

Mécanismes de résistance aux agents antiviraux Principes de la détermination de la résistance des virus

Auteurs : C Pasquier, P Colson, V Foulongne, C Finance

Introduction

- Les antiviraux agissent soit sur des cibles précises (récepteurs cellulaires, enzymes virales) soit sur des cibles multiples (protéines cellulaires induites par l'interféron, mécanismes d'action complexe de la ribavirine).
- Les cibles des antiviraux peuvent être virales ou plus rarement cellulaires. Dans les deux cas, c'est le plus souvent la variabilité génétique des virus qui va conduire à la résistance. **Les virus mutants présentant une diminution de sensibilité (=résistance) sont sélectionnés en présence de l'antiviral.** Les traitements au long cours favorisent l'émergence de virus résistants.
- Les antiviraux sont tous **virostatiques** et n'agissent donc qu'en bloquant la réplication virale. Ils sont inactifs sur les virus latents (ne se répliquant pas par définition) et ne sont pas virucides.
- **Dans la résistance il y a 3 éléments qui interviennent :** le virus, l'antiviral, le patient :
 - Le virus** lors de sa réplication génère une variabilité génétique plus ou moins importante. Il peut être naturellement résistant ou acquérir des résistances secondairement. En fonction des cibles virales, la résistance apparaît après un nombre plus ou moins élevé de mutations. Un virus a une **barrière génétique** faible à un antiviral, lorsqu'une mutation suffit à conférer la résistance. A l'opposé lorsqu'un virus doit accumuler plusieurs mutations, la barrière génétique est dite élevée. Un virus sauvage (sans mutation) a une capacité répliquative maximale en absence d'antiviral. En présence de l'antiviral, la réplication virale est inhibée, idéalement bloquée, conduisant à une **capacité répliquative** (*Fitness*) faible voire nulle. Par contre un virus résistant va poursuivre sa réplication en présence de concentration efficace de l'antiviral. En présence d'antiviral le virus résistant à une capacité répliquative supérieure au virus sauvage. En absence de l'antiviral, c'est l'inverse, le virus sauvage à une capacité répliquative supérieure à celle du virus résistant. Pour de nombreux virus, il faut également prendre en compte la population virale présente chez l'individu infecté (ou **quasi-espèce**). L'efficacité de l'antiviral peut dépendre de la prévalence et de l'incidence des mutations associées à la résistance dans la quasi-espèce.
 - L'antiviral** a une puissance plus ou moins importante sur l'inhibition de la réplication virale, ses concentrations et sa métabolisation peuvent également varier.
 - Le patient** a une influence directe sur les concentrations de l'antiviral (observance du traitement, métabolisme) et sur le niveau de réplication du virus (facteurs génétiques, immunologiques et comportementaux)
- Les thérapeutiques antivirales faisant intervenir l'immunité adaptative (anticorps monoclonaux, sérothérapie, vaccinothérapie, ...) sont exclues du champ de la question.
- Cliniquement, la résistance virale est caractérisée par l'absence d'efficacité clinique d'un traitement antiviral et virologiquement elle est mise en évidence d'une réplication virale (charge virale) persistante sous traitement.

Mécanismes de résistance

• Modification de la cible

La majorité des antiviraux ciblent **des enzymes virales** (polymérase, protéase, intégrase, protéine de fusion, canal ionique ...). L'antiviral mime par sa structure le substrat reconnu par l'enzyme virale et conduit à un arrêt ou un dysfonctionnement de cette dernière. La modification de l'enzyme est liée à une mutation sur le gène la codant et peut avoir différentes conséquences :

- défaut de reconnaissance des antiviraux triphosphates par le site catalytique des polymérases (analogues nucléosidiques et nucléotidiques)
- possibilité d'excision du nucléotide antiviral incorporé dans l'ADN conduisant à une reprise de l'élongation (pour certains analogues nucléos(t)idiques de transcriptase inverse du HIV-1)
- défaut de reconnaissance des analogues du pyrophosphate ou des inhibiteurs spécifiques des polymérases
- défaut de reconnaissance des antiprotéases par le site catalytique des protéases du HIV-1, HCV
- défaut de reconnaissance des anti-intégrases par le site catalytique de l'intégrase du HIV-1
- défaut de fixation de l'enfuvirtide sur la gp41 conduisant à une fusion normale du virion HIV-1
- défaut de fixation sur le site catalytique de la neuraminidase des influenza virus
- blocage du canal M2 conduisant à un défaut d'acidification et de décapsulation de l'Influenzavirus A

Lorsque la **cible est cellulaire** le virus résistant s'adapte ou trouve une autre solution. Pour l'antagoniste de CCR5 (maraviroc), le HIV-1 résistant arrive, en modifiant la gp120, à reconnaître CCR5 malgré la fixation de l'antagoniste ou alors à déplacer l'antagoniste (augmentation de l'affinité de la gp120 pour CCR5). Les populations VIH peuvent également évoluer avec sélection de virus utilisant le corécepteur CXCR4.

• Métabolisation des prodrogues d'antiviraux

Les analogues nucléosidiques et nucléotidiques doivent être triphosphorylés pour être reconnus par le site catalytiques des polymérases. Si les antiviraux sont initialement phosphorylés par des kinases virales (thymidine kinase virale pour l'acyclovir et le ganciclovir), cette dernière peut avoir une baisse d'activité importante (phénotype TK⁻) ou une altération de sa spécificité (phénotype TK^{alt}) conduisant à une absence de phosphorylation de l'antiviral et à son inactivité. Pour les inhibiteurs nucléosidiques phosphorylés uniquement par les kinases cellulaires, le niveau de phosphorylation cellulaire peut être variable (génétique, compétition).

• Mécanismes multifactoriels

L'interféron antiviral (essentiellement l'interféron alpha) est un antiviral naturellement produit par l'organisme humain en cas d'infection virale. Il induit l'expression de plus de 200 gènes humains conduisant à une inhibition de la réplication virale par de nombreux mécanismes. Les cellules exposées à l'interféron sont réfractaires à l'infection essentiellement par réduction de la durée de vie des ARNm viraux et de leur traduction. Les résistances naturelles et acquises à l'interféron thérapeutique existent mais les déterminants sont très mal connus. La ribavirine a des mécanismes d'action qui ne se limitent pas à celui d'inhibiteur des ARN polymérases ARN dépendantes virales (déplétion du pool de dNTP, effet mutagène létal, effet immunologique..) ce qui rend difficile la caractérisation de la résistance des virus.

Détermination de la résistance

• La clinique

L'**inefficacité d'un traitement antiviral** qu'elle soit initiale ou secondaire (efficacité transitoire) doit faire évoquer une sélection de virus résistants (résistance acquise). Lorsque cela est possible, elle conduit à la réalisation d'un contrôle biologique permettant de confirmer une réplication virale sous traitement antiviral : quantification des génomes viraux (ou charge virale) HIV-1, HCV, HBV, CMV ... dans le sang. Il faut également s'interroger sur les **effets indésirables** liés à la prise d'antiviraux par le patient et à l'**adhérence** de ce dernier au traitement. Les **interactions médicamenteuses** (ou alimentaires) peuvent rendre les concentrations d'antiviraux insuffisantes et inefficaces. L'adhérence, les effets indésirables par surdosages et les interactions médicamenteuses peuvent être objectivés par des dosages plasmatiques des antiviraux (surtout pour les anti-HIV). **La résistance est le plus souvent la conséquence d'un défaut d'adhérence au traitement.**

• La biologie

Le suivi biologique des traitements permet de valider l'efficacité des traitements antiviraux avec la mise en évidence d'une baisse de la réplication virale confirmée par la mesure des charges virales dans le sang périphérique. Pour chaque infection virale des objectifs en termes de charges virales par rapport à la date d'initiation du traitement sont définis. De manière générale, **la réplication virale doit être inhibée de manière complète** (virus non détectable par PCR) **et le plus rapidement possible**. Ceci permet de bloquer la genèse des virus mutants et donc de prévenir l'émergence de virus résistants. Pour cela, les antiviraux proposés doivent être les plus puissants possibles et sont utilisés systématiquement en combinaisons (multithérapies avec cibles différentes) pour le VIH et le VHC.

• La mise en évidence de la résistance

- approche phénotypique

Contrairement à la bactériologie, la **détermination phénotypique** de la résistance est peu utilisée voire non validée pour la prise en charge clinique dans le cas du VIH. Elle n'est pas toujours possible (virus de culture difficile) et son interprétation peut s'avérer complexe (reproductibilité, corrélation avec la clinique). Elle consiste à déterminer des **concentrations inhibitrices 50 %** ou 90 % (CI50 ou CI90) en cultivant des virus en présence de différentes concentrations d'antiviraux. Pour HIV, elle nécessite de produire des virus recombinants exprimant les protéines des VIH infectant le patient. Ce sont essentiellement les centres nationaux de références (CNR) qui réalisent ce type de technique pour des études nationales.

- approche génotypique

Elle est réalisée en routine par les laboratoires des CHU pour certains virus : HIV, HBV, HCV, CMV, HSV. Elle consiste à amplifier puis séquencer les gènes codant les protéines cibles des antiviraux à tester. La comparaison de la séquence en acides aminés obtenue avec celle d'une souche sensible (« sauvage »), permet d'identifier les mutations connues comme associées à la résistance. Des algorithmes, mis à jour périodiquement en fonction de l'évolution des connaissances, permettent d'interpréter les profils de mutations pour chaque antiviral en termes de sensibilité ou de résistance. Le séquençage classique à une sensibilité de 20 %, c'est-à-dire qu'il ne détecte une mutation que lorsqu'au moins 20% de la population virale la possède. Les techniques de séquençage de nouvelle génération sont beaucoup plus sensibles mais leur pertinence clinique doit être précisée.

• La prise en compte de la résistance

Elle consiste à choisir l'antiviral ou les antiviraux les plus efficaces aux posologies usuelles sur les populations virales détectées, les mieux tolérés et faciles à prendre, assurant une adhérence optimale sur le long terme. Un virus résistant aux concentrations circulantes usuelles d'antiviral peut être sensible à des concentrations supérieures mais au risque de plus d'effets indésirables. En pratique, en cas de résistance confirmée l'adaptation thérapeutique est souvent discutée en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP associant cliniciens, virologistes, pharmacologistes).