

*31<sup>ème</sup> Congrès National  
de la Société Tunisienne de pathologie infectieuse*

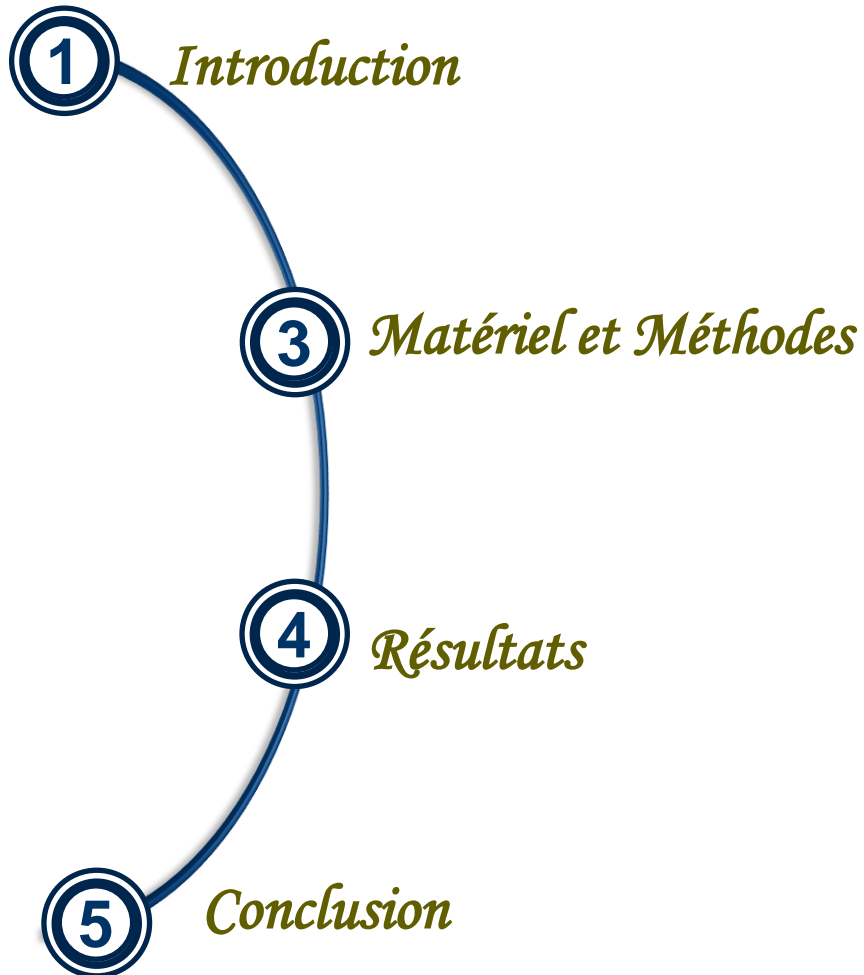
*Identification de deux nouveaux sous-types du  
virus de l'hépatite C du génotype 2  
en Tunisie (2v-2w)*

*Identification of two novel hepatitis C virus  
subtype 2 from Tunisia (2v and 2w)*

*Présenté par: RAJHI Mouna  
Docteur en Sciences Biologiques*

*Laboratoire de Recherche Virus, Vecteurs et Hôtes  
Institut Pasteur de Tunis*

# Plan



# Introduction

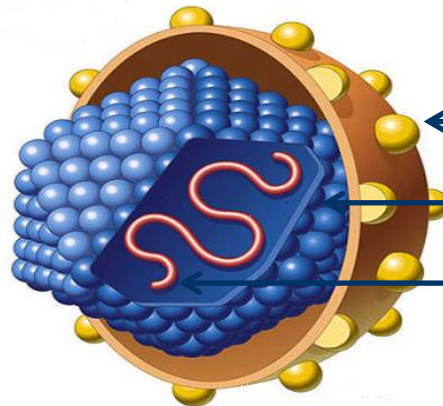
## Données virologiques

❖ *Le virus de l'hépatite C (VHC)* (Choo et al, 1989)

