

9

Résistance du VIH-1 aux antirétroviraux

La résistance aux antirétroviraux est liée à la sélection de quasi-espèces virales comportant des mutations dans les gènes de la transcriptase inverse, de la protéase, de la gp41 ou de l'intégrase lorsque la réplication virale persiste en présence de l'antirétroviral. La sélection de mutations de résistance dépend de facteurs pharmacologiques (taux suboptimaux d'antirétroviral, interactions), de la puissance du traitement antiviral et de la « barrière génétique » du virus vis-à-vis des différents antirétroviraux, c'est-à-dire du nombre de mutations virales requises pour que le virus devienne résistant. Ce chapitre ne concerne que la résistance aux antirétroviraux des VIH-1 du groupe M. La résistance aux antirétroviraux des VIH-1 groupe O et VIH-2 est traitée dans le chapitre 14.

MÉCANISMES DE LA RÉSISTANCE

Les mutations diminuent la sensibilité aux antirétroviraux par des mécanismes différents selon les classes et même selon l'antirétroviral dans une même classe [1, 2].

Inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse

Deux mécanismes différents sont impliqués dans la résistance aux inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI).

- L'excision de l'analogue nucléosidique déjà incorporé est conférée par les mutations appelées TAM (*thymidine analog mutations*). Elles sont sélectionnées séquentiellement par les analogues de la thymidine, AZT et d4T, et comprennent : M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F et K219Q/E. Ces mutations favorisent l'accès de l'ATP au site de polymérisation et celui-ci réagit avec l'analogue nucléosidique en le détachant de la chaîne d'ADN viral en formation. Les TAM sont responsables d'une résistance à l'ensemble des IN à des niveaux divers, sauf à la 3TC. Cette résistance croisée est variable en fonction du nombre de TAM et de l'IN. Par ailleurs, les mutations K70R et K219Q/E ont moins d'impact que les quatre autres dans cette résistance croisée. La mutation M184V, en présence de TAM, augmente la résistance in vivo à l'abacavir et n'a pas d'impact sur le ténofovir ni la didanosine.

- La diminution d'incorporation des nucléosides ou nucléotides artificiels au profit de nucléotides naturels est observée avec certaines mutations, en particulier la mutation M184V (la méthionine au codon 184 de la transcriptase inverse est remplacée par une valine) sélectionnée par la lamivudine ou 3TC et l'emtricitabine. Ce même mécanisme est décrit pour la mutation Q151M et son complexe (mutations A62V, V75I, F77L, F116Y), ainsi que pour les mutations L74V, K65R et K70E. La mutation Q151M entraîne une résistance de haut niveau à tous les IN, sauf au ténofovir et à la 3TC. La mutation L74V est sélectionnée par la didanosine et l'abacavir (en association fréquente avec la M184V) et la mutation

K65R et K70E principalement par le ténofovir. L'impact de cette mutation K65R semble nul sur les analogues de la thymidine (la zidovudine est l'INTI de choix en présence de K65R), certain sur le ténofovir lui-même et probable (avec des niveaux probablement variables) sur les autres nucléosides. Cette mutation, en augmentation récente dans les bases de données (3 à 5 p. 100 actuellement) du fait de l'utilisation du ténofovir, est très fortement susceptible de se développer lorsque le patient reçoit de l'abacavir et/ou de la didanosine associés au ténofovir sur des virus dépourvus de TAM. L'utilisation de ténofovir en association avec l'abacavir doit être réservée aux patients en échec dont les virus présentent des TAM. En effet, ces dernières empêchent la sélection de K65R.

Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse

Ces molécules bloquent la transcriptase inverse en se fixant au niveau d'une poche hydrophobique étroite et proche du site actif de l'enzyme. Une seule mutation à ce niveau entraîne une résistance de haut niveau à l'INNTI et à l'ensemble des autres molécules de cette classe. Ce sont typiquement des molécules dont la « barrière génétique » est basse puisqu'une seule mutation leur confère une résistance élevée. Il a été montré par plusieurs publications que, chez un patient échappant à un INNTI, tous les composés de cette classe perdent définitivement leur activité, même si le génotype ne détecte plus de mutations aux INNTI.

Des INNTI de deuxième génération comme le TMC125 sont en cours d'évaluation et semblent actifs sur certains profils de mutations de résistance aux INNTI actuellement disponibles. Il est néanmoins évident que l'accumulation de mutations de résistance aux INNTI diminuent fortement l'efficacité du TMC125 : il est donc fortement recommandé de ne pas laisser une réplication résiduelle sous efavirenz ou névirapine car cela entraîne l'accumulation de mutations de résistance aux INNTI et réduit les possibilités de traitement ultérieur par le TMC125.

Inhibiteurs de protéase

La résistance aux IP est liée à des mutations situées au niveau du site actif de cette enzyme et à distance. Typiquement, la résistance aux IP est un phénomène graduel avec accumulation progressive de mutations. On distingue les mutations primaires sélectionnées les premières lors d'un échappement, très souvent situées au niveau du site actif de l'enzyme, et les mutations secondaires qui viendront s'accumuler pour renforcer la résistance. Certaines de ces mutations primaires sont spécifiques d'un IP ; c'est le cas de la mutation I50L sélectionnée par l'atazanavir chez des patients naïfs qui, in vitro, n'entraîne pas de résistance croisée avec les autres IP. En revanche, chez des patients ayant déjà reçu d'autres IP, d'autres mutations vont être sélectionnées par l'atazanavir, en particulier la mutation I84V responsable de résistance croisée. C'est aussi le cas de la mutation I50V sélectionnée spécifiquement par le fosamprénavir qui n'entraîne pas de résistance croisée, sauf pour le lopinavir. Les autres IP sélectionnent des mutations responsables de résistance croisée, en particulier les mutations V82A/F/S/T, I84V/A et L90M qui, lorsqu'elles sont associées, rendent difficiles le choix d'un traitement de relais.

De nombreuses études montrent clairement qu'il existe une grande différence entre les IP potentialisés par le ritonavir (IP/r) et les IP non potentialisés en termes de taux de sélection de mutations de résistance chez les patients naïfs d'antirétroviraux. Les échappements aux IP non potentialisés s'accompagnent dans un certain nombre de cas de sélection de mutations de résistance (50 p. 100 des cas avec le nelfinavir, 16 p. 100 des cas avec l'atazanavir). En revanche, les échappements aux IP potentialisés qui ont pu être analysés chez les patients naïfs traités par lopinavir/r, fosamprénavir/r ou atazanavir/r s'accompagnent de très peu de sélection de mutations dans la protéase. Il est donc recommandé, si le choix d'un IP est fait pour démarrer un traitement chez un patient naïf, de le faire avec un IP potentialisé par le ritonavir.

