

Université de Montréal

**Cohorte de patients vivant avec le VIH/SIDA : Échecs  
virologiques et effets de thérapies antirétrovirales sur la  
fonction rénale et l'hyperbilirubinémie**

par  
Claudie Laprise

Département de Médecine Sociale et Préventive  
Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté de Médecine  
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph. D.)  
en Santé Publique  
option Épidémiologie

Mars, 2013

© Claudie Laprise, 2013

## Résumé

---

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est à l'origine d'une infection chronique, elle-même responsable du développement du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), un état de grande vulnérabilité où le corps humain est à la merci d'infections opportunistes pouvant s'avérer fatales. Aujourd'hui, 30 ans après la découverte du virus, même si aucun vaccin n'a réussi à contrôler la pandémie, la situation s'est grandement améliorée. Conséquemment à l'arrivée de traitements antirétroviraux hautement actifs (HAART) à la fin des années 1990, la mortalité associée au VIH/SIDA a diminué et un plus grand nombre de personnes vivent maintenant avec l'infection.

La présente thèse avait pour objectif d'aborder trois situations problématiques, en dépit de l'efficacité reconnue des HAART, plus particulièrement la faible charge virale persistante (LLV) et sa relation avec l'échec virologique, ainsi que les effets de certains antirétroviraux (ARV) sur les fonctions rénale et hépatique. Les objectifs précis étaient donc les suivants : 1) étudier le risque d'échec virologique à long terme chez les patients sous HAART dont la charge virale est indétectable comparativement aux patients affichant une LLV persistante; 2) évaluer sur le long terme la perte de fonction rénale associée à la prise de ténofovir (TDF) 3) étudier sur le long terme l'hyperbilirubinémie associée à la prise d'atazanavir (ATV) et ses autres déterminants possibles.

Afin d'atteindre les trois objectifs susmentionnés, une cohorte de 2 416 patients atteints du VIH/SIDA, suivis depuis juillet 1977 et résidant à Montréal, a été utilisée. Pour le premier objectif, les résultats obtenus ont montré un risque accru d'échec virologique établi à  $>1000$

copies/ml d'ARN VIH chez tous les patients qui présentaient une LLV persistante de différentes catégories durant aussi peu que 6 mois. En effet, on a observé qu'une LLV de 50-199 copies/ml persistant pendant six mois doublait le risque d'échec virologique (Hazard ratio (HR)=2,22, Intervalle de confiance (CI) 95 %:1,60–3,09). Ces résultats pourraient modifier la façon dont on aborde actuellement la gestion des patients affichant une LLV, et plus particulièrement une LLV de 50-199 copies/ml, pour laquelle aucune recommandation clinique n'a encore été formulée en raison du manque de données. Pour le deuxième objectif, on a observé une augmentation du risque de perte de fonction rénale de l'ordre de 63 % (HR=1,63; 95% CI:1,26–2,10) chez les patients sous TDF comparativement aux patients traités avec d'autres ARV. La perte de fonction rénale directement attribuable à la prise de TDF, indique que cette perte est survenue au cours des premières années de l'exposition du patient au médicament. D'une perspective à long terme, cette perte est considérée comme modérée. Enfin, pour ce qui est du troisième objectif, on a constaté que l'incidence cumulative d'hyperbilirubinémie était très élevée chez les patients sous ATV, mais que cette dernière pouvait régresser lorsque l'on mettait fin au traitement. L'hyperbilirubinémie à long terme observée avec la prise d'ATV n'a été associée à aucun effet néfaste pour la santé.

Dans l'ensemble, la présente thèse a permis de mieux comprendre les trois situations problématiques susmentionnées, qui font actuellement l'objet de débats au sein de la communauté scientifique, et d'éclairer sous un jour nouveau la gestion des patients séropositifs sous traitement médicamenteux.

**Mots-clés :** Atazanavir, Échec virologique, Estimation du débit de filtration glomérulaire, Étude de cohorte, Faible charge virale persistante, Fonction rénale, Hyperbilirubinémie, Ténofovir, Thérapies antirétrovirales, VIH.

