

Comité Scientifique et d'organisation

Brigitte Autran (Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris)
Françoise Brun-Vézinet (Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris)
Geneviève Chêne (Université Victor Segalen Bordeaux II)
Jean-Michel Molina (Hôpital Saint-Louis, Paris)
Michaela Müller-Trutwin (Institut Pasteur, Paris)
Jacques Reynes (Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier)
Olivier Schwartz (Institut Pasteur, Paris)

ANRS

Geneviève Bétouret
Sandrine Couffin
Elizabeth Fischer
Livia Pedroza
Marie-Christine Simon

Sommaire

Programme	7
Résumés des présentations orales	12
1. INFECTION VIH : QUELS OBJECTIFS POUR LA RECHERCHE CLINIQUE DE DEMAIN ? (C.Katlama).....	13
2. LA RECHERCHE FONDAMENTALE SUR LE VIH ET LE SIDA: OU ALLONS NOUS ? (O. Schwartz).....	14
3. QUAND COMMENCER LES TRAITEMENTS ANTIRETROVIRAUX? (G. Chêne).....	15
4. L'INTERLEUKINE-2 PEUT-ELLE PREVENIR LE DEFICIT IMMUNITAIRE ET RETARDER L'INITIATION DU TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL CHEZ LES PATIENTS INFECTES PAR LE VIH ? RESULTATS DE L'ESSAI ANRS 119 INTERSTART (J- M. Molina),	16
5. CONSEQUENCES DU BLOCAGE DE CCR5 DANS LE TRAITEMENT ANTI-VIH (P. Corbeau).....	17
6. HIV LATENCY AND RESERVOIRS (R. Veazey).....	18
7. L'ETUDE DES RESERVOIRS VIH : UNE AIDE A LA REFLEXION SUR LES TRAITEMENTS DE L'INFECTION A VIH ? (C. Rouzioux).....	19
8. MODELES ANIMAUX ET RESERVOIRS : DYNAMIQUE ET DISTRIBUTION TISSULAIRE DES FORMES NON INTEGREES A 2-LTR CHEZ LES MACAQUES INFECTES PAR SIV (R. Le Grand).....	20
9. CONTROLE SPONTANE DU VIH DES LA PRIMO-INFECTION : PEUT-ON PREDIRE LE STATUT DE «HIV CONTROLLER»? (C. Goujard).....	21
10. ACTIVATION DE LA REPLICATION DU VIH LATENT PAR DES COMPOSES HYBRIDES BIPOLAIRES, ROLE DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION P-TEFB (X. Contreras),.....	22
11. ETUDE QUANTITATIVE DES RESERVOIRS VIH DANS LE TISSU LYMPHOÏDE RECTAL ET CARACTERISATION DES QUASIESPECES VIRALES (V. Avettand-Fenoel).....	23
12. EVOLUTION DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DES MUTATIONS DE RESISTANCE AUX TRAITEMENTS DU VIH-1 PARMIS DES PATIENTS NON TRAITES AU MALI ENTRE 2005 ET 2006 (A. Derache),.....	24
13. QUESTIONS CLES DE LA RECHERCHE DANS LES PAYS EN DEVELOPPEMENT EN 2008 (F. Dabis).....	25
14. THE NON-PATHOGENIC SIVAGM INFECTION IN AFRICAN GREEN MONKEYS: LESSONS ON PROTECTIVE HOST RESPONSES (M. Müller-Trutwin).	26
15. AVIDITE, POLYFONCTIONNALITE ET TURNOVER CLONAL A LA BASE DE L'EFFICACITE DE LA REPONSE T CD8+ DANS L'INFECTION VIH (V. Appay).....	27
16. REPONSE T CD8+ SPECIFIQUE, HLA CLASSE I ET CONTROLE DU VIH (A. Venet).....	28

17. A GENOME WIDE ASSOCIATION STUDY IN HIV-1 INFECTED PATIENTS SHOWS THAT DIFFERENT LOCI CONTROL SERUM VIRAL LOAD AND RESERVOIR (I. Theodorou)	29
18. L'OBSERVATOIRE NATIONAL ANRS DES « HIV CONTROLLERS » (HIC) : BILAN APRÈS DEUX ANNÉES DE RECRUTEMENT (O. Lambotte)	30
19. FORTES RÉPONSES PROLIFÉRATIVES T CD4 AU VIH CHEZ DES PATIENTS TRAITÉS ET CONTROLÉS VIROLOGIQUEMENT DEPUIS 10 ANS (ÉTUDE DECAMUNE) (A. Guihot)	31
20. ACTIVATED NK CELLS INDUCE THE MATURATION OF INFECTED DC BY AN HMGB1-DEPENDENT MECHANISM. IMPLICATION FOR THE ESTABLISHMENT OF HIV-1 RESERVOIRS (H Saidi)	32
21. A RAPID HIV-1 NEUTRALIZATION ASSAY FOR MEASURING THE ANTIVIRAL CAPACITY OF CD8 T CELLS (So Youn Shin)	33
22. VACCINS PRÉVENTIFS VIH/SIDA : VERS DE NOUVELLES APPROCHES VACCINALES ? (M. P Girard)	34
23. IMMUNISATION THÉRAPEUTIQUE ANTI-VIH : BILAN (B. Autran)	35
24. DENDRITIC CELLS CROSS PRESENT ANTIGENS AND ACTIVATE T CELLS (S. Amigorena).....	36
25. PLACE DES ANTICORPS DANS LES STRATÉGIES VACCINALES (C. Moog).....	37
26. PROGRAMME VACCINAL DE L'ANRS (Y. Lévy)	38
27. MHC-II PRESENTATION OF HIV ANTIGENS BY INFECTED APC : INVOLVEMENT OF AUTOPHAGY (A. Moris).	40
28. A LENTIVIRAL VECTOR PRIME-BOOST VACCINATION CONFERS STRONG PROTECTION AGAINST MASSIVE SIVMAC251 CHALLENGE IN MACAQUES (A-S Beignon)	41
29. UNE NOUVELLE STRATEGIE VACCINALE ANTI-HIV1 : DE LA THEORIE À LA PREUVE DE CONCEPT CHEZ LE MACAQUE (V. Vieillard).....	42
PRESENTATIONS AFFICHEES.....	43
1. TENOTHIOVIR ET ADETHIOVIR: NOUVEAUX ANALOGUES PHOSPHONATES ACYCLIQUES ACTIFS CONTRE LE VIH ET LE VHB (K. Alvarez)	45
2. EVOLUTION VIRO-IMMUNOLOGIQUE APRES INITIATION D'UNE PREMIERE COMBINAISON DE TRAITEMENTS ANTIRETROVIRAUX CONTENANT DU LOPINAVIR-RITONAVIR CHEZ DES PATIENTS INFECTES PAR LE VIH-2. COHORTE ANRS CO5 VIH-2, 2002-2007 (A Bénard)	46
3. COMPARAISON DE L'ÉVOLUTION DES CD4 ET DE L'ARN VIH-1 CHEZ DES ASYMPTOMATIQUES À LONG TERME (ALT) ET DES « HIV CONTROLLERS » (HIC) À PARTIR DES ÉTUDES ANRS SEROCO ET DE L'OBSERVATOIRE NATIONAL DES « HIV CONTROLLERS » (F. Boufassa).....	47
4. ETUDE DES FACTEURS IMMUNOLOGIQUES ET VIROLOGIQUES ASSOCIÉS A UN DIAGNOSTIC DE CANCER CHEZ LES PATIENTS INFECTÉS PAR LE VIRUS DE L'IMMUNODÉFICIENCE HUMAINE (M Bruyand)	48
5. EVALUATIONS VIROLOGIQUE ET GÉNOTYPIQUE DES PATIENTS SOUS RALTÉGRAVIR, INFECTÉS PAR UN VIRUS VIH MULTI-RÉSISTANT (F. Caby).	49

6. EFFICACITÉ DU RALTÉGRAVIR ET DE L'ÉTRAVIRINE CHEZ DES PATIENTS AVEC UN VIRUS MULTIRÉSISTANT, EN ÉCHEC VIROLOGIQUE SOUS DARUNAVIR (A. Canestri)	50
7. CONTRÔLE DE LA RÉPLICATION DU VIH APRÈS INTERRUPTION THÉRAPEUTIQUE CHEZ DES PATIENTS TRAITÉS DÈS LA PRIMO-INFECTION : QUELS PATIENTS ? (C. Goujard).....	51
8. PROLONGED VALPROIC ACID TREATMENT DOES NOT REDUCE THE SIZE OF LATENT HIV RESERVOIR: THE ANRS EP39 STUDY (O. Lambotte).....	52
9. BITHERAPIES D'INHIBITEURS DE LA PROTEASE (IP) POUR LE TRAITEMENT INITIAL DE L'INFECTION A VIH-1: UNE ETUDE PILOTE RANDOMISEE (2IP ANRS 127) (R. Landman)	53
10. TOXICITE DE LA STAVUDINE SUR LES ADIPOCYTES EN CULTURE : BENEFICE POTENTIEL D'UNE DIMINUTION DE CONCENTRATION (C. Lefevre)	54
11. ASSOCIATION BETWEEN CARDIOLIPIN ACTIVITY, VIRAL REPLICATION AND NEUTRALIZING ANTIBODIES IN SLOW PROGRESSORS OF THE HIV INFECTION (V Martinez).	55
12. IMPACT DES ANTIRÉTROVIRAUX SUR LE MODÈLE MATHÉMATIQUE (M-J Mhaweji).....	56
13. LA MUTATION M184V PERMET AU VIH DE RÉSISTER À LA 3TC, MAIS PAS D'ÉCHAPPER À LA RÉPONSE IMMUNE DIRIGÉE CONTRE L'ÉPITOPE RT181-189 (Y. Pacheco).....	57
14. PREVALENCE DE LA FIBROSE HEPATIQUE F3/F4 AU SEIN DE LA COHORTE ANRS C013- HEPAVIH (I. Poizot-Martin).....	58
15. APPORT DES MODELES MATHÉMATIQUES EN RECHERCHE CLINIQUE ET FONDAMENTALE SUR LE VIH (R. Thiebaut).....	59
16. RÉPONSE VIROLOGIQUE À LA PREMIÈRE LIGNE DE TRAITEMENT : COMPARAISON ENTRE TRUVADA ET KIVEXA DANS UNE COHORTE OBSERVATIONNELLE (R Thomas).....	60
17. ETUDE EX-VIVO DES ANOMALIES METABOLIQUES INDUITES PAR DES ANTI-RÉTROVIRAUX UTILISÉS EN TRITHÉRAPIE (O. Touzet)	61
18. EARLY VIROLOGICAL PARAMETERS AND THEIR PREDICTION PERFORMANCE FOR INDETECTABILITY OF HIV RNA BY WEEK 26 (L. Wittkop)	62
19. ETUDE PRELIMINAIRE SUR LA PREVALENCE DE LA RESISTANCE DU VIH-1 AUX ANTIRETROVIRAUX DANS LA PARTIE EST ET WEST DE LA REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE DU CONGO (S. Ahuka).....	64
20. EFFET DE LA TEMPERATURE DE CONSERVATION DU PLASMA SUR LA CHARGE VIRALE VIH-1 (B. Amellal).....	65
21. SURVEY OF HIV-1 DRUG RESISTANCE MUTATIONS IN RECENTLY INFECTED, ANTIRETROVIRAL NAÏVE PATIENTS FROM SUB SAHARAN AFRICA AND SOUTH EAST OF ASIA: THE ANRS 12134 STUDY (A. Ayouba).....	66
22. MEASURE OF VIRAL LOAD BY USING THE ABBOTT REALTIME HIV-1 ASSAY ON DRIED SPOT SPECIMENS OF BLOOD OR PLASMA COLLECTED IN TWO RURAL DISPENSARIES IN CAMEROON (T. Bourlet.)	67
23. LES ENJEUX DE LA PRISE EN CHARGE CROISEE DE LA TUBERCULOSE ET DU VIH AU SENEGAL (F. Hané)	68

24. CO-MORBIDITE VIH ET LES CANCERS NON-CLASSANT SIDA : CAS DU CENTRE HOSPITALIER DE KINSHASA (M. Madiata)	69
25. EVOLUTION VERS LES CRITERES D'ADMINISTRATION DU COTRIMOXAZOLE ET DES ANTIRETROVIRAUX CHEZ LES PERSONNES INFECTEES PAR LE VIH DIAGNOSTIQUEES AVEC DES CD4 SUPERIEURS A 500/MM3, COHORTE ANRS 1220 PRIMO-CI (A. Minga).....	70
26. EVALUATION OF DIFFERENT EXTRACTION PROTOCOLS AND STORAGE CONDITIONS OF DRIED PLASMA SPOTS FOR HIV-1 RNA QUANTIFICATION AND PCR AMPLIFICATION FOR GENOTYPIC DRUG RESISTANCE TESTING (M. Monleau)	71
27. EPIDEMIOLOGIE DE L'INFECTION A VIH/SIDA DANS LA WILYA DE TIZI-OUZOU - ALGERIE (F.Toudeft)	72
28. ENQUETE COMPORTEMENTALE CHEZ LES MIGRANTS DE LA COMMUNE DE TIZI-OUZOU - ALGERIE (F.Toudeft)	74
29. ENQUETE COMPORTEMENTALE CHEZ LES JEUNES DE LA COMMUNE DE TIZI-OUZOU – ALGERIE SEPT-DEC 2006 (F.Toudeft)	76
30. CHARACTERIZATION OF INFECTIOUS RECOMBINANT VIRUSES EXHIBITING HIV-1 ENV FROM SEMINAL STRAINS (T. Bourlet)	79
31. ROLE OF CHROMATIN REMODELING COMPLEXES IN CONTROLLING HIV-1 EXPRESSION IN PRIMARY CD4+ T CELLS (Guillemette X. Masse)	80
32. MECANISMES MOLECULAIRES A L'ORIGINE DE LA LATENCE POST-INTEGRATIVE DANS LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL (O. Rohr)	81
33. LES SITES AP-1 LOCALISES DANS LA REGION CIS-REGULATRICE DU GENE POL DU HIV-1 SONT IMPORTANTS POUR L'INFECTIVITE VIRALE (N. Vandenhoudt).....	82
34. LONG-TERM PERSISTENCE OF MEMORY B CELLS SPECIFIC FOR HEPATITIS B SURFACE ANTIGEN IN HIV-1 INFECTED PATIENTS (J- P. Vendrell).....	83
35. INHIBITION DE L'EPISSAGE DU PRE-MESSAGER D'HIV-1 PAR DES PETITES MOLECULES CHIMIQUES : UNE NOUVELLE STRATEGIE ANTIRETROVIRALE (N. Bakkour).	85
36. CARACTERISTIQUES DES GENES D'ENVELOPPE DU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE DE TYPE 1 (VIH-1) DE SOUS-TYPE CRF01_AE TRANSMIS DE LA MERE A L'ENFANT (F. Barin).	86
37. MECHANISMS INVOLVED IN NEF-DEPENDENT INCREASE OF HIV-1 INFECTIVITY (S. Basmaciogullari)	87
38. TIP47 PROMOTES THE EFFICIENT RELEASE OF INFECTIOUS HIV-1 FROM THE ASSEMBLY COMPARTMENT OF MACROPHAGES (H. Bauby)	88
39. THE 3-O-(3',3'-DIMETHYLSUCCINYL) DERIVATIVE OF BETULINIC ACID (DSB OR PA-457) INHIBITS THE ASSEMBLY OF VIRUS-LIKE PARTICLES (VLP) IN HIV-1 GAG-EXPRESSING CELLS (P. Boulanger).	89
40. LE GENOTYPAGE DE V3 PEUT-IL REMPLACER LES TESTS PHENOTYPIQUES POUR LA DETERMINATION EN ROUTINE DU TROPISME DU HIV-1 ? (P. Delobel),.....	90
41. LE VIH-1 EST A DEUX DOIGTS DES VIRUS ADN DE TYPE HBV OU SPUMAVIRUS (L. Didierlaurent)	91

42. IDENTIFICATION D'UN FACTEUR CELLULAIRE IMPLIQUÉ DANS LA RÉPLICATION DU VIH-1 ET LA RÉSISTANCE AUX INHIBITEURS NUCLÉOSIDIQUES DE LA RÉTRO-TRANSCRIPTION (C. Ducloux).....	92
43. DES LIPOPEPTIDES INHIBENT AU NIVEAU NANOMOLAIRE DES PROTEASES DU VIH-1 EN SEQUESTRENT LA FORME MONOMERIQUE DE L'ENZYME CIBLE (L. Dufau).....	93
44. MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN NEF-INDUCED CD4 DOWN-REGULATION IN HIV-1 HOST CELLS (N. Laguette).....	94
45. ETUDE DE L'ORGANISATION MEMBRANAIRE DYNAMIQUE DES RECEPTEURS CD4 ET CCR5 SUR CELLULES VIVANTES (P. Mascalchi).....	95
46. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DU SIVGOR CHEZ LES GORILLES SAUVAGES AU CAMEROUN (C. Néel).	96
47. SUPERIOR CONTROL OF HIV-1 REPLICATION BY CD8+ T CELLS IS REFLECTED BY THEIR AVIDITY, POLYFUNCTIONALITY, AND CLONAL TURNOVER (J. R Almeida).....	98
48. MULTIDIMENSIONAL SCALING: UNREVEALING RELATIONAL GEOMETRIC PATTERNS IN TRANSCRIPTOME BIOLOGY (C. BECAVIN)	99
49. OPTIMAL CENTRAL MEMORY CD4+ T CELL FUNCTIONS IN HIV CONTROLLERS (ANRS EP36 STUDY) (L. A. Chakrabarti).....	100
50. USE OF THE INNATE IMMUNITY TOWARDS HIV-1 : PRODUCTION OF A SOLUBLE MULTIMERIC HETEROCHIMERA PROPERDIN-CD4.D1D2 TO CREATE A PLATFORM FOR ACTIVATION OF COMPLEMENT ALTERNATIVE PATHWAY AT THE SURFACE OF HIV-1 OR HIV-INFECTED CELLS, TRIGGERING THEIR LYSIS (X. Dervillez)	101
51. L'INFECTION PAR LE VIH-1 INDUIT L'EXPRESSION DE NKG2C SUR LES CELLULES T VD1+ : EFFET DÉLÉRÈRE SUR LES T CD4+ INFECTÉES (H. Fauster Bovendo).....	102
52. MISE AU POINT ET VALORISATION DE TESTS ADAPTES POUR LE DOSAGE DES ANTICORPS SECRETOIRES DANS L'INFECTION PAR LE VIH (C. Genin).....	103
53. CARACTERISTIQUES DES LTCD8 SPECIFIQUES DU VIH DES PATIENTS HLA B57 AU COURS DE LA PRIMO-INFECTION (I. Girault).....	104
54. UNCOUPLING OF IL-7 SIGNALING RESPONSES IN HIV INFECTION : INCREASED JAK/STAT ACTIVATION AND DECREASED BCL-2 INDUCTION (ANRS EP33 STUDY) (O. Juffroy).....	105
55. STUDY OF IMMUNOPREVALENCY AND STABILITY OF THE HR1/HR2 COMPLEX OF THE GLYCOPROTEIN 41 (GP41) SUBUNIT OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 (HIV-1) (A. Koné).....	106
56. SUIVI IMMUNO-VIROLOGIQUE DES PATIENTS CO-INFECTES VIH1 ET VIH2 (R. Landman).....	107
57. EXISTENCE DE LT CD8+ SPECIFIQUES DU VIH DE TYPE EFFECTEUR CHEZ LES PATIENTS CONTROLANT SPONTANEMENT LA REPLICATION VIRALE (C. Lécuroux)	108
58. IMPACT OF NK-DC CROSSTALK ON THE DESTRUCTION OF DC - INFLUENCE OF HIV INFECTION (M-T. Melki).....	109
59. ALTERED CHEMOTACTIC RESPONSES OF CD4 T CELLS IN HIV INFECTION (S. Perez-Patrigeon).....	110

60. ACUTE HEPATITIS C INFECTION IN HIV-INFECTED PATIENTS: LOW RATE OF SPONTANEOUS CLEARANCE AND WEAK PERIPHERAL T CELL RESPONSES TO HEPATITIS C VIRUS ASSOCIATED WITH HIV-RELATED CD4 DEFICIENCY (A. Schnuriger),.....	111
61. UNINTEGRATED HIV-1 PROVIDES AN INDUCIBLE AND FUNCTIONAL RESERVOIR IN UNTREATED AND HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY-TREATED PATIENTS (J P. Vendrell).....	112
62. PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF HUMANIZED MONOCLONAL IGA ANTIBODIES DIRECTED TO HIV-1 ENVELOPE GLYCOPROTEIN (N. Vincent).....	113
63. DEVELOPPEMENT DE MIMOTOPES DE L'ANTICORPS NEUTRALISANT B12 (T. Abache)	115
64. WITHOUT MUCOSAL ADJUVANT, VIROSOME-GP41 PEPTIDE FROM THE MEMBRANE PROXIMAL REGION CAN ELICIT PROTECTIVE MUCOSAL IGA IN VACCINATED MACAQUES (M. Bomsel)	116
65. MIME DE CD4, CANDIDAT MICROBICIDE ANTI-VIH : LA ROUTE VERS LE TEST ANIMAL CHEZ LE MACAQUE (L. Martin).....	117
66. MISE AU POINT DE CANDIDATS VACCINS CONTRE LE VIH-1 COMPOSES DE PLUSIEURS PROTEINES D'ENVELOPPE STABILISEES PAR UN MIME DU CD4 (G. Martin)	118
67. COMPARAISON DE DIFFERENTES STRATEGIES DE PRIMO-VACCINATION/RAPPEL UTILISANT UN VECTEUR VIRAL (RMVA) ET DES NANOPARTICULES DE POLY(ACIDE LACTIQUE) (S. Munier).....	119
68. COMPREHENSIVE ANALYSIS OF VIRUS-SPECIFIC CD8+ AND CD4+ T CELLS PROVIDES CLUES FOR THE FAILURE OF THERAPEUTIC IMMUNIZATION WITH ALVAC-HIV (VCP1452) VACCINE (L. Papagno)	120
69. INHIBITORY ACTIVITY OF ANTIBODIES ON HIV-1 INFECTION OF LANGERHANS CELLS, AND OF TRANSFER TO T CELLS (M Peressin)	121
70. EVALUATION OF THE IMMUNOGENICITY OF A NEW TAT CANDIDATE VACCINE AGAINST HIV, IN A NON HUMAN PRIMATE MODEL (S. Turbant)	122
71. CONCEPTION D'IMMUNOGENES GP140 D'ENVELOPPE D'UN ISOLAT PRIMAIRE DE PRIMO-INFECTION DE VIH-1 PAR ADDITION OU DELETION PONCTUELLES DE SITES DE N-GLYCOSYLATION (N. Willkomm)	123
72. HIV-1 REPLICATION IS INCREASED IN IMMATURE DENDRITIC CELLS IN THE PRESENCE OF CD4 T OR CD19 B LYMPHOCYTES (K. Xu).....	124

Programme

Lundi 14 avril

Accueil à partir de 9h

- 10h00-10h15** **Ouverture** : Jean-François Delfraissy, Directeur de l'ANRS
- 10h15-11h30** **Les défis de la recherche sur l'infection par le VIH en 2008**
modérateurs
Patrick Yéni (*Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris*)
Fernando Arenzana-Seisdedos (*Institut Pasteur, Inserm U819, Paris*)
- 10h15 - 10h45 Infection VIH : quels objectifs pour la recherche clinique de demain ?
Christine Katlama (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris*)
- 10h45 - 11h15 La recherche fondamentale sur le VIH et le SIDA: où allons nous ?
Olivier Schwartz (*Institut Pasteur, Paris*)
- 11h15 – 11h30 Discussion
- 11h30-12h50** **Nouvelles stratégies thérapeutiques**
- 11h30 - 11h50 Quand commencer les traitements antirétroviraux ?
Geneviève Chêne
(*Université Victor Segalen Bordeaux II, Inserm U897*)
- 11h50 - 12h10 Initiation thérapeutique et nouvelles molécules
Jacques Reynes (*Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier*)
- 12h10 - 12h30 L'interleukine-2 peut-elle prévenir le déficit immunitaire et retarder
l'initiation du traitement antirétroviral chez les patients infectés par le
VIH ? Résultats de l'essai ANRS 119 Interstart
Jean-Michel Molina (*Hôpital Saint-Louis, Paris*)
- 12h30 - 12h50 Conséquences du blocage de CCR5 dans le traitement anti-VIH
Pierre Corbeau
(*Institut de Génétique Humaine, UPR 1142 CNRS, Montpellier*)
- 12h50-14h00 Déjeuner
- 14h00-16h30** **Réservoirs : vers l'éradication ?**
Cette session se déroulera en anglais
modérateurs
François Clavel (*Hôpital Bichat-Claude Bernard, Inserm U 552, Paris*)
Moncef Benkirane (*Institut de Génétique Humaine, UPR 1142 CNRS ,
Montpellier*)

- 14h00 -14h30 Conférence : HIV latency and reservoirs
Ronald Veazey (*Tulane University School of Medicine, Louisiana, USA*)
- 14h30 -14h50 L'étude des réservoirs VIH : une aide à la réflexion sur les traitements de l'infection à VIH ?
Christine Rouzioux (*Hôpital Necker-Enfants malades, Paris*)
- 14h50 -15h10 Modèles animaux et réservoirs : dynamique et distribution tissulaire des formes non intégrées à 2-LTR chez les macaques infectés par SIV
Roger Le Grand (*CEA, Fontenay-aux-Roses*)
- 15h10 - 15h50 *Pause*
- Résumés sélectionnés**
- 15h50 - 16h00 Contrôle spontané du VIH dès la primo-infection : peut-on prédire la statut de « HIV controller » ?
Cécile Goujard (*Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre*)
- 16h00 -16h10 Activation de la réplication du VIH latent par des composés hybrides bipolaires, rôle du facteur de transcription P-TEFB
Xavier Contreras (*University of California, San Francisco*)
- 16h10 - 16h20 Etude quantitative des réservoirs VIH dans le tissu lymphoïde rectal et caractérisation des quasi espèces virales
Véronique Avettand-Fenoel (*Hôpital Necker-Enfant malades, Paris*)
- 16h20 -16h30 Evolution de la diversité génétique et des mutations de résistance aux traitements du VIH-1 parmi des patients non traités au Mali entre 2005 et 2006
Anne Derache (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris*)
- 16h30-17h00 Questions clés de la recherche dans les pays en développement en 2008
François Dabis (*Université Victor Segalen Bordeaux II, Inserm U897*)
- 17h00-17h50** **Table Ronde: Questions de recherche dans les pays du Sud: comment traiter, comment prévenir ?**
animateur : **Pierre-Marie Girard** (*Hôpital Saint-Antoine, Paris*)
- Serge Eholié (CHU Treichville, Abidjan), Alexandra Calmy (Médecins Sans Frontières Suisse), Eric Delaporte (Université de Montpellier I, UMR 145 IRD), François Dabis (Université Victor Segalen Bordeaux II, Inserm U897)
- 17h50** «Happy Hour » et posters

Mardi 15 avril

- 9h00-12h10** **Pathogénèse atténuée : le virus ou l'hôte ?**
modérateurs
Lisa Chakrabarti (*Institut Pasteur, Paris*)
Laurence Weiss (*Hôpital européen Georges-Pompidou, Institut Pasteur, Paris*)
- 9h00 - 9h20 Infection par le VIH-2
Françoise Brun-Vézinet (*Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris*)
- 9h20 - 9h40 L'infection par le SIV_{aGM} non pathogène chez les singes
verts africains : leçons à tirer sur les réponses protectrices de l'hôte
Michaela Müller-Trutwin (*Institut Pasteur, Paris*)
- 9h40 - 10h00 Avidité, polyfonctionnalité et turn over clonal à la base de l'efficacité de
la réponse TCD8⁺ dans l'infection VIH
Victor Appay (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U543, Paris*)
- 10h00 -10h20 Réponse T CD8+ spécifique, HLA classe I et contrôle du VIH
Alain Venet (*Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U802, Le Kremlin-Bicêtre*)
- 10h20 - 10h40 Discussion
- 10h40 - 11h00 *Pause*
- 11h00-11h30 Utilisation de la plate-forme de génotypage à haute débit dans une
étude chez des patients infectés par le VIH-1 : rôle des loci dans le
contrôle de la charge virale et les réservoirs.
Ioannis Théodorou (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U543, Paris*)
- Résumés sélectionnés**
- 11h30 -11h40 L'observatoire national ANRS des « HIV controllers »: bilan après
deux années de recrutement
Olivier Lambotte (*Hôpital de Bicêtre, Inserm U802, Le Kremlin
Bicêtre*)
- 11h40 -11h50 Fortes réponses prolifératives T CD4 au VIH chez des patients traités
et contrôlés virologiquement depuis 10 ans (étude DECAMUNE)
Amélie Guihot (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U543, Paris*)
- 11h50 -12h00 Les cellules NK activées induisent la maturation de cellules
dendritiques infectées par un mécanisme dépendant HMGB1.
Implication pour l'établissement des réservoirs
Héla Saidi (*Institut Pasteur Paris*)
- 12h00 -12h10 Test rapide de neutralisation du VIH-1 pour mesurer la capacité
antivirale des CD8
So Youn Shin (*Institut Pasteur, Paris*)

- 12h10 -12h40 Conférence : Où en est-on de la recherche thérapeutique anti-VHC ?
Yves Benhamou (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris*)
- 12h40-14h00 *Déjeuner / posters*
- 14h00-16h30** **Où en sommes nous des vaccins anti-VIH ? : l'après «Merck»**
modérateurs
Françoise Barré-Sinoussi (*Institut Pasteur, Paris*)
Anne Hosmalin
(*Institut Cochin, Inserm U567, UMR 8104 CNRS, Paris*)
- 14h00 -14h15 Vaccins préventifs VIH/SIDA : vers de nouvelles approches vaccinales ?
Marc Girard (*Professeur honoraire, Université Paris-Diderot*)
- 14h15 -14h30 Immunisation thérapeutique anti-VIH : Bilan
Brigitte Autran (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, UMR Inserm U543, Paris*)
- 14h30 – 14h45 *Discussion*
- 14h45 -15h15 Conférence : Présentation antigénique et activation des lymphocytes T par les cellules dendritiques
Sebastian Amigorena (*Institut Curie, Inserm U653, Paris*)
- 15h15 -15h30 Place des anticorps dans les stratégies vaccinales
Christiane Moog (*Institut de Virologie, Inserm U575, Strasbourg*)
- 15h30 -15h45 Le programme vaccinal de l'ANRS
Yves Lévy (*Hôpital Henri Mondor, Créteil*)
- 15h45 - 16h00 *Discussion*
- Résumés sélectionnés**
- 16h00 -16h10 Présentation HLA restreinte des antigènes du VIH par des APC infectées : implication de l'autophagie
Arnaud Moris (*Institut Pasteur, URA 3015 CNRS, Paris*)
- 16h10 -16h20 La vaccination par vecteur lentiviral en prime-boost confère une forte protection contre SIVMAC251 chez les macaques.
Anne-Sophie Beignon (*Institut Pasteur, URA 3015 CNRS, Paris*)
- 16h20 - 16h30 Une nouvelle stratégie vaccinale anti-VIH1 : de la théorie à la preuve de concept chez le macaque
Vincent Vieillard (*Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U543, Paris*)
- 16h30 - 17h30** **Table Ronde: Comment poursuivre la recherche vaccinale ?**
animateur : **Françoise Barré-Sinoussi** (*Institut Pasteur, Paris*)

Marc Girard, Yves Levy, Christiane Moog, Brigitte Autran,
Roger Le grand
- 17h30** **Clôture**

Résumés

Résumés des présentations orales

1. INFECTION VIH : QUELS OBJECTIFS POUR LA RECHERCHE CLINIQUE DE DEMAIN ?

Christine Katlama

*Hôpital Pitié-Salpêtrière / Service Maladies Infectieuses et Tropicales
47/83 Boulevard de L'Hôpital 75651 Paris Cedex 13*

christine.katlama@psl.aphp.fr

La décennie achevée en 2006 fut celle de la démonstration éclatante que l'on pouvait durablement contrôler la réplication virale à l'aide de traitements combinés (cART) , que la suppression maximale de la réplication virale à son plus bas niveau était le meilleur garant de la durabilité de l'efficacité des traitements , de l'absence de développement de la résistance virale , d'une restauration immunitaire satisfaisante . Elle fut aussi celle d'une accélération de l'accès aux traitements dans le monde entier.

