



Pôle de Biologie
Laboratoire de Virologie

Hôpital C. Nicolle
CHU Rouen

Groupe de Recherche Antimicrobiens et
Microorganismes (GRAM) / EA2656

Faculté de Médecine-Pharmacie
Université de Rouen



Origines et évolution de la diversité génétique des VIH

JC Plantier

jean-christophe.plantier@univ-rouen.fr



Laboratoire associé
au Centre National de Référence du VIH



Retroviridae - Lentivirus

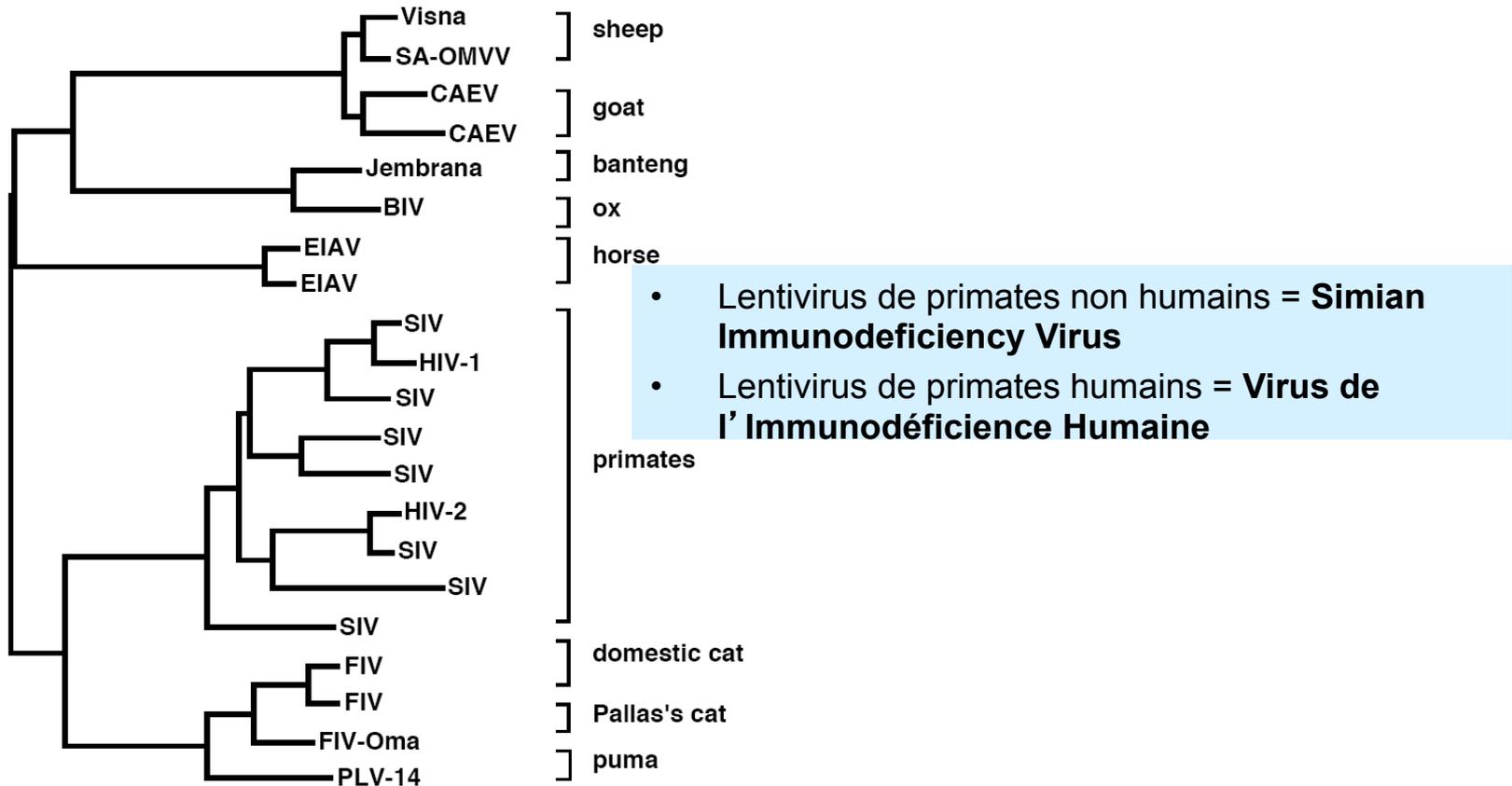


Fig. 2. A phylogeny of lentivirus Pol protein sequences. The mammalian hosts of the viruses are indicated at the right.

Les Virus de l'Immunodéficience Humaine

diversité génétique = caractéristique majeure des VIH

- **origines simiennes**

- importante **variabilité** génétique

erreurs de enzyme lors de la retro-transcription

+ multiplication intense (10 milliards de virions/J)

- **recombinaison** génomique

liée à présence de 2 virus dans une même cellule

- pression de **sélection de l'hôte**



**multitude de souches virales (variabilité) divergeant
ou se recombinant au cours du temps (diversité)**

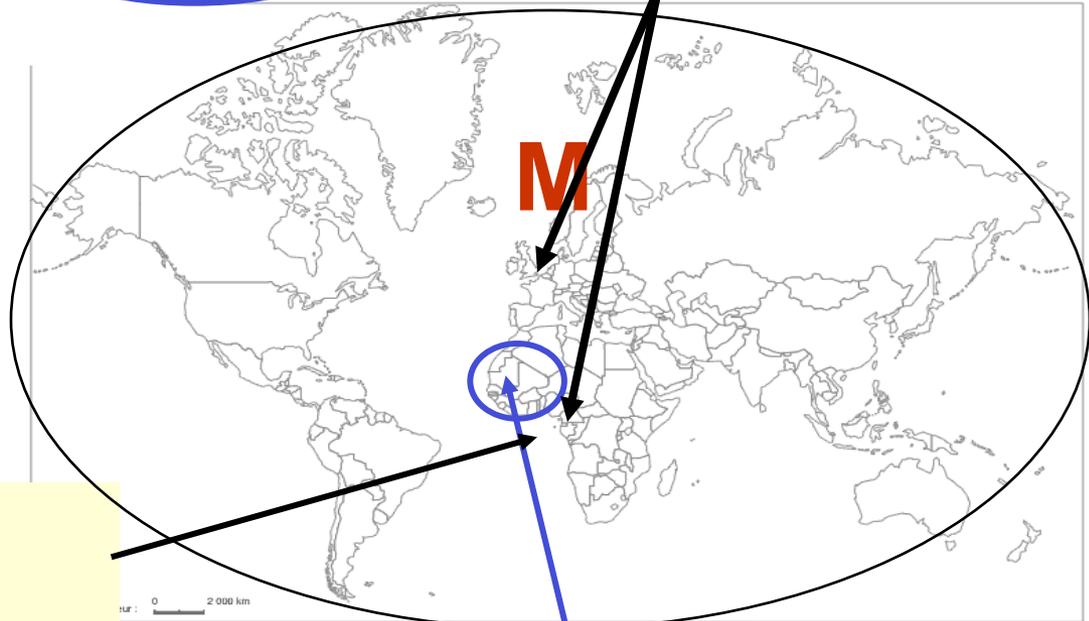
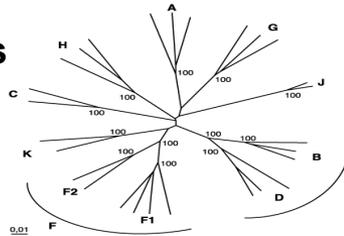
Diversité génétique actuelle

2 types

Groupe P

VIH-1 groupe M (major)

- sous-types et CRFs (Circulating Recombinant Form) (recombinants « épidémiques »)



VIH-1 groupe O (outlier)
groupe N (non-M/non-O)

VIH-2 : 8 groupes A-H

conséquences physiopathologiques,
épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques
& vaccinales

Découvertes des VIH

Découverte du VIH-1

1981 : tableau clinique inhabituel chez jeunes homosexuels américains =
infections opportunistes associées à immunodéficience sévère

=> SIDA (Syndrome d'ImmunoDéficience humaine Acquis)

agent étiologique isolé en **1983** à l' Institut Pasteur par Barré-Sinoussi et coll. = **LAV** (Lymphadenopathy Associated Virus)

= prototype des VIH-1 groupe M

= pandémie (>33 Millions de personnes infectées)

Découverte du VIH-2

1985 : mise en évidence de profils sérologiques atypiques chez prostituées à Dakar (Barin et coll., 1985)

1986 : isolement par Clavel et coll.

divergence génétique importante (> 50 % dans l' enveloppe)

=> définition **LAV-2**

révision taxonomique **VIH ou HIV de type 1 et de type 2**

= épidémique en Afrique de l' Ouest

500 000 à 1 million de personnes infectées

Découverte des variants non-M du VIH-1

VIH-1 groupe N

1998 : souche YBF30 isolée chez une patiente camerounaise († sida 1995)

= sérum ++ sur Ag enveloppe d'un SIVcpz / Ag VIH-M et VIH-O
=> VIH-1 groupe N : « non-M, non-O »

= décrit uniquement au Cameroun, très rare
= 16 cas depuis 1998

VIH-1 groupe P

2009 : variant RBF168, isolée chez une patiente camerounaise asymptomatique, en France depuis 2004

= profil VIH-O, absence d'amplification génome par PCR groupe O spécifique

génomome complet **≠ VIH-M, N et O**
= lié au **SIVgor** (gorilles des plaines du Cameroun)