## Abstract

---

Human immunodeficiency virus (HIV) is a virus causing a chronic infection responsible for Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), a state of vulnerability of the body where different opportunistic infections will ultimately be fatal. About 30 years after the discovery of the virus, even if no vaccine is available to control the pandemic, situation has changed for the best. With the arrival of highly active anti-retroviral therapy (HAART) in the late 90's, a reduction in HIV/AIDS mortality rate and growing number of persons living with the infection were observed.

The overall objective of this thesis was to address three problematic situations, despite recognised HAART efficacy, especially low-level viremia (LLV) and its relationship with virologic failure, and the impacts of certain antiretrovirals (ARV) on kidney and hepatic functions. The specific objectives were: 1) to study the risk of virologic failure in long-term perspective in undetectable patients under HAART in comparison to patients with persistent LLV; 2) to evaluate the long-term loss of kidney function related to tenofovir (TDF) exposure 3) to evaluate long-term hyperbilirubinemia related to atazanavir (ATV) exposure and other possible determinants.

In order to address the three specific objectives, a cohort of patients 2416 living with HIV/AIDS followed in Montreal since July 1977 was used. For the first objective, analyses and results shown an increased risk of virological failure defined as  $>1000$  copies/mL of HIV RNA, for all categories of persistent LLV as soon as 6 months of persistent duration. Persistent LLV of 50-199 copies/mL for 6 months doubled the risk of virologic failure

(Hazard ratio (HR)=2,22, Confidence interval (CI) 95%: 1,60-3,09). The results shed new light for the management of patients with LLV, especially for LLV of 50-199 copies/mL, for which no clinical recommendation is currently available due to a lack of data. For the second objective, an increased risk of loss of kidney function of 63% (HR=1.63; 95% CI:1.26–2.10) associated to TDF exposure in comparison to patients taking other ARV was observed. The cumulative eGFR loss directly attributable to TDF also shown that this loss occurred during the first years of exposure. This loss was mild in a long-term perspective. For the third objective, it has been shown that the cumulative incidence of hyperbilirubinemia in ATV users was very high and that regression was possible if ATV exposure was ended. Long-term hyperbilirubinemia related to ATV use was not associated with adverse health outcome.

Overall, this thesis allowed a better understanding of these three problematics currently debated in scientific literature and shed new lights on management of HIV positive patients under therapy.

**Keywords:** Antiretroviral therapy, Atazanavir, Cohort study, Estimated Glomerular Filtration Rate, HIV, Hyperbilirubinemia, Kidney function, Low-level viremia, Tenofovir, Virological failure.

## Table des matières

---

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	x
Liste des sigles et abréviations.....	xi
Remerciements.....	xiv
Introduction.....	1
1. La santé publique et le VIH.....	1
1.1 Le VIH/SIDA, toujours d'actualité après 30 ans.....	1
1.2 L'arrivée de la trithérapie à la fin des années 90 : une révolution majeure.....	2
1.3 L'envers de la médaille.....	3
2. Pertinence de la thèse.....	6
2.1 Un problème majeur de santé publique.....	6
2.2 L'échec virologique et la faible charge virale persistante.....	8
2.3 La perte de fonction rénale et l'utilisation du ténofovir.....	8
2.4 L'hyperbilirubinémie et l'utilisation d'atazanavir.....	9
3. Les objectifs et les questions de recherche de la thèse.....	10
3.1 Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante.....	10
3.2 Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir.....	10
3.3 Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir.....	11
4. Organisation de la thèse par article.....	11
Chapitre 1: État des connaissances.....	13

---

.....	13
1. Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante .....	13
1.1 Charge virale, indélectabilité et échec virologique.....	13
1.2 La faible charge virale persistante (LLV).....	15
1.3 Limites des études.....	16
2. Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir .....	17
.....	17
2.1 Le ténofovir et la perte de fonction rénale .....	17
2.2 Mesure de la perte de fonction rénale : le débit de filtration glomérulaire.....	19
2.3 Limites des études.....	20
3. Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir ..	21
3.1 L'atazanavir et l'hyperbilirubinémie.....	21
3.2 Mesure de l'hyperbilirubinémie : concentration de bilirubine totale sérique.....	23
3.3 Limites des études.....	23
Chapitre 2: Méthodes .....	24
1. Devis de l'étude : la cohorte de la Clinique médicale du Quartier latin.....	24
2. Complétion de la base de données .....	26
2.1 Les données manquantes.....	26
2.2 Logistique de recouvrement des données manquantes .....	26
3. Stratégies d'analyse par objectif.....	29
3.1 Cadres conceptuels.....	29
3.2 Objectif 1 : Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante.....	30
3.3 Objectif 2 : Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir .....	31
3.4 Objectif 3 : Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir.....	32
3.5 Processus de sélection des patients pour chaque objectif .....	34
Chapitre 3 : Articles .....	35

