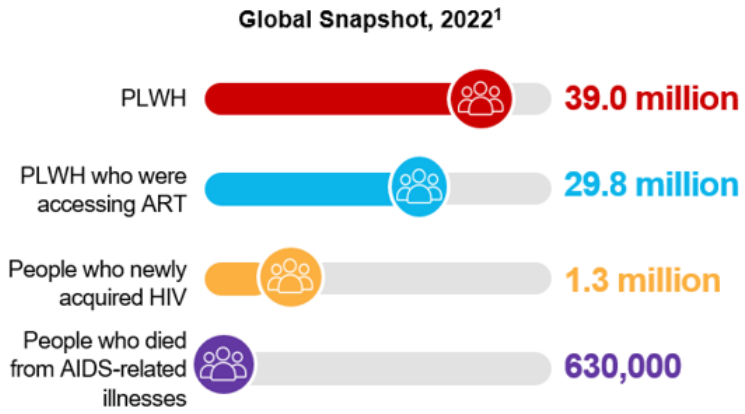
Infection chronique et résistance aux antiviraux : exemple du VIH

E André- Garnier
Laboratoire de Virologie
CHU Hôtel Dieu
elisabeth.andre@chu-nantes.fr

Contexte de l'infection VIH

- Infection chronique évoluant en l'absence de traitement au stade SIDA <200 CD4 mm^3
- Un problème majeur de santé publique

Données mondiales



En France [2,3]

180 000 personnes vivent avec le VIH

Jusqu'en 2019 : environ **6 000** nouveaux cas étaient diagnostiqués par an

20% des patients ignorent leur séropositivité

- Des populations plus exposées (HSH, patient(e)s Hétérosexuel(le)s nés à l'étranger
- Des régions à plus forte prévalence (DROM, IDF)
- Des traitements efficaces ➔ contrôle de l'infection

La variabilité du VIH à l'échelle mondiale

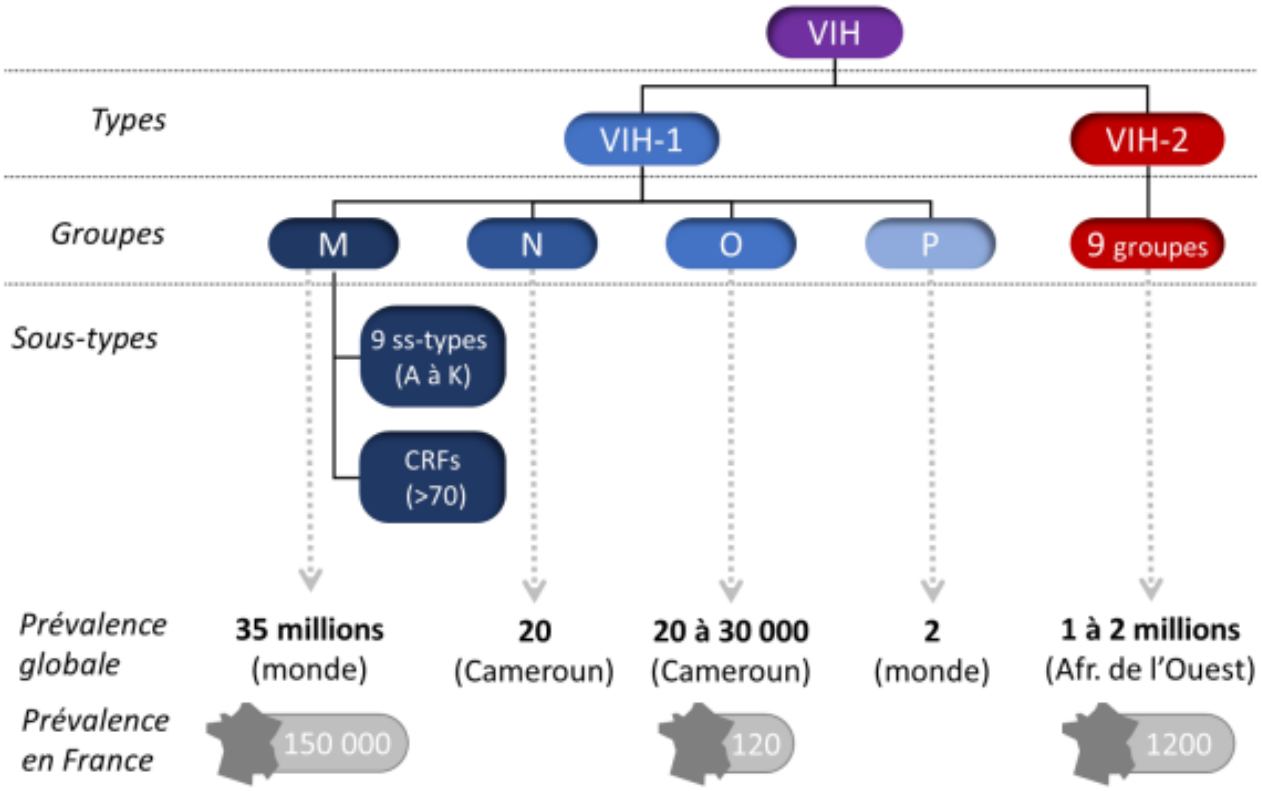


Figure 2. Classification des virus VIH et prévalence respective.
Source : Dr Benoit Visseaux

Variabilité pouvant (ait) impacter la sensibilité des tests de CV

Rappel sur les ARVs

Introduction sur les ARVs

- Passage d'une infection inévitablement mortelle à **une infection chronique** (intégration du génome virale dans le génome de l'hôte = réservoir)

- Aucun traitement ne permet de guérir de l'infection à ce jour : Les Anti rétroviraux sont virostatiques

- Effets secondaires court et long terme ➔ vers des stratégies d'allègement)

- Développement de résistances virales au traitement

Prévention thérapeutique

- toujours pas de vaccin

- Positionnement du traitement en pré-exposition chez les patients très exposés à un risque de contamination (Prep)=> Truvada® (Ténofovir disoproxil + emtricitabine) , en monothérapie tous les jours

Indications de la mise sous ARVs

- «Toute personne infectée par le VIH devrait commencer le traitement ARV le plus tôt possible» (quelque soit son taux de LT CD4+)

- **A titre individuel**
  - Objectif principal du traitement ARV :
    => Empêcher la progression vers le sida en maintenant ou en restaurant un nombre de CD4 > 500/mm^3
  - Rendre la CV plasmatique indétectable (< 50 cp/ml), ce qui maximalise la restauration immunitaire et minimalise le risque de sélection de virus résistants.
  - Si l'efficacité immunovirologique est l'objectif principal du traitement ARV, d'autres objectifs doivent être recherchés simultanément :
    - Meilleure tolérance possible, clinique et biologique, a court, moyen et long termes,
    - Amélioration ou préservation de la qualité de vie
    - Réduction de la transmission du VIH

- **Perspective de prévention collective**
  - Données nouvelles suggèrent que le traitement ARV pourrait constituer un outil performant de ↘ risque de transmission du VIH
  - Etudes observationnelles : ↘ risque de transmission sexuelle du VIH chez les patients sous traitement ARV
  - Etude longitudinale au sein d'une cohorte de couples séro-différents en Afrique : 92% d'efficacité protectrice du traitement ARV du partenaire infecté vis-a-vis du partenaire non infecté (IC 95 % 43 % – 99,8 %)
  - Souhait de ↘ risque de transmission sexuelle du VIH peut donc désormais constituer un argument recevable pour l'initiation d'un traitement ARV.

=Traitement à vie

Rapport Morlat 2018

Cibles thérapeutiques

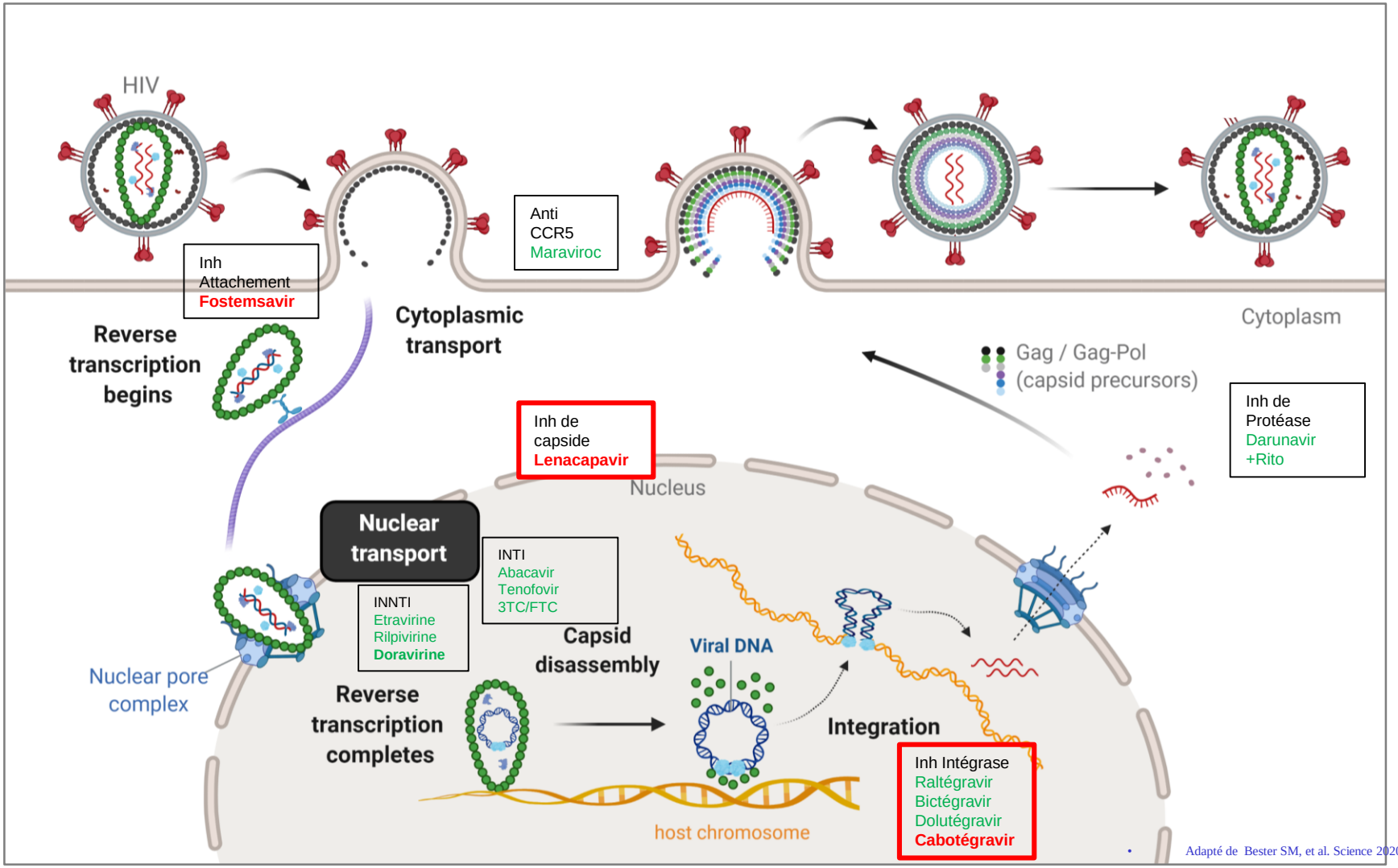
1ere intention : molécules les plus utilisées

- Les enzymes virales
  - la transcriptase Inverse (1987 pour les INTI et 1996 pour les INNTI)
  - la Protéase (1996)
  - l'Intégrase (2007)

Situation de multi échecs thérapeutiques : rarement utilisées

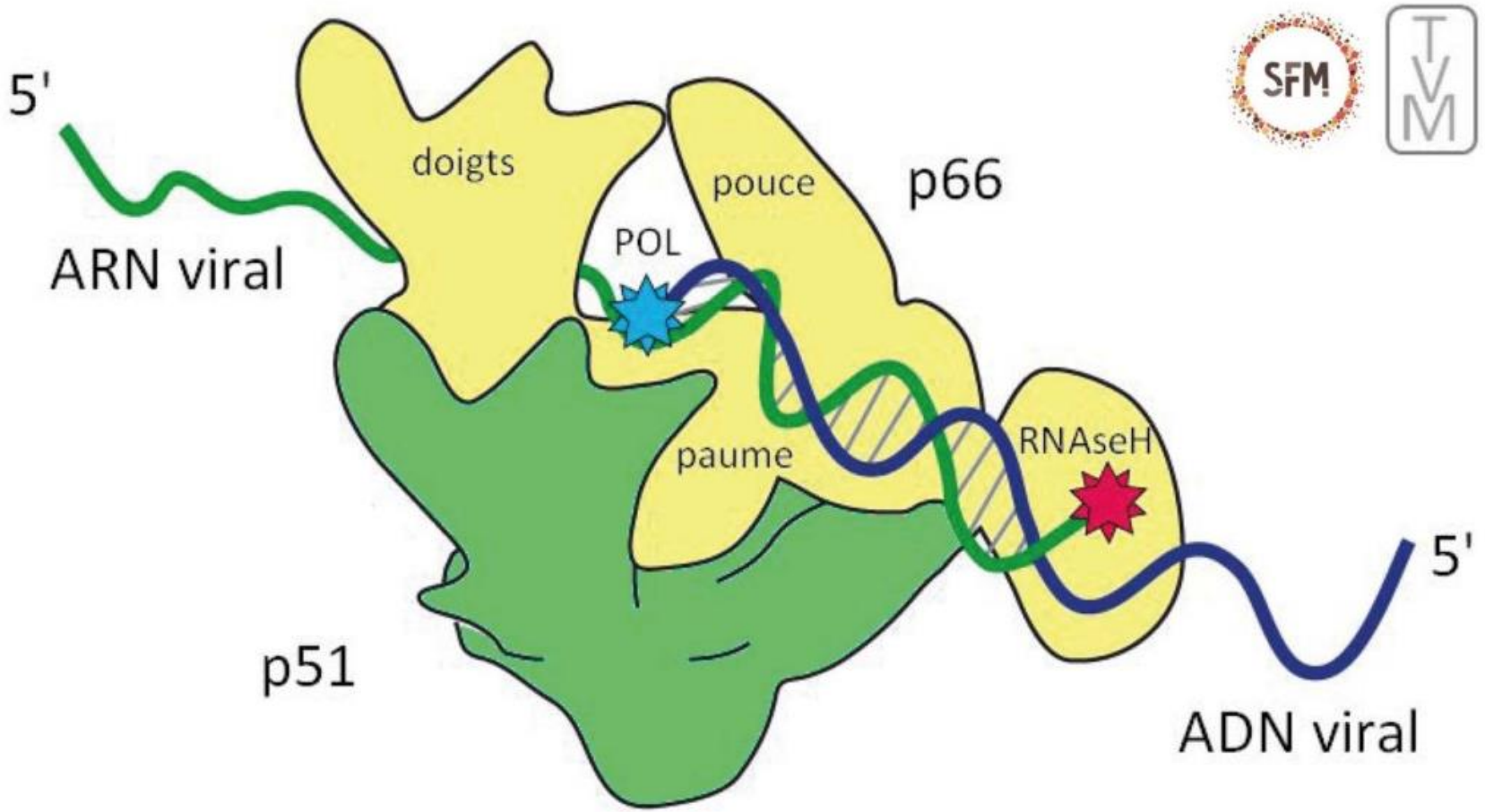
- L'entrée du virus
  - un Inhibiteur de co-récepteur Anti-CCR5 (2010)
  - Inhibiteurs de fusion (2005)
  - un inhibiteur d'attachement (2023)
- La maturation des particules virales
  - un inhibiteur de capside (2024)

