

La diversité génétique du VIH-1 et données actuelles en Algérie

Salima Bouzeghoub^{a,*}, El Hadj Belabbes^a

RÉSUMÉ

L'Afrique est le continent le plus touché par la pandémie VIH/sida et y on observe la plus grande diversité génétique du VIH-1. La connaissance de cette variabilité du virus, qui s'étudie actuellement par le séquençage, soulève le problème de ses implications et de ses conséquences sur le plan diagnostique et thérapeutique.

L'Algérie fait partie des pays d'Afrique du Nord où la prévalence de l'infection VIH est faible.

Une étude épidémiologique moléculaire d'isolats VIH-1 par le biais du séquençage provenant de patients algériens a révélé la présence d'une grande diversité génétique des souches circulant dans ce pays. En effet, après le sous-type B qui est majoritaire, on retrouve d'autres sous-types non-B (A, G, D) et des formes recombinantes tel que CRF 02-AG et CRF 06-cpx.

La présence de cette hétérogénéité virale, provenant probablement des pays de l'Afrique sub-saharienne, nous incite à une plus grande vigilance dans la surveillance de cette infection.

VIH-1 – diversité génétique – sous-type – épidémiologie – Algérie.

1. Introduction

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) constitue un problème mondial de santé publique, notamment dans les pays en voie de développement. Plus de 40 millions de personnes sont concernées selon les dernières estimations de l'OMS/ONUSIDA à la fin 2006, l'Afrique étant le continent le plus touché avec plus de 25,4 millions de cas [11].

L'Algérie fait partie des pays de faible prévalence (0,07 %) mais le risque d'une évolution rapide n'est pas à écarter à cause de sa situation géographique où conflue un nombre important de migrants originaires de pays voisins sub-sahariens, sévèrement touchés par la pandémie VIH/sida. 746 cas cumulés de sida ont été confirmés en Algérie à la date du 31 décembre 2006 ; en revanche, le nombre de cas de séropositifs n'est pas évalué à sa juste valeur.

^a Service de virologie - Laboratoire national de référence du VIH/sida
Institut Pasteur d'Algérie - Annexe de Sidi-Fredj - Alger - Algérie

*Correspondance

salibouzeghoub@yahoo.fr

article reçu le 21 mai, accepté le 12 juin 2007

© 2007 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Genetic diversity of HIV-1 and present situation in Algeria

Africa is the continent most affected by the HIV/AIDS pandemic and where the greatest HIV genetic diversity is observed. This variability of the virus, studied by sequencing, has implications on the diagnostic and therapeutic aspects.

Algeria, alike other North African countries, has low prevalence of HIV infection. A molecular epidemiological study carried out on HIV-1 isolates from Algerian patients, using sequencing method, revealed the presence of a great genetic diversity among the strains circulating in this country. Subtype B was the most frequent but other non-B subtypes were found: A, G and D as well as intersubtype recombinants such as CRF 02-AG and CRF 06-cpx. The presence of this viral heterogeneity, probably coming from sub-Saharan African countries, incites us to vigilance in the surveillance of this infection.

HIV-1 – genetic diversity – subtype – epidemiology – Algeria.

Les souches du VIH-1 présentent une très grande diversité génétique, celle-ci est surtout observée en Afrique où tous les sous-types et formes recombinantes circulent. Cette variabilité génétique a de nombreuses conséquences, nécessitant une surveillance permanente des sous-types circulants et de l'émergence des formes recombinantes à travers le monde.

2. La variabilité du VIH-1

Le VIH est un Lentivirus de la famille des Retroviridae. Ce virus est caractérisé par sa grande variabilité génétique, qui confère au virus un grand pouvoir d'adaptation à son hôte, ceci va lui permettre d'échapper en particulier aux réponses immunes ou aux thérapeutiques antirétrovirales par sélection des mutants capables de résister à ces processus d'inhibition de la réplication virale.

En effet, des travaux ultérieurs ont bien montré qu'il n'existe pas de souches virales identiques et que, chez un même malade, le virus est présent sous forme d'une population virale polymorphe avec une multitude de génomes différents [13].