1. Article 1 : Échec virologique à la suite d'une faible charge virale persistante .....	35
2. Article 2: Association entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale à long terme .....	58
3. Article 3: Atazanavir et autres déterminants de l'hyperbilirubinémie .....	88
Chapitre 4: Discussion et conclusion .....	118
1. Les défis de la recherche épidémiologique avec une cohorte clinique .....	118
2. Article 1: Échec virologique à la suite d'une faible charge virale persistante .....	120
3. Article 2: Association entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale à long terme .....	125
4. Article 3: Atazanavir et autres déterminants de l'hyperbilirubinémie .....	129
5. Validité externe .....	131
6. Conclusion .....	132
Bibliographie .....	139
Annexes .....	150
Annexe 1 : Formules pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire .....	150
Annexe 2 : Niveaux de défaillances rénales établis et adaptés de la National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Diseases .....	151
Annexe 3 : Classification des grades d'hyperbilirubinémie .....	152
Annexe 4: Formulaire de consentement éclairé pour l'entrée dans la cohorte .....	153
Annexe 5: Version du formulaire pour la complétion de la base de données émergeant du consensus avec le groupe de chercheurs responsable de la fusion de la cohorte du CMQL .....	154
Annexe 6 : Cadres conceptuels .....	160
Annexe 7: Sélection des patients pour chacun des projets et leurs variables respectives à l'étude .....	162
Curriculum Vitae .....	166



## Liste des tableaux

---

Article 1 : Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: Findings from 12 years of observation

Table 1. Baseline characteristics of 1,860 HIV-infected patients.....	55
Table 2. Descriptive data of Kaplan-Meier graphs according to duration of viral persistence.....	56
Table 3. Association between persistent viral load status and subsequent virologic failure (defined at <1000 HIV RNA copies/mL): Univariate and multivariate analysis using Cox Model.....	57

Article 2 : Association between tenofovir exposure and reduced kidney function in a cohort of HIV-positive patients: results from 10 years of follow-up

Table 1. Baseline characteristics of 1,043 HIV-infected patients, by tenofovir exposure status at the end of follow-up.....	76
Table 2. Determinants of reduced kidney function: univariate and multivariate analysis using time-dependent Cox model.....	79
Table 3. Determinants of prevalence of reduced renal function: univariate and multivariate analysis using GEE models.....	82
Table 4. Loss of eGFR: Crude mean, univariate and multivariate linear regression analysis, by TDF exposure.....	85

Article 3 : Atazanavir and other determinants of hyperbilirubinemia in a cohort of 1,150 HIV-positive patients: results from 9 years of observation

Table 1. Baseline characteristics of 1,150 HIV-infected patients, by atazanavir exposure status at the end of follow-up.....	108
Table 2. Determinants of hyperbilirubinemia: Univariate and multivariate analysis using time-dependent Cox model.....	111
Table 3. Association between persistent hyperbilirubinemia and composite health adverse outcome in HIV patients: Univariate and multivariate analysis with GEE model.....	114

## Liste des figures

---

Article 1 : Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: Findings from 12 years of observation

- Figure 1. Cumulative incidence of virological failure defined at >1000 HIV RNA copies/mL according to VL persistence.....52
- Figure 2. Three years cumulative incidence of virologic failure (defined at >1000 HIV RNA copies/mL) according to 6-month viral load persistence status stratified by periods of persistence development.....54

Article 2 : Association between tenofovir exposure and reduced kidney function in a cohort of HIV-positive patients: results from 10 years of follow-up

- Figure 1. Kaplan-Meier graph of cumulative incidence of reduced kidney function, stratified by antiretroviral exposure.....87

