

## ETAT DE LA RESISTANCE DES SOUCHES DE VIH-1 EN AFRIQUE : QUELLE PLACE POUR LES RESEAUX DE SURVEILLANCE VIROLOGIQUE ?

M. GRANDADAM, E. NICAND, J-L. KOECK, M. CARON, R. TEYSSOU

*Med. Trop.* 2001 ; **61** : 89-93

**RESUME** • La progression alarmante de l'épidémie d'infection par le VIH-1 en Afrique justifie pleinement l'introduction rapide de traitements antirétroviraux sur ce continent. L'urgence de la situation ne doit pas masquer l'importance des résultats d'études préliminaires menées sur la résistance des isolats africains aux antirétroviraux (ARV). Les résultats de ces travaux démontrent que les modifications génétiques à l'origine des résistances des isolats africains sont analogues à celles observées sur le sous-type B majoritaire dans les pays industrialisés. En revanche, certaines mutations associées à des résistances modérées des souches aux inhibiteurs de la protéase (IP) ont été trouvées avec des fréquences élevées parmi les souches africaines. Le rôle de ces mutations dans la progression vers une résistance avérée aux IP n'est pas connu à ce jour. Des marqueurs de résistance majeure à toutes les classes d'ARV ont été détectés à des fréquences faibles chez des sujets naïfs de tout traitement. Ces données ne remettent pas en question l'instauration des traitements ARV en Afrique. Elles illustrent la nécessité de développer localement un réseau de centres capables d'assurer le suivi clinique et virologique des malades mais aussi une veille épidémiologique de la résistance des souches de VIH-1, parallèlement à la mise à disposition des ARV. Mais, délaissé d'une aide massive sur le plan économique et socioculturel, un tel réseau ne peut garantir à lui seul le succès des thérapies antirétrovirales en Afrique.

**MOTS-CLES** • VIH-1 - Antirétroviraux - Résistance - Afrique.

RESISTANCE OF AFRICAN HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TO ACTIVE ANTIRETROVIRAL TREATMENT :  
NEED FOR VIROLOGICAL SURVEILLANCE

**ABSTRACT** • The human immunodeficiency virus (HIV-1) epidemic has spread dramatically in sub-Saharan African countries. Implementation of active antiretroviral (ARV) therapy programs is urgently needed. However this emergency situation must not extenuate the importance of preliminary studies on ARV resistance of African HIV-1 isolates. Findings show that genetic mutations underlying the resistance of African strains are generally identical to those observed in HIV-1 subtype B in industrialized countries. However the incidence of some mutations associated with mild resistance to protease inhibitors (PI) appears higher in African isolates. The potential impact of these mutations for development of frank resistance to PI is still unclear. The incidence of high-grade resistance markers in untreated subjects is low. While these results do not compromise use of ARV therapy in Africa, they underline the need to set up local networks for patient follow-up and to carry out epidemiological surveillance of HIV-1 resistance. Success of ARV therapies in Africa will also depend on economic and social programs.

**KEY WORDS** • HIV1 - Antiretroviral treatment- Resistance - Africa.

En décembre 2001, l'OMS rapportait que 40 millions de personnes dans le monde étaient infectées par le virus de l'immunodéficience humaine. Quarante pour cent des nouveaux cas étaient survenus dans les pays en voie de développement, où la contamination hétérosexuelle est largement prédominante. Le continent africain paye le plus lourd tribut à l'infection, avec 3,5 millions de nouveaux cas annuels, soit soixante dix pour cent des cinq millions de nouvelles infec-

tions chez l'adulte et l'enfant. A titre de comparaison, pour la même année, 30 000 nouveaux cas étaient décrits en Europe Occidentale et 45 000 en Amérique du Nord. Depuis le début de la pandémie, 84% des décès directement attribuables à l'infection sont survenus en Afrique. Ces chiffres témoignent d'un double phénomène : la difficulté de mise en place de campagnes de prévention, souvent localisées, et l'insuffisance de la prise en charge thérapeutique des malades. Ce constat devrait évoluer rapidement grâce à la possibilité pour les pays africains d'accéder aux traitements antirétroviraux. En effet, plusieurs grandes compagnies pharmaceutiques ont consenti des efforts financiers importants pour réduire le prix des traitements, des médicaments génériques sont fabriqués en Inde et au Brésil, et de nombreux organismes internationaux ont déboursé des fonds conséquents (ONUSIDA, OMS, Banque