❖ *Classification:* Famille: *Flaviviridae*

Genre: *Hépacivirus*

❖ *Particule virale:* Diamètre: 55 à 65 nm



← Enveloppe: E1-E2

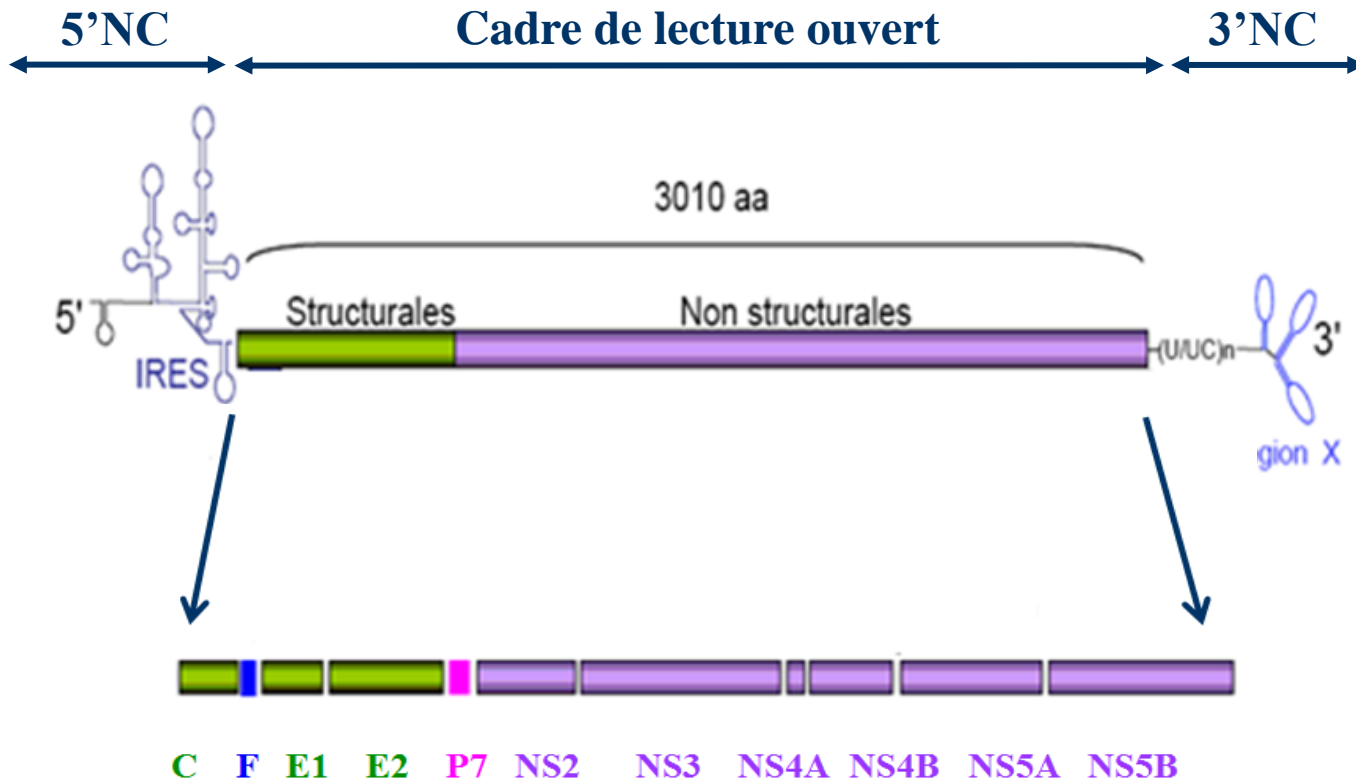
← Capside: icosaédrique

← Génome: ARN monocaténaire  
de polarité positive

# Introduction

## Données virologiques

### ❖ Génome viral



# Introduction

## Variabilité génétique du VHC

### ❖ Le VHC présente une grande diversité génétique

(Simmonds P et al,2005 ; Smith DB et al,2014 )

