

Utilisation des données de la surveillance génomique des variants pour investiguer les clusters locaux de COVID-19 : faisabilité et intérêts pour l'hygiéniste

Céline SAKR, Jean-Winoc DECOUSSER,
Audrey MAURAND, Frédéric FOURREAU,
Mélanie Mercier-DARTY, Olivier HENRY, Slim FOURATI

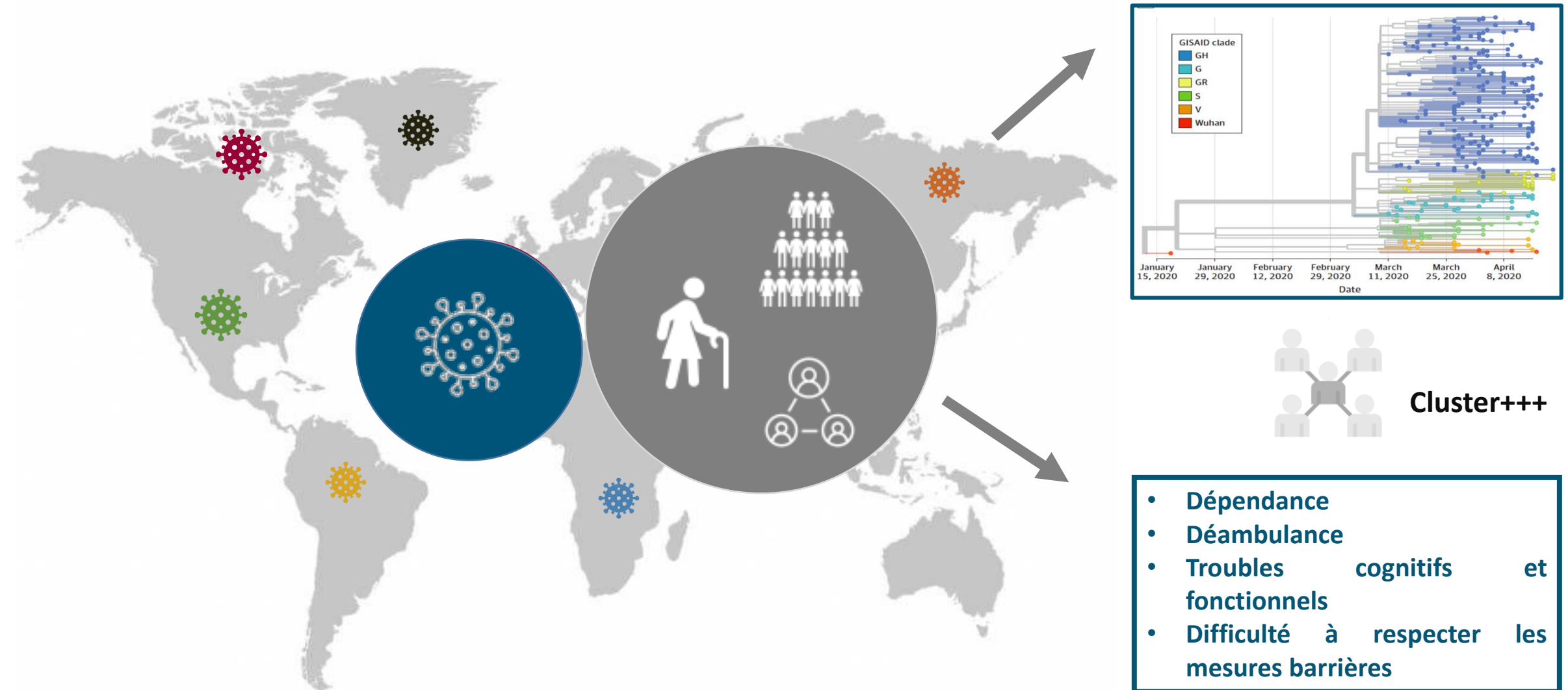
Equipe Opérationnelle D'Hygiène
HU-Henri Mondor



**XXXI^e Congrès National de la Société
Française d'Hygiène Hospitalière**

4, 5 et 6 octobre 2021

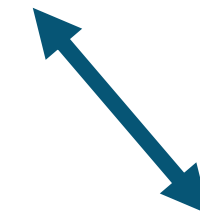
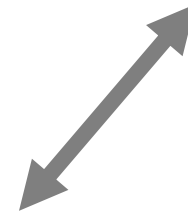
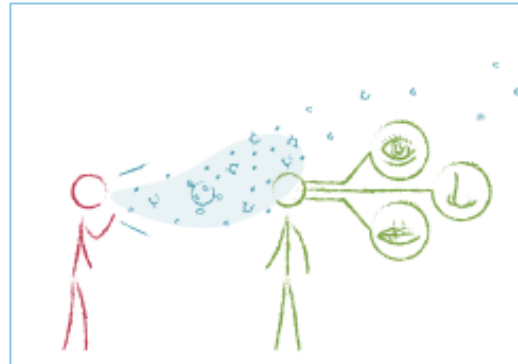
- **Pandémie de SARS-Cov2 : Problème majeur de santé publique**
- **Contexte particulier dans les unités de soins de longue durée (USLD) gériatrique**