• *Travail du Laboratoire de biologie clinique (M.G., Technicienne de laboratoire ; E.N., Docteur ès science ; J-L. K., M.C., Spécialistes du SSA ; R.T., Professeur agrégé du SSA) HIA Val-de-Grâce, Paris, France.*

• *Correspondance : Laboratoire de biologie clinique, HIA Val-de-Grâce, 74 Bd PortRoyal, 75230 Paris Cedex. • Fax : +33 (0) 1 40 51 42 98 • e-mail : 5rt@filnet.fr*

• *Article sollicité*

Mondiale). Ainsi, les patients pourront bénéficier rapidement des médicaments antirétroviraux (ARV) les plus efficaces. Les avantages de l'accès à ces molécules pour la population de ces pays sont évidents. Cependant, certains responsables de santé publique estiment que l'arrivée des ARV doit s'accompagner d'une réflexion sur les stratégies d'utilisation. En effet, le risque représenté par l'émergence et la diffusion de souches résistantes ne doit pas être négligé. La mise en place dès aujourd'hui sur le continent africain d'un réseau efficace de surveillance des résistances du VIH-1 aux antirétroviraux constitue une première étape vers une gestion efficace de ce risque.

### TRAITEMENTS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1

Les traitements de l'infection par le VIH-1 ont pour objectif de contrôler la réplication virale afin de préserver les ressources immunitaires des malades. Les traitements actuellement disponibles mettent en œuvre trois classes de médicaments qui ont pour cible deux enzymes virales : la transcriptase inverse (TI) et la protéase.

Deux classes de molécules interagissent avec la TI.

Les inhibiteurs nucléosidiques (INTI) sont des médicaments (AZT ; d4T ; ddI ; ddC ; 3TC) et nucléotidique (tenofovir) qui, après phosphorylation par des kinases cellulaires, sont reconnus comme substrat par la TI. Lors de la synthèse de l'ADN proviral, leur incorporation bloque l'élongation des chaînes d'ADN en formation.

Les inhibiteurs non-nucléosidiques de la TI (INNTI) utilisés en clinique sont l'efavirenz (EFV), la nevirapine (NVP) et la delavirdine (DLV). Ces molécules se fixent dans une poche hydrophobe proche du site catalytique de l'enzyme. Cette fixation entraîne un changement de conformation de la TI inhibant l'activité enzymatique. Seuls les VIH-1 des groupes M et N sont sensibles aux INNTI. En effet, des études *in vitro* ont montré que les virus VIH-1 du groupe O et les virus VIH-2 étaient naturellement résistants à cette classe thérapeutique (5).

Suivant leur structure, les inhibiteurs de la protéase (IP) autorisés en thérapeutique bloquent l'activité de l'enzyme par deux mécanismes. Les IP tels que le nelfinavir (NFV), le ritonavir (RTV), l'indinavir (IDV), le lopinavir (LPV) ou le saquinavir (SQV) mimant les séquences peptidiques reconnues par la protéase agissent par compétition. D'autres IP, comme l'amprenavir (APV) se fixent à proximité du site actif entraînant une modification de l'efficacité des clivages des polyprotéines virales.

De nombreux essais cliniques sont en cours afin de déterminer les combinaisons les plus efficaces et les indications des traitements. Des questions comme l'intérêt d'un traitement précoce ou les modalités de prise en charge des femmes enceintes font encore l'objet d'intenses débats. Deux réponses claires ont néanmoins déjà été obtenues : (i) le bénéfice clinique des thérapies multiples par rapport aux monothérapies est incontestable et (ii) toutes les combinaisons testées à ce jour aboutissent, dans des délais plus ou moins longs, à une résistance clinique et virologique.

