



Université Abou Bekr-Belkaid de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de
l'Univers
(SNV-STU)
Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition
(PPABIONUT)

Thèse présentée en vue de l'obtention du Doctorat en Science,

Spécialité : Génétique appliquée

Présentée par

Chahinez TRIQUI

Sujet de la thèse :

***Étude multifactorielle de la propagation du SARS-CoV-2 et sa
diversité moléculaire***

Soutenue le 05-12-2024

Pr	MERZOUK Hafida	Université de Tlemcen	Présidente du jury
Pr	MOKHTARI-SOULIMANE Nassima Amel	Université de Tlemcen	Directrice de thèse
Pr	BOUBLENZIA Lamia	Université de Tlemcen	Examinatrice
Dr	TERBECHÉ Ryme	Université d'USTO	Examinatrice
Dr	BRAHAMI Nabila	Université de Mostaganem	Examinatrice
Dr	MEDJDOUB Amel	Université d'Oran	Examinatrice

Remerciements

Au terme de ce travail de recherche, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette thèse.

Mes premiers remerciements vont à ma directrice de thèse, **Pr MOKHTARI-SOULIMANE Nassima Amel**, pour sa confiance, son soutien indéfectible et ses précieux conseils tout au long de ce parcours. Votre expertise et votre bienveillance ont été des atouts inestimables dans l'accomplissement de ce travail.

Je souhaite exprimer ma sincère reconnaissance à **Pr MERZOUK Hafida**, Présidente du jury, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider ce jury de thèse. Votre présence ajoute une grande valeur à l'évaluation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent tout particulièrement aux examinatrices qui ont accepté d'évaluer ce travail :

- **Pr BOUBLENZA Lamia**, de l'Université de Tlemcen : Je vous suis reconnaissante pour votre implication dans l'examen de cette thèse. Votre expertise dans notre domaine commun est précieuse pour l'évaluation de ce travail.

- **Dr TERBECHÉ Ryme**, de l'Université d'USTO : Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Votre regard extérieur et vos connaissances apportent une perspective enrichissante à cette évaluation.

- **Dr BRAHAMI Nabila**, de l'Université de Mostaganem : Je vous remercie sincèrement pour le temps que vous avez consacré à l'examen de cette thèse. Votre expertise contribue grandement à la validation de ce travail de recherche.

- **Dr MEDJDOUB Amel**, de l'Université d'Oran : Votre présence dans ce jury est un honneur. Je vous suis reconnaissante pour votre implication et vos précieuses observations qui ne manqueront pas d'enrichir la discussion autour de ce travail.

Chacune d'entre vous, par votre expérience unique et votre domaine de spécialisation, apporte une dimension essentielle à l'évaluation de cette thèse. Vos regards critiques et vos commentaires constructifs sont inestimables pour l'amélioration et la validation de cette recherche.

Ma profonde reconnaissance va à ma famille pour son soutien indéfectible et sa patience tout au long de ce parcours.

Un merci tout particulier à mes amis qui m'ont accompagnée et soutenue pendant cette aventure :

- **Wafaa LEMERINI**, pour ton amitié indéfectible et ton soutien moral constant.
- **Ilyes ZATLA**, pour tes encouragements et nos discussions stimulantes qui m'ont souvent aidée à prendre du recul.
- **Rajaa CHAMEKH**, pour ton écoute, ta bienveillance et ton aide précieuse dans les moments de doute.

Votre amitié a été un pilier essentiel dans la réalisation de ce travail. Vos encouragements, votre compréhension et votre soutien m'ont donné la force de persévérer et d'aller au bout de ce projet.

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, je vous adresse mes sincères remerciements.

Dédicaces

Je crois fermement que nous n'accomplissons rien seuls.
Je dédie cette thèse à ma **FAMILLE**, particulièrement À ma **chère Mère**, lumière de ma vie et pilier de notre famille. Je n'aurais pas pu voir mon rêve se réaliser sans son soutien inébranlable et son amour inconditionnel.

À la mémoire bénie de **mon père bien-aimé, TRIQUI Abdelhamid,**

Allah t'a rappelé à Lui avant l'aboutissement de ce travail, mais ta lumière continue de guider mes pas. Que la miséricorde d'Allah soit sur toi, mon cher père.

Tes enseignements, ta sagesse et ton amour Restent gravés dans mon cœur pour toujours. Ta vie fut un exemple de foi et de bonté,
Un héritage précieux que je m'efforce de perpétuer.

Je dédie ce travail à ta mémoire, En priant Allah qu'Il vous accorde le Paradis éternel.

Abstract

The COVID-19 pandemic has raised critical questions about factors influencing SARS-CoV-2 spread and its molecular evolution. This thesis explores two complementary aspects of pandemic dynamics: the interaction between UV index, population density, and viral clades on disease propagation, as well as the comparative phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 at the pandemic's onset.

Methodology: The first part of the study is a cross-sectional descriptive analysis using generalized linear models (GLM) and correlation analysis to examine relationships between UV index, population density, viral clades, and epidemiological parameters (mortality, case numbers, spread rate). The second part involves a comparative phylogenetic analysis of 298 SARS-CoV-2 genome sequences from 11 countries, utilizing MEGA 7, Gblocks, and GENIEGEN software.

Results: Statistical analyses reveal that high UV index was associated with elevated mortality rates, with a UV index range of 3-5 being highly conducive to viral spread. Viral clade analysis showed that clade G was predominant and correlated with high mortality rates, especially in the 3-4 UV index range. However, the concomitant presence of other clades (S, O, V) appeared to mitigate this risk, with clade O exhibiting nearly negligible mortality.

Phylogenetic analysis revealed remarkable genetic diversity among the studied clades, evidenced by the lack of correlation between subclasses across the 11 countries. The research identified 283 frequent mutation positions and 926 rare mutation positions in the analyzed strains.

Conclusion: Our study indicates that certain UV index ranges appear more favorable for SARS-CoV-2 propagation, suggesting that UV radiation may play a role in viral transmission dynamics, although the direct impact on mutation rates remains unspecified. Additionally, mutations present in clade O may lead to decreased virulence, while specific mutations associated with clade G are linked to increased COVID-19 severity.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, UV index, Phylogenetic analysis, Viral propagation.

ملخص

أثارت جائحة كوفيد-19 أسئلة حاسمة حول العوامل المؤثرة على انتشار فيروس سارس-كوف-2 وتطوره الجزيئي. تستكشف هذه الأطروحة جانبين متكاملين من ديناميكيات الوباء: التفاعل بين مؤشر الأشعة فوق البنفسجية، وكثافة السكان، والسلالات الفيروسية على انتشار المرض، بالإضافة إلى التحليل الفيلوجيني المقارن لفيروس سارس-كوف-2 في بداية الجائحة.

المنهجية: الجزء الأول من الدراسة هو تحليل وصفي مقطعي باستخدام النموذج الخطي المعمم (GLM) وتحليل الارتباط، لدراسة العلاقات بين مؤشر الأشعة فوق البنفسجية، وكثافة السكان، والسلالات الفيروسية، والمعايير الوبائية (معدل الوفيات، عدد الحالات، سرعة الانتشار). في الجزء الثاني من العمل، تم إجراء تحليل فيلوجيني مقارن لمجموع 298 تسلسل جيني لفيروس سارس-كوف-2 من 11 دولة، باستخدام الأدوات التالية MEGA 7، Gblocks، وبرنامج GENIEGEN.

النتائج: تكشف النتائج الإحصائية أن ارتفاع مؤشر الأشعة فوق البنفسجية كان مرتبطًا بمعدل وفيات مرتفع، وأن نطاق مؤشر الأشعة فوق البنفسجية بين 3-5 كان مواليًا جدًا لانتشار الفيروس. أظهر تحليل السلالات الفيروسية أن السلالة G كانت سائدة ومرتبطة بمعدلات وفيات مرتفعة، خاصة في نطاق مؤشر الأشعة فوق البنفسجية 3-4. ومع ذلك، يبدو أن الوجود المتزامن لسلالات أخرى (S, O, V) خفف من هذا الخطر، حيث أظهرت السلالة O معدل وفيات شبه معدوم.

كشف التحليل الفيلوجيني عن تنوع جيني ملحوظ بين السلالات المدروسة، مما يتجلى في غياب الارتباط بين الفئات الفرعية في البلدان الـ 11 قيد الدراسة. حدد البحث ما مجموعه 283 موقعًا للطفرات المتكررة، و926 موقعًا للطفرات النادرة في السلالات المحللة.

الخلاصة: تشير دراستنا من جهة إلى أن بعض نطاقات مؤشر الأشعة فوق البنفسجية تبدو أكثر ملاءمة لانتشار فيروس سارس-كوف-2. وهذا يشير إلى أن الإشعاع فوق البنفسجي قد يلعب دورًا في ديناميكيات انتقال الفيروس، على الرغم من أن التأثير المباشر على معدلات الطفرة لم يتم تحديده. من جهة أخرى، قد تؤدي الطفرات الموجودة في السلالة O إلى انخفاض في الضراوة، في حين أن الطفرات المحددة المرتبطة بالسلالة G مرتبطة بزيادة شدة مرض كوفيد-19.

الكلمات المفتاحية: كوفيد-19 ؛ سارس-كوف-2؛ مؤشر الأشعة فوق البنفسجية؛ التحليل الفيلوجيني؛ الانتشار الفيروسي.

Résumé

La pandémie de COVID-19 a soulevé des questions cruciales sur les facteurs influençant la propagation du SARS-CoV-2 et son évolution moléculaire. Cette thèse explore deux aspects complémentaires de la dynamique pandémique : l'interaction entre l'indice UV, la densité de population et les clades viraux sur la propagation de la maladie, ainsi que l'analyse phylogénétique comparative du SARS-CoV-2 au début de la pandémie.

Méthodologie : La première partie de l'étude est une analyse descriptive transversale réalisée en employant le modèle linéaire généralisé (GLM) et l'analyse de corrélation, pour examiner les relations entre l'indice UV, la densité de population, les clades viraux ainsi que les paramètres épidémiologiques (mortalité, nombre de cas, vitesse de propagation). Dans la seconde partie du travail, une analyse phylogénétique comparative, d'un total de 298 Séquences du génome SARS-CoV-2, provenant de 11 pays a été réalisées, en utilisant les outils suivants : MEGA 7 ; le Gblocks ; et le logiciel GENIEGEN.

Les résultats : les résultats statistiques révèlent qu'un indice UV élevé était associé à taux de mortalité élevé et un intervalle d'indice UV 3-5 très favorable à la propagation du virus. L'analyse des clades viraux a révélé que le clade G était prédominant et corrélé à des taux de mortalité élevés, surtout dans la plage d'indice UV 3-4. Cependant, la présence concomitante d'autres clades (S, O, V) semblait atténuer ce risque, le clade O présentant une mortalité quasi négligeable. L'analyse phylogénétique a révélé une diversité génétique remarquable entre les différents clades étudiés, traduite par l'absence de corrélation entre les sous-classes dans les 11 pays d'étude. La recherche a identifié un total de 283 positions de mutation fréquentes, ainsi que 926 positions de mutations rares dans les souches analysées.

Conclusion : Notre étude indique d'un côté, que certains intervalles d'indice UV, semblent plus favorables à la propagation du SARS-CoV-2. Cela suggère que le rayonnement UV peut jouer un rôle dans la dynamique de transmission du virus, bien que l'impact direct sur les taux de mutation ne soit pas précisé. D'un autre côté, les mutations présentes dans le clade O peuvent entraîner une diminution de la virulence, tandis que des mutations spécifiques associées au clade G sont liées à une gravité accrue de la maladie qui est la COVID-19.

Les mots-clés : COVID-19, SARS-CoV-2, Indice UV, Analyse phylogénétique, Propagation virale.

Table des matières

Remerciements	I
Dédicaces	III
Abstract.....	IV
ملخص.....	V
Résumé.....	VI
Table des matières.....	VII
Liste des abréviations	VIII
Introduction.....	1
I- Le Coronavirus	3
2. Structure génomique et protéines virales clés du SARS-CoV-2.....	7
3. Dynamique de l'infection et spécificité cellulaire	8
3.1. Mécanismes d'entrée du virus dans les cellules hôtes (cycle).....	8
3.2. Types de cellules ciblées préférentiellement par le SARS-CoV-2.....	10
4. Transmission et pathogénicité du SARS-CoV-2.....	10
5. Mécanismes de l'évolution virale : mutation, recombinaison et sélection	11
6. Évolution de la Classification du SARS-CoV-2 : Des Clades aux Variants	12
6.1. Clades du SARS-CoV-2 : Classification et évolution génomique.....	12
6.2. Caractéristiques principales des clades.....	14
6.3. La classification PANGO	15
6.4. La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)	15
7. Dynamique de l'immunité contre le SRAS-CoV-2	17
8. Les avancées majeures de la recherche vaccinale.....	17
9. Facteurs environnementaux et adaptabilité du SARS-CoV-2	20
9.1. Impact de la température.....	20
9.2. Impact de l'humidité	20
9.3. Impact de la pollution.....	21
9.4. Impact des rayons ultraviolet.....	21
10. Enjeux de la surveillance génomique du SARS-CoV-2.....	22
Article 01.....	25
Article 02.....	34
Discussion Générale.....	41
Conclusion et perspectives	46
Annexe A – Les Données de l'étude descriptive.....	48
Annexe B– Analyse phylogénétique	74
Références Bibliographiques	85

Liste des abréviations

ACE2 : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2

ARDS : Acute respiratory distress syndrome

AUKA : Australia, Kuwait, Saudi Arabia, Algeria

CORR : Correlation (procédure SAS)

COVID-19 : Coronavirus Disease 2019

ddl : Degrés de liberté (degrees of freedom)

E : Envelope (Protéine d'Envelope)

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

FREQ : Frequency (procédure SAS)

F-Value : Valeur F (statistique du test F)

GISA: Germany, Italy, Switzerland

GISAID: Global Initiative on Sharing All Influenza Data

GLM: Generalized Linear Model

ICNIRP: International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection

IHME: Institute for Health Metrics and Evaluation

M : Membrane (Protéine de Membrane)

MERS-CoV : Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient

N : Nucleocapsid (Protéine de Nucléocapside)

nsp : Non-Structural Protein (Protéine Non Structurale)

NTD : N-Terminal Domain (Domaine N-Terminal)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORF: Open Reading Frame (Cadre de Lecture Ouvert)

ORF1ab: Open reading frame 1ab

ORF3a: Open reading frame 3a

ORF8: Open reading frame 8

PANGO: Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak

PP1a/PP1ab : PolyProtéines 1a/1ab

R2 : Coefficient de détermination

RBD : Receptor Binding Domain

RE : Réticulum Endoplasmique

S : Spike

SAS : Statistical Analysis System

SARS-CoV : Coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

SARS-CoV-2 : Coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère 2

TMPRSS2 : Protéase Transmembranaire à Sérine 2

UNEP : United Nations Environment Programme

UV-A : Ultraviolet A

UV-B : Ultraviolet B

UVI : Ultraviolet Index

UVR : Ultraviolet Radiation

VOC : Variant of Concern (Variant Préoccupant)

VOI : Variant of Interest (Variant d'Intérêt)

WHO: World Health Organization

WMO: World Meteorological Organization.

Liste des Figures

Figure 1. Structure Commune Des Coronavirus.	3
Figure 2. Classification Des Coronavirus.	5
Figure 3. Représentation De La Propagation Mondiale Du COVID-19.	6
Figure 4. Organisation Du Genome Du SARS-CoV-2.	8
Figure 5. Illustration Du Cycle De Réplication Du Virus SARS-CoV-2 Au Niveau Cellulaire.	9
Figure 6. Distribution Mondiale Des Clades Génétiques Du SARS-CoV-2 Par Région.	13
Figure 7. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales Sars-Cov-2 (USA).	75
Figure 8. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 (ENG).	76
Figure 9. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 (AU).	77
Figure 10. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 (ALL).	78
Figure 11. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 (Fe).	79
Figure 12. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 Des Trois Groupes 2, 4 Et 5... ..	80
Figure 13. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 Du Groupe 1.....	81
Figure 14. Arbre Phylogénétique Des Séquences Virales SARS-CoV-2 Final.....	82

Liste des Tableaux

Tableau 1. La Lignée Omicron Et Ces Differentes Sous-Lignée (Selon L’oms 2024)..... 16

Tableau 2. Classification Des Vaccins Contre La COVID-19 Selon Leurs Spécificités Techniques. 18

Tableau 3. Évolution Des Données Démographiques Par Pays - Janvier A Mars 2020 ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.50

Tableau 4. Distribution Mensuelle Des Clades Virales SARS-Cov-2 Par Pays (Janvier-Mars 2020) 50

Tableau 5. Groupement Des Clades Selon Le Nombre Moyen De Cas Par 15 Jours..... 54

Tableau 6. Groupement Des UV Index Selon le Nombre Moyen De Cas Par 15 Jours. 54

Tableau 7. Groupement Des Clades Selon La Mortalité Par 15 Jours. 55

Tableau 8. Groupement Des UV Index Selon La Mortalité Par 15 Jours. 55

Tableau 9. Groupement Des Clades Selon La Fréquence De Propagation Par 15 Jours. 56

Tableau 10. Groupement Des UV Index Selon La Fréquence De Propagation Par 15 Jours..... 56

Tableau 11. Distribution Des Paramètres Épidémiologiques Et Démographiques Observés Dans Les Unites Géographiques Etudiées Durant L’épidemie De SARS-Cov-2. 57

Tableau 12. Analyse Bivariée Des Associations Entre Les Indicateurs Épidémiologiques Et La Densité De Population..... 57

Tableau 13. Distribution Des Fréquences De Nombre De Cas/15jours Par Clades. 59

Tableau 14. Distribution Des Fréquences De Nombre De Cas/15 Jours Par UVI. 60

Tableau 15. Distribution Des Fréquences De Nombre De Cas/15 Jours Par Pays. 61

Tableau 16. Distribution Des Fréquences De Nombre De Cas/15 Jours Par Mois..... 61

Tableau 17. Relation Clades-UVI Pour Le Nombre De Cas Par 15 Jours. 63

Tableau 18. Distribution Des Fréquences De La Mortalité /15jours Par Clades 66

Tableau 19. Distribution Des Fréquences De La Mortalité /15jours Par UVI..... 66

Tableau 20. Distribution De La Mortalité /15 Jours Par Pays..... 66

Tableau 21. Distribution De La Mortalité /15 Jours Par Mois. 67

Tableau 22. Relation Clades-UVI La Mortalité Par 15 Jours. 68

Tableau 23. Distribution De La Fréquence De Propagation /15jour Par Clades. 70

Tableau 24. Distribution De La Fréquence De Propagation /15jour Par UVI 70

Tableau 25. Distribution De La Fréquence De Propagation /15 Jours Par Pays..... 70

Tableau 26. Distribution De La Fréquence De Propagation /15jours Par Mois. 71

Tableau 27. Relation Clades-UVI Pour La Fréquence De Propagation Par 15 Jours. 72

Tableau 28. Organisation Et Classification Des Données Par Groupe.ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.74

Tableau 29. Les Différentes Mutations Résultantes De La Comparaison Des Séquences Du Groupe I Des Pays. 83

Introduction

La pandémie de COVID-19, provoquée par le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SARS-CoV-2), s'est imposée comme une crise sanitaire mondiale sans précédent au XXI^e siècle. Initialement identifiée en décembre 2019 à Wuhan en Chine, cette pathologie s'est propagée avec une rapidité remarquable à l'échelle mondiale, transcendant les frontières géopolitiques et mettant à rude épreuve les systèmes de santé publique internationaux (Huang et al., 2020 ; Wu et al., 2020).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) rapporte que plus de 7,5 millions de décès ont été officiellement attribués à la COVID-19 depuis le début de la pandémie (OMS, 2024). Cependant, les analyses de surmortalité continuent de suggérer que le nombre réel de décès liés directement et indirectement à la pandémie pourrait être significativement plus élevé, avec des estimations allant jusqu'à 15 millions de décès excédentaires (Institute for Health Metrics and Evaluation [IHME], 2024).

L'agent étiologique de la COVID-19, le SARS-CoV-2, est classé dans le genre Betacoronavirus de la famille des Coronaviridae (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020). Les analyses génomiques et phylogénétiques ont révélé une similarité génétique de 96,2% avec le coronavirus RaTG13 de chauve-souris et de 79,5% avec le SARS-CoV, soulignant l'origine zoonotique probable du virus et l'importance cruciale de l'interface homme-animal dans l'émergence de nouvelles maladies infectieuses (Zhou et al., 2020).

La propagation rapide et globale du SARS-CoV-2 est le résultat d'une interaction complexe de facteurs biologiques, environnementaux et sociaux. La dynamique de transmission du virus est influencée par une multitude de variables, dont certaines sont encore en cours d'étude. Parmi ces facteurs, les conditions environnementales, telles que l'indice UV, ont été examinées pour leur impact potentiel sur la viabilité et la transmission du virus. Des études ont suggéré une corrélation négative entre les niveaux élevés de rayonnement UV et les taux d'infection, bien que cette relation nécessite des investigations plus approfondies (Carleton et al., 2021 ; Merow et Urban, 2020).

Un autre facteur qui est incriminé dans la propagation du SARS-CoV-2, est bien la densité de population et qui présente une dualité complexe. D'un côté, il a été noté que des zones

densément peuplées peuvent faciliter la transmission rapide du virus en raison de contacts interpersonnels plus fréquents et de la difficulté à maintenir une distanciation sociale efficace (Rocklöv et Sjödin, 2020). Paradoxalement, d'autres études ont montré que des villes très denses comme Tokyo ou Séoul ont mieux maîtrisé la propagation du virus. Ceci soulignant l'importance d'autres facteurs dans la maîtrise de la propagation du virus, tels que la qualité des politiques de santé publique, la rapidité de réaction, et l'adhésion de la population aux mesures sanitaires (Kadi et Khelfaoui, 2020).

Dans sa dynamique de propagation, l'évolution du SARS-CoV-2 et sa diversité génétique sont des aspects particulièrement préoccupants. Effectivement, le virus a démontré une capacité remarquable à muter et à s'adapter, donnant naissance à de nombreuses variantes génétiques. L'évolution phylogénétique du SARS-CoV-2 a été caractérisée par l'émergence successive de plusieurs variants. Parmi ces variants, le plus récent à avoir acquis une dominance globale est le variant Omicron (lignée B.1.1.529), identifié pour la première fois en novembre 2021 et devenu prédominant à l'échelle mondiale vers la fin de cette même année (Basak et al., 2023). Lui-même présente une divergence génétique significative qui se traduit par l'émergence d'une multitude de sous-lignages phylogénétiquement distincts (Scarpa et al., 2024 ; Hussain et Wu, 2024).

Dans ce travail de thèse, nous avons cherché à examiner dans quelle mesure l'interaction entre l'indice UV, la densité de population et la diversité génétique régionale du SARS-CoV-2 influence la dynamique de propagation, la virulence et la transmissibilité du SARS-CoV2 durant la phase initiale de la pandémie. Dans cette optique, une première étude transversale a été entreprise, consistant à examiner les variations bimensuelles des paramètres épidémiologiques (mortalité, cas, propagation) et à évaluer l'impact des clades viraux. Les résultats de cette dernière ont conduit à une étude phylogénétique qui a permis la comparaison entre les clades G et O afin d'identifier les différences potentielles en termes de virulence ou de propagation entre ces deux variants.

I- Le Coronavirus

1. Biologie des Coronavirus

Les coronavirus sont des virus à ARN enveloppés appartenant à la famille des Coronaviridae. Leur nom provient de leur apparence caractéristique en microscopie électronique, où les protéines de surface forment une couronne autour de la particule virale (Corman et al., 2018) (Fig. 1). Ces virus possèdent l'un des plus grands génomes parmi les virus à ARN, mesurant environ 26 à 32 kilobases (kb) (Fehr et Perlman, 2015).

Ils constituent une famille de virus à ARN responsables de diverses maladies chez les mammifères et les oiseaux. Ces virus sont principalement connus pour causer des infections des voies respiratoires et du système gastro-intestinal. La gravité des affections qu'ils provoquent varie considérablement, allant de symptômes bénins à des complications potentiellement mortelles (Pal et al., 2020).

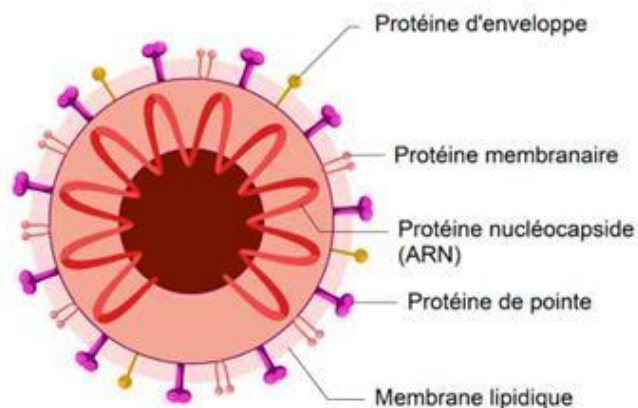


Figure 1. Structure commune des coronavirus. Journal des Femmes Santé, 2023.

2. Taxonomie des coronavirus

La classification taxonomique des coronavirus les positionne dans la famille des Coronaviridae, plus précisément dans la sous-famille des Coronavirinae, qui elle-même s'inscrit dans l'ordre des Nidovirales (Cui et al., 2019). Les recherches ont permis d'identifier et de catégoriser ces virus en quatre genres principaux, qui se différencient tant par leurs caractéristiques génétiques que par leurs propriétés sérologiques. Ces quatre groupes sont connus sous les appellations d'Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus et Deltacoronavirus (Lefkowitz et al., 2018). Parmi les différents types de coronavirus, deux genres se distinguent par leur capacité à infecter les mammifères, dont l'espèce humaine : les Alphacoronavirus et les Betacoronavirus (Zhou et al., 2020). L'exemple le plus récent et marquant est celui du SARS-CoV-2, un Betacoronavirus qui a déclenché la crise sanitaire mondiale de COVID-19. Dans cette même catégorie des Betacoronavirus, on retrouve d'autres agents pathogènes ayant causé des épidémies significatives chez l'homme, notamment le SARS-CoV et le MERS-CoV (Hu et al., 2021).

Les Gammacoronavirus et les Deltacoronavirus ciblent essentiellement les espèces aviaires, même si certaines souches peuvent occasionnellement infecter des mammifères (Woo et al., 2012). Dans le domaine vétérinaire, le virus de la bronchite infectieuse aviaire, classé parmi les Gammacoronavirus, représente une menace majeure pour le secteur de la production de volailles (Cavanagh, 2007).

Les coronavirus représentent un défi majeur en santé publique et vétérinaire en raison de leurs caractéristiques génétiques remarquables. Leur capacité à évoluer rapidement, que ce soit par des processus de recombinaison ou de mutation, leur confère un potentiel d'adaptation exceptionnel qui préoccupe la communauté scientifique (Graham et Baric, 2010). Cette plasticité génétique explique en partie leur capacité à franchir les barrières d'espèces et à s'adapter à de nouveaux hôtes.

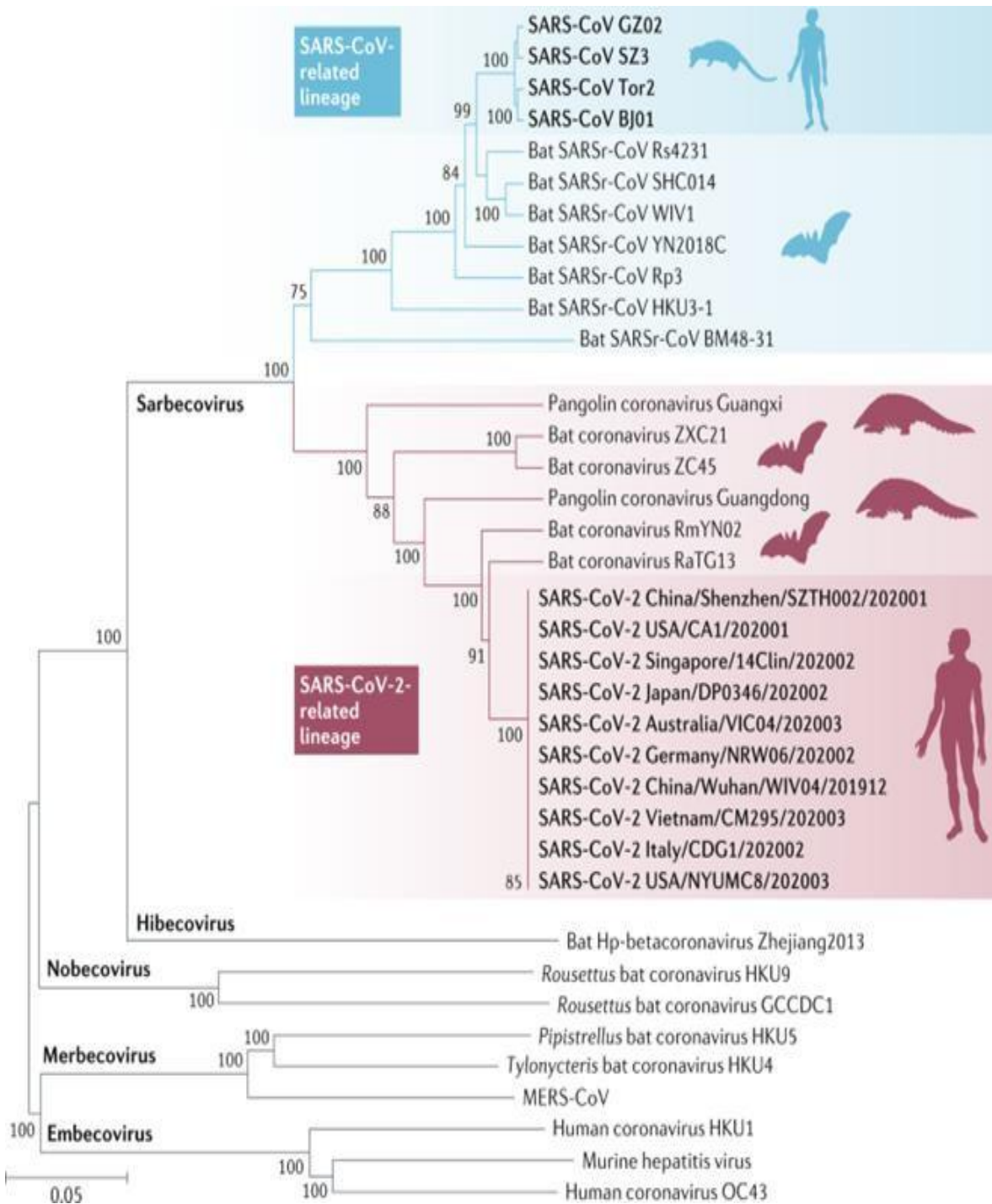
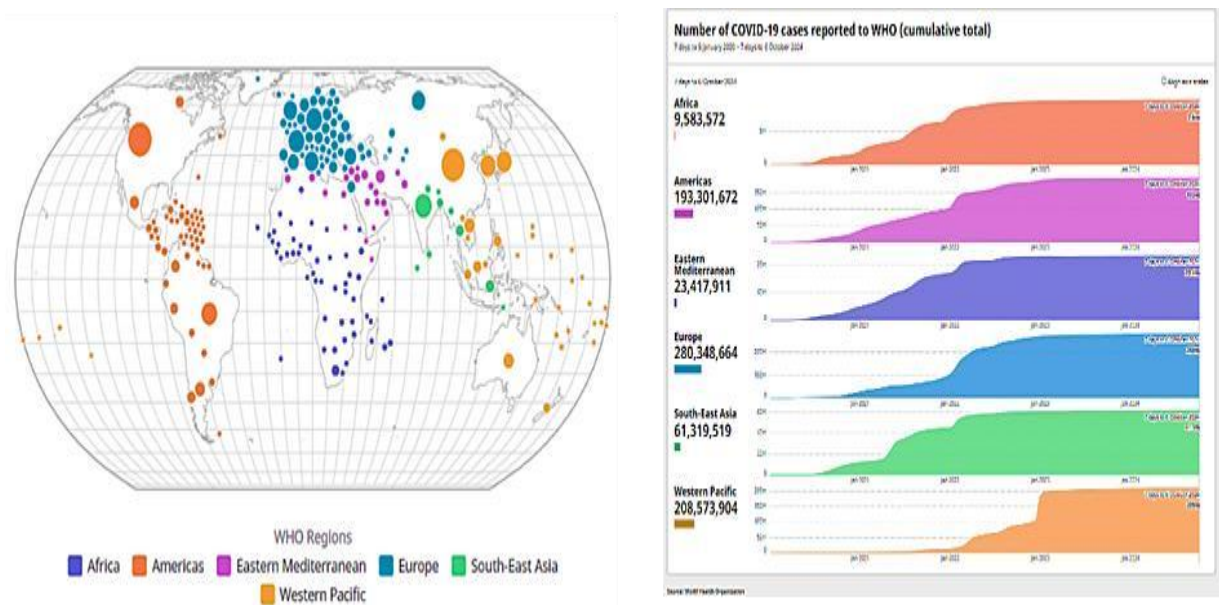


Figure 2. Classification des coronavirus (Hu et al., 2021).

