

Avis de Soutenance

Madame Selin SEN

RECHERCHES BIOMEDICALES Maladies infectieuses et microbiote

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
analyse de la diversité génétique des orthoflavivirus pour le suivi des génotypes présentant un intérêt pour la santé publique.

Travaux dirigés par Monsieur Xavier DE LAMBALLERIE

Soutenance prévue le **jeudi 15 octobre 2026** à 17h30
Lieu : FSMPM 27 Bd Jean Moulin, 13005 Marseille, France
Salle : de Visioconférence

Composition du jury proposé

M. Xavier DE LAMBALLERIE	Professeur des universités - praticien hospitalier	Aix Marseille Université, AP-HM, Unité des Virus Emergents (UVE)	Directeur de thèse
Mme Raphaëlle KLITTING	Chargée de recherche	INSERM, Unité des Virus Emergents (UVE)	Co-encadrante de thèse
Mme Anna-Bella FAILLOUX	Professeure des universités	Institut Pasteur, Arboviruses and Insect Vectors (AIV) unit	Examinatrice
Mme Van-Mai CAO-LORMEAU	Directrice de recherche	INSTITUT LOUIS MALARDE	Examinatrice
Mme Anne LAVERGNE	Chargée de recherche	Institut Pasteur, Cayenne	Rapporteuse
M. Ousmane KOITA	Full professor	Université des Sciences, des Techniques et des Technologies (USTTB), Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA)	Rapporteur
M. Christophe PEYREFITTE	Professeur agrégé	Université de Guyane, Institut Pasteur de la Guyane	Président

Mots-clés : Orthoflavivirus, Génotypage, Génomique, vaccine

Résumé :

Le suivi génomique des lignées virales circulantes complète l'épidémiologie classique et aide à suivre les phénotypes d'intérêt en santé publique tout en fournissant un socle fondamental pour mettre en place des stratégies de lutttes efficaces et pérennes contre les virus émergents. Parmi eux, les arbovirus regroupent l'ensemble des virus transmis par des arthropodes. Le premier arbovirus à être décrit est le virus de la fièvre jaune ou « yellow fever virus » (YFV) du genre Orthoflavivirus. Un

vaccin vivant atténué sûr et conférant une protection durable contre YFV est actuellement utilisé dans les programmes d'immunisation de routine et lors des campagnes de vaccination massives lors d'épidémies. La vaccination YFV est souvent associée à une virémie et peut, dans de rares cas, causer l'apparition de formes sévères. Identifier et tracer ces événements indésirables est crucial en santé publique, pour en investiguer les causes et identifier les lots concernés. En cas d'épidémie de YFV, le génotypage des souches permet de surveiller les changements majeurs des dynamiques de dispersion virale et de déterminer si les virémies et symptômes observés sont causés par des souches sauvages ou vaccinales. Ce travail de thèse visait à mettre en place des outils pour le suivi des génotypes d'intérêt en santé publique chez les arbovirus. Le premier axe consistait à développer un outil d'ingestion de données publiques pour la mise en place de bases de données (BDD) génomiques d'arbovirus, ARBOFLOW. Initialement conçu pour YFV, ARBOFLOW a permis de recenser la diversité globale du virus, montrant une grande variabilité génomique entre génotypes sauvages et une forte similarité entre souches vaccinales et génotypes d'Afrique de l'Ouest. Comparée à Pathoplexus, une autre source ouverte de données YFV, la BDD issue d'ARBOFLOW fournit des annotations plus riches et une correction fine des métadonnées au prix cependant d'une ingestion des données partiellement automatisée. ARBOFLOW a également servi à suivre la diversité génomique du virus de la dengue et à recenser la prévalence d'une mutation diminuant la sensibilité à un antiviral prometteur (Mosnodenvir), mettant en évidence son émergence répétée au sein des sérotypes 2 et 3 du virus. Le second axe de cette thèse a permis de développer et comparer plusieurs tests de génotypage pour discriminer les souches sauvages et vaccinales du YFV. Les résultats ont montré les limites de la méthode « endonuclease heteroduplex cleavage typing », à savoir sa faible sensibilité et sa difficulté à discriminer entre souches vaccinales et sauvages. En revanche la méthode de RT-qPCR avec une sonde de type « locked nucleic acid » a montré son efficacité pour détecter et distinguer sans ambiguïté la souche vaccinale 17D de la souche la plus proche du vaccin, Asibi. Enfin, les méthodes de séquençage « Switch Mechanism at the 5' End of RNA Templates 9n » et « sequence-independent, single-primer amplification » ont montré une bonne capacité de détection des souches vaccinales même à des Ct très hauts (<36.6). En conclusion, une approche mixte mêlant des méthodes moléculaires sensibles et un suivi génomique basé sur le séquençage nouvelle génération semble la plus adaptée pour la surveillance du YFV. Le YFV et plus largement les arbovirus, sont un bon exemple des enjeux de surveillance génomique pour les virus (ré)émergents d'importance en santé publique. L'extension des aires de distribution des vecteurs sous l'effet du changement climatique, combinée à la fragmentation des écosystèmes sylvatiques, et aux inégalités de systèmes de surveillance et de santé concernent de nombreuses zoonoses et appellent à une adaptation de nos approches de surveillance et de contrôle. Dans ce cadre, cette thèse a permis d'évaluer et contribuer aux outils de suivi et de partage de données de génomique virale, mais aussi de comparer plusieurs stratégies de biologie moléculaire et de séquençage pour le suivi génomique en contexte épidémique.