Parce que ces progrès ont permis d'augmenter de façon spectaculaire la survie avec près de 85% des patients avec une virémie contrôlée, sont apparus avec acuité d'autres problèmes : toxicité des traitements, co-morbidités liées aux virus des hépatites , risque cardio-vasculaires ,cancers , troubles osseux. Parce que l'interruption thérapeutique s'est révélée cliniquement délétère, parce que l'éradication n'a à ce jour pas été possible, le traitement doit être maintenu à vie. La recherche clinique doit maintenant s'orienter :

1/ sur la recherche de stratégies thérapeutiques permettant d'identifier des stratégies d'épargne médicamenteuse et de réduction de toxicité permettant de traiter les patients sans dommage et efficacement pendant environ 40 ans ;

2/ l'évaluation de l'impact des nouvelles classes médicamenteuses – inhibiteurs de CCR5, d'intégrase sur la physiopathologie et de l'infection VIH, le réservoir viral et l'immunorestauration.

2. LA RECHERCHE FONDAMENTALE SUR LE VIH ET LE SIDA: OU ALLONS NOUS?

Olivier Schwartz

Institut Pasteur, Paris

schwartz@pasteur.fr

La recherche fondamentale a énormément progressé depuis l'identification du VIH, il y a maintenant 25 ans. Le cycle de multiplication du virus, les interactions virus-cellules cibles, la reconnaissance des cellules infectées par le système immunitaire, ainsi que les mécanismes de la physiopathologie commencent à être bien décryptés. Des zones d'ombres restent encore à explorer. Cette présentation fera la part sur les avancées récentes dans la connaissance de la biologie du VIH, sur leurs conséquences éventuelles dans le domaine thérapeutique, et sur les questions qui méritent d'être posées.

3. QUAND COMMENCER LES TRAITEMENTS ANTIRETROVIRAUX?

Geneviève Chêne

Centre de Recherche en Emergence (CRE) INSERM U897, Institut de Santé Publique, d'Epidémiologie et de Santé Publique (ISPED), Université Victor Segalen Bordeaux 2, 146 rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux cedex, France.

genevieve.chene@isped.u-bordeaux2.fr

Actuellement, il est recommandé de débiter le traitement antirétroviral chez l'adulte infecté par le VIH lorsque les lymphocytes CD4+ atteignent le seuil de 350/mm³. Au-dessus de ce seuil, ou lorsque l'infection est diagnostiquée au stade de la primo-infection, la mise au traitement n'est recommandée que dans certaines circonstances témoignant d'une particulière gravité de la maladie.

Cette recommandation vise à apporter le meilleur bénéfice au prix de la survenue d'un nombre limité d'inconvénients. En effet, les traitements antirétroviraux disponibles ne permettent pas de guérir la maladie. Ils diminuent la mortalité et la morbidité de l'infection par le VIH grâce à une réduction efficace et prolongée de la réplication virale permettant de limiter la sélection de virus résistants et de restaurer le nombre de lymphocytes CD4+ (en atteignant 500/mm³ durablement). Le risque de transmission de la mère à l'enfant est par ailleurs extrêmement réduit. Les inconvénients se mesurent en termes de tolérance à court, moyen et long terme et d'impact sur la qualité de vie compte tenu que l'exposition au traitement doit être continue et prolongée.

Les recommandations se fondent sur les résultats des essais de nouveaux médicaments ou de stratégies d'interruption et des cohortes observationnelles, car il n'existe pas actuellement de résultats d'essai randomisé comparant des stratégies d'initiation de traitement en fonction du niveau des lymphocytes CD4+.

Or, les essais récents de nouveaux médicaments montrent une très grande efficacité pour de nouvelles associations ou de nouvelles classes ayant une certaine facilité de prise et une bonne tolérance non seulement en 1^{ère} ligne de traitement mais également chez les patients pré-traités.

L'essai d'interruption SMART et les cohortes d'observation montrent que la morbidité et la mortalité peut être élevée même lorsque les lymphocytes CD4+ sont supérieurs à 350/mm³ et que les causes les plus fréquentes (infections sévères ou cancers non classant sida, complications hépatiques, rénales ou cardio-vasculaires, en particulier) peuvent être associées à l'immunodéficience, ou au mauvais contrôle de la réplication virale. Un traitement antirétroviral plus précoce pourrait donc avoir pour objectif de réduire également l'incidence de ces maladies associées, et de permettre une remontée plus importante et rapide des lymphocytes CD4+. L'essai START, en cours de conception, apportera des réponses à ces interrogations.

L'initiation d'un traitement antirétroviral en 2008 implique que ce traitement sera poursuivi tout au long de la vie. Le développement de nouveaux médicaments encore plus efficaces, mieux tolérés et plus faciles à prendre reste d'actualité. La compréhension des conditions de la durabilité de l'effet de ces traitements, en particulier des séquences successives de traitement les plus appropriées, et donc des conditions du maintien du meilleur rapport bénéfice/risque pour le malade est un champ important de recherche pour les cohortes. Enfin, toutes les informations allant dans le sens d'un début plus précoce du traitement ne pourront avoir véritablement d'impact sans une politique et des activités de dépistage de l'infection par le VIH permettant un diagnostic suffisamment précoce pour que les malades puissent pleinement bénéficier des progrès thérapeutiques.

4. L'INTERLEUKINE-2 PEUT-ELLE PREVENIR LE DEFICIT IMMUNITAIRE ET RETARDER L'INITIATION DU TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL CHEZ LES PATIENTS INFECTES PAR LE VIH ? RESULTATS DE L'ESSAI ANRS 119 INTERSTART

Jean-Michel Molina, Yves Levy, Isabelle Fournier, Stephanie Hamonic, Michèle Bentata,, Genevieve Beck-Wirth, Marie-Lise Goujeon, Isabelle Madelaine, Daniel Sereni, François Jeanblanc, Thomas Boulet, François Simon, and Jean-Pierre Aboulker, au nom du groupe Interstart (ANRS 119)

Assistance-Publique Hôpitaux de Paris, Hopital Saint-Louis et Université de Paris 7 Denis Diderot (J.M.M., I.M., D.S., F.S.), Hôpital Henri-Mondor, INSERM 841 et Université de Paris 12, Creteil (Y.L.), INSERM SC 10, Villejuif (S.H., I.F., T.B., J.P.A.), Hôpital Avicenne, Bobigny (M.B.), Hôpitaux de Mulhouse (G.B.), Hôpital Edouard Herriot, Lyon (F.J.), Institut Pasteur, Paris (M.L.G.).

jean-michel.molina@sls.aphp.fr

Le traitement antirétroviral est aujourd'hui indiqué chez les patients infectés par le VIH asymptomatiques dès que le taux de CD4 diminue en dessous de 350/mm³. L'interleukine-2 (IL-2), de part son action sur la régulation de la prolifération et de la survie des CD4 pourrait permettre de ralentir le déficit immunitaire et retarder ainsi l'initiation d'un traitement antirétroviral continu.

L'objectif de l'essai INTERSTART était d'évaluer l'efficacité et la tolérance de l'IL-2 à retarder la chute des CD4 et donc l'initiation de la trithérapie chez des patients asymptomatiques n'ayant pas d'indication thérapeutique antirétrovirale.

130 patients naïfs d'antirétroviraux, ayant entre 300 et 500 CD4, ont été recrutés entre Décembre 2003 et Décembre 2004 dans 29 centres ANRS en France pour participer à cette étude. Ils ont reçu après tirage au sort un traitement par IL-2 (4 cycles de 4.5 M IU en sous cutané deux fois par jour pendant 5 jours aux semaines 0, 8, 16 et 24 la première année, et un maximum de deux cycles par an par la suite) ou aucun traitement.

Le critère de jugement principal de l'étude était la progression de l'infection VIH à 96 semaines, défini par une chute des CD4 confirmée <300, l'initiation d'une trithérapie, l'apparition d'un événement SIDA ou d'un décès. Les analyses se sont basées sur les données recueillies jusqu'au 25 Septembre 2007.

Les taux de progression à la semaine 96 étaient respectivement de 35 et 59% dans les bras IL-2 et témoin (P=0.008) et le changement médian de CD4 par rapport à la valeur initiale de + 51 CD4 et -64 CD4 dans les bras IL-2 et témoin (P< 0.0001). De plus, l'augmentation médiane de la charge virale VIH plasmatique était minime et similaire dans les deux bras (+0.02 et +0.04 log₁₀ copies/ml dans le bras IL-2 et témoin (P= 0.93). Par ailleurs, parmi les patients ayant à l'entrée dans l'étude une charge virale plasmatique <4.5 log₁₀ copies/ml, l'estimation du taux de non progression à la semaine 150 était de 66% dans le bras IL-2, contre seulement 10% dans le bras témoin (P<0.0001), ce qui s'est traduit par un retard à l'initiation de la trithérapie de 92 semaines dans le bras IL-2 pour le premier quartile des patients.

L'incidence des événements SIDA, des décès et des événements indésirables de grade 3 et 4 était faible et similaire dans les deux bras de l'essai.

En conclusion, chez des patients infectés par le VIH et asymptomatiques, une stratégie de traitement par l'IL-2 seule a permis de retarder l'installation d'un déficit immunitaire, en particulier chez les patients à faible charge virale, et de retarder de façon significative l'initiation d'une trithérapie antirétrovirale. Cette stratégie thérapeutique mériterait d'être explorée de façon plus large.

5. CONSEQUENCES DU BLOCAGE DE CCR5 DANS LE TRAITEMENT ANTI-VIH

Pierre Corbeau

Laboratoire d'Immunologie du CHU de Nîmes et Institut de Génétique Humaine du CNRS (UPR1142) 141 rue de la Cardonille 34396 Montpellier cedex 5

pierre.corbeau@igh.cnrs.fr

Comme bien d'autres acteurs du système immunitaire, le récepteur de C-C chimiokines CCR5 peut jouer un rôle bénéfique ou néfaste selon la situation pathologique. Ainsi s'il participe à la réponse immunitaire contre certains agents infectieux, il peut en revanche être coresponsable de dégâts immuno-pathologiques. Son blocage par un antagoniste à visée thérapeutique anti-VIH va avoir des conséquences virologiques et immunologiques. Sur le plan virologique il va bien sûr réduire l'entrée virale et par là la réplication. Mais il va inhiber aussi les 3 effets cytopathogènes que sont la formation de syncytia, l'apoptose et la cytolysse induites par les enveloppes virales R5 intracellulaires. Enfin en réduisant la densité membranaire fonctionnelle en CCR5 il devrait optimiser l'efficacité des autres anti-rétroviraux, en particulier celle des inhibiteurs de fusion. En revanche il y a évidemment le risque de sélection de mutant résistant, en particulier du fait de l'acquisition de la capacité de liaison au complexe formé par CCR5 et l'antagoniste. Un autre risque est l'induction de la commutation de R5 vers X4 correspondant à un gain de cytopathogénicité. Certaines données expérimentales vont dans le sens d'un tel risque alors que d'autres non. Sur le plan immunologique, les antagonistes actuellement utilisés, en bloquant les interactions entre CCR5 et les chimiokines qui s'y lient, exposent au risque d'affaiblissement de la réponse dirigée contre certains agents infectieux parmi lesquels certains peuvent être retrouvés au stade SIDA. En revanche ils pourraient avoir un effet bénéfique dans les situations inflammatoires où CCR5 est impliqué, comme par exemple dans la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose ou le rejet de greffe. Enfin la récente observation que les antagonistes de CCR5 permettent une remontée du nombre de cellules T4 plus importante que d'autres anti-rétroviraux soulève l'intéressante hypothèse qu'ils pourraient protéger le système immunitaire d'une activation polyclonale qu'on sait délétère.

6. HIV LATENCY AND RESERVOIRS

Ronald S. Veazey

Tulane National Primate Research Center, Covington, Louisiana, USA

rveazey@tulane.edu

Despite 25 years of research, an effective vaccine or cure for HIV infection remains elusive. Perhaps the largest impediments to progress in these areas relate to our lack of understanding of correlates of immunity to infection, and major tissues that serve as reservoirs for viral persistence in treated patients. We have previously demonstrated that the intestinal tract is the major site for viral replication and amplification in primary SIV infection, regardless of the route of inoculation. More recently we have been examining tissues in chronically infected macaques that are controlling viral replication to those that are not, to assess whether the intestine is also a major reservoir in animals controlling plasma viremia. Approximately 1/3 of Chinese-origin rhesus macaques (Ch Rh) become long-term nonprogressors (LTNP) after infection with SIVmac239, whereas the other 2/3 progress to AIDS, similar to Indian origin macaques and HIV-infected humans. Furthermore, we have examined immune outcome and viral replication in tissues of macaques previously "immunized" with SHIV162P3 and subsequently challenged with pathogenic SIVmac, which usually results in excellent control of viral replication. In the latter studies, this viral control is clearly not due to inherent resistance to infection, since all supported high levels of replication during primary SHIV infection, yet all showed marked control of pathogenic SIV challenge compared to naïve Chinese controls inoculated with the same challenge. Both of these models have the potential for studying viral reservoirs and immune correlates of protection in tissues of animals controlling infection.

Using RT-PCR, we have quantified cell-associated levels of virus in the blood, lymph nodes, jejunum and colon of progressors and nonprogressors throughout infection. Using tissues collected at necropsy, we have also examined and compared levels of viral persistence and replication in brain, intestine, lymph nodes, spleen, bone marrow, and thymus by in situ hybridization for viral RNA. Both methods demonstrate that lymph nodes and inductive lymphoid tissues of the intestine are major sites for viral persistence and replication, particularly in animals that have low or undetectable levels of plasma viremia. The major reservoirs for virus in macaques controlling infection are lymph nodes and ileum and colon which contain abundant organized lymphoid tissues. In contrast, virus is usually undetectable in tissues such as the thymus and brain in animals controlling infection. Furthermore, analysis of cell subsets in these tissues indicates that the level of viral replication in tissues is directly correlated with cellular activation in these tissues. Combined, these data indicate that organized lymphoid tissues including the GALT are major reservoirs for viral persistence, and that anti-retroviral therapy and vaccine research should consider specifically targeting mucosal tissue sites.

7. L'ETUDE DES RESERVOIRS VIH : UNE AIDE A LA REFLEXION SUR LES TRAITEMENTS DE L'INFECTION A VIH ?

Christine Rouzioux

EA 3620 Université Paris Descartes, Laboratoire de Virologie, CHU Necker Enfants Malades, Paris

christine.rouzioux@nck.aphp.fr

La présence de virus latent sous forme intégrée dans les cellules infectées reste l'obstacle majeur au traitement de l'infection à VIH. La dynamique de l'infection à VIH au cours du temps et dans l'organisme aboutit à la constitution de réservoirs de cellules infectées, notamment dans le tissu digestif. L'exploration des réservoirs via la mesure de l'ADN VIH dans le sang périphérique apporte de nombreuses informations, qu'il s'agisse de patients en primo-infection, en phase chronique ou sous traitements. Elle montre notamment que le niveau d'ADN VIH des cellules sanguines reflète bien le niveau des réservoirs profonds à différents stades de l'infection.

Plusieurs études des réservoirs chez des patients sous HAART rapportent la persistance de réservoirs stables, malgré de longues années de traitement efficace. La caractérisation des différents types de lymphocytes infectés permet de comprendre l'effet des traitements sur la réduction des réservoirs et d'estimer la durée de vie des cellules réservoirs. La mise en évidence de cellules infectées T CD4 + naïves, centrales mémoires ou mémoires effectrices révèle la dynamique de l'infection dans l'organisme.

Les variations de diffusion des antirétroviraux dans les tissus profonds sont sans doute à l'origine des sites autonomes de réplication résiduelle sous traitement, y compris chez des sujets ayant un ARN VIH plasmatique inférieur à 50 copies/mL. Cette réplication résiduelle pose la question de l'utilisation des traitements puissants, instaurés précocement et maintenus longtemps afin de réduire au plus tôt le stock de cellules infectées, tout en préservant le système immunitaire.

Différentes approches thérapeutiques ayant pour objectif la purge des réservoirs et des cellules infectées latentes ont apporté des premiers résultats décevants. Les études des mécanismes d'intégration du provirus au sein de la chromatine, des mécanismes du maintien de la latence et du rôle de l'activation lymphocytaire sont indispensables à la compréhension des réservoirs lymphocytaires dans l'infection à VIH.

8. MODELES ANIMAUX ET RESERVOIRS : DYNAMIQUE ET DISTRIBUTION TISSULAIRE DES FORMES NON INTEGREES A 2-LTR CHEZ LES MACAQUES INFECTES PAR SIV

Mannioui A^{1,2}, Sellier P^{1,2,3}, Delache B^{1,2}, Brochard P^{1,2}, Vaslin B^{1,2}, Karlsson I^{1,2}, Malleret B^{1,2}, Roques P^{1,2}, Le Grand R^{1,2}.

¹. CEA, Division of immuno-virology, Institute for emergent diseases and innovative therapies, DSV, IPSC, Fontenay-aux-Roses, France

². Université Paris XI, UMRE01, Orsay, France

³. Assistance publique-Hôpitaux de Paris, service de médecine interne A, Hôpital Lariboisière.

roger.le-grand@cea.fr

Antiretroviral therapy (ART) inhibits viral replication and results in reduction of HIV-1 plasma viremia below detection threshold but does not eradicate viral reservoirs. In experimental infection of cynomolgus macaques with SIVmac251, a model which closely mimic HIV pathogenesis in humans, we examined 2-LTR circles as marker of new viral infection in association with total viral DNA, in PBMC and lymphoid and mucosal tissues, as indicator of dynamic and compartmentalization of viral reservoirs before and after ART. A correlation between kinetics of 2-LTR circles copy numbers and plasma viral load or total viral DNA, whatever the SIVmac251 inoculation dose, was observed. Rebound of 2-LTR level in PBMC was observed after withdraw of post-exposure antiretroviral prophylaxis treatment confirming that 2-LTR circles are markers of recent infection events in vivo. Further, we evaluated before starting ART the variation of the 2-LTR circles in different tissues during acute and chronic stages of infection. While total viral DNA still stable just after initial peak of viremia, 2-LTR circles levels were high in lymph nodes (LN) and low in gut-associated lymphoid tissue (GALT). Later on, during chronic stage, the 2-LTR circles persisted at low levels in LN but become elevated in GALT. Importantly, in ART treated macaques during early chronic stage, that despite undetectable plasma viral load, both total viral DNA and 2-LTR circles could be detected at high levels in LN compared to that observed in PBMC and GALT. Thus in chronic stage with successful ART it is possible that LN are major contributors to the replenishment of the viral reservoir and generation of newly infected cells.

9. CONTROLE SPONTANE DU VIH DES LA PRIMO-INFECTION : PEUT-ON PREDIRE LE STATUT DE « HIV CONTROLLER » ?

Cécile Goujard^{1,2}, Alain Venet², Olivier Lambotte^{1,2}, Christiane Deveau³, Christine Rouzioux⁴, Yasmine Zittoun³, Laurent Tran³, Martine Sinet², Jean-François Delfraissy^{1,2}, Laurence Meyer³, Cohorte ANRS CO 06-PRIMO.

¹INSERM U 802, Faculté de Médecine Paris-Sud 11, Le Kremlin Bicêtre ; ²Service de médecine interne, Hôpital Bicêtre, AP-HP ; ³INSERM U 822, INED, Faculté de Médecine Paris-Sud 11, Hôpital Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre ; ⁴Laboratoire de virologie, EA-MRT 3620, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France.

cecile.goujard@bct.aphp.fr

De rares patients ont une évolution particulière, caractérisée par une charge virale VIH (CV) spontanément indétectable et persistante à long terme (HIV controllers). Leur statut à la primo-infection, et la cinétique d'établissement du contrôle viral, sont inconnus.

Nous avons étudié dans la cohorte prospective ANRS PRIMO les patients inclus entre 1996 et 2006, non traités, et présentant une CV <400 copies/mL pendant au moins 12 mois.

Huit des 195 patients non traités (4%) ont présenté un contrôle viral spontané (durée médiane de contrôle, 3,7 ans). Au moment de la primo-infection, leurs niveaux d'ARN VIH (médiane 3,0 log₁₀ cp/mL ; extrêmes, <1,7-4,8) et d'ADN VIH (2,63 log₁₀ copies/10⁶ PBMC ; extrêmes, 1,8- 3,6) étaient plus faibles, et leur taux de CD4 plus élevé (794 /mm³ soit 39% ; extrêmes, 580 à 951) comparé aux 187 patients non contrôleurs (respectivement, 4,65 cp/mL ; 3,14 log₁₀ copies/10⁶ PBMC et 628 CD4/mm³ soit 30%). Le contrôle viral est survenu chez tous les patients dès les 6 premiers mois après l'infection, un seul patient ayant une CV toujours <40 cp/mL au cours du suivi. Un échappement viral était observé chez 2/8 patients à 4 ans. Les 6 autres patients maintenaient leur statut de contrôleur au dernier suivi, avec un taux de CD4 élevé (médiane, 967/mm³ soit 42% ; extrêmes :530-2100).

Le suivi de ces patients et l'étude de leurs caractéristiques immunologiques dès la primo-infection sont en cours pour mieux comprendre les mécanismes associés au contrôle viral.

10. ACTIVATION DE LA REPLICATION DU VIH LATENT PAR DES COMPOSES HYBRIDES BIPOLAIRES, ROLE DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION P-TEFB

Xavier Contreras, Lenasi Tina, Barboric Matjaz, Schweneker Marc, Chen Ching-Shih, Martin Jeff, Deeks Steve, McCune Joseph, Peterlin Matija

University of California San Francisco, Matija Peterlin's Laboratory

xavier.contreras@ucsf.edu

L'utilisation des trithérapies a montré son efficacité dans la lutte contre la progression de l'infection VIH. Cependant, des génomes viraux persistent sous une forme latente, inaccessible aux thérapies et se réactive lorsque ceux-ci sont interrompus. Une approche consiste à réactiver ce virus latent au niveau transcriptionnel de façon à le rendre de nouveau accessible aux thérapies. L'acide suberoylanilide hydroxamique (SAHA) est une molécule thérapeutique récemment acceptée pour le traitement de lymphomes cutanés. De même que son homologue, hexaméthylène bisacétamide (HMBA), il stimule la production de VIH dans les cellules infectées de façon chronique. Cependant, son mécanisme d'action demeure mal défini. Dans cette étude, nous démontrons que le SAHA active de façon transitoire la voie PI3K/Akt dans les cellules T mémoire et quiescentes. HEXIM1 est phosphorylé et ainsi induit la libération de facteur P-TEFb actif précédemment piégé en complexe avec HEXIM1 et 7sk snRNA. Ainsi, P-TEFb est recruté au promoteur du VIH pour stimuler l'élongation de la transcription et la production virale. En dépit de la présence continue de SAHA, P-TEFb se réassemble rapidement avec 7SK snRNA et HEXIM1. Le SAHA réactive la réplication virale à partir de PBMC issus de patient sous trithérapie sans charge virale détectable. Ainsi, notre étude révèle le mécanisme d'induction de la transcription du VIH par SAHA et suggère de nouvelles approches thérapeutiques.

11. ETUDE QUANTITATIVE DES RESERVOIRS VIH DANS LE TISSU LYMPHOÏDE RECTAL ET CARACTERISATION DES QUASIESPECES VIRALES

Véronique Avettand-Fenoel¹, Thierry Prazuck², Laurent Hocqueloux², Adeline Mélard¹, Rémy Kerdraon², Hayete Djarech², Christine Rouzioux¹

¹ Université Paris-Descartes, EA3620, APHP, Laboratoire de Virologie – Hôpital Necker-Enfants Malades ² CHR d'Orléans - La Source, Orléans, France

veronique.avettand@nck.aphp.fr

Le tissu lymphoïde digestif joue un rôle majeur dans la physiopathologie de l'infection VIH. Nous avons étudié ces réservoirs profonds (niveau d'infection et quasiespèces sanguines et tissulaires). Des biopsies rectales ont été proposées à 14 patients : 4 en « rémission » (antirétroviraux initiés dès la primo-infection et contrôle immuno-virologique >30 mois après l'interruption thérapeutique), 2 contrôlant naturellement l'infection (LTNP), 5 traités depuis la phase chronique, 3 virémiques. L'ADN-VIH était quantifié dans les cellules mononucléées sanguines (PBMC) et dans les cellules rectales par qPCR (technique ANRS). Une analyse phylogénétique après clonage moléculaire (région V3) a été appliquée.

Les médianes d'ADN-VIH étaient 2,0, 2,0, 2,5 et 3,3 Log cp/10⁶cellules rectales vs 1,9, 2,2, 3,5 et 3,7 Log cp/10⁶PBMC pour les patients en « rémission », les LTNP, les avirémiques traités et les non traités, respectivement. L'ADN-VIH/PBMC était très corrélé à l'ADN-VIH/cellules rectales ($r=0,898, p=0,001$). Les 7 patients ayant un ADN-VIH/PBMC < 2,7 Log (médiane 2,2 Log) (patients en « rémission », LTNP, 1 traité pendant la phase chronique) avaient un ADN-VIH rectal significativement plus faible (médiane 1,9 Log cp/10⁶cellules rectales) que les patients avec un ADN-VIH/PBMC > 2,7 Log (médiane 3,5 Log) (4 patients traités pendant la phase chronique, 3 virémiques) (ADN-VIH rectal : 2,8 Log, $p=0.002$). L'analyse phylogénétique évoquait une réplication tissulaire.

Le niveau d'infection sanguin reflète celui du rectum. Les LTNP et les patients en « rémission » ont un faible taux d'ADN-VIH sanguin et rectal. Cette étude souligne la dynamique virale et l'intérêt d'un traitement précoce prolongé pour mimer le statut des LTNP.

12. EVOLUTION DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DES MUTATIONS DE RESISTANCE AUX TRAITEMENTS DU VIH-1 PARMIS DES PATIENTS NON TRAITES AU MALI ENTRE 2005 ET 2006

Anne Derache, Almoustapha-Issiaka Maiga, Ousmane Traore, Alain Akonde, Mamadou Cisse, Bernard Jarrousse, Victoria Koita, Bah Diarra, Guislaine Carcelain, Francis Barin, Cecilia Pizzocolo, Louis Pizarro, Christine Katlama, Vincent Calvez, Anne-Genevieve Marcelin

UPMC Paris VI, Laboratoire de Virologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière

derache_anne@yahoo.fr

Objectifs: décrire les variants du VIH-1 circulant au Mali et estimer le taux de transmission du VIH-1 portant des mutations de résistance en 2006.

Patients et méthodes: les gènes de la transcriptase inverse (TI) et de la protéase (PR) de 198 patients, non traités et diagnostiqués positifs pour le VIH-1 en mai 2006 à Bamako et à Ségou, ont été séquencés.

Résultats: bien que le recombinant CRF02_AG soit toujours prédominant (72%), une plus grande diversité génétique a été observée par rapport à l'année 2005. La prévalence globale de la résistance primaire a été évaluée à 11,5% au Mali en 2006 (INTI: 1,5%, INNTI: 9%, IP: 1%) et à 2,5% (INTI: 1%, INNTI: 1,5%, IP: 0%) selon les listes de mutations IAS-USA 2007 et Stanford respectivement. Il n'y a pas de différence significative entre 2005 et 2006 pour la résistance primaire globale ainsi que pour les prévalences des mutations aux différentes classes thérapeutiques. Les mutations de résistance trouvées sur les gènes de la TI et de la PR sont en accord avec le régime thérapeutique prescrit au Mali, à l'exception des mutations V90I, V106I et A98G, associées à la résistance à l'Etravirine, qui sont polymorphiques dans les sous-types non-B.

Conclusion: la diversité génétique du VIH-1 semble augmenter au Mali et la prévalence de la résistance primaire globale du VIH-1 demeure faible. Ceci est en accord avec les résultats obtenus dans d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest où le taux de prévalence est inférieur à 5%.

13. QUESTIONS CLES DE LA RECHERCHE DANS LES PAYS EN DEVELOPPEMENT EN 2008

Francois Dabis

INSERM U897, ISPED, Université Victor Segalen, Bordeaux

Francois.Dabis@isped.u-bordeaux2.fr

La pandémie de VIH/Sida ne marque toujours pas le pas. Les statistiques les plus récentes de l'OMS/ONUSIDA donnent une impression d'apparente stagnation, alors que la dynamique de cette infection létale reste particulièrement forte : 2,1 millions d'adultes et 420.000 enfants se sont ainsi contaminés en 2007 (96% dans les pays en développement), soit plus que le nombre total de décès estimés pour cette même année (1,7 million d'adultes et 290.000 enfants). L'Afrique subsaharienne reste plus que jamais l'épicentre de la pandémie. Pourtant ce sont près de 2,5 millions de personnes qui vivent avec le VIH qui sont désormais sous traitement antirétroviral, soit un tiers de ceux qui en ont un besoin immédiat.

Dans ce contexte fortement évolutif, de nombreuses solutions validées s'offrent aux décideurs, acteurs de santé et de la prévention et à leurs populations cibles et la recherche contribue toujours activement à leur amélioration. La communauté scientifique reste toujours fortement mobilisée pour d'une part identifier des nouvelles approches préventives et thérapeutiques et d'autre part optimiser les stratégies d'efficacité démontrée et les faire appliquer rapidement et à large échelle.

L'ANRS est fortement mobilisée pour soutenir la recherche dans les pays en développement au travers de sa politique de sites (Afrique du Sud, Brésil, Burkina Faso, Cambodge, Cameroun, Côte d'Ivoire, Egypte, Sénégal, VietNam). La part de son budget consacrée à la recherche dans les pays en développement augmente ainsi régulièrement.

L'Action Coordonnée n°12 est le mécanisme d'animation scientifique de la recherche de l'Agence dans les pays en développement. L'AC12 fonctionne par grands axes prioritaires de recherche partagés entre chercheurs français et des pays en développement : prévention de la transmission sexuelle, prévention et traitement de l'infection de la mère et de l'enfant, morbidité et complications thérapeutiques, tuberculose, co-infection par les hépatites virales, quantification et résistance virale, économie de la santé, recherche opérationnelle.

Le résumé des travaux récemment engagés par ces groupes de travail de l'AC12 ainsi que les conclusions d'une réunion récente de l'Organisation Mondiale de la Santé sur les lacunes en matière de recherche pour guider les politiques publiques permettent de dresser une liste non exhaustive des priorités de recherche dans les pays en développement à court et moyen terme.

14. THE NON-PATHOGENIC SIVAGM INFECTION IN AFRICAN GREEN MONKEYS: LESSONS ON PROTECTIVE HOST RESPONSES

B. Jaquelin¹, V. Mayau¹, G. Brysbaert², M. Ploquin^{1,#}, D. Kunkel¹, O. Diop³, C. Butor⁴, P. Lebon⁵, A. Hosmalin⁶, F. Barré-Sinoussi¹, A. Benecke² & M. Müller-Trutwin¹.

¹Institut Pasteur, Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Paris; ²Institut des Hautes Etudes Scientifiques; ³Institut Pasteur, Sénégal; ⁴Université Paris 7; ⁵Laboratoire de Virologie, Hôpital Saint-Vincent de Paul et Université Paris V; ⁶Institut Cochin INSERM U567, CNRS UMR8104, IFR 116, Université Paris 5. #Present address: MRC-National Institute for Medical Research, London, UK.

mmuller@pasteur.fr

We search for the immunological correlates of protection against AIDS by studying non-pathogenic SIVagm infection in African Green monkeys (AGM). We have previously shown that the plasma and intestinal viral loads are similar to those reported in pathogenic SIVmac and HIV-1 infections. Despite this continuous viral replication, AGMs do not show chronic T cell activation. The protection against AIDS in AGMs is thus not associated with a more efficient control of viral replication, but with a better control of deleterious bystander immune activation. In order to assess the role of innate immune responses in T cell activation profiles in SIVagm-infected AGMs, we followed the dynamics of dendritic cells in blood and lymph nodes and searched whether they were associated with a particular cytokine balance. In order to analyze the impact of this early environment on CD4⁺ T cells, we performed transcriptional profiling on CD4⁺ T cells collected starting from day 1 post-infection in blood and lymph nodes from 6 AGMs and 6 rhesus macaques using a microarray platform. We aim to distinguish those signaling pathways that are induced specifically in either pathogenic or non pathogenic SIV infection. Altogether, such studies of the early events will contribute to decipher mechanisms underlying the regulation of harmful chronic T cell activation and disease progression.

