de préimpression correspondants doivent être cités lorsqu'ils sont disponibles.

Les données sur les séquences, y compris les séquences consensus, les séquences consensus partielles et les données de séquençage brutes, peuvent être partagées sous de multiples formes, constituant dans tous les cas un apport utile. Il convient d'évaluer soigneusement la qualité des données de séquençage, et notamment de vérifier l'absence de toute contamination par les amplicons produits par PCR, avant de procéder au partage. Si une erreur est identifiée et corrigée, le laboratoire devra contacter la plateforme concernée afin de mettre à jour les séquences partielles précédemment transmises. Il est important de partager les lectures brutes de séquençage du virus (c'est-à-dire tous les fragments individuels séquencés d'un génome viral avant le regroupement en un génome consensus unique) car cela permet une comparaison directe de l'effet des différentes approches bioinformatiques utilisées pour la génération

d'un génome consensus et facilite la correction des erreurs si nécessaire. Compte tenu du large volume de données des bibliothèques séquencées, le partage des données de lecture peut être plus difficile dans les endroits où la vitesse de téléchargement sur Internet est limitée ou la connexion est intermittente. Toutes les données partagées doivent protéger l'anonymat des patients. À cet effet, les données brutes contenant des lectures humaines doivent être filtrées pour ne retenir que les données de séquençage non humaines (c'est-à-dire virales) avant d'être partagées (43). Le partage de certaines métadonnées associées, comme la date de prélèvement de l'échantillon ou le lieu approximatif de l'échantillonnage, est nécessaire pour permettre l'utilisation des données de séquençage dans de nombreuses applications phylogénétiques. Toutefois, il convient d'examiner avec soin quelles métadonnées peuvent être raisonnablement partagées sans compromettre l'anonymat des patients.

Des analyses préliminaires des données de séquençage génétique sont souvent partagées via des forums, des plateformes ou des serveurs de prépublication (70-72). Dans leurs publications, comme dans tout rapport scientifique, les chercheurs devront examiner les forces et les faiblesses de leurs analyses et réfléchir à la manière dont elles sont susceptibles d'être interprétées ou présentées par différents publics avant d'avoir été soumises à un examen collégial. Il est recommandé aux scientifiques de donner une interprétation claire de leurs conclusions afin d'éviter les erreurs de compréhension ou une mauvaise utilisation des résultats.

4. Objectifs de santé publique du séquençage génomique du SARS-CoV-2

On trouvera ci-dessous des exemples des principaux objectifs de santé publique du séquençage du SARS-CoV-2 ; pour des descriptions détaillées, consulter le guide de mise en œuvre du séquençage du SARS-CoV-2 (17).

4.1 Identification et caractérisation du SARS-CoV-2 et élaboration de contre-mesures

Le partage de la séquence génétique complète du nouveau virus au début du mois de janvier 2020 a constitué une avancée fondamentale dans la caractérisation du SARS-CoV-2, permettant la mise au point rapide de produits de diagnostic et facilitant le développement de traitements et de vaccins (73-80). Le séquençage génomique permet de mieux comprendre l'origine et le mode de transmission des nouveaux virus. En étudiant les génomes du SARS-CoV-2 initialement identifiés à Wuhan (République populaire de Chine) et dans les régions voisines, on a pu établir que la date d'émergence du virus chez l'homme remontait au plus tard à novembre-décembre 2019 (74, 75, 81, 82). Des échantillons ont été prélevés chez un large éventail d'animaux pour aider les chercheurs à identifier la source animale initiale et/ou les hôtes intermédiaires potentiels (81, 83, 84).

4.2 Surveillance de la transmission et de la propagation géographique

La phylogénétique est une discipline consistant à étudier les relations évolutives entre différents organismes au regard de leurs séquences génétiques. Elle est utilisée dans presque toutes les branches de la biologie et a de nombreuses applications importantes pour guider les interventions de santé publique (17, 85-87). La disponibilité de données épidémiologiques ou cliniques sur les échantillons prélevés pour le séquençage génomique (souvent appelées métadonnées, portant par exemple sur la date de prélèvement, le lieu de résidence du patient, les paramètres cliniques) facilite l'interprétation des analyses phylogénétiques. Les métadonnées requises diffèrent selon l'objectif du séquençage génomique. Les questions techniques sur les analyses phylogénétiques et phylodynamiques, les métadonnées et les erreurs d'interprétation les plus courantes sont traitées dans le guide de mise en œuvre du séquençage SARS-CoV-2 (17).

4.2.1 Étude de la propagation géographique et des réintroductions entre populations

Des analyses phylogéographiques, qui tiennent compte à la fois des séquences génomiques virales et des informations sur le lieu d'échantillonnage, sont réalisées pour suivre la circulation du SARS-CoV-2 dans le monde (13, 47, 88-90). Les reconstructions phylogéographiques exigent souvent une puissance de calcul importante, et des stratégies de sous-échantillonnage peuvent être employées pour réduire la charge que cela représente en termes de moyens informatiques. Les déductions tirées de ces analyses quant à la circulation virale ou le pays d'origine de clades/lignées spécifiques peuvent être utiles, mais doivent être interprétées avec prudence car plusieurs facteurs peuvent biaiser la reconstruction phylogéographique. Par exemple, aucune détermination du génome du SARS-CoV-2 n'a été effectuée dans certaines zones, ces dernières étant de ce fait moins susceptibles d'être identifiées comme lieu d'origine d'une lignée/clade dans la reconstruction phylogéographique. Dans certaines bases de données, les séquences génomiques peuvent être associées au lieu de prélèvement de l'échantillon, plutôt qu'au lieu présumé d'infection du patient.

Lorsque ces lieux sont différents parce que le patient a voyagé entre le moment de l'infection et celui du prélèvement, l'analyse phylogéographique peut aboutir à une reconstruction incorrecte de l'origine de clades/lignées spécifiques (91). Il convient donc d'interpréter les résultats phylogéographiques avec prudence, sans présumer qu'ils reflètent les tendances réelles de la propagation spatio-temporelle (dans le temps et l'espace) du virus.

Les méthodes employées pour déduire la propagation spatio-temporelle d'une flambée peuvent également être utilisées pour étudier les facteurs à l'origine de la dispersion du virus (92). L'identification de ces facteurs de transmission peut guider l'élaboration de nouvelles stratégies de prévention de la propagation. Cette approche a notamment été adoptée pour les flambées de maladie à virus Ebola en Afrique de l'Ouest (93, 94). Pour le SARS-CoV-2, plusieurs pays ont eu recours au séquençage génomique pour évaluer la contribution de la transmission locale par rapport aux cas importés, et se sont appuyés sur ces informations pour orienter les décisions politiques (89, 90, 95-100). L'identification phylodynamique des facteurs permettant de comprendre la transmission exige souvent une puissance de calcul importante et la conservation de données abondantes sur les facteurs contributifs potentiels (densité et mobilité de la population, par exemple). Souvent, les analyses ne sont donc achevées que plusieurs semaines ou plusieurs mois après le séquençage génomique du virus. Cependant, même rétrospectives, ces analyses sont utiles pour guider les interventions de lutte contre le SARS-CoV-2 ou d'autres agents pathogènes émergents potentiels.