II- Le virus SARS-CoV-2 et la maladie COVID-19

1. La maladie COVID-19

L'apparition initiale de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) a été identifiée dans un marché de produits de la mer à Wuhan, en Chine (The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team, 2020). Selon les données de l'OMS (2024), à la date du 6 octobre 2024, la pandémie avait touché environ 777 millions de personnes et causé près de 7.1 millions de décès à l'échelle mondiale (fig. 3). L'agent pathogène responsable, le SARS-CoV-2, est classé dans le sous-genre Sarbecovirus, qui fait partie du genre Betacoronavirus. Il présente une forte similitude avec le SARS-CoV, un autre membre du même sous-genre, leurs séquences génomiques partageant une identité nucléotidique de 79,6% (Chen et al., 2023).



Le panneau de gauche présente une carte mondiale indiquant la distribution géographique des cas par régions. Le panneau de droite montre un graphique à aires illustrant l'évolution cumulative des cas signalés par l'OMS pour chaque région, totalisant approximativement : Afrique (9,5M), Amériques (193,3M), Méditerranée orientale (23,4M), Europe (280,3M), Asie du Sud-Est (61,3M) et Pacifique occidentale (208,5M).

2. Structure génomique et protéines virales clés du SARS-CoV-2.

La taille du génome du SARS-CoV-2 est de 29,9 kilobases (kb) (Andres et al., 2020). Le génome viral code pour 29 protéines différentes (Fig. 4). L'extrémité 5' comporte deux cadres de lecture ouverts (ORF), ORF1a et ORF1b, qui englobent les deux tiers du génome. Ils sont traduits dans le réticulum endoplasmique (RE) de la cellule hôte et codent pour deux poly-protéines, PP1a et PP1ab. Ces poly-protéines sont transformées en 16 protéines non structurales (nsp1 - nsp16). L'extrémité 3' du génome code pour des protéines structurales et accessoires (Yadav et al., 2021).

Les quatre protéines structurales, S, E, M et N, sont essentielles à l'entrée du virus, à l'assemblage du virion et à la suppression du système immunitaire de l'hôte. Il existe neuf protéines accessoires intercalées entre les gènes structuraux (ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9b, ORF9c et ORF10). Ces protéines sont impliquées dans la suppression du système immunitaire de l'hôte et dans la pathogenèse (Redondo et al., 2021).

Il est à noter que le gène ORF3b chevauche le gène ORF3a et que les gènes ORF9b/c se chevauchent avec le gène de la protéine N. Kim et al. (2020) ont démontré que cette organisation génomique est conservée parmi les coronavirus, mais que le SARS-CoV-2 présente des caractéristiques uniques, notamment dans la séquence codant pour la protéine S.

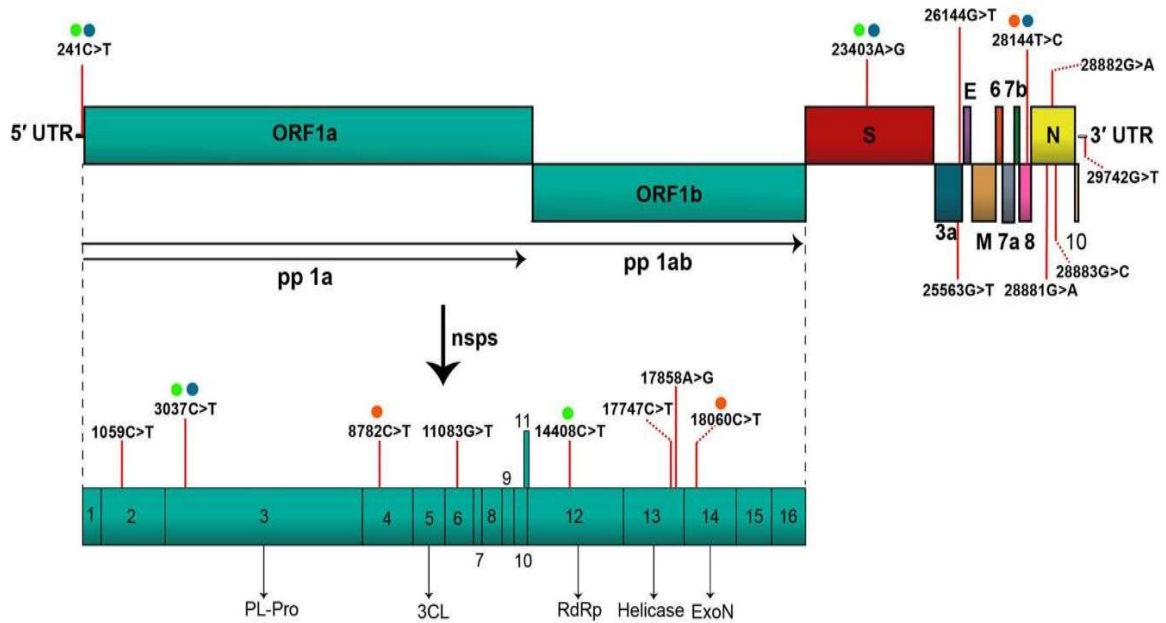


Figure 4. Organisation du génome du SARS-CoV-2. (Rahimi et al., 2020).

Le génome du SARS-CoV-2 comprend l'UTR 5', l'ORF1a/b codant pour 16 nsps pour la réplication, quatre gènes codant pour des protéines structurales, notamment les protéines S, E, M et N, six gènes accessoires codant pour six protéines accessoires telles que l'ORF3a, l'ORF6, l'ORF7a, l'ORF7b, l'ORF8 et l'ORF10, ainsi que l'UTR 3'. L'emplacement des dix-sept mutations et co-mutations à haute fréquence rapportées dans la localisation des dix-sept mutations et co-mutations à haute fréquence rapportées dans la littérature est indiquée sur le génome par des lignes verticales rouges et des cercles de couleur similaire, respectivement. Abréviations : SARS-CoV-2, syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus 2 ; 5' UTR, région 5' non traduite ; OFR, open reading frame; nsp, non-structural protein.

3. Dynamique de l'infection et spécificité cellulaire

3.1. Mécanismes d'entrée du virus dans les cellules hôtes (cycle)

Le SARS-CoV-2 pénètre dans les cellules hôtes principalement via l'interaction entre sa protéine spike (S) et le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) à la surface cellulaire. Cette interaction est facilitée par la protéase transmembranaire à sérine 2 (TMPRSS2), qui clive la protéine S, permettant la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire (fig. 5) (Hoffmann et al., 2020). Une fois à l'intérieur de la cellule, le génome viral est libéré dans le cytoplasme, où il commence sa réplication. Le virus détourne

la machinerie cellulaire pour produire de nouvelles particules virales, qui sont ensuite libérées pour infecter d'autres cellules (V'kovski et al., 2021).

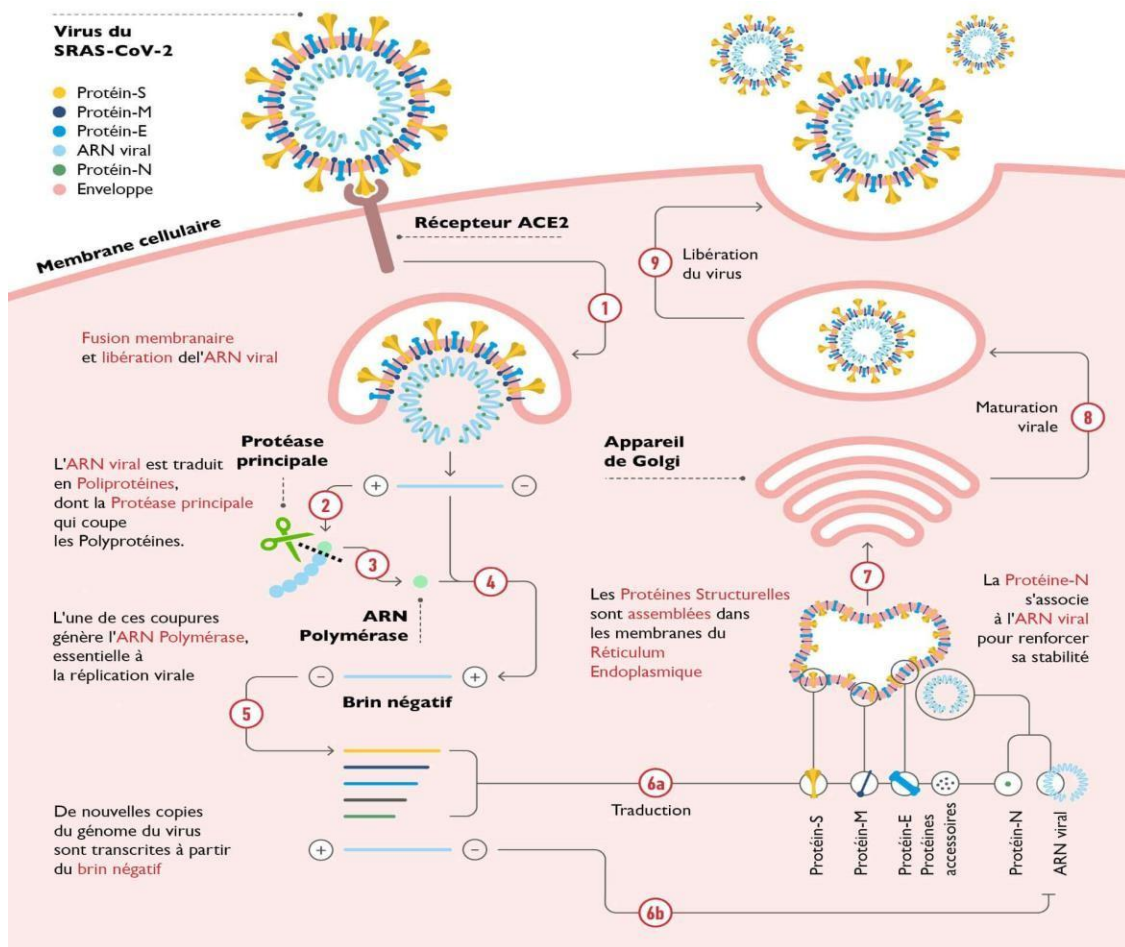


Figure 5. Illustration du cycle de réplication du virus SRAS-CoV-2 au niveau cellulaire

(Source : GSD International, "RNA polymérase : la photocopieuse imprécise du SARS-CoV-2", 2020. www.gsdinternational.com/fr/news/rna-polymerase-the-sars-cov-2-sloppy).

Initialement, le virus se fixe à la surface cellulaire via l'interaction entre sa protéine Spike et le récepteur ACE2 (1). Cette liaison est suivie de l'internalisation du virus (2). Une fois dans le cytoplasme, l'ARN viral est libéré et traduit en une poly-protéine (3). Cette poly-protéine est ensuite clivée par la protéase principale virale (4), produisant notamment l'ARN polymérase virale qui assure la réplication du génome (5). Les protéines virales structurales sont synthétisées et s'accumulent dans le réticulum endoplasmique (6a), tandis que la nucléocapside s'assemble avec l'ARN viral nouvellement synthétisé (6b). Les composants viraux sont transportés vers l'appareil de Golgi (7) où s'effectue l'assemblage des virions. Les virus matures sont ensuite transportés dans des vésicules vers la membrane plasmique (8). Finalement, les nouveaux virions sont libérés dans le milieu extracellulaire par exocytose (9), prêts à infecter de nouvelles cellules.

3.2. Types de cellules ciblées préférentiellement par le SARS-CoV-2

Le virus SARS-CoV-2 montre une forte affinité pour les cellules exprimant l'ACE2 et la TMPRSS2. Les principaux types cellulaires ciblés comprennent :

- Les cellules épithéliales respiratoires : Le virus infecte principalement les cellules épithéliales des voies respiratoires supérieures et inférieures, en particulier les cellules ciliées et les pneumocytes de type II (Hui et al., 2020).
- Les cellules endothéliales : L'infection des cellules endothéliales contribue aux complications vasculaires observées dans les cas graves de COVID-19 (Varga et al., 2020).
- Les entérocytes : Le SARS-CoV-2 peut également infecter les cellules épithéliales intestinales, expliquant les symptômes gastro-intestinaux observés chez certains patients (Lamers et al., 2020).

3.3. Transmission et pathogénicité du SARS-CoV-2

La transmission du SARS-CoV-2, virus responsable de la COVID-19, se fait principalement par des gouttelettes respiratoires lors de la toux, des éternuements ou même en parlant, permettant une propagation rapide entre individus. Des études ont également mis en évidence la transmission par aérosols, où de petites particules virales peuvent rester en suspension dans l'air et infecter des personnes à distance, surtout dans des espaces clos et mal ventilés (Who, 2020).

En outre, le virus peut se transmettre par contact avec des surfaces contaminées, bien que ce mode de transmission soit considéré comme moins fréquent (van Doremalen et al., 2020). Les variants du virus, tels que le variant Delta et Omicron, ont montré une transmissibilité accrue et une capacité à échapper partiellement à l'immunité, ce qui complique les efforts de contrôle de la pandémie (Wang et al., 2021).

En résumé, la transmission du SARS-CoV-2 est multifactorielle, impliquant des mécanismes aériens et de contact, tandis que sa pathogénicité est fortement liée à ses interactions avec les cellules hôtes et à l'évolution des variants.

4. Mécanismes de l'évolution virale : mutation, recombinaison et sélection

L'évolution virale repose principalement sur trois mécanismes : la mutation, la recombinaison et la sélection, chacun contribuant à la diversité génétique et à l'adaptation. Les taux de mutation varient considérablement entre les virus à ARN et à ADN, les virus à ARN présentant des taux de mutation plus élevés en raison de processus de réplication sujets aux erreurs, ce qui peut entraîner des mutations bénéfiques ou délétères (Moskalev et al., 2023 ; Guillemet et al., 2024).

Pour le SRAS-CoV-2, ce processus évolutif dynamique, modulé par les conditions environnementales, se manifeste principalement par des modifications ponctuelles de la protéine spike. Ces dernières sont en particulier dans les parties NTD et RBD de la protéine, influencée par une sélection positive sur des sites antigéniques clés (Atanas et al., 2023) ils favorisent l'émergence de variants préoccupants.

La recombinaison complique encore cette dynamique, car elle permet l'échange de matériel génétique entre les variants, facilitant ainsi une adaptation rapide à de nouveaux hôtes et environnements, ce qui est crucial pendant les pandémies (Gottlieb et Alimova, 2022), et peut mener à l'émergence de nouvelles souches comme les variants Deltacron et XBB, en particulier chez les hôtes immunodéprimés (Ravi et al., 2024 ; Fang et al., 2023). De plus, les interactions avec les bactéries peuvent faciliter les mutations, ce qui souligne la nature multiforme de l'évolution virale (Zhang et al., 2021).

Les pressions de sélection, notamment les réponses immunitaires de l'hôte et les facteurs environnementaux, façonnent davantage les populations virales en favorisant les variants capables d'établir efficacement des infections ou d'échapper à la détection immunitaire (Ebadi, 2023 ; LaTourrette et Garcia-Ruiz, 2022).

Ensemble, ces mécanismes créent une interaction dynamique qui favorise l'émergence de nouvelles souches virales et influence leur pathogénicité et leur gamme d'hôtes (Moskalev et al., 2023 ; LaTourrette et Garcia-Ruiz, 2022). La surveillance génomique continue est essentielle pour suivre ces changements et éclairer les stratégies de santé publique (Fang et al., 2023).

5. Évolution de la Classification du SARS-CoV-2 : Des Clades aux Variants

La classification du SARS-CoV-2 a évolué rapidement depuis le début de la pandémie, reflétant la diversité génétique croissante du virus. Initialement basée sur des clades majeurs (G, GH, GR, L, S, O, et V), la classification s'est étendue pour inclure de nombreuses lignées et sous-lignées (Rambaut et al., 2020). L'Organisation Mondiale de la Santé a introduit un système de nomenclature simplifié utilisant l'alphabet grec pour les variants préoccupants (VOC) et d'intérêt (VOI), facilitant la communication publique (Who, 2021). Parallèlement, des systèmes comme Pango, Nextstrain et GISAID continuent de fournir une classification plus détaillée, essentielle pour la recherche et la surveillance épidémiologique (O'Toole et al., 2021).

5.1. Clades du SARS-CoV-2 : Classification et évolution génomique

Un clade est un groupe monophylétique d'organismes comprenant un ancêtre commun et tous ses descendants. En phylogénétique, il représente une branche de l'arbre évolutif qui inclut tous les descendants d'un ancêtre commun spécifique (Hadfield et al., 2018).

Dans le cadre de l'analyse phylogénétique du SARS-CoV-2, Rambaut et al. (2020) ont élaboré, durant les phases initiales de la pandémie, un système de nomenclature des clades du SARS-CoV-2 fondé sur des polymorphismes nucléotidiques caractéristiques. Cette classification a considérablement facilité la surveillance épidémiologique (fig. 6) et l'étude de la dynamique évolutive du virus à l'échelle globale.

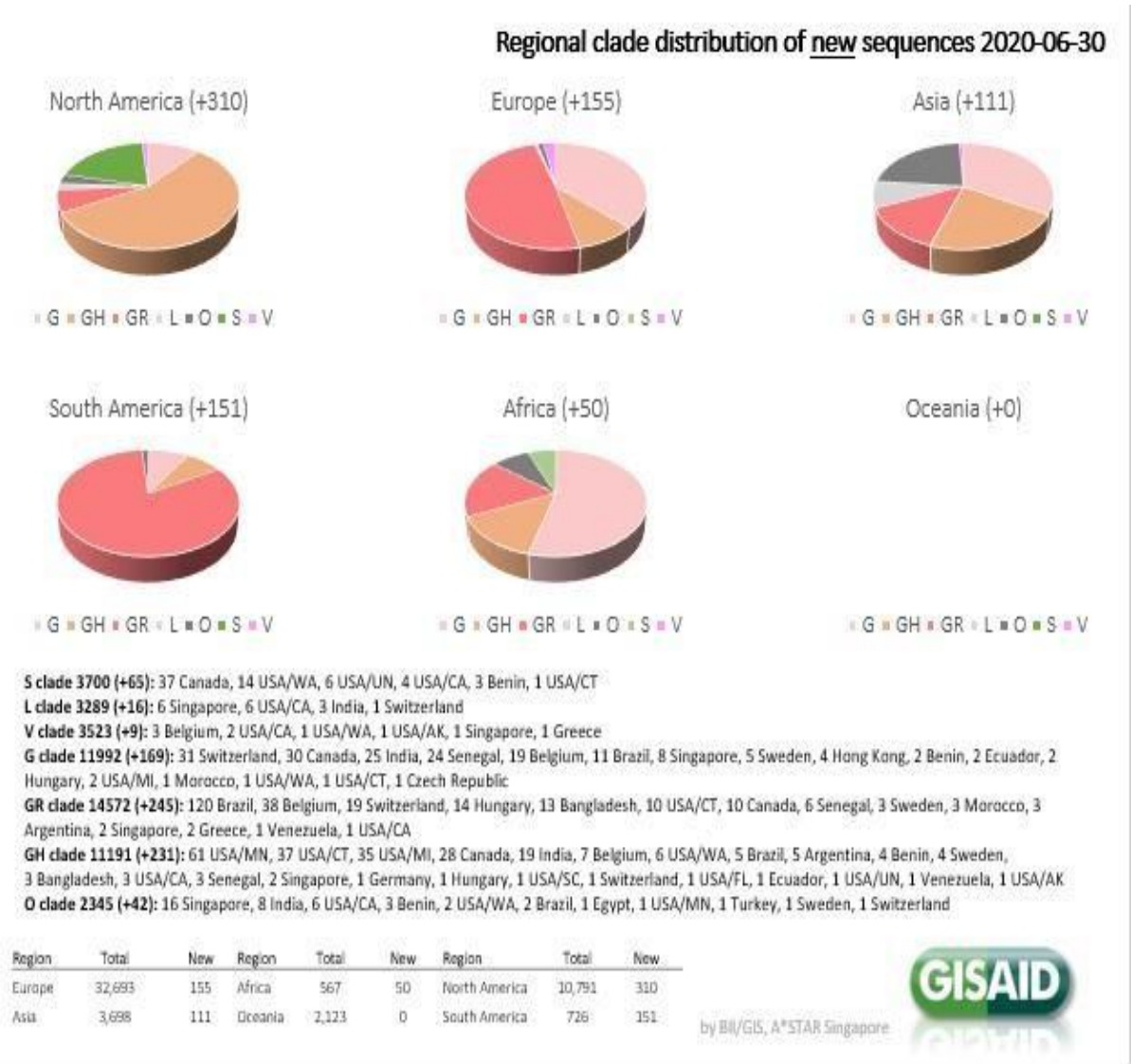


Figure 6. Distribution mondiale des clades génétiques du SARS-CoV-2 par région.

(Source :GISAID : <https://www.epicov.org/epi3/frontend#32a2c8>, consulté 30 juin2020).

L'illustration ci-dessus représente, sous forme de diagrammes circulaires, la répartition des variants (clades) du coronavirus SARS-CoV-2 dans six régions du monde. La détection est indiquée par le nombre de nouvelles séquences entre parenthèses : Amérique du Nord (+310), Europe (+155), Asie (+111), Amérique du Sud (+151), Afrique (+50) et Océanie (+0). Les clades sont identifiés par différentes couleurs et codes (G, GH, GR, L, O, S, V). Un tableau détaillé en bas de figure précise la distribution par pays, montrant la diversité génétique du virus à l'échelle mondiale à cette date. Données issues de la base GISAID.

Variant a supprimé

1.2. Caractéristiques principales des clades

- Le clade L : C'est l'un des premiers clades identifiés du SARS-CoV-2. Il est considéré comme le clade ancestral, proche de la souche originale détectée à Wuhan. Il est caractérisé par la mutation T8782C dans ORF1ab et C28144T dans ORF8. Il était dominant au début de l'épidémie, mais sa fréquence a diminué au fil du temps (Chiara et al., 2021).

- Le clade S : est défini par la mutation L84S dans la protéine ORF8. Ce clade a été observé principalement en Amérique et en Europe au début de la pandémie (Mercatelli et Giorgi, 2020). La mutation L84S pourrait influencer l'interaction du virus avec le système immunitaire de l'hôte. Des études ont suggéré que ces mutations dans ORF8 pourraient affecter la présentation des antigènes et la réponse immunitaire innée (Zhang et al., 2020).

- Le clade G : Les clades G, GR, et GH du SARS-CoV-2 sont des variants importants caractérisés par la mutation D614G dans la protéine de spike (S). Le clade G, porteur initial de cette mutation, a acquis une dominance mondiale en 2020 en raison de sa transmissibilité accrue. Les clades GR et GH sont des sous-lignées du clade G, présentant des mutations supplémentaires.

- Clade G : Mutation D614G, augmente l'infectiosité et la transmission.
- Clade GR : Inclut D614G plus des mutations dans la protéine N (généralement R203K, G204R).
- Clade GH : Contient D614G et d'autres mutations spécifiques.

Korber et al. (2020) ont démontré que la mutation D614G augmente l'infectiosité du virus *in vitro* et sa transmission chez les modèles animaux. Ces clades ont joué un rôle crucial dans la dynamique de la pandémie, illustrant l'importance du suivi génomique pour comprendre l'évolution et la propagation du SARS-CoV-2.

- Le clade V : est caractérisé par la mutation G251V dans la protéine ORF3a. Bien que moins répandu que le clade G, il a été observé dans plusieurs régions du monde. Les implications fonctionnelles de cette mutation pourraient affecter la réplication virale (Mercatelli et Giorgi, 2020).

- Le clade O : appelé aussi clade "Other", regroupe les lignées virales qui ne correspondent pas aux critères des clades G, V, L ou S. Il comprend diverses sous-lignées

avec des mutations distinctes. Ce clade est important pour suivre l'émergence de nouvelles variantes potentiellement significatives (Rambaut et al., 2020).

La diversification rapide du virus et l'accumulation de nouvelles mutations ont nécessité l'adoption de systèmes de nomenclature plus dynamiques et précis, tels que le système de lignées PANGO (Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak) et la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour les variants préoccupants et d'intérêt, afin de suivre efficacement l'émergence et la propagation des variants à l'échelle mondiale.

1.3. La classification PANGO

La classification PANGO (Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages) est un système de nomenclature dynamique conçu pour le SARS-CoV-2 (Rambaut et al., 2020). Cette méthode hiérarchique permet d'identifier et de suivre les lignées virales en se basant sur leurs relations phylogénétiques, offrant ainsi une granularité fine dans la catégorisation des variants (O'Toole et al., 2021). Le système utilise une combinaison alphanumérique pour désigner les lignées comme illustré par la désignation des variants Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1) et Delta (B.1.617.2) (Konings et al., 2021).

1.4. La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

Cette nomenclature utilise les lettres de l'alphabet grec pour désigner les variants, complétant ainsi les désignations scientifiques existantes comme la classification PANGO (Konings et al., 2021). L'OMS a établi des critères spécifiques pour classer les variants, basés sur leur transmissibilité accrue, leur virulence ou leur capacité à échapper à l'immunité (World Health Organization, 2021b). Cette approche a permis une communication plus efficace sur les variants émergents, comme illustré par les désignations Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), et Delta (B.1.617.2) (Callaway, 2021).

La classification de l'OMS est régulièrement mise à jour pour refléter l'évolution de la situation épidémiologique mondiale, comme en témoigne l'ajout ultérieur du variant Omicron (B.1.1.529) et ses sous-lignées (Tableau 01) (Karim et Karim, 2021).

Actuellement, on parle de deux principales catégories de variants qui sont :

- **Variants préoccupants (VOC - Variants of Concern)**

Les variants préoccupants sont des lignées du SRAS-CoV-2, notamment Alpha, Beta, Gamma, Delta et Omicron, caractérisées par une transmission, une gravité et des propriétés d'évasion immunitaire accrues (Andre et al., 2023). Dans une étude menée sur des cas pédiatriques au Mexique, il a été noté une efficacité réduite des vaccins et des traitements dans le cas d'une infection par ces variants (Maldonado-Cabrera et al., 2023).

- **Variants d'intérêt (VOI - Variants of Interest)**

Les variants d'intérêt sont des variants émergents du SRAS-CoV-2 qui peuvent présenter des changements antigéniques et évolutifs importants. Ils incluent B.1.525 (Eta), B.1.526 (Iota), B.1.617 (Delta), P.2 (Zeta) et P.3 (Theta), caractérisés par des mutations spécifiques susceptibles d'améliorer la transmission, l'infection, la virulence ou l'échappement immunitaire, ce qui peut avoir un potentiels impacts sur la santé publique (Chakraborty et al., 2021).

Ce système a joué un rôle crucial dans la standardisation de la communication sur les variants du SARS-CoV-2 à l'échelle mondiale, facilitant ainsi la coordination des efforts de santé publique et de recherche (Mullen et al., 2022).

Tableau 1. Tableau 1. La lignée Omicron et ces différentes sous-lignée (selon l'OMS 2024)

Dénomination de l'OMS	Lignées et sous lignées	Première détection mondiale	Date de désignation
Omicron	B.1.1.529	Novembre 2021	10 décembre 2021
Omicron	XBB.1.5	Octobre 2022	Janvier 2023
Omicron	EG.5.1	Janvier 2023	Août 2023
Omicron	BA.2.86	Juillet 2023	Août 2023
Omicron	HK.3	Juin 2023	Novembre 2023
Omicron	HV.1	Juillet 2023	Novembre 2023
Omicron	JN.1	Août 2023	Décembre 2023

2. Dynamique de l'immunité contre le SRAS-CoV-2

L'immunité contre le SRAS-CoV-2 est caractérisée par des réponses à la fois humorales et cellulaires, influencées par les schémas de vaccination et les infections antérieures.

La tempête de cytokines, est une des caractéristiques de l'infection par le SARS-CoV-2, elle se traduit par une production excessive de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, le TNF- α et l'IL-1 β , qui est une caractéristique pathologique critique de la COVID-19 sévère, entraînant des complications importantes, notamment le syndrome de détresse respiratoire aiguë et une défaillance multiorganique (Anjali et Raghavendra, 2023 ; Kim et al., 2021).

Cette réponse hyperinflammatoire est principalement due à une altération de la réponse à l'interféron de type 1 au cours des premiers stades de l'infection, ce qui exacerbe la dysrégulation immunitaire (Kim et al., 2021). D'un autre côté, l'étude de Paywast et al. (2023) souligne que l'IL-6 est une cytokine clé dans la forme sévère de la COVID-19, en corrélation avec une augmentation de la ferritine sérique et de la CRP, tandis que les taux d'IL-1 β et de TNF- α n'étaient pas significativement différents (Paywast et al., 2023).

Des études récentes indiquent que les lymphocytes B et T mémoires contribuent à une immunité durable après l'infection. Cette réponse immunitaire offre potentiellement une protection contre les variants viraux et ouvre des perspectives pour le développement de thérapies ciblées et l'optimisation des vaccins contre les variants émergents. (Konduru et al., 2023 ; Rowaiye et al., 2021).

La compréhension de ces mécanismes immunologiques a facilité le développement de thérapies ciblées, telles que le tocilizumab et l'anakinra, visant à atténuer les tempêtes de cytokines (Kim et al., 2021). Les études continuent d'explorer les interactions complexes entre le SRAS-CoV-2 et le système immunitaire, soulignant la nécessité de stratégies thérapeutiques efficaces pour gérer les cas graves et améliorer les résultats pour les patients (Rowaiye et al., 2021).

3. Les avancées majeures de la recherche vaccinale

Dans ce contexte, une multitude de recherches sans précédent ont été déployées à l'échelle mondiale, dans le domaine de la vaccinologie, mobilisant des collaborations internationales, des financements exceptionnels et des technologies innovantes. Ces efforts ont abouti au développement de vaccins de différente spécificité (Tableau 2).

L'utilisation des vaccins à ARNm représente une avancée majeure dans le domaine de la vaccinologie (Guo et al., 2024). Il a été noté que les vaccins à ARNm induisent des réponses immunitaires robustes, protégeant efficacement contre des agents pathogènes tels que le SRAS-CoV-2 et d'autres virus respiratoires (Troncoso-Bravo et al., 2024). Cependant, plusieurs défis techniques persistent, notamment la stabilité du vaccin, la précision du ciblage cellulaire et la protection contre la dégradation enzymatique (Makhijani et al., 2024).

