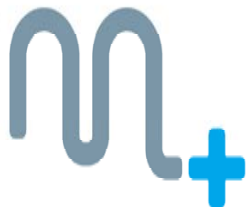


Résistance du VIH-1 aux antirétroviraux dans les compartiments anatomiques et cellulaires

Dr Jade GHOSN

FACULTÉ
DE MÉDECINE
PARIS DESCARTES



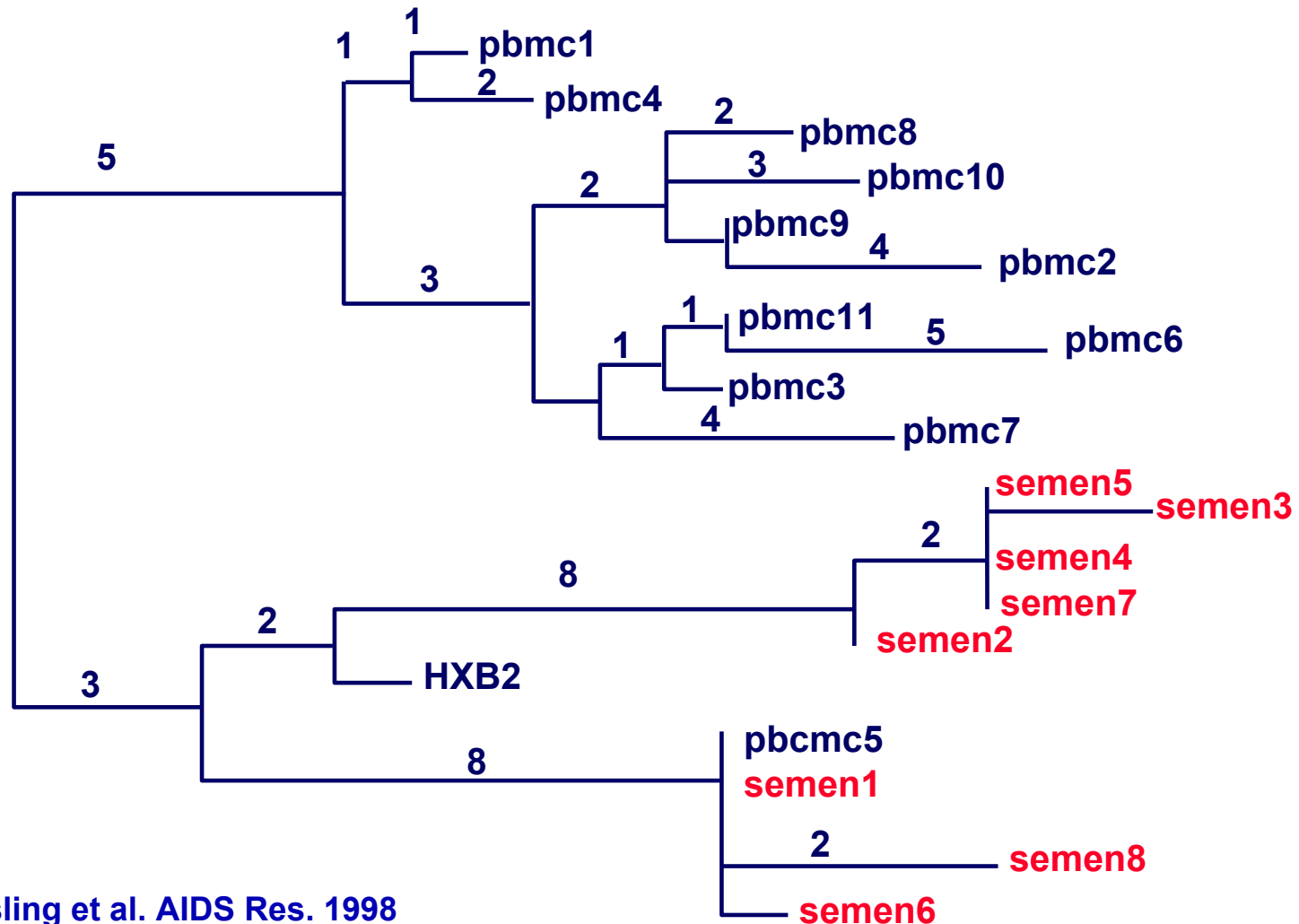
EA 3620 Paris Descartes
Laboratoire de Virologie
CHU Necker - Enfants Malades
Paris



Médecine Interne et
Maladies Infectieuses
CHU Bicêtre
Le Kremlin-Bicêtre

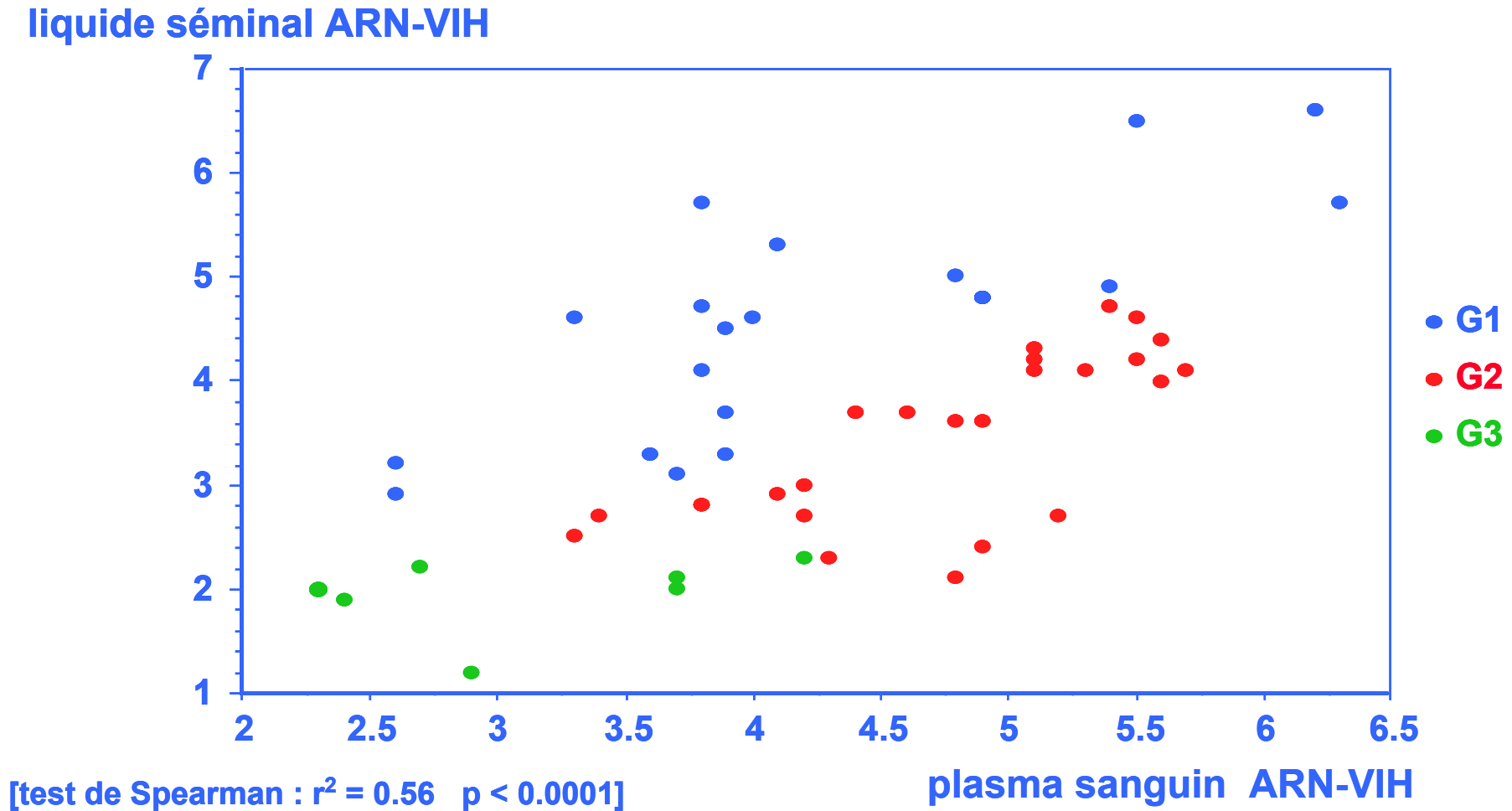
Compartimentalisation du VIH

Évolution virale spécifique dans le compartiment génital masculin



Kiessling et al. AIDS Res. 1998

Dynamique de réplication autonome dans le compartiment génital masculin



Evidence of genotypic resistance diversity of archived and circulating viral strains in blood and semen of pre-treated HIV-infected men