- 8 Génotypes (1 à 8)
- 90 sous-types
- Divergence nucléotidique

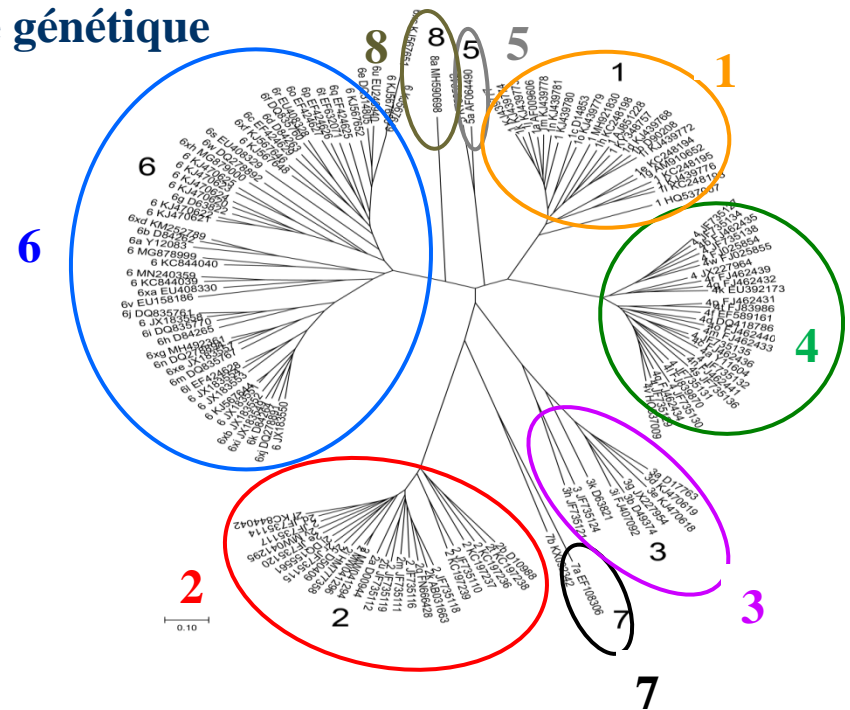
Génotypes différents: >30%

Sous-types différents: 15%-30%

### ➤ Le génotype 2: 21 sous-types (a - u)

■ 15 sous-types: confirmés par séquençage du génome complet

■ 6 sous-types: proposés par séquençage partiel (NS5B et/ou core/E1)



# Introduction

## Situation en Tunisie

- Le génotype 2 est en deuxième position: 10%
- Peu étudié: Deux travaux de RAJHI et al ont étudié la diversité génétique, l'épidémiologie moléculaire et l'histoire évolutive du VHC-2 en Tunisie (RAJHI et al, 2014, 2016)

Virus Genes (2014) 48:209–217  
DOI 10.1007/s11262-013-1010-3

### Subtyping genotype 2 hepatitis C viruses from Tunisia: identification of two putative new subtypes

Mouna Rajhi · Selma Mejri · Ahlem Djebbi · Soufiene Chouaieb · Imed Cheikh · Ahlem Ben Yahia · Amel Sadraoui · Walid Hammami · Msaddak Azouz · Nabil Ben Mami · Henda Triki

 PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

### Phylogenetic Analysis and Epidemic History of Hepatitis C Virus Genotype 2 in Tunisia, North Africa

Mouna Rajhi<sup>1,7\*</sup>, Kais Ghedira<sup>2,6</sup>, Anissa Chouikha<sup>1</sup>, Ahlem Djebbi<sup>1</sup>, Imed Cheikh<sup>4</sup>, Ahlem Ben Yahia<sup>1</sup>, Amel Sadraoui<sup>1</sup>, Walid Hammami<sup>1</sup>, Msaddek Azouz<sup>5</sup>, Nabil Ben Mami<sup>3</sup>, Henda Triki<sup>1,6</sup>

# *Introduction*

## *Situation en Tunisie*

- L'étude de Rajhi et al menée en 2014 a montré les sous-types circulants en Tunisie par séquençage partiel des régions NS5B et Core/E1:
  - Le sous-type majeur **2c (65.1%)**
  - **2k (11.2%)**
  - **2i (5.6%)**
  - **2b (1.1%)**
  - D'autres souches avec **des sous-types non identifié**
  
- ▣ La circulation de nouveaux sous-types a été suggérée

# *Introduction*

## *Désignation d'un nouveau sous-type*

- ❖ **Selon le consensus international de nomenclature des souches du VHC la désignation définitive d'un nouveau sous-type devrait reposer sur :**
  - ▣ **Le séquençage de la totalité de la région codante d'au moins trois isolats**
    - \* **Former un groupe phylogénétique distinct**
    - \* **Ne présenter aucun lien épidémiologique**
    - \* **Absence de recombinaison génétique avec d'autres souches**

(Simmonds P et al,2005 )



# Objectif

- ❖ **Identifier les isolats Tunisiens proposés comme des probables nouveaux sous-types**
  - *Séquençage du génome complet*
  - *Analyse des séquences complètes*
    - (Etude phylogénétique)*
    - (Etude des divergences nucléotidiques )*
    - (Etude de recombinaison génétique)*



# *Matériel et Méthodes*

# Matériel

## ❖ *Population d'étude*

- 6 sérums de patients Tunisiens atteints d'hépatite C chronique dont les souches virales infectantes se sont révélées de génotype 2 par séquençage partiel dans les régions NS5B et Core/E1 sans précision des sous-types.
  - 4 femmes et 2 hommes
  - âgés entre 52 et 60 ans (moyenne d'âge 55 ans)
  - Originaires de différentes régions du Nord et du Centre-Est de la Tunisie sans aucun lien épidémiologique
- Les sérums sont collectés entre 2004 et 2008

