

# Analyse du réservoir VIH en population pédiatrique

DIU pathologies infectieuses pédiatriques 2023-2024

Dr Lorraine FERREIRA, Docteur junior infectiologie pédiatrique [lorraine.ferreira@chru-strasbourg.fr](mailto:lorraine.ferreira@chru-strasbourg.fr)

Simon SPILL, INSERM UMR\_S1109, Université de Strasbourg [spill.simons@gmail.com](mailto:spill.simons@gmail.com)

Dr Pierre GANTNER, MCU-PH laboratoire de virologie de Strasbourg [pierre.gantner@chru-strasbourg.fr](mailto:pierre.gantner@chru-strasbourg.fr)



# Plan

## 1. Introduction

1. Epidémiologie
2. Physiopathologie de l'infection VIH et notion de réservoir viral

## 2. Patients et méthodes

## 3. Résultats

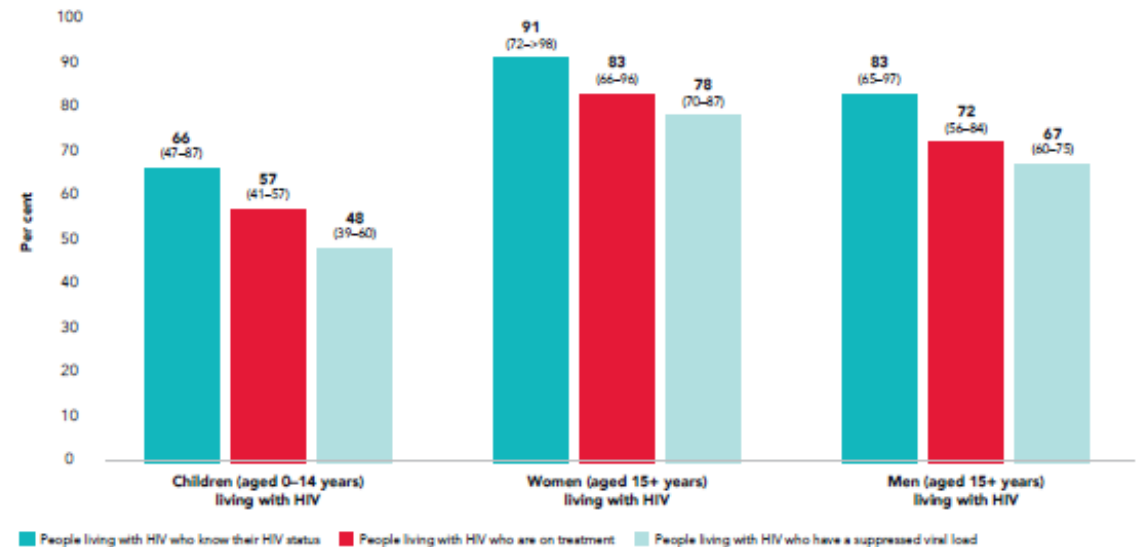
- ADN VIH total et intégré
- ADN VIH intact et défectif