Cycle de multiplication du VIH et Cibles thérapeutiques



Adapté de Bester SM, et al. Science 2020

Structure de la Transcriptase inverse (reverse transcriptase RT)

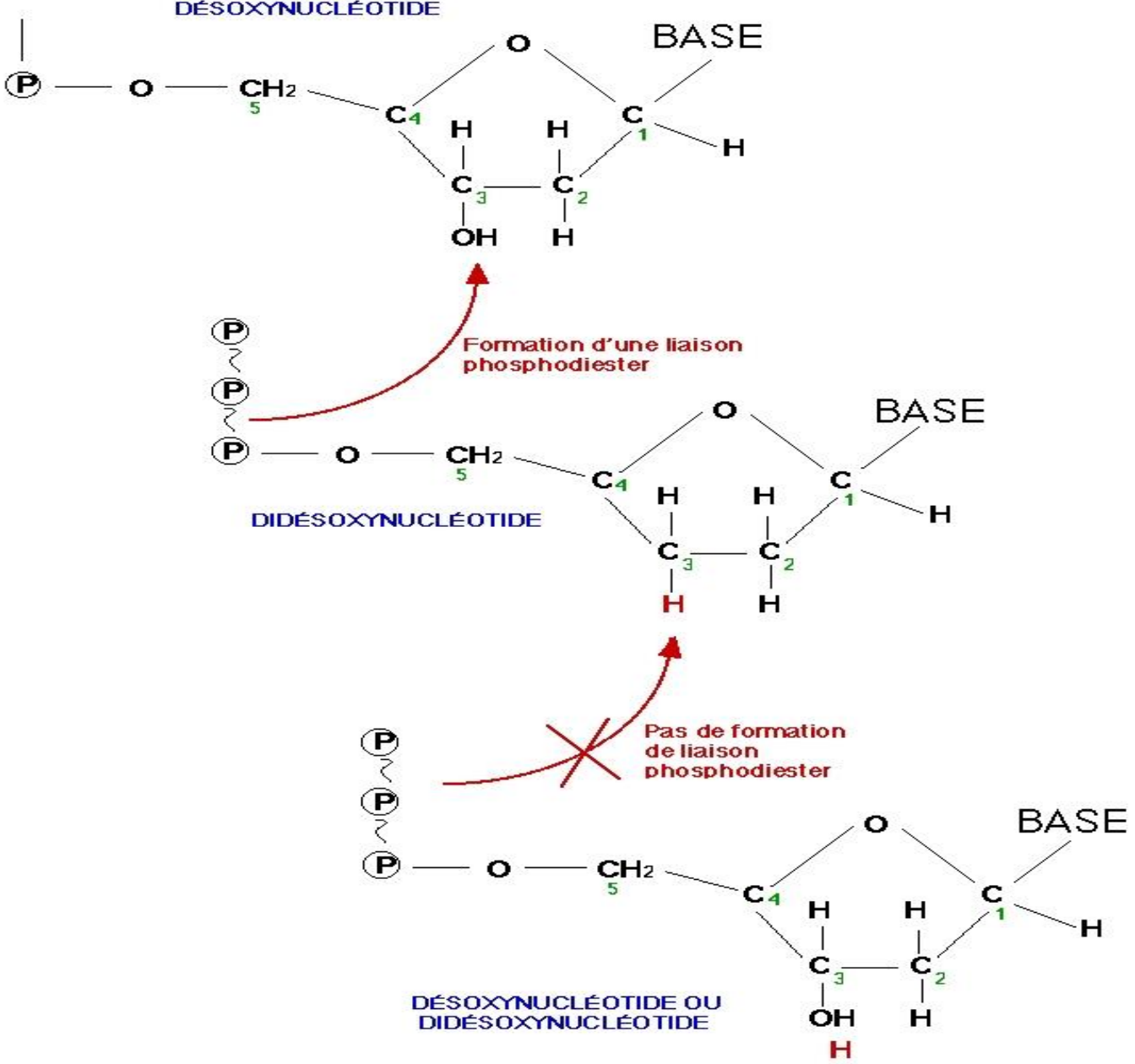


Les inhibiteurs de la réverse transcriptase (RT)

- Inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidique: INTI (1987)

- terminateurs de chaînes dépourvus de groupement OH 3’
- inhibition de la synthèse de l’ADNc par compétition avec nucléotides naturels
- étape de phosphorylation intra-cellulaire
-+ou – inhibiteur de l’ADN polymérase cellulaire pour les 1ers commercialisés: toxicité mitochondriale
  - Myopathie
  - Lipoatrophie
  - Neuropathies périphériques
  - Pancréatites

➔Diminution +++ de la toxicité mitochondriale avec les dernières molécules Abacavir, Tenofovir et 3TC/FTC



Mécanisme d'action des INTI

INTI commercialisés : seul ou en **combinaison**

3TC	Epivir ®
FTC	Emtriva ®
ABC	Ziagen ®
ABC-3TC	**Kivexa ®**
TFD-FTC**	**Truvada ®**
TDF (ténofovir disoproxil fumarate)*	Viread ®

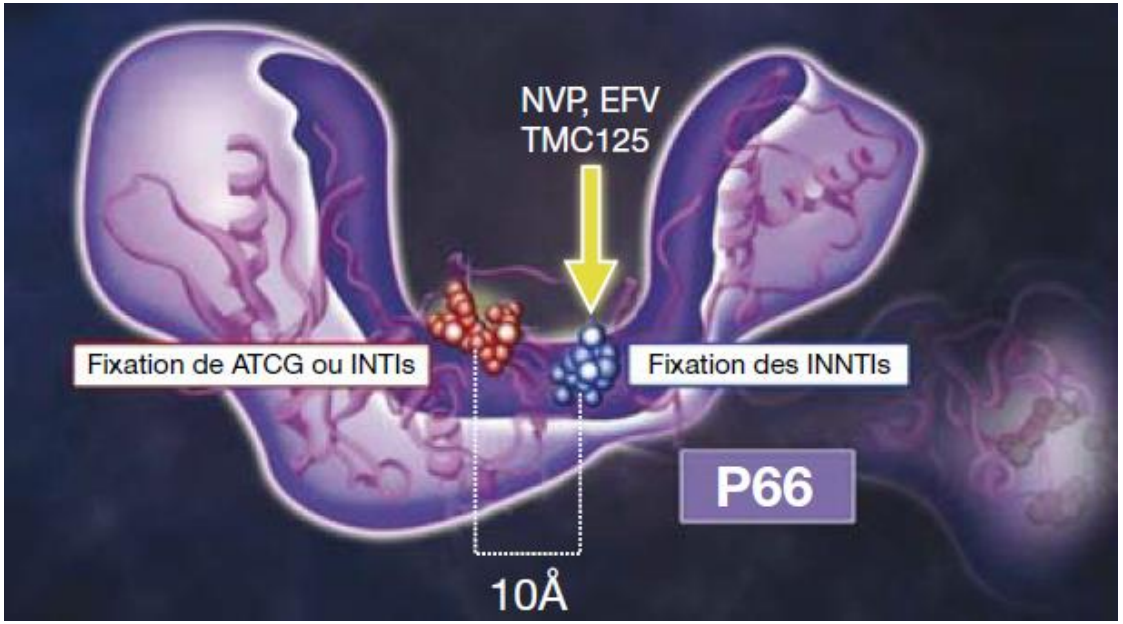
*Utilisés dans le Traitement du VHB

****** Utilisés en Prep (prophylaxie pré exposition)

Inhibiteurs Non-Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse (INNTI) 1996

INNTI : Structures chimiques très diverses

Inhibiteurs **non compétitifs** : fixation dans une poche hydrophobe située à 10 Å du site catalytique de la TI du VIH-1 **(= mécanisme allostérique) · perturbation du site catalytique de la TI**



Hautement sélectifs du **VIH-1**

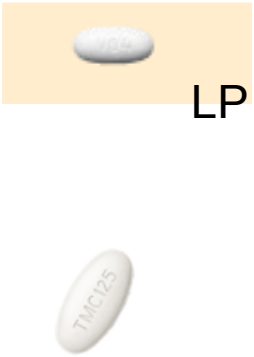
A. Chéret, Virologie, 12, numéro spécial, S7-14 (2008), John Libbey Eurotext

Inhibiteurs non nucléosidiques de la TI : INNTI

- Pas de transformation
- Inactifs sur le VIH2 et VIH1 du groupe O
- Toxicité et effets indésirables (1ère génération Névirapine, Efavirenz)
- Nouvelle génération :
  - Meilleure tolérance
  - barrière génétique plus importante pour l'étravirine et la doravirine

Névirapine	NVP	Viramune ® Viramune LP®
Efavirenz	EFV	Sustiva ®
Etravirine	ETR	Intelence ®
Rilpivirine	RPV	Edurant ®
Doravirine	DOR	Pifeltro ®

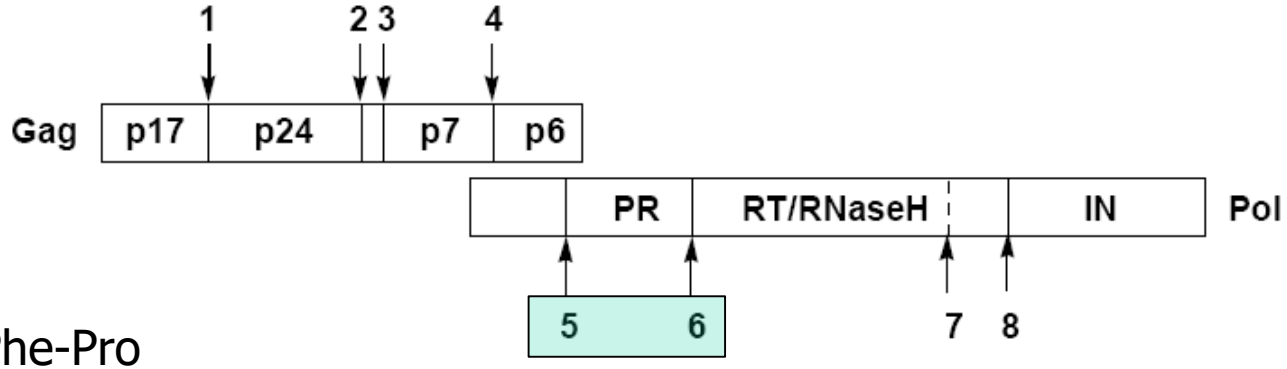
ou



LP

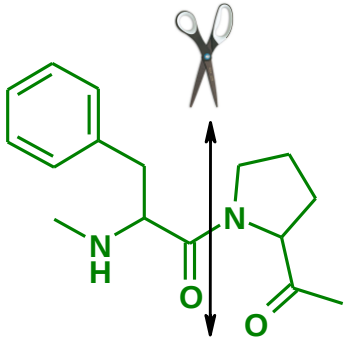
Inhibiteurs de protéase (IP) 1996

Protéase du VIH : Rôle central dans le cycle viral : **intervient dans la dernière étape de la réplication virale** - Réalise le clivage protéolytique des polyprotéines précurseurs (Gag et Pol) en protéines structurales et enzymatiques nécessaires à la formation de nouveaux virions



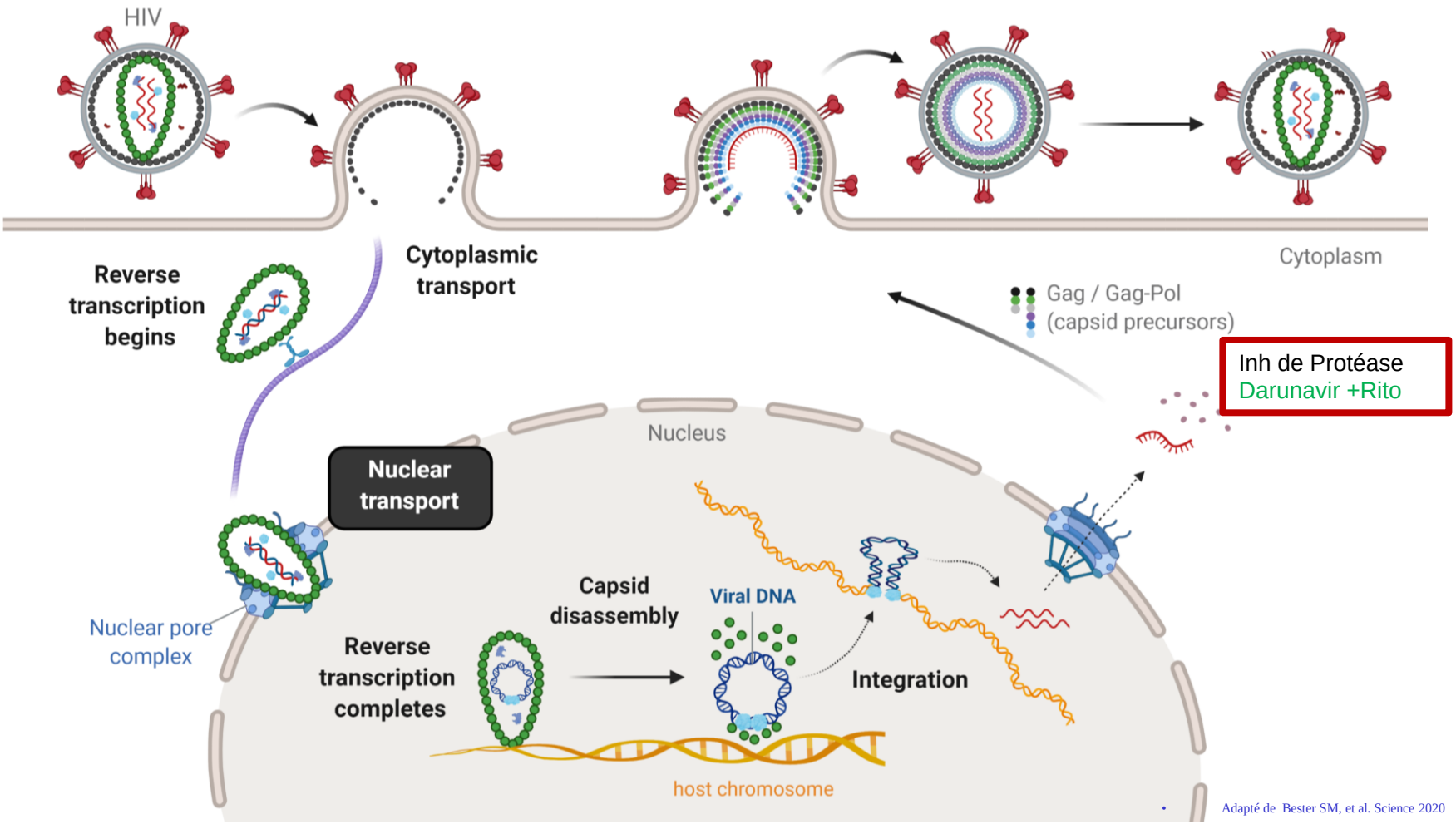
Clivage spécifique : Phe-Pro

(non rencontré chez protéases de mammifères : rénine, pepsine ou cathepsine)



Site	Sequence
1	-Ser-Gln-Asn-Tyr ¦ Pro-Ile-Val-Gln-
2	-Ala-Arg-Val-Leu ¦ Ala-Glu-Ala-Met-
3	-Ala-Thr-Ile-Met ¦ Met-Gln-Arg-Gly-
4	-Pro-Gly-Asn-Phe ¦ Leu-Gln-Ser-Arg-
5	-Ser-Phe-Asn-Phe ¦ Pro-Gln-Ile-Thr-
6	-Thr-Leu-Asn-Phe ¦ Pro-Ile-Ser-Pro-
7	-Ala-Glu-Thr-Tyr ¦ Phe-Val-Asp-Gly-
8	-Arg-Lys-Ile-Leu ¦ Phe-Leu-Asp-Gly-

