

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

DATE : 19/06/2021

REFERENCE : MINSANTE N°2021-82

OBJET : EVOLUTION DE LA STRATEGIE DE SEQUENCAGE

☒ Pour action

☒ Pour information

Mesdames, Messieurs,

Face à l'émergence de nouveaux variants, leur identification précoce sur le territoire national constitue un objectif majeur de la stratégie nationale de séquençage définie par Santé publique France et l'ANRS-Maladies infectieuses émergentes dans le cadre du consortium EMERGEN. Cette stratégie a pour objectifs d'identifier la part des différents variants circulant sur le territoire ;

- Séquençage après échantillonnage aléatoire des prélèvements ; cela permet de décrire la distribution et la circulation des différents types de virus (clades, variants à l'intérieur des clades dont variants préoccupants (VOC), à suivre ou en cours d'évaluation), et leur évolution dans le temps sur le territoire ;
- Séquençage des échantillons issus de clusters ou toute autre situation anormale (incidence élevée) ;
- Séquençage des cas positifs après retour de l'étranger, en particulier des pays tiers à l'Union européenne ;
- Séquençage des cas d'échecs des traitements par anticorps monoclonaux ou de vaccination ;
- Séquençage des cas de réinfection ;
- Séquençage des cas d'infections avec des excréctions virales prolongées, en particulier chez les personnes immunodéprimées.

Pour renforcer la stratégie nationale de séquençage, celle-ci évolue ainsi que le cadre juridique et financier gouvernant son organisation.

Le présent MINSANTE annule et remplace le MINSANTE-48 et fixe la nouvelle doctrine nationale de séquençage. Cette doctrine précise les différentes indications de séquençage, qui répondent à des ambitions différentes et reposent sur divers acteurs.

Il est demandé aux ARS de rappeler aux laboratoires de biologie médicale que la participation aux séquençages est obligatoire, que ce soit par envoi de leurs échantillons aux plateformes du réseau EMERGEN ou par séquençage s'ils respectent les conditions détaillées dans ce MINSANTE.

1. Une répartition des indications de séquençage entre différents acteurs pour renforcer les capacités :

Trois indications coexistent, desquelles résultent des objectifs différents :

- **Le séquençage à visée de surveillance** repose sur une sélection aléatoire de prélèvements positifs par RT-PCR – indépendamment de tout résultat de criblage afin de ne pas biaiser cette sélection – dans le cadre d'enquêtes Flash. Leur protocole (dont la proportion de prélèvements positifs à inclure, qui dépend de la dynamique de l'épidémie) est défini par Santé publique France et diffusé la semaine qui précède chaque enquête. Cet objectif de surveillance comporte des exigences en termes d'adhésion des laboratoires préleveurs pour obtenir une couverture territoriale correcte, incluant chaque département, en métropole et outre-mer.

Afin d'augmenter de manière importante ces séquençages aléatoires et de disposer d'une image la plus fidèle possible de la circulation du virus et de ses variants sur le territoire, à partir du 21 juin :

- Les enquêtes Flash, actuellement bimensuelles, deviendront hebdomadaires ;
- Tous les prélèvements positifs diagnostiqués le jour de l'enquête devront être transmis à l'une des plateformes autorisées à réaliser le séquençage à visée de surveillance (CNR et laboratoires experts ou lauréats de l'AMI) ;
- Un dispositif de rétrocontrôle permettra d'identifier les laboratoires ne participant pas aux enquêtes Flash afin que leur soient rappelées leurs obligations.

Dans ce cadre, les prélèvements et leurs métadonnées associées doivent être adressés au CNR Virus des infections respiratoires (Institut Pasteur), son laboratoire associé de Lyon ou aux laboratoires experts pour l'appui au séquençage du SARS-CoV-2 (Laboratoire de Virologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Paris ; Pôle infectieux de l'AP-HM, Marseille) ; ils pourront aussi être adressés aux autres laboratoires sélectionnés suite à l'appel à manifestation d'intérêt publié par Santé publique France, selon leur rattachement géographique¹.

- **Le séquençage interventionnel** a pour objectif de caractériser les souches responsables d'un cluster ou de toute situation jugée anormale dans un territoire donné (augmentation rapide et inexpliquée du taux d'incidence, par exemple). Cet objectif comporte des exigences en termes d'opérationnalité et de réactivité qui nécessitent un ancrage local fonctionnel éprouvé.

Cette indication est ouverte, par convention avec l'ARS, à tout laboratoire en capacité de réaliser le séquençage selon les spécifications du cahier des charges définies par Santé publique France et le CNR (cf. annexe 1).

- **Le séquençage ciblé** concerne les autres indications définies par Santé publique France et l'ANRS | Maladies infectieuses émergentes (MIE), telles qu'indiquées *infra*.

Dans ce cadre, les prélèvements et leurs métadonnées associées sont adressés au CNR Virus des infections respiratoires ou son laboratoire associé, ou à un laboratoire du réseau ANRS-MIE, car ils concernent essentiellement des indications cliniques qui nécessitent une expertise multidisciplinaire virologique et clinique et présentent un enjeu important en termes de santé publique.