Il est important de noter que des profils d'échappement très particuliers à certains IP potentialisés, entraînant des niveaux de résistance élevés à ces IP, ont été mis en évidence ; c'est le cas notamment du profil V32I + I47V pour le fosamprénavir et V32I + I47A pour le lopinavir.

Parmi les nouveaux IP, le tipranavir semble sélectionner chez les patients prétraités des mutations sélectionnées par beaucoup d'autres IP (par exemple, V82L/T et I84V qui sont responsables de résistance croisée). Aucune donnée n'existe sur l'émergence de mutations après utilisation de tipranavir chez les patients naïfs. Le TMC114 semble sélectionner chez les patients prétraités des mutations sélectionnées par le fosamprénavir (par exemple, V32I et I47V), ce qui peut faire suspecter une résistance croisée, du fait de leur structure chimique très proche. Aucune donnée n'existe sur l'émergence de mutations après utilisation de TMC114 chez les patients naïfs.

Inhibiteurs d'entrée

La résistance au T20, inhibiteur de fusion, est associée à des changements des acides aminés 36 à 45 du domaine HR-1 de la gp41. Ces mutations apparaissent rapidement (quelques semaines) en cas de réplication virale sous T20. Des mutations sont sélectionnées plus tardivement dans HR-2, mais ces mutations n'ont pas d'impact sur la résistance au T20 et sont probablement compensatrices des mutations de HR-1 pour la capacité répliquative. Il a été montré que les mutations dans la gp41 s'accumulaient en cas de réplication résiduelle prolongée sous T20, ce qui pourrait réduire l'efficacité ultérieure de nouveaux inhibiteurs de fusion actifs sur des souches résistantes au T20, lesquels sont actuellement en développement. Il n'existe pas de résistance croisée entre le T20 et d'autres inhibiteurs d'entrée tels que les inhibiteurs des co-récepteurs CCR5. Le mécanisme prédominant de résistance aux inhibiteurs de CCR5 semble être une émergence graduelle de mutants qui vont continuer à utiliser le CCR5 (mutations dans la boucle V3 de la gp120), mais un changement d'utilisation de co-récepteur pour le CXCR4, bien que rare, semble également possible.

Nouvelles cibles

Le MK-0518 et le GS-9137 sont des inhibiteurs d'intégrase actifs sur les souches de VIH-1 résistantes aux autres classes d'antirétroviraux. Des expériences de passages in vitro montrent que les mutations de résistance aux inhibiteurs d'intégrase se trouvent au niveau du site actif de l'enzyme. Actuellement, il n'existe pas de données sur la résistance croisée entre ces produits. Le PA-457 est le premier représentant de la classe des inhibiteurs de maturation. Il se fixe sur gag au niveau du site de clivage entre CA et SP1 et bloque la conversion du précurseur de la capsid (p25) en protéine de capsid mature (p24), aboutissant à la libération de particules virales immatures, non infectieuses. Des expériences de passages in vitro montrent que les mutations de résistance au PA-457 sont localisées dans une région très proche de ce site de clivage, à la fois dans CA et SP1.

TESTS DE RÉSISTANCE

Tests génotypiques de résistance

Les tests génotypiques permettent l'analyse des mutations présentes dans les gènes de la transcriptase inverse, de la protéase ou de la gp41. Après PCR, le séquençage des gènes avec migration électrophorétique sur séquenceurs automatiques est la technique de

référence. Des logiciels traduisent les séquences nucléotidiques en acides aminés. La lecture s'effectue en analysant chaque position connue comme associée à des mutations de résistance, par rapport à une séquence de référence ; la population virale à ce codon peut être sauvage, mutée ou mixte.

Deux kits de séquençage sont actuellement disponibles, qui incluent un logiciel d'analyse des profils de mutations : les kits des firmes Bayer (Trugene® HIV-1 genotyping kit) et Abbott (Perkin Elmer ABI ViroSeq Genotyping system) ont reçu l'agrément d'utilisation de l'Agence française de sécurité sanitaire et de la Food and Drug Administration aux États-Unis. Ces deux kits donnent des résultats concordants dans 97,8 p. 100 des cas analysés. Un grand nombre de laboratoires utilisent d'autres techniques de séquençage avec différentes méthodes dont celle du groupe Résistance AC11 de l'ANRS décrite sur le site <http://www.hivfr-enchresistance.org>. Les résultats de cette dernière méthode sont corrélés à ceux des techniques commercialisées.

Il faut souligner que le séquençage, qui est la technique standard génotypique, ne permet d'analyser que la population virale majoritaire représentant au moins 20 à 30 p. 100 de la population virale totale circulante dans le plasma. Les techniques de détection des populations virales minoritaires sortent actuellement du cadre de la pratique clinique et sont réservées aux protocoles de recherche.

Dans les essais prospectifs, les tests génotypiques apportent un bénéfice par rapport à la seule utilisation des données cliniques et thérapeutiques. Une réduction supplémentaire de la charge virale d'environ 0,6 log et une augmentation de 15 à 20 p. 100 du pourcentage de patients ayant une charge virale indétectable (200-500 copies/ml) sont observées après 3 à 6 mois de traitement dans le bras avec utilisation de tests génotypiques par rapport au bras « contrôle » (choix non guidé par le génotype). La décision de modification thérapeutique fondée sur les tests génotypiques semble avoir un impact plus grand sur la réponse virologique chez les patients dont la durée d'exposition préalable aux antirétroviraux n'est pas trop importante. La valeur prédictive des tests génotypiques est d'autant meilleure que des concentrations plasmatiques efficaces d'IP et une bonne observance au traitement sont présentes chez les patients.

Un contrôle de qualité, organisé par le groupe Résistance AC11 de l'ANRS, est réalisé chaque année depuis 2001 et concerne actuellement une cinquantaine de laboratoires, incluant des laboratoires de ville. La fréquence de résultats faussement positifs (mutation de résistance retrouvée alors que la séquence est sauvage) est basse, mais celle de faux négatifs (mutation de résistance non détectée) est plus élevée. Cette sous-estimation des mutations de résistance est rapportée dans d'autres contrôles de qualité en Europe. Le contrôle de qualité a un rôle pédagogique important, comme l'a montré l'augmentation des performances des laboratoires depuis son instauration [3].