4.2.2 Évaluation des données sur les voies de transmission et les groupes de cas

Le regroupement phylogénétique a été utilisé pour appuyer les enquêtes sur les groupes de cas et les flambées de SARS-CoV-2. L'analyse des foyers de transmission peut aider les autorités locales à décider si des mesures de lutte sont nécessaires pour prévenir une transmission future dans les milieux à potentiel épidémique identifiés (101). Compte tenu de l'évolution relativement lente du SARS-CoV-2 (soit une substitution de nucléotides toutes les deux semaines), il est probable que de nombreux événements individuels de transmission ne puissent pas être retracés à partir des données de séquençage génomique (35). L'observation d'un regroupement phylogénétique des séquences provenant de patients soumis à la même source d'exposition supposée peut être considérée comme compatible avec cette exposition (bien qu'il ne s'agisse pas d'une preuve solide). En revanche, une séparation phylogénétique des séquences virales provenant de patients soumis à la même source d'exposition supposée indique clairement que l'identification de la source d'exposition commune est erronée.

4.2.3 Quantification des périodes de transmission et suivi du taux de reproduction dans le temps

Les analyses phylogénétiques fondées sur l'horloge moléculaire peuvent aider à estimer les limites supérieure et inférieure de la période de circulation des lignées génétiques virales observées dans une population donnée (74, 90, 102-106). Cette approche peut fournir des informations plus précises sur la période de transmission que l'identification clinique des cas, en particulier au début ou à la fin d'une flambée, lorsque la surveillance est limitée. En étudiant la variation des séquences génomiques identifiées, on peut déterminer s'il existe une transmission locale qui n'a pas été détectée sur le plan clinique. Dans de telles situations, des programmes renforcés de surveillance diagnostique devront être mis en œuvre là où l'on soupçonne une circulation non détectée du virus.

L'analyse des séquences génomiques permet également d'estimer le nombre de sujets qu'une personne contagieuse peut infecter dans une population donnée (taux de reproduction [R_0]) et d'examiner l'évolution relative de l'ampleur des flambées au cours du temps. Ces informations peuvent être utilisées pour évaluer l'impact de mesures particulières de lutte contre la maladie.

4.2.4 Surveillance environnementale des eaux usées et des boues

Pour certains agents pathogènes comme les poliovirus, la surveillance des eaux usées est d'un apport précieux car elle peut mettre en évidence une circulation virale silencieuse dans une communauté donnée. Cette approche permet de détecter la circulation virale (avant l'identification clinique des premiers patients), d'estimer la prévalence des virus et d'appréhender leur parenté génétique et leur diversité (107, 108). Plusieurs pays ont détecté l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées par des méthodes moléculaires (109-115). La surveillance environnementale est donc une stratégie prometteuse, en particulier dans les milieux à faible prévalence, pour identifier les porteurs non détectés du virus et servir de « système d'alerte précoce » face à une introduction du SARS-CoV-2 ou à une évolution de la prévalence (109, 116, 117).

4.2.5 Enquêtes sur les réinfections potentielles

Les coronavirus saisonniers peuvent donner lieu à des réinfections chez l'homme (118). Pour le SARS-CoV-2, des cas de réinfection ont été constatés (119-124). Dans ce contexte, on peut comparer les séquences génomiques du SARS-CoV-2 identifiées lors du premier épisode et lors des épisodes suivants afin de déterminer si la nouvelle détection du SARS-CoV-2 chez une personne donnée est le résultat d'une réinfection ou d'une excrétion virale prolongée (125, 126). Si les séquences observées lors de chaque épisode présentent d'importantes disparités génétiques, par exemple si elles appartiennent à des lignées/clades différents et bien établis, les épisodes ultérieurs peuvent être considérés comme des réinfections. Des études sérologiques doivent être menées en parallèle pour comprendre si la réinfection est associée à une souche distincte sur le plan antigénique ou à l'absence d'une réponse immunitaire protectrice à la suite de l'infection initiale. Le séquençage peut donc contribuer à une meilleure compréhension de la fréquence des réinfections et des facteurs de risque potentiels (125, 126).

4.3 Suivi de l'évolution du SARS-CoV-2

4.3.1 Évaluation structurée des mutations présentant un intérêt potentiel

Le séquençage génomique peut être utilisé pour identifier les substitutions génétiques susceptibles de modifier les caractéristiques d'une infection virale (changement phénotypique), telles que la transmissibilité ou la virulence. Tous les virus subissent des modifications génétiques au fil de leur circulation, mais dans leur grande majorité, ces modifications n'ont pas d'effet majeur sur le comportement du virus. Il est toutefois possible que de rares modifications génétiques du SARS-CoV-2 entraînent des changements phénotypiques présentant un intérêt particulier pour la santé publique. L'impact de ces changements est difficile à évaluer et à démontrer. En général, il est difficile d'établir avec certitude si l'augmentation de la prévalence relative d'une ou de plusieurs mutations au cours du temps est imputable à une différence phénotypique. Par exemple, la prédominance d'un clade/d'une lignée spécifique de virus au sein d'une population peut être davantage due au comportement de la population infectée qu'au comportement du virus lui-même. La plupart du temps, on peut s'attendre à ce que ces tendances soient aléatoires. Toutefois, si l'analyse phylogénétique semble indiquer que des mutations/variants spécifiques pourraient avoir un impact épidémiologique ou clinique, il est nécessaire de mener des études génomiques cliniques rigoureuses afin d'étudier les variants susceptibles d'occasionner des changements phénotypiques cliniquement observés. Les modifications génétiques supposées être à l'origine de changements phénotypiques doivent être examinées par des méthodes standardisées, y compris des études de modélisation des protéines pour évaluer l'impact potentiel et des expériences *in vitro* ou *in vivo* avec un virus mutant (clone) présentant les mutations ciblées afin de confirmer ou d'exclure les propriétés spécifiques des variants étudiés. Un groupe de travail spécial de l'OMS, s'appuyant sur le réseau de laboratoires de référence de l'OMS pour le SARS-CoV-2, a été créé. La mission première de ce groupe de travail est d'étudier l'évolution du SARS-CoV-2 afin de fournir à l'OMS des informations en temps utile sur l'identification et l'évaluation des mutations potentiellement pertinentes, ainsi que des conseils en matière d'atténuation des risques (16, 40, 127).

4.3.2 Surveillance de l'impact de l'évolution du SARS-CoV-2 sur les contre-mesures

Dans l'idéal, il faudrait au minimum que la surveillance mondiale des génomes du SARS-CoV-2 permette de détecter l'émergence de lignées du SARS-CoV-2 présentant des variations génétiques ayant une incidence sur l'efficacité des contre-mesures. Le lancement des campagnes de vaccination contre le SARS-CoV-2 devrait s'accompagner d'une surveillance des modifications génomiques susceptibles de réduire l'efficacité des vaccins. La surveillance et l'étude des causes possibles d'échec vaccinal devraient inclure des évaluations génomiques visant à analyser les mutants d'échappement potentiels du virus. En outre, le séquençage peut aider à identifier les mutants d'échappement aux anticorps monoclonaux (128) et à d'autres traitements futurs. La surveillance génomique a déjà été utilisée pour déceler une pharmacorésistance chez d'autres agents pathogènes, notamment les virus grippaux, le VIH et *Mycobacterium tuberculosis* (9, 129).