Indication du séquençage NGS	CNR (Pasteur et Lyon)	Laboratoires experts pour l'appui au séquençage du SARS-CoV-2	Laboratoires désignés par l'AMI ² SpFrance	Réseau ANRS-MIE	LBM
Surveillance (enquêtes flash)	+	+	+	-	Envoi d'échantillons-
Interventionnel	+	+	-	+	+
Ciblé	+	+	-	+	Envoi d'échantillons

¹ <https://www.santepubliquefrance.fr/les-actualites/2021/sars-cov-2-appel-a-manifestations-d-interet-dans-le-cadre-du-projet-emergen>

² Appel à manifestation d'intérêt

Il est par ailleurs rappelé que l'article L. 1413-8 du code de la santé publique prévoit, lorsqu'il s'avère nécessaire de prévenir ou de maîtriser des risques graves pour la santé humaine, que tout laboratoire est tenu de transmettre aux centres nationaux de référence ou aux laboratoires désignés, les souches d'agent infectieux ou le matériel biologique de toute origine en sa possession en rapport avec de tels risques. **S'agissant notamment des indications de séquençage ciblé et à visée de surveillance, vous pourrez rappeler, au besoin, cette obligation aux laboratoires de votre région.**

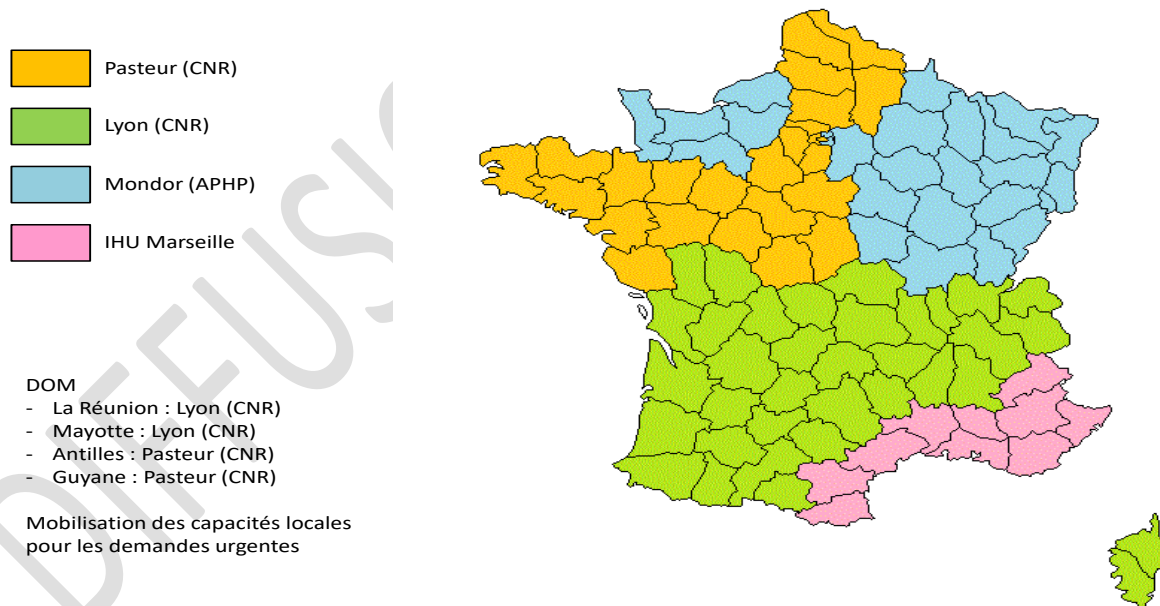
A. Organisation du séquençage à visée de surveillance

Le séquençage à visée de surveillance relève du CNR des virus respiratoires (Laboratoires de l'Institut Pasteur), de son laboratoire associé (Hospices Civils de Lyon) et de deux laboratoires expert pour l'appui au séquençage du SARS-CoV-2, le Laboratoire de Virologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Paris ; et le Pôle infectieux de l'AP-HM, à Marseille. Ces plateformes sont désignées par l'arrêté du 7 mars 2017 modifié fixant la liste des CNR.

Comme indiqué, cette surveillance repose sur une sélection aléatoire de prélèvements pour RT-PCR positifs. Pour que ses résultats dressent un panorama précis de la circulation des variants sur le territoire, il convient de s'assurer que les échantillons séquencés sont issus de chaque département, en métropole et outre-mer.

Le jour de l'enquête Flash, tous les prélèvements positifs au SARS-CoV-2 doivent être envoyés (en amont de tout criblage) à l'une des quatre plateformes nationales en fonction de leur région de collecte. La carte ci-après, réalisée en fonction des capacités de chaque plateforme et des populations desservies, indique la répartition géographique actuelle entre ces quatre plateformes ; la seule exception à cette règle concerne ici les laboratoires de l'APHP qui adressent leurs prélèvements à la plateforme Henri Mondor.

