



## Génotypage de résistance du VIH

**Marie-Laure CHAIX**






Laboratoire de Virologie, CHU Saint Louis, Université Paris Diderot, INSERM U941, CNR VIH, Paris

**Lahcen WAKRIM**

Laboratoire de Virologie, Institut Pasteur du Maroc, [Lahcen.wakrim@pasteur.ma](mailto:Lahcen.wakrim@pasteur.ma)

# Tests génotypiques de résistance

Les tests génotypiques permettent d'identifier les mutations présentes dans les gènes :

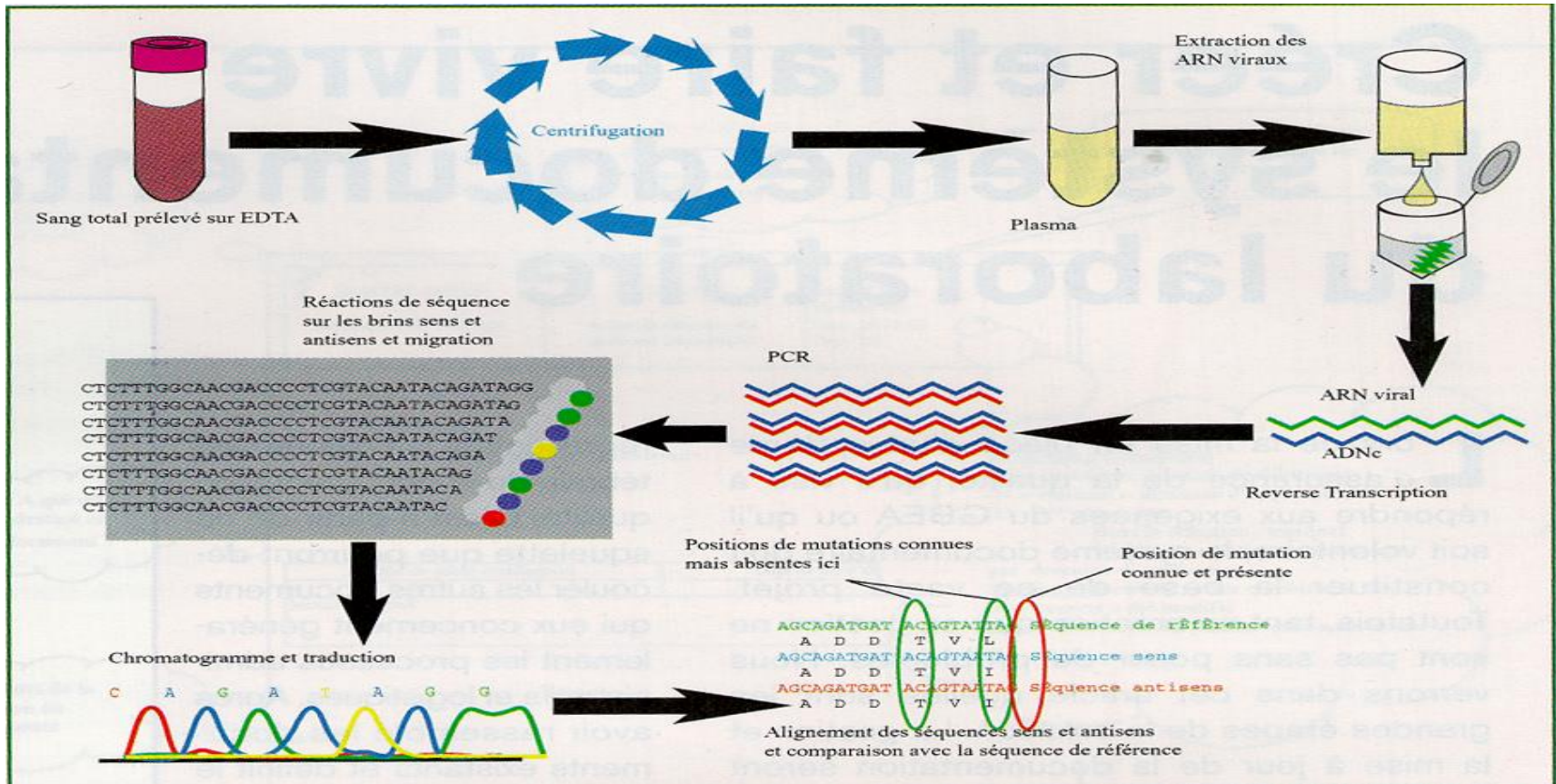
- de la transcriptase inverse (TI)  INTI, INNTI
  - de la protéase  IP
  - de l'intégrase  INI
  - de la boucle V3 (tropisme)  Maraviroc
  - de la gp41  Fuzéon
- 
- Un contrôle de qualité des tests génotypiques, organisé par le groupe Résistance AC11 de l'ANRS, est réalisé chaque année depuis 2001