Interprétation des tests génotypiques

Construction des algorithmes

Établir des règles d'interprétation des tests génotypiques ou « algorithmes » est un exercice long, difficile, nécessitant des mises à jour répétées. En l'absence de données cliniques sont d'abord prises en compte les mutations sélectionnées par culture du virus en présence de l'antirétroviral. Puis, l'étude des corrélations entre tests phénotypiques et génotypiques utilisant des isolats cliniques bien caractérisés permet d'explorer les résistances croisées et l'impact phénotypique des mutations. Ensuite, les algorithmes intègrent les mutations sélectionnées chez les patients traités par la molécule étudiée. Mais les algorithmes doivent être « cliniquement validés » pour être pertinents. De tels algorithmes reposent sur des études de corrélation, entre le profil de mutations avant la mise sous traitement et la réponse virologique vis-à-vis de l'antirétroviral analysé.

De façon générale, plusieurs étapes successives sont nécessaires [4].

1. Identification des mutations qui ont un effet sur la réponse virologique.
2. Sélection des mutations à retenir parmi la liste identifiée à l'étape 1 ; plusieurs méthodes sont possibles pour cette étape.
3. Détermination des règles conduisant à classer les virus en sensible, résistance possible et résistance. La résistance possible correspond généralement à une réponse virologique égale à 50 p. 100 de la réponse maximale. Il faut noter que la résistance est un phénomène progressif qui ne relève pas du tout ou rien et que, dans certains cas, il est impossible de déterminer les règles correspondant à une résistance possible.
4. Validation du caractère pronostique des règles après ajustement sur les autres facteurs prédictifs de la réponse virologique.
5. L'algorithme ainsi construit doit aussi être validé en montrant qu'il est aussi prédictif dans une autre base de données.

Les algorithmes du groupe Résistance de l'ANRS sont revus tous les 6 à 12 mois, ils sont disponibles sur le site : <http://www.hivfrenchresistance.org> et sur le site de Stanford : <http://hivdb.stanford.edu>. Un groupe international s'est mis en place pour construire des algorithmes avec une méthodologie standardisée, à partir de plusieurs bases de données regroupées : (<http://hivforum.org/projects/standardization.html>).

Rendu des résultats

Les résultats des tests génotypiques sont habituellement présentés par des logiciels auxquels des règles d'interprétation ont été transmises. Pour chaque antirétroviral, le résultat est exprimé avec la mention « résistance » ou « résistance possible » ou « sans évidence de résistance ». Le GSS, ou *genotypic sensitivity score*, représente la somme des drogues actives selon l'algorithme utilisé et présentes dans un régime thérapeutique. Ce score est prédictif de la réponse thérapeutique dans plusieurs essais.

Des études ont montré des variations dans l'interprétation de l'activité d'un antirétroviral entre les différents algorithmes développés. Cette variation est plus importante pour la stavudine, la didanosine, l'abacavir et l'amprénavir [5]. Il faut souligner que la comparaison entre les algorithmes est encore compliquée du fait des différences dans l'expression des résultats. L'interprétation en « résistance possible » peut avoir des significations variées selon les molécules.

Il est indispensable que le résultat du premier génotype de résistance s'accompagne de l'identification du sous-type vital par analyse phylogénétique de la séquence génétique de la transcriptase inverse.

Tests phénotypiques

Trois firmes proposent des tests phénotypiques avec une technique utilisant des virus recombinants : le test Antivirogram® de Virco, PhenoSense® de Monogram et Phenoscrypt® d'Eurofins Scientific.

Les résultats des tests phénotypiques sont exprimés par le rapport entre la CI_{50} ou CI_{90} (concentration inhibitrice 50 ou 90 p. 100) de la souche du patient et celle d'un isolat sensible de référence. La détermination des valeurs seuils de ce rapport correspondant à une réelle diminution de sensibilité phénotypique pose des problèmes difficiles. Ces valeurs seuils ont d'abord été définies par rapport à la variabilité de la technique qui diffère selon les molécules. Les firmes ont ensuite utilisé des valeurs seuils « biologiques », dérivées de la distribution des CI_{50} ou CI_{90} d'isolats provenant de patients naïfs de traitement. Mais le problème clé, commun aux tests phénotypiques et génotypiques, est de pouvoir prédire la réponse virologique d'un patient à une molécule donnée. Ainsi des valeurs seuils définies « cliniquement » sont-elles plus pertinentes. Elles sont établies à partir de l'analyse d'essais cliniques permettant de définir la valeur au-delà de laquelle la réponse virologique du patient est significativement réduite. Les essais CCTG575 et Narval ont montré les grandes diffi-

cultés à définir les valeurs seuils des IN, en particulier pour la stavudine et la didanosine. La différence de résultats des CI_{50} est très faible entre virus sensibles et virus résistants, et la valeur seuil clinique indiquant la résistance extrêmement proche du seuil de reproductibilité de la technique. En fait, les valeurs seuils cliniques ne sont définies que pour certaines molécules, en nombre variable selon les firmes.

Au total, les tests phénotypiques n'ont pas montré de bénéfice clinique pour la prise en charge des patients mais restent aujourd'hui un outil indispensable (AI) à l'évaluation de nouvelles molécules.

Phénotype virtuel

Le phénotype « virtuel » est une interprétation du génotype : phénotype « estimé » à partir des données de génotype d'isolat d'un patient, apparié à des génotypes semblables pour lesquels les phénotypes sont connus et enregistrés dans une base de données. Les résultats du phénotype virtuel sont rendus comme une estimation calculée d'un phénotype théorique. Cette interprétation, proposée par la firme Virco, pose les mêmes problèmes d'interprétation que le phénotype réel, en particulier pour les INTI, et est inapplicable aux nouvelles molécules. De plus, sa fiabilité peut être mise en doute quand le profil génotypique est rare, avec pour conséquence un faible nombre de phénotypes correspondant analysables dans la base de données. Actuellement, il n'est pas recommandé dans la pratique clinique.

VIH-1 SOUS-TYPES NON-B

Chez les patients ayant découvert récemment leur séropositivité en France pendant la période 2003-2005, la proportion d'infections par des virus VIH-1 sous-types non-B était de 47,8 p. 100. Elle était plus élevée chez les personnes de nationalité d'un pays d'Afrique subsaharienne (80,5 p. 100) que chez les patients de nationalité française (22,4 p. 100).