Cette cartographie pourra évoluer en tant que de besoin, notamment suite à la sélection après AMI de Santé publique France de laboratoires additionnels. Le cas échéant, vous en serez immédiatement informés et une version actualisée sera mise en ligne sur les sites de SPF et diffusée dans le cadre des annonces précédant chaque enquête Flash.



A ce titre, vous veillerez à communiquer auprès des laboratoires préleveurs sur la nécessité de transmettre des prélèvements à la plateforme de séquençage dont ils dépendent (rappelée par la cartographie ci-dessus).

Afin de garantir une exhaustivité de la réalisation du séquençage des prélèvements positifs, le dispositif de rétro contrôle est organisé comme suit :

- SpF envoie aux ARS et aux cellules régionales la liste des laboratoires ayant transmis des prélèvements pour séquençage ;

- L'ARS et la CR identifie les éventuels laboratoires de la région qui n'auraient pas envoyé les échantillons dans le cadre de l'enquête Flash. Dans ce cadre, l'ARS rappelle au(x) laboratoire(s) leur obligation de transmettre les prélèvements en application du L 1413-8 du CSP.

Enfin, cette indication a vocation à être ouverte à d'autres laboratoires, notamment du secteur privé. Un appel à manifestation d'intérêt et un cahier des charges ont été publiés par Santé publique France pour identifier et sélectionner les laboratoires qui participeront à cette indication. La procédure est en cours et cette liste sera connue fin juillet.

<https://www.santepubliquefrance.fr/les-actualites/2021/sars-cov-2-appel-a-manifestations-d-interet-dans-le-cadre-du-projet-emergen>

B. Organisation du séquençage à visée interventionnelle

Le séquençage à visée interventionnelle a pour but de contribuer à l'investigation de clusters ou de toute autre situation qualifiée d'anormale (ex : incidence anormalement élevée, gravité particulière, suspicion de transmission de l'animal à l'homme ou inversement, etc.). Pour ces situations, le séquençage complètera les données épidémiologiques recueillies et contribuera à l'orientation des actions de santé publique mises en œuvre.

Cette indication est ouverte dans le cadre de l'arrêté du 1^{er} juin 2021 à tout laboratoire respectant le cahier des charges défini par Santé publique France et le CNR et **sur demande de l'ARS. A ce titre, vous aurez donc la charge de piloter cette indication et d'orienter les échantillons vers les laboratoires en capacité de séquencer.** Dans ce cadre, il vous revient de mettre en place une convention (un modèle est proposé en annexe à titre indicatif) avec le ou les laboratoire(s) de proximité en mesure de réaliser le séquençage et de rendre les résultats dans des délais compatibles avec la gestion d'un cluster ou autre situation particulière. Le cahier des charges devant être respecté par ces laboratoires est identique à celui qui s'applique aux laboratoires sélectionnés via l'AMI précédemment cité : il définit les conditions techniques de réalisation de l'acte de séquençage et les obligations de remontée des résultats de séquençage et des données médico administratives du patient vers la base nationale de séquençage EMERGEN. La passation d'une convention avec les laboratoires du CNR ou de l'ANRS-MIE n'est pas nécessaire, ces derniers étant désignés par arrêté.

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

Afin de disposer d'un maillage régional suffisant, il vous est demandé de mettre en place les conventions nécessaires d'ici fin juin. Cela permettra d'assurer que chaque région dispose de la réactivité nécessaire aux investigations de ces situations durant la période estivale. Vous remonterez au centre de crise sanitaire la liste des laboratoires avec lesquels vous avez conventionné. La régulation de cette indication repose sur une demande formalisée de l'ARS. Celle-ci s'inscrit dans le cadre d'une convention avec les laboratoires de proximité qui auront la charge de réaliser le séquençage, qu'ils relèvent du secteur privé ou du secteur public, si ces laboratoires ne sont pas déjà CNR, laboratoire associé ou laboratoire expert ou ne font pas partie des laboratoires désignés du réseau ANRS-MIE (<https://www.anrs.fr/fr/actualites/818/emergen-liste-des-laboratoires-du-reseaux-anrs>). La demande de séquençage devra être matérialisée par écrit et conservée, pour qu'un contrôle a posteriori de la qualité des données puissent être réalisés.

Enfin, vous pourrez mettre en place pour organiser, coordonner et suivre cette activité une comitologie régionale particulière autour du séquençage, en réunissant les laboratoires de votre région en capacité de séquencer afin qu'ils puissent, au-delà de réaliser ces actes, éclairer vos prises de décision sur la base de leur expertise.

Le séquençage à visée interventionnelle est prioritaire sur le séquençage à visée de surveillance, en ce sens que, dans le cadre de clusters ou d'une évolution inexpliquée de l'incidence, un criblage, puis un séquençage, peuvent être réalisés à la demande de l'ARS.

C. Organisation du séquençage dit ciblé

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

- Les infections respiratoires aiguës (IRA) en médecine de ville, dont la surveillance est assurée par le Réseau Sentinelles : **les prélèvements réalisés par les médecins Sentinelles sont acheminés directement au CNR via un circuit dédié, déjà en place, et selon la répartition Nord-Sud habituelle pour ce CNR ;**
- Les suspicions de réinfection, les infections après vaccination (échecs vaccinaux) et les échecs de traitement par anticorps monoclonaux :
 - o Les suspicions de réinfection font l'objet d'une conduite à tenir définie par Santé publique France, le CNR et la Direction générale de la santé, disponible également sur le site de Santé publique France (<https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/covid-19-outils-pour-les-professionnels-de-sante> ; documents actualisés le 16 mars 2021). **Dans le cadre de cette conduite à tenir, un séquençage par le CNR ou un laboratoire du réseau ANRS-MIE est systématiquement indiqué pour pouvoir confirmer une réinfection.**
 - o Les échecs vaccinaux (infections 15 jours après la 2e dose) font l'objet d'un message MINSANTE n°2021-71 dédié qui précise leur circuit de signalement. **Tout prélèvement RT-PCR positif associé à un échec vaccinal doit bénéficier d'un séquençage par le CNR ou un laboratoire du réseau ANRS-MIE** afin de caractériser la souche responsable de l'infection post-vaccination.
 - o Les échecs de traitement par anticorps monoclonaux prescrit dans le cadre de l'ATU de cohorte (voir site de l'ANSM). **Tout prélèvement RT-PCR positif associé à un échec de traitement par anticorps monoclonaux doit bénéficier d'un séquençage par le CNR ou un laboratoire du réseau ANRS-MIE** afin de caractériser la souche responsable de l'échec du traitement par anticorps monoclonaux.

Sur ces trois groupes d'indications cibles, suspicions de réinfection, échecs vaccinaux, échecs de traitement par anticorps monoclonaux, la doctrine est identique et porte sur la totalité des cas concernés. **Les prélèvements peuvent être séquencés localement par l'un des laboratoires du réseau de l'ANRS|MIE désignés par arrêté** (<https://www.anrs.fr/fr/actualites/818/emergen-liste-des-laboratoires-du-reseaux-anrs>), **en lien avec le CNR, ou directement par le CNR, selon la répartition Nord-Sud habituelle rappelée ci-dessus.** Les indications de séquençage au sein de l'AP-HP ou de l'AP-HM seront respectivement traitées par la plateforme d'Henri Mondor et de l'IHU de Marseille.

A ce titre, ces indications présentant un objectif particulièrement important en termes de santé publique, vous veillerez à communiquer auprès des professionnels de santé de votre région et des laboratoires de biologie médicale sur la nécessité de transmettre pour séquençage les échantillons prélevés dans ce cadre. Une communication nationale sera organisée sur ce sujet.

- Les cas graves hospitalisés en réanimation : Santé publique France coordonne un réseau de surveillance des cas graves de COVID-19 ou de grippe, associant 226 services de réanimation et 44 laboratoires de biologie médicale qui se sont portés volontaires pour participer au volet virologique de cette surveillance. Dans le cadre du protocole de cette surveillance (disponible sur le site de Santé publique France et qui peut évoluer : <https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/covid-19-outils-pour-les-professionnels-de-sante>) ces laboratoires sont sollicités pour transmettre pour séquençage 20 prélèvements par mois (soit un objectif d'environ 10 000 séquençages par an). **Les prélèvements issus de cette surveillance sont acheminés vers le CNR, selon la répartition habituelle Nord-Sud rappelée ci-dessus ;** les indications de séquençage au sein de l'AP-HP ou de l'AP-HM seront respectivement traitées par la plateforme d'Henri Mondor et de l'IHU de Marseille. Le CNR devra être tenu informé de ces analyses.

Indépendamment du laboratoire effectuant ce séquençage, le CNR Virus des infections respiratoires (Laboratoire de l'Institut Pasteur ou Laboratoire des Hospices Civils de Lyon) devra être tenu informé de ces analyses, quelle que soit sa

zone géographique de survenue, afin de récupérer tout type de matériel biologique nécessaire à l'exercice de ses missions (voir répartition Nord-Sud ci-dessus).

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

2. Séquençage après criblage des mutations d'intérêt

A titre transitoire et afin de suivre de façon plus approfondie les mutations d'intérêt ciblées par la stratégie de criblage, tout criblage donnant un résultat positif sur une ou plusieurs des mutations E484K, E484Q et L452R doit obligatoirement être séquençé par le laboratoire préleveur s'il dispose d'une convention avec une ARS ou être envoyé à un laboratoire du CNR, laboratoire associé ou laboratoire expert ou à un laboratoire du réseau ANRS désigné pour le séquençage du SARS-CoV-2. **En lien avec le point 1.B, il vous est demandé de mettre en place dès que possible ce type de convention afin d'assurer au niveau régional une capacité de séquençage pour les tests de criblage positifs.**

Sur décision des autorités sanitaires, l'obligation de séquençage systématique après criblage pour une mutation donnée peut être levée si cette mutation devient majoritaire, comme c'est le cas notamment dans certains territoires ultramarins, entraînant un risque de saturation des capacités de séquençage territoriales.