Inhibiteurs de protéase (IP)



Adapté de Bester SM, et al. Science 2020

Les inhibiteurs de la protéase

•Blocage de la phase tardive : clivage des protéines codées par gag et pol étape de maturation indispensable

• Métabolisés par le Cyto P450

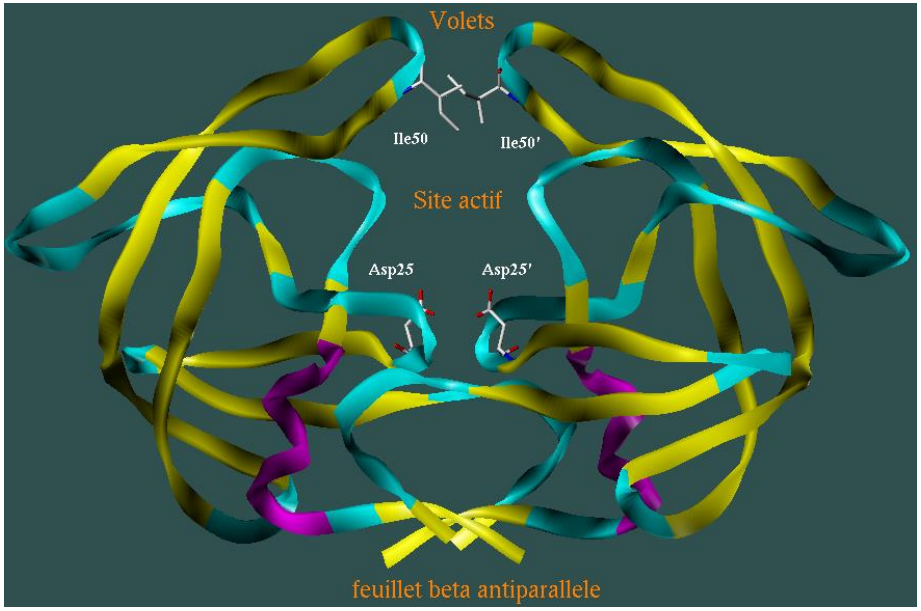
- Interactions médicamenteuses
- Redistribution des graisses, troubles de la glycorégulation, hyperlipidémies

•7 molécules commercialisées :

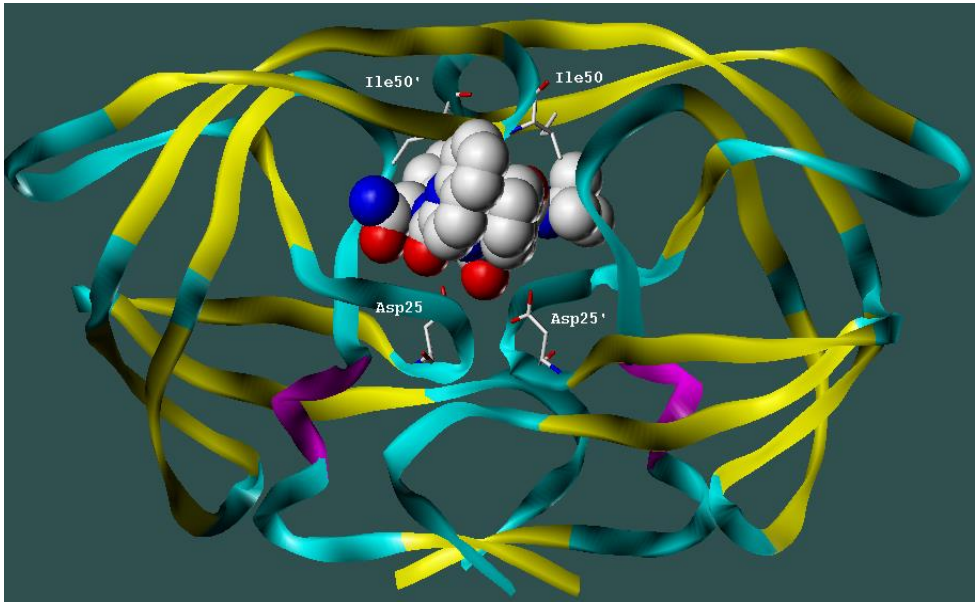
- Molécules peptidomimétiques
- dernière génération :amélioration de la tolérance, diminution nombre de prise
- combinaison avec le Ritonavir RTV (Boost) : amélioration de la pharmacologie

La protéase

Conformation ouverte
(absence substrat)



Conformation fermée
(présence substrats protéiques ou inhibiteurs peptidomimétiques)



Les inhibiteurs de la protéase

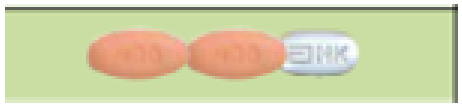
association avec ritonavir faible dose ⇧ les concentrations

Lopinavir/r	Kaletra ®
Atazanavir	Reyataz ®

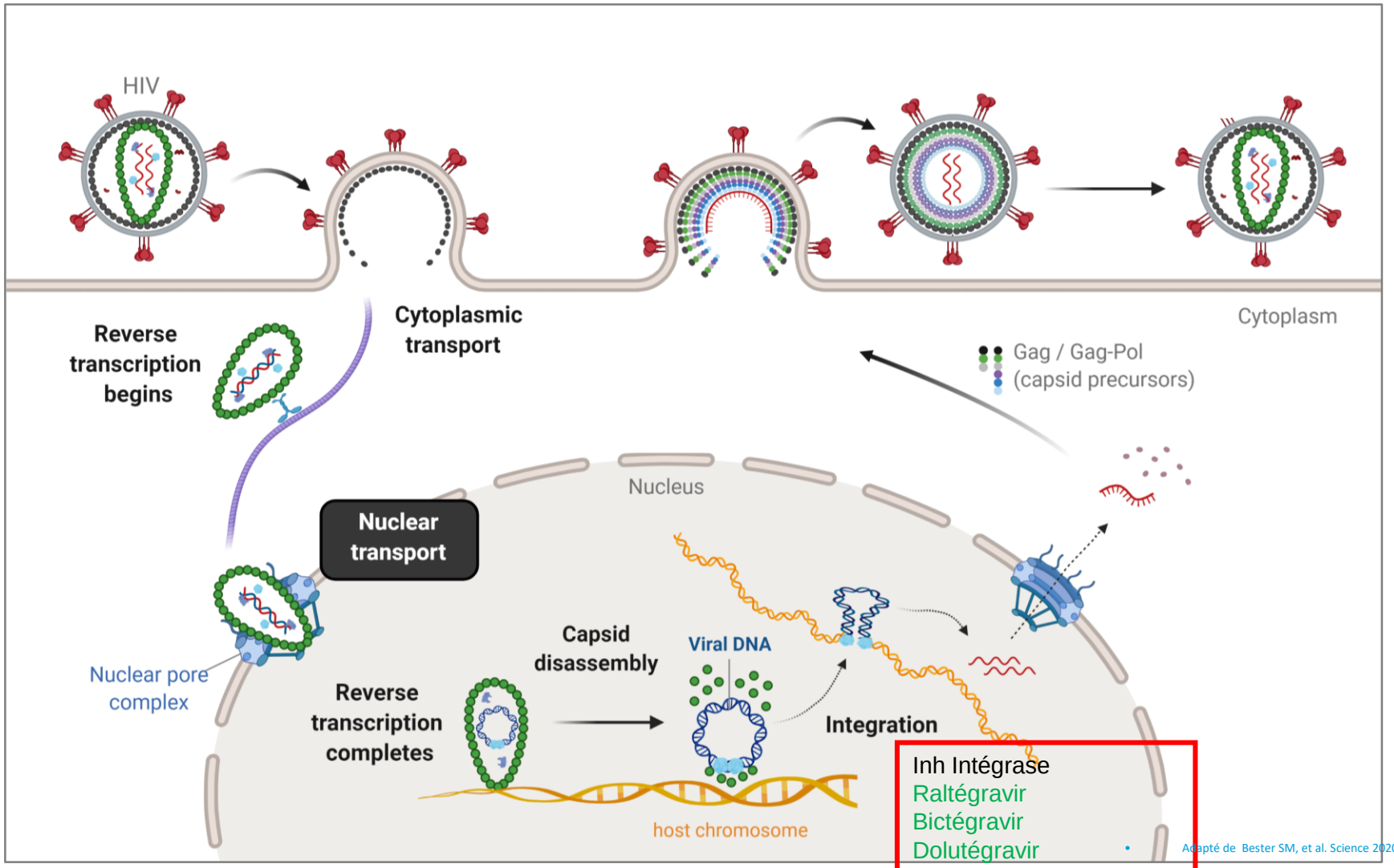
+Ritonavir

2ème génération

Darunavir	Prézista ®

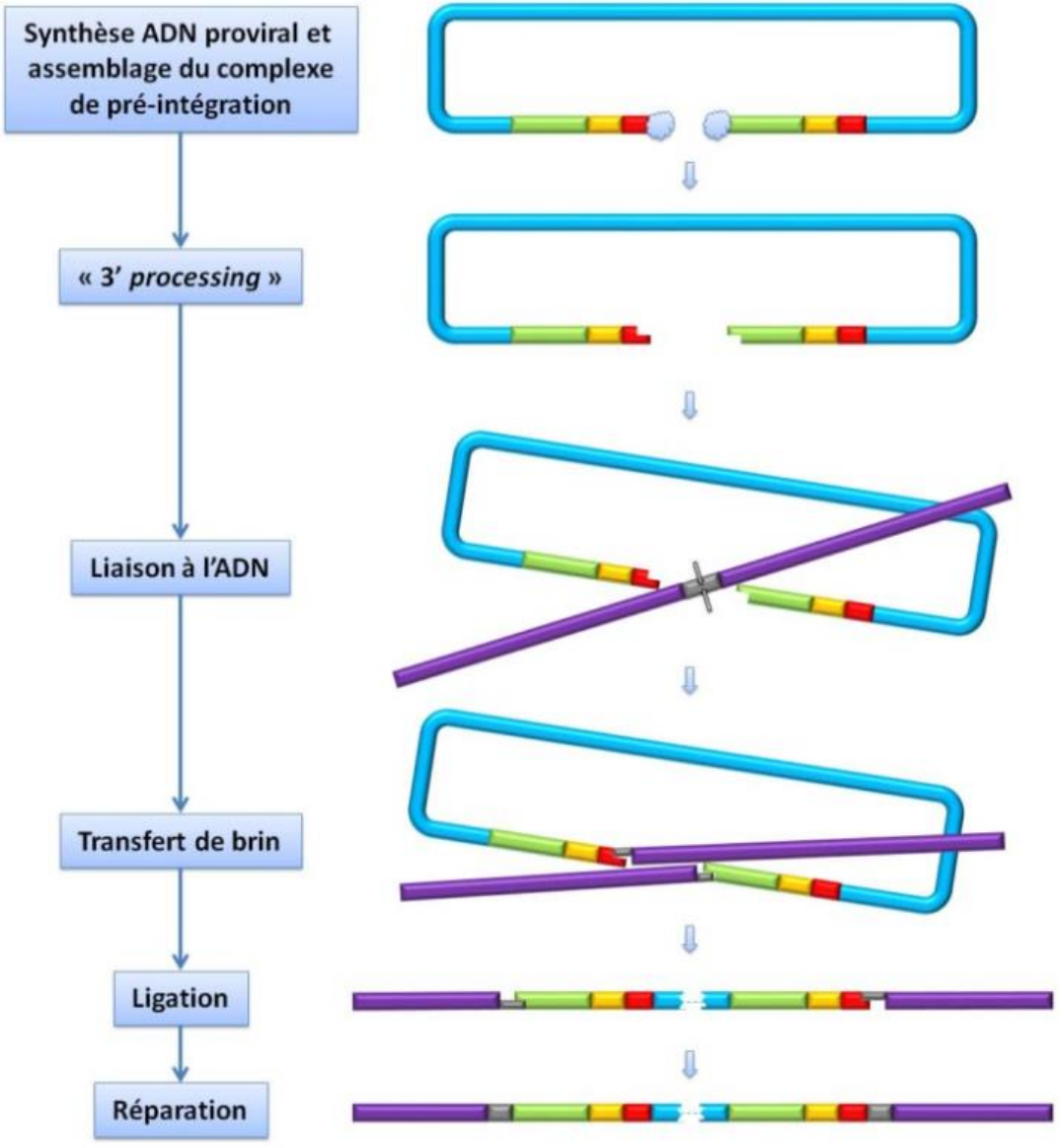


Les inhibiteurs d'intégrase



Adapté de Bester SM, et al. Science 2020

Différentes étapes de l'intégration du génome VIH



Les inhibiteurs d'intégrase de première génération

- Raltégravir (RAL) Isentress® (2011)
  - VO 400 mg 2fs/jour
  - Pas de signes particuliers d'intolérance clinique ou biologique
  - Décroissance rapide de la Charge Virales
  - Moins d'interactions médicamenteuses/ Inhibiteurs de Protéase

- Elvitégravir (EVG) (2014)
  - Doit être boostée
  - Utilisation sous une forme combo Genvoya®
    - Elvitagravir-cobicistat-emtracitabine-tenofovir alafenamide (TAF) Genvoya®
  - Un comprimé par jour
  - Bien toléré
  - Résistance croisée avec le raltégravir
    - ➔ Supplanté par le Bictégravir

Les inhibiteurs d'intégrases de 2ème génération

- Caractéristiques communes
  - Bonne tolérance
  - Barrière génétique élevée

- Dolutégravir (DTG)TIVICAY®
  - 1comprimé 50mg /jour
  - Utilisation en combinaison en comprimé unique
    - Dolutégravir-Kivexa-lamivudine (Triumeq ®)

- Bictégravir (BIC)
  - Utilisation en combinaison en comprimé unique 1/jour
    - Bictégravir-Tenofovir Alafénamide –Emtricitabine (Biktarvy ®)

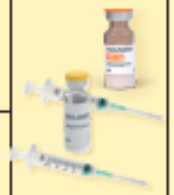
- Cabotégravir(CAB) Vocabria ®
  - 1ère INI utilisable en injectable en combinaison avec la Rilpivirine Rékambys

Inhibiteurs d'intégrase

RAL	**ISENTRESS®** raltegravir MSD		1 comprimé (400 mg), 2 fois/jour	à prendre au cours ou en dehors des repas
DTG	**TIVICAY®** dolutégravir VIIV HEALTHCARE		*selon le profil viral* 1 comprimé (50 mg), 1 fois/jour	à prendre de préférence au cours d'un repas
			ou 1 comprimé 2 fois/jour	à prendre au cours des repas
ABC+3TC+DTG	**TRIUMEQ®** abacavir + lamivudine + dolutégravir VIIV HEALTHCARE		1 comprimé (600 mg abacavir + 300mg lamivudine + 50 mg dolutégravir) 1 fois/jour	à prendre de préférence au cours des repas
BIC+FTC+TAF	**BICTÉGRAVIR + EMTRICITABINE + TÉNOFOVIR ALAFÉNAMIDE**			
	BIKTARVY® GILEAD		1 comprimé (50 mg bictégravir + 200 mg emtricitabine + 25 mg ténofovir alafénamide) 1 fois/jour	toutes les 24h — à prendre au cours ou en dehors d'un repas