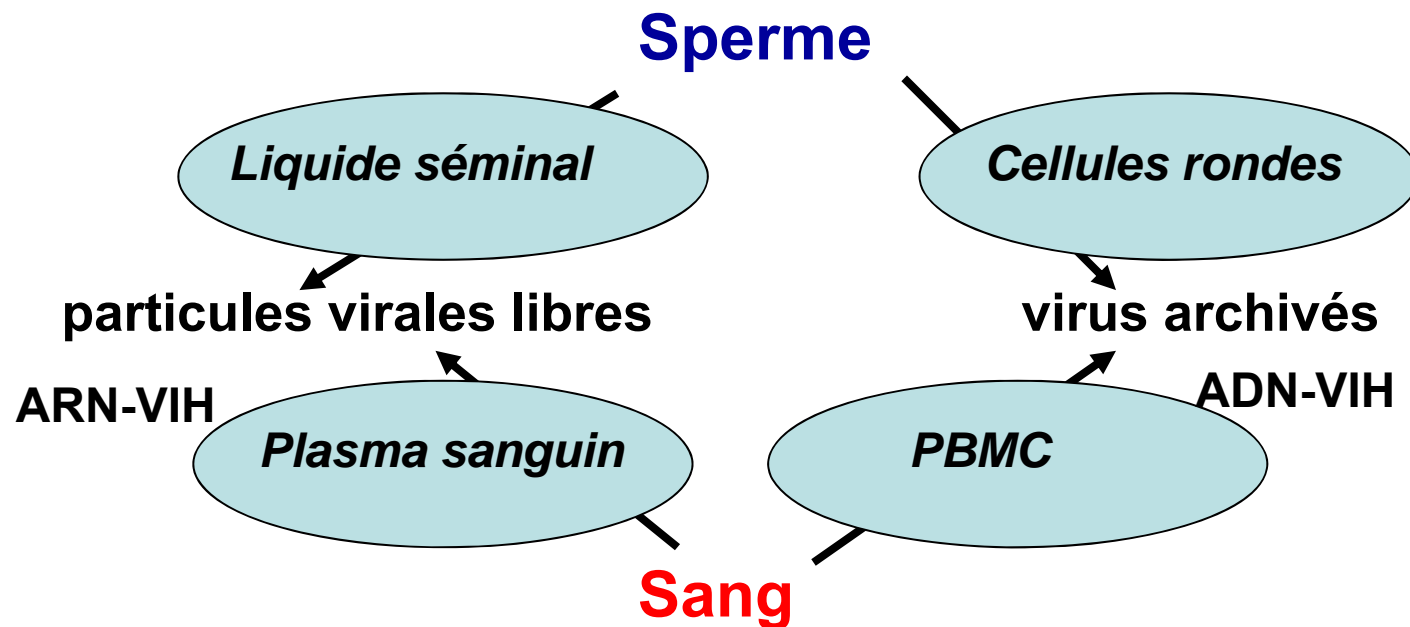
**Jade Ghosn^{a,c}, Jean-Paul Viard^b, Christine Katlama^c,
Marta de Almeida^d, Roland Tubiana^c, Franck Letourneur^e,
Laurent Aaron^b, Cécile Goujard^f, Dominique Salmon^g,
Marianne Leruez-Ville^a, Christine Rouzioux^a and Marie-Laure Chaix^a**

AIDS 2004, **18**:447–457

Patients et Méthodes (2)

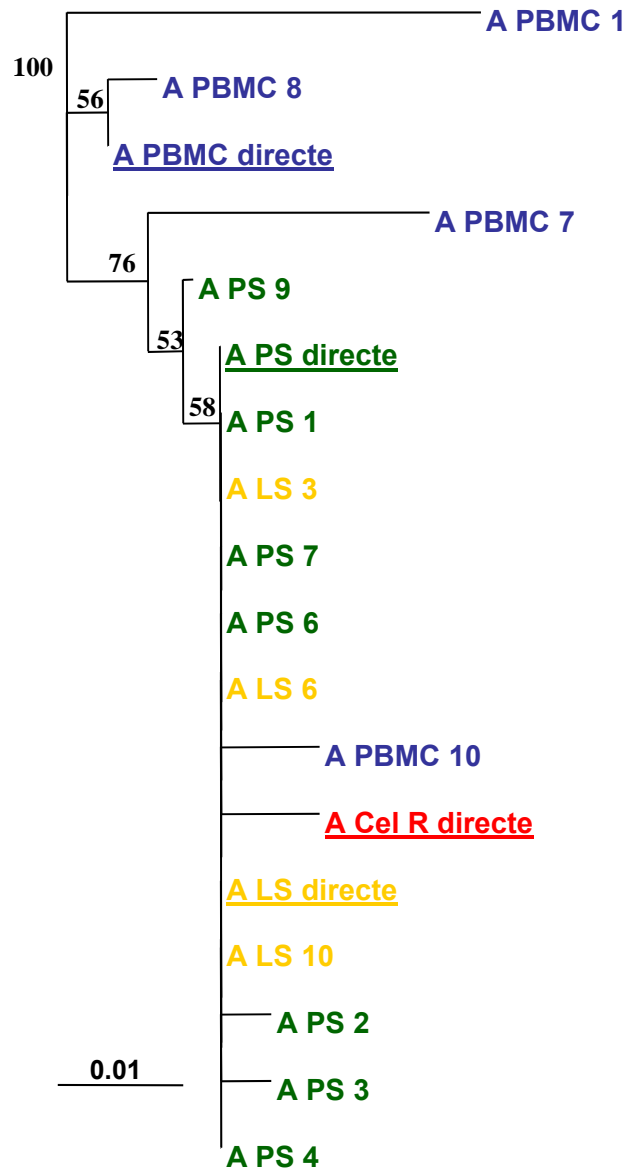
Recrutement : Accord CCPPRB Cochin
20 patients inclus (Décembre 2001 à Mai 2002)
un échantillon couplé de sang et de sperme

Méthodes :

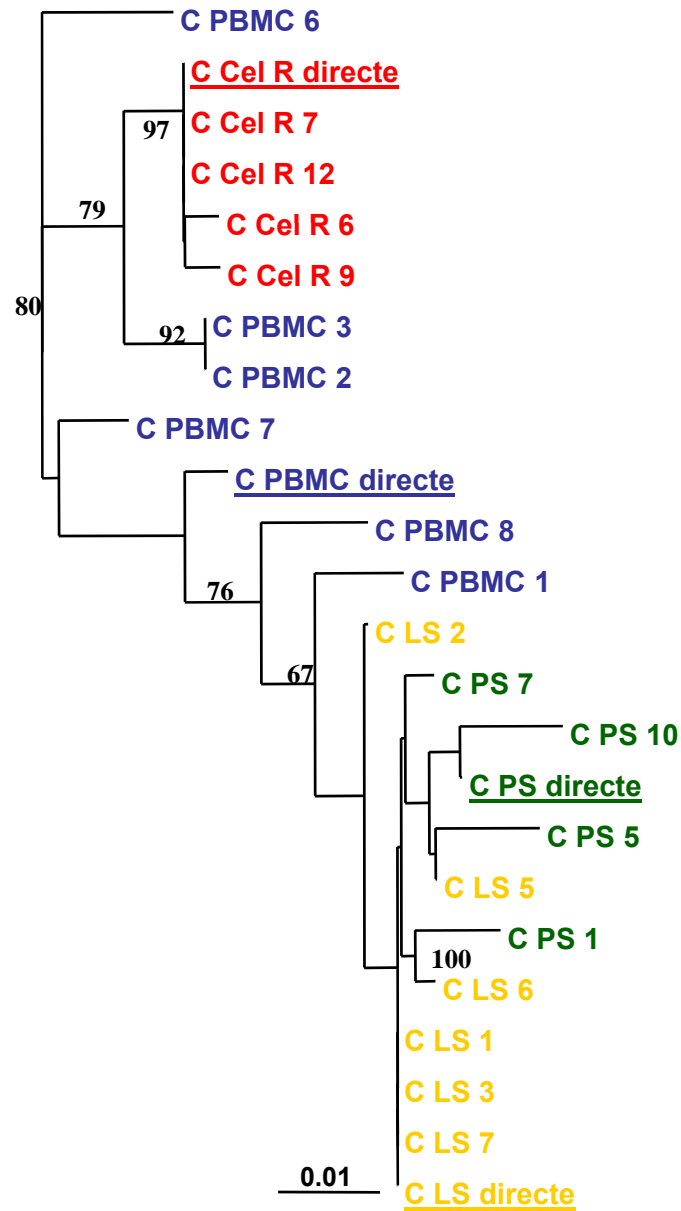


- Séquençage des gènes TI et Protéase: analyse et comparaison des profils de résistance pour les 4 formes virales
- Comparaison phylogénétique des séquences du gène *pol*
- Clonage des différentes populations virales