# Méthodes

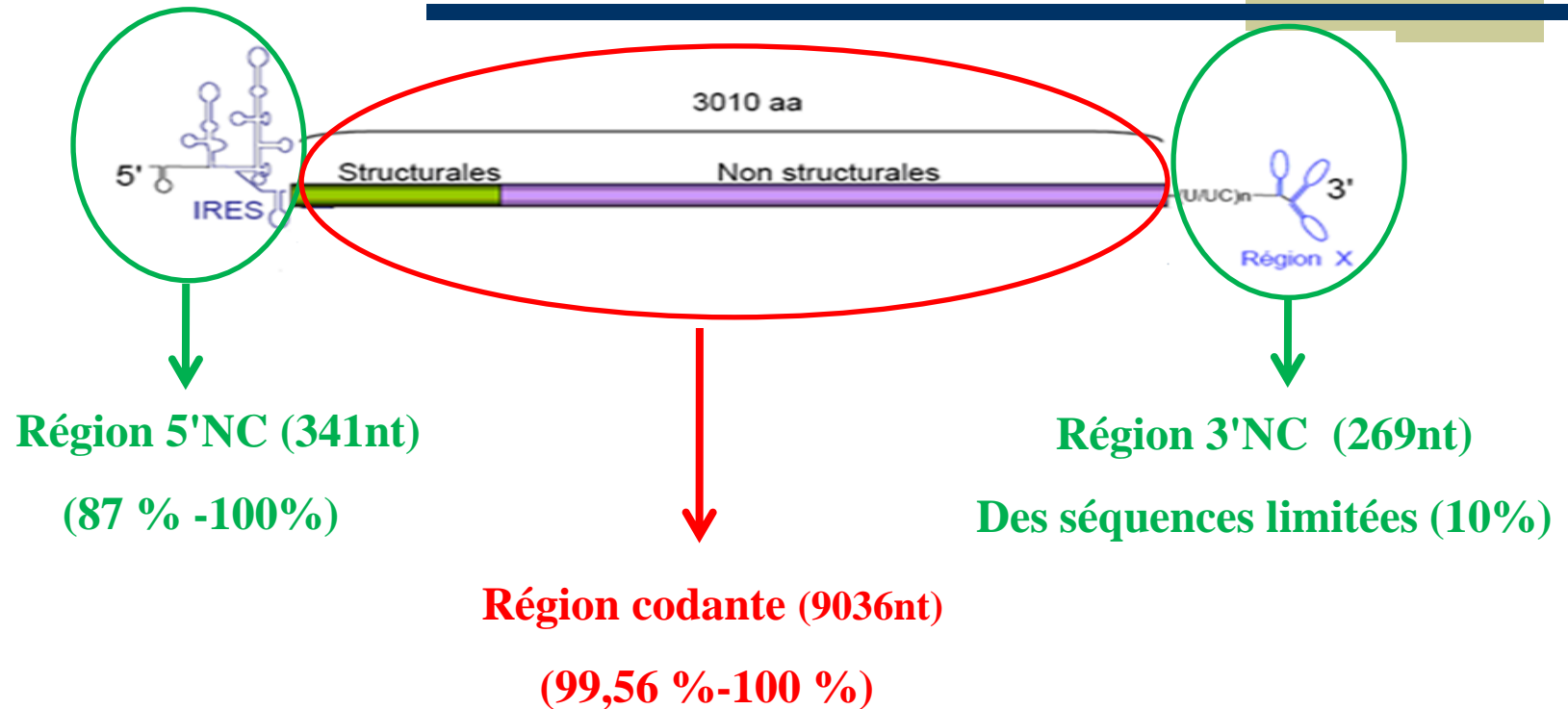
- ❖ *Extraction du génome viral* MiniKit (QIAGEN, Hilden-Allemagne)
- ❖ *Séquençage du génome complet*
  - l'Institut Robert Koch, Berlin, en Allemagne
  - Illumina Technology
  - De novo assembly (Geneious (version R9.1.3))
- ❖ *Analyse phylogénétique*
  - MEGA
  - La méthode de classification «Maximum Likelihood»
  - La valeur de robustesse 1000 (bootstrap 1000)
- ❖ *Analyse de recombinaison*
  - Bootscan inclus dans SimPlot (V3.5.1)