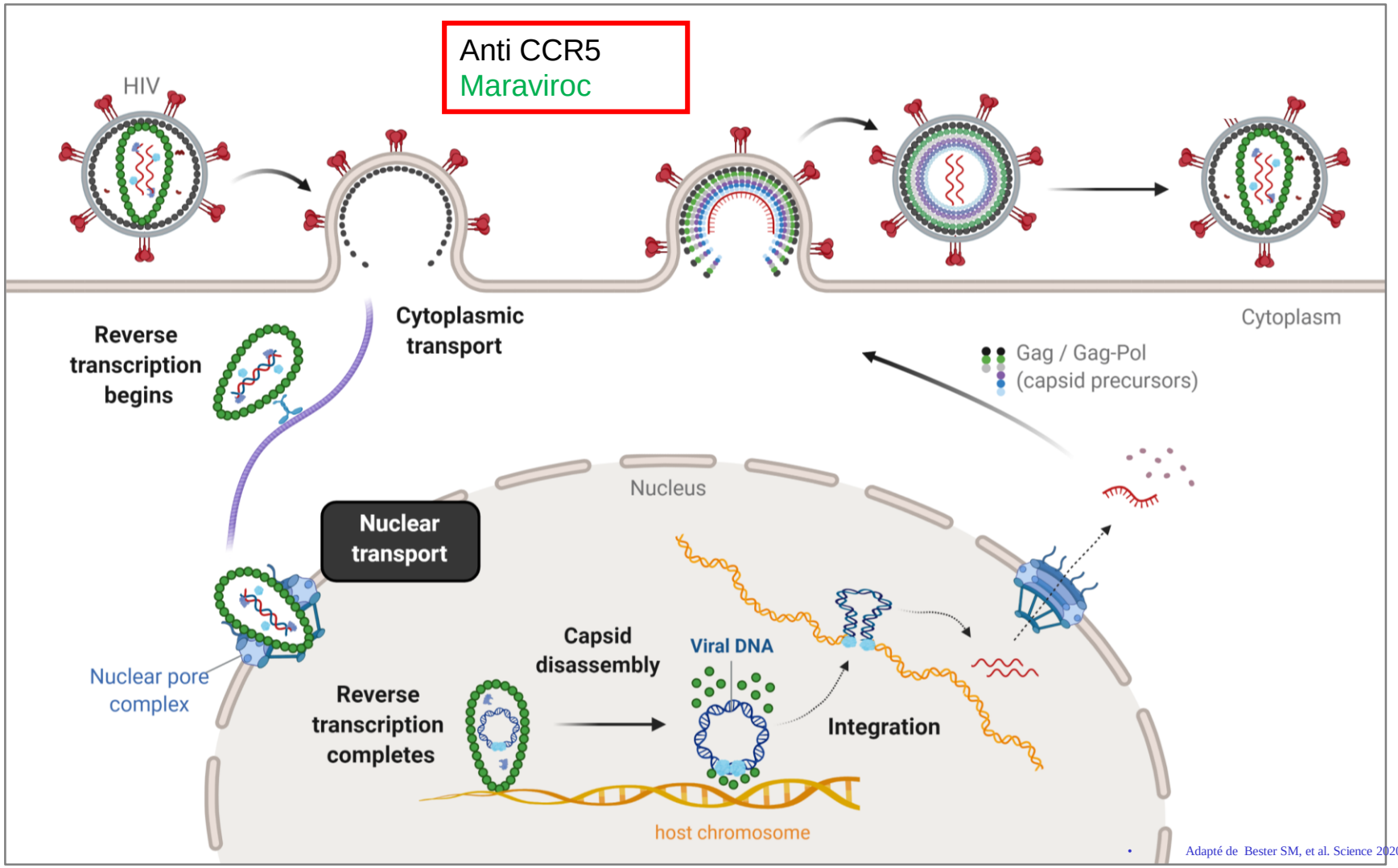
DOVATO
Dolutégravir 50 mg
Lamivudine 300 mg

1
1x/jour
50

CBG + RPV	**VOCABRIA®** VIIV HEALTHCARE + **REKAMBYS®** JANSSEN	Instauration orale optionnelle : **1 comprimé de cabotégravir** (30 mg) pendant 1 mois en association avec, **1 comprimé de rilpivirine** (25 mg), **1 fois/jour** pendant 1 mois.	toutes les 24h — à prendre au cours d'un repas
		Injections d'initiation aux mois 1 et 2 : **une injection de 600 mg** (3mL) **de cabotégravir** en association avec **une injection de 900 mg** (3mL) **de rilpivirine**.	 — bien suivre les recommandations
		A partir du mois 4, injection tous les 2 mois : **une injection de 600 mg** (3mL) **de cabotégravir** en association avec **une injection de 900 mg** (3mL) **de rilpivirine**.	

Les ARVs utilisés chez les patients en multi échecs

L’antagoniste CCR5



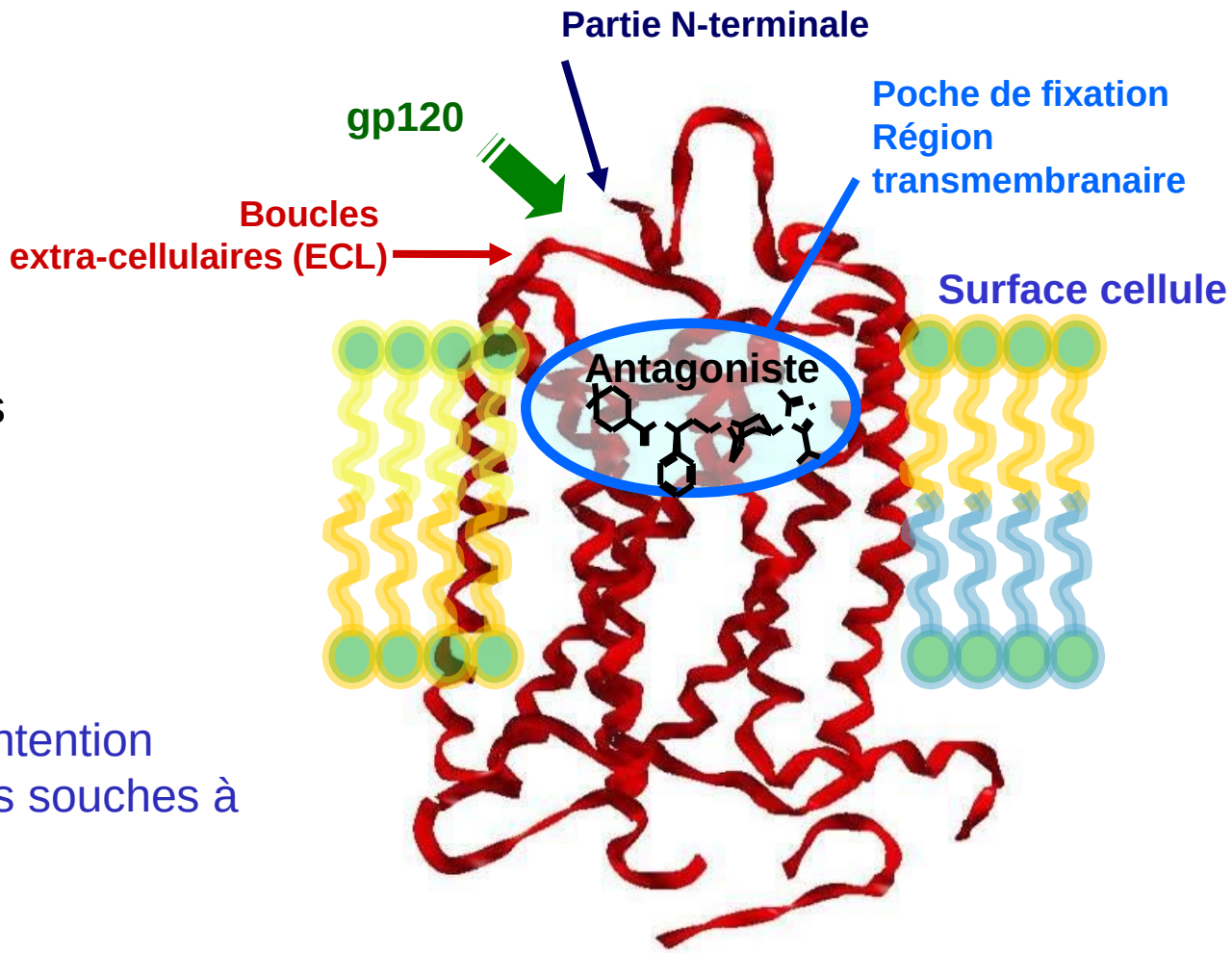
Adapté de Bester SM, et al. Science 2020

Antagonistes du CCR5 : Mécanisme d'action

➢Anti CCR5 : Maraviroc (MVC) Celsentri ®

Fixation de l'antagoniste dans la région transmembranaire

➔ Modification conformationnelle de la partie N-terminale et des boucles extracellulaires du CCR5 gênant la fixation de la gp 120