15. AVIDITE, POLYFONCTIONNALITE ET TURNOVER CLONAL A LA BASE DE L'EFFICACITE DE LA REPONSE T CD8+ DANS L'INFECTION VIH

Victor Appay

Laboratoire d'immunologie cellulaire, INSERM U543, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

appay@chups.jussieu.fr

Les récents résultats de l'essai vaccinal réalisé par Merck (STEP), visant à induire une immunité T anti-VIH, n'ont indiqué aucun effet bénéfique de ce vaccin chez les patients vaccinés. Au delà de la déception engendrée par ces résultats, cet échec nous fait surtout prendre conscience que notre connaissance de l'immunité T et de son induction efficace par un vaccin est encore très limitée. La recherche de caractéristiques qualitatives reliées à une meilleure protection par les lymphocytes T CD8 contre le VIH reste donc un objectif majeur. Dans ce but, nous avons réalisé une étude détaillée des lymphocytes T CD8 restreints par HLA B27 et spécifiques d'un épitope de gag (KK10), qui sont associées à une capacité protectrice supérieure chez des patients infectés par le VIH. Cette stratégie nous permet de restreindre sensiblement la difficulté liée à l'hétérogénéité des lymphocytes T CD8 spécifiques du VIH, en nous concentrant sur l'analyse d'une population homogène (cad les lymphocytes T CD8 B27-KK10), et donc d'identifier des paramètres clairs associés au meilleur contrôle du VIH. En effet, les lymphocytes T CD8 B27-KK10 présentent une avidité fonctionnelle élevée et une capacité polyfonctionnelle supérieure par rapport aux lymphocytes T CD8 spécifiques d'autres épitopes du VIH (et restreints par d'autres allèles HLA). Ces deux paramètres identifiés semblent constituer la base du meilleur contrôle du VIH. Nous avons aussi démontré que les lymphocytes T CD8 B27-KK10 présentent un turnover clonal important, associé à un rapprochement vers un stade de sénescence répllicative (du fait de leur sensibilité pour l'antigène), ou à l'apparition d'un variant d'échappement. Il est important de considérer l'équilibre dynamique qui s'opère autour de ces paramètres pour instaurer un contrôle du VIH, qui, dans le temps, dépend fortement de la capacité du système immunitaire à renouveler son pool de lymphocytes T CD8 protectrices. Il semble à présent impératif de considérer ces paramètres, lors du design de vaccins anti-VIH basé sur l'immunité T, ainsi que pour l'immunomonitoring de ces vaccins.

16. REPONSE T CD8+ SPECIFIQUE, HLA CLASSE I ET CONTROLE DU VIH

Alain Venet,

Unité INSERM U802, Faculté de Médecine Paris-Sud, 63 rue Gabriel Péri, 94276 Le Kremlin-Bicêtre.

alain.venet@u-psud.fr

Un faible nombre de patients infectés par le VIH présente un contrôle spontané et durable de la réplication virale. La réponse immunitaire spécifique de ces patients apparaît en étroite relation avec ce contrôle : les lymphocytes T CD4+ spécifiques synthétisent de l'IL-2, les lymphocytes T CD8+ sont capables d'exercer ex vivo une capacité suppressive majeure de la réplication virale en l'absence de toute stimulation exogène. Cette dernière activité apparaît essentiellement liée à la présence de cellules T CD8+ spécifiques du VIH, en particulier celles restreintes par les allèles HLA-B27 et HLA-B57. Cependant, le lien entre les réponses T et le contrôle viral est plus subtil. D'une part, certaines fonctions des cellules HLA-B57 restreintes des patients HIC sont retrouvées chez des patients traités et pourraient ne traduire que l'effet d'une charge antigénique faible. D'autre part, une forte proportion de patients HLA-B57 n'appartient pas au groupe des HIC et leur réponse T CD8+ est sensiblement différente. Enfin, chez les patients HIC, les réponses non-restreintes par HLA-B57 ont des caractéristiques similaires à celles restreintes par HLA-B57, et ce quel que soit l'haplotype du patient. Les différentes facettes des réponses T CD8+ dans ces différents groupes seront présentées.

Ce travail a été réalisé à l'U802 (Bicêtre, Paris-Sud) en étroite collaboration avec les équipes de G. Pancino, A. Saez-Cirion et L. Chakrabarti (Institut Pasteur) sous la coordination du Dr O. Lambotte.

17. A GENOME WIDE ASSOCIATION STUDY IN HIV-1 INFECTED PATIENTS SHOWS THAT DIFFERENT LOCI CONTROL SERUM VIRAL LOAD AND RESERVOIR

Ioannis Theodorou

Hôpital Pitié – Salpêtrière, INSERM U 543, Paris.

ioannis.theodorou@psl.aphp.fr

Since the last few years, there has been a growing interest for the identification of novel loci in the host's genome that control complex diseases by genome-wide association studies (GWA). In the field of common infectious diseases, the first genome-wide association study correlated two SNP variants within the MHC region with control of serum viral load 6 to 18 months after HIV infection.(Fellay et al. 2007). A third SNP variant has been found in the same region controlling disease progression. However GWA association studies have several pitfalls including high rates of false positive and false negative signals. Although several statistical methods are available to reduce these errors, the gold standard is to perform a similar study in different cohorts with a similar methodology and validate positive signals, but also pick up SNPs that proved to be negative during the first study.

In this study we carried out a genome-wide association study (GWAS) in a cohort of Caucasian seroconverters and used different set points (compared to the Euro Chavi study) to find SNPs that influence HIV-1 viral loads. We have analysed data from 600 patients with a well documented seroconversion date and searched for genomic regions that control either serum or DNA viral load at very early stages of HIV-1 disease. We have also analysed a cohort of 45 HIV controllers in order to test whether the SNPs that affect very early viral load can also influence HIV-1 viral loads for longer periods. Finally we have performed a joint analysis of the data obtained in our study and those publicly available from the Euro-CHAVI consortium.

Taken together our data and those previously published suggest that the host's Major Histocompatibility locus genotype strongly influences HIV-1 serum viral loads during the whole course of HIV-1 disease. This same locus also influences HIV-1 DNA viral load but surprisingly other loci also seem to participate to the control of this phenotype.

18. L'OBSERVATOIRE NATIONAL ANRS DES « HIV CONTROLLERS » (HIC) : BILAN APRES DEUX ANNEES DE RECRUTEMENT

**Boufassa F¹, Olivier Lambotte², Rouzioux C³, Delfraissy JF², Meyer L¹
pour le groupe d'étude ANRS EP36.**

¹INSERM U 822, Service d'épidémiologie, Hôpital Bicêtre, Paris Sud 11, Le Kremlin-Bicêtre, ²Service de Médecine interne, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France, ³Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker, Paris, France.

olivier.lambotte@bct.ap-hop-paris.fr

Les HIC sont des patients infectés par le VIH-1 depuis plus de 10 ans, n'ayant jamais reçu de traitement antirétroviral et dont plus de 90% des mesures d'ARN VIH plasmatique sont < 400 copies/ml. L'Observatoire National des HIC a été mis en place en 2006 dans une trentaine de centres ANRS en France métropolitaine et dans les DOM. Les données de CD4 et charge virale recueillies depuis le diagnostic de l'infection VIH sont colligées. Une bibliothèque est constituée au moment du recrutement qui servira à répondre à des questions d'ordre virologique et génétique sur les mécanismes de protection contre le VIH. A ce jour, 76 patients ont été recrutés et pour 64 les données sont saisies. L'âge médian au diagnostic d'infection VIH est de 29 ans (étendue : 0-49), 42% sont des femmes et 87% caucasiens. L'année médiane de diagnostic VIH est 1989 (1983-1997), soit en médiane 18 années d'infection VIH connue. La médiane des mesures de CD4 entre 1986 et 2007 est de 751 CD4/mm³ [IQR : 581-950], 3% des mesures étaient ≤ 350 /mm³. La perte moyenne des CD4 sur la période considérée est estimée à -14 [-16,-12] CD4/mm³ par an. Entre 1989 et 2007, seulement 2% des mesures d'ARN VIH étaient ≥ 1000 copies [1600-4600]. L'ADN VIH-1 médian à l'inclusion dans l'observatoire était de 1,77 [1,44-2,07] log copies/millions PBMC. L'observatoire fournit des données cliniques et épidémiologiques essentielles qui permettront de mieux comprendre les mécanismes de contrôle de l'infection par le VIH chez ces patients.

19. FORTES REPONSES PROLIFERATIVES T CD4 AU VIH CHEZ DES PATIENTS TRAITES ET CONTROLES VIROLOGIQUEMENT DEPUIS 10 ANS (ETUDE DECAMUNE)

Amélie Guihot^{1 2}, Guillaume Breton³, Roland Tubiana², Bahia Amellal⁴, Anne-Geneviève Marcelin⁴, Maria-Emilia Gonçalves², Karim Benhadj¹, Assia Samri¹, Dominique Costagliola⁵, Christine Katlama², Brigitte Autran¹, Guislaine Carcelain¹, le groupe d'étude ALT-ANRS CO 15 et le groupe d'étude DECAMUNE.

*Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire du Pr. Debré,
Unité Inserm U543, Bâtiment CERVI, Hôpital Pitié-Salpêtrière,
47, bd de l'hôpital, 75013, Paris, France*

amelie.guihot@psl.aphp.fr

Nous avons étudié le statut immunitaire de patients sous ARV contrôlés virologiquement (CV (<200 cp/mL) depuis 10 ans (ARV10c, n=16), comparativement à des patients contrôlés depuis 3 ans (ARV3c, n=11), et à des VIH «controllers» (VIHc, n=11) non traités (CD4>600/mm³, CV<200 cp/mL). La différenciation des CD4 et CD8 (CD45RA, CD62L, CD38, CD25, HLA-DR), les réponses lymphoprolifératives et ELISpot-IFN γ contre VIH et CMV, la charge provirale VIH ont été étudiés.

Les médianes de CD4 étaient: ARV10c: 662(185-1111), ARV3c: 560(182-1338), VIHc: 715(669-902)/mm³. Les populations naïves CD4+45RA+62L+ et T activées étaient normales chez les ARV10c, sauf CD8+HLA-DR+. Des réponses lymphoprolifératives contre p24 étaient détectées chez 10/15 ARV10c, 3/11 ARV3c, 6/11 VIHc, [13(2-80), 3(1-25), et 3(1-74) IS (ARV10c-ARV3c: p=0,02, ARV10c-VIHc: NS)]. Chez 7 ARV10c, ces réponses en cytométrie en flux étaient fortes et médiées par les CD4 [médiane 6(1-13)%]. Peu de cellules CD4 anti-VIH étaient détectées en ELISpot IFN γ : p24: 4/11 ARV10c, 5/9 ARV3c, et 5/7 VIHc répondeurs [médianes faibles: 40(0-200), 53(0-1320), et 183(0-430) SFC/10⁶ PBMC (ARV10c-VIHc: p=0,03)]. Des fréquences faibles de CD8 anti-VIH étaient détectées chez les ARV10c: 11/14 ARV10c et 8/8 VIHc répondeurs [médianes 230(0-4,067) et 2202(160-12,547) SFC/10⁶ PBMC, p=0,01] mais ces cellules sont polyfonctionnelles. Les médianes des charges provirales VIH étaient basses: ARV10c: 157(52-632) et VIHc: 30(2-64) copies/10⁶ PBMC, NS, non corrélées aux réponses immunes.

Les patients traités et contrôlés virologiquement pendant 10 ans présentent de fortes réponses lymphoprolifératives anti-VIH, probablement en rapport avec une charge provirale détectable. Leurs réponses effectrices anti-VIH sont faibles, en rapport avec des CV indétectables.

20. ACTIVATED NK CELLS INDUCE THE MATURATION OF INFECTED DC BY AN HMGB1-DEPENDENT MECHANISM. IMPLICATION FOR THE ESTABLISHMENT OF HIV-1 RESERVOIRS

Héla Saidi, Marie-Thérèse Melki, Marie-Lise Gougeon

Antiviral Immunity, Biotherapy and Vaccine Unit, Institut Pasteur, 25-28 rue du Dr. Roux, 75015 Paris

hsaidi@pasteur.fr

Early stages of viral infections are associated with local recruitment and activation of NK cells and DC, an essential subset for both antigen-presentation and activation of naïve CD4⁺ T cells. NK-DC crosstalk is important for DC homeostasis and maturation. In this study, we addressed the question of the influence of NK cells on infected DC maturation, and the mechanisms involved. We report that HIV-infection of iDC did not induce their maturation, as evaluated by the coexpression of CD86 and HLA-DR, while their coculture with aNK cells did. NK-induced maturation of infected DC was inhibited by polyclonal antibodies specific for HMGB1 molecule or by glycyrrhizin, suggesting an important role of the pro-inflammatory cytokine HMGB1 in this process. Interestingly, aNK were also able to polarize the production of IL-12 by DC that in turn induced a T helper 1-like immune response when cultured with CD4⁺CD45RA⁺ T cells. In contrast, infected DCs were no more susceptible to NK-dependent IL-12 polarization, and thus no more able to polarize T cell responses. In addition, NK-dependent DC maturation was associated with an increased production of HIV-1 by DC.

Altogether, our results show that aNK cells 1 - induce the maturation of infected DC through an HMGB-1 mechanism; 2- induce IL-12 production by DC and Th1 polarization; 3- increase HIV production by infected DC. Thus, NK cells would facilitate both HIV-1 persistence in DC and inhibit Th1 polarization by DC.

21. A RAPID HIV-1 NEUTRALIZATION ASSAY FOR MEASURING THE ANTIVIRAL CAPACITY OF CD8 T CELLS

So Youn Shin¹, Pierre Versmisse¹, Alejandra Urrutia², Olivier Lambotte², Martine Sinet², Alain Venet², Gianfranco Pancino¹ and Asier Sáez-Cirión¹ for the Agence Nationale de Recherche sur le Sida EP36 HIV Controllers Study Group.

¹Institut Pasteur, Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, 75725 Paris, France; ²INSERM, Unité 802, Faculté de Médecine Paris XI, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France; ³Hôpital Bicêtre, Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France.

syshin@pasteur.fr

Current methods used to assess HIV specific CD8 T cell responses (e.g. measuring cytokines production) might not accurately measure the function of these cells, and their convenience to evaluate vaccine-elicited cellular immune responses has been challenged. We have shown that capacity of *ex vivo* CD8 T cells to suppress HIV-1 infection, which is the ultimate function of cytotoxic CD8 T cells, correlates with spontaneous control of viremia in HIV controllers (HIC).

In this study we setup a rapid and convenient virus “neutralization” assay which quantitatively measures the capacity of CD8 T cell to suppress HIV infection in autologous CD4 T cells. CD4 and CD8 T cells were purified from freshly isolated PBMCs from HIV viremic individuals, HICs and normal donors. CD4 T cells were activated for 3 days with phytohemagglutinin, challenged with HIV-1 BaL and mixed with non-stimulated autologous CD8 T cells at different ratios. HIV-1 replication was monitored at 72h post infection by intracellular staining of 5×10^4 cells for Gag antigens.

Using this technique we observed that *ex vivo* CD8 T cells from HIC have a higher capacity to suppress HIV infection than those from viremic individuals, confirming our previous results obtained with p24 ELISA monitoring during 14 days. This capacity is absent in normal donors. Importantly, in HICs the antiviral capacity of CD8 T cells correlates with IFN- γ production upon peptide stimulation ($R=0.857$, $p=0.002$).

The antiviral capacity of circulating CD8 T cells can thus be measured in 72 hours using a small number of cells. This assay could be used as a surrogate marker in evaluating efficacy of HIV specific responses in vaccine trials.

22. VACCINS PREVENTIFS VIH/SIDA : VERS DE NOUVELLES APPROCHES VACCINALES ?

Marc P Girard

Université Paris 7-Denis Diderot, Lyon

marc.girard36@wanadoo.fr

Le développement d'un vaccin contre le VIH/SIDA se heurte à des difficultés considérables qui sont bien connues: hypervariabilité génétique du virus et génération de mutants d'échappement aux CTL ou aux anticorps neutralisants, intégration du génome viral sous forme de provirus potentiellement latent à l'abri du système immunitaire, absence totale d'éventuels corrélats de protection, incapacité où nous sommes aujourd'hui encore d'induire par la vaccination des anticorps neutralisants de large spectre d'activité (« *cross-clade* ») qui soient actifs contre les isolats sauvages du virus, etc. L'arrêt prématuré de l'étude de Phase IIb du vaccin Merck, basé sur un vecteur adenovirus 5 (Ad5-HIV) qui devait induire la production de lymphocytes T CD8⁺ capables de contrôler les charges virales chez les vaccinés qui s'infecteraient, fait suite à l'échec des Phases III du vaccin sous-unité à base de gp120 qui devait induire des anticorps neutralisants circulants chez les vaccinés. Ces deux échecs ne signifient pas que les approches ainsi développées sont des impasses, mais ils en illustrent les difficultés et les limites. Ils impliquent aussi que les tests immunologiques utilisés pour mesurer l'immunogénicité des candidats vaccins utilisés dans ces études étaient insuffisants, voire inadaptés, notamment car ils ne permettaient pas de mesurer la fonctionnalité des réponses immunitaires induites par le vaccin. Les mêmes vaccins se sont d'ailleurs avérés dépourvus d'efficacité dans le modèle animal SIV /macaque. Devant l'insuccès de ces deux premières générations de vaccins VIH, la possibilité de développer une troisième génération de vaccin se fait attirante, en mettant l'accent sur l'immunité muqueuse et en tentant d'établir une double barrière, humorale (à base d'IgA et IgG) et cellulaire, au niveau des muqueuses et sous-muqueuses génitale et intestinale qui représentent les principaux sites d'entrée puis de réplication du virus.

23. IMMUNISATION THERAPEUTIQUE ANTI-VIH : BILAN

Brigitte Autran

Laboratoire d'Immunologie Cellulaire, UMR INSERM 543, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie-Paris-6

brigitte.autran@psl.ap-hop-paris.fr

L'évaluation de stratégies d'immunisation thérapeutique anti-VIH a été proposée afin d'explorer le développement de stratégies de relais des antirétroviraux (ARV) dans la gestion à long terme de l'infection VIH. Ces stratégies alternatives d'immunothérapie étaient justifiées par la nécessité de maintenir un traitement ARV à vie, du fait de l'incapacité des ARV à éliminer le virus. Les succès thérapeutiques des ARV, quelle que soit leur classe, sont également limités par leur toxicité à long terme et leur coût, ainsi que par leur incapacité à restaurer une forte réponse immune anti-VIH, ceci reflétant simplement la baisse de production d'antigènes VIH et non un déficit immunitaire. De plus les essais d'interruption thérapeutique se sont révélés inéluctablement suivis de rechutes de réplication virale imposant la reprise des traitements, mais ont eu le mérite de montrer que les réponses immunes anti-VIH étaient restimulées par la ré-exposition au virus. Ainsi il a été proposé de restimuler les défenses immunes anti-VIH avant d'interrompre les ARV, en associant aux ARV des préparations vaccinales activant essentiellement l'immunité cellulaire anti-VIH. Ces stratégies ont été testées soit en phase aigüe soit en phase chronique de l'infection VIH et ont utilisé divers candidats vaccins au premier rang desquels viennent les vecteur viraux recombinés pour des gènes du VIH, utilisés seuls ou en association avec d'autres candidats vaccins ou des cytokines. Plusieurs essais cliniques randomisés, multicentriques ont été conduits en France, avec l'ANRS, et dans le monde. Un bilan et une analyse comparative des résultats seront présentés et discutés.

24. DENDRITIC CELLS CROSS PRESENT ANTIGENS AND ACTIVATE T CELLS

Sebastian Amigorena

Institut Curie, Inserm U 653, Paris

sebas@curie.fr

Dendritic cells initiate most adaptative immune responses. They phagocytose antigens in peripheral tissues and then migrate to lymph nodes, where they present antigens to CD4+ and CD8 T cells. In the last few years, we have analysed the phagocytic pathway of dendritic cells, unraveling several unique characteristics of these particular type of phagocytes. We have also imaged the interactions of dendritic cells with T cells intravitaly, thus describing some of the fundamental mechanisms of T cell activation by dendritic cells. We will discuss how the understanding dendritic cell function can contribute to the design of efficient vaccination strategies in humans.

25. PLACE DES ANTICORPS DANS LES STRATEGIES VACCINALES

Christiane Moog

U575 INSERM/ULP, Institut de Virologie, 3 rue koeberlé 67 000 Strasbourg

c.moog@viro-ulp.u-strasbg.fr

Il est maintenant admis que les anticorps neutralisants, anticorps susceptibles à eux seuls d'inhiber le pouvoir infectieux du virus, constituent l'un des composants de la réponse immunitaire à induire pour espérer obtenir un vaccin efficace contre le VIH. En effet, de nombreuses études ont démontré que le transfert d'anticorps neutralisants permet une protection dans un modèle d'infection expérimentale de primates non humains. De plus, les récents résultats de l'essai STEP Merck chez l'homme démontrant l'inefficacité d'un vaccin basé uniquement sur l'induction d'une réponse cellulaire avec un possible effet facilitant, redirigent les efforts de vaccination vers la recherche de protocoles vaccinaux permettant aussi l'induction d'une réponse immunitaire humorale, en particulier d'anticorps neutralisants. L'induction d'anticorps neutralisants s'avère toutefois être une tâche très ardue : aucun immunogène n'a permis, pour l'instant, d'induire des anticorps neutralisant un large spectre d'isolats primaires. L'essai Vaxgen de phase III basé sur l'inoculation de gp120 a été un échec. De plus, malgré de nombreux efforts, nous ne disposons que de cinq anticorps monoclonaux (IgG1b12, 2F5, 4E10, 447-D, 2G12) neutralisant un large spectre d'isolats primaires. Ainsi les anticorps neutralisants sont rares et difficiles à induire.

Etant donné que la transmission hétérosexuelle du VIH par les muqueuses est devenue le mode majeur de contamination (environ 80% des infections), de nombreuses études sont focalisées sur la détermination du mécanisme d'entrée du virus dans les différentes muqueuses. Ces études proposent que les cellules dendritiques seraient vraisemblablement les premières cellules cibles du virus dans les muqueuses. Il est donc important de pouvoir prévenir l'infection de ces cellules.

L'analyse de l'activité neutralisante d'anticorps anti-VIH a révélé plus fréquemment une activité inhibitrice avec des titres plus élevés lorsque les cellules dendritiques et les macrophages sont les cibles du virus et non les lymphocytes. L'étude du mécanisme de neutralisation nous a permis de démontrer que cette augmentation de l'activité inhibitrice implique la participation des récepteurs FcγRI et FcγRII exprimés à la membrane des macrophages et des cellules dendritiques immatures respectivement. Ce mécanisme d'inhibition, distinct de la neutralisation du pouvoir infectieux du virus *via* la partie Fab des immunoglobulines G (IgG), fait intervenir la partie Fc des IgG et les récepteurs Fcγ présents à la membrane cellulaire. De plus, certains anticorps non neutralisants, qui ne sont pas capables d'inhiber le VIH dans les lymphocytes, inhibent efficacement l'infection des macrophages et des cellules dendritiques par le mécanisme d'inhibition Fc dépendant; de ce fait, ces anticorps ont été nommés « anticorps non-neutralisants inhibiteurs ».

L'équipe de D. Burton (SCRIPPS Institute, La Jolla) a récemment montré que les récepteurs Fcγ participent à la protection conférée par l'anticorps neutralisant b12 dans le modèle de macaque infecté expérimentalement par voie vaginale. En effet, à l'inverse des résultats obtenus avec l'anticorps sauvage, la protection est diminuée après transfert d'un anticorps muté qui ne permet pas la fixation aux récepteurs Fcγ. L'étude de l'activité d'anticorps neutralisants doit donc être élargie à d'autres anticorps, anticorps qui n'ont pas forcément une activité neutralisante, mais peuvent inhiber l'infection par d'autres mécanismes ou favoriser la clearance du VIH. En plus des récepteurs Fc, d'autres mécanismes pourraient participer à l'inhibition du VIH comme le complément, l'agrégation ou l'ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity).

Une meilleure connaissance de ces nouveaux mécanismes d'inhibition devrait nous permettre de développer de nouveaux immunogènes capables d'induire, par vaccination, des anticorps protecteurs.

26. PROGRAMME VACCINAL DE L'ANRS

Yves Lévy

Hôpital Henri Mondor 04010 Créteil Cedex

yves.levy@hmn.aphp.fr

L'ANRS est engagée depuis près de 15 ans dans la recherche vaccinale. L'Agence est à la fois financeur de recherches fondamentales sur le vaccin, développeur d'une stratégie vaccinale de « Prime-Boost » d'une immunité à médiation cellulaire et promoteur d'études de différents candidats vaccins dans le cadre d'essais cliniques de vaccins préventifs et thérapeutiques.

Un nouvel agenda scientifique s'est mis en place à partir de fin 2006 afin d'intégrer les avancées dans le domaine des connaissances fondamentales de l'immunologie, l'évolution des concepts et les données les plus récentes obtenues avec différents candidats vaccins. La stratégie est : i) **de mobiliser** les efforts autour de la recherche vaccinale au sein d'une structure administrative unique à l'ANRS ; ii) **de renouveler** le partenariat entre l'ANRS et des chercheurs immunologistes, virologistes, biologistes cellulaires, spécialistes de modèles primates ; iii) **de diversifier** la stratégie vaccinale en termes de candidats vaccins à associer aux lipopeptides ou de modes de présentation des épitopes du VIH contenus dans ces vaccins ; iv) **d'établir** un nouveau partenariat avec les sites cliniques ; v) faire **évoluer** la technologie des tests immunologiques utilisés dans les essais vaccinaux. L'ensemble de cette recherche s'intègre dans un partenariat international au niveau académique, industriel ou institutionnel comme la Global HIV Vaccine Enterprise.

L'administration répétée des vecteurs recombinants se heurte à leur immunogénicité propre ce qui renforce l'intérêt de développer une stratégie fondée sur l'utilisation des épitopes peptidiques du VIH. Ces épitopes, jusqu'à présent adjuvantés par le couplage lipidique (lipopeptide), sont utilisés en rappel d'une administration de vaccins ADN ou de vecteurs recombinants (Pox Virus). Plus récemment, en partenariat avec le Baylor Institute/INSERM (Dallas), l'ANRS a mis en place une nouvelle approche originale reposant sur le ciblage des épitopes du VIH sur les Cellules Dendritiques (CD) à l'aide d'une série d'anticorps monoclonaux humains (AcmHu) spécifiques de molécules de surface des CD. En partenariat avec Transgène, l'ANRS développe un vaccin MVA (Gag/Pol/Nef (B)) avec pour objectif l'évaluation, dès 2008, d'une stratégie associant ce vecteur et le vaccin lipopeptide actuellement testé en phase II (Essai ANRS Vac 18). D'autre part, avec le consortium Européen Eurovacc et sous promotion ANRS, un essai de phase II (EV03/ANRS VAC20) testant différentes stratégies de « Prime » basées sur un vaccin ADN (clade C) et un « boost » NYVAC (C) est en cours d'évaluation dans les sites cliniques vaccinaux de l'ANRS, en Angleterre, Allemagne et en Suisse. Enfin, un partenariat avec la firme FitBio va permettre l'évaluation d'une combinaison d'un vaccin ADN Multiclade (A/B/C) et du vaccin lipopeptide dans un essai prophylactique et thérapeutique.

Le programme clinique de vaccination préventive repose sur le réseau des volontaires de l'ANRS. En 2008, sera mis en place la cohorte post- vaccinale COHVAC. Cette étude de suivi à long terme sera proposée à tous les volontaires qui ont participé à un essai vaccinal de l'ANRS depuis 1992 afin d'évaluer la tolérance à long terme de l'immunisation anti-VIH de volontaires sains. Après les résultats des essais de vaccination thérapeutique (ANRS 093 et 095), l'ANRS poursuit cette stratégie par plusieurs essais utilisant les vecteurs développés par l'ANRS seule ou en partenariat. Par ailleurs, un essai d'immunisation par des CD autologues générées in vitro et chargées des lipopeptides, chez des patients infectés par le VIH sous traitement antiviral, débutera fin 2008 à Dallas.

Sur le plan fondamental et pré clinique, les objectifs du programme sont de mieux comprendre l'immunogénicité des lipopeptides seuls ou associés à des vecteurs recombinants in vitro en

intégrant les données les plus récentes sur la synapse immunologique entre les CD et les lymphocytes T spécifiques. L'identification de nouveaux corrélats immunologiques innés d'immunité protectrice à pour objectif une meilleure compréhension des mécanismes d'induction d'une réponse T polarisée, notamment avec les vaccins recombinants. Les modèles primates sont utilisés pour tester la qualité de la réponse immune induite par les lipopeptides et les peptides du VIH ciblés par anticorps sur les CD, utilisés seuls ou associés aux vaccins recombinants développés par l'ANRS.

Fort des résultats acquis ces dernières années, le nouveau projet de l'ANRS répond à la nécessité d'adapter la recherche vaccinale, fondée sur l'utilisation d'épitopes du VIH, aux nouveaux défis. L'enjeu est de passer d'approches empiriques à la formulation de questions reposant sur l'amélioration des connaissances acquises dans les différents domaines impliqués dans la mise au point d'un vaccin. Cet agenda repose sur une nouvelle structuration et coordination de la recherche vaccinale, l'extension de collaborations avec des partenaires scientifiques académiques, industriels ou institutions Européennes et internationales. Cette nouvelle étape devrait permettre de définir les meilleures associations vaccinales en terme de tolérance et d'immunogénicité qui seront évaluées dans des essais de phase IIb. Ces essais auront pour but de démontrer la preuve du concept d'une vaccination fondée sur une approche épitopique dans la réduction du risque d'infection et/ou le contrôle de la réplication virale après infection. Enfin, ces essais de phase IIb devraient impliquer les centres ANRS présents en Afrique (Cameroun, Burkina Faso) ou en Amérique du Sud (Brésil). En tant que promoteur, il sera important d'initier en amont une réflexion globale sur des questions d'éthique et sur le bénéfice/risque des essais vaccinaux dans les sites ANRS des pays en développement. L'agenda de l'ANRS prévoit la mise en place au plus tôt d'un partenariat avec ces centres.

27. MHC-II PRESENTATION OF HIV ANTIGENS BY INFECTED APC : INVOLVEMENT OF AUTOPHAGY

A. Moris¹, M. Guerbois², F. Guivel-Benhassine¹, C. Trouillet¹, F. Tangy² and O. Schwartz¹.

¹Unité Virus et Immunité, ²Génomique virale et Vaccination, Institut Pasteur, Paris,

moris@pasteur.fr

Antigen presenting cells (APC) such as DC, macrophages can be productively infected by HIV and present viral antigens by MHC molecules. HIV-specific (HS) CD4+ lymphocytes are preferentially infected in HIV-positive individuals. We have previously shown a direct link between antigen-specific T cell activation and HIV transfer from DC to HS CD4+ cells. We are currently dissecting HIV antigen presentation by APC. MHC class II molecules are generally loaded with exogenous antigens derived from incoming virions. We asked whether neosynthesized viral proteins represent a source of endogenous antigens for MHC-II molecules and activate HS CD4+ T cells.

We first used a variety of cell types, including B cell lines, HLA-DR+CD4+ HeLa cells, and primary DC, to determine whether MHC-II presentation occurs after processing of exogenous or endogenous viral antigens. HeLa and B cells loaded with replication-defective HIV poorly stimulate HS CD4+ T, but efficiently presented HIV antigens after productive infection. In contrast HIV-pulsed DC activate HS CD4+ T cells through the exogenous pathway. To determine further whether endogenous viral antigens are presented by MHC-II molecules in DC, we infected these cells with recombinant measles virus vectors (MV) expressing HIV-1 Gag. MV-infected DC expressed Gag and induced a potent activation of HS CD4+ T cells. Additionnal, experiments with infectious and defective HIV indicated that DC are efficiently presenting epitopes derived from neosynthesized endogenous antigens

Autophagic processes, including macro-autophagy and chaperone-mediated autophagy (CMA) contribute to the generation of MHC-II-restricted peptides. Using inhibitors and markers of autophagosome formation, we observed that macro-autophagy is not involved in the processing of Gag epitopes. In contrast, shRNA-mediated knock-down of Lamp2a, a major component of CMA, reduced the capacity of HIV-infected cells to activate Gag-specific CD4+ T cells. We are currently examining whether and how Gag proteins are trafficking towards CMA compartments.

In sum, we show that newly-synthesized endogenous HIV proteins are a major source of MHC-II-restricted antigens in APC, through a process involving in part chaperone-mediated autophagy.

28. A LENTIVIRAL VECTOR PRIME-BOOST VACCINATION CONFERS STRONG PROTECTION AGAINST MASSIVE SIVMAC251 CHALLENGE IN MACAQUES

Anne-Sophie Beignon^{*}, Karine Courbeyrette[§], Christelle Liard^{*B}, Frédéric Coutant^{*}, Sandie Munier^{*}, Julie Rivière[#], Roger Legrand[‡], Philippe Souque^{*} and Pierre Charneau^{*§}

^{}CNRS URA 3015, G5 Virologie Moléculaire et Vectorologie, Institut Pasteur, Paris, France [§]TheraVectys, Institut Pasteur – BioTop, Paris, France [‡]Service d'immuno-virologie / UMR E1, Paris XI, Commissariat à l'Energie Atomique, DSV/iMETI, Fontenay-aux-Roses, France [#]INSERM U768, Université René Descartes-Paris 5, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ^BPresent address : INSERM U543, Paris, France*

asb@pasteur.fr

The field of AIDS vaccination has a pressing need for more potent vaccination vectors capable of eliciting strong, diversified and long-lasting cellular immune responses against HIV. Lentiviral vectors have a proven efficiency not only as gene delivery vehicles for gene therapy applications but also as vaccination tools. This is likely due to their ability to transduce non-dividing cells, including dendritic cells, enabling sustained endogenous antigen presentation and thus the induction of high proportions of specific cytotoxic T cells and long-lasting memory T cells.