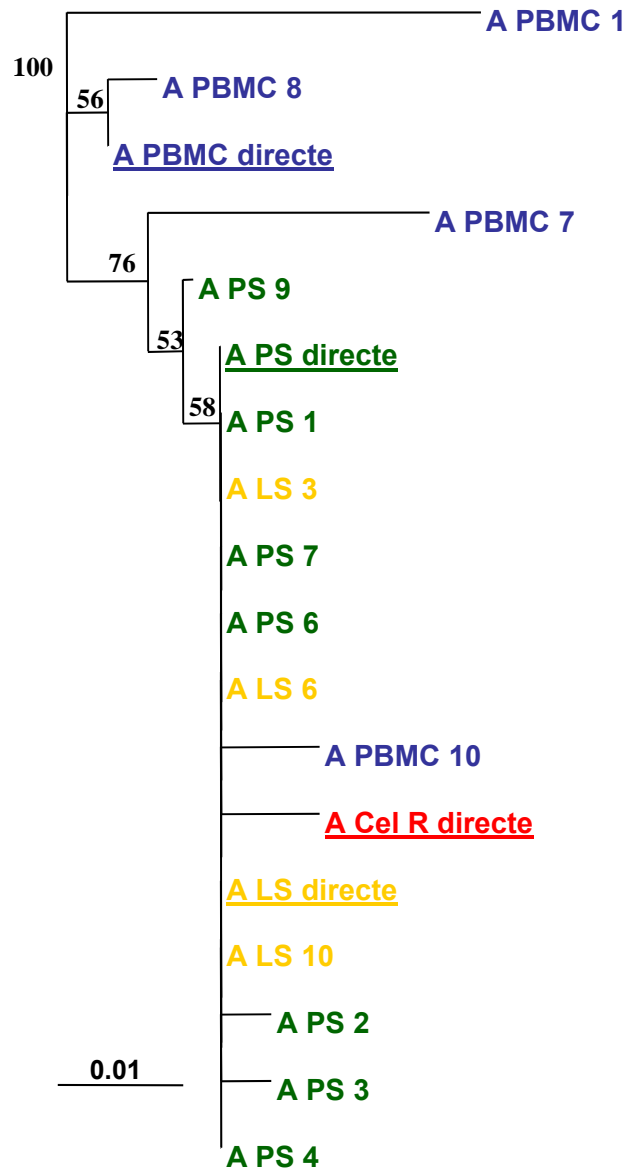
Clones patient A: VN 09



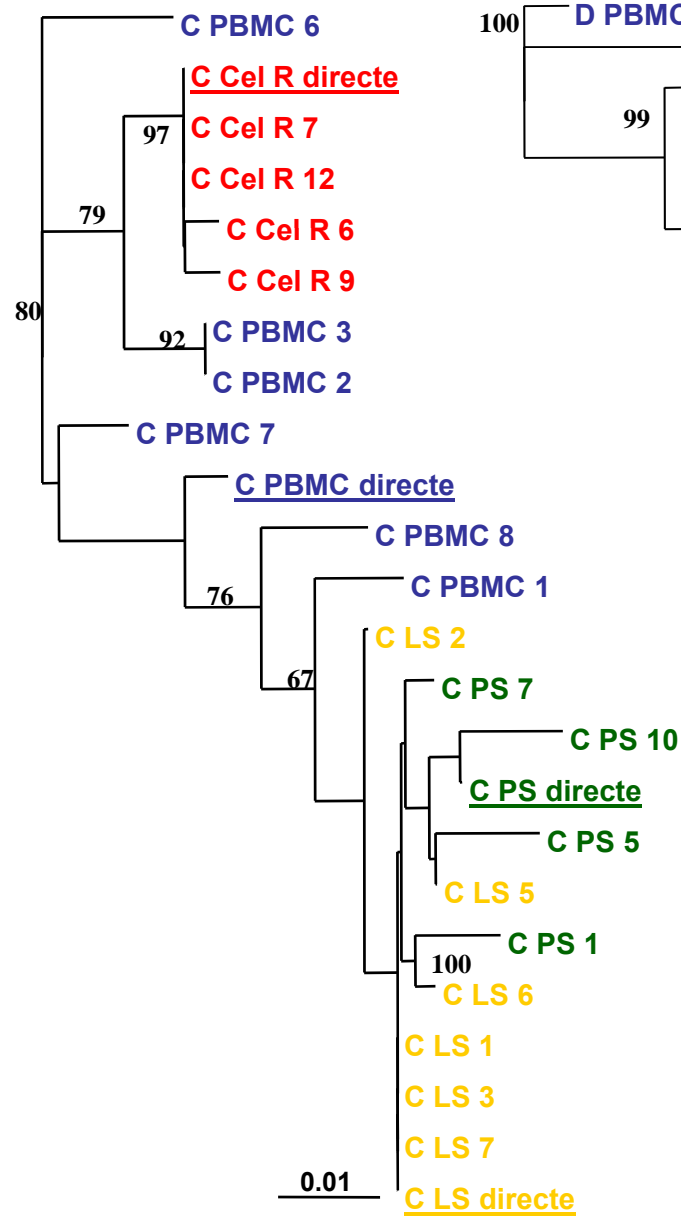
Clones patient C: VN 14



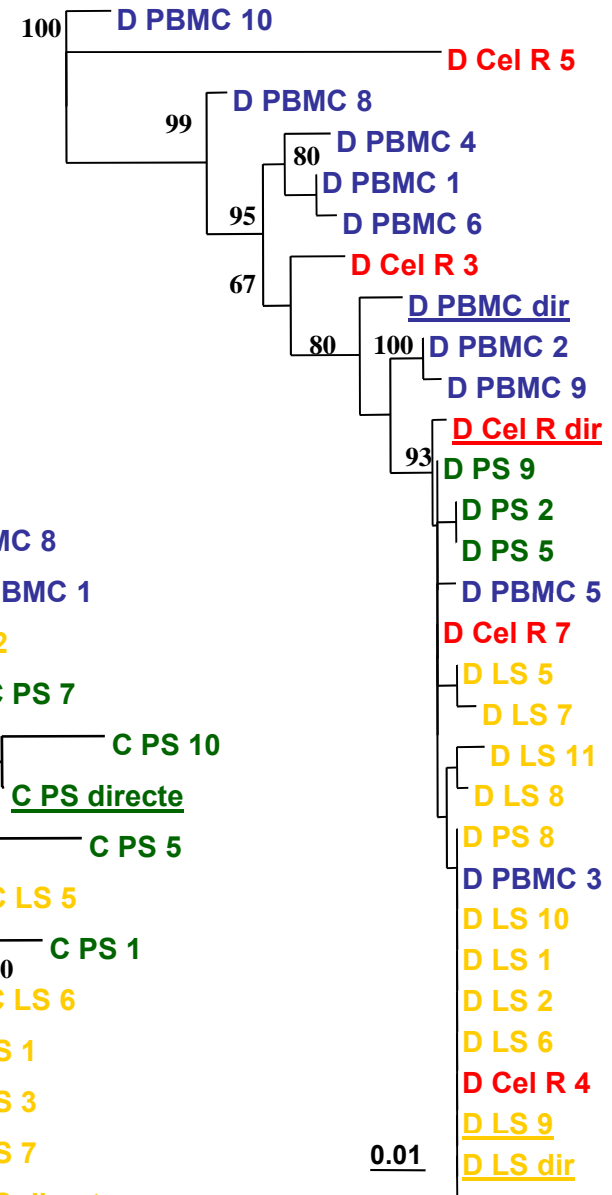
Clones patient A: VN 09



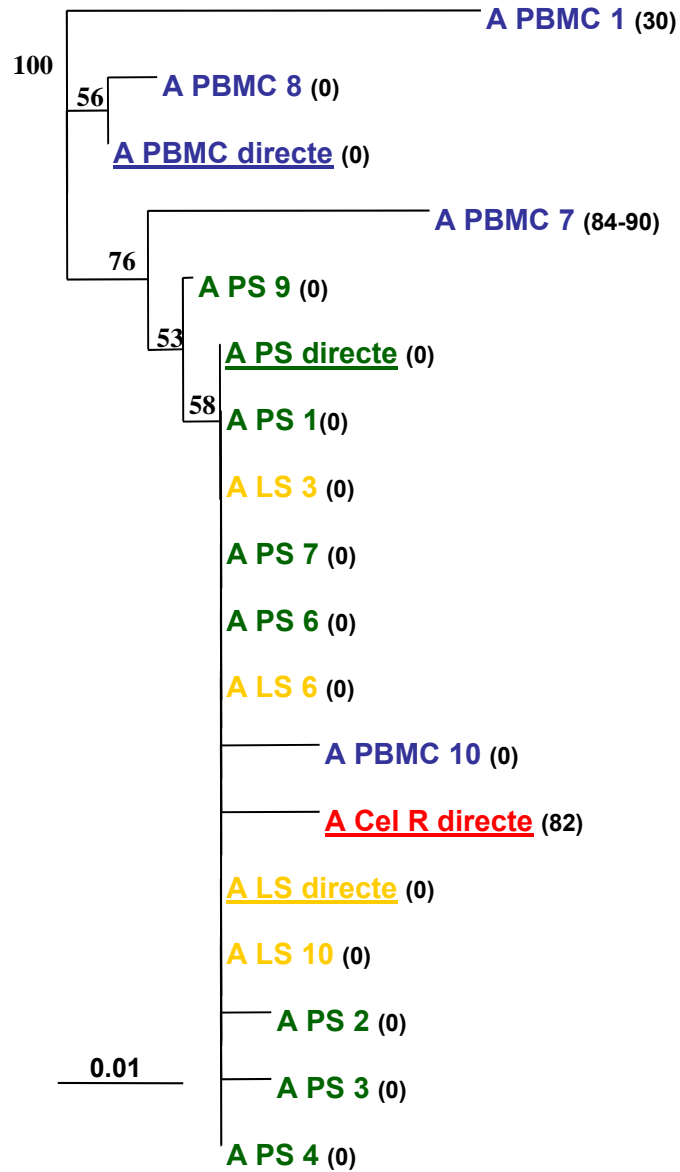
Clones patient C: VN 14



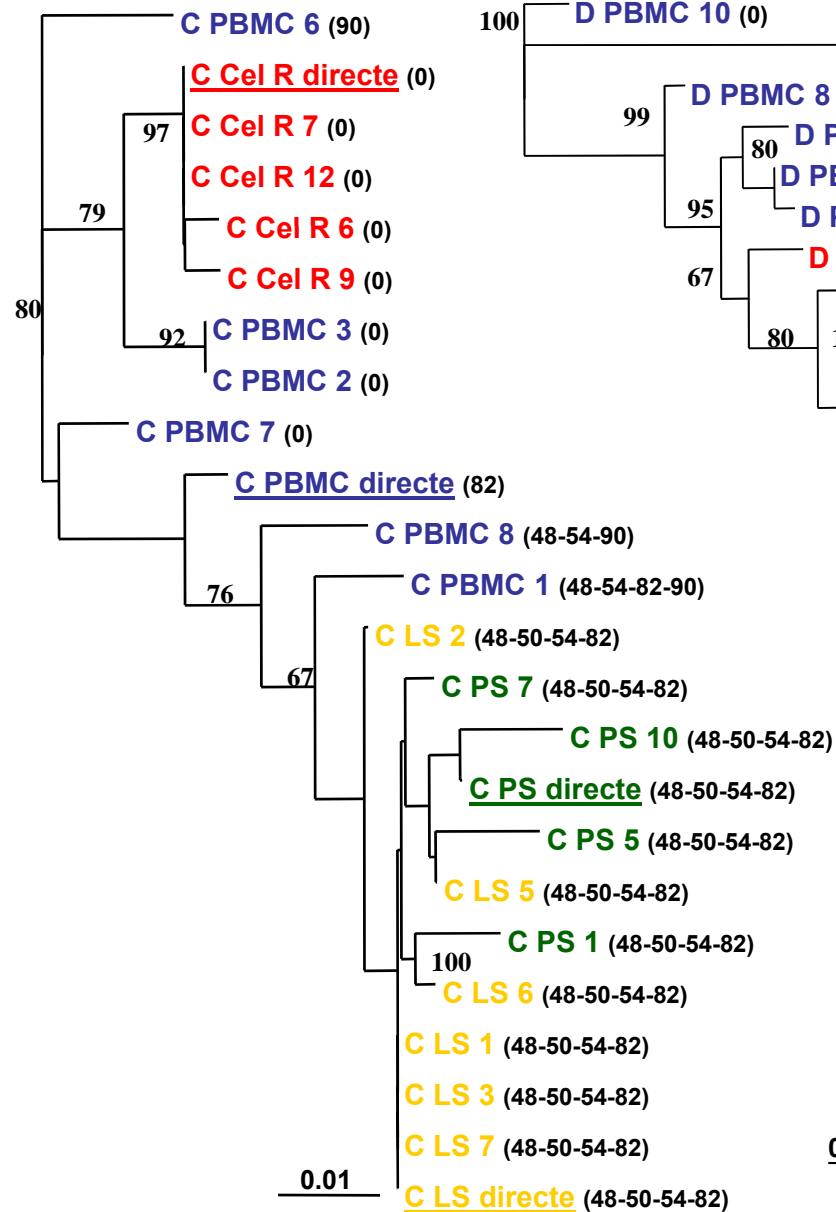
Clones patient D: VN 15