- **Dépendance**
- **Déambulance**
- **Troubles cognitifs et fonctionnels**
- **Difficulté à respecter les mesures barrières**



IDENTIFICATION DES MODES DE TRANSMISSION / LUTTE CONTRE LA TRANSMISSION



Epidémiologie classique (John Snow)

- Descriptive, exhaustive et clinique
- Définition des cas et étude de leurs caractéristiques
- Répartition dans le temps et dans l'espace (description chronologique)

→ **Emission des hypothèses sur le réservoir et les modes de transmission**

Analyse phylogénétique et comparaison moléculaire

- Positionner les souches au sein de la diversité de l'espèce
- Comparaison du génome des souches impliquées entre elles et avec des banques de données

- **Alternative de première intention avant l'approche épidémiologique**
- **Approche prospective systématique « *Sequence First* »**

Évaluer deux approches différentes pour investiguer des clusters d'infections au sein d'un service de dermatologie et d'un service de long séjour gériatrique

Partie I

Approche historique (à l'ancienne) :

- Investigation épidémiologique basée sur les paramètres de la littérature.

Partie II

Approche de séquençage :

- Séquençage et comparaison moléculaire des souches de SARS-CoV2.



HU- Henri-Mondor

Service
dermatologieService Long
Séjour gériatrique**Approche épidémiologique
historique:**

Tableau synoptique , courbe
épidémique, répartition
géographique

**Séquençage et analyse des
souches:**

- Séquençage Illumina®
- Alignement Muscle®

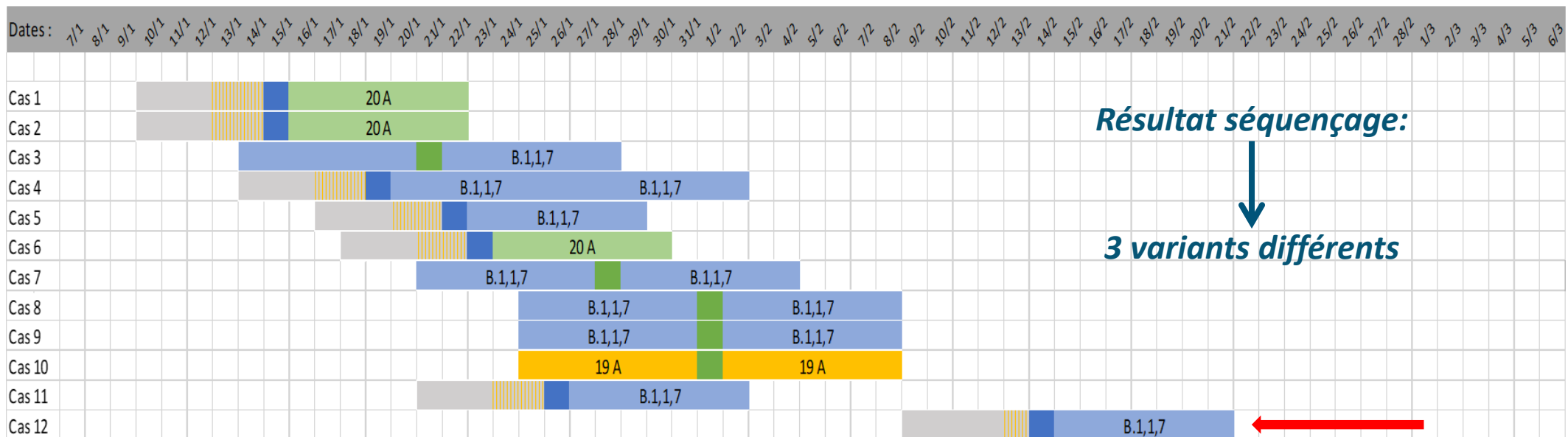
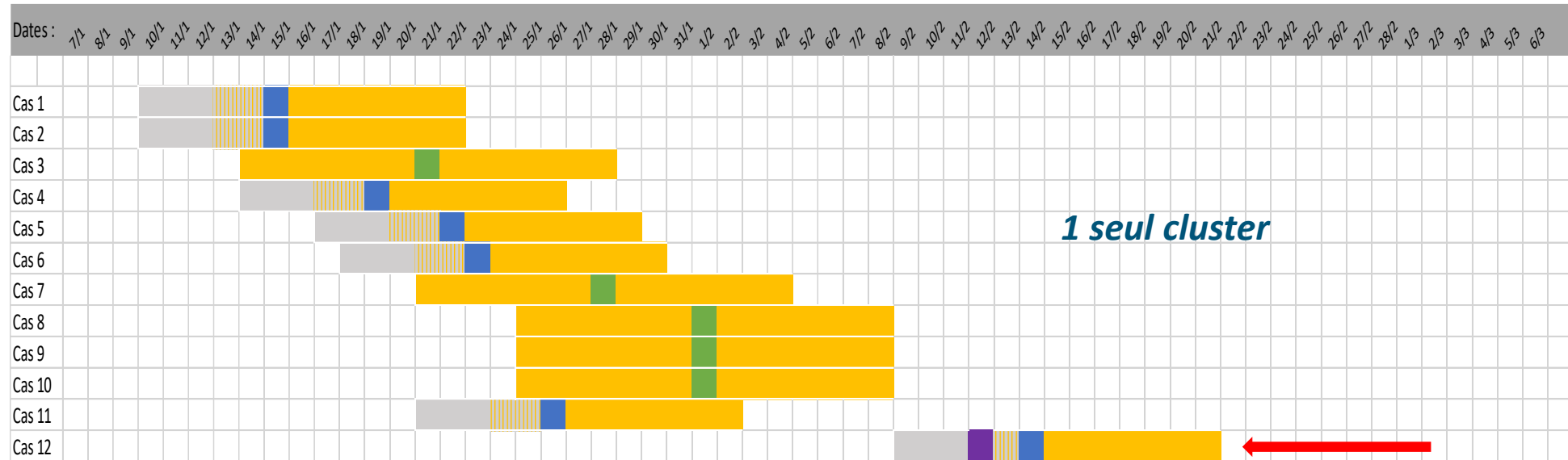