Le séquençage génomique peut également être employé pour surveiller les changements génétiques viraux susceptibles d'avoir un effet sur le diagnostic moléculaire. Les méthodes de détection du SARS-CoV-2 axées sur plusieurs cibles, par exemple une PCR multiplex ciblant deux régions ou plus du génome viral, constituent une stratégie d'un bon rapport coût-efficacité pour réduire le risque d'obtenir des résultats faux négatifs en raison de l'évolution du virus (47, 127). On pourra procéder à un séquençage du génome ou d'un gène cible du virus en cas d'échec répété de détection d'une cible ou d'apparition nouvelle de différences de sensibilité des tests ciblant

différentes régions afin d'identifier les causes possibles. Pour plus d'informations, consulter les orientations provisoires sur le diagnostic des infections à SARS-CoV-2 (47). Les mutations virales peuvent aussi avoir un impact sur les tests antigéniques ou sérologiques, et le séquençage génomique peut aider à détecter les éventuelles défaillances de ces tests à un stade précoce (130-132).

4.3.3 Évolution du SARS-CoV-2 à l'interface homme-animal

Lorsqu'un virus se transmet d'une espèce à une autre, il s'adapte parfois à son nouvel hôte. Le récepteur ACE-2 ciblé par le SARS-CoV-2 est semblable chez l'homme et chez de nombreux animaux (principalement les mammifères) (133, 134). Il est donc possible que le virus se transmette de l'homme à l'animal (anthroponose). Si cette homologie du récepteur ACE-2 laisse supposer que d'autres animaux pourraient être sensibles au SARS-CoV-2, il est toutefois possible que d'autres protéines essentielles à la réplication virale soient différentes chez ces animaux, ce qui préviendrait l'infection. Pour déterminer la sensibilité d'espèces animales spécifiques, il est donc nécessaire de disposer de données adéquates sur les infections, recueillies en situation réelle ou en milieu expérimental. La sensibilité de divers animaux au SARS-CoV-2 a été démontrée (15, 127, 135-151), et on sait que le SARS-CoV-2 est transmissible chez certaines espèces animales (visons et hamsters, par exemple). La résistance de certaines espèces animales à l'infection par le SARS-CoV-2 a également été démontrée. La séquence codant pour la protéine de spicule du virus, laquelle se fixe aux récepteurs ACE-2, pourrait subir des modifications génétiques, facilitant la transmission à de nouvelles espèces hôtes. La protéine de spicule du SARS-CoV-2, en particulier le domaine de liaison au récepteur (RBD), est une cible déterminante de la réponse immunitaire, qu'elle soit naturelle ou induite par la vaccination (28-32). Une diversification des régions génomiques codant pour la protéine de spicule a déjà été observée dans des cas où une transmission du SARS-CoV-2 de l'homme au vison a été suivie d'une nouvelle transmission zoonotique secondaire du vison à l'homme (149). Ainsi, la diversification du gène codant pour la protéine de spicule à la suite de l'échange du SARS-CoV-2 entre l'homme et l'animal augmente probablement le risque d'apparition de souches aptes à réinfecter l'homme et pourrait être associée à une réduction de l'efficacité vaccinale et de la sensibilité aux traitements par les anticorps monoclonaux (33). Pour éviter de telles situations, les pays sont encouragés à évaluer le risque de propagation à d'autres espèces qui vivent avec des êtres humains ou à proximité de ces derniers dans un cadre domestique, rural, agricole ou zoologique (127, 152-154). Il est nécessaire d'élaborer des stratégies d'atténuation des risques et d'assurer une surveillance adéquate pour veiller à la détection rapide de ces événements. La surveillance nécessite des ressources, et des stratégies ciblées devraient être adoptées dans la mesure du possible. Cela implique de mettre en œuvre une stratégie fondée sur le principe « Un monde, une santé », reposant sur une collaboration multisectorielle incluant la santé publique, la santé clinique et la santé au travail, les autorités chargées des soins vétérinaires et de la faune sauvage, ainsi que la gestion des forêts et des ressources naturelles (127, 152, 155-157). Cette collaboration devra également être axée sur l'élaboration de protocoles communs d'enquête sur les flambées épidémiques et de lutte contre les infections, sur le dépistage de l'infection chez l'homme et l'animal et sur le partage des données de séquençage. Lorsqu'une infection anthroponosique ou une zoonose secondaire sont observées, le séquençage des génomes viraux peut être utile pour évaluer les nouveaux risques éventuellement associés à ces événements.

Méthodes

Les présentes orientations provisoires ont été élaborées parallèlement au guide de mise en œuvre (en anglais) intitulé *Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health*. Le guide de mise en œuvre a été élaboré de concert avec des experts de divers domaines du séquençage génomique de l'Alliance mondiale de laboratoires pour le diagnostic d'agents pathogènes à haut risque (GLAD-HP), qui est le réseau de référence pour les tests de confirmation de la COVID-19, et le Réseau mondial d'alerte et d'action en cas d'épidémie (GOARN). Après des discussions préliminaires menées par un groupe de rédaction technique dirigé par un conseiller temporaire et des membres de l'équipe de l'OMS chargée du dépistage en laboratoire de la COVID-19, des contributions ont été sollicitées auprès d'autres experts travaillant à l'OMS et dans d'autres organisations, et deux réunions en ligne ont été organisées pour résoudre les questions en suspens. Ensuite, une version du document d'orientation provisoire destinée aux partenaires nationaux a été rédigée, contenant un résumé des informations clés tirées de ces orientations provisoires, ainsi que des informations supplémentaires pertinentes pour ce public cible. Ces orientations provisoires ont par la suite été distribuées en vue de recueillir les commentaires des experts ayant contribué à la rédaction du guide de mise en œuvre, des membres du réseau de référence pour les tests de confirmation de la COVID-19, des points focaux des laboratoires régionaux et d'autres parties prenantes, dont la liste est fournie dans les remerciements.

Futures mises à jour

L'OMS continue à suivre de près la situation et reste attentive à tout changement susceptible d'avoir une incidence sur ces orientations provisoires. Si certains facteurs devaient évoluer, l'OMS publierait une nouvelle mise à jour. Sinon, ces orientations provisoires resteront valables un an après leur date de publication.

Contributeurs

Groupe directeur de l'OMS : Céline Barnadas ; Sebastian Cognat ; Roger Evans ; Bruce Allan Gordon ; Varja Grabovac ; Rebecca Grant ; Francis Inbanathan ; Frank Konings ; Karen Nahapetyan ; Marco Marklewitz ; Marie-jo Medina ; Kate Olive Medlicott ; Mick Mulders ; Mark D Perkins ; Magdi Samaan ; Oliver Schmoll ; Maria Van Kerkhove ; Karin von Eije ; Joanna Zwetyenga.