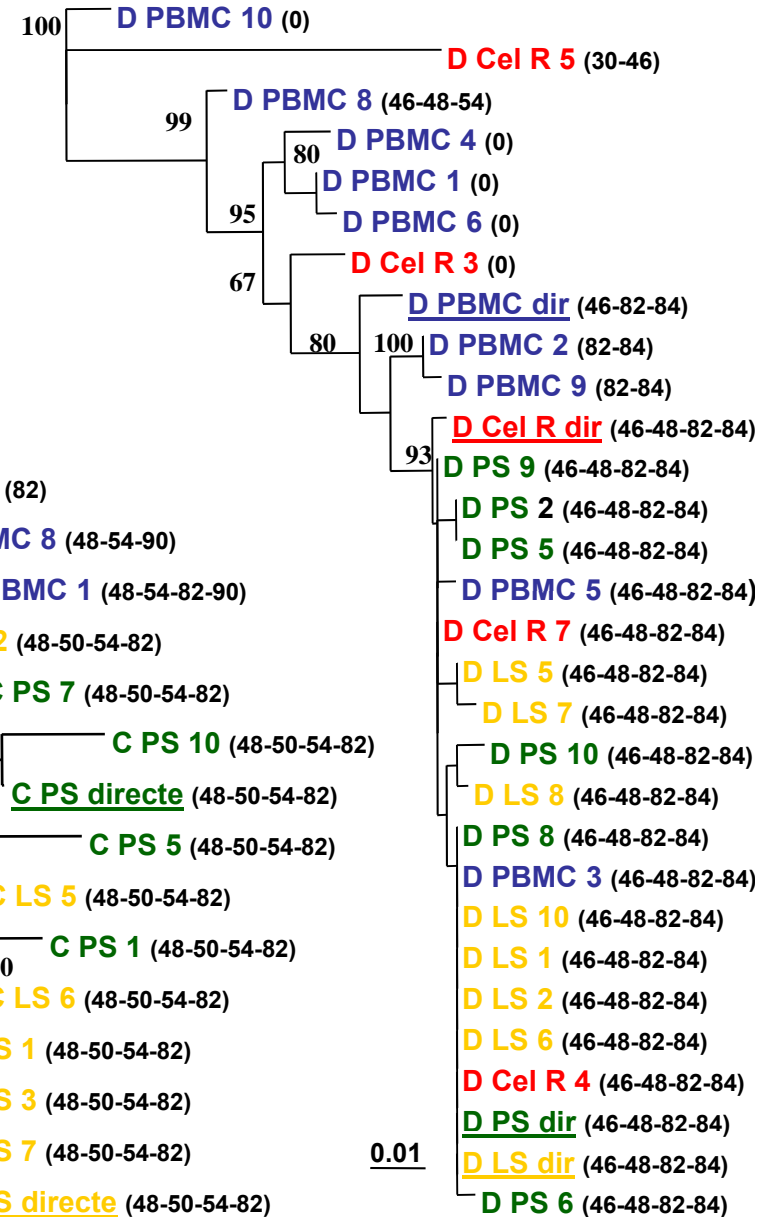
Clones patient A: VN 09



Clones patient C: VN 14



Clones patient D: VN 15



PS: plasma sanguin. PBMC: cellules mononucléées du sang périphérique. LS: liquide séminal. Cel R: cellules rondes du sperme. Les séquences directes sont soulignées. Les mutations conférant une résistance majeure aux IP sont notées entre parenthèses.