En parallèle, les vaccins à vecteur viral, reposant sur l'utilisation d'adénovirus génétiquement modifiés ont également démontré leur pertinence. Dans le cas de la COVID-19 les vecteurs Ad5/35 exprimant la protéine Spike du SARS-CoV-2 ont montré une forte immunogénicité et une protection contre le virus chez les souris et les primates non humain (Shin et al., 2022 ; Kang et al., 2023). Une seule dose de vaccins basés sur des vecteurs adénoviraux, y compris Ad5 et AdC68, a induit des réponses immunitaires robustes et durables, offrant une protection prolongée contre le SARS-CoV-2 (Zhang et al., 2021). Dans cette même catégorie, des vaccins bivalents utilisant des combinaisons de variants Omicron ont montré une capacité de neutralisation croisée améliorée, suggérant une immunité élargie contre les variants actuels (Kang et al., 2023).

D'autre part, le développement d'approches conventionnelles telles que les vaccins à sous-unités protéiques et les vaccins inactivés contre le SRAS-CoV-2 a suscité une attention particulière en raison de leur efficacité potentielle et de leurs profils de sécurité. Ces méthodes s'appuient sur des principes immunologiques établis pour provoquer des réponses immunitaires robustes contre le virus.

Tableau 2. Classification des vaccins contre la COVID-19 selon leurs spécificités techniques

Nom commercial	Laboratoire / Pays d'origine	Type de vaccin	Spécificités techniques	Efficacité*	Références
Vaccins ARNm					
Comirnaty	Pfizer-BioNTech / USA-Allemagne	ARNm	ARNm codant la protéine spike	95,0	Polack et al., 2020; Sahin et al., 2021
Spikevax	Moderna / USA	ARNm	ARNm codant la protéine spike	94,0	Baden et al., 2021; Anderson et al., 2020

Vaccins à vecteur viral (adénovirus)					
Vaxzevria	AstraZeneca-Oxford / R-U-Suède	Vecteur viral	Adénovirus de chimpanzé	62,0-90,0	Voysey et al., 2021
Janssen COVID-19	Johnson & Johnson / USA	Vecteur viral	Adénovirus humain Ad26	66,0-72,0	Sadoff et al., 2021
Sputnik V	Institut Gamaleya / Russie	Vecteur viral	Deux adénovirus différents	91,0	Logunov et al., 2021
Vaccins sous-unitaires protéiques					
Nuvaxovid	Novavax / USA	Sous-unitaire protéique	Protéine spike recombinante	90,0	Heath et al., 2021
Abdala	CIGB / Cuba	Sous-unitaire protéique	Protéine RBD	92,3	Chang-Montegudo et al., 2021; Riverón et al., 2022
Vaccins à virus inactivé					
CoronaVac	Sinovac / Chine	Virus inactivé	Virus SARS-CoV-2 inactivé	50,0-91,0	Tanriover et al., 2021
BBIBP-CorV	Sinopharm / Chine	Virus inactivé	Virus SARS-CoV-2 inactivé	79,0-86,0	Al Kaabi et al., 2021
Covaxin	Bharat Biotech / Inde	Virus inactivé	Virus inactivé	78,0	Ella et al., 2021

Note. Les données sont issues des essais cliniques de phase III publiés entre 2020 et 2022.

**L'efficacité est exprimée en pourcentage de réduction du risque de développer la COVID-19 symptomatique par rapport au groupe placebo.*

4. Facteurs environnementaux et adaptabilité du SARS-CoV-2

La complexité des facteurs environnementaux, notamment la température, l'humidité et la qualité de l'air, influence de manière déterminante l'évolution et la dynamique de transmission du SARS-CoV-2 à l'échelle mondiale.

4.1. Impact de la température

Les variations de température influencent de manière significative la dynamique de transmission du SRAS-CoV-2, en particulier au début de la propagation du variant Alpha, où les conditions plus froides étaient corrélées à des taux de transmission accrus. Les recherches indiquent que cet effet est moins prononcé pour les variants ultérieurs tels que Delta et Omicron, principalement en raison des taux de vaccination élevés et de la capacité des variants à échapper à l'immunité, qui éclipsent les impacts climatiques (Smith et al., 2024). Le variant Alpha a présenté une réponse non linéaire à la température, avec une transmissibilité accrue à des températures plus basses, tandis que Delta et Omicron ont montré une influence climatique limitée lors de leurs balayages sélectifs respectifs (Smith et al., 2024).

De plus, des études soulignent que des facteurs environnementaux, notamment une humidité et une température spécifiques, peuvent affecter la réplication et la transmission virales, mais que ces effets sont secondaires à la biologie virale intrinsèque et aux mesures de santé publique (Yu et al., 2023 ; Lyu et al., 2022). Dans l'ensemble, bien que la température joue un rôle, elle n'est pas le principal facteur de la dynamique de transmission du SRAS-CoV-2 dans les variantes ultérieures (Smith et al., 2024 ; Kim et al., 2022).

4.2. Impact de l'humidité

En outre, des recherches indiquent que l'humidité influe de manière significative sur la transmission et la viabilité du SARS-CoV-2. Dans une étude dont l'objectif était de rechercher les effets de l'humidité sur l'inactivation du SARS-CoV-2 par les ions, les résultats ont montré qu'à 80% d'humidité, l'effet de l'irradiation ionique sur l'inactivation du SARS-CoV-2 était retardé jusqu'à 90 minutes, ce qui suggère que l'humidité peut protéger l'infectivité virale (Wadi et al., 2024). D'un autre côté, des études épidémiologiques ont montré une corrélation entre les niveaux d'humidité et la propagation des virus respiratoires, y compris le SARS-CoV-2, avec une humidité plus faible associée à des taux de transmission augmentés

(Keetels et al., 2022 ; Lin et al., 2022). Cependant, dans des régions spécifiques comme la mer Noire en Turquie, une humidité élevée n'était pas corrélée à une transmission accrue, ce qui indique que d'autres facteurs, tels que la démographie et les conditions environnementales, jouent également un rôle critique (Akan et Coccia, 2023).

4.3. Impact de la pollution

La pollution atmosphérique s'est révélée être un facteur environnemental majeur dans la vulnérabilité à l'infection par le SARS-CoV-2, comme le démontrent de nombreuses études épidémiologiques qui convergent vers un consensus scientifique : l'exposition aux polluants atmosphériques favorise la transmission virale et aggrave le risque d'infection (Hajmohammadi et al., 2023). Cette association s'explique notamment par deux mécanismes: d'une part, l'altération des défenses immunitaires respiratoires et l'inflammation chronique des voies aériennes induites par les polluants, créant ainsi un terrain propice à l'infection virale (Choi et al., 2023 ; Yamamoto et al., 2023 ; Burbank, 2023), et d'autre part, le rôle des particules en suspension comme vecteurs potentiels du virus, dont l'efficacité est modulée par les conditions environnementales d'humidité et de température qui influencent la durée de vie des gouttelettes dans l'air et leur charge virale (Maurel, 2022 ; Merhi et al., 2022).

4.4. Impact des rayons ultraviolet

La relation entre le rayonnement ultraviolet (UV) et la transmission du SRAS-CoV-2 est multiforme, des preuves suggérant que le rayonnement UV solaire peut inactiver le virus, en particulier dans les gammes UV-A (315—400 nm) et UV-B (290-315 nm). Des études indiquent qu'environ 90 % des particules virales du SRAS-CoV-2 peuvent être inactivées dans les 7 à 13 minutes suivant l'exposition au rayonnement solaire, selon l'angle zénithal solaire (Bernhard et al., 2023 ; Herman et Piacentini, 2021). Par ailleurs, des études observationnelles menées en Espagne ont démontré que le rayonnement UV influence significativement l'incidence de la COVID-19 et les taux d'hospitalisations, révélant qu'une augmentation des températures et des niveaux d'UV est associée à une réduction de la mortalité liée au COVID-19 (Pérez-Gilaberte et al., 2023). Cependant, des facteurs de confusion tels que la température et l'humidité compliquent ces associations, ce qui indique que si le rayonnement UV joue un rôle dans l'inactivation virale, son impact sur les résultats de santé publique nécessite un examen attentif des variables environnementales (Bernhard

et al., 2023 ; Pérez-Gilaberte et al., 2023).

En fin, l'analyse isolée de chaque facteur ne permet pas d'appréhender pleinement la dynamique et l'évolution du SARS-CoV-2. Une approche combinatoire s'avère nécessaire pour comprendre l'interaction complexe entre ces différents paramètres et obtenir une vision plus complète et nuancée des mécanismes de transmission et d'adaptation du virus.

5. Enjeux de la surveillance génomique du SARS-CoV-2

La surveillance génomique mondiale du SARS-CoV-2 a considérablement évolué depuis le début de la pandémie, plusieurs pays mettant en œuvre diverses stratégies pour surveiller les mutations et les variants viraux.

L'Autriche a innové en mettant en place le pipeline SARSeq, qui a permis une surveillance génomique centralisée à grande échelle, analysant jusqu'à 2 880 cas par semaine. Cette approche a généré plus de 222 000 séquences entre janvier 2021 et mars 2023, offrant une vision précise de l'évolution du virus et permettant une prédiction efficace des pics épidémiques (Frank et al., 2024). De même, une étude menée à Weihai, en Chine, a collecté 704 séquences du génome entier entre mars 2022 et mars 2023, révélant des changements significatifs dans les variants dominants après les ajustements politiques, notamment l'émergence de BF.7 et BA.5.2 (Li et al., 2023). La même politique de suivi a révélé au Brésil que les variants Gamma et Omicron étaient prédominants chez les patients cancéreux, soulignant l'importance de surveiller les populations immunodéprimées (Oliveira et al., 2024).

À l'échelle mondiale, plus de 5,5 millions de génomes de haute qualité ont été analysés, révélant une importante variabilité géographique dans la distribution des variants, ce qui souligne la nécessité d'une politique de surveillance et de réponse de santé publique propre à chaque région ou pays (Li et al., 2024).

Article 01

Exploring the Interplay of UV Index, Population Density, and SARS- CoV-2 Clades on COVID-19 Propagation: A Comprehensive Analysis of the Pandemic Dynamics.

Chahinez Triqui, Ilyes Zatla, Mohamed Chahbar, Wafaa Lemerini,
Nasreddine Moussi, Semir Bechir Suheil Gaouar, Nassima Mokhtari-
Soulimane,



Exploring the Interplay of UV Index, Population Density, and SARS-CoV-2 Clades on COVID-19 Propagation: A Comprehensive Analysis of the Pandemic Dynamics

ARTICLE INFO

Article Type Original Article

Authors

Chahinez Triqui, PhD¹
Ilyes Zatla, PhD^{2*}
Mohamed Chahbar, PhD³
Wafaa Lemerini, PhD⁴
Nasreddine Moussi, MS⁵
Semir Bechir Suheil Gaouar, PhD⁶
Nassima Mokhtari-Soulimane, PhD¹

¹Laboratory of Physiology, Physiotherapy and Biochemistry of Nutrition, Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe, University of Tlemcen, Algeria.

²Laboratory of Microbiology applied to the Food industry, Biomedical and the Environment, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences, Department of Biology, University of Tlemcen, Algeria.

³Agronomy Environment Research Laboratory, Faculty of Science and Technology, Department of Natural and Life Sciences, Tissemsilet University Center, Algeria.

⁴Laboratory of Organic Chemistry, Natural Substances, and Analysis, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences, Department of Biology, University of Tlemcen, Algeria.

⁵Paris Reclorate, Henri Bergson school city, Paris, France.

⁶Laboratory of Applied genetic in agriculture, ecology and public health, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe, University of Tlemcen, Algeria.

* Correspondence

Laboratory of Microbiology applied to the Food industry, Biomedical and the Environment, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences, Department of Biology, University of Tlemcen, Algeria.
Email: ilyes.zatla@univ-tlemcen.dz

How to cite this article

Triqui Ch, Zatl I, Chahbar M., Lemerini W, Moussi N., Gaouar S.B.S., Mokhtari-Soulimane N. Exploring the Interplay of UV Index, Population Density, and SARS-CoV-2 Clades on COVID-19 Propagation: A Comprehensive Analysis of the Pandemic Dynamics. *Infection Epidemiology and Microbiology*. 2024;10(1): 61-70.

Article History

Received: October 13, 2023

Accepted: March 12, 2024

Published: April 12, 2024

ABSTRACT

Background: Despite the passage of more than two years since the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, the persistence of the coronavirus and its circulation at varying levels globally necessitates a deeper understanding of the factors influencing its transmission and impact. This study aimed to investigate the relationship between environmental factors, population density, and genetic variations of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), with a specific focus on elucidating their implications for public health measures and vaccine development.

Materials & Methods: This observational analysis was conducted utilizing daily reported SARS-CoV-2 cases in various countries. Additionally, monthly changes in ultraviolet (UV) radiation index, population density per km², and viral genetic variations were assessed. Comparative analysis was performed to examine correlations between these variables. Data analysis was conducted using SAS 9.3 software with a generalized linear model (GLM) approach.

Findings: This study revealed significant correlations between UV index and key epidemiological parameters, including mortality rate, average case number, and transmission rate. Population density per square kilometer did not exhibit any substantial relationship with these variables. Analysis of viral clades suggests potential immunological insights, indicating varying degrees of immunity conferred by certain genetic variants.

Conclusion: These findings underscore the importance of environmental and genetic factors in shaping the trajectory of the COVID-19 pandemic. By elucidating the role of UV radiation and viral genetic diversity, this study informs public health strategies and underscores the necessity of ongoing surveillance and vaccine development efforts tailored to the evolving SARS-CoV-2 landscape.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Population density, Ultraviolet rays, Mutation, Pandemics

CITATION LINKS

[1] Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2... [2] Zatl I, Boublenza L, Hassaine H. The first days and months of the COVID-19 pandemic.... [3] Zatl I, Boublenza L, Hassaine H. SARS-CoV-2 morphology, genome, life cycle and our bodies' immune... [4] Zatl I, Boublenza L, Hassaine H. SARS-CoV-2 origin, classification, and transmission: A mini-review... [5] Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease... [6] Remuzzi A, Remuzzi G. COVID-19 and Italy: What next?... [7] Zatl I, Boublenza L, Boublenza A. Tracing the origin and early progression of COVID-19 in Europe: An epidemiological descriptive study... [8] World Health Organization. WHO director-general's opening remarks at the media briefing on COVID-19. Geneva, Switzerland... [9] Geng Y, Wang Y. Stability and transmissibility of SARS-CoV-2 in the environment... [10] Pratelli A. Canine coronavirus inactivation with physical and chemical... [11] Sagripanti JL, Lytle CD. Inactivation of influenza virus by solar radiation... [12] Mims FM. Avian influenza and UV-B blocked by biomass smoke... [13] Meves A, Repacholi MH, Rehfuess EA. Global solar UV index: A physician's tool for... [14] Nakamichi K, Shen JZ, Lee CS, Lee A, Roberts EA, Simonson PD, et al. Hospitalization and mortality... [15] Wong DW, Li Y. Spreading of COVID-19: Density matters... [16] Bhadra A, Mukherjee A, Sarkar K. Impact of population density on Covid-19... [17] Xu R, Rahmandad H, Gupta M, DiGennaro C, Ghaffarzagdegan N, Amini H, et al. Weather, air pollution, and... [18] Ma Y, Pei S, Shaman J, Dubrow R, Chen K. Role of meteorological factors in the...

Introduction

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a novel beta coronavirus with a 30-kb genome. It is the causative agent of COVID-19 (coronavirus disease 2019), which was initially reported in December 2019 in Wuhan, Hubei, China [1-4] and later declared as a pandemic in March 2020 by the World Health Organization (WHO) [5], with Europe being the “epicenter” of this global infectious pathogen [6, 7].

SARS-CoV-2 demonstrates different spread rates across different countries [8]. The half-life of the virus plays a crucial role in its transmissibility [9, 10]. Country-to-country variations in the spread rate of the virus may be associated with differences in meteorological conditions [11]. While factors such as humidity and temperature could impact virus survival, ultraviolet radiation in sunlight is recognized as the primary virucidal agent in the environment [12]. Even after more than two years of the COVID-19 pandemic, researchers continue to study the virus and its behavior in different environments. A comprehensive understanding of the genomic epidemiology of SARS-CoV-2 is essential for a deeper exploration of its characteristics.

The global solar ultraviolet index (UVI) stands out as a highly effective tool in combating the skin cancer epidemic. Developed collaboratively by renowned organizations like WHO, WMO (World Meteorological Organization), UNEP (United Nations Environment Programme), ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection), and their partner centers, the primary objective of UVI is to standardize UV radiation reporting on a global scale. It serves as a comprehensive indicator and describes the level of solar ultraviolet radiation (UVR) at the Earth’s surface, starting at zero and gradually increasing, providing vital information for

various countries [13]. The virus exhibits swift mutations, giving rise to significant clades of sequence variants that demonstrate diverse outcomes in infected patients [14].

This study aimed to identify significant differences in mortality rate, average case number, and propagation frequency between the first and second fortnights of each month and to compare the impact of different viral clades on the mortality rate and the number of new cases, highlighting the dynamic nature of the pandemic and the critical importance of timely interventions. Specifically, this study aimed to determine if exposure to one clade could confer strong immunity against other clades.

Objectives: This study also aimed to investigate the potential association between changes in the UV index and the spread of SARS-CoV-2 infection in countries with varying population densities across different continents. By understanding the dynamics of these factors over time, the findings could inform policy makers on implementing targeted interventions to effectively mitigate the risk of health crises.

Materials and Methods

Study design: An observational analysis was performed on daily reported SARS-CoV-2 cases and monthly changes in UV index in five European countries including Italy, Spain, France, Germany, and United Kingdom; four Middle Eastern countries including Qatar, Kuwait, United Arab Emirates, and Saudi Arabia; and Australia. In addition, the impact of population density per km² and the types of clades found in each of these countries was evaluated on the propagation frequency of the virus (Figure 1). Figure 1 represents the study design organizational diagram.

Data sources: During the period of January 1 to March 31, 2020, data on the number of new SARS-CoV-2 cases reported daily in each country were sourced from the European

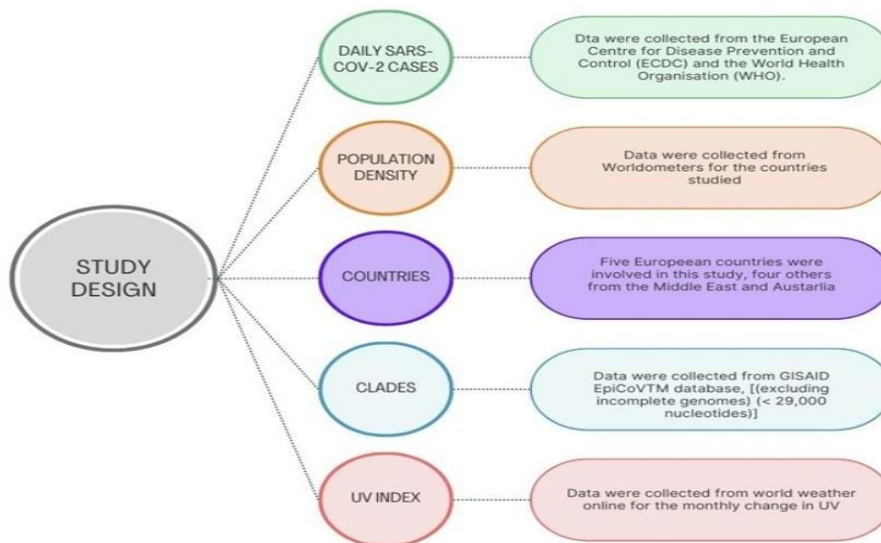


Figure 1) Study design organizational diagram

Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/data>).

To provide context for the analysis, population density per square kilometer was also determined for each country. This information was obtained from worldometers utilizing the latest estimates provided by the United Nations Population Division (<https://www.worldometers.info/world-population/population-by-country/>). By accessing these datasets, the relationship between SARS-CoV-2 cases and population density as well as their potential implications during the specified timeframe were explored.

UV index values for the months of December, January, and February were collected from the world weather online website (<https://www.worldweatheronline.com/>). In order to capture the variability of UV index values within each country, the UV index was recorded for 15 cities per country. Specifically, cities significantly impacted by the pandemic with higher population density were selected. In cases where the UV

index values varied between cities within a country, the range of values was recorded as an interval.

To complement the analysis, SARS-CoV-2 genomic sequences were downloaded from the GISAID EpiCoV™ database for the countries under study. Sequences were selected based on their collection dates, and incomplete genomes with less than 29,000 nucleotides were excluded. As of June 14, 2020, a total of 10,029 SARS-CoV-2 genomic sequences were retrieved for our analysis. These data collection processes were an integral part of the present investigation, as they allowed us to explore the relationship between UV index values, viral genomic sequences, and epidemiological dynamics of SARS-CoV-2 over the specified timeframe.

Statistical analysis: The fixed factors investigated in this research included UV index, country, month, population density per km², and clades. Data analysis was conducted using SAS 9.3 software (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) (Figure 2). A generalized linear model (GLM) was

[DOI: 10.61186/iem.10.1.61]

Downloaded from iem.modares.ac.ir at 13:11 IRST on Monday October 14th 2024

employed to examine the effects of various fixed factors on the number of cases, the number of deaths, and the frequency of propagation, which were considered as variable factors. All statistical analyses were performed with a significance level of 95%. To compare the mean values of the number of cases, the number of deaths, and the frequency of propagation between the first and second fortnights, the MEANS procedure was utilized, and the Duncan-Waller test was employed to analyze the grouping of homogeneous fixed factors.

To explore the correlations between the variable factors, the SAS 9 CORR procedure was employed. Finally, to analyze the effects of different relationships between the fixed factors on the variable factors, the FREQ procedure was utilized.

Figure 2 represents SAS software different procedures applied.

Findings

Comparison between the number of cases and deaths: A comparison between the number of cases and deaths in each situation was made over a period of 15 days in accordance with what has been published about the virus incubation rate,

and the results were considered statistically significant when $p \leq .05$ (Table 1).

According to the Wilcoxon statistical test, comparing averages per 15 days showed significant differences in the frequency of propagation (162917), number of active cases (equal to 172513.50), and number of deaths (equal to 173522.50) between the first and second fortnights of each month. Table 1 compares cases, deaths, and propagation frequency of SARS-CoV-2.

Generalized linear model (GLM) procedure: Table 2 shows the values of mortality, average number of active cases per 15 days, and frequency of propagation per 15 day according to the GLM procedure.

Grouping of homogeneous subsets: Grouping of homogeneous clades and UV indices according to mortality, average number of cases per 15 days, and frequency of propagation according to the Waller-Duncan test showed that clades G, G&S, and G&V&O&S and UV indices 3-4, 3-5, and 5-6 were statistically different.

Propagation frequency: An analysis was performed to examine the variations in propagation frequency considering UV indices, different combinations of clades, time periods (months), and regions

Table 1) Comparing cases, deaths, and propagation frequency of SARS-CoV-2

Comparison	Test Used	Wilcoxon Statistic	Normal Approximation (P-Value)	t Approximation (P-Value)	Significance Level
The average number of cases per day	Wilcoxon	172513.50	<.0001	<.0001	.05
The average number of deaths per day	Wilcoxon	173522.50	<.0001	<.0001	.05
The average of the frequency of propagation per 15 days	Wilcoxon	162917	<.0001	<.0001	.05

Table 2) GLM values for mortality, average number of active cases per 15 days, frequency of propagation per 15 days

Variable	R2	UV Index (ddl/F-Value/ P-Value)	Clades (ddl/F-Value/ P-Value)	Months (ddl/F-Value/ P-Value)	Countries (ddl/F-Value/ P-Value)	Density (ddl/F-Value/ P-Value)
Mortality	47.48%	12/23.86/<.0001	14/17.43/<.0001	2/3.07/.047	No significant difference was found	No significant difference was found
Average number of active cases	61.51%	12/43.82/<.0001	14/25.73/<.0001	2/22.28/<.0001	9/3.78/.0022	No significant difference was found
Frequency of propagation	58.70%	12/35.35/<.0001	14/29.58/<.0001	No significant difference was found	No significant difference was found	No significant difference was found

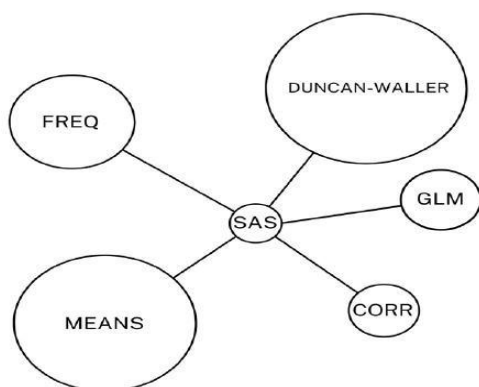


Figure 2) Representation of SAS software different procedures applied

(countries) from the highest to the lowest frequency.

Figure 3 shows the bar charts of propagation frequency based on (A) UV index variations, (B) clade variations, (C) monthly variations, and (D) country variations.

Figure 4 shows area charts representing clades-UV index relationship with (A) mortality frequency, (B) case frequency per 15 days, and (C) propagation frequency.

Effect of UV index on mortality frequency: The findings showed a significant

association between UV index intervals and mortality rates, with higher UV index values corresponding to higher mortality rates. However, it is important to note that the specific values mentioned are a function of the dataset used for analysis.

Effect of clades on mortality frequency: The results emphasized the correlation between different mortality levels and different clades. The clade G demonstrated the highest mortality rate, while the combinations involving clades G&O, G&V, O&S, and O had notably lower mortality rates.

Effect of month on mortality frequency: The findings indicated significant differences in mortality rates between different months and countries. March showed the highest mortality rate, while January and February had minimal mortalities. Italy had the highest mortality frequency, followed by Spain, France, and Brittany. On the other hand, Saudi Arabia, Australia, Emirates, and Qatar recorded the lowest mortality frequencies.

Linear discriminant function of Mortality per clade and UV index: Based on linear regression analysis, the impact of different combinations of clades on mortality by country was found to be significant. Among

[DOI: 10.61186/iem.10.1.61]

Downloaded from iem.modares.ac.ir at 13:11 IRST on Monday October 14th 2024

[DOI: 10.61186/iem.10.1.61]

Downloaded from iem.modares.ac.ir at 13:11 IRST on Monday October 14th 2024

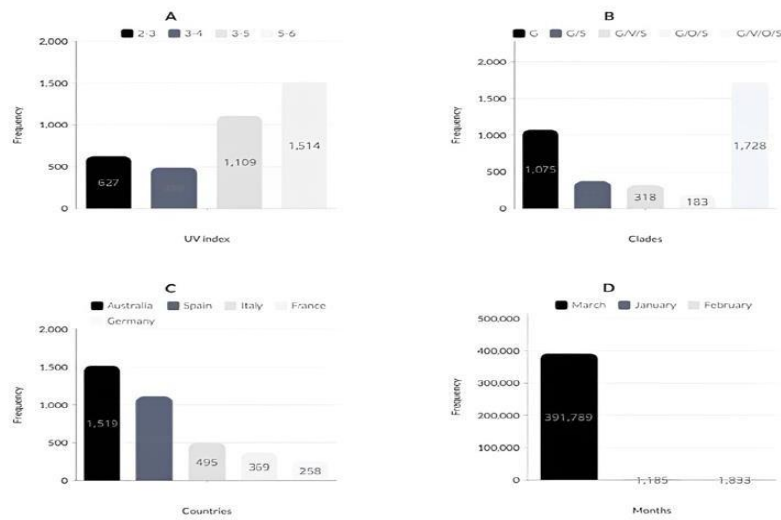


Figure 3) Bar charts of propagation frequency by (A) UV index variations, (B) clade variations, (C) monthly variations, and (D) country variations

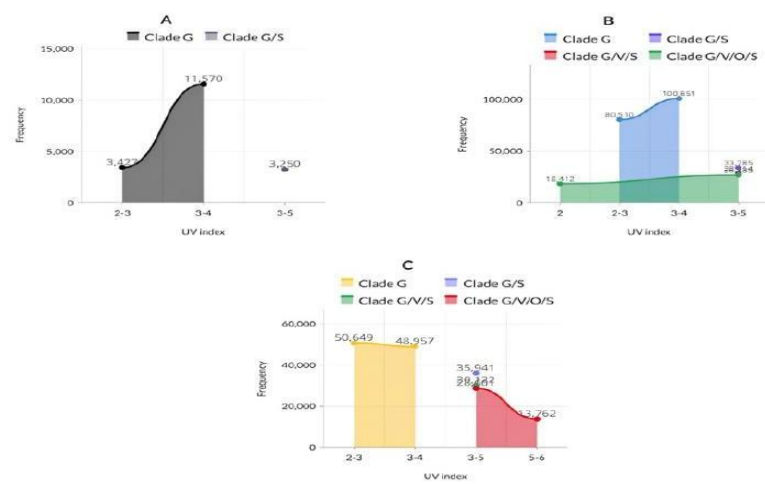


Figure 4) Area charts representing the clades-UV index relation with (A) mortality frequency, (B) case frequency per 15 days, and (C) propagation frequency

various combinations, the combination of clades G&S (0.01838) demonstrated the highest association with mortality, followed by clade G (0.00863). However, when clade O or V was combined with clade G, the

mortality rate decreased, as observed in the combinations G&O (0.0000958) and G&V (0.0000951). Furthermore, the analysis of mortality in relation to different UV indices revealed noteworthy observations. Mortality

was found to be substantial within the UV index interval 3-5, with a value of 0.02127. As the UV index increased, mortality gradually decreased within the intervals 6-7 and 5-6, with respective values of 0.0000276. However, UV indices 4-5, 6-8, 7-8, and 1-2 showed no significant association with mortality, as evidenced by values close to zero.

Number of cases per 15 days per UV index, clades and their associations: Based on the analysis of the highest number of cases per 15 days, it was observed that the combination of clades G&S (0.00211) had the highest frequency, followed by clade G (0.00113).

In contrast, when clade O or V was combined with other clades, the frequency of cases decreased significantly. The combination of clades G&O (0.0001586), G&O&V (0.0001751), and G&O&S (0.0000897) and clade O (0.0000154) all exhibited low frequencies. Similar to the mortality findings, the analysis of the UV index revealed similar patterns in terms of the frequency of cases. The interval 3-5 showed the highest frequency of cases, which was equal to 0.00353. This was followed by the interval 3-4, which had a frequency of 0.00116. Moderate frequencies were observed in UV indices 3 and 4-5, with values equal to 0.0000207 and 0.0000122, respectively.

Propagation frequency according to UV index, clades and clades associations: According to the findings, the combination of four clades G&V&O&S exhibited the highest propagation frequency of 0.15953, which was followed by the combination of G&S clades with a frequency of 0.14929. The frequency was moderate for the following combinations: G (0.04178), G&V&S (0.0361), and V (0.01103). However, the frequency tended to decrease or be negligible for the combination of clades O&S (0.00192), G&O (0.00511), and V&O&S (0.000333).

Regarding the impact of the UV index on

propagation frequency, the analysis revealed that the interval 3-5 was the most favorable, exhibiting a frequency of 0.19325.

Correlation models between all variable factors: An analysis was performed to examine the correlation between the following variables: number of deaths, population density per km², average number of cases per 15 days, and frequency of propagation per 15 days. The analysis was performed using the CORR procedure in SAS 9 software. The results clearly indicated the following relationships:

There was a strong relationship between mortality and the average number of cases per 15 days ($p < .001$, correlation coefficient = .809). The frequency of propagation was correlated with the average number of cases per 15 days ($p < .0001$, correlation coefficient = .568). The frequency of propagation was also correlated with the number of deaths ($p < .0001$, correlation coefficient = .438). There was no relationship between population density per km² and mortality ($p = .4503$, correlation coefficient = .02). Likewise, there was no relationship between population density per km² and the average number of cases per 15 days ($p = .2756$, correlation coefficient = .03). These findings indicated significant correlations between mortality, average number of cases, and frequency of propagation, while population density per km² did not show any significant relationship with these variables.