*Résultats*

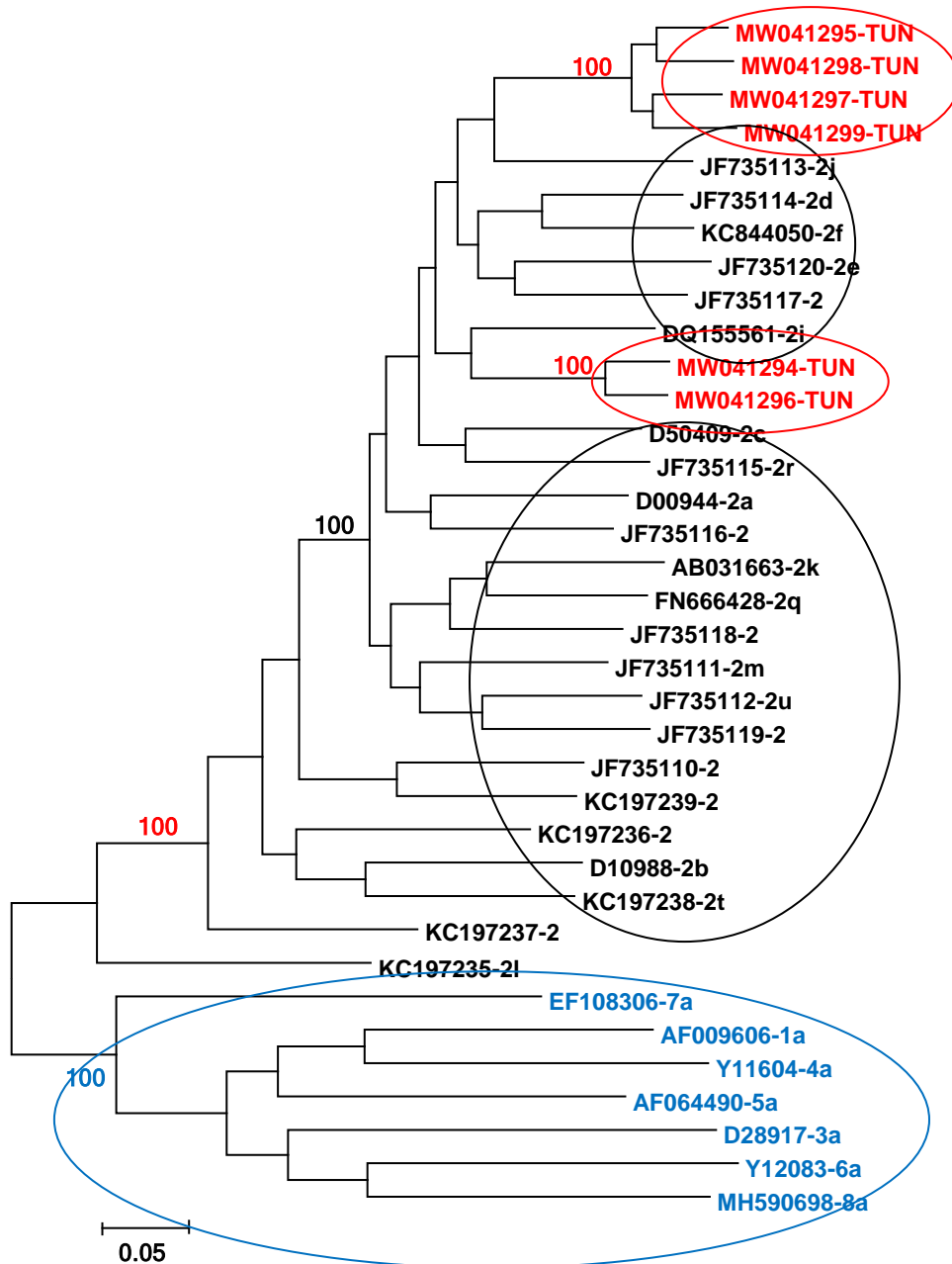
# Résultats

## Séquençage du génome complet



- Les séquences obtenues ont été soumises à GenBank  
[GenBank : MW041294 à MW041299]