Article 3 : Atazanavir and other determinants of hyperbilirubinemia in a cohort of 1,150 HIV-positive patients: results from 9 years of observation

- Figure 1. Kaplan-Meier graph of cumulative incidence of A) hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (outcome defined as the first measure of grade 3 or 4) and B) persistent hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (outcome defined as at least two consecutive measures of hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (>2.5X ULN)).....115
- Figure 2. A) Probability of regression of patients with persistent hyperbilirubinemia grade 3 or 4 to lower grade, stratified by atazanavir exposure. B) Mean level of bilirubin at individual visits following the development of persistent hyperbilirubinemia.....116

## Liste des sigles et abréviations

---

ADN/DNA	Acide désoxyribonucléique (deoxyribonucleic acid)
ART	Antiretroviral Therapy
ARN/RNA	Acide ribonucléique (ribonucleic acid)
ARV	Antiretroviral
ASPC	Agence de la santé publique du Canada
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudine
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CD4	Lymphocytes T cluster de différenciation 4
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration
CG	Cockroft-Gault
DHHS	U.S. Department of Health and Human Services
eGFR	Estimated Glomerular Filtration Rate
EIQ	Écart Interquartile
FDA	U.S. Food and Drug Administration
GEE	Generalized Estimating Equation
HAART	Highly Active Anti-Retroviral Therapy
HARSAH	Homme ayant des relations sexuelles avec des hommes
HR	Hazard Ratio

CI	Confidence Interval
INSTI	Integrase Strand Transfer Inhibitor
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P	P-value
PI	Protease Inhibitor
LLV	Low-Level Viremia
NNRTI	Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor
NRTI	Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor
SIDA/AIDS	Syndrôme d'ImmunoDéficiency Acquis (Acquired immunodeficiency syndrome)
TDF	Ténofovir Disoproxil Fumarate
TLOVR	The Loss of Virological Response
UDI	Utilisateur de Droque Injectable
UGT	UDP-glucoronosyltransférase
VIH/HIV	Virus de l'Immunodéficience Humaine (Human Immunodeficiency Virus)

*À tous les participants à nos projets.*

*Sans vous, la recherche n'est rien.*

## Remerciements

---

Je tiens tout d'abord à remercier mes superviseurs, Dr Helen Trottier et Dr Jean-Guy Baril. Merci avant tout à vous, Dr Trottier, Helen, si je peux me le permettre. Je suis pleinement consciente de la chance que j'ai eue de te rencontrer. Merci pour toutes les opportunités, merci pour ton soutien, merci pour le nombre incalculable d'heures à travailler sur nos projets, merci d'avoir été là pour moi, merci pour tout, merci mille fois. Tu as fait de moi une meilleure chercheuse et une meilleure personne et je t'en serai toujours reconnaissante. Surtout, tu m'as redonné quelque chose que j'avais perdu en cours de route : ma confiance en moi. J'espère que je te rends fière aujourd'hui et je me demande encore ce que je ferai sans toi, tu vas beaucoup me manquer. Merci du fond du coeur, je n'oublierai jamais tout ce que tu as fait pour moi. J'espère qu'on aura l'occasion de travailler ensemble à nouveau.

Merci Dr Baril de m'avoir accueillie à la Clinique médicale du Quartier latin. Tout a été possible grâce à votre générosité et à votre soutien, merci de m'avoir donné la chance de travailler sur votre cohorte. J'ai été très touchée par tout votre dévouement à la cause du VIH et j'espère pouvoir continuer à vous côtoyer dans les années à venir. Vous formez une équipe extraordinaire et j'en serais plus que ravie de continuer à en faire partie. Un merci tout spécial également à tous les collaborateurs qui ont participé à nos études, Dr Serge Dufresne, Dr Alexandra de Pokomandy, Mesdames Louise Laporte et Lucie Height et tout le personnel de la Clinique médicale du Quartier latin. Merci pour tout le temps que vous m'avez accordé et pour toute l'aide que vous m'avez donnée, je l'apprécie énormément.

