



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
  
 www.em-consulte.com



INFECTIONS VIRALES – ANTIVIRAUX

# Place des microbicides vaginaux dans la prévention de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine

*Place of vaginal microbicides in the prevention of infection by human immunodeficiency virus*

B. Pozzetto\*, O. Delezay, H. Hamzeh-Cognasse, P. Lawrence, F. Lucht, T. Bourlet

GIMAP (EA 3064), pôle de recherche et d'enseignement supérieur de Lyon, CHU de Saint-Étienne, université Jean-Monnet, 42023 Saint-Étienne cedex 2, France

## MOTS CLÉS

Microbicide ;  
 VIH-1 ;  
 Muqueuses cervicales  
 et vaginales ;  
 Essais cliniques ;  
 Modèles primates non  
 humains ;  
 Stratégies de prévention  
 de l'infection VIH

**Résumé** Les microbicides peuvent se définir comme des substances topiques susceptibles de réduire le risque d'infections sexuellement transmissibles. L'objet de cette revue est de présenter un état des lieux des connaissances relatives aux microbicides vaginaux susceptibles de protéger les femmes contre l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1). Les molécules microbicides à visée anti-VIH comprennent des composés non spécifiques comme les détergents, les polyanions ou les inhibiteurs d'entrée, et des molécules spécifiques de VIH-1 qui incluent principalement des inhibiteurs des étapes précoces de l'infection virale et des inhibiteurs de la reverse transcriptase. Bien que l'approche microbicide soit très séduisante sous l'angle conceptuel, aucun essai clinique contrôlé et randomisé, conduit avec des molécules de première génération n'a fait la preuve de l'efficacité préventive de ces composés contre l'infection par VIH-1. Des résultats encourageants ont été obtenus chez des primates non humains et plusieurs essais cliniques menés à travers le monde devraient livrer leur verdict assez vite. Cette revue discute ces différents aspects et encore l'évaluation préclinique de la balance bénéfices-risques des produits microbicides, les associations de composés microbicides anti-VIH-1 et la capacité de ces substances à sélectionner des mutants résistants. Une meilleure connaissance des modes de franchissement de la muqueuse cervico-vaginale par VIH-1 devrait permettre d'affiner les stratégies microbicides qui, en l'absence de vaccination préventive à moyen terme, constituent une alternative à évaluer pour protéger les femmes – et notamment les plus vulnérables d'entre elles – vis-à-vis de l'infection par VIH-1.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

\* Auteur correspondant. GIMAP (EA 3064), faculté de médecine Jacques-Lisfranc, université Jean-Monnet, 42023 Saint-Étienne cedex 02, France.

Adresse e-mail : Bruno.Pozzetto@univ-st-etienne.fr (B. Pozzetto).

**KEYWORDS**

Microbicide;  
HIV-1;  
Cervical and vaginal  
mucosæ;  
Clinical trials;  
Non human primate  
models;  
Preventive strategies of  
HIV infection

**Summary** Microbicides can be defined as topical compounds able to reduce significantly the risk of sexually-transmitted diseases. The aim of this review is to present an overview of the knowledge concerning the capacity of vaginal microbicides to protect women against the sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). Anti-HIV-1 microbicides include non-specific compounds such as detergents, polyanions or entry inhibitors, and HIV-specific compounds that include mainly inhibitors of the initial steps of the virus cell cycle and reverse transcriptase inhibitors. Although the microbicide approach looks very attractive from the conceptual point of view, no controlled randomised clinical trial using first generation compounds has demonstrated any preventive protection against HIV-1 infection. Encouraging results were obtained recently in models using non human primates and several clinical trials are in progression in different countries that will give their verdict very soon. The present review displays a summary of these different data and discusses further the preclinical evaluation of the benefit-risk balance of microbicides, the usefulness of combining different microbicide compounds and the ability of topical microbicides to select resistant viral mutants. A better knowledge of the way(s) the virus penetrates through the sexual mucosa could contribute to develop more adapted microbicide strategies. In the absence of short-coming perspective relative to HIV-1 immunisation, microbicides must be evaluated as a valuable alternative to prevent women – and especially the most vulnerable of them- from being infected by HIV-1.  
© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

« *If they can put a man on the moon, why can't they make something we can use to protect ourselves from HIV?* »  
Une éducatrice ougandaise, 1993.

**Introduction**

Selon les évaluations d'UNAIDS de juillet 2008 [1], environ 33 millions de personnes sont infectées dans le monde par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1). Cette organisation a estimé le nombre de nouvelles infections en 2007 à environ 2,7 millions. Plus de 50 % des personnes infectées par VIH-1 sont des femmes ; la plupart des contaminations surviennent par voie hétérosexuelle et

concernent des régions géographiques à haute prévalence pour VIH-1 (Afrique sub-saharienne, Inde, Chine, Asie du sud-est notamment). En Afrique sub-saharienne, la prévalence de l'infection par VIH-1 est trois fois plus élevée chez les femmes que chez les hommes dans la tranche d'âge des 15–24 ans. La majorité de ces infections sont acquises lors de rapports hétérosexuels non protégés.

Devant l'échec à court et moyen termes des stratégies vaccinales anti-VIH-1 [2], il convient de rechercher des solutions locales à type de barrières physiques ou chimiques efficaces vis-à-vis de cette infection sexuellement transmissible (IST). Le préservatif masculin et la circoncision ont fait la preuve de leur efficacité ; il s'agit cependant de méthodes de prévention qui ne sont pas contrôlables par les femmes. Or, pour les différentes raisons mentionnées dans le **Tableau 1**, il apparaît indispensable que les femmes puissent avoir la maîtrise du risque infectieux lors de relations hétérosexuelles.