Contributeurs extérieurs : Kim Benschop, Institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement (RIVM), Bilthoven, Pays-Bas ; Antonino di Caro, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Italie ; Nuno Rodrigues Faria, Imperial College, Londres, et Université d'Oxford, Oxford, Royaume-Uni ; Tanya Golubchik, Université d'Oxford, Oxford, Royaume-Uni ; Keith Hamilton, Organisation mondiale de la santé animale (OIE) ; Edward Holmes, Université de Sydney, Sydney, Australie ; Sarah C Hill, Royal Veterinary College, Londres, et Université d'Oxford, Oxford, Royaume-Uni ; Erik Karlsson, Institut Pasteur du Cambodge, Cambodge ; Meng Ling Moi, Université de Nagasaki, Nagasaki, Japon ; Leo Poon, Université de Hong Kong, Hong Kong (région administrative spéciale de Chine), Chine ; James Shepherd, Université de Glasgow, Glasgow, Royaume-Uni ; Étienne Simon-Lorière, Institut Pasteur, Paris, France. Et les autres experts ayant contribué au guide de mise en œuvre du séquençage du SARS-CoV-2, qui a servi de base au présent document : Kristian Andersen, Scripps Research, La Jolla, CA, États-Unis d'Amérique ; Julio Croda, Ministère de la santé, Rio de Janeiro, Brésil ; Túlio de Oliveira, Université de KwaZulu-Natal, Durban, Afrique du Sud ; Simon Dellicour, Université libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique ; Nathan Grubaugh, Yale University, New Haven, CT, États-Unis d'Amérique ; Liana Kafetzopoulou, KU Leuven – Université de Louvain, Belgique ; Marion Koopmans, Erasmus MC, Rotterdam, Pays-Bas ; Tommy Lam, Université de Hong Kong, Hong Kong (région administrative spéciale de Chine), Chine ; Philippe Lemey, KU Leuven – Université de Louvain, Belgique ; Tze Minn Mak, Centre national sur les maladies infectieuses, Singapour ; Marcio Roberto Nunes, Evandro Chagas Institute, Ananindeua, Pará, Brésil ; Bas Oude Munnink, Erasmus MC, Rotterdam, Pays-Bas ; Gustavo Palacios, United States Agency for International Development, Washington, DC, États-Unis d'Amérique ; Steven Pullan, Public Health England, Londres, Royaume-Uni ; Timothy Vaughan, Eidgenössische Technische Hochschule Zurich (ETH Zurich), Zurich, Suisse ; Josh Quick, Université de Birmingham, Birmingham, Royaume-Uni ; Andrew Rambaut, Université d'Édimbourg, Édimbourg, Royaume-Uni ; Chantal Reusken, RIVM, Bilthoven, Pays-Bas ; Tanja Stadler, Eidgenössische Technische Hochschule Zurich (ETH Zurich), Suisse ; Marc Suchard, University of California at Los Angeles, Los Angeles, CA, États-Unis d'Amérique ; Huaiyu Tian, Beijing Normal University, Beijing, Chine ; Lia van der Hoek, Centre médical d'Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas ; Erik Volz, Imperial College, Londres, Royaume-Uni.

Déclarations d'intérêts

Tous les contributeurs ont soumis des documents de déclaration d'intérêts. Les contributeurs jugés comme susceptibles d'avoir un conflit d'intérêt ou un biais en faveur de produits spécifiques ont été exclus des consultations sur le choix des plateformes.

Financement

Financement fourni par l'OMS

Références bibliographiques

1. Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, Hanage WP, Van Kerkhove MD, Hollingsworth TD, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. *Science*. 2009;324:1557–61. doi: 10.1126/science.1176062.
2. Rambaut A, Holmes E. The early molecular epidemiology of the swine-origin A/H1N1 human influenza pandemic. *PLoS Curr*. 2009;1:RRN1003. doi: 10.1371/currents.rrn1003.

3. Smith GJD, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*. 2009;459:1122–5. doi: 10.1038/nature08182.
4. Mena I, Nelson MI, Quezada-Monroy F, Dutta J, Cortes-Fernández R, Lara-Puente JH, et al. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. *eLife*. 2016;5:e16777. doi: 10.7554/eLife.16777.
5. Ladner JT, Wiley MR, Mate S, Dudas G, Prieto K, Lovett S, et al. Evolution and spread of Ebola virus in Liberia, 2014–2015. *Cell Host Microbe*. 2015;18:659–69. doi: 10.1016/j.chom.2015.11.008.
6. Stadler T, Kühnert D, Rasmussen DA, Plessis dL. Insights into the early epidemic spread of Ebola in Sierra Leone provided by viral sequence data. *PLoS Curr*. 2014;6. doi: 10.1371/currents.outbreaks.02bc6d927ecee7bbd33532ec8ba6a25f.
7. Smits SL, Pas SD, Reusken CB, Haagmans BL, Pertile P, Cancedda C, et al. Genotypic anomaly in Ebola virus strains circulating in Magazine Wharf area, Freetown, Sierra Leone, 2015. *Euro Surveill*. 2015;20. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30035.
8. GLASS whole-genome sequencing for surveillance of antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/334354>, consulté le 20 novembre 2020).
9. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guidance. Geneva: World Health Organization; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443>, consulté le 15 novembre 2020).
10. Whole genome sequencing for foodborne disease surveillance: landscape paper. Geneva: World Health Organization; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272430>, consulté le 25 novembre 2020).
11. Next-generation sequencing of influenza viruses: general information for national influenza centres. Geneva: World Health Organization; 2020 (https://www.who.int/influenza/girs_laboratory/national_influenza_centres/NGS_guidance_for_NICs.pdf?ua=1, consulté le 20 novembre).
12. GISAID (<https://www.gisaid.org/>, consulté le 5 janvier 2021).
13. Genomic epidemiology of novel coronavirus: global subsampling [website]. Nextstrain; 2020 (<https://nextstrain.org/ncov/global>, consulté le 4 décembre 2020).
14. Volz E, Baguelin M, Bhatia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunuba Z, et al. Report 5 - phylogenetic analysis of SARS-CoV-2. London: Imperial College London; 2020 (<http://www.imperial.ac.uk/medicine/departments/school-public-health/infectious-disease-epidemiology/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-5-phylogenetics-of-sars-cov-2/>, accessed 26 June 2020).
15. Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, et al. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science*. 2020. doi: 10.1126/science.abe5901.
16. Coronavirus disease (COVID-19): situation report – 185. Geneva: World Health Organization; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200723-covid-19-sitrep-185.pdf?sfvrsn=9395b7bf_2, consulté le 15 novembre 2020).
17. Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health. Geneva: World Health Organization; 2020. (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338480/9789240018440-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, consulté le 8 janvier 2021)
18. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV); 2020 (<https://talk.ictvonline.org/>, accessed 27 July 2020).
19. Gorbalenya ABS, Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5:536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
20. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727–33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
21. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866:165878. doi: 10.1016/j.bbdis.2020.165878.
22. Yoshimoto FK. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2 or n-CoV19), the cause of COVID-19. *Protein J*. 2020;39:198–216. doi: 10.1007/s10930-020-09901-4.
23. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020;181:914–21 e10. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
24. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395:565–74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
25. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367:1444–8. doi: 10.1126/science.abb2762.
26. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24:422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0.
27. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271–80 e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
28. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*. 2020;52:583–9. doi: 10.1016/j.immuni.2020.03.007.
29. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020;369:643–50. doi: 10.1126/science.abc5902.
30. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;17:613–20. doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
31. Shi R, Shan C, Duan X, Chen Z, Liu P, Song J, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;584:120–4. doi: 10.1038/s41586-020-2381-y.
32. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He WT, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science*. 2020;369:956–63. doi: 10.1126/science.abc7520.
33. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell*. 2020;182:1284–94 e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.07.012.

34. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020;369:1255–60. doi: 10.1126/science.abd2161.
35. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. 2020;83:104351. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104351.
36. Xu W, Zhang Y, Wang H, Zhu Z, Mao N, Mulders MN, et al. Global and national laboratory networks support high quality surveillance for measles and rubella. *Int Health*. 2017;9:184–9. doi: 10.1093/inthealth/ihx017.
37. Mulders MN, Serhan F, Goodson JL, Icenogle J, Johnson BW, Rota PA. Expansion of surveillance for vaccine-preventable diseases: building on the global polio laboratory network and the global measles and rubella laboratory network platforms. *J Infect Dis*. 2017;216:S324–S30. doi: 10.1093/infdis/jix077.
38. Diop OM, Kew OM, de Gourville EM, Pallansch MA. The global polio laboratory network as a platform for the viral vaccine-preventable and emerging diseases laboratory networks. *J Infect Dis*. 2017;216:S299–S307. doi: 10.1093/infdis/jix092.
39. Hay AJ, McCauley JW. The WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS): a future perspective. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018;12:551–7. doi: 10.1111/irv.12565.
40. Terms of reference for WHO reference laboratories providing confirmatory testing for COVID-19. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/m/item/terms-of-reference-for-who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19>, consulté le 26 juin 2020).
41. RubeNS database for rubella sequences (<http://www.who-rubella.org/>, consulté le 26 juin 2020).
42. MeaNS: Measles nucleotide surveillance (<http://www.who-measles.org>, consulté le 26 juin 2020).
43. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Roubort MJ, Pfeifer J, et al. Next-generation sequencing informatics: challenges and strategies for implementation in a clinical environment. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140:958–75. doi: 10.5858/arpa.2015-0507-RA.
44. Mutenherwa F, Wassenaar DR, de Oliveira T. Experts' perspectives on key ethical issues associated with HIV phylogenetics as applied in HIV transmission dynamics research. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2019;14:61–77. doi: 10.1177/1556264618809608.
45. Emanuel EJ, Wendler D, Grady C. What makes clinical research ethical? *JAMA*. 2000;283:2701–11. doi: 10.1001/jama.283.20.2701.
46. WHO guidelines on ethical issues in public health surveillance. Geneva: World Health Organization; 2017 (<https://www.who.int/ethics/publications/public-health-surveillance/en/>, consulté le 15 novembre 2020).
47. Tests diagnostiques pour le dépistage du SARS-CoV-2: orientations provisoires. 11 September 2020. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/335724>, consulté le 6 décembre 2020).
48. MacCannell D. SARS-CoV-2 sequencing (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing, consulté le 1er novembre 2020).
49. Cesare MD. Probe-based target enrichment of SARS-CoV-2 [Protocol]. University of Oxford; 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bd5di826.
50. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets. *Nat Microbiol*. 2020;5:1299–1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
51. Quick J, Grubaugh ND, Pullan ST, Claro IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for miniON and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat Protoc*. 2017;12:1261–76. doi: 10.1038/nprot.2017.066.
52. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, Matteson NL, De Jesus JG, Main BJ, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol*. 2019;20:8. doi: 10.1186/s13059-018-1618-7.
53. Matteson N, Grubaugh N, Gangavarapu K, Quick J, Loman N, Andersen K. PrimalSeq: Generation of tiled virus amplicons for MiSeq sequencing [Protocol]. 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bez7jf9n.
54. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol*. 2017;35:833–44. doi: 10.1038/nbt.3935.
55. Bragg L, Tyson GW. Metagenomics using next-generation sequencing. *Methods Mol Biol*. 2014;1096:183–201. doi: 10.1007/978-1-62703-712-9_15.
56. Xiao M, Liu X, Ji J, Li M, Li J, Yang L, et al. Multiple approaches for massively parallel sequencing of SARS-CoV-2 genomes directly from clinical samples. *Genome Med*. 2020;12:57. doi: 10.1186/s13073-020-00751-4.
57. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol*. 2020;5:1403–7. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5.
58. Singer J, Gifford R, Cotten M, Robertson D. CoV-GLUE: A web application for tracking SARS-CoV-2 genomic variation. Preprints. 2020:2020060225. doi: 10.20944/preprints202006.0225.v1.
59. CoVsurver: mutation analysis of hCoV-19. GISAID (<https://www.gisaid.org/epiflu-applications/covsurver-mutations-app/>, consulté le 11 décembre 2020).
60. Pangolin COVID-19 lineage assigner (<https://pangolin.cog-uk.io/>, consulté le 11 décembre 2020).
61. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology*. 2005;2:64. doi: 10.1186/1743-422X-2-64.
62. Alm E, Broberg EK, Connor T, Hodcroft EB, Komissarov AB, Maurer-Stroh S, et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Euro Surveill*. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410.
63. Déclaration de principe sur la communication de données par l'OMS lors des urgences de santé publique (13 avril 2016). Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/254440>, consulté le 25 novembre 2020).
64. Cadre de préparation en cas de grippe pandémique pour l'échange des virus grippaux et l'accès aux vaccins et autres avantages. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2011 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/327157>, consulté le 20 novembre 2020).
65. Conseil exécutif, cent quarantième session, point 7.5 de l'ordre du jour provisoire. Examen du cadre de préparation en cas de grippe pandémique, rapport du Directeur général. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2016 (https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB140/B140_16-fr.pdf?ua=1, consulté le 15 novembre 2020).

66. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>, consulté le 6 décembre 2020).
67. Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639>, consulté le 4 décembre 2020).
68. Molecular assays to diagnose COVID-19: summary table of available protocols. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/who-documents-detail/molecular-assays-to-diagnose-covid-19-summary-table-of-available-protocols>, consulté le 4 décembre 2020).
69. Fact sheet: genetic sequence data and databases. Geneva: World Health Organization; 2018 (https://www.who.int/influenza/pip/GSD_EN_V2_10Sep2018.pdf?ua=1, consulté le 11 décembre 2020).
70. medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences (<https://www.medrxiv.org/>, consulté le 1er novembre 2020).
71. bioRxiv: The Preprint Server for Biology (<https://www.biorxiv.org/>, consulté le 1er novembre 2020).
72. Virological (<https://virological.org/>, consulté le 1er novembre 2020).
73. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579:265–9. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
74. Lu J, du Plessis L, Liu Z, Hill V, Kang M, Lin H, et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 in Guangdong Province, China. *Cell*. 2020;181:997–1003.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.023.
75. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579:270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
76. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
77. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR. Hong Kong University Medical School; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf?sfvrsn=af1aac73_4, consulté le 1er décembre 2020).
78. Melén K, Kakkola L, He F, Airene K, Vapalahti O, Karlberg H, et al. Production, purification and immunogenicity of recombinant Ebola virus proteins: a comparison of Freund's adjuvant and adjuvant system 03. *J Virol Methods*. 2017;242:35–45. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.12.014.
79. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Geneva: World Health Organization (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>, consulté le 26 juin 2020).
80. Ren Y, Zhou Z, Liu J, Lin L, Li S, Wang H, et al. A strategy for searching antigenic regions in the SARS-CoV spike protein. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2003;1:207–15. doi: 10.1016/s1672-0229(03)01026-x.
81. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med*. 2020;382:1199–207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
82. Andersen K. Clock and TMRCA based on 27 genomes. *Scripps Research*; 2020 (<https://virological.org/t/clock-and-tmrca-based-on-27-genomes/347>, consulté le 26 juin 2020).
83. Report of the WHO–China Joint Mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). Geneva: World Health Organization; 2020 ([https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(covid-19)), consulté le 15 juillet 2020).
84. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17:181–92. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
85. Grenfell BT, Pybus OG, Gog JR, Wood JLN, Daly JM, Mumford JA, et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science*. 2004;303:327–32. doi: 10.1126/science.1090727.
86. Volz EM, Koelle K, Bedford T. Viral phylogenetics. *PLoS Comput Biol*. 2013;9. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002947.
87. Pybus OG, Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. *Nat Rev Genet*. 2009;10:540–50. doi: 10.1038/nrg2583.
88. Lai A, Bergna A, Caucci S, Clementi N, Vicenti I, Dragoni F, et al. Molecular tracing of SARS-CoV-2 in Italy in the first three months of the epidemic. *Viruses*. 2020;12. doi: 10.3390/v12080798.
89. Fauver JR, Petrone ME, Hodcroft EB, Shioda K, Ehrlich HY, Watts AG, et al. Coast-to-coast spread of SARS-CoV-2 during the early epidemic in the United States. *Cell*. 2020;181:990–6.e5. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.021.
90. Candido DdS, Claro IM, Jesus dJG, Souza dWMM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020;369:1255–60. doi: 10.1101/2020.06.11.20128249.
91. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: a SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
92. Lemey P, Rambaut A, Bedford T, Faria N, Bielejec F, Baele G, et al. Unifying viral genetics and human transportation data to predict the global transmission dynamics of human influenza H3N2. *PLoS Pathog*. 2014;10:e1003932. doi: 10.1371/journal.ppat.1003932.
93. Dudas G, Carvalho LM, Bedford T, Tatem AJ, Baele G, Faria NR, et al. Virus genomes reveal factors that spread and sustained the Ebola epidemic. *Nature*. 2017;544:309–15. doi: 10.1038/nature22040.
94. Dellicour S, Baele G, Dudas G, Faria NR, Pybus OG, Suchard MA, et al. Phylogenetic assessment of intervention strategies for the West African Ebola virus outbreak. *Nat Commun*. 2018;9:1–9. doi: 10.1038/s41467-018-03763-2.
95. Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Comput Biol*. 2009;5:e1000520. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000520.
96. Lemey P, Rambaut A, Welch JJ, Suchard MA. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Mol Biol Evol*. 2010;27:1877–85. doi: 10.1093/molbev/msq067.
97. Bloomquist EW, Lemey P, Suchard MA. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. *Trends Ecol Evol*. 2010;25:626–32. doi: 10.1016/j.tree.2010.08.010.
98. Faria NR, Suchard MA, Rambaut A, Lemey P. Towards a quantitative understanding of viral phylogeography. *Curr Opin Virol*. 2011;1:423–9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.10.003.

99. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: A SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv*. 2020:165464. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
100. Reusken CB, Buiting A, Bleeker-Rovers C, Dieren B, Hooiveld M, Friesema I, et al. Rapid assessment of regional SARS-CoV-2 community transmission through a convenience sample of healthcare workers, the Netherlands, March 2020. *Euro Surveill*. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.12.2000334.
101. Worby CJ, Lipsitch M, Hanage WP. Shared genomic variants: identification of transmission routes using pathogen deep-sequence data. *Am J Epidemiol*. 2017;186:1209–16. doi: 10.1093/aje/kwx182.
102. Duchene S, Featherstone L, Haritopoulou-Sinanidou M, Rambaut A, Lemey P, Baele G. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020:077735. doi: 10.1101/2020.05.04.077735.
103. Volz E, Fu H, Wang H, Xi X, Chen W, Liu D, et al. Genomic epidemiology of a densely sampled COVID19 outbreak in China. *medRxiv*. 2020:20033365. doi: 10.1101/2020.03.09.20033365.
104. Bedford T, Greninger AL, Roychoudhury P, Starita LM, Famulare M, Huang M-L, et al. Cryptic transmission of SARS-CoV-2 in Washington State. *Science*. 2020;370:571–5. doi: 10.1101/2020.04.02.20051417.
105. Zehender G, Lai A, Bergna A, Meroni L, Riva A, Balotta C, et al. Genomic characterization and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 in Italy. *J Med Virol*. 2020;92:1637–40. doi: 10.1002/jmv.25794.
106. Worobey MA-O, Pekar JA-O, Larsen BA-O, Nelson MA-O, Hill V, Joy JB, et al. The emergence of SARS-CoV-2 in Europe and North America. *Science*. 2020;370:564–70. doi: 10.1126/science.abc8169.
107. Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, El Bassioni L, et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *J Infect Dis*. 2014;210 Suppl 1:S294–303. doi: 10.1093/infdis/jiu384.
108. Paul JR, Trask JD, Gard S. Ii. Poliomyelitic virus in urban sewage. *J Exp Med*. 1940;71:765–77. doi: 10.1084/jem.71.6.765.
109. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T, Surya K, Buyukyuruk M, Cicha C, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Rep Med*. 2020;1:100098. doi: 10.1016/j.xcr.2020.100098.
110. Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems*. 2020;5. doi: 10.1128/mSystems.00614-20.
111. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci Total Environ*. 2020;728:138764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.
112. Wurtzer SMV, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, Almayrac JL, Moulin L. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.04.12.20062679.
113. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ*. 2020;736:139652. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.
114. Gertjan Medema LH, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, Anke Brouwer. Presence of SARS-coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ Sci Technol Lett*. 2020. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
115. Lodder W, de Roda Husman AM. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:533–4. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X.
116. Point sur la surveillance environnementale du SARS-CoV-2 : note d'information. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/333861>, consulté le 12 décembre 2020).
117. Rapid expert consultation on environmental surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater: summary report. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2020/rapid-expert-consultation-on-environmental-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-2020>, consulté le 12 décembre 2020).
118. Edridge AWD, Kaczorowska JM, Hoste ACR, Bakker M, Klein M, Jebbink MF, et al. Coronavirus protective immunity is short lasting. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.11.20086439.
119. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.
120. Goldman JD, Wang K, Roltgen K, Nielsen SCA, Roach JC, Naccache SN, et al. Reinfection with SARS-CoV-2 and failure of humoral immunity: a case report. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.09.22.20192443.
121. Gupta V, Bhojar RC, Jain A, Srivastava S, Upadhyay R, Imran M, et al. Asymptomatic reinfection in two healthcare workers from India with genetically distinct SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1451.
122. Mulder M, van der Vegt D, Oude Munnink BB, GeurtsvanKessel CH, van de Bovenkamp J, Sikkema RS, et al. Reinfection of SARS-CoV-2 in an immunocompromised patient: a case report. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1538.
123. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, Kerwin H, Crawford N, Gorzalski A, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7.
124. Van Elslande J, Vermeersch P, Vandervoort K, Wawina-Bokalanga T, Vanmechelen B, Wollants E, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1330.
125. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. Atlanta: United States Centers for Disease Control and Prevention; 2020 (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html>, consulté le 1er novembre 2020).
126. Reinfection with SARS-CoV-2: considerations for public health response. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2020 (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Re-infection-and-viral-shedding-threat-assessment-brief.pdf>, consulté le 1er novembre 2020).
127. Préparation et riposte aux situations d'urgence: variants du SARS-CoV-2. Bulletin d'information sur les flambées épidémiques. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 31 décembre 2020 (<https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov-2-variants/fr/>, consulté le 31 décembre 2020).
128. Baum A, Fulton BO, Wloga E, Copin R, Pascal KE, Russo V, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. *Science*. 2020;369:1014–8. doi: 10.1126/science.abd0831.