2.1. Les causes de la variabilité génétique

Plusieurs facteurs agissant de façon concomitante ou non permettent d'expliquer ce phénomène de variabilité génétique.

2.1.1. Les erreurs de copie effectuées par la transcriptase inverse

La transcriptase inverse est une enzyme présente dans la nucléocapside du virus et sert à rétrotranscrire l'ARN du VIH-1 en ADN viral, pour pouvoir par la suite s'intégrer dans l'ADN chromosomique de la cellule hôte. La faible fidélité de cette enzyme aboutit à des erreurs d'appariement qu'elle commet lors de la réplication virale. Il semblerait qu'il survient environ une erreur par génome recopié en moyenne [10].

2.1.2. La dynamique de la réplication virale

La rapidité du cycle répliatif entraîne la production de 10 milliards de nouveaux virus par jour chez un individu infecté, induisant ainsi une variabilité intrinsèque au sein de la population virale chez celui-ci ; on parlera ainsi de « quasi-espèce ».

2.1.3. La recombinaison génétique

Le VIH recombine une à trois fois par cycle viral. La transcriptase inverse, au cours de la synthèse de l'ADN, a la capacité de passer de l'une à l'autre des deux copies d'ARN présentes dans le virion (« *switch* ») et contribue ainsi à l'augmentation de la probabilité d'émergence de virus divergents. Les points de recombinaison sont retrouvés sur tout le génome avec une plus grande fréquence pour le gène de l'enveloppe [13].

2.1.4. La pression de sélection

Les facteurs environnementaux tels que les thérapies anti-rétrovirales et la pression du système immunitaire favorisent la sélection de variants viraux portant des mutations et qui peuvent se répliquer dans ces conditions. Les antirétroviraux exercent une pression qui permet la sélection de souches résistantes portant des mutations de résistance via certaines molécules antirétrovirales.

2.2. La répartition des différents sous-types en Afrique

Les souches du VIH-1 sont classées en groupes, sous-types et recombinants CRF ou circulating recombinant forms (*figure 1*).

Il existe trois grands groupes distincts : le groupe M (*Major*), le groupe O (*Outlier*) et le groupe N (*New*). Les isolats du groupe M sont les plus fréquents dans le monde. L'analyse phylogénétique des séquences de certains gènes du virus a permis de classer ce groupe en 9 sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J, K) [1, 2, 19].

Le sous-type B se trouve en Europe, en Amérique et en Australie.

La plus grande diversité génétique du VIH-1 est observée en Afrique (*figure 2*). En effet, c'est le sous-type C qui pré-

Figure 1 - Classification du VIH en groupes et sous-types.

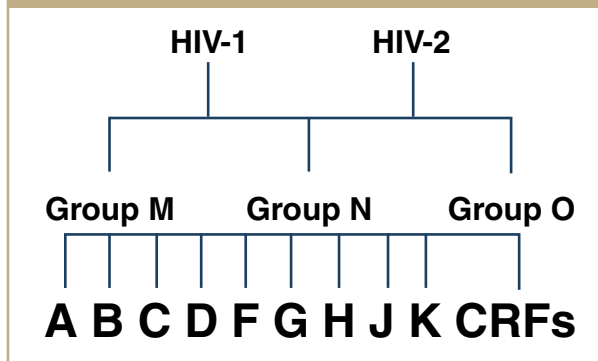
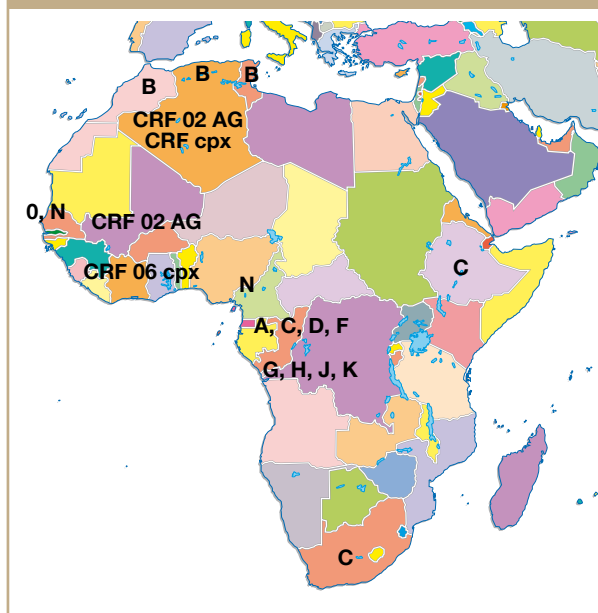