Discussion

The propagation behavior analysis of SARS-CoV-2 virus has garnered significant interest, and numerous studies have been conducted to understand its transmission and spread dynamics. This study contributes to this analysis by examining various factors influencing viral dissemination patterns, including weather conditions, particularly the UV index, classifying SARS-

CoV-2 into major clades reported in GISAID, and examining their impact on the three variables investigated in this study, including mortality, the number of cases per 15 days, and the frequency of propagation, based on data collected from multiple countries during the period from December 2019 to March 2020. Moreover, the analysis revealed associations between UV index intervals, clades, and various epidemiological parameters such as mortality rate and case frequency, suggesting the relevance of environmental factors and viral genetic variations with the spread and impact of COVID-19. Additionally, correlation models demonstrated strong relationships between mortality, average number of cases, and frequency of propagation, providing insights into the interconnected nature of these variables and their implications for public health strategies.

In this study, no notable relationship was found between urban density and the three variables investigated. This finding aligns with the findings of a study conducted in the United States, where high population density was not correlated with the number of confirmed cases, explaining that although it seems logical that places with more individuals have larger number of cases, but this issue could not be a significant factor in an outbreak [15]. This suggests that the spread of the virus depends more on contact between people rather than population density alone. Although some studies have shown a moderate association between Covid-19 spread and population density, density is considered as a contributing factor [15, 16]. The obtained results also showed a significant association between UV index and propagation frequency, where high UV ranges resulted in higher propagation frequency and also higher mortality rates. Conversely, one study found an association between higher temperatures and reduced

transmission rates [17], and another study indicated that cold, dry weather and low levels of UV radiation were moderately associated with increased SARS-CoV-2 transmissibility [18].

What stands out in this study is the significant influence of UV indices and types of clades on the three variable parameters. Our analysis reveals that the genetic characteristics of SARS-CoV-2 and its clades could explain the severity of symptoms and provide insights into the propagation frequency of the virus, where clade G was found to be predominant in the majority of countries studied and associated with high mortality rates, particularly in the UVI interval 3-4. However, the presence of other clades (S, O, V) mitigated the risk of high mortality. Our findings suggest that these clades may exhibit lower virulence compared to clade G, with clade O showing almost negligible mortality, as observed in the early stages of the pandemic in Qatar.

This implies that the presence of these clades within a population may confer certain levels of immunity. These findings also have implications for vaccine design, as they offer insights into minimizing adverse disease effects by considering clade O as a reference virus.

Regarding the analysis of propagation frequency, our study highlighted the interplay between UV index and viral clades. A UVI interval between 2 and 5 appeared to be more favorable for the spread of SARS-CoV-2. Considering the genotype of the virus, clade G exhibited a considerable propagation frequency at UV indices 2-3, whereas for UV indices 3-5, the propagation frequency was moderate and potentially favorable for the other clades. Notably, a significant propagation frequency was recorded for the combination of G&V&O&S clades at UVI interval 5-6, which could be influenced by factors such as Australia's low urban density.

Conclusion

In conclusion, this study sheds light on the complex dynamics of SARS-CoV-2 propagation, revealing nuanced factors influencing transmission patterns. While population density is traditionally considered as a key determinant of virus spread, the findings suggest that other variables, particularly weather conditions such as UV index and viral clades, play significant roles. Contrary to conventional wisdom, population density was found to have the least impact on virus transmission compared to environmental and genetic factors. Specifically, higher UV indices were associated with increased virus propagation and mortality rates, highlighting the importance of considering weather conditions in public health interventions. Additionally, the analysis of viral clades revealed distinct patterns of virulence, with clade G exhibiting higher mortality rates and clades S, O, and V showing lower virulence. These findings provide new insights for public health measures and vaccine development strategies and have important immunological implications. By recognizing the potential variations in immunity conferred by different viral clades, the findings could guide more targeted vaccine designs and strategies to mitigate viral spread and minimize adverse outcomes. This study limitations include a restricted timeframe, spanning from January 1 to March 31, 2020, which may not comprehensively reflect the pandemic's evolving dynamics beyond this duration. Furthermore, the analysis was confined to specific European, Middle Eastern, and Australian countries, potentially constraining the applicability of the findings to broader geographical contexts. Additionally, while the study examined the influence of various clades on SARS-CoV-2 dynamics, the variability in clade classification and distribution across

different regions and periods could impact the interpretation of results.

Acknowledgments

None declared by authors.

Ethical permissions: None declared by authors.

Authors' contributions: All authors contributed equally to this work.

Conflicts of interests: None declared by authors.

Funding/Supports: None declared by authors.

Consent to participate: Not applicable.

References

- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med.* 2020;26(4):450–2.
- Zatla I, Boublenza L, Hassaine H. The first days and months of the COVID-19 pandemic. *RRJoMV.* 2022;12(1):7–13.
- Zatla I, Boublenza L, Hassaine H. SARS-CoV-2 morphology, genome, life cycle and our bodies' immune response: A review. *Virology.* 2021;18:15–24
- Zatla I, Boublenza L, Hassaine H. SARS-CoV-2 origin, classification, and transmission: A mini-review. *Virology.* 2021;18:31–8.
- Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265–9.
- Remuzzi A, Remuzzi G. COVID-19 and Italy: What next? *Lancet.* 2020;395(10231):1225–8.
- Zatla I, Boublenza L, Boublenza A. Tracing the origin and early progression of COVID-19 in Europe: An epidemiological descriptive study. *Infect Epidemiol Microbiol.* 2023;9(3):249–56.
- World Health Organization. WHO director-general's opening remarks at the media briefing on COVID-19. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2020.
- Geng Y, Wang Y. Stability and transmissibility of SARS-CoV-2 in the environment. *J Med Virol.* 2022;95(1):e28103.
- Pratelli A. Canine coronavirus inactivation with physical and chemical agents. *Vet J.* 2008;177(1):71–9.
- Sagripanti JL, Lytle CD. Inactivation of influenza virus by solar radiation. *Photochem Photobiol.* 2007;83(5):1278–82.
- Mims FM. Avian influenza and UV-B blocked by biomass smoke. *Environ Health Perspect.* 2005;113(12):A806–7.
- Meves A, Repacholi MH, Rehfuess EA. Global

Exploring the Interplay of UV Index,...

70

- solar UV index: A physician's tool for fighting the skin cancer epidemic. *Int J Dermatol.* 2003;42(10):846-9.
14. Nakamichi K, Shen JZ, Lee CS, Lee A, Roberts EA, Simonson PD, et al. Hospitalization and mortality associated with SARS-CoV-2 viral clades in COVID-19. *Sci Rep.* 2021;11(1):1-11.
 15. Wong DW, Li Y. Spreading of COVID-19: Density matters. *PLoS One.* 2020;15(12):e0242398.
 16. Bhadra A, Mukherjee A, Sarkar K. Impact of population density on Covid-19 infected and mortality rate in India. *Model Earth Syst Environ.* 2021;7:623-9.
 17. Xu R, Rahmandad H, Gupta M, DiGennaro C, Ghaffarzagdegan N, Amini H, et al. Weather, air pollution, and SARS-CoV-2 transmission: A global analysis. *Lancet Planet Health.* 2021;5(10):e671-80.
 18. Ma Y, Pei S, Shaman J, Dubrow R, Chen K. Role of meteorological factors in the transmission of SARS-CoV-2 in the United States. *Nat Commun.* 2021;12(1):1-9.

[DOI: 10.61186/iem.10.1.61]

Downloaded from iem.modares.ac.ir at 13:11 IRST on Monday October 14th 2024

Article 02

Navigating the molecular diversity of SARS-CoV-2: early pandemic insights from comparative phylogenetic analysis.

Chahinez Triqui, Ilyes Zatl, Wafaa Lemerini, Nora Benmadani, Mohammed Charaf Eddine Houari, Semir Bechir Suheil Gaouar, Nassima Mokhtari-Soulimane.



ARTICLE | DOI: 10.5584/jiomics.v14i1.228

Navigating the molecular diversity of SARS-CoV-2: early pandemic insights from comparative phylogenetic analysis.

Chahinez Triqui¹, Ilyes Zatta², Wafaa Lemerini³, Nora Benmadani⁴, Mohammed Charaf Eddine Houari⁴, Semir Bechir Suheil Gaouar⁴, Nassima Mokhtari-Soulimane¹

¹Laboratory of Physiology, Physiopathology and Biochemistry of Nutrition, Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe, University of Tlemcen, Algeria. ²Laboratory of Microbiology applied to the Food industry, Biomedical and the Environment, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences. Department of Biology, University of Tlemcen, Algeria. ³Laboratory of Organic Chemistry, Natural Substances, and Analysis, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences. Department of Biology, University of Tlemcen, Algeria. ⁴Laboratory of Applied genetic in agriculture, ecology and public health, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe, University of Tlemcen, Algeria.

Available Online: 15 April 2024

ABSTRACT

The emergence of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in December 2019 precipitated the onset of the COVID-19 pandemic, which swiftly spread across more than 214 countries and territories, posing a significant global health crisis. In response, laboratories worldwide have embarked on extensive efforts to characterize the genomic landscape of the virus, employing a myriad of sophisticated genomic analysis techniques. This study endeavors to undertake a comprehensive exploration into the genetic diversity, geographical distribution, and virulence determinants of SARS-CoV-2 clades across 11 diverse countries, employing advanced computational biology methodologies. Leveraging molecular data sourced from prominent international databases, the analysis aims to unravel the intricate phylogenetic relationships and mutational dynamics exhibited by various viral strains circulating worldwide. The findings of this investigation promise to yield invaluable insights into the evolutionary trajectory of SARS-CoV-2, shedding light on potential therapeutic targets and informing strategies for mitigating the impact of the ongoing pandemic on global public health. Results highlight significant genetic diversity among SARS-CoV-2 strains across different countries, with phylogenetic analysis revealing distinct subclass groupings within each country. A manual comparison of sequences identified numerous mutations, with certain mutations associated with increased virulence. Comparison of clade G and clade O sequences revealed differences in mutation profiles, suggesting potential links to virulence and transmissibility. These findings underscore the dynamic nature of SARS-CoV-2 evolution and the importance of monitoring genetic changes for public health interventions.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Mutation, Variant, Phylogeny.

Introduction

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), a novel member of the Coronaviridae family, emerged as a global health threat in December 2019, originating from the bustling city of Wuhan, China. Its rapid transmission and virulence swiftly propelled the onset of the COVID-19 pandemic, spreading relentlessly across continents and precipitating unprecedented challenges to public health systems worldwide [1-4]. Notably, SARS-CoV-2 shares genetic similarities with other members of the coronavirus family, including Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) and Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) [5-8]. Despite this genetic kinship,

SARS-CoV-2 exhibits a distinctive clinical profile, encompassing a broad spectrum of manifestations ranging from mild respiratory symptoms to severe pneumonia and acute respiratory distress syndrome (ARDS). The multifaceted clinical presentation of COVID-19 underscores the imperative for a nuanced understanding of the genetic determinants underlying its pathogenesis and transmission dynamics [9-12].

Central to unraveling the complexities of SARS-CoV-2 infection is an elucidation of its genetic diversity and geographical distribution. The genetic variability exhibited by different SARS-CoV-2 strains holds pivotal implications for tracking transmission patterns, elucidating disease dynamics, and identifying potential therapeutic

*Corresponding author: Ilyes Zatta, ilyes.zatta@univ-tlemcen.dz, Tel: +213-5403-15422

targets [13]. Against this backdrop, this study endeavors to undertake a comprehensive analysis of the genomic sequences of SARS-CoV-2 strains sourced from diverse geographical locations. By harnessing advanced computational biology methodologies, the investigation seeks to delineate the evolutionary dynamics and virulence determinants inherent to distinct viral lineages.

Specifically, our research provides valuable insights into the genetic diversity and mutational dynamics of SARS-CoV-2 strains, which are critical factors influencing the virus's antigenic properties and its ability to evade host immune responses. By characterizing the genomic evolution of the virus and identifying potential virulence determinants, our study contributes to the broader understanding of how SARS-CoV-2 interacts with the immune system and how these interactions may impact disease severity, transmission dynamics, and vaccine efficacy. Moreover, the identification of distinct viral clades and mutation profiles across different geographic regions underscores the importance of ongoing surveillance and molecular epidemiology efforts, which are essential for guiding immunization strategies and vaccine design initiatives. By elucidating the evolutionary trajectory of SARS-CoV-2, our research provides valuable insights that are pertinent to the field of immunology and have implications for public health interventions aimed at controlling the COVID-19 pandemic.

Materials and methods

Genome sequences of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) originating from 11 countries (Algeria, Germany, Australia, England, Spain, France, Italy, Saudi Arabia, Kuwait, Switzerland, USA) were retrieved from the Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) database. A comprehensive dataset comprising a total of 298 SARS-CoV-2 sequences was assembled for subsequent analysis.

Sequence Analysis: Bioinformatics tools were employed for comprehensive sequence analysis, encompassing sequence alignment, phylogenetic tree construction, and mutation analysis. From those softwares we managed to work with MEGA 7, a desktop application for molecular evolutionary genetics analysis, facilitates the analysis of homologous gene sequences from multigene families or different species, focusing on inferring evolutionary relationships and DNA/protein evolution models [14]. Gblocks, a computer program, selectively removes poorly aligned positions and divergent regions from DNA or protein sequence alignments, enhancing the alignment quality for subsequent phylogenetic analysis. It follows reproducible conditions to select blocks based on conservation and gap density criteria, facilitating automation and reproducibility of phylogenetic analyses [15]. Additionally, GENIEGEN software allows for the analysis of DNA, RNA, and protein sequences, aiding in the discovery of genetic information expression, genotype-phenotype relationships, gene polymorphism, multigene families, and predictions in human genetics. It functions as a database of nucleic and peptide sequences, with the capability to incorporate new sequences [16]. Sequences were aligned using state-of-the-art alignment algorithms to ensure accurate alignment across the

dataset. The resulting alignment served as the foundation for subsequent phylogenetic analyses.

Phylogenetic Analysis: Phylogenetic trees were constructed using robust methodologies to elucidate the evolutionary relationships among SARS-CoV-2 strains. Phylogenetic tree construction involved iterative processes, with sequences grouped based on the geographical location and data size of the countries under study to facilitate comparative analysis: Group 1: USA; Group 2: UK (United Kingdom); Group 3: AUKA (Australia, Kuwait, Saudi Arabia, Algeria); Group 4: GISA (Germany, Italy, Switzerland); Group 5: FESP (France, Spain). The construction of phylogenetic trees aimed to delineate the evolutionary dynamics of SARS-CoV-2 strains, providing insights into their geographical distribution and evolutionary origins.

Mutation Analysis: Mutations within SARS-CoV-2 genomes were systematically identified and analyzed to assess their potential impact on viral virulence and transmission dynamics. Comparative analysis of mutations between different clades enabled the identification of key genetic determinants associated with disease severity and transmissibility. Mutational landscape analysis provided critical insights into the evolutionary trajectory of SARS-CoV-2 and its adaptive mechanisms in response to selective pressures.

Statistical Analysis: Statistical methodologies were employed to quantify the significance of observed mutations and to assess their potential association with clinical outcomes. Comparative analyses between different clades and geographical regions were conducted to identify statistically significant differences in mutation frequencies and distributions.

Ethical Considerations: This study adhered to ethical guidelines for the use of genomic data, ensuring compliance with data-sharing policies and privacy regulations. All genomic data were anonymized and obtained from publicly available databases, with no identifiable information included in the analysis.

Results and Discussion

In our study, we focused on the phylogenetic analysis and comparison of COVID-19, which has garnered significant media coverage since its emergence in December 2019. Numerous laboratories have dedicated considerable time and effort to characterizing the virus using multiple genome-based techniques, aiming for a comprehensive understanding of the SARS-CoV-2 genome [17-20]. Nearly 300 sequences from various countries across different continents, obtained from the public GISAID database [21], were analyzed to achieve a clear resolution of the virus's diversity, evolution, mutations, and their positions within its genome.

Phylogenetic Analysis

Phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 genomes unveiled a landscape rich in genetic diversity, reflecting the complex evolutionary dynamics of the virus. Within each country, distinct subclass groupings were discerned, underscoring the diverse evolutionary trajectories of SARS-CoV-2 strains across different

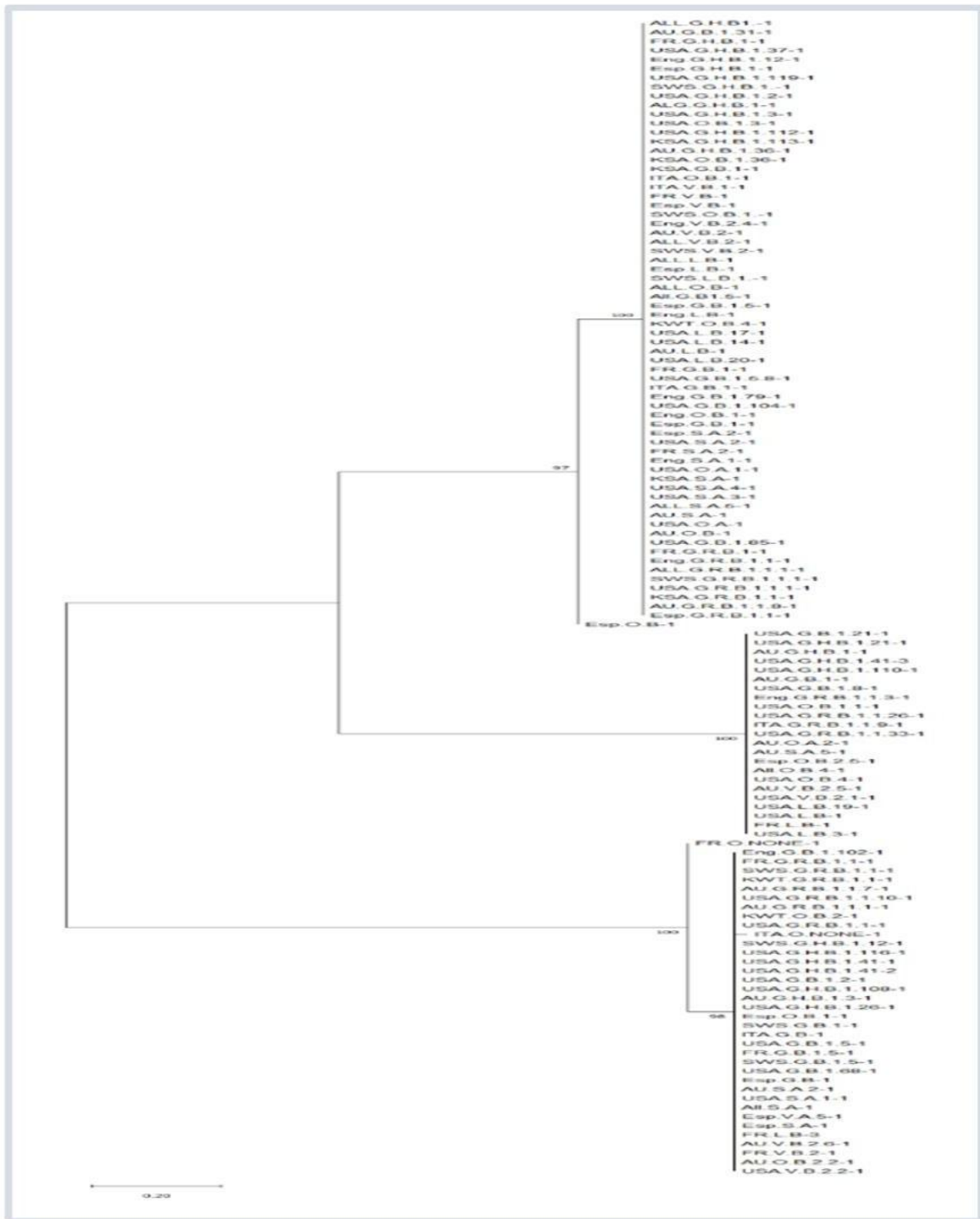


Figure 1: The phylogenetic tree grouping all countries of this study.

geographical regions. This intricate phylogenetic architecture highlights the dynamic nature of viral evolution and the potential for localized viral adaptation in response to environmental and host factors. Delving deeper into the phylogenetic trees, distinct patterns emerge within each country or region studied. For instance, in the USA (Group 1), a diverse array of viral lineages, encompassing clades G, GH, GR, S, L, V, and O, was observed, reflecting the complex epidemiological landscape of the pandemic. Similarly, phylogenetic analyses for other groups (ANG, AU, FE, ALL) unveiled a mosaic of viral lineages, underscoring the genetic heterogeneity inherent to SARS-CoV-2. The final phylogenetic tree (Figure 1) encompasses the results of previous steps and all the countries studied. It is divided into two classes, each further divided into subclasses grouping the different lineage sequences from the countries. We observed in the phylogenetic trees of this study that at the level of each subclass, there is no clear association with the region, lineage, or clade, reflecting the immense diversity and high mutability of this virus.

Mutation Analysis

A manual comparison of SARS-CoV-2 sequences using GenieGen software revealed a myriad of mutations scattered across the viral genome, indicative of ongoing genetic diversification. Notably, several mutations were identified that exhibited a significant association with increased virulence, implicating them as potential determinants of disease severity. Of particular interest were mutations observed in clade G and clade O sequences, which displayed distinct mutation profiles suggestive of differential virulence and transmissibility. These findings underscore the complex interplay between viral genetic variation and disease pathogenesis, highlighting the need for continued surveillance and monitoring of SARS-CoV-2 mutations for effective public health interventions. Table 1 presents the mutations identified through manual comparison of sequences from clades G and O for Group I countries, where mutations are observed in both clade O and clade G, as well as some mutations common to both clades, affecting various key viral proteins, such as ORF1ab, Spike (S) protein, and nucleocapsid (N) protein, suggests their potential role in shaping viral fitness and host interactions.

Table 2 shows the mutations determined from the manual comparison of sequences from clades G and O for Group II countries, where some mutations are exclusive to clade O, others to clade G, and some common to both. Additionally, there are a few mutations shared between Groups 1 and 2. Among the comparison results, 283 mutation positions are identified in the two preceding tables, along with 926 positions of rare mutations, indicating the high mutation rate this virus can undergo. Based on these findings, we suggest that mutations present in clade O may lead to a decrease in virus virulence. The differences in results between the two groups of countries allow us to conclude the significant diversity of this virus. Furthermore, comparative analyses between clades G and O shed light on specific mutations associated with each clade, hinting at potential differences in virulence and transmissibility. Noteworthy mutations identified in Group I and Group II countries, spanning crucial viral proteins, offer tantalizing insights into the evolutionary

forces driving the diversification of SARS-CoV-2.

Implications for Public Health

The dynamic nature of SARS-CoV-2 evolution underscores the importance of vigilant surveillance and monitoring of genetic changes for the development of targeted public health interventions. By elucidating the genetic determinants of viral virulence and transmissibility, we can better inform the design of therapeutic strategies and vaccine development efforts. Moreover, the identification of specific mutations associated with increased mortality rates provides valuable insights into potential targets for therapeutic intervention, paving the way for the development of precision medicine approaches tailored to individual patient needs. Importantly, our findings corroborate previous studies [22, 23] suggesting differential virulence between clades G and O. The identification of specific mutations linked to virulence underscores the urgent need for targeted therapeutic interventions. Molecular docking studies targeting key mutations, particularly those associated with heightened virulence, hold promise as a strategy to mitigate the impact of the COVID-19 pandemic.

The study has several limitations that warrant consideration. Firstly, reliance on genomic data sourced from public databases introduces the potential for sampling bias, as certain geographic regions or demographic groups may be overrepresented or underrepresented. Additionally, variability in the accuracy and completeness of genomic data, along with potential sequencing errors or artifacts, could impact the reliability of mutation calls and phylogenetic reconstructions. While the study provides a snapshot of SARS-CoV-2 evolution at a specific time, ongoing viral evolution may lead to changes in genetic diversity and evolutionary relationships over time. Furthermore, establishing causal relationships between genetic variation and clinical outcomes requires additional experimental validation and clinical correlation studies, highlighting the need for caution in interpreting associations between mutations and virulence. Methodological constraints, such as algorithmic biases or assumptions, may also affect the robustness of the findings, necessitating careful validation and sensitivity analyses. Moreover, the generalizability of the findings may be limited to the specific dataset and analytical methods used, requiring replication in independent datasets and diverse populations for validation. Ethical considerations regarding data privacy, informed consent, and data sharing must also be addressed to safeguard individual rights and privacy. Finally, interpretation of phylogenetic trees and mutation profiles may be subject to bias, highlighting the importance of transparency and rigor in reporting methodologies and results.

Conclusions

In summary, this study offers a comprehensive examination of the genetic landscape, geographical distribution, and virulence characteristics of SARS-CoV-2 strains across a diverse array of countries. The intricate phylogenetic patterns observed underscore the dynamic nature of viral evolution and the capacity for adaptation to various environmental pressures. The results of this study

Table 1: Different mutations to identify from the comparison of the sequences of the countries of the Group 1.

Position	Clade G	Clade O	Mutation type	Repetition number	Region
8788	+	+	Substitution T/C	8 (O) / 2 (G)	ORF1ab
14811	-	+	Substitution T/C	10	ORF1ab
11089	-	+	Substitution T/G	9	ORF1ab
14414	+	+	Substitution C/T	10 (O) / 3 (G)	ORF1ab
20274	+	+	Substitution G/A	3 (O) / 9 (G)	ORF1ab
23394	-	+	Substitution A/G	4	Protein S
23403	+	+	Substitution G/A	15 (O) / 4 (G)	Protein S
23409	+	+	Substitution A/G	11 (O) / 1 (G)	Protein S
24868	+	-	Substitution G/A	4	Protein S
26150	-	+	Substitution T/G	8	ORF3a
25435	+	-	Substitution T/G	4	ORF3a
25569	+	+	Substitution T/G	4 (O) / 3 (G)	ORF3a
26720	-	+	Substitution C/G	2	Protein M
26536	+	-	Substitution C/A	2	Protein M
28083	-	+	Substitution C/G	2	ORF8
28150	-	+	Substitution C/T	6	ORF8
28151	-	+	Substitution C/T	2	ORF8
28317	-	+	Substitution C/T	5	Protein N
28694	-	+	Substitution C/T	3	Protein N
28688	-	+	Substitution C/T	3	Protein N
28881	+	+	Substitution A/G	6 (O) / 2 (G)	Protein N
28882	+	+	Substitution A/G	5 (O) / 2 (G)	Protein N
28883	+	+	Substitution C/G	5 (O) / 2 (G)	Protein N
28887	+	+	Substitution A/G	1 (O) / 3 (G)	Protein N
28888	+	+	Substitution A/G	1 (O) / 3 (G)	Protein N
28889	+	+	Substitution C/G	1 (O) / 3 (G)	Protein N

Table 2: The different mutations to be identified from the comparison of the sequences of the countries of Group 2.

Position	Clade G	Clade O	Mutation type	Repetition number	Region
3028	-	+	Substitution C/T	6	ORF1ab
3031	-	+	Substitution T/C	7	ORF1ab
3037	+	+	Substitution C/T	17 (O) / 4 (G)	ORF1ab
3336	-	+	Substitution C/T	8	ORF1ab
11083	-	+	Substitution T/G	11	ORF1ab
14805	-	+	Substitution T/C	4	ORF1ab
14408	+	+	Substitution C/T	10 (O) / 6 (G)	ORF1ab
23380	-	+	Substitution A/G	4	Protein S
23394	-	+	Substitution A/G	4	Protein S
23403	+	-	Substitution G/A	16 (O) / 4 (G)	Protein S
26720	-	+	Substitution C/G	2	Protein M
28144	-	+	Substitution C/T	3	ORF8
28688	-	+	Substitution C/T	3	Protein N
28881	+	+	Substitution A/G	6 (O) / 2 (G)	Protein N
28882	+	+	Substitution A/G	5 (O) / 2 (G)	Protein N
28883	+	+	Substitution C/G	5 (O) / 2 (G)	Protein N

underscore the dynamic nature of SARS-CoV-2 evolution and its implications for public health. Phylogenetic analysis revealed significant genetic diversity among viral strains, with distinct subclass groupings observed within each country, our analysis led us to conclude that globally, the virus's distribution does not correlate with regions, lineages, or clades at the subclass level, underscoring the virus's immense diversity and mutability. Moreover, the high mutation rate and mutations present in clade O suggest a potential cause for the virus's reduced virulence.

By elucidating the genetic determinants of viral virulence, this study provides crucial insights that can inform the development of targeted therapeutic interventions and vaccine strategies aimed at combating COVID-19. Furthermore, the identification of specific mutations offers promising avenues for further investigation through molecular docking studies, which may unveil potential therapeutic targets for drug development. Moving forward, sustained surveillance efforts are imperative to monitor the ongoing evolution and transmission dynamics of SARS-CoV-2, facilitating timely interventions and control measures to curb the spread of the pandemic and minimize its impact on global health.

References

- [1] Atzrodt CL, Maknojia I, McCarthy RD, Oldfield TM, Po J, Ta KT, et al. A Guide to COVID-19: A global pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2. *FEBS J.* 2020;287(17):3633-50. 10.1111/febs.15375
- [2] Zatla I, Boublenza L, Hassaine H. SARS-CoV-2 morphology, genome, life cycle and our bodies' immune response: a review. *Curr Top Virol.* 2021. 18: 15-24 10.31300/CTVR.18.2021.15-24
- [3] Ali SA, Baloch M, Ahmed N, Ali AA, Iqbal A. The outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19)-An emerging global health threat. *J Infect Public Health.* 2020;13(4):644-6. 10.1016/j.jiph.2020.02.033
- [4] Chatterjee, P., Nagi, N., Agarwal, A., Das, B., Banerjee, S., Sarkar, S., ... & Gangakhedkar, R. R. The 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic: A review of the current evidence. *The Indian journal of medical research.* 2020. 151(2-3), 147.
- [5] Valencia DN. Brief review on COVID-19: The 2020 pandemic caused by SARS-CoV-2. *Cureus.* 2020;12(3):e7386. 10.7759/cureus.7386
- [6] El Zowalaty, M.E. and Järhult, J.D.. From SARS to COVID-19: A previously unknown SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2) of pandemic potential infecting humans—Call for a One Health approach. *One health.* 2020. 9: 100124.
- [7] Zatla I, Boublenza L, Hassaine H. SARS-CoV-2 origin, classification and transmission: a mini-review. *Curr Top Virol.* 2021. 18: 31-38. 10.31300/CTVR.18.2021.31-38
- [8] Alanagreh L.A., Alzoughool F. and Atoum M. The human coronavirus disease COVID-19: its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. *Pathogens.* 2020; 9(5), 331.
- [9] Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plaçais, L., & Richier, Q. COVID-19: Pathophysiology of a Disease with Several Faces. *The Internal Medicine Review.* 2020.
- [10] Saglietto, A., D'Ascenzo, F., Zoccai, G. B., & De Ferrari, G. M. COVID-19 in Europe: the Italian lesson. *Lancet.* 2020; 395 (10230): 1110-1111.
- [11] Zatla I, Boublenza L, Boublenza A. Tracing the Origin and Early Progression of COVID-19 in Europe : An Epidemiological Descriptive Study. *IEM* 2023; 9 (3) :249-256. 10.61186/iem.9.3.249
- [12] Zatla I, Boublenza L. The COVID-19 outbreak inception in Algeria: What Happened?. *Algerian Journal of Health Sciences.* 2023;18-15-24
- [13] Martinez, I. L., Llinás, D. T., Romero, M. B., & Salazar, L. M. High Mutation Rate in SARS-CoV-2: Will It Hit Us the Same Way Forever. *J Infect Dis Epidemiol.* 2020; 6:176.
- [14] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 2016; 33(7):1870-4. 10.1093/molbev/msw054.
- [15] Talavera, G., & Castresana, J. Improvement of Phylogenies after Removing Divergent and Ambiguously Aligned Blocks from Protein Sequence Alignments. *Systematic Biology.* 2007.
- [16] Marzin-Janvier, P. Supporting Experimental Design with Computer Environments: Studies in Genetics. *RDST. Research in Didactics of Sciences and Technologies.* 2015; 12: 87-112.
- [17] Jaimes, J. A., André, N. M., Chappie, J. S., Millet, J. K., & Whittaker, G. R. Phylogenetic analysis and structural modeling of SARS-CoV-2 spike protein reveals an evolutionary distinct and proteolytically-sensitive activation loop. *Journal of molecular biology.* 2020.
- [18] Suzuki, Y. Methods for Making Multiple Alignments of Genomic Sequences for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Meta Gene.* 2020.
- [19] Thieffry, D., & De Jong H. Modeling, Analysis, and Simulation of Genetic Networks - Bioinformatics. *Medicine/ Sciences.* 2002.
- [20] Elayadeth-Meethal, M., Ollakkott S., Girish Varma G. COVID-19 and SARS-CoV-2: Molecular Genetics Perspectives. 2020.
- [21] GISAID. Genomic epidemiology of novel coronavirus. 2020. Available at <https://nextstrain.org/ncov>
- [22] Dao, T. L., Hoang, V. T., Colson, P., Lagier, J. C., Million, M., Raoult, D., Lévassieur, A., & Gautret, P. SARS-CoV-2 Infectivity and Severity of COVID-19 According to SARS-CoV-2 Variants: Current Evidence. *Journal of Clinical Medicine.* 2021 10(12), 2635. 10.3390/jcm10122635
- [23] Hamed, S. M., Elkhatib, W. F., Khairalla, A. S., & Noreddin, A. M. Global dynamics of SARS-CoV-2 clades and their relation to COVID-19 epidemiology. *Scientific Reports.* 2021;11(1), 1-8. 10.1038/s41598-021-87713-x

Discussion Générale

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse visent à caractériser la dynamique de propagation du SARS-CoV-2 durant les phases initiales de la pandémie de COVID-19. La méthodologie adoptée repose sur deux études complémentaires : la première consiste en une analyse transversale descriptive des facteurs influençant sa dynamique de transmission, tandis que la seconde porte sur une analyse phylogénétique comparative des séquences génomiques virales.