### BASES MOLECULAIRES ET METHODES DE MESURE DE LA RESISTANCE.

La caractérisation moléculaire d'isolats de malades traités ou de souches manipulées *in vitro* a permis d'identifier des marqueurs génétiques modifiant la sensibilité des souches aux ARV. Ces modifications génétiques sont liées aux erreurs introduites par la TI lors de la synthèse de l'ADN proviral. Il en résulte la coexistence de multiples variants viraux ou quasi espèces. Cette population non clonale est composée d'une espèce majoritaire présentant des avantages réplicatifs et d'une multitude d'espèces satellites. Certaines de ces quasi-espèces satellites portent des marqueurs de résistance. Leur réplication sera favorisée par la pression de sélection médicamenteuse. L'effet de ces mutations peut être apprécié par l'étude du phénotype des souches. Les techniques phénotypiques permettent de déterminer avec précision les concentrations inhibitrices 50% et 90% (CI50 ; CI90) des différentes drogues. L'interprétation de la résistance est faite par le rapport de la CI50 ou CI90 de la souche testée sur la CI50 ou CI90 d'une souche de référence sauvage sensible. Suivant la valeur de cet index, la souche est dite sensible si la CI50 est inférieure ou égale à 4 fois celle de la souche sensible ; elle est intermédiaire si la CI50 est augmenté d'un facteur 4 à 10 et résistante à haut niveau quand l'index est supérieur à 10 (4). Une résistance à haut niveau exclut l'utilisation du ou des produits concernés.

Les techniques phénotypiques, délicates à mettre en œuvre et le nombre croissant de molécules à tester limitent leur utilisation pour le suivi des malades. Leur emploi est de plus en plus restreint à la caractérisation ponctuelle d'isolats et à l'évaluation pré-clinique des ARV.

Les techniques génotypiques consistent à déterminer les séquences nucléotidiques et peptidiques des gènes de la TI et de la protéase, afin de déterminer les mutations associées à la résistance. Plus facile à intégrer dans la routine des laboratoires de virologie, elles supplantent peu à peu les techniques phénotypiques. On distingue des mutations majeures, en général situées près du site actif de l'enzyme (TI ou protéase); elles sont le plus souvent spécifiques de la molécule, entraînant une diminution de la sensibilité de la souche à l'ARV concerné. Les mutations mineures ont peu d'effet sur la sensibilité de la souche ; elles sont le plus souvent communes à l'ensemble des composés, situées à distance du site actif, expliquant les phénomènes de résistance croisée à l'ensemble des molécules de la même classe thérapeutique. Des mutations majeures et mineures ont été décrites pour les inhibiteurs INTI et les IP, alors que la résistance aux INNTI est uniquement liée à des mutations majeures. Quel que soit leur groupe, ces mutations peuvent affecter la sensibilité à une seule drogue ou au contraire à plusieurs ARV (résistance croisée).

Ces techniques et leur interprétation restent aujourd'hui du domaine du laboratoire spécialisé. Elles sont délicates à mettre en œuvre et demandent un important investissement en matériel et en personnel qualifié. Leur coût est élevé, ce qui ralentit leur mise en place dans les pays en voie de développement.