Les mécanismes de résistance et les mutations impliquées dans la résistance aux antirétroviraux sont essentiellement connus pour les isolats VIH-1 sous-type B [6], qui circulent majoritairement dans les pays développés. En revanche, les données concernant la résistance aux antirétroviraux des virus VIH-1 sous-types non-B sont préliminaires.

Il existe un polymorphisme important dans le gène de la protéase (moins dans celui de la transcriptase inverse) et la question de l'impact de ce polymorphisme sur la susceptibilité aux antirétroviraux se pose [7]. Ainsi peut-on observer des substitutions au niveau de codons impliqués dans la résistance aux antirétroviraux des sous-types B (mutations majeures). L'acide aminé au codon 82 des virus sauvages du sous-type G est une isoleucine et non pas une valine comme pour les virus sauvages de sous-type B, et il entraînerait une réduction de sensibilité au saquinavir, à l'indinavir et au ritonavir. Par ailleurs, des études montrent que les substitutions correspondant aux mutations mineures (secondaires) de résistance aux IP sont différentes selon les sous-types non-B et différentes de celles du sous-type B. L'impact de leur variation sur la sensibilité naturelle aux IP est encore assez peu connue, mais ces mutations sont de plus en plus prises en compte dans les algorithmes de résistance.

La diversité génétique des VIH-1 peut aussi avoir des conséquences sur les voies génétiques utilisées par le virus pour acquérir une résistance aux antirétroviraux. Une mutation V106M est ainsi sélectionnée de manière préférentielle lors de l'exposition des virus de sous-type C aux INNTI et entraîne une résistance de haut niveau à ces inhibiteurs. Lors des échecs de première ligne au nelfinavir, les virus de sous-type B sélectionnent le plus souvent la mutation D30N ; certains sous-types non-B (C, F, G et CRF01AE) sélectionnent d'autres mutations et surtout la mutation L90M qui a un impact important sur la résistance

croisée aux IP. Lors de l'utilisation de la névirapine en monodose pour la prévention de la transmission mère-enfant, les mutations de résistance sont plus fréquemment sélectionnées lors d'une infection par un sous-type C en comparaison aux sous-types D et A [8]. Bien que la variabilité soit importante sur le gène de la gp41, la susceptibilité au T20 ne semble pas affectée. Peu de données sont encore disponibles sur la sensibilité des isolats non-B aux anti-co-récepteurs.

Il est nécessaire de surveiller attentivement les profils de résistance qui vont être sélectionnés chez les patients en échec de traitement afin de déterminer si, du fait du polymorphisme basal associé aux mutations sélectionnées lors de l'échec, l'évolution vers la résistance se fera plus rapidement. D'autre part, l'évaluation des performances des tests de résistance et des algorithmes d'interprétation du génotype doit également tenir compte de la diversité génétique du VIH-1, en particulier dans le cadre d'un accès élargi aux antirétroviraux pour les pays en développement (PED). Enfin l'interprétation du résultat des génotypes des virus de sous-types non-B peut être difficile, en particulier pour les IP les plus récentes.

ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIRÉTROVIRAUX

Patients au cours de la primo-infection

Pour répondre à la question d'une éventuelle augmentation de transmission de virus résistants, une surveillance épidémiologique annuelle a été instaurée en France sous l'égide de l'ANRS. En 2003-2004, 323 patients ont pu être inclus, ce qui représente environ la moitié des primo-infections diagnostiquées en France et 5 p. 100 de l'ensemble des primo-infections. La fréquence de virus résistant à au moins un antirétroviral était de 12,3 p. 100 (40/323). Cette fréquence globale est stable au cours du temps depuis 1996 puisqu'elle était de 9 p. 100 pour la période 1996-1998, de 10 p. 100 en 1999-2000 et de 12 p. 100 en 2001-2002 [9]. Cette fréquence est comparable à celle décrite dans l'étude collaborative CATCH qui regroupe les résultats de 19 pays européens. La fréquence de transmission de virus résistant à au moins un antirétroviral de deux ou trois classes est également stable : 3 p. 100 en 2003-2004, 2 p. 100 en 2001-2002 et 4,8 p. 100 en 1999-2000. La fréquence de virus résistant aux INTI est de 6 p. 100, aux INNTI de 5,9 p. 100 et aux IP de 3,4 p. 100. Aucune différence de fréquence de virus résistant n'a été retrouvée selon le groupe à risque. En revanche, nous notons une augmentation significative de la transmission de virus résistant de sous-types non-B : 20 p. 100 en 2003-2004, 11 p. 100 en 2001-2002 et 0 p. 100 en 1999-2000 ($p = 0,05$). De ce fait, en 2003-2004, la fréquence de virus résistants est comparable chez les patients infectés par des virus de sous-type B (14,5 p. 100) par rapport aux patients infectés par des virus de sous-types non-B (9,4 p. 100), $p = 0,24$.

Patients chroniquement infectés non traités

Chez les patients ayant une infection chronique, et naïfs de tout traitement antirétroviral, la prévalence globale de virus portant au moins une mutation de résistance a été évaluée en 2001 dans l'étude ODYSSEÉ, selon la définition de l'IAS-USA, et était de 6 p. 100. Cette résistance est de 1,7 p. 100 si l'on s'intéresse à la résistance à au moins un antirétroviral définie selon l'algorithme de l'ANRS [9]. Cette étude doit être reconduite en 2006 afin d'actualiser ces données.

La différence de fréquence des souches virales résistantes entre ces deux populations de sujets (primo-infection et naïfs de traitement) s'explique en partie par le fait que les

variants mutés transmis au moment de la primo-infection vont au cours du temps, en l'absence d'antirétroviral, avoir une capacité répliquative réduite et s'effacer devant les souches sauvages qui deviennent progressivement majoritaires.

Plusieurs facteurs interviennent dans la difficulté à comparer les études de prévalence des différents pays. Les deux principaux facteurs sont, d'une part, la définition de la résistance elle-même (fréquence de mutations de résistance ou bien résistance aux antirétroviraux définie selon un algorithme) et, d'autre part, la sélection des patients étudiés (taille de l'échantillon trop petit, non représentativité nationale).