=> nouvelle lignée : VIH-1 groupe P

2^{ème} cas au Cameroun, chez un patient camerounais prélevé en 2006

Origines des VIH

1989

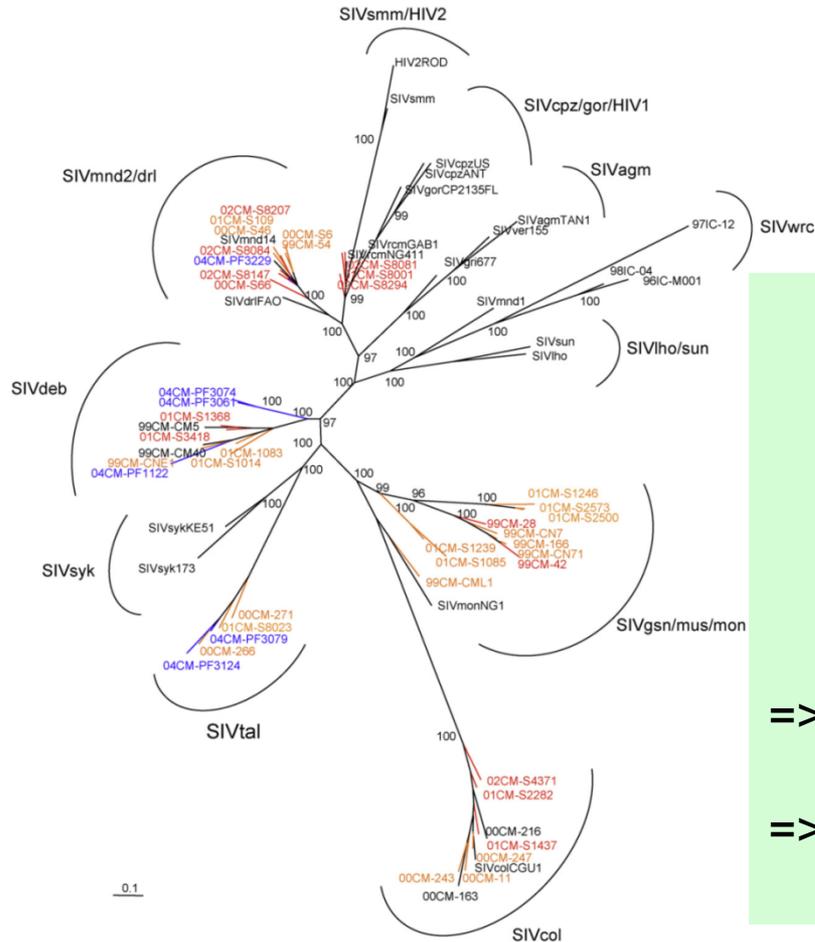
description d' un SIV apparenté au VIH-1

SIVcpzGab : chimpanzé *Pan troglodytes troglodytes* (VIScpzPtt)

=> forte suspicion réservoir simien

Diversité SIV chez les Primates Non Humains PNH

40 espèces séropositives SIV
32 SIV différents



- variabilité virale

- co-évolution virale avec l' hôte

- recombinaison

- passage inter-espèces

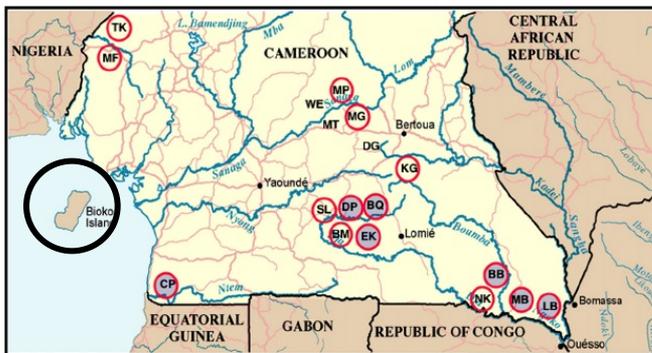
=> SIV spécifique d' espèce; lignée monophylétique

=> SIV chez plusieurs espèces; émergence de recombinants

Diversité SIV chez les Primates Non Humains PNH

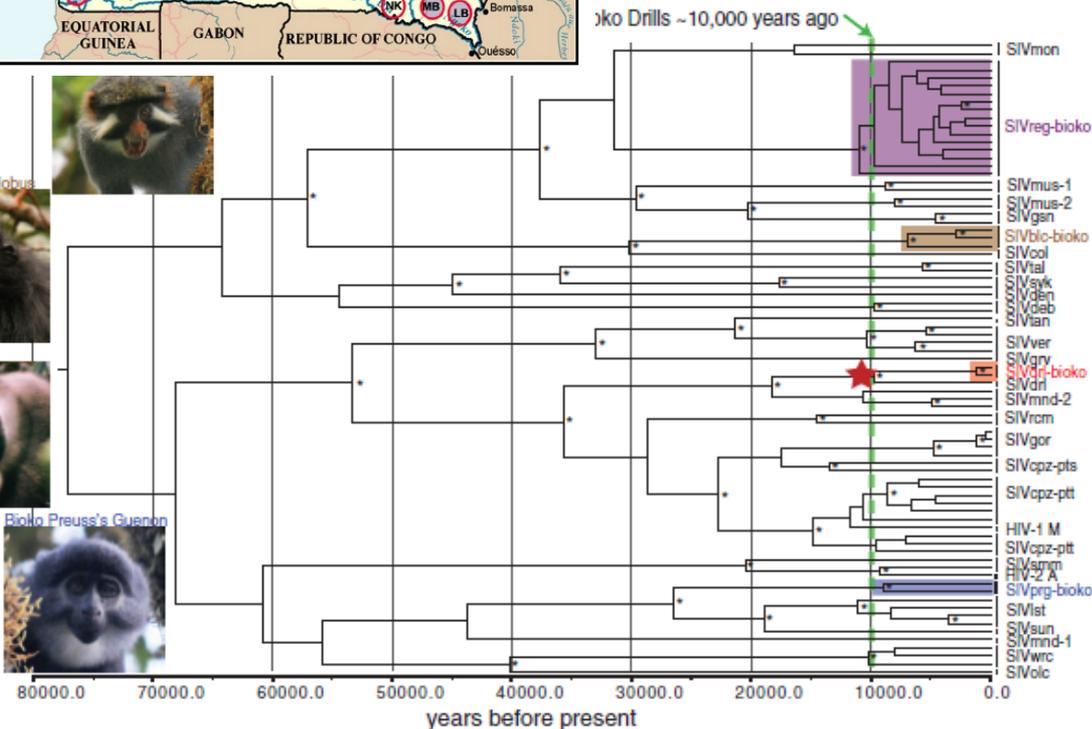
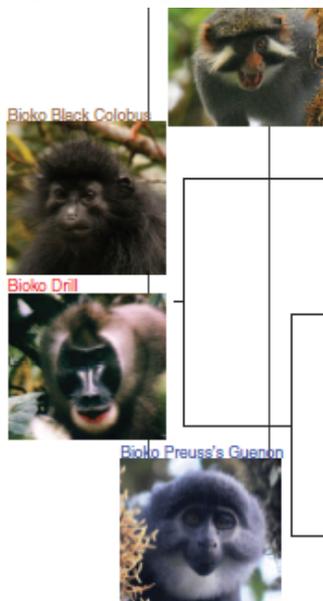
Île de Bioko, Guinée équatoriale

isolée du continent africain
10 000 – 12 000 ans



présence de singes porteurs de SIV (4 des 6 espèces testées; prévalence 22-33%)

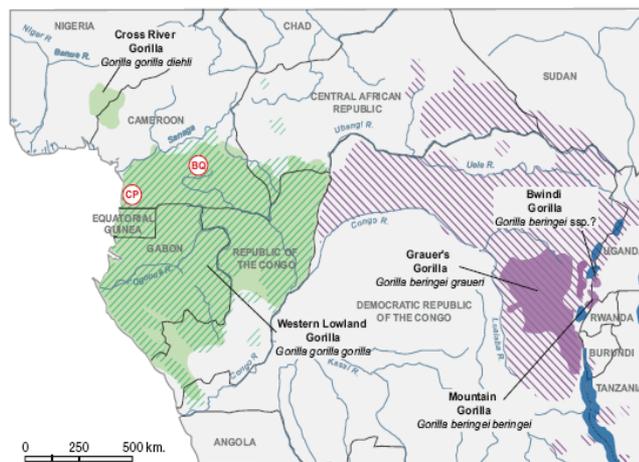
nouvelles « lignées », ancêtres communs avec SIV espèces continent



HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUSES

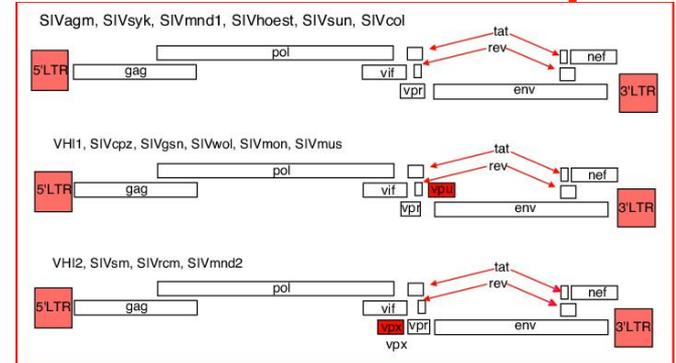
SIV infection in wild gorillas

- origine = lignée SIVcpzPtt
- SIVgor = propriétés biologiques capables d'induire une infection chez l'homme (co-récepteur, isolement sur cellules humaines) (Takehisa et coll., J Virol, 2009)
- infection endémique chez Gorille (2 pop. infectées à 400 km de distance / clusters géographiques / co-évolution)
- réservoir potentiel / transmissibilité à l'homme ?



