

COMPTE-RENDUS DE SÉANCES

Séance de communications libres.

Institut Pasteur, (amphithéâtre Monod), 25 rue du Docteur-Roux, 75015 Paris.
Mercredi 18 octobre 2006, 14 h.

Caractérisation moléculaire du VIH-1 et premières données de la résistance aux antirétroviraux au Cambodge.

N. Ly

Institut Pasteur, Cambodge.

La variabilité génétique du VIH-1 a de nombreuses implications en particulier au niveau de la résistance aux antirétroviraux (ARVs). En effet les mutants résistants aux ARVs sont bien caractérisés pour le sous-type B mais des données nouvelles sont nécessaires pour les sous-types non-B. Dans ce travail mené au Cambodge, nous nous sommes intéressés au CRF01_AE.

Dans une première étude nous avons caractérisé les isolats viraux de patients adultes naïfs d'ARVs; nous avons montré la large prédominance (95,5%) du CRF01_AE; en outre nous avons mis en évidence la faible prévalence de mutations de résistance (MDR), inférieure au seuil fixé par l'OMS (5 %). La seconde étude a concerné des femmes enceintes recevant une prophylaxie par une simple dose de névirapine dans le cadre d'une prévention de la transmission du VIH-1 de la mère à l'enfant. Nous avons observé un taux d'incidence des MDR aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse variant de 18,8 % à 31,3 % selon la période de l'échantillonnage. Globalement les mutations du CRF01_AE cambodgien étaient similaires à celles des sous-types A, D et CRF02_AG.

Une dernière étude a porté sur des patients adultes recevant une HAART et présentant un échec thérapeutique. Les MDR observées étaient celles attendues pour le sous-type B. Cependant, d'autres substitutions ont été détectées chez ces patients en échec qui devront être confirmées sur de plus larges séries. Ces données pourraient à terme plaider pour une réactualisation partielle des algorithmes.

La PCR quantitative en temps réel : méthode d'évaluation de l'efficacité des antipaludiques sur les formes intra-hépatiques du parasite.

D. Richard-Lenoble, I. Landau, G. Snounou, A.C. Gruner, N. Van Langendonck, A.C. Danton & T. H. Duong

Service de parasitologie-médecine tropicale, Faculté de médecine de Tours, France.
Muséum national d'histoire naturelle, Paris, France.

Le développement de polychimiorésistances chez le parasite, mais aussi chez le vecteur, entraîne une recher-

che constante de nouvelles thérapeutiques et de nouvelles cibles.

Au cours de son cycle chez l'homme, la plasmodie est intra-hépatocytaire puis érythrocytaire avant de se sexualiser. L'objectif thérapeutique est avant tout d'arrêter le développement dans le globule rouge et la symptomatologie, mais d'autres cibles sont possibles : les formes hépatiques (déparasitage complet) ou la gamétocytogénèse (transmission).

Les méthodes expérimentales, permettant d'apprécier l'éventuelle action des antipaludiques sur les formes intra-hépatiques sont variées : suivie de la parasitémie, étude histologique qualitative et quantitative des corps bleus intra-hépatiques, subinoculations de souris par broyats de foie de souris parasitées... Les cinétiques parasitaires et pharmacologiques compliquent l'interprétation des résultats. La PCR quantitative en temps réel appliqué à des prélèvements de foies de souris infestées et traitées, permet une approche qualitative et quantitative sur le développement des formes parasitaires intra-hépatiques (« corps bleus »).

L'activité de diverses thérapeutiques (Malarone®, primaquine, ferroquine, artésunate, amodiaquine) sur le stade intra-hépatique du parasite murin est étudiée par PCR quantitative en temps réel. Les premiers résultats obtenus à partir d'un modèle expérimental murin (souris *Swiss-Anopheles stephensi-Plasmodium yoelii*) montrent que l'efficacité de l'association atovaquone-proguanil (Malarone®) sur le stade intra-hépatique est totale, les autres thérapeutiques testées n'ont qu'une activité partielle ou nulle. Des protocoles en cours permettront de tester de nouvelles associations en particulier celles comprenant un dérivé de l'artémisinine.