We show here that a prime-boost vaccination strategy using lentiviral vectors pseudotyped with a glycoprotein G from two non-cross-reactive VSV serotypes elicited robust and broad cellular immune responses against the vector-encoded antigen, SIV GAG, in cynomolgus macaques. Vaccination conferred protection against a massive intra-rectal challenge (500 AID₅₀) with SIVmac251 as evidenced both by the reduction of viremia at the peak of primo-infection (a mean of 2 log₁₀ fold reduction) and the full preservation of the central memory CD4⁺ T cells during the acute phase. Post-acute viremia was lower in vaccinees compared to naive animals and mock-vaccinees, particularly when compared to unvaccinated progressor animals. Immune correlates of protection were found between the reduction of viremia at the peak of primo-infection and both the magnitude of the vaccine-induced GAG-specific immunity and the maintenance of the central memory CD4⁺ T cells compartment during the acute phase of infection.

A simple and non-optimized SIV GAG antigen was chosen in this study to underline the strong potential of the lentiviral vector system for vaccination. Given that a stronger protection can be anticipated from a modern HIV-1 antigen design, gene transfer vectors derived from HIV-1 appear as promising candidates for vaccination against HIV-1 infection itself.

29. UNE NOUVELLE STRATEGIE VACCINALE ANTI-HIV1 : DE LA THEORIE À LA PREUVE DE CONCEPT CHEZ LE MACAQUE

Vincent Vieillard, Roger Le Grand, Dominique Costagliola, Patrice Debré

INSERM U543, Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

vincent.vieillard@chups.jussieu.fr

Contrairement aux diverses stratégies d'immunothérapie qui visent à prévenir ou diminuer l'infection HIV, nous nous sommes focalisés sur une nouvelle stratégie vaccinale pour prévenir la pathogénèse qu'elle induit. Cette approche découle de différents résultats :

- *Ex vivo*, nous avons montré que NKp44L, le ligand de NKp44, récepteur activateur NK s'exprime exclusivement sur les cellules T CD4. Son expression est corrélée au taux de CD4 et de la charge virale. Un motif hautement conservé et spécifique de la gp41 du HIV1, appelé 3S, induit spécifiquement l'expression de NKp44L. La présence d'anticorps anti-3S est détectable chez les patients infectés aux stades initiaux de l'infection et leur diminution ou absence est un élément prédictif de la chute du taux des CD4.

- *In vivo*, le rôle protecteur des anticorps anti-3S sur la déplétion CD4 a été confirmé dans un modèle de macaques cynomolgus infectés par le SHIV162P3. Les animaux ont été immunisés par le peptide 3S couplé à la KLH ou par le KLH seul, infectés par le SHIV puis suivis pendant 200 jours. Nos résultats montrent que la forte production d'anticorps anti-3S a) n'a pas d'effet sur la charge virale; b) inhibe l'expression du NKp44L sur les CD4 ainsi que l'apoptose de ces cellules ; c) prévient la déplétion lymphocytaire : le taux et le pourcentage des CD4 sont similaires à la valeur basale chez les animaux vaccinés contre 3S, tandis qu'ils diminuent significativement chez les animaux contrôles.

L'ensemble de ces résultats suggère que l'immunisation par le motif 3S représente une nouvelle approche vaccinale dirigée, non contre le HIV, mais contre la pathogénèse qu'il induit, validant un concept appliqué dans d'autres modèles, telles les vaccinations par des anatoxines.

Présentations affichées

Histoire naturelle Thérapeutique

1. TENOTHIOVIR ET ADETHIOVIR: NOUVEAUX ANALOGUES PHOSPHONATES ACYCLIQUES ACTIFS CONTRE LE VIH ET LE VHB

Karine Alvarez, Karine Barral, Antoine Frangeul, Johan Neyts, Jan Balzarini, Jean-Louis Romette et Bruno Canard

Laboratoire AFMB : Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, UMR 6098

Le Tenofovir sous forme de prodrogue (VIREAD®, Gilead) est donné en monothérapie contre le VIH-1 depuis 2001. C' est un médicament majeur dans la lutte anti-VIH. Ce composé est un analogue de nucléotide de type phosphonate acyclique. Il a révolutionné le traitement contre le VIH-1 et a permis de véritablement améliorer les prises (fréquence, dosage) du médicament. Toutefois, comme pour tous les autres nucléosides utilisés en thérapie, les virus (en particulier, ceux déjà résistants à l'AZT) répondent mal au traitement, ou bien deviennent résistants à ce composé (mutation K65R). Notre groupe s'intéresse de très près à ces problèmes de résistance. Leur compréhension est fondamentale pour nous guider vers la conception de nouveaux médicaments plus efficaces.

Nous avons récemment découvert des analogues thiophosphonates dérivés de l'Adéfovir (PMEA) et Tenofovir (PMPA), actifs contre le VIH-1, VIH-2 et le VHB en culture de cellules infectées. Ces composés, baptisés **Adethiovir** et **Tenothiovir**, ont été synthétisés selon une méthode originale. Nous avons synthétisé les formes triphosphates correspondantes et vérifié qu'ils sont de bons substrats et inhibiteurs de la RT du VIH. Ils sont terminateurs de chaîne et contournent la résistance de plusieurs mutants d'intérêt, faisant de ces molécules des candidats médicaments particulièrement prometteurs [1].

Les recherches en cours, les résultats et les perspectives seront présentées et discutées.

2. EVOLUTION VIRO-IMMUNOLOGIQUE APRES INITIATION D'UNE PREMIERE COMBINAISON DE TRAITEMENTS ANTIRETROVIRAUX CONTENANT DU LOPINAVIR-RITONAVIR CHEZ DES PATIENTS INFECTES PAR LE VIH-2. COHORTE ANRS CO5 VIH-2, 2002-2007

A Bénard¹, F Damond², P Campa³, A Taieb¹, F Simon⁴, D Descamps², B Autran⁵, F Brun-Vézinet², G Chêne¹, S Matheron⁶ and the ANRS CO5 HIV-2 Cohort.

¹-INSERM, U897, Bordeaux, F-33076 France; Université Victor Segalen Bordeaux 2, ISPED, Bordeaux, F-33076 France;

²-APHP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Laboratoire de virologie, Paris, F-75018 France;

³-APHP, Hôpital Saint Antoine, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Paris, F-75012 France;

⁴-APHP, Hôpital Saint Louis, Laboratoire de Virologie, Paris, F-75010 France;

⁵-APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Laboratoire d'Immunologie Cellulaire, Paris, F-75013 France;

⁶-APHP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Paris, F-75018 France.

Objectif :

Estimer la réponse immuno-virologique après l'initiation d'une combinaison de traitements antirétroviraux (cART) contenant du lopinavir-ritonavir (LPV/r) chez des patients naïfs infectés par le VIH-2.

Méthodes :

Les patients naïfs de la cohorte ANRS CO5 VIH-2 ayant débuté une première cART contenant du LPV/r ont été inclus dans l'étude. Le succès thérapeutique était défini comme un delta $\geq +50$ lymphocytes TCD4 entre le début du traitement (S0) et la 24ème semaine (S24), associée à une charge virale (CV) indétectable à S24. Un modèle linéaire généralisé a permis d'estimer les pentes d'évolution des CD4.

Résultats :

Vingt neuf patients ont été inclus dans l'analyse. A S0, la médiane de CD4 était de 142/mm³ (Intervalle Inter-Quartile (IIQ) : 59-259) et la CV médiane était de 2189 copies/ml (IIQ : 1024-7122) chez les 16 patients (69%) ayant une CV détectable.

A S24, 17 patients étaient en succès thérapeutique (59% ; Intervalle de Confiance à 95% (IC) : 3976). Le delta médian de CD4 était de +71/mm³ (IIQ : 12-112) à S24, + 142/mm³ (IIQ : 75-173) à S48 et +132/mm³ (IIQ : 110-273) à S96.

La pente d'évolution des CD4 était estimée à +30/mm³/mois (CI : 7-53) entre S0 et S6 et à +8/mm³/mois (CI : 5-11) entre S7 et S96.

Conclusion :

Avec un traitement par LPV/r chez des patients naïfs infectés par le VIH-2, nous avons montré pour la première fois une élévation importante et prolongée du nombre de CD4, avec une phase de redistribution suivie d'une phase de prolifération.

3. COMPARAISON DE L'EVOLUTION DES CD4 ET DE L'ARN VIH-1 CHEZ DES ASYMPTOMATIQUES A LONG TERME (ALT) ET DES « HIV CONTROLLERS » (HIC) A PARTIR DES ETUDES ANRS SEROCO ET DE L'OBSERVATOIRE NATIONAL DES « HIV CONTROLLERS »

Boufassa F¹, Madec Y², Delfraissy JF³, Meyer L¹, Lambotte O³ pour le groupe d'étude ANRS EP36.

¹INSERM U 822, Service d'épidémiologie, Hôpital Bicêtre, Paris Sud 11, Le Kremlin-Bicêtre, ²Unité d'Epidémiologie des maladies Emergentes, Institut Pasteur, Paris, France, ³Service de Médecine interne, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Nous avons comparé, dans cette étude, les évolutions des CD4 et de l'ARN VIH-1 plasmatique au cours des 8 premières années suivant le diagnostic d'infection entre des patients ALT et HIC suivis dans la cohorte ANRS SEROCO ou l'Observatoire ANRS des « HIV Controllers ». Les ALT sont des patients infectés par le VIH-1, non traités, ayant conservé des CD4 $\geq 500/\text{mm}^3$ durant au moins 8 ans après le diagnostic. Les HIC sont des patients infectés par le VIH-1 depuis plus de 10 ans, non traités, et dont plus de 90% des mesures d'ARN VIH plasmatiques sont < 400 copies/ml. Trois groupes de patients ont été comparés : les HIC-ALT $n=33$, HIC-non ALT $n=12$, et les ALT-non HIC $n=56$. L'évolution des CD4 (après transformation en racine carrée) a été estimée dans ces trois groupes dans un modèle joint à effets mixtes. Quel que soit le groupe, les CD4 au diagnostic VIH étaient significativement plus hauts et la chute des CD4 significativement plus faible chez les femmes comparées aux hommes. L'âge était lié au niveau de CD4 au diagnostic mais pas à la pente des CD4. La chute moyenne des CD4 était similaire entre les trois groupes estimée à -30 CD4/an chez les hommes et -7 CD4/an chez les femmes. Une proportion non négligeable de HIC (25%) contrôlaient toujours leur charge virale malgré des CD4 $< 500/\text{mm}^3$ au dernier bilan. Néanmoins, la pente des CD4 de ces patients n'était pas différente de celle des ALT. Les mécanismes du contrôle de l'infection et de l'homéostasie des CD4 peuvent être différents entre ces groupes.

4. ETUDE DES FACTEURS IMMUNOLOGIQUES ET VIROLOGIQUES ASSOCIES A UN DIAGNOSTIC DE CANCER CHEZ LES PATIENTS INFECTES PAR LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

M Bruyand, R Thiébaud, S Lawson-Ayayi, P Joly, A.J Sasco, P Mercié, JL Pellegrin, M. Decoin, D Neau, F Dabis, P Morlat, G Chêne et F Bonnet pour le Groupe d'Epidémiologie Clinique du SIDA en Aquitaine (GECSA).

INSERM U 897 « épidémiologie et biostatistiques » 33076 Bordeaux

Contexte : L'infection à VIH est associée à un risque accru de cancer, classant sida ou non. L'explication est probablement multifactorielle, cependant un rôle propre à l'immunodépression ou au virus est évoqué. Nous avons recherché une association entre un premier diagnostic de cancer et les caractéristiques immuno-virologiques des patients infectés par le VIH.

Méthodes : Les patients de la cohorte ANRS CO3 Aquitaine ayant plus de trois mois de suivi pendant la période d'étude (1998-2006) ont été inclus. Des modèles de Cox à entrée retardée et prenant en compte les variables dépendantes du temps ont été employés.

Résultats : Une incidence accrue des cancers classant sida (109 cas présentés par les 4194 patients inclus) était indépendamment associée à chaque année d'exposition à : i) une charge virale (CV) >500 copies/ml (RR=1,16; 95% CI [1,01-1,32]) et ii) un taux de lymphocytes CD4 <200/mm³ (RR=1,33; 95% CI [1,18-1,51]). Une incidence accrue des cancers non classant sida (142 cas) était indépendamment associée à une exposition prolongée à un taux de CD4 <500/mm³ (RR=1,23; 95% CI [1,06-1,43] par année d'exposition) et au genre masculin (RR=1,75; 95% CI [1,11-2,78]), mais pas à une CV incontrôlée (p=0,57).

Conclusion : Une CV incontrôlée de façon prolongée était indépendamment associée à un risque accru de cancer classant sida, alors qu'une immunodépression était associée à un risque accru de cancer des deux types. Un maintien du taux de lymphocytes CD4 >500/mm³, si besoin à l'aide des traitements antirétroviraux, devrait être proposé en plus des mesures classiques visant à prévenir la survenue des cancers.

5. EVALUATIONS VIROLOGIQUE ET GENOTYPIQUE DES PATIENTS SOUS RALTEGRAVIR, INFECTES PAR UN VIRUS VIH MULTI-RESISTANT

F. Caby*, L. Schneider, R.M Andrade, I. Malet, C. Soulie, G. Peytavin, A. Simon, G. Breton, A. Canestri, C.Katlama.

**Sce Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.*

OBJECTIFS :

Evaluer l'impact virologique du raltégravir(RAL) plus traitement antirétroviral optimisé(TO) chez des patients en multi-échecs.

Décrire l'émergence de mutations de résistance au RAL.

METHODES :

Evaluation prospective des patients en échec thérapeutique aux 3 classes d'antirétroviraux, ayant débuté RAL entre le 28/11/06 et le 30/09/07.

Données recueillies: CD4-CV à J0-M1-3-6-9-12, génotype de résistance du VIH avant J0 puis en cas d'échec virologique.

Définition du succès virologique: CV_{VIH}<40cp/mL à M3 maintenue définitivement.

RESULTATS :

51 patients inclus entre le 28/11/06 et le 30/09/07.

Antériorités ARV: enfuvirtide(57%), darunavir(68%), etravirine(37%), foscarnet(12%).

TO à J0: enfuvirtide(35%), darunavir(84%), étravirine(74%), atazanavir(29%), fosarnet(6%).

Caractéristiques à J0(médianes): CV=4,18log[2,53;5,86], CD4=169/mm³[1;833], mutations de résistance NRTI=7[1;10], NNRTI=1[0;4], IP=13[8;20].

Tous les patients ont été suivis jusqu'à M3; 31 jusqu'à M6, 14 jusqu'à M9, 2 jusqu'à M12.

34/51 patients(67%) étaient en succès virologique à M3, 19/31(61%) à M6.

Parmi les 17/51 patients(33%) avec CV>40cp/mL à M3, 2 groupes sont distingués :

Groupe1=Réplication virale persistante

Groupe2=Rebond virologique

Leurs profils évolutifs virologiques après M3 sont représentés dans le tableau suivant:

	Groupe1	Groupe2
40<CV<400cp/mL (Npts)	8	4
CV>400cp/mL (Npts)	4	1
Durée moyenne de suivi (mois)	5,3	6,5

Un séquençage génomique du VIH a été réalisé pour les 17 patients avec virémie persistante à M3 ou plus. Des mutations de résistance au RAL ont été retrouvées sur 4/17 génomes viraux: G140S+Q148H (2cas), N155H (2cas). Ces mutations ont été observées uniquement chez les patients avec CV>400cp/mL(4/5).

CONCLUSION :

-Taux élevé de succès virologiques chez ces patients en multi-échec(67%).

-Faible taux d'émergence de mutations de résistance au RAL, observées chez les patients avec CV>400cp/mL.

-L'étude de facteurs prédictifs d'échec virologique incluant concentrations plasmatiques de RAL et profils génotypiques à J0 est en cours.

6. EFFICACITE DU RALTEGRAVIR ET DE L'ÉTRAVIRINE CHEZ DES PATIENTS AVEC UN VIRUS MULTIRÉSISTANT, EN ECHEC VIROLOGIQUE SOUS DARUNAVIR

Canestri A., Blanc C., Wirden M., Ktorza N., Peytavin G., Ait-Mohand H. Katlama C.

Scie de Maladies Infectieuses et Tropicales de la Pitié-Salpêtrière, INSERM U720.

Objectif : Evaluer le raltégravir (RAL) et l'étravirine (ETV), chez des patients (pts) avec un virus multirésistant et une virémie persistante sous darunavir (DRV).

Méthode : Etude pilote, prospective, ayant inclus des pts exposés aux trois classes thérapeutiques, avec une charge virale (CV)>1000 cp/ml sous un traitement comportant du DRV. Le critère d'évaluation principal est le pourcentage de pts avec CV <50 cp/ml à S24.

Résultats : 20 pts ont été inclus de 03/07 à 10/07. Caractéristiques à J0 : médiane (med) CV : 4.75 log₁₀ [3.14-5.56], med CD4 : 294 cellules/mm³ [63-833], med mutations aux INRTI= 7 [5-11], INNRTI= 1 [0-3], IP=14 [10-20]. Quatorze (70%) pts ont un virus résistant aux INNRTI, 11 (55%) au DRV, 9 (45%) intermédiaire au DRV. Traitement optimisé : 5 [3-7] ARV en médiane, DRV (n=18), atazanavir (n=4), enfuvirtide (n=9) dont 5 naïfs. En 01/2008, 19 pts ont atteint S12, quinze S24.

	S12	S24
Réduction med CV (cp/ml)	-2.85 log₁₀ [-1.01- -3.78]	-2.99 [-1.76- -3.78]
Nb de pts (%) avec		
CV<50 cp/ml	14/19 (74%)	10/15 (67%)
CV<500 cp/ml	16/19 (84%).	15/15 (100%)
Augmentation med des CD4	49 [6-485]	80[17-707]
cellules/mm³		

A S4, la médiane des C_{min} chez 10 pts est de 146 ng/ml [21-854] pour le RAL et de 126 ng/ml [51-882] pour ETV. Aucune mutation de résistance associée au RAL n'a été observée chez les pts avec une CV>40 cp/ml à S12. Un patient a présenté un exanthème qui n'a pas nécessité l'arrêt du traitement.

Conclusion: Chez des pts avec peu d'options thérapeutiques, un traitement optimisé comportant le raltégravir et l'étravirine est très efficace et bien toléré.

7. CONTROLE DE LA REPLICATION DU VIH APRES INTERRUPTION THERAPEUTIQUE CHEZ DES PATIENTS TRAITES DES LA PRIMO- INFECTION : QUELS PATIENTS ?

Cécile Goujard^{1,2}, Martine Sinet², Christiane Deveau³, Christine Rouzioux⁴, Laurent Tran³, Nouredine Balegroune³, Marie-Laure Chaix⁴, Jean-François Delfraissy^{1,2}, Alain Venet², Laurence Meyer³, Cohorte ANRS CO 06-PRIMO.

INSERM U 802, Faculté de Médecine Paris-Sud 11, et Service de médecine interne, Hôpital Bicêtre, AP-HP ; 78 rue du Général Leclerc, 94275 LE KREMLIN BICETRE CEDEX

L'intérêt d'un traitement transitoire dès la primo-infection est discuté. Quelques patients traités précocement gardent une charge virale (CV) faible ou indétectable après interruption thérapeutique, mais la fréquence de ce phénomène et sa cinétique sont mal connues.

Nous avons étudié dans la cohorte prospective ANRS PRIMO, parmi les patients traités pendant plus de 3 mois, dans les 3 mois suivant la contamination, et ayant interrompu leur traitement plus de 12 mois, ceux qui présentaient une CV <400 copies/mL après l'interruption.

Vingt-six des 206 patients (13%) traités ont présenté un contrôle viral spontané persistant (durée médiane de traitement :17,2 mois ; extrêmes : 7,3-68,1). A l'inclusion, leurs niveaux d'ARN VIH (4,78 log₁₀ cp/mL ; extrêmes, <1,7-8,3) et d'ADN VIH (3,08 log copies/106 PBMC ; extrêmes, <1,8-4,23) étaient plus faibles et leur taux de CD4 était plus élevé (614 /mm³ soit 32% ; extrêmes, 184-1240) que les 180 patients non contrôleurs (respectivement, 5,43 log cp/mL soit 25% ; 3,42 log copies/106 PBMC ; 483 CD4/mm³). La CV se maintenait <400 cp/mL pendant une durée médiane de 18,3 mois (extrêmes : 10,6-78,6). Onze des 26 patients avaient jusqu'au dernier suivi une CV toujours <50 cp/mL et gardaient des CD4 élevés (médiane, 946/mm³ soit 46%). Dans cette analyse, la fréquence de symptômes, les modalités de traitement (délai d'initiation par rapport à l'infection, durée) ne différaient pas entre contrôleurs et non contrôleurs.

Le suivi de ces patients, et l'étude de leurs caractéristiques immunologiques, sont en cours pour tenter de mieux comprendre les mécanismes associés au contrôle virologique.

8. PROLONGED VALPROIC ACID TREATMENT DOES NOT REDUCE THE SIZE OF LATENT HIV RESERVOIR: THE ANRS EP39 STUDY

Nathalie Sagot-Lerolle, Aurelia Lamine, Marie-Laure Chaix, Farouly Boufassa, Jean-Paul Aboulker, Dominique Costagliola, Cécile Goujard, Coralie Paillet, Jean-François Delfraissy, Olivier Lambotte.

Laboratoire Inserm U802, Service de Médecine Interne, CHU Bicêtre

Objective: To investigate the impact of prolonged valproic acid treatment on the human immunodeficiency virus (HIV) reservoir in patients on highly active antiretroviral therapy (HAART).

Design: In a single-center pilot study, the size of the HIV reservoir was compared in eleven patients receiving valproic acid for seizures for more than two years and thirteen matched patients. In addition, the outcome of patients receiving valproic acid in the French clinical trials of scheduled treatment interruption (STI) was recorded.

Methods: Total and integrated HIV-1 DNA in, respectively, peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and CD4 T cells of the patients were quantified by real-time PCR methods. The frequency of CD4 T cells carrying replication-competent virus was estimated by a quantitative limiting-dilution assay in which virus growth was detected by RT-PCR in culture supernatants of activated CD4 T cells.

Clinical charts of the patients included in STI trials receiving valproic acid were reviewed.

Results: Total and integrated HIV DNA were logarithmically more abundant than cells carrying replication-competent virus, but there was no significant difference in these three parameters between the two groups of matched patients.

Three patients receiving valproic acid were included in STI trials. The rebound of viral replication was similar to that of the other patients of the trials.

Conclusions: Long-term valproic acid therapy seems to be insufficient to reduce the size of the HIV-1 reservoir.

9. BITHÉRAPIES D'INHIBITEURS DE LA PROTEASE (IP) POUR LE TRAITEMENT INITIAL DE L'INFECTION A VIH-1: UNE ETUDE PILOTE RANDOMISEE (2IP ANRS 127)

Landman R, Capitant C, Descamps D, Chazallon C, Peytavin G, Katlama C, Pialoux G, Perré P, Bentata M, Yeni P, Aboulker JP, pour le groupe d'étude ANRS 127.

Hôpital Bichat – Claude-Bernard

Objectif: Efficacité et tolérance d'associations comportant uniquement 2 IP chez des patients naïfs d'ARV.

Méthode: Essai randomisé, chez des patients ayant un ARN-VIH plasmatique (CV) entre 10000-750000 copies/ml et des CD4>200/mm³, évaluant: fosamprenavir (700mg x2/j) + atazanavir (300mg x1/j) + ritonavir (100mg x2/j) (groupe 1) ou saquinavir (1500mg x1/j) + atazanavir (300mg x1/j) + ritonavir (100mg x1/j) (groupe 2). Pour se qualifier d'aussi puissante qu'une trithérapie classique, chaque bithérapie devait garantir à S16 un taux de succès virologique (CV<50 copies/ml) >50%, toute modification des ART étant analysée comme un échec.

Résultats: 61 patients avec une CV=4.8 log₁₀ copies/ml et des CD4=271/mm³ ont été inclus (30 groupe 1, 31 groupe 2). Le traitement de 8 patients a été modifié avant S16 (4 pour EI, 4 pour augmentation du SQV ou non observance ou réduction insuffisante de la CV). A S16, 12/30 (40.0%) dans le groupe 1 et 13/31 (41.9%) dans le groupe 2 avaient une CV<50 copies/ml, avec une réduction de la CV depuis J0 estimée à respectivement 3.1 et 2.9 log₁₀ copies/ml. Le gain médian en CD4 était de 149 cellules (IQR=48-223) à S24. Seule la CV initiale était prédictive du succès virologique à S16, atteint par 63.6% [CI95%: 47.2-80.0] des patients avec une CV<50000 copies/ml et 15.8% des patients au-dessus (p=0.001). La tolérance a été bonne. Aucune mutation génotypique majeure n'a été observée.

Conclusion: Aucune des deux associations n'a franchi le seuil d'efficacité virologique prédéfini. L'usage éventuel doit en être restreint aux patients naïfs d'ARV ayant une CV modérée.

10. TOXICITE DE LA STAVUDINE SUR LES ADIPOCYTES EN CULTURE : BENEFICE POTENTIEL D'UNE DIMINUTION DE CONCENTRATION

Chloé Lefevre, Martine Auclair, Jacqueline Capeau, Martine Caron

INSERM UMRS-893 Faculté de Médecine Saint-Antoine, 27 rue Chaligny 75012 Paris

Le syndrome lipodystrophique est un effet secondaire majeur de certaines molécules antirétrovirales associant une redistribution du tissu adipeux et des troubles métaboliques. La stavudine induit des altérations des adipocytes *in vitro* et une lipoatrophie. Elle n'est plus recommandée en Europe et aux USA pour le traitement des patients naïfs. Elle reste utilisée pour certains patients présentant des résistances multiples et dans les pays à faibles ressources économiques en raison de son efficacité sur la charge virale et de son faible coût de fabrication.

Quelques études récentes ont évalué les bénéfices de la réduction des doses de stavudine dans les multithérapies. Elles ont montré qu'une réduction de 25% de la dose de stavudine ne modifie pas son efficacité antivirale (Milinkovic A, 2007 ; Pedrol E, Med Clin (Barc) 2007 ; Sanchez-Conde M, HIV Clin Trials 2005) mais a peu d'effet bénéfique sur les constantes métaboliques et la lipodystrophie.

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'impact de doses décroissantes de stavudine (10-1 μM) sur les principales fonctions adipocytaires *in vitro*. Nous observons que les effets toxiques de la stavudine sur le stockage des lipides, les fonctions mitochondriales et le stress oxydant observés à 10 μM diminuent progressivement et ne sont plus observés à et en dessous de 4 μM .

Ces premiers résultats obtenus *in vitro* montrent que la toxicité adipocytaire de la stavudine dépend de sa concentration. Une reformulation des doses de stavudine ou de son générique pourrait permettre de diminuer l'incidence des effets toxiques du traitement en attendant la mise sur le marché de nouvelles molécules à plus faible coût de fabrication pour les pays à faibles ressources économiques.

11. ASSOCIATION BETWEEN CARDIOLIPIN ACTIVITY, VIRAL REPLICATION AND NEUTRALIZING ANTIBODIES IN SLOW PROGRESSORS OF THE HIV INFECTION

Valérie Martinez¹, Marie-Claude Diemert², Martine Braibant³, Jean-Luc Charuel², Francis Barin³, Valérie Potard⁴, Dominique Costagliola⁴, Eric Caumes⁵, Jean-Pierre Clauvel⁶, Brigitte Autran¹, Lucile Musset² and the ALT study group.

¹Lab. d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, UMR INSERM 543, Université Pierre et Marie Curie-Paris-6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, ²Lab. d'Immunochimie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, ³Serv. des Maladies Infectieuses et Tropicales, Université Pierre et Marie Curie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, ⁴INSERM U720, Université Pierre et Marie Curie-Paris-6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, ⁵Serv. d'Immuno-Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris.

Background: The question of autoimmune manifestations during HIV infection is currently revisited because of the cardiolipin reactivity demonstrated *in vitro* for two broadly HIV-specific neutralizing-antibodies.

Methods: We evaluated anticardiolipin (aCL), anti-β2GP1, anti-nuclear and other autoantibodies in 67 HIV+ untreated asymptomatic slow progressors (SP), the correlation between autoantibodies and HIV-specific neutralizing antibodies, virologic, immune activation and clinical parameters. A group of 50 chronically HIV-infected progressors (P) was evaluated as controls.

Results: Characteristics of i) SP were: men (78%), median age 37 years, median CD4 count 672/mm³, HIV plasma load (pVL) 6,200 copies/ml and ii) P: men (76%), on HAART (62%), median age 43 years, median CD4 count 202/mm³ and pVL: 2,265 copies/ml. aCL with IgG isotype were detectable in 49% and 58% of SP and P patients respectively, with similar levels between both groups, while anti-β2GP1 (IgG or IgM) were detected in only 4.5%. Both detection and levels of aCL were associated to higher pVL and cell-associated DNA loads (p<0.0001), independently of CD4 counts in both groups. In SP, levels of aCL correlated with proportions of activated CD4 but not of activated CD8 T cells, as well as with levels of B cell activation (sCD23). Finally, aCL antibodies were associated with presence of 2F5-like and 4E10-like and b12-like (p<0.01) neutralizing antibodies.

Conclusion: Anticardiolipin antibodies are frequently detected in HIV-infected patients whatever the disease stages and are strongly linked with levels of virus replication, of CD4 T and B cell activation, and with anti-HIV neutralizing antibodies, independently of the CD4 cell deficiency.

12. IMPACT DES ANTIRETROVIRAUX SUR LE MODELE MATHEMATIQUE

Marie-José Mhawej, Claude Moog.

IRCCYN, UMR CNRS 6597, BP 92101, 44321 NANTES CEDEX 3

Objectif :

Identifier l'impact des traitements antirétroviraux sur les paramètres du modèle mathématique de la dynamique du VIH.

Méthode :

Les données cliniques (taux de lymphocytes CD4+ et charge virale) de 6 patients VIH+ du CHU de Nantes ont été analysées. Pour chacun de ces 6 patients, deux séries de données cliniques (avant et après traitement) ont permis de calculer¹ deux ensembles de paramètres : le premier caractérise le modèle sans traitement et le deuxième caractérise le modèle sous traitement.

Résultats :

Le modèle mathématique de base fait intervenir six paramètres : le taux de production de CD4 sains s , les durées de vie respectives des CD4 sains, infectés et de virus: δ , μ et c , l'infectivité β des CD4 sains et le taux de production de virus k . Il s'avère que les effets des RTIs et des PIs ne peuvent pas être découplés, contrairement à ce que relate la littérature dans laquelle les paramètres k et β sont des paramètres de contrôle. On observe que la thérapie HAART affecte principalement le paramètre k alors que β ne décroît que très faiblement sous traitement. Pour les six patients étudiés, s , δ , μ et c ne varient pas considérablement avant et après traitement.

Conclusion :

Cette étude permet d'identifier le paramètre du modèle le plus sensible au traitement et constitue une première étape vers une modélisation « réaliste » de l'entrée du système en vue du contrôle de l'infection et de ses simulations.

13. LA MUTATION M184V PERMET AU VIH DE RESISTER A LA 3TC, MAIS PAS D'ECHAPPER A LA REPONSE IMMUNE DIRIGEE CONTRE L'EPITOPE RT181-189

Yovana Pacheco¹, Clotilde Allavena², Yannick Guilloux³, Julia Arias¹, Elisabeth André-Garnier¹, Virginie Ferré¹, Eric Billaud², François Raffi², Dorian McIlroy¹.

¹. Immunovirologie et polymorphisme génétique, Université de Nantes ². Service d'infectiologie, CHU Hôtel Dieu Nantes, ³.INSERM 892,CHU Hôtel dieu Nantes.

Introduction : La mutation M184V de la transcriptase inverse du VIH confère une résistance à la 3TC. Elle se situe au sein de l'épitope RT181-189 présenté dans le contexte du HLA-A2, suggérant que la réponse immune dirigée contre cet épitope pourrait limiter la réplication des virus résistants à la 3TC.

Méthodes : La réponse immune cellulaire a été évaluée par ELISPOT IFN γ chez 19 patients HLA-A2+ naïfs de traitement et 13 patients HLA-A2+ en échec virologique sous 3TC. Des peptides contenant la séquence sauvage (184M) et la séquence mutée (184V) de l'épitope RT181-189, ont été testés systématiquement.

Résultats : 10/19 des patients naïfs avaient une réponse ELISPOT dirigée contre à la fois l'épitope 184M et contre l'épitope 184V. Chez les patients 3TC, 1/13 avait une réponse ELISPOT dirigée contre l'épitope 184M accompagnée d'une réponse contre l'épitope 184V, et 2/13 avaient une réponse ELISPOT spécifiquement dirigée contre l'épitope 184V. Chez 3 patients naïfs, les avidités fonctionnelles des réponses ELISPOT dirigées contre les épitopes 184V et 184M étaient semblables. L'obtention d'un clone spécifique de l'épitope RT181-189 à partir des PBMC d'un patient naïf a permis de confirmer la réactivité croisée de la réponse.

Conclusions : 10/19 (52%) des patients naïfs avaient développé une réponse immune contre l'épitope 184M, montrant une réactivité croisée avec l'épitope 184V. La mutation 184V ne permet donc pas au virus d'échapper à la réponse immune contre l'épitope RT181-189.

14. PREVALENCE DE LA FIBROSE HEPATIQUE F3/F4 AU SEIN DE LA COHORTE ANRS C013- HEPAVIH

Poizot-Martin I, Bonnard P., Winnock M., Dequae-Merchadou L., Pialoux G., Salmon D. et le Groupe d'études HEPAVIH.

CISIH-SUD, Pôle Oncologie Spécialités Médicales et Chirurgicales, Hôpital Sainte-Marguerite, 13009 Marseille, France

Objectif : Estimer la prévalence de la fibrose hépatique extensive parmi des patients co-infectés VIH/VHC et/ou VHB.

Méthodes : Etude transversale sur les patients avec un score METAVIR F3 et F4 déterminé par Fibrotest® et/ou ponction biopsie hépatique (PBH) et/ou Fibroscan® (>9.5Kpa)

Résultats : Au 07/01/2008, les données de 528 patients ont été analysées; 290 patients (55%) avaient un score METAVIR F3/F4 (230 hommes, age médian: 45 ans, médiane de suivi de l'infection par le VIH et le VHC: 17 ans; 5 triple infections avec VHB) ont été identifiés. 281 de ces patients ont eu une évaluation du score METAVIR par Fibrotest, 194 par PBH et 200 par Fibroscan. 270 patients sont sous traitement antirétroviral depuis en moyenne 8 ans (163 avec 2 NRTI+1IP, dont 47% avec ATV et 3% avec IDV; 35 avec 2 NRTI+1NNRTI, 24 avec 3NRTI) 192 patients (66%) ont une charge virale VIH indétectable. La médiane des CD4 est de 397/mm³ (médiane du nadir: 118/mm³). 136/252 (54%) ont reçu au moins un traitement anti-VHC (Echec: n=102,75%).Le génotype VHC est G1 pour 55,5% des patients, G2 pour 2%, G3 pour 18,6%, G4 pour 14,5% et G5 pour 2 patients. Parmi les 122 patients avec une cirrhose (42%), 14% ont un stade Child-Pugh B et 1% un stade Child-Pugh C.

Conclusion : La forte prévalence de fibrose extensive au sein de cette cohorte VIH majoritairement co-infectée par un VHC-G1 signifie un risque élevé de décompensation et pour certains, la nécessité d'une transplantation.Le taux élevé d'échec au traitement souligne le besoin urgent de molécules plus efficaces.

15. APPORT DES MODELES MATHÉMATIQUES EN RECHERCHE CLINIQUE ET FONDAMENTALE SUR LE VIH

Rodolphe Thiebaut, Robin Callard, Daniel Commenges

Inserm U897, Université Bordeaux 2, ISPED, 33076 Bordeaux, France

Il s'agit d'illustrer l'apport des modèles mathématiques pour l'évaluation des traitements ainsi que pour la compréhension de la physiopathologie du VIH/SIV à travers plusieurs exemples. Une des premières utilisations des modèles mathématiques a été l'évaluation de la demi-vie des cellules infectées et du virus en utilisant les données de chute de la charge virale plasmatique suite à l'initiation d'un traitement antirétroviral. Ces travaux (Ho & Wei Nature 1995, Perelson Science 1996) ont permis de mettre en évidence le renouvellement intense à la fois du virus et des lymphocytes. D'autres paramètres notamment l'infektivité du virus ont pu être estimés à partir de données d'infection à SIV/SHIV (SHIV 89-6P Davenport JAIDS 2006, SIV_{mac251} Wilson J Virol 2007). Le même type de modèles dynamiques ont aussi été étudiés en simulation pour tester certaines hypothèses physiopathologiques telles que le rôle de l'activation cellulaire dans la décroissance des lymphocytes T CD4+ au cours de l'infection (Yates PLOS Medicine 2007).

Un autre grand domaine d'application est l'évaluation du turnover lymphocytaire à l'aide d'expériences spécifiques (BrDU, H², CFSE). Les modèles mathématiques ont supplanté les interprétations qualitatives des résultats en permettant une estimation des taux de la prolifération et du taux de décès cellulaires.

Enfin, un domaine d'application prometteur est l'évaluation des nouvelles thérapies antirétrovirales (Markowitz JID 2007) ou des immunothérapies. En effet, grâce à l'utilisation optimale de l'information disponible (multiples marqueurs mesurés de façon répétée) cette approche permet une évaluation plus précoce et plus complète (mécanismes d'action) des thérapies. Toutefois, un inconvénient majeur de ce type d'approche est la difficulté d'estimation des paramètres qui nécessite des protocoles adaptés.

16. RÉPONSE VIROLOGIQUE À LA PREMIÈRE LIGNE DE TRAITEMENT : COMPARAISON ENTRE TRUVADA ET KIVEXA DANS UNE COHORTE OBSERVATIONNELLE

R Thomas, B Trottier, D Longpré, S Vézina, VK Nguyen, N Machouf

Clinique médicale l'Actuel, Montréal, Québec

Introduction : L'objectif de cette étude était de comparer la réponse virologique des traitements de première ligne avec truvada ou kivexa.

Méthode : Étude rétrospective sur les patients d'un centre extrahospitalier de Montréal. Tous patients avec kivexa ou truvada en 1^{ère} ligne ont été inclus. À l'aide d'analyses de régression logistique, nous avons identifié les facteurs associés au succès virologique à 24 semaines.

Résultats : 68 patients (KVV=46,TVD=22) ont été inclus. 81% étaient des hommes, moyenne d'âge 41,2±9,2 , 75% étaient HSH. Médiane des CD4 pré-traitement était de 240 cells/mm³ (IQR :180-306) avec une charge virale médiane de 5,05 log et similaire dans les deux groupes. Le pourcentage de patients avec cv<50 copies/ml à 24 semaine était supérieur chez les patients traités par KVV (83% vs 47%,p=0.009). Les CD4 étaient similaires à 24 semaines chez les deux groupes (KVV=427,TVD=388 cells/mm³,p=0,539). Les arrêts de traitement <24 semaines ont été plus fréquents dans le groupe TVD (32% vs 7%,p=0,010), principalement dû aux effets secondaires. La toxicité rénale/hépatique a été observée chez 2 cas avec TVD. Aucun changement <24 semaines n'a été attribué à l'échec virologique. Après avoir contrôlé pour le troisième agent, le dépistage HLA, la charge virale préARV, l'âge et le sexe, les analyses multivariées montrent que la suppression virale demeure supérieur avec KVV (OR=4,00 ,IC_{95%}:1,09-14,72).

Conclusion : La suppression virale était plus importante à 24 semaines chez les patients traités par kivexa (vs truvada) en première ligne. Le passage précoce à une deuxième ligne était également plus faible avec Kivexa.

17. ETUDE EX-VIVO DES ANOMALIES METABOLIQUES INDUITES PAR DES ANTI-RÉTROVIRAUX UTILISES EN TRITHERAPIE

Olivia Touzet, Annick Bourret et Alexandre Philips

ERI 25 INSERM

Les traitements antirétroviraux ont permis de diminuer la morbidité et la mortalité liées à l'infection par le VIH transformant la pathologie en une maladie chronique. Ces traitements sont néanmoins responsables d'effets secondaires sévères. Ils induisent un risque accru de désordres métaboliques et hormonaux, incluant une lipodystrophie, une résistance à l'insuline et une diminution de la densité osseuse.

Les effets secondaires résultent de mécanismes cellulaires et moléculaires multifactoriels qui ne sont pas clairement définis et dont l'étude peut être réalisée *ex vivo* en première approche, à l'aide de modèles de culture cellulaire. A l'aide de myoblastes primaires humains, nous déterminons par quels mécanismes cellulaires les inhibiteurs de protéase (IPs) (Lopinavir, Ritonavir, Saquinavir) conduisent à une résistance à l'insuline. Nous analysons et comparons les effets de ces IPs sur l'expression et l'activité de protéines connues pour relayer la réponse à l'insuline. Nos premiers résultats indiquent que les IPs altèrent les mécanismes de localisation membranaire aux "lipid rafts" qui sont des plates-formes de signalisation importantes pour la réponse à l'insuline, pour la différenciation et le fonctionnement des cellules musculaires.

L'identification des défauts cellulaires induits par les IPs revient à comprendre l'origine du syndrome métabolique et pourrait aider à orienter le traitement des effets secondaires. La gestion thérapeutique du syndrome métabolique est primordiale : la thérapie antirétrovirale étant de plus en plus efficace, la durée de vie des patients s'allonge mais la résistance à l'insuline et l'ostéoporose vont s'aggraver avec l'âge.

18. EARLY VIROLOGICAL PARAMETERS AND THEIR PREDICTION PERFORMANCE FOR INDETECTABILITY OF HIV RNA BY WEEK 26

Linda Wittkop, Rodolphe Thiebaut, Geneviève Chêne, Gilles Raguin, Laurence Morand - Joubert, Daniel Commenges

Inserm-U897, Bordeaux 2 university, ISPED-Bordeaux Public Health School, 33076 Bordeaux, France

Simple parameters such as a HIV RNA below detection limit are used to evaluate drug performance. Mathematical models have the advantage to consider dynamics of HIV RNA. The derived decay parameters can be simply applied probably serving as a prognostic tool. The objective of this study was to compare the performance of early HIV RNA derived parameters for the prediction of the virological response (HIV-RNA < 50 copies/mL) at week 26. We used data from 37 HIV-1 infected patient's participating in Puzzle 1-ANRS 104, a randomized, open-label, multi-centre clinical trial. HIV RNA was determined at baseline and weeks 2, 4, 6, 14 and 26. HIV RNA parameters i) < 50 copies/mL at week 6 ii) > 1 log₁₀ copies/mL reduction between week 6 and baseline iii) HIV-RNA difference between week 6 and baseline iv) a decay rate parameter determined with a linear mixed model using HIV-RNA measurements at baseline, weeks 2, 4 and 6 were used. A logistic model was applied to assess the prediction performance. The sensitivities (specificities) were 24% (95%), 100% (40%), 76% (65%) and 76% (80%) for < 50 copies/mL, > 1 log₁₀ copies/mL reduction, HIV RNA difference and the decay parameter, respectively. The areas under the receiver operator characteristics curve were 0.593, 0.700, 0.787 and 0.847 for < 50 copies/mL, > 1 log₁₀ copies/mL reduction, HIV RNA difference and the decay parameter. We concluded that the decay parameter from the linear mixed model showed the best performance as an early evaluation parameter.

Pays du Sud

19. ETUDE PRELIMINAIRE SUR LA PREVALENCE DE LA RESISTANCE DU VIH-1 AUX ANTIRETROVIRAUX DANS LA PARTIE EST ET WEST DE LA REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE DU CONGO

Steve Ahuka Mundeke, Lay Myint Yoshida, Muyembe Tamfum, Koya Ariyoshi

Institut National de Recherches Biomédicales, Kinshasa, RDC

The use of highly active antiretroviral therapy (HAART) has had a dramatic effect on the natural history of HIV disease in developed world. M. Selection of drug resistant variants becomes inevitable in a setting of continued viral replication. In Democratic Republic of Congo (DRC) where the highest diversity of HIV-1 group M variants circulates, HAART program started in big cities in 2002. However access to antiretroviral therapy remains limited in the majority of province.

To evaluate and compare the prevalence of antiretroviral drug resistant HIV among blood donors in two regions of DRC and to determine and compare the distribution of HIV subtypes among blood donors in the two regions of DRC.

one hundred and eighty-three HIV positive blood samples were collected using FTA card from blood donors, recruited at General reference hospitals in South Kivu province and Kinshasa in DRC from July to December, 2007. RT and LTR region were amplified and RT region was then sequenced by using an automated sequencer (Applied Biosystems 3730 DNA) with Big Dye Terminator v1.1 cycle sequencing Kit. Sequencing analysis was done using online sequence analysis programs from Stanford University, HIV Drug Resistance Database. For HIV-1 subtyping, REGA-HIV-1 subtyping tool Version 2.0 and MEGA 3.1 was used, and for drug resistance genotype analysis, HIVdb Program: Mutation List Analysis was used.

HIV-1 RT gene nested PCR were performed to 32 samples from Kinshasa and 34 samples from South Kivu. HXB2 (HIV-1 subtype B) DNA was used as a positive control. Positive and negative controls were included in all the PCR reactions. A total of 37 samples, 22 from South Kivu and 15 from Kinshasa showed correct size positive PCR product. Selected negative samples were further investigated for the presence of integrated HIV-1 gene by LTR PCR. All tested samples were positive indicating the presence of HIV-1 DNA in the samples. A total of 37 amplified HIV-1 RT gene PCR products were sequenced. The sequence analysis showed that 34 samples were found to be HXB2 strain, indicating contamination and only three samples, one from Kinshasa and two from South Kivu sequences were completely different from HXB2. Phylogenetic analysis revealed that the sample from Kinshasa, Kin29 was subtype G and two samples from South Kivu, Kiliba1 and Kiliba29 were subtype A1. No HIV-1 drug resistance mutations were found.

Although sequence results have been available for only three samples so far, we found no drug resistance mutation, suggesting the limited distribution of drug resistant HIV-1 in recently infected population. It is interesting to see that the subtype of Kinshasa and South Kivu are different. This suggested the possibility that different subtype might be prevailing in the eastern and western part of DRC. Further study is warranted.

20. EFFET DE LA TEMPERATURE DE CONSERVATION DU PLASMA SUR LA CHARGE VIRALE VIH-1

Bahia Amellal ; Anne-Geneviève Marcelin ; Christel Brunet ; Almoustapha Maiga ; Laurence Kalkias ; Gilles Brucker; Christine Katlama; Vincent Calvez.

Laboratoire de virologie. Hôpital La pitié salpêtrière. UPMC université Paris 6, EA 2387 Paris.

L'accès aux molécules anti-rétrovirales dans les pays en voie de développement, devient de plus en plus important. Une connaissance précise de la valeur de la charge virale (CV) plasmatique est nécessaire pour décider d'un éventuel changement de traitement. Une alternative pratique pour ces pays, est souhaitée. Dans cette étude, nous avons soumis des plasmas à différentes températures (4, 22, 30 et 37°C) sur une durée d'une semaine. Il en est ressorti que la conservation du plasma jusqu'à 30°C, est possible et n'altère pas la valeur de la charge virale plasmatique. En revanche, la température de 37°C s'est avérée délétère avec une perte significative en ARN plasmatique et de l'ordre de 0.92 Log10 copies/mL ($p=0.005$). La corrélation entre les valeurs obtenues à partir des plasmas frais et celles obtenues à partir de plasmas soumis à 37°C, est faible ($Rho=0.84$; $p=0.012$). Aussi des valeurs discordantes ($\Delta CV > 0.5 \log 10$ copies/mL) ont été enregistrées dans le cas des plasmas gardés à 37°C et seulement dans ce cas-ci. Au vu des résultats obtenus dans cette étude, nous proposons un stockage des plasmas recueillis dans la semaine, à une température ne dépassant pas 30°C. Ces prélèvements seront, dans ce délai, acheminés au laboratoire central pour la quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique.

21. SURVEY OF HIV-1 DRUG RESISTANCE MUTATIONS IN RECENTLY INFECTED, ANTIRETROVIRAL NAÏVE PATIENTS FROM SUB SAHARAN AFRICA AND SOUTH EAST OF ASIA: THE ANRS 12134 STUDY

Ahidjo Ayouba, Eric Nerrienet, Truong T.X.Lien, Laurence Vergne, Eitel Mpoudi Ngole, Diane Valea, Nicole Ngo-Giang-Huong, Dominique Costagliola, Martine Peeters, Marie-Laure Chaix and ANRS 12134 Study group.

Institut de Recherche pour le Developpement (IRD), UMR 145, Montpellier

Background:

Universal access to antiretroviral therapy in developing countries has raised concerns that HIV drug resistance could develop and spread quickly in recently infected people. We evaluated the frequency of transmitted HIV drug resistance (HIVDR) in Cambodia, Thailand, Vietnam, Burkina Faso and Cameroon.

Methods:

The target population was adapted to the characteristics of the HIV epidemic in each country. HIV-1 genotypic resistance tests were performed on plasma samples and phylogenetic analysis done on protease and RT sequences. Resistance associated mutations were interpreted with the 2007 Stanford HIVdb and ANRS algorithms and the IAS USA list.

Results:

As recommended by the generic protocol for HIV-1 drug resistance developed by WHO-HIVRESNET, pregnant women aged between 15 and 24 years at first pregnancy were enrolled in Cameroon. In Burkina Faso and Thailand, pregnant women were also included but, in addition to age and number of pregnancies, CD4 count > 500/mm³ was added as marker for recent infection. In Cambodia and Vietnam, individuals attending VCT centers were included based on age and CD4 counts.

22. MEASURE OF VIRAL LOAD BY USING THE ABBOTT REALTIME HIV-1 ASSAY ON DRIED SPOT SPECIMENS OF BLOOD OR PLASMA COLLECTED IN TWO RURAL DISPENSARIES IN CAMEROON

Thomas Bourlet⁵, André Dieudonné Mbida¹, Samuel Sosso², Pierre Flori³, Sven Schaffer⁴, Renato Pulvirenti⁴, Cheick Cissé⁴, Henia Saoudin⁵, Yves Oyono¹, Edward Ndzi¹, Giulia Cappelli², Odile Ouwe Missi Oukem², Bruno Pozzetto⁵, Sven Thamm⁴ and Marcel Monny Lobe².

¹ *Institut des Plantes Médicinales, Yaoundé, Dispensaire d'Obout, Nkolmetet, Cameroon*

² *Chantal Biya International Reference Centre, Yaoundé, Cameroun*

³ *Laboratory of Parasitology, Saint-Etienne*

⁴ *Abbott Molecular*

⁵ *Laboratory of Virology, Saint-Etienne.*

The aim of this work was to evaluate the use of dried blood spots (DBS) and dried plasma spots (DPS) as an alternative to frozen plasma (FP) for the quantification of HIV-1 RNA. The study was undertaken in subjects sampled by venous puncture in two rural dispensaries in Cameroon in November 2007. Forty-one subjects gave informed consent to participate (mean age 34 years [range: 18-59], sex ratio M/F, 0.38), including 10 tested negative and 31 positive for HIV antibodies among which 10 were under antiretroviral therapy. Fifty microlitres of whole blood (DBS) or plasma (DPS) were deposited onto each of the 5 spots of a Whatman 903 card and dried for 3 hours at room temperature. The rest of the plasma was frozen until use. Frozen plasmas were tested at the CIRCB in Yaoundé by Real-Time HIV Abbott assay. DBS and DPS were transported by plane and tested two weeks later at the Virology Laboratory of CHU of Saint-Etienne by the same technique. The correlation coefficient between viral loads obtained from FP and DBS, and from plasmas and DPS, was 0.98 and 0.99, respectively. The specificity of the tests performed on DBS and DPS with regard to those performed on FP was 100% in both cases. The mean difference between viral loads measured on DBS and plasmas was 0.01 ± 0.5 log copies/ml, 81% and 88% of samples differing from less than a half log and one log, respectively. This study demonstrates that DBS and DPS collected in limited-resource settings are suitable supports for the differed quantification of HIV-1 RNA by using the Real-Time HIV Abbott assay.

23. LES ENJEUX DE LA PRISE EN CHARGE CROISEE DE LA TUBERCULOSE ET DU VIH AU SENEGAL

Fatoumata Hané

*UMR 912 (Inserm-Ird-Université de la Méditerranée). Sciences économiques et sociales, Systèmes de santé, Sociétés (SE4S)
ORS, 23 rue Stanislas Torrents
13006 - Marseille*

Au niveau international, on observe une multiplication des incitations à la mise en place de luttes conjointes contre le VIH et la tuberculose, tant sur le plan de la structuration des programmes que du point de vue des actions de prévention et des modalités d'accès aux traitements (OMS, 2004 ; Stop TB, 2006-a & -b). Si la voie en matière de politique de santé est ainsi tracée, elle est peu étudiée dans ses déclinaisons pratiques. Or la structuration conjointe de la lutte contre ces deux pathologies ne va pas sans générer de possibles difficultés dès lors qu'elle doit puiser dans des histoires et des cultures organisationnelles différentes. Elle est par ailleurs tenue de s'appuyer sur des politiques de décentralisation qui ont atteint des niveaux différents selon les pathologies, alors que l'ensemble des problèmes liés à l'accès aux dépistages et aux traitements ne sont pas résolus. Par ailleurs, chez les professionnels de santé, appréhender conjointement la tuberculose et l'infection à VIH suppose l'appropriation de savoirs et de pratiques qui relèvent des spécificités de l'une et de l'autre infection, mais aussi naturellement de celles de la co-infection. Enfin, rapprocher les prises en charge du VIH et de la tuberculose suppose de penser les conjonctions de processus de craintes et de stigmatisation inhérents à chacune des deux maladies. L'objectif de cette communication est donc de montrer les enjeux ainsi que les contraintes que pose cette prise en charge conjointe TB/VIH au niveau national, à l'échelle des structures de santé et chez les patients.

24. CO-MORBIDITE VIH ET LES CANCERS NON-CLASSANT SIDA : CAS DU CENTRE HOSPITALIER DE KINSHASA

Madiata M.E, Mbendi C., Batalansi D

Centre Hospitalier Nganda Kinshasa Rep. Dem. Du Congo

Nous avons mené une étude sur 361 malades souffrant de l'infection au VIH au cours de l'année 2007 et avons remarqué que

- 48 patients sur l'ensemble soit 13,2 % souffraient des cancers dont 11 soit 3 % de l'ensemble et 22,9 % des patients cancéreux présentaient des cancers non classant SIDA (Hépatocarcinome : 4, cancer du larynx : 2, cancer du palais 1, cancer de l'œil : 1, cancer du pancréas : 2, cancer du sein : 1)
- Le taux de CD 4 des malades avec les cancers non classant SIDA était significativement plus bas que groupe présentant des cancers classant SIDA
- La réponse aux ARV (Haart) restait moins bonne chez les malades atteints des cancers non classant SIDA
- La réponse à la chimiothérapie était dans l'ensemble identique
- Le taux de mortalité est resté plus important chez les malades avec les cancers non classant SIDA

Nous sommes arrivés aux conclusions suivantes :

- Le taux des cancers non classant SIDA tend à augmenter dans notre milieu comparativement aux années passées
- Les cancers non classant SIDA seraient des facteurs de mauvais pronostic sur la réponse au traitement et sur la survie des malades infectés par le VIH
- la réponse immunitaire reste faible chez les patients présentant des cancers en général, plus faible encore chez les malades avec cancers non classant SIDA

Cette étude sera poursuivie pour déterminer, en incluant d'autres paramètres d'évaluation, avec quasi certitude le pourquoi de l'augmentation de la prévalence des cancers non classant SIDA dans la population de Kinshasa, quels sont facteurs intervenant dans la baisse de taux de CD4 et dans la mauvaise réponse aux différents traitements.

25. EVOLUTION VERS LES CRITERES D'ADMINISTRATION DU COTRIMOXAZOLE ET DES ANTIRETROVIRAUX CHEZ LES PERSONNES INFECTEES PAR LE VIH DIAGNOSTIQUES AVEC DES CD4 SUPERIEURS A 500/MM3, COHORTE ANRS 1220 PRIMO-CI

Albert Minga, Ali Coulibaly, Xavier Anglaret, Thomas Toni, André Inwoley, Roger Salamon, Charlotte Lewden

Programme PAC-CI, Abidjan

Objectif: Décrire le passage des lymphocytes CD4 <500 et $<350/\text{mm}^3$ chez des adultes africains infectés par le VIH-1 à date d'infection estimée et ayant des CD4 supérieurs à $500/\text{mm}^3$ et identifier les facteurs associés.

Methode: La cohorte ANRS1220 Primo-CI a inclus des adultes infectés par le VIH diagnostiqués à l'occasion d'un don de sang à Abidjan et pour lesquels la date de séroconversion pouvait être estimée (médiane du délai dernière sérologie négative - première sérologie positive). Parmi les patients ayant des $\text{CD4} > 500/\text{mm}^3$ à l'inclusion, la probabilité d'atteindre 500 et $350/\text{mm}^3$ CD4 a été estimée par la méthode de Kaplan-Meier et les facteurs associés étudiés par un modèle à risques proportionnels de Cox.

Résultats: Parmi 254 sujets, 102 sujets avaient des $\text{CD4} > 500/\text{mm}^3$ à l'inclusion, dont 65 hommes (64%). Le délai médian entre la date estimée de séroconversion et l'inclusion était de 8 mois (EIQ:5-14), les CD4 médians $673/\text{mm}^3$ IQR (585-784). Pendant 387 personnes-année, 9 patients étaient décédés et 9 perdus de vue. A 4 ans, la probabilité de maintenir les $\text{CD4} > 500/\text{mm}^3$ était de 25% et $>350/\text{mm}^3$ de 50%. En analyse multi variée, les CD4 initiaux et le sexe masculin (risque relatif (RR) 1,9 (95%CI 1.0-3,4) étaient associés au passage des CD4 en dessous de $350/\text{mm}^3$.

Conclusion: Quatre ans après l'inclusion des patients dans cette cohorte, 50% arrivent à un stade immunologique où l'initiation du traitement antirétroviral peut être discutée. Un diagnostic précoce de l'infection par le VIH pourrait améliorer la prise en charge et réduire le risque d'infection opportuniste grave.

26. EVALUATION OF DIFFERENT EXTRACTION PROTOCOLS AND STORAGE CONDITIONS OF DRIED PLASMA SPOTS FOR HIV-1 RNA QUANTIFICATION AND PCR AMPLIFICATION FOR GENOTYPIC DRUG RESISTANCE TESTING

Marjorie Monleau¹, Céline Montavon¹, Paula Fujiwara², François Boillot³, Eric Delaporte¹, Martine Peeters¹

¹ : UMR 145, Montpellier ; ² : UITCMR ; ³ : Alter – Santé Internationale & Développement, Montpellier

Dried Blood or Plasma spots are an alternative to plasma for monitoring of HIV in resource-limited countries. Our major aim was to study two crucial steps, i.e. viral RNA extraction and storage conditions over time of dried plasma spots (DPS) for HIV viral load (VL) and drug resistance testing.

DPS were prepared with different concentrations (2,000, 20,000 and 200,000 cop/mL) of HIV viral RNA spiked in human seronegative plasma. HIV-1 RNA recovery was compared with four different manual viral RNA extraction kits (Qiagen, Abbott, Nuclisens and Roche). Viral RNA was subsequently quantified by the same real-time RT-PCR assay (Generic HIV VL, Biocentric). Protease (PT) and reverse transcriptase (RT) regions of the *pol* gene were amplified according to the ANRS protocol.

After 48h, the RNA recovery with Qiagen and Roche extractions revealed a significant loss of 0.8 to 1.4 log₁₀ and 2.2 log₁₀ respectively. Extractions with Abbott or Nuclisens resulted in loss of 0.4 to 0.8 log₁₀ and of 0 to 0.8 log₁₀ respectively. Only with these extractions, RT and PT could be amplified for all concentrations. Using Abbott and Nuclisens extractions, no additional loss in VL was observed after 4 weeks at 20°C and at 37°C. Similarly, PT and RT amplifications were successful at 20 and 37°C after 4 weeks, except for the lowest (2,000 cop/mL) concentration.

In conclusion, RNA extractions with Nuclisens and Abbott extractions show correct RNA recovery from DPS. Moreover viral RNA remains stable over time for at least 4 weeks at 20°C and 37°C. Experiments are needed in the field to determine the optimal storage conditions.

Keywords: HIV; dried spots; RNA extraction kit; viral load quantification; drug resistance; resource-limited countries

27. EPIDEMIOLOGIE DE L'INFECTION A VIH/SIDA DANS LA WILYA DE TIZI-OUZOU - ALGERIE

F.Toudeft¹, F.Belateche², A. Amrane³- A. Touat⁴

(1)SEMEP CHU Tizi-Ouzou ; (2)SEMEP CHU Hussein-Dez Alger ; (3)Service de Maladies infectieuses-EHS EL HAADI FLICI ; (4)Service de Maladies infectieuses CHU Tizi-Ouzou

Le premier cas de SIDA rapporté en ALGERIE a été diagnostiqué en décembre 1985, depuis, le nombre de cas ne cesse d'augmenter.

Jusqu'au 31 janvier 2008, 841 cas de SIDA et 2955 cas de séropositifs ont été enregistrés et confirmés par le Laboratoire National de Référence (LNR), comparativement aux nombres enregistrés au 30 septembre 1995 qui étaient de 244 cas de SIDA et de 512 cas de séropositifs.

On note une prédominance masculine avec un Sex-ratio de 1.39 ; la tranche d'âge 20-44 (active sexuellement) est la plus touchée (20% des cas); le mode de contamination est dominé par la voie hétérosexuelle (17,34%), l'homosexualité est retrouvée chez l'homme, l'hétérosexualité chez la femme.

Il ressort également qu'avant l'année 1999, le mode de contamination était dominé par la transfusion sanguine et l'injection de drogues, au cours de ces dernières années, la voie sexuelle domine le tableau épidémiologique.

Le VIH1 est le plus souvent retrouvé, cependant une dizaine de cas à VIH2 chez les populations non autochtones du Sud ont été signalées par le LNR⁽⁸⁾. Il faut signaler que le sous type B est prédominant au Nord de l'Algérie (17 sous types) et le sous type C est retrouvé dans le Sud (5 sous types à Tamanrasset) d'après les travaux de Mohammedi. La présence du sous type C pourrait expliquer la plus grande fréquence de la maladie dans le Sud en raison de son extrême transmissibilité.

Parmi les wilayas du Nord, la Wilaya d'Alger enregistre près des ¾ des cas notifiés de séropositifs (70,73%) avec une incidence de période de 12,3 cas p.100000 habitants ; la wilaya de Tizi-Ouzou vient au deuxième rang, suivie de Bejaia.

Objectif

Déterminer la tendance évolutive de l'infection à VIH/SIDA dans la wilaya de Tizi-Ouzou ainsi que les caractéristiques épidémiologiques des cas de patients infectés depuis le début de l'épidémie.

Matériel et Méthode

Enquête prospective, longitudinale sur les nouveaux cas infectés par le VIH/SIDA et/ou nouveaux malades, recensés à partir du 1^{er} juillet 2006 au 31 décembre 2007 ; complétée par une étude rétrospective de tous les cas notifiés depuis le début de l'épidémie au 30 juin 2006, tous résidant dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

Sont inclus tous les patients séropositifs et/ou malades, hospitalisés durant ces deux périodes au service de maladies infectieuses du CHU de Tizi-Ouzou et/ou à l'EHS El-Kettar (Alger), ou se présentant en consultations au courant des deux périodes.

La collecte d'informations s'est faite par la mise en place d'un réseau de suivi (SEMEP- Service des maladies infectieuses du CHU de Tizi-Ouzou- laboratoire de dépistage du VIH (CDAG) du CHU de Tizi-Ouzou- EHS El Kettar- LNR/VIH/SIDA) ainsi que sur dossiers patients hospitalisés dans les mêmes services sus cités,

Résultats

67 cas de VIH/SIDA dont un enfant, une femme enceinte et une professionnelle du sexe ont été notifiés ; 82,4% malades et 17,6% séropositifs ; on note à ce jour 25 décès et 25 vivants, les

autres sont perdus de vue. Le 1^{er} cas est diagnostiqué le 14.05.1986, le dernier cas le 27.10.2007. L'âge moyen des patients est de 44,5+/-16 ans ; 61,8% de mariés, 7,4% de célibataires et 7,4% de veuf(ve)s. Le sex ratio est de 1,1; le niveau d'instruction le plus élevé est le secondaire retrouvé chez deux personnes, 14,7% d'analphabètes.