1) Résultats obtenus : cluster du service de dermatologie au CHU-Henri Mondor

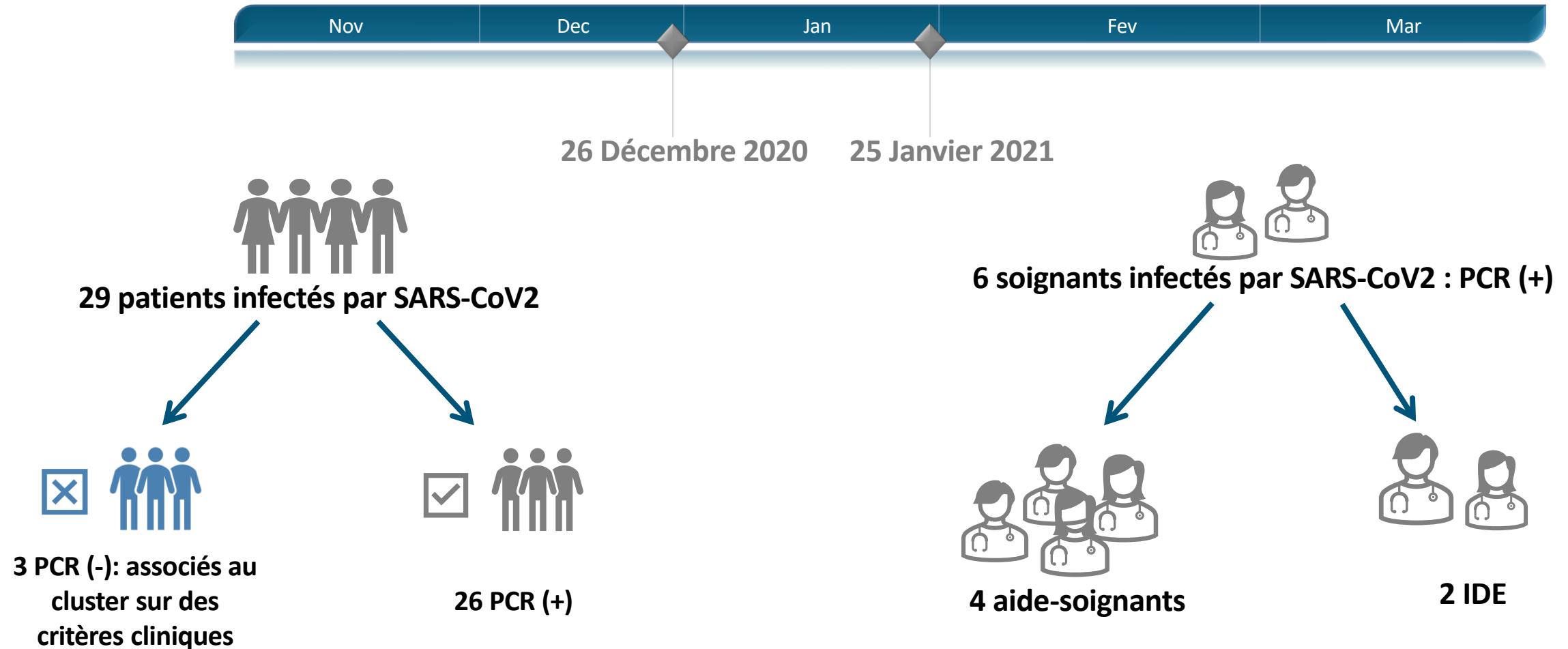
Résultat épidémiologique



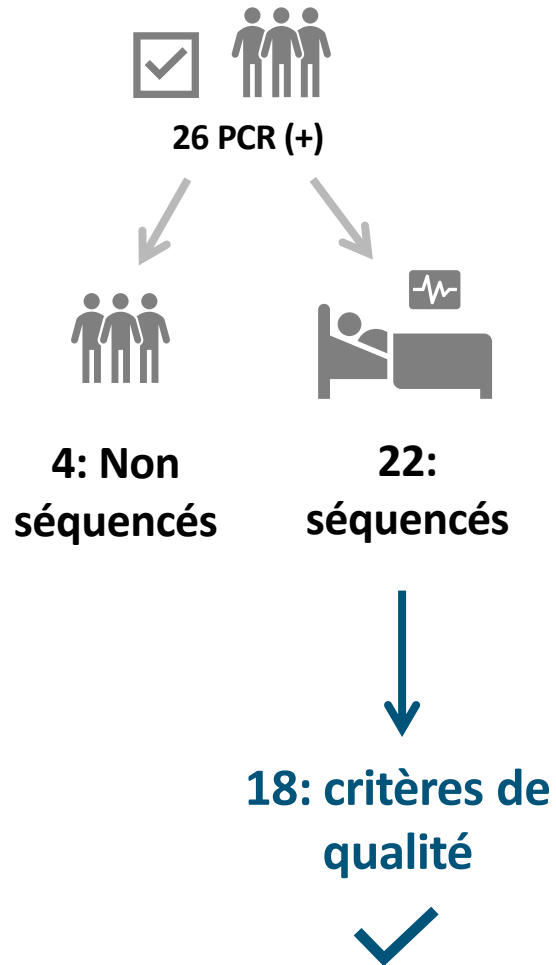
12 cas PCR (+) reliés entre eux sur 1 mois: 2 patients et 10 soignants



2) Résultats obtenus: Cluster de l'USLD gériatrie de l'hôpital Georges Clémenceau



- Comparaison des souches impliquées dans l'épidémie par séquençage du génome complet
→ Technique Illumina COVIDSeq[®] sur automate NextSeq 500[®]



Numéro Glims	N° Run	rapport dragen Illumina			Pipeline 2			Lecture des consensus									% couverture NC045512 (29903pb)
		CI	SARS-COV2	Consensus >=15X	>=5X	Pangolin Lineage	check nom seq ds fasta	nb A	nb T	nb C	nb G	nb N début	nb N fin	nb N internes	nb bloc interne N >100b	longueur ATCG	
012V300436	Run1-18/01/21	pass	detected	available		B.1.177	oui	8 899	9 602	5 470	5 848	41	43	0	0	29 819	99,72
012V260098	Run1	pass	detected	available		B.1.177	oui	8 904	9 602	5 475	5 848	60	44	0	0	29 829	99,75
012V280535	Run1	pass	not detected	not available													
012V280534	Run1	pass	detected	available		B.1.177	oui	8 903	9 602	5 475	5 848	31	46	0	0	29 828	99,75
012V280549	Run1	pass	detected	available		B.1.177	oui	8 632	9 285	5 285	5 679	52	39	907	4	28 881	96,58
101V180447	Run2-27/01/21	pass	detected	available		B.1.177	oui	8826	9530	5441	5821	56	39	0	0	29 618	99,05
101V180446	Run2	pass	detected	not available													
101V180430	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8901	9600	5468	5848	37	49	0	0	29 817	99,71