# Indications

Situations cliniques	Recommandations (niveau de preuve)
Lors de la découverte de l'infection, ou avant l'initiation du traitement si non fait antérieurement	Recommandé (All)*  Sans attendre les résultats pour débuter le traitement en cas de primo-infection*
Échecs thérapeutiques (2 CV > 50cop/ml)	Recommandé (All)*
Prophylaxie post-exposition	Recommandé chez le sujet source (si charge virale détectable) sans attendre les résultats pour débuter le traitement du sujet exposé dont le choix devra également tenir compte des résultats des génotypages antérieurs disponibles (BIII)*
Enfants	Mêmes indications que chez l'adulte (All)*
Grossesse	Recommandé (All)*
Symptômes neurologiques avec ARN VIH dans le LCR	Recommandé dans le sang et le LCR (BIII)*

\*Seront analysés les gènes de la transcriptase inverse, de la protéase et de l'intégrase.

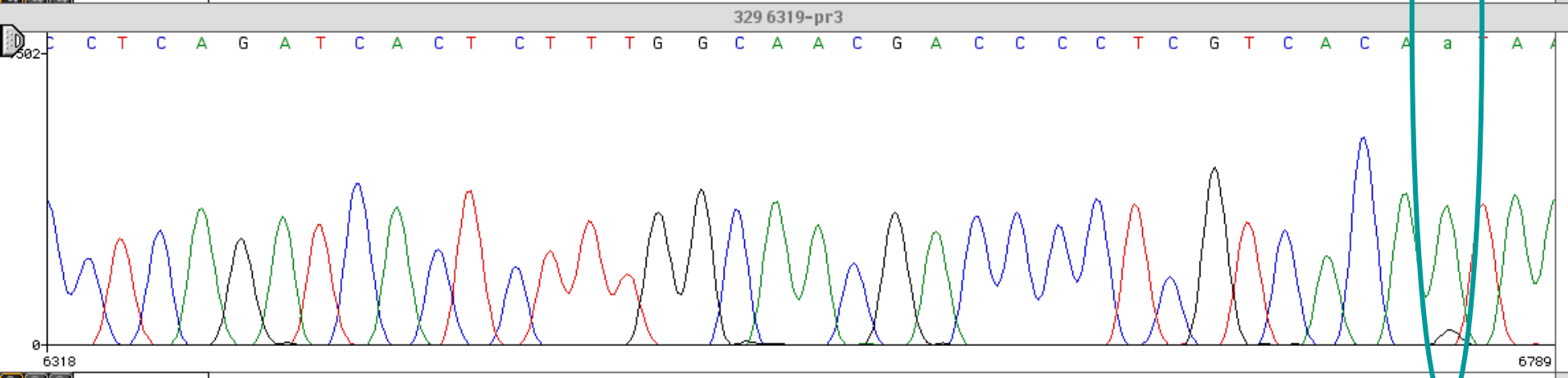
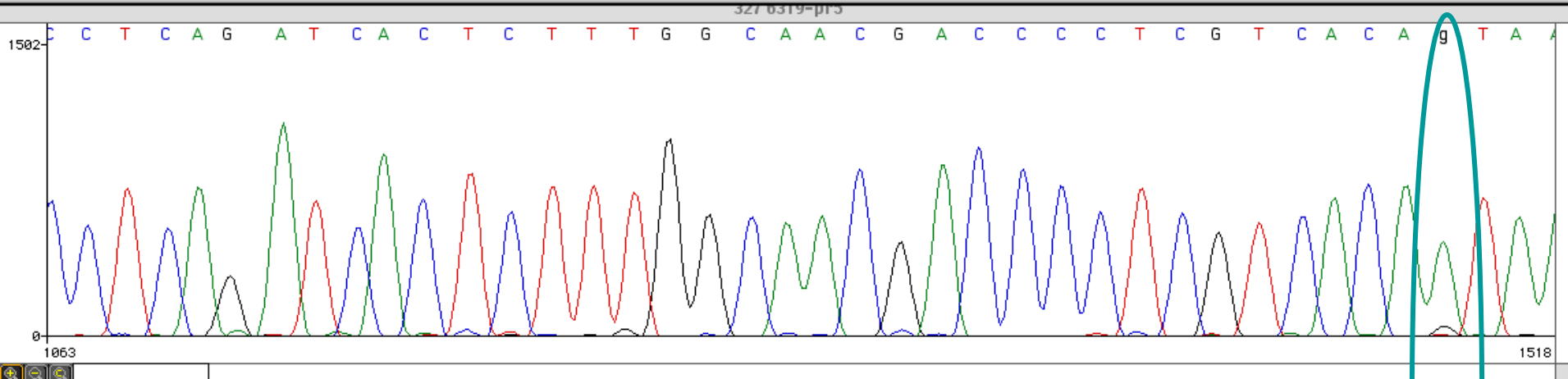
# Tests génotypiques