Merci à l'Université de Montréal, à la Faculté de Médecine et au Département de médecine sociale et préventive. C'est avec beaucoup de tristesse que je quitte l'Université de Montréal, ma deuxième maison depuis les dix dernières années. Si je pars aujourd'hui, ce sera pour mieux y revenir, je l'espère.

Merci aux Instituts de Recherche en Santé du Canada pour votre soutien financier : vous avez changé ma vie.

Un merci tout spécial à ma famille. Merci Christine, ma grande sœur, ma fan numéro un qui a toujours été là, qui a révisé mes textes remplis de tournures de phrases pas possibles et qui m'a aussi souvent ramassée à la petite cuillère quand c'était difficile ces dernières années. Merci d'avoir cru en moi depuis le début. Merci à mes parents, Ginette et Régis, je sais tout ce que vous avez fait pour que je puisse continuer mes études, merci pour votre soutien et vos encouragements, je vous en serai éternellement reconnaissante. Merci David de m'avoir épaulée, encouragée, merci d'avoir partagé mes rêves et ce doctorat, il est à toi aussi parce que je n'y serais jamais arrivée sans toi. Merci de m'aimer comme je suis, avec mes idées de grandeur. Merci Samuel, mon petit bébé-doctorat, d'avoir fait ma défense de protocole avec moi. Une chance que tu étais dans ma bedaine cette journée-là! Tu es ce que j'ai de plus précieux au monde, je t'aime mon coquelicot et j'espère que tu es fier de ta maman.

Merci à mes amis Alex, Clau, Jenny, Jess, Jo, Ju, Mag, Marc, Sab et San et tous ceux que j'oublie. Ça n'a pas toujours été facile ces dernières années, mais je suis fière de ce qu'on est devenu. Je nous souhaite tout le bonheur du monde, on travaille fort, on le mérite.

Merci à vous tous qui m'avez appris à me relever encore et toujours après un échec, à être persévérante et à donner le meilleur de moi-même. Et tant et aussi longtemps que je ferai de la recherche, je le ferai avec mon cœur.



# Introduction

---

## 1. La santé publique et le VIH

### 1.1 Le VIH/SIDA, toujours d'actualité après 30 ans

Près de 30 ans après sa découverte en 1983, le virus du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) est toujours présent et aucun vaccin n'est actuellement disponible comme tant l'avaient pourtant espéré. L'impression parfois donnée d'une épidémie contrôlée et d'une guérison possible grâce aux antirétroviraux (ARV) est malheureusement inexacte. Il est nécessaire de continuer à rectifier la situation et à donner l'heure juste à la population : le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) demeure une infection chronique qui ne se guérit pas et qui est responsable du SIDA, un état de vulnérabilité du corps humain à différentes infections opportunistes s'avérant ultimement fatales. La pandémie du VIH/SIDA est bel et bien réelle, toujours présente après ces 30 dernières années, et pose des problèmes de santé publique majeurs dans pratiquement tous les pays du monde, y compris le Canada.

Par contre, la situation a grandement évolué depuis la découverte du virus. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), 34 millions de personnes vivaient avec le VIH en 2010 dans le monde, comparativement à 29,5 millions en 2002. On comptait 2,7 millions de nouvelles personnes infectées pour cette même année, comparativement à 3,1 millions en

2002. Le nombre de décès reliés au VIH atteignait 1,8 million en 2010, contre 2 millions en 2002 ((1)OMS, 2010). Ces données traduisent une baisse de l'incidence de l'infection au VIH et du nombre de décès, et une hausse de la prévalence. L'augmentation de la longévité rendue possible par la trithérapie explique le fait qu'il y a plus de personnes vivant avec l'infection. Le Canada ne fait pas exception à cette règle. L'Agence de la santé publique estimait à 71 300 le nombre de personnes séropositives en 2008, comparativement à 50 000 à la fin de 2002, avec une incidence comparable (incidence estimée entre 2250-4100 nouvelles infections par année, par rapport à 2100-4000 en 2002) (Agence de la santé publique du Canada, 2011). Cette stabilité de l'incidence s'explique en grande partie par l'offre et l'accessibilité des thérapies antirétrovirales (ARV), qui ont elles aussi progressé et changé de visage ces dernières années. Elles avaient et ont toujours pour but de contrer la propagation du virus dans l'organisme, à différentes étapes de son cycle de prolifération, à défaut de l'éliminer complètement, et d'ainsi augmenter la longévité et améliorer la qualité de vie des personnes infectées.