La notion de migration est retrouvée dans 66,2% des cas (60,3% en France et dont 35,3% il s'agit de femmes de conjoints émigrés). Le mode de contamination le plus retrouvé est l'hétérosexualité en Algérie (36,8%), l'hétérosexualité en France (19,1%), la toxicomanie à l'étranger et locale dans 2,9% des cas chacune et la transfusion à l'étranger (2,9%); le VIH1 est retrouvé dans 29,4%, 1 cas d'association VIH1/VIH2, dans le reste des cas le typage est indéterminé. Dans les comportements des patients, les pratiques sexuelles à risque sont de 17,6% (partenaires multiples :10,3% ; profession du sexe :4,4%).

Les infections opportunistes observées sont : zona, pneumocystoses, tuberculose, diarrhées, candidoses. 13,2% ont reçu la trithérapie, 8,8% ont reçu un traitement symptomatique et 8,8% les deux en même.

28. ENQUETE COMPORTEMENTALE CHEZ LES MIGRANTS DE LA COMMUNE DE TIZI-OUZOU - ALGERIE

F.Toudeft¹, N.Halli¹ N.Bekri¹ - F.Belateche²

(1) SEMEP CHU Tizi-Ouzou

(2) SEMEP CHU Hussein-Dey Alger

En Algérie, l'importante migration nationale et internationale est l'un des principaux déterminants de l'épidémie du VIH/SIDA. Cette migration est constituée essentiellement par l'émigration d'algériens en France qui a débuté depuis les années de la première guerre mondiale (mobilisation de travailleurs « libres » ou des réquisitions de soldats mobilisés, provenant essentiellement de la Kabylie). Le deuxième type de migration est constitué par le flux migratoire entre les frontières du Sud Algérien et l'Afrique Sub Saharienne, constitué essentiellement par la libre circulation des personnes, accentuée à partir des années 1990 suite à l'ouverture des frontières. Les mouvements migratoires existent aussi et souvent incontrôlés, entre le Nord et le Sud du pays ainsi que le Nord et d'autres pays du Maghreb (Tunisie, Maroc).

Ces échanges rendent compte des risques liés aux mouvements de populations qui se traduisent par une aggravation de l'épidémie au sein des populations vulnérables autochtones et des populations mobiles.

L'émigration vers l'Europe représente un risque non négligeable dans la transmission du VIH surtout au début de l'épidémie, comme l'a démontré la notification des cas de SIDA et des séropositifs. Une analyse des cas de SIDA enregistrés de 1985 à 2005, montre que les nationaux résidents à l'étranger et les personnes de nationalité étrangère constituent à eux seuls 18,14% des cas (127 cas/700 cas).

D'où la nécessité de se pencher sur ces populations ainsi que sur leurs familles, en mettant en place une surveillance basée sur des indicateurs appropriés. Une étude de l'impact des mouvements migratoires sur une commune d'une wilaya à risque d'Algérie dont Tizi-Ouzou, touchée par l'épidémie et par des flux migratoires humains, nous ait parue intéressante.

Objectifs

- Mieux connaître les facteurs de risque impliqués dans le processus de mobilité, ainsi que les facteurs déterminants les comportements à risque d'infection à VIH/SIDA ;
- Proposer des mesures spécifiques de prévention permettant une prise en charge de l'épidémie et une lutte contre sa progression dans le cadre d'une approche multisectorielle et régionale.

Matériel et Méthode

Le groupe de migrants est recruté de façon continue sur une durée de trois mois, au niveau des agences de voyages implantées de la commune du chef lieu de wilaya. L'enquête s'est effectuée durant la période de vacances estivales afin de cibler le maximum de personnes de retour au pays d'origine.

Sont incluses toutes les personnes émigrées ou travaillant de façon permanente à plus de 200 Kms de leur lieu de résidence, se présentant au niveau des agences de voyage de la commune de juillet à septembre 2006.

Dans les agences de voyage, l'approche est individuelle après information de la personne à enquêter par le personnel de l'agence.

Résultats

147 migrants ont été enquêtés ; leur âge moyen est de 34,9+/-11,5 ans, le sex ratio est de 6 ; leur niveau d'instruction est universitaire (46,3%), secondaire (31,3%), moyen (13,3%) ; les

analphabètes ne sont que de 2%. 51% d'entre eux sont mariés et 44,9% de célibataires. 82,3% sont algériens et 13,6% ont une nationalité algéro-française. La migration se fait dans 58,8% des cas vers l'Europe et la France est représentée dans 89,8% des situations.

38% des personnes mariées migrent sans le conjoint ; les raisons de migration sont la recherche d'une vie meilleure (53,9%), 34,3% à cause du chômage, pour poursuivre les études (8,8%) et dans le cadre du rapprochement familial (9,8%).

95,9% d'entre eux connaissent le VIH/SIDA et savent que c'est une grave maladie ; la séropositivité est connue dans 65,3% ; 78,9% la trouvent mortelle ; 87,8% savent qu'elle est causée par un virus ; 69,4% connaissent le mode de contamination. Le préservatif est considéré comme moyen de protection (96,6% des cas), il est à usage unique pour 64,6% d'entre eux, multiple (10,2%) ; 76,9% savent que la pilule n'a aucun rôle.

Dans leurs comportements, 17,7% des migrants usent des drogues injectables et parmi eux, 53,9% le font en France.

L'âge du 1^{er} rapport sexuel est de 19,9+/-3années ; ce 1^{er} rapport est protégé dans 34,4% seulement : cette protection augmente avec le niveau d'instruction des migrants ($X^2=5,47$; $p<1p.100$). 65,3% d'entre eux effectuent des rapports sexuels en dehors du mariage dont 68,5% le font plus de 10 fois/an ; ils les pratiquent le plus souvent (34,2%) à l'étranger. Leurs partenaires sont des connaissances (74%), 5,5% sont des professionnel(le)s du sexe et 16,4% des cas les deux à la fois.

Actuellement, 38,1% des migrants déclarent avoir plusieurs partenaires et les raisons sont l'éloignement du conjoint (21,4%), les CSE défavorables (12,7%) ; le célibat et les CSE défavorables sont des causes dans 10,7% chacun. 42,9% des rapports sexuels ne sont pas protégés en raison de l'oubli (31,4%), par confiance du conjoint (8,6%) et 2,9% trouvent le préservatif coûteux ; les relations sont hétérosexuelles dans tous les cas. Parmi les drogués, 57,7% se protègent lors des rapports.

Au moment de la transition, 53,7% des migrants fréquentent des hôtels et parmi eux, 36,7% pratiquent des relations sexuelles avec des professionnel(le)s du sexe (16,7%), avec des partenaires non connus (61,1%) et les deux types de partenaires (22,8%). 37,2% seulement d'entre eux se protègent avec un préservatif et cette protection est observée chez les personnes avec niveau d'instruction élevé ($X^2=18,3$; $p<2p.100$).

29. ENQUETE COMPORTEMENTALE CHEZ LES JEUNES DE LA COMMUNE DE TIZI-OUZOU – ALGERIE SEPT-DEC 2006

F.Toudeft¹ F.Belateche² N.Halli¹ N.Bekri¹

(¹) SEMEP CHU Tizi-Ouzou (²) SEMEP CHU Hussein-Dez Alger

Dans le cas d'épidémie peu active de VIH/SIDA, où l'on enregistre un faible taux de prévalence dans tous les groupes de populations (<5%) comme l'Algérie, les systèmes de surveillance doivent attacher une grande importance aux comportements et à l'infection à VIH dans les groupes à risque observant les changements de comportements susceptibles d'entraîner une augmentation du taux d'infection.

Si elles sont répétées dans le temps, les enquêtes comportementales contribuent sensiblement à la connaissance de la dynamique de l'épidémie et les données ainsi produites, constituent un outil puissant aux fins de sensibilisation et permettent d'augmenter l'appui national et international en faveur de la riposte.

En Algérie peu d'enquêtes ont été menées ; une enquête sur les CAP sur l'infection à VIH chez les jeunes en milieu universitaire et de formation professionnelle, menée dans le secteur sanitaire de Kouba en décembre 2002, a montré que 13,81% ont eu une relation sexuelle, dont 4/5 d'entre eux l'ont fait avant 20 ans et dans 75% des cas les relations ont eu lieu avec un seul partenaire ; 41,17% des garçons les ont eu avec plusieurs partenaires.

Une autre étude CAP chez le personnel de santé exerçant au niveau du même secteur sanitaire en mai juin 1999 a retrouvé que 68,57% de l'ensemble du personnel connaissent le risque d'infection à VIH dans le milieu du travail, 61,42% de tout le personnel savent comment éviter la contamination.

Objectifs

Apprécier le niveau de connaissance des jeunes et des personnes enquêtées sur le mode de transmission de l'infection à VIH.

Identifier certains éléments du comportement sexuel et comprendre les tendances comportementales de la population vulnérable à l'infection et des populations à risque, en se basant sur les indicateurs comportementaux.

Mettre en place un plan d'information et d'éducation sur le VIH/SIDA.

Matériel et méthode

Il s'agit d'une enquête transversale par interrogatoire chez deux populations de jeunes âgés de 15 à 29 ans tous sexes confondus, résidents dans la commune du chef lieu de Tizi-Ouzou, et fréquentant les Centres de Formation Professionnelle, les maisons de jeunes et les centres de loisirs (afin d'inclure toutes les catégories de jeunes (chômeurs, étudiants,...) durant l'année scolaire, afin d'éviter les congés annuels des stagiaires des CFP.

Les enquêtes sont faites de manière inter active sur la base de questionnaires anonymes établi en deux langues (français et arabe) distribués après avoir donné les objectifs de l'étude et un bref exposé sur les IST/VIH/SIDA;

Résultats

786 jeunes ont été enquêtés (69,1% de sexe féminin et 27,7% de sexe masculin, 3,2% indéterminés) ; 63,1% avaient un niveau d'instruction secondaire, universitaire (16,2%), niveau moyen (10,8%) ; 81,3% étaient célibataires et 13,5% mariés ; le statut socio économique était bon dans 36,3% des cas et défavorable dans 1/3 des cas (33,2%). 96,7% d'entre eux pensent que le sida est une maladie grave, 94,1% la trouvent mortelle ; 90,3% savent qu'elle est causée par un

virus ; 39,4 seulement connaissent les modes de transmission de la maladie et 48,6% seulement connaissent les moyens de transmission ; la séropositivité est connue dans 51,3% seulement, 81,2% savent que le préservatif est un moyen de protection, 65,8% de ces derniers savent qu'il n'est utilisable qu'une seule fois ; 57,4% seulement savent que la pilule n'a aucun rôle dans la prévention .

Parmi ces jeunes, 15,6% consomment des drogues injectables, 27,4% ont eu des gestes à risque (cuping, piercing) et 24,2% seulement de ces gestes sont pratiqués chez un médecin, le reste chez le guérisseur ou le taleb.

20% ont déclaré avoir eu des rapports sexuels, le nombre moyen de partenaires est de 7 et dans 54,4% ce sont des connaissances mais dans 8,1% il s'agit de professionnels du sexe. L'âge moyen du 1^{er} rapport sexuel est 17,8 années+/- 4 ; ce premier rapport est protégé dans seulement 33,9% des cas.

Actuellement, 65,1% déclarent avoir un seul partenaire et 34,9% en ont plusieurs. Les rapports actuels sont protégés dans 51,7% seulement et les raisons de la non protection du reste des jeunes sont la confiance (44,3%), oubli (12,5%), absence d'information (9,1%), non conviction (8%) et 3,4% n'ont pas les moyens d'en acquérir. Parmi ces derniers, 82,2% ont des pratiques hétérosexuelles, dans 9,6%, elles sont homosexuelles et 8,3% pratiquent les deux. Dans tous les cas les relations sont vaginales (22,6%des cas), buccales (27,8%), anales (10,4% et dans 22,6% des cas on note un mélange de comportement.

21,4% déclarent avoir eu des rapports avec un partenaire non régulier durant les 12 derniers mois et ce dernier n'est protégé que dans 44,2% des cas.

Réservoirs

30. CHARACTERIZATION OF INFECTIOUS RECOMBINANT VIRUSES EXHIBITING HIV-1 ENV FROM SEMINAL STRAINS

Philip Lawrence¹, Willy Berlier¹, Kaiqing PAN¹, Olivier Delezay¹, François Clavel², Fabrizio Mammano², Sabine Palle⁴, Thomas Olivier⁴, Frédéric Lucht^{1,3} and Bruno Pozzetto¹ et Thomas Bourlet.

¹ *Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes (GIMAP-EA 3064), Faculté de Médecine J. Lisfranc, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France*

² *INSERM U552, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France*

³ *Infectious Diseases Department, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France*

⁴ *Centre de Microscopie Confocale Multiphotonique, Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France*

The aim of this study was to construct infectious recombinant viruses (cell-free and cell-associated) exhibiting HIV-1 env from seminal strains. Genetic differences between blood and mucosal-derived HIV-1 strains have been widely reported. Unfortunately, amplification of HIV-1 strains from mucosal samples including semen or saliva by co-culture is fastidious and has low sensitivity. To overcome this difficulty, we have developed the construction of chimeric viruses expressing wild-type seminal HIV-1 envelope protein using the V1-V3 deleted vector pNL 4-3. A 940 bp fragment containing the envelope region spanning V1-V3 of HIV-1 was amplified by nested-PCR from HIV-1 RNA-positive seminal plasma and, as controls, from the laboratory strains HIV-1_{LAI} (X4-tropic) and HIV-1_{BAL} (R5-tropic). Chimeric viruses were then produced by co-transfection of a mixture of 6 nested-PCR fragments (per sample) and the HIV-1 genomic construct pNL 4-3 ΔV in 293 T cells. After an initial testing of co-receptor usage by a tropism recombinant test, replication capacity and amplification of these recombinant viruses were assessed using PBMC. V1-V3 fragments were successfully amplified from eleven seminal samples from HIV-1 infected men. Four chimeric replicative strains were produced with viral titers ranging from 0.036 to 0.130 ng/ml of p24 (TCID₅₀). The interaction between free or cell-associated viral particles and a reporter cell line was visualized by confocal microscopy. These replicative chimeric seminal viruses (cell-free and cell-associated) represent useful tools for the study of the heterosexual transmission of HIV-1 using *in vitro* models of genital barriers, testing of microbicide activity and for mucosal immunity.

31. ROLE OF CHROMATIN REMODELING COMPLEXES IN CONTROLLING HIV-1 EXPRESSION IN PRIMARY CD4+ T CELLS

Guillemette X. Masse^{1,2} and Stéphane Emiliani^{1,2}

¹. Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France.

². Inserm, U567, Paris, France.

Viral latency is one of the limits of complete eradication of Human Immunodeficiency Virus (HIV-1) in particular in HAART treated patients. The molecular mechanisms controlling HIV-1 expression in latently infected CD4⁺ T lymphocytes are still not understood. Tat is a viral transactivator that increases transcription from the 5' LTR viral promoter by improving the efficiency of elongation of the initiated complex. Several cellular co-factors of Tat involved in transcription elongation (Cyclin T1, Cdk-9) or histone acetylation (p300, PCAF) have been identified. Recently, we (and others) showed that chromatin remodeling complexes are also important for Tat-mediated transcriptional activation of the viral promoter. Understanding the role of these cofactors of Tat in latently infected CD4⁺ T lymphocytes *in vivo* is determinant in the knowledge of HIV disease.

We first propose to recapitulate the involvement of these Tat cofactors on HIV-1 transcription in *in vitro* infected primary CD4⁺ T cells. The second aspect of our project is to decipher the role of Tat cofactors in the latent phase of the virus and/or in the re-activation of HIV-1 from latently infected CD4⁺ T lymphocytes. Since Tat function is essential for productive viral replication and has no known cellular homolog, it is an attractive target for the development of anti-HIV drugs.

32. MECANISMES MOLECULAIRES A L'ORIGINE DE LA LATENCE POST- INTEGRATIVE DANS LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL

**Marban C, Suzanne S, Dequiedt F, de Walque S, Redel L, Van Lint C, Aunis D et
Rohr O**

INSERM / Université Louis Pasteur –Strasbourg-

La persistance des réservoirs cellulaires infectés de manière latente par le VIH-1 chez les patients sous traitement anti-rétroviral actif (HAART) représente un obstacle majeur à l'éradication définitive du virus. Ces réservoirs, de nature diverse, échappent à l'action des drogues et du système immunitaire et représentent une source permanente de réactivation virale suite à l'interruption du traitement HAART.

Nos travaux portent sur les mécanismes moléculaires qui contrôlent la latence et la réactivation transcriptionnelle du virus VIH-1, dans son contexte naturel représenté par le provirus intégré dans le génome cellulaire et organisé sous forme de chromatine. Nous avons démontré l'importance du facteur cellulaire CTIP2 dans l'établissement de la latence transcriptionnelle dans des cellules microgliales, les macrophages résidents du Système Nerveux Central (SNC). Infectées de façon latente, ces cellules constituent d'excellents réservoirs viraux. CTIP2 recrute HDAC1, HDAC2 et SUV39H1 sur le promoteur du VIH-1, provoquant une déacétylation puis une méthylation des histones à l'origine de la formation de structures hétérochromatiniennes et du silencing des gènes viraux. CTIP2, en association avec HDAC1/2 et SUV39H1, apparaît donc comme un facteur clé dans la formation de réservoirs viraux dans le système nerveux central.

33. LES SITES AP-1 LOCALISES DANS LA REGION CIS-REGULATRICE DU GENE POL DU HIV-1 SONT IMPORTANTS POUR L'INFECTIVITE VIRALE

N. Vandenhoudt¹, S. de Walque¹, B. Van Driessche¹, L. Colin¹, A. Guiguen¹, V. Martinelli¹, C. Vanhulle¹, A. Burny¹, O. Rohr² et C. Van Lint¹.

¹ *Université Libre de Bruxelles, Institut de Biologie et de Médecine Moléculaires, Laboratoire de Virologie Moléculaire, 6041 Gosselies, Belgique* ² *Institut de Virologie, 67000 Strasbourg, France*

La transcription du HIV-1 est contrôlée par des séquences spécifiques agissant en *cis* localisée au niveau des deux LTRs, par la protéine virale *trans*-activatrice Tat et par des facteurs de transcription cellulaires. En plus de ces éléments, notre laboratoire a précédemment identifié un enhancer intragénique inductible par le PMA dans le gène *pol* du HIV-1. Cet enhancer est composé de deux fragments fonctionnels : le fragment 5103 et le fragment 5105 localisés respectivement dans la partie centrale du gène *pol* et dans une région couvrant la fin du gène *pol*, le gène *vif*, le gène *vpr* et le premier exon codant des gènes *tat* et *rev*. De manière intéressante, notre laboratoire a identifié trois sites de liaison pour le facteur AP-1 dans le fragment 5103. Nous avons montré que des facteurs AP-1, et plus précisément c-Fos et JunB, lient spécifiquement les sites AP-1 précédemment identifiés dans le fragment 5103 et sont recrutés *in vivo* spécifiquement dans la région du fragment 5103. Nous avons également montré *in vitro*, dans le contexte hétérologue du promoteur de la thymidine kinase, que ces sites sont entièrement responsables de l'activité enhancer inductible par le PMA démontrée par le fragment 5103. Nos résultats démontrent que l'intégrité des sites AP-1 intragéniques localisés ~ 4 kb en aval du site d'initiation de la transcription est importante pour la réplication du HIV-1 dans des lignées cellulaires humaines CD4+ lymphocytaires T et monocytaires/macrophagiques, indiquant une fonction régulatrice positive *in vivo* du fragment 5103.

34. LONG-TERM PERSISTENCE OF MEMORY B CELLS SPECIFIC FOR HEPATITIS B SURFACE ANTIGEN IN HIV-1 INFECTED PATIENTS

Edouard Tuillon^a, Yassine Al Tabaa^a, Vincent Baillat^b, Gaël Petitjean^a and Jacques Reynes^b and Jean Pierre Vendrell^a.

Laboratoire de Virologie^a, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France; and Departement des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Gui de Chauliac, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier^b, Montpellier, France.

To investigate the maintenance of long-term memory B cells specific for hepatitis B surface antigen (HBsAg), purified blood B cells from 10 HIV-1 infected patients who had recovered from HBV infection, 10 HIV-1 infected patients HbsAg vaccinated and 20 HbsAg vaccinated healthy controls, were stimulated and cells secreting antibodies directed to HBsAg (HBs-SC) enumerated by an ELISpot assay.

HBs-SC were found in 18/20 HIV-1-infected patients with either natural or vaccinal immunity to hepatitis B virus, including six subjects with serum anti-hepatitis B surface antibody levels less than 10 mIU/ml. A lower number of HBs-SC was found in HBsAg-vaccinated patients compared with vaccinated controls. HbsAg-specific memory B cells could be detected several years after HbsAg vaccination or HBV recovery in HIV-1 infected patients including some individuals with undetectable anti-HBs antibodies in serum. HbsAg memory B cells persist in HIV-1 infected patients.

Virologie

35. INHIBITION DE L'ÉPISSAGE DU PRE-MESSAGER D'HIV-1 PAR DES PETITES MOLECULES CHIMIQUES : UNE NOUVELLE STRATEGIE ANTIRETROVIRALE

Nadia Bakkour, Yea-Lih Lin, Sophie Maire, Lilia Ayadi, Florence Mahuteau-Betzer, Chi Hung Nguyen, Pierre Portales, David Grierson, Benoit Chabot, Philippe Jeanteur, Pierre Corbeau, Christiane Branlant and Jamal Tazi.

Institut de génétique moléculaire de Montpellier- UMR 5535 ; UMII-CNRS

Le virus du SIDA, comme pratiquement tous les rétrovirus, a recours au mécanisme d'épissage pour exprimer des gènes essentiels à sa multiplication. En effet, la version du virus qui s'intègre dans le génome des cellules humaines est transcrite sous forme d'un précurseur unique qui, par épissage alternatif, génère 40 ARN messagers codant pour des protéines virales différentes. Ces événements d'épissage sont contrôlés par plusieurs séquences régulatrices de type ESE (Exonic Splicing Enhancer) dont certaines sont localisées en aval de sites d'épissage responsables de l'expression des protéines clés de la multiplication virale comme Tat, Rev, Vpu, Env et Nef. Les protéines qui interagissent avec ces séquences ESE appartiennent à la famille des protéines SR (Serine Arginine-rich) connues pour leur implication dans le choix des sites d'épissage et le contrôle de l'épissage alternatif. Nous avons effectué un criblage de molécules nous permettant d'identifier plusieurs molécules affectant ce mécanisme de façon spécifique et appartenant à la famille des benzo-pyrido indoles et pyrido-carbazoles.

En particulier nous avons identifié une nouvelle molécule dérivée d'indole (IDC16), qui est capable d'interférer avec la réplication de souches virales de laboratoire, d'isolats cliniques et même de souches issues de patients résistants aux tri-thérapies anti-VIH.

Il est important de noter que le traitement de cellules primaires du sang n'altère pas le profil d'épissage de gènes endogènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire et l'apoptose. Ainsi, les facteurs d'épissage humains représentent une nouvelle cible prometteuse pour le développement de thérapies antiretrovirales, particulièrement pour l'inhibition de souches multi-résistantes.

36. CARACTERISTIQUES DES GENES D'ENVELOPPE DU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE DE TYPE 1 (VIH-1) DE SOUS-TYPE CRF01_AE TRANSMIS DE LA MERE A L'ENFANT

Samleerat T, Braibant T, Jourdain G, Moreau A, Ngo-Giang-Huong N, Leechana Chai P, Hemvuttiphon J, Hinjiranandana T, Changchit T, Warachit B, Suraseranivong V, Lallemand M et Barin F.

Université François-Rabelais, Inserm ERI19 et CHU Bretonneau, Tours.

Des études récentes ayant mis en évidence certaines caractéristiques des virus transmis sexuellement isolés précocement dans l'infection (gp120 plus compacte et moindre nombre de sites de N-glycosylation, par comparaison à des isolats tardifs), nous avons analysé les caractéristiques moléculaires des virus transmis dans le contexte de la transmission mère-enfant (TME).

Matériel et Méthodes: 17 couples mère-enfant ont été étudiés, 6 enfants ayant été infectés *in utero* et 11 enfants en période périnatale. Les séquences du gène *env* (gp120) ont été amplifiées à partir de l'ADN proviral extrait des cellules mononuclées (PBMC) maternelles obtenues à l'accouchement et à partir de l'ARN viral extrait du premier prélèvement plasmatique positif chez l'enfant. Les amplicons ont été clonés et séquencés. Un total de 353 clones étaient disponibles pour l'analyse moléculaire.

Résultats: 14 mères ont transmis une population virale homogène restreinte génétiquement et 3 mères ont transmis de multiples variants à leur enfant. La longueur de la gp120 (nombre d'a.a.) et le nombre de sites potentiels de N-glycosylation (PNGS) étaient similaires pour la mère et l'enfant au sein de chaque couple. L'analyse fine a révélé que 4 PNGS (N241, N301, N354, et N384) étaient systématiquement conservés chez les variants des enfants mais étaient irrégulièrement présents chez les variants maternels, suggérant qu'ils pourraient conférer un avantage sélectif.

Conclusions: Une gp 120 plus compacte et une moindre glycosylation ne sont pas des caractéristiques des virus transmis de la mère à l'enfant, au contraire de ce qui a été suggéré en cas de transmission sexuelle pour certains sous-types de VIH-1. Quatre sites de N-glycosylation semblent être sélectionnés chez les virus transmis, ce qui pourrait conforter l'implication du « bouclier glycanique » de la gp120 dans l'avantage sélectif.

37. MECHANISMS INVOLVED IN NEF-DEPENDENT INCREASE OF HIV-1 INFECTIVITY

Laguette N.¹, Zarka M.¹, Bouchet J.¹ and Benichou S.¹ and Basmacioqullari S¹

¹ Institut Cochin, CNRS UMR 8104, Inserm U 567, Université Paris Descartes, Paris, France

The *nef* gene of human and simian immunodeficiency viruses encodes a 27kDa protein that plays an important role in the progression of the infection to AIDS. *In vitro*, single round and replication competent viruses deleted from *nef* are less infectious than their wild-type counterpart. There is a relative consensus on the rules that govern this phenotype: i) the infectivity of Δnef viruses can be restored when Nef is expressed in producer cells, not in target cells; ii) Nef does not affect entry; iii) Nef increases the infectivity of viruses that enter target cells by fusion at the plasma membrane, not in endocytic vesicles; iv) this phenotype requires the integrity of the di-leucin motif that connects Nef to the clathrin adaptor complexes. In order to better understand the molecular basis of this phenotype, we determined whether the incorporation of Nef in viral particles is a prerequisite or if the presence of Nef in the virus producing cell is sufficient. We used Nef-Vpr chimerae to manipulate the amount of Nef incorporated in the virus through the Vpr domain. We showed that increasing the amount of Nef incorporated in the virus without affecting the amount of Nef expressed in producer cells did not increase HIV-1 infectivity. These results suggest a role of Nef during the assembly of the virus that eventually leads to the release of fully infectious viruses. In support of this hypothesis, the use of differential 2-D gel electrophoresis (DiGE) revealed differences in the protein content of wild-type and Δnef viruses.

38. TIP47 PROMOTES THE EFFICIENT RELEASE OF INFECTIOUS HIV-1 FROM THE ASSEMBLY COMPARTMENT OF MACROPHAGES

Hélène Bauby, Sandra Lopez-Vergès, Guillaume Hoeffel, Katy Janvier, Fabrizio Mamano, Anne Hosmalin, Clarisse Berlioz-Torrent

*INSERM U567 Institut Cochin Département Maladies infectieuses
27 rue du Faubourg St Jacques 75014 Paris*

Macrophages are, along with T CD4⁺ lymphocytes, the major targets of HIV-1 infection and play a key role in viral pathogenesis as a significant reservoir. Identification of the cellular cofactors involved in the production of infectious HIV-1 from macrophages is thus crucial. Nevertheless molecular mechanisms allowing the production of infectious particles from macrophages are not entirely deciphered. In this study, we investigated the role of the cellular cofactor TIP47 in HIV-1 morphogenesis in primary macrophages. Our data show that TIP47 is essential for HIV-1 infectivity and propagation. Mutations in HIV-1 Gag or Envelope (Env) proteins, which abolish interaction with TIP47, impair HIV-1 propagation and infectivity preventing colocalization of Gag and Env, and thereby inhibiting Env incorporation into virions. Whereas disruption of Gag-TIP47 interaction increases Gag particles production, impaired Env-TIP47 binding reduces Gag particles release and, strikingly, induces their retention in the viral assembly compartments. Thus, as in T lymphocytes, TIP47 is critical for the efficient release of infectious HIV-1 particles from the assembly compartment of primary macrophages, making TIP47 a new potential therapeutic target for limiting HIV-1 infectivity and spreading. This work is supported by grants from ANRS, SIDACTION, ANR and FRM.

39. THE 3-O-(3',3'-DIMETHYLSUCCINYL) DERIVATIVE OF BETULINIC ACID (DSB OR PA-457) INHIBITS THE ASSEMBLY OF VIRUS-LIKE PARTICLES (VLP) IN HIV-1 GAG-EXPRESSING CELLS

Sandrina DaFonseca, Pascale Coric, Saw See Hong and Serge Bouaziz and Pierre Boulanger.

Université Lyon I, Faculté de Médecine Laennec de Lyon

PA-457 (or Bevirimat™) has been shown to block the step of maturation and hence the infectivity of HIV-1 by interfering with the viral protease (PR) at the CA-SP1 cleavage site delineating the N-terminal boundary of the SP1 domain of HIV-1 Gag precursor (Pr55Gag^{HIV}). Since SP1 is critical for HIV-1 morphogenesis, we analyzed the effect of DSB on the assembly of recombinant Pr55Gag^{HIV} into virus-like particles (VLP), in a cellular context devoid of PR (1). We found a dose-dependent negative effect of DSB on HIV-1 VLP assembly and release, with an IC₅₀ of ~10 μM. The DSB effect was not due to the inhibition of Gag protein synthesis, or to a higher degradation rate of Gag precursor. It also occurred in a N-myristoylation- and p6-independent manner, implying that plasma membrane addressing and p6-interacting proteins were not required for the Gag sensitivity to DSB. HIV-1 VLP which assembled in the presence of DSB exhibited a dose-dependent decrease in stability of their inner cores upon membrane delipidation, compared to control VLP, suggesting weaker Gag-Gag interactions. DSB also inhibited SIVmac251 VLP assembly, although with a 2-fold lower efficacy (IC₅₀ ~20 μM). but no detectable inhibitory activity was observed for MLV VLP.

In order to map the DSB-sensitive sequence, we constructed a chimeric Gag consisting of the MA-CA domains from MLV (DSB^R) fused to SP1-NC-p6 from HIV-1 (DSB^S), and assayed the DSB sensitivity of the MLV^{MACA}-HIV^{SP1NC} Gag chimera with respect to VLP assembly. Our data indicated that the main DSB target on Pr55Gag was the SP1 domain, but that other upstream Gag region(s) might contribute to DSB sensitivity. Structural analysis of the Gag domain overlapping the CA-NC junction in HIV-1, SIVmac251 and MLV^{MACA}-HIV^{SP1NC} chimera suggested that a lower hydrophobic character of the CA domain immediately upstream to the HIV-1 CA-SP1 junction was associated with a lower DSB sensitivity. This result had important implications in terms of prediction of future DSB-resistant mutations in HIV-1 Gag.

(1) *DaFonseca et al., Antiviral Therapy, 12, 2007, 1185-1203. SDF was supported by an ANRS doctoral fellowship*

40. LE GENOTYPAGE DE V3 PEUT-IL REMPLACER LES TESTS PHENOTYPIQUES POUR LA DETERMINATION EN ROUTINE DU TROPISME DU HIV-1 ?

Delobel P., Raymond S., Sandres-Saune K., Cuzin L., Marchou B., Massip P., Izopet J.

Service des Maladies Infectieuses et Tropicales et Laboratoire de Virologie - INSERM U563 Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse

Objectif :

L'utilisation des antagonistes de CCR5 nécessite de pouvoir déterminer l'utilisation des corécepteurs d'entrée du HIV-1. Le séquençage direct de la région V3 *env* pourrait offrir une alternative simple aux techniques phénotypiques complexes actuellement utilisées pour déterminer le tropisme du HIV-1.

Méthodes :

L'utilisation des corécepteurs d'entrée a été déterminée en parallèle par séquençage direct de V3 et par un test phénotypique chez 103 patients. Les performances de différents outils génotypiques pour la détection des virus utilisant le corécepteur CXCR4 ont été comparées au test de référence phénotypique.