# Etude phylogénétique

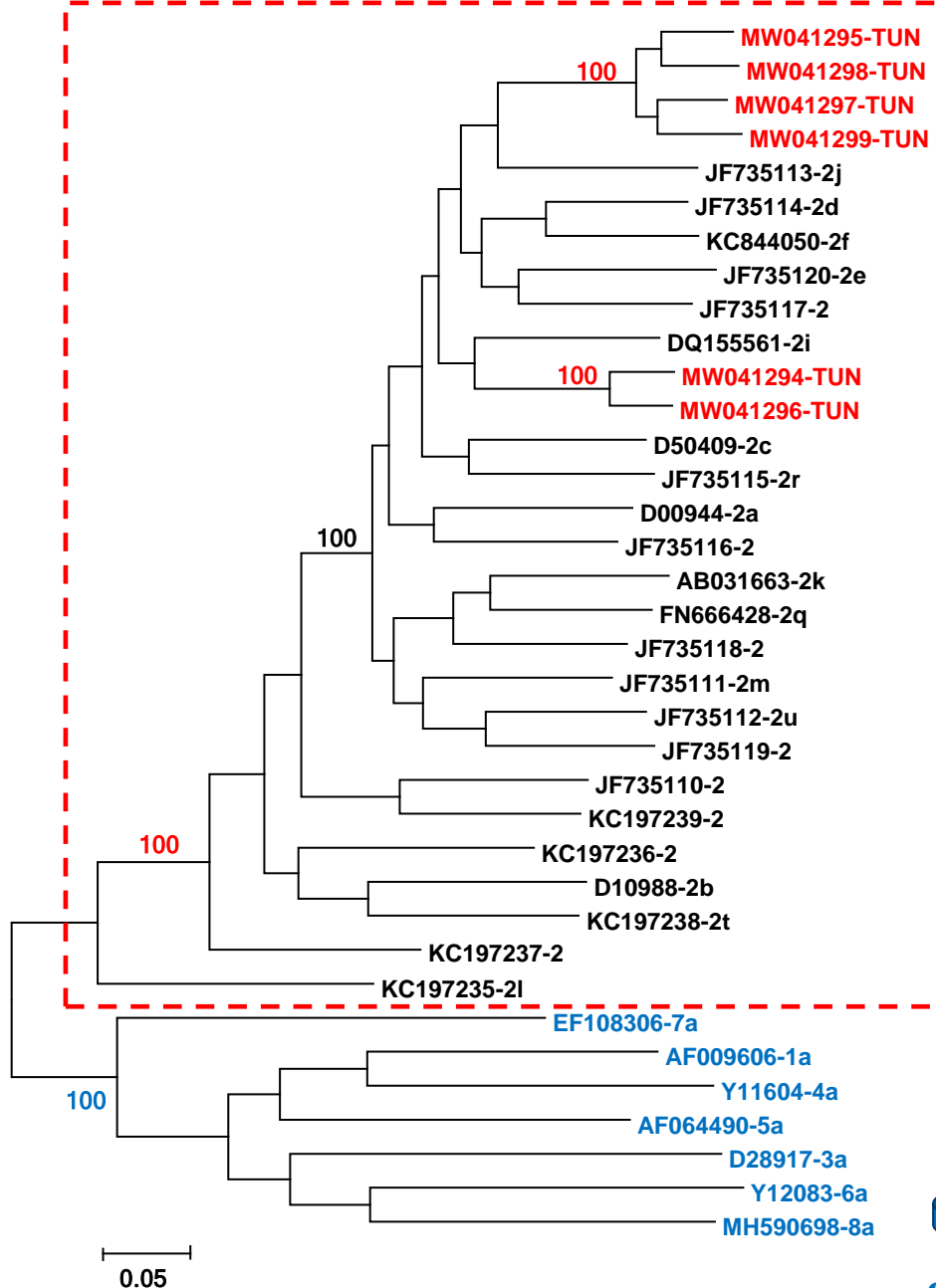


➤ Les séquences Tunisiennes

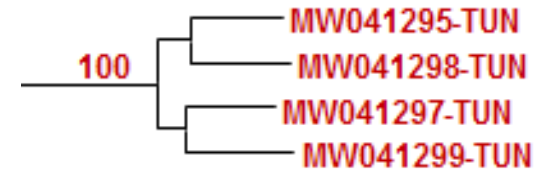
➤ Les séquences de références des sous-types confirmés du génotype2

➤ Les séquences de références des génotypes confirmés (1,3,4,5,6,7 et 8)

# Etude phylogénétique



**Génotype 2**



**Cluster 1**

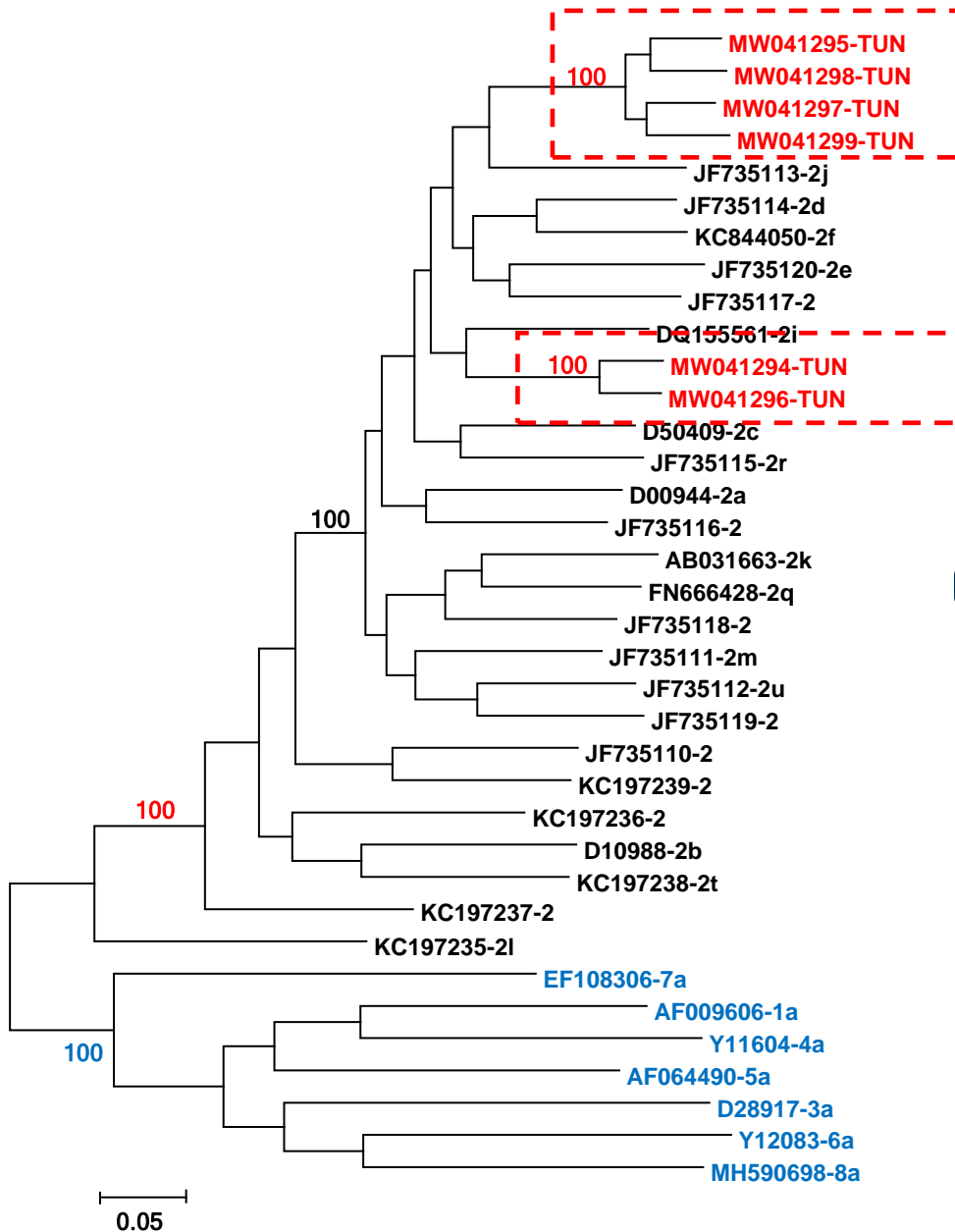


**Cluster 2**

Les souches Tunisiennes forment deux groupes phylogénétiques au sein du génotype 2; Cluster 1 et Cluster 2 qui sont supportés par des valeurs de robustesse élevée

Ces deux Clusters sont génétiquement distincts de tous les sous-types de VHC-2.





**Cluster 1**

**Cluster 2**



*Les séquences du cluster 1 et 2  
pourraient représenter deux  
nouveaux sous-types au sein du  
génotype 2 non encore décrits  
dans d'autres régions du monde*

# Résultats

## *Etude des divergences nucléotidiques*

### ❖ Selon le consensus de nomenclature et de classification des souches VHC

(Simmonds P et al,2005)

#### ■ Les divergences nucléotidiques stipulent un pourcentage:

- < 15% entre les séquences de même sous-type
- 15%-30% entre les sous-types différents
- > 30 entre les géotypes différents

# Résultats

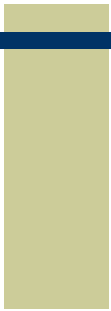
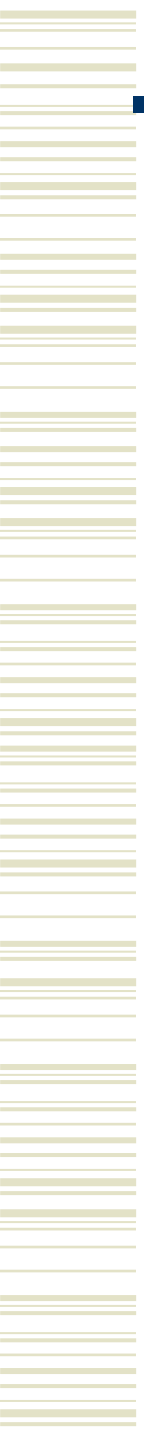
## Etude des divergences nucléotidiques

Tableau 1. Taux de divergence nucléotidique entre les séquences Tunisiennes et les séquences de références du VHC