Sous l'angle de la protection des femmes vis-à-vis de l'infection par VIH-1, les microbicides vaginaux constituent sans doute une alternative intéressante [3–5]. Ils peuvent se définir comme des substances à introduction vaginale susceptibles de réduire les risques d'IST. Le propos de cette revue se limitera à une mise au point sur la capacité des substances microbicides à contrôler la transmission de VIH-1 lors de relations hétérosexuelles. Il est important de préciser d'emblée que ce mode de prévention, quoique très séduisant sur le plan conceptuel, n'a pas encore fait la preuve de son efficacité épidémiologique et demeure une approche expérimentale vis-à-vis de l'infection par VIH-1.

**Rappels sur la transmission cervico-vaginale de VIH-1**

Au cours des dix dernières années, différents travaux ont permis de mieux comprendre les étapes précoces qui condui-

**Tableau 1** Rationnel pour la nécessité de moyens de contrôle de la transmission sexuelle de VIH maîtrisable par les femmes.

*Rational concerning the need for women to control the sexual transmission of HIV.*

Registre	Argumentaire
Biologique	Probabilité de contamination lors de rapports sexuels non protégés 2 à 4 fois plus élevées chez les femmes que chez les hommes
Socioculturel	Influence des normes de genre sur la sexualité
Économique	Violences basées sur les rapports de genre
Éthique	Plus grande vulnérabilité des femmes dans un contexte économiquement défavorisé
	Nécessité de combler les différentiels de prise de risque en fonction du genre lors de relations hétérosexuelles
	Prévention de la transmission mère-enfant de VIH en cas de grossesse

sent le virus VIH-1, présent dans le sperme sous forme de particules libres ou de cellules infectées, à franchir la barrière cervico-vaginale, à être pris en charge par les cellules du système immunitaire inné et adaptatif et à être amplifié au niveau ganglionnaire pour aboutir à une infection systémique généralisée [6–8]. La transmission cervico-vaginale peut avoir lieu soit à travers l'épithélium pluristratifié du vagin et de l'exocol, soit à travers l'épithélium monostratifié de l'endocol. Si le premier site représente la surface d'échange la plus importante, différents arguments expérimentaux laissent penser que le second pourrait constituer une zone très propice au franchissement viral en raison de la plus faible épaisseur de la muqueuse (malgré l'existence de jonctions serrées intercellulaires), des fréquentes ectopies de la zone de transition entre exocol et endocol et de la richesse en cellules cibles pour VIH-1 présentes sous la muqueuse [9–11].

Au moins cinq mécanismes différents ont été identifiés pour expliquer le franchissement par VIH-1 de la muqueuse cervico-vaginale :

- passage à travers des brèches d'origine traumatique ou infectieuse (favorisées par les IST) ;
- infection plus ou moins abortive des cellules épithéliales ;
- transcytose via les cellules épithéliales sans infection de celles-ci ;
- transmigration de cellules infectées du donneur à travers l'épithélium cervico-vaginal ;
- capture et transfert des particules virales par les cellules dendritiques (DC) intraépithéliales.

À ce jour, il est difficile d'affirmer si l'un de ces mécanismes est prédominant dans la transmission de l'infection, d'autant que de nombreux facteurs intercurrents compliquent encore la situation, comme les composants du plasma séminal, l'acidité de la cavité vaginale (elle-même sous la dépendance de la flore bactérienne locale), l'imprégnation

hormonale de la muqueuse en rapport avec le cycle menstruel ou l'existence d'autres infections génitales.

La transmission sexuelle de l'homme vers la femme lors d'un rapport vaginal est estimée aux environs de 1 pour 500 à 1000 mais cette proportion peut être très augmentée en cas de charge virale élevée dans le sperme [12] ; l'existence d'IST ou l'absence de circoncision augmentent également ce risque de façon importante [13].

Les stratégies à base de substances microbicides s'inscrivent dans ce contexte physiopathologique particulièrement complexe et doivent tenter de prendre en compte tout ou partie des observations ci-dessus.

## Principales molécules à visée microbicides

### Classification

Les substances à visée microbicide constituent un ensemble de molécules très hétérogènes. Selon Cutler et Justman [5], on peut les classer en cinq catégories qui se regroupent elles-mêmes en deux grands ensembles (Fig. 1) : les produits non spécifiques de VIH-1 qui comprennent les surfactants, les protecteurs du milieu vaginal et les polymères anioniques, et les produits spécifiques de VIH-1 qui comprennent des inhibiteurs d'entrée ou de fusion et des inhibiteurs de la réverse transcriptase (RT) de VIH-1.

*Les surfactants.* Ils détruisent les membranes cellulaires et les agents infectieux de façon non spécifique ; ce sont les premiers produits à avoir été testés ; leur toxicité pour l'environnement cellulaire a contraint à les abandonner (voir chapitre suivant).

*Les protecteurs de milieu vaginal.* Ils exercent leur pouvoir anti-infectieux en maintenant ou en rétablissant l'acidité de la cavité vaginale ou en facilitant la colonisation par les lactobacilles responsables de cette acidité physiologique. Il s'agit de produits d'appoint qui peuvent servir d'excipient à

MICROBICIDES NON SPECIFIQUES DE HIV	MICROBICIDES SPECIFIQUES DE HIV
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Surfactants (destruction non spécifique des membranes cellulaires et microbiennes)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Nonoxinol-9 ou N-9</li> <li>– C31G (Savvy®)</li> <li>– Sodium lauryl sulfate (Invisible Condom®)</li> </ul> </li> <li>• <b>Protecteurs du milieu vaginal (acidifiants)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Carbopol 974P (BufferGel®)</li> <li>– Acidform (Amphora®)</li> </ul> </li> <li>• <b>Inhibiteurs d'entrée non spécifiques de HIV : polymères anioniques</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Naphtalene sulfonate (PRO2000®)</li> <li>– Carageenan (Carraguard® /PC-515)</li> <li>– Cellulose sulfate (UsherCell®)</li> <li>– Cellulose acetate phtalate (CAP)</li> <li>– Dendrimères : SPL7013 (VivaGel®)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Inhibiteurs d'entrée spécifiques de HIV</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Inhibiteurs de CD4 (anticorps neutralisants, miniprotéines CD4)</li> <li>– Inhibiteurs de CCR-5 (maraviroc, analogues de RANTES)</li> <li>– Inhibiteurs de l'infection des cellules dendritiques (anticorps anti-DC-SIGN, mannanes)</li> <li>– Inhibiteurs de gp120 (cyanovirine-N, lectines de plantes)</li> <li>– Inhibiteurs de gp41 (enfuvirtide ou T20, T1249)</li> </ul> </li> <li>• <b>Inhibiteurs de la polymérase de HIV</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Nucléotidiques (Tenofovir gel/PMPA)</li> <li>– Nucléosidiques (emtricitabine)</li> <li>– Non nucléosidiques (TMC120, UC781, MIV150 dérivés DABO ...)</li> </ul> </li> </ul>