La première étude a consisté en une analyse de multiples facteurs influençant la dynamique de propagation virale, particulièrement les conditions météorologiques et l'indice UV. Cette analyse s'est appuyée sur la classification des souches du SARS-CoV-2 selon les clades référencés dans GISAID et leur impact sur trois paramètres épidémiologiques : la mortalité, l'incidence bimensuelle des cas et la fréquence de propagation. L'étude s'est fondée sur des données internationales collectées entre décembre 2019 et mars 2020.

L'analyse a révélé des associations entre les intervalles d'indice UV, les clades et divers paramètres épidémiologiques tels que le taux de mortalité et la fréquence des cas, suggérant la pertinence des facteurs environnementaux et des variations génétiques virales avec la propagation et l'impact du COVID-19. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Sajadi et al. (2020), qui ont identifié des corrélations significatives entre les conditions climatiques et la propagation du SARS-CoV-2 (Sajadi et al., 2020). En outre, les modèles de corrélation ont démontré de fortes relations entre la mortalité, le nombre moyen de cas et la fréquence de propagation, fournissant des indications sur la nature interconnectée de ces variables et leurs implications pour les stratégies de santé publique.

D'un autre côté, nos résultats ne montrent aucune relation notable entre la densité urbaine et les trois variables étudiées. Cette constatation s'aligne sur les résultats d'une étude menée aux États-Unis par Hamidi et al. (2020), où une forte densité de population n'était pas corrélée avec le nombre de cas confirmés, expliquant que bien qu'il semble logique que les endroits avec plus d'individus aient un plus grand nombre de cas, cela pourrait ne pas être un facteur significatif dans une épidémie (Hamidi et al., 2020). Ces résultats suggèrent que la dissémination virale est principalement conditionnée par les interactions interpersonnelles et la densité des espaces de vie, plutôt que par la densité urbaine. Bien que certaines études,

comme celle de Rocklöv et Sjödin (2020), aient montré une association modérée entre la propagation du COVID-19 et la densité de population, la densité est considérée comme un facteur contributif plutôt que déterminant (Rocklöv et Sjödin, 2020). Ce phénomène pourrait également s'expliquer par le degré d'adhésion des populations aux mesures de confinement préconisées.

Les résultats obtenus ont également montré une association significative entre l'indice UV et la fréquence de propagation, où des intervalles d'UV index élevées ont entraîné une fréquence de propagation plus élevée ainsi que des taux de mortalité plus élevés. À l'inverse, une étude menée par Wang et al. (2020) a trouvé une association entre des températures plus élevées et des taux de transmission réduits, et une autre étude de Qi et al. (2020) a indiqué qu'un temps froid et sec et de faibles niveaux d'UV index étaient modérément associés à une transmissibilité accrue du SARS-CoV-2 (Wang et al., 2020 ; Qi et al., 2020). Ces divergences soulignent la complexité des interactions entre les facteurs environnementaux et la propagation virale, nécessitant des recherches supplémentaires pour clarifier ces relations.

Ce qui ressort de cette étude est l'influence significative des indices UV et des types de clades sur les trois paramètres variables. Notre analyse révèle que les caractéristiques génétiques du SARS-CoV-2 et ses clades pourraient expliquer la gravité des symptômes et fournir des indications sur la fréquence de propagation du virus. Le clade G s'est avéré prédominant dans la majorité des pays étudiés et associé à des taux de mortalité élevés, en particulier dans l'intervalle d'indice UV 3-4. Cette observation est corroborée par l'étude de Korber et al. (2020), qui a identifié le clade G (contenant la mutation D614G) comme étant plus transmissible que les autres variants.

Toutefois, la présence combinée des clades S, O et V montrait un effet protecteur, associé à une réduction significative de la mortalité. Les données démontrent une virulence atténuée de ces variants comparativement au clade G, avec une létalité particulièrement faible pour le clade O. Cette observation est similaire aux résultats rapportés par Yassine et al. (2020) lors de la phase initiale de la pandémie au Qatar. Par ailleurs, les recherches de Young et al. (2021) indiquent que le clade O est associé à une probabilité plus faible de développer des symptômes graves, tels que l'hypoxie, par rapport aux autres clades, qui sont liés à une inflammation systémique et à une mortalité plus élevée (Young et al., 2021).

Les données observées dans notre étude, suggèrent que la circulation du clade O dans une population est corrélée à l'induction d'une immunisation naturelle, conférant une protection contre les infections ultérieures par des variants hétérologues du SARS-CoV-2, phénomène attribué au développement d'une immunité croisée. Les études expérimentales menées sur des modèles hamsters ont démontré que l'établissement de cette immunité croisée entraîne une diminution significative de la charge virale dans les tissus respiratoires, ainsi qu'une réduction de l'immunopathologie et des infiltrats inflammatoires (Beitari et al., 2023).

Cette réponse immunitaire se caractérise notamment par un recrutement massif et protecteur des lymphocytes T CD3+ au niveau du site d'infection (Beitari et al., 2023). Ces résultats fournissent des perspectives essentielles pour le développement vaccinal, notamment en suggérant l'utilisation potentielle du clade O comme souche de référence dans la conception de vaccins visant une meilleure atténuation de la pathogénicité virale. Cette approche est en accord avec les travaux de Graham et al. (2020), qui ont étudié le développement de vaccins ciblant spécifiquement les différents clades du SARS-CoV-2.

L'analyse des fréquences de propagation virale a révélé une corrélation significative entre l'indice UV et la distribution des clades du SARS-CoV-2. Les données indiquent qu'un intervalle d'indice UV compris entre 2 et 5 constitue une fenêtre optimale pour la dissémination virale. L'analyse stratifiée par génotype démontre que le clade G présente une fréquence de propagation maximale pour des indices UV de 2-3, tandis que les indices UV de 3-5 sont associés à une propagation modérée, favorable aux autres clades viraux. Ces observations corroborent les résultats de Merow et Urban (2020), qui ont établi des corrélations entre les paramètres climatiques et la dynamique de transmission du SARS-CoV-

2. De manière notable, une fréquence de propagation significative a été observée pour la combinaison des clades G&V&O&S dans l'intervalle d'indice UV 5-6. Cette particularité pourrait être attribuée à des facteurs démographiques spécifiques, notamment la faible densité urbaine caractéristique de l'Australie, comme l'ont suggéré Sahin et al. (2020) dans leur analyse des déterminants géographiques et démographiques de la transmission du COVID-19.

Pour compléter notre approche initiale, une analyse phylogénétique comparative a été réalisée sur un ensemble de 300 séquences génomiques virales issues de la base de données GISAID (Shu et McCauley, 2017). Cette caractérisation moléculaire approfondie a permis

d'établir une cartographie détaillée de la diversité génétique du SARS-CoV-2 et de sa trajectoire évolutive au cours des phases initiales de la pandémie.

L'analyse comparative des séquences génomiques des lignages viraux échantillonnés dans onze pays (États-Unis, Angleterre, Australie, Koweït, Arabie Saoudite, Algérie, Allemagne, Italie, Suisse, France et Espagne) met en évidence une diversité génétique significative corrélée à la distribution géographique. L'investigation phylogénétique révèle l'existence de sous-clades spécifiques à chaque région, témoignant de la divergence évolutive des souches de SARS-CoV-2 selon leur localisation. Cette différenciation géographique pourrait être attribuée à divers facteurs épidémiologiques, notamment les politiques de santé publique et les schémas de mobilité des populations.

La caractérisation moléculaire des variants révèle des signatures mutationnelles distinctes, reflétant potentiellement des adaptations aux pressions sélectives locales. Ces modifications génétiques exercent une influence substantielle sur les paramètres épidémiologiques, incluant la dynamique de transmission virale et la réponse thérapeutique. La distribution géographique hétérogène des mutations observées dans notre étude corrobore les observations de Salpini et al. (2021), qui ont démontré l'existence de profils mutationnels spécifiques à certaines régions continentales, suggérant des processus d'adaptation locale. Ces phénomènes évolutifs, comme l'ont souligné Negi et al. (2022), peuvent conduire à l'émergence de variants préoccupants (VOC) présentant des caractéristiques de transmissibilité accrues.

L'ensemble de ces données souligne la nécessité impérieuse d'une surveillance génomique systématique et d'une caractérisation approfondie des mutations du SARS-CoV-2, éléments cruciaux pour l'optimisation des stratégies de santé publique et le développement de vaccins adaptés.

La caractérisation approfondie des profils mutationnels constitue un prérequis fondamental pour le développement d'interventions thérapeutiques et préventives efficaces. Dans le cadre de notre investigation, une analyse comparative des signatures mutationnelles entre les clades G et O a été effectuée en complément de nos analyses statistiques antérieures. L'étude des séquences génomiques a permis d'identifier un répertoire de mutations, comprenant à la fois des mutations génétiques partagées et d'autres spécifiques à chaque

clade, une observation qui concorde avec les conclusions rapportées par Person et al. (2021). Cette analyse différentielle a mis en évidence une concentration significative de la variabilité génétique au niveau des régions codant pour la glycoprotéine Spike et la protéine non structurale nsp3. Ces variations génomiques exercent une influence notable sur les paramètres de transmission virale et l'immunogénicité du SARS CoV -2. La caractérisation de ces déterminants moléculaires fournit des éléments essentiels pour la compréhension des mécanismes évolutifs du virus, constituant ainsi une base fondamentale pour l'optimisation des stratégies vaccinales.

Les limites de l'étude :

L'étude présente des limites qui méritent d'être prises en compte. Premièrement, l'utilisation de données génomiques provenant de bases de données publiques introduit un risque de biais d'échantillonnage, certaines régions géographiques ou groupes démographiques pouvant être surreprésentés ou sous-représentés.

En outre, la variabilité de la précision et de l'intégralité des données génomiques, ainsi que les erreurs ou artefacts de séquençage potentiels, pourraient avoir un impact sur la fiabilité de l'identification des mutations et des reconstructions phylogénétiques. L'établissement de relations de cause à effet entre la variation génétique et les résultats cliniques nécessite une validation expérimentale supplémentaire et des études de corrélation clinique, invitant à interpréter avec prudence les associations entre les mutations et la virulence.

Les contraintes méthodologiques sont multiples. D'une part, les biais dans la collecte des données démographiques affectent l'estimation du nombre de cas et de la mortalité, notamment en raison des patients asymptomatiques non recensés. D'autre part, l'analyse basée uniquement sur l'indice ultraviolet (UVI) s'avère insuffisante, car la compréhension de la dynamique du SARS-CoV-2 nécessite la prise en compte d'un ensemble plus large de facteurs environnementaux. De plus, l'étude de la variabilité génétique du virus ne peut être dissociée de la susceptibilité génétique de l'hôte, ces deux facteurs interagissant de manière complexe dans la détermination de la gravité de l'infection.

Conclusion et perspectives

Il ressort de nos recherches que l'indice UV et les clades de SARS-CoV-2 sont des facteurs cruciaux qui peuvent influencer la propagation et la gravité du COVID-19, tandis que la densité de la population semble avoir un impact réduit. Nos premiers résultats démontrent une association notable entre les intervalles d'indice UV (indices UV 2-3) et les taux de mortalité ainsi que la fréquence de propagation du SARS-CoV-2, principalement avec le clade G. Cependant, la présence d'autres clades (S, O, V) a montré un effet atténuant sur le risque de mortalité élevée, suggérant une virulence potentiellement plus faible de ces clades, particulièrement avec le clade O. Ces observations ont des implications significatives pour la compréhension de l'immunité populationnelle et le développement de vaccins en élucidant les mutations d'intérêt.

Contrairement aux attentes, aucune corrélation significative n'a été observée entre la densité de population et les variables épidémiologiques étudiées. D'un point de vue génétique, l'analyse phylogénétique de près de 300 séquences de SARS-CoV-2 provenant de 11 pays a révélé une diversité génétique notable, avec des sous-groupes distincts observés au sein de chaque pays. Ceci démontre la nature complexe de la dynamique évolutive du SARS-CoV-2, qui se caractérise par une adaptation localisée. L'analyse comparative des clades a révélé 283 positions de mutations significatives et 926 positions de mutations rares, témoignant du taux élevé de mutation du virus. Les clades G et O présentaient des profils mutationnels distincts, suggérant des différences potentielles en termes de virulence et de transmissibilité.

Les résultats de notre étude soulignent l'importance cruciale d'une approche multidimensionnelle dans l'analyse de la propagation de la COVID-19. Cette approche, intégrant des facteurs environnementaux, démographiques et génétiques, permet d'explorer les interactions complexes entre ces éléments et leur influence collective sur la dynamique de transmission du virus. Nos observations révèlent que le SARS-CoV-2 démontre une remarquable capacité d'adaptation aux pressions sélectives spécifiques à chaque région géographique.

Ces conclusions ont des implications significatives pour la santé publique, notamment en ce qui concerne l'élaboration de stratégies de prévention et de contrôle. Elles soulignent la

nécessité d'adopter des approches flexibles et localement adaptées, prenant en compte la variabilité des conditions environnementales et des caractéristiques de la population dans chaque zone géographique.

Les perspectives futures concernant le SARS-CoV-2 et d'autres virus potentiels s'articulent autour d'une approche intégrative et adaptative. Pour le SARS-CoV-2, l'accent sera mis sur une surveillance génomique intensive, visant à détecter rapidement l'émergence de nouvelles variantes. Le développement de modèles prédictifs intégrant les facteurs environnementaux et les données sur les interactions virus-hôte s'avérerait d'une grande utilité pour anticiper et comprendre la dynamique épidémiologique. Ces connaissances orienteront la conception de vaccins de nouvelle génération et de thérapies antivirales ciblées. Cette approche génétique intégrative ne se limitera pas au SARS-CoV-2, mais constituera un paradigme pour anticiper et contrer l'émergence d'autres virus zoonotiques potentiels, en permettant l'identification précoce des signatures génétiques associées à un risque pandémique élevé.

Annexe A – Les Données de l'étude descriptive

1. La collecte des données

L'étude a débuté en mai 2020. Les données ont été collectées à partir de différentes bases de données, comme indiqué dans l'Article 1, pour la période allant de janvier 2020 à mars 2020.

L'ensemble des paramètres étudiés sont rassemblés dans le Tableau 3 qui contient les données démographiques et climatiques. Le Tableau 4 présente quant à lui les données sur les clades par pays. Au total, 9928 séquences ont été collectées pour cette étude.

1.1. L'UV index

Pour notre étude, nous avons sélectionné 15 villes dans chaque pays, choisies pour leur forte densité de population et leur taux de mortalité élevé. Ces villes ont été utilisées pour collecter les données sur l'indice UV pendant la période d'étude.

Dans certains cas, les résultats sont présentés sous forme d'intervalles en raison des importantes variations observées entre les différentes villes d'un même pays (Tableau 3). Toutes les données ont été enregistrées le 13 mai 2020.

1.2. La densité de population

La densité de population par kilomètre carré a été enregistrée pour chaque pays de notre étude. Ces données proviennent des dernières estimations de la Division de la population des Nations Unies, publiées sur le site Web Worldometers le 19 mai 2020 à 13h00 (Tableau 3).

1.3. Les données démographiques (Mortalité, nombre de cas, et la fréquence de propagation)

Pour la période du 1er janvier 2020 au 31 mars 2020, nous avons recueilli auprès du Centre Européen de Prévention et de Contrôle des maladies (ECDC) les données relatives au nombre quotidien de nouveaux cas de SARS-CoV-2 ainsi qu'au nombre de décès attribués à la COVID-19 dans chaque pays étudié. La fréquence de propagation a été calculée dans chaque pays en utilisant la formule suivante :

$$\text{Fréquence de propagation} = (\text{moyenne des Nouveaux cas} / \text{Population totale}) \times 100\,000.$$

Cela nous a permis d'avoir une mesure normalisée de la propagation du virus indépendamment de la taille de la population de chaque pays.

1.4. Les clades

À partir de la base de données GISAID EpiCoV™, nous avons extrait les séquences virales partagées entre janvier et mars 2020 pour l'ensemble des pays étudiés. La sélection des séquences a été effectuée selon leur date de prélèvement, en excluant les génomes incomplets (< 29 000 nucléotides) (tableau 4). Les données ont été recueillies sur une période d'un mois, du 30 avril 2020 au 30 mai 2020.

2. Approche Statistique et Protocoles

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS version 9 pour Windows, avec un seuil de signification établi à 95% ($\alpha = 0,05$). Notre approche analytique s'est structurée autour de plusieurs procédures statistiques complémentaires.

Dans un premier temps, nous avons appliqué la procédure MEANS pour effectuer une analyse comparative des moyennes entre les deux périodes quinzaines consécutives. Cette comparaison a porté sur trois variables dépendantes : le nombre des cas, la mortalité et la fréquence de propagation.

Pour approfondir notre analyse, un Modèle Linéaire Généralisé (GLM) a été appliqué afin d'évaluer l'impact de différents facteurs fixes sur nos variables dépendantes. Les facteurs fixes considérés dans notre étude comprennent : l'indice UV, la localisation géographique (pays), la temporalité (mois), la densité démographique par km² et la diversité des clades génétiques.

La classification des facteurs fixes en groupes homogènes a été réalisée via le test de Waller-Duncan. Les relations entre les variables dépendantes ont été explorées grâce à la procédure CORR de SAS 9, offrant une matrice complète des corrélations.

En complément, nous avons utilisé la procédure FREQ pour analyser les interactions complexes entre les facteurs fixes et leur influence sur les variables dépendantes, permettant ainsi une compréhension approfondie des relations multifactorielles.

Tableau 3. Évolution des données démographiques par pays - Janvier à Mars 2020

Pays	Population (2020)	Densité /km ²	Janvier					Février					Mars				
			UVI	\bar{x} cas	Fregprop.	\bar{x} décès	Clade	UVI	\bar{x} cas	Fregpr op.	\bar{x} décès	Clade	UVI	\bar{x} cas	Fregpr op.	\bar{x} décès	Clade
Allemagne	83 783 942	240	0-1	0,161	0	0	G	1-2	1,793	0,007	0	O/G	2-3	1 995,35	8,32	18.81	G/O/V/S
Royaume-Uni	67 851 047	281	0-1	0,065	0	0	S	1	0,557	0,002	0	G/V/O	2-3	713,65	2,54	65.90	G/V/O/S
France	65 259 581	119	1	0,194	0	0	V/O	2	1,759	0,015	0.07	O/S/G	3-4	1 435,26	12,06	97.49	G/V
Italie	60 470 230	206	1-2	0,097	0	0	V/O	2-3	30,517	0,148	0.72	G/V	3-4	3 253,26	15,79	373.23	G
Espagne	46 753 049	94	2	0	0	0	-	3	1,862	0,020	0	S/G/V	4-5	3 361,71	35,76	236.77	S/O/G
Australie	25 499 884	3	11-12	0,226	0,075	0	V/O/S	9-12	0,621	0,209	0	O/S/G	6-12	146,19	48,73	0.61	O/S/V/G
Koweït	4 264 055	240	5	0	0	0	-	5-6	1,551	0,006	0	-	6	7,13	0,03	0	O/G
Qatar	2 875 978	248	5	0	0	0	-	5-6	0	0	0	-	6	22,35	0,09	0	O
Arabie Saoudite	34 757 706	16	4-6	0	0	0	-	5-7	0	0	0	-	6-7	46,87	2,93	0.31	G/S
E.A.U.	9 878 250	118	5	0,129	0	0	S	6	0,517	0,004	0	S/O	6-7	19,10	0,16	0.2	G/O

Notes : (-) : aucune donnée disponible ; Fregprop. = Fréquence de propagation ; UVI : Ultra-Violet Index ; "E.A.U : Emirat Arabie Unis. Cas = nombre moyen de cas par 100,000 habitants ; les valeurs à 0 indiquent l'absence de données ; \bar{x} : symbole de la moyenne.

Tableau 4. Distribution mensuelle des clades virales SARS-CoV-2 par pays (Janvier-Mars 2020)

Pays	Total des seq	Janvier				Février				Mars			
		<u>G</u>	<u>S</u>	<u>V</u>	<u>O</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>V</u>	<u>O</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>V</u>	<u>O</u>
Allemagne	151	5	0	0	0	4	0	0	6	108	2	6	20
Royaume-Uni	7270	0	2	0	0	16	0	12	9	4362	118	1529	1222
France	160	0	0	5	3	11	2	0	1	156	0	3	1
Italie	101	0	0	3	1	7	0	4	0	86	0	0	0
Espagne	904	0	0	0	0	4	12	1	0	455	388	27	17
Australie	1258	0	5	4	2	1	4	0	16	692	234	132	168
Koweït	8	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	6
Qatar	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16
Arabie Saoudite	34	0	0	0	0	0	0	0	0	24	9	0	1
Emirat Arabie Unis	26	0	1	0	0	0	0	0	7	13	1	0	4

Notes : les valeurs à 0 indiquent l'absence de données ; Total des seq : total des séquences téléchargées de GISAID.

3. Les résultats bruts.

3.1. L'analyse comparative des paramètres épidémiologiques par quinzaine.

3.1.1. Comparaison des moyennes de nombre de cas par 15 jour.

L'analyse comparative de l'incidence des cas entre la première et la seconde quinzaine de chaque mois a été réalisée à l'aide du test non paramétrique de Wilcoxon. Les résultats révèlent une différence statistiquement très significative ($W = 172513,50$; $p < 0,0001$) entre les deux périodes, avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$.

3.1.2. Comparaison des moyennes de nombre de mortalité par 15 jour.

L'évaluation de la mortalité selon les mêmes périodes, effectuée par le test de Wilcoxon, met en évidence une différence statistiquement très significative ($W = 173522,50$; $p < 0,0001$). Cette différence est significative tant pour l'approximation normale que pour l'approximation t de Student ($p < 0,0001$; $\alpha = 0,05$).

3.1.3. Comparaison des moyennes de la fréquence de propagation par 15 jour.

La comparaison des fréquences de propagation entre les deux quinzaines de chaque mois démontre également une différence statistiquement très significative ($W = 162917$; $p < 0,0001$), confirmée par les approximations normale et t de Student ($p < 0,0001$; $\alpha = 0,05$).

3.2. Analyse Statistique Multidimensionnelle

3.2.1. Modèle Linéaire Généralisé.

La procédure GLM (Generalized Linear Model) de SAS a été mise en œuvre pour analyser la variance et identifier les facteurs influençant significativement les variables dépendantes.

3.2.2. Le nombre moyen de cas par période de 15 jours .

L'analyse du nombre moyen de cas, avec un coefficient de détermination R^2 de 61,51 %, a mis en lumière des différences statistiquement significatives. Les indices UV ont présenté une différence très hautement significative ($ddl=12$; Valeur $F=43,82$; $P<0,0001$), suggérant une corrélation étroite entre l'exposition aux rayonnements ultraviolets et l'incidence des cas.

Les clades génétiques ont également montré une différence très hautement significative

(ddl=14 ; Valeur $F=25,73$; $P<0,0001$), attestant de la diversité génétique dans la propagation de l'agent pathogène. Une différence très hautement significative a été observée entre les différents mois (ddl=2 ; Valeur $F=22,28$; $P<0,0001$), confirmant une variabilité temporelle marquée.

De plus, une différence significative a été identifiée entre les pays (ddl=9 ; Valeur $F=3,78$; $P=0,0022$), suggérant des disparités géographiques dans la dynamique de transmission. Toutefois, aucune différence significative n'a été détectée concernant les densités de population par kilomètre carré.

3.2.3. La mortalité par période de 15 jours.

L'analyse statistique de la mortalité, caractérisée par un coefficient de détermination R^2 de 47,48 %, a révélé des résultats statistiquement significatifs. Une différence très hautement significative a été observée entre les différents indices UV (ddl=12 ; Valeur $F=23,86$; $P<0,0001$), indiquant un impact substantiel de l'intensité du rayonnement ultraviolet sur le taux de mortalité.

De manière similaire, une différence très hautement significative a été mise en évidence entre les différents clades génétiques (ddl=14 ; Valeur $F=17,43$; $P<0,0001$), suggérant une variabilité génétique importante influençant la létalité. Une différence significative a également été constatée entre les différents mois (ddl=2 ; Valeur $F=3,07$; $P=0,047$), révélant une possible composante saisonnière dans la mortalité.

En revanche, aucune différence significative n'a été détectée ni entre les pays ni entre les différentes densités par kilomètre carré, indiquant que ces facteurs géographiques n'exercent pas d'influence statistiquement notable sur la mortalité.

3.2.4. La fréquence de propagation par période de 15 jours.

L'analyse de la fréquence de propagation, caractérisée par un coefficient de détermination R^2 de 58,70 %, a révélé des résultats statistiquement probants. Les indices UV ont présenté une différence très hautement significative (ddl=12 ; Valeur $F=35,35$; $P<0,0001$), indiquant une influence majeure des conditions de rayonnement sur la dynamique de propagation.

Les clades génétiques ont également montré une différence très hautement significative ($ddl=14$; Valeur $F=29,58$; $P<0,0001$), confirmant l'importance de la diversité génétique dans les modalités de transmission. Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre les mois, les pays ou les densités de population par kilomètre carré.

Suite à l'analyse GLM qui a révélé le rôle significatif des indices UV et des clades dans la dynamique épidémiologique étudiée, nous avons réalisé le test Waller-Duncan qui nous a permis d'identifier précisément les groupes qui présentent des différences statistiquement significatives.

3.3. Modélisation et structuration des groupes homogènes par le test Waller-Duncan

3.3.1. Groupement des Clades et UV index homogènes.

a. Le nombre moyen de cas par 15 Jours.

L'analyse comparative par le test de Waller-Duncan a permis d'identifier quatre groupes statistiquement différents (Tableau 5). Le groupe A rassemble les clades G & S. Le groupe B contient uniquement le clade G. Les groupes intermédiaires B, BCD et CD, comprennent respectivement les clades suivants : clades (G&V&O&S), les clades (G&V&S) et les clades : V, G&O&V, G&O, G&V, G&O&S, O&S et O. Concernant le groupe D, il inclut les clades S&V, S, V&O&S et V&O.

D'un autre côté l'analyse pour les UV index elle a révélé deux groupes distinctifs, groupe A et groupe B. Le groupe A regroupe les deux intervalles de UV index 3-5 et 3-4. Le groupe B comprend les UV index suivants : 2, 2-3, 3, 5-6, 6-7, 5, 1-2, 6, 4-5, 6-8 et 7-8 (Tableau 6).

Tableau 5. Groupement des Clades selon le nombre moyen de cas par 15 Jours.

<i>Clades</i>	<i>Nb</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Waller-Duncan Groupes</i>
G&S	11	3087.5	A
G	114	1647.4	B
G&V&O&S	48	1029.7	BC
G&V&S	39	825.0	BCD
V	1	296.1	CD
G&O&V	44	256.1	CD
G&O	37	232.1	CD
G&V	34	138.6	CD
G&O&S	63	131.2	CD
O&S	31	24.1	CD
O	31	22.6	CD
S&V	1	17.1	D
S	64	11.8	D
V&O&S	31	0.2	D
V&O	62	0.1	D

Tableau 6. Groupement des UV Index selon le nombre moyen de cas par 15 Jours.

<i>UV Index</i>	<i>Nb</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Waller-Duncan Groupes</i>
3-5	31	3361.7	A
3-4	60	1681.7	B
2-3	149	701.9	C
2	62	356.9	CD
5-6	60	86.4	D
6-7	5	74.6	D
3	58	19.7	D
6	37	2.9	D
4-5	29	1.9	D
7-8	29	0.6	D
5-0	29	0.5	D
6-8	31	0.2	D
1-2	31	0.2	D

Note : Les moyennes avec la même lettre ne sont pas très différentes.

b. La mortalité par 15 Jours

En utilisant le test de Waller-Duncan, nous avons identifié pour les clades viraux trois groupes distinctifs (A, B et C), ainsi qu'un groupe intermédiaire BC. La distribution des clades au sein de ces groupes s'organise comme suit : le groupe A qui regroupe les clades G&S, le groupe B contient uniquement le clade G, le groupe intermédiaire BC, comprend deux groupes G&V&O&S et G&V&S et le quatrième groupe le groupe C qui rassemble le reste des groupes (Tableau7).

Pour les UV index le test a permis d'identifier deux groupes distinctifs, groupe A et groupe B. Le groupe A rassemble les deux intervalles de UV index 3-5 et 3-4. Le groupe B comprend les UV index suivants : 2, 2-3, 3, 5-6, 6-7, 5, 1-2, 6, 4-5, 6-8 et 7-8 (Tableau 8).

Tableau 7. Groupement des Clades selon la mortalité par 15 Jours.

Clades	Nb	Moyenne	Waller-Duncan Groupes
G&S	11	295.55	A
G	114	138.68	B
G&V&O&S	48	65.44	BC
G&V&S	39	48.26	BC
G&O&V	44	3.82	C
G&O&S	63	3.79	C
G&O	37	1.54	C
G&V	34	1.53	C
O	31	0.03	C
O&S	31	0.03	C
S	64	0.00	C
S&V	1	0.00	C
V	1	0.00	C
V&O	62	0.00	C
V&O&S	31	0.00	C

Tableau 8. Groupement des UV index selon la mortalité par 15 Jours.