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.

ABRA-O VI I070 6319 PROTEASE

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
1 HIV Protéas	cctcagatca	ctctttggca	acgacccttc	gtcacaataa	agataggggg	gaaactaaag	gaagctctat	tagatacagg	agcagatgat	acagttattag	aagaaatgag
327 1_6319-pr5	CCTCAGATCA	CTCTTTGGCA	ACGACCCTTC	GTCACAATAA	AGATAGGGGG	GCAACTAAAG	GAGGCTTTAT	TAGATACAGG	AGCAGATGAT	ACAGTATTAG	AAGACATGAA
329 1_6319-pr3	CCTCAGATCA	CTCTTTGGCA	ACGACCCTTC	GTCACAATAA	AGATAGGGGG	GCAACTAAAG	GAGGCTTTAT	TAGATACAGG	AGCAGATGAT	ACAGTATTAG	AAGACATGAA
330	P Q I T L W Q	R P L V T I	K I G G	Q L K E A L	L D T G	A D D T V L	E E M S				
331	P Q I T L W Q	R P L V T V	K I G G	Q L K E A L	L D T G	A D D T V L	E D M N				
333			*				*				*
332	P Q I T L W Q	R P L V T I	K I G G	Q L K E A L	L D T G	A D D T V L	E D M N				*
334							*				*
	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220
1 HIV Protéas	tttgccagga	agatggaaac	caaaaatgat	agggggaatt	ggaggtttta	tcaaagtaag	acagtatgat	cagatactca	tagaaatctg	tggacataaa	gctataggtg
327 1_6319-pr5	TTTGCCAGGA	AGATGGAAAC	CAAAAATGAT	AGGGGGAATT	GGAGGTTTTA	TCAAAGTAAG	ACAGTATGAT	CAAATACCCA	TAGAAATCTG	TGGACATAAA	GCTATAGGTA
329 1_6319-pr3	TTTGCCAGGA	AGATGGAAAC	CAAAAATGAT	AGGGGGAATT	GGAGGTTTTA	TCAAAGTAAG	ACAGTATGAT	CAAATACCCA	TAGAAATCTG	TGGACATAAA	GCTATAGGTA
330	L P G R W K	P K M I G G	I G G F	I K V R	Q Y D	Q I L	I E I C	G H K	A I G		
331	L P G R W K	P K M I G G	I G G F	I K V R	Q Y D	Q I P	I E I C	G H K	A I G		
333						*					
332	L P G R W K	P K M I G G	I G G F	I K V R	Q Y D	Q I P	I E I C	G H K	A I G		
334						*					



# Mutations de résistance

## Les mutations primaires ou majeures

- Elles sont sélectionnées en cas d'échec
- Elles ont un effet important sur la diminution de sensibilité du virus à l'antirétroviral concerné

## • Les mutations de polymorphisme

- Elles sont présentes de façon constitutionnel dans le génome du virus
- Avant la pression du traitement ARV
- Peuvent seules être associées à la résistance (ex : INNTI ou INI) ou être associées à d'autres mutations impliquées dans la résistance (ex: IP)