Conclusions

- Fréquence élevée (70%) de souches VIH-1 résistantes aux antirétroviraux dans le compartiment génital masculin chez des patients en échec de traitement.
- Pour 30% des sujets, les profils de résistance aux antirétroviraux étaient différents entre les deux compartiments, avec notamment la présence de virus archivés différents dans les cellules rondes du sperme.

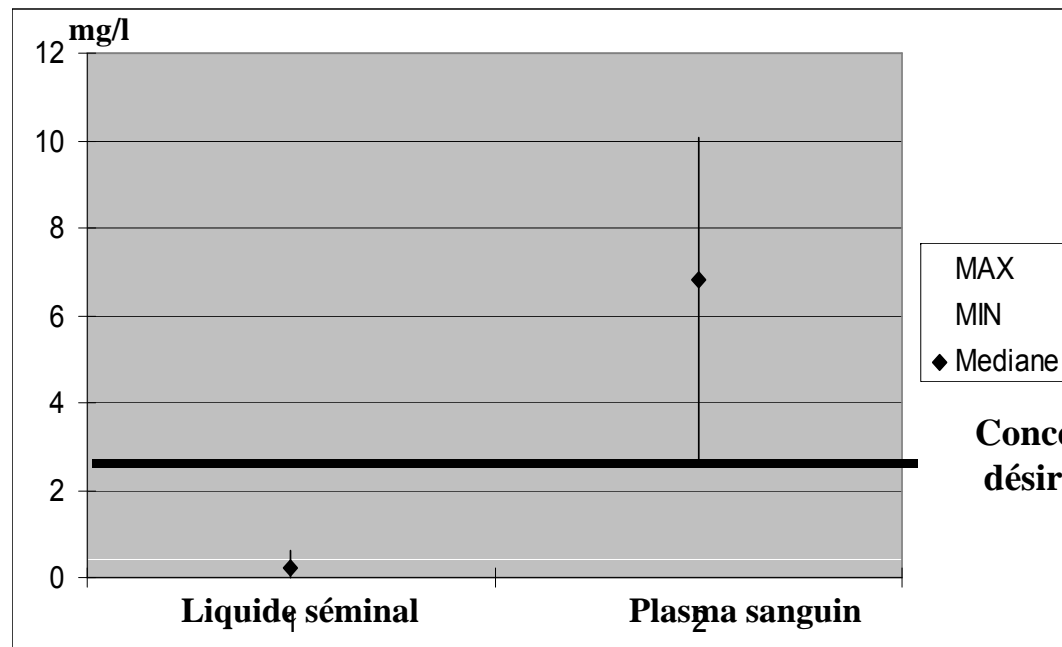
**Mise en évidence d'une
compartimentalisation de la résistance du
VIH-1 aux antirétroviraux entre le sang
périphérique et le sperme**

Penetration of enfuvirtide, tenofovir, efavirenz, and protease inhibitors in the genital tract of HIV-1-infected men

Jade Ghosn^{a,g}, Marie-Laure Chaix^a, Gilles Peytavin^d, Elisabeth Rey^e, Jean-Louis Bresson^b, Cécile Goujard^f, Christine Katlama^g, Jean-Paul Viard^c, Jean-Marc Tréluyer^e and Christine Rouzioux^a

AIDS 2004, Vol 18 No 14

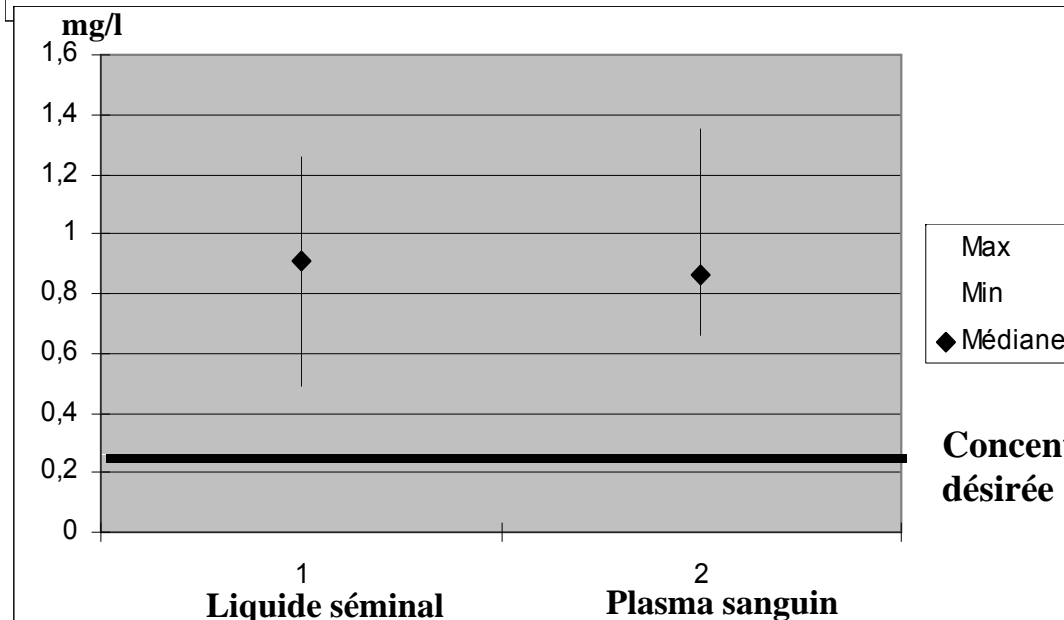
Dosages pharmacologiques des inhibiteurs de la protéase du VIH



Diffusion de **lopinavir** dans le compartiment génital masculin

n=9

Concentration désirée > 2,5 mg/l



Diffusion d'**indinavir** dans le compartiment génital masculin

n=5

Concentration désirée > 0,2 mg/l

Ghosn, AIDS 2004

Diffusion de TDF, T20, EFV et IP dans le sperme

	T20	TDF	EFV	LPV
Plasma	3230-6243	40-85	1130-1840	32650-10800
Sperme	<50	55-381	<10	<40-466
	IDV	APV	SQV	
Plasma	491-1260	1860-2070	370-724	
Sperme	660-1350	53-173	20-26	

Transmissibilité des virus résistants dans le sperme ?

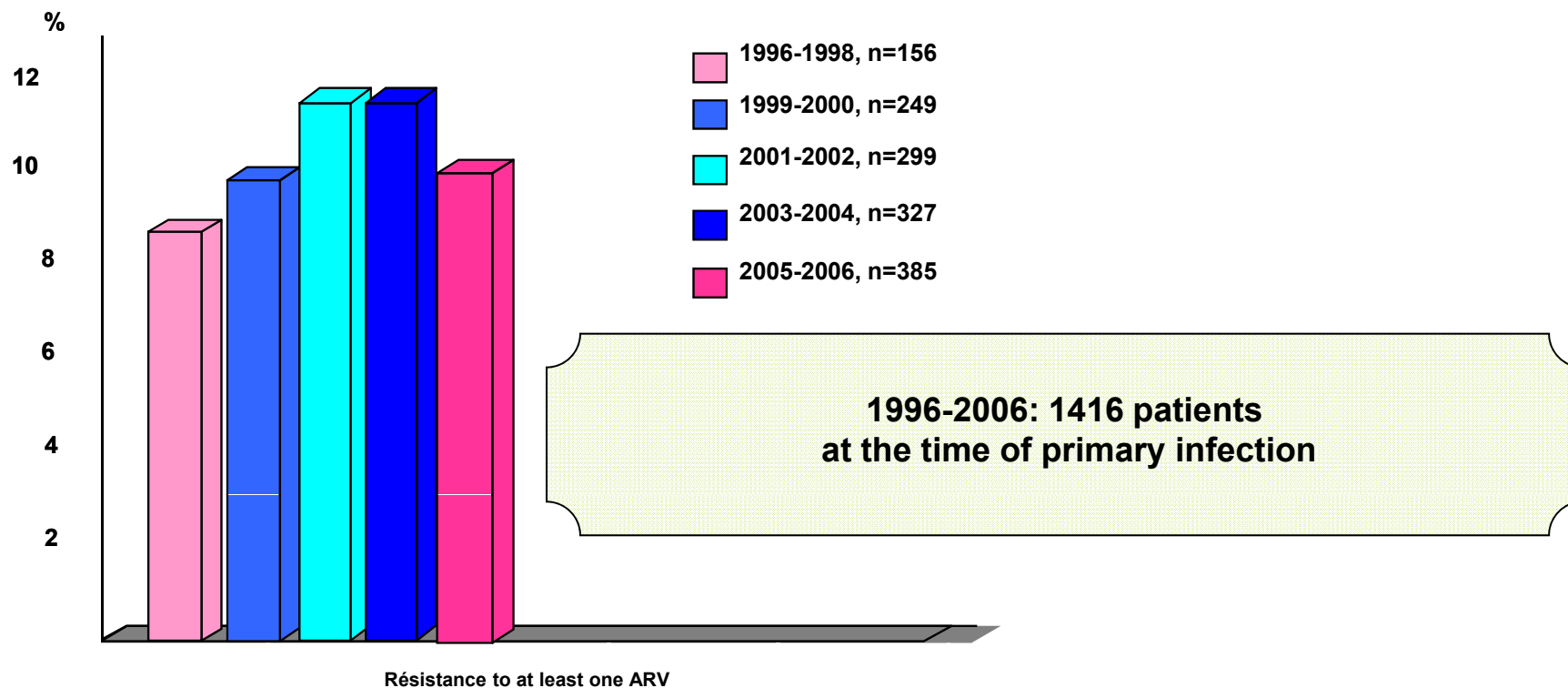
- **Infrequent transmission of HIV-1 drug-resistant variants.** (*Yerly et al. Antivir Ther 2004*).
- **Diminished representation of HIV-1 variants containing select drug resistance-conferring mutations in primary HIV-1 infection.**
(*Turner et al. JAIDS 2004*).