129. Inzaule SC, Hamers RL, Paredes R, Yang C, Schuurman R, Rinke de Wit TF. The evolving landscape of HIV drug resistance diagnostics for expanding testing in resource-limited settings. *AIDS Rev.* 2017;19:219–30 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28182618>, consulté le 15 novembre 2020).
130. Sepulveda N, Phelan J, Diez-Benavente E, Campino S, Clark TG, Hopkins H, et al. Global analysis of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2 (pfrp2) and pfrp3 gene deletions using whole-genome sequencing data and meta-analysis. *Infect Genet Evol.* 2018;62:211–9. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.039.
131. Cremer J, Hofstraat SHI, van Heiningen F, Veldhuijzen IK, van Benthem BHB, Benschop KSM. Genetic variation of Hepatitis B surface antigen among acute and chronic Hepatitis B virus infections in the Netherlands. *J Med Virol.* 2018;90:1576–85. doi: 10.1002/jmv.25232.
132. Hollinger FB. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. *J Viral Hepat.* 2007;14 Suppl 1:11–5. doi: 10.1111/j.1365-2893.2007.00910.x.
133. Lam SD, Bordin N, Waman VP, Scholes HM, Ashford P, Sen N, et al. SARS-CoV-2 spike protein predicted to form complexes with host receptor protein orthologues from a broad range of mammals. *Sci Rep.* 2020;10:16471. doi: 10.1038/s41598-020-71936-5.
134. Damas J, Hughes GM, Keough KC, Painter CA, Persky NS, Corbo M, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117:22311–22. doi: 10.1073/pnas.2010146117.
135. Freuling CM, Breithaupt A, Müller T, Sehl J, Balkema-Buschmann A, Rissmann M, et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2. *bioRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.08.19.256800v1.
136. Schlottau K, Rissmann M, Graaf A, Schon J, Sehl J, Wylezich C, et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *Lancet Microbe.* 2020;1:e218–e25. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30089-6.
137. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science.* 2020;368:1016–20. doi: 10.1126/science.abb7015.
138. Kim YI, Kim SG, Kim SM, Kim EH, Park SJ, Yu KM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe.* 2020;27:704–9 e2. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
139. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N Engl J Med.* 2020;383:592–4. doi: 10.1056/NEJMc2013400.
140. Ruiz-Arrondo I, Portillo A, Palomar AM, Santibanez S, Santibanez P, Cervera C, et al. Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: a case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. *Transbound Emerg Dis.* 2020. doi: 10.1111/tbed.13803.
141. Richard M, Kok A, de Meulder D, Bestebroer TM, Lamers MM, Okba NMA, et al. SARS-CoV-2 is transmitted via contact and via the air between ferrets. *Nat Commun.* 2020;11:3496. doi: 10.1038/s41467-020-17367-2.
142. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature.* 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2342-5.
143. Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, van Doremalen N, Pérez-Pérez L, Schulz J, et al. Respiratory disease and virus shedding in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *medRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.03.21.001628v1.
144. Zhao Y, Wang J, Kuang D, Xu J, Yang M, Ma C, et al. Susceptibility of tree shrew to SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep.* 2020;10:16007. doi: 10.1038/s41598-020-72563-w.
145. Woolsey C, Borisevich V, Prasad AN, Agans KN, Deer DJ, Dobias NS, et al. Establishment of an African green monkey model for COVID-19. *bioRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.05.17.100289.
146. Lu S, Zhao Y, Yu W, Yang Y, Gao J, Wang J, et al. Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5:157. doi: 10.1038/s41392-020-00269-6.
147. Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature.* 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2334-5.
148. Newman A, Smith D, Ghai RR, Wallace RM, Torchetti MK, Loiacono C, et al. First reported cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March–April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69:710–3. doi: 10.15585/mmwr.mm6923e3.
149. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakze-van der Honing RW, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005.
150. Cahan E. COVID-19 hits U.S. mink farms after ripping through Europe. *Science Magazine.* 2020 (<https://www.sciencemag.org/news/2020/08/covid-19-hits-us-mink-farms-after-ripping-through-europe>, consulté le 13 novembre 2020).
151. Abdel-Moneim AS, Abdelwhab EM. Evidence for SARS-CoV-2 infection of animal hosts. *Pathogens.* 2020;9. doi: 10.3390/pathogens9070529.
152. Exposure of humans or animals to SARS-CoV-2 from wild, livestock, companion and aquatic animals. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (<http://www.fao.org/3/ca9959en/ca9959en.pdf>, consulté le 1er décembre 2020).
153. Guidelines to mitigate the impact of the COVID-19 pandemic on livestock production and animal health. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (<http://www.fao.org/3/ca9177en/CA9177EN.pdf>, consulté le 1er décembre 2020).
154. Guidance on working with farmed animals of species susceptible to infection with SARS-CoV-2. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/MM/Draft_OIE_Guidance_farmed_animals_cleanMS05.11.pdf, consulté le 8 décembre 2020).
155. El Zowalaty ME, Jarhult JD. From SARS to COVID-19: a previously unknown SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2) of pandemic potential infecting humans: call for a One Health approach. *One Health.* 2020;9:100124. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100124.
156. Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugere-Picoux J. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a One-Health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One Health.* 2020;10:100133. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133.
157. Guidelines for working with free-ranging wild mammals in the era of the COVID-19 pandemic. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/COV-19/A_WHSG_and_OIE_COVID-19_Guidelines.pdf, consulté le 10 décembre 2020).

Annexe I : Principales questions à aborder avant de lancer un programme de séquençage

- (1) Quels sont les résultats attendus du programme de séquençage ?
- (2) Quels échantillons faut-il séquencer pour obtenir les résultats attendus identifiés à l'étape 1 ? Quelles métadonnées ou sources de données supplémentaires sont essentielles ?
- (3) Quelles sont les principales parties prenantes et quelles sont leurs responsabilités ? Comment encourager au mieux leur participation ?
- (4) Comment garantir un transfert rapide et approprié des échantillons et des informations entre les parties prenantes, selon les besoins ?
- (5) Le projet est-il conçu conformément aux lois et aux directives éthiques locales, nationales et internationales ?
- (6) Les fonds, équipements et ressources humaines disponibles sont-ils suffisants pour accomplir toutes les étapes requises : prélèvement des échantillons, séquençage en laboratoire humide, analyses bioinformatiques, phylodynamiques et autres, partage des données et communication rapide des résultats aux parties prenantes concernées ?
- (7) Comment atteindre les objectifs sans perturber les autres travaux menés en laboratoire, comme le diagnostic clinique, et en évitant les doubles emplois ?
- (8) Comment le rapport coût-efficacité et l'impact du programme seront-ils évalués ?

Annexe II : Liste de contrôle pour l'établissement d'un programme de séquençage du SARS-CoV-2

Objectifs

- Définir les objectifs escomptés du programme de séquençage : quelles informations susceptibles d'être fournies par le séquençage représentent une valeur ajoutée ou un meilleur rapport coût-efficacité par rapport aux approches existantes ?

Identification et mobilisation des principales parties prenantes

- Identifier les principales parties prenantes.
- Discuter des objectifs du programme avec les principaux représentants des groupes concernés et définir les responsabilités de chaque groupe.
- Envisager de communiquer aux parties prenantes des supports pédagogiques sur les avantages et les exigences du séquençage du SARS-CoV-2.
- Identifier les liens à établir entre les principales parties prenantes pour permettre la transmission rapide des échantillons et des demandes d'information et l'exploitation rapide des résultats.
- Veiller à ce que des liens clairs et adaptés soient établis entre les parties prenantes.