Résultats :

Les données génotypiques et phénotypiques ont été obtenues chez 98 patients. La règle 11/25 a eu une sensibilité de 65% pour la détection des virus utilisant CXCR4. Les algorithmes bioinformatiques WebPSSM et Geno2Pheno ont eu respectivement une sensibilité de 69% et 88% et une spécificité de 97% et 87% pour la détection des virus utilisant CXCR4. Nous proposons un nouvel algorithme, basé sur la combinaison de mutations aux positions 11 et 25 avec la charge électrostatique nette de la boucle V3. Cet algorithme simple a permis d'obtenir des performances similaires aux approches bioinformatiques avec une sensibilité de 77% et une spécificité de 96% pour la détection des virus utilisant CXCR4, et une concordance globale entre génotype et phénotype de 91%.

Conclusion :

Le séquençage direct de la région V3 *env* pourrait donc constituer une alternative simple et efficace aux techniques phénotypiques pour la détermination de l'utilisation des corécepteurs d'entrée du HIV-1 en pratique clinique.

41. LE VIH-1 EST A DEUX DOIGTS DES VIRUS ADN DE TYPE HBV OU SPUMAVIRUS

L. Houzet, L. Didierlaurent, Z. Morichaud, D. Muriaux, J-L. Darlix and M. Mougel.

*Equipe Marylène Mougel - Métabolisme des ARN rétroviraux et réplication rétrovirale
CNRS UMR 5236 - Institut de biologie
4 Bd Henri IV 4965 Montpellier cedex 2*

La protéine de nucléocapside (NC) du VIH-1 est composée de domaines basiques flanqués de 2 doigts de zinc (ZF) hautement conservés. La NC intervient dans de nombreuses étapes du cycle de réplication aussi bien précoces, comme la transcription-inverse (RT) et l'intégration, que tardives avec l'assemblage et le bourgeonnement des virions. Ceci explique que la NC est essentielle pour la réplication du VIH-1 et qu'elle constitue aujourd'hui un réel espoir comme nouvelle cible antivirale. Nous rapportons ici la découverte d'un nouveau rôle de la NC dans la réplication du VIH-1.

Des travaux de RT in vitro ont montré que la NC possède une activité chaperonne des acides nucléiques, portée par ses motifs ZF, et essentielle pour la RT. En culture cellulaire, la mutation des ZF entraîne une forte chute du taux d'ADN viral dans les cellules infectées. Contre toute attente, nos travaux révèlent que cette chute d'ADN viral dans les cellules infectées s'explique par le fait que la RT s'est déjà entièrement déroulée avant l'entrée dans la cellule. Nous montrons ici que les virions VIH-1 délétés des ZF renferment près de 1000 X plus d'ADN que les particules sauvages. Après avoir écarté une possible RT intravirion, nous montrons pour la première fois que la délétion d'un seul ou des deux ZF conduit à une synthèse d'ADN dans les cellules transfectées productrices de virions, à l'instar des virus foamy ou HBV. La NC se révèle être un véritable régulateur temporel de la RT, puisqu'elle contrôle la RT lors des étapes tardives d'assemblage.

42. IDENTIFICATION D'UN FACTEUR CELLULAIRE IMPLIQUÉ DANS LA RÉPLICATION DU VIH-1 ET LA RÉSISTANCE AUX INHIBITEURS NUCLÉOSIDIQUES DE LA RÉTRO-TRANSCRIPTION

Céline Ducloux, Catherine Isel, Jean-Christophe Paillart, Valérie Goldschmidt, Roland Marquet

Architecture et Réactivité de l'ARN, Université Louis Pasteur, CNRS, IBMC, 15, rue René Descartes 67084 Strasbourg France.

La rétro-transcription du VIH-1 est une cible thérapeutique privilégiée, avec notamment des inhibiteurs nucléosidiques (NRTI) agissant comme terminateurs de chaîne. Cependant, leur efficacité est limitée par l'émergence de mutations de résistance dans le gène de la rétro-transcriptase virale (RT). Si l'enzyme sauvage est capable d'exciser un NRTI par pyrophosphorolyse, certaines mutations de résistance favorisent un enlèvement des NRTIs par un clivage phosphorolytique utilisant non le PPi, mais l'ATP comme nucléophile. Ces données sont à l'origine d'un paradoxe: en effet, *in vitro*, en présence de concentrations physiologiques de PPi et d'ATP, les mutations de résistance n'offrent pas d'avantage significatif à la RT. Une hypothèse permettant de concilier ces résultats avec le fait que le VIH-1 ait évolué pour exciser l'AZT en utilisant l'ATP est la présence d'une pyrophosphatase (PPase) dans le complexe de rétro-transcription.

Nous testons la présence d'une activité PPase cellulaire au sein de virions et de cores purifiés et souhaitons démontrer son rôle dans la réplication du VIH-1 et dans la résistance aux NRTIs. Néanmoins, nos premiers résultats indiquent que la présence d'une PPase dépend de manière critique du protocole de purification utilisé. Nous améliorons actuellement ces protocoles afin de supprimer la probable contamination par des microvésicules et de pouvoir obtenir ainsi une réponse non équivoque à la présence d'une phosphatase dans les particules du VIH-1.

43. DES LIPOPEPTIDES INHIBENT AU NIVEAU NANOMOLAIRE DES PROTEASES DU VIH-1 EN SEQUESTRANT LA FORME MONOMERIQUE DE L'ENZYME CIBLE

Ludovic Bannwarth^{1*}, Laure Dufau¹, Thierry Rose², Régis Vanderesse³, Brigitte Jamart-Grégoire³, Christophe Pannecouque⁴, Erik De Clercq⁴ et Michèle Reboud-Ravaux¹.

¹*Enzymologie Moléculaire et Fonctionnelle, FRE 2852, CNRS-Université Paris 6, 75251 Paris,*

²*Unité d'Immunologie Cellulaire, Institut Pasteur, 75015 Paris,*

³*Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire, UMR 7568, 54001 Nancy,*

⁴*Rega Institute, Leuven, Belgium*

Les antiprotéases utilisées en trithérapie sont des analogues de l'état de transition qui ciblent le site actif situé à l'interface de l'enzyme dimérique. Leur utilisation s'accompagne d'apparition de mutations au sein de la protéase du VIH-1 qui sont responsables du phénomène de résistances croisées aux antiprotéases thérapeutiques. Une alternative à l'interaction des inhibiteurs avec le site actif de l'enzyme est le ciblage de l'interface du dimère au niveau du feuillet β antiparallèle formé par l'interdigitation des extrémités N- et C-terminales de chaque monomère. En effet, cette région est responsable de 75% de l'énergie de stabilisation du dimère et est hautement conservée dans les isolats du VIH-1 et les variants multi-résistants. Nous présentons ici les derniers représentants d'une série des lipopeptides dont l'efficacité *in vitro* est subnanomolaire. Nous avons apporté des preuves expérimentales de l'existence d'un complexe monomère-inhibiteur par ultracentrifugation analytique et RMN [¹H-¹³C]-HSQC. Par ailleurs, ces molécules inhibent des protéases mutées similaires à celles qui sont observées chez des patients infectés multi-résistants. Une étude de "drugabilité" de ces molécules devrait permettre de démontrer leur potentialité réelle en vue d'une application thérapeutique.

Bannwarth L *et al. J Med Chem* 49:4657-64, 2006

Breccia P *et al. J Med Chem* 46:5196-207, 2003

Dumond J *et al. Biochem Pharmacol* 65:1097-102, 2003

Frutos S, *et al. Biopolymers :Peptide Science* 88:164-173, 2007

44. MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN NEF-INDUCED CD4 DOWN-REGULATION IN HIV-1 HOST CELLS

Laquette N.¹, Bouchet J.¹, Benmerah A.¹, Benichou S.¹ and Basmaciogullari S.¹

¹ *Institut Cochin, CNRS UMR 8104, Inserm U 567, Université Paris Descartes, Paris, France*

HIV-1 Nef interferes with the endocytic machinery of host cells to modulate the cell surface expression of membrane receptors, including CD4. Though expressed at the surface of both lymphoid and myeloid cells, the trafficking of CD4 is governed by different rules in these cells: in myeloid cells CD4 is rapidly internalized from the cell surface whereas in lymphoid cells CD4 is stabilized at the plasma membrane through its interaction with the tyrosine kinase p56lck. Nef is able to downregulate CD4 in both cell types but an increase of CD4 rate of endocytosis is only observed in lymphoid cells. We show that expression of p56lck in non-lymphoid CD4-expressing cells restores the ability of Nef to increase CD4 endocytosis rate. Concurrent with this observation, the expression of a p56lck-binding deficient mutant of CD4 in lymphoid cells abrogates Nef-induced increase of CD4 endocytosis. Moreover, PMA treatment causes an increase of CD4 endocytic rate in both cell types, suggesting that the endocytic machinery in myeloid cells is not saturated. However both PMA treatment and Nef expression cause a decrease of p56lck association with CD4 at the cell surface. Our results demonstrate that the presence of p56lck has an impact on the pathways used by Nef to downregulate CD4, thus indicating that Nef uses different pathways in lymphoid and myeloid cells to reduce the cell surface expression of CD4.

45. ETUDE DE L'ORGANISATION MEMBRANAIRE DYNAMIQUE DES RECEPTEURS CD4 ET CCR5 SUR CELLULES VIVANTES

Patrice Mascalchi, Aurélie Baker, Françoise Bachelerie[§], Laurence Salomé, Fabrice Dumas et André Lopez.

Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale (IPBS) du CNRS, UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 4.

[§] Unité de Pathogénie Virale Moléculaire, Institut Pasteur, INSERM U819, Paris.

L'entrée du VIH dans les cellules requiert l'attachement séquentiel de sa glycoprotéine d'enveloppe au récepteur primaire CD4 puis au corécepteur CCR5 ou CXCR4 afin de permettre la fusion des membranes virale et cellulaire. La caractérisation de l'organisation des récepteurs du VIH à la surface des cellules cibles, les bases moléculaires dont elle dépend et leurs changements lors de l'entrée virale, représentera la problématique du poster, et son état d'avancement.

Sur des cellules HEK 293 T surexprimant un ou les deux récepteurs :

Par FRET, nous avons démontré des interactions constitutives, à l'état basal, entre CD4 et CCR5 : des CD4 tronqués nous ont permis de trouver les requis structuraux pour cette interaction¹.

Par des mesures de FRAP à rayon d'observation variable, nous retrouvons cette interaction. De plus, ces résultats indiquent que plusieurs CCR5 sont en interaction avec un CD4².

Par des mesures de Single Particle Tracking, nous confirmons l'interaction entre les 2 récepteurs, et proposer en plus un confinement de ces derniers à une plus petite échelle que celle mesurée en FRAPv.

Nous relaterons donc l'état d'avancement de cette étude qui d'après ces premières données nous oriente vers un modèle de double compartimentation des récepteurs CD4 et CCR5.

¹ Gaibelet G, Planchenault T, Mazeres S, Dumas F, Arenzana-Seisdedos F, Lopez A, Lagane B, Bachelerie F. 2006. J Biol Chem 281:37921-37929.

² Baker A, Saulière A, Gaibelet G, Lagane B, Mazères S, Fourage M, Bachelerie F, Salome L, Lopez A, Dumas F. 2007. J Biol Chem 282 :35163-35168.

46. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DU SIVGOR CHEZ LES GORILLES SAUVAGES AU CAMEROUN

Cecile Néel, Fran Van Heuverswyn, Eitel Mpoudi Ngole, Florian Liegois, Christelle Butel, Eric Delaporte, Martine Peeters.

Institut de Recherche pour le Développement (IRD) et Université de Montpellier 1, Montpellier, France. Projet PRESICA, Yaoundé, Cameroun

Les SIVs trouvés chez les chimpanzés (*P.t. troglodytes*) et gorilles (*G.g.gorilla*) d'Afrique Centrale représentent les ancêtres du VIH-1. Les ancêtres du VIH-1 M et N ont été retrouvés dans 2 populations distinctes de chimpanzés au Sud Cameroun. Cependant, le virus le plus proche génétiquement du VIH-1 groupe O, SIVgor, a été identifié chez des gorilles au Cameroun. Ici, nous étudions plus en détail la distribution géographique de SIVgor chez les gorilles sauvages au Cameroun.

Des échantillons de fèces ont été collectés dans 8 sites (N= 1083), comprenant 3 dans lesquels des gorilles positifs ont été découverts auparavant. Les échantillons, conservés dans l'ARN-Later, sont testés pour la présence d'anticorps SIVgor (INNO-LIA HIVI/II Score Assay). L'ARN viral est ensuite extrait des échantillons positifs et amplifié par RT-PCR dans *env* (gp41) et *pol*. L'identification de l'espèce est basée sur les observations de terrain et confirmée par l'analyse de l'ADN mitochondrial.

Sur 1083 échantillons collectés, 881 appartenaient à des gorilles. Seulement dans 1 site (CP), où 2 gorilles, SIVgor positif, avaient été précédemment identifiés, des échantillons positifs additionnels ont été trouvés : 21/156. Les analyses des microsatellites révèlent que ces 21 échantillons représentent 8 individus différents. Ceci porte à 10 le nombre total de gorilles positifs dans cette zone. Les séquences SIVgor, pour 3 nouveaux gorilles, sont génétiquement proches des lignées précédemment identifiées dans cette zone. Tous les nouveaux échantillons positifs se situent dans une zone d'environ 10km² et les données de terrain collectées montrent que SIVgor circule dans au moins 2 groupes de gorilles différents.

Notre étude montre une distribution inégale de SIVgor chez les gorilles de l'Ouest (*G.g.gorilla*) au Cameroun et suggère que le réservoir du HIV-1 groupe O pourrait se trouver à l'extérieur du Cameroun.

Immunologie

47. SUPERIOR CONTROL OF HIV-1 REPLICATION BY CD8+ T CELLS IS REFLECTED BY THEIR AVIDITY, POLYFUNCTIONALITY, AND CLONAL TURNOVER

Jorge R Almeida, David Price, Laura Papagno, Zaina Zaait, Delphine Sauce, Tedi E. Asher, Ethan Bornstein, Henri Agut, Anne-Geneviève Marcelin, Daniel Douek, Brigitte Autran and Victor Appay

Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire – INSERM U543 Paris, France

Despite intense efforts, the precise attributes that confer certain CD8+ T-cell populations an advantage in controlling HIV replication remain unclear. HLA-B27 restricted Gag-KK10 specific CD8+ T-cells represent a unique population, since their sole presence is associated with prolonged AIDS-free survival in HIV-1 infection. In order to comprehend the basis of their protective nature, we have performed a comprehensive study of this population in comparison with other HIV specific CD8+ T-cells. We have used multiparametric flow cytometry together with molecular clonotypic analysis, to assess several CD8+ T-cell attributes directly ex vivo, including their phenotype (differentiation and replicative senescence), multifunctional capacity (effector cytokine production and cytotoxic potential), clonal diversity (TCRB gene usage), and avidity of CD8+ T-cell / APC interaction (functional avidity). We found that B27-KK10 specific CD8+ T-cells present a superior functionality, an increased clonal turnover (independent from viral mutations, but associated with characteristics of senescence), and a higher functional avidity. These attributes relate to each other and constitute the basis of an effective control of HIV replication by CD8+ T-cells. Moreover, CD8+ T-cell functional avidity was found to correlate with patients' proviral load. These findings represent a major step forward into our comprehension of CD8+ T-cell efficacy in virus infections and cancers, and are central for the evaluation of T-cell vaccine candidates.

48. MULTIDIMENSIONAL SCALING: UNREVEALING RELATIONAL GEOMETRIC PATTERNS IN TRANSCRIPTOME BIOLOGY

Christophe Bécavin, Arndt Benecke

Institut des Hautes Études Scientifiques, Bures-sur-Yvette.

Multidimensional scaling (MDS) is a well-known technique of data analysis, often used in psychology, sociology and economy [1], but – given the complications to adopt it to high-dimensional spaces – not currently used in genomics. This method allows construction of a geometric graph in N-dimensions, based on a measure of “distance”, such as correlation, between data. The construction quality of the N-dimensional space is evaluated by re-calculating the differences between distances in the geometric space, and the original distances in the input data. This difference is called the stress; a good MDS algorithm will tend to minimize this stress.

We have developed two MDS algorithm, both used with distances between biological conditions as measured by micro-array experiments. To minimize the stress we use a physical modelling of our data, each pair of points is connected by a spring. This physical system of springs converges to an equilibrium state with minimal stress. The first algorithm we have developped is a 3D multidimensional scaling method. We demonstrate usage of this technique on a problem of gene signature definition for regulatory T-cells and we directly observe and compare, in 3D, patterns between different biological conditions. The second MDS algorithm we develop uses an N-1-dimensional space, with N being the number of data points. Applicability of this latter approach will be demonstrated using transcriptome measures from a large HIV patient study (ANRS 118) which we analyze using this technology.

[1] Borg, I., and Groenen, P. (1997) Modern Multidimensional Scaling, Springer, New York.

49. OPTIMAL CENTRAL MEMORY CD4+ T CELL FUNCTIONS IN HIV CONTROLLERS (ANRS EP36 STUDY)

Benoît Vingert¹, Santiago Perez-Patrigeon¹, Olivier Lambotte^{2,3}, Simon Potter¹, Christine Lacabaratz², Martine Sinet², Faroudy Boufassa⁴, Jean-François Delfraissy^{2,3}, Alain Venet² & Jacques Thèze¹ and Lisa A. Chakrabarti.

¹Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris. ²INSERM U802, and ³Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, and ⁴INSERM U822, Le Kremlin-Bicêtre.

HIV controllers are rare individuals who spontaneously control HIV-1 replication in the absence of antiretroviral treatment. Study subjects, who had controlled HIV replication for over 10 years, were recruited through the National Observatory for HIV Controllers established by ANRS.

In an initial study, we analyzed HIV-specific CD4+ T cell responses in 11 HIV Controllers by intracellular cytokine staining. In spite of their very low antigenic load, HIV Controllers maintained strong HIV-specific responses, with half of the responding cells producing IL-2. In contrast, IL-2 producing cells were virtually absent in viremic patients and remained few in HAART-treated patients. Of note, Controllers were the only group that showed significant cytokine production in the central memory (CM) CD4+ T cell subset (CD45RA-CCR7+), with a predominant IL-2 secretion profile.

To further characterize CM function, we analyzed CD4+ T cell proliferation in response to immunodominant Gag peptides. HIV controller CD4+ T cells showed particularly efficient proliferative responses to the Gag293-313 peptide, while these responses were less frequently observed for viremic and HAART-treated patients. We have developed class II tetramer binding assays to further monitor these responses *ex vivo*. In addition, we have measured the migratory capacity of CM CD4+ T cells in responses to CCR7-binding chemokines, using whole blood chemotaxis assays. HIV controllers CM cells showed efficient CCR7-dependent migration, while these responses were impaired in viremic patients.

Thus, CM CD4+ T cells from HIV controllers show optimal proliferative and chemotactic functions, which may contribute to the long-term maintenance of antiviral immune responses.

50. USE OF THE INNATE IMMUNITY TOWARDS HIV-1 : PRODUCTION OF A SOLUBLE MULTIMERIC HETEROCHIMERA PROPERDIN-CD4.D1D2 TO CREATE A PLATFORM FOR ACTIVATION OF COMPLEMENT ALTERNATIVE PATHWAY AT THE SURFACE OF HIV-1 OR HIV-INFECTED CELLS, TRIGGERING THEIR LYSIS

Xavier Dervillez, Jacques HM Cohen & David Klatzmann

UMR7087 CNRS, groupe Vaccination, Paris.

Multivalence enhances the biological stability, the effector function as well as the immunogenicity of peptides/proteins expressed under multimeric form. We have thus developed by molecular engineering a multipurpose biotechnological tool based on the use of the cDNA encoding the C4b binding protein c-terminal α -chain used a domain for protein multimerisation (MD). Associated downstream to a given gene encoding a therapeutic protein, the MD allows the corresponding protein to be spontaneously expressed from eukaryotic cells under recombinant soluble multimeric form. With the use of this technology, we are capable of producing recombinant soluble homomultimeric, as well as heteromultimeric bi-functional therapeutic molecules, associating a multimeric effector moiety to a target moiety.

This technology may have relevant applications in HIV-1 infection. Given the successive failures of vaccine strategies trying to enhance the specific adaptive antibody neutralising response against HIV, naturally elicited in some rare HIV-1 infected individuals, partly due to the emergence HIV-1 variants escaping efficient antibody immune response, we propose alternatively in the present project to overcome this problem by using the innate immunity and by redirecting specifically the Complement activation towards HIV-1 specific target membrane-surfaces (HIV-1 viruses as well as HIV-infected cells). This would consecutively lead to lysis of HIV-virus/infected-cell through the formation of membrane-attack complexes. As a tool targeting HIV, we will produce a soluble recombinant heteromultimeric bi-functional molecule, whose (i) effector moiety is represented by Properdin, the only known positive regulator of Complement activation - only active as a membrane-bound form - and (ii) anchoring moiety represented by the D1 and D2 domains of CD4. We will first check *in vitro* whether the multi-Properdin-CD4D1D2 recombinant heteromultimers specifically activates the complement cascade - followed by cell lysis - at the surface of target cells expressing the native trimeric gp120-gp41 HIV-1 envelope.

51. L'INFECTION PAR LE VIH-1 INDUIT L'EXPRESSION DE NKG2C SUR LES CELLULES T VD1+ : EFFET DÉLÉRÈRE SUR LES T CD4+ INFECTÉES

Fausther Bovendo H, Wauquier N, Cherfils-Vicini J, Cremer I, Debre P, Vieillard V.

INSERM U543, Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire du Prof Debré

Les cellules T gamma delta ne représentent que 1-5% des lymphocytes T (LT) du sang périphériques et sont constituées majoritairement de cellule T Vd2+, les cellules T Vd1+ représentant moins de 10% des cellules T gamma delta. Elles présentent des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles communes avec les cellules NK. Au cours de l'infection VIH, bien que la proportion de cellules T gamma delta reste constante, la proportion de cellules T Vd1+ augmente, pour devenir majoritaire. Nous avons étudié l'expression des principaux marqueurs NK sur les cellules T gamma delta et nous avons observé que l'expression des récepteurs de type C-lectines était fortement modulée au cours de l'infection; Ainsi, sur les cellules Vd1+, l'expression du récepteur inhibiteur NKG2A est fortement diminuée alors que sa contrepartie activatrice NKG2C est très significativement augmentée. Ces cellules Vd1+ NKG2C+ sont fortement cytotoxiques envers les cellules exprimant HLA-E, le ligand de NKG2C, dont des LT CD4+ infectées par le VIH qui sur-expriment ce ligand. Cette cytotoxicité est fortement inhibée en présence d'anticorps anti-NKG2C. Ainsi, Les cellules Vd1+ pourraient jouer un rôle clef dans la déplétion des cellules T CD4 au cours de l'infection VIH mais également dans la lyse des cellules réservoirs T CD4+ infectées par le VIH-1.

52. MISE AU POINT ET VALORISATION DE TESTS ADAPTES POUR LE DOSAGE DES ANTICORPS SECRETOIRES DANS L'INFECTION PAR LE VIH

Bertrand Canard, Jean-Jacques Pin, Christian Genin.

Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes (GIMAP) – Faculté de Médecine – Université Jean Monnet – Saint Etienne

Les muqueuses représentent la principale voie de contamination par le VIH. La prise en charge du VIH par l'intermédiaire de la gp120 se fait au niveau de la muqueuse par les cellules de Langerhans (langerine) et au niveau de la sous-muqueuse par les cellules dendritiques dermiques (DC-SIGN).

Pour nous permettre d'étudier les interactions entre le virus et son hôte, nous avons mis en place un test ELISA spécifique de chacune des voies d'entrées du virus.

Dans un premier temps, nous avons étudié par cytométrie en flux les caractéristiques spécifiques à chaque liaison gp120/langerine et gp120/DCSIGN.

Dans un second temps, nous avons cherché à reproduire cette liaison sur un test ELISA en multipliant les stratégies (coating, présentation de l'antigène...)

Finalement, nous avons pu mettre au point deux tests ELISA permettant de doser l'inhibition de la liaison de la gp 120 soit sur DC-SIGN soit sur langerine. Ces tests seront utilisés pour étudier les différentes cohortes de sujets VIH-séropositifs et séronégatifs fortement exposés.

53. CARACTERISTIQUES DES LTCD8 SPECIFIQUES DU VIH DES PATIENTS HLA B57 AU COURS DE LA PRIMO-INFECTIION

**Isabelle Girault¹, Caroline Mougel^{1*}, Camille Lécuroux¹, Alejandra Urrutia¹,
Martine Sinet¹, Alain Venet¹, et la Cohorte ANRS CO6-PRIMO**

INSERM U 802, Paris XI, Hôpital Bicêtre, France

L'allèle HLA B57 est associé à un pronostic favorable de l'infection par le VIH, il est d'ailleurs sur-représenté chez les patients contrôleurs du VIH (HIC). Nous avons évalué dès la primo-infection (PI), les caractéristiques des LT CD8+ spécifiques du VIH chez des patients B57 en les comparant aux autres patients explorés en PI ainsi qu'aux patients HIC B57 afin de définir leur rôle éventuel dans le contrôle précoce de la charge virale.

Dans la cohorte PRIMO-CO6, les 9 patients B57 ont une charge virale à l'inclusion plus faible que celle des autres patients PI ($3.6 \pm 0.4 \log_{10}$ copies/mL vs 5.0 ± 0.9) et un nombre de CD4 plus élevé (772 ± 99 cellules/ μ L vs 606 ± 42).

Tous les patients PI B57 ont des LT CD8+ spécifiques du VIH capables de sécréter de l'IFN- γ dès J0 contre 76% chez les autres patients PI. Cependant, les fréquences de cellules productrices sont similaires (1448 SFC/ 10^6 PBMC chez les patients PI B57 [IC : 912-1985] vs 1409 [152-2665]). Les autres aspects qualitatifs de la réponse T CD8+ spécifique (profil cytokinique, prolifération, avidité) ainsi que les paramètres d'activation ne diffèrent pas sensiblement.

Chez les patients PI B57, la majorité de la réponse IFN- γ (74%) est associée aux peptides B57-restreints et notamment au peptide Gag-TW10. Ce peptide est rarement reconnu chez les HIC B57 (<5% des réponses B57-restreintes) où la réponse est majoritairement dirigée contre Gag-KF11 (50%) et Nef-HQ10 (26%). Au cours du suivi des patients B57 PI, la réponse Gag-TW10 diminue alors que la réponse Gag-KF11 apparaît et augmente, suggérant qu'il s'agit d'une maturation de la réponse plutôt que d'une sélection différentielle de peptides entre virémiques et HIC B57.

54. UNCOUPLING OF IL-7 SIGNALING RESPONSES IN HIV INFECTION : INCREASED JAK/STAT ACTIVATION AND DECREASED BCL-2 INDUCTION (ANRS EP33 STUDY)

Olivier Juffroy, Florence Bugault, Olivier Lambotte, Jean-Paul Viard, Loïc Niel, Anne Danckaert, Jean-François Delfraissy, Jacques Thèze, and Lisa A. Chakrabarti

Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur

Background: IL-7 and IL-2 are the major cytokines that control CD4⁺ T cell homeostasis. Both cytokines activate the JAK/STAT5 pathway and induce the expression of the survival factor Bcl-2. Since HIV is known to perturb CD4⁺ T cell homeostasis, we set to investigate the effect of HIV infection on cytokine-dependent signal transduction.

Methods: PBMC from healthy blood donors and HIV-infected patients with viral loads >10,000 copies/ml (n=14) were tested for phospho-STAT5 and Bcl-2 responses to IL-7 and IL-2 by flow cytometry.

Results: Basal levels of pSTAT5 were increased in naive and memory populations ($p < 0.05$), suggesting a chronic activation of the JAK/STAT5 pathway in HIV infection. CD25 expression was decreased in memory Tregs of viremic patients, but these cells phosphorylated STAT5 as efficiently as those from healthy donors in response to IL-2. Similarly, CD127 expression was decreased in the memory population of viremic patients, while these cells phosphorylated STAT5 to similar levels in response to IL-7 stimulation. pSTAT5 induction correlated with CD127 expression in healthy donor CD4⁺ T cells. This correlation was maintained in patient CD4⁺ T cells, but with a steeper slope (slope $s=8.53$ vs 5.04 ; $p=0.01$). In contrast to the pSTAT5 response, the induction of Bcl-2 by IL-7 was impaired in viremic patients as compared to healthy donors.

Conclusions: HIV perturbs cytokine responses at multiple levels, by inducing abnormal activation of the JAK/STAT pathway and blocking the Bcl-2 survival pathway. Chronic activation combined with a survival defect may further compromise CD4⁺ T cell homeostasis in HIV infection.

55. STUDY OF IMMUNOPREVALENCY AND STABILITY OF THE HR1/HR2 COMPLEX OF THE GLYCOPROTEIN 41 (GP41) SUBUNIT OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 (HIV-1)

Amadou Koné, Nadine Vincent and Christian Genin

*GIMAP : Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes
Faculté de médecine de Saint Etienne 15, rue Ambroise Paré 42000 Saint Etienne*

HIV-1 envelope glycoprotein gp160 is formed by two subunits: gp120, responsible for attachment to the CD4 receptor and the CCR5/CXCR4 coreceptors of the cellular membrane, and gp41 which is responsible for virus-cell membranes fusion. The gp120/cellular receptors interaction induces a conformational change of the gp41 which forms an intermediate fusion core due to the complex formation between its two main regions: HR1 (Heptad Repeat 1) and HR2 situated next to the viral transmembrane domain. The HR1/HR2 complex formation is an essential step in bringing together viral and cellular membranes in the fusion process. The treatment of HIV-1 infected patients is until now the association of drugs anti protease and inhibitor of transcriptase inverse of virus. It has been demonstrated that peptides inhibiting the HR1/HR2 complex formation are powerful antiretroviral molecules. The current challenge against HIV infection remains the development of vaccinal strategies to protect subjects. The fusion complex may represent a valuable target for neutralizing antibodies.

HR1 and HR2 regions were cloned from various HIV strains gp160 gene into the histag system vector. Western blot analysis show that the HR1 and HR2 proteins form isomers. HR1/HR2 complex formation is tested with various recombinant HR and/or synthetic peptides HR1 or HR2. First we show that the HR1/HR2 complex is recognised by most serum of HIV infected patients. We identified several fusion complexes highly stable. We are using these recombinant complexes to immunise mice to generate monoclonal antibodies. We hope that these antibodies help us to more understand the fusion process. We will test the ability of these antibodies to prevent HIV-1 infection in the P3 facility.

56. SUIVI IMMUNO-VIROLOGIQUE DES PATIENTS CO-INFECTES VIH1 ET VIH2

Landman R*, Gerbe J*, Damond F, Yeni P*, Brun-Vezinet F**, Matheron S***

* SMIT, ** Virologie, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris

Contexte :

En France en 2006, 0,1% des nouvelles infections sont des co-infections VIH1/VIH2. L'histoire naturelle et l'évolution sous traitement est peu documentée.

Méthode :

Parmi 3700 patients infectés par VIH, 36 sont co-infectés VIH1/VIH2. 23 patients sont évaluables dont 6 femmes enceintes traitées pour PTME exclues de l'analyse descriptive.

Résultats :

Les 17 patients analysés sont âgés en moyenne de $38,1 \pm 9,4$ ans.

Au dépistage, les CD4 des 6 patients non traités sont à 455/mm³, l'ARN-VIH1 à 2,3 log et l'ARN-VIH2 indétectable (n=6/6). Après un suivi médian de 3,6 années, les CD4 sont à 577/mm³, l'ARN-VIH1 à 2,7 log et l'ARN-VIH2 indétectable (n=6/6).

11 patients ont reçu un premier traitement antirétroviral incluant au moins 2 NRTIs et 1 IP (LPV/r 9/11) ou 3 NRTIs (1/11). Les CD4 et l'ARN-VIH à J0 du traitement sont respectivement à 130/mm³, 4,6 log pour VIH1 et < 2,0 log chez 7/9 patients pour VIH2. Après une durée médiane de traitement de 2,6 ans, les CD4 sont à 338/mm³, l'ARN-VIH1 et VIH2 indétectable chez 10/11 patients.

Le génotypage de résistance du VIH2 montre : RT (n=1) : Q151M + M184V, protéase (n=2) : I54M + I82F et V47A.

Aucune progression clinique n'a été observée au cours du suivi.

Conclusion :

La co-infection VIH1/VIH2 reste rare (< 1%). Malgré une réponse immuno-virologique favorable s'apparentant à celle observée au cours des mono-infections VIH1, la sélection de mutations de résistance pour VIH2 souligne l'importance du choix de molécules efficaces pour les 2 virus.