## 4. Conclusion et discussion

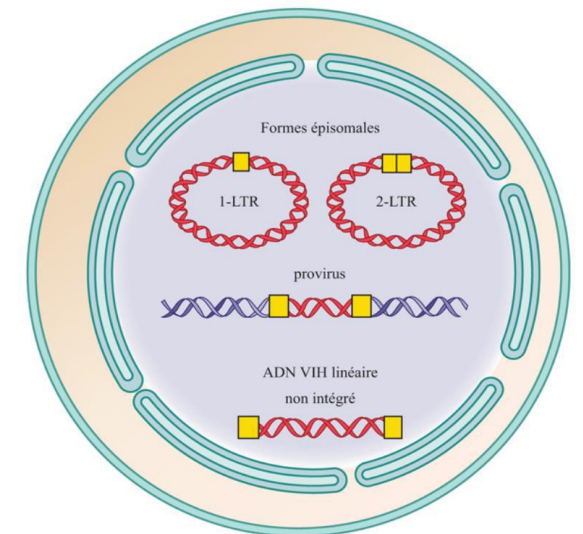
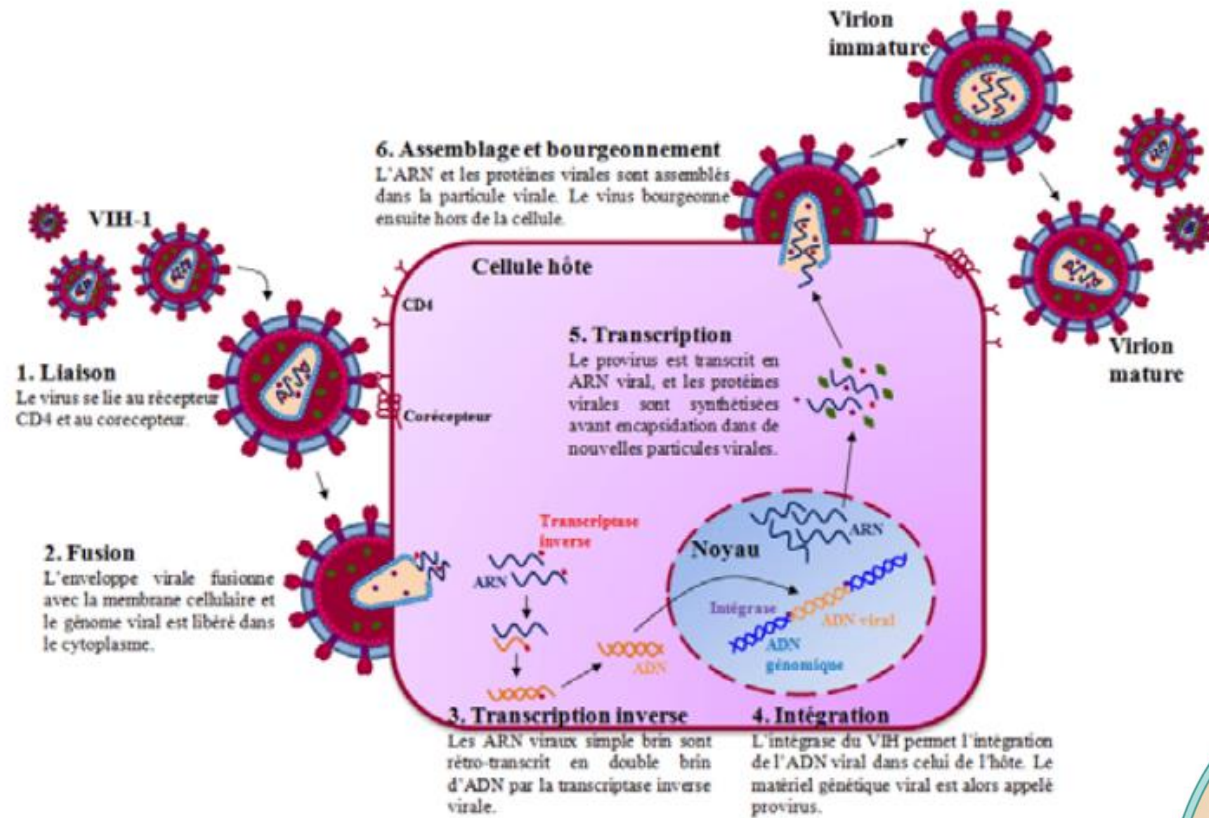
# Epidémiologie en 2024

	Population totale	Population pédiatrique (<15 ans)
Nouvelles infections en 2024	1,3 millions (3,2%)	120 000 (9,2%)
Personnes vivant avec le VIH	40,8 millions	1,4 millions (3,4%)
Connaissance du statut sérologique	35,5 millions (87%)	924 000 (66%)
Accès à une thérapie	31,6 millions (77%)	770 000 (55%)
Décès dû au SIDA	630 000 (1,5%)	75 000 (12%)

Figure 0.7 Testing and treatment cascade among children, women and men, global, 2023



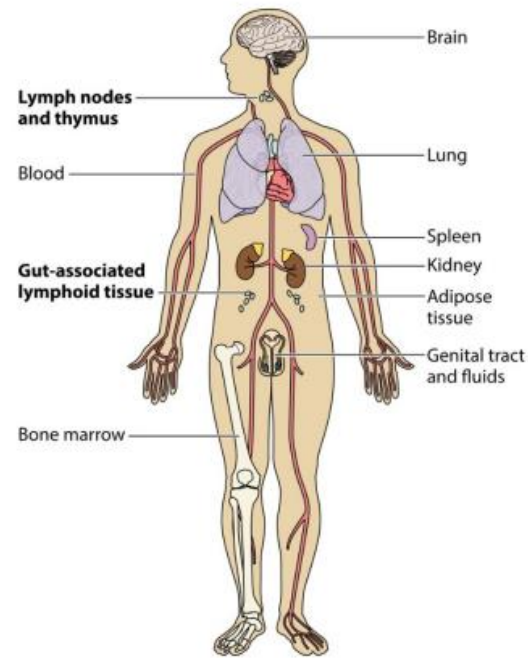
# Infection par le VIH et réservoir viral



Proust, Study of HIV-1 transfer from antigen presenting cells to primary CD4 T lymphocytes and inhibition by neutralizing antibodies, 2013  
Trémeaux, Réservoirs cellulaires et tissulaires du VIH-1 : dynamique au cours de l'infection, Virologie (Montrouge). 2019