101V180435	Run2	pass	detected	not available													
101V180431	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8901	9607	5479	5850	12	45	0	0	29 837	99,78
101V180436	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8901	9600	5470	5848	37	94	0	0	29 819	99,72
101V170080	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8408	9040	5143	5543	45	67	2006	5	28 134	94,08
101V220196	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8899	9594	5467	5854	39	50	0	0	29 814	99,70
101V150318	Run2	pass	detected	available		B.1.177		8787	9492	5400	5785	41	58	0	0	29 464	98,53
101V040476	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8908	9600	5475	5848	24	48	0	0	29 831	99,76
101V040470	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8909	9 602	5 476	5 848	23	45	0	0	29 835	99,77
101V040497	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8909	9603	5478	5850	15	47	0	0	29 840	99,79
101V040472	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	7 919	8 509	4 839	5 177	49	106	3043	13	26 444	88,43
101V040466	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8 895	9 598	5 468	5 847	48	47	0	0	29 808	99,68
101V110391	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8902	9600	5471	5848	34	48	0	0	29 821	99,73
101V110405	Run2	?	?	?	available	filed <95% C	oui	3291	3527	2030	2098	936	94	10454	25	10 946	36,61
101V110393	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8466	9142	5194	5604	40	55	1402	5	28 406	94,99
101V110413	Run2	pass	detected	available		B.1.177	oui	8899	9598	5469	5848	43	46	0	0	29 814	99,70