La prévention demeure le seul moyen de contrer la pandémie, mais il faut tout de même constater son étendue et les défis majeurs qui attendent les chercheurs et professionnels de la santé pour mieux la maîtriser et améliorer la condition des personnes vivant avec l'infection, ce qu'ils réussissent partiellement à faire aujourd'hui.

## **1.2 L'arrivée de la trithérapie à la fin des années 90 : une révolution majeure**

Depuis l'utilisation du premier ARV contre le VIH/SIDA en 1987, soit la zidovudine, mieux connue sous le nom de l'AZT, une multitude d'ARV ont vu le jour. Le traitement du

VIH/SIDA a fait une percée majeure en 1996 avec la découverte de la trithérapie induisant une réduction considérable et durable de la charge virale, biomarqueur de première instance renseignant sur la prolifération du VIH et le développement éventuel du SIDA. Ces traitements, aujourd'hui appelés thérapies antirétrovirales hautement actives (HAART), consistent notamment à combiner au moins trois antirétroviraux, généralement constitués de deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (NRTI) en association avec un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (NNRTI), un inhibiteur de protéase (PI) préférentiellement rehaussé par le ritonavir, un inhibiteur de l'intégrase (INSTI) ou un antagoniste du récepteur CCR5 (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2013). Le recours aux HAART a fortement diminué la mortalité liée au VIH/SIDA et augmenté le nombre de personnes vivant avec l'infection. Ces avancées spectaculaires ont redonné espoir à tous les gens touchés de près ou de loin par le VIH/SIDA.

### **1.3 L'envers de la médaille**

L'apparition des HAART a, certes, contribué à réduire considérablement le nombre de décès attribuables au VIH/SIDA par rapport aux premières années de l'épidémie. Les données sur la longévité des personnes infectées par le VIH étaient très encourageantes. Certains ont même avancé que leur espérance de vie pourrait rejoindre celle des personnes non infectées si la charge virale demeurait faible (avec CD4 supérieurs à  $350/\text{mm}^3$  de sang), qu'elles n'étaient pas co-infectées par le virus de l'hépatite, et qu'elles n'étaient pas des utilisatrices de drogues injectables (UDI) (May et al, 2012). Par contre, la réalité clinique est tout autre, notamment parce que les calculs d'espérance de vie supposent que rien de néfaste

ou d'imprévu n'arrivera dans l'avenir. Il existe une différence substantielle entre l'espérance de vie des personnes infectées, particulièrement des patients infectés à un jeune âge ou hautement expérimentés en termes de traitement antirétroviral, comme la population des 40-50 ans et plus pour laquelle les données épidémiologiques sont d'ailleurs peu nombreuses, et celle des personnes non infectées (Jansson et al, 2012). Les HAART ne semblent donc pas donner réponse à tout en matière de longévité.

Encore faut-il que ces médicaments soient pris correctement pour qu'ils soient efficaces, leur existence ne suffit pas à régler tous les maux. La réussite de la thérapie antirétrovirale repose sur bien des facteurs autres que la médication elle-même. Elle passe en premier lieu par l'adhérence à la thérapie, c'est-à-dire le respect du traitement par le patient. Une adhérence inadéquate peut être associée à différents facteurs liés au patient tels que l'âge, la race, un état dépressif ou une détresse psychologique, le statut socioéconomique, la stigmatisation et la discrimination qu'ils peuvent subir par leurs proches ou au travail ainsi que l'usage d'alcool et de drogues. D'autres facteurs liés à la maladie sont aussi à considérer tels que l'état de santé général ou la présence d'autres infections opportunistes. Des facteurs associés directement au traitement tels que la diminution de l'efficacité avec le temps, les caractéristiques du régime thérapeutique et les restrictions associées, les effets indésirables, la fréquence de prise de médication, le nombre de comprimés à prendre et les conditions d'administration sont souvent complexes. Les facteurs liés au médecin et à l'équipe soignante sont également à considérer tels que l'accès plus difficile aux soins, la mauvaise communication entre patient et professionnel de la santé, la courte durée des consultations, l'assiduité aux rendez-vous et les rendez-vous manqués. L'OMS rapporte en 2003, après