# Réservoir viral ou "réservoirs viraux"

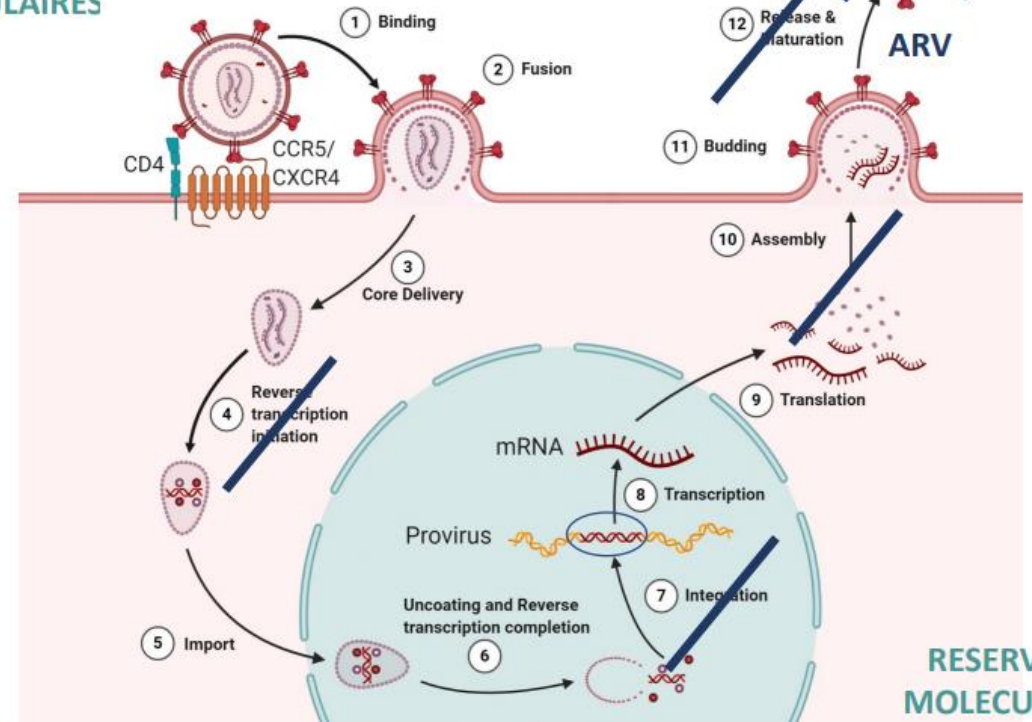
## RESERVOIRS TISSULAIRES



## RESERVOIRS CELLULAIRES



**Lymphocytes T CD4+ (centrales mémoires)**  
**Monocytes/macrophages (SNC, foie, poumons)**  
**Cellules dendritiques**



## RESERVOIRS MOLECULAIRES

# Objectif de l'étude

- Estimation du réservoir viral en population pédiatrique
- Comparaison du réservoir viral entre une population infectée par transmission maternofoetale et les autres types de transmission.

# Population d'étude

Population pédiatrique : enfants et jeunes adultes (age médian 17 [4-34] ans) ayant contracté le VIH par transmission materno-fœtale exclusivement. (n=52)

Population adulte : adulte infecté par voie non-verticale (n=52) ayant contracté le VIH par

Tranmission sexuelle	84%
Transmission par utilisation de drogues intraveineuses	17%
Autres	10.6%
TMF	0%

âge médiant 52 [27-69] ans.

Appariement 1:1 sur la durée d'indétectabilité sous ART

# Techniques d'analyse

Techniques réalisées au laboratoire de virologie des hôpitaux universitaires de Strasbourg sur fond de tube

Quantification de l'ADN VIH total par :

qPCR LTR

*LTR : long terminal repeat*

qPCR LTR-gag

*Gag : gène codant pour les protéines structurales de la particule virale*

Quantification de l'ADN VIH intégré par :

qPCR Alu-LTR

*Alu : éléments nucléaires dispersés courts. Séquence répétées représentant environ 10% du génome humain, non codante.*

Quantification de l'ADN VIH intact et défectif par :

RAINBOW assay dPCR

*ADN VIH présumé intact en cas de détection concomitante des 5 sondes (Ru5, Psi, Gag, Pol and Env) ciblant 5 régions du génome viral*