# Algorithm ANRS 2017 (IPs)

September 2017- Version n°27

## ANRS - AC 11: RESISTANCE GROUP GENOTYPE INTERPRETATION: PROTEASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
IDV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• M46I/L</li> <li>• V82A/F/M/S/T [11]</li> <li>• I84A/V [8]</li> <li>• L90M and at least 2 among: K20M/R, L24I, V32I, M36I, I54V/L/M/T, A71V/T, G73S/A, V77I</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L90M</li> </ul>
SQV/RTV 1000/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>• G48V</li> <li>• At least 3 mutations among: L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [9]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 mutations among: L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [9]</li> </ul>
NFV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• D30N</li> <li>• I84A/V [8]</li> <li>• N88S/D</li> <li>• L90M</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• V82A/F/S/T and at least 2 among: L10I, M36I, M46I/L, I54V/L/M/T, A71V/T, V77I [1]</li> </ul>
LPV/r	<ul style="list-style-type: none"> <li>• At least 4 mutations among: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [3, 4, 5, 21]</li> <li>• I47A [15, 16]</li> <li>• L76V [18, 19]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 mutations among: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [3, 4, 5, 21]</li> </ul>
FPV/RTV 700/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I50V</li> <li>• V32I and I47A/V [2, 13, 14]</li> <li>• At least 4 mutations among: L10F/I/V, L33F, M36I, I54A/L/M/S/T/V, I62V, V82A/C/F/G, I84V, L90M [2, 20]</li> </ul>	
ATV/RTV 300/100 mg QD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I50L [6]</li> <li>• N88S [28,29,30]</li> <li>• At least 3 mutations among: L10F/I/V, G16E, L33F/I/V, M46I/L, D60E, A71V/T, I84V, I85V, L90M [7, 12, 22, 31]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 mutations among: L10F/I/V, G16E, L33F/I/V, M46I/L, D60E, A71V/T, I84V, I85V, L90M [7, 12, 22, 31]</li> </ul>
TPV/RTV 500/200 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>• At least a score of + 3*: 36I/L/V – 53L/W/Y + 58E + 69I/K/N/Q/R/Y + 89I/M/R/T/V [10, 23]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A score of + 2*: 36I/L/V – 53L/W/Y + 58E + 69I/K/N/Q/R/Y + 89I/M/R/T/V [10, 23]</li> </ul>

GENOTYPAGE de RESISTANCE du VIH-1

ID num. patient	Date naissance	Date échantillon	26.08.2017
	Nature prélèv.	Prescripteur	
	No dossier	Protocole	
	Sous-type	Soe. demandeur	AUTRE SERVICE

Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Epivir® / Emtriva® Lamivudine / Emtricitabine (3TC_FTC)		1	Green	S - Susceptible
Ziagen® Abacavir (ABC)		1	Green	S - Susceptible
Zerit® Stavudine (D4T)		1	Green	S - Susceptible
Videx® Didanosine (DDI)		1	Green	S - Susceptible
Viread® Tenofovir Alafenamide (TDF_TAF)		1	Green	S - Susceptible
Retrovir® Zidovudine (ZDV)		1	Green	S - Susceptible

Non-Nucleoside Reverse transcriptase Inhibitors (NNRTI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Sustiva®/Stocrin® Efavirenz (EFV)		1	Green	S - Susceptible
Intence® Etravirine TMC125 (ETR)		1	Green	S - Susceptible
Viramune® Nevirapine (NVP) *		1	Green	S - Susceptible
Rilpivirine (RPV)		1	Green	S - Susceptible

Protease Inhibitors (PI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Reyataz® / Norvir® 300/100 Atazanavir / Ritonavir (ATV_RTV)		1	Green	S - Susceptible
Prezista® / Norvir® 800/100 BID Darunavir TMC114 / Ritonavir (DRV_RTV_BID)		1	Green	S - Susceptible
Prezista® / Norvir® 800/100 QD Darunavir TMC114 / Ritonavir (DRV_RTV_QD)		1	Green	S - Susceptible
Crixivan® Indinavir (IDV)		1	Green	S - Susceptible
A component of Kaletra® Lopinavir (LPVr)	63P	1	Green	S - Susceptible
Viracept® Nelfinavir (NFV)		1	Green	S - Susceptible
Invirase® / Norvir® 1000/100 Saquinavir / Ritonavir (SQV_RTV)		1	Green	S - Susceptible
Aptivus® / Norvir® 500/200 Tipranavir / Ritonavir (TPV_RTV) **		1	Green	S - Susceptible
Telzir® / Norvir® 700/100 Fosamprenavir / Ritonavir (fosAPV_RTV)		1	Green	S - Susceptible

Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Cabotegravir (CBG)		1	Green	S - Susceptible
Dolutegravir BID (DTG_BID)		1	Green	S - Susceptible
Dolutegravir QD (DTG_QD)		1	Green	S - Susceptible
Elvitegravir (EVG)		1	Green	S - Susceptible
Isentress® Raltegravir (RAL)		1	Green	S - Susceptible

(\*) In presence of mutation 98S in RT for HIV-1 subtype C, Nevirapine (NVP) interpretation should be considered as resistant  
(\*\*) Insufficient data for HIV-1 subtype non-B

GENOTYPAGE de RESISTANCE du VIH-1

ID num. patient	Date naissance	Date échantillon	01.09.2017
	Nature prélèv.	Prescripteur	
	No dossier	Protocole	
	Sous-type	Soe. demandeur	MALADIES INFECTIEUSES

Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Epivir® / Emtriva® Lamivudine / Emtricitabine (3TC_FTC)	184V	3	Red	R - Resistance
Ziagen® Abacavir (ABC)	184V, 215F	2	Yellow	I - Possible resistance
Zerit® Stavudine (D4T)	215F	3	Red	R - Resistance
Videx® Didanosine (DDI)	184V, 215F	1	Green	S - Susceptible
Viread® Tenofovir Alafenamide (TDF_TAF)	215F	1	Green	S - Susceptible
Retrovir® Zidovudine (ZDV)	215F	3	Red	R - Resistance

Non-Nucleoside Reverse transcriptase Inhibitors (NNRTI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Sustiva®/Stocrin® Efavirenz (EFV)	103N, 230L	3	Red	R - Resistance
Intence® Etravirine TMC125 (ETR)	106I, 138A, 230L	2	Yellow	I - Possible resistance
Viramune® Nevirapine (NVP) *	103N, 230L	3	Red	R - Resistance
Rilpivirine (RPV)	103N, 138A, 230L	3	Red	R - Resistance

Protease Inhibitors (PI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Reyataz® / Norvir® 300/100 Atazanavir / Ritonavir (ATV_RTV)		1	Green	S - Susceptible
Prezista® / Norvir® 800/100 BID Darunavir TMC114 / Ritonavir (DRV_RTV_BID)		1	Green	S - Susceptible
Prezista® / Norvir® 800/100 QD Darunavir TMC114 / Ritonavir (DRV_RTV_QD)		1	Green	S - Susceptible
Crixivan® Indinavir (IDV)	38I	1	Green	S - Susceptible
A component of Kaletra® Lopinavir (LPV)	63P	1	Green	S - Susceptible
Viracept® Nelfinavir (NFV)	38I	1	Green	S - Susceptible
Invirase® / Norvir® 1000/100 Saquinavir / Ritonavir (SQV_RTV)	15V, 62V	2	Yellow	I - Possible resistance
Aptivus® / Norvir® 500/200 Tipranavir / Ritonavir (TPV_RTV) **	38I, 69Q	2	Yellow	I - Possible resistance
Telzir® / Norvir® 700/100 Fosamprenavir / Ritonavir (fosAPV_RTV)	38I, 62V	1	Green	S - Susceptible

Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTI)

Drug	Mutations list	Range	Color	Interpretation
Cabotegravir (CBG)		1	Green	S - Susceptible
Dolutegravir BID (DTG_BID)	155H	1	Green	S - Susceptible
Dolutegravir QD (DTG_QD)	155H	3	Red	R - Resistance
Elvitegravir (EVG)	66A, 155H	3	Red	R - Resistance
Isentress® Raltegravir (RAL)	155H	3	Red	R - Resistance

(\*) In presence of mutation 98S in RT for HIV-1 subtype C, Nevirapine (NVP) interpretation should be considered as resistant  
(\*\*) Insufficient data for HIV-1 subtype non-B

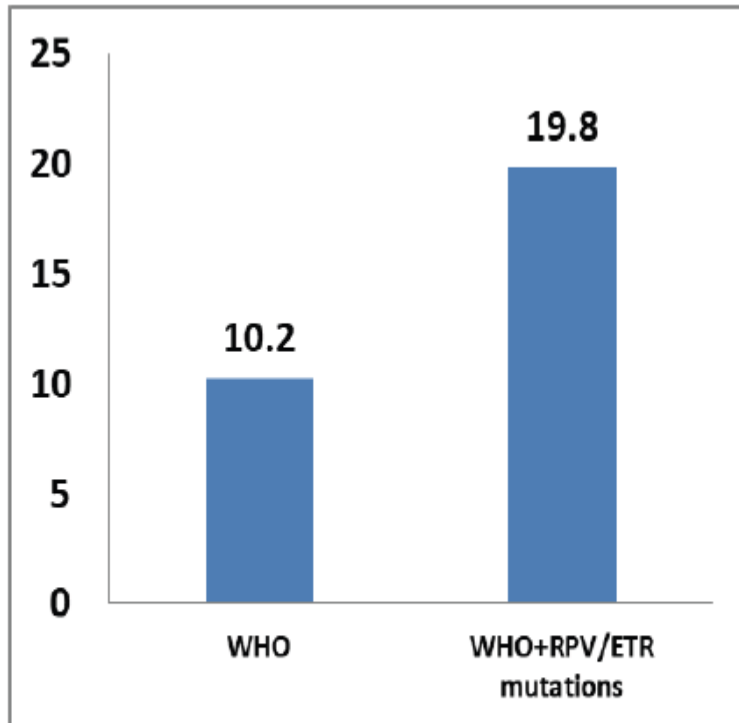
Signature: Dr C. Delaugerre Dr N. Mahjoub Dr M.-L. Chahr  
Dr H. Delagrèverie