UV Index	Nb	Moyenne	Waller-Duncan Groupes
3-5	31	236.77	A
3-4	60	192.87	A
2	62	32.95	B
2-3	149	24.19	B
3	58	0.36	B
5-6	60	0.32	B
6-7	5	0.20	B
5	29	0.00	B
1-2	31	0.00	B
6	37	0.00	B
4-5	29	0.00	B
6-8	31	0.00	B
7-8	29	0.00	B

Note : Les moyennes avec la même lettre ne sont pas très différentes.

c. Fréquence de propagation par 15 Jours

Les résultats du test de Waller-Duncan ont permis d'identifier deux groupes distinctifs, groupe A et groupe B pour les clades viraux. Le groupe A rassemble les clades G&V&O&S et G&S. Le groupe B comprend les clades suivants : G, G&V&S, S&V, G&O&S, V, G&O, G&O&V, G&V, O, O&S, S, V&O&S et V&O (Tableau 9).

En ce qui concerne les UV index on a trouvé quatre groupes distinctifs (Tableau 10), groupe A, groupe B, groupe C et groupe D, ainsi qu'un groupe intermédiaire CD. Le groupe A regroupe l'intervalle de UV index 3-5. Le groupe B contient l'intervalle d'UV index 5-6. Le groupe C comprend l'intervalle d'UV index 3-4. Le groupe intermédiaire CD englobe les deux intervalles

d'UV index 6-7 et 2-3. Le groupe D rassemble le reste des UV index suivants : 2, 7-8, 3, 6-8, 6, 4-5, 5 et 1-2.

Tableau 9. Groupement des clades selon la fréquence de propagation par 15 Jours.

<i>Clades</i>	<i>Nb</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Waller-Duncan Groupes</i>
G&V&O&S	48	35.995	A
G&S	11	33.685	A
G	114	9.426	B
G&V&S	39	8.145	B
S&V	1	5.688	B
G&O&S	63	2.910	B
V	1	2.489	B
G&D	37	1.154	B
G&O&V	44	1.144	B
G&V	34	0.961	B
O	31	0.453	B
O&S	31	0.433	B
S	64	0.124	B
V&O&S	31	0.075	B
V&O	62	0.001	B

Tableau 10. Groupement des UV index selon la fréquence de propagation par 15 Jours.

<i>UV Index</i>	<i>Nb</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Waller-Duncan Groupes</i>
3-5	31	35.763	A
5-6	60	25.128	B
3-4	60	8.167	C
6-7	5	4.664	CD
2-3	149	4.172	CD
2	62	1.270	D
7-8	29	0.207	D
3	58	0.095	D
6-8	31	0.075	D
6	37	0.024	D
4-5	29	0.020	D
5	29	0.004	D
1-2	31	0.001	D

Note : Les moyennes avec la même lettre ne sont pas très différentes.

En résumé

À partir des analyses GLM et du test de Waller-Duncan, nous avons démontré que les Clades et l'indice UV sont les variables déterminantes qui impactent significativement les trois paramètres, la mortalité, le nombre moyen de cas par quinzaine, et la fréquence de propagation par quinzaine. À l'inverse, la densité de population par km² ne montre aucun effet significatif sur ces trois paramètres. Notre étude a permis d'identifier les configurations les plus influentes des clades qui sont : les clades G, G&S et G&V&O&S. Ainsi que les intervalles d'indices UV les plus impactant qui sont : 3-4, 3-5 et 5-6.

3.4. L'analyse de corrélation

Pour explorer les relations entre les variables épidémiologiques, nous avons effectué une analyse de corrélation de Pearson (Tableau 12). Les résultats montrent trois types de relations :

Tableau 11. Distribution des paramètres épidémiologiques et démographiques observés dans les unités géographiques étudiées durant l'épidémie de SARS-CoV-2.

<i>Variabes</i>	<i>Nb</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Écart-type</i>	<i>Somme</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
<i>La mortalité par 15 Jours</i>	882	27,92063	118,37952	24626	0	971,00000
<i>Densité par Km2</i>	882	158,45238	94,45708	139755	3,00000	281,00000
<i>Le nombre de Cas par 15 Jours</i>	882	391,71207	1184	345490	0	6185
<i>La fréquence de propagation par 15 Jours</i>	882	4,47626	15,26580	3948	0	94,64444

Tableau 12. Analyse bivariée des associations entre les indicateurs épidémiologiques et la densité de population.

	<i>La mortalité par 15 Jours</i>	<i>Densité par Km2</i>	<i>Le nombre de Cas par 15 Jours</i>	<i>La fréquence de propagation par 15 Jours</i>
<i>La mortalité par 15 Jours</i>	1,00000	0,02545 0,4503	0,80967 <0,0001	0,43890 <0,0001
<i>Densité par Km2</i>	0,02545 0,4503	1,00000	0,03667 0,2767	-0,22048 <0,0001
<i>Le nombre de Cas par 15 Jours</i>	0,80967 <0,0001	0,03667 0,2767	1,00000	0,56883 <0,0001
<i>La fréquence de propagation par 15 Jours</i>	0,43890 <0,0001	-0,22048 <0,0001	0,56883 <0,0001	1,00000

a) Corrélations fortes et significatives :

- Une forte association positive entre la mortalité et le nombre moyen de cas par quinzaine ($r = 0,81$; $p < 0,001$).

b) Corrélations modérées et significatives :

- Entre la vitesse de propagation et le nombre de cas ($r = 0,57$; $p < 0,001$).
- Entre la mortalité et la vitesse de propagation ($r = 0,44$; $p < 0,001$).

c) Absence de corrélation avec la densité :

- La densité de population ne montre pas de corrélation significative avec la mortalité ($r = 0,03$; $p = 0,459$) ni avec le nombre de cas ($r = 0,04$; $p = 0,277$).
- Seule une faible corrélation négative est observée avec la vitesse de propagation ($r = -0,22$; $p < 0,001$).

3.5. Analyses de fréquences univariées et croisées par PROC FREQ

En complément aux analyses effectuées par le GLM, un ensemble de procédures FREQ (analyses univariées et croisées) a été réalisé.

3.5.1. La fréquence du nombre de cas par 15 jours

a. Distribution par clade (Tableau 13)

Le clade G domine avec 187 805,3 cas, suivi par les combinaisons G&V&O&S (49 425,73 cas), G&S (33 962,58 cas) et G&V&S (32 173,33 cas). Les clades O, O&S, S, S&V, V, V&O et V&O&S présentent les fréquences les plus faibles.

b. Distribution selon l'indice UV (Tableau 14)

L'analyse de la distribution des cas selon l'indice UV révèle une concentration maximale dans trois intervalles : UVI 2-3 (105 781,5 cas), UVI 3-5 (104 213 cas) et UVI 3-4 (100 902 cas). À l'inverse, les indices UV 4-5, 7-8, 6-8 et 1-2 présentent des fréquences minimales, n'excédant pas 54 cas.

c. Distribution par pays (Tableau 15)

L'analyse de la distribution des cas par pays révèle un gradient marqué. Les pays d'Europe occidentale présentent les fréquences les plus importantes, avec des maxima enregistrés en Espagne (104 267 cas) et en Italie (101 979 cas). Suivie par l'Allemagne (61 912,33 cas), la France (43 922,13 cas) et la Grande-Bretagne (22 140,53 cas). En revanche, les pays du Moyen-Orient

se caractérisent par des fréquences significativement plus faibles, notamment l'Arabie Saoudite (1 523,38 cas), les Émirats Arabes Unis (624,4 cas) et le Koweït (272,66 cas).

Tableau 13. Distribution des fréquences de nombre de cas/15 jours par clades.

<i>Clade</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcentage Cumulé</i>
G	187805.3	55.44	187805.3	55.44
G&O	8585.887	2.53	196391.2	57.38
G&O&S	8285.498	2.44	204657.7	60.42
G&O&V	11267.43	3.33	215925.1	63.75
G&S	33962.58	10.03	249887.6	73.77
G&V	4713.038	1.39	254600.7	75.16
G&V&O&S	49425.73	14.59	304026.4	89.75
G&V&S	32173.33	9.50	336199.7	99.25
O	699.0588	0.21	336898.8	99.46
Q&S	746.6083	0.22	337645.4	99.68
S	755.8125	0.22	338401.2	99.90
S&V	17.0625	0.01	338418.3	99.91
V	296.1333	0.09	338714.4	100.00
V&O	9.000	0.00	338723.4	100.00
V&O&S	7.000	0.00	338730.4	100.00

Tableau 14. Distribution des fréquences de nombre de cas/15 jours par UV Index.

<i>UV Index</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcent Cumule</i>
1-2	5.000	0.00	5.000	0.00
2	22125	6.40	22130	6.41
2-3	105781.5	30.62	127911.5	37.02
3	1140.533	0.33	129052	37.35
3-4	100902	29.21	229954	66.56
3-5	104213	30.16	334167	96.72
4-5	55.000	0.02	334222	96.74
5	5780.8	1.67	340002.8	98.41
5-6	54138.267	1.57	341002.9	99.70
6	2938.8	0.85	343941.7	99.55
6-7	1523.375	0.44	345465	99.99
6-8	7.000	0.00	345472	99.99
7-8	18.000	0.01	345490	100.00

Fréquence manquante = 6759.629167

Tableau 15. Distribution des fréquences de nombre de cas/15 jours par pays.

<i>Pays</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcent Cumulé</i>
<i>Qatar</i>	4291.6	1.24	4291.6	1.24
<i>Italie</i>	101979	29.52	106270.6	30.76
<i>France</i>	43922.13	12.71	150192.7	43.47
<i>Espagne</i>	104267	30.18	254459.7	73.65
<i>Royaume-Uni</i>	22140.53	6.41	276600.3	80.06
<i>Allemagne</i>	61912.33	17.92	338512.6	97.98
<i>Émirats Arabes Unis</i>	624.4	0.18	339137	98.16
<i>ArabieSaoudite</i>	1523.375	0.44	340660.4	98.60
<i>Koweït</i>	272.6667	0.08	340933	98.68
<i>Australie</i>	4557	1.32	345490	100.00

d. Distribution par mois

La distribution montre un pic en mars avec 340 450,4 cas. Les mois de janvier et février présentent des fréquences significativement plus faibles, avec un maximum de 2 683 cas (Tableau 16).

Tableau 16. Distribution des fréquences de nombre de cas/15 jours par mois

<i>Mois</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcent Cumulé</i>
1	2356.133	0.68	2356.133	0.68
2	2683.467	0.78	5039.6	1.46
3	340450.4	98.54	345490	100.00

e. L'analyse des fréquences bivariées entre les clades et l'UV Index

L'analyse des données révèle une distribution hétérogène des cas selon les combinaisons des clades et des indices UV (UVI) (Tableau17). Les valeurs les plus élevées ont été observées pour deux combinaisons impliquant le clade G :

- (Clade G ; UVI 3-4) : 100 851 cas
- (Clade G ; UVI 2-3) : 80 510 cas

Un second groupe de combinaisons présente des valeurs intermédiaires :

- (G&S ; UVI 3-5) : 33 785 cas
- (G&V&S ; UVI 3-5) : 28 314 cas
- (G&V&O&S ; UVI 3-5) : 26 885 cas
- (G&V&O&S ; UVI 2) : 18 412 cas

En revanche, les combinaisons impliquant les intervalles d'UVI 1-2, 4-5, 5, 5-6, 6, 6-7, 6-8 et 7-8 présentent des nombres de cas négligeables, voire nuls, et ce, quel que soit le clade considéré.

Tableau 17. Relation clades-UVI pour le nombre de cas par 15 jours.

Index	G	G&O	G&O&S	G&O&V	G&S	G&V	G&V&O&S	G&V&S	O	O&S	S	S&V	V	V&O	V&O&S	Total
1-2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5
	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0	0	0	3624.8	0	85.813	18412	0	0	0	2	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	1.07	0.00	0.03	5.44	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	22125
	0.00	0.00	0.00	16.38	0.00	0.39	83.22	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	6.53
	0.00	0.00	0.00	32.17	0.00	1.82	37.25	0.00	0.00	0.00	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2-3	80510	8555.1	298.81	7610	0	3502.2	0.00	3805	0	0	0	0	296.13	9	0	
	23.77	2.53	0.09	2.25	0.00	1.03	0.00	0.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	104586
	76.98	8.18	0.29	7.28	0.00	3.35	0.00	2.55	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	0.01	0.00	30.88
	42.87	99.64	3.61	67.54	0.00	74.31	0.00	4.93	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	100.00	0.00	0.00
3	0	0	0	0	15.533	0	1125	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1140.5
	0.00	0.00	0.00	0.00	1.36	0.00	98.64	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	23.87	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3-4	100851	0	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	29.77	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100902
	99.95	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	29.79
	53.70	0.00	0.62	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3-5	6185.1	0	81.007	0	359.41	0	26885	28314	0	714.81	714.81	0	0	0	0	
	1.83	0.00	2.11	0.00	9.35	0.00	7.94	8.36	0.00	0.21	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	104213
	5.94	0.00	5.94	0.00	32.42	0.00	25.80	27.17	0.00	0.69	0.69	0.00	0.00	0.00	0.00	30.77
	3.23	0.00	44.13	0.00	37.00	0.00	54.39	88.01	0.00	95.74	94.58	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4-5	0	0	0	0	0	0	0	54	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	54
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	187805	8585.89	8266.44	11267.4	33962.6	4713.04	49425.7	32173.3	699.058	746.608	755.813	17.0625	2.48852	9	7	338730
	55.44	2.53	2.44	3.33	10.03	1.39	14.59	9.50	0.21	0.22	0.22	0.01	0.06	0.00	0.00	100.00

Tableau 17. Relation clades-UVI pour le nombre de cas par 15 jours (la suite)

Index	G	G&O	G&O&S	G&O&V	G&S	G&V	G&V&O&S	G&V&S	O	O&S	S	S&V	V	V&O	V&O&S	Total
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14.733	0	0	0	0	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	14.733
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-6	0	22.729	283.93	17.063	0	0	4128.6	0	699.06	17.063	0	17.063	0	0	0	0
	0.00	0.01	0.08	0.01	0.00	0.00	1.22	0.00	0.21	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	5185.5
	0.00	0.44	5.48	0.33	0.00	0.00	79.62	0.00	13.48	0.33	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	1.53
	0.00	0.26	3.43	0.15	0.00	0.00	8.35	0.00	100.00	2.29	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	59.2	8.0667	0	0	0	0	0	0	0	0	39	0	0	0	0	0
	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	106.27
	55.71	7.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	36.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	0.03	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6-7	195.13	0	0	0	178	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.06	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	273.13
	52.29	0.00	0.00	0.00	47.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11
	0.10	0.00	0.00	0.00	0.52	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	7
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
7-8	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	18
	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	0.00	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	187805	8585.89	8266.44	11267.4	33962.6	4713.04	49425.7	32173.3	699.058	746.608	755.813	17.0625	2.48852	9	7	338730
	55.44	2.53	2.44	3.33	10.03	1.39	14.59	9.50	0.21	0.22	0.22	0.01	0.06	0.00	0.00	100.00

3.5.2. La fréquence de mortalité par 15 jours

a. Distribution par clade (Tableau 18).

La répartition de la mortalité selon les clades viraux met en évidence une prédominance du clade G, responsable de 15 809 décès. Les clades G&S et G&V&O&S occupent respectivement les deuxièmes et troisièmes rangs avec 3 251 et 3 141 décès. Les clades G&O, G&V, O&S et O présentent les fréquences de mortalité les plus faibles, avec respectivement 57, 52, 1 et 1 décès.

b. Distribution selon l'indice UV (Tableau 19).

L'analyse de la distribution de la mortalité en fonction de l'indice UV (UVI) révèle une hétérogénéité marquée. L'intervalle UVI 3-4 présente la fréquence de mortalité la plus élevée avec 11 572 décès, suivi par l'intervalle UVI 3-5 comptabilisant 7 340 décès. À l'inverse, les intervalles UVI 5-6, 3, 6-7 et 6 sont caractérisés par des fréquences de mortalité significativement plus faibles, n'excédant pas 32 décès.

4. Distribution par pays (Tableau 20).

Pour les pays, le taux de mortalité le plus élevé a été noté pour l'Italie (fréquence = 41 591), suivi par l'Espagne avec une valeur de 7 340. Ensuite, la France et la Grande-Bretagne ont enregistré des mortalités de 3 024 et 2 043, respectivement. Les fréquences les plus faibles sont enregistrées pour l'Arabie Saoudite, l'Australie, les Émirats Arabes Unis et le Qatar avec des valeurs de 20, 19, 5 et 1, respectivement.

Tableau 18. Distribution des fréquences de la mortalité /15jours par clades

<i>Clade</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence cumulée</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
G	15809	64.26	15809	64.26
G&O	57	0.23	15866	64.49
G&O&S	233	0.97	16105	65.46
G&O&V	168	0.68	16273	66.14
G&S	3251	13.21	19524	79.35
G&V	52	0.21	19576	79.56
G&V&O&S	3141	12.77	22717	92.33
G&V&S	1882	7.65	24599	99.98
O	1	0.00	24600	99.98
O&S	1	0.00	24601	100.00

Tableau 19. Distribution des fréquences de la mortalité /15jours par UV index

<i>UV index</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence cumulée</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
2	2043	8.30	2043	8.30
2-3	3605	14.64	5648	22.94
3	21	0.09	5669	23.02
3-4	11572	46.99	17241	70.01
3-5	7340	29.81	24581	99.82
5-6	32	0.13	24613	99.95
6	5	0.02	24618	99.97
6-7	8	0.03	24626	100.00

Tableau 20. Distribution de la mortalité /15 jours par pays.

<i>Pays</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence cumulée</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
Qatar	1	0.00	1	0.00
Italie	11581	47.07	11582	47.07
France	3024	12.28	14616	59.35
Espagne	7340	29.81	21956	89.16
Royaume-Uni	2043	8.30	23999	97.45
Allemagne	583	2.37	24582	99.82
Koweït	11	0.04	24593	99.86
Émirats Arabes Unis	5	0.02	24587	99.84
Arabie Saoudite	20	0.08	24607	99.92
Australie	19	0.08	24626	100.00

5. Distribution par mois (Tableau 21).

Les résultats de la distribution par mois pour la mortalité révèlent une augmentation drastique au cours du premier trimestre. Le pic de mortalité est observé en mars avec 24 591 décès, contrastant fortement avec les faibles mortalités enregistrées en janvier (8 décès) et février (27 décès).

Tableau 21. Distribution de la mortalité /15 jours par mois.

<i>Mois</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence cumulée</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
1	8	0.03	8	0.03
2	27	0.11	35	0.14
3	24526	99.86	24561	100.00

5.1. L'analyse des fréquences bivariées entre les clades et l'UV Index

Dans le tableau 22 est représentée l'analyse des combinaisons clade-UVI, nous notons des différences marquées dans les taux de mortalité. La combinaison (clade G ; UVI 3-4) présente la mortalité la plus élevée avec 11 570 décès, suivie par les combinaisons (G ; UVI 2-3) et (G&S ; UVI 3-5) avec respectivement 3 427 et 3 250 morts.

Pour les clades G&S, G&V&S et G&O&S, les mortalités sont négligeables dans la majorité des cas, à l'exception notable de leur combinaison avec l'UVI 3-5, où les fréquences atteignent respectivement 3 250, 1 881 et 236 décès.

Les combinaisons impliquant les indices UV 5-6, 6 et 6-7 présentent des mortalités minimales, voire nulles, et ce pour l'ensemble des clades étudiés.

Tableau 22. Relation clades-UVI la mortalité par 15 jours.

Index	G	G&O	G&O&S	G&O&V	G&S	G&V	G&V&O&S	G&V&S	O	O&S	Total
2	0	0	0	79	0	0	1964	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.32	0.00	0.00	7.98	0.00	0.00	0.00	2043
	0.00	0.00	0.00	3.87	0.00	0.00	96.13	0.00	0.00	0.00	8.30
	0.00	0.00	0.00	47.02	0.00	0.00	62.53	0.00	0.00	0.00	
2-3	3427	57	0	89	0	31	0	1	0	0	
	13.93	0.23	0.00	0.36	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	3605
	95.06	1.58	0.00	2.47	0.00	0.86	0.00	0.03	0.00	0.00	14.65
	21.68	100.00	0.00	52.98	0.00	59.62	0.00	0.05	0.00	0.00	
3	0	0	0	0	0	21	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	21
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	40.38	0.00	0.00	0.00	0.00	
3-4	11570	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
	47.03	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11572
	99.98	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	47.04
	73.19	0.00	0.84	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
3-5	812	0	236	0	3250	0	1161	1881	0	0	
	3.30	0.00	0.96	0.00	13.21	0.00	4.72	7.65	0.00	0.00	7340
	11.06	0.00	3.22	0.00	44.28	0.00	15.82	25.63	0.00	0.00	29.84
	5.14	0.00	98.74	0.00	99.97	0.00	36.96	99.95	0.00	0.00	
5-6	0	0	1	0	0	0	16	0	1	1	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	19
	0.00	0.00	5.26	0.00	0.00	0.00	84.21	0.00	5.26	5.26	0.08
	0.00	0.00	0.42	0.00	0.00	0.00	0.51	0.00	100.00	100.00	
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
6-7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1
	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Total	15809	57	239	168	3251	52	3141	1882	1	1	24601
	64.26	0.23	0.97	0.68	13.21	0.21	12.77	7.65	0.00	0.00	100.00

5.1.1. La fréquence de propagation par 15 jours.

a. Distribution par clade (Tableau 23).

Concernant la distribution par clades, les résultats mettent en évidence une prédominance du clade G&V&O&S avec une fréquence maximale de 1727,74, suivi du clade G qui présente une fréquence de 1074,57. Une fréquence modérée est observée pour les clades G&S (370,54), G&V&S (317,64) et G&O&S (183,33). Les autres clades étudiés manifestent des fréquences de propagation moins significatives.

b. Distribution selon l'indice UV (Tableau 24).

L'analyse de la fréquence de propagation en fonction de l'indice UV révèle une distribution hétérogène. La fréquence la plus significative est observée dans l'intervalle UVI 5-6, atteignant 1514,25. L'intervalle 3-5 présente la deuxième plus haute fréquence avec une valeur de 1108,65. Des valeurs intermédiaires ont été enregistrées pour les intervalles UVI 3-4 et 2-3, avec des fréquences respectives de 489 et 627. Les autres intervalles d'UVI présentent des fréquences de propagation négligeables.

c. Distribution par pays (Tableau 25).

La distribution par pays des fréquences de propagation met en évidence deux zones principales de forte intensité : l'Australie, avec une fréquence dominante de 1519, et l'Espagne, affichant une fréquence de 1109,22. Un deuxième groupe de pays présente des fréquences intermédiaires, comprenant l'Italie (495,04), la France (369,09) et l'Allemagne (257,97). Les autres pays étudiés manifestent des fréquences de propagation relativement faibles en comparaison.

Tableau 23. Distribution de la fréquence de propagation /15jour par clades.

<i>Clade</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcent. Cumulé</i>
G	1074.571	27.94	1074.571	27.94
G&O	42.68031	1.11	1117.251	29.05
G&O&S	183.3254	4.77	1300.576	33.82
G&O&V	50.35073	1.31	1350.927	35.13
G&S	370.5355	9.64	1721.462	44.77
G&V	32.66506	0.85	1754.128	45.62
G&V&O&S	1727.742	44.93	3481.869	90.54
G&V&S	317.6449	8.26	3799.514	98.80
O	14.05771	0.37	3813.572	99.17
O&S	13.41675	0.35	3826.989	99.52
S	7.942014	0.21	3834.931	99.73
S&V	5.6875	0.15	3840.618	99.87
V	2.488515	0.06	3843.107	99.94
V&D	0.064983	0.00	3843.172	99.94
V&O&S	2.333333	0.06	3845.505	100.00

Tableau 24. Distribution de la fréquence de propagation /15jour par UVI

<i>UV Index</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence cumulée</i>	<i>Pourcent cumule</i>
1-2	0.020833	0.00	0.020833	0.00
2	78.73665	1.99	78.75749	1.99
2-3	626.6268	15.87	705.3843	17.87
3	5.51644	0.14	710.9007	18.01
3-4	489.9965	12.41	1200.897	30.42
3-5	1108.643	28.08	2309.546	58.50
4-5	0.574468	0.01	2310.121	58.51
5	5.590047	0.14	2315.711	58.65
5-6	1514.251	38.35	3829.961	97.01
6	14.55833	0.37	3844.52	97.38
6-7	95.21094	2.41	3939.731	99.79
6-8	2.333333	0.06	3942.064	99.85
7-8	6.000	0.15	3948.064	100.00

Tableau 25. Distribution de la fréquence de propagation /15 jours par pays.

<i>Pays</i>	<i>Fréquence</i>	<i>(%)</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcentage Cumulé</i>
Qatar	17,30484	0,44	17,30484	0,44
Italie	495,0437	12,54	512,3485	12,98
France	369,0936	9,35	881,4421	22,33
Espagne	1109,223	28,10	1990,665	50,42
Royaume-Uni	78,79193	2,00	2069,457	52,42
Allemagne	257,9681	6,53	2327,425	58,95
Émirats Arabes Unis	5,291525	0,13	2332,717	59,09
Arabie Saoudite	95,21094	2,41	2427,928	61,50
Koweit	1,136111	0,03	2429,064	61,53
Australie	1519,000	38,47	3948,064	100,00

d. Distribution par mois (Tableau 26)

L'analyse par mois de la propagation révèle une forte variation mensuelle. Le mois de mars se distingue par une fréquence de propagation exceptionnellement élevée de 3917,89. En revanche, les mois de janvier et février présentent des fréquences nettement inférieures, avec des valeurs respectives de 11,85 et 18,33.

Tableau 26. Distribution de la fréquence de propagation /15jours par mois.

<i>Mois</i>	<i>Fréquence</i>	<i>%</i>	<i>Fréquence Cumulée</i>	<i>Pourcentage Cumulé</i>
1	11,85183	0,30	11,85183	0,30
2	18,32342	0,46	30,17525	0,76
3	3917,889	99,24	3948,064	100,00

e. L'analyse des fréquences bivariées entre les clades et l'UV Index

L'analyse des interactions entre clades et indices UV montre que la combinaison (clade G ; UVI 2-3) atteint la fréquence maximale de 506,49. Les combinaisons (G ; UVI 3-4), (G&S ; UVI 3-5), (G&V&S ; UVI 3-5) et (G&V&O&S ; UVI 3-5) présentent des fréquences respectives de 489,57, 359,41, 301,22 et 286,01.

Les fréquences de propagation s'avèrent minimales pour les indices UV inférieurs ou égaux à 2 (1-2 et 2) et supérieurs à 4-5. La seule exception concerne la combinaison (clades G&V&O&S ; UVI 5-6) qui affiche une fréquence élevée de 1376,2 (tableau 27).

Tableau 27. Relation clades-UVI pour la fréquence de propagation par 15 jours.

Index	G	G&O	G&O&S	G&O&V	G&S	G&V	G&V&O&S	G&V&S	O	O&S	S	S&V	V	V&O	V&O&S	Total
1-2	0.0208	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0208
	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0	0	0	12.9	0	0.2954	65.525	0	0	0	0.071	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00	0.01	1.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	78.797
	0.00	0.00	0.00	16.30	0.00	0.39	83.22	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	2.05
	0.00	0.00	0.00	25.62	0.00	0.93	3.79	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2-3	506.49	36.901	1.2451	31.708	0	26.899	0.00	15.854	0	0	0	0	2.4885	0.065	0	
	13.17	0.96	0.03	0.82	0.00	0.70	0.00	0.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	621.65
	81.47	5.94	0.20	5.10	0.00	4.33	0.00	2.55	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.01	0.00	16.17
	47.13	86.46	2.68	62.37	0.00	82.35	0.00	4.93	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	100.00	0.00	
3	0	0	0	0	0.0553	0	5.4612	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.5164
	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	99.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	16.72	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3-4	489.57	0	0.4286	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12.73	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	490
	99.91	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	12.74
	45.56	0.00	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
3-5	65.799	0	81.007	0	359.41	0	286.01	301.22	0	7.6044	7.6044	0	0	0	0	
	1.71	0.00	2.11	0.00	9.35	0.00	7.44	7.83	0.00	0.20	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	1108.6
	5.94	0.00	5.94	0.00	32.42	0.00	25.80	27.17	0.00	0.69	0.69	0.00	0.00	0.00	0.00	28.83
	6.12	0.00	44.13	0.00	37.00	0.00	16.55	94.03	0.00	56.68	95.75	0.00	0.00	0.00	0.00	
4-5	0	0	0	0	0	0	0	0.5745	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.5745
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Total	1074.57	42.6803	183.325	50.3507	370.535	32.6651	1727.74	317.645	14.0577	13.4167	7.94201	5.6875	2.48852	0.06438	2.33333	3845.5
	27.94	1.11	4.77	1.31	9.64	0.85	44.93	8.26	0.37	0.35	0.21	0.15	0.06	0.00	0.06	100.00

Tableau 27. Relation clades-UVI pour la fréquence de propagation par 15 jours (la suite).

Index	G	G&O	G&O&S	G&O&V	G&S	G&V	G&V&O&S	G&V&S	O	O&S	S	S&V	V	V&O	V&O&S	Total
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1249	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.1249
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.93	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-6	0	5.7111	94.644	5.6875	0	0	1376.2	0	14.058	5.6875	0	5.6875	0	0	0	
	0.00	0.15	2.46	0.15	0.00	0.00	35.79	0.00	0.37	0.15	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	1507.7
	0.00	0.38	6.28	0.38	0.00	0.00	91.28	0.00	0.93	0.38	0.00	0.38	0.00	0.00	0.00	39.21
	0.00	13.38	51.63	11.30	0.00	0.00	79.65	0.00	100.00	42.39	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	
6	0.5017	0.0684	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3305	0	0	0	0	
	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.9006
	55.71	7.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	36.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	0.05	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.16	0.00	0.00	0.00	0.00	
6-7	12.195	0	0	0	11.125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.32	0.00	0.00	0.00	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	23.32
	52.29	0.00	0.00	0.00	47.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.61
	1.13	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
6-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.3333	0	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	2.3333
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.06
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	
7-8	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.00	0.00	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6
	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16
	0.00	0.00	3.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Total	1074.57	42.6803	183.325	50.3507	370.535	32.6651	1727.74	317.645	14.0577	13.4167	7.94201	5.6875	2.48852	0.06438	2.33333	3845.5
	27.94	1.11	4.77	1.31	9.64	0.85	44.93	8.26	0.37	0.35	0.21	0.15	0.06	0.00	0.06	100.00

Fréquence manquante = 102.559

Annexe B– : ANALYSE PHYLOGÉNÉTIQUE

Dans notre étude, l'objectif était d'évaluer la diversité génétique du SARS-CoV-2 et de reconstituer son histoire évolutive, à l'aide d'analyses phylogénétiques et de comparaisons de séquences génomiques.

1. Arbre phylogénétique de l'évolution des clades du SARS-CoV-2.

La construction des arbres phylogénétique a été effectuée par deux versions du logiciel MEGA (MEGA 7.0.26 ET MEGA X). La modification et le filtrage des séquences alignées ont été réalisé à l'aide de l'outil Gblocks

Pour gérer la grande quantité de séquences génétiques à analyser, qui demandent beaucoup de puissance informatique, nous avons organisé les données en cinq groupes (Tableau 29). Ces groupes ont été choisis en fonction de la localisation des pays et du nombre de séquences disponibles pour chacun d'eux.

Pour chaque groupe, nous avons réalisé l'analyse en trois étapes. À chaque étape, nous avons sélectionné les séquences les plus similaires entre elles. Ces séquences sélectionnées ont ensuite été utilisées pour construire un arbre phylogénétique final qui montre les relations entre toutes les souches virales étudiées.

Tableau 28. Organisation et classification des données par groupe.