# Comparaison TMF / non-TMF et corrélations clinico-biologiques

Figure 3 : Comparaison TMF et non TMF

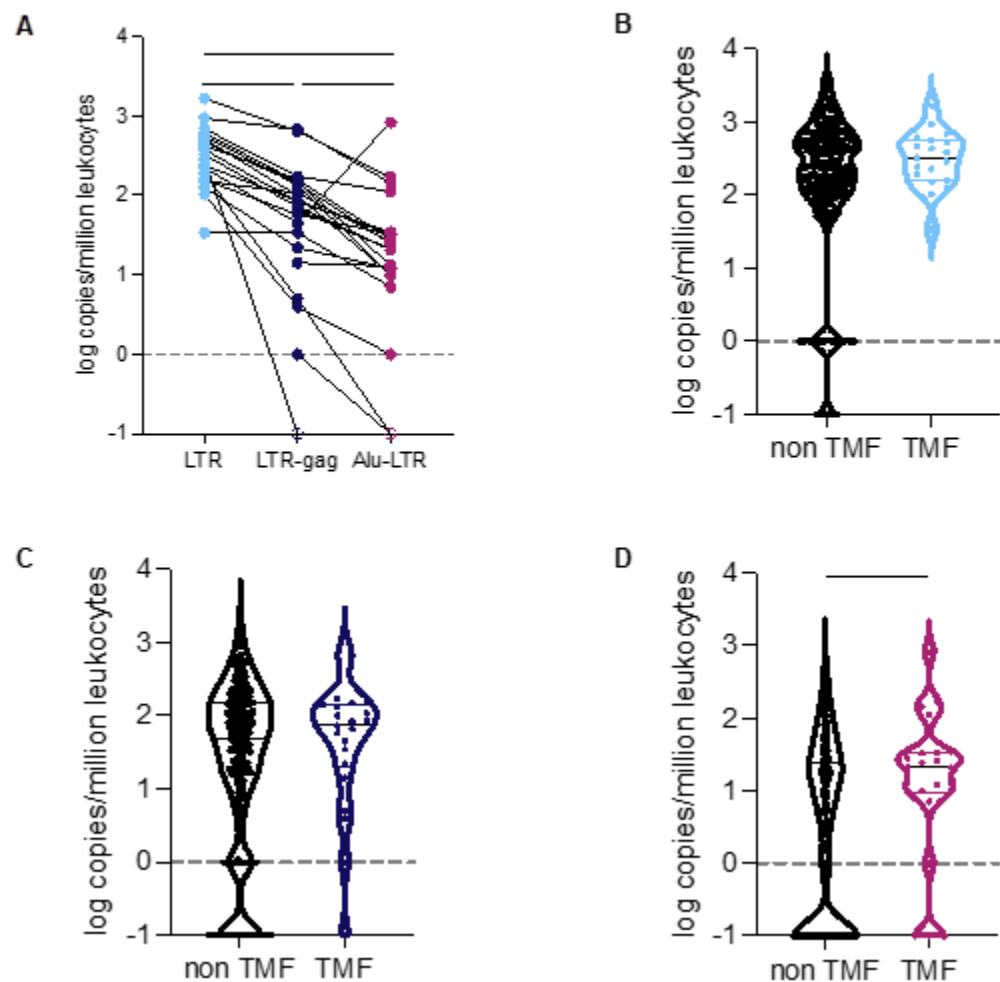
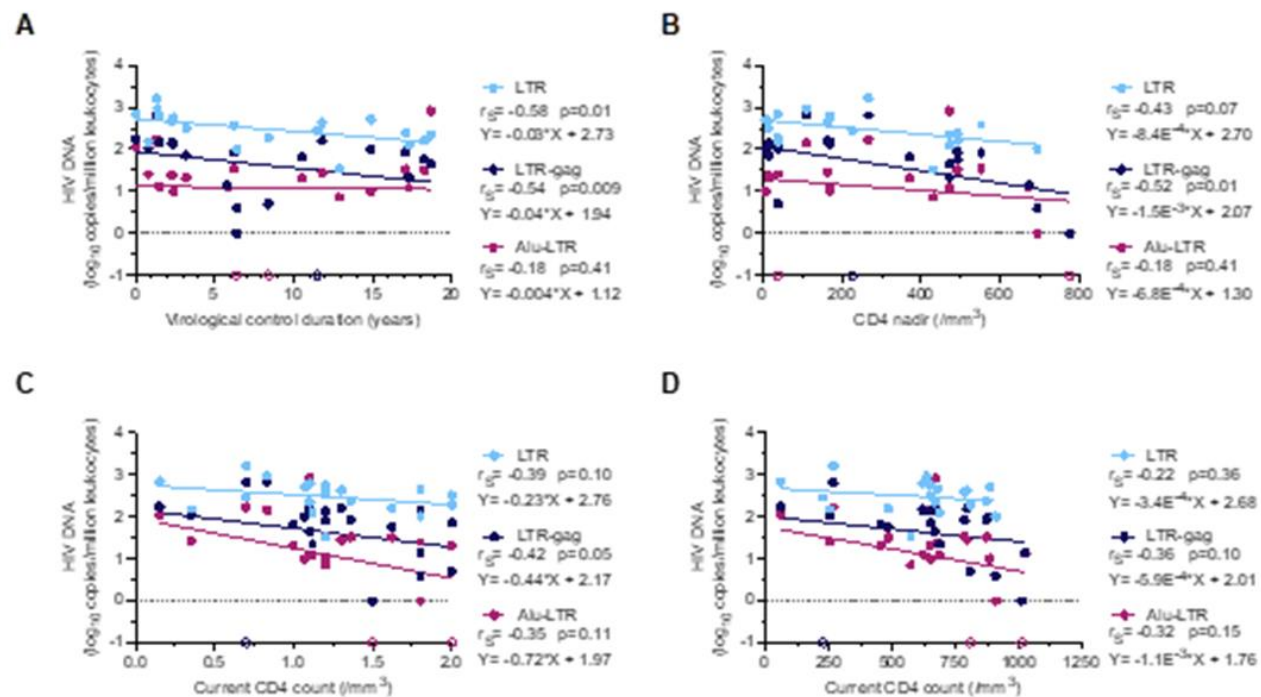
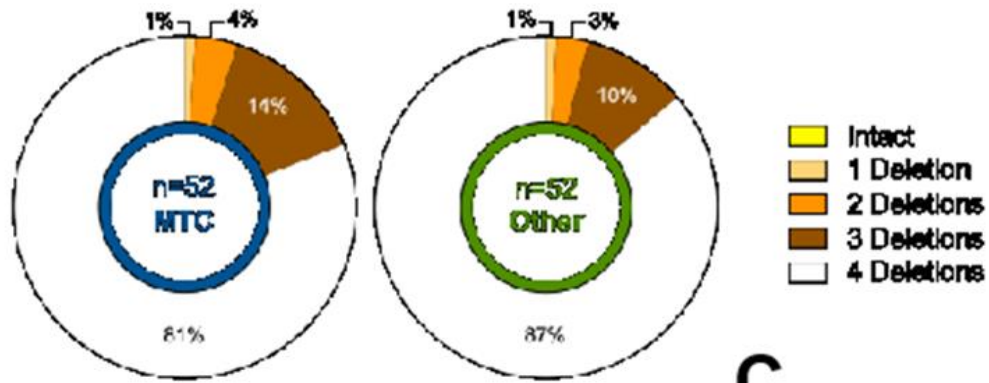


Figure 4 : Corrélations clinico-biologiques avec niveaux d'ADN VIH.