Circulation du génotype 2 du virus de l'hépatite E : du Mexique à l'Afrique.

E. Nicand (1), V. Enouf (1), N. Komas (2), J. Guerin (3) & J. Guthmann (3)

(1) Service de biologie, CNR des hépatites entéro-transmissibles (VHE), HIA Val-de-Grâce, Paris, France.

(2) Institut Curie-Pasteur, Bangui, République Centrafricaine.

(3) Epicentre, Paris, France.

Depuis l'identification du virus de l'hépatite E (VHE) en 1990, la diversité génétique de ce virus a été caractérisée avec la classification des isolats en 4 génotypes majeurs : le génotype 1, qui circule de manière prépondérante en Asie et en Afrique; le génotype 2, représentée par la souche prototype isolée au Mexique et de nouveaux variants isolés au Nigeria; le génotype 3, qui circule principalement en Asie et qui est responsable des cas autochtones déclarés dans les

pays industrialisés dont l'Europe; enfin le génotype 4 dans la distribution géographique reste limitée à l'Asie du Sud-Est. Alors que le génotype 1 est largement distribué en Afrique, l'étude actuelle est de démontrer que la circulation d'isolats appartenant au génotype 2 n'est pas restreinte dans ce continent à quelques souches caractérisées au Nigeria.

La caractérisation d'isolats de génotype 2 a été faite à partir d'échantillons cliniques (sérum et selles) collectés au cours cas sporadiques et épidémiques d'hépatite E, survenus dans plusieurs pays africains (tableau I). Les échantillons cliniques adressés au centre national de référence des virus des hépatites entérotransmissibles ont été conservés à -80°C .

Tableau I.

pays	nombre d'échantillons testés	contexte épidémiologique	nombre d'échantillons avec ARN VHE positif
Égypte	1	cas sporadique	1
Soudan (région du Darfour)	44	cas épidémiques	4
Tchad	1	cas sporadique	1
R. D. du Congo	1	cas sporadique	1
R. de Centrafrique	35	cas épidémiques	6

Le génome du VHE a été détecté par PCR en temps réel, en utilisant des amorces consensus définies dans l'ORF2 et validées pour amplifier les 4 génotypes majeurs (1). Cependant la région amplifiée de l'ORF2, d'une longueur de 88 nucléotides n'est pas suffisamment discriminante pour étudier la phylogénie des souches. Aussi l'ARN du VHE des échantillons cliniques détectés positifs lors de l'étape précédente, est amplifié par PCR conventionnelle en utilisant des amorces ciblant l'ORF2 (nt 6653-7100) (2). Les séquences ainsi obtenues d'une longueur de 440 à 450 nucléotides ont été alignées à l'aide du logiciel CLUSTAL X et comparées aux séquences disponibles dans GenBank.

Un total de 52 échantillons cliniques a été testé et l'ARN du VHE a été détecté dans 13 de ces échantillons. La comparaison des 3 souches collectées respectivement en Égypte, Tchad et République Démocratique du Congo, de quatre isolats collectés au Darfour et de 6 isolats de République de Centre Afrique, montre que ces virus appartiennent au génotype 2. Ils présentent 83 à 85 % d'homologie nucléotidique avec la souche Mexico (Genbank M74506) et 89 à 93 % d'identité avec la souche Nigeria (Genbank AF173231). Par ailleurs, les 4 souches soudanaises et les six souches de RCA montrent une grande homologie entre elles avec 98 à 100 % d'identité entre elles.

L'identification de souches de VHE de génotype 2 dans les régions du Centre et de l'Est de l'Afrique montre une large circulation de ce virus. Cependant les liens épidémiologiques, virologiques, pathogéniques expliquant la distribution de telles souches à travers le continent africain reste à ce jour indéterminée.

Ce travail a été présenté au cours des 46^{es} rencontres internationales ICAAC – San Francisco – 2006.