<i>Groupe</i>	Pays inclus	Code	Nombre de séquences alignées
<i>Groupe 1</i>	États-Unis	Usa	59
<i>Groupe 2</i>	Angleterre	Eng	55
<i>Groupe 3</i>	Australie Kuwait Arabie-Saoudite Algérie	Au+	71
<i>Groupe 4</i>	Allemagne Italie suisse	All+	43
<i>Groupe 5</i>	France Espagne	Fe	70

a. L'arbre phylogénétique du groupe 1 (USA).

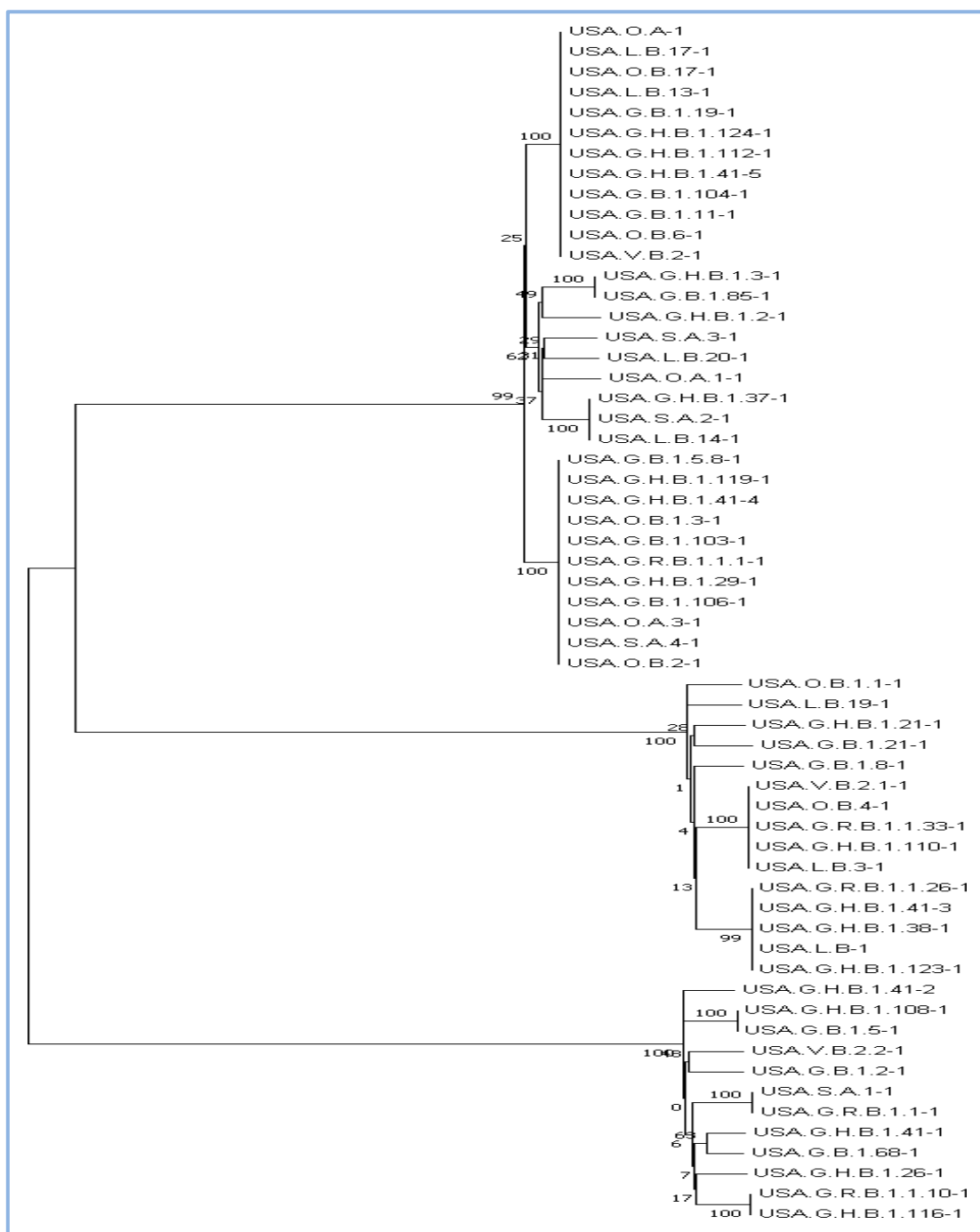


Figure 7. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 des États-Unis

b. L'arbre phylogénétique du groupe 2 (ANG).

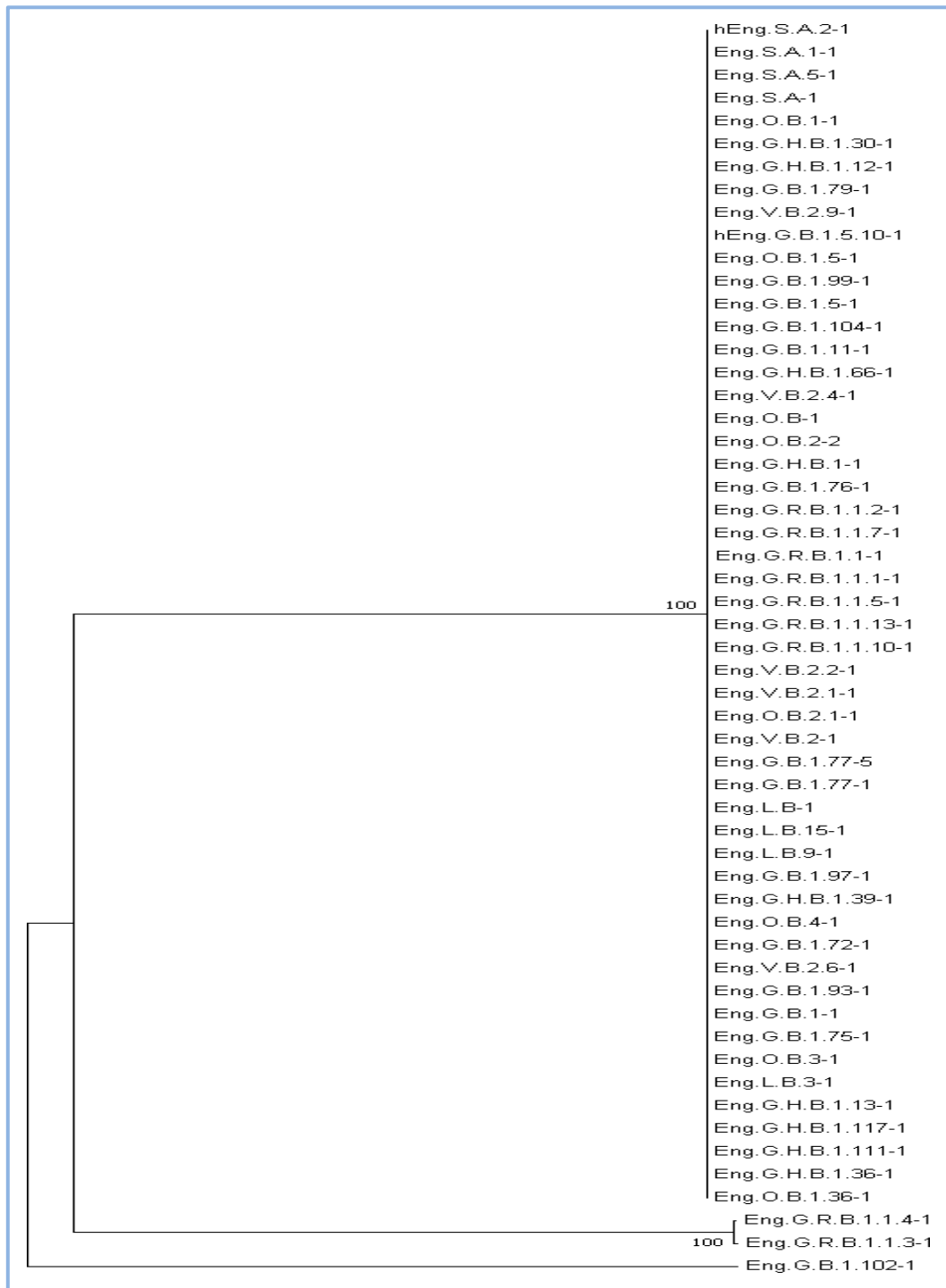


Figure 8. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 d'Angleterre (ANG)

c. L'arbre phylogénétique du groupe 3 (AU).

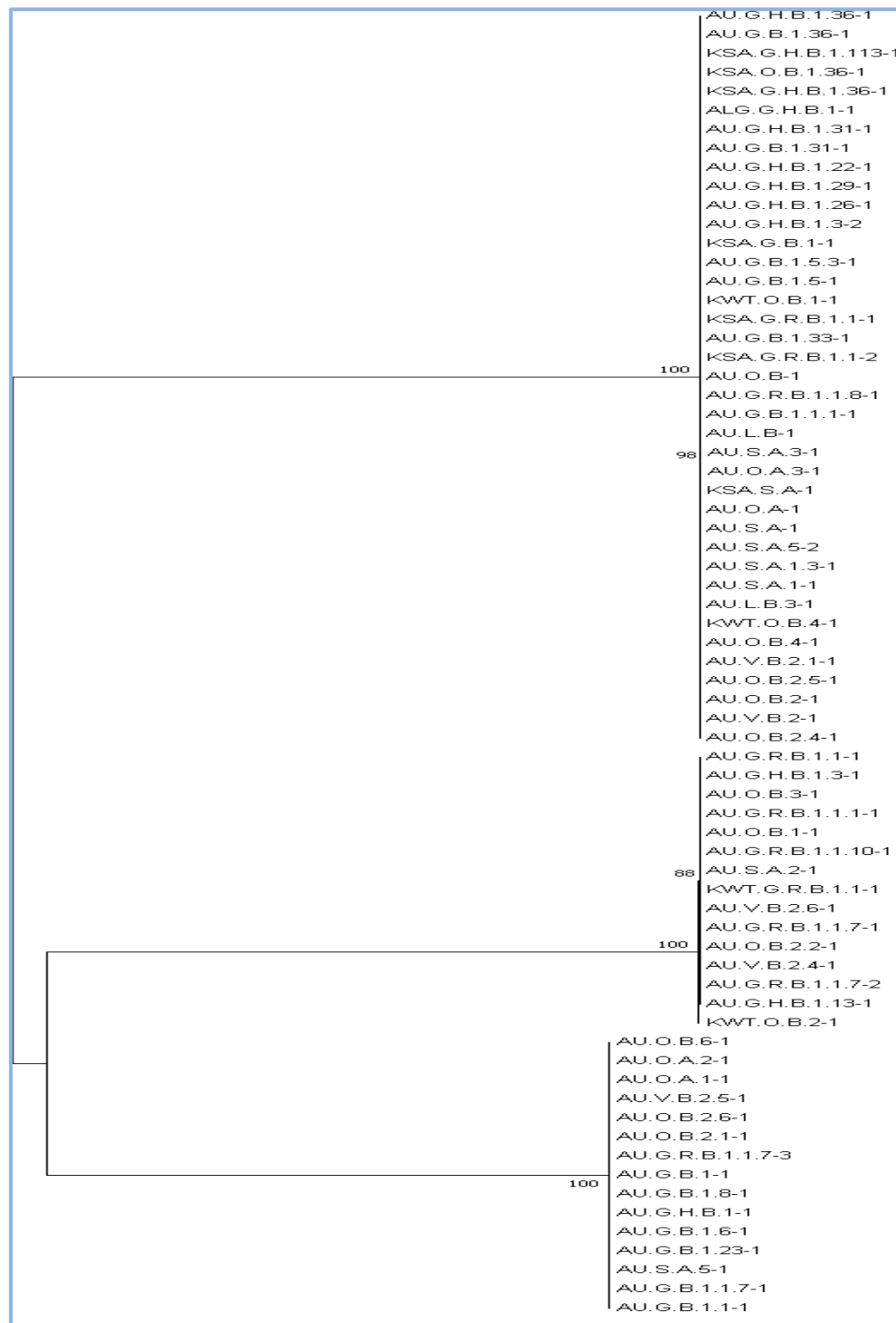


Figure 9. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 d'Australie (AU), d'Algérie (ALG), du Koweït (KWT) et d'Arabie Saoudite (KSA)

d. L'arbre phylogénétique du groupe 4 (ALL)

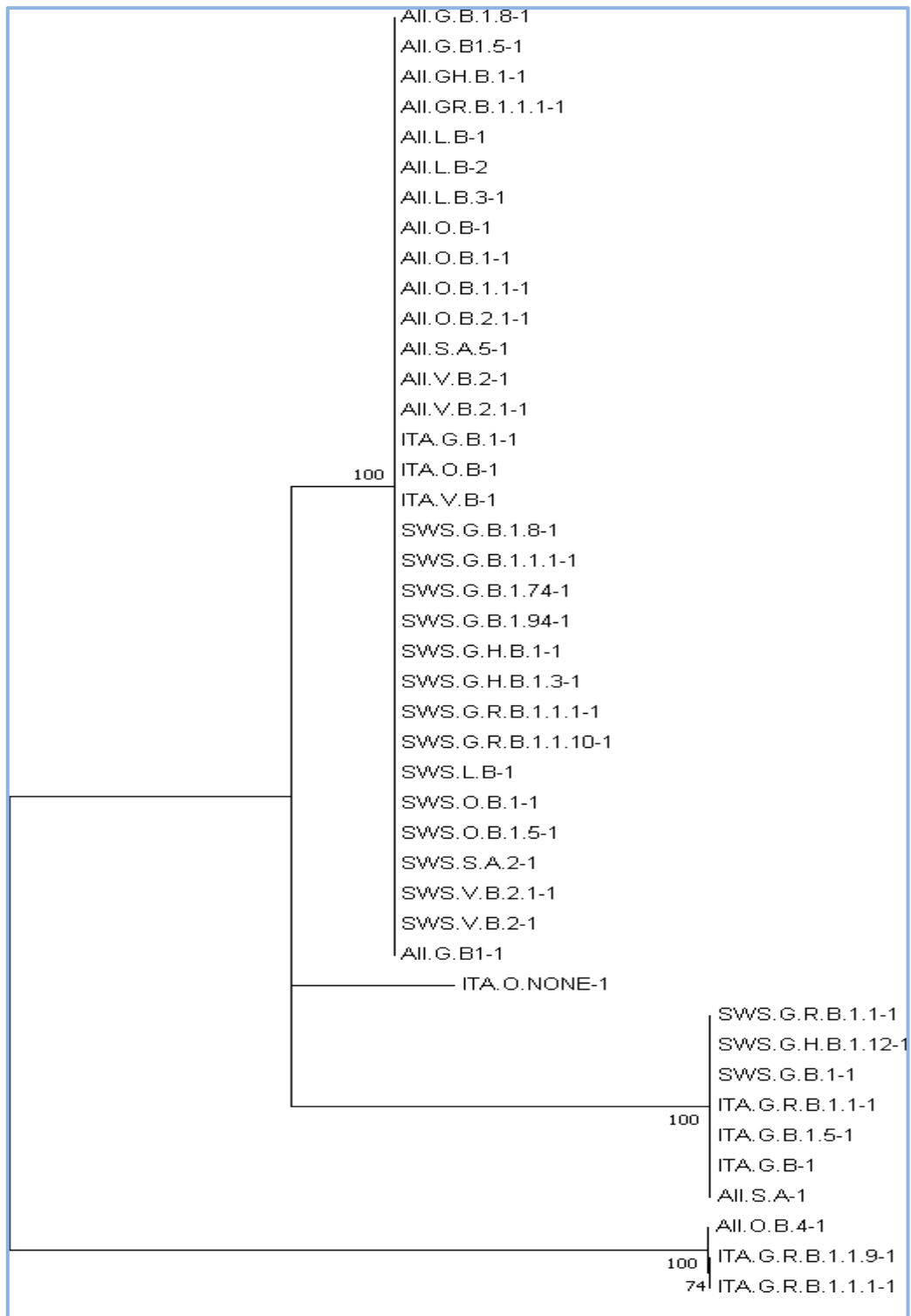


Figure 10. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 d'Allemagne, Italie, Suisse représentant différentes lignées.

e. L'arbre phylogénétique du groupe 5 (Fe) :

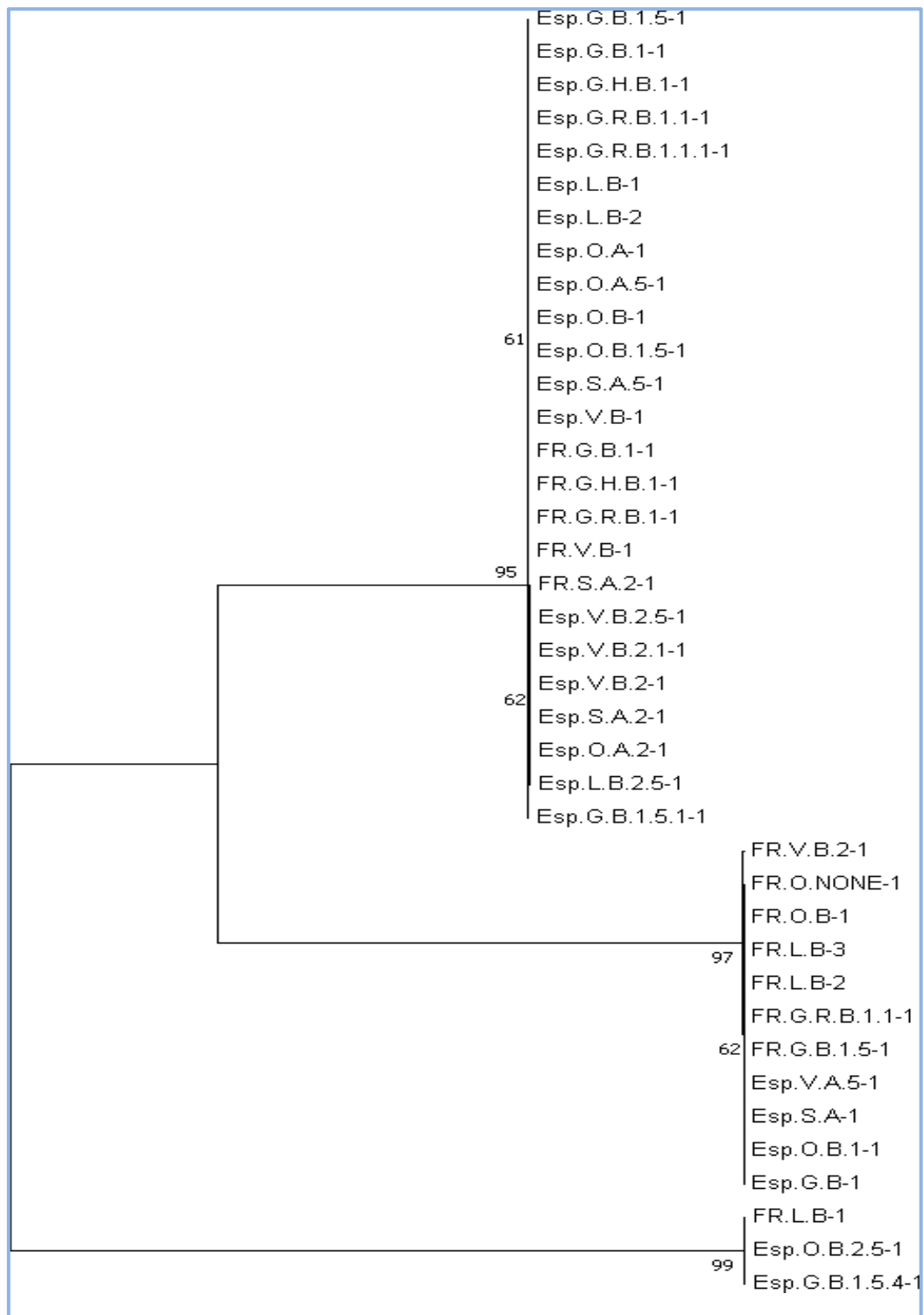


Figure 11. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 de France et Espagne

f. L'arbre phylogénétique des trois groupes 2,4 et 5 :

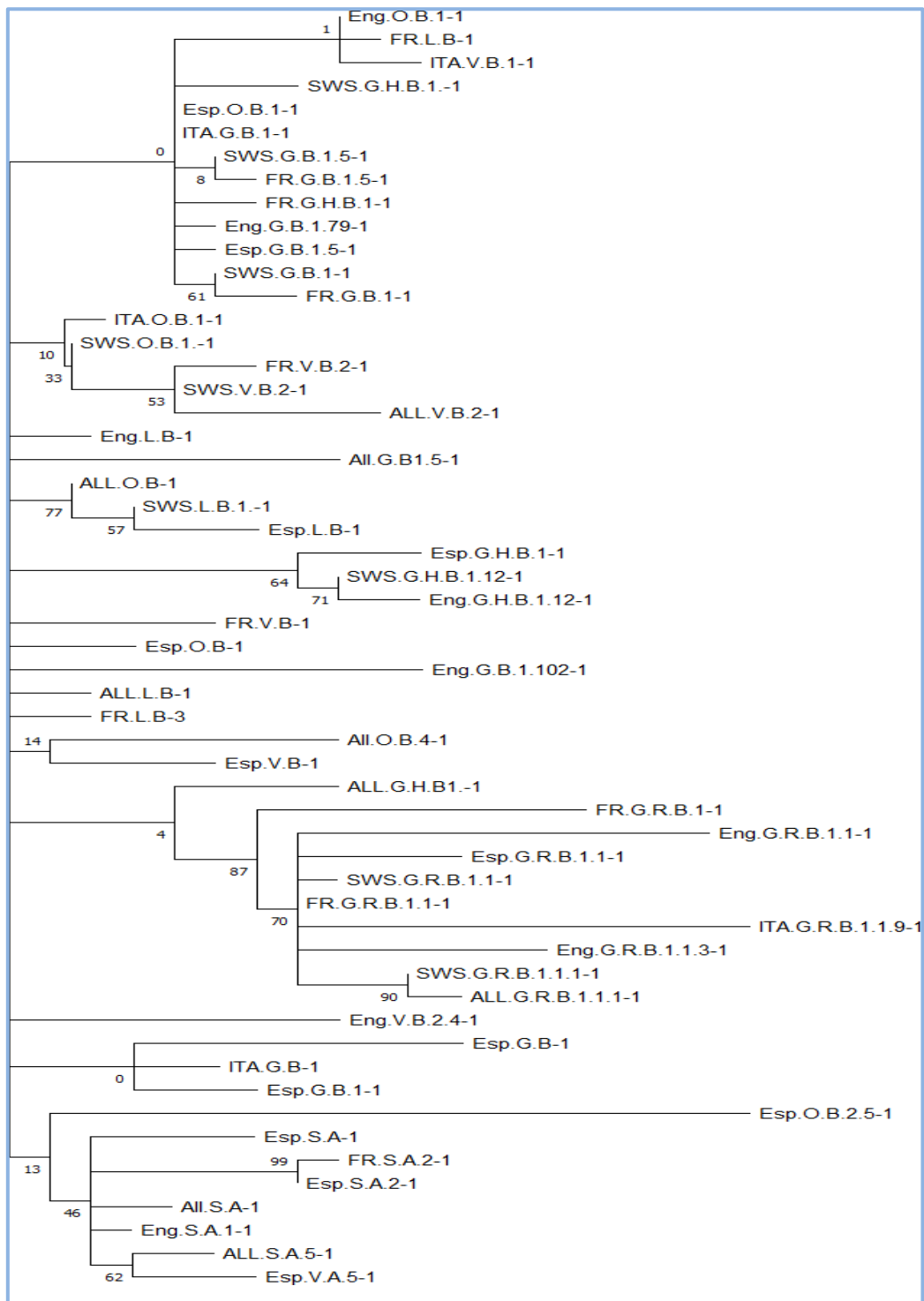


Figure 12. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 des trois groupes 2, 4 et 5

g. L'arbre phylogénétique du groupe 1 avec le groupe 3 :

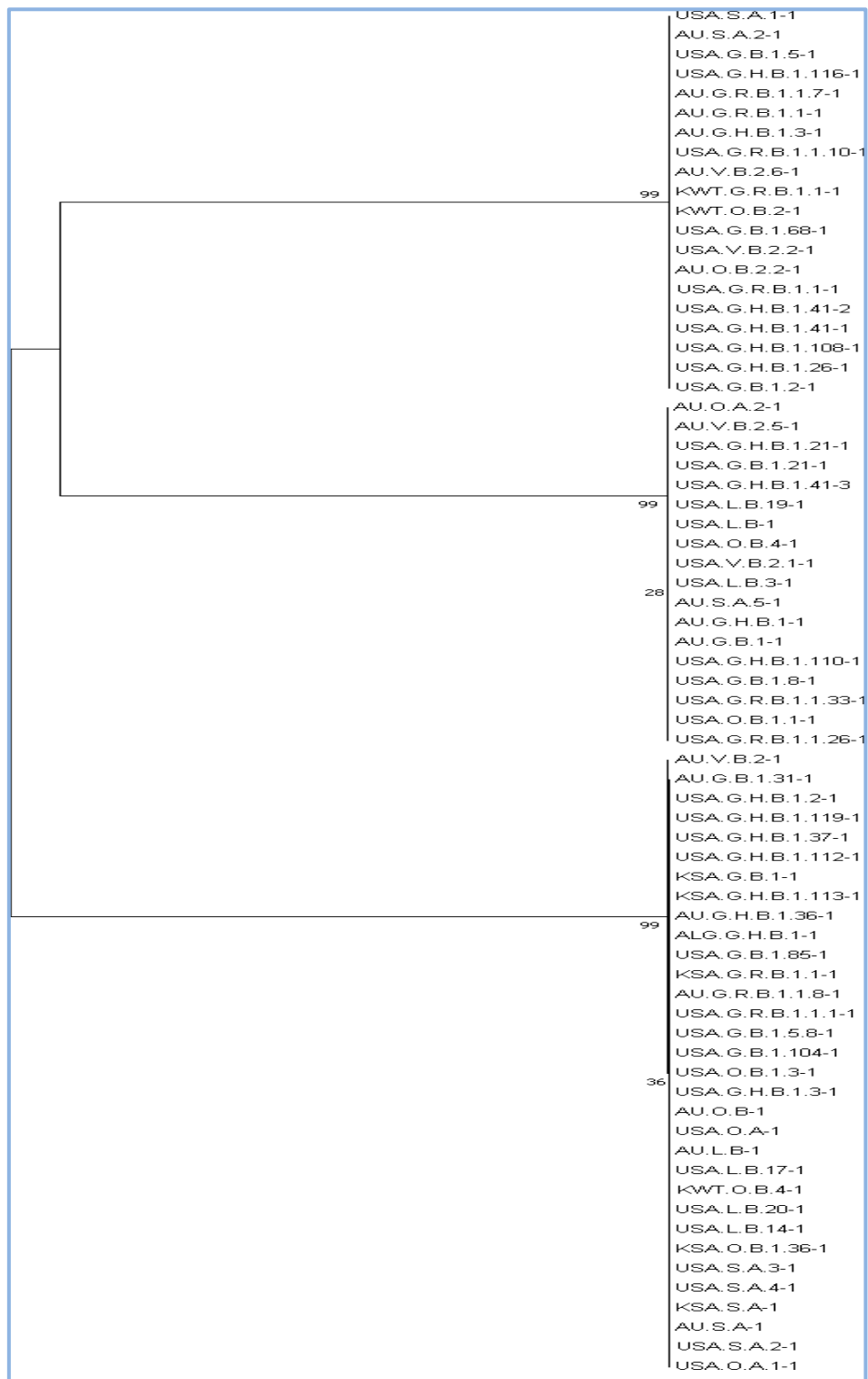


Figure 13. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 du groupe 1 avec le groupe 3

h. L'arbre phylogénétique des 5 groupes

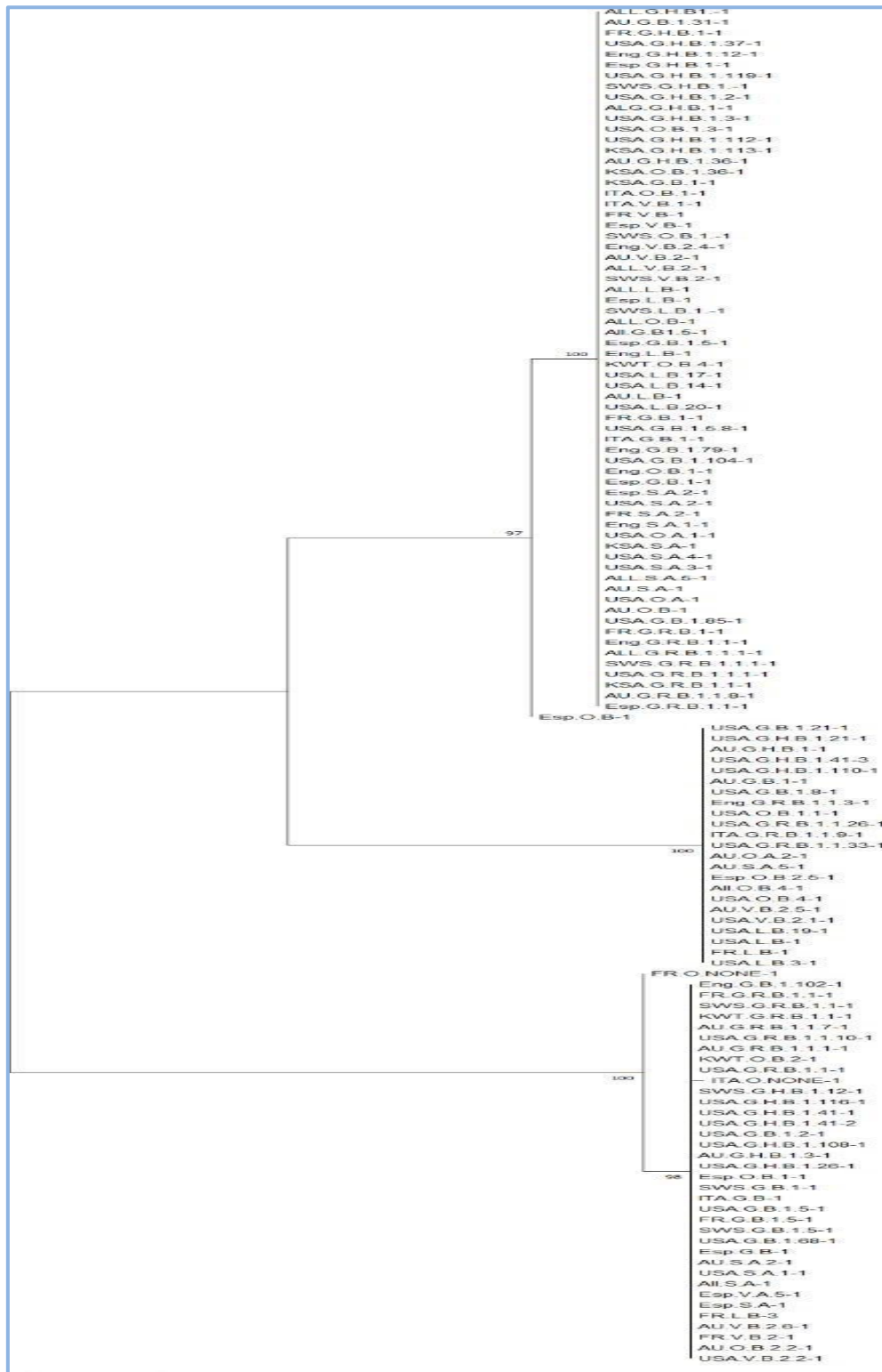


Figure 14. Arbre phylogénétique des séquences virales SARS-CoV-2 des 5 groupes

Tableau 29. Les différentes mutations résultantes de la comparaison des séquences du Groupe I des pays.