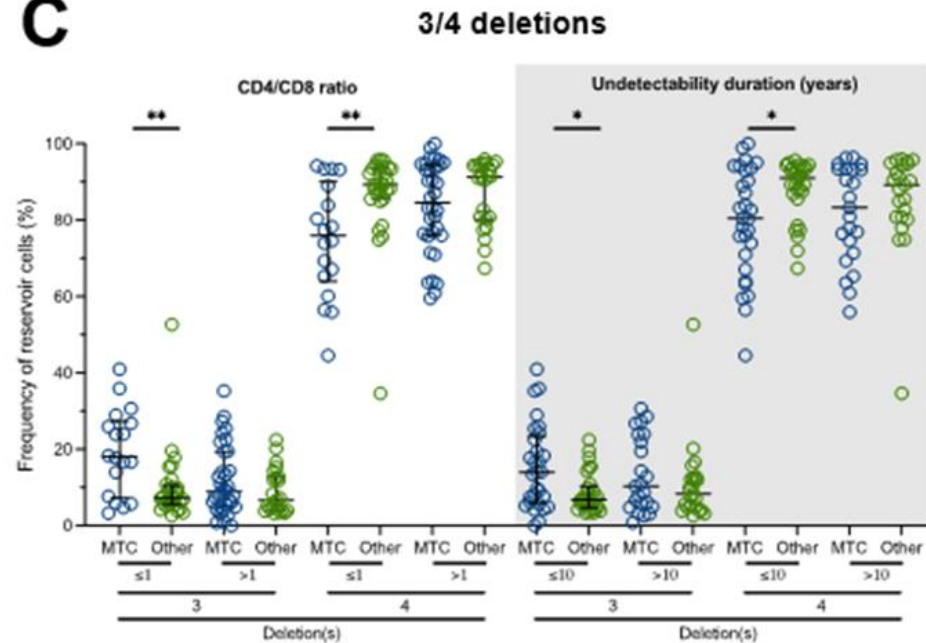


# Analyses supplémentaires : Rainbow Assay dPCR

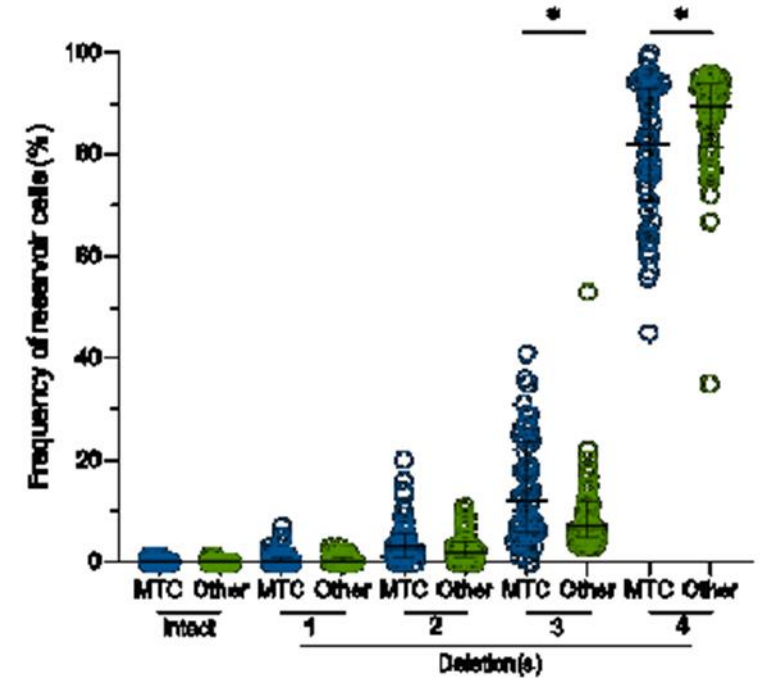
**B**



**C**



**D**



# Résultats

## ADN VIH total et intégré

- Quantité d'ADN VIH intégré statistiquement plus importante dans la population TMF par rapport à la population non-TMF.
  - Physiopathologie d'intégration du virus différente lors d'une TMF ?
  - Nécessité d'optimiser les traitements en fonction du type de contamination ?
- Corrélation significative entre l'ADN VIH total et la durée d'indetectabilité et le nadir des CD<sub>4</sub>.
  - Innovations diagnostiques, thérapeutiques et galéniques nécessaire
  - Importance du suivi notamment à la période charnière qu'est l'adolescence

# Résultats

ADN VIH intact et défectif

- Peu de provirus intact, beaucoup de défauts
- La composition initiale du réservoir viral diffère selon le mode de transmission TMF/non-TMF
- Ces différences tendent à s'atténuer avec la durée d'indétectabilité (<10 ans/>10 ans) et la restauration immunitaire (ratio CD4/CD8 <1/>1), en lien avec des variations de la proportion de provirus défectifs dans la population TMF

# Conclusion

- Les réservoirs viraux sont à l'origine de la persistance du virus dans l'organisme malgré un traitement antirétroviral bien conduit.
- La complexité des mécanismes de latence du VIH et l'hétérogénéité des réservoirs sont des obstacles majeurs de la guérison des patients
- L'analyse de plus en plus précise de ces réservoirs permet de formuler des hypothèses de prise en charge et de suivi

# Discussion

- Peu de données sur les nourrissons/ jeunes enfants
- Aucune donnée sur la population pédiatrique non TMF
- Intérêt d'un suivi du réservoir en routine ?