Transmission sexuelle de variants VIH-1 résistants aux ARV

- Plusieurs cas rapportés
- Persistence and fitness of multidrug resistant human immunodeficiency virus type 1 acquired in primary infection
(*Brenner B et al. J. Virol. 2002*)
- Persistence of transmitted drug-resistant virus among subjects with primary HIV infection deferring antiretroviral therapy
(*Little, Los Cabos, Juin 2003, Mexico*).
- Persistence in HIV-1 protease of resistance mutations in absence of drug selective pressure three years after sexual transmission of a multiclass drug resistant variant
(*Ravaux I. IAS 2003, Paris*)
- Persistence of multidrug-resistant HIV-1 without antiretroviral treatment 2 years after sexual transmission
(*Delaugerre C, Antiviral Therapy 2004*)

Stable frequency of HIV-1 transmitted drug resistance in patients at the time of primary infection over 1996–2006 in France

Marie-Laure Chaix^a, Diane Descamps^b, Marc Wirden^c,
Laurence Bocket^d, Constance Delaugerre^e, Catherine Tamalet^f,
Veronique Schneider^g, Jacques Izopet^h, Bernard Masquelierⁱ,
Christine Rouzioux^a, Laurence Meyer^j, Dominique Costagliola^{k,l,m},
for the ANRS AC11 Resistance Group^{*}, Cohort PRIMO ANRS CO 6[†],
FHDH ANRS CO4 Study Groups[‡]



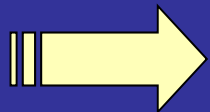
HIV-1 resistant strains acquired at the time of primary infection massively fuel the cellular reservoir and persist for lengthy periods of time

Jade Ghosn^a, Isabelle Pellegrin^b, Cécile Goujard^c, Christiane Deveau^d, Jean-Paul Viard^e, Julie Galimand^a, Martine Harzic^f, Catherine Tamalet^g, Laurence Meyer^d, Christine Rouzioux^a and Marie-Laure Chaix^a for the French PRIMO Cohort Study Group (ANRS CO 06)

AIDS 2006, **20**:159–170

Objectifs

- Utiliser la résistance génotypique comme un marqueur génétique pour étudier l'établissement précoce du réservoir cellulaire viral chez des patients infectés par une souche VIH-1 résistante au moment de la primo-infection,
- Analyser l'évolution des mutations de résistance présentes au moment de la primo-infection chez des patients traités ou non traités



dans les particules virales libres du plasma
dans les virus archivés dans les PBMC

Patients et Méthodes

Patients:

- inclus dans la cohorte ANRS PRIMO (1996-2004)
- porteurs d'une souche virale plasmatique résistante à au moins un ARV au moment de la primo-infection

Suivi longitudinal de la charge virale et de la résistance génotypique de l'ARN-VIH plasmatique et de l'ADN-VIH dans les PBMC

- ayant un suivi minimal de deux ans,
- avec échantillons de plasma et de PBMC disponibles.

La diversité des quasi-espèces virales a été explorée par analyse phylogénétique de clones d'ADN-VIH

Suivi longitudinal pour dix patients

3 femmes, 7 hommes (1999-2002)

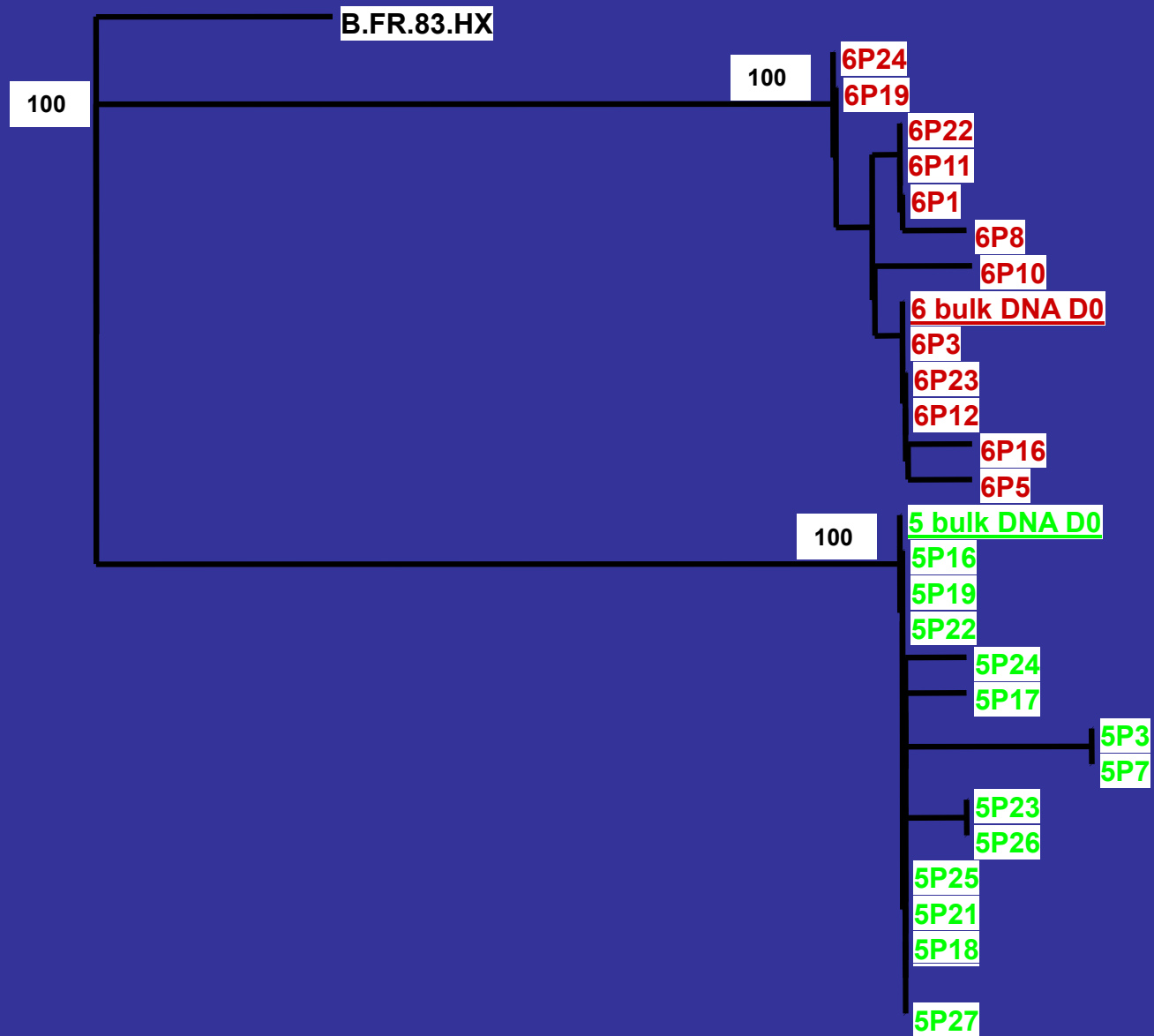
Médiane délai PI/inclusion (jours)	32 (12-150)
Médiane CD4 à l'inclusion (mm³)	560 (300-1508)
Médiane ARN-VIH plasma (log₁₀ cp/ml)	4.30 (1.7-5.7)
Médiane ADN-VIH PBMC (log₁₀ cp/10⁶cellules)	2.92 (1.8-3.7)
Résistance ≥ 2 classes	6/10 patients
Médiane suivi (mois)	24 (24-48)