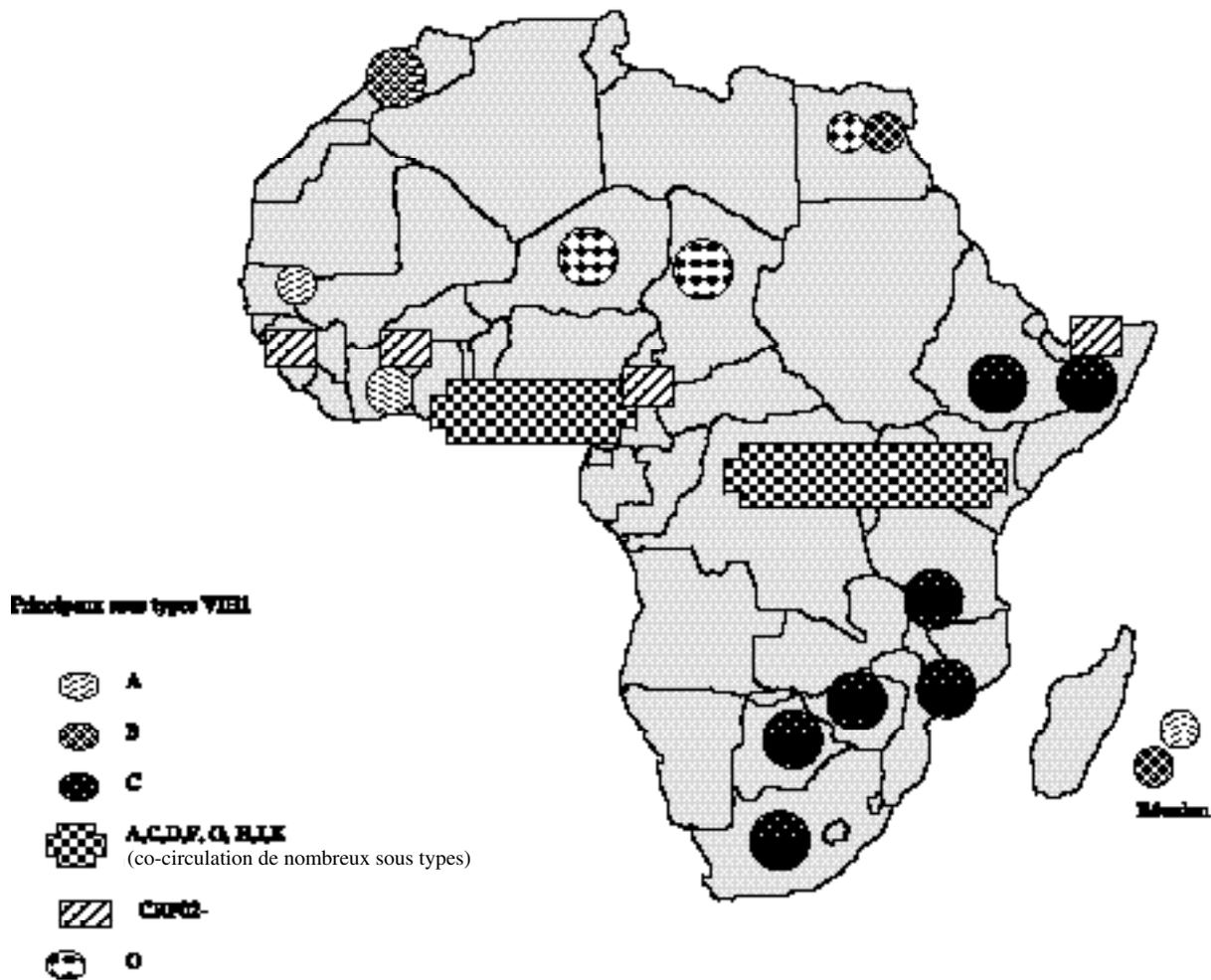


Figure 1 - Distribution géographique des sous types prédominants de VIH1 identifiés en Afrique.

## ETAT DE LA RESISTANCE DES SOUCHES DE VIH-1 EN AFRIQUE

Depuis de nombreuses années, les souches isolées en Afrique ont été étudiées dans le but de caractériser le polymorphisme génétique et la répartition géographique des variants (Fig. 1). En revanche, les données concernant les phénotypes et les génotypes de résistance de ces souches sont parcellaires.

### Epidémiologie des résistances du VIH-1 aux inhibiteurs nucléosidiques et non nucléotidiques de la RT.

La résistance primaire aux INTI de souches VIH-1 isolées en Afrique chez des patients non traités a fait l'objet de quelques études. En revanche, les données sur la résistance primaire des INNTI sont rares, probablement du fait de la faible disponibilité de ces molécules dans les pays en développement.