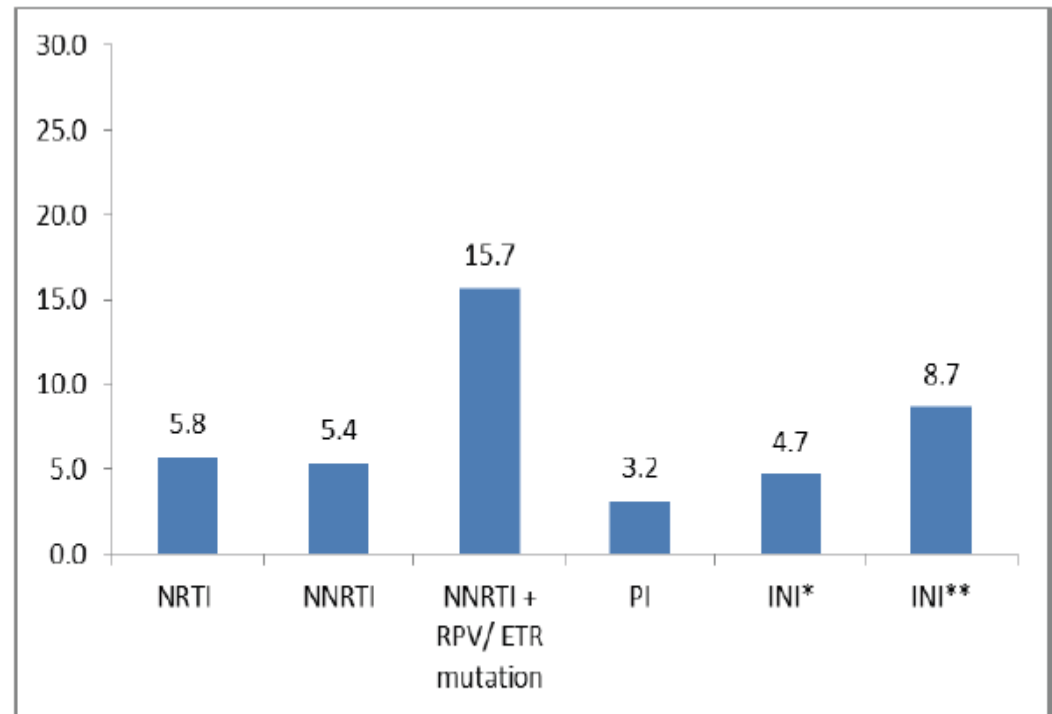


# Surveillance de la résistance chez le patient naïf N= 674 patients (2015/2016)

- Inclusion si au moins 1 séquence RT et protéase



Resistance for at least one ARV



• : INI with IAS list

\*\* : INI with IAS list + E157Q

**R aux INI : G140S (n=1), G148K/R (n=2)**

# Etude ANRS MULTIVIR : prévalence de la résistance aux ARV en 2014 chez les patients traités (1)

- Etude nationale, multicentrique, transversale
- Réalisation d'un test génotypique chez 782 patients traités avec une CV > 50 c/ml
  - Séquençage TI et protéase obtenu pour 566 patients
  - Séquençage intégrase pour 382 des 566 patients

## Efficacité de l'amplification en fonction de la charge virale

Charge virale (c/ml)	Amplification (%)
51 - 100	60 %
101 - 150	58 %
151 - 200	74 %
201 - 300	79 %
301 - 500	78 %
501 - 1 000	80 %
> 1 000	88 %