	Taux de divergence (%)		
	Cluster 1	Cluster 2	
Génotypes du VHC (1,3,4,5,6,7 and 8)	42% - 47%	41% - 46%	> 30 %
Séquences de références des sous-types VHC-2	20% - 31%	20% - 31%	> 15 %
Cluster 1	9% - 11%	20%-21%	
Cluster 2	20%-21%	7%	< 15 %

➤ L'étude des divergences nucléotidiques confirme le résultat de l'analyse phylogénétique ; Les souches étudiées appartiennent au génotype 2 mais différentes de tous les sous-type du VHC-2 jusque-là décrit





*Conclusions*

# Conclusions

Le présent travail confirme la circulation de deux nouveaux sous-types du VHC-2 en Tunisie (2v et 2w).

La découverte de ces nouvelles souches dans la population humaine approuve la grande diversité au sein du VHC-2. Ainsi, le nombre total des sous-types du VHC-2 dépasserait 21 sous-types.

**PLOS ONE**

RESEARCH ARTICLE

## Identification of two novel hepatitis C virus subtype 2 from Tunisia (2v and 2w)

Mouna Rajhi<sup>1,2,3\*</sup>, Sondes Haddad-Boubaker<sup>1,2,3</sup>, Anissa Chouikha<sup>1,2,3</sup>, Daniel Bourquain<sup>4</sup>, Janine Michel<sup>4</sup>, Walid Hammami<sup>1,2,3</sup>, Amel Sadraoui<sup>1,2,3</sup>, Hinda Touzi<sup>1,2,3</sup>, Kais Ghedira<sup>2,5</sup>, Henda Triki<sup>1,2,3</sup>



ENHANCED BY Google



Home Information Taxonomy Files Discussions Study Groups Meetings ICTV Report Login/Join



Study Groups

Flaviviridae > Flaviviridae Study Group More

## Table of Contents

- ∨ Flaviviridae Study Group
  - > Flaviviruses
  - ∨ Hepaciviruses
    - ∨ HCV Classification
      - HCV Reference Sequence Alignments

Table 1 - Confirmed HCV genotypes/subtypes (March 2022)

## SG Information

## Table 1 - Confirmed HCV genotypes/subtypes (March 2022)

### CONFIRMED HCV GENOTYPES/SUBTYPES



ENHANCED BY Google



Home Information Taxonomy Files Discussions Study Groups Meetings ICTV Report Login/Join

## Table of Contents

- ∨ Flaviviridae Study Group
  - > Flaviviruses
  - ∨ Hepaciviruses
    - ∨ HCV Classification

HCV Reference Sequence Alignments

Table 1 - Confirmed HCV genotypes/subtypes (March 2022)

Table 2 - Unassigned complete coding region sequences (March 2022)

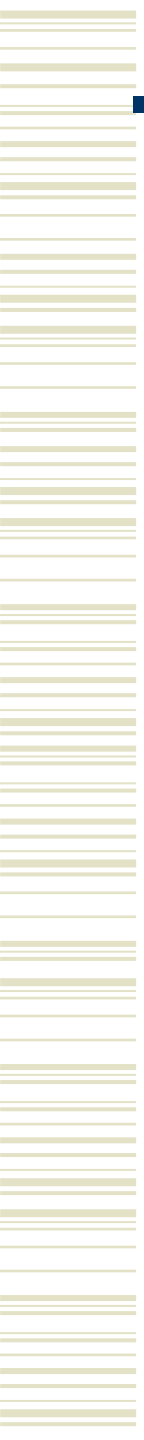
Table 3 Remaining provisionally assigned HCV subtypes (November 2014)

2k	VAT96	AB031663	(Samokhvalov <i>et al.</i> , 2000)
2l	MRS89, PTR7904	KC197235, KC197240	(Jordier <i>et al.</i> , 2013)
2m	QC178, BID-G1314	JF735111, JX227967	(Li <i>et al.</i> , 2012; Newman <i>et al.</i>
2q	963, 852	FN666428, FN666429	(Martró <i>et al.</i> , 2011)
2r	QC283	JF735115	(Li <i>et al.</i> , 2012)
2t	MRS40	KC197238	(Jordier <i>et al.</i> , 2013)
2u	QC182	JF735112	(Li <i>et al.</i> , 2012)
2v	495-05	MW041295	(Rajhi <i>et al.</i> , 2021)

Les souches proposées comme deux nouveaux sous-types du VHC-2 (2v et 2w)

- validées par le comité international de taxonomie des virus (ICTV)
- mentionnées dans le site web de référence de classification du VHC

(<http://talk.ictvonline.org/links/hcv/hcv-classification.htm>)



*MERCI*  
*Pour Votre Attention*