Summary:

Genomic surveillance of circulating viral lineages complements conventional epidemiology and helps to monitor phenotypes of public health interest, whilst providing a fundamental basis for implementing effective and sustainable control strategies against emerging viruses. Among these, arboviruses comprise all viruses transmitted by arthropods. The first arbovirus to be described was the yellow fever virus (YFV) of the genus Orthoflavivirus. A safe live-attenuated vaccine that confers long-lasting protection against YFV is currently used in routine immunisation programmes and during mass vaccination campaigns in the event of epidemics. YFV vaccination is often associated with viraemia and may, in rare cases, lead to severe forms of the disease. Identifying and tracing these adverse events is crucial for public health, in order to investigate their causes and identify the affected batches. In the event of a YFV outbreak, genotyping of strains enables the monitoring of major changes in viral spread dynamics and helps determine whether the viremia and symptoms

observed are caused by wild-type or vaccine strains. The aim of this PhD thesis was to develop tools for monitoring arbovirus genotypes of public health interest. The first strand of the research involved developing ARBOFLOW, a tool for ingesting publicly available data to establish arbovirus genomic databases. Originally designed for YFV, ARBOFLOW enabled the global diversity of the virus to be mapped, revealing significant genomic variability between wild-type genotypes and a high degree of similarity between vaccine strains and West African genotypes. Compared with Pathoplexus, another open-source YFV dataset, the database generated by ARBOFLOW provides richer annotations and fine-tuned metadata correction, albeit at the cost of only partially automated data ingestion. ARBOFLOW has also been used to track the genomic diversity of the dengue virus and to identify the prevalence of a mutation that reduces susceptibility to a promising antiviral (Mosnodenvir), highlighting its repeated emergence within serotypes 2 and 3 of the virus. The second focus of this thesis involved developing and comparing several genotyping tests to distinguish between wild-type and vaccine strains of YFV. The results highlighted the limitations of the 'endonuclease heteroduplex cleavage typing' method, namely its low sensitivity and its difficulty in distinguishing between vaccine and wild-type strains. By contrast, the RT-qPCR method using a 'locked nucleic acid' probe proved effective in detecting and unambiguously distinguishing the 17D vaccine strain from the strain closest to the vaccine, Asibi. Finally, the sequencing methods 'Switch Mechanism at the 5' End of RNA Templates 9n' and 'sequence-independent, single-primer amplification' demonstrated good detection capability for vaccine strains even at very high Ct values (<36.6). In conclusion, a combined approach incorporating sensitive molecular methods and genomic surveillance based on next-generation sequencing appears to be the most suitable for YFV surveillance. YFV, and more broadly arboviruses, are a good example of the challenges involved in genomic surveillance of (re)emerging viruses of public health significance. The expansion of vector ranges driven by climate change, combined with the fragmentation of forest ecosystems and inequalities in surveillance and healthcare systems, affects many zoonoses and calls for an adaptation of our surveillance and control approaches. In this context, this thesis has enabled the evaluation of and contributed to tools for monitoring and sharing viral genomic data, whilst also comparing several molecular biology and sequencing strategies for genomic surveillance in an epidemic context.

LE DOYEN
Georges LEONETTI