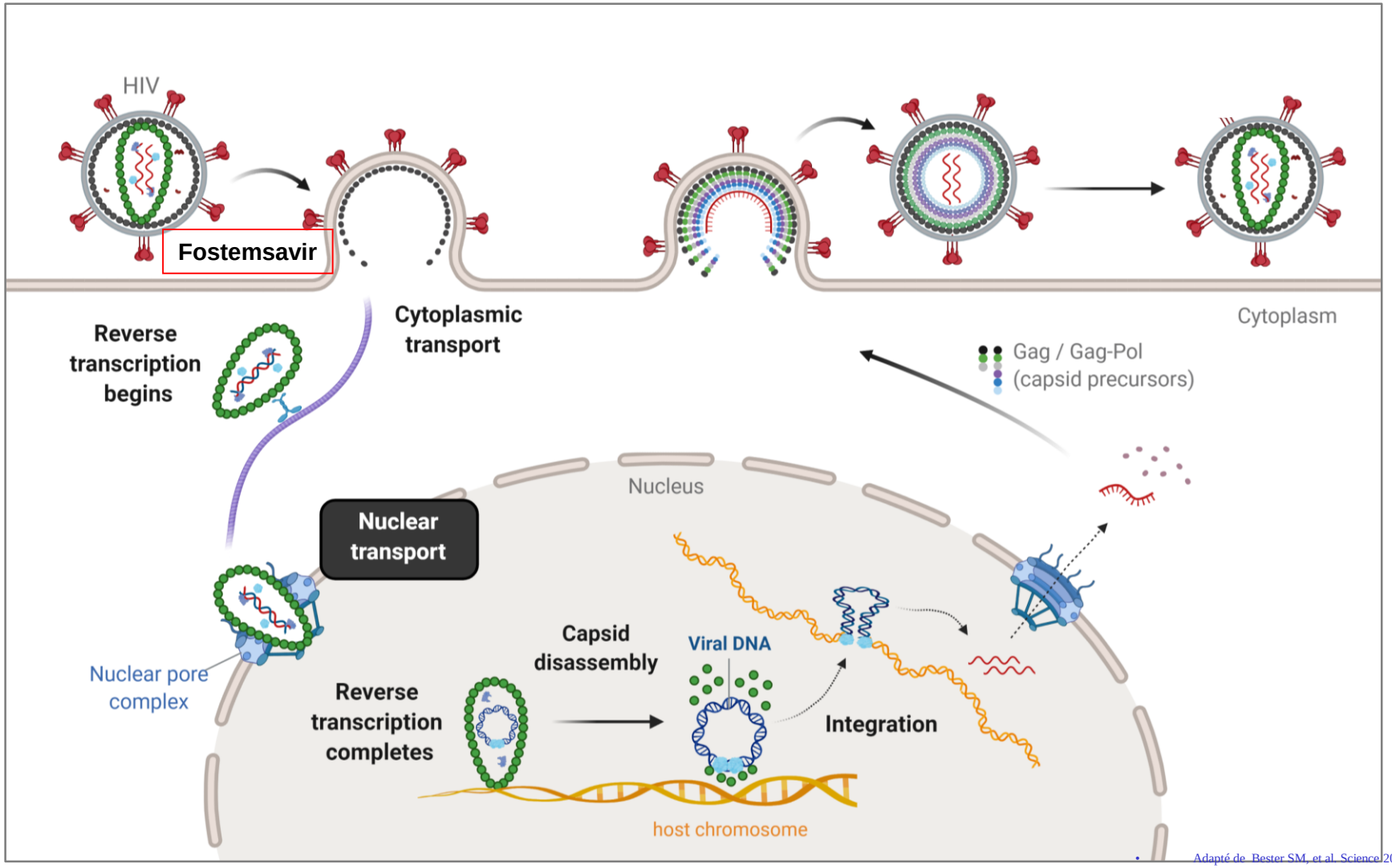


⇒ Ttt non utilisé en 1ère intention

⇒ Actif uniquement sur les souches à tropisme CCR5

*Westby M et al. 2004, Antiviral Therapy, **9**, S10; CROI 2005; Abs.96*

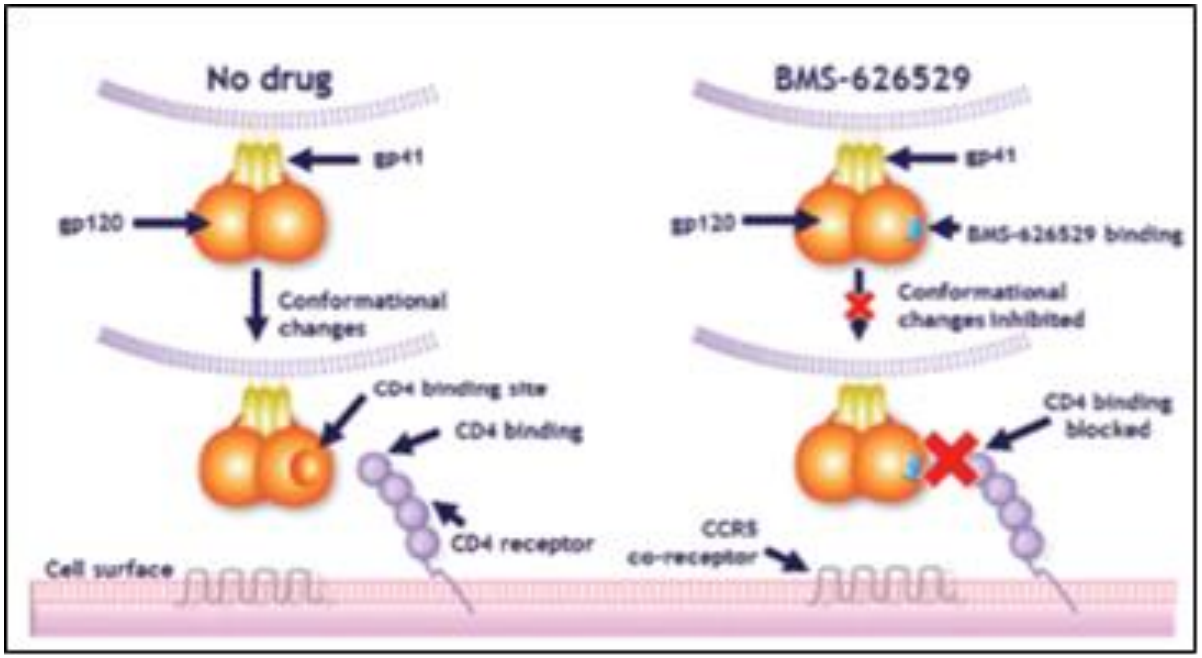
L’inhibiteur d’attachement



Adapté de Bester SM, et al. Science 2020

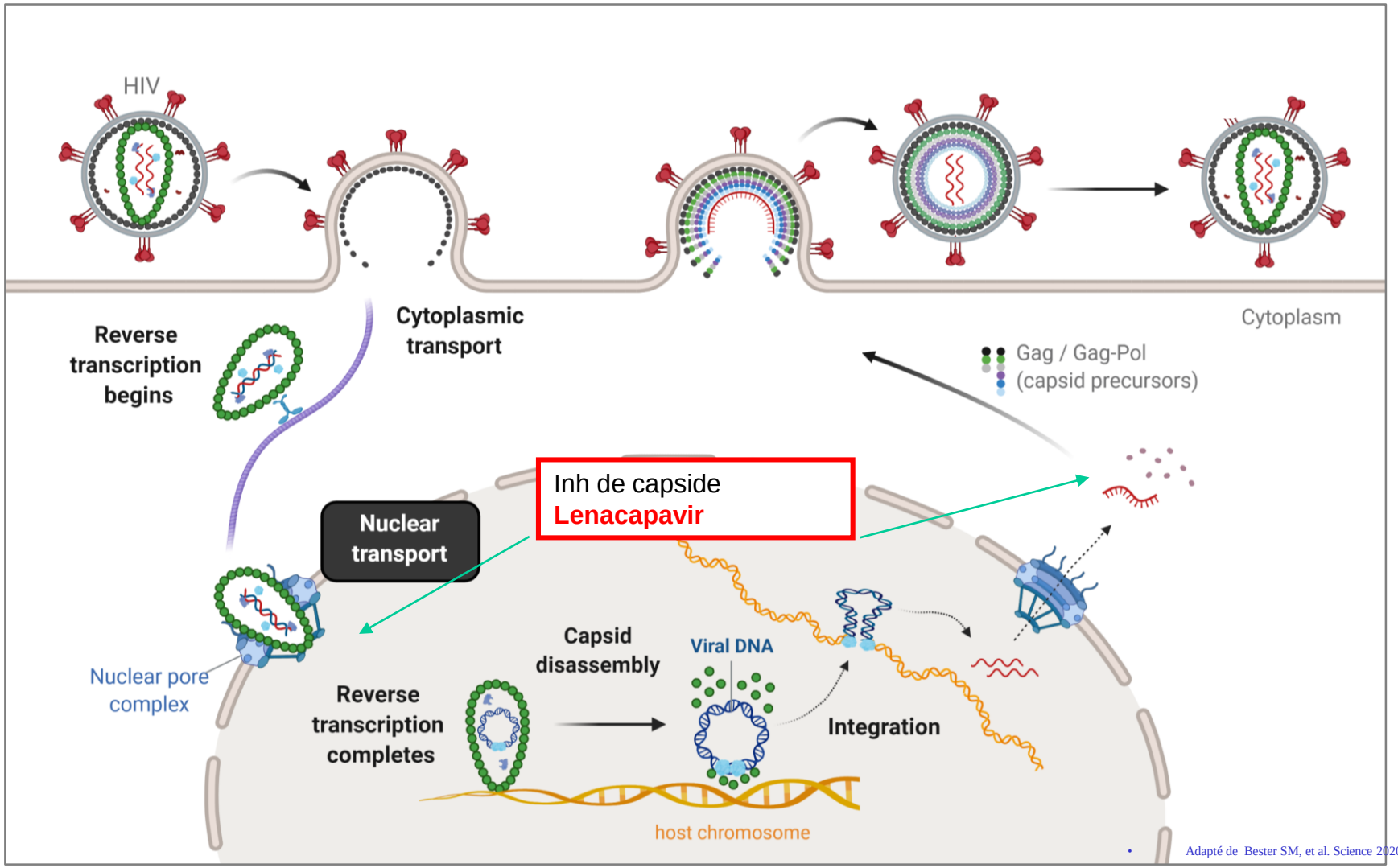
Inhibiteur d'attachement
Fostemsavir (Rukobia®) 2023

Pro drogue d'un nouvel inhibiteur d'attachement au récepteur CD4 qui se fixe directement à la gp120 bloquant son changement de conformation



Indications limitées aux patients en impasse thérapeutique pour multi échec

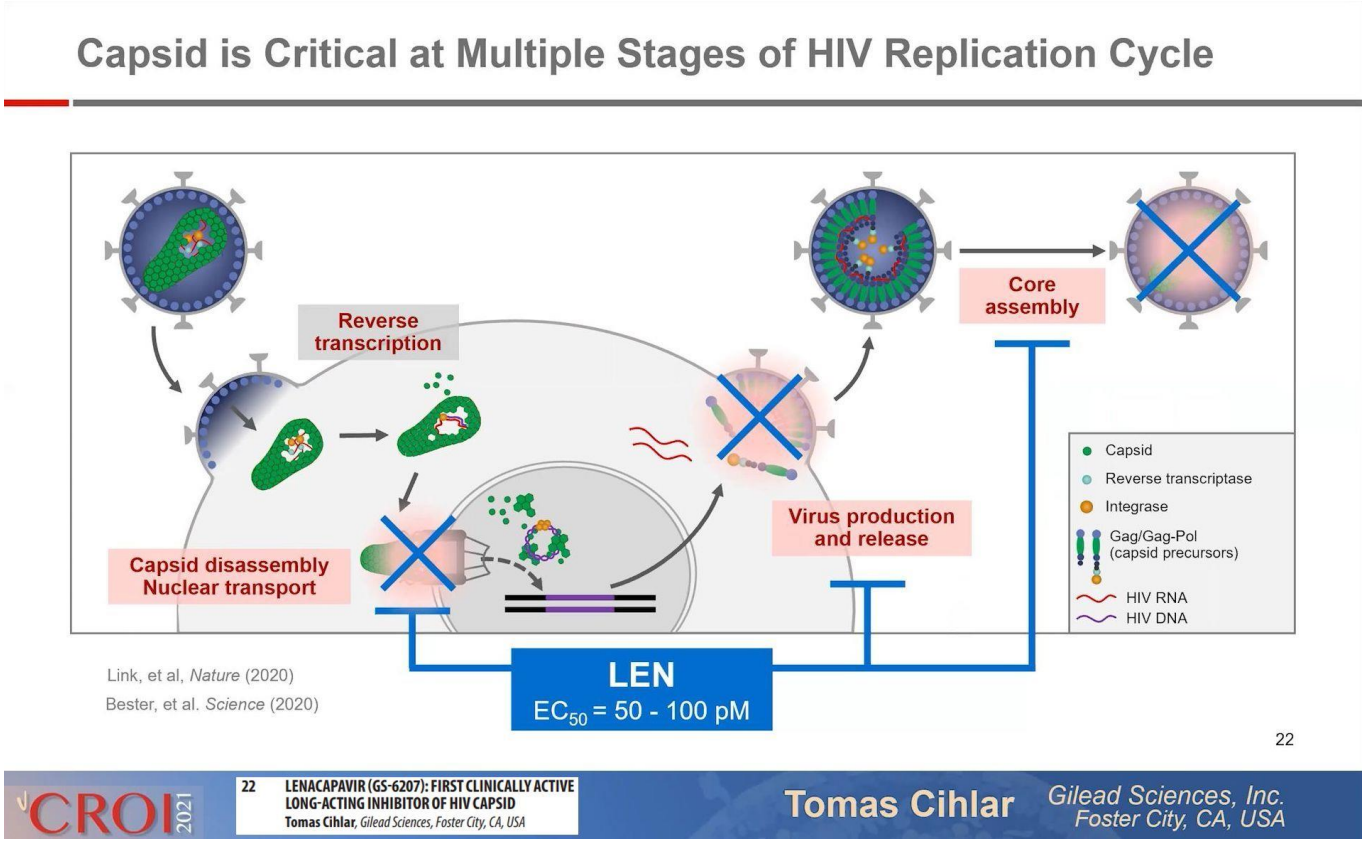
L’inhibiteur de capside



Adapté de Bester SM, et al. Science 2020

Inhibiteur de capside
Lénacapavir (2023) SUNLECA ®

: action à différentes étapes de la multiplication virale

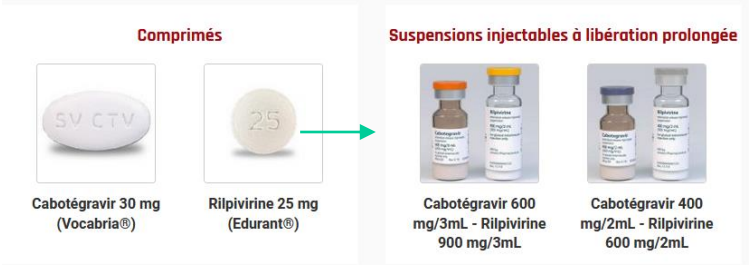


-Indications limitées aux patients en impasse thérapeutique pour multi échecs

-Administration en sous cutanée activité long acting 1 fs tous les 6 mois en combinaison avec un traitement optimisé ou par voie orale hebdomadaire

Nouveautés depuis 2022…Long acting

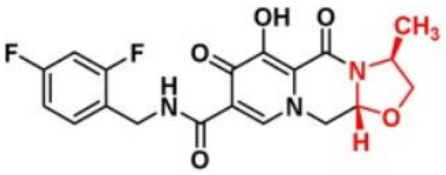
- 1ère bithérapie injectable à LP… ou une administration IM tous les 2 mois!



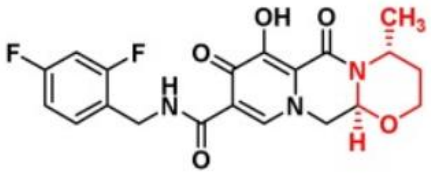
- Cabotégravir VOCABRIA®, nouvel inhibiteur de l'intégrase (INI- analogue structural dolutégravir)

- Rilpivirine REKAMBYS® formulation injectable LP (INNTI)

- Non infériorité de la bithérapie LA *vs* trithérapie chez des patients contrôlés virologiquement



cabotegravir



dolutegravir

Initiation de traitement en 2025

- Une **trithérapie** de première ligne associant 2 INTI avec un 3ème agent ou une **Bithérapie** associant un **INI et un INTI (DOVATO® : Dolutégravir + Lamivudine)**

- Nombreuses options validées en termes d'efficacité immunovirologique
- Un choix **individualisé avec le patient** l'objectif étant d'atteindre un niveau maximal d'observance.

- Des recommandations
  - Françaises (dernière actualisation 2024)
  - Européennes (dernière actualisation 2024)

Résumé des différents principaux traitements de 1ère ligne

Classes d'ARV	Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse = INTI	Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse = INNTI	Inhibiteur de protéase = IP « - avir »	Inhibiteur d'intégrase = INI « - gravir »
Mécanisme d'action	Analogue des bases Effet terminateur de chaine : abs de 3'OH	Inhibition de la TI par fixation sur un site allostérique	Peptidomimétique Molécule « leurre »	Fixation sur le complexe de pré-intégration
Molécules	Lamivudine Emtricitabine Abacavir Ténofovir : - Disoproxil - Alafénamide	Rilpivirine Etravirine Doravirine	Darunavir + Boost (inh enzymatique = ritonavir)	Raltégravir Dolutégravir Elvitégravir Bictégravir Cabotégravir

Facteurs pris en compte individualisant le traitement en fonction du patient

- Le niveau de charge virale (< ou > à 100 000 copies/ml)
- **La tolérance** attendue du traitement
- **La facilité de prise** en fonction des conditions et du rythme de vie du patient
- **Les interactions médicamenteuses** attendues avec d'éventuels autres traitements concomitants
- **Les comorbidités**, en particulier cardio-vasculaire, rénale, hépatique, les conduites addictives et les troubles psychiatriques, l'existence d'une tuberculose
- Les résultats du **test de résistance génotypique pré-thé**rapeutique (12% de souches avec des mutations de résistance initiales)
- Les conséquences potentielles d'un échec sur les options thérapeutiques ultérieures
- Les résultats de la recherche **de l'allèle HLA-B*5701 pour dépister le risque d'hypersensibilité à l'abacavir**
- **Le coût** du traitement

La Charge virale VIH pour le suivi de l'infection chronique

Monitorage de la charge virale VIH

- En parallèle d'un suivi immunologique **CD4**

- Mesure le la quantité de génome viral dans le plasma (expression en copies/ml et log copies/ml d'ARN VIH)

  En moyenne CV initiale autour de 100 000 cp/ml (5 log cp/ml)

- Patient **traité**
  - à la mise sous traitement ARVs (1ère ligne)
    - CV à **J0 (en parallèle du génotype)**
    - Contrôle à **1** mois : baisse de CV attendue =-1 log
    - Contrôle à 3 mois, 6 mois (indétectabilité de la CV)
    - Contrôle **3 à 4 fois par an** fonction du reste du bilan

  - Si CV détectable au cours du suivi
    - Jamais indétectable : revoir Observance, PK, puissance association ARVs
    - Blip : rebond de CV lors d'un contrôle puis indétectabilité , faire un contrôle pour affirmer l'échappement

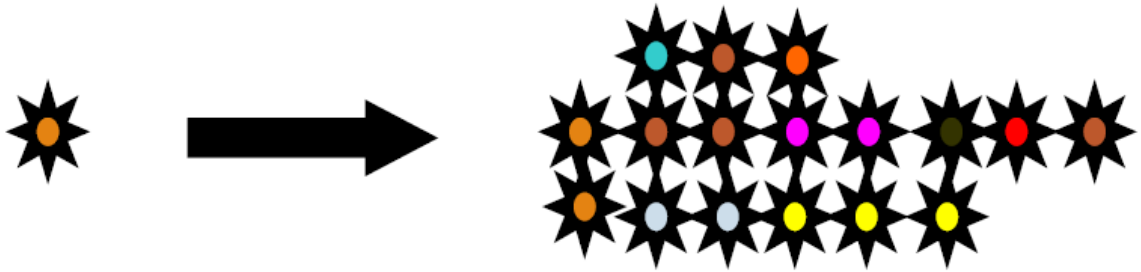
  - Échappement virologique (2CV de suite >50cp/ml , 1,3 log Cp/ml): génotype et discussion nouvelle thérapeutique

La résistance aux ARVs

Evolution individuelle

QUASI-ESPECE VIRALE

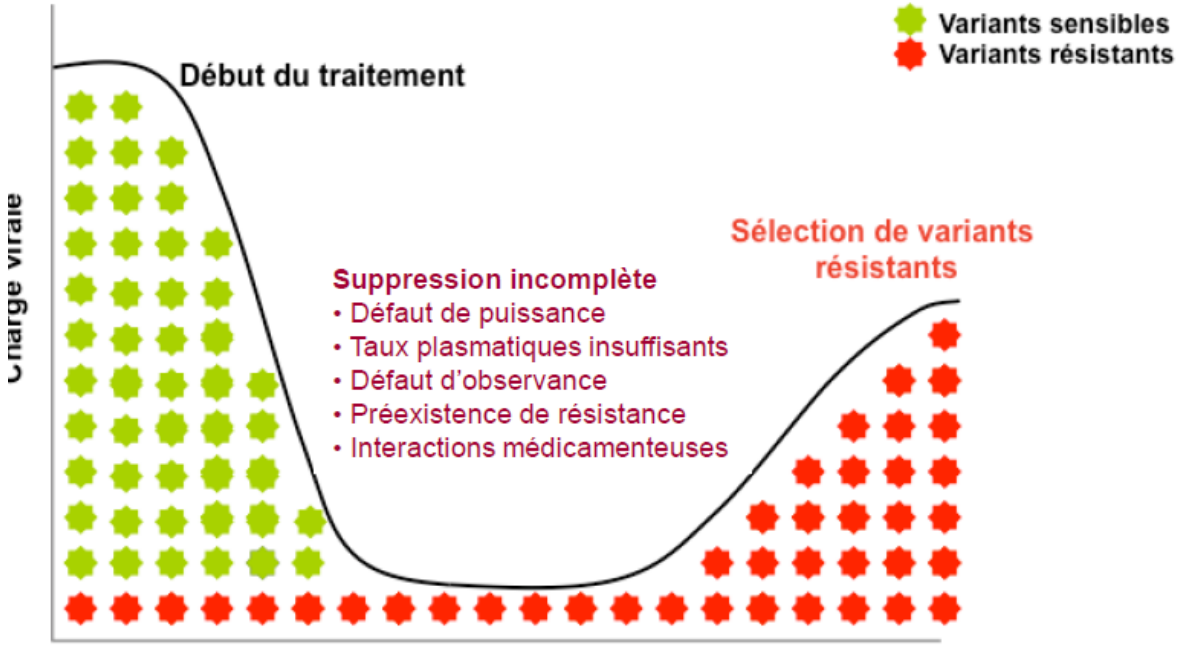
- En primo-infection, virus **génétiquement très homogène dans l'organisme**
- Infection **dynamique**, évolution de la population virale en raison des **erreurs de la transcriptase inverse** au cours de la réplication (une erreur tous les 10 000 nucléotides) : **variabilité nucléotidique** ➔ Apparition progressive d'un **mélange complexe de variants qui évoluent de façon différente et parfois indépendante au niveau des différents tissus et cellules** = **quasi-espèce virale** au sein des individus infectés