- similarité de l'organisation du génome viral
- lien phylogénétique
- prévalence chez l'hôte naturel
- superposition géographique
- existence de voies potentielles de transmission (chasse, dépeçage, animaux domestiques)

= arguments en faveur d'une origine simienne



Bushmeat / viande de brousse

Adaptation des SIV à l'Homme

Comparaison séquences des génomes entiers
VIH-1 et VIScpz

VIH-1 M, N et O
30R (Arg, basique)

VIScpzPtt, VISgor et VIH-P RBF168
30M (Met, hydrophobe)

M30R = changement **adaptatif** spécifique du passage
chez l'homme

mutagenèse dirigée et répllication *in vitro* cellules
humaines et chimpanzés

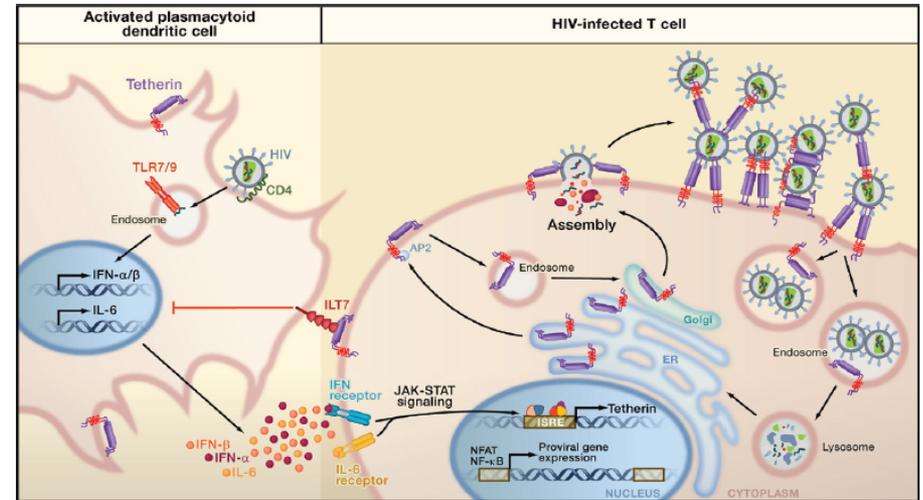
=> **réplication diminuée**

p17 Gag	26				30				34				
HIV-1 group M ancestor	K	K	K	Y	R	L	K	H	L				
HIV-1 group N ancestor	-	-	-	-	-	M	-	-	-				
HIV-1 group O ancestor	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
SIVcpzPtt (MB66)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (MB897)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (LB7)	R	-	R	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (MT145)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (EK505)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (CAM13)	R	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (CAM3)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (CAM5)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (DP943)	-	-	-	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (GAB1)	R	-	R	-	M	M	-	-	-				
SIVcpzPtt (GAB2)	R	-	R	-	M	M	-	-	I				
SIVcpzPts (ANT)	-	-	-	-	M	I	-	-	-				
SIVcpzPts (TAN1)	R	-	-	-	L	I	-	-	-				
SIVcpzPts (TAN2)	R	-	-	-	L	I	-	-	-				
SIVcpzPts (TAN3)	R	-	-	-	L	I	-	-	-				
chimpanzee HIV-1 JC16	-	-	-	-	M	-	-	-	I				
chimpanzee HIV-1 NC7	-	-	-	-	M	-	-	-	I				

Adaptation des SIV à l'Homme

téthérine : facteur de restriction cellulaire à activité antivirale

= rôle majeur dans évolution adaptative des SIV
 = inhibe relargage des virus enveloppés en «attachant» les virions naissants à la membrane cellulaire.



action téthérine **contrecarrée**

- Chimpanzé : **Nef SIVcpz**
- Homme

Malgré ces possibles limites d'adaptation, les variants non-M sont **pathogènes** pour l'Homme, et les **charges virales** plasmatiques de ces virus sont **importantes**.

⇒ réintroduction
diffusion

Raisons de faible diffusion multi-factorielles.

- = diffusion importante VIH-M / variants non-M ?
- = autre protéine ? Env ?

						VIH-O
						+
						-
Vpu	CD4	+	+	+	-	+
	Téthérine	-	-	+	+	-

Origines des épidémies VIH-1 (quand?)

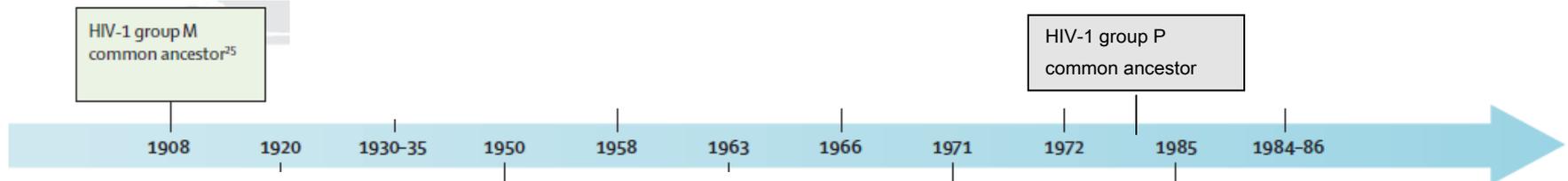
datation moléculaire : **ancêtre commun le plus récent (MRCA)**

VIH-M	début du XXe siècle (1884-1924)
VIH-O	années vingt (1890-1940)
VIH-N	1963 (1948-1977)
VIH-P	1971-1989
VIH-2	1930-1940 (☒ 15 ans)

échelle de temps évolution VIH-O
similaire à VIH-M

Plus ancien prélèvement VIH-O positif :
1960 (marin norvégien)

Plus ancien prélèvement VIH-M positif :
1959 (Zaire)

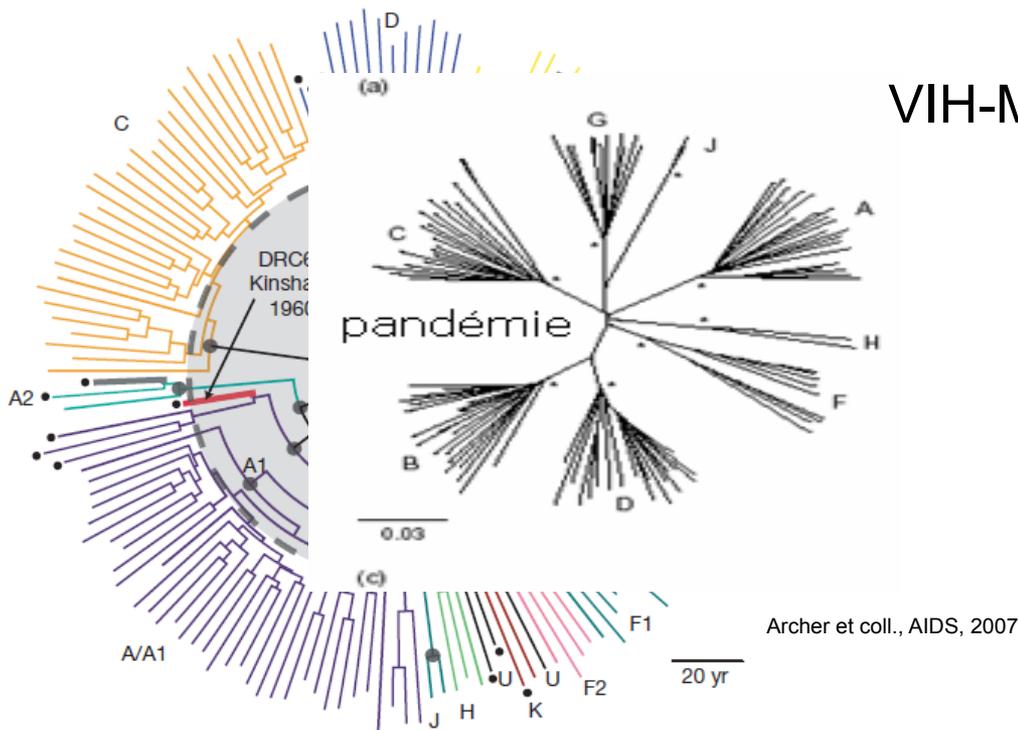


Origines des épidémies VIH-1 (où?)

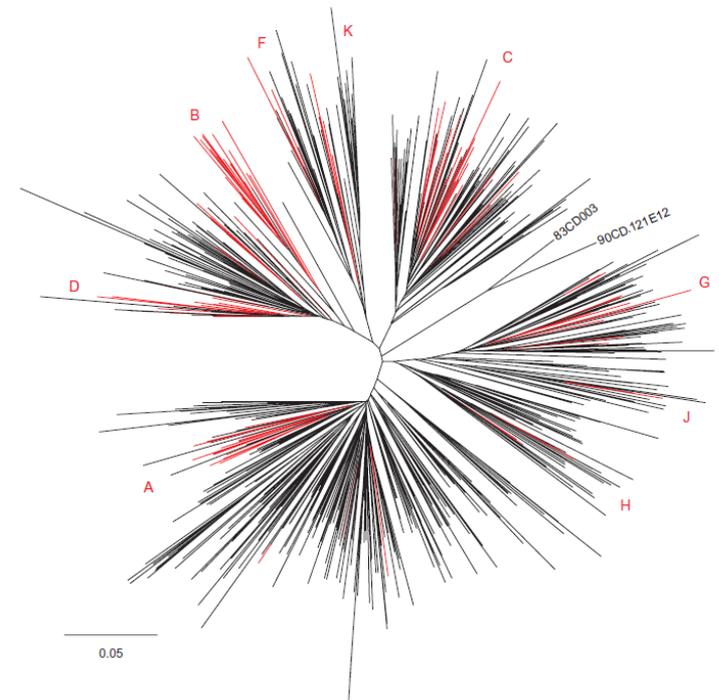
Cameroun : épicode transmission cpz/gor – Homme