Patients traités

L'étude multicentrique ANRS Multivir a évalué la prévalence de la résistance chez les patients traités par antirétroviraux en 2004 et avec une charge virale détectable [10]. La résistance à au moins un antirétroviral était trouvée chez 88 p. 100 des patients ; la multirésistance (résistance à tous les antirétroviraux d'une même famille thérapeutique) était retrouvée chez 18 p. 100 des patients pour les INTI, chez 49 p. 100 des patients pour les INNTI et chez 7 p. 100 des patients pour les IP ; la résistance à l'enfuvirtide concernait 6 p. 100 des patients. En considérant les données de la base de données hospitalières française sur l'infection par le VIH, 18,8 p. 100 des patients traités en 2004 pouvaient donc contribuer à la transmission de virus résistants, et 3,3 p. 100 de ces patients étaient infectés par un isolat multirésistant à au moins deux classes thérapeutiques. Les profils de résistance observés, avec la prépondérance de la résistance aux INRTI et INNTI, restent influencés par l'histoire thérapeutique souvent longue de ces patients et par la faible barrière génétique des INNTI. Une étude européenne récente confirme ces données sur un échantillon de population toujours moins bien défini. Par ailleurs, la corrélation de la multirésistance aux antirétroviraux avec une évolution clinique péjorative a été récemment établie [11].

INDICATIONS DES TESTS GÉNOTYPIQUES DE RÉSISTANCE : ARGUMENTAIRE

Comparées à 2004, la principale différence dans les recommandations concerne les patients chroniquement infectés. Plusieurs arguments plaident pour l'instauration d'un test génotypique de résistance au moment de la découverte de la séropositivité ou, au plus tard, au moment de l'initiation du traitement.

- *La fréquence d'infection par des virus résistants.* En France en 2003-2004, la fréquence de virus résistant à au moins un antirétroviral chez les patients diagnostiqués au moment de leur primo-infection est de 12,3 p. 100. La fréquence de virus résistant aux INTI est de 6 p. 100, aux INNTI de 5,9 p. 100 et aux IP de 3,4 p. 100. Pour les inhibiteurs nucléosidiques, les mutations les plus fréquemment retrouvées sont des mutations aux analogues de la thymidine « TAM » ou la mutation 184V, ces mutations ayant un impact sur les molécules fréquemment utilisées en première ligne. Il faut également noter que de nombreuses publications rapportent la persistance pendant plusieurs années de ces virus résistants dans le plasma, mais également leur archivage dans les PBMC [12, 13].

Chez les patients naïfs de traitement, la dernière étude menée en France (Odyssee) en 2001 montrait une fréquence de virus portant des mutations de résistance de 6 p. 100 [Descamps, J AIDS 2005]. Dans l'étude CASCADE, regroupant les résultats de onze cohortes de patients infectés depuis moins de 18 mois, la fréquence de virus résistant est de 10,3 p. 100 [14]

- *L'impact délétère de la présence de mutations de résistance sur la réponse virologique à un premier traitement a été bien démontré :*

– chez les patients traités au moment de la primo-infection. Trois mois après l'initiation d'une trithérapie, 82 p. 100 des patients infectés par un virus sauvage avaient une charge virale inférieure à 400 copies/ml comparé à 63 p. 100 des patients infectés par un virus résistant à au moins une molécule de leur traitement ($p = 0,02$). À 6 mois, la proportion de sujets avec une charge virale inférieure à 400 copies/ml était de 95 p. 100 (virus sauvage) contre 81 p. 100 de sujets avec virus résistant ($p = 0,02$) [15].

– chez les patients chroniquement infectés au moment de l'initiation d'un premier traitement. Plusieurs essais ont montré que si les virus des patients naïfs sont résistants aux INTI qu'ils reçoivent, le pourcentage d'échecs virologiques est très élevé. Il s'agit de l'étude 934 [16], de l'essai ZODIAC/CNA 30021 [17] et de l'essai FTC 301 [18].

Ces différentes études montrent l'impact délétère de la présence de virus résistant sur la réponse virologique lors de l'initiation d'un premier traitement, que ce soit au moment de la primo-infection ou chez le patient naïf. Il faut également noter le risque d'accumulation de nouvelles mutations en cas de réponse sous-optimale [19].

- *L'importance du premier traitement sur l'évolution de la maladie.* L'étude publiée dans le *Lancet* par G. Chene et al., regroupant les données provenant de treize cohortes européennes et américaines, a montré le rôle pronostique de la réponse à une première trithérapie sur la progression clinique [20]. Six mois après l'initiation du traitement, le taux de CD4 et la valeur de l'ARN VIH plasmatique étaient fortement associés à l'évolution clinique, alors que ces deux marqueurs mesurés avant le traitement ne l'étaient pas.

- *Le coût et l'efficacité.* Un article publié en 2005 [21] a analysé le coût-efficacité du génotype fait avant tout traitement. Il en ressort que le coût du génotype étant assez modeste (400 dollars dans le scénario de base, ce qui est proche du coût en France) par rapport au coût d'un an de traitement par antirétroviraux (moins de 5 p. 100) et, a fortiori, par rapport au coût du traitement vie entière (de l'ordre de 0,2 p. 100), le coût par année de vie gagnée ajustée sur la qualité de vie (QALYs) est d'un ordre de grandeur acceptable pour presque toutes les situations testées. Ce coût par année de vie gagnée est estimé à 23 900 dollars pour le génotype avant tout traitement, versus 20 200 dollars pour le génotype après un premier échec et 25 900 dollars pour le traitement par trithérapie, deux mesures qui sont recommandées à l'heure actuelle. Le coût devient prohibitif (c'est-à-dire > 50 000 dollars), parmi toutes les analyses de sensibilité réalisées, uniquement pour une prévalence de la résistance inférieure à 1 p. 100. Si l'on répète le test 2 fois (par exemple,

Tableau 9-I Indications des tests de résistance

Situation clinique	Recommandation
Primo-infection et infection récente (< 6 mois)	Recommandé pour adaptation éventuelle ultérieure du traitement et à visée de surveillance épidémiologique (AIII)
Avant l'initiation du traitement : – à la découverte de la séropositivité – ou sur le prélèvement disponible le plus ancien – ou avant de débiter le traitement	Recommandé (Alla)
Échecs thérapeutiques	Recommandé (Ala)
Prophylaxie post-exposition VIH	À réaliser au cas par cas
Enfants infectés	Mêmes indications que pour l'adulte
Grossesse	Avant l'initiation du traitement prophylactique et en cas d'échecs virologiques (A)

lors du diagnostic et à la mise sous traitement), la démarche reste coût-efficace tant que la prévalence de la résistance reste supérieure à 3 p. 100.