Dans une étude menée sur 200 souches de VIH-1 isolées de patients naïfs originaires d'Afrique du Sud, 97,5 % des virus présentaient une sensibilité diminuée d'un facteur

5 à 10 aux trois molécules de la classe des INNTI (6). En Ouganda, l'étude de 11 souches (six souches du sous-type A, une du sous-type C et quatre du sous-type D), n'a pas mis en évidence de mutation de résistance dans le gène de la TI (8). En Afrique de l'Ouest (Sénégal : n=38 souches, Cameroun : n=62 souches, République Démocratique du Congo : n=18 souches), le séquençage du gène de la TI n'a mis en évidence aucune mutation majeure. Toutes ces souches isolées chez des patients non traités, appartenaient au groupe M et comprenaient des virus non recombinants, classés dans les sous types A, D, F, G, J, K ainsi que des virus recombinants classés dans le sous type CRF026-AG fréquemment décrit en Afrique de l'Est et de l'Ouest (7). La moindre sensibilité de VIH1 du sous type F aux INNTI décrite par certains auteurs n'a pas été confirmée dans cette publication (2).

Les résultats préliminaires d'une étude en cours dans notre laboratoire a montré l'existence à Djibouti de résistances primaires majeures aux ARV qui concernent les INTI et les INNTI.

En ce qui concerne les résistances observées chez des patients traités ou ayant des antécédents de traitement, Adjé et Coll. ont recherché les mutations des souches de 68 sujets

de Côte d'Ivoire (1). Des mutations majeures conférant une résistance aux inhibiteurs de la reverse transcriptase ou aux antiprotéases ont été identifiées dans une majorité des souches (57,4%). La répartition était la suivante : 42,6% des souches portaient des mutations associées à la résistance à l'AZT et 14,7% au 3TC, moins de 2% des souches présentaient une résistance aux INNTI ou aux IP. Les tests phénotypiques pratiqués montraient que 39% des souches étaient résistantes à au moins un INNTI. L'auteur concluait que la fréquence élevée des souches résistantes pouvait avoir un impact négatif sur l'efficacité des programmes de traitement de l'infection par le VIH-1. Un autre travail réalisé en Ouganda, où les ARV sont disponibles depuis 1996, fournit des informations complémentaires quant à l'évolution des sous-types africains du VIH-1 sous ARV. Les souches appartenaient aux sous-types A, C et D. Les souches des patients traités par l'AZT présentaient la mutation T215Y (4/12). Chez les patients recevant un traitement par 3TC, 90% des isolats portaient la mutation majeure M184V. Cela laisse supposer que les mutations sélectionnées par l'AZT et le 3TC chez les sous-types non B sont identiques à celles observées pour le sous-type B. L'auteur conclut que la prévention des résistances sur le continent africain répond aux mêmes exigences que dans les pays développés.

### **Epidémiologie des résistances du VIH-1 aux inhibiteurs de la protéase.**

L'introduction en 1996 des inhibiteurs de la protéase a révolutionné la prise en charge des patients infectés par le VIH-1 dans les pays industrialisés. L'efficacité de ces nouvelles molécules associées aux inhibiteurs de la transcriptase inverse s'est traduite par une amélioration clinique mais également immunologique des malades. En Afrique, à l'heure actuelle, l'emploi des IP peut être considéré comme marginal. Les données fragmentaires concernant la résistance aux IP d'isolats d'Afrique de l'Ouest ont été publiées. Il ressort de ces travaux que les patients traités par IP sélectionnent des mutations de résistance analogues à celles identifiées chez les sujets occidentaux. Il ne semble pas exister de différence dans les profils de résistance entre les différents sous-types étudiés. Un travail récent rapporte l'identification, à des fréquences élevées, de mutations mineures sur des souches isolées de malades africains naïfs de tout traitement (8). Ainsi, la mutation M36I, affectant l>IDV, le NFV et le RTV, a été identifiée chez tous les malades inclus dans cette étude. D'autres mutations (K20R, L10V et L10I) ont été mises en évidence à des fréquences plus faibles. Chez les malades africains traités, les mêmes mutations ont été identifiées, avec des fréquences analogues (1). Dans cette dernière étude, aucune donnée concernant les souches avant traitement n'était disponible. Il n'est donc pas possible d'affirmer que les mutations mineures identifiées chez les malades traités sont liées à la pression de sélection médicamenteuse. Des résultats analogues ont été obtenus chez des sujets infectés par des souches du sous-type C, suivis dans les pays occidentaux (3).