Figure 2 - Distribution des variants du VIH-1 en Afrique.



domine (47,2 %) en Afrique du Sud suivi du sous-type A (27 %) en Afrique de l'Est [14]. Au centre et à l'ouest, c'est le sous-type D, F et G qu'on retrouve [11].

En Afrique du Nord, au Maghreb, c'est le sous-type B qui prédomine en Tunisie [3] et au Maroc [6, 7].

Les VIH-1 du groupe O qui ont été identifiés au Cameroun et au Gabon sont beaucoup plus rares. Il en est de même pour le groupe N, également identifié au Cameroun [16]. L'émergence de nouveaux virus recombinants (CRF) joue un rôle important dans l'épidémie du sida comme les variants CRF 01-AE en Asie [9], et le CRF 02-AG dans divers pays d'Afrique de l'Ouest [12]. Actuellement, au moins 21 CRF ont été identifiés [8].

2.3. Les implications et les conséquences de la variabilité du VIH-1

La variabilité génétique du VIH-1 permet au virus de résister aux antirétroviraux, d'étendre son tropisme, d'échapper aux réponses immunes de l'organisme et d'influencer le diagnostic. Ce qui constitue un obstacle majeur à la mise

au point d'un vaccin [20]. Les tests de diagnostic, les médicaments antirétroviraux et les vaccins contre le VIH-1 ont été essentiellement développés pour le virus du sous-type B, qui est surtout prédominant en Europe et en Amérique, ce qui n'est pas le cas en Afrique où ce sont les sous-types non-B qui circulent [19].

2.4. Méthodes d'études

Il existe différentes méthodes pour étudier la diversité du VIH-1.

2.4.1. Le sérotypage

Ce test sérologique fait appel à la technique immuno-enzymatique type Elisa. Il a été utilisé surtout pour distinguer les infections dues aux sous-types B des non-B dans des endroits où un nombre limité de variants circulent. Cependant, ce test reste limité car il peut conduire à des erreurs d'identification de génotype [5, 16].

2.4.2. Le *heteroduplex mobility assay* (HMA)

C'est une méthode basée sur la PCR (*polymérase chain reaction*) et sur l'hybridation entre l'ADN du virus étudié et des ADN de référence représentant les différents sous-types du VIH-1. Elle a été largement utilisée dans les pays en voie de développement. Néanmoins, elle reste limitée car elle manque de spécificité et certains échantillons restent indéterminés [17].

2.4.3. Le séquençage

Il s'agit de la méthode la plus précise et fiable pour identifier les variants du VIH-1 et la technique de référence pour classer les virus [15].

Longtemps réservée à la recherche fondamentale, cette méthode bénéficie maintenant d'appareillages plus sophistiqués et d'utilisation plus aisée, ce qui en facilite la réalisation. Elle repose sur la détermination de l'enchaînement nucléotidique de l'acide nucléique du VIH-1, qui se fait

actuellement grâce à un séquenceur automatique. A partir du séquençage de 2 ou 3 gènes, le sous-type est déterminé par différentes méthodes phylogénétiques.

(www.infobiogen.fr/phylogenie.html)

Cette méthode consiste à amplifier par PCR un ou plusieurs gènes et à déterminer la séquence nucléotidique par la méthode de Sanger [18]. Les séquences seront analysées grâce à des logiciels de phylogénie et comparées à des séquences de référence disponibles sur des bases de données internationales (<http://hiv-web.lanl.gov>).

Un arbre phylogénétique est construit pour traduire les liens hypothétiques existants entre les séquences. Il est caractérisé par sa topologie (nœuds) et sa longueur (branches). Les nœuds représentent l'ancêtre commun virtuel et les branches le temps d'évolution. Plus la longueur des branches est grande entre deux isolats, plus les isolats sont divergents l'un par rapport à l'autre.

Différentes méthodes sont utilisées pour construire ces arbres, la plus utilisée est la méthode « *neighbor-joining* » ou méthode du plus proche voisin basée sur la ressemblance globale entre les séquences (*figure 3*).

3. La diversité génétique du VIH-1 en Algérie

L'Algérie est un pays situé entre l'Europe et l'Afrique subsaharienne; une étude épidémiologique moléculaire par le biais du séquençage, portant sur le polymorphisme génétique d'isolats provenant de patients algériens infectés par le VIH, a été réalisée pour identifier les sous-types circulants à travers le pays; surtout qu'aucune donnée n'était disponible dans ce contexte.

3.1. Population étudiée

Le séquençage a été réalisé à partir du plasma de 134 patients algériens porteurs du VIH-1, originaires de différentes régions d'Algérie. Il s'agit de patients contaminés par voie hétérosexuelle; l'âge moyen est de 35 ans et la charge virale est de 5,4 log en moyenne.

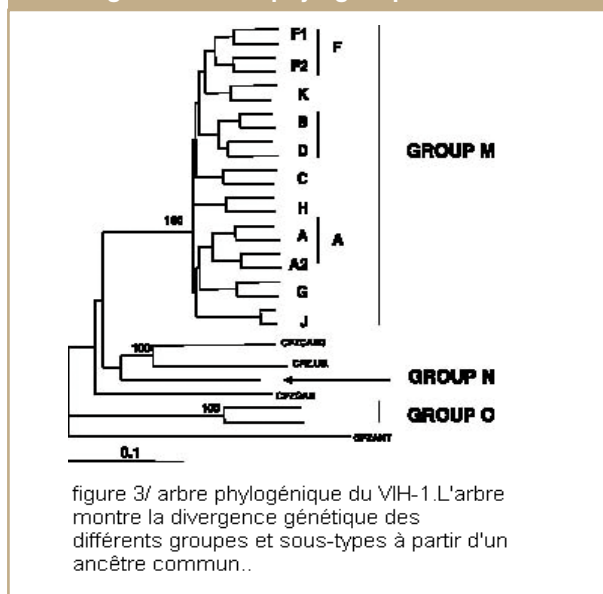
3.2. Méthodes

L'étude a été réalisée au laboratoire de virologie de l'université Victor-Ségalen (Bordeaux 2, France). Après extraction de l'ARN du VIH-1, une amplification des gènes RT (*reverse transcriptase*), Prot (protéase) et Env (enveloppe) est réalisée par RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*).

Les fragments obtenus sont séquencés grâce à un séquenceur (Beckman CEQ 2000 DNA Analysis System).

Les séquences nucléotidiques obtenues, une fois analysées et vérifiées, sont alignées avec le programme Clustal W 1.74 avec les séquences de références de sous-types M et N (<http://hiv-web.lanl.gov>)

Figure 3 - Arbre phylogénétique du VIH-1.



L'arbre montre la divergence génétique des différents groupes et sous-types à partir d'un ancêtre commun.

Un arbre phylogénétique est alors construit avec la méthode du plus proche voisin (*neighbor-joining*) pour déterminer les génotypes du VIH de chaque patient.

3.3. Résultats

Une grande diversité génétique des souches VIH-1 des patients algériens a été observée lors de cette étude. En effet, après le sous-type B qui prédomine (56 %), on retrouve du CRF 02-AG (12,7 %), du CRF 06 cpx (4 %), des inter-recombinants CRF 02-AG/CRF 06 cpx (9,7 %), suivi d'autres sous-types tel que le sous-type G, A et D [4]. La distribution géographique de ces sous-types montre que le sous-type B circule particulièrement au nord du pays, alors que les formes recombinantes (CRF) circulent surtout dans la région sud du pays.

L'émergence des sous-types non-B dans le sud de l'Algérie semble être liée à certaines circonstances : d'une part, à sa

situation géographique frontalière avec les pays d'Afrique sub-saharienne où circule la majorité des CRF ; et d'autre part à l'importance du flux de migration au niveau de cette région, venant des pays sub-sahariens vers l'Europe.

4. Conclusion

En Algérie, on note la circulation majoritaire du sous-type B, provenant probablement des pays européens; l'introduction d'autres sous-types et l'émergence des formes recombinantes tels que CRF 02-AG, provenant probablement des pays de l'Afrique sub-saharienne, nous incite à une plus grande vigilance dans la surveillance de cette infection VIH.

D'autres études sont nécessaires pour caractériser la diversité du VIH-1 en Algérie et dans les autres pays d'Afrique du Nord.

Références

- [1] Barin F., Retroviridae : les virus de l'immunodéficience humaine, A Mammette, Virol. Med. (2002) 569-594.
- [2] Barré-sinoussi F., Les VIH, rappel virologique, Impact Médecin-Guide infection à VIH (2001) 17-26.
- [3] Ben Halima M., Pasquier C., Slim A., Benchaabane T., Arrouji Z., Puel J., Ben Redjeb S., Izopet J., First molecular characterization of HIV-1 Tunisian strains, JAIDS 28(1) (2001) 94-96.
- [4] Bouzeghoub S., Jauvin V., Pinson-Recordon P., Garrigue I., Amrane A., Belabbes E., Fleury H.J., High diversity of HIV Type 1 in Algeria, AIDS Res. Hum. Retroviruses 22(4) (2006) 367-372.
- [5] Brun-Vézinet F., Damond F., Simon F., Variabilité des virus de l'immunodéficience humaine de type 1, Génétique épidémiologique, Journée SPE (1999).
- [6] Elharti E., Alami M., Khattabi H., Bennani A., Zidouh A., Benjouad A., El-Aouad R., Some characteristics of the HIV epidemic in Morocco, Eastern Mediter. Health J. 8(6) (2002).
- [7] Elharti E., Elaouad R., HIV diversity in Morocco, AIDS 11 (1997) 1781-1782.
- [8] Geretti A.M., HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management, Curr. Op. Infect. Dis. 19, (2006) 1-7.
- [9] Lan N.T., Recordon P. et al., VIH type 1 isolates from 200 untreated individuals in Ho Chi Minh City (Vietnam): ANRS 1257 study, Large predominance of CRF 01-AE and presence of major resistance mutations to antiretroviral drugs, AIDS Res. Hum. Retroviruses 19(10) (2003) 925-928.
- [10] Masquelier B., Mécanismes moléculaires de la résistance du VIH aux inhibiteurs nucléosidiques, Virologie 8(5) (2004).
- [11] Mc Cutchan F.E., Global epidemiology of HIV, J. Med. Virol. 78 (2006) S7-S12.
- [12] Mc Cutchan F.E., Understanding the genetic diversity of HIV-1, AIDS 14(suppl 3) (2000) S31-S44.
- [13] Mc Grath K.M., Hoffman N.G., Resch W., Nelson J.A., Swanstrom R., Using HIV-1 sequence variability to explore virus biology, Virus Res. 76(2) (2001) 137-160.
- [14] Osmanov S., Pattou C., Walker N., Schwadlander B., Esparza J. and the Who-Unaid Network for HIV isolation and characterization, Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000, JAIDS 29 (2002) 184-190.
- [15] Pasquier C., Millot N., Njouom R., Sandres K., Cazabat M., Puel J., Izopet J., HIV-1 subtyping using phylogenetic analysis of pol gene sequences, J. Virol Methods 94 (2001) 45-54.
- [16] Peeters M., Mulanga-Kabeya C., Delaporte E., La diversité génétique du VIH-1, Virologie 4 (2000) 371-381.
- [17] Peeters M., Sharp P.M., Genetic diversity of HIV-1: the moving target, AIDS 14(suppl 3) (2000) S129-S140.
- [18] Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R., DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 (1977) 5463-5467.
- [19] Spira S., Wainberg M.A., Loemba H., Turner D., Brenner B.G., Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance, J. Antimicrob. Chemother. 51 (2003) 229-240.
- [20] Tatt L.D., Barlow K.L., Nicoll A., Clewley J.P., The public health significance of HIV-1 subtypes, AIDS 15(suppl 5) (2001) S59-S71.