- *Le choix du moment du test : avant le traitement initial ou au moment du diagnostic ?*
Dans les travaux récents de l'étude CASCADE, 65/440 patients étaient infectés par un virus portant une mutation de résistance [22]. Parmi ces 65 patients, 20 ont pu bénéficier d'un nouveau test génotypique après une médiane de suivi de 15 mois afin d'analyser l'évolution des mutations de résistance. Chez 8 patients, le profil de mutation est resté stable alors qu'il a évolué chez 12 patients. Il semble donc que le test génotypique réalisé le plus précocement possible soit le plus informatif.

Compte tenu de ces résultats, il est recommandé de réaliser un test génotypique de résistance avant l'initiation du traitement (Alla) et de choisir le premier traitement en tenant compte de ces données. Il sera réalisé au mieux au moment de la découverte de séropositivité (AIII), ou sur le prélèvement disponible le plus ancien ou avant l'initiation du traitement (Tableau 9-I).

EN PRATIQUE

- Il n'existe pas de différences importantes entre les recommandations françaises, européennes et internationales.

- La majorité des échecs virologiques précoces à une première ligne de traitement est liée à des problèmes ou d'observance ou de pharmacocinétique. La constatation fréquente de l'absence de mutations de résistance vient conforter ce diagnostic, et ce résultat permet d'identifier les molécules qui pourraient être gardées dans le schéma thérapeutique, ou plutôt être « recyclées » ultérieurement (bien qu'une telle attitude n'ait jamais été validée). À l'inverse, des mutations de résistance apparaissent rapidement avec des schémas thérapeutiques comportant un INNTI ou la lamuvidine si la réplication virale n'est pas contrôlée de manière optimale. De plus, pour un antirétroviral donné, le type de mutations sélectionnées peut varier ; cela a un impact sur la résistance croisée qui peut différer selon la (ou les) mutation(s) présente(s) et selon le sous-type viral du patient, en particulier pour les IP et les INTI.

- L'intérêt de modifier rapidement la thérapeutique antirétrovirale après avoir constaté l'échec virologique est illustré par plusieurs publications qui montrent une accumulation de mutations de résistance quand le patient conserve la même thérapeutique malgré l'échec, même à des niveaux de charge virale relativement bas.

- Un « blip » est défini par une élévation transitoire de l'ARN VIH plasmatique, en général de moins de 100 copies/ml, observée sur un seul prélèvement et ne justifie pas la prescription d'un test de résistance.

- Lorsqu'une interruption thérapeutique est envisagée chez un sujet en échec virologique, il est essentiel d'effectuer un test de résistance avant l'arrêt du traitement. En revanche, la pratique d'un test de résistance lors de l'interruption thérapeutique peut conduire à des erreurs de prescription de traitements. Elle n'est pas recommandée.

- Les tests génotypiques doivent être effectués en cas d'échecs virologiques alors que le patient est sous traitement antirétroviral. Au-dessous de 1 000 copies/ml, l'amplification du virus est aléatoire.

- Les tests génotypiques de séquençage nécessitent de longues manipulations puisqu'un technicien en réalise environ vingt par semaine.

- Un test de résistance ne doit être prescrit que lorsque la décision de changement de traitement a été envisagée, sur des critères cliniques, immunologiques ou virologiques. L'interprétation des résultats et les choix thérapeutiques ultérieurs ne peuvent se faire qu'en concertation entre le clinicien, le virologue et le pharmacologue.

ÉTUDES EN COURS

Résistance et exposition aux antirétroviraux : les quotients inhibiteurs

L'un des objectifs actuels est d'intégrer les résultats des tests de résistance à ceux des dosages des concentrations plasmatiques en utilisant le quotient inhibiteur (QI), nouveau concept de relation pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD), qui combine l'exposition pharmacocinétique à un antirétroviral et la sensibilité d'une souche pour un antirétroviral et pour un patient donné. Les études sur le QI n'ont d'intérêt aujourd'hui que pour la classe des IP parce que l'on peut moduler leur concentration plasmatique. Le QI a d'abord été défini par le ratio entre la concentration résiduelle de l'antirétroviral (IP) mesurée chez le patient et la CI_{50} ou la CI_{90} mesurée par un test phénotypique réel ou évaluée par un test virtuel.

Une approche similaire est maintenant utilisée pour le génotype en remplaçant la CI_{50} ou la CI_{90} par le nombre de mutations associées à la résistance à un IP, ce qui définit le quotient inhibiteur génotypique (QIG). Initialement, le QIG a été développé comme un outil de résistance *in vivo* des inhibiteurs de la protéase (IP) et plus précisément de l'amprénavir (APV). Sur un plan pratique, il est calculé en divisant la concentration plasmatique minimale (C_{min}) de l'IP mesurée 12 ou 24 heures après la dernière prise (reflet de l'exposition) par le nombre de mutations dans le gène de la protéase du VIH, spécifique du même IP (génotype). Il est souvent plus prédictif de la réponse virologique que ne le sont le nombre de mutations ou les C_{min} considérées séparément.

Le QIG présente des variations de calcul selon que l'on considère la C_{min} , la C_{max} ou l'aire sous courbe des concentrations plasmatiques (AUC), les fractions libres ou liées aux protéines plasmatiques, dans le plasma ou dans un autre compartiment (intracellulaire, liquide céphalorachidien, liquide séminal, etc.) et la nature du composé antirétroviral, mais aussi selon les choix de l'algorithme de résistance et du critère d'évaluation virologique.

L'utilisation en routine du QIG nécessiterait une standardisation de son expression, la détermination de valeurs cibles dans des populations définies de patients prétraités mais adhérents, l'étude de la pondération éventuelle de certaines mutations, une validation prospective au sein d'études cliniques adaptées, ainsi que la détermination de la valeur maximale tolérable de C_{min} en termes de toxicité si l'on considère son intérêt dans le cadre d'intensification des traitements.

Résistance et capacité répliquative

La capacité répliquative correspond à la mesure – *in vitro* ou *ex vivo* – de l'efficacité du virus à se répliquer ; elle est généralement mesurée en l'absence d'antirétroviral ; certaines firmes, à partir de la technologie des virus recombinants, ont développé des tests évaluant la capacité répliquative.