Les souches de VIH-1 circulant dans les pays de la corne de l'Afrique appartiennent majoritairement au sous-

type C. L'étude moléculaire des isolats de la population djiboutienne indique que les fréquences des mutations mineures aux IP sont proches de celles décrites pour les isolats d'Afrique de l'Ouest (données personnelles non publiées). L'ensemble de ces données suggère que ces marqueurs génétiques seraient liés à un polymorphisme naturel des isolats africains. L'impact de ces mutations sur la cinétique de l'évolution des souches vers une résistance majeure aux IP n'est pas connue à ce jour. Il est donc important d'entretenir une surveillance épidémiologique des souches africaines afin de pouvoir en mesurer la portée.

L'étude des souches djiboutiennes a également révélé l'existence de souches porteuses de mutations majeures sur le gène de la protéase ; de la même manière avec les inhibiteurs de la transcriptase inverse, ce type de mutation n'apparaît que sous traitement. L'observation de ces souches parmi les classes les plus défavorisées de la population, soulève de nouvelles questions quant à la circulation dans une population non traitée de souches provenant de patients ayant été traités avec des molécules rarement disponibles dans ce pays.

---

### **INTERET D'UN RESEAU DE VEILLE VIROLOGIQUE**

---

A l'heure actuelle, de nombreuses initiatives internationales Nord/Sud (OMS, création du fond mondial SIDA-tuberculose-paludisme) participent à la mise à disposition des ARV en Afrique. La commercialisation d'ARV génériques dans les pays africains et les efforts financiers consentis par l'industrie pharmaceutique vont augmenter le nombre de patients pouvant bénéficier d'un traitement. Cependant, si cette nouvelle accessibilité s'organise en dehors de structures institutionnalisées (gouvernements, organismes internationaux, ONG), elle aura certainement un impact sur la survenue de résistances, impact qui devra être pris en compte. Il existe en effet un danger lié à l'arrivée en masse de ces molécules, si une réflexion n'est pas menée auparavant. Ce danger est lié à l'émergence, puis à la transmission et à la diffusion de souches résistantes aux ARV. Ce risque ne doit en aucun cas retarder l'accessibilité aux traitements pour les pays les plus démunis, mais doit être pris en compte dès maintenant, si l'on veut éviter de rééditer le scénario bien connu de la tuberculose, pour laquelle la résistance primaire dépasse aujourd'hui 10% sur le continent africain. L'accès récent des pays en voie de développement aux ARV justifie la mise en place de stratégies thérapeutiques.

Sur le plan virologique, il existe également des arguments qui laissent craindre l'émergence et la diffusion rapides de souches résistantes. Des données parcellaires indiquent en effet une circulation dans les populations n'ayant jamais eu accès aux traitements, de souches portant des marqueurs génétiques de résistance. Certaines souches avec des mutations majeures, dans des populations particulièrement démunies, posent le problème de l'origine de ces souches et de leur mode de transmission. En ce qui concerne la résistance aux IP, on observe des mutations multiples et

mineures entraînant une résistance croisée. Celles-ci ont été décrites avec une fréquence élevée qui reflète le polymorphisme génétique du virus. Ces mutations n'ont pas d'impact en terme d'efficacité clinique actuellement. Néanmoins, leur importance sur la cinétique de survenue de résistances avérées n'est pas connue.