- Comparaison des souches impliquées dans l'épidémie par séquençage du génome complet:
→ Alignement à l'aide du programme MUSCLE du logiciel MEGAX

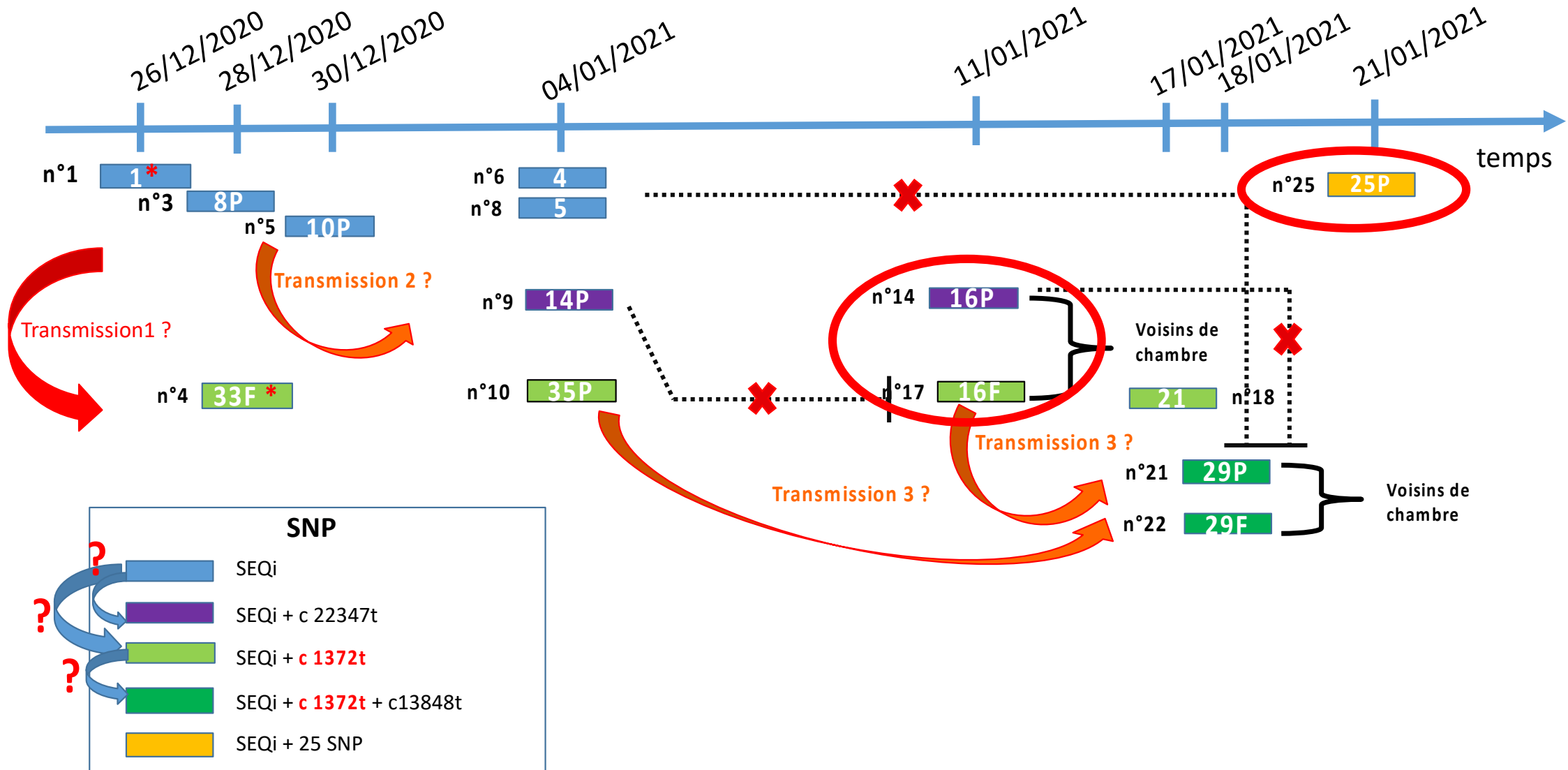
TRI selon profil SNP

pos NC_045512.2	265	192	385	396	1299	1464	2180	2988	3957	5121	5126	5977	6337	6632	8031	10107	11045	11083	12970	13664	13775	14359	15911	17566	18699	18809	20253	21206	21323	22178	22274	22297	22328	23354	23819	24997	25364	25682	26752	27950	28428	28883	29467	29596
#1 NC_045512.2	c	g	t	c	c	g	c	g	c	c	c	c	c	c	a	c	c	g	c	g	c	c	a	c	t	g	g	g	c	c	g	c	a	g	c	c	c	c	c	c	a	c	g	g
#20 2101V220196 TAI CLA	t	c	c	c	t	g	t	g	c	c	t	t	c	a	c	t	g	t	g	c	t	c	a	c	c	a	c	g	t	c	t	t	g	g	t	t	c	g	t	a	t	g	t	
#2 2012V260098 VOG MIR	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#3 2012V280534 GHE MAT	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#9 2101V040476 BER CHR	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#10 2101V040497 BON ROG	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#5 2012V300436 VAS ANA	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#14 2101V150318 BER CHR	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	?	?	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#11 2101V110391 BLO LUC	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	t	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#8 2101V040472 NAR DAN	t	a	c	c	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	?	?	t	?	?	g	t	c	c	t	g	c	a	?	c	t	
#7 2101V040470 LEG ANN	t	a	c	c	c	a	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#18 2101V180436 SAJ CHR	t	a	c	c	c	a	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	g	t	c	t
#13 2101V110413 RAB PAU	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#4 2012V280549 PUI FRA	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#6 2101V040466 GOM COL	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#15 2101V170080 DAV JEA	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	a	t	t	g	?	?	t	c	?	?	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#12 2101V110393 KER JEA	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	c	g	t	t	g	?	?	t	c	?	?	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#16 2101V180430 QUA PIE	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	t	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#17 2101V180431 ROB ROL	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	t	t	c	a	t	t	g	c	t	t	c	g	c	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t
#19 2101V180447 HEL JAC	t	a	c	t	c	g	t	t	t	t	t	c	t	t	t	t	c	t	c	t	c	t	t	a	t	t	g	c	t	t	c	g	?	g	t	c	c	t	g	c	a	t	c	t