Zaïre : épicode épidémie VIH-1 M

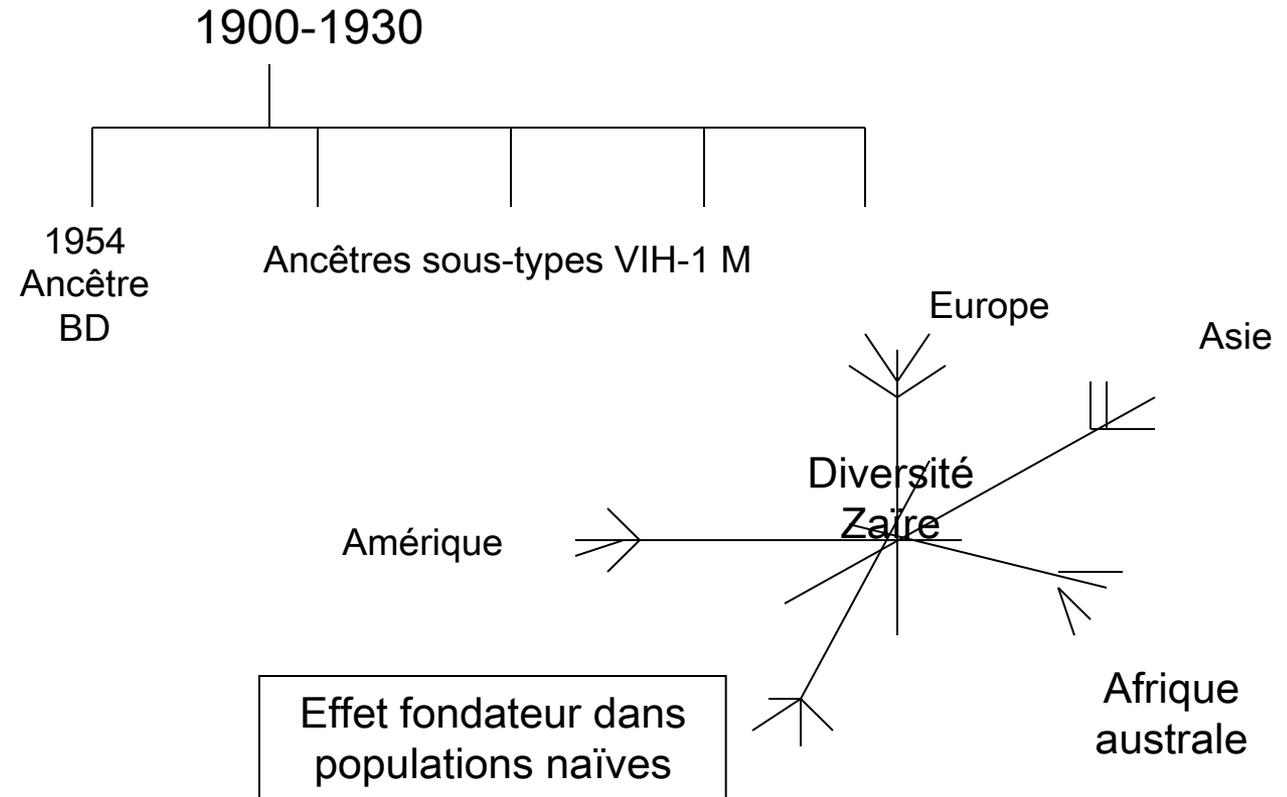
- diversité importante déjà en 1960 (Worobey et coll., Nature 2008)
- milieu des années 80 et fin 90 (Archer et Robertson, AIDS, 2007)



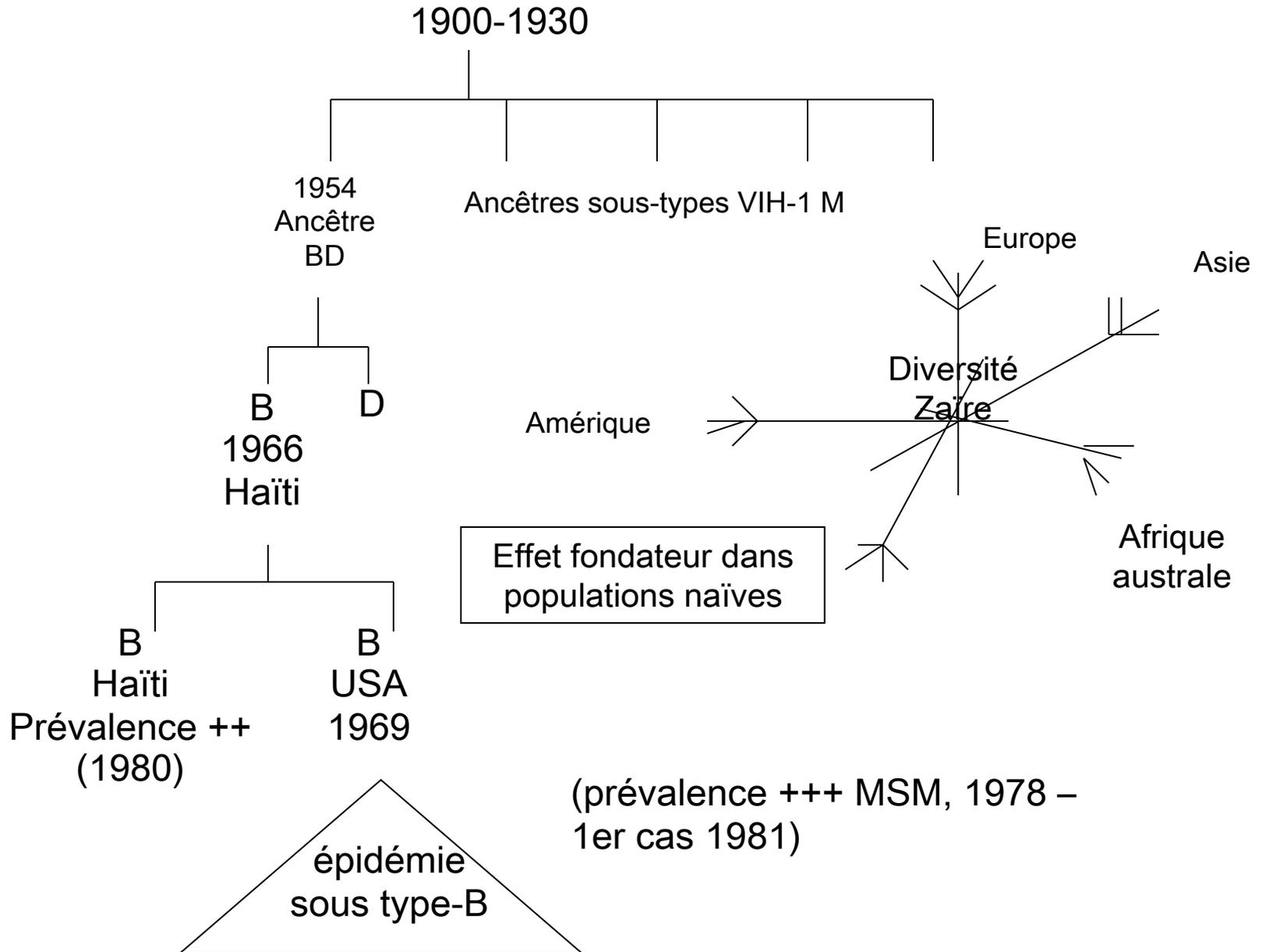
VIH-M



Epicentre VIH-1 M : ex. Zaïre

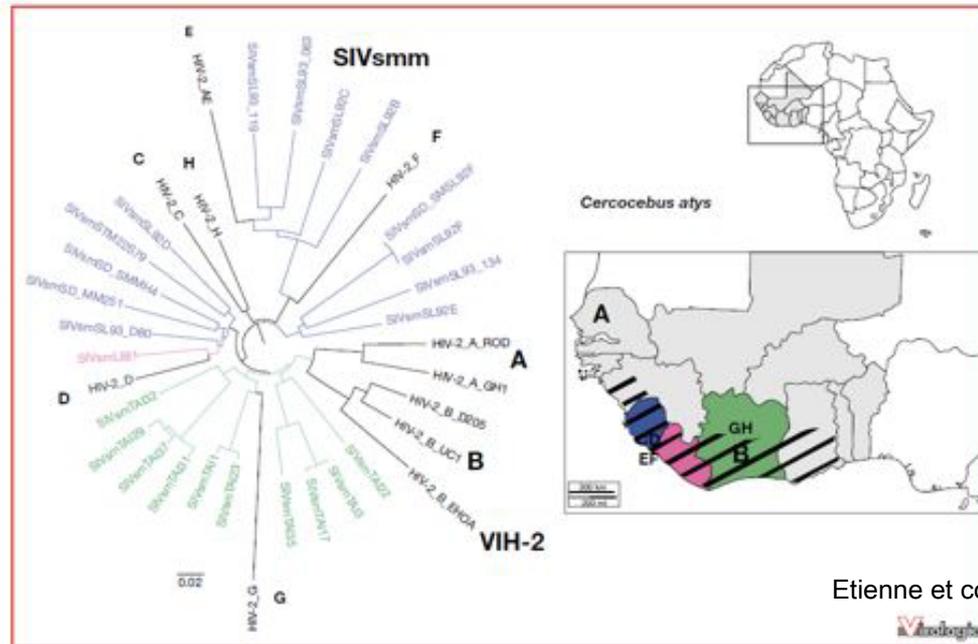


Epicentre VIH-1 M : ex. Zaïre



Origines des épidémies VIH-2 (où?)

Afrique de l' Ouest : épicode transmission smm – Homme



épidémie VIH-2:

VIH-2 A épicode : Guinée-Bissau

VIH-2 B épicode : Côte d'Ivoire

Évolution de la diversité génétique des VIH

Diversité génétique des VIH-1

Groupe M (pandémique)

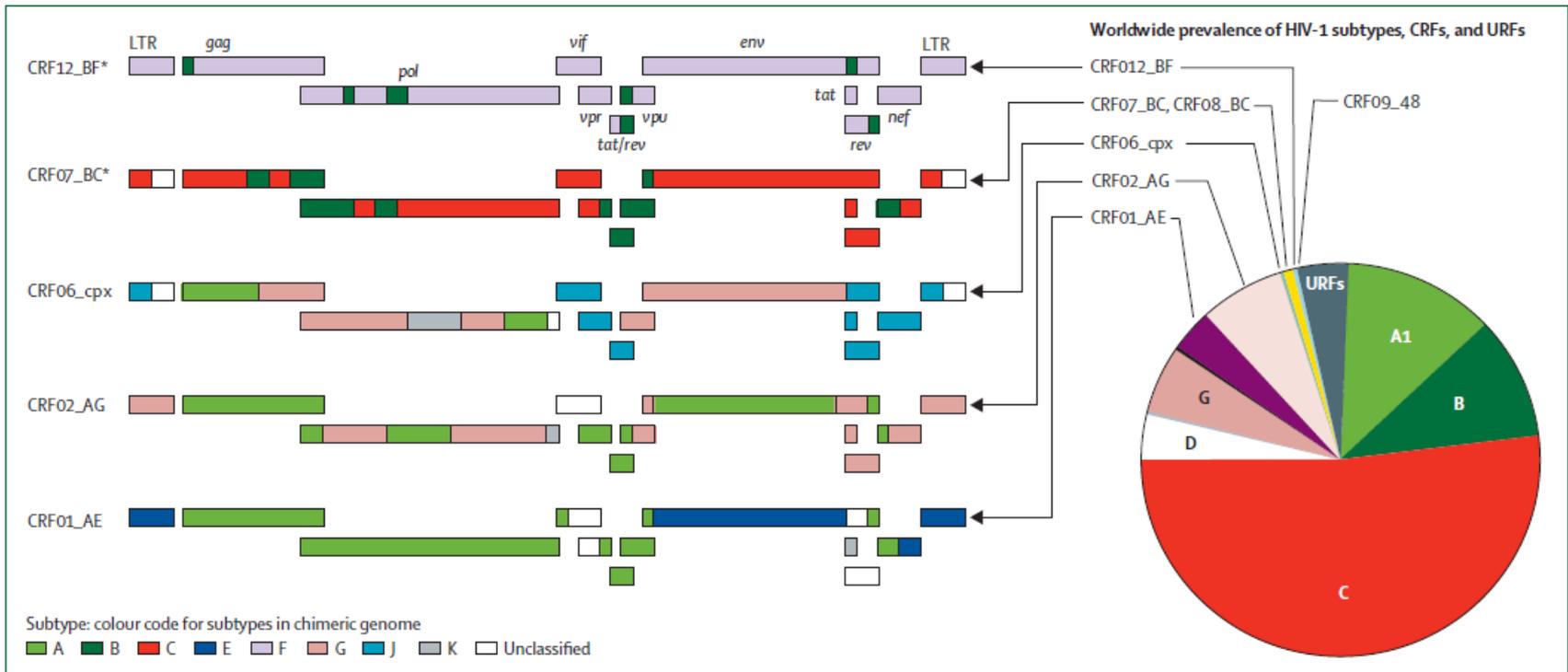
Groupes N & O (endémiques au Cameroun)