- Conséquences : **grand pouvoir d'adaptation, échappement aux réponses immunitaires et échappement possible aux thérapeutiques antirétrovirales par sélection des mutants résistants au sein de la quasi-espèce**

Emergence de Résistance

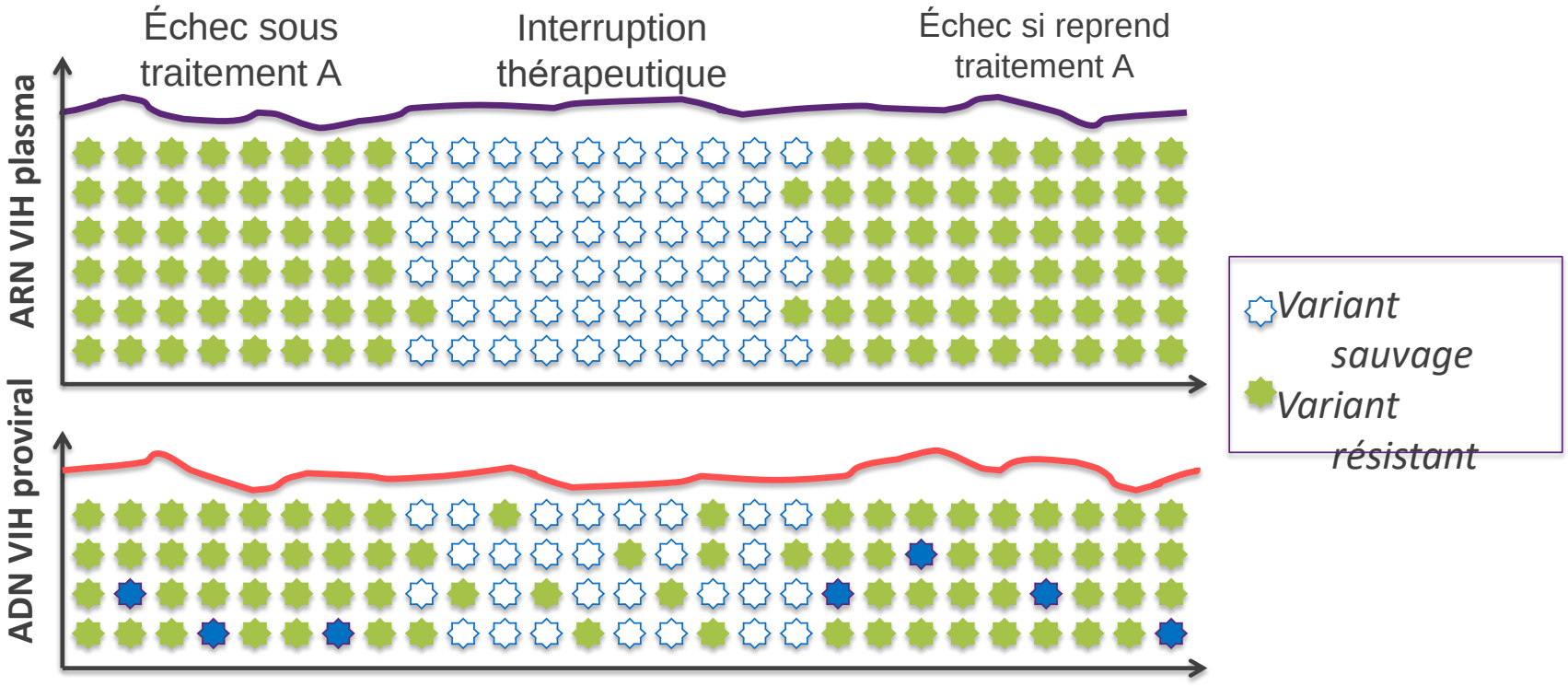
- En l'absence d'ARV : le virus sauvage/sensible est le plus adapté et le plus prévalent de la quasiespece virale
- Sous pression de sélection anti rétrovirale : les variants résistants peuvent émerger en raison de leur avantage réplicatif dans certaines circonstances



Facteurs favorisants l'émergence de virus résistants

Traitement antérieur	•Variants résistants sélectionnés précédemment •Archivage des mutations dans les sanctuaires et ré-émergence lors de la réintroduction du ttt
Stade de la maladie	•Risque plus important d'échec si stade avancé
Puissance ARV	•Risque en cas de combinaison sub-optimale d'ARVs (recommandations)
Observance patient	•Mauvaise observance ou arrêt thérapeutique risque de concentration sous optimale contribuant à l'émergence rapide de mutations
Concentration de l'ARV	•Variation individuelles du métabolisme et de la PK: modification des C° intra cellulaire avec risque d'émergence mutation

Problématique de la Résistance Archivée



Le virus muté s'intègre dans le génome de l'hôte et est donc archivé

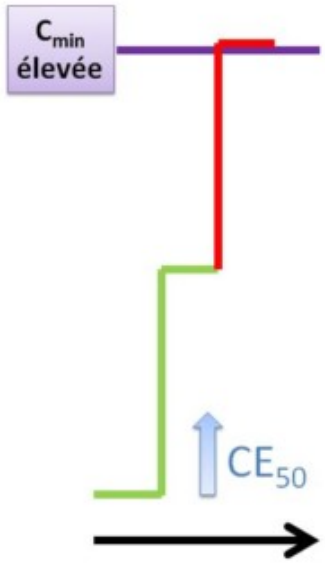
Barrière génétique aux ARVs

Barrière génétique faible

Forte baisse de sensibilité pour une mutation et C_{min} élevée

→ Une seule mutation engendre un haut niveau de résistance

- 3TC/FTC
- INNTI (EFV, NVP et RPV)
- INI de 1re génération (RAL et EVG)
- Inhibiteur de fusion

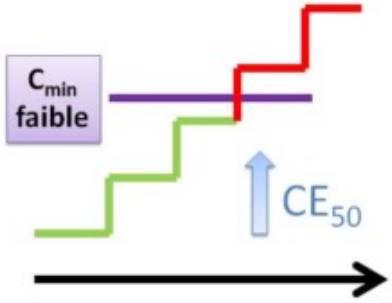


Barrière génétique intermédiaire

Changement modéré de sensibilité pour une mutation et C_{min} faible

→ Une à deux mutations diminuent la sensibilité

- AZT, TDF, ABC
- ETR

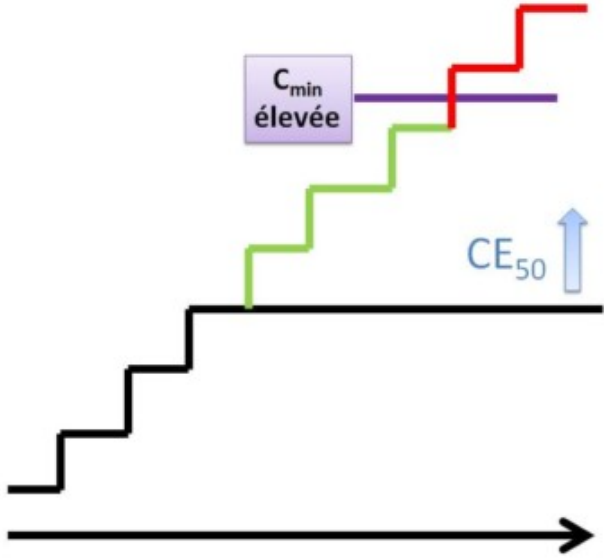


Barrière génétique élevée

Peu de modification de la sensibilité pour une mutation et C_{min} élevée

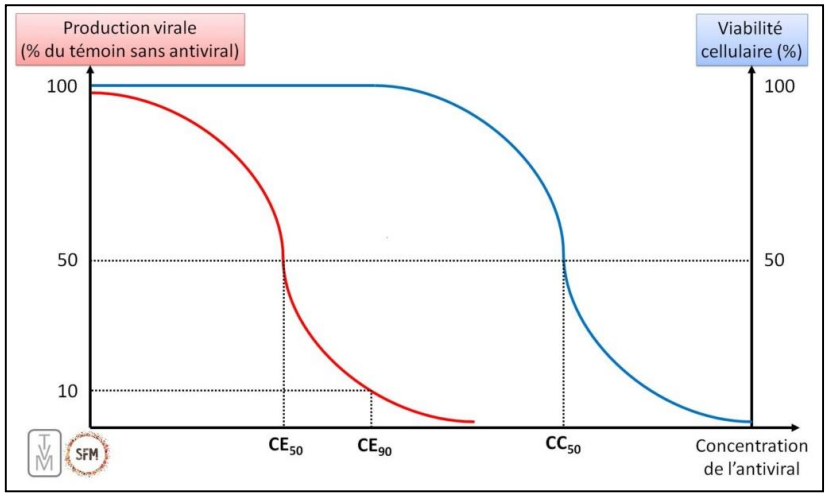
→ Plusieurs mutations diminuent la sensibilité

- IP potentialisés par ritonavir ou cobicistat
- INI de 2e génération (DTG)



Tests phénotypiques réservés à la recherche

- Méthode **RVA** (Recombinant Virus Assay)
  - Construction d'un virus recombinant :souche de laboratoire ayant incorporé le fragment amplifié par PCR (RT ou Prot)
  - Culture à différentes concentrations d'ARVs
  - Comparaison avec le virus sauvage de la CI50 ou CI90
- <u>Test réservé à la recherche</u>
  - Technique lourde, onéreuse
  - Pas de bénéfice démontrer en pratique clinique/génotype

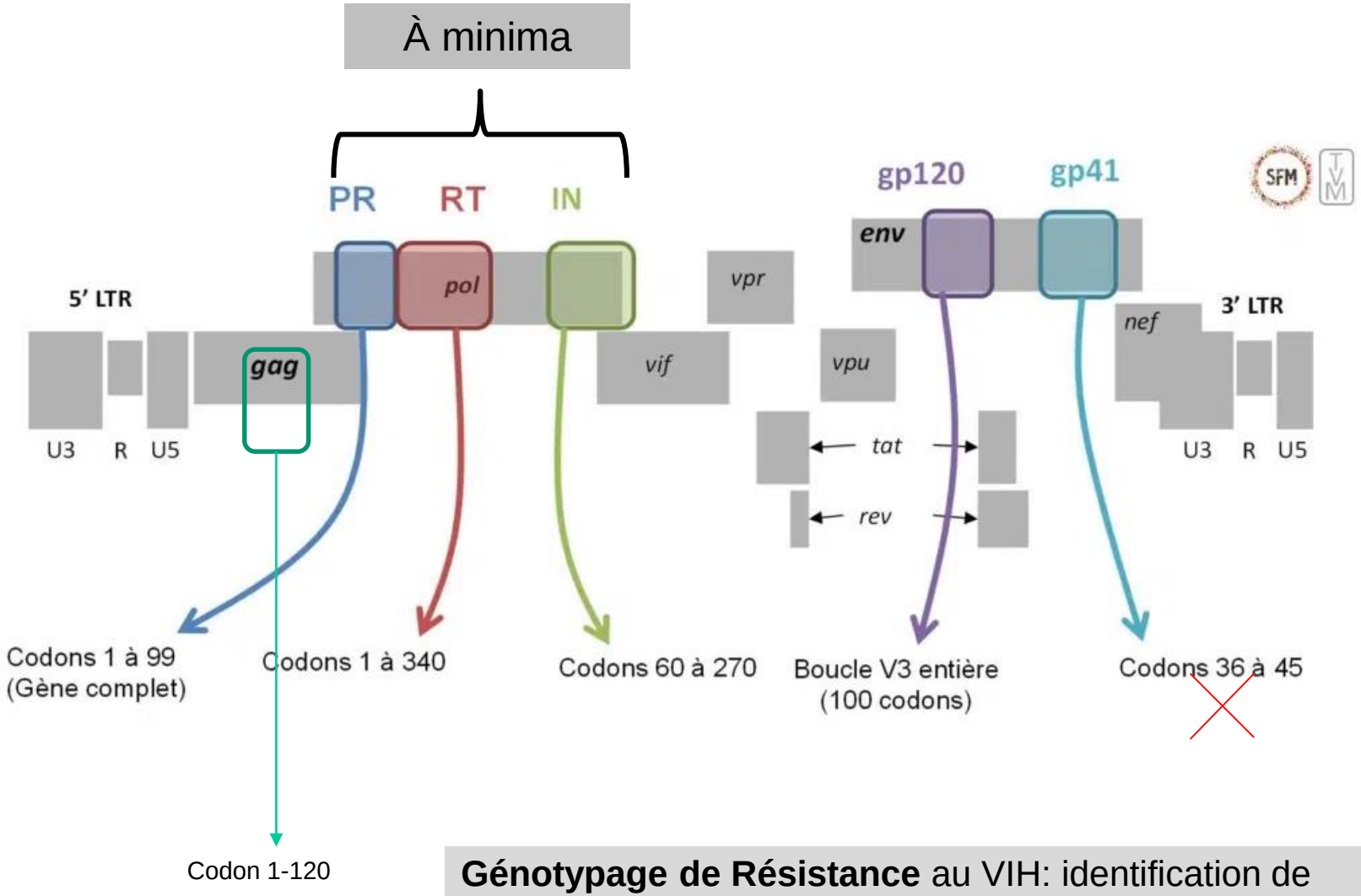


La Méthode de référence en pratique quotidienne d'évaluation de la résistance est GENOTYPE

Indications du test génotypique de recherche de résistance

- À la découverte de la séropositivité
  - Infection par une souche présentant des mutations (12% des cas)
  - Détermination du sous type
- Echecs thérapeutiques
  - Mise en évidence des mutations de résistance (sur la 2ème CV >50cp/ml)
  - Choix d'un nouveau traitement en fonction des molécules efficaces
- Méthode de routine : méthode de sanger
  - Détection des populations virales mutées représentant au moins 20% de la population virale

Régions du génotypage VIH1



Génotypage de Résistance au VIH: identification de **mutations** dans l'un des 4 gènes codant pour les protéines cibles (RT,Prot,, intégrase , gp120, gène de la capside) capables de diminuer la sensibilité aux ARVS

La technique de génotypage par la méthode sanger

Les étapes du génotypage VIH en méthode Sanger

- **Extraction** à partir d'un plasma EDTA :
  - extracteur automatisé (Qiasymphony) 1000 µl =50 µl d'extrait réalisation de l'amplification sur 5µl