Références bibliographiques

1. ENOUF V, DOS REIS G, GUTHMANN JP, GUERIN PJ, CARON M *et al.* – Validation of a single real time TaqMan PCR assay for the detection and quantification of four major genotypes of hepatitis E virus in clinical specimens. *J Med Virol*, 2006, 78, 1076-1082.
2. TAM AW, SMITH MM, GUERRA ME, HUANG CC, BRADLEY DW *et al.* – Hepatitis E virus: molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*, 1991, 185, 130-131.

Identification moléculaire de *Mastomys natalensis* comme le réservoir du virus Lassa en Guinée : conséquences sur la distribution de la fièvre Lassa en Afrique de l'Ouest.

É. Lecompte, A. Lalis, F. Kourouma, L. Koivogui, J. Ter Meulen & C. Denys

Muséum national d'histoire naturelle, Paris, France.

Le virus Lassa est un *Arenavirus* responsable, en Afrique de l'Ouest, d'au moins 300 000 cas par an d'une fièvre hémorragique, la fièvre Lassa. La distribution de la fièvre Lassa est disjointe avec un pôle comprenant la Sierra Leone, la Guinée et le Libéria, et un second pôle au Nigeria.

L'hôte du virus Lassa a été identifié dans les années 70 comme *Mastomys natalensis*, rongeur Muridae. Plus tard, d'autres espèces de *Mastomys*, *M. erythroleucus* mais aussi potentiellement *M. huberti* ont également été proposés comme hôte. Par ailleurs, des antigènes du virus Lassa ont été détectés chez les genres *Rattus* et *Mus*, suggérant que d'autres genres que *Mastomys* pourraient être impliqués dans la transmission du virus Lassa.

Afin de déterminer sans ambiguïté l'identité de l'hôte naturel du virus Lassa, une étude de terrain a été conduite en Guinée dans différentes zones biogéographiques, et à la fois dans les régions de forte et faible séroprévalence humaine. Au total 1591 petits mammifères, dont 1546 rongeurs, ont été capturés dans 18 localités et prélevés pour des analyses virologiques. Le dépistage moléculaire (RT-PCR) de ces spécimens a révélé une infection par le virus Lassa uniquement chez l'espèce de rongeur *Muridae Mastomys natalensis*. La distribution de *Mastomys natalensis* et son abondance relative par rapport à *Mastomys erythroleucus*, sont en corrélation d'un point de vue géographique avec la séroprévalence du virus Lassa dans la population humaine.

Les découvertes d'Edmond Sergent sur la transmission vectorielle des agents de certaines maladies infectieuses humaines et animales.

J.-P. Dedet

Laboratoire de parasitologie, CHU de Montpellier, 163 rue Auguste-Broussonet, 34090 Montpellier, France.

Edmond Sergent a dirigé l'Institut Pasteur d'Algérie de 1910 à 1963. Accompagné de son frère Étienne, il y a réalisé une œuvre scientifique impressionnante, qui a porté sur de nombreuses maladies infectieuses humaines, animales ou végétales. La remarquable longévité des deux frères (93 ans pour Edmond, dont 60 ans d'activité scientifique, et 70 pour Étienne, dont 50 d'activité scientifique) leur a permis d'aborder de très nombreux sujets de parasitologie, bactériologie et entomologie médicale. Ils totalisent ensemble 759 publications. Spécialistes de l'épidémiologie et du contrôle du paludisme (34,4 % de leurs publications), ils ont également

étudié, spécialement Edmond, la transmission vectorielle des maladies infectieuses. C'est sur ce thème que se focalise la présente communication.

Dans ce domaine, Edmond SERGENT a fait deux découvertes capitales : la transmission de la fièvre récurrente mondiale par le pou en 1908, un an avant que Charles NICOLLE ne découvre la transmission du typhus exanthématique mondial par ce même insecte, et la transmission de la leishmaniose

cutanée par le phlébotome (1921). Mais d'autres découvertes doivent être également mises à son crédit : transmission de la trypanosomose du dromadaire par les tabanides (1904) et plus tard par les stomoxes (1922), transmission de l'*Haemoproteus* du pigeon par l'hippoboscide *Lynchia maura* (1908). Enfin, il découvrit la transmission de *Theileria dispar* (aujourd'hui *T. annulata*) par la tique *Hyalomma mauritanicum* (1928).