l'arrivée des HAART, qu'aux États-Unis, entre 37 et 83 % des patients VIH ne suivaient pas le schéma thérapeutique qui leur avait été assigné. L'organisation stipule que les conséquences sont entre autres que le patient ne retire pas tous les bénéfices qu'il devrait de sa thérapie, que des complications médicales et sociales sont observées, que la qualité de vie de celui-ci en est diminuée, que les pharmacorésistances sont plus susceptibles de se produire et qu'un gaspillage est observé au niveau de toutes les ressources de la santé publique ((2)OMS, 2003).

Par ailleurs, le contexte actuel de recherche vise aussi à améliorer le bien-être et la qualité de vie des personnes infectées, objectif s'inscrivant d'ailleurs à la stratégie « Zéro nouvelles infections » proposée par l'OMS pour 2011-2015 ((3)OMS, 2011). L'efficacité des ARV est indiscutable, mais ceux-ci demeurent des traitements agressifs occasionnant des effets secondaires importants non négligeables. La tolérance à court terme est bonne, mais il est heureux que la vingtaine d'années qui se sont écoulées depuis la mise en marché des premiers ARV rende maintenant possible leur étude à long terme, ce qui est d'une importance capitale, car les effets néfastes de ces substances sont susceptibles de se faire sentir après plusieurs années d'exposition et sont encore inconnus à ce jour. Dans les faits, les cliniciens ont actuellement de plus en plus de mal à trouver une combinaison de traitements qui convienne aux patients pour éviter l'échec thérapeutique : de nouvelles souches de virus développent une résistance aux médicaments en mutant, ce qui réduit les options de traitements possibles, et l'utilisation à long terme de ce type de traitement endommage les organes des patients en plus d'entraîner des maladies et d'autres problèmes de santé importants (Santé Canada, 2010).

## **2. Pertinence de la thèse**

### **2.1 Un problème majeur de santé publique**

L'évolution rapide des connaissances dans le domaine du VIH est observable et une multitude de données sont produites. Dans ce contexte, l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) a priorisé des objectifs dans la lutte contre le VIH/SIDA incluant le ralentissement de la progression de la maladie et l'amélioration de la qualité de vie, l'atténuation des répercussions sociales et économiques du VIH/SIDA et la contribution aux efforts mondiaux dans le but de réduire la progression du VIH et atténuer les répercussions de la maladie. Cette thèse s'inscrit directement dans ces objectifs. L'étude des effets néfastes à long terme des médicaments et des échecs virologiques est d'une importance capitale en santé publique. Ces problématiques sont influencées par plusieurs facteurs à tous les niveaux du système de santé en passant par l'argent directement injecté dans la recherche, les installations, les ressources humaines, matérielles, les établissements, la gestion du réseau de la santé au niveau fédéral, provincial ou municipal, l'amélioration de la pratique et la santé des patients VIH. Les professionnels de la santé se doivent d'avoir des ressources matérielles, financières, scientifiques sur lesquelles appuyer leur pratique afin de donner les meilleurs soins possible. Tout ne repose pas sur l'assiduité du patient à prendre ses médicaments : sa réussite de thérapie dépend de facteurs beaucoup plus grands que lui et chaque sphère de la santé publique y joue un rôle majeur. Cette thèse veut fournir de nouvelles explications scientifiques, de nouvelles données probantes qui mènent aux

changements des politiques, des décisions, des pratiques cliniques et ultimement de la santé des patients VIH.

De plus, comme la prévention du VIH fait partie d'un des objectifs de l'ASPC, la prophylaxie pré-exposition qui commence à voir le jour dans certains pays, comme le ténofovir aux États-Unis, approuvé par la U.S. Food and Drug Administration (FDA) pour la prophylaxie pré-exposition chez les gens à fort risque de contracter la maladie, rend encore plus pertinent l'étude de ces médicaments à long terme. Il est à prévoir que de nouveaux médicaments seront approuvés et utilisés pour cette pratique dans d'autres pays en attendant un vaccin contre le VIH. Même si le développement des ARV évