

Année 2021

N°: MM0082021

MEMOIRE DE MASTER

MASTER DE **BIOTECHNOLOGIE MEDICALE**

OPTION: **Biomédicale**

Intitulé:

**L'EVOLUTION DE LA VARIANTE DELTA
DU SRAS-COV-2 AU MAROC.**

Soutenu par

Mr. ASAMOAH-FOSU ALBERT ACHEAMPEMHENE

Le Décembre 2021

Devant le jury composé de :

Pr. Ilham Kandoussi	Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat	Président de jury
Pr. OUADGHIRI M.	Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat	Encadrante
Mme. BENDANI H.	Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat	Co-Encadrante
Mme. BOUMAJDI N.	Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat	Examineur

DEDICACE

Je dédie ce travail

A Dieu

Vous m'avez béni avec une très belle vie, une grande famille, la force et la paix éternelle.

Ma famille.

Qui m'aime sans condition. Une famille qui m'a soutenu et a devenu mon cœur.

Dieu pourrait faire plus avec nos vies que nous pourrions faire nous-mêmes.

Ma famille (du pays)

Qui m'a soutenu et m'encouragé tout au long de mon parcours.

A mes pères

Dans mon village, on dit qu'un homme n'élève pas un enfant, mais qu'un village élève un enfant.

De plusieurs façons, vous m'avez élevé et je vous en remercie. Un merci très spécial à M. Asamoah Nicholas, mon père. Merci pour votre soutien et votre amour.

Et tous les pères qui m'a appris à aimer, à faire preuve de compassion et de miséricorde envers ceux qui en ont le plus besoin. Vous m'avez appris à vivre pour ce qui compte vraiment dans cette vie.

Vous m'avez démontré à quoi ressemble l'amour de Dieu.

A mes mères

Vous m'avez appris à être un homme fort et aimante et que le plus important, c'est d'être l'homme que Dieu veut que je sois.

Et à ma mère, Mme Asamoah Rebecca Tutu, qui ne s'est pas contentée de m'élever, mais m'a nourri sur le bon chemin. Vous m'avez montré que certaines choses ne sont pas pour les femmes, mais qu'un homme africain peut aussi faire des choses qui sont surtout connues pour être pour les femmes. Vous m'avez appris à devenir le Monsieur que je suis aujourd'hui. Je vous remercie.

REMERCIEMENT

En premier lieu, je tiens à remercier :

Mr. Le Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat de m'avoir accueilli au sein de votre établissement prestigieux.

Pr. A. Ibrahimi, directeur du centre de recherche BioInova, Directeur du laboratoire de biotechnologie de la faculté de médecine de Rabat, de m'avoir accepté en tant qu'étudiante dans votre laboratoire. Votre leadership, compétences et la simplicité, la clarté de votre enseignement ont réveillé le désir en moi d'enseigner ce que j'ai appris dans ce pays. Je serai toujours reconnaissant de votre connaissance profonde et vaste et de votre désir de faire plus.

Pr. Mouna OUADGHIRI coordinatrice de l'option Biotechnologie médicale et Pr. Tarik ANNIZ, coordinateur de l'option Bio-informatique médicale à la FMP, d'avoir accepté d'examiner ce travail et pour leurs compétences.

Madame Houda Bendani, Directeur de Mémoire. Je tiens vous remercier professeur pour m'avoir fait l'honneur de diriger et encadrer ce travail de recherche et pour votre préoccupation, votre direction, votre supervision et pour leurs compétences. Je suis encouragé par tout le travail acharné que vous avez accompli. Au cours des derniers mois, j'ai de plus en plus d'admiration pour votre compétence, vos connaissances, votre endurance et votre passion. Merci pour votre patience et votre gentillesse. Je suis reconnaissant pour cette expérience incroyable.

Merci à ma famille au Maroc, vous m'avez encouragé depuis le début jusqu'à aujourd'hui. À Lavinia je tiens à te remercier pour ton aide. Que du bonheur.

RESUME

La nature changeante du COVID-19, qui donne naissance à des variantes nouvelles et plus dangereuses, préoccupe les scientifiques. Cela nécessite une étude génomique approfondie des différentes lignées disponibles. Cette étude porte sur l'évolution progressive de la variante Delta du SARS-COV-2. Environ 452 séquences ont été analysées ; 72 d'entre elles provenaient du Maroc et le reste a été téléchargé du GISAID à partir de 15 autres pays. Les 72 séquences Delta marocaines ont été alignées en utilisant BWA et Lofreq pour l'appel de variante avec le génome de référence MN908947.3 téléchargé du NCBI ; et ont été finalement annotées en utilisant SnpEff. À l'aide de scripts python, tous les fichiers VCF ont été convertis en un seul document Microsoft Excel. En utilisant le même génome de référence, Mafft (en ligne) a été utilisé pour l'alignement Covid-19. PhyML a permis de générer un arbre phylogénétique avec les 452 séquences, qui a été visualisé à l'aide de Figtree.

Il existe six sous-lignées principales de la variante Delta au Maroc, la lignée AY.33 étant la plus dominante de toutes. Il y avait plusieurs mutations communes parmi ces six sous-lignées. Cependant, la plupart de ces mutations ont été trouvées dans d'autres parties du monde, ce qui suggère que la variante Delta est une variante importée au Maroc. Un clade homologue marocain issu de l'étude phylogénétique a confirmé cette hypothèse. Nous avons également remarqué que ces variantes communes affectent principalement le gène S ; ceci a été observé à la fois au Maroc et dans d'autres parties du monde.

Avec ces résultats, nous pouvons dire que la variante Delta continue d'évoluer et qu'une étude continue du comportement génétique de la variante sera cruciale pour avoir une chance de combattre ce virus par les interventions thérapeutiques nécessaires.

Enfin, notre étude a permis d'identifier plusieurs clades homologues qui peuvent servir de base à une étude ancestrale des origines spécifiques des mutations.

Mots Clés : SRAS Cov-2, COVID, Variant de Delta.

ABSTRACT

The constantly changing nature of the COVID-19, giving birth to new and more dangerous variants, is of utmost concern to scientists. This calls for a close genomic study of the various lineages available. This study investigates the gradual evolution of the Delta variant of SARS-COV-2. About 452 sequences were analyzed; 72 of them were from Morocco and the rest were downloaded from GISAID from 15 other countries. The 72 Moroccan Delta sequences were aligned using BWA and Lofreq for variant calling with reference genome MN908947.3 downloaded from NCBI, and were finally annotated using SnpEff. With the help of python scripts, all VCF files were converted in a single Microsoft Excel document. Using the same reference genome, Mafft (online) was used for Covid-19 alignment. PhyML helped to generate a phylogenetic tree with all 452 sequences, which was visualized using Figtree.

There are six main sub-lineages of the Delta variant in Morocco, with AY.33 the most dominant lineage of them all. There were several common mutations amongst these six sub-lineages. However, most all of these mutations were found in other parts of the world, which suggest the Delta variant is an imported variant in Morocco. A homologous Moroccan clade from the phylogenetic study affirmed this claim. Also, we noticed that these common variants predominantly affect the S gene; this was observed both in Morocco and other parts of the world.

With these findings, we can say the Delta variant continues to evolve and a continuous study of the genetic behaviour of the variant will be crucial to have a chance to combat this virus through the necessary therapeutic interventions.

Finally, our study identified several homologous clades which may serve as a bedrock for the further ancestral study of specific origins of mutations.

Key Words: SARS Cov-2, COVID, Variant Delta.

نبذة مختصرة

الطبيعة المتغيرة باستمرار لـ COVID-19 ، تولد متغيرات جديدة وأكثر خطورة ، وهو مصدر قلق كبير للعلماء ، هذا يستدعي دراسة جينية دقيقة للأنساب المختلفة المتاحة.

تبحث هذه الدراسة في التطور التدريجي لمتغير دلتا من SARS-COV-2، تم تحليل حوالي 452 تسلسل، 72 منهم من المغرب والباقي تم تنزيله من GISAID من 15 دولة أخرى.

تمت محاذاة 72 تسلسل دلتا مغربيًا باستخدام BWA و Lofreq للاتصال المتغير مع الجينوم المرجعي MN908947.3 الذي تم تنزيله من NCBI وتم شرحه أخيرًا باستخدام SnpEff.

بمساعدة نصوص Python ، تم تحويل جميع ملفات VCF إلى مستند Microsoft Excel واحد،

باستخدام نفس الجينوم المرجعي ، وتم استخدام Mafft (عبر الإنترنت) لمحاذاة Covid-19.

ساعد PhyML في إنشاء شجرة نسج مع جميع التسلسلات البالغ عددها 452 ، والتي تم تصورها باستخدام شجرة التين.

هناك ستة سلالات فرعية رئيسية لمتغير دلتا في المغرب ، مع AY.33 و هي السلالة الأكثر هيمنة منهم جميعًا.

يوجد العديد من الطفرات الشائعة بين هذه السلالات الفرعية الست. ومع ذلك ، تم العثور على معظم هذه الطفرات في أجزاء أخرى من العالم ، مما يشير إلى أن متغير دلتا هو متغير مستورد في المغرب.

وأكد هذا الادعاء فرع مغربي متماثل في دراسة النشوء والتطور. أيضًا لاحظنا أن هذه المتغيرات الشائعة تؤثر في الغالب على الجين S ؛ وقد لوحظ هذا في كل من المغرب وأجزاء أخرى من العالم.

من خلال هذه النتائج ، يمكننا القول أن متغير دلتا يستمر في التطور وأن الدراسة المستمرة لسلوك الجيني للمتغير ستكون حاسمة للحصول على فرصة لمكافحة هذا الفيروس من خلال التدخلات العلاجية اللازمة.

أخيرًا ، حددت دراستنا العديد من الكتل المتجانسة التي قد تكون بمثابة حجر الأساس لمزيد من دراسة الأجداد لأصول محددة للطفرات.

الكلمات الرئيسية :

SRAS Cov-2, COVID, Variant de Delta

LISTE D'ABBREVIATION

ACE2 : Angiotensin-Converting Enzyme 2 (Enzyme de conversion de l'angiotensine 2)

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire

ARN : Acide ribonucléique

BAM : Binary Alignment Map (Carte d'alignement binaire)

BTIs: Breakthrough Infections (Infections de rupture)

BWA : Burrows-Wheeler Aligner

CNRST : Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique

COVID-19: Coronavirus disease 2019

COVs: Corona viruses

ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

EPIs: Equipements de protection individuelle

ER : Réticulum endoplasmique

ERGIC : Compartiment intermédiaire du réticulum endoplasmique et du Golgi

GISAID : Global Initiative on Sharing All Influenza Data

GTR : Generalised time reversible

HCWs : Health care workers

HEC : Heure d'Europe centrale

HECA2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2 humaine

ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses

INPs: Interventions non-pharmaceutiques

IRMA : Iterative Refinement Meta-Assembler

MAFFt: Multiple alignment using fast Fourier transform

MERS-COV : Middle East respiratory syndrome–related coronavirus

NCBI-SRA : National Center for Biotechnology Information-Sequence Read Archive

nCOV: Un autre terme pour Covid-19

NGS : New generation sequencing

NSP : Protéines non structurales

OMS : L'organisation mondiale de la sante

ORF : Open reading frames

PCR : Polymerase chain reaction

PHEIC : Public Health Emergency of International Concern

RUO : Research Use Only (Utilisation à des fins de recherche uniquement)

SAM : Sequence Alignment Map (Carte d'alignement des séquences)

SIDA : Le syndrome d'immunodéficience acquise

SRAS : Le syndrome respiratoire aigu sévère

SRAS-COV-2 : Le syndrome respiratoire aigu sévère de coronavirus 2

TMPRSS2 : Protéase sérine transmembranaire 2

VCF : Variant call format

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VOC : Variant of concern

WHO : World health organization.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Chronologie des événements clés de l'épidémie de COVID-19.....	4
Figure 2: Arbre phylogénétique des séquences génomiques complètes du SARS-CoV-2.	6
Figure 3: La structure du coronavirus.	8
Figure 4: Organisation du génome de SRAS COV 2.....	9
Figure 5: Le cycle de vie du SRAS-CoV-2 dans les cellules hôtes.	10
Figure 6 : Les mutations de la protéine spike trouvées dans la variante B.1.6172.....	12
Figure 7: Efficacité des vaccins contre les variantes Alpha et Delta, selon la dose et le type de vaccin.	21
Figure 8: Exemples de produits liés au séquençage du SRAS-CoV-2	23
Figure 9: Les objectifs de santé publique du séquençage génomique du SRAS-CoV-2.	25
Figure 10: Pays avec le nombre de séquences transmises au GISAID et technologies utilisées. .	26
Figure 11: Méthodes et Matériels de la première partie pratique	33
Figure 12 : Différents pays et du nombre de séquences utilisées pour cette étude.....	34
Figure 13 : Méthodes et Matériels de la deuxième partie pratique.....	35
Figure 14 : Résultats après annotation et affichés sur des feuilles Excel.....	37
Figure 15 : Un arbre phylogénétique.	44
Figure 16 : Clade 1 d'un arbre phylogénétique	45
Figure 17 : Clade 2 d'un arbre phylogénétique.	46
Figure 18 : Clade 3 d'un arbre phylogénétique.	47
Figure 19 : Clade 4 d'un arbre phylogénétique.	48
Figure 20 : Clade 5 d'un arbre phylogénétique.	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Mutations caractéristiques de B.1.617.2.	13
Tableau 2 : Les différentes sous-lignées du Delta identifiées au Maroc.....	40
Tableau 3 : Les mutations communes de B.1.617.2 et AY.33 au Maroc avec leurs gènes affectant.	41
Tableau 4: Les mutations communes de la variante Delta dans le monde (selon outbreak.info) .	42
Tableau 5 : Tableau descriptive du ligné AY.33 et B.1.617.1 du variant Delta.....	51

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
I. HISTORIQUE.....	3
II. LIGNÉES.....	6
Taxonomie.....	6
Phylogénie.....	7
III. L'ARCHITECTURE DE SRAS COV 2 ET CYCLE DE VIE.....	8
3.1. Structure virale.....	8
3.2. Structure génomique.....	9
3.3. Cycle de Vie.....	10
IV. Variant DELTA du SRAS COV-2 (B.1.617.2).....	12
4.1. Pathogenèse de B.1.617.2.....	12
4.2. Transmissibilité.....	14
V. COVID AU MAROC.....	17
5.1 Diversité génétique du SRAS COV-2.....	17
5.2 Delta variant point de vue globale.....	18
VI. OUTILS DE SURVEILLANCE GÉNOMIQUE.....	22
6.1 Réseaux de surveillance génomique.....	27
6.2. Surveillance génomique au Maroc.....	28
I. MATERIEL ET METHODE.....	31
<i>Première partie pratique.....</i>	31
1. ACQUISITION DES DONNÉES.....	31
2. SÉQUENÇAGE DES DONNÉS ACQUIS.....	31
3. VARIANT CALLING.....	32
4. ANALYSE DES MUTATIONS.....	32
<i>Deuxième partie pratique.....</i>	33
1. ACQUISITION DES DONNÉES.....	33
2. GENERATION, VISUALIZATION ET ANALYSIS D'ARBRE PHYLOGENETIC.....	34
RÉSULTATS.....	36
DISCUSSION.....	50
CONCLUSION.....	55
PERSPECTIVE.....	56
RÉFÉRENCES.....	57

INTRODUCTION

À la fin du mois de Décembre 2019, une infection virale émergente COVID-19 a été identifiée à Wuhan, Chine, et est devenue une pandémie mondiale. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré l'épidémie de COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) comme une urgence de santé publique de portée internationale le 30 Janvier 2020, et comme une pandémie le 11 Mars 2020 ^(1,2). Cette déclaration était due à la rapidité de la transmission de la maladie dans un délai très court.

Dans le monde, à 17h15 HEC, le 21 Décembre 2021, 274 628 461 cas confirmés de COVID-19, dont 5 358 978 décès, ont été signalés à l'OMS. Au 20 Décembre 2021, un total de 8 387 658 165 doses de vaccin a été administrées ⁽³³⁾. La mortalité due au SRAS-CoV-2 diffère considérablement selon la région géographique ⁽¹⁷⁾. Les virus à ARN, y compris le SRAS-CoV-2, présentent des taux de mutation élevés, qui sont significativement corrélés avec les taux de mortalité, une virulence et une évolutivité accrue des virus ⁽¹⁸⁾.

Son taux élevé de transmission témoigne de son taux élevé d'évolution. Au moment où nous écrivons ces lignes, il existe une nouvelle variante préoccupante (VOC), la variante Omicron, qui a un taux de transmission plus élevé que toutes les autres variantes du SRAS-COV-2. Il est essentiel de prêter une attention particulière à la manière dont le virus évolue et aux endroits de sa structure où il est muté pour pouvoir prédire son prochain mouvement. Ainsi, nous savons également où chercher les possibles nouvelles mutations du génome viral.

Dans cette étude, nous nous concentrerons sur la variante aussi hautement transmissible (au commencement de ce travail) du SRAS-COV-2, la variante Delta au Maroc, et sur la manière dont la connaissance de son évolution peut contribuer à freiner cette guerre micro-organique dans laquelle nous nous trouvons.

Nous alignerions les séquences Delta du Maroc et rechercherions les mutations les plus courantes dans ces séquences, puis nous comparerions ces résultats aux mutations les plus courantes circulant dans le monde. Nous générerions également un arbre phylogénétique à partir des séquences du Maroc et d'autres parties du monde afin de comparer leurs évolutions.



REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. HISTORIQUE

L'histoire de l'humanité a été marquée par des maladies épidémiques. Nous pouvons parler du choléra, s'ajoutent la variole, le typhus, la fièvre jaune, la grippe espagnole de 1918 et plus près de nous, le virus Zika, la fièvre Ebola, le SRAS, sans oublier le VIH/SIDA et maintenant la Covid-19.

La COVID-19 est devenu la cinquième pandémie documentée depuis la pandémie de grippe de 1918. Les chercheurs pensent que le SRAS-CoV-2 est un débordement d'un coronavirus animal et qu'il a ensuite adapté sa capacité de transmission interhumaine.

La pandémie actuelle est partie de façon progressive de certaines régions de la Chine en 2002. L'épidémie de SRAS (Syndrome respiratoire aigu sévère) est devenue mondiale en 2003. Elle toucha une trentaine de pays. La Chine et Hong Kong concentrant 80% des victimes. C'est le SRAS-CoV, virus de la famille des coronavirus, qui en est la cause et dont le réservoir serait les animaux ; chauves-souris, mais il aurait transité par la civette, vendue sur les marchés aux animaux de la région du Guangdong.

Jusque-là, cette famille de virus n'avait jamais provoqué chez l'homme, que des rhumes sans gravité. L'épidémie a pu être endiguée par des mesures d'isolement et de quarantaine et l'agent causal du SRAS, un coronavirus totalement inconnu, a pu être identifié. Une nouvelle infection à coronavirus, par le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), est apparue au Moyen-Orient et dans la péninsule arabique en 2012. Le vecteur de ce virus serait les camélidés, mais le réservoir pourrait être, comme pour le SRAS, la chauve-souris (10).

Lorsque, dans des années, on écrira l'histoire de la COVID-19, il faudra distinguer trois phases distinctes : les origines, l'explosion localisée et la propagation finale à l'échelle mondiale. Et il y aura des corollaires : le premier, et le plus important, sera de comprendre si les transitions d'une phase à l'autre étaient accidentelles ou prévisibles. Après l'épidémie de SRAS-CoV de 2002-2003, un certain nombre de nouveaux coronavirus, appelés SARS-like-CoV (CoV analogues au SRAS), ont été découverts chez des chauves-souris du genre *Rhinolophes* dans plusieurs provinces chinoises. Initialement, ils étaient incapables d'utiliser les récepteurs ECA2 et n'étaient donc pas considérés comme capables d'infecter les humains.

En 2013, différents CoVs similaires au SRAS ont été découverts dans une seule colonie de chauves-souris Rhinolophes dans la province chinoise du Yunnan. Trois d'entre eux, W1V1, W1V16 et RaTG13, avaient la capacité d'utiliser l'ECA2 pour pénétrer dans les cellules humaines. Les trois CoV analogues au SRAS présentaient une identité d'environ 95 % avec le SRAS-CoV et s'étaient adaptés aux récepteurs ECA2(11).

Il existe de nombreuses indications indirectes d'une activité inconnue du SRAS-CoV-2 dans la période pré-Wuhan. Au premier semestre 2019, y compris les premiers mois d'été, les cas de grippe en Chine ont dépassé le total des quatre années précédentes, avec environ 270 décès. Il est intéressant de noter que l'infection par la COVID-19 pourrait s'être propagée à d'autres pays également au cours des derniers mois de 2019 (11). Le 31 décembre, la Commission municipale de la santé de Wuhan a informé le public d'une épidémie de pneumonie de cause non identifiée (figure 1) (12). Cette découverte a été portée à la connaissance de l'OMS. Selon une étude rétrospective, l'apparition du premier cas connu remonte au 8 décembre 2019. Au cours des 10 mois suivants, plus de 30 millions de cas ont été confirmés dans le monde (12).

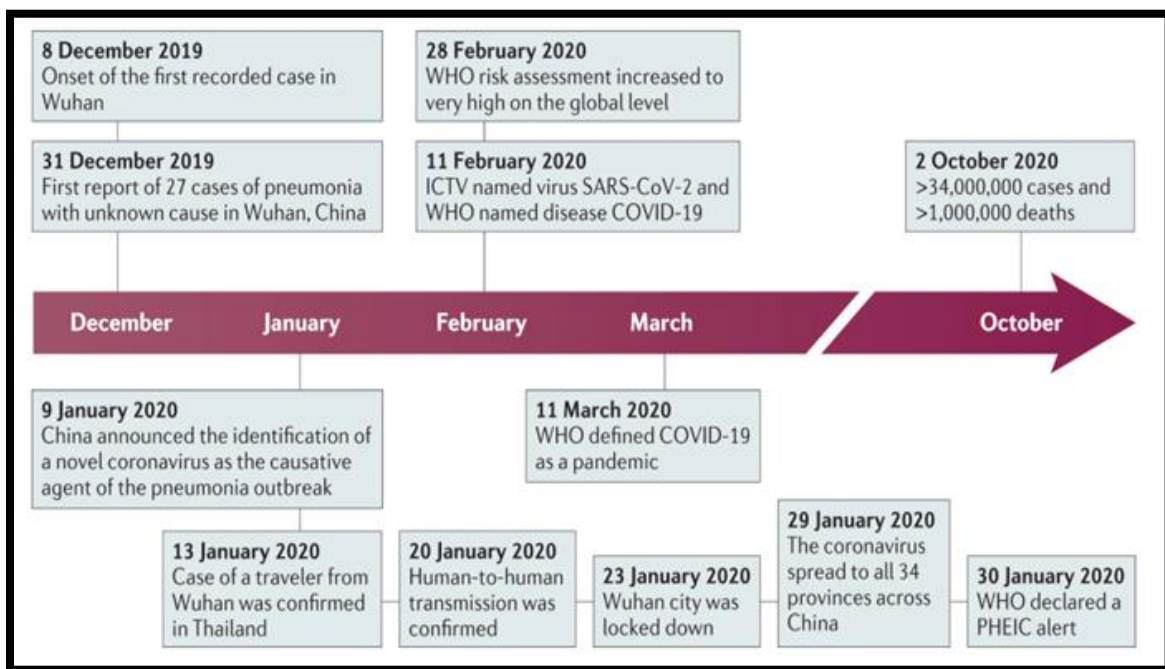


Figure 1 : Chronologie des événements clés de l'épidémie de COVID-19.

Le SRAS-CoV-2 est le septième coronavirus connu pour infecter l'homme ; le SRAS-CoV, le MERS-CoV et le SRAS-CoV-2 peuvent provoquer une maladie grave, tandis que les virus HKU1, NL63, OC43 et 229E sont associés à des symptômes légers (13).

Indépendamment des mécanismes exacts par lesquels le SRAS-CoV-2 est apparu par sélection naturelle, la surveillance continue de la pneumonie chez l'homme et les autres animaux est manifestement de la plus haute importance (13).

II. LIGNÉES

Taxonomie

Le SRAS COV 2 est un virus d'une membrane enveloppée dont le genome est constitué d'un seul brin d'ARN positif qui font partie d'ordre Nidovirales et sous ordre Coronidovirinea. Ce sous-ordre contient une seule famille virale, le Coronaviridae qui est à son tour divisé en deux sous-famille, Letovirinae et l'Orthocoronavirinae ⁽⁷²⁾. Le SRAS COV 2 fait partie de sous-famille l'Orthocoronavirinae et le genre Betacoronavirus. Encore plus, le Betacoronavirus contient 5 sous-genres (Embecovirus, Hibecovirus, Merbecovirus, Nobecovirus, and Sarbecovirus), duquel le SRAS COV 2 fait partie de sous genre Sarbecovirus (*voir Figure 2*) ⁽¹²⁾.

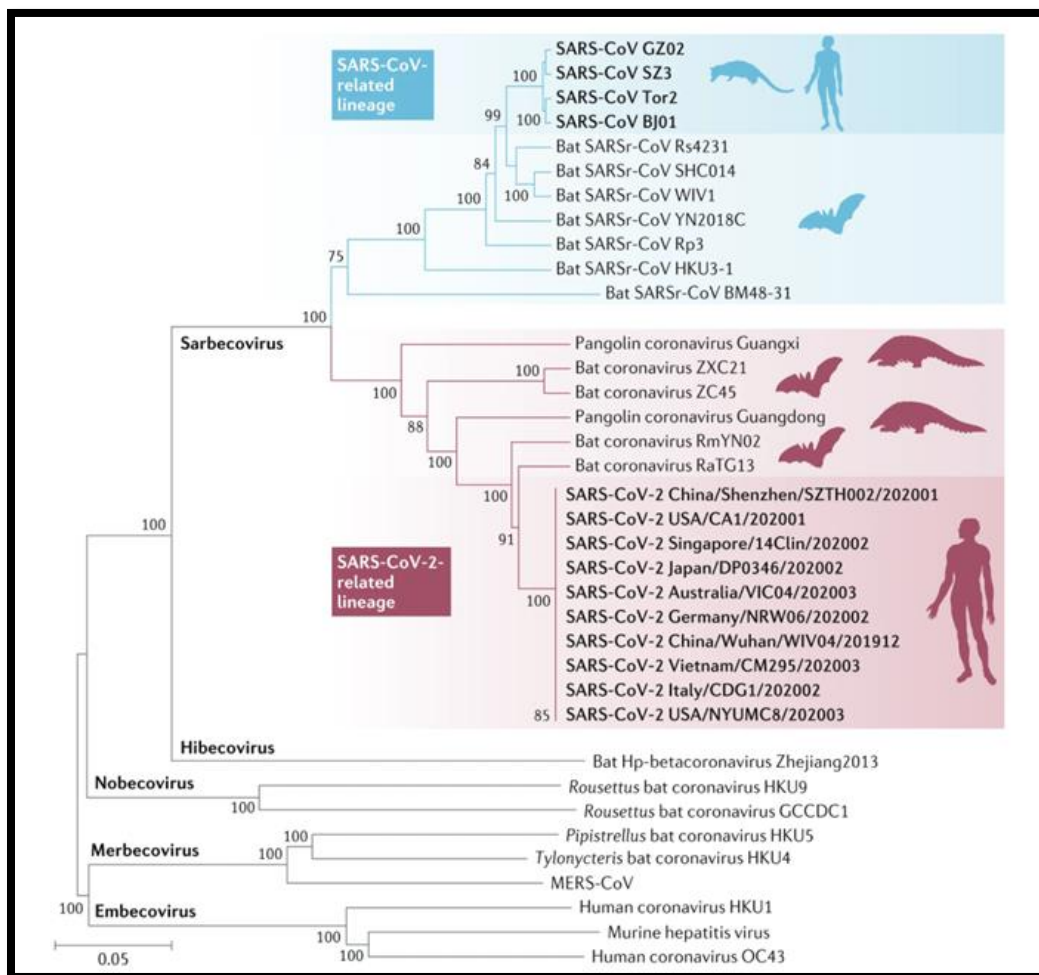


Figure 2: Arbre phylogénétique des séquences génomiques complètes du SARS-CoV-2.

Phylogénie

L'analyse phylogénétique de l'ensemble du génome montre que le SRAS-CoV-2 est regroupé avec le SRAS-CoV. Les coronavirus apparentés au SRAS (SARSr-CoVs) trouvés chez les chauves-souris, ce qui le place dans le sous-genre Sarbecovirus du genre Betacoronavirus. Au sein de ce clade, le SRAS-CoV-2 est regroupé dans une lignée distincte avec quatre isolats de coronavirus de chauve-souris en fer à cheval (RaTG13, RmYN02, ZC45 et ZXC21) ; ainsi que de nouveaux coronavirus récemment identifiés chez les pangolins, qui se regroupent parallèlement au SRAS-CoV et aux autres SARSr-CoVs (*Voir Figure 2*) ⁽¹²⁾.

III. L'ARCHITECTURE DE SRAS COV 2 ET CYCLE DE VIE

3.1. Structure virale

Le noyau viral du SRAS COV-2 est entouré d'une enveloppe lipoprotéique qui se forme pendant le bourgeonnement du virus à partir des membranes intracellulaires. La caractéristique la plus marquante du virion du coronavirus est le "halo de couronnes" qui tapisse l'extérieur du virion. Ces longues protéines (20 nm de longueur) sont constituées de la glycoprotéine spike (S) et sont présentes sur tous les coronavirus. La glycoprotéine de la matrice (M), parce qu'elle traverse trois fois la bicouche lipidique, est considérée comme un composant de la structure interne du noyau et de l'enveloppe. La protéine d'enveloppe (E) fait également partie de l'enveloppe virale, mais en quantité beaucoup plus faible que les autres protéines d'enveloppe virale ⁽¹⁵⁾.

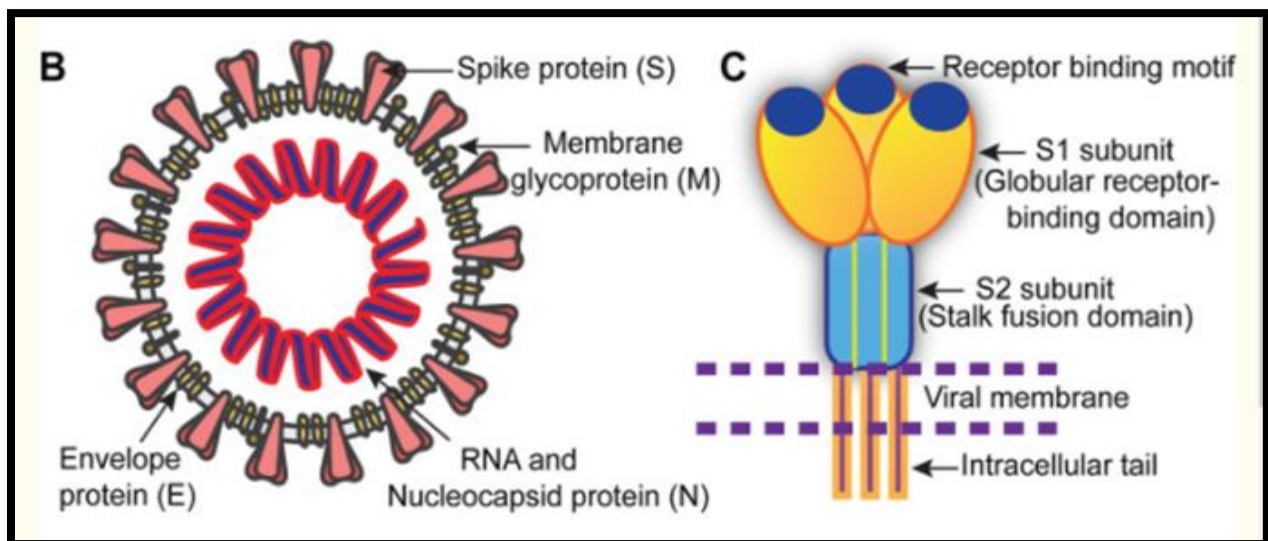


Figure 3: La structure du coronavirus.

(B) Schéma de la structure du SRAS-CoV-2 (C) La carte illustre les principales caractéristiques et la structure trimère de la protéine S du SRAS-CoV-2.

3.2. Structure génomique

En tant que nouveau bêta-coronavirus, le SRAS-CoV-2 présente une identité de séquence génomique de 79 % avec le SRAS-CoV, c'est à dire que le SRAS-CoV-2 présente une organisation génomique similaire à SRAS-COV ⁽¹²⁾. Les deux tiers 5' du génome de SRAS-COV 2 codent pour les protéines du gène 1 associées à la synthèse de l'ARN viral et le tiers 3' est responsable du codage de toutes les protéines structurales et accessoires ⁽⁷³⁾.

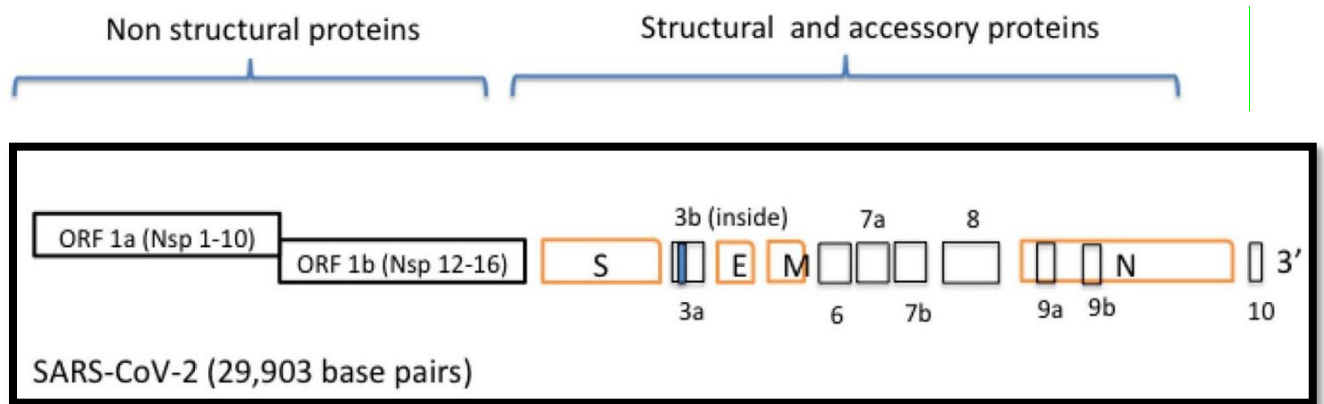


Figure 4: Organisation du génome de SRAS COV 2.

Dans le SRAS-CoV-2, les deux premiers tiers du génome sont constitués des gènes de la réplicase codant pour de grandes polyprotéines, pp1a et pp1ab, qui sont ensuite converties en 16 protéines non structurales par le processus de clivage protéolytique utilisant plusieurs protéases : une protéase de type chymotrypsine codée par le virus et deux protéases de type papaïne. Les cadres de lecture ouverts (ORF) pour les protéines structurales comme les protéines de la pointe (S), de l'enveloppe (E), de la membrane (M) et de la nucléocapside (N) occupent le tiers restant du génome ⁽⁷³⁾.

3.3. Cycle de Vie

Le cycle de vie réplcatif des virus varie fortement en fonction de l'espèce et de la catégorie du virus. Cependant, la réplication des virus comprend généralement six étapes principales qui commence avec l'attachement de protéine spike de SRAS COV-2 à l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA2). Cet attachement est fait par une signalisation cellulaire entre ECA2 et la protéine S. C'est la glycoprotéine spike qui conduit l'infection de la cellule hôte en facilitant l'attachement viral à l'ECA2 ⁽²²⁾.

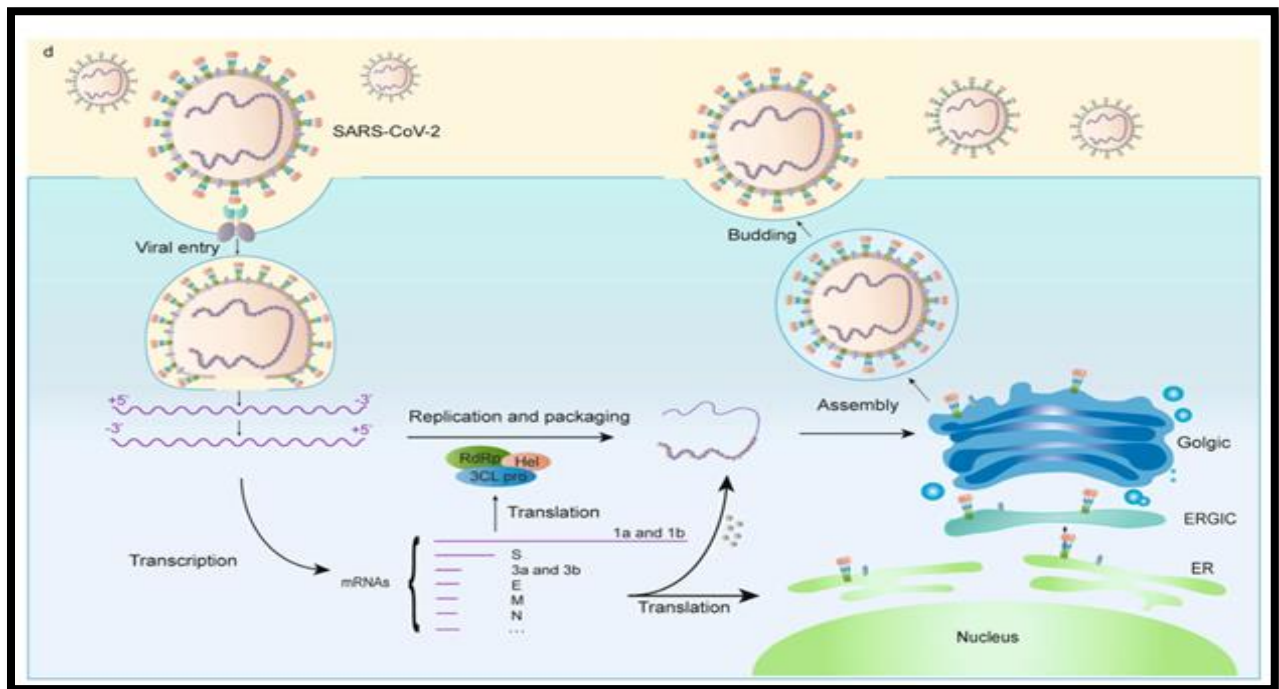


Figure 5: Le cycle de vie du SRAS-CoV-2 dans les cellules hôtes.

Une fois le SRAS COV 2 s'attache à la protéine spike, le virus entre dans la cellule et son complexe de replication virale est inséré dans le cytoplasme de la cellule hôte. Ce complexe de replication est transcrit en mARN qui à son tour sera traduit en protéine structurelles et non-structurelles (NPS) ⁽¹⁶⁾.

Ensuite, la réplication et la transcription du génome ARN viral se produisent via le clivage des protéines et l'assemblage du complexe réplécase-transcriptase. Ce dernier est médié par nsp12 qui abrite l'activité ARN polymérase ARN dépendante (RdRp) ⁽¹⁶⁾.

L'ARN viral est répliqué et les protéines structurelles sont synthétisées, après laquelle l'étape d'"assemblage" ou de "maturation" a lieu. Au cours de l'assemblage les protéines structurelles virales nouvellement synthétisées (*E, M et S*) sont insérées dans le compartiment intermédiaire du réticulum endoplasmique et du Golgi (*ERGIC*). Les génomes viraux recouverts de la protéine N entrent ensuite dans l'ERGIC par bourgeonnement pour former des virions matures. Les virions matures se déplacent ensuite vers la surface cellulaire à l'intérieur de vésicules et sortent des cellules par exocytose ⁽²²⁾.

IV. Variant DELTA du SRAS COV-2 (B.1.617.2)

4.1. Pathogenèse de B.1.617.2

Le variant Delta du SRAS-CoV-2, B.1.617.2, présente 23 mutations par rapport à la première souche COVID-19 identifiée (variant alpha) (67). Douze de ces mutations se trouvent dans la protéine spike (voir la figure 6). La protéine spike permet la fixation des cellules hôtes pour permettre l'entrée dans les cellules. La protéine spike est également la protéine ciblée par le système immunitaire pour l'éradication du virus. Une fois que la protéine spike est reconnue comme étrangère par le système immunitaire, les cellules B produisent des anticorps qui se fixent sur cette protéine spike pour l'éradiquer. La protéine spike est composée de deux sous-unités, appelées S1 et S2. S1 se lie au récepteur ACE2, et S2 aide à la fusion et à l'intégration du virus dans la cellule hôte (68). Plus les protéines spike mutent, plus il est difficile pour le système immunitaire de les identifier et pour les anticorps de se fixer pour éradiquer le virus. Cette nouvelle protéine spike qui échappe au système immunitaire permet une meilleure fixation aux cellules humaines, les infectant ainsi plus efficacement.

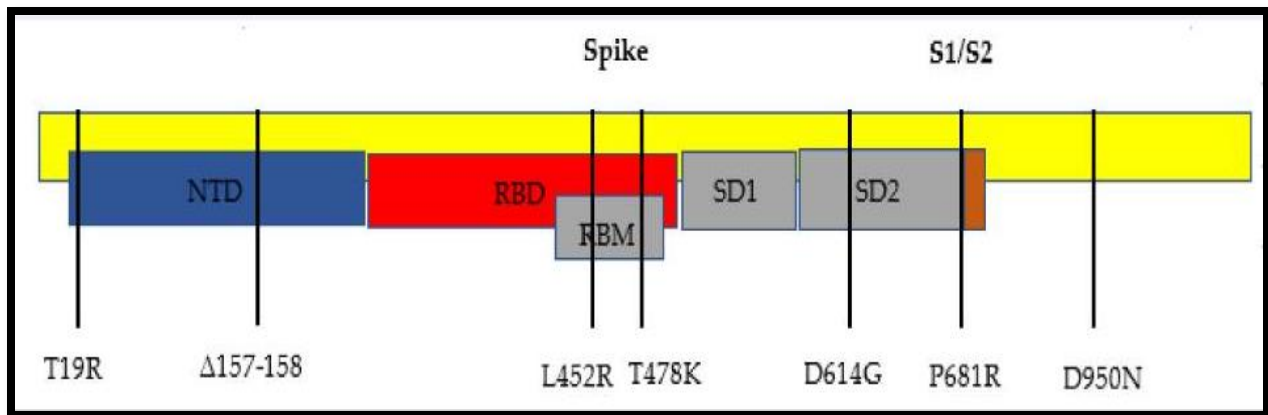


Figure 6 : Les mutations de la protéine spike trouvées dans la variante B.1.617.2.

NTD = domaine N-terminal, RBD = domaine de liaison aux récepteurs, RBM = motif de liaison aux récepteurs, SD1 = sous-domaine 1, et SD2 = sous-domaine 2 (69).

GÈNE	ACIDE AMINÉ	GÈNE	ACIDE AMINÉ	GÈNE	ACIDE AMINÉ	GÈNE	ACIDE AMINÉ
S	T19R	ORF1a	A1306S	ORF1b	G662S	ORF7b	T40I
S	del157/158	ORF1a	P2046L	ORF1b	P1000L	ORF8	del119/120
S	L452R	ORF1a	P2287S	ORF1b	A1918V	N	D63G
S	T478K	ORF1a	V2930L	ORF3a	S26L	N	R203M
S	D614G	ORF1a	T3255I	M	I82T	N	D377Y
S	P681R	ORF1a	T3646A	ORF7a	V82A		
S	D950N	ORF1b	P314L	ORF7a	T120I		

Tableau 1: Mutations caractéristiques de B.1.617.2.

S = gène de la protéine de pointe, N = gène de la nucléocapside, ORF = gène des cadres de lecture ouverts, et M = gène de la protéine de membrane (70).

La Covid est toujours une maladie en cours et en constante évolution, notamment sur le plan génétique. Et cela affecte également ses effets pathologiques sur une population. Cela va donc influencer les signes et les symptômes de son infection. Elle affecte différentes personnes de différentes manières. La plupart des personnes infectées développent une maladie légère à modérée et se rétablissent sans être hospitalisées. Il faut 5 à 6 jours à partir du moment où une personne est infectée par le virus pour que les symptômes apparaissent, mais cela peut prendre jusqu'à 14 jours. Les personnes atteintes de COVID-19 ont rapporté un large éventail de symptômes - allant de symptômes légers à une maladie grave.

4.2. Transmissibilité

Le principal mode d'infection par le SRAS-CoV-2 (le virus à l'origine de la COVID-19) est l'exposition à des fluides respiratoires porteurs du virus infectieux. L'exposition se produit de trois façons principales :

1. Inhalation de très fines gouttelettes respiratoires et de particules d'aérosol.
2. Dépôt de gouttelettes et de particules respiratoires sur les muqueuses exposées de la bouche, du nez ou des yeux par des éclaboussures et des pulvérisations directes.
3. Le contact des muqueuses avec des mains qui ont été souillées soit directement par des fluides respiratoires contenant des virus, soit indirectement en touchant des surfaces sur lesquelles se trouvent des virus ⁽²⁴⁾.

La présence du virus dans les fèces, le sang et d'autres fluides biologiques suggère d'autres modes de transmission potentiels. La période d'incubation du SRAS-CoV-2 est comprise entre 1 à 14 jours. Les personnes asymptomatiques peuvent transmettre le virus pendant cette période. Chez la plupart des enfants et des adultes, la Covid-19 se manifeste par des symptômes légers de type grippal. Cependant, les patients présentant d'autres comorbidités peuvent développer un syndrome de détresse respiratoire aiguë, une insuffisance respiratoire, une défaillance de plusieurs organes et même le décès (22).

La transmission du SRAS-CoV-2 par l'inhalation du virus dans l'air à plus de deux mètres d'une source infectieuse peut se produire (31,32). Selon les rapports publiés, les facteurs de risque d'infection par le SRAS-CoV-2 dans ces conditions sont les suivants :

1. Les espaces clos avec une ventilation ou un traitement de l'air inadéquat à l'intérieur desquels la concentration des fluides respiratoires expirés, en particulier les gouttelettes très fines et les particules d'aérosol, peut s'accumuler dans l'espace aérien.
2. Augmentation de l'exhalation de fluides respiratoires si la personne contagieuse est engagée dans un effort physique ou élève la voix (par exemple, en faisant de l'exercice, en criant, en chantant).
3. Exposition prolongée à ces conditions, généralement plus de 15 minutes.

Le nombre de reproductions, ou "R naught" (R_0), est un terme mathématique qui définit la contagiosité (29). En d'autres termes, il s'agit d'un calcul de la capacité de propagation moyenne d'une maladie infectieuse ; nombre de personnes qu'un hôte malade peut infecter. Si le R_0 est inférieur à 1, la maladie disparaît. Si le $R_0 \geq 1$, alors la maladie se propagera entre les personnes. Le R_0 du SARS-CoV-2 original de Wuhan a été estimé à environ 2.71 (40). Cela signifie qu'un individu infecté par Covid-19 peut potentiellement infecter trois autres individus. Cette valeur a changé avec l'émergence de nouveaux variants ayant un taux de transmissibilité plus élevé. D'après une étude initiale menée en Italie pendant la première phase de la pandémie, le R_0 du SRAS-CoV-2 était d'environ 2,43 à 3,10 (39) tandis que le R_0 pour la variante Delta du SRAS-CoV-2 varie de 3,2 à 8, avec une moyenne de 5,08 (74).

Aux premiers stades de cette pandémie, les interventions pharmaceutiques n'étaient pas disponibles (du moins pas encore), ce qui a entraîné la mise en œuvre d'autres mesures de santé publique. Il s'agit des interventions non pharmaceutiques (INPs), qui contribuent largement à réduire la propagation des infections. En outre, après la disponibilité de certaines interventions pharmaceutiques (vaccins), le changement constant et l'évolution virale ont donné naissance à de nouvelles souches virales. Dans une certaine mesure, ces nouveaux brins ont rendu les interventions pharmaceutiques inefficaces et n'ont pas permis de protéger totalement un individu contre le virus. Il était donc nécessaire de combiner des interventions pharmaceutiques et non pharmaceutiques pour lutter contre la propagation du virus.

Les INPs courantes comprennent:

1. L'utilisation d'équipements de protection individuelle (EPIs) ; l'utilisation par la communauté de masques bien ajustés par exemple, des masques de protection, des masques de procédure/chirurgicaux)
2. Pratiques d'hygiène au niveau individuel ; Se laver et se désinfecter efficacement les mains aussi souvent que possible, et surtout après être revenu d'un lieu public.
3. La désinfection et les mesures de distanciation sociale au niveau communautaire ; l'évitement des espaces intérieurs surpeuplés.
4. Ventilation naturelle adéquate et appropriée des salles.

Ces mesures réduisent la transmission en interférant avec un mode unique ou des modes multiples de transmission. En particulier, dans les établissements de soins de santé, différentes INPs font

partie des précautions standard ou des précautions basées sur la transmission. Ces méthodes réduiront la transmission à la fois par inhalation du virus et par dépôt du virus sur les muqueuses exposées

Malgré ces lacunes dans les connaissances, les données probantes disponibles continuent de démontrer que les recommandations existantes des INPs visant à prévenir la transmission du SRAS-CoV-2 demeurent efficaces. (24). Des preuves mécanistes soutiennent l'efficacité des INPs en ce qui concerne la réduction du virus ; pourtant, il faudra plus de données sur leur efficacité à réduire la transmission. Il est essentiel de comprendre la contribution relative des différents modes de transmission pour déterminer l'efficacité des interventions non pharmaceutiques dans la population (25).

V. COVID AU MAROC

Dans le cadre du dispositif national de veille et de surveillance épidémiologique, et en exécution de sa politique de communication, le Ministère de la Santé, Pr. Khalid AIT TALEB, annonce l'enregistrement du premier cas confirmé du nouveau Coronavirus. Il a été découvert à l'Institut Pasteur du Maroc, dans la soirée du lundi 02 mars 2020, chez un ressortissant marocain résidant en Italie (5). Cependant, l'état du patient n'était pas à un stade avancé, et il a été stabilisé ; il était cependant isolé au niveau de l'unité d'isolement de l'hôpital Moulay Youssef de Casablanca. Même s'il s'agissait du premier cas enregistré avec preuves, cela ne signifie pas nécessairement qu'il était le seul infecté dans le pays à ce moment-là. En outre, selon toute probabilité, le SRAS-CoV-2 a circulé de manière cryptique au Maroc, à partir du 15 janvier 2020 avant que le premier cas ne soit officiellement découvert en mars 2020. (6).

Depuis l'enregistrement du premier cas au Maroc, le virus a évolué comme c'est l'habitude des virus. Dans la nature, l'évolution des virus passe par de nombreux mécanismes, parmi lesquels la substitution de nucléotides est de la plus haute importance. L'épidémiologie génomique des virus émergents est d'une importance capitale pour saisir l'évolution et la propagation des virus. Cette approche s'est avérée très efficace lors de l'épidémie du virus Ebola en Afrique de l'Ouest et de la propagation du virus Zika au Brésil.

5.1 Diversité génétique du SRAS COV-2

Lemriss et al. (2020, 2 juillet) ont publié un article sur le séquençage complet du génome du SRAS-CoV-2 (7). Ouadghiri et al. (2021, 22 avril) ont aussi annoncé la découverte au Maroc de la nouvelle lignée B.1.1.7 qui est un variant d'émergence du Royaume-Uni (Britannique) qui rend le virus plus transmissible (8). Ces articles et bien d'autres ont confirmé la nature épidémiologique génétiquement diversifiée et génomique du SRAS-CoV-2 au Maroc.

Le 7 juillet 2021, contre la détérioration de la situation épidémiologique, après l'observation d'une accélération des contaminations au nouveau coronavirus pour la deuxième semaine de suite ; le système de veille génomique a détecté de nombreux cas résultant de variants mutants du virus

SARS-CoV, dont 43 cas causés par le mutant Delta dans quatre régions du Maroc (20). Néanmoins, des introductions multiples et non liées du SRAS-CoV-2 au Maroc par différentes voies ont eu lieu, ce qui explique la diversité des génomes du virus dans le pays. L'analyse de 20 génomes marocains du SRAS-CoV-2 suggère que la propagation de l'épidémie au Maroc n'a pas montré une route prédominante du SRAS-CoV-2 et qu'elle a eu pour origine des sources multiples et non liées (17).

On sait que le taux de mutation des virus à ARN contribue à l'adaptation virale. Cette caractéristique du virus créera un équilibre entre l'intégrité de l'information génétique et la variabilité du génome, ce qui permet aux virus d'échapper au système immunitaire de l'hôte et de développer une résistance aux médicaments. Alors, la surveillance de la diversité génétique, de la dynamique et des mutations du SRAS-CoV-2 sont très importantes pour le développement d'antiviraux et de vaccins efficaces qui pourraient arrêter la réplication et la propagation du virus. D'après les données disponibles sur la séquence du génome, il semble que le taux de mutation dans le SARS-CoV-2 est considérablement plus faible que celui signalé pendant l'épidémie de SRAS (18).

Une analyse de 30 983 génomes complets du SRAS-CoV-2 provenant de 79 pays situés sur les six continents et collectés du 24 décembre 2019, au 13 mai 2020. C'était selon la base de données GISAID, l'analyse a révélé la présence de 3206 sites variants, avec une distribution uniforme des types de mutation dans les différentes zones géographiques. De façon remarquable, une faible fréquence de mutations récurrentes a été observée ; seules 169 mutations (5,27 %) avaient une prévalence supérieure à 1 % des génomes. Ces résultats, ainsi que la divergence intra-génomique du SRAS-CoV-2, pourraient indiquer que, contrairement au virus de la grippe ou au VIH, le SRAS-CoV-2 présente un faible taux de mutation ; ce qui rend très probable le développement d'un vaccin mondial efficace (19).

5.2 Delta variant point de vue globale

La lignée Delta (B.1.617.2) première identification a eu lieu en Inde en décembre 2020 et est depuis devenue la variante la plus prévalente dans le monde par rapport aux variantes précédentes

⁽³⁴⁾. Chaque variante a plusieurs désignations basées sur la nomenclature utilisée par des systèmes de classification phylogénétique distincts ; l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a également désigné des étiquettes pour les variantes notables basées sur l'alphabet grec ⁽³⁵⁾. Au moment où nous écrivons ces lignes, il y a eu cinq variantes (VOC) : alpha (Royaume-Uni), bêta (Afrique du Sud), gamma (Japon/Brésil), Delta (Inde) et actuellement omicron (Botswana/Afrique du Sud). Dans cette étude, nous nous concentrerons sur la variante Delta.

Ces variantes partagent une mutation spécifique appelée D614G. Au début de la pandémie, une étude qui a suivi les modifications des acides aminés de la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 incluse dans une vaste base de données de séquences a identifié une substitution D614G ; glycine pour l'acide aspartique. Il est devenu le polymorphisme dominant au niveau mondial au fil du temps ⁽³⁶⁾.

La variante Delta pourrait présenter le risque le plus élevé parmi toutes les variantes du SRAS-CoV-2 présentement en circulation, avec une transmissibilité accrue décrite précédemment par rapport à la variante alpha et, maintenant, la possibilité d'une percée vaccinale (BTIs) ⁽⁵⁵⁾.

Le D614G augmente l'affinité de l'ECA2 et permet aux variantes du virus SRAS-CoV-2 de se lier significativement bien aux cellules humaines. Plus le lien entre le récepteur de l'ECA2 et la variante différente est fort, plus le virus sera pathologique et pourra potentiellement infecter davantage d'organes dans le corps humain. Le même D614G peut expliquer la forte transmissibilité aux VOCs précédents et également parmi les VOCs émergents.

Le Variant Delta et les vaccins

L'étude de l'efficacité des vaccins après leur autorisation d'utilisation sur la population ciblée est très essentielle. Elle permet d'avoir une vision plus claire de la façon dont le corps humain, à grande échelle, réagit aux vaccins. Par le passé, ces études ont contribué à l'élaboration de certaines politiques de santé concernant l'utilisation des vaccins. Ces études sont particulièrement importantes lors de la pandémie de COVID-19, où le déploiement des vaccins a été beaucoup plus rapide que d'habitude ⁽⁴³⁾.

La propagation de la variante Delta s'est accélérée même dans les communautés où le nombre de personnes vaccinées était élevé. Même si la gravité pathologique, les hospitalisations et les décès étaient probablement à leur niveau le plus bas dans ces communautés, le taux d'infection continuait à augmenter. Des études approfondies ont montré que les vaccins ne sont pas nécessairement très

efficaces pour bloquer les infections au sein des populations, mais qu'ils sont très efficaces pour bloquer les maladies graves, les hospitalisations et même les décès.

Les fabricants de vaccins actuels, comme AstraZeneca, Pfizer/BioNTech et Moderna, ont indiqué que leurs vaccins pouvaient offrir une protection contre cette variante, mais avec une efficacité légèrement réduite ⁽⁶⁹⁾. Une étude a été menée en Israël pendant la récente phase dominante Delta de la pandémie. Cette étude a montré que les infections de rupture (BTIs) chez les personnes récemment complètement vaccinées (avec deux doses du vaccin BioNTech, Pfizer) ; ont des charges virales plus faibles que les infections chez les personnes non vaccinées. Cependant, cette formidable diminution de la charge virale commence à diminuer après deux mois et finit par disparaître après six mois. Ils ont découvert que l'effet du BNT162b2 sur la réduction de la charge virale était rétabli après la troisième booster dose. Ces résultats suggèrent que BNT162b2 pourrait réduire le caractère infectieux des BTIs, même avec la variante Delta. Et bien que cet effet protecteur réduit avec le temps, il peut être restauré, au moins temporairement, avec une troisième booster dose du vaccin.

En plus, la seule différence minime dans l'efficacité du vaccin a été notées avec la variante Delta par rapport à la variante alpha après la réception de deux doses de vaccin. Les différences absolues d'efficacité du vaccin étaient plus marquées après la réception de la première dose. Ces résultats appuient les efforts visant à maximiser l'absorption du vaccin avec deux doses chez les populations vulnérables ⁽⁴²⁾.

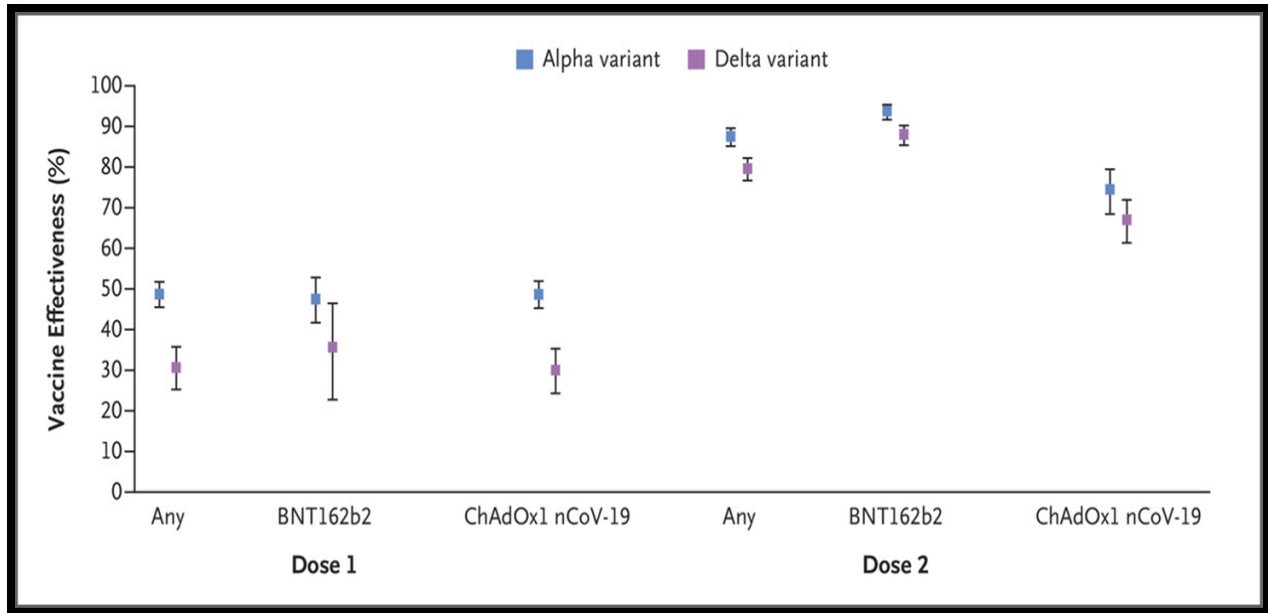


Figure 7: Efficacité des vaccins contre les variantes Alpha et Delta, selon la dose et le type de vaccin.

La figure ci-dessus montre l'efficacité d'une dose et de deux doses des vaccins ; BNT162b2 (BioNTech, Pfizer vaccin) et ChAdOx1 nCoV-19 (Oxford, Astra Zeneca vaccin), ou de l'un ou l'autre vaccin (n'importe lequel), contre la maladie symptomatique avec la variante B.1.1.7 (alpha) ou B.1.617.2 (delta) du SRAS-CoV-2. Les barres I indiquent les intervalles de confiance à 95 %. Une autre étude menée en Inde pendant la poussée de la variante Delta fait état d'un vaccin CHAdOx1 BTIs in Vaccination of health care workers (HCWs) dans trois hôpitaux de Delhi, démontrant une efficacité réduite du vaccin contre B.1.617.2. Par conséquent, des stratégies visant à renforcer les réponses vaccinales contre les variants sont justifiées. Il faut également prêter attention aux procédures de contrôle de l'infection dans la période post-vaccination.

VI. OUTILS DE SURVEILLANCE GÉNOMIQUE

En principe, pour gagner une bataille, il ne suffit pas de disposer d'armes sophistiquées, mais d'informations suffisantes sur votre ennemi. Vous devez savoir ce que vous combattez et comment le faire. Il est probable que vous n'avez pas à vous battre du tout, mais simplement à faire quelques ajustements sur vous-même, et tout ira bien.

Par conséquent, pour avoir une chance d'éradiquer ou de réduire significativement l'effet de la COVID-19, il faut avoir suffisamment d'informations sur lui. Sa composition génétique, son fonctionnement dans le corps, ses forces et ses faiblesses au niveau génétique et comment il évolue et change sa composition génétique au fil du temps. Ces informations aideront et guideront les chercheurs dans la bonne direction pour se débarrasser de ce virus.

Toutes ces informations ont été rendues possibles grâce aux progrès énormes de la technologie du séquençage du génome. Les séquences génomiques du SRAS-CoV-2 sont générées et partagées à un rythme sans précédent. Les progrès technologiques récents ont permis de séquencer les génomes du SRAS-CoV-2 en quelques heures ou quelques jours après l'identification d'un cas. Pour la première fois, le séquençage génomique peut aider à orienter la réponse de santé publique à une pandémie en temps quasi réel. Les séquences génomiques ont aidé à la conception de tests de diagnostic, de médicaments et de vaccins, et à surveiller si des changements hypothétiques de leur efficacité au fil du temps pourraient être attribuables à des changements dans le génome du virus. L'analyse des génomes du virus SRAS-CoV-2 peut donc compléter, augmenter et soutenir les stratégies visant à réduire le fardeau de la COVID-19 (9).

Technologies de séquençage

Le séquençage est le processus par lequel la nature et l'ordre des acides nucléiques dans un échantillon sont convertis en données qui peuvent ensuite être analysées.

La figure ci-dessous montre les exemples de produits liés au séquençage du SRAS-CoV-2 développés ou en cours de développement par les principales sociétés de technologie de séquençage

*RUO = Utilisation à des fins de recherche uniquement (9)

Company	Product	Platform	Sequencing approach	Status
Illumina	COVIDSeq	NovaSeq Can also be performed on the NextSeq for RUO*	SARS-CoV-2 specific targeted amplicon	Emergency Use Authorisation by FDA
	AmpliSeq for Illumina SARS-CoV-2 Research Panel	iSeq 100, MiSeq, MiniSeq, and NextSeq systems	SARS-CoV-2 whole genome amplicon	For use in research
	SARS-CoV-2 NGS Data Toolkit	Various	Various	For use in research
Thermo Fisher Scientific	Ion AmpliSeq SARS-CoV-2 Research Panel	Ion Torrent Genexus, Genestudio S5	SARS-CoV-2 whole genome amplicon	For use in research and in development for Genexus system
BGI & MGI Tech	SARS-CoV-2 testing for surveillance	DNBSEQ-T7	Various	Emergency use approval by NMPA Available for research in the EU through Ares Genetics
Oxford Nanopore Technologies	LamPORE diagnostic assay	MinION GridION	SARS-CoV-2 targeted amplicon	CE marked for in vitro diagnostic use. Further regulatory approvals being pursued in other countries

Figure 8: Exemples de produits liés au séquençage du SRAS-CoV-2

Parallèlement aux différentes technologies qui peuvent être utilisées pour le séquençage du génome viral, il existe plusieurs approches du séquençage des échantillons viraux. L'utilisation de ces approches est déterminée en fonction du projet ou de l'expérience et des ressources disponibles. Elles impliquent l'utilisation de différentes techniques de préparation des échantillons et des bibliothèques avant le séquençage proprement dit afin de récupérer une profondeur, une échelle ou un type d'informations sur les séquences. Des changements dans les pipelines bio-informatiques accompagnent souvent ces choix. Les principales approches sont présentées ci-dessous.

Techniques

Séquençage par amplicon - le séquençage par amplicon repose sur l'amplification préalable de régions du génome viral afin que ces régions soient plus concentrées dans le produit de pré-séquençage traité que dans l'échantillon brut d'origine. Cela permet un séquençage profond de ces régions (où la région est séquencée à plusieurs reprises). Cette approche est souvent utilisée pour détecter des variantes rares qui peuvent être présentes dans une petite proportion seulement des génomes d'un échantillon, et lors de la réalisation d'études de surveillance ou d'identification d'espèces. Le séquençage basé sur les amplicons peut être utilisé sur l'ensemble du génome viral ou des parties sélectionnées de celui-ci en fonction de la conception des amorces. Le réseau ARTIC et d'autres ont partagé d'amorces et de protocoles pour le séquençage du SRAS-CoV-2 basé sur les amplicons, qui ont été largement utilisés pendant la pandémie de COVID-19.

Capture d'appât/enrichissement de cible - cette technique implique la capture d'acide nucléique par l'utilisation de molécules "amorce", ce qui facilite la sélection et le ciblage de régions spécifiques du génome. Plusieurs sociétés ont produit des panels d'enrichissement de cible pour le séquençage du SRAS-CoV-2. Par exemple, Arbor Biosciences a produit un kit de capture par hybridation qu'elle a offert gratuitement aux chercheurs et qui est compatible avec les systèmes de séquençage à lecture courte et longue. Il a été développé à partir des séquences génomiques disponibles dans la base de données NCBI-SRA. La capture d'amorce est une autre méthode permettant d'isoler la séquence virale des séquences contaminantes (telles que l'ARN humain), ou d'autres séquences virales qui peuvent également être présentes dans les échantillons d'origine clinique.

Séquençage direct de l'ARN - le séquençage direct des molécules d'ARN élimine le besoin d'amplification et de conversion de l'ARN en ADNc. Le séquençage direct de l'ARN ne peut être réalisé qu'à l'aide de techniques de séquençage nanopore et présente à la fois des avantages et des inconvénients. La suppression d'une étape d'amplification signifie que certains biais qui seraient normalement introduits par la PCR sont évités, ce qui réduit potentiellement les erreurs. Elle permet également de détecter les modifications des bases (telles que la méthylation) sur la

molécule non convertie. Cependant, pour obtenir une couverture suffisante du génome viral, il faut un échantillon de haute qualité et riche en ARN.

Activities that require a limited effort and once achieved might need either no sequencing or occasional sequencing for follow-up	Activities that require sustained sequencing activities over a long period of time	
<p>Identify SARS-CoV-2 as the causative agent of the disease</p> <p>Develop diagnostics for SARS-CoV-2</p> <p>Support the development of therapies and vaccines</p> <p>Investigate date of introduction into humans and investigate SARS-CoV-2 origin (ongoing)</p> <p>Reinfection:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluate and improve understanding of this phenomenon • On the individual level, differentiate between prolonged infection and reinfections 	<p>SARS-CoV-2 evolution and its impact on:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Change in viral behaviour (phenotypic change) e.g. transmissibility or pathogenicity • Immunity (from vaccines or natural infection) • Diagnostics (i.e. molecular, serology, antigen assays) • Therapeutic interventions (e.g. monoclonal antibodies) 	<p>Monitor viral movement and activity:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Investigate geographic spread and reintroduction between populations • Investigate outbreaks in specific settings and populations (e.g. in hospitals) • Track zoonotic reintroduction in both directions over the species barrier • Monitor environmental and waste water • Support classical surveillance by quantifying the period of transmission and evaluating drivers, and by estimating the transmission level in the population

Figure 9: Les objectifs de santé publique du séquençage génomique du SRAS-CoV-2.

La figure ci-dessous montre les vingt premiers pays pour le plus grand nombre de séquences transmises au GISAID et les plateformes technologiques utilisées au 26 juin 2020 (9).

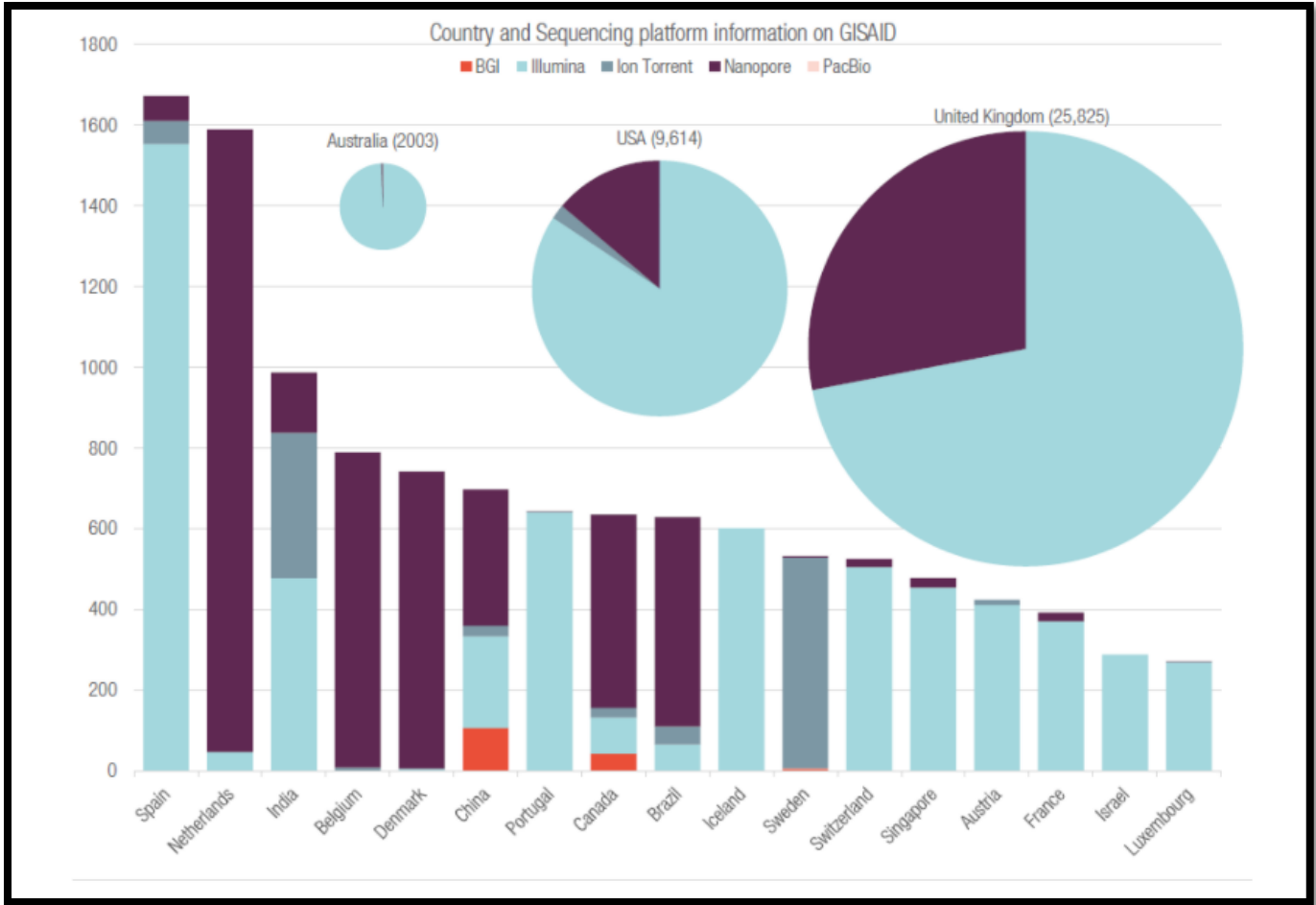


Figure 10: Pays avec le nombre de séquences transmises au GISAID et technologies utilisées.

Les données du Royaume-Uni, des États-Unis et de l'Australie sont représentées séparément en raison du grand nombre de séquences diffusées par ces pays. (Pas à l'échelle). Pour certains pays, les systèmes utilisés pourraient être reflétés par l'équipement préféré utiliser dans un petit nombre de laboratoires de soumission (les cercles ne sont pas à l'échelle). (9)

6.1 Réseaux de surveillance génomique

La surveillance génomique est un outil essentiel pour suivre l'émergence, la propagation et l'évolution continue des virus. La surveillance génomique intègre des données cliniques, épidémiologiques, génomiques et phénotypiques pour suivre les changements dans la transmission du virus, sa virulence et l'efficacité des contre-mesures médicales. Les progrès récents du séquençage de nouvelle génération permettent de séquencer rapidement et à moindre coût un grand nombre de cas de SRAS-CoV-2 positifs.

Les progrès parallèles de la bio-informatique, de la biologie computationnelle et de la virologie moléculaire permettent d'analyser le virus dans son contexte pour évaluer le risque quasiment en temps réel. L'intégration de ces ensembles de données et de ces analyses produit des informations exploitables pour les responsables de la santé publique et les décideurs politiques. De nombreux pays ont investi dans la surveillance génomique et leurs investissements ont rapporté des dividendes importants.

Malgré tous les défis qui accompagnent cette entreprise, les avantages sont indéniables. En voici quelques-unes :

- Améliorer le lien avec les métadonnées
- Augmenter le volume et la représentation du séquençage
- Renforcer le partage et l'intégration des informations
- Faire progresser l'analyse génomique
- Accélérer l'analyse phénotypique
- Améliorer la communication et la visualisation des données

6.2. Surveillance génomique au Maroc

En décembre 2020, un nouveau variant du SARS-CoV-2 (connue sous le nom de lignée 20B / 501Y.V1, VOC 202012/01 ou B.1.1.7) a émergé au Royaume-Uni, avec un nombre élevé de mutations. Ce variant a depuis été détecté dans 130 pays y compris le Maroc. Sa transmissibilité est de 30 à 70 % plus élevée que les souches de SARS-CoV-2 précédemment en circulation dans le monde (38).

D'autres variants préoccupants du SARS-CoV-2, notamment le variant Sud-Africain (B.1.351) et le variant Brésilien B.1.1.28.1 (P1) ont suscité un grand intérêt en santé publique et font l'objet de surveillances génomique et épidémiologique à travers le monde.

Au Maroc, le dispositif de veille génomique du SRAS-CoV-2 mis en place par le Ministère de la Santé, a permis la détection et la confirmation de la circulation du variant Britannique et sa propagation dans sept régions du royaume. En effet, le séquençage du génome complet a permis la confirmation de la présence de mutations signatures du variant Britannique. À côté des mutations spécifiques des variants détectés, de nouvelles mutations sont régulièrement décelées, mais sans impact clinique ni épidémiologique. Cette dynamique virale est constatée de par le Monde.

Le Consortium National de Veille Génomique du SRAS-CoV-2 continuera à informer les autorités sanitaires de l'évolution génétique des souches du SRAS-CoV-2 circulantes au Maroc, et sur la présence éventuelle de variant autochtone ayant un impact sur la santé publique.

La plateforme génomique fonctionnelle du Centre national de la recherche scientifique et technique (CNRST) a un objectif principal de réaliser le séquençage à travers des échantillons collectés par l'Institut National de l'hygiène et envoyés à partir des 12 régions du Maroc (37). En effet, le travail de séquençage comprend également une partie de comparaison des séquences avec les séquences de références pour détecter les mutations. Le CNRST assure que les résultats de ce travail d'analyse sont communiqués à la direction de l'épidémiologie du ministère de la Santé.

Le Comité national technique et scientifique consultatif de vaccination se charge, dans ce cadre, de partager avec d'autres départements ministériels, à savoir, le ministère de l'Intérieur et celui des Affaires étrangères ces informations génomiques. Dès qu'on découvre un variant préoccupant, il y a des mesures conséquentes qu'il faut prendre. En premier lieu avertir la population, maintenir

les mesures barrières, souligne toujours le responsable de la plateforme génomique fonctionnelle du CNRST. Ces mêmes informations génomiques sont partagées dans des bases données internationales qui permettent de classer les pays et de décider de l'ouverture ou de la fermeture des frontières pour le Maroc comme pour les différents pays à travers le monde.

Au moment de la rédaction de cet article et d'après les informations recueillies dans différents articles basés au Maroc, la plupart des laboratoires marocains qui participent au séquençage génomique local utilise la technologie Ion Torrent (par notre laboratoire), la technologie MinION d'Oxford Nanopore et la technologie de séquençage Sanger.



PARTIE PRATIQUE

I. MATERIEL ET METHODE

Première partie pratique

ACQUISITION DES DONNÉES

Pour notre étude, nous avons utilisé 20 séquences séquencées au laboratoire et nous y avons ajouté toutes les séquences marocaines extraites de Gisaid y compris celle déposée par notre laboratoire. Un total de 72 séquences complètes du génome du variant delta du SRAS-CoV-2 a été utilisé dans ce projet. Les séquences étaient téléchargées à partir de la plateforme Global Initiative on Sharing All Influenza Database (GISAID) (<https://www.gisaid.org/>). Les séquences génomiques provenant de l'extérieur du Maroc ont été exclues de la sélection.

SÉQUENÇAGE DES DONNÉS ACQUIS

ARN transformé en ADNc à l'aide du kit de synthèse d'ADNc SuperScript VILO (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA). Quinze microlitres d'ADNc ont été utilisés pour préparer une bibliothèque SARS-CoV-2 en utilisant un kit Ion Ampliseq pour Chef DL8 (Thermo Fisher Scientific). La bibliothèque a été ajustée à 30 pM, puis chargée sur un instrument Ion Chef (Thermo Fisher Scientific) pour une PCR en émulsion, un enrichissement et un chargement sur une puce Ion 530. Le WGS a été réalisé à l'aide du panel de recherche Ion AmpliSeq SARS-CoV-2 conçu par Thermo Fisher Scientific pour le séquençage complet du génome viral conformément au mode d'emploi sur un système Ion GeneStudio S5 Prime Series. Les données brutes ont été analysées à l'aide du logiciel Torrent Suite v5.12.0, et le NGS QCToolkit v2.3.3 a été utilisé pour supprimer les lectures courtes (reads) et de mauvaise qualité. Variant caller v5.10.119 a été utilisé pour détecter les variants, par rapport au génome de référence (souche Wuhan-Hu-1 [numéro d'accèsion GenBank MN908947.3]), et la séquence consensus a été générée à l'aide de IRMAreport v1.3.0.2.

VARIANT CALLING

Les fichiers FASTA des séquences ont ensuite été mappés au génome complet de l'isolat SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 programme Burrows-Wheeler Aligner (BWA) version bwa-0.7.17 (<https://www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub/apps/bwa-aligner.html>). Un fichier index a été créé en utilisant le SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 comme génome de référence. Les 72 séquences ont été alignées sur le génome de référence, ce qui a donné lieu à des fichiers sam.

SAMTOOLS v1.11 a été utilisé pour convertir tous les fichiers SAM résultants en BAM pour une manipulation plus rapide. Le tri, la fusion et l'indexation des fichiers BAM ont été effectués par le samtools for Picard (<https://broadinstitute.github.io/picard/>). Picard Mark duplicates a été utilisé pour supprimer tous les doublons.

LOFREQ v2.1.5 (<https://csb5.github.io/lofreq/installation/>) a été utilisé pour l'appel de variants, ce qui a permis de convertir le fichier BAM trié en VCF. L'annotation des variants a été réalisée à l'aide de SNPeff v5.0.17 qui a fourni les résultats des différentes mutations trouvées sur les séquences du CoV 2 du SRAS.

ANALYSE DES MUTATIONS

Pour l'analyse des mutations, nous avons converti et regrouper en utilisant un script Python tous les fichiers VCF en un seul fichier Excel. Ce même tableau a été subdiviser en sous tableau selon les lignés relatives à chaque séquence.

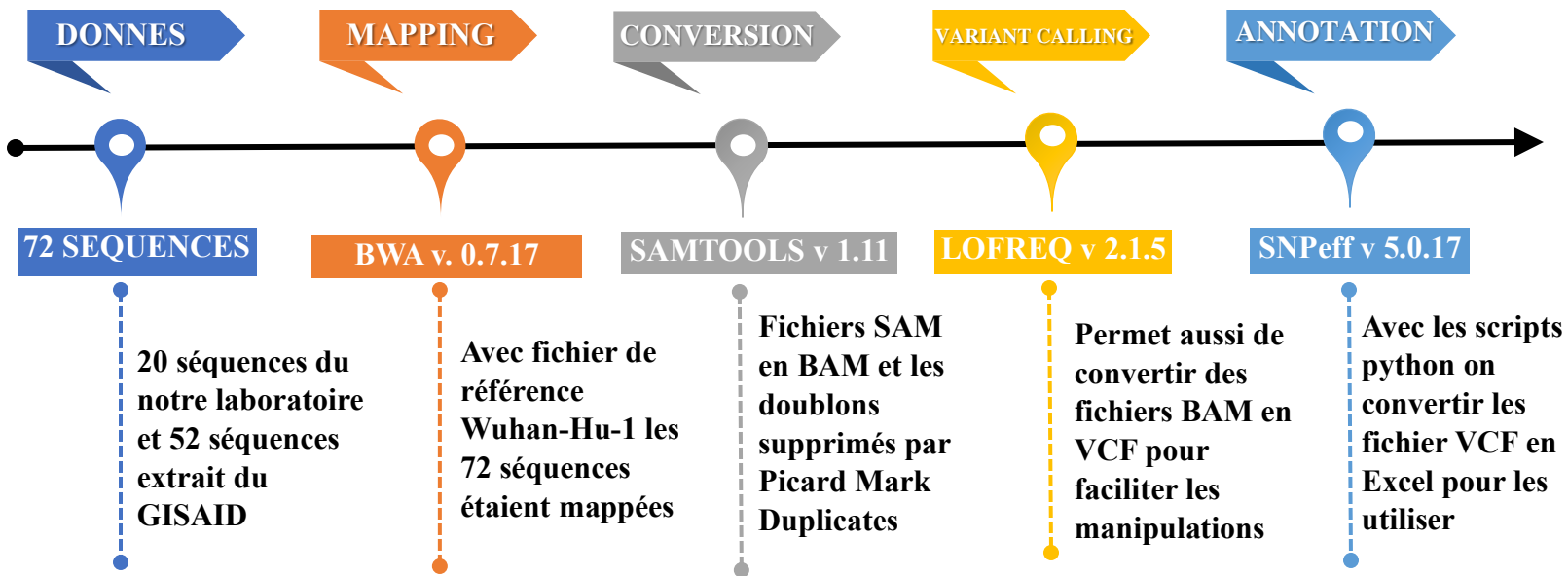


Figure 11: Méthodes et Matériels de la première partie pratique

Deuxième partie pratique

ACQUISITION DES DONNÉES

Pour l'analyse phylogénétique, nous avons extrait 380 séquences de différents pays de la même plateforme ; en plus des 72 séquences du Maroc (452 séquences au total).

Un tableau des différents pays et du nombre de séquences utilisées pour cette étude est présenté ci-dessous :

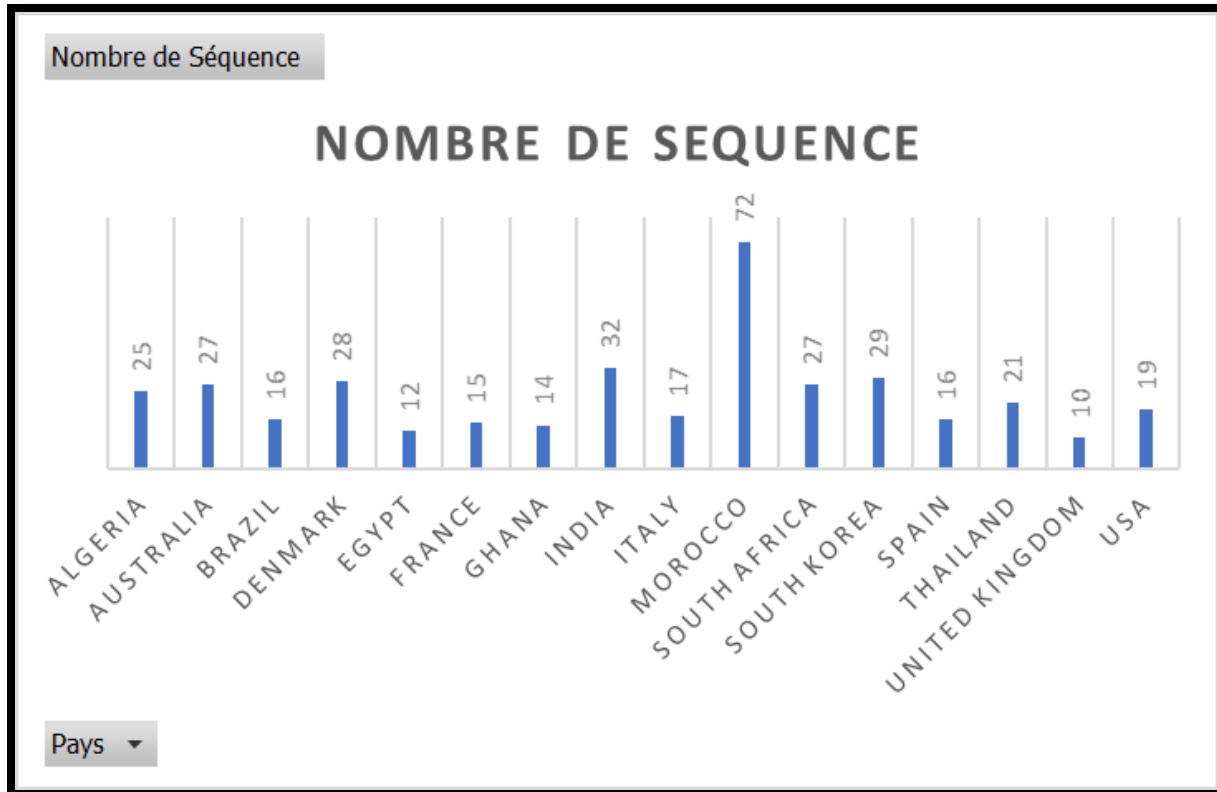


Figure 12 : Différents pays et du nombre de séquences utilisées pour cette étude

GENERATION, VISUALIZATION ET ANALYSIS D'ARBRE PHYLOGENETIC

Afin de construire une phylogénie globale des génomes delta, un total de 380 séquences a été inclus dans l'alignement. MAFFT a été utilisé pour aligner les séquences fasta avec MN908947.3 comme séquence de référence. Nous avons utilisé la version serveur de MAFFT (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) créée spécifiquement pour l'alignement Covid. Pour les paramètres de l'alignement, nous avons spécifié pour la matrice de notation un 1PAM / $\kappa=2$ comme recommandé et utilisé le paramètre par défaut pour le reste. MAFFT a supprimé 66 séquences qui avaient plus de 5,0 % de lettres ambiguës. A la fin de l'alignement, nous avons eu 314 séquences et la séquence de référence (315 au total).

L'arbre phylogénétique a été construit dans PhyML sous un modèle de substitution GTR. Pour calculer les valeurs de support des branches, nous avons utilisé la méthode aLRT SH-like (approximate likelihood ratio test), implémentée dans PhyML. PhyML est mieux adaptée que le

bootstrapping aux ensembles de données comportant peu de sites informatifs par taxon. Ensuite, les résultats phylogénétiques ont été visualisés graphiquement à l'aide de Figtree.

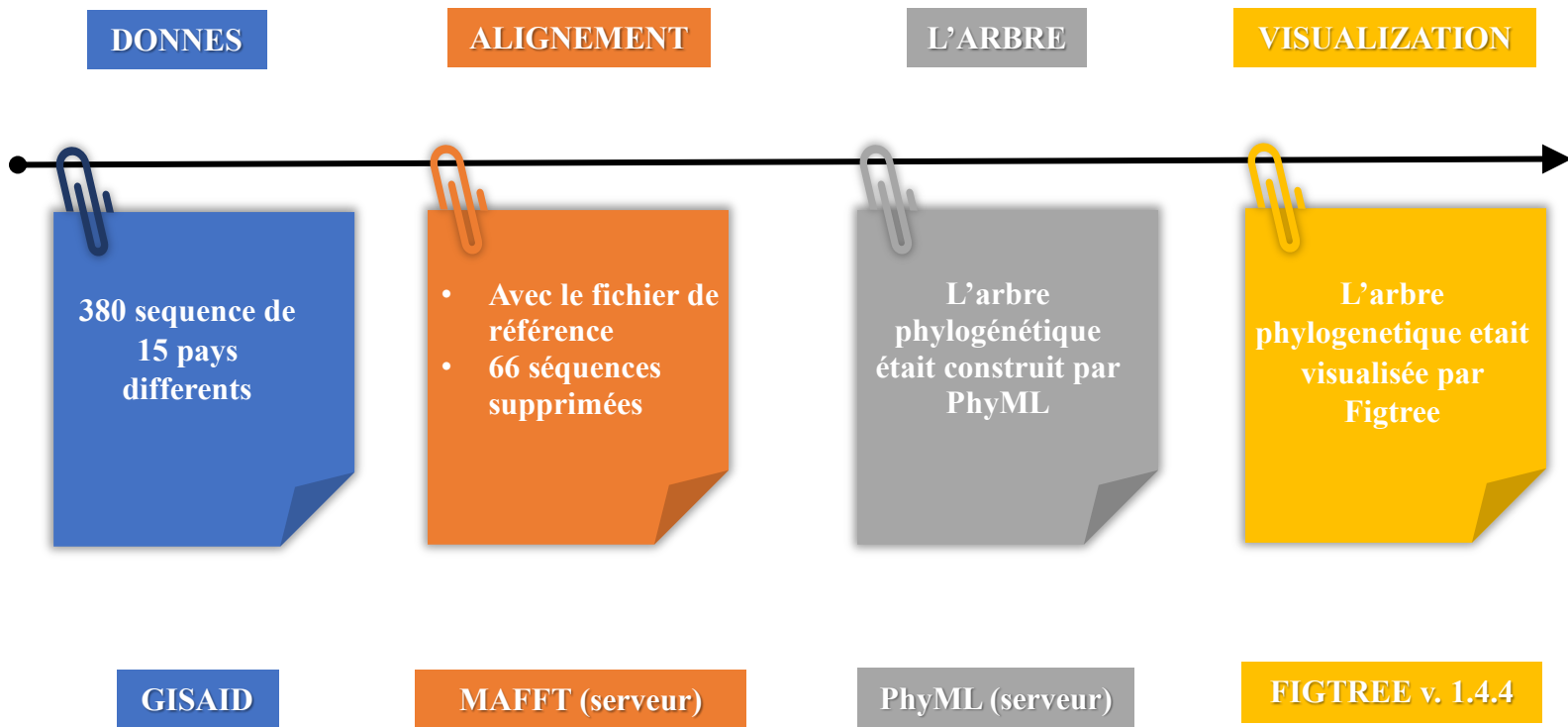


Figure 13 : Méthodes et Matériels de la deuxième partie pratique

RÉSULTATS

📊 Résultat de l'analyse des mutations

pos	ref	alt	type_mutations	anno_impact	gene_name	mutation- nt	to_remove	mutation- aa	Accession_Number	peptide
18444	A	G	synonymous_variant	LOW	ORF1ab	18180A>G	Arg6060Arg	R6060R	Mor_1	NSP14
20262	A	G	synonymous_variant	LOW	ORF1ab	19998A>G	Leu6666Leu	L6666L	Mor_1	NSP15
20320	C	T	missense_variant	MODERATE	ORF1ab	20056C>T	His6686Tyr	H6686Y	Mor_1	NSP15
21618	C	G	missense_variant	MODERATE	S	56C>G	Thr19Arg	T19R	Mor_1	
21987	G	A	missense_variant	MODERATE	S	425G>A	Gly142Asp	G142D	Mor_1	
22917	T	G	missense_variant	MODERATE	S	1355T>G	Leu452Arg	L452R	Mor_1	
22995	C	A	missense_variant	MODERATE	S	1433C>A	Thr478Lys	T478K	Mor_1	
23403	A	G	missense_variant	MODERATE	S	1841A>G	Asp614Gly	D614G	Mor_1	
23604	C	G	missense_variant	MODERATE	S	2042C>G	Pro681Arg	P681R	Mor_1	
24410	G	A	missense_variant	MODERATE	S	2848G>A	Asp950Asn	D950N	Mor_1	
24745	C	T	synonymous_variant	LOW	S	3183C>T	Val1061Val	V1061V	Mor_1	
25469	C	T	missense_variant	MODERATE	ORF3a	77C>T	Ser26Leu	S26L	Mor_1	
26767	T	C	missense_variant	MODERATE	M	245T>C	Ile82Thr	I82T	Mor_1	
27638	T	C	missense_variant	MODERATE	ORF7a	245T>C	Val82Ala	V82A	Mor_1	

Virus_name_Gisaid	Lineage	date
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021
hCoV-19/Morocco/CNRST-IND01/2021	B.1.617.2	4/22/2021

Figure 14 : Résultats après annotation et affichés sur des feuilles Excel

Résultats après annotation et affichés sur des feuilles Excel. Ceci montre les différents types de mutations dans une séquence marocaine (Mor1).

Les résultats comprennent les informations suivantes :

- *La position de la mutation (pos)*, qui est la position spécifique sur le génome où se trouve la mutation. Le génome du SRAS-CoV-2 compte environ 1583 nucléotides.
- *Nucléotide de référence (ref)*, qui est le nucléotide d'origine sur le génome de référence de Wuhan. Il s'agit de la première souche du CoV 2 du SRAS qui a été séquencée à Wuhan, en Chine, au début de la pandémie : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NC_045512
- *Nucléotide alternatif (alt)* : il représente la nouvelle substitution nucléotidique et est présent sur le génome de la variante.
- *Type _ mutation* : représente le type de mutation à l'origine de la nouvelle souche ou variante du SRAS CoV 2. Il y a généralement deux types de mutations : les mutations synonymes et les mutations non synonymes. Les mutations non-synonymes modifient ou changent les gènes ou les protéines, mais les synonymes ne modifient pas les gènes ou les protéines.
- *Anno_impact*, qui signifie impact de l'annotation. Il contient un résumé du variant ou de la mutation sur le génome. Les résultats sont soit faibles, modérés ou modificateurs.
- *Gene_name*, qui représente le nom spécifique de la partie du génome qui a subi la mutation. Cela va de l'ORF1a 5` aux protéines 3`N.
- *Mutation-nt*, indique la liste des nucléotides qui ont été échangés et le nouveau nucléotide. 241C>T signifie qu'une cytosine a été remplacée par une thymine lors de la mutation.
- *To_remove* représente le changement d'acide aminé, la substitution d'acide aminé. Un changement de nucléotide peut ou non affecter l'acide aminé résultant. Lys513Arg représente une lysine qui a été changée en arginine après le changement de nucléotide.
- *Mutation-aa* représente la nomenclature des acides aminés de substitution. Par exemple, D614G représente la nomenclature de l'acide aspartique [D] et de la glycine [G].
- *Accession_Number* représente les différents échantillons qui ont été séquencés.
- *Peptide* : indique l'information sur la présence ou l'absence d'un peptide.

- *Ids_gisaid* représente l'identification de la séquence sur GISAID après son téléchargement à la fin du processus de séquençage.
- *Date* ; la date de collection de la séquence comportant la mutation en question.
- *Lineage* : c'est les lignées genere par Pango, il y avait un total de 6 lignées en tout à partir des 72 séquences. B.1.617.2, AY.33, AY.7.1, AY.34, AY.4, AY.37

🚦 Analyse du profile de mutation des séquences marocaines :

Lineage variant	Number of mutations *	Nombre de missense _variant	Nombre de synonymous _variant	Mutation distincte	Nombre de sequences unique	Mutations communes 75 % +
B.1.617.2	335	295	40	63	14	T19R, G142D, L452R, T478K, D614G , P681R , D950N , S26L , I82T , V82A, T120I, D63G, R203M, D377Y
AY.33	921	893	28	97	43	L452R, D614G , P681R , S26L , I82T , R203M, G215C, D950N , T40I, D63G, T19R, T299I, T29A, T250I, D377Y
AY.7.1	75	69	6	30	4	D614G , P681R , D950N , S26L , I82T , T40I, D63G, R203M, G215C
AY.34	42	38	4	23	2	A6319V, T19R, L453R, T478K, D614G , Q677H,

						P681R, D950N, S26L, E239E, I82T, T40I, D63G, R203F, D377Y,
AY.4	147	129	18	45	6	A6318V, T19R, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N, S26L, I82T, T40I, D63G, R203M, G215C, D377Y, P5401L
AY.37	63	59	4	29	3	T19R, A222V, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N, S26L, I82T, R203M, D377Y

Tableau 2 : Les différentes sous-lignées du Delta identifiées au Maroc

Ce tableau décrit en résumé les différentes sous-lignées du Delta identifiées au Maroc. Les types de mutations trouvés parmi les différentes sous-lignées.

B.1.617.2 et AY.33 sont les lignées Delta les plus répandues au Maroc. Sur les 72 nombres de séquences uniques de la variantes Delta au Maroc, qu'elles constituent environ 19 % (14 nombres de séquences uniques) des nombres de séquences uniques et 60 % (43 nombres de séquences uniques) respectivement. Sur les 335 mutations totales de la lignée B.1.617.2 au Maroc, 295 sont missens et 40 sont synonymes. Il y a 893 mutations missens et 28 mutations synonymes représentent les 921 mutations totales de la sous-lignée AY.33.

Nous observons que les mutations communes D614G, S26L, P681R, I82T, et D950N sont des mutations communes à toutes les sous-lignées. Les T19R et D377Y communes à toutes les lignées sauf AY.7.1 et R203M est présente dans toutes les lignés sauf AY.34. L452R qui est présente dans les lignés sauf AY.7.1 et AY.34. C'est intéressant de noter que les mutations D614G, S26L, P681R, I82T, et D950N trouvant dans toutes les lignées sont de type missens.

B.1.617.2		AY.33	
Mutation communes 75 % +	Gènes	Mutation communes 75 % +	Gènes
T19R	S	S26L	S
G142D	S	L452R	S
L452R	S	D614G	S
T478K	S	D950N	S
D614G	S	T19R	S
P681R	S	T299I	S
D950N	S	T29A	S
S26L	ORF3a	T250I	S
I82T	M	Q613H	S
V82A	ORF7a	P681R	ORF3a
T120I	ORF7a	I82T	M
D63G	N	T40I	ORF7b
R203M	N	D377Y	N
D377Y	N	R203M	N
		G215C	N
		D63G	N

Tableau 3 : Les mutations communes de B.1.617.2 et AY.33 au Maroc avec leurs gènes affectant.

Ce tableau indique les gènes spécifiques affectés par les mutations des deux lignées les plus prévalentes de la variante Delta au Maroc. La majorité des mutations dans les deux lignées affectent le gène S. Selon tableau 2, D614G, S26L, P681R, I82T, et D950N sont les mutations communes à tous les six lignés de Delta au Maroc. D'après tableau 3, D614G, P681R, et D950N sont des mutations qui affectent gène S. S26L affecte la gène ORF3a et P681R affecte la gène M. Les mutations communes T19R, D377Y, et R203M trouvées dans toutes les lignées sauf une (AY.7.1, AY.7.1, et AY.34 respectivement) sont toutes des mutations missenses. T19R affecte spécifiquement le gène S, tandis que D377Y et R203M affectent le gène N. De plus, L452R,

présente dans toutes les lignées sauf deux (AY.7.1 et AY.34), est une mutation missense et modifie le gène S. Dans les deux lignées, la majorité des altérations par les différentes mutations se situe dans le gène S.

🚩 Comparaison des mutations de variante Delta du Maroc par rapport à ceux reportées :

B.1.617.2		AY.33	
Gene	Mutation communes 75 % +	Gene	Mutation communes 75 % +
ORF1b	P314L	ORF1a	A1306S
ORF1b	G662S	ORF1a	P2046L
ORF1b	P1000L	ORF1a	P2287S
S	T19R	ORF1a	V2930L
S	G142D	ORF1a	T3255I
S	E156G	ORF1a	T3646A
S	del157/158	ORF1b	P314L
S	L452R	ORF1b	G662S
S	T478K	ORF1b	P1000L
S	D614G	ORF1b	A1918V
S	P681R	S	T19R
S	D950N	S	T29A
ORF3a	S26L	S	E156G
M	I82T	S	del157/158
ORF7a	V82A	S	T250I
ORF7a	T120I	S	L452R
ORF8	S84L	S	T478K
ORF8	del119/120	S	D614G
N	D63G	S	P681R
N	R203M	S	D950N
N	D377Y	ORF3a	S26L
		M	I82T
		ORF7a	V82A
		ORF7a	T120I
		ORF7b	T40I
		ORF8	S84L
		ORF8	del119/120
		N	D63G
		N	R203M
		N	G215C
		N	D377Y

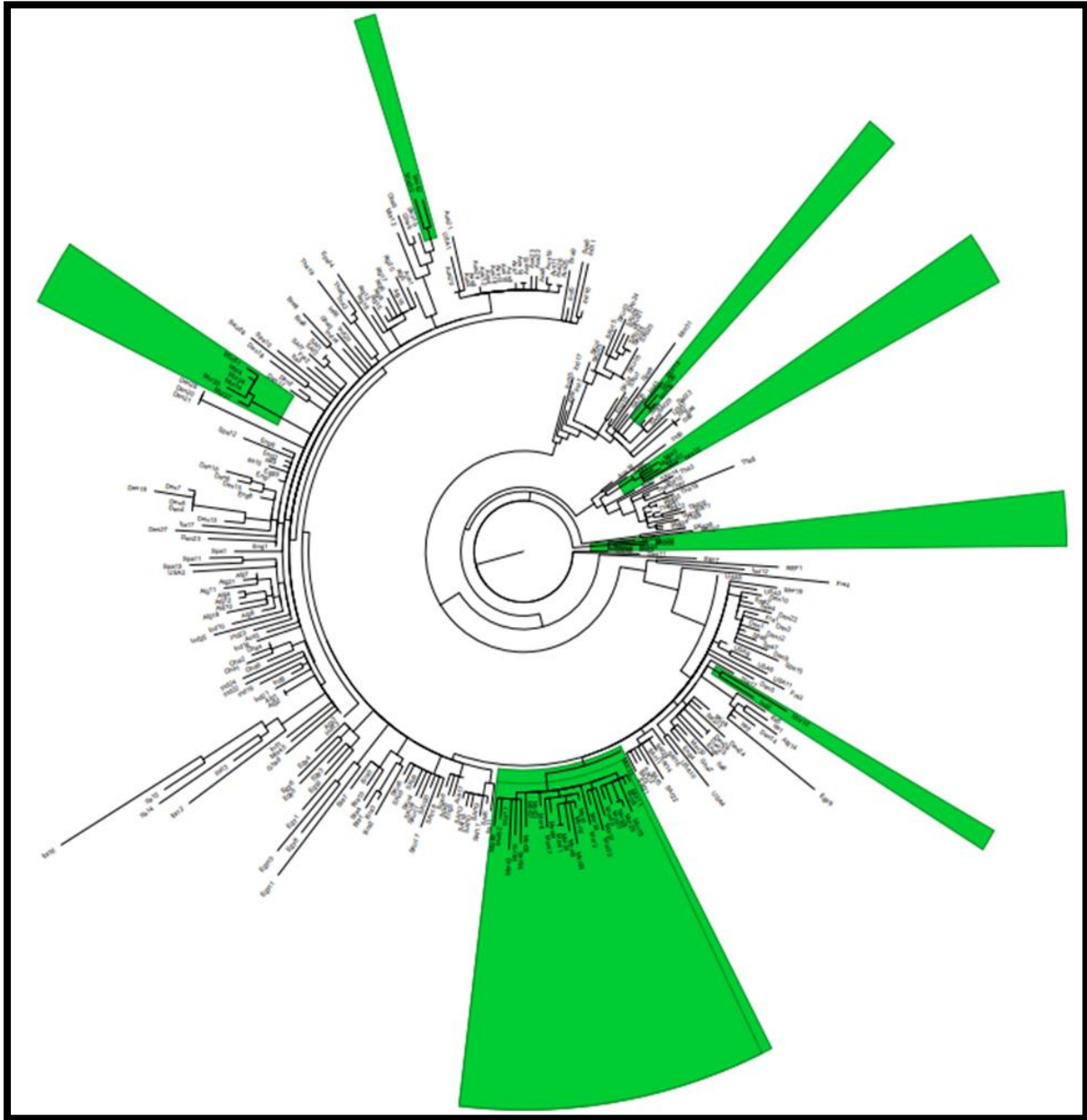
Tableau 4: Les mutations communes de la variante Delta dans le monde (selon outbreak.info)

Le tableau ci-dessus nous montre les différentes mutations (avec une prévalence d'au moins 75 %) des B.1.617.2 et AY.33 dans le monde et leurs gènes correspondants. Encore une fois, nous voyons que dans les deux lignées, la plupart des mutations ont affecté le gène S (43 % dans le B.1.617.2 et 32 % dans le AY.33). Nous avons également réalisé qu'il y avait quelques délétions comme dans les cas de del157 /158 et del119 /120 dans les deux lignées.

Faisant une comparaison des mutations du B.1.617.2 au Maroc aux mutations du B.1.617.2 au monde, nous rendons compte que toutes les mutations trouvées au Maroc sont également trouvées dans les mutations du monde. Cependant, il y a des mutations trouvées dans d'autres parties du monde qui n'ont pas été trouvées au Maroc (du moins pas encore).

Dans le cas de l'AY.33, toutes les mutations trouvées au Maroc étaient présentes dans les mutations de l'AY.33 dans le monde, à l'exception de T299I, T29A et Q613H. Et il y a beaucoup plus de mutations AY.33 (par rapport au B.1.617.2) dans le monde qui n'ont pas encore trouvé leur chemin vers le Maroc.

Arbre phylogénétique:



■ Séquences marocaines ou contenant des séquences marocaines

Figure 15 : Un arbre phylogénétique.

L'arbre phylogénétique avec une forme d'arbre polaire a 315 pointes. Les branches surlignées en vert et également surlignées en bleu par les clades sont des branches avec des séquences marocaines (Mor) de la variante Delta du SARS-CoV-2. Ces différentes séquences marocaines apparaissent sur différentes branches, ce qui montre les niveaux auxquels une séquence partage des mutations avec l'autre. En général, toutes les séquences partagent une ou plusieurs mutations, mais certaines partagent plus de mutations que d'autres.

De plus, la longueur de la branche (à quelle distance se trouve-t-elle de la racine) explique qu'elle a subi plus de mutations que les autres séquences, même si elles se trouvent sur la même branche.

Les images ci-dessous sont des vues zoomées de l'arbre phylogénétique pour aider à décrire les différentes séquences et leur disposition sur l'arbre, sur la base de notre jeu de données, l'évolution des séquences Delta au Maroc toujours par rapport au reste du monde.

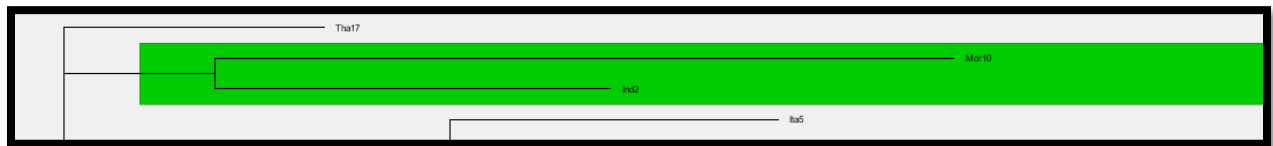


Figure 16 : Clade 1 d'un arbre phylogénétique

Dans l'image, on voit qu'une séquence du Maroc (Mor10) et de l'Inde (Ind2) appartiennent à la même branche. Cela suggère que ces séquences spécifiques des deux pays ont des mutations communes, ce qui peut suggérer qu'un pays peut avoir obtenu cette variante de l'autre.

En outre, la séquence du Maroc (Mor10) semble plus éloignée de celle de l'Inde (Ind2), ce qui explique que la séquence du Maroc (Mor10) a subi d'autres mutations par rapport à la séquence de l'Inde (Ind2). Ces deux séquences peuvent donc être génétiquement très similaires, mais la séquence du Maroc (Mor10) aura subi des mutations supplémentaires.



Figure 17 : Clade 2 d'un arbre phylogénétique.

Un autre pays avec lequel le Maroc partage des mutations est le Ghana et l'Angleterre. L'image ci-dessus le montre. Les séquences Mor20, Gha7, et Eng4 partagent la même branche, même si Gha7 a subi plus de mutations parmi les trois séquences.

D'après l'image, nous pouvons également déduire que les séquences du Danemark, de l'Angleterre, de l'Italie, du Maroc et du Ghana partagent quelques mutations communes avec les deux autres séquences des États-Unis (USA4,10). En effet, même s'ils proviennent de la même grande branche de l'arbre phylogénétique, ils se trouvent sur des sous-branches différentes, ce qui indique une différence dans les mutations partagées.