La mise en place d'un système de surveillance épidémiologique des résistances représente le moyen le plus efficace de prise en compte du risque épidémiologique des résistances. En effet, la connaissance des données virologiques sur les souches circulantes et leur suivi permettra de valider certains schémas thérapeutiques proposés à titre curatif ou prophylactique, comme par exemple la prévention de la transmission du VIH-1 mère-enfant, qui a été initiée dès 1994 dans certains pays africains, selon la disponibilité des molécules. Les traitements pourront être adaptés en fonction de l'évolution des résistances et des moyens disponibles. Par ailleurs, compte tenu de la diversité génétique des sous-types de VIH-1 en Afrique, ces réseaux permettront d'étudier le comportement des souches de VIH-1 par rapport aux souches circulantes des pays industrialisés.

Pour que la surveillance de la résistance aux ARV soit efficace et pertinente, elle devra s'accompagner du recueil de données épidémiologiques spécifiques : populations étudiées (représentativité), nature et durée des traitements administrés, caractérisation virologiques des isolats.

La mise en place de réseaux de surveillance devrait se construire à partir de centres collaborateurs qui pourraient être, soit des laboratoires de virologie clinique africains déjà existant, soit des laboratoires européens ayant déjà l'expérience d'une collaboration Nord/Sud. Dans certains pays d'Afrique, des structures pilotes, associant cliniciens et virologues, existent déjà. Ces expériences, géographiquement limitées, ont démontré leur efficacité dans un certain nombre d'études. L'extension de ce type de centres, organisés en réseaux, assurant la surveillance épidémiologique des résis-

tances et le suivi des patients, est donc parfaitement envisageable sur l'ensemble du continent africain.

Après une approche plutôt fataliste de la prise en charge des patients atteints de SIDA, la surveillance de la résistance du VIH-1 aux ARV participe à une démarche positive grâce à la nouvelle disponibilité de ces molécules dans les pays africains ■

#### REFERENCES

- 1 - ADJE C, CHEINGSONG R, ROELS TH et Coll. - High prevalence of genotypic and phenotypic HIV-1 drug-resistant strains among patients receiving antiretroviral therapy in Abidjan, Cote d'Ivoire. *AIDS* 2001 ; **26** : 501-506.
- 2 - APETREI C, DESCAMPS D, COLLIN G. et Coll. - Human immunodeficiency virus type 1 subtype F reverse transcriptase sequence and drug susceptibility. *J Virol* 1998 ; **72** : 3534-3538.
- 3 - CANE PA, DE RUITER A, RICE P et Coll. - Resistance-associated mutations in the human immunodeficiency virus type 1 subtype C protease gene from treated and untreated patients in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 2001 ; **39** : 2652-2654.
- 4 - DELFRAISSY JF - Rapport 2000 : prise en charge thérapeutique des personnes infectées par le VIH. Médecine-Sciences Flammarion ed, Paris, 2000.
- 5 - DESCAMPS D, COLLIN G, LETOURNEUR F et Coll. - Susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 group O isolates to antiretroviral agents : *in vitro* phenotypic and genotypic analyses. *J Virol* 1997 ; **71** : 8893-8898.
- 6 - HARRIGAN PR, MONTANER JSG, WEGNER SA et Coll. - Worldwide variation in HIV-1 phenotypic susceptibility in untreated individuals : biologically relevant values for resistance testing. *AIDS* 2001 ; **15** : 1671-1677.
- 7 - VERGNE L, PEETERS M, MPOUDI-NGOLE E et Coll. - Genetic diversity of protease and reverse transcriptase sequences in non-subtype-B human immunodeficiency virus type 1 strains : mutations in treatment-naïve patients. *J Clin Microbiol* 2000 ; **38** : 3919-3925.
- 8 - WEIDLE PJ, KITYOOCM, MUGYENYI P et Coll. - Resistance to antiretroviral therapy among patients in Uganda. *AIDS* 2001 ; **26** : 495-500.

## Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées

### STAGE SOUTIEN SANTE DES FORCES APPELEES A SERVIR DANS LE MAINTIEN DE LA PAIX

**Pour tous renseignements , s'adresser à :**

IMTSSA, Bureau des Etudes, BP 46  
13998 MARSEILLE ARMEES

Tél : 04 91 15 01 05/09 • Fax : 04 91 59 44 77 • E-mail : imtssa@wanadoo.fr