Ces résultats de séquençage et les métadonnées associées doivent faire l'objet d'une transmission à la plateforme EMERGEN-DB selon les mêmes modalités que celles prévues au point 5 et d'une saisine dans SIDEP dans le champ JOKER 3.

3. Séquençage après un retour de l'étranger

S'agissant des PCR positives au SARS-CoV-2 lors des dépistages réalisés aux frontières ou chez une personne de retour de l'étranger hors Union Européenne dans les 14 jours suivant celui-ci, un séquençage doit obligatoirement être réalisé, quel que soit le résultat de criblage, par le laboratoire préleveur s'il dispose d'une convention avec une ARS ou être envoyé à un laboratoire du CNR, laboratoire associé ou laboratoire expert ou à un laboratoire du réseau ANRS désigné pour le séquençage du SARS-CoV-2. Ces résultats de séquençage et les métadonnées associées doivent faire l'objet d'une transmission à la plateforme EMERGEN-DB selon les mêmes modalités prévues au point 5.

4. Un financement à l'acte de l'ensemble des indications de séquençage

L'ensemble de ces indications et des acteurs seront désormais financés à l'acte, sur la base d'une rémunération égale à B500 par séquençage facturé à l'assurance maladie, avec le code acte 9007. Lorsque les prélèvements ne sont pas séquencés sur place mais transmis à une plateforme de séquençage, chaque prélèvement envoyé peut bénéficier d'une rémunération égale à B18 avec le code acte 9008.

Pour bénéficier des remboursements, il est impératif que l'ensemble des données médico-administratives associées soient renseignées (point 3).

5. Importance de la transmission et de la qualité des métadonnées associées aux résultats de séquençage

La mise en place de la stratégie nationale de surveillance génomique dans le cadre du consortium EMERGEN s'appuie sur un système d'information dédié, dont Santé publique France et l'ANRS-MIE ont confié le développement et la maintenance à l'Institut français de bioinformatique (IFB). Une base de données (EMERGEN-DB, <https://emergen-db.france-bioinformatique.fr/>) a vocation à centraliser l'ensemble des résultats de séquençage produits sur le territoire, quelle que soit leur indication.

Le déploiement de la base EMERGEN-DB se fait en 3 phases. La phase 1 est déjà opérationnelle depuis mai 2021 et est actuellement utilisée par les plateformes nationales (CNR, laboratoire associé, laboratoires experts) et les laboratoires de l'ANRS-MIE ; elle repose sur l'envoi des données non identifiantes résumant les caractéristiques du prélèvement analysé

(métadonnées) et le résultat (interprétation) du séquençage. La phase 2 ajoutera à ces données les fichiers de séquençage, et la phase 3 permettra la transmission de données identifiantes après autorisation de la CNIL.

Tout laboratoire réalisant un séquençage doit impérativement transmettre ses résultats selon les modalités du cahier des charges précédemment cité dans cette base de données, dans un délai maximum de 7 jours ouvrés après la date du prélèvement. La transmission de ces données nécessite l'ouverture préalable d'un compte personnel auprès de l'IFB, en en faisant la demande auprès de Santé publique France.

A ce stade, et jusqu'à la phase 3 et la mise en place d'une interconnexion avec la base SI-DEP pour alimenter automatiquement le champ JOKER3, les résultats de séquençage accompagnés de l'identité du patient doivent être transmis sans délai par le LBM séquenceur au LBM préleveur (si différent), aux ARS et Cellules régionales de Santé publique France concernées. Le LBM préleveur doit impérativement renseigner dans SI-DEP le champ JOKER3 sans délai à réception des résultats. Il s'agit d'ailleurs d'un préalable nécessaire au financement de l'acte.

Les éléments détaillés et procédures de soumission sont disponibles dans le cahier des charges en lien <https://www.santepubliquefrance.fr/les-actualites/2021/sars-cov-2-appel-a-manifestations-d-interet-dans-le-cadre-du-projet-emergen#block-347596>

En parallèle, dans le cadre de vos conventions avec les laboratoires de proximité, vous pourrez veiller à demander une information des résultats par messagerie de santé sécurisée, sans attendre la saisine de SIDEP.

S'agissant de la transmission d'échantillons d'un laboratoire préleveur vers un laboratoire en charge du séquençage, les métadonnées nécessaires à l'analyse devront être fournies via un formulaire d'accompagnement (bon de prélèvement) sous format papier, pour lequel un modèle (fichier Excel pouvant être rempli avant impression) sera envoyé aux laboratoires. Les données demandées sont présentes dans les systèmes d'information des laboratoires.

Pr. Jérôme Salomon
Directeur Général de la Santé

Signé

Convention

Surveillance génomique des variantes du SARS-CoV-2

Entre

L'ARS XXX

D'une part, et

Le LBM YYY

D'autre part

Vu

- Le code de la santé publique, notamment ses articles L. 1413-8, L. 3131-16 et L. 6212-1 ;
- Le code de la sécurité sociale, notamment son article L. 162-1-7 ;
- Le décret n° 2021-699 du 1^{er} juin 2021 modifié prescrivant les mesures générales nécessaires à la gestion de la sortie de crise sanitaire ;
- L'arrêté du 1^{er} juin 2021 modifié prescrivant les mesures générales nécessaires à la gestion de la sortie de crise sanitaire.

Considérants

- Que le virus du SARS-CoV-2 fait l'objet de mutations génomiques conduisant à différentes variantes ;
- Que certaines de ces mutations peuvent présenter un caractère de risque pour la santé publique (notamment augmentation de la dangerosité ou de l'infectiosité, risque d'échappement immunitaire et vaccinal) ;
- Que ces mutations du génome viral peuvent freiner la lutte contre l'épidémie de SARS-CoV-2 si des mesures de gestion appropriées ne sont pas mises en place ;
- Qu'il y a donc lieu de faire un suivi de la circulation et de l'apparition de variants du génome du SARS-CoV-2 sur le territoire national.

Article 1 – Objet de la convention

L'objet de la convention est une surveillance génomique par séquençage complet du génome du SARS-CoV-2.

Elle permet au laboratoire de biologie médicale de mettre à disposition de l'ARS ses compétences et analyses de données dans la surveillance génomique des variantes du SARS-CoV-2.

Les indications retenues dans le cadre de la convention sont les suivantes :

- Séquençage à visée interventionnelle : par exemple investigation de clusters, augmentation inexpliquée du taux d'incidence ;

- Séquençage des personnes de retour de l'étranger ;
- Séquençage après criblage positif des mutations ciblées dans le cadre de la stratégie des autorités sanitaires, définie au vu de la situation épidémiologique.

Le laboratoire de biologie médicale doit respecter le cahier des charges fixé par le CNR des virus des infections respiratoires, de Santé publique France et de l'Institut français de bioinformatique (en annexe 2) qui précise notamment les délais de séquençage, ainsi que les modalités de communication des résultats, de transmission des données et métadonnées associées. Pour ce faire, le laboratoire de biologie médicale doit disposer d'une connexion avec l'Institut français de bioinformatique lui permettant de verser les données demandées, ou la mettre en place dans les plus brefs délais.

Le laboratoire devra indiquer à l'ARS sa capacité hebdomadaire de séquençage mobilisable.

Une traçabilité doit être mise en place, d'une part, des demandes transmises par l'ARS au laboratoire de biologie médicale et, d'autre part, et des suites données ainsi que des résultats transmis par le laboratoire de biologie médicale.

Un suivi hebdomadaire sera organisé entre les parties.

Article 2 – Engagement des parties

Le laboratoire de biologie médicale s'engage à réaliser les séquençages et à transmettre les prélèvements selon les conditions définies dans le premier article.

Il s'engage par ailleurs, dès disponibilité des résultats de séquençage, à les transmettre à l'ARS.

L'ARS s'engage à formaliser par écrit les demandes faites dans le cadre de la présente convention, selon la capacité déclarée du laboratoire.

Article 3 – Modalités de financement

Les activités réalisées dans le cadre de cette convention doivent être facturées à l'Assurance maladie.

Sur demande de l'ARS :

- Les prélèvements positifs au SARS-CoV-2 bénéficiant d'un séquençage complet par NGS peuvent bénéficier d'une rémunération égale à B500 par séquençage facturé, avec le code acte 9007 ;
- Les prélèvements positifs au SARS-CoV-2 transmis à une plateforme de séquençage (CNR et laboratoires désignés), conformément aux dispositions du 2° de l'article L. 1413-8 du code de la santé publique, peuvent bénéficier d'une rémunération égale à B18 avec le code acte 9008.

Le versement des rémunérations par l'Assurance maladie est conditionné :

- Dans le cas du séquençage :
 - o au dépôt des fichiers présentant les séquences nucléotidiques virales et des métadonnées associées dans la base de données EMERGEN-DB selon le cahier des charges ci-joint,
 - o au renseignement sans délai ou à l'envoi au laboratoire transmetteur chargé de renseigner sans délai dans SIDEP le résultat du séquençage.
- Dans le cas de la transmission de prélèvements, à l'envoi des données médico-administratives associées toujours selon le cahier des charges.

Article 4 – Périmètre d'intervention

Le périmètre de d'intervention est

Article 5 – Entrée en vigueur et durée

La présente convention est conclue à compter de la date de signature des parties, pour une durée de 3 mois.

Article 6 – Confidentialité et respect du secret professionnel

Les parties s'engagent à observer la plus stricte discrétion quant aux données nominatives communiquées dans le cadre de cette convention.

Article 7 – Résiliation de la convention

Cette convention peut être résiliée à tout moment, en respectant un délai de préavis d'une semaine, à la demande de l'une d'elles, et peut en particulier prendre fin en cas de non-respect des engagements prévus.

L'ARS

Le Laboratoire de biologie médicale



CNR Virus des infections
respiratoires



Cahier des charges pour l'ouverture du séquençage aux laboratoires de biologie médicale (LBM) dans le cadre de la stratégie nationale de surveillance génomique du SARS-CoV-2 (projet EMERGEN).