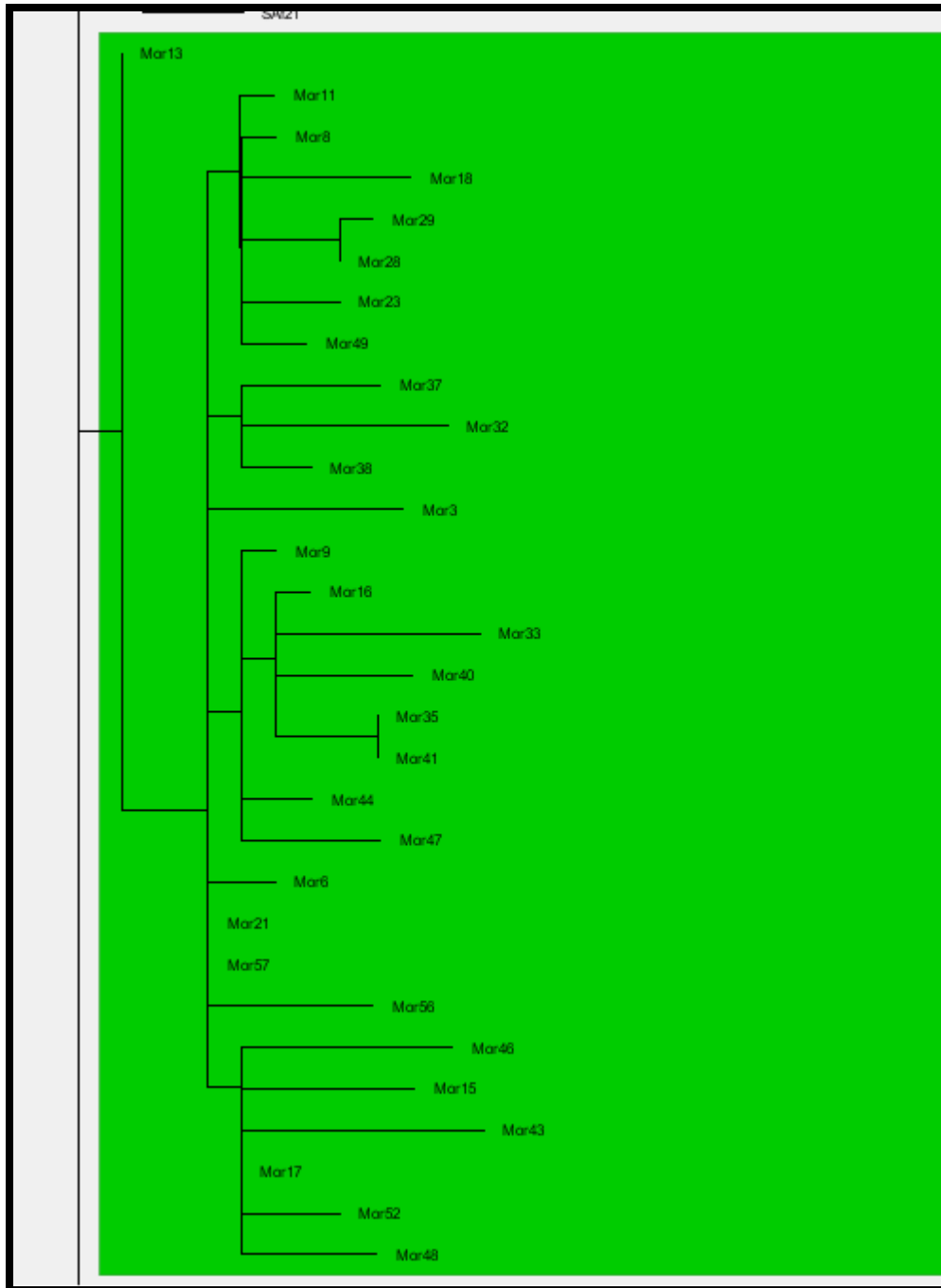


Figure 18 : Clade 3 d'un arbre phylogénétique.

Le regroupement en grappes de ces séquences montre qu'elles partagent des mutations communes (au moins une ou deux). Nous constatons également l'absence de toute séquence provenant d'autres pays (du moins selon notre ensemble de données). Ceci permet de supposer que ces séquences ne

circulent pas dans d'autres pays ; ou il n'était pas couvert par notre jeu de données (315 séquences). Cela suggère encore que les séquences du Maroc ont subi une mutation quelconque.

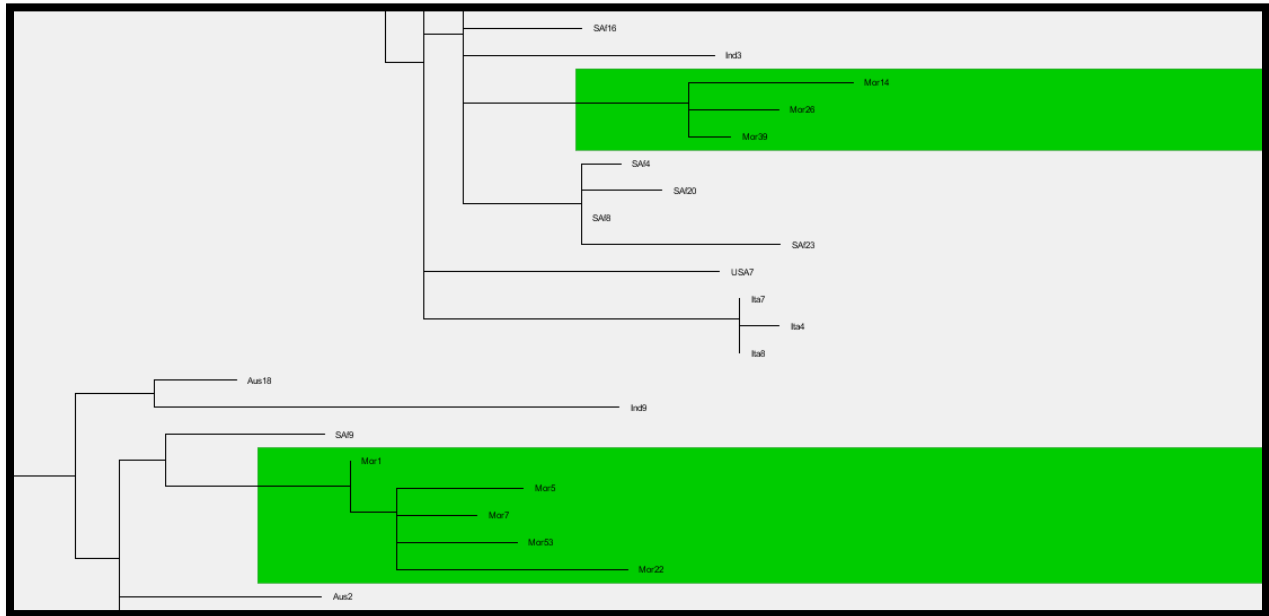


Figure 19 : Clade 4 d'un arbre phylogénétique.

Cette image montre également la diversité génétique des séquences du Delta au Maroc. L'image ci-dessus montre Mor14, 26, 39 et Mor1, 5, 7, 53, 22 un peu séparés l'un de l'autre sur l'arbre phylogénétique, contrairement au groupe de variants montré dans l'image précédente. Même dans le groupe de séquences montré précédemment, nous avons vu à quel point ils étaient diversifiés. Ici, ils n'appartiennent même pas à la même branche, une autre expression de la diversité. En outre, l'image ci-dessous montre un grand écart entre Mor1, 5, 7, 53, 22 et Mor54, 30, 55, 25, 2 ; ce n'est donc pas seulement qu'ils n'appartiennent pas à la même branche, ils sont aussi très éloignés les uns des autres sur l'arbre phylogénétique (plus ils sont éloignés les uns des autres, moins ils sont génétiquement similaires). Là encore, une expression de la diversité.

Les deux groupes de séquences du Maroc appartiennent à deux clades différents. Le premier ensemble de séquences ci-dessus est proche de quatre autres séquences d'Afrique du Sud, ce qui implique une ou plusieurs mutations partagées entre les deux groupes.

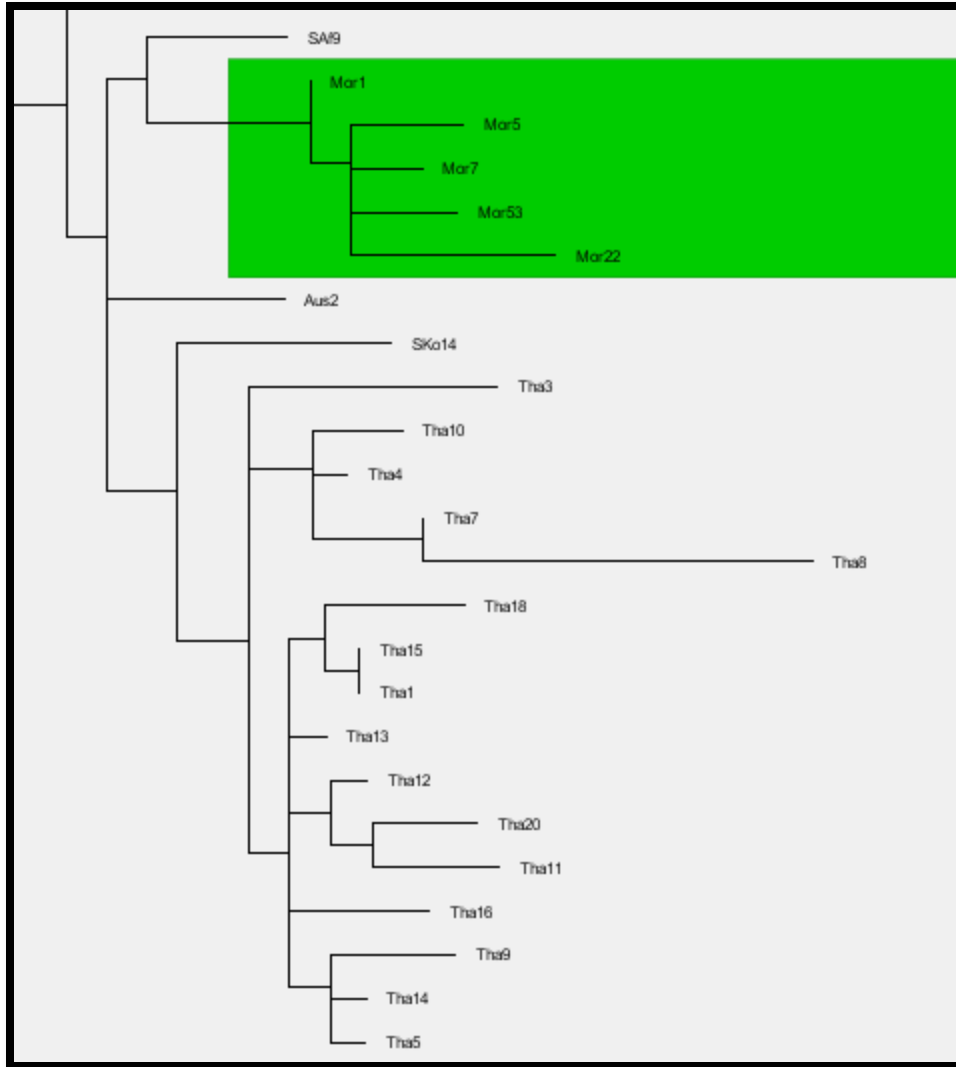


Figure 20 : Clade 5 d'un arbre phylogénétique.

Le clade de cette image met en évidence un événement intéressant. On peut voir que le clade contient 5 séquences marocaines, 16 séquences thaïlandaises et une séquence de l'Afrique du Sud, de la Corée du Sud et de l'Australie. Ce clade a la majorité des séquences appartenant à la Thaïlande.

DISCUSSION

Les résultats indiquent qu'il y a eu et qu'il y a probablement encore une évolution du virus Covid-19, en particulier de la variante Delta depuis sa première détection en Inde fin 2020. Il s'agit d'évolutions génétiques et géographiques.

Cette étude est à partir de 72 séquences de la variante Delta au Maroc. D'autres 380 séquences provenant de 15 pays ont été extraites de GISAID afin de comparer l'évolution du variant Delta du Maroc à celle de ces pays dans une étude phylogénétique.

Nous avons identifié à travers cette étude ; 6 lignées du variant Delta au Maroc, avec B.1.617.2 et AY.33 étant les variants Delta dominants au Maroc. Le B.1.617.2 représente 22 % du total des échantillons Delta distincts séquencés au Maroc, tandis que le AY.33 en représente 34 %.

Lignés	Total des échantillons de la ligné séquencés dans le monde	Premier cas au monde	Total des mutations distinctes de SRAS-CoV-2 séquencés au Maroc	Total des échantillons de la ligné séquencés au Maroc	Premier cas au Maroc	Description de la ligné
AY.33	18682	09-03-21	495	63 (13%)	20-06-21	Alias de B.1.617.2.33, Lignée circulant principalement en Belgique, au Danemark, en France, aux Pays-Bas, en Allemagne, à partir des numéros de

						désignation pango #215 et #219. Danemark 19,0%, Allemagne 16,0%, Suède 9,0%, Belgique 8,0%, Turquie 8,0%.
B.1.617.2	168656	01-08-20	495	16 (3%)	22-04-21	Lignée à prédominance indienne avec plusieurs mutations dans le spike, numéro de désignation pango #49 États-Unis d'Amérique 34,0%, Royaume-Uni 13,0%, Inde 11,0%, Danemark 7,0%, Allemagne 6,0%.

Tableau 5 : Tableau descriptive du ligné AY.33 et B.1.617.1 du variant Delta.

Nous connaissons maintenant l'importance des lignées B.1.617.7 et AY.33 dans l'évolution du variant Delta au Maroc. Ce tableau résume ces deux variants, le jour où ils ont été détectés pour la première fois (dans le monde et au Maroc) et comment ils ont circulé géographiquement dans le monde avec des intensités et des prévalences différentes. Ces tableaux ont été créés à partir des

informations de PANGO et de outbreak.info (https://cov-lineages.org/lineage_list.html) au 21 décembre 2021.

AY.33 a été détecté pour la première fois le 12 décembre 2020 au monde. Il provient principalement de Belgique, et le Danemark et l'Allemagne sont les deux pays qui ont été réellement touchés par cette lignée. Selon outbreak.info, le Maroc compte un total de 495 échantillons séquencés distincts. B.1.617.2 représente 63 (13 %) des échantillons distincts séquencés

B.1.617.7 a été détecté pour la première fois le 31 août 2020 au monde. Il provient principalement d'Inde, et les États-Unis et le Royaume-Uni sont les deux pays qui ont été réellement touchés par cette lignée. Selon outbreak.info, le Maroc compte un total de 495 échantillons séquencés distincts. B.1.617.2 représente 16 (3 %) des échantillons distincts séquencés.

D614G a été trouvé dans toutes les sous-lignées (Tableau 2), ce qui suggère qu'il s'agit de la quintessence de la mutation constante de la variante Delta. D'autres mutations dominantes comme P681R, A222V, L452R, T478K, D950N, S26L et D377Y ont également été trouvées dans plus de deux ou trois sous-lignées différentes, ce qui indique leur importance dans la mutation de la structure génomique virale. Ces résultats concordent avec d'autres résultats qui montrent que la mutation D614G est présente dans tous les variants du virus Wuhan original (36). Ces mutations ont un effet pathologique spécifique et, d'une manière ou d'une autre, accentuent les signes et symptômes et, dans certains cas, en introduisent de nouveaux. Les plus notables sont les mutations L452R et P681R de la protéine spike. La mutation L452R substitue une arginine à une leucine en position 452. Une étude suggère que cela permet à la protéine spike de se fixer au récepteur ECA2 avec une plus grande affinité. Cela peut aider à éviter que les anticorps stimulés par le vaccin ne se lient à la protéine spike, car le récepteur ECA2 se lie à la protéine spike avec une affinité plus élevée. Cependant, d'autres études ont montré que la mutation L452R peut permettre au variant Delta de ne pas être attaqué par les cellules T CD8, qui sont les cellules qui éradiquent le virus. Dans la mutation P681R, l'arginine remplace la proline en position 681, et cette mutation contribue à cliver la protéine spike précurseur vers les formes activées de la protéine spike appelées S1 et S2. Cela permettrait une fusion et une intégration supérieures du virus dans la cellule hôte par rapport aux variants sans cette mutation (60,61,62,63,65).

Cette évolution génétique du virus s'est avérée affecter l'efficacité des vaccins ; même si les vaccins sont efficaces dans le cas d'éviter l'hospitalisation, de réduire l'effet pathologique, et même la mort. Ainsi, pour passer à un vaccin global, efficace et performant, il faudra étudier l'évolution progressive du virus.

À partir des tableaux comparatifs (voir Tableau 3 and 4), nous avons réalisé que les mutations les plus fréquentes (75 % +) au Maroc étaient des mutations missense non-synonymes ; et qu'elles affectaient principalement le gène S. Une comparaison plus poussée (Tableau 4) a révélé que la majorité des mutations communes des lignées B.1.617.2 et AY.33 dans le monde (selon outbreak.info) modifiaient le gène S ce qui signifie que la polyvalence de la variante Delta est liée au gène S. Ainsi, une mutation dans la structure du gène S provoque la transmissibilité et la virulence de la lignée. Cependant, des recherches supplémentaires sur le gène S contribueront énormément à la compréhension du virus en général.

Un autre chose on a déduit est que toutes les mutations communes au Maroc des lignées B.1.617.2 et AY.33 étaient également présentes dans les parties du monde, à l'exception d'une mutation dans la lignée marocaine AY.33 ; Q613H qui n'a pas encore été détectée dans les mutations communes de la variante Delta dans le monde. C'est presque comme si toutes les mutations communes du delta au Maroc étaient un sous-groupe des mutations communes dans d'autres parties du monde. Cela suggère que la variante Delta au Maroc pourrait être totalement importée d'un autre pays qui, selon les études, a ses ancêtres en Inde. Cela devrait inciter les autorités du Royaume du Maroc à surveiller de près les différents voyages internationaux et peut-être à réviser les protocoles de voyage pour aider à réduire les infections provenant d'autres pays.

L'étude phylogénétique des séquences Delta du Maroc et de 15 autres pays a révélé des choses intéressantes. À partir de l'arbre phylogénétique, nous avons vu des clades homogènes et des clades hétérogènes. Le plus grand clade montré dans la figure 15 est un clade marocain homogène. Ceci explique la diversité de la variante Delta au Maroc.

Le clade dans la Figure 16 indique que la Thaïlande est le pays avec la majorité des séquences (16 sur 26) sur le même clade. Cette dominance en nombre de séquences dans ce clade par la Thaïlande suggère une possible transmission de mutations de la Thaïlande vers ces cinq autres zones

géographiques, dont le Maroc, qui est le deuxième pays dominant dans le clade. Cela peut signifier qu'un pays a pu être infecté par un autre avec des séquences spécifiques. Et cela explique aussi la diversité géographique du virus. Cependant, cette hypothèse pourrait être confirmée par un Treetime et un arbre ancestral. Cela peut donc donner le coup d'envoi d'une recherche plus approfondie sur les différentes origines des mutations de la variante Delta au Maroc.

Cette étude nous donne une idée de la mesure dans laquelle une étude génétique et géographique approfondie de l'évolution des différents COV donnera à l'humanité des connaissances préalables afin d'aider à combattre cette pandémie d'un point de vue avantageux.

CONCLUSION

L'évolution du SRAS-CoV-2 chez l'homme a été proposée comme un processus non déterministe dans lequel la diversification du virus résulte principalement d'une dérive génétique aléatoire, ce qui suggère qu'aucune force puissante n'affecte son adaptation chez l'homme. Des mutations hautement corrélées ont pu apparaître pour préserver l'intégrité structurelle du virus.

La variante Delta au Maroc compte six sous-lignées principales, avec AY.33 comme variante prédominante. Toutes les mutations communes trouvées au Maroc ont également été trouvées dans d'autres parties du monde, à l'exception de T299I, T29A et Q613H. Nous avons identifié un clade phylogénétique homologue marocain de 30 mutations, ce qui montre la diversité du variant Delta au Maroc et suggère l'importation du virus. La plupart des mutations communes identifiées affectaient le gène S ce qui ouvre la voie à de nouvelles recherches.

Nous avons vu à quel point la variante Delta est génétiquement et géographiquement diversifiée et comment, dans une certaine mesure, elle rend moins efficaces les interventions thérapeutiques disponibles.

Par cette étude, nous voyons que la nuisance sociale et économique de ce virus est liée à son évolution génétique, aux différents types de mutations produites en conséquence et aux gènes que ces mutations affectent. Un suivi et analyse génomique du virus nous permettra de savoir à l'avance comment gagner cette guerre micro-organique en ayant des solutions thérapeutiques plus durables.