**Figure 1** Classification des principales molécules à visée microbicide (adaptée de [5]).  
Classification of the main microbicide compounds (adapted from [5]).

des molécules spécifiques. Certains auteurs envisagent d'utiliser des lactobacilles recombinants capables de produire eux-mêmes des molécules à visée microbicide ciblant VIH comme la cyanovirine [14].

*Les polymères anioniques.* Par leur charge négative, ils interfèrent avec les enveloppes virales, inhibant ainsi la fixation du virus sur le récepteur des cellules de la muqueuse. Cet effet est particulièrement marqué pour les souches de type X4 (voir encadré). Les polymères anioniques sont souvent actifs sur différents virus ou bactéries responsables d'IST, ce qui en a fait des candidats tout indiqués pour des essais cliniques à large spectre (voir chapitre suivant).

*Les inhibiteurs d'entrée de VIH-1.* Ce sont des substances qui inhibent spécifiquement une des étapes précoces du cycle viral (voir encadré). Il en existe de nombreux que l'on peut classer en fonction de leur cible :

- les inhibiteurs de la phase d'attachement du virus qui sont dirigés contre des récepteurs alternatifs de VIH-1 : ligand de DC-SIGN (anticorps anti-DC-SIGN, mannanes), ligand

L'entrée de VIH-1 dans la cellule cible implique la fusion de la membrane cellulaire et de l'enveloppe virale. La reconnaissance d'un récepteur cellulaire, la molécule CD4, par la glycoprotéine virale gp120 constitue l'étape initiale qui va déclencher une cascade d'événements impliquant des corécepteurs, CXCR4 ou CCR5, nécessaires au processus de fusion. Le tropisme d'une souche virale peut se définir comme sa capacité à utiliser l'un ou l'autre de ces deux corécepteurs. On distingue ainsi (i) les virus à tropisme CCR5 (ou virus de type R5) qui infectent préférentiellement les monocytes, les lymphocytes T activés ou mémoire et les DC, et (ii) les virus à tropisme CXCR4 (ou virus de type X4) qui infectent plutôt les monocytes, les lymphocytes T et les DC. Les souches capables d'utiliser les deux corécepteurs sont dites *dual tropic*. Goodenow et Collman [15] ont proposé en 2006 une classification des souches de VIH-1 en cinq catégories selon leur tropisme cellulaire et l'utilisation de tel ou tel corécepteur (Fig. 2). Pour les cellules dépourvues de molécules CD4, il existe des récepteurs alternatifs capables de se lier à certaines régions de la glycoprotéine gp160. Le galactoside céramide (ou GalCer), présent à la surface des cellules épithéliales, est capable de se lier à la boucle V3 de gp120 ou à l'épitope ELDKWA de gp41. Les DC peuvent se lier à la glycoprotéine gp120 de VIH-1 via des lectines de type C : la lectine *macrophage mannose receptor* (MMR), la lectine *mannose binding lectin* (MBL), la molécule *DC-specific ICAM-3 grabbing non-integrin* (DC-SIGN) et la langerine, spécifique des DC immatures contenues dans la muqueuse que sont les cellules de Langerhans. D'autres récepteurs alternatifs ont encore été identifiés : les héparane sulfate protéoglycane (HSPG), les récepteurs pour le fragment constant des immunoglobulines et les fractions du complément, certains récepteurs spécifiques de molécules héritées de la cellule-hôte présentes sur les enveloppes virales (comme LFA-1 capables de se lier à ICAM-1 à la surface de

VIH-1 ou HLA-DR), la glycoprotéine 340 présente à la surface des cellules épithéliales et des monocytes, capable de fixer la boucle V3 de gp120 ou l'intégrine  $\alpha_4\beta_7$  présente à la surface des lymphocytes T activés capables de reconnaître la boucle V2 de gp120.

des molécules d'adhésion (anticorps anti-ICAM-1) ou ligand des HSPG ;

- les inhibiteurs de la liaison au CD4 (anticorps neutralisants, miniprotéines CD4) ;
- les inhibiteurs de la liaison aux corécepteurs CCR-5 (chimiokines modifiées de type PSC-RANTES ou NNY-RANTES, inhibiteurs du CCR-5 type maraviroc, anticorps anti-CCR-5).

De façon alternative, il est possible de cibler les molécules d'attachement à la surface du virus, qu'il s'agisse de la glycoprotéine 120 (cyanovirine-N dérivée de cyanobactéries ou lectines de plantes) ou de la glycoprotéine 41 impliquée dans la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire (enfuvirtide ou T20).

*Les inhibiteurs de la reverse transcriptase virale.* Qu'ils s'agissent d'analogues nucléotidiques (IN(t)RT) comme le ténofovir, d'analogues nucléosidiques (INRT) comme l'emtricitabine ou d'analogues non nucléosidiques (INNRT) (TMC120 ou dapivirine, UC781, MIV150, dérivés DABO, etc.), ils constituent de puissants antagonistes de la réplication de VIH-1. Les seconds ont l'avantage d'un index thérapeutique très élevé et d'une action ne nécessitant pas de métabolisme préalable [16].