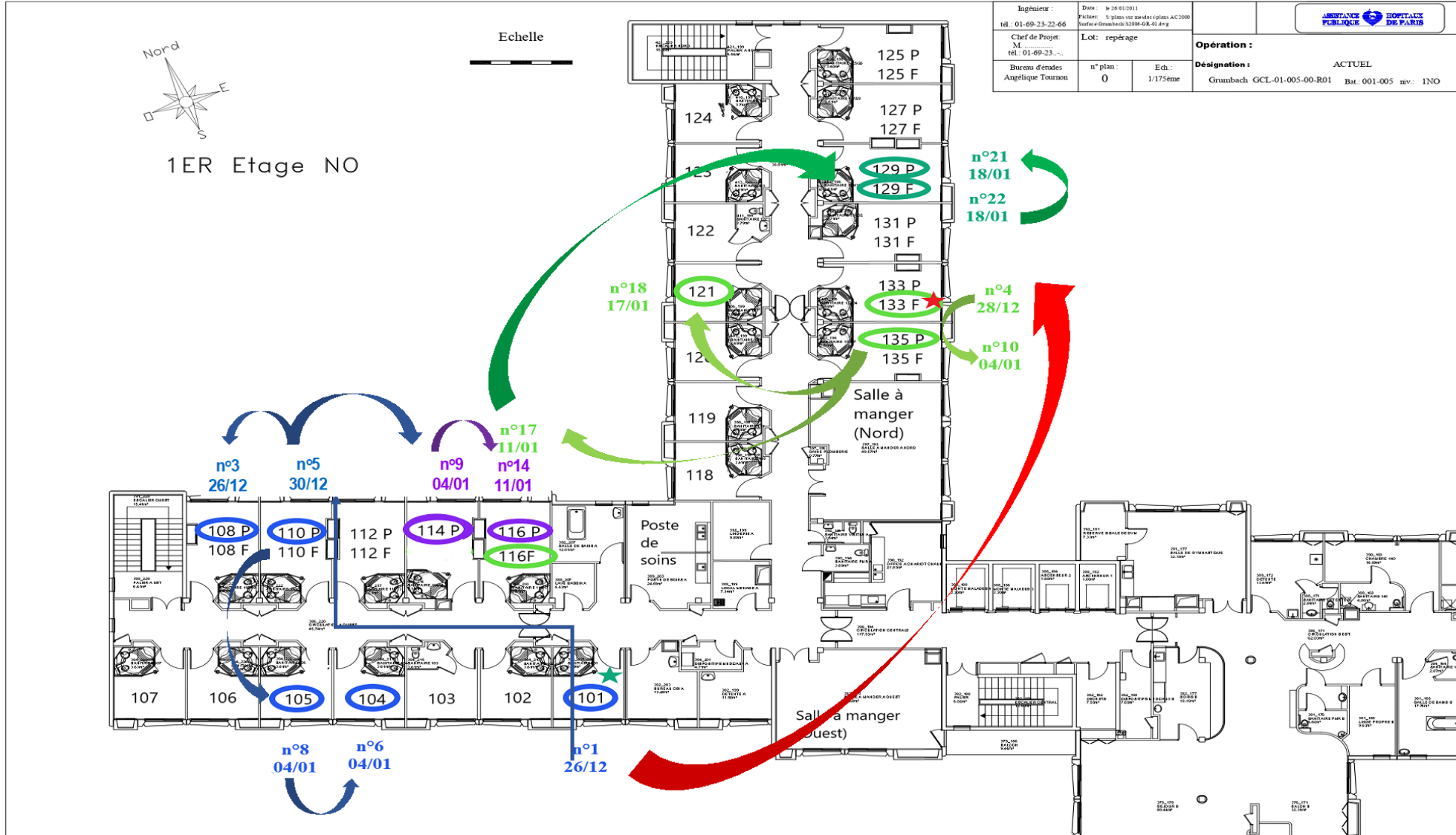
→ 4 groupes de patients qui partagent la même séquence SARS-COV-2 / qui diffèrent entre eux de ≤ 2 SNP
 → Exceptée la souche n°25 (très divergente : 25 SNP avec patient n°1)

• Positionnement des souches des patients en fonction de la date de prélèvement RT-PCR

Echelle : 1 carreau = 2j



• Répartition géographique et déroulement de l'épidémie



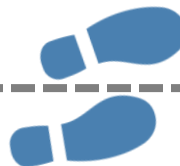
Approche épidémiologique historique: Limites de la formalisation et traçabilité des infos

- Suivi en temps réel du déplacement des soignants (RFID...)
- Au sein d'un outil informatique unique : Facilement consultable
- Au sein d'un entrepôt de données : Collecte centralisée des données

=> Modalités et délais d'accès aux infos : compatibles avec la gestion d'un cluster

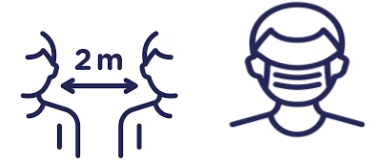
Approche par séquençage: Limites techniques

- Obtention de specimen biologique en quantité et qualité suffisante
- Nécessité de compétences en bio-informatique
- Sensibilité de la méthode est variable en fonction de la diversité des souches circulantes (variants de la 1ère et 2ème vague VS 3ème vague)



Investigation des clusters viraux notamment en gériatrie par les EOH: optimisation des forces vives de l'EOH

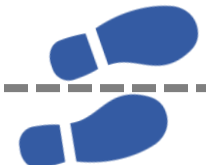
- Diffuser et rappeler les mesures de lutte « standard »
- Recueil des prélèvements biologiques → matériel génétique → comparaison de souches
- Investigation fine des évènements de transmission confirmés au regard des résultats de séquençage



Perspectives « *Sequence first* » au sens élargi: optimisation des forces vives de l'EOH +++

- Réaliser la comparaison sans a priori à l'échelle d'un bâtiment ou d'un hôpital
- Si identité moléculaire: investigation de l'évènement de transmission

➤ *Évaluer l'intérêt pour d'autres virus dans d'autres contextes*





Contribution de l'analyse moléculaire à l'investigation d'un cluster de Covid-19 en long séjour gériatrique