Merci de votre attention !



# Bibliographie

- Rapport mondial actualisé sur le SIDA 2024- dernière statistiques sur le VIH et sur l'état de l'épidémie SIDA (unaids.org)
- Estimation épidémiologiques de l'ONUSIDA, 2024 Estimations financières de l'ONUSIDA, juillet 2024 (unaids.org)
- Institut Pasteur, le journal de la recherche : 40 ans de découverte du VIH
- Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH actualization 2015 du rapport 2013 (CNS, ANRS)
- Comparison of HIV-1 DNA load measurements in blood and in relation to successful proviral sequencing (Fuchs et al. IDN 2024)
- Study of HIV-1 transfer from antigen presenting cells to primary CD4 T lymphocytes and inhibition by neutralizing antibodies
- Trémeaux et al. Réservoirs cellulaires et tissulaires du VIH-1 : dynamique au cours de l'infection, Virologie (Montrouge). 2019
- Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. N Engl J Med. 3 nov 1994;331(18):1173-80.
- Siliciano JD, Kajdas J, Finzi D, Quinn TC, Chadwick K, Margolick JB, et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. Nat Med. juin 2003;9(6):727-8.
- Albrecht D, Zöllner B, Feucht HH, Lorenzen T, Laufs R, Stoehr A, et al. Reappearance of HIV multidrug-resistance in plasma and circulating lymphocytes after reintroduction of antiretroviral therapy. J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol. févr 2002;24(1-2):93-8.
- Persaud D, Pierson T, Ruff C, Finzi D, Chadwick KR, Margolick JB, et al. A stable latent reservoir for HIV-1 in resting CD4(+) T lymphocytes in infected children. J Clin Invest. avr 2000;105(7):995-1003.
- Canape J, Diallo MA, Soudeyins H. Nature and evolution of the cellular HIV-1 reservoir in children and adolescents. Virol Montrouge Fr. 1 oct 2023;27(5):85-98.
- Goulder PJ, Lewin SR, Leitman EM. Paediatric HIV infection: the potential for cure. Nat Rev Immunol. avr 2016;16(4):259-71.
- Priorities for antiretroviral drug optimization in adults and children report of a CADO, PADO and HIVResNet joint meeting [Internet]. [cité 23 juill 2024].
- Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. Nat Med. mai 1999;5(5):512-7.
- Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach, 2nd ed Frange P, Faye A, Avettand-Fenoël V, Bellaton E, Descamps D, Angin M, et al. HIV-1 virological remission lasting more than 12 years after interruption of early antiretroviral therapy in a perinatally infected teenager enrolled in the French ANRS EPF-CO10 paediatric cohort: a case report. Lancet HIV. janv 2016;3(1):e49-54.
- Novelli S, Lécuroux C, Avettand-Fenoel V, Seng R, Essat A, Morlat P, et al. Long-term Therapeutic Impact of the Timing of Antiretroviral Therapy in Patients Diagnosed With Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2 mai 2018;66(10):1519-27. 22
- Reduced markers of HIV persistence and restricted HIV-specific immune responses after early antiretroviral therapy in children - PubMed [Internet]. [cité 9 juin 2024].
- Kuhn L, Schramm DB, Shiao S, Strehlau R, Pinillos F, Technau K, et al. Young age at start of antiretroviral therapy and negative HIV antibody results in HIV-infected children when suppressed. AIDS Lond Engl. 1 juin 2015;29(9):1053-60.
- Delagreverie HM, Grude M, Lambert-Niclot S, Nere ML, Jadand C, Leport C, et al. Anti-gp41 antibody levels reflect HIV viral suppression and cellular reservoir in long-term antiretroviral-treated trial participants. J Antimicrob Chemother. 1 mai 2019;74(5):1389-94.

# Bibliographie

- Lee SA, Bacchetti P, Chomont N, Froment R, Lewin SR, O'Doherty U, et al. Anti-HIV Antibody Responses and the HIV Reservoir Size during Antiretroviral Therapy. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160192.
- Rocca S, Zangari P, Cotugno N, De Rossi A, Ferns B, Petricone D, et al. Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Antibody Repertoire Estimates Reservoir Size and Time of Antiretroviral Therapy Initiation in Virally Suppressed Perinatally HIV-Infected Children. *J Pediatr Infect Dis Soc*. 6 nov 2019;8(5):433-8.
- Palma P, McManus M, Cotugno N, Rocca S, Rossi P, Luzuriaga K. The HIV-1 antibody response: a footprint of the viral reservoir in children vertically infected with HIV. *Lancet HIV*. mai 2020;7(5):e359-65.
- Avettand-Fènoël V, Chaix ML, Blanche S, Burgard M, Floch C, Toure K, et al. LTR real-time PCR for HIV-1 DNA quantitation in blood cells for early diagnosis in infants born to seropositive mothers treated in HAART area (ANRS CO 01). *J Med Virol*. févr 2009;81(2):217-23.
- Khetan P, Liu Y, Dhummakupt A, Persaud D. Advances in Pediatric HIV-1 Cure Therapies and Reservoir Assays. *Viruses*. 23 nov 2022;14(12):2608.
- Vandergeeten C, Fromentin R, Merlini E, Lawani MB, DaFonseca S, Bakeman W, et al. Cross-clade ultrasensitive PCR-based assays to measure HIV persistence in large-cohort studies. *J Virol*. nov 2014;88(21):12385-96.
- Leyre L, Kroon E, Vandergeeten C, Sacdalan C, Colby DJ, Buranapraditkun S, et al. Abundant HIV-infected cells in blood and tissues are rapidly cleared upon ART initiation during acute HIV infection. *Sci Transl Med*. 4 mars 2020;12(533):eaav3491.
- Wong JK, Hezareh M, Gunthard HF, Havlir DV, Ignacio CC, Spina CA et al. Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science*. 1997;278(5341):1291-5. doi:10.1126/science.278.5341.1291.
- Finzi D, Hermankova M, Pierson T, Carruth LM, Buck C, Chaisson RE et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science*. 1997;278(5341):1295-300. doi:10.1126/science.278.5341.1295.
- Chun TW, Stuyver L, Mizell SB, Ehler LA, Mican JA, Baseler M et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(24):13193-7. doi:10.1073/pnas.94.24.13193.
- Boritz EA, Darko S, Swaszek L, Wolf G, Wells D, Wu X et al. Multiple Origins of Virus Persistence during Natural Control of HIV Infection. *Cell*. 2016;166(4):1004-15. doi:10.1016/j.cell.2016.06.039.
- Colby DJ, Trautmann L, Pinyakorn S, Leyre L, Pagliuzza A, Kroon E et al. Rapid HIV RNA rebound after antiretroviral treatment interruption in persons durably suppressed in Fiebig I acute HIV infection. *Nat Med*. 2018;24(7):923-6. doi:10.1038/s41591-018-0026-6.
- Albrecht D, Zollner B, Feucht HH, Lorenzen T, Laufs R, Stoehr A et al. Reappearance of HIV multidrug-resistance in plasma and circulating lymphocytes after reintroduction of antiretroviral therapy. *J Clin Virol*. 2002;24(1-2):93-8. doi:10.1016/s1386-6532(01)00231-1.
- Gantner P, Morand-Joubert L, Sueur C, Raffi F, Fagard C, Lascoux-Combe C et al. Drug resistance and tropism as markers of the dynamics of HIV-1 DNA quasispecies in blood cells of heavily pretreated patients who achieved sustained virological suppression. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(3):751-61. doi:10.1093/jac/dkv395.
- Margolis DA, Gonzalez-Garcia J, Stellbrink HJ, Eron JJ, Yazdanpanah Y, Podzamczak D et al. Long-acting intramuscular cabotegravir and rilpivirine in adults with HIV-1 infection (LATTE-2): 96-week results of a randomised, open-label, phase 2b, non-inferiority trial. *Lancet*. 2017;390(10101):1499-510. doi:10.1016/S0140-6736(17)31917-7.
- Orkin C, Arasteh K, Gorgolas Hernandez-Mora M, Pokrovsky V, Overton ET, Girard PM et al. Long-Acting Cabotegravir and Rilpivirine after Oral Induction for HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1124-35. doi:10.1056/NEJMoa1909512.
- Overton ET, Richmond G, Rizzardini G, Jaeger H, Orrell C, Nagimova F et al. Long-acting cabotegravir and rilpivirine dosed every 2 months in adults with HIV-1 infection (ATLAS-2M), 48-week results: a randomised, multicentre, open-label, phase 3b, non-inferiority study. *Lancet*. 2021;396(10267):1994-2005. doi:10.1016/S0140-6736(20)32666-0.

# Bibliographie

- Cutrell AG, Schapiro JM, Perno CF, Kuritzkes DR, Quercia R, Patel P et al. Exploring predictors of HIV-1 virologic failure to long-acting cabotegravir and rilpivirine: a multivariable analysis. *AIDS*. 2021;35(9):1333-42. doi:10.1097/QAD.0000000000002883.
- Orkin C, Schapiro JM, Perno CF, Kuritzkes DR, Patel P, DeMoor R et al. Expanded Multivariable Models to Assist Patient Selection for Long-Acting Cabotegravir + Rilpivirine Treatment: Clinical Utility of a Combination of Patient, Drug Concentration, and Viral Factors Associated With Virologic Failure. *Clin Infect Dis*. 2023. doi:10.1093/cid/ciad370.
- Chu C, Armenia D, Walworth C, Santoro MM, Shafer RW. Genotypic Resistance Testing of HIV-1 DNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Clin Microbiol Rev*. 2022;35(4):e0005222. doi:10.1128/cmr.00052-22.
- Avettand-Fenoel V, Chaix ML, Blanche S, Burgard M, Floch C, Toure K et al. LTR real-time PCR for HIV-1 DNA quantitation in blood cells for early diagnosis in infants born to seropositive mothers treated in HAART area (ANRS CO 01). *J Med Virol*. 2009;81(2):217-23. doi:10.1002/jmv.21390.
- Vandergeeten C, Fromentin R, Merlini E, Lawani MB, DaFonseca S, Bakeman W et al. Cross-clade ultrasensitive PCR-based assays to measure HIV persistence in large-cohort studies. *J Virol*. 2014;88(21):12385-96. doi:10.1128/JVI.00609-14.
- Leyre L, Kroon E, Vandergeeten C, Sacdalan C, Colby DJ, Buranapraditkun S et al. Abundant HIV-infected cells in blood and tissues are rapidly cleared upon ART initiation during acute HIV infection. *Sci Transl Med*. 2020;12(533). doi:10.1126/scitranslmed.aav3491.
- Lapointe HR, Dong W, Lee GO, Bangsberg DR, Martin JN, Mocello AR et al. HIV drug resistance testing by high-multiplex "wide" sequencing on the MiSeq instrument. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(11):6824-33. doi:10.1128/AAC.01490-15.
- Cornelissen M, Gall A, Vink M, Zorgdrager F, Binter S, Edwards S et al. From clinical sample to complete genome: Comparing methods for the extraction of HIV-1 RNA for high-throughput deep sequencing. *Virus Res*. 2017;239:10-6. doi:10.1016/j.virusres.2016.08.004.
- Anderson EM, Simonetti FR, Gorelick RJ, Hill S, Gouzoulis MA, Bell J et al. Dynamic Shifts in the HIV Proviral Landscape During Long Term Combination Antiretroviral Therapy: Implications for Persistence and Control of HIV Infections. *Viruses*. 2020;12(2). doi:10.3390/v12020136.
- Bruner KM, Murray AJ, Pollack RA, Soliman MG, Laskey SB, Capoferri AA et al. Defective proviruses rapidly accumulate during acute HIV-1 infection. *Nat Med*. 2016;22(9):1043-9. doi:10.1038/nm.4156.
- Simonetti FR, White JA, Tumiotto C, Ritter KD, Cai M, Gandhi RT et al. Intact proviral DNA assay analysis of large cohorts of people with HIV provides a benchmark for the frequency and composition of persistent proviral DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(31):18692-700. doi:10.1073/pnas.2006816117.
- Siliciano JD, Kajdas J, Finzi D, Quinn TC, Chadwick K, Margolick JB et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. *Nat Med*. 2003;9(6):727-8. doi:10.1038/nm880.
- Ismail SD, Riou C, Joseph SB, Archin NM, Margolis DM, Perelson AS et al. Immunological Correlates of the HIV-1 Replication-Competent Reservoir Size. *Clin Infect Dis*. 2021;73(8):1528-31. doi:10.1093/cid/ciab587.
- Boulassel MR, Chomont N, Pai NP, Gilmore N, Sekaly RP, Routy JP. CD4 T cell nadir independently predicts the magnitude of the HIV reservoir after prolonged suppressive antiretroviral therapy. *J Clin Virol*. 2012;53(1):29-32. doi:10.1016/j.jcv.2011.09.018.
- Gianella S, Rawlings SA, Dobrowolski C, Nakazawa M, Chaillon A, Strain M et al. Sex Differences in Human Immunodeficiency Virus Persistence and Reservoir Size During Aging. *Clin Infect Dis*. 2022;75(1):73-80. doi:10.1093/cid/ciab873.
- Descamps D, Assoumou L, Chaix ML, Chaillon A, Pakianather S, de Rougemont A et al. National sentinel surveillance of transmitted drug resistance in antiretroviral-naïve chronically HIV-infected patients in France over a decade: 2001-2011. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(11):2626-31. doi:10.1093/jac/dkt238.
- Pardons M, Baxter AE, Massanella M, Pagliuzza A, Fromentin R, Dufour C et al. Single-cell characterization and quantification of translation-competent viral reservoirs in treated and untreated HIV infection. *PLoS Pathog*. 2019;15(2):e1007619. doi:10.1371/journal.ppat.1007619.
- Baxter AE, Niessl J, Fromentin R, Richard J, Porichis F, Charlebois R et al. Single-Cell Characterization of Viral Translation-Competent Reservoirs in HIV-Infected Individuals. *Cell Host Microbe*. 2016;20(3):368-80. doi:10.1016/j.chom.2016.07.015.
- Bruner KM, Wang Z, Simonetti FR, Bender AM, Kwon KJ, Sengupta S et al. A quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses. *Nature*. 2019;566(7742):120-5. doi:10.1038/s41586-019-0898-8.
- Gaebler C, Lorenzi JCC, Oliveira TY, Nogueira L, Ramos V, Lu CL et al. Combination of quadruplex qPCR and next-generation sequencing for qualitative and quantitative analysis of the HIV-1 latent reservoir. *J Exp Med*. 2019;216(10):2253-64. doi:10.1084/jem.20190896.