Version du 10/05/2021.

La stratégie nationale de surveillance génomique du SARS-CoV-2 (projet EMERGEN) est coordonnée par Santé publique France et l'ANRS|Maladies Infectieuses Emergentes (MIE). Elle associe de nombreux partenaires et institutions, dont le Centre National de Référence (CNR) Virus des infections respiratoires et l'Institut Français de Bioinformatique (IFB).

Elle a pour objectif de décrire et suivre la circulation des variants déjà connus, mais aussi et surtout de détecter, identifier, évaluer et suivre dans les meilleurs délais la circulation de nouveaux variants préoccupants (c'est-à-dire ceux ayant des conséquences fonctionnelles, en termes de transmissibilité ou de pathogénicité par exemple). Elle s'appuie pour cela sur une liste de cibles prioritaires (indications du séquençage) permettant d'explorer différentes populations (en ville, en établissements médico-sociaux, en établissements de santé) et d'obtenir le matériel biologique et les métadonnées nécessaires aux activités de séquençage et de leur interprétation.

Les prérequis en matière de conformité des techniques et des remontées des résultats de séquençage dans la base de données nationale du projet ont été définis par Santé publique France, l'ANRS|MIE, l'Institut Français de Bioinformatique et le CNR Virus des infections respiratoires. Santé publique France et l'ANRS|MIE ont par ailleurs défini des indications prioritaires pour le séquençage du SARS-CoV-2, parmi lesquelles figurent le séquençage à visée de surveillance (sur la base d'un échantillonnage aléatoire). Ces indications ont fait l'objet d'un MINSANTE n°48-2021 du 30/03/2021.

L'ensemble des données de séquençage du SARS-CoV-2 produites dans le cadre de cette stratégie ont vocation à alimenter les missions de surveillance, d'investigation et d'évaluation des risques de Santé publique France et les travaux de recherche coordonnés par l'ANRS|MIE. Santé publique France et l'ANRS|MIE définissent les conditions d'accès des données ainsi recueillies.

Le présent cahier des charges définit les attendus des prestations de séquençage fournies par les laboratoires de biologie médicale (LBM) quelles que soient leurs indications :

- Séquençage à des fins de surveillance (sélection aléatoire) pour les LBM sélectionnés dans le cadre de l'appel à manifestation d'intérêt (AMI) conduit par Santé publique France ;
- Séquençage à visée interventionnelle pour les LBM sollicités sous couvert des ARS ;
- Séquençage suite à dépistage positif aux frontières selon les termes de l'article 28-1 de l'arrêté du 10 juillet 2020.

Ces activités de séquençage ouvrent droit pour les LBM sélectionnés à rémunération sur la base de la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM). Le respect de ce cahier des charges et des volumes de séquençage concernés par ces indications feront l'objet d'un reporting hebdomadaire à l'Assurance Maladie, sur la base des données effectivement remontées dans la base de données nationale du projet EMERGEN.

1. Cahier des charges

A. Qualité du séquençage génome entier par NGS

Le séquençage NGS, quelle que soit la technique utilisée (Illumina, Ion Torrent, MinION), est la méthode de référence, et doit couvrir la totalité du génome viral.

D'après l'évaluation de méthode de séquençage génome entier SARS-CoV-2 du CNR (Charre, Virus Evol, 2020), les critères pour valider une séquence sont les suivants :

- Couverture minimale pour appeler une base : >10X pour Illumina et Ion Torrent; > 20X pour MinION. En dessous de ce seuil, la base n'est pas déterminée (i.e. appelée N) ;
- Séquence validée si >99% de la séquence est déterminée (i.e. sans base ambiguë N) avec une profondeur de couverture moyenne de 1000x ;
- Pour les délétions : il est indispensable de différencier délétion et défaut de couverture. Une délétion est visible sur le fichier d'alignement (cf Charre, Virus Evol, 2020) ;
- Au moins un contrôle négatif qui a suivi l'ensemble du pipeline de production doit être séquençé pour chaque série d'extraction/d'amplification génique afin de déterminer la présence ou non de contamination.

Un variant est défini à la fois par son clade selon la nomenclature Nextclade et son lignage selon la nomenclature Pangolin en vigueur à la date du dépôt des données sur le serveur EMERGEN. En outre, la liste exhaustive des mutations génomiques et/ou protéiques pourra être requise, selon un format spécifié par le consortium (actuellement, le format d'export du logiciel Nextclade).

Les mutations (substitutions et délétions) sont définies par rapport à la séquence de référence Wuhan/Hu1/2019 (NCBI Nucleotide – NC_045512, GenBank – MN908947) (Wu et al. Nature. 2020 Mar;579(7798):265-269).

B. Qualité des métadonnées associées

Suite à un acte de séquençage, les données transmises doivent inclure les métadonnées suivantes, conformément aux procédures du projet EMERGEN :

- Phase 1 de l'infrastructure du projet (actuellement en vigueur) :

Un tableau de résultats de catégories de virus en format .xlsx respectant la structure et les indications d'un fichier-trame disponible sur le serveur EMERGEN-DB (<https://emergen-db.france-bioinformatique.fr/>).

La version actuelle de ce fichier contient les champs suivants :

- Numéro de prélèvement (propre au laboratoire) – Alphanumérique ;
- Indication du séquençage – cluster, enquête Flash, voyage étranger ou contact avec voyageur, sujet vacciné, réinfection, immunodéprimé, cas graves, enquêtes dépistage, échec traitement Ac, situation épidémiologique anormale, surveillance sentinelles ;
- Département de résidence – 3 chiffres ;
- Année de naissance – 4 chiffres ;
- Date de prélèvement – AAAA/MM/JJ ;
- Nom du laboratoire préleveur – Alphanumérique ;
- Code postal du laboratoire préleveur – 5 chiffres ;
- Nom du laboratoire séquenceur – Alphanumérique ;
- Date de réception du prélèvement – AAAA/MM/JJ ;
- Date de validation du résultat du séquençage – AAAA/MM/JJ ;
- Type de séquençage – NGS obligatoirement ;
- Longueur de séquençage – Complet obligatoirement
- Résultat de la séquence :
 - o Clade selon la nomenclature Nextstrain comme SIDEp ou VAR_IND ou PREL_NC ;
 - o Lignage selon la nomenclature Pangolin ;
 - o Liste des mutations identifiées.

Les spécifications de ce fichier pourront éventuellement évoluer au fil du projet.

- Phase 2 (à partir de mai 2021) :
 - o Les séquences brutes (format fastq) en ayant pris soin d'éliminer les éventuels fragments de génome humain ;
 - o La séquence assemblée (consensus) ;
 - o Une description formelle (scripts, workflows) des pipelines utilisés pour extraire les consensus et variants à partir des données brutes, suffisamment complète et détaillée pour assurer la reproductibilité des résultats ;
 - o Les métadonnées nécessaires à la soumission des séquences à GISAID (pour les séquences consensus) et EBI-ENA (pour les séquences brutes) ;
- Phase 3 (été 2021, sous réserve de l'obtention des autorisations CNIL et certification de l'entrepôt de données par l'ANS) :
 - o Nom, prénom, date de naissance, sexe et code postal de résidence du patient.

Les calendriers d'implémentation des phase 2 et 3 seront confirmés ultérieurement. Une transmission rétroactive des données additionnelles sera alors demandée.

C. Traitement et transmission des données

Santé publique France et l'Inserm/ANRS-MIE sont responsables du traitement des données à caractère personnel relatif à l'entrepôt EMERGEN-DB centralisant, à des fins de surveillance et de recherche, des données existantes issues des systèmes d'information des laboratoires et les données de séquences produites.

Les modalités de transmissions des données précédemment décrites sont définies par Santé publique France et l'Inserm/ANRS-MIE, en lien avec l'Institut Français de Bioinformatique (IFB).

Ces données doivent être transmises vers la base nationale maintenue dans le cadre du projet EMERGEN et hébergée par l'IFB :

- Selon les procédures de soumission définies pour le projet en matière d'ouverture de comptes, de formats de fichier, de téléversement des données, de validation de la conformité des données et métadonnées. Ces procédures sont disponibles sur le site de l'IFB (<https://emergen-db.france-bioinformatique.fr/>) ;
- Sous 7 jours ouvrés maximum après la date du prélèvement.

Les LBM habilités par Santé publique France suite à l'AMI pour le séquençage à des fins de surveillance, ainsi que les LBM habilités par les ARS pour le séquençage à visée interventionnelle, demeurent responsables des traitements de données relatifs à la collecte initiale des données transmises, ainsi que de la conservation et de la réutilisation des données et séquences pour des finalités autres que la transmission vers l'entrepôt de données EMERGEN.

D. Enregistrement dans la base de données GISAID

Dès que la phase 2 de l'infrastructure EMERGEN sera opérationnelle, la soumission à GISAID des résultats de séquençage produits par les LBM sera faite par l'IFB, qui soumettra ces séquences en leur nom.

E. Alerte

En attendant la mise en œuvre de la phase 3 de l'infrastructure du projet EMERGEN et son interconnexion avec la base SI-DEP, les résultats de séquençage accompagnés de l'identité du patient doivent être transmis sans délai par le LBM aux ARS et Cellules régionales de Santé publique France concernées et saisis dans SI-DEP (champ JOKER3).

En cas de détection de nouvelles mutations susceptibles d'avoir une signification fonctionnelle ou de nouvelles mutations récurrentes (en référence aux [analyses de risque publiées sur le site de Santé publique France](#)), il est également demandé au LBM, spontanément ou sur demande du CNR ou de Santé publique France, d'envoyer les prélèvements correspondants au CNR.

Ce besoin d'un envoi éventuel au CNR rend nécessaire pour les LBM qui réalisent des actes de séquençage de conserver les prélèvements concernés un temps suffisant dans leurs collections.