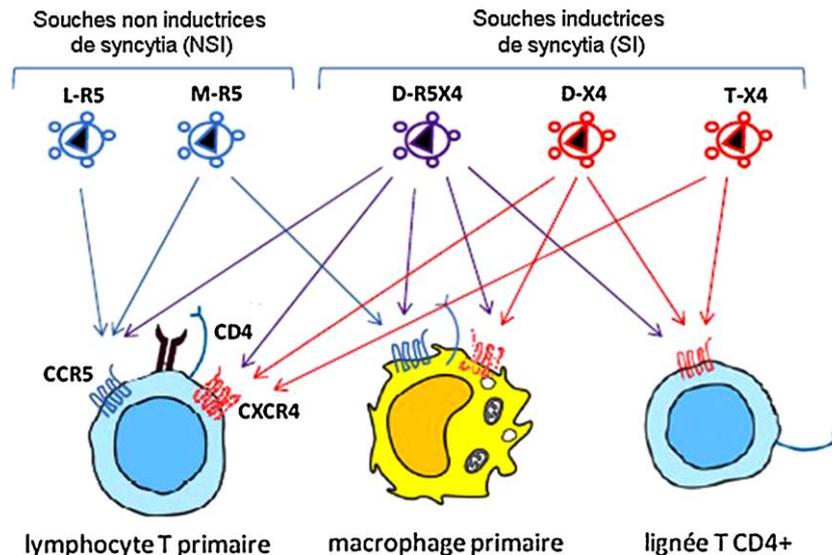
À noter que les inhibiteurs de l'intégrase de VIH-1, d'apparition récente, pourraient aussi constituer des molécules spécifiques intéressantes à évaluer sous l'angle de leur pouvoir microbicide.

La liste des substances à visée microbicide ne se limite pas aux composés cités précédemment. Pour un certain nombre d'autres substances, dont l'activité anti-VIH est pourtant bien établie, le mécanisme d'action reste inconnu. C'est le cas de Praneem (développé par une firme indienne) qui est basé sur l'association de plusieurs extraits végétaux [17] ou du tétra-ascorbo-camphrate de zinc, un dérivé des terpènes (développé par une firme française) [18].

### Nouvelles approches technologiques

Pour tenter de réduire les coûts de production, différentes stratégies sont proposées, parfois de façon combinée, alliant des approches artisanales et des hautes technologies : utilisation de substances à base de produits naturels faciles à produire (comme des lectines extraites d'algues ou de bactéries), production par fermentation de protéines ou de peptides recombinants, production d'anticorps par fermentation (par exemple anticorps monovalents provenant de lama), utilisation de lactobacilles recombinants producteurs de substances microbicides au niveau vaginal, utilisation de petits ARN interférants (*RNA silencing*), etc. [19].

Afin d'illustrer les efforts technologiques mis en œuvre pour développer des produits efficaces et peu onéreux, on peut citer le travail de Sexton et al. [20] qui propose d'utiliser une protéine de fusion exprimée dans une plante transgénique, combinant un anticorps monoclonal neutralisant



**Figure 2** Classification des souches de VIH-1 en fonction du tropisme cellulaire et de l'utilisation de CXR4 ou CCR5 comme corécepteurs (d'après [15]).

*Classification of HIV-1 strains according to their cellular tropism and to CXR4 or CCR5 coreceptor usage (adapted from [15]).*

anti-gp120 et la cyanovirine N, une lectine ciblant aussi la protéine gp120. Une autre étude récente a souligné les propriétés très intéressantes de la griffithsine (GRFT), une protéine dérivée d'une algue rouge produite en grande quantité après transduction de la plante par le virus de la mosaïque du tabac exprimant le gène de la GRFT et capable d'inhiber très efficacement l'entrée de VIH-1 dans la cellule en se fixant sur la protéine gp120 [21].

#### Différentes formulations des microbicides à usage vaginal

Les microbicides de première génération se présentent comme des gels ou des crèmes. Ces formes galéniques ont l'avantage d'un prix de revient modeste, de pouvoir concentrer une grande quantité de produit sous un faible volume, de présenter une bonne stabilité pharmacologique, d'être utilisables avec des molécules non solubles et d'être faciles à conserver. Leurs inconvénients sont le risque de fuite rendant l'évaluation de la dose appliquée difficile, la nécessité de renouveler fréquemment leur application compte tenu de la durée de protection limitée et leur difficulté d'utilisation à l'insu du partenaire masculin.

D'autres présentations sont en cours de développement, qu'il s'agisse d'anneaux vaginaux ou de films à base de polymères qui se dissolvent après mise en place au niveau vaginal [22]. L'intérêt de ces formulations est leur capacité à libérer la substance active sur des durées prolongées d'au moins 24 heures, voire de plusieurs jours. Certains anneaux vaginaux sont conçus pour délivrer simultanément deux produits à action microbicide.

#### Considérations cliniques : du rêve à la réalité

##### Le microbicide à visée anti-VIH « idéal »

Le profil du microbicide anti-VIH idéal est assez facile à brosser. Sous l'angle virologique, il doit être actif à l'échelon nanomolaire avec un index thérapeutique élevé (> 1000) ; il doit être capable de prévenir l'intégration provirale ; il doit

être actif contre tous les sous-types de VIH-1, y compris les variants séminaux, contre le virus libre et le virus associé aux cellules, contre les virus de tropisme X4 et R5 (voir encadré) ; il doit conserver sa pleine efficacité en présence de sperme ou de sécrétions vaginales ; il doit, si possible, se montrer actif en post-exposition et ne pas induire de résistance virale quand il est utilisé chez une personne déjà infectée. En termes de spectre anti-microbien, il est souhaitable que ce microbicide idéal soit également actif sur d'autres germes d'IST. Pour pouvoir être utilisé à très large échelle et sous toutes les latitudes, il doit avoir un prix de revient bas, être facile à produire en très grande quantité et posséder une excellente stabilité, notamment à la chaleur. Sous l'angle de son utilisation, il doit être facile à appliquer, à action prolongée, sans odeur ni saveur. Enfin et surtout, il doit être dépourvu de toxicité directe (destruction ou fragilisation de la barrière muqueuse) ou indirecte (libération de cytokines pro-inflammatoires, interaction avec les réponses immunes, etc.).

#### Impératifs de la recherche clinique sur les microbicides

Pour le moment, aucune substance à visée antimicrobicide anti-VIH ne réunit l'ensemble des propriétés énumérées ci-dessus. La principale difficulté posée par le développement des microbicides réside dans la nécessité de conduire des essais précliniques et cliniques qui respectent l'ensemble des normes applicables aux médicaments sans bénéficier du soutien des grandes firmes pharmaceutiques globalement très désinvesties de ce marché dont les profits à terme semblent modestes. La quasi-totalité des crédits disponibles pour la recherche sur les microbicides provient d'organisations gouvernementales, de fonds publics internationaux ou de fondations à but non lucratif. Pourtant le développement d'un microbicide, comme celui d'autres médicaments, s'étale sur une dizaine d'années ou plus, dont quatre à six ans d'essais précliniques in vitro (modèles cellulaires), ex vivo (explants tissulaires) et chez l'animal, quelques mois d'essais de tolérance de phase I, un à deux ans d'essais de

tolérance de phase II et deux à quatre ans d'essais d'efficacité de phase III.

### Paradoxes des stratégies microbicides

Une étude remontant au début des années 2000 a prédit que l'utilisation d'un microbicide possédant une efficacité de l'ordre de 60 % introduit dans 73 pays à ressources limitées et utilisé au cours de la moitié des relations sexuelles sans préservatif par 20 % des personnes fréquentant les services de santé permettrait, sur une période de trois ans, d'éviter 2,5 millions de nouvelles infections et d'économiser 2,7 milliards de dollars US en soins aux sujets infectés par VIH et à leurs familles, et d'économiser un milliard de dollars US en perte de productivité due au Sida [23].

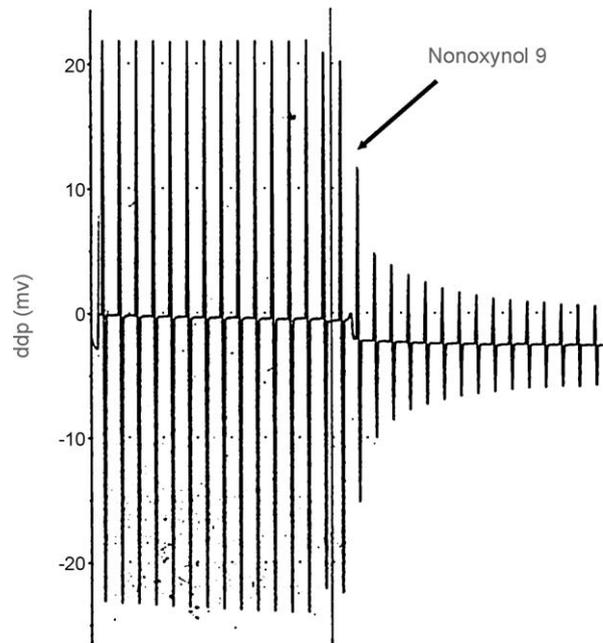
En miroir de cette projection optimiste, Weiss et al. [24] ont fait le constat amer que sur une dizaine d'essais cliniques randomisés terminés en 2007, aucun n'a montré d'efficacité vis-à-vis de l'infection par VIH, au même titre que les changements de comportement sexuel ou les essais vaccinaux.

Les échecs des essais cliniques passés méritent d'être analysés afin d'en tirer les leçons et d'éviter de refaire les mêmes erreurs [25]. Conduits sur des milliers de femmes, ces essais contrôlés et randomisés ont montré soit une totale inefficacité, soit, pour les plus anciens, une transmission accrue de VIH-1. L'illustration de cette dernière situation est fournie par l'essai du nonoxynol-9 [26] dont les résultats désastreux ont été publiés en 2002 [27]. Alors que l'étude clinique avait débuté une dizaine d'années plus tôt, il est intéressant de noter que la toxicité de ce détergent avait été signalée dès 1964 [28]. La Fig. 3 illustre l'effet de cette substance sur l'étanchéité d'une monocouche de cellules épithéliales d'origine endocervicale présentant des jonctions serrées. Des résultats cliniques tout aussi défavorables ont été observés plus récemment avec un autre détergent dénommé Savvy® (C31G) [29].

Les dérivés polyanioniques ont démontré pour leur part une absence totale d'efficacité : c'est le cas notamment du cellulose sulfate ou Ushercell® et du Carraguard® [30,31]. Des résultats préliminaires moins pessimistes avaient été présentés lors de la Conférence on Retroviruses and Opportunistic Infections de février 2009 concernant le gel PRO2000®/5 avec une protection partielle (quoique statistiquement non significative) de femmes traitées par ce produit en comparaison de celles recevant un placebo ou bien Buffer Gel®, un stabilisateur du pH vaginal [32]. Cependant, l'avenir clinique de cette famille de composés semble assez compromis. En effet, une analyse des résultats obtenus in vitro avec le cellulose sulfate a montré que ce composé utilisé à faible concentration était capable de favoriser l'infection par VIH-1, notamment avec des souches de type R5 qui sont davantage impliquées dans la primo-infection [33]. De plus, le plasma séminal a un rôle inhibiteur sur l'efficacité des molécules polyanioniques dans un modèle d'infection par le virus herpès simplex type 2 [34].

### Essais en cours

Le Tableau 2 donne un aperçu des molécules en cours d'expertise chez la femme, et la Fig. 4 la localisation géographique des essais cliniques qui sont en voie de réalisation à travers le monde. Les résultats définitifs concernant un vaste essai conduit dans quatre pays africains avec le gel PRO2000/5® sur plus de 9000 femmes entre 2005 et 2009 (Tableau 2)



**Figure 3** Effet du nonoxynol-9 sur la résistance trans-épithéliale d'une monocouche de cellules humaines d'endomètre cultivées sur filtre. La résistance trans-épithéliale est proportionnelle à l'amplitude de la variation de la différence de potentiel (ddp) exprimée en millivolts (mV) générée par des impulsions électriques périodiques. L'ajout dans le compartiment apical (mimant la lumière génitale) de nonoxynol-9 (0,2 % final) provoque une chute immédiate et importante de la résistance trans-épithéliale, démontrant ainsi que ce composé est responsable d'une rupture très rapide de l'étanchéité de la monocouche cellulaire.