- **Amplification** des gènes cibles : RT, PROT, intégrase, Gp120 , capside (P24)
  - RT : construction d'un cDNA
  - Nested PCR: augmentation de la sensibilité

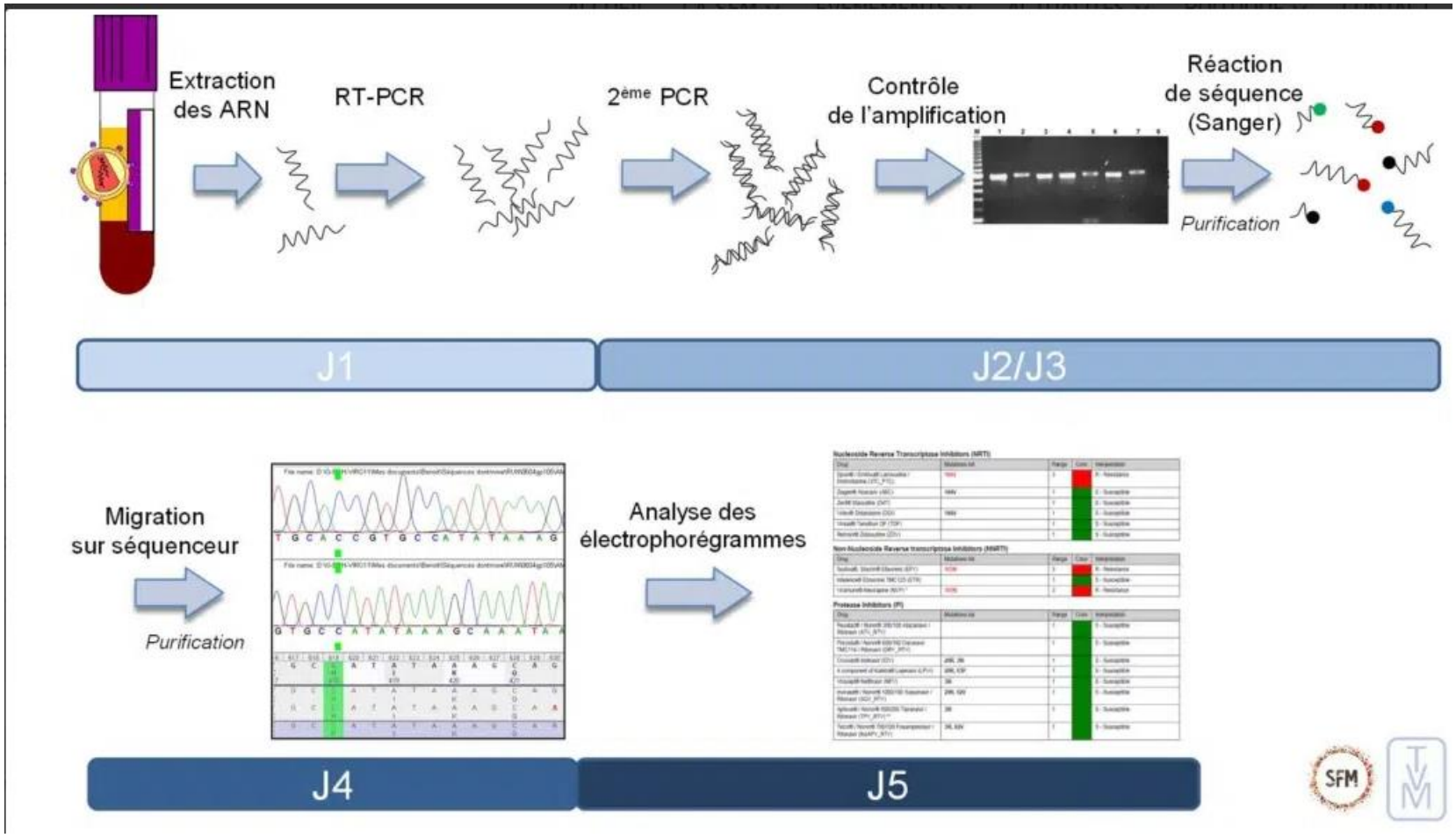
- **Séquençage** : détermination de la séquence nucléotidique d'un gène
  - Méthode de Sanger
  - Séquenceur capillaire

- **Analyse** informatique
  - Transformation en séquence d'AA
  - Détermination des codons de résistance

- **Interprétation** en fonction de l'algorithme
  - Dernière version n°34 (octobre 2023)

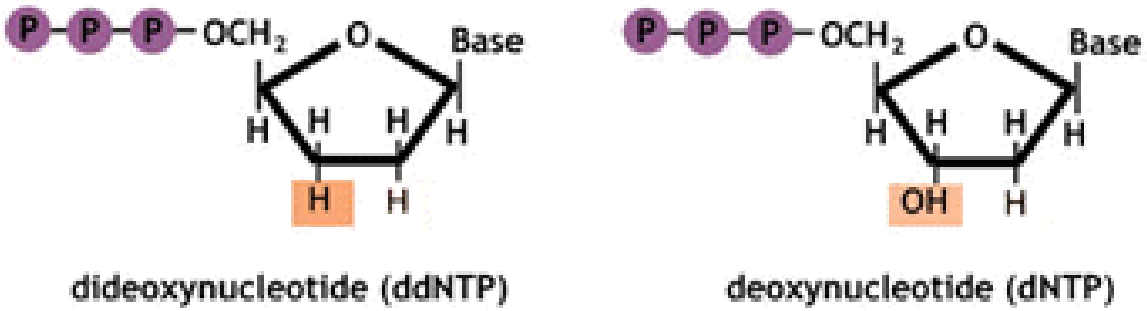
    www.hivfrenchresistance.org

Les étapes du génotypage VIH en méthode Sanger



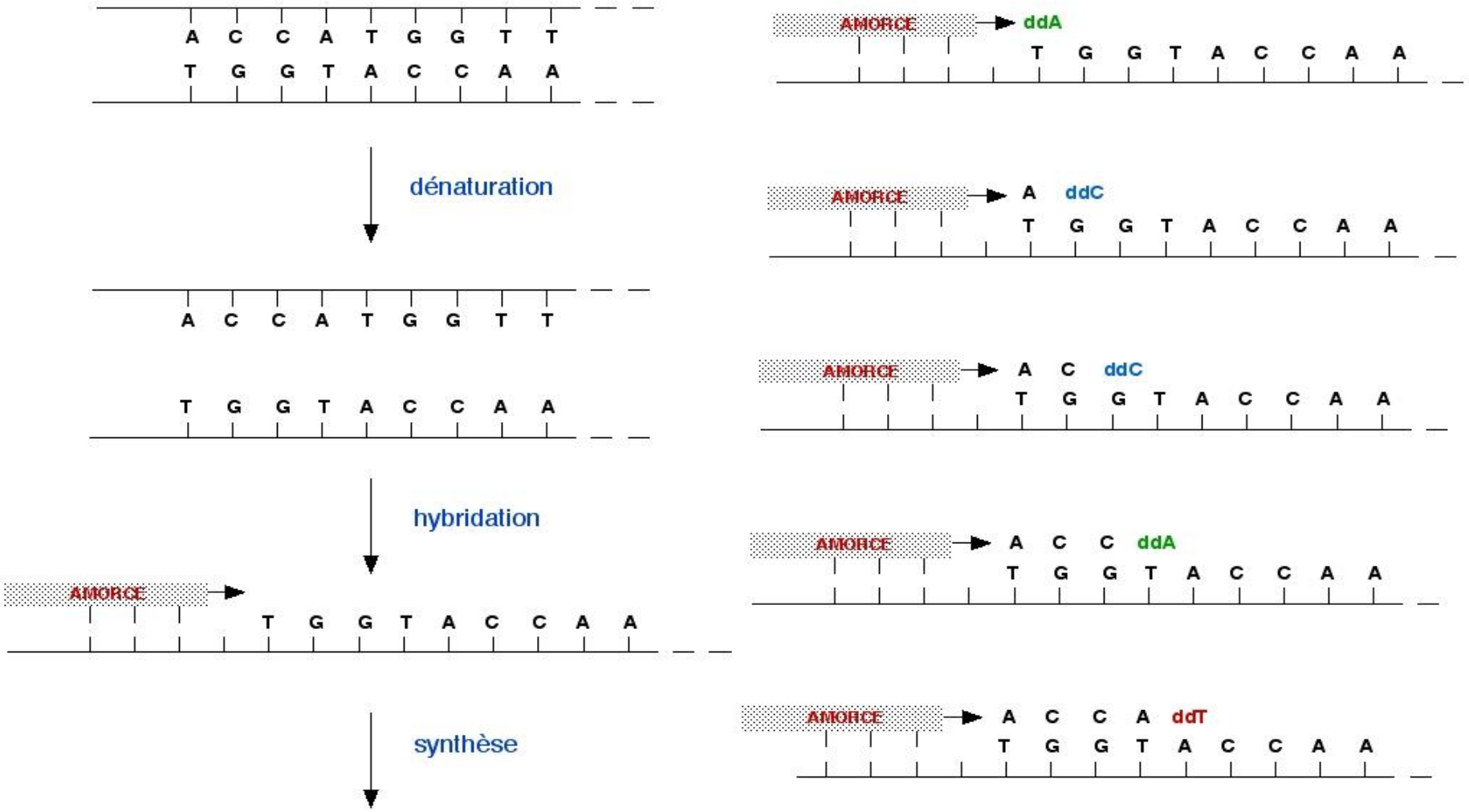
Principe Méthode de Sanger 1977

Elle est basée sur la synthèse d'un brin d'ADN en présence de nucléotides particuliers appelés **didésoxynucléotides** (ddNTP)
→Pas de groupement hydroxyle en C3'
→Terminateur de chaîne



LE SÉQUENçAGE DE L'ADN

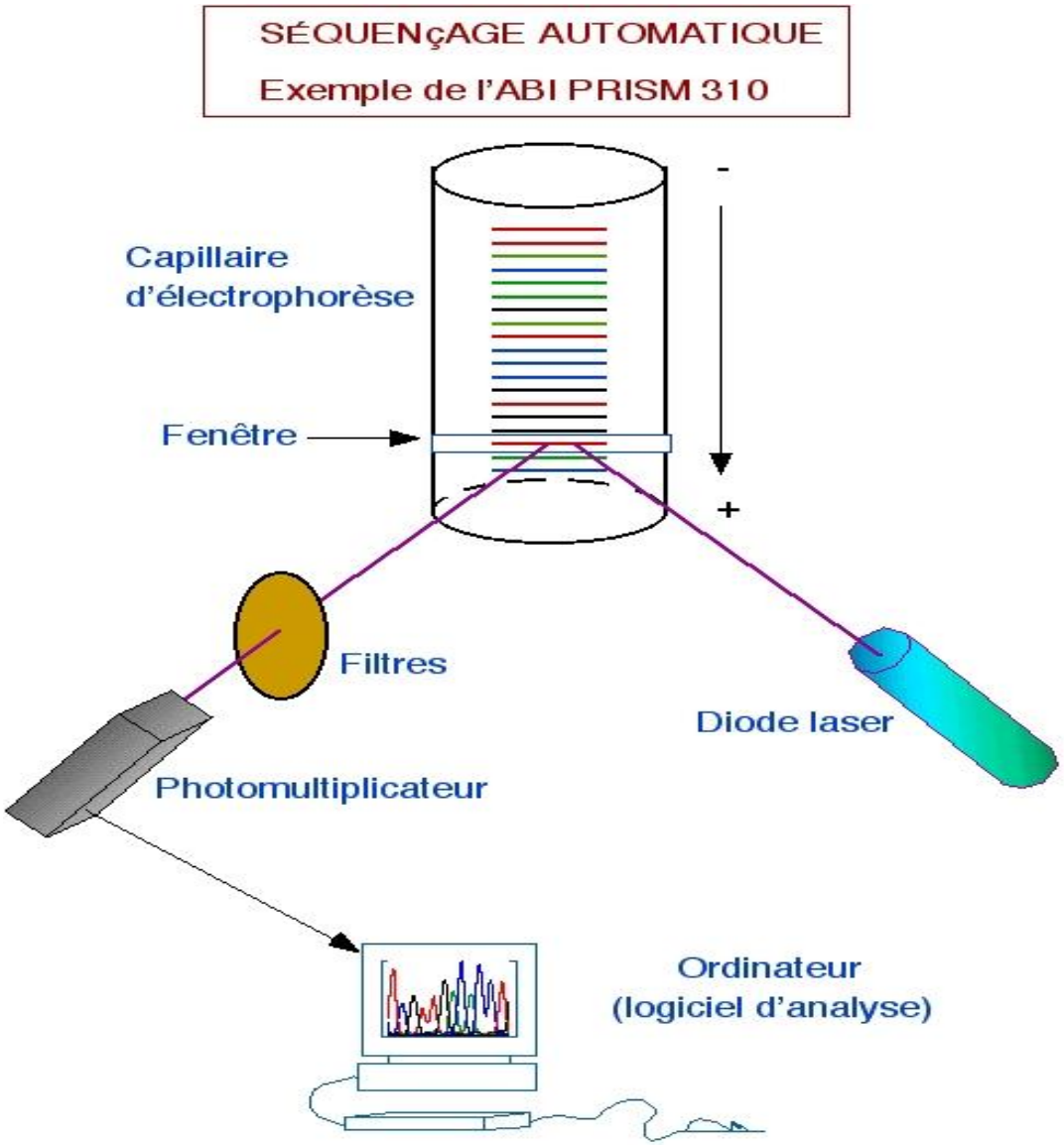
(méthode de Sanger)



Composition du milieu de séquençage

- Réaction de séquence addition dans le milieu contenant le fragment à séquencer
  - d 'une amorce
  - d 'un mélange nucléotidique contenant
    - dATP, dCTP,dGTP, dTTP et
    - dATP*, dCTP*,dGTP*,dTTP* non hydroxylé en 3'
- Utilisation de réactifs fluorescents pour le marquage (fluorescéine, Rouge Texas, Tetramethylrhodamine …)
  - TAMRA -> jaune
  - ROX -> rouge
  - FAM -> bleu
  - JOE -> vert
- Les quatre composés fluo peuvent être détectés simultanément
  - réaction de séquence
  - électrophorèse
  - balayage par un faisceau laser au bas du gel
  - tube photomultiplicateur détecte la fluorescence émise et la convertit en un signal électrique vers l'ordinateur.
  - Scan du gel 600 fois /heure

Analyse des produits de séquences



Analyse des séquences obtenues

- **Analyse**
  - AA sauvage suivi de la position sur le gène (RT, PROT, INTEGRASE,ENVELOPPE,CAPSIDE) et AA muté
    - Ex : M184V :en position184 une Valine remplace une Méthionine
  - Lecture des séquences obtenues dans un programme d'analyse qui positionne les points de mutations et les résistances engendrées selon le dernier algorithme de l'ANRS
    - Réponse possible : R pour résistant, Rp pour résistance possible et S pour sensible