5/10 patients reçoivent un TARV à l'inclusion

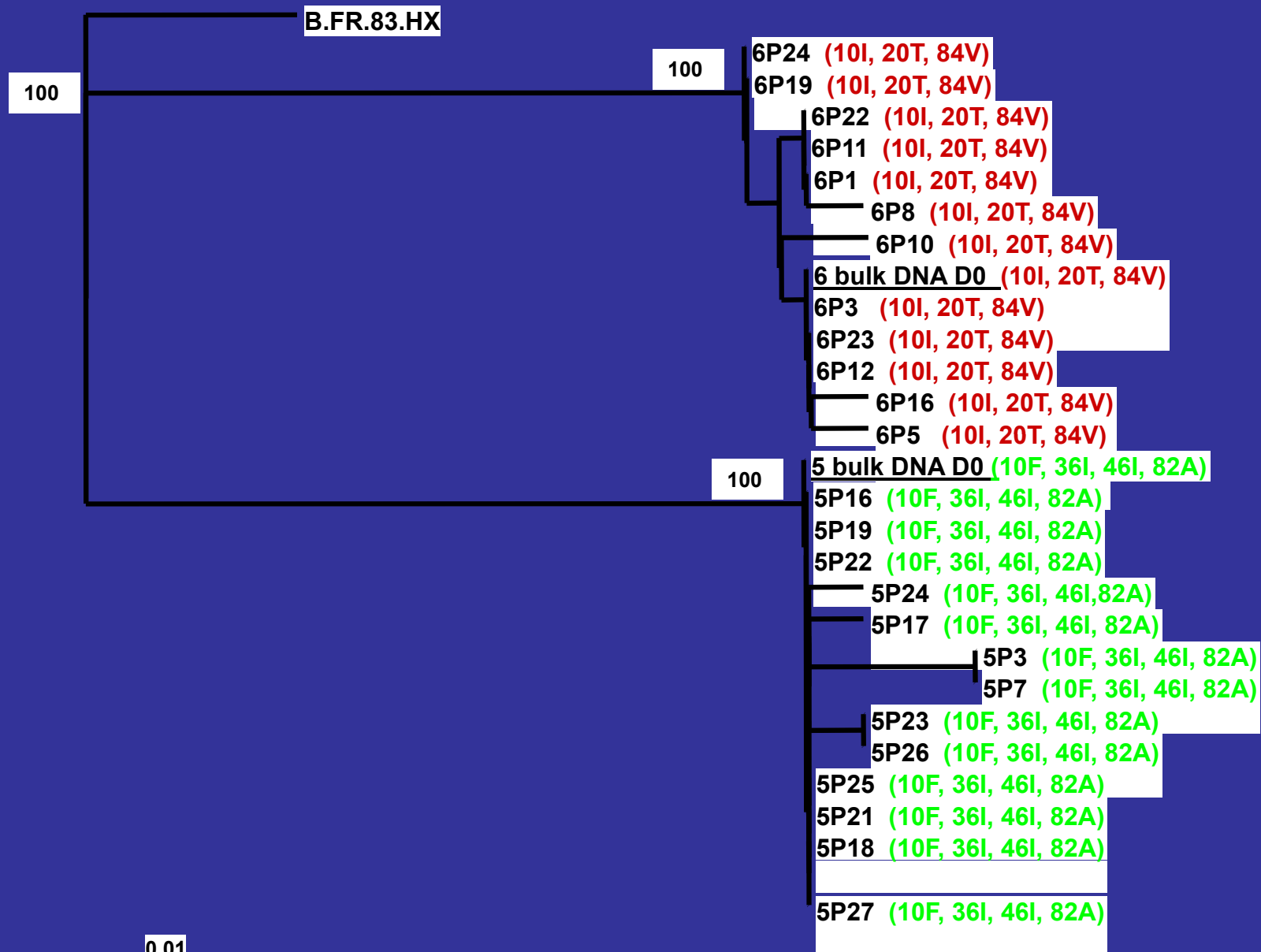
Persistance des mutations de résistance chez un patient non traité

Patient	Time	Sample	VL (log)	RT	Protéase
9401/10	D0	Plasma	2.69	41L, 103N, 118I, 210W, 215Y	63P, 90M
		PBMC	1.84	41L, 103N, 118I, 210W, 215Y	63P, 90M
	M6	Plasma	3.67	41L, 103N, 118I, 210W, 215Y	63P, 90M
		PBMC	ND	41L, 103N, 118I, 210W, 215Y	63P, 90M
	M12	Plasma	3.87	41L, 103N, 118I, 210W, 215YC	63P, 90M
		PBMC	2.91	41L, 103N, 118I, 210W, 215YC	63P, 90M
	M24	Plasma	4.51	41L, 103N, 118I, 210W, 215C	63P, 90M
		PBMC	3.61	41L, 103N, 118I, 210W, 215C	63P, 90M

Clones du gène de la protease ADN-VIH PBMC à J0



Clones du gène de la protease ADN-VIH PBMC à J0



Evolution des mutations de résistance chez un patient sous HAART

Patient	Treatment	Time	Sample	VL (log)	RT	Protéase
972109	ZDV+3TC+EFV	D0	Plasma	4.26	67N, 69N, 184V, 215F, 219E	10I, 20T, 84V
			PBMC	2.90	67N, 69N, 184V, 215F, 219E	10I, 20T, 84V
	ZDV+3TC+EFV	M6	Plasma	3.05	67N, 69N, <u>70R</u> , <u>101KE</u> , 184V <u>190S</u> , 215FL, 219E	10I, 20T, 84V
			PBMC	ND	ND	ND
	ZDV+3TC+EFV	M12	Plasma	2.70	67N, 69N, <u>70R</u> , <u>101E</u> , 184V <u>190S</u> , 215FL, 219E	10I, 20T, 84V
			PBMC	2.81	NA	10I, 20T, 84V
	Interruption	M18				
	Interruption	M24	Plasma	3.46	67N, 69N, <u>101E</u> , <u>190S</u> 215FC, 219E	10I, 20T, 84V
			PBMC	3.49	67N, 69N, <u>70R</u> , <u>101R</u> , <u>103E</u> , <u>108I</u> , <u>184I/V</u> , <u>190S</u> , 215L, 219E	10I, 20T, 84V
	ABC+TDF+KLT	M30				
	ABC+TDF+KLT	M36	Plasma	<1.70	NA	NA
			PBMC	2.55	NA	10I, 20T, 84V

Conclusions

Les variants VIH résistants acquis au moment de la PI envahissent le réservoir cellulaire à un temps très précoce. Ils restent détectables dans le plasma et sont archivés dans les PBMC.

Chez ces patients, un TARV empirique débuté au moment de la PI peut s'avérer sous-optimal, favorisant l'accumulation de nouvelles mutations de résistance, et compromettant les options thérapeutiques déjà limitées.

Patient	Treatment	Time	Sample	VL (log)	RT	Protease	Tropism
750905	ZDV+3TC+EFV	D0	Plasma	5.11	67N, 69N, 70R, 118I, 181C, 215F, 219Q	10I, 20R, 36I, 54V, 82A, 90M	ND
			PBMC	3.33	67N, 69N, 70R, 118I, 181C, 215F, 219Q	10I, 20R, 36I, 54V, 82A, 90M	X4 (M1)
	ddi+3TC+EFV	M6	Plasma	<1.70	NA	NA	ND
			PBMC	ND	67N, 69N, 70R, 118I, 181C, 215F, 219Q	NA	ND
	ddi+3TC+EFV	M12	Plasma	<1.70	NA	NA	ND
			PBMC	<1.84	67N, 69D, 70R, 118I, 181C, 215F, 219Q	10I, 20R, 36I, 54V, 63P, 71V, 82A, 90M	ND
	ddi+3TC+EFV	M24	Plasma	<1.70	NA	NA	ND
			PBMC	2.25	67N, 69D, 70R, 118I, 181C, 215F, 219Q	NA	ND
		M84	Plasma	ND	ND	ND	ND
			PBMC	ND	NA	NA	X4

B.FR.83.HXB2
 LNCJ0ENV30P
 LNCJ0ENV37P
 LNCJ0ENV44P
 LNCJ0ENV34P
 LNCM01ENV13B
 LNCM01ENV15B
 LNCM01ENV23B
 LNCJ0ENV39P
 LNCJ0ENV41P
 LNCM01ENV5B
 LNCJ0ENV26P
 LNCJ0ENV27P
 LNCJ0ENV35P
 LNCJ0ENV42P
 LNCJ0ENV43P
 LNCM01ENV20B
 LNCM01ENV2B
 LNCJ0ENVARN
 LNCM01ENV18B
 LNCM01ENV11B
 LNCJ0ENV36P
 LNCM01ENV9B
 LNCJ0ENV28P
 LNCJ0ENV40P
 LNCJ0ENV47P
 LNCM01ENVPBMC
 LNCM01ENV3B
 LNCM01ENV1B
 LNCM01ENV21B
 LNCM01ENV19B
 LNCM01ENV16B
 LNCM01ENV8B
 LNCM01ENV12B
 LNCM01ENV6B
 LNCJ0ENV25P
 LNCJ0ENV38P
 LNCJ0ENV46P
 LNCJ0ENV33P
 LNCM01ENV10B
 LNCM01ENV4B
 LNCM01ENV22B
 LNCM01ENV17B
 LNCM01ENV14B
 LNCM01ENV7B
 LNCJ0ENV45P

Quid des nouvelles stratégies ?