PERSPECTIVE

L'étude de l'évolution génétique de la variante Delta du SRAS-CoV-2 au Maroc a montré qu'une surveillance continue et génétique du virus en général ne sera pas seulement informative, mais sera une révélation utile alors que le monde est à la recherche d'une solution permanente au Covid-19.

Cette étude nous a permis de connaître les mutations les plus courantes en ce qui concerne la variante Delta au Maroc et le gène qu'elles affectent le plus ; le gène S. Nous avons également vu les diversifications du variant Delta.

Est-ce qu'une interruption de la mutation du gène S réduirait-elle le taux d'évolution du virus ou, par conséquent, arrêterait-elle l'évolution du virus ?

RÉFÉRENCES

1. "Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV)". World Health Organization (WHO) (Press release). 30 January 2020. Archived from the original on 31 January 2020. Retrieved 30 January 2020.
2. "WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020". World Health Organization (WHO) (Press release). 11 March 2020. Archived from the original on 11 March 2020. Retrieved 12 March 2020.
3. Domenico Cucinotta , Maurizio Vanelli, WHO Declares COVID-19 a Pandemic Acta Biomed, 2020 Mar 19;91(1):157-160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397.
4. Sanaâ Lemriss, Amal Souiri, a Narjis Amar, Nabil Lemzaoui, Omar Mestoui, Mohamed Labioui, Nabil Ouairiba, Ayoub Jibjibe, Mahmoud Yartaoui, Mohamed Chahmi, Marouane El Rhouila, Samiha Sellak, Nadia Kandoussi, Saâd El Kabbaja, 2020, 2 Juillet. Complete Genome Sequence of a 2019 Novel Corona virus (SARS-CoV-2) Strain Causing a COVID-19 Case in Morocco, ASM Journals.
5. Le Maroc annonce l'enregistrement du premier cas du nouveau Coronavirus, <https://www.sante.gov.ma/Pages/communiqués.aspx?communiqueID=355>, © 2018 - Ministère de la santé - Tous droits réservés
6. Bouabid Badaoui, Khalid Sadki, Chouhra Talbi, Driss Salah, Lina Tazi, Genetic diversity and genomic epidemiology of SARS-CoV-2 in Morocco, Biosafety and Health, Volume 3, Issue 2, 2021, Pages 124-127, ISSN 2590-0536, <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2021.01.003>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590053621000033>)
7. Sanaâ Lemriss, Amal Souiri, Narjis Amar, Nabil Lemzaoui, Omar Mestoui, Mohamed Labioui, Nabil Ouairiba, Ayoub Jibjibe, Mahmoud Yartaoui, Mohamed Chahmi, Marouane El Rhouila, Samiha Sellak, Nadia Kandoussi, Saâd El Kabbaj, **Complete Genome Sequence of a 2019 Novel Coronavirus (SRAS-CoV-2) Strain Causing a COVID-19 Case in Morocco**, 2020, 2 Juillet.

8. Mouna Ouadghiri , Tarik Aanniz , Abdelmunim Essabbar , Myriam Seffar , Hakima Kabbaj, Ghizlane El Amin, Amal Zouaki, Saaïd Amzazi, Lahcen Belyamani, Azeddine Ibrahimi, **Report of SRAS-CoV-2 B1.1.7 Lineage in Morocco**, Microbiol Resour Announc doi: 10.1128/MRA.00240-21, . 2021 Apr 22;10(16):e00240-21.
9. World Health Organization (OMS), **Genomic sequencing of SRAS-CoV-2 A guide to implementation for maximum impact on public health**, ISBN 978-92-4-001844-0 (electronic version) ISBN 978-92-4-001845-7 (print version)
https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-genomic_sequencing-2021.1, 2021, 8 January.
10. Jean-Paul Sardon. De la longue histoire des épidémies au Covid-19. Les Analyses de Population & Avenir, 2020, ff10.3917/lap.026.0001ff. ffhal-02557027f
11. Sara Platto, Yanqing Wang, Jinfeng Zhou, Ernesto Carafoli, History of the COVID-19 pandemic: Origin, explosion, worldwide spreading, Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 538, 2021, Pages 14-23, ISSN 0006-291X, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.087>,
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X20320167>)
12. Hu, B., Guo, H., Zhou, P. et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat Rev Microbiol 19, 141–154 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>, Published: 06 October 2020, Issue Date: March 2021,
13. Andersen, K.G., Rambaut, A., Lipkin, W.I. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med 26, 450–452 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
Published 17 March 2020, Issue Date April 2020,
14. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses., Gorbalenya, A.E., Baker, S.C. et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* **5**, 536–544 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>, Published: 02 March 2020.

15. Anshumali Mittal, Kavyashree Manjunath, Rajesh Kumar Ranjan, Sandeep Kaushik, Sujeet Kumar and Vikash Verma, COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hECA2 receptor recognition by SARS-CoV-2, *PLoS Pathog.* 2020 Aug; 16(8): e1008762. Published online 2020 Aug 21. doi: 10.1371/journal.ppat.1008762
16. Huang, Y., Yang, C., Xu, Xf. *et al.* Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol Sin* **41**, 1141–1149 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4>, Published 03 August 2020.
17. Meriem LAAMARTI, Abdelmunim ESSABBAR, Tarek ALOUANE, Souad KARTTI, Nasma BOUMAJDI, Houda BENDANI, Rokia LAAMARTI, Loubna ALLAM, Mouna OUADGHIRI, M.W. CHEMAO-ELFIHRI, Fatima GHRIFI, Imane SMYEJ, Jalila RAHOUI, Houda BENRAHMA, Idrissa DIAWARA, Tarik AANNIZ, Naima EL HAFIDI, Rachid EL JAUDI, Chakib NEJJARI, Saaid AMZAZI, Rachid MENTAG, Lahcen BELYAMANI and Azeddine IBRAHIMI, Do the Moroccan SARS-cov-2 genetic diversity hamper the use of the developed universal vaccines in Morocco?, *bioRxiv* doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.30.181123>, 2021, 22 Avril.
18. Idris N. Abdullahi, MSc, Anthony U. Emeribe, MSc, Onaoluwa A. Ajayi, MSc, Bamidele S. Oderinde, PhD, Dele O. Amadu MSc and Ahaneku I. Osuji, PhD, Implications of SARS-CoV-2 genetic diversity and mutations on pathogenicity of the COVID-19 and biomedical interventions, *Journal of Taibah University Medical Sciences* (2020) 15(4), 258e264, July 2020.
19. Tarek Alouane, Meriem Laamarti, Abdelmunim Essabbar, Mohammed Hakmi, El Mehdi Bouricha, M. W. Chemaou-Elfihri, Souad Kartti, Nasma Boumajdi, Houda Bendani, Rokia Laamarti, Fatima Ghrifi, Loubna Allam, Tarik Aanniz, Mouna Ouadghiri, Naima El Hafidi, Rachid El Jaoudi, Houda Benrahma, Jalil El Attar, Rachid Mentag, Laila Sbabou, Chakib Nejjari, Saaid Amzazi, Lahcen Belyamani and Azeddine Ibrahim, **Genomic Diversity and Hotspot Mutations in 30,983 SARS-CoV-2 Genomes: Moving Toward a Universal Vaccine for the “Confined Virus”?**, *Pathogens*, Published: 10 October 2020.
20. <https://telquel.ma/tag/variant-delta>

21. [Le Matin - Pr El Mustapha El Fahim : «Le variant Delta présente 4 mutations de plus au niveau national»](#)
22. Tomas L. Bothe, Andreas Patzak, Rudolf Schubert, Niklas Pilz, Getting it right matters! Covid-19 pandemic analogies to everyday life in medical sciences, *Acta Physiologica*, 10.1111/apha.13714, 233, 1, (2021).
[Wiley Online Library](#)
23. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* 2020;176:104742.
24. Scientific Brief: SARS-CoV-2 Transmission, Updated May 7, 2021, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html>
25. Leung, N.H.L. Transmissibility and transmission of respiratory viruses. *Nat Rev Microbiol* 19, 528–545 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00535-6>
26. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015;1282:1-23.
27. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* 2020;176:104742.
28. Rabi FA, Al Zoubi MS, Kasasbeh GA, Salameh DM, Al-Nasser AD. SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. *Pathogens.* 2020;9(3):231. Published 2020 Mar 20. doi:10.3390/pathogens9030231
29. Delamater P.L., Street E.J., Leslie T.F., Yang Y.T., Jacobsen K.H. Complexity of the Basic Reproduction Number (R0) *Emerg. Infect. Dis. J.* 2019;25 doi: 10.3201/eid2501.171901.
30. Sanche S, Lin Y, Xu C, Romero-Severson E, Hengartner N, Ke R. High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(7):1470-1477. <https://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
31. Bae S, Kim H, Jung TY, et al. Epidemiological Characteristics of COVID-19 Outbreak at Fitness Centers in Cheonan, Korea. *J Korean Med Sci.* Aug 10 2020;35(31):e288. doi:10.3346/jkms.2020.35.e288
32. Charlotte N. High Rate of SARS-CoV-2 Transmission Due to Choir Practice in France at the Beginning of the COVID-19 Pandemic. *J Voice.* Dec 23 2020;doi:10.1016/j.jvoice.2020.11.029

33. Source: World Health Organization Dashboard, <https://covid19.who.int/>
34. https://www.uptodate.com/contents/covid-19-epidemiology-virology-and-prevention?search=delta%20variant%20covid&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H2513099034
35. World Health Organization. Tracking SARS-CoV-2 variants. Available at: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>.
36. PubMed Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus.
37. <https://www.2m.ma/fr/news/covid-maroc-la-plateforme-genomique-du-cnrst-se-charge-de-la-surveillance-permanente-du-virus-reportage-20210826/>
38. <https://www.sante.gov.ma/Pages/Communiqués.aspx?IDCom=381>
39. D'Arienza M, Coniglio A. Assessment of the SARS-CoV-2 basic reproduction number, R_0 , based on the early phase of COVID-19 outbreak in Italy. *Biosaf Health*. 2020;2(2):57-59. doi:10.1016/j.bsheal.2020.03.004
40. Rahman B, Sadraddin E, Porreca A. The basic reproduction number of SARS-CoV-2 in Wuhan is about to die out, how about the rest of the World?. *Rev Med Virol*. 2020;30(4):e2111. doi:10.1002/rmv.2111
41. AY.33 Lineage Report. Alaa Abdel Latif, Julia L. Mullen, Manar Alkuzweny, Ginger Tsueng, Marco Cano, Emily Haag, Jerry Zhou, Mark Zeller, Emory Hufbauer, Nate Matteson, Chunlei Wu, Kristian G. Andersen, Andrew I. Su, Karthik Gangavarapu, Laura D. Hughes, and the Center for Viral Systems Biology. outbreak.info, (available at <https://outbreak.info/situation-reports?pango=AY.33>). Accessed 17 December 2021.
42. Effectiveness of Covid-19 Vaccines against the B.1.617.2 (Delta) Variant. *N Engl J Med* **385**:25.
43. SARS-CoV-2 Delta variant: a persistent threat to the effectiveness of vaccines, *Lancet Infect Dis* 2021, Published Online, November 23, 2021, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00697-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00697-6).
44. Public Health England. SARS-CoV-2 variants of concern and variants under investigation in England: technical briefing 19. July 23, 2021 (https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1005517/Technical_Briefing_19.pdf).

45. Public Health England. COVID-19 vaccine surveillance reports(weeks 19 to 38). May 14, 2021 (<https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-vaccine-surveillance-report>).
46. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/991343/Variants_of_Concern_VOC_Technical_Briefing_14.pdf (Accessed on June 07, 2021).
47. [PubMed](#), SARS-CoV-2 B.1.617.2 (Delta) Variant COVID-19 Outbreak Associated with a Gymnastics Facility - Oklahoma, April-May 2021. Dougherty K, Mannell M, Naqvi O, Matson D, Stone J, MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021;70(28):1004. Epub 2021 Jul 16. PMID [34264910](#)
48. Li B, Deng A, Li K, et al. Viral infection and transmission in a large, well-traced outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta variant. UNPUBLISHED. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.07.07.21260122v2> (Accessed on September 16, 2021). PMID [34423834](#)
49. [PubMed](#), Clinical and virological features of SARS-CoV-2 variants of concern: a retrospective cohort study comparing B.1.1.7 (Alpha), B.1.315 (Beta), and B.1.617.2 (Delta). Ong SWX, Chiew CJ, Ang LW, Mak TM, Cui L, Toh MPHS, Lim YD, Lee PH, Lee TH, Chia PY, Maurer-Stroh S, Lin RTP, Leo YS, Lee VJ, Lye DC, Young BE, Clin Infect Dis. 2021;
50. [PubMed](#), SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. Sheikh A, McMenamin J, Taylor B, Robertson C, Public Health Scotland and the EAVE II Collaborators, Lancet. 2021;397(10293):2461. Epub 2021 Jun 14. PMID [34139198](#)
51. [PubMed](#), Hospital admission and emergency care attendance risk for SARS-CoV-2 delta (B.1.617.2) compared with alpha (B.1.1.7) variants of concern: a cohort study. Twohig KA, Nyberg T, Zaidi A, Thelwall S, Sinnathamby MA, Aliabadi S, Seaman SR, Harris RJ, Hope R, Lopez-Bernal J, Gallagher E, Charlett A, De Angelis D, Presanis AM, Dabrera G, COVID-19 Genomics UK (COG-UK) consortium, Lancet Infect Dis. 2021; PMID [34461056](#)
52. [PubMed](#), Evaluation of the relative virulence of novel SARS-CoV-2 variants: a retrospective cohort study in Ontario, Canada. Fisman DN, Tuite AR CMAJ. 2021;193(42):E1619. Epub 2021 Oct 4. PMID [34610919](#)
53. Goldberg, Y. et al. Waning immunity of the BNT162b2 vaccine: a nationwide study from Israel. Preprint at <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.08.24.21262423v1> (2021).

54. Petter, E. et al. Initial real-world evidence for a lower viral load of individuals who have been vaccinated by BNT162b2. Preprint at <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.02.08.21251329v1> (2021).
55. Farinholt et al. BMC Medicine (2021) 19:255 <https://doi.org/10.1186/s12916-021-02103-4>
56. <https://www.google.com/search?q=major+signs+and+symptoms+of+covid+19&oq=major+signs+and+&aqs=chrome.3.69i57j0i512i9.9049j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
57. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>
58. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion, <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03944-y>, Published online: 6 September 2021.
59. The mutation that helps Delta spread like wildfire *Nature* **596**, 472-473 (2021) doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02275-2>
60. : Shieh-zadegan, S.; Alaghemand, N.; Fox, M.; Venketaraman, V. Analysis of the Delta Variant B.1.617.2 COVID-19. *Clin. Pract.* 2021, 11, 778–784. <https://doi.org/10.3390/clinpract11040093>
61. Latif, A.A.; Mullen, J.L.; Alkuzweny, M.; Tsueng, G.; Cano, M.; Haag, E. Center for Viral Systems Biology. 1 July 2021. B.1.617.2 Lineage Report. Available online: <https://outbreak.info/situation-reports?pango=B.1.617.2> (accessed on 9 October 2021).
62. Koshy, J. Coronavirus|Indian ‘Double Mutant’ Strain Named B.1.617. *The Hindu*. 2021. Available online: <https://www.thehindu.com/news/national/indian-double-mutant-strain-named-b1617/article34274663.ece> (accessed on 9 October 2021).
63. Haseltine, W. An Indian SARS-CoV-2 Variant Lands in California. More Danger Ahead? *Forbes*, 12 April 2021. Available online: <https://www.forbes.com/sites/williamhaseltine/2021/04/12/an-indian-sars-cov-2-variant-lands-in-california-moredanger-ahead/?sh=6f92503b3b29>(accessed on 9 October 2021).

64. Bertram, S.; Dijkman, R.; Habjan, M.; Heurich, A.; Gierer, S.; Glowacka, I.; Welsch, K.; Winkler, M.; Schneider, H.; Hofmann Winkler, H.; et al. TMPRSS2 Activates the Human Coronavirus 229E for Cathepsin-Independent Host Cell Entry and Is Expressed in Viral Target Cells in the Respiratory Epithelium. *J. Virol.* 2013, 87, 6150–6160. [CrossRef] [PubMed]
65. CDC. Delta Variant: What We Know about the Science. COVID-19. August 2021. Available online: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/delta-variant.html> (accessed on 9 October 2021).
66. : Laamarti M, Alouane T, Kartti S, ChemaouElfihri MW, Hakmi M, Essabbar A, et al. (2020) Large scale genomic analysis of 3067 SARS-CoV-2 genomes reveals a clonal geo-distribution and a rich genetic variations of hotspots mutations. *PLoS ONE* 15(11): e0240345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.024034>
67. Hodcroft E.B. SARS-CoV-2 Mutations and Variants of Interest. *CoVariants*. [(accessed on 9 October 2021)]. Available online: <https://covariants.org/>
68. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19. Huang Y, Yang C, Xu XF, Xu W, Liu SW *Acta Pharmacol Sin.* 2020 Sep; 41(9):1141-1149.
69. Shiehzadegan S, Alaghemand N, Fox M, Venketaraman V. Analysis of the Delta Variant B.1.617.2 COVID-19. *Clin Pract.* 2021;11(4):778-784. Published 2021 Oct 21. doi:10.3390/clinpract11040093
70. Latif A.A., Mullen J.L., Alkuzweny M., Tsueng G., Cano M., Haag E. Center for Viral Systems Biology. 1 July 2021. B.1.617.2 Lineage Report. [(accessed on 9 October 2021)]. Available online: <https://outbreak.info/situation-reports?pango=B.1.617.2>.
71. Kannan SR, Spratt AN, Cohen AR, et al. Evolutionary analysis of the Delta and Delta Plus variants of the SARS-CoV-2 viruses. *J Autoimmun.* 2021;124:102715. doi:10.1016/j.jaut.2021.102715.

72. Zhou, Z., Qiu, Y. & Ge, X. The taxonomy, host range and pathogenicity of coronaviruses and other viruses in the Nidovirales order. *Animal Diseases* 1, 5 (2021). <https://doi.org/10.1186/s44149-021-00005-9>

73. Gorkhali R, Koirala P, Rijal S, Mainali A, Baral A, Bhattarai HK. Structure and Function of Major SARS-CoV-2 and SARS-CoV Proteins. *Bioinform Biol Insights*. 2021 Jun 22;15:11779322211025876. doi: 10.1177/11779322211025876. PMID: 34220199; PMCID: PMC8221690.

74. Ying Liu, Joacim Rocklöv, The reproductive number of the Delta variant of SARS-CoV-2 is far higher compared to the ancestral SARS-CoV-2 virus, *Journal of Travel Medicine*, Volume 28, Issue 7, October 2021, taab124, <https://doi.org/10.1093/jtm/taab124>