Céline Sakr¹, Audrey Maurand¹, Mélanie Mercier-Darty^{1,2}, Olivier Henry³, Slim Fourati⁴, Jean-Winoc Decousser^{1,5}

- 1- Équipe opérationnelle d'hygiène – Département de prévention, diagnostic et traitement des infections – 2- Plateforme de caractérisation des génomes microbiens par séquençage à haut débit – 3- Département médico-universitaire de gériatrie – 4- Laboratoire de virologie – Département de prévention, diagnostic et traitement des infections Hôpitaux universitaires Henri-Mondor – Assistance publique-Hôpitaux de Paris – Créteil – France
5- Équipe d'accueil 7380 Dynamic – Faculté de santé – Université Paris-Est Créteil – Créteil – France
✉ Pr Jean-Winoc Decousser – EA 7380 Dynamic – Faculté de santé – Université Paris-Est Créteil – 8, rue du Général-Sarrail – 94000 Créteil – France – E-mail : jean-winoc.decousser@aphp.fr

RÉSUMÉ

Contexte et objectif. La lutte contre la Covid-19 nécessite l'identification des événements et acteurs de transmission. L'objectif de cette étude est de montrer la complémentarité de l'approche épidémiologique classique et de l'approche moléculaire par séquençage et comparaison des souches de Sars-CoV-2. Les performances et limites de ces méthodes sont évaluées. **Méthodes.** L'investigation épidémiologique classique d'un cluster en long séjour gériatrique a été réalisée en se focalisant sur la disponibilité des données. En parallèle, les souches de Sars-CoV-2 retrouvées chez les patients ont été séquencées, caractérisées phylogénétiquement et comparées. **Résultats.** Le cluster a impliqué 29 patients et 6 soignants entre le 26/12/2020 et le 25/01/2021 dans un service de long séjour gériatrique composé de deux unités. L'étude épidémiologique a montré une contamination secondaire des soignants auprès des patients et l'indisponibilité de certaines informations nécessaires à la compréhension des transmissions (entraide des soignants entre unités, interventions des médecins de garde, plans de table des repas partagés...). Les 18 séquences analysables ont mis en évidence une souche dérivant de la souche ancestrale Wuhan, et 4 groupes de séquences identiques entre elles séparées par une à deux différences nucléotidiques. L'apparition de mutations a permis d'identifier et d'exclure des voies de transmission (deux voisins de chambre présentant deux souches différentes). Une souche très divergente (25 différences) a été identifiée en fin d'épidémie au sein du cluster, soulignant le risque de la multiplication des séries de dépistage. **Conclusion.** Une stratégie combinant une investigation épidémiologique basique et une comparaison moléculaire des souches permettrait d'économiser les forces des hygiénistes.

MOTS-CLÉS

Épidémie – Sars-CoV-2 – Séquençage – Comparaison – Gériatrie – Soins longue durée.

ABSTRACT

Contribution of molecular analysis to the investigation of a COVID-19 cluster in a long-stay geriatric unit

Background and objective. The fight against Covid-19 requires the identification of transmission-related events and actors. This study aimed to demonstrate the complementarity of conventional epidemiological approaches and modern approaches involving the sequencing and comparison of Sars-CoV-2 strains. These methods are assessed for limitations and performance. **Methods.** A conventional epidemiological investigation of a cluster was undertaken in a long-stay geriatric unit, focusing on data availability. In parallel, the Sars-CoV-2 strains detected in the patients were sequenced, characterised from a phylogenetic point of view and compared. **Findings.** The cluster identified between 26 December 2020 and 25 January 2021 concerned 29 patients and 6 carers, all from the same long-stay geriatric unit that counted two wards. The epidemiological study showed a secondary contamination of staff caring for patients and the lack of availability of certain data to explain transmission modes (staff from different wards helping each other, intervention of on-call physicians, dining room seating plans...). The 18 analysable sequences revealed the presence of a strain derived from the ancestral Wuhan strain, and four groups of identical sequences separated by one to two nucleotide differences. The apparition of mutations allowed the identification and exclusion of two transmission routes (two patients from the same room presenting with two different strains). One highly divergent strain (25 differences) was identified within the cluster towards the end of the outbreak, thus highlighting the risk inherent to the multiplication of screening series. **Conclusions.** A strategy combining basic epidemiological investigations with molecular comparison of strains could help spare the energy of infection control staff.

KEYWORDS

Disease outbreak – Sars-Cov-2 – Sequencing – Comparison – Geriatrics – Long-term care.

**XXXI^e Congrès National de la Société
Française d'Hygiène Hospitalière**

4, 5 et 6 octobre 2021

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