Variabilité génétique

Principe général

- Source majeure de variation = processus de réplication (mutations)
- Réplication = ARN polymérase ARN-dépendante virale = RT
- ARN simple brin → RT → ADN double brin → intégration → ADN intégré
- Faible fidélité de l'enzyme = taux erreur : 1 à 10 mutations / génome / cycle
 - + forte réplication : 10^9 à 10^{10} virions/ jour
 - = Multitude de variants (quasi-espèces) = soupe virale
- Accumulation des erreurs et sélection au cours du temps
 - = divergence au cours du temps intra-patient

Diversité génétique des VIH-1 M



VIH-1 groupe M (> 30 Millions inf.)

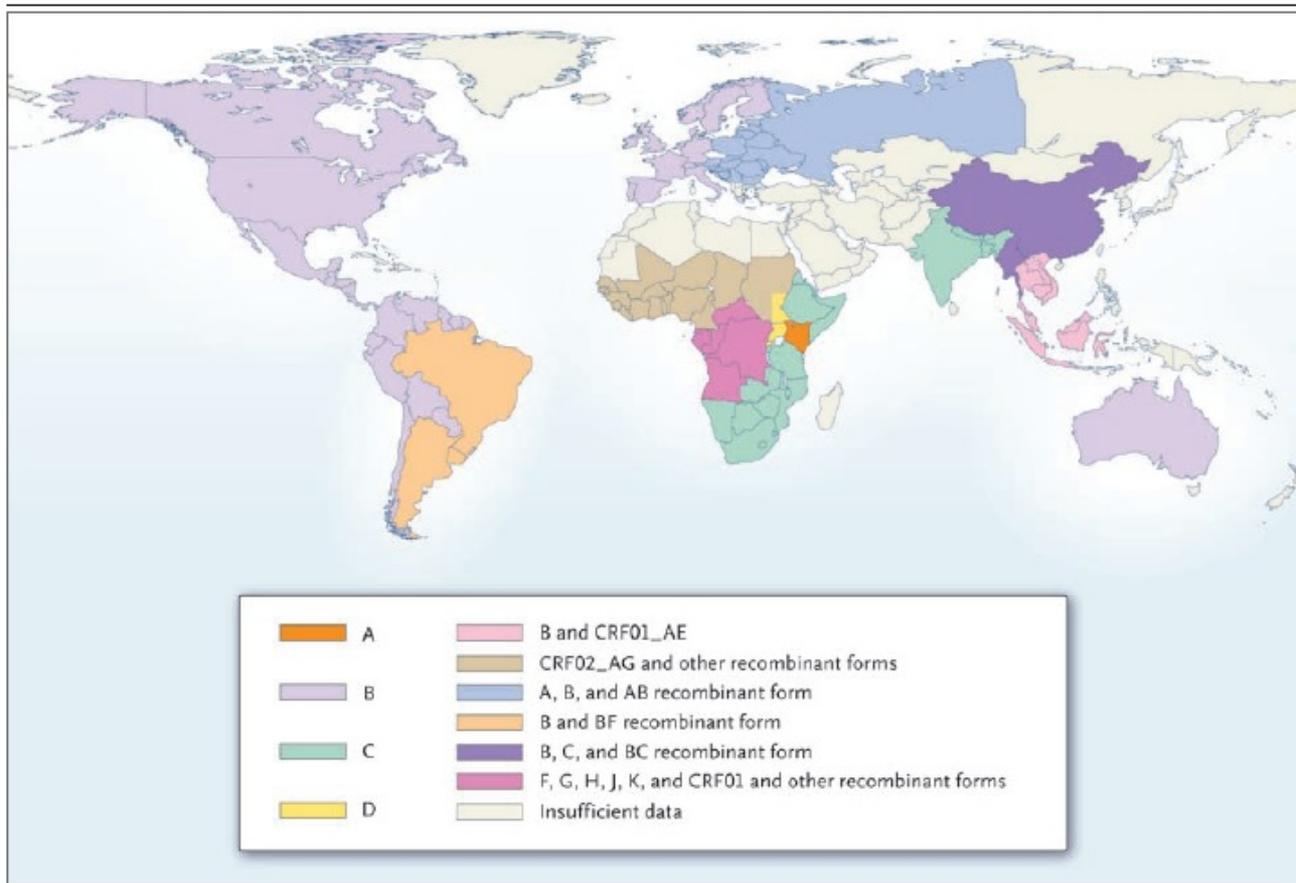
9 sous-types non recombinants (20-30% divergence)

A-BD-C-F-G-H-J-K

>50 CRFs (20% des infections) et 100^{taines} Unique Recombinant Forms

Diversité génétique des VIH-1 M

Épidémiologie moléculaire



Diversité génétique des VIH-1 M

Archer et Robertson, AIDS, 2007

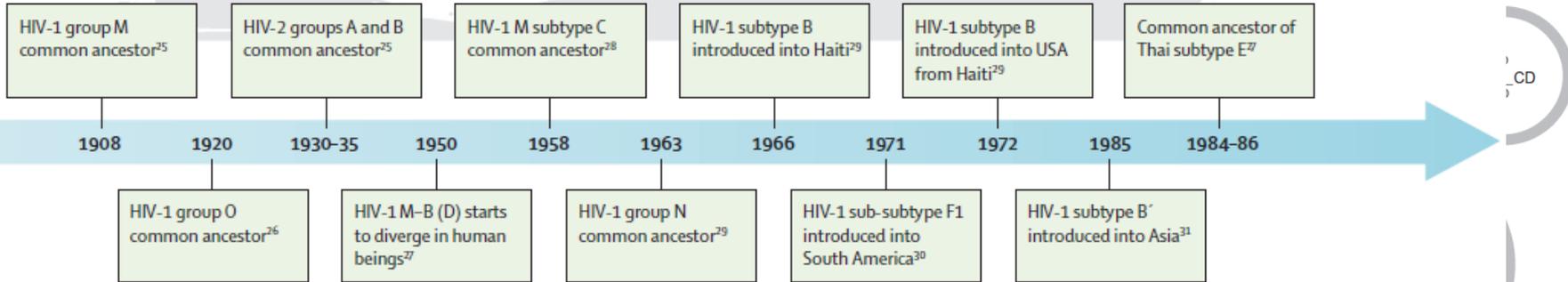
▪ sous-types non recombinants

A-BD-C-F-G-H-J-K

= reflet d'effets fondateurs d'épidémies
(évolution discontinue)

suivis d'une diversification

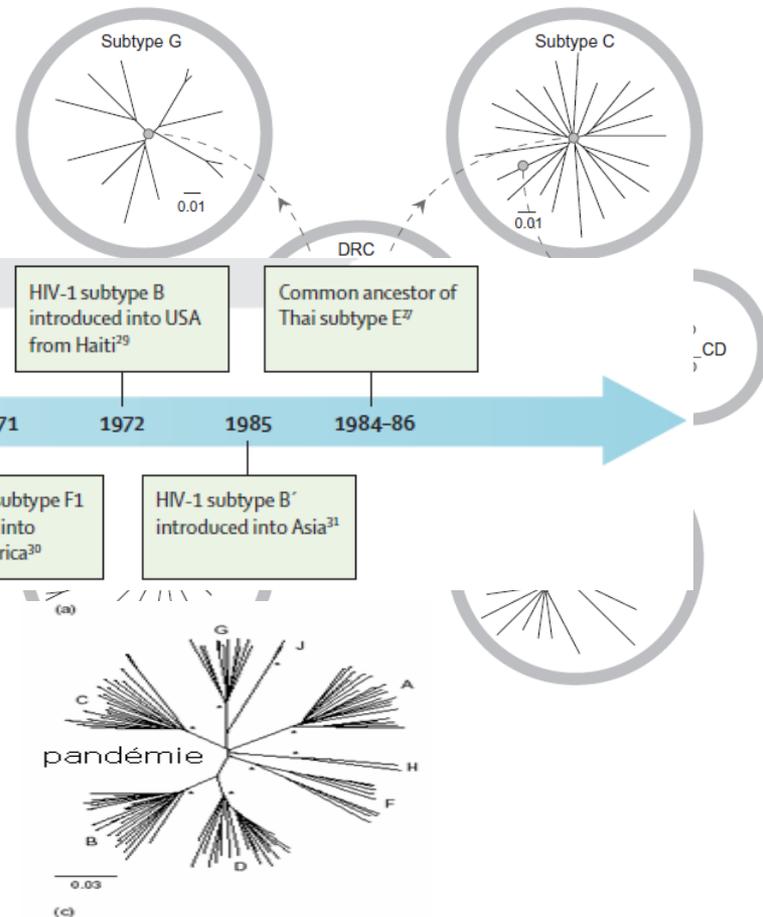
- accumulation mutations (erreur RT)