Considérations techniques

- Déterminer le niveau d'échantillonnage requis dans le cadre du séquençage génomique pour atteindre les objectifs souhaités, en concertation avec les responsables des équipes d'identification des cas et d'analyse des échantillons.
- Identifier les métadonnées requises pour atteindre les objectifs souhaités, en concertation avec les responsables des équipes d'identification des cas et d'analyse des échantillons.
- Choisir des protocoles appropriés de préparation des échantillons et des bibliothèques.
- Choisir des protocoles bioinformatiques appropriés.
- Choisir des protocoles d'analyse appropriés.

Considérations logistiques

- Déterminer où le séquençage et l'analyse auront lieu (par exemple, un laboratoire de diagnostic existant ou un laboratoire commercial ou universitaire externe).
- Identifier des sources de financement suffisantes pour le séquençage en laboratoire et le stockage et l'analyse des données.
- Veiller à ce que les réactifs et le matériel informatique nécessaires soient disponibles en quantité suffisante et puissent être approvisionnés durablement selon les besoins.
- Veiller à la disponibilité de ressources humaines appropriées et suffisantes pour accomplir chaque étape du programme.
- Veiller à ce que l'intégrité des échantillons puisse être préservée à toutes les étapes du processus grâce à la chaîne du froid ou à d'autres mesures.
- Veiller à ce que les métadonnées soient recueillies et stockées de manière appropriée et soient correctement associées aux échantillons biologiques correspondants.
- Tenir compte de la pression supplémentaire que le séquençage pourrait exercer sur les activités existantes de riposte en santé publique et chercher à mettre en place des mesures d'atténuation.
- Pour les programmes de séquençage à grande échelle, réfléchir à la manière de rationaliser le partage des données et des échantillons entre les groupes participants (par exemple, possibilité d'utiliser un identifiant d'échantillon unique et des formats identiques pour les métadonnées).

Instaurer un cadre sûr et éthique

- Mener des examens éthiques appropriés concernant la production, l'utilisation et le stockage des données de séquençage et des métadonnées associées.
- Procéder à une évaluation des risques des activités de séquençage afin de garantir une sécurité biologique adéquate à toutes les étapes du processus.
- Procéder à une évaluation des risques des activités de séquençage afin de garantir une sécurité biologique adéquate, si cela est prévu par la législation nationale et régionale.
- Tenir compte de l'incidence du programme sur les ressources humaines, notamment de la nécessité de réaffecter du personnel ou de recruter du personnel supplémentaire pour maintenir la charge de travail individuelle à un niveau raisonnable.
- Veiller à ce que les membres du personnel puissent se rendre au travail et accomplir leurs tâches en toute sécurité et conformément aux directives nationales sur la prévention de la transmission pendant l'épidémie de COVID-19.
- Définir des stratégies pour assurer la continuité du programme de séquençage si des membres clés du personnel tombent malades ou doivent s'isoler.

Partage des données

- Veiller à ce que les parties prenantes décident d'un commun accord quelles séquences et métadonnées seront rendues publiques, sur quelles plateformes et à quel moment.
- Veiller à ce que les parties prenantes décident d'un commun accord si l'accès à certaines métadonnées devra être limité à un nombre restreint d'utilisateurs locaux et élaborer des stratégies pour la transmission sécurisée de ces données.
- Veiller à ce que les données soient partagées conformément aux cadres réglementaires nationaux et internationaux en vigueur.

Évaluation

- Prévoir une évaluation régulière du programme de séquençage, y compris des progrès réalisés et des difficultés subsistantes.
- Veiller à la mise en œuvre d'un cadre de suivi et d'évaluation afin d'évaluer les performances du programme de séquençage, tant sur le plan technique (qualité, etc.) qu'en termes de réalisation des objectifs fixés.

Annexe III : Caractéristiques des plateformes couramment employées pour l'analyse des séquences du SARS-CoV-2

Instrument ^a	Avantages	Inconvénients	Temps d'exécution	Débit de séquençage	Comparaison des coûts relatifs
Sanger sequencing	Largement disponible Utilisation facile Bon rapport coût-efficacité du séquençage si peu de cibles sont requises	Débit très faible Les amplicons (d'une longueur ne dépassant généralement pas 1000 pb) doivent être amplifiés et séquencés individuellement Coûteux pour le génome complet Inadapté à la métagénomique	Généralement quelques heures	100 kb-2 Mb par run	Relativement peu coûteux pour quelques cibles
Illumina (p. ex. iSeq, MiniSeq, MiSeq, NextSeq, HiSeq, NovaSeq)	Possibilité d'obtenir des rendements de séquençage très élevés Degré d'exactitude très élevé iSeq est portable Méthodes bien établies de traitement des données	À l'exception d'Illumina iSeq, coûts d'achat et d'entretien élevés par rapport à d'autres plateformes Longueur de lecture maximale de 2 x 300 pb	10–55 heures, selon l'instrument	1,2–6000 Gb, selon l'instrument	Coûts d'entretien et de démarrage élevés Coûts de fonctionnement modérés
Oxford Nanopore Technologies (Flongle, MinION, GridION, PromethION)	Portable, séquençage direct Données en temps réel Faibles coûts de démarrage et d'entretien Possibilité d'arrêter le séquençage dès que des données suffisantes sont obtenues Permet des lectures très longues (supérieures à la longueur du génome complet du SARS-CoV-2)	Difficultés avec les homopolymères Le taux d'erreur par lecture est ~5 % (flow cells R9.4) et l'utilisation de pipelines appropriés est donc essentielle pour obtenir des séquences consensus avec un haut degré d'exactitude Actuellement inadapté à la détermination des variations intra-hôte, à moins d'une répétition du séquençage (552)	Disponibilité immédiate des lectures Peut être contrôlé et fonctionner pendant une période allant jusqu'à plusieurs jours selon les besoins	Varié entre < 2 Gb pour les flow cells Flongle et 220 Gb pour les flow cells PromethION Jusqu'à 48 flow cells peuvent être utilisées sur PromethION	Pas de coûts d'entretien et coûts de démarrage relativement faibles Coûts de fonctionnement modérés
Ion Torrent	Exécution rapide une fois le séquençage commencé	Difficultés avec les homopolymères Coûteux à l'achat Longueur de lecture maximale généralement d'environ 400 pb	2 heures–1 jour, selon les puces et les dispositifs	30 Mb–50 Gb, selon les puces et les dispositifs	Coûts modérés

^a Cette liste vise à fournir un aperçu des outils les plus couramment employés pour le séquençage génomique du SARS-CoV-2 et n'implique en aucun cas que ces produits sont approuvés par l'OMS.

^b Différentes estimations des coûts sont disponibles dans le document (8).

L’OMS continue à suivre de près la situation et reste attentive à tout changement susceptible d’avoir une incidence sur ces orientations provisoires. Si certains facteurs devaient évoluer, l’OMS publierait une nouvelle mise à jour. Sinon, ces orientations provisoires resteront valables deux ans après leur date de publication.

© Organisation mondiale de la Santé 2021. Certains droits réservés. La présente publication est disponible sous la licence [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](#).

WHO reference number : [WHO/2019-nCoV/genomic_sequencing/2021.1](#)