*Effect of nonoxynol-9 on the transepithelial resistance of a monolayer of endometrial human cells cultivated on a filter. The transepithelial resistance is proportional to the amplitude of the variation of potential difference (ddp), expressed in millivolts (mV), induced by periodic electrical pulses. The addition of nonoxynol-9 (0.2% final) into the apical compartment (corresponding to vaginal lumen) is responsible for a rapid and important decrease of the transepithelial resistance, demonstrating that this compound is responsible for a dramatic break of the tightness of the monolayer.*

viennent d'être rendus publics ; ils montrent une absence complète de protection par rapport à un gel contrôle.

Après les échecs observés avec les substances à large spectre, les espoirs se portent désormais vers les composés strictement anti-VIH-1. Les protections obtenues chez le macaque lors d'une exposition au VIH simien (SHIV) par voie vaginale avec les inhibiteurs d'entrée [35] ou par voie rectale [36] ou vaginale [37] avec une association ténofovir-emtricitabine laissent penser qu'il existe un lendemain pour la prévention de l'infection VIH par des microbicides dirigés spécifiquement contre VIH. Les résultats des essais de phase 2 avec le gel ténofovir (Tableau 2) sont attendus dans les semaines à venir.

Une étude expérimentale montrant la capacité d'un gel à base de glycérol monolaurate à protéger des macaques femelles vis-à-vis de l'infection par SIV a récemment relancé le débat de l'intérêt de produits à large spectre comme

**Tableau 2** Liste des essais cliniques en cours dans le monde en mars 2009 évaluant des stratégies microbicides chez des femmes (d'après <http://www.global-campaign.org/microbicide-trials.htm>).  
*List of ongoing microbicide clinical trials worldwide by March 2009 in women (according to <http://www.global-campaign.org/microbicide-trials.htm>).*

Phase d'essai	Substance active	Présentation	Mode d'action	Sites d'évaluation par pays
3	PRO 2000/5	Gel	IE	Afrique du sud, Tanzanie, Ouganda, Zambie
2B	Tenofovir	Gel	IN(t)RT	Afrique du sud
2	Tenofovir	Gel	IN(t)RT	Afrique du sud, Ouganda, États-Unis
1/2	VivaGel <sup>®</sup> (SPL7013)	Gel	IE	Australie
1	Buffer Gel <sup>®</sup>	Diaphragme	Stabilisateur du pH vaginal	Zimbabwe
	—	Gel contenant de l'éthanol	—	Kenya
	Cellulose sulfatée ou nonoxynol-9 <sup>a</sup>	Gel	IE surfactant	États-Unis
	PRO 2000	Gel	IE	États-Unis
	Tenofovir	Gel	IN(t)RT	République dominicaine, États-Unis
	Tenofovir	Gel	IN(t)RT	États-Unis
	Tenofovir	Gel	IN(t)RT	États-Unis
	UC-781 <sup>b</sup>	Gel	INNRT	États-Unis
	UC-781 <sup>b</sup>	Gel	INNRT	Thaïlande
	UC-781 <sup>b</sup>	Gel	INNRT	États-Unis
	UC-781 <sup>b</sup>	Gel	INNRT	États-Unis
	VivaGel <sup>®</sup> (SPL7013)	Gel	IE	Porto Rico, États-Unis
SO	—	Anneau <sup>c</sup>	—	Malawi, Afrique du sud, Ouganda, Zambie, Zimbabwe
	—	—	—	Malawi, Afrique du sud, Ouganda, Zambie, Zimbabwe <sup>d</sup>

Abréviations : SO : sans objet ; IE : inhibiteur d'entrée ; IN(t)RT : inhibiteur nucléotidique de la reverse transcriptase ; INNRT : inhibiteur non nucléosidique de la reverse transcriptase.

<sup>a</sup> Ce n'est pas une étude portant sur le pouvoir microbicide de ces substances mais plutôt une évaluation des modifications des muqueuses induites par ces composés chez des femmes en bonne santé et sexuellement abstinentes.

<sup>b</sup> Études cliniques terminées ; analyse des données en cours.

<sup>c</sup> Étude de tolérance de ce dispositif en vue de l'utiliser pour dispenser des microbicides.

<sup>d</sup> Il s'agit d'une étude observationnelle d'une cohorte de femmes ayant présenté une séroconversion VIH au cours d'essais cliniques de composés microbicides.

microbicides [38]. Le rôle anti-inflammatoire de cette substance a été mis en avant par les auteurs de l'article pour justifier l'efficacité de cette molécule (utilisée comme supplément nutritif) mais d'autres chercheurs ont souligné son pouvoir détergent et ont rappelé que le nonoxynol-9 avait aussi montré des résultats intéressants chez le singe avant d'être récusé dans l'espèce humaine suite à une transmission accrue de VIH (voir ci-dessus).

### Questions en suspens

Les considérations précédentes ont bien montré tout le chemin qu'il reste à parcourir pour disposer de microbicides à la fois efficaces, non toxiques et utilisables sur le long

terme. Trois questions méritent encore d'être abordées : les modalités d'évaluation préclinique de la balance bénéfices-risques des microbicides en amont des essais cliniques, l'intérêt des associations de molécules et le problème des résistances.

### Évaluation bénéfices-risques préclinique des microbicides

En 2004, l'International Working Group on Microbicides a publié des recommandations concernant les modalités d'évaluation des microbicides à la phase préclinique [39]. Il convient de disposer, d'une part, d'algorithmes permettant, à l'aide de tests *in vitro* et *ex vivo* standardisés, d'exclure les composés ne répondant pas à des normes



**Figure 4** Distribution par pays des essais cliniques cités dans le Tableau 2. Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'essais en cours.