F1-F2

B & D

= clusters épidémiologiques



Recombinaison des VIH

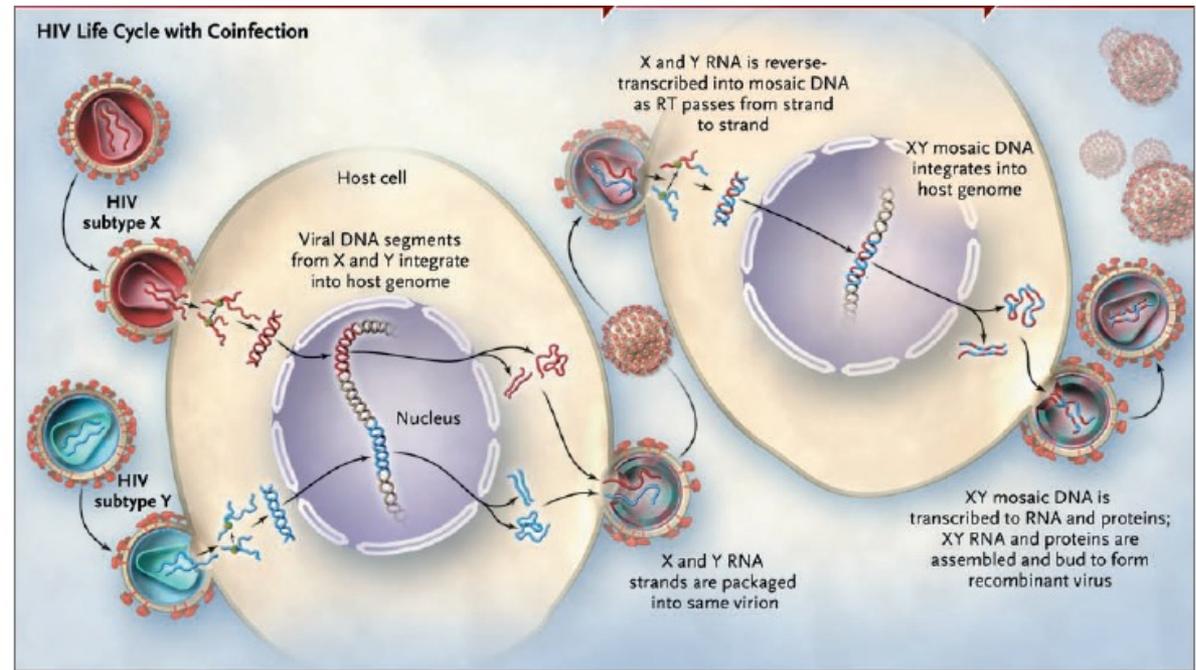
Infection par VIH = absence de protection

individu & cellules cibles

- surinfection
- co-infection



recombinaison



Taylor et al., NEJM, 2008

Principaux facteurs influençant la recombinaison

- **Formation de virions hétérozygotes** : implique la « compatibilité » des ARN (séquence DIS) et des protéines (assemblage des virions)
- **Homologie locale de séquence** : résultats contradictoires
- **Structures secondaires de l'ARN**
- **Pressions de sélection *in vivo*** : distribution des points de recombinaison le long du génome → sélection négative liée à des contraintes fonctionnelles

→ Fréquence différente en fonction des gènes

35 % *env*

25 % *gag*

20 % *pol*

10 % *gènes accessoires*

Formes recombinantes des VIH-1 M

Surveillance émergence CRF en France

- sous-type B majoritaire
- augmentation des non-B (CRF02_AG)

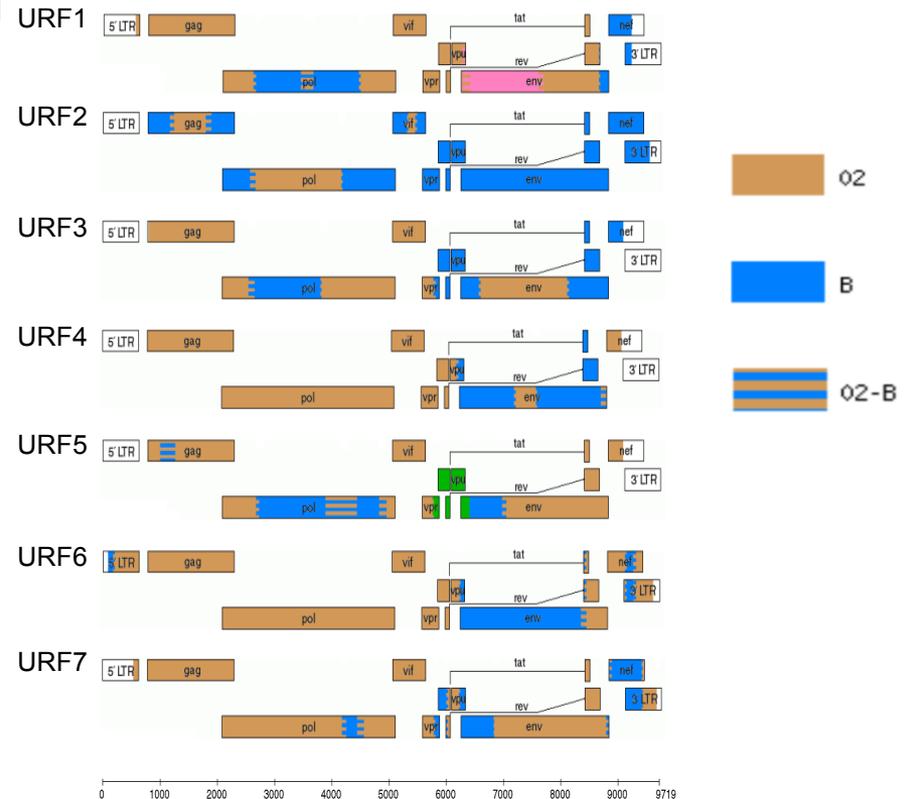
circulation dans la population MSM
 pratiques à risques
 incidence
 risque surinfections

**Signes précurseurs =
 7 URF B/02 (MSM +++)
 mieux adaptés que les formes
 parentales (meilleur fitness)?**

Circulation of multiple patterns of unique recombinant forms B/CRF02_AG in France: precursor signs of the emergence of an upcoming CRF B/02

Marie Leoz^{a,b}, Marie-Laure Chaix^c, Constance Delaugerre^d,
 Claire Rivoisy^c, Laurence Meyer^e, Christine Rouzioux^c,
 François Simon^d and Jean-Christophe Plantier^{a,b}

AIDS 2011, 25:1371–1377



Diversité génétique des VIH-1

Groupe M (pandémique)

Groupes N, O, P

Cameroun = **endémicité** des infections non-M
= **berceau** des groupes de VIH-1 actuels
= **diversification** de l'épidémie
(existence de réservoirs simiens à proximité
d'une population humaine importante)

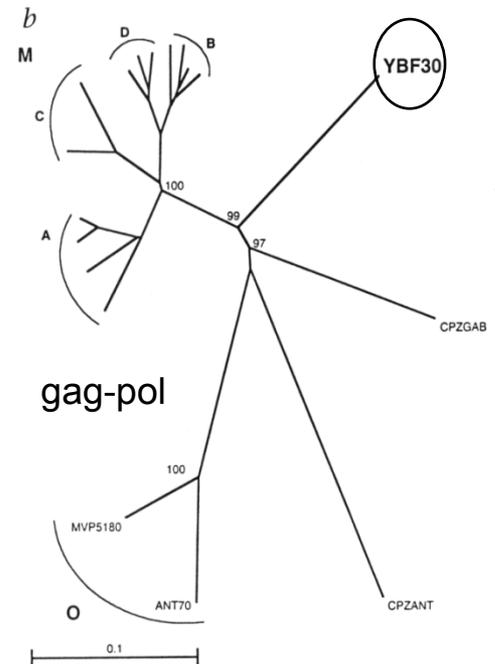
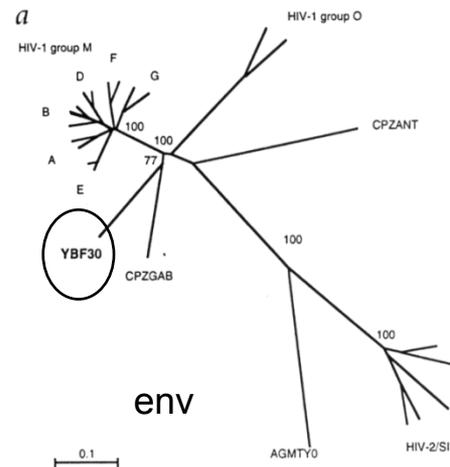
VIH-1 groupe N (non M – non O)

16 cas décrits actuellement, uniquement au Cameroun

8 génomes quasi complet

profil associant **Enveloppe SIVcpz** et région **Gag Pol** lignée **VIH-M**

<= événement antérieur de **double infection et de recombinaison** entre deux lignées de VIScpz chez un hôte chimpanzé



forte homogénéité intragroupe + faible prévalence
= introduction relativement récente et
non-diffusion ? (MRCA: 1960)
= extinction du groupe N ?