57. EXISTENCE DE LT CD8+ SPECIFIQUES DU VIH DE TYPE EFFECTEUR CHEZ LES PATIENTS CONTROLANT SPONTANEMENT LA REPLICATION VIRALE

Camille Lécuroux, Alejandra Urrutia, Isabelle Girault, Olivier Lambotte, Cécile Goujard, Martine Sinet, Alain Venet, et l'ANRS CO6-PRIMO Cohort et l'ANRS EP36-HIC Study Group

INSERM U 802, Paris XI, Hôpital Bicêtre, France

Les réponses T CD8 sont essentielles au cours des infections virales. Les réponses de type **effectrice** permettent idéalement un contrôle de la réplication virale. Quand celui-ci est achevé les réponses **mémoires** permettent une surveillance avec réactivation en présence de virus. Nous avons comparé les caractéristiques des réponses T CD8 VIH-spécifiques dans 2 situations de contrôle de la réplication : des patients contrôlant spontanément l'infection (HIV-Contrôleurs, HIC, ANRS EP36) et des patients contrôlés après un c-ART institué dès la primo-infection (c-ART-PI, Cohorte ANRS CO6-PRIMO) .

Dans ces deux groupes, les CD8⁺ spécifiques du VIH (détectés par multimères HLA cl.I) présentent des capacités de prolifération en test CFSE (HIC : 66%±26% Penta⁺CFSE_{Low} ; c-ART : 62%±41% Penta⁺CFSE_{Low}). Ces résultats s'accompagnent d'une forte expression du récepteur de l'IL-7 (CD127) sur les CD8⁺ anti-VIH (HIC : 60%±26% ; c-ART-PRIMO : 48%±23%) caractérisant une réponse CD8⁺ de type mémoire. Les CD8⁺ anti-VIH des c-ART-PRIMO ont un profil phénotypique de cellules au repos (CD38⁻, HLA-DR⁻, Bcl-2⁺) et un profil de différenciation intermédiaire CD27⁺CD45RA^{+/-}. En revanche, les CD8⁺ anti-VIH des HIC ont un profil d'activation discordant (CD38⁺HLA-DR⁺) et de différenciation hétérogène (CD27^{+/-}CD45RA^{+/-}) reflétant la présence d'effecteurs, confirmée par une production élevée d'IFN-γ (5842±4827 SFC/10⁶PBMC) alors qu'elle est faible chez les c-ART-PRIMO (912±1392 SFC/10⁶PBMC).

En conclusion, dans les deux groupes de patients, il existe une réponse CD8⁺ de type mémoire qui n'est généralement pas observée chez les patients virémiques. En revanche, une forte réponse effectrice est observée chez les HIC alors que celle-ci reste faible chez les patients traités dès la PI.

58. IMPACT OF NK-DC CROSSTALK ON THE DESTRUCTION OF DC - INFLUENCE OF HIV INFECTION

Marie-Thérèse Melki, Héra Saidi, Marie-Lise Gougeon

Institut Pasteur, Unité Immunité antivirale, Biothérapies et Vaccins, 25-28 rue du Dr. Roux, 75015 Paris

Introduction : HIV infection is associated with a decrease in the number of myeloid and plasmacytoid DCs, which harbour a semi-mature phenotype that contributes to the alteration of their functions. Since the fate of DC can be controlled by NK cells, we addressed the question of the impact of NK–DC crosstalk on DC maturation and death, and the influence of HIV.

Methods : Immature DCs (iDC) were prepared from healthy donors' sorted monocytes, cultured for 6 days in the presence of IL-4 and GM-CSF. In some experiments, DC were infected with R5 HIV(1ng/ml of p24). Coculture experiments with autologous purified aNK cells (activated by PHA+IL-2) were performed at various NK:DC ratios. DC Maturation stage and apoptosis were measured by FACS with appropriate tests.

Results : aNK-iDC crosstalk induced very rapid apoptosis of uninfected iDCs at 5:1 ratio, involving both the perforin and the TRAIL pathways. Following HIV infection of iDCs with R5 virus, aNK-dependent DCs apoptosis was dramatically decreased. Increased survival of infected iDC may be the consequence of resistance of DC to NK cytotoxicity or to NK-induced maturation. While infected DCs were more susceptible to TRAIL-induced death, crosstalk with aNK induced their maturation (HLA-DR^{high}, CD86^{high}, DC-SIGN⁺). These observations suggest that NK cells induce the survival of HIV-1 infected DCs by promoting their maturation.

Conclusion: We showed that aNK-DC crosstalk has opposite outcomes (apoptosis vs maturation and survival) depending on whether DCs are infected or not. Thus NK cells may contribute to the constitution of HIV reservoirs in DCs.

59. ALTERED CHEMOTACTIC RESPONSES OF CD4 T CELLS IN HIV INFECTION

Santiago Perez-Patrigeon, Benoît Vingert, Olivier Lambotte, Jean-Paul Viard, Jean-François Delfraissy, Jacques Thèze, and Lisa A. Chakrabarti

Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur

Background: CCR7-dependent T cell recirculation is key for the initiation of immune responses by naive cells and for the maintenance of immunological memory by central memory cells (TCM). We tested the possibility that CD4 T cell migratory properties are altered by HIV infection.

Methods: Studied groups: (1) viremic patients with viral load >10,000 HIV RNA copies/ml (2) treated patients with viral load <50 HIV RNA copies/ml for more than 1 year (3) healthy blood donors. To avoid changes in chemokine receptor expression following ficoll gradient treatment, we developed a whole blood chemotaxis assay and measured migration to CCL19 and CXCL12/SDF-1 in CD4 T cell subsets.

Results: Migration to CCL-19 correlated positively with CCR7 expression in the different CD4 subsets, with the highest response in naive cells, followed by TCM and TEM (effector memory) cells. CCR7 expression did not differ between the three groups studied. Interestingly, CCR7-dependent migration was lower in CD4 T cells from viremic patients as compared to the other groups ($p=0.01$). This migration defect was more prominent in the naive and TEM than in TCM. In contrast, CD4 T cells from viremic patients migrated efficiently in response to the CXCR4 ligand CXCL12.

Conclusions: CD4 T cells from viremic patients are altered in their chemotactic response to a CCR7 ligand, suggesting that CD4 T cell trafficking is perturbed by HIV infection. Chemotactic response is restored by effective anti-retroviral therapy. The preservation of CXCR4-dependent migration in viremic patients suggests a signaling defect proximal to the CCR7 receptor.

60. ACUTE HEPATITIS C INFECTION IN HIV-INFECTED PATIENTS: LOW RATE OF SPONTANEOUS CLEARANCE AND WEAK PERIPHERAL T CELL RESPONSES TO HEPATITIS C VIRUS ASSOCIATED WITH HIV-RELATED CD4 DEFICIENCY

Aurélie Schnuriger, Stéphanie Dominguez, Marguerite Guiguet, Assia Samri, Zineb Ouazene, Pierre-Marie Girard, Laurence Slama, Anne Simon, Marc-Antoine Valantin, Vincent Thibault, Brigitte Autran, ANRS HC EP21 study group

Laboratoire de virologie, UPRES EA2387, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France

Background: Our aim was to explore the onset of specific immunity to hepatitis C virus (HCV) during acute HCV infection in HIV co-infected patients, in connection with viral markers and spontaneous evolution or therapeutic efficacy.

Methods: Patients without prior HCV infection and a controlled HIV infection were enrolled for acute hepatitis C and followed-up over 15 months. PEG-interferon- α plus ribavirin were proposed if HCV persisted at M3. Viral characteristics and HCV-specific T cell responses (lymphoproliferation, ELISpot and intracellular cytokine staining assays) were assessed.

Results: 32 acutely HCV-infected HIV+ patients were prospectively followed-up. At M3, 3 patients (9%) showed spontaneous recovery (SR). On the 22 patients initiating treatment, HCV RNA was undetectable after 4 weeks (rapid virologic response RVR) in 8 among 19 documented (42%) and at M15 (sustained virologic response SVR) in 9 among 12 documented (75%). HCV genotypes were predominantly 4 and 1. At inclusion, HCV-specific proliferative responses were detected in only 32% of cases, in association with HIV-p24-specific responses and higher CD4 counts ($p=0.02$). HCV-specific IFN γ production was detectable in 80% of cases but at low intensity *ex vivo*. HCV-specific stimulation amplified mainly CD4 T cells producing IFN γ and IL-2. HCV-specific immune responses were stronger in SR patients as compared with patients without RVR ($p=0.009$).

Conclusion: Acute HCV infection in HIV co-infected patients is characterized by a low rate of SR and weak HCV specific immunity mediated mostly by effector-memory CD4 T cells. The HIV-induced immune alterations affect onset of HCV-specific immunity, but not anti-HCV treatment efficacy.

61. UNINTEGRATED HIV-1 PROVIDES AN INDUCIBLE AND FUNCTIONAL RESERVOIR IN UNTREATED AND HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY-TREATED PATIENTS

Gaël Petitjean^a, Yassine Al Tabaa^a, Edouard Tuillon^a, Vincent Baillat^b, Jacques Reynes^b and Jean Pierre Vendrell^a.

Laboratoire de Virologie, Hôpital Lapeyronie, Avenue du Doyen Gaston Giraud^a, Département des Maladies Infectieuses et Tropicales^b, Hôpital Gui de Chauliac, Avenue Bertin Sans, 34295 Montpellier, France.

The presence of HIV-1 preintegration reservoir was assessed in an *in vitro* experimental model of latent HIV-1 infection, and in patients treated or not with highly active antiretroviral therapy (HAART).

In resting CD4⁺ T lymphocytes latently infected *in vitro* with HIV-1, we demonstrated that the polyclonal activation induced a HIV-1 replication, which could be prevented by the use of an HIV-1 integrase inhibitor. We also showed that this reservoir was labile since the rescuable HIV-1 antigens production from unintegrated HIV-1 genomes declined over time. These data confirm that our experimental approach allows the characterization of a functional unintegrated HIV-1 reservoir. We then explored the preintegration reservoir in HIV-1-infected patients. This reservoir was detected in 11 of 12 untreated patients, in 4 of 10 sustained responders to HAART, and in one incomplete responder. This reservoir was also inducible, labile, and anti-HIV-1 integrase drug inhibited its induction. Finally, this reservoir was associated with the presence of spontaneous HIV-1 antigens producing CD4⁺ T cells in blood from 3 of 3 untreated patients and 2 of 2 sustained responders to HAART harboring a preintegration reservoir.

This preintegration phase of HIV-1 latency could be a consequence of the ongoing viral replication in untreated patients and of a residual viral replication in treated patients.

62. PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF HUMANIZED MONOCLONAL IGA ANTIBODIES DIRECTED TO HIV-1 ENVELOPE GLYCOPROTEIN

Vincent N¹, Cogné N², Déloménie C², Cogné M², Chanut B¹, Koné A¹, Malvoisin E¹ and Genin C¹

¹Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes (GIMAP), EA 6030, Faculté de Médecine, Saint-Etienne. ²Immunologie, UMR CNRS 6101, Faculté de Médecine, Limoges.

HIV is a pathogen transmitted at mucosal surface. It has been shown that IgAs are able to neutralize HIV in vitro. The aim of our work was to develop monoclonal IgA antibodies directed to HIV-1 envelope glycoprotein gp160 and to study their biological properties. Unit CNRS 6101 has developed mouse models for producing humanized monoclonal IgA1 antibodies. Constant region of heavy and light chains of IgA1 produced by the transgenic mice are from human origin. We have used the expression system pMAL-c2E to generate recombinant maltose binding protein (MBP) fusion proteins containing fragments of the HIV-1 envelope protein. Wild-type HIV-1 gp160 genes were used to generate the constructs. The MBP-env proteins were validated by recognition by monoclonal antibodies described in the literature. Transgenic mice were immunized with various gp160 recombinant proteins and hybridoma were obtained after fusion of splenic cells with Sp2o cells and appropriate culture conditions. Several clones were identified as positive by immunofluorescence on HeLa cells infected with vaccinia virus expressing HIV-1 gp160. Two humanized IgA monoclonal antibodies were further characterized. IgA H7 is directed to the gp120/gp41 cleavage site. IgA 1G12 is directed to the HR1 region of gp41. Both antibodies inhibit HIV-1 infection. IgA H7 inhibits SupT1 infection by LAI with IC50 of 1 µg/ml. Also, IgA H7 prevents PBMC infection by Ba-L HIV-1 strain and by several HIV-1 primary isolates. IgA 1G12 inhibits SupT1 infection by LAI with IC50 of 5 µg/ml.

Vaccin

63. DEVELOPPEMENT DE MIMOTOPES DE L'ANTICORPS NEUTRALISANT B12

Toufik Abache, Gaëlle Debret, Olivier Combes, Loïc Martin, Philippe Cuniasse et Pascal Kessler.

CEA Saclay, DSV, iBiTec-S, SIMOPRO (Service d'ingénierie moléculaire des protéines), Gif-sur-Yvette, F-91191, France

La panoplie de moyens de résistance développée par le VIH-1 explique l'absence de vaccin efficace contre ce virus. Cette résistance est en partie liée à l'instabilité structurale de la gp120, protéine virale la plus accessible aux anticorps à la surface du virus.

Cependant l'identification d'anticorps neutralisants chez certains séropositifs et la mise en évidence du rôle protecteur de ces anticorps par transfert passif chez le macaque lors d'expériences de challenge viral avec le SHIV, ouvrent de nouvelles perspectives dans la réalisation d'un vaccin anti-VIH. Récemment la publication de la structure du complexe entre la gp120 et un anticorps neutralisant (mAb b12) a permis de définir précisément l'épitope correspondant à la surface de la gp120.

Notre objectif est de transférer ce motif antigénique sur des petites protéines de structure stable, afin de le présenter au système immunitaire, et d'induire ainsi la production d'anticorps neutralisants de type b12. La recherche de ces plates-formes protéiques, susceptibles de porter tout ou partie de la surface antigénique, est effectuée grâce à un logiciel bioinformatique développé dans notre service : STAMPS (Search for Three dimensional Atom Motifs in Protein Structures). Ce programme explore systématiquement les structures 3D de la banque de données de structures des protéines (PDB), afin d'identifier des motifs tridimensionnels de résidus, topologiquement équivalents au motif antigénique. Nous sommes actuellement en train de produire ces protéines hybrides par voie recombinante. Nous réaliserons ensuite des tests de liaisons à l'anticorps et de neutralisation de pseudovirus, afin de déterminer leur potentialité en tant que candidats-vaccins.

64. WITHOUT MUCOSAL ADJUVANT, VIROSOME-GP41 PEPTIDE FROM THE MEMBRANE PROXIMAL REGION CAN ELICIT PROTECTIVE MUCOSAL IGA IN VACCINATED MACAQUES

Morgane Bomsel¹, Daniela Tudor¹, Anne-Sophie Drillet¹, Mario Amacker², Rinaldo Zurbriggen², Gilles Devillers³ and Sylvain Fleury⁴.

¹*Institut Cochin, Paris, 75014 Cedex, France;* ²*Pevion Biotech AG, CH 3018 Bern, Switzerland;* ³*BD Medical, Grenoble, 38801 Cedex France;* ⁴*Mymetics Corp., CH 1260 Nyon, Switzerland.*

Rational: HIV transmission generally occurs through sexual contacts. Therefore, sterile immunity might be best achieved by developing a vaccine that promotes a mucosal immune response targeting the very early events of HIV infection at mucosal sites. We therefore evaluated a vaccine candidate that would elicit a focused mucosal IgA response in genital and rectal compartments.

Methods: Virosomes are stable biosynthetic lipidic vesicles already use to deliver several vaccine, widely market approved with excellent safety profile. Importantly, adjuvant is not required for triggering the mucosal response. Gp41 peptides from the conserved membrane proximal region (MPR) of HXB2 (R5 clade B) were grafted onto virosome surface for mimicking HIV membrane. Female macaques (n=16 *Macaca mulata*) immunized by the intra-nasal (i.n.) and/or i.m. route were investigated over six months with longitudinal harvesting of biological secretions.

Results: Using the i.n or i.m route, similar levels of specific anti-gp41 mucosal antibodies, IgA and IgG, were detected into cervico-vaginal secretions, while rectal lavages contained mostly IgA. Antibody titer did not correlate with inhibitory activity but affinity maturation was the key issue. Vaginal and rectal secretions blocked up to 90% in vitro HIV transcytosis of primary R5 clade B and C viruses and infection of CD4+ cells. The inhibitory activity is mostly due to IgA, supporting our hypothesis that gp41 MPR is more adapted for triggering protective mucosal IgA. A novel set of animals has been vaccinated with a combination of 2 virosomes, coupled either to MPR or a trimeric Gp41 construct and will be mucosally challenged.

65. MIME DE CD4, CANDIDAT MICROBICIDE ANTI-VIH : LA ROUTE VERS LE TEST ANIMAL CHEZ LE MACAQUE

-Morellato Laurence¹, Van Herrewege Yven², Descours Anne¹, Shattock Robin³, Vanham Guido² et Kessler Pascal¹ et Martin Loïc¹.

¹CEA, iBiTecS, SIMOPRO, Gif sur Yvette, F-91190, France.

²Institute of Tropical Medicine, University of Antwerp, Antwerp, Belgium.

³Centre for Infection, St. George's University, London, UK.

La recherche d'un agent microbicide contre le VIH représente un enjeu important de prévention contre cette maladie. Outre les inhibiteurs de la reverse transcriptase inverse et les composés de type détergents, de nouvelles classes d'agents visant spécifiquement les étapes d'entrée du virus pourraient être d'un grand apport pour cette prophylaxie dans le cadre des "nouvelles technologies de prévention".

Dans ce but, en 2003, nous avons développé sur une plateforme structurée et stable un peptide mime de CD4, dénommé CD4M33 qui présentait une affinité sub-nanomolaire pour différentes enveloppes gp120.

A l'aide de diverses approches, dont notamment l'analyse structurale du complexe CD4M33-gp120-17b, cette mini-protéine a été progressivement optimisée. Trois voies ont été suivies: la première a utilisé la chimie combinatoire, la seconde a cherché à accroître l'avidité par multimérisation, la troisième s'est focalisée sur une recherche d'optimisation de l'interaction avec la poche hydrophobe "Phe 43" de la gp120. Le gain de l'activité antivirale a été suivi tout au long de ce processus d'optimisation par différents tests : des tests de liaison par ELISA, des tests cellulaires sur différentes co-cultures et des tests tissulaires. La haute affinité du meilleur mime du CD4 (M48_U1) lui confère la capacité de neutraliser un large échantillon de virus (sous-types B, C et E) avec une IC₅₀ comparable à celle du TMC120 (inhibiteur non-nucléosidique de la transcriptase inverse).

Ces résultats ainsi que l'absence apparente de toxicité du M48_U1 nous conduisent à entreprendre le test de protection dans le modèle macaque.

66. MISE AU POINT DE CANDIDATS VACCINS CONTRE LE VIH-1 COMPOSES DE PLUSIEURS PROTEINES D'ENVELOPPE STABILISEES PAR UN MIME DU CD4

Grégoire Martin¹, Olivier Combes¹, Stéphane E. Basmaciogullari², Serge Benichou², Guido Vanham³, Pascal Kessler¹ et Loïc Martin¹

¹CEA, iBiTecS, SIMOPRO, Gif sur Yvette, F-91190, France.

²Institut Cochin (INSERM U567/CNRS UMR 8104), Département Maladies Infectieuses

³Institute of Tropical Medicine, University of Antwerp, Antwerp, Belgium.

La principale difficulté d'un vaccin contre le VIH-1 réside dans la forte hétérogénéité de la protéine Env. Dans le but d'induire une réponse humorale anti-Env efficace, nous avons mis au point des candidats vaccins composés de différentes glycoprotéines d'enveloppe complexées à un mime du CD4. La liaison du mime du CD4 sur Env permet la stabilisation de la protéine virale dans une conformation qui expose des régions conservées, accroissant ainsi la liaison des anticorps CD4-induits (CD4i). Le choix de l'utilisation de plusieurs glycoprotéines d'enveloppe vise à induire des anticorps neutralisant vis-à-vis d'un large spectre de virus.

Nous avons réalisé un couplage covalent spécifique du mime de CD4 CD4M48 sur la gp120 et la gp140. Un rendement de couplage élevé de l'ordre de 80 % a été obtenu pour un échantillonnage de dix glycoprotéines d'enveloppe appartenant aux clades B, C et F. Les complexes covalents formés sont fortement reconnus par les anticorps CD4i, X5 et 48D ainsi que par le corécepteur CCR5. Nous avons réalisé plusieurs immunisations chez le rat et le lapin avec la gp120YU2 (clade B) et les gp140ZM96 (clade C) et gp140Br29 (clade F) complexées ou non avec un mime du CD4. Les anticorps induits reconnaissent un large panel de gp120 ou de gp140 appartenant aux clades B, C, D et F. De plus, les complexes covalents gp120/mime du CD4 induisent 10 à 25 fois plus d'anticorps CD4i que la gp120 seule. Enfin, l'activité de neutralisation des anticorps vis-à-vis d'isolats primaires hétérologues est en cours d'analyse.

67. COMPARAISON DE DIFFERENTES STRATEGIES DE PRIMO-VACCINATION/RAPPEL UTILISANT UN VECTEUR VIRAL (RMVA) ET DES NANOPARTICULES DE POLY(ACIDE LACTIQUE)

S. Munier, D. Lamalle-Bernard, W. Xu, P-Y Durand, M-H. Charles, T. Delair, & B. Verrier

CNRS URA 1930, Lab. Virologie moléculaire et vectrologie, Institut Pasteur, Paris.

La recherche pour le développement d'un vaccin contre le VIH s'oriente vers de nouveaux concepts et combinaisons vaccinales. Le but étant d'induire une réponse humorale et cellulaire fortes et durables. Nous nous sommes donc intéressés à une stratégie de primo-vaccination/rappel combinant un vecteur synthétique, les nanoparticules de poly(acide lactique) comme adjuvant de protéines et un vecteur viral, le MVA (Modified Vaccinia virus Ankara).

Nous avons comparé l'effet d'un protocole d'immunisation homologue ou hétérologue chez la souris BALB/c, par immunisation sous-cutanée (SC) de protéine p24 formulée à la surface des nanoparticules de PLA ou par du MVA exprimant la même protéine. Dans le cas des immunisations homologues, les complexes PLA-p24 induisent une réponse anticorps anti-p24 plus élevée (10^6) que celle obtenue avec les MVA_{Agag} (10^4). Les réponses immunes induites pas les immunisations hétérologues, sont deux fois plus élevées avec une primo-vaccination PLA-p24 et un rappel MVA_{Agag}, par rapport au protocole inverse. Ces deux combinaisons permettent de réduire la réponse anti-MVA. Afin de stimuler la réponse immune au niveau des muqueuses nous avons administré ces deux vecteurs par voie intranasale (IN) en comparaison à la voie SC. Quelle que soit la voie d'immunisation, les nanoparticules de PLA-p24 induisent une réponse muqueuse plus forte que le MVA_{Agag}. Cependant, les PLA-p24 sont plus efficaces injectées en SC, tandis que le MVA_{Agag} induit des réponses plus fortes quand il est administré en IN.

En conclusion, une primo-vaccination sous-cutanée de PLA-p24 suivie d'un rappel MVA_{Agag} par voie nasale est le protocole de vaccination le plus efficace.

68. COMPREHENSIVE ANALYSIS OF VIRUS-SPECIFIC CD8+ AND CD4+ T CELLS PROVIDES CLUES FOR THE FAILURE OF THERAPEUTIC IMMUNIZATION WITH ALVAC-HIV (VCP1452) VACCINE

L. Papagno¹, O. Pellé¹, D. Costagliola², G. Alter³, R. Murphy⁴, M. Altfeld³, J. Gatell⁵, B. Clotet⁶, C. Katlama², B. Autran¹ and the ORVACS-Manon-02 study group

^{1,2} Laboratoire d'Immunologie Cellulaire, INSERM U543, Mal Infect, INSERM U720, Hôp. Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie-Paris6, France; ³Partners AIDS Research Center, Boston, USA; ⁴Northwestern University, Chicago, USA; ⁵Hosp Clin Univ, Barcelona, Spain; ⁶IrsiCaixa Fndn, Barcelona, Spain

T cell based therapeutic vaccines have been proposed to help control virus and disease progression and limit costs and toxicity of treatments.

We performed a comprehensive analysis of virus-specific CD8⁺ and CD4⁺ T-cells after vaccination of ART treated HIV-1-infected individuals. 65 patients were randomized in a phase II clinical trial to receive 4 or 3 injections of an HIV1 recombinant Canarypox vaccine (vCP1452) or placebo. Patients were proposed to stop ART a month after last immunization.

We used polychromatic flow cytometry to characterize the functional and phenotypic profile of antigen-specific CD8⁺ and CD4⁺ T-cells induced by the immunization. In addition we performed a detailed longitudinal analysis of MHC class I epitope-specific responses to look at differentiation and activation phenotype.

The clinical outcome of the vaccination with vCP1452 was an enhanced HIV replication ($p=0.023$) and an accelerated ART resumption ($p=0.013$), despite significant immunogenicity measured by IFN γ ELISpot on total PBMCs ($p=0.014$). We tested whether these results could be explained by the preferential expansion of HIV-specific CD4⁺ rather than CD8⁺ T-cells. We found a significant increase from baseline of HIV-specific CD4⁺ T-cells (producing IFN γ and IL2) ($p\leq 0.01$) in the 4 injection arm compared to placebo. In contrast, we observed no such increase within the CD8⁺ T-cell compartment. No changes occurred in the polyfunctional profile (IFN γ^+ , IL2⁺, TNF⁺, MiP1 β^+ , CD107a⁺, CD40L⁺).

We conclude that a transient activation of CD4⁺ but not CD8⁺ T-cells by the vaccine and ART interruption immediately after immunization have a detrimental effect by providing more target cells for HIV.

69. INHIBITORY ACTIVITY OF ANTIBODIES ON HIV-1 INFECTION OF LANGERHANS CELLS, AND OF TRANSFER TO T CELLS

M Peressin, V Holl, K Xu, S Schmidt, T Decoville, AM Aubertin and C Moog

Institut de Virologie de Strasbourg (Unité Inserm U575)

We have previously shown that the inhibitory activity of neutralising antibodies on monocyte derived dendritic cells was due to two distinct mechanisms: neutralization of infectivity *via* Fab domains and inhibition of HIV *via* Fc γ -receptors (Holl et al, Blood, 2006).

Among the different subsets of Dendritic cells (DC) described:

Langerhans cells (LC), present at mucosal site, have been proposed to be the first HIV-1 targets during sexual transmission. They express langerin and lack DC-SIGN expression.

Interstitial DC (IDC) found in the dermis, express DC-SIGN and mannose receptor.

The aim of this study was to define the inhibitory activity of antibodies 1) on HIV infection of LC and IDC, 2) on HIV transfer from LC/IDC to T cells.

Methods : LC and IDC were obtained after multiplication and differentiation of CD34⁺ cells isolated from cord blood. Inhibitory activities of antibodies were determined by measuring the percentage of p24-positive cells in each cell population. For transfer study, LC and IDC were incubated 2 hours with HIV, before culture with T cells.

Results : We found that neutralising antibodies efficiently inhibit LC and IDC infection, and that the mechanism of inhibition involves neutralisation of infectivity and inhibition of infection *via* Fc γ receptors. No transfer of HIV from LC/IDC to T cells could be evidenced after a single cycle of infection.

Conclusions : The infection of LC/IDC can be efficiently inhibited by IgG neutralising antibodies. These results strongly suggest that neutralising antibodies should be induced at mucosal site to participate in protection of HIV sexual transmission.

70. EVALUATION OF THE IMMUNOGENICITY OF A NEW TAT CANDIDATE VACCINE AGAINST HIV, IN A NON HUMAN PRIMATE MODEL

Turbant S; Moine G; Gadzinsky A; Martinon F; Legrand R; Leonetti M.

CEA, DSV, iBiTec-S, SPI, LIAS, Gif-Sur-Yvette, F-91191 France

The transcriptional transactivator (Tat) of human immunodeficiency virus (HIV) represents an attractive target in the field of vaccination against AIDS since it is essential for virus replication and since non progression to AIDS is associated with a high anti-Tat antibody response.

We have recently shown that complexes between Tat and various sulfated polysaccharide ligands are highly immunogenic in mice. These observations prompted us to assess the immunogenic properties of a Tat protein of 101 residues length previously complexed with a sulfated polysaccharide (Tat101/SP), in macaques.

We injected groups of cynomolgus macaques with low amounts (20 µg) of such a candidate vaccine, in the presence of either alum or MF59 adjuvants. We reimmunized the animals 4 and 8 weeks later and we made a follow-up of the antiTat immune response up to 4 months after the last injection. All macaques immunized with Tat101/SP complex raises an anti-Tat101 antibody response and their sera are capable to neutralize the Tat transactivating activity. However, only animals injected in the presence of alum are capable to develop a Tat101 specific T cell response, as determined by the IFN γ production of PBMCs restimulated "in vitro" by overlapping Tat101 peptides. This cellular immune response is long lasting since it is still observed up to 4 months after the last injection.

These promising results pave the way for the assessment of the protective effects provided by a Tat101/SP candidate vaccine in macaques subsequently challenged with simian immunodeficiency virus (SHIV).

71. CONCEPTION D'IMMUNOGENES GP140 D'ENVELOPPE D'UN ISOLAT PRIMAIRE DE PRIMO-INFECTIION DE VIH-1 PAR ADDITION OU DELETION PONCTUELLES DE SITES DE N-GLYCOSYLATION

Nancy Willkomm, Frédéric Bedin et Bernard Verrier

Laboratoire de rétrovirologie, CNRS FRE 2736, Biomérieux, Lyon.

Un vaccin VIH devrait induire des anticorps neutralisants dirigés contre l'enveloppe Gp native. La densité du manteau de glycanes de la Gp réduit considérablement l'accessibilité aux épitopes neutralisants. Notre travail vise à rediriger la réponse immune, par déglycosylation partielle de la face neutralisante et surglycosylation de la face silencieuse.

Le prototype d'enveloppe est un isolat primaire B d'un patient en primo-infection isolé avant séroconversion. Précédemment identifiée dans un contexte monomérique Gp120, la mutation g3B supprime les sites de N-glycosylation de la région C3. Nous avons donc construit en contexte Gp140 (140unc), le mutant 140g3B et pour comparaison 140DV2 (boucle V2 délétée) et 140g3BDV2. L'expression transitoire en cellules 293T, montre des différences entre les mutants. On note une diminution de la sécrétion des mutants 140g3B et 140DV2, mais une rétention significative intracellulaire de 140g3BDV2. L'étude conformationnelle par ELISA montre un profil proche entre les constructions, 140g3B démasquant l'épitope 5F7 dans la boucle V3. Parallèlement, nous avons caractérisé 10 mutants de surglycosylation dans un contexte Gp120. Parmi eux 6 ont incorporé un N-glycane supplémentaire. Des expériences d'ELISA mettent en évidence le mutant G+ qui fixe fortement des anti-CD4bs et des anti-CD4i, mais lie plus faiblement le CD4 soluble. La construction du mutant G+ dans le contexte Gp140 et la combinaison avec la mutation g3B sont en cours.

Notre étude illustre que des modifications précises du manteau de glycanes sont susceptibles de démasquer des épitopes impliqués dans la neutralisation et de perturber l'affinité pour le récepteur CD4.

72. HIV-1 REPLICATION IS INCREASED IN IMMATURE DENDRITIC CELLS IN THE PRESENCE OF CD4 T OR CD19 B LYMPHOCYTES

Ke Xu, Maryse Peressin, Thomas Decoville, Sylvie Schmidt, Anne-Marie Aubertin, Vincent Holl, Christiane Moog.

INSERM Unité 575/Institut de Virologie, Université Louis Pasteur, Strasbourg

Objectives: It has been proposed that immature dendritic cells (DCs) could efficiently transfer infectious HIV particles to CD4 T lymphocytes *via* virological synapses in *trans* or after *de novo* production of newly synthesized viruses in *cis*. The aim of our study was to investigate the early events of HIV transfer from immature DC to CD4 T lymphocyte and to determine the mechanism of efficient HIV replication in this co-culture.

Methods: Immature DCs were infected and then washed intensively before exposure to CD4 and CD19 lymphocytes. The percentage of HIV-infected cells was measured by flow cytometry detection of intracellular p24 antigen. Virus produced in supernatant by each cell type was characterized by their cell surface marker incorporated in the virus membrane and measured by p24 ELISA.

Results: In the presence of CD4 T or CD19 B lymphocytes, we found a strong enhancement of the percentage of p24-positive DCs after a single cycle of HIV infection compared to DCs alone. At that time, only lower percentage of CD4 T lymphocytes were infected and the virus recovered in the supernatant was produced by both cell types. These results question about the efficiency of HIV transfer from DC to T lymphocyte in *trans*.

Conclusion: Our results showed potent HIV replication in immature DC after T and B lymphocytes contact. If this phenomenon occurs *in vivo*, immature DC at the mucosal site may represent efficient HIV producing cell that need to be protected by vaccination.