- Monothérapie d'IP/r:

→ Induction-maintenance avec ATV/r

Regimen Simplification to Atazanavir-Ritonavir Alone as Maintenance Antiretroviral Therapy After Sustained Virologic Suppression

Susan Swindells, MBBS

Context The long-term adverse effects, expense, and difficulty of adherence to an-

ACTG 5201, Sous-étude sperme pour 8/33 patients, CV LS < 150 cp/ml à S24 chez 8/8 patients

The role of compartment penetration in PI-Monotherapy: the Atazanavir-Ritonavir Monomaintenance (ATARITMO) Trial

Pietro Vernazza^a, Synøve Daneel^a, Véronique Schiffer^b, Laurent Decosterd^c, Walter Fierz^d, Thomas Klimkait^e, Matthias Hoffmann^a, Bernard Hirschel^b and The Swiss HIV Cohort Study

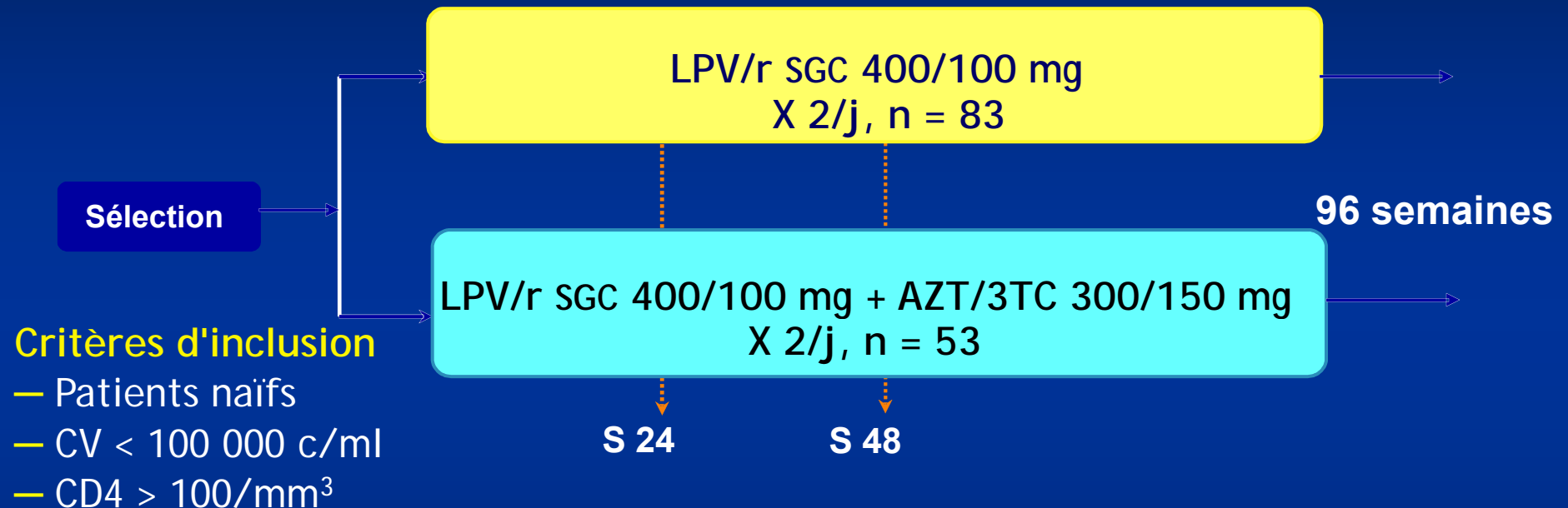
**Sous étude LCR (20) et sperme (15) à S24
3/20: CV LCR > 100 cp/ml
2/15: CV sperme > 100 cp/ml malgré une CV plasmatique < 50 copies/ml**

**Absence of HIV-1 shedding in male genital tract after 1 year
of first-line lopinavir/ritonavir alone or in combination
with zidovudine/lamivudine**

Jade Ghosn^{1,2*}, Marie-Laure Chaix¹, Gilles Peytavin³, Jean-Louis Bresson⁴, Julie Galimand¹,
Pierre-Marie Girard⁵, François Raffi⁶, Isabelle Cohen-Codar⁷, Jean-François Delfraissy²
and Christine Rouzioux¹

Monothérapie par Kalétra® en 1ère ligne: essai MONARK

- Schéma de l'essai : essai randomisé ouvert



- Critère de jugement principal
 - % patients avec CV < 400 c/ml à S24 ET < 50 c/ml à S48

**Absence of HIV-1 shedding in male genital tract after 1 year
of first-line lopinavir/ritonavir alone or in combination
with zidovudine/lamivudine**

**Jade Ghosn^{1,2*}, Marie-Laure Chaix¹, Gilles Peytavin³, Jean-Louis Bresson⁴, Julie Galimand¹,
Pierre-Marie Girard⁵, François Raffi⁶, Isabelle Cohen-Codar⁷, Jean-François Delfraissy²
and Christine Rouzioux¹**

- Hommes participant à l'essai MONARK
 - Ayant atteint la visite S48
 - Pas d'infection uro-génitale
-
- Un échantillon couplé de sang et de sperme
 - Quantification de l'ARN-VIH dans le plasma sanguin et dans le liquide séminal
 - Mesure des concentrations de LPV et RTV dans le plasma sanguin et dans le liquide séminal

Résultats (1)

- 10 patients ont été inclus:
 - CHU St Antoine, Paris: 4
 - CHU Hotel Dieu, Nantes: 3
 - CHU Bicêtre, KB: 3
- Caractéristiques au moment de l'inclusion dans MONARK:
 - Médiane pARN-VIH: 4.36 log₁₀ cp/ml (4 - 4.88)
 - Médiane CD4: 221/mm³ (132 - 289)
- Kalétra monothérapie: 5 patients
- AZT+3TC+Kalétra: 5 patients

Résultats (2)

- Suivi : 48 semaines
- Médiane ARN-VIH plasmatique à S48
< 50 cp/ml chez tous les patients
- Médiane ARN-VIH LS à S48:
 - < 200 cp/ml chez les 5 patients sous
CBV + LPV/r
 - < 200 cp/ml chez les 5 patients sous
LPV/r monothérapie

Résultats (3)

- Concentrations de LPV et RTV dans le plasma sanguin et le liquide séminal

Patient		Concentrations (ng/mL)			
		Plasma		Liquide séminal	
Nom	Prénom	RTV	LPV	RTV	LPV
R	JM	138	3983	< 30	< 30
F	CH	105	3057	<30	<30
G	JA	113	3132	<30	<30
M	GE	472	10074	<30	<30
M	KA	30	428	<30	<30
H	TH	176	7355	<30	<30
C	NU	94	2443	<30	<30
P	DA	217	5809	<30	<30
C	LA	184	6819	<30	<30
D	FR	123	6968	<30	<30
MED		130,5	4896		

Conclusions

Chez ces dix patients

- inclus dans l'essai MONARK
- sans infection uro-génitale
- en succès virologique à S48

le contrôle de la réplication virale plasmatique a permis d'assurer également un contrôle dans le compartiment génital

Chez les 5 patients sous Kalétra monothérapie, il n'a pas été mis en évidence de production virale locale dans le compartiment génital malgré des concentrations indétectables de LPV dans le sperme.

EDITORIAL COMMENT

**Combined antiretroviral therapy is effective on
blood plasma HIV-1-RNA: what about semen
HIV-1-RNA levels?**

Jade Ghosn^{a,b} and Marie-Laure Chaix^a

AIDS 2010, **24**:309–311