VIH-1 groupe N (non M – non O)

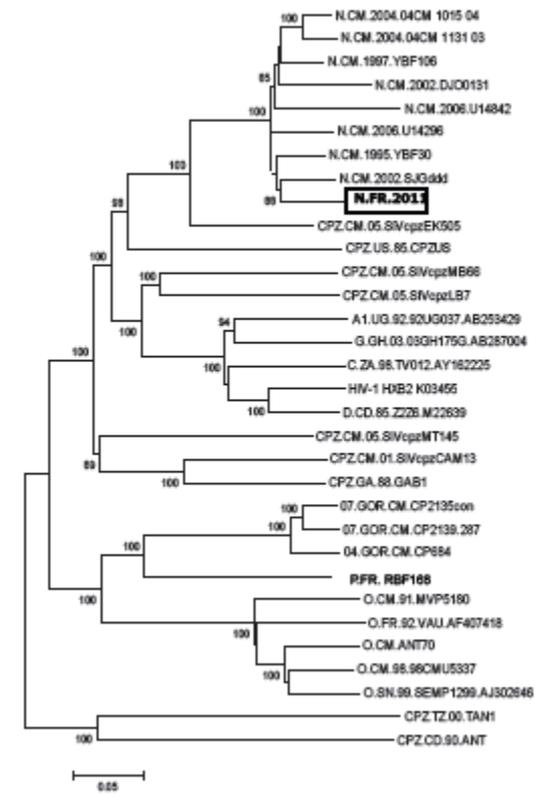
HIV-1 group N: travelling beyond Cameroon

www.thelancet.com Vol 378 November 26, 2011

Constance Delaugerre, Fabienne De Oliveira, Caroline Lascoux-Combe, Jean-Christophe Plantier, François Simon

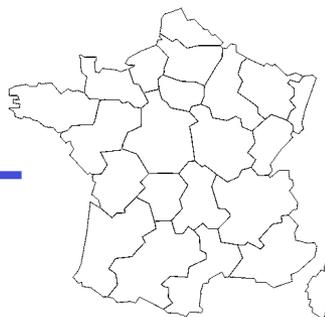
- 1ère description de primo-infection HIV-N
- en France ! chez une personne d'origine togolaise
- circulation en dehors du Cameroun
- pas de difficulté diagnostique majeure :
 - sérologie positive
 - charge virale Cobas Taqman v2.0 = 4.2 Log copies/ml (Abbott 3.2 Log !)
 - mais non amplifiable pour recherche résistance (ViroSeq ou ANRS)

Évolution génétique et propriétés virologiques par rapport aux souches identifiées au Cameroun ?



VIH-1 groupe O (outlier)

RES-O (Rouen) : 134 patients (depuis 1992)

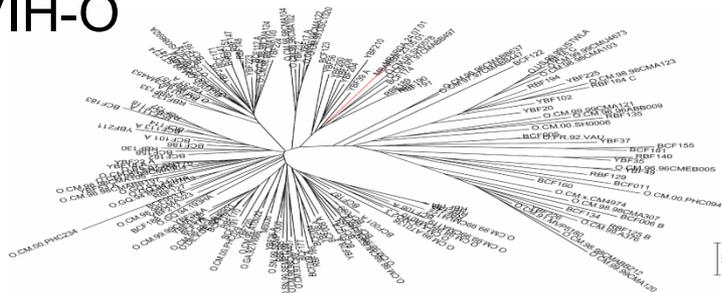


Cameroun : prévalence : 1 % PvVIH
(Vessière et coll., J AIDS, 2009)

importante **divergence** / VIH-M

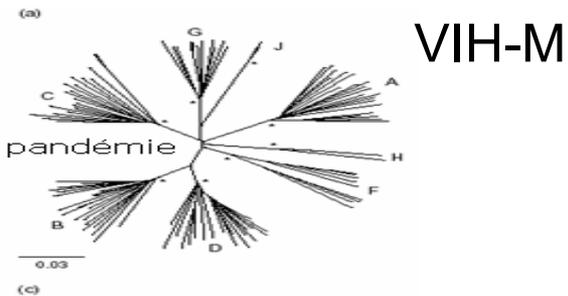
- 50% **divergence** au niveau **enveloppe**
- diversité **VIH-O** > **VIH-M** (topologie distincte)

VIH-O



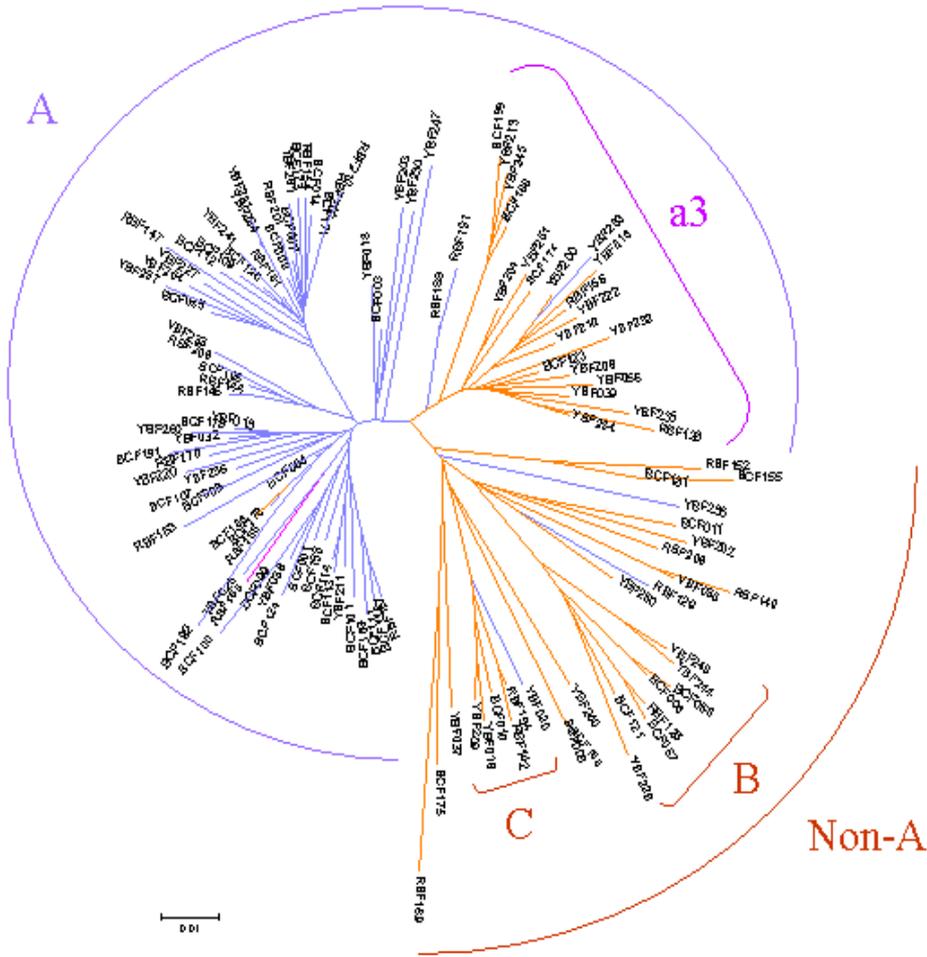
Rouen, CPC & database

Leoz et coll., AIDS, 2008



Archer et coll., AIDS, 2007

VIH-1 groupe O (outlier)



diversité **intra-groupe importante**

= **clades** (virus moins proches génétiquement que sous-types VIH-M)

3 clades (A, B et C)

202 virus (France + Cameroun)

- **79 % clade A**
- 4 % clade B
- 5 % clade C
- 12 % liés à aucun clade

- transmissions entre individus à une **échelle géographique restreinte (continuum diversité)**

- effets fondateurs de **micro-épidémies** représentés par les clades A, B et C

- particularité unique aux VIH-O = **Y181C** (résistance naturelle aux INNTI) **clade dépendant**

Evolution de la diversité génétique VIH-M / VIH-O par recombinaison

existence et circulation forme recombinante MO

- émergence d'un CRF MO ?
- profil particulier de recombinaison nécessaire ?
- « survie » VIH-O ?

Hot spot Vpr

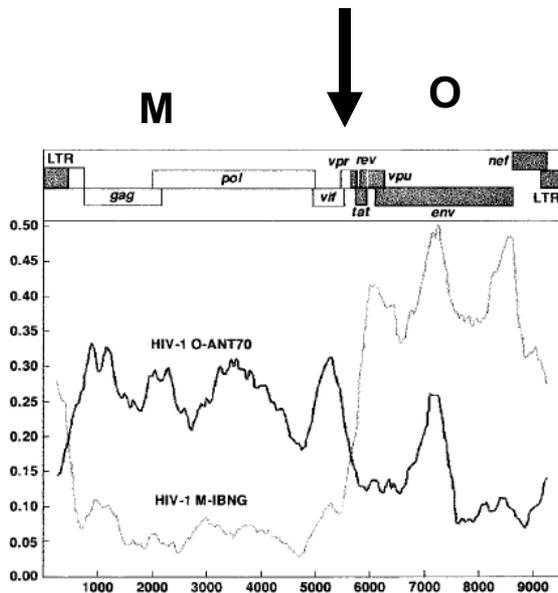
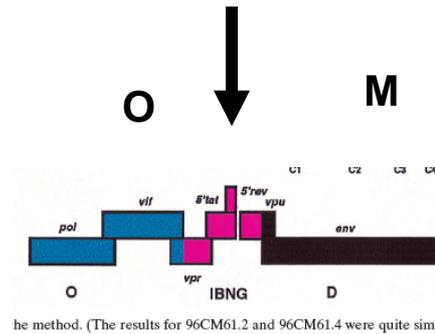
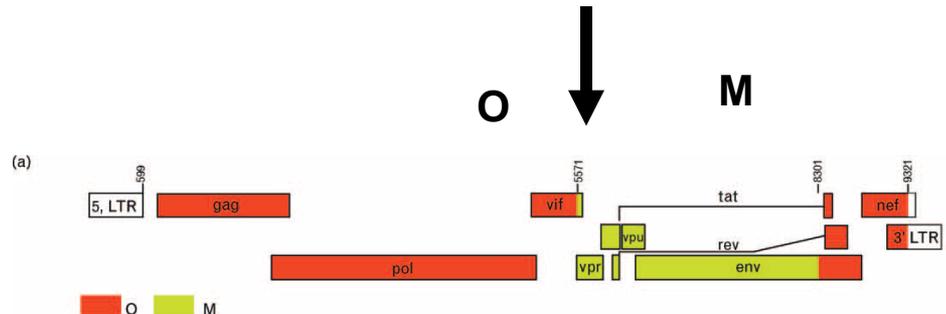


FIG. 1. Diversity plot analysis of the intergroup M/O recombinant HIV-1 strain (97CA-MP645) versus HIV-1_{IBNG} (an A/G intersubtype HIV-1 group M recombinant strain) and HIV-1_{ANT-70}. By using the DIVERT program, which examines the extent of sequence divergence between a sequence and reference sequences, pairwise comparisons were done in an incremented window. A window size of 500 nucleotides with an increment of 50 was used. The vertical axis shows the genetic differences, expressed as percentages, between the 97CA-MP645 M/O recombinant strain and the two reference strains. The horizontal axis shows the genetic positions on the HIV-1 genome. This program is available online at the ANRS website (1).