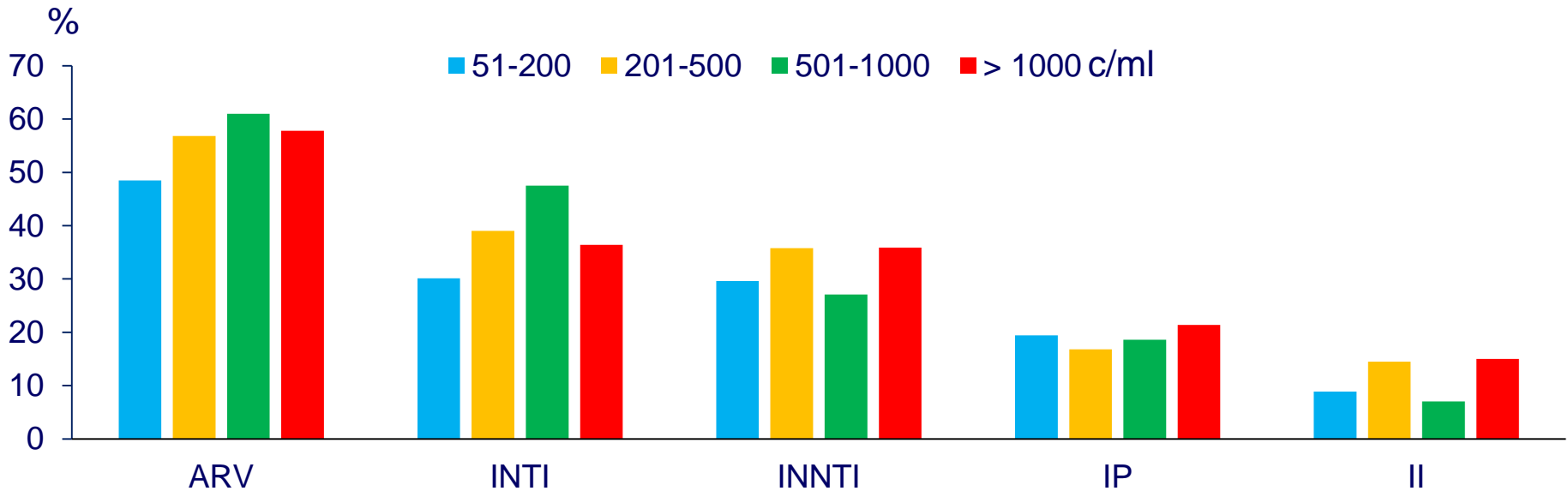
## Prévalence de la résistance ou résistance possible

Au moins 1 ARV	56,3 %
Au moins 1 INTI	36,0 %
Au moins 1 INNTI	32,1 %
Au moins 1 IP	20,2 %
Au moins 1 II	12,0 %

(Algorithme ANRS 2014, version 24)

# Etude ANRS MULTIVIR : prévalence de la résistance aux ARV en 2014 chez les patients traités (2)

## Résistance à au moins un ARV selon la charge virale (c/ml)



- Environ la moitié des patients avec une CV < 200 c/ml ont un virus porteur d'au moins 1 mutation de résistance**

# Antiretroviraux utilisés au MAROC

## Inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse

ZIDOVUDINE (AZT)

DIDANOSINE (DDI)

LAMIVUDINE (3TC)

ABACAVIR (ABC)

TENOFOVIR (TDF)

## Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse

NIVIRAPINE (NVP)

EFAVIRENZ (EFV)

ETRAVIRINE (ETR)

## Inhibiteurs de l'intégrase

RALTEGRAVIR (RAL)



## Inhibiteurs de protéase

RITONAVIR (RTV)

LOPINAVIR (LPV)

DARUNAVIR (DRV)

ATAZANAVIR (ATV)