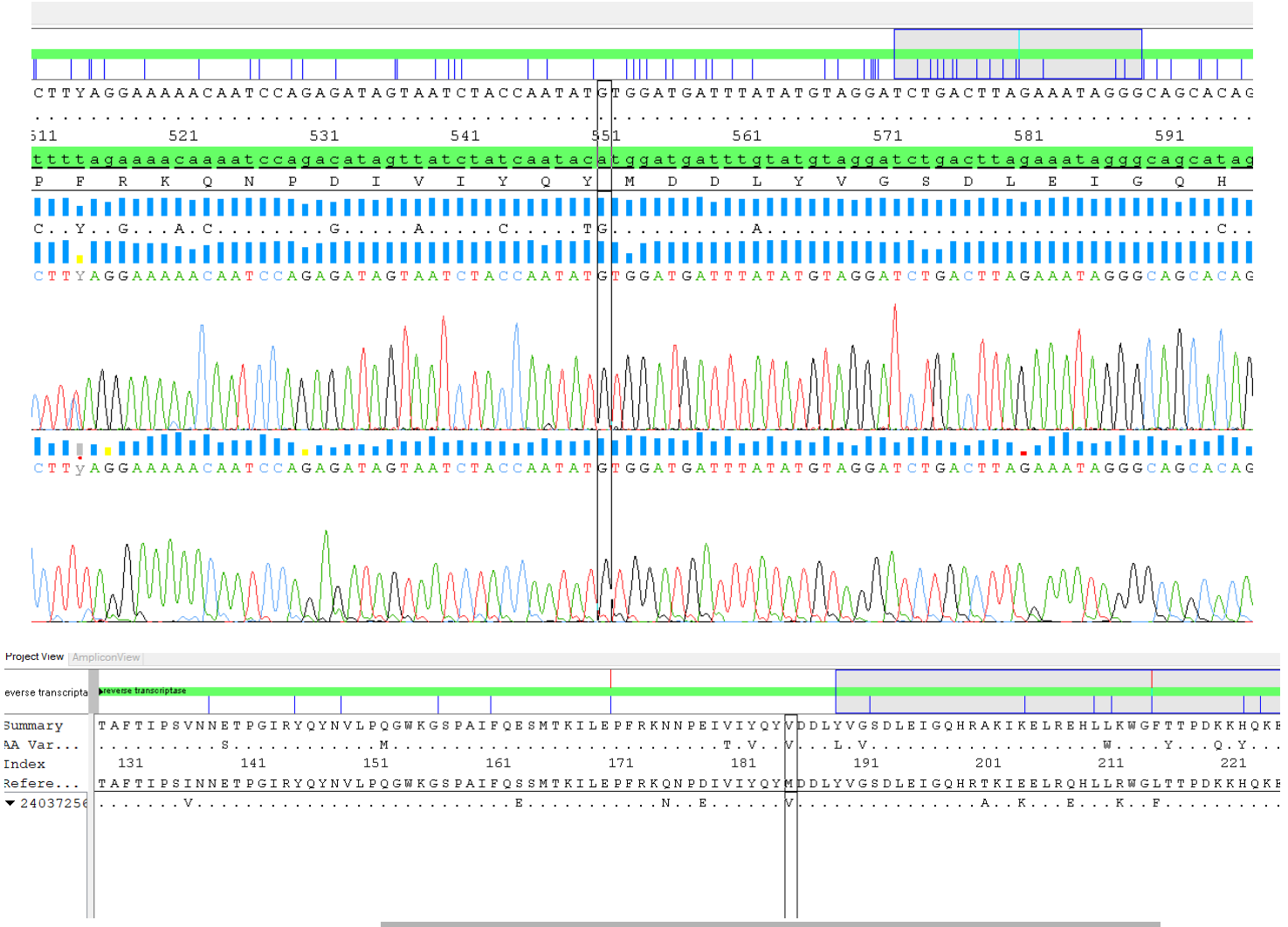
November 2023 - Version n°34

ANRS – MIE VIROLOGY NETWORK : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION: NUCLEOSIDE AND NUCLEOTIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
ZDV	• T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [1, 2, 3, 4] • At least 3 mutations among: M41L, D67N, K70R, L210W, K219Q/E [1, 2, 3, 4] • Q151M • Insertion at codon 69	
3TC/FTC	• K65R [8, 9, 11] • M184V/I • Insertion at codon 69	• Q151M
ABC	• At least 3 mutations among: M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [5, 20] • K65R [6, 8, 9, 24] • L74V/I [16, 17, 18, 19, 20, 24] • Y115F [24] • Q151M • Insertion at codon 69	• 2 mutations among: M41L, D67N, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [5, 20] • M184V/I [24]
TDF/TAF	• At least 4 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [10, 12, 21, 25, 26] • K65R/E/N [6, 7, 8, 9, 22, 23, 25, 26] • Insertion at codon 69 • K70E [13, 14, 15]	• 3 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [10, 21, 25, 26]
ISL	• M184V/I [27, 28, 29]	• A114S [29]

ZDV: zidovudine, 3TC: lamivudine, FTC: emtricitabine, ABC: abacavir, TDF: tenofovir disoproxil fumarate, TAF: tenofovir alafenamide , ISL: islatravir

Ex Génotype de la TI à partir d'une CV = 3,27 log cp/ml



ATG➔ GTG en position 184 = M184V

Technique NGS : évaluations en cours

- Techniques « in house » : Whole Genome Séquençage

- Techniques commerciales
  - Avantages/ sanger détection des populations minoritaires
    - Positionnement du Cut Off 20%
  - En test à Nantes Technique ABL : séquençage du gène POL
    - Technique en 3 jours
    - Logiciel d'interprétation : MicroBiockeck®

Profils de résistance aux ARVs

Résistance aux INTI: mécanismes

- 1- Diminution de l'incorporation de l'ARV lors de la synthèse d'ADN au profit des dNTP naturels par un mécanisme de perte d'affinité : **Discrimination**
  - Codons : 65,74,151,184
  - Molécules concernées : ddI, 3TC, ABC, FTC, TDF
  - Diminution importante de la capacité réplicative

- 2-Excision du dernier INTI incorporé dans la chaîne d'ADN en cours de synthèse ce qui permet une reprise de l'élongation: **Pyrophosphorolyse**
  - Mutations sélectionnées par les analogues de la thymidine : AZT>d4T (TAMs)
  - Codons : 41,67,70,210,215, 219
    - Accumulation progressive
    - 2 profils différents

Résistance aux INTI

- Résistance croisée
  - mutations spécifiques, pas ou peu de résistance croisée
    - M184V pour le 3TC, FTC
  - Mutations diminuant la sensibilité à plusieurs INTI
    - K65R : impact sur sensibilité au TDF, ABC
    - TAMs : impact sur sensibilité à tous les INTI sauf 3TC et FTC
  - 2 mécanismes de haute résistance MDR (*multi drug resistance*)
    - Q151M associée à diverses substitutions aux positions 62.75.77.116
    - Ins 69 généralement de type SS
- Profil d'apparition des résistances variable en fonction des associations de molécules

Résistance aux INNTI

- Mécanisme et structure différente :interaction avec le **site hydrophobe** de la Rt **non compétitive**

- Trois groupes de mutations :
  - Mutations de part et d'autre du site actif :position 100-103 ,106-108 et 181,188,190
  - Mutations moins fréquentes sur la seconde sous unité de la RT (p51)

- Perte d'affinité de l'INNTI pour le site
- Avantage sélectif des souches mutées
  - Acquisition très rapide de la résistance
- Résistance croisée +++ entre Névirapine et Efavirenz
- ARVs à faible barrière génétique
- Nouvelle génération

  - Rilpivirine : nouvelle molécule mais barrière génétique faible

  - Etravirine et Doravirine : actif sur des souches résistantes aux autres INNTI

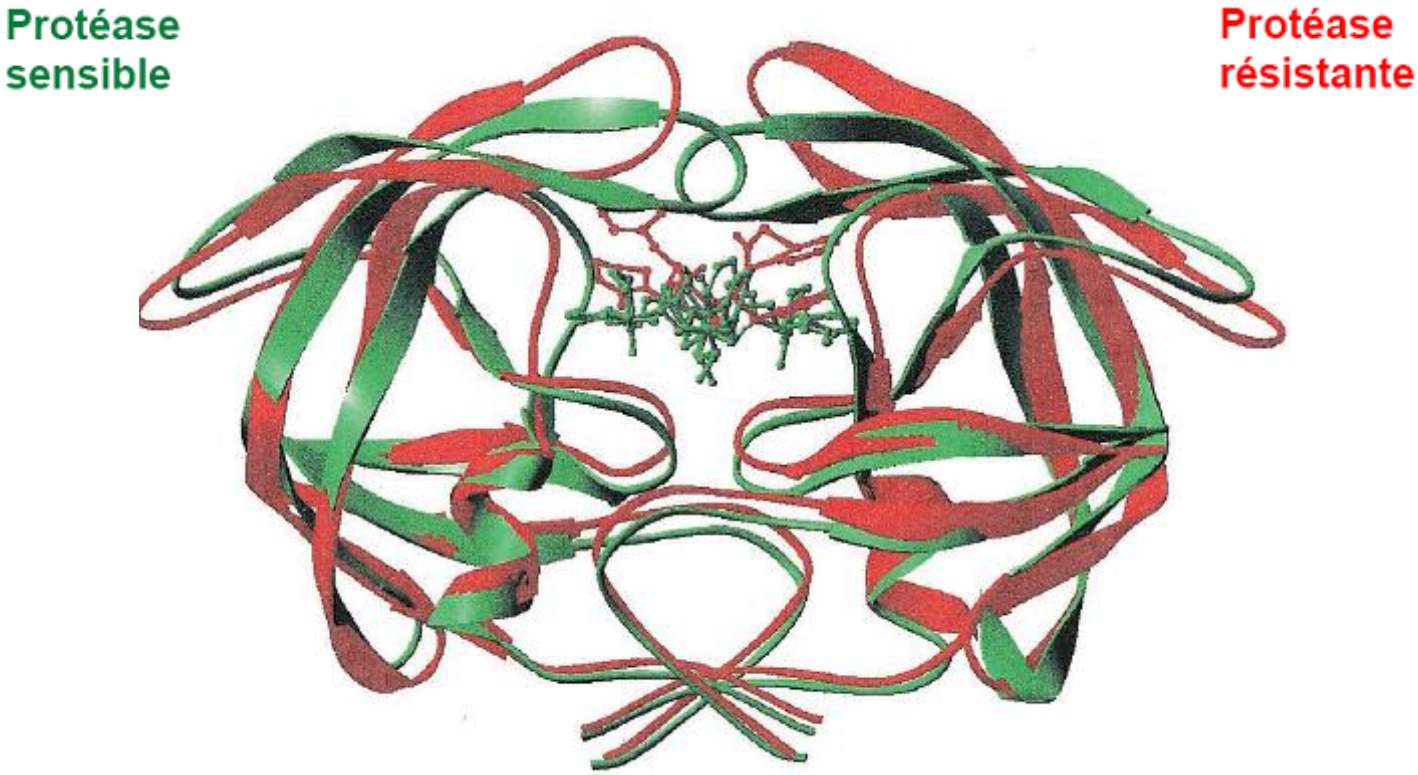
Résistance aux IP

Mutations de résistance localisées principalement dans la **région de fixation du substrat** de la protéase

Changements conformationels :diminution de l'affinité du substrat pour l'enzyme

Développement progressif par accumulation de mutations (majeures, « signatures », mineures), rôle et importance différents (nature, nombre)

Effet mutations = agrandissement du site de fixation des IP (perte d'affinité)



Résistance aux inhibiteurs d'intégrase

- Raltégravir Isentress®
  - Polymorphisme important du gène de l'intégrase
  - Différents profils d'échappement
    - profil N155H le plus fréquent
    - Q148H(R,K) +G140S
    - E92Q
  - Sélection rapide des mutations en cas de réplication virale
    - Barrière génétique faible
    - Résistance croisée entre les 2 molécules
- 2ème génération Dolutégravir Tivicay ® ou en association avec ABC+3TC+DTG Triumeq ® et FTC+ TAF + Bictégravir Biktarvy ®
  - Barrière génétique plus élevée et profil différent (mutations plus rares)
    - ex R263K qui impactent sur la capacité réplicative du virus

Algorithme de résistance du VIH aux ARvs

- Outil (développer par des groupes d'expert) permettant de **déduire les ARVs probablement actifs** sur la souche virale à partir des associations des mutations retrouvées sur le génotype
- Construction :
  - Résultats des **essais *in vitro*** de passages des souches sauvages en présence de l'ARV à tester à des concentrations croissantes (étude phénotypique) permettant d'établir un profil supposé de résistance à un ARV
  - **Corrélation** entre l'existence de différents **profils** de mutations et la résistance **phénotypique**
    - Défaut de corrélation pour certain ARV entre le phénotype et le génotype
  - Ajustement nécessaire du profil de résistance au cours des études cliniques: établissement d'une corrélation entre le **profil génotypique** (nature et nombre de mutations) et la **réponse virologique**
    - Définition d'un seuil de mutations prédictifs d'une moins bonne réponse
  - **Validation** des profils par rééchantillonnage de patient qui avait été sélectionné pour réalisé le profil *in vivo* : vérification de la concordance
  - **Réévaluation** régulière : nouvelles molécules, nouvelles associations, résultats des essais thérapeutiques

Version n°34 de l'algorithme ANRS ex de la RT

November 2023 - Version n°34

ANRS – MIE VIROLOGY NETWORK : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION: NUCLEOSIDE AND NUCLEOTIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
ZDV	• T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [1, 2, 3, 4] • At least 3 mutations among: M41L, D67N, K70R, L210W, K219Q/E [1, 2, 3, 4] • Q151M • Insertion at codon 69	
3TC/FTC	• K65R [8, 9, 11] • M184V/I • Insertion at codon 69	• Q151M
ABC	• At least 3 mutations among: M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [5, 20] • K65R [6, 8, 9, 24] • L74V/I [16, 17, 18, 19, 20, 24] • Y115F [24] • Q151M • Insertion at codon 69	• 2 mutations among: M41L, D67N, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [5, 20] • M184V/I [24]
TDF/TAF	• At least 4 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [10, 12, 21, 25, 26] • K65R/E/N [6, 7, 8, 9, 22, 23, 25, 26] • Insertion at codon 69 • K70E [13, 14, 15]	• 3 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F [10, 21, 25, 26]
ISL	• M184V/I [27, 28, 29]	• A114S [29]

ZDV: zidovudine, 3TC: lamivudine, FTC: emtricitabine, ABC: abacavir, TDF: tenofovir disoproxil fumarate, TAF: tenofovir alafenamide , ISL: islatravir

Compte rendu des génotypes aux cliniciens

3TC => Résistance	M184V/M
ABC => Résistance	M41L, D67D/N, L74I/L, M184V/M, L210W/L, T215C/Y
FTC => Résistance	M184V/M
TDF => Résistance	M41L, E44E/D, D67D/N, L74I/L, L210W/L, T215C/Y
ZDV => Résistance	M41L, D67D/N, L210W/L, T215C/Y
DOR => Résistance possible	Y181C/Y, G190G/A
EFV => Résistance	Y181C/Y, G190G/A
ETR => Résistance	Y181C/Y, G190G/A
NVP => Résistance	Y181C/Y, G190G/A
RPV => Résistance	Y181C/Y

Decembre 2020 - Version n°31, Protéase (PR), HIV - 1, sous type B

ATV => Résistance	L10I/L, L33F, M46M/I, A71V, L90M
DRV BID => Résistance possible	L33F, I50V/I, T74P
DRV QD => Résistance	L33F, I50V/I, T74P
LPV => Résistance	L10I/L, K20R/K, L33F, M46M/I, I50V/I, L63P, A71V, V82A, L90M
TPV => Pas d'évidence de résistance	M36I

Decembre 2020 - Version n°31, Intégrase, HIV - 1, sous type B

BIC => Pas d'évidence de résistance	
CAB => Pas d'évidence de résistance	
DTG BID => Pas d'évidence de résistar	
DTG QD => Pas d'évidence de résistar	
EVG => Pas d'évidence de résistance	
RAL => Pas d'évidence de résistance	

➔En fonction des mutations identifiées réponse de la sensibilité à chaque molécule