the method. (The results for 96CM61.2 and 96CM61.4 were quite similar)

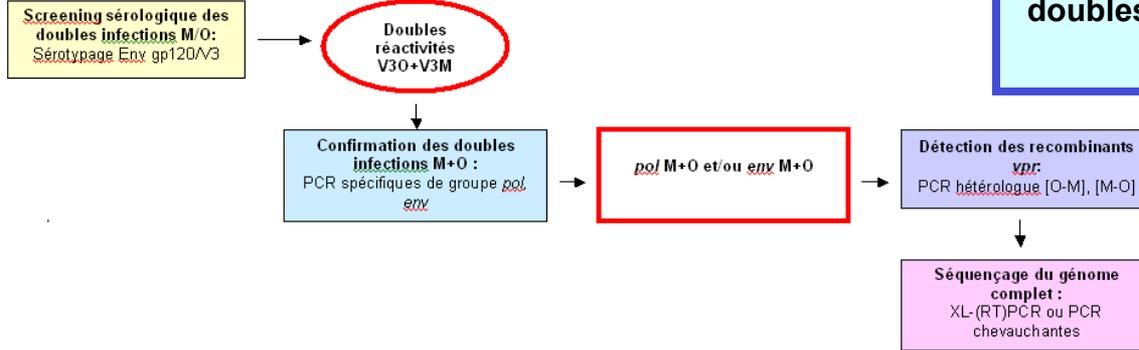


Evolution de la diversité génétique VIH-M / VIH-O par recombinaison

Algorithme de **dépistage séro-moléculaire de doubles infections et formes recombinantes M/O (France –Cameroun)**

Doctorat : A Vessière 12.2009

(Vessiere et coll. CROI, 2011)

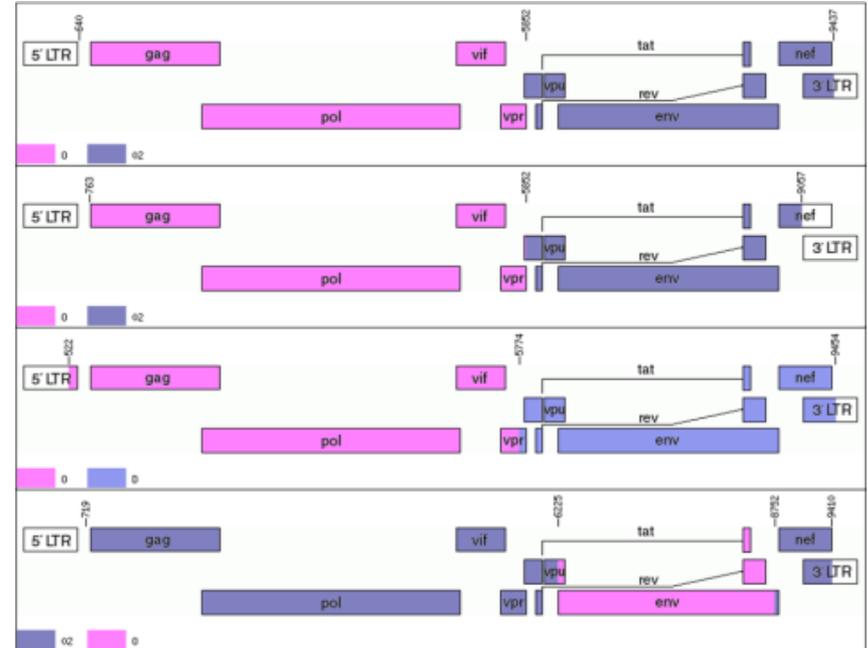


10% double-infections sérologiques M+O (VIH-O positifs)

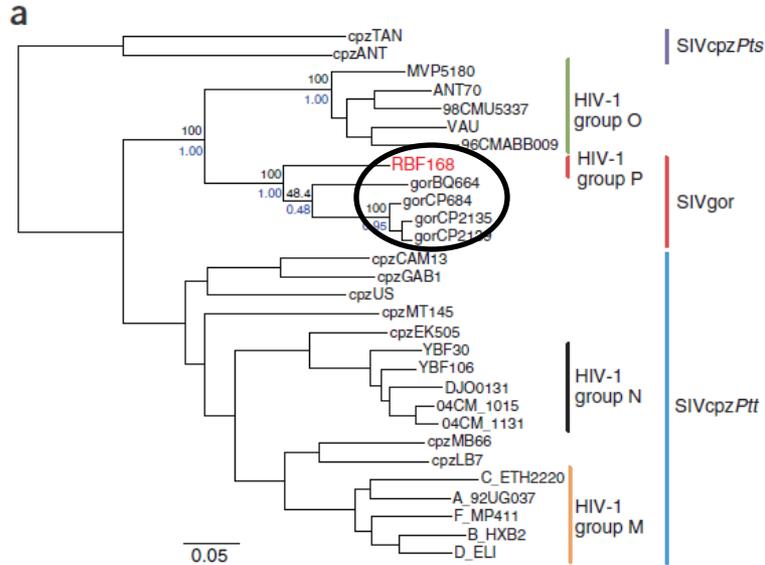
10 nouveaux recombinants M/O identifiés (9 au moins un point de recombinaison dans Vpr)

formes recombinantes **uniques M/O** (pas de profil commun)

Conséquences potentielles des mosaïques MO sur **dépistage et prise en charge**



VIH-1 groupe P



A new human immunodeficiency virus derived from gorillas

Jean-Christophe Plantier¹, Marie Leoz¹, Jonathan E Dickerson², Fabienne De Oliveira¹, François Cordonnier³, Veronique Lemée¹, Florence Damond⁴, David L Robertson² & François Simon⁵

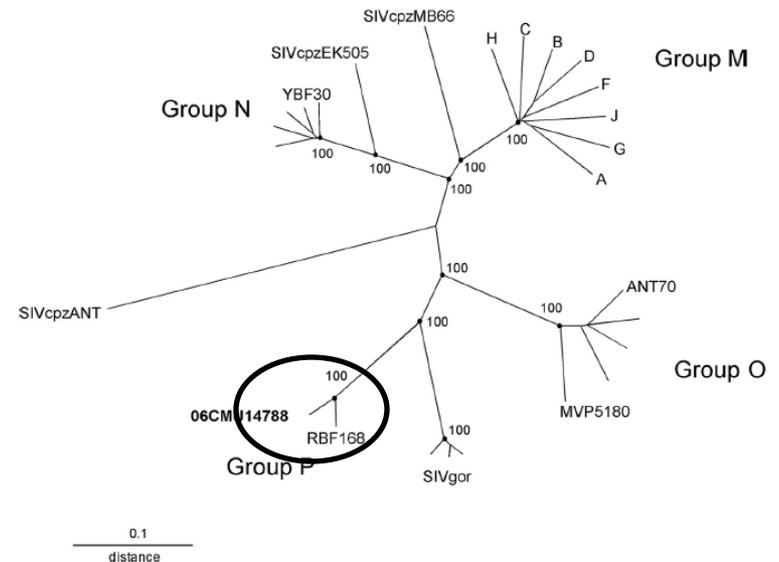
VOLUME 15 | NUMBER 8 | AUGUST 2009 **NATURE MEDICINE**

1^{er} cas VIH lié phylogénétiquement au SIVGorille

Pas de recombinaison avec SIV ou VIH

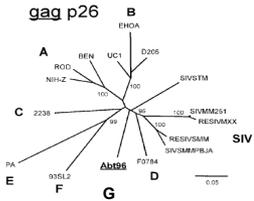
2^{ème} cas : un peu éloigné phylogénétiquement en faveur d'une **lignée humaine circulante** (récente ou en extinction ?)

En émergence ou en extinction



Diversité génétique VIH-2

- VIH-2 : 8 groupes A-H
- introduction par autant de SIVsm différents
- forme recombinante inter-groupe A et B (CRF01_AB)



A : côte atlantique de l'ouest Africain
B : Mali, Côte d'Ivoire
C-H : Liberia, Sierra Leone, Côte d'Ivoire
(impasse épidémiologique)

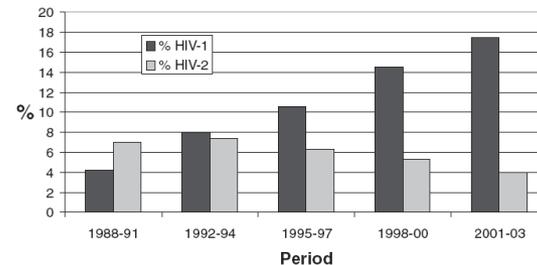


Baisse de prévalence depuis 20 ans
(Gambie, Guinée-Bissau & Sénégal)

(da Silva, AIDS, 2008)

Extinction HIV-2 ?

Pas de recombinant HIV 1+2



1 Prevalence of HIV-1 and HIV-2 among patients attending MRC clinics The Gambia, 1988-2003 (Patients infected with both HIV-1 and are included in both HIV categories)

CONCLUSION

= puissant marqueur épidémiologique

- dynamique de l' infection
- diffusion des différents variants fonction des populations
- émergence de nouvelles formes

- 
- difficultés de dépistage sérologique de certains variants divergents
 - absence de détection génomique ou sous-quantification de certaines souches par certaines trousse

- 
- **résistance naturelle de souches divergentes à certains traitements anti-rétroviraux**
 - émergence de résistance différente en fonction des souches

importance de identification du variant pour prise en charge adaptée
(suivi, traitement, diagnostic mère-enfant)

CONCLUSION

- Diversité génétique VIH/SIV = dynamique perpétuelle
 - Dynamique de transmission
 - Dynamique d'évolution (par recombinaison)
 - Encore plein d'inconnues
- Diversité génétique = complexification épidémie = pas de frontières
 - Émergence de nouvelles formes
 - Découverte de formes divergentes peu circulantes
 - Sélection de formes plus adaptées



Merci de votre attention