*Country distribution of the clinical trials listed in Table 2. The figures in brackets correspond to the number of ongoing trials.*

simples d'efficacité et de toxicité sur les lignées cellulaires et des explants tissulaires [40,41] et, d'autre part, de modèles simiens qu'il paraît difficile d'éviter en amont des essais cliniques, même s'ils sont coûteux et peuvent retarder l'évaluation de la substance microbicide dans l'espèce humaine [25].

#### Association de microbicides

La preuve du concept de l'intérêt des associations de molécules anti-VIH-1 à titre préventif a été apportée par les études de transmission mère-enfant. À ce jour, de très nombreuses combinaisons de molécules peuvent être envisagées, qu'il s'agisse de l'association de substances spécifiquement anti-VIH et de composés à plus large spectre pour agir sur les autres agents d'IST (comme l'association d'un INNRT et d'un polyanion) ou de plusieurs molécules anti-VIH appartenant à des classes différentes (inhibiteur d'entrée et inhibiteur de RT, INNRT et ténofovir, etc.) ou de deux INNRT (ténofovir et emtricitabine). Ces associations, qui constituent sans doute des stratégies d'avenir, en sont encore à leurs balbutiements.

#### Microbicides et résistances virales

Il s'agit d'un point crucial encore assez mal étudié [42]. A priori, les charges virales sont généralement suffisamment faibles dans le sperme pour qu'une monothérapie soit suffisante pour contenir les résistances. Cependant, si les antirétroviraux utilisés par voie topique sont capables de diffuser de façon significative dans la circulation générale, ils risquent d'induire des résistances lorsque ces molécules sont utilisées chez les personnes déjà contaminées (ce qui est inéluctable à partir d'une certaine prévalence de l'infection par VIH-1 dans la population générale). Ce problème pourrait être d'autant plus préoccupant que certains pays en développement disposent d'un panel relativement limité de molécules antirétrovirales utilisables par voie générale.

#### Conclusion

L'utilisation de microbicides pour la prévention de l'infection par VIH-1 reste un concept qui doit encore faire ses preuves (pour une revue, voir [43]). Les stratégies à base de molécules

non spécifiques de types détergents ou polyanions ont montré toutes leurs limites, voire leur danger. Les premiers essais concernant des antirétroviraux devraient livrer leur verdict très prochainement. Si l'on en croit certains résultats très encourageants obtenus dans des modèles de primates non humains, il y a des raisons de demeurer optimiste. L'utilisation d'associations de molécules constitue sans doute une piste intéressante à explorer. En parallèle à la recherche d'une efficacité encore incertaine, il convient de rester vigilant sur la toxicité directe ou indirecte des molécules microbicides dans le contexte de la muqueuse vaginale qui représente un environnement complexe et éminemment variable. Une meilleure compréhension des étapes précoces du franchissement de la barrière vaginale par VIH-1 permettra de mieux cibler des molécules susceptibles de bloquer une ou plusieurs d'entre elles et de mieux prendre en compte les nombreux paramètres qui interfèrent à ce stade (souches R5 et X4 de VIH, virus libre et associé aux cellules, rôle de facteurs séminaux et cervico-vaginaux endogènes, etc.). L'émergence de souches résistantes représente un autre danger potentiel des stratégies microbicides qu'il est possible de prévenir grâce à des associations. Compte tenu de l'échec actuel et pour encore probablement quelques années des stratégies vaccinales, le développement de microbicides anti-VIH puissants et sans danger est plus que jamais nécessaire pour ralentir la progression de la pandémie VIH chez les femmes, en complément des moyens de prévention actuellement reconnus.

#### Conflit d'intérêt

Les auteurs n'ont aucun conflit d'intérêt à déclarer.

#### Remerciements

Les travaux de recherche des auteurs sur les microbicides bénéficient du soutien financier de l'Agence nationale de recherche sur le Sida et les hépatites virales (ANRS). Les auteurs expriment leurs remerciements à Guido Vanham et à son équipe (Institut de médecine tropicale d'Anvers, Belgique) pour les discussions très fructueuses autour des microbicides.