Les mutations de résistance, *in vitro*, altèrent l'efficacité des enzymes qui sont la cible des antirétroviraux. Il a ainsi été décrit que certaines mutations diminuaient *in vitro* la capacité répliquative des virus, comme par exemple la mutation D30N (nelfinavir), M184V (lamivudine), K65R (ténofovir). Des modifications du gène *gag* ont aussi été récemment impliquées dans la modulation de la capacité répliquative. Le « coût » en capacité répliquative des différentes associations de mutations est donc très variable et détermine par exemple la persistance ou non des mutations après la primo-infection [22]. Chez les patients, certaines études ont corrélé la capacité répliquative au niveau de charge virale [23], à la progression clinique et immunologique [24]. Enfin, la diminution de la capacité répliquative des virus présentant des mutations de résistance aux IP est invoquée chez les patients dont la réponse immune reste satisfaisante alors que l'échec virologique est patent. Cependant, malgré ces différents arguments physiopathologiques, aucune étude

clinique n'a pour l'instant démontré l'intérêt des tests de capacité répliquative pour la prise en charge des patients.

Résistance et interruptions thérapeutiques

Patients en succès thérapeutique

Chez les patients virologiquement contrôlés chez lesquels des interruptions de traitement d'une durée supérieure à une semaine ont été réalisées, différents investigateurs ont rapporté la présence de virus résistants dans le plasma lors des phases sans traitement [25]. Les mutations de résistance concernaient souvent les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ou la lamivudine, qui se caractérisent par une longue demi-vie plasmatique et intracellulaire et contre lesquelles le virus présente une faible barrière génétique.

L'impact de ces mutations détectées dans le plasma sur la réponse virale après reprise thérapeutique est controversé. Certaines études ont montré une moindre réponse virale [26] alors que d'autres études ont montré que la réponse virale n'était pas influencée par la présence de mutation de résistance [27]. Si l'archivage des mutations de résistance dans des cellules à longue durée de vie est possible, l'impact clinique sur la réponse virale après reprise thérapeutique est également controversé.

Patients en échec thérapeutique

Chez un patient porteur de virus résistants, les bases théoriques de la « resensibilisation » consistent à lever transitoirement la pression sélective antirétrovirale afin de favoriser l'évolution de la quasi-espèce composée majoritairement de virus résistants vers une quasi-espèce composée majoritairement de virus sensibles.

Cette hypothèse a été vérifiée dans différentes études observationnelles montrant une resensibilisation chez une majorité de patients en échec après quelques semaines d'interruption. La disparition des virus résistants plasmatiques et la réémergence du virus sauvage ont été considérées délétères par certains investigateurs en raison d'une chute concomitante du nombre de lymphocytes CD4 dans le sang périphérique [28]. Cette stratégie thérapeutique n'est pas actuellement recommandée.

Résistance dans l'ADN viral des cellules du sang périphérique et dans les autres compartiments

La diffusion des différentes molécules antivirales peut être variable selon les compartiments de l'organisme, ce qui peut induire la sélection de virus résistants différents de ceux détectés dans le plasma sanguin, notamment dans le LCR et dans les compartiments génitaux masculin et féminin. Plusieurs études ont également montré que les virus archivés dans les lymphocytes infectés pouvaient être différents de ceux présents dans le plasma. L'analyse des populations virales dans les cellules mononucléées du sang circulant chez les patients présentant une charge virale plasmatique contrôlée a été réalisée dans différentes études. Il n'a pas été démontré que l'analyse des virus résistants dans les cellules mononucléées circulantes était nécessaire pour des changements de traitement. La prescription de tests génotypiques de résistance sur l'ADN lymphocytaire n'est donc pas recommandée.

Hypersensibilité

Plusieurs tests phénotypiques permettent d'identifier des sensibilités élevées, appelées « hypersensibilités » ; ce phénomène a été décrit pour les INNTI lorsque le virus est résistant aux INTI et présente des TAM. L'hypersensibilité aux INNTI était prédictive de la

réponse virologique à des traitements incluant la névirapine ou l'efavirenz dans l'essai CCTG 575 [29]. L'hypersensibilité aux inhibiteurs de protéase a aussi été mise en évidence chez des patients récemment infectés [30] ou chez des patients chroniquement infectés en arrêt de traitement. Dans les deux cas, l'hypersensibilité aux IP était corrélée à une baisse de la capacité répliquative. Le mécanisme moléculaire et les corrélations génotypiques ne sont pas clairement établis dans ces deux études, même si certaines mutations de résistance aux IP (N88S, I50L) ont été spécifiquement impliquées. Cependant, la corrélation entre l'hypersensibilité aux IP et la réponse virologique reste insuffisamment établie, et l'intérêt de la mesure de l'hypersensibilité en pratique clinique n'est pas établie.

Résistance et populations virales minoritaires

Des techniques telles que le clonage, des PCR sélectives en temps réel avec des amorces spécifiques de codon sauvage ou muté et le *single genome sequencing* permettent d'étudier les sous-populations virales minoritaires non détectables par le séquençage classique. Ces techniques ont récemment montré leur intérêt pour l'étude de la prévalence des mutations de résistance aux INTI après exposition des mères à la névirapine pour la prévention de la TME du VIH dans les pays en développement. Elles ont également permis de montrer que la prévalence de la résistance chez les patients naïfs d'antirétroviraux récemment infectés est sous-estimée par les techniques génotypiques usuelles. La signification clinique de ces sous-populations minoritaires n'a toutefois pas été complètement évaluée, et les techniques utilisées sont toujours des techniques de recherche, actuellement non applicables à la pratique clinique.

Points forts

- Les mécanismes et la cinétique d'acquisition des mutations de résistance diffèrent selon la classe des antirétroviraux (A1a).
- La prévention de la sélection de mutants résistants nécessite de maintenir une charge virale sous traitement au-dessous du seuil de détection (A1a).
- Les tests de résistance sont un élément important pour l'aide à la décision thérapeutique. Le choix des antirétroviraux dans un traitement de relais nécessite une concertation multidisciplinaire associant cliniciens, virologues et pharmacologues (A1a).
- L'algorithme d'interprétation des tests génotypiques de résistance évolue régulièrement. Il est nécessaire de consulter le site : <http://www.hivfrenchresistance.org> pour connaître les dernières mises à jour.

Le groupe d'experts recommande :

- de réaliser un test génotypique de résistance lors du diagnostic de l'infection par le VIH ou, si cela n'est pas possible, sur le prélèvement disponible le plus ancien, ou avant de débiter le traitement (A1a) ;
- de réaliser un test génotypique de résistance en cas de primo-infection (A1a) ;
- de réaliser les tests de résistance en cas d'échec virologique alors que le patient est sous traitement antirétroviral (A1a) ;
- de rendre le résultat du génotype de résistance accompagné de l'identification du sous-type de VIH-1 par analyse phylogénétique de la séquence génétique de la transcriptase inverse (A1a).

BIBLIOGRAPHIE

1. CLAVEL F, HANCE AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med*, 2004, *350* : 1023-1035.
2. HIRSH MS, BRUN-VÉZINET F, CLOTET B et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1 : 2003 recommendations of an international AIDS Society-USA panel. *CID*, 2003, *37* : 113-128.
3. DESCAMPS D, DELAUGERRE C, MASQUELIER B et al. Repeated HIV-1 resistance genotyping external quality assessments improve virology laboratory performance. *J Med Virol*, 2006, *78* : 153-160.
4. BRUN-VEZINET F, COSTAGLIOLA D, KHALED MA et al. Clinically validated genotype analysis : guiding principles and statistical concerns. *Antivir Ther*, 2004, *9* : 465-478.
5. RAVELA J, BETTS BJ, BRUN-VEZINET F et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2003, *33* : 8-14.
6. JOHNSON VA, BRUN-VEZINET F, CLOTET B et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1 : fall 2005. *Top HIV Med*, 2005, *13* : 125-131.
7. SNOECK J, KANTOR R, SHAFER RW et al. Discordances between interpretation algorithms for genotypic resistance to protease and reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus are subtype dependent. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, *50* : 694-701.
8. ESHLEMAN SH, HOOVER DR, CHEN S et al. Resistance after single-dose nevirapine prophylaxis emerges in a high proportion of Malawian newborns. *AIDS*, 2005, *19* : 2167-2169.
9. DESCAMPS D, CHAIX ML, ANDRÉ P et al. French National sentinel survey of antiretroviral drug resistance in patients with HIV-1 primary infection and in antiretroviral-naïve chronically infected patients in 2001-2002. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, *38* : 545-552.
10. COSTAGLIOLA D, MORAND-JOUBERT L, ASSOUMOU L et al. Prevalence of resistance to at least one drug in treated HIV infected patients with viral load > 1000 copies/ml in 2004 : a French nationale study. 13th CROI, Denver, 2006, abstract 648.
11. ZACCARELLI M, TOZZI V, LORENZINI P et al. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS*, 2005, *19* : 1081-1089.
12. BARBOUR JD, HECHT FM, WRIN T et al. Persistence of primary drug resistance among recently HIV-1 infected adults. *AIDS*, 2004, *18* : 1683-1689.
13. GHOSH J, PELLEGRIN I, GOJJARD C et al. HIV-1 resistant strains acquired at the time of primary infection massively fuel the cellular reservoir and persist for lengthy periods of time. *AIDS*, 2006, *20* : 159-170.
14. MASQUELIER B, BHASKARAN K, PILLAY D et al. Prevalence of transmitted HIV-1 drug resistance and the role of resistance algorithms : data from seroconverters in the CASCADE collaboration from 1987 to 2003. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, *40* : 505-511.
15. CHAIX ML, DESQUILBET L, COTTALORDA J et al. Suboptimal response to HAART in patients treated at time of primary HIV-1 infection and infected with HIV resistant strains. *Antivir Ther*, 2005, *10* : S127.
16. GALLANT JE, DEJESUS E, ARRIBAS JR et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med*, 2006, *354* : 251-260.
17. MOYLE GJ, DEJESUS E, CAHN P et al. Abacavir once or twice daily combined with once-daily lamivudine and efavirenz for the treatment of antiretroviral-naïve HIV-infected adults : results of the Ziagen Once Daily in Antiretroviral Combination Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, *38* : 417-425.
18. SAAG MS, CAHN P, RAFFI F et al. Efficacy and safety of emtricitabine vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients : a randomized trial. *JAMA*, 2004, *292* : 180-189.
19. GHOSH J, PELLEGRIN I, GOJJARD C et al. HIV-1 resistant strains acquired at the time of primary infection massively fuel the cellular reservoir and persist for lengthy periods of time. *AIDS*, 2006, *20* : 159-170.
20. CHENE G, STERNE JA, MAY M et al. Prognostic importance of initial response in HIV-1 infected patients starting potent antiretroviral therapy : analysis of prospective studies. *Lancet*, 2003, *362* : 679-686.
21. SAX PE, ISLAM R, WALENSKY RP et al. Should resistance testing be performed for treatment-naïve HIV-infected patients ? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis*, 2005, *41* : 1316-1323.
22. BEZEMER D, DE RONDE A, PRINS M et al. Evolution of transmitted HIV-1 with drug-resistance mutations in the absence of therapy : effects on CD4+ T-cell count and HIV-1 RNA load. *Antivir Ther*, 2006, *11* : 173-178.

23. CAMPBELL TB, SCHNEIDER K, WRIN T et al. Relationship between in vitro human immunodeficiency virus type 1 replication rate and virus load in plasma. *J Virol*, 2003, 77 : 12105-12112.
24. SOLOMON A, LANE N, WIGHTMAN F et al. Enhanced replicative capacity and pathogenicity of HIV-1 isolated from individuals infected with drug-resistant virus and declining CD4+ T-cell counts. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, 40 : 140-148.
25. ARNEDO-VALERO M, GARCIA F, GIL C et al. Risk of selecting de novo drug-resistance mutations during structured treatment interruptions in patients with chronic HIV infection. *Clin Infect Dis*, 2005, 41 : 883-890.
26. YERLY S, FAGARD C, GUNTARD HF et al. Drug resistance mutations during structured treatment interruptions. *Antivir Ther*, 2003, 8 : 411-415.
27. MARCHOU B, TANGRE P, CHARREAU I et al. Structured treatment interruptions in HIV-infected patients with high CD4 cell counts and virologic suppression : results of a prospective, randomized, open-label trial (Window-ANRS 106). 13th CROI, 2006, Denver.
28. DEEKS SG, WRIN T, LIEGLER T et al. Virologic and immunologic consequences of discontinuing combination antiretroviral-drug therapy in HIV-infected patients with detectable viremia. *N Engl J Med*, 2001, 344 : 472-480.
29. HAUBRICH RH, KEMPER CA, HELLMANN NS et al. The clinical relevance of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor hypersusceptibility : a prospective cohort analysis. *AIDS*, 2002, 16 : F33-F40.
30. LEIGH BROWN AJ, FROST SD, GOOD B et al. Genetic basis of hypersusceptibility to protease inhibitors and low replicative capacity of human immunodeficiency virus type 1 strains in primary infection. *J Virol*, 2004, 78 : 2242-2246.