Position	Clade G	Clade O	Types de Mutations	Nombre de Répétitions	Région
8788	+	+	SubstitutionT/C	8(O)/2(G)	ORF1ab
14811	-	+	SubstitutionT/C	10	ORF1ab
11089	-	+	SubstitutionT/G	9	ORF1ab
14414	+	+	SubstitutionC/T	10(O)/3(G)	ORF1ab
20274	+	+	SubstitutionG/A	3(O)/9(G)	ORF1ab
23394	-	+	SubstitutionA/G	4	ProteinS
23403	+	+	SubstitutionG/A	15(O)/4(G)	ProteinS
23409	+	+	SubstitutionA/G	11(O)/1(G)	ProteinS
24868	+	-	SubstitutionG/A	4	ProteinS
26150	-	+	SubstitutionT/G	8	ORF3a
25435	+	-	SubstitutionT/G	4	ORF3a
25569	+	+	SubstitutionT/G	4(O)/3(G)	ORF3a
26720	-	+	SubstitutionC/G	2	ProteinM
26536	+	-	SubstitutionC/A	2	ProteinM
28083	-	+	SubstitutionC/G	2	ORF8
28150	-	+	SubstitutionC/T	6	ORF8
28151	-	+	SubstitutionC/T	2	ORF8
28317	-	+	SubstitutionC/T	5	ProteinN
28694	-	+	SubstitutionC/T	3	ProteinN
28688	-	+	SubstitutionC/T	3	ProteinN
28881	+	+	SubstitutionA/G	6(O)/2(G)	ProteinN
28882	+	+	SubstitutionA/G	5(O)/2(G)	ProteinN
28883	+	+	SubstitutionC/G	5(O)/2(G)	ProteinN
28887	+	+	SubstitutionA/G	1(O)/3(G)	ProteinN
28888	+	+	SubstitutionA/G	1(O)/3(G)	ProteinN
28889	+	+	SubstitutionC/G	1(O)/3(G)	ProteinN

Tableau 30. Les différentes mutations résultantes de la comparaison des séquences du Groupe II des pays.

Position	Clade G	Clade O	Types de Mutations	Nombre de Répétitions	Régions
3028	-	+	SubstitutionC/T	6	ORF1ab
3031	-	+	SubstitutionT/C	7	ORF1ab
3037	+	+	SubstitutionC/T	17(O)/4(G)	ORF1ab
3336	-	+	SubstitutionC/T	8	ORF1ab
11083	-	+	SubstitutionT/G	11	ORF1ab
14805	-	+	SubstitutionT/C	4	ORF1ab
14408	+	+	SubstitutionC/T	10(O)/6(G)	ORF1ab
23380	-	+	SubstitutionA/G	4	ProteinS
23394	-	+	SubstitutionA/G	4	ProteinS
23403	+	+	SubstitutionG/A	16(O)/4(G)	ProteinS
26720	-	+	SubstitutionC/G	2	ProteinM
28144	-	+	SubstitutionC/T	3	ORF8
28688	-	+	SubstitutionC/T	3	ProteinN
28881	+	+	SubstitutionA/G	6(O)/2(G)	ProteinN
28882	+	+	SubstitutionA/G	5(O)/2(G)	ProteinN
28883	+	+	SubstitutionC/G	5(O)/2(G)	ProteinN

Références Bibliographiques

1. Afifah, Fatimah, Azzahra, Ahmad, Wadi., Daichi, Onomura., Hirokazu, Funamori., Mst, Mahmuda, Khatun., Shunpei, Okada., Hisashi, Iizasa., Hironori, Yoshiyama. (2024). 2. Effects of Strain Differences, Humidity Changes, and Saliva Contamination on the Inactivation of SARS-CoV-2 by Ion Irradiation. *Viruses*, <https://doi.org/10.3390/v16040520>
2. Alhammad, Y., Kashipathy, M., Roy, A., Gagné, J., McDonald, P., Gao, P., ... Lovell, S. (2020). The sars-cov-2 conserved macrodomain is a mono-ADP-ribosylhydrolase. <https://doi.org/10.1101/2020.05.11.089375>
3. Allison, J., Burbank. (2023). 3. Risk Factors for Respiratory Viral Infections: A Spotlight on Climate Change and Air Pollution. *Journal of Asthma and Allergy*, <https://doi.org/10.2147/JAA.S364845>
4. Anahí, Maldonado-Cabrera., Jesus, Alejandro, Colin-Vilchis., Ubydul, Haque., Carlos, Velazquez., Andrea, Socorro, Álvarez, Villaseñor., Luis, Eduardo, Magdaleno-Márquez., Carlos, Iván, Calleros-Muñoz., Karen, Fernanda, Figueroa-Enríquez., Aracely, Angulo-Molina., Ana, Lucía, Gallego-Hernández. (2023). 6. SARS-CoV-2 Variants of Concern and Clinical Severity in the Mexican Pediatric Population. *Infectious Disease Reports*, <https://doi.org/10.3390/idr15050053>
5. Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 26(4), 450-452. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
6. Anderson, E. J., Roupheal, N. G., Widge, A. T., Jackson, L. A., Roberts, P. C., Makhene, M., Chappell, J. D., Denison, M. R., Stevens, L. J., ... Beigel, J. H. (2020). Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. *New England Journal of Medicine*, 383(25), 2427-2438. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2028436>

7. Atanas, V., Demirev., Kyuyoung, Lee., Joon, Yong, Bae., Heedo, Park., Sejik, Park., Hyunbeen, Kim., Jungmin, Lee., Jun-Shik, Cho., Jeong, Sun, Yang., Kyung-Chang, Kim., Joo, Yeon, Lee., Kisoan, Kim., Philippe, Lemey., Man, Seong, Park., Jin, Il, Kim. (2023). Molecular evolution and targeted recombination of SARS-CoV-2 in South Korea..iScience, 26(9):107689-107689. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107689>
8. Ayaho, Yamamoto., Peter, D., Sly., Keng, Yih, Chew., Lavrent, Khachatryan., Nelufa, Begum., Abrey, J., Yeo., Luan, D., Vu., Kirsty, R., Short., Stephania, A., Cormier., Emmanuelle, Fantino. (2023). 2. Environmentally persistent free radicals enhance SARS-CoV-2 replication in respiratory epithelium. *ExperimentalBiology and Medicine*, <https://doi.org/10.1177/15353702221142616>
9. Baden, L. R., El Sahly, H. M., Essink, B., Kotloff, K., Frey, S., Novak, R., Diemert, D., Spector, S. A., Roupael, N., ... Zaks, T. (2021). Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 384(5), 403-416. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2035389>
10. Basak, S., Kayet, P., Bagchi, M. C., Ghosh, P., Chatterjee, J., & Dutta, S. (2023). Emergence of genomic diversity in the spike protein of the "Omicron" variant. *Viruses*, 15(10), 2132. <https://doi.org/10.3390/v15102132>
11. Beitari., D., Duque., Jegarubee, Bavananthasivam., Melissa, Hewitt., Jagdeep, K., Sandhu., Ita, Hadzisejdic., Anh, Thu, Tran. (2023). Cross protection to SARS-CoV-2 variants in hamsters with naturally-acquired immunity. *Virology Journal*, 20 doi: 10.1186/s12985-023-02136-6
12. Blaize, A. (2020, 8 septembre). C'est quoi un coronavirus ; : origine, nom, mutation, symptôme ; mes. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2607859-definition-signification-famille-coronavirus-origine-nom-virus-symptome-incubation-traitement-transmission/>

13. Carleton, T., Cornetet, J., Huybers, P., Meng, K. C., & Proctor, J. (2021). Global evidence for ultraviolet radiation decreasing COVID-19 growth rates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(1), Article e2012370118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2012370118>
14. Chakraborty, Chiranjib, Bhattacharya, Manojit, Sharma, Ashish, Ranjan. (2021). 3. Present variants of concern and variants of interest of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: Their significant mutations in S-glycoprotein, infectivity, re-infectivity, immune escape and vaccines activity. *Reviews in Medical Virology*, <https://doi.org/10.1002/RMV.2270>
15. Chang-Monteagudo, A., Ochoa-Azze, R., González-Mujica, S., Bequet-Romero, M., Vazquez-Blomquist, D., Pérez-Sánchez, L., Hernández-Bernal, F., Martínez, V., Cardentey-Reyes, A., & García-Rivera, D. (2021). A single dose of SARS-CoV-2 FINLAY-FR-1A vaccine enhances neutralization response in COVID-19 convalescents, with excellent safety profile: An open-label phase 1 clinical trial. *The Lancet Regional Health - Americas*, 4, 100079. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100079>
16. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. (2020). The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536-544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
17. COVID-19 cases | WHO COVID-19 dashboard. (s. d.-b). Datadot. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c%20>.
18. Crits-Christoph, A., Kantor, R. S., Olm, M. R., Whitney, O. N., Al-Shayeb, B., Lou, Y. C., Flamholz, A., Kennedy, L. C., Greenwald, H., Hinkle, A., Hetzel, J., Spitzer, S., Koble, J., Tan, A., Hyde, F., Schroth, G., Kuersten, S., Banfield, J. F., & Nelson, K. L. (2021). Genome sequencing of sewage detects regionally prevalent SARS-CoV-2 variants. *mBio*, 12(1), e02703-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.02703-20>

19. Cyranoski, D. (2021). Alarming COVID variants show vital role of genomic surveillance. *Nature*, 589(7842), 337-338. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-00065-4>
20. Donia, A. & Bokhari, H. (2020). RNA interference as a promising treatment against SARS-CoV-2. *International Microbiology*, 24(1), 123-124. <https://doi.org/10.1007/s10123-020-00146-w>
21. Duchene, S., Featherstone, L., Haritopoulou-Sinanidou, M., Rambaut, A., Lemey, P., & Baele, G. (2020). Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *Virus Evolution*, 6(2), veaa061. <https://doi.org/10.1093/ve/veaa061>
22. Donato, G. S. (s. d.). RNA polymerase : the SARS-COV-2 “sloppy photocopier”. GSD - A Group Of Clinics In Italy. <https://www.gsdinternational.com/news/rna-polymerase-the-sars-cov-2-sloppy-photocopier>
23. EAF, Oliveira., Caroline, Carvalho, de, Sá., Julia, Botto, de, Barros, Cordeiro., Luiz, Cláudio, Santos, Thuler., Maria, Eduarda, Lanzillota, Assumpção., Gabriela, Andrade., Vinicius, Figueiredo, Vizzoni., João, P., B., Viola., Marcelo, A., Soares., Juliana, D., Siqueira., Lívia, R., Góes. (2024). 1. Genomic Surveillance of SARS-CoV-2 Variants at a Reference Cancer Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Cancerologia*, <https://doi.org/10.32635/2176-9745.rbc.2024v70n3.4637>
24. Ella, R., Vadrevu, K. M., Jogdand, H., Prasad, S., Reddy, S., Sarangi, V., Ganneru, B., Sapkal, G., Yadav, P., ... Bhargava, B. (2021). Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBV152: a double-blind, randomised, phase 1 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(5), 637-646. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30942-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30942-7)
25. Fabio, S., Francesco, B., Nicola, P., & Massimo, C. (2024). On the SARS-CoV-2 variants. *Infectious Disease Reports*. <https://doi.org/10.3390/idr16020024>
26. Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255-2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>

-
27. Garcia-Beltran, W. F., Lam, E. C., St. Denis, K., Nitido, A. D., Garcia, Z. H., Hauser, B. M., Feldman, J., Pavlovic, M. N., Gregory, D. J., Poznansky, M. C., Sigal, A., Schmidt, A. G., lafrate, A. J., Naranbhai, V., & Balazs, A. B. (2021). Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell*, 184(9), 2372-2383.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.013>
28. GISAID - gisaid.org. (s. d.). GISAID. <https://www.epicov.org/epi3/frontend#32a2c8>, consulté 30 juin 2020).
29. Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., ... Ziebuhr, J. (2020). The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536-544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
30. Graham, B. S., Mascola, J. R., & Fauci, A. S. (2020). Novel vaccine technologies: Essential components of an adequate response to emerging viral diseases. *JAMA*, 323(14), 1341-1342. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3422>
31. Guo,X., J., Li., H., M., Wang., J, Qiu., Z., Li., F., Huang., J., Li., X., Sun. (2024). 2. [Vaccine development based on RNA technology platforms]..doi: 10.3760/cma.j.cn112150-20230831-00147
32. Hadfield, J., Megill, C., Bell, S. M., Huddleston, J., Potter, B., Callender, C., Sagulenko, P., Bedford, T., & Neher, R. A. (2018). Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*, 34(23), 4121-4123. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407>
33. Hajar, Hajmohammadi., Mohammad, Talaei., Daniela, Fecht., Weiyi, Wang., Giuliano, Vivaldi., Sian, E, Faustini., Alex, Richter., Seif, Shaheen., Adrian, Martineau., Aziz, Sheikh., Ian, Mudway., Christopher, Griffiths. (2023). 7. Long-term air pollution exposure and risk of SARS-CoV-2 infection: A UK-wide cohort study. *Epidemiology*, <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2023.0a889>

-
- 34.** Hamidi, S., Sabouri, S., & Ewing, R. (2020). Does density aggravate the COVID-19 pandemic? Early findings and lessons for planners. *Journal of the American Planning Association*, 86(4), 495-509. <https://doi.org/10.1080/01944363.2020.1777891>
- 35.** Harvey, W. T., Carabelli, A. M., Jackson, B., Gupta, R. K., Thomson, E. C., Harrison, E. M., Ludden, C., Reeve, R., Rambaut, A., & COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium. (2021). SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nature Reviews Microbiology*, 19(7), 409-424. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00573-0>
- 36.** Heath, P. T., Galiza, E. P., Baxter, D. N., Boffito, M., Browne, D., Burns, F., Chadwick, D. R., Clark, R., Cosgrove, C., ... Toback, S. (2021). Safety and Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 385(13), 1172-1183. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2107659>
- 37.** Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., ... Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- 38.** Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141-154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- 39.** Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- 40.** Hussain, B., & Wu, C. (2024). Evolutionary and phylogenetic dynamics of SARS-CoV-2 variants: A genetic comparative study of Taiyuan and Wuhan cities of China. *Viruses*. <https://doi.org/10.3390/v16060907>
- 41.** Inactivated SARS-CoV-2 Vaccines on Symptomatic COVID-19 Infection in Adults: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 326(1), 35-45. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.8565>

-
42. Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). (2024). COVID-19 projections. University of Washington. <https://covid19.healthdata.org/>
43. Jackson, C., Farzan, M., Chen, B., & Choe, H. (2021). Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature ReviewsMolecularCellBiology*, 23(1), 3-20. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>
44. Juan, Blas, Pérez-Gilaberte., Natalia, Martín-Iranzo., José, Aguilera., M., Almenara-Blasco., María, Victoria, de, Gálvez., Yolanda, Gilaberte. (2023). 5. Correlation between UV Index, Temperature and Humidity with Respect to Incidence and Severity of COVID 19 in Spain. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, <https://doi.org/10.3390/ijerph20031973>
45. Juwhan, Choi., Jae, Jeong, Shim., Myung, Goo, Lee., Chin, Kook, Rhee., Hyonsoo, Joo., Jin, Hwa, Lee., Hye, Yun, Park., Woo, Taek, Kim., Soo-Jung, Um., Deog, Kyeom, Kim., K., H., Min. (2023). 1. Association Between Air Pollution and Viral Infection in Severe Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Journal of KoreanMedicalScience*, <https://doi.org/10.3346/jkms.2023.38.e68>
46. Kang, C., Chang, S., Shin, K., Jung, I., Park, H., Oh, J., Park, S., Shin, J., & Kim, J. (2023). Development of broadly protective COVID-19 vaccine against up-to-date variants based on adenovirus type 5/35 vector platform..*The Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.210.supp.159.06>.
47. Karamitros, T., Papadopoulou, G., Bousali, M., Mexias, A., Tsiodras, S., & Mentis, A. (2020). SARS-CoV-2 exhibits intra-host genomic plasticity and low-frequency polymorphic quasispecies. *Journal of ClinicalVirology*, 131, 104585. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104585>
48. Kim, D., Lee, J. Y., Yang, J. S., Kim, J. W., Kim, V. N., & Chang, H. (2020). The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*, 181(4), 914-921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>

-
49. Korber, B., Fischer, W. M., Gnanakaran, S., Yoon, H., Theiler, J., Abfalterer, W., ... Montefiori, D. C. (2020). Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: Evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*, 182(4), 812-827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>
50. Lai, C. C., Shih, T. P., Ko, W. C., Tang, H. J., & Hsueh, P. R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID- 19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(3), Article 105924. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>
51. Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., ... Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215-220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
52. Lei, X., Dong, X., Ma, R., Wang, W., Xiao, X., Tian, Z., ... Wang, J. (2020). Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. *Nature Communications*, 11(1), 3810. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17665-9>
53. Li, X., Giorgi, E., Marichannegowda, M., Foley, B., Xiao, C., Kong, X., ... Gao, F. (2020). Emergence of SARS-CoV-2 through recombination and strong purifying selection. *Science Advances*, 6(27). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb9153>
54. Logunov, D. Y., Dolzhikova, I. V., Shcheblyakov, D. V., Tukhvatulin, A. I., Zubkova, O. V., Dzharullaeva, A. S., Kovyrshina, A. V., Lubenets, N. L., Grousova, D. M., ... Gintsburg, A. L. (2021). Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *The Lancet*, 397(10275), 671-681. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8)
55. Lopez Bernal, J., Andrews, N., Gower, C., Gallagher, E., Simmons, R., Thelwall, S., ... Ramsay, M. (2021). Effectiveness of Covid-19 vaccines against the B.1.617.2 (Delta) variant. *New England Journal of Medicine*, 385(7), 585-594. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2108891>

-
56. Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395(10224), 565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
57. MacLean, O., Lytras, S., Weaver, S., Singer, J., Boni, M., Lemey, P., ... Robertson, D. (2021). Natural selection in the evolution of SARS-CoV-2 in bats created a generalist virus and highly capable human pathogen. *PLOS Biology*, 19(3), e3001115. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001115>
58. Makarenkov, V., Mazouze, B., Rabusseau, G., & Legendre, P. (2021). Horizontal gene transfer and recombination analysis of SARS-CoV-2 genes helps discover its close relatives and shed light on its origin. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12862-020-01732-2>
59. Mallapaty, S. (2020). Animal source of the coronavirus continues to elude scientists. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01449-8>
60. Martin, D., Weaver, S., Tegally, H., San, J., Shank, S., Wilkinson, E., ... Pond, S. (2021). The emergence and ongoing convergent evolution of the SARS-CoV-2 N501Y lineages. *Cell*, 184(20), 5189-5200.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.09.003>
61. Merow, C., & Urban, M. C. (2020). Seasonality and uncertainty in global COVID-19 growth rates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(44), 27456-27464. <https://doi.org/10.1073/pnas.2008590117>
62. Mickensone, Andre., Lee-Seng, Lau., Marissa, D., Pokharel., Julian, Ramelow., Florida, Owens., Joseph, Souchak., Juliet, Akkaoui., Evan, Ales., Harry, Brown., Rajib, Shil., Valeria, Nazaire., Marko, Manevski., Ngozi, P., Paul., Maria, I., Esteban-López., Yasemin, Ceyhan., N., El-Hage. (2023). 7. From Alpha to Omicron: How Different Variants of Concern of the SARS-Coronavirus-2 Impacted the World. *Biology*, <https://doi.org/10.3390/biology12091267>

-
63. Negi, S.S., Schein, C.H. & Braun, W. Regional and temporal coordinated mutation patterns in SARS-CoV-2 spike protein revealed by a clustering and network analysis. *Sci Rep* 12, 1128 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04950-4>
64. Olga, Frank., David, Acitores, Balboa., Maria, Novatchkova., Ezgi, Özkan., Marcus, Martin, Strobl., Ramesh, Yelagandula., Tanino, G., Albanese., Lukas, Endler., Fabian, Amman., Vera, Felsenstein., Marija, Krečković, Gavrilović., Meileen, Acosta., Timothej, Patocka., Alexander, Vogt., Ido, Tamir., Julia, Klikovits., Alexander, Zoufaly., Tamara, Seitz., Manuela, Födinger., Andrés, Bergthaler., Alexander, Indra., Daniela, Schmid., Peter, Klimek., Alexander, Stark., Franz, Allerberger., Bernhard, Benka., Kristian, Reich., Luisa, Cochella., Ulrich, Elling. (2024). 2. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 evolution by a centralised pipeline and weekly focused sequencing, Austria, January 2021 to March 2023. *Eurosurveillance* <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2024.29.23.2300542>
65. Oude Munnink, B. B., Nieuwenhuijse, D. F., Stein, M., O'Toole, Á., Haverkate, M., Mollers, M., ... Koopmans, M. P. G. (2020). Rapid SARS-CoV-2 whole-genome sequencing and analysis for informed public health decision-making in the Netherlands. *Nature Medicine*, 26(9), 1405-1410. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0997-y>
66. OudeMunnink, B. B., Worp, N., Nieuwenhuijse, D. F., Sikkema, R. S., Haagmans, B., Fouchier, R. A., & Koopmans, M. (2021). The next phase of SARS-CoV-2 surveillance: Real-time molecular epidemiology. *Nature Medicine*, 27(9), 1518-1524. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01472-w>
67. Paywast, Jamal, Jalal. (2023). 3. IL1 β , IL-6, and TNF- α cytokines cooperate to modulate a complicated medical condition among COVID-19 patients: case-control study. *Annals of medicine and surgery*, <https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000000679>
68. Matías, J., Pereson., Matías, J., Pereson., Diego, Martin, Flichman., Diego, Martin, Flichman., Alfredo, P., Martínez., Patricia, Baré., Patricia, Baré., Gabriel, García., Federico, A., Di, Lello., Federico, A., Di, Lello. (2021). 2. Evolutionary analysis of SARS-CoV-2 spike protein for its different clades. *Journal of MedicalVirology*, doi: 10.1002/JMV.26834

-
69. Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603- 2615. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034577>
70. Qi, H., Xiao, S., Shi, R., Ward, M. P., Chen, Y., Tu, W., ... Zhang, Z. (2020). COVID-19 transmission in Mainland China is associated with temperature and humidity: A time- series analysis. *Science of the Total Environment*, 728, 138778. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138778>
71. Rahimi, A., Mirzazadeh, A., & Tavakolpour, S. (2020). Genetics and genomics of SARS-CoV-2 : A review of the literature with the special focus on genetic diversity and SARS- CoV-2 genome detection. *Genomics*, 113(1), 1221-1232. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.09.059>
72. Riverón, L. Y. G., González, V. E. V., Rodríguez, Y. R., Gutierrez, M. G., Ferreiro, R. M., Mesa, N. M., Rodríguez, J. L. V., Valdés, R. G., Díaz, D., & Pérez, R. O. (2022). Safety and immunogenicity of anti-SARS-CoV-2 heterologous scheme with CIGB-66 and FINLAY-FR-1A vaccines: Phase I clinical trial in healthy adults. *Vaccine*, 40(31), 4220-4228. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.05.074>
73. Rocklöv, J., & Sjödin, H. (2020). High population densities catalyse the spread of COVID-19. *Journal of Travel Medicine*, 27(3), Article taaa038. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa038>
74. Sadoff, J., Gray, G., Vandebosch, A., Cárdenas, V., Shukarev, G., Grinsztejn, B., Goepfert, P. A., Truyers, C., Fennema, H., ... Douoguih, M. (2021). Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine against Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 384(23), 2187-2201. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101544>
75. Sahin, U., Muik, A., Derhovanessian, E., Vogler, I., Kranz, L. M., Vormehr, M., Baum, A., Pascal, K., Quandt, J., ... Türeci, Ö. (2020). COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human

- antibody and TH1 T cell responses. *Nature*, 586(7830), 594-599.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2814-7>
- 76.** Sahin, M., Ünlü, A., & Kivrak, E. G. (2020). The association between urban factors and COVID-19 related variables. *Sustainable Cities and Society*, 65, 102619.
<https://doi.org/10.1016/j.scs.2020.102619>
- 77.** Sajadi, M. M., Habibzadeh, P., Vintzileos, A., Shokouhi, S., Miralles-Wilhelm, F., & Amoroso, A. (2020). Temperature, humidity, and latitude analysis to estimate potential spread and seasonality of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Network Open*, 3(6), e2011834. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.11834>
- 78.** Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(21), 11727-11734. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>
- 79.** Shin, S., Shin, K., Lee, J., Jung, I., Koo, J., Lee, S., Park, S., Shin, J., Park, M., Park, B., Oh, H., Koo, B., Hong, J., Ryu, C., Kim, J., Oh, T., & Kang, C. (2022). The Chimeric Adenovirus (Ad5/35) Expressing Engineered Spike Protein Confers Immunity against SARS-CoV-2 in Mice and Non-Human Primates. *Vaccines*, 10. <https://doi.org/10.3390/vaccines10050712>.
- 80.** Shivani, Makhijani., Gehan, M., Elossaily., Satish, Rojekar., Rahul, G., Ingle. (2024). 5. mRNA-based Vaccines – Global Approach, Challenges, and Could Be a Promising Wayout for Future Pandemics. *Pharmaceutical Development and Technology*, doi: 10.1080/10837450.2024.2361656
- 81.** Sylvie, Maurel. (2022). 2. Role of bioaerosol in virus transmission and material-based countermeasures. *Exploration*, <https://doi.org/10.1002/exp.20210038>
- 82.** Tania, Merhi., Omer, Atasi., Clémence, Coetsier., Benjamin, Lalanne., Kevin, Roger. (2022). 4. Assessing suspension and infectivity times of virus-loaded aerosols involved in airborne transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, <https://doi.org/10.1073/pnas.2204593119>

-
83. Tang, T., Bidon, M., Jaimes, J. A., Whittaker, G. R., & Daniel, S. (2020). Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral Research*, 178, 104792. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104792>
84. Tanriover, M. D., Doğanay, H. L., Akova, M., Güner, H. R., Azap, A., Akhan, S., Köse, Ş., Erdinç, F. Ş., Akalın, E. H., ... Korukluoğlu, G. (2021). Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. *The Lancet*, 398(10296), 213-222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01429-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01429-X)
85. Tays, Troncoso-Bravo., Mario, A., Ramírez., Ricardo, A., Loiza., Carolina, Román-Cárdenas., Georgios, Papazisis., Daniel, Garrido., Pablo, A., González., Susan, M., Bueno., Alexis, M., Kalergis. (2024). 1. Advancement in the development of mRNA-based vaccines for respiratory viruses..doi: 10.1111/imm.13844
86. Tegally, H., Wilkinson, E., Giovanetti, M., Iranzadeh, A., Fonseca, V., & Krause, R. (2021). Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. *Nature*, 592(7853), 438-443. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
87. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, Tamin A, Harcourt JL, Thornburg NJ, Gerber SI, Lloyd-Smith JO, de Wit E, Munster VJ. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020 Apr16;382(16):1564-1567. <https://doi.org/10.1056/nejmc2004973>
88. V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., & Thiel, V. (2021). Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 155-170. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
89. Voysey, M., Clemens, S. A. C., Madhi, S. A., Weckx, L. Y., Folegatti, P. M., Aley, P. K., Angus, B., Baillie, V. L., Barnabas, S. L., ... Collins, A. M. (2021). Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four

- randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *The Lancet*, 397(10269), 99-111. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32661-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32661-1)
90. Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
91. Wang, J., Tang, K., Feng, K., & Lv, W. (2020). High temperature and high humidity reduce the transmission of COVID-19. Available at SSRN 3551767. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3551767>
92. Wang, P., Nair, M. S., Liu, L., Iketani, S., Guo, Y., Zhang, B., ... & Wang, C. (2021). Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 variants in hospitalized patients with COVID-19. *Nature*, 592(7853), 276-279. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2817-1>
93. Wang, Y., Wang, D., Zhang, L., Sun, W., Zhang, Z., Chen, W., ... & Zhao, J. (2021). Intra-host variation and evolutionary dynamics of sars-cov-2 populations in covid-19 patients. *Genome Medicine*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00847-5>
94. Wiersinga, W. J., Rhodes, A., Cheng, A. C., Peacock, S. J., & Prescott, H. C. (2020). Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA*, 324(8), 782-793. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.12839>
95. World Health Organization : WHO. (2022, 22 février). Communiqué sur la sous-lignée BA.2 d'Omicron. <https://www.who.int/fr>. <https://www.who.int/fr/news/item/22-02-2022-statement-on-omicron-sublineage-ba.2>
96. Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dai, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269. [https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3)

-
97. Xiang, Li., Yuwei, Zhang., Jinbo, Zhang., Zongyan, Sui., Xinyi, Qu., Mingrui, Wang., Tingting, Miao., Jizhao, Li. (2023). 4. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 in Weihai, China, march 2022 to march 2023. *Frontiers in Public Health*, <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1273443>
98. Xingguang, Li., Haizhou, Liu., Yigang, Tong. (2024). 5. Comprehensive genomic surveillance analysis of SARS-CoV-2: Global epidemic dynamics and geographic variability of variants. <https://doi.org/10.36922/mi.2294>
99. Xu, J., Zhao, S., Teng, T., Abdalla, A., Zhu, W., Xie, L., ... & Guo, X. (2020). Systematic comparison of two animal-to-human transmitted human coronaviruses: sars-cov-2 and sars-cov. *Viruses*, 12(2), 244. <https://doi.org/10.3390/v12020244>
100. Yassine, H. M., Al-Jighefee, H., Al-Sadeq, D. W., Dargham, S. R., Younes, N., Al-Jamal, O., Coyle, P. V., Amara, A. A., Tahir, F., Ali Ait Hssain, A., Abdallah, A. M., & Nasrallah, G. K. (2020). Performance evaluation of five ELISA kits for detecting anti-SARS-COV-2 IgG antibodies. *International Journal of Infectious Diseases*, 102, 181-187. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.042>.
101. Young E B., Wycliffe, E., Wei., Siew-Wai, Fong., Siew-Wai, Fong., Tze, Minn, Mak., Danielle, E., Anderson., Yi-Hao, Chan., Rachael, Pung., Cheryl, Sy, Heng., Li, Wei, Ang., Kang, Eng, Zheng., Bennett, Lee., Shirin, Kalimuddin., Shirin, Kalimuddin., Surinder, Pada., Paul, A., Tambyah., Paul, A., Tambyah., Purnima, Parthasarathy., Seow-Yen, Tan., Louisa, Sun., Gavin, J., D., Smith., Raymond, T., P., Lin., Yee, Sin, Leo., Laurent, Rénia., Lin-Fa, Wang., Lisa, F., P., Ng., Sebastian, Maurer-Stroh., David, C., Lye., Vernon, J., Lee. (2021). 5. Association of SARS-CoV-2 Clades with Clinical, Inflammatory and Virologic Outcomes: An Observational Study. *Social Science Research Network*, doi: 10.2139/SSRN.3741264
102. Zhang, L., Li, M., Guo, J., Lu, S., Zhou, R., Shi, H., Shi, X., Cheng, L., Liang, Q., Liu, H., Wang, P., Wang, N., Wang, Y., Fu, L., Xing, M., Ju, B., Liu, L., Lau, S., Jia, W., Tong, X., Yuan, L., Guo, Y., Qi, H., Zhang, Q., Huang, Z., Chen, H., Zhang, Z., Chen, Z., Peng, X., Zhou, D., & Wang, R. (2021). Single-Dose Immunization With a Chimpanzee Adenovirus-Based

Vaccine Induces Sustained and Protective Immunity Against SARS-CoV-2 Infection. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.697074>.

103. Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270-273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>

104. Zhou, D., Dejnirattisai, W., Supasa, P., Liu, C., Mentzer, A. J., Ginn, H. M., Zhao, Y., Duyvesteyn, H. M., Tuekprakhon, A., Nutalai, R., & Wang, B. (2021). Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B. 1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*, 184(9), 2348-2361.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.037>

105. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., & Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727-733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>