## Références

- [1] 2008 report on the global AID epidemic. [http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008\\_Global\\_report.asp](http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp).
- [2] Kaiser J. AIDS research. Review of vaccine failure prompts a return to basics. *Science* 2008;320:30–1.
- [3] McGowan I. Microbicides: a new frontier in HIV prevention. *Biologicals* 2006;34:241–55.
- [4] Balzarini J, Van Damme L. Microbicide drug candidates to prevent HIV infection. *Lancet* 2007;369:787–97.
- [5] Cutler B, Justman J. Vaginal microbicides and the prevention of HIV transmission. *Lancet Infect Dis* 2008;8:685–97.
- [6] Shattock RJ, Moore JP. Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol* 2003;1:25–34.
- [7] Hladik F, McElrath MJ. Setting the stage: host invasion by HIV. *Nat Rev Immunol* 2008;8:447–57.
- [8] Lawrence P, Zimmer A, Paul S. Infection muqueuse par le virus VIH-1 : mécanismes, conséquences, perspectives de vaccination. *Rev Francoph Lab* 2009;410:45–54.
- [9] Bomsel M. Transcytosis of infectious human immunodeficiency virus across a tight human epithelial cell line barrier. *Nat Med* 1997;3:42–7.
- [10] Patterson BK, Landay A, Anderson J, et al. Repertoire of chemokine receptor expression in the female genital tract: implications for human immunodeficiency virus transmission. *Am J Pathol* 1998;152:3:481–90.
- [11] Yeaman GR, Asin S, Weldon S, et al. Chemokine receptor expression in the human ectocervix: implications for infection by the human immunodeficiency virus-type 1. *Immunol* 2004;113:524–33.
- [12] Chakraborty H, Sen PK, Helms RW, et al. Viral burden in genital secretions determines male-to-female sexual transmission of HIV-1: a probabilistic empiric model. *AIDS* 2001;15:621–7.
- [13] Powers KA, Poole C, Pettifor AE, et al. Rethinking the heterosexual infectivity of HIV-1: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2008;8:553–63.
- [14] Pusch O, Boden D, Hannify S, et al. Bioengineering lactic acid bacteria to secrete the HIV-1 virucide cyanovirin. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:512–20.
- [15] Goodenow MM, Collman RG. HIV-1 coreceptor preference is distinct from target cell tropism: a dual-parameter nomenclature to define viral phenotypes. *J Leukoc Biol* 2006;80:965–72.
- [16] D'Cruz OJ, Uckun FM. Dawn of non-nucleoside inhibitor-based anti-HIV microbicides. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:411–23.
- [17] Talwar GP, Raghuvanshi P, Mishra R, et al. Polyherbal formulations with wide spectrum antimicrobial activity against reproductive tract infections and sexually transmitted pathogens. *Am J Reprod Immunol* 2000;43:144–51.
- [18] Saïdi H, Jenabian M-A, Gombert B, et al. Pre-clinical development as microbicide of zinc tetra-ascorbo-camphorate, a novel terpenoid derivative: potent in vitro inhibitory activity against both R5- and X4-tropic HIV-1 strains without significant in vivo mucosal toxicity. *AIDS Res Ther* 2008;5:10.
- [19] Rossi JJ, June CH, Kohn DB. Genetic therapies against HIV. *Nat Biotechnol* 2007;25:1444–54.
- [20] Sexton A, Harman S, Shattock RJ, et al. Design, expression, and characterization of a multivalent combination HIV microbicide. *Faseb J* 2009;23:3590–600.
- [21] O'Keefe BR, Vojdani F, Buffa V, et al. Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. *PNAS* 2009;106:6099–104.
- [22] Malcolm K, Woolfson D, Toner C, et al. Vaginal microbicides for the prevention of HIV transmission. *Biotechnol Genet Eng Rev* 2004;21:81–121.
- [23] The public health benefits of microbicides in lower-income countries: model projections. A report by the public health working group of the microbicide initiative funded by the Rockefeller Foundation. [http://www.global-campaign.org/clientfiles/rep7\\_publichealth.pdf](http://www.global-campaign.org/clientfiles/rep7_publichealth.pdf).
- [24] Weiss HA, Wasserheit JN, Barnabas RV, et al. Persisting with prevention: the importance of adherence for HIV prevention. *Emerging Themes Epidemiol* 2008;5:8.
- [25] Grant RM, Hamer D, Hope T, et al. Whither or wither microbicides? *Science* 2008;321:532–4.
- [26] Hillier SL, Moench T, Shattock R, et al. In vitro and in vivo: the story of nonoxynol 9. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39:1–8.
- [27] Van Damme L, Ramjee G, Alary M, et al. Effectiveness of COL-1492, a nonoxynol-9 vaginal gel, on HIV-1 transmission in female sex workers: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:971–7.
- [28] Rovinsky JJ. Clinical effectiveness of a contraceptive cream. *Obstet Gynecol* 1964;23:125–31.
- [29] Feldblum PJ, Adeiga A, Bakare R, et al. SAVVY vaginal gel (C31G) for prevention of HIV infection: a randomized controlled trial in Nigeria. *PLoS One* 2008;3:e1474.
- [30] Van Damme L, Govinden R, Mirembe FM, et al. Lack of effectiveness of cellulose sulfate gel for the prevention of vaginal HIV transmission. *N Engl J Med* 2008;359:463–72.
- [31] Skoler-Karpoff S, Ramjee G, Ahmed K, et al. Efficacy of Carra-guard for prevention of HIV infection in women in South Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008;372:1977–87.
- [32] Karim SA, Coletti A, Richardson B, et al. Safety and effectiveness of vaginal microbicides BufferGel and 0.5 % PRO 2000/5 gel for the prevention of HIV infection in women: results of the HPTN 035 trial. In: Program and abstracts of the 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2009. 48LB.
- [33] Tao W, Richards C, Hamer D. Enhancement of HIV infection by cellulose sulfate. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008;24:925–9.
- [34] Patel S, Hazrati E, Cheshenko N, et al. Seminal plasma reduces the effectiveness of topical polyanionic microbicides. *J Infect Dis* 2007;196:1394–402.
- [35] Lederman MM, Offord RE, Hartley O. Microbicides and other topical strategies to prevent vaginal transmission of HIV. *Nat Rev Immunol* 2006;6:371–82.
- [36] García-Lerma JG, Otten RA, Qari SH, et al. Prevention of rectal SHIV transmission in macaques by daily or intermittent prophylaxis with emtricitabine and tenofovir. *PLoS Med* 2008;5:e28.
- [37] Heneine W, Dobard C, Parikh U, et al. Complete protection against repeated vaginal simian HIV exposures in macaques by a topical gel containing tenofovir alone or with emtricitabine. In: Program and abstracts of the 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2009.p. 46.
- [38] Li Q, Estes JD, Schlievert PM, Duan L, et al. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission. *Nature* 2009;458:1034–8.
- [39] Lard-Whiteford SL, Matecka D, O'Rear JJ, et al. Recommendations for the nonclinical development of topical microbicides for prevention of HIV transmission: an update. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;36:541–52.
- [40] Cummins Jr JE, Guarner J, Flowers L, et al. Preclinical testing of candidate topical microbicides for anti-human immunodeficiency virus type 1 activity and tissue toxicity in a human cervical explant culture. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:1770–9.
- [41] Lackman-Smith C, Osterling C, Luckenbaugh K, et al. Development of a comprehensive human immunodeficiency virus type

- 1 screening algorithm for discovery and preclinical testing of topical microbicides. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52: 1768–81.
- [42] Martinez J, Coplan P, Wainberg MA. Is HIV drug resistance a limiting factor in the development of anti-HIV NNRTI and NRTI-based vaginal microbicide strategies? *Antiviral Res* 2006;71: 343–50.
- [43] Ramessar K, Sabalza M, Miralpeix B, Capell T, Christou P. Can microbicides turn the tide against HIV? *Curr Pharm Des* 2010;16:468–85.