# Régimes thérapeutiques utilisés

## Première Ligne

**2 INTI + 1 INNTI.**

**soit AZT + 3TC + EFV ou NVP**

**soit TDF + FTC + EFV ou NVP**

**soit TDF + (3TC ou FTC) + EFV**

**soit TDF + (3TC ou FTC) +NVP**

## Deuxième Ligne

**INRT**

**IP**

**TDF + (3TC ou FTC)**

**ATZ/r ou LPV/r**

**AZT + 3TC**

**ATZ/r ou LPV/r**

## Troisième Ligne

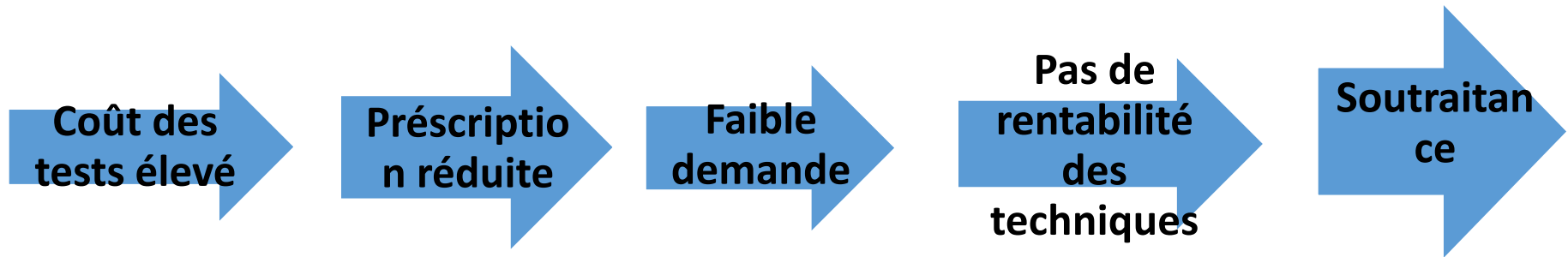
**En fonction du résultat du génotypage de résistance**

# Indications des tests génotypiques de résistance

Situation clinique	Recommandations
Lors de la découverte de l'infection, ou avant l'initiation du traitement si non fait antérieurement	Recommandé sans attendre les résultats pour débuter le traitement si primo-infection
Échecs thérapeutiques (CV >50 copies/ml) <b>Échecs thérapeutiques à la deuxième ligne</b>	Recommandé <b>Recommandé</b>
Prophylaxie post-exposition	Recommandé chez le sujet source (si CV détectable) sans attendre les résultats pour débuter le traitement du sujet exposé qui devra également tenir compte des génotypes antérieurs disponibles
Enfants	Mêmes indications que chez l'adulte
Grossesse	Recommandé
Encéphalite VIH avec détection d'ARN VIH dans le LCR	Recommandé dans le sang et le LCR



## Méthode des Tests Génotypiques



Actuellement, les tests génotypiques prescrits pour les malades au Maroc sont soustraits au Laboratoire de virologie sérologie du Centre hospitalier universitaire deDijon.

Techniques de séquençage par la méthodes du groupe Résistance AC11 de l'ANRS (<http://www.hivfrenchresistance.org>).





## Prévalence des MDR chez les sujets traités

Dans une population de 124 sujets sous traitement :

La prévalence des MDR aux (NRTI) était de 48% avec Prédominance de M184V

La prévalence des MDR aux (NNRTI) était de 13% avec Prédominance de K103N

La prévalence des MDR aux (IP) était de 22% avec des mutations  
SDRM (score =30) :

**V82A** (16% )

**M46I** (11% )

**Mutations probablement présentes avant le traitement.**

=====>> Emergence des MDR chez des patients marocains en échec  
virologique.



## Prévalence des MDR chez les sujets naïfs

**Dans une population de 78 sujets naïfs:**

**des mutations de résistance aux (NRTI) avec une prévalence de 2,6%**

T215E chez un patient chacune (1,3%). (Mutation revertante qui peut réémerger)

M41L (TAM) chez un patient (1,3%)

**Une mutations de résistance aux NNRTI trouvée chez un patient**

K103N (1,56%)

**Dans une population de 162 sujets naïfs:**

**des mutations de résistance aux IP ont été identifiées à une prévalence de 2,47%.**

I54V a été détecté chez un patient

D30N chez un patient

N88D chez deux patient.

# Recommandation des tests génotypiques de résistance

Situation clinique	Recommandations
<b>Lors de la découverte de l'infection, ou avant l'initiation du traitement si non fait antérieurement</b>	<b>Recommandé sans attendre les résultats pour débuter le traitement si primo-infection</b>
Échecs thérapeutiques (CV >50 copies/ml) <b>Échecs thérapeutiques à la deuxième ligne</b>	Recommandé <b>Recommandé</b>
Prophylaxie post-exposition	Recommandé chez le sujet source (si CV détectable) sans attendre les résultats pour débuter le traitement du sujet exposé qui devra également tenir compte des génotypes antérieurs disponibles
Enfants	Mêmes indications que chez l'adulte

## Partenaires du travail



Institut Pasteur  
du Maroc



Service des Maladies  
Infectieuses du CHU Ibn  
Rochd de Casablanca



Association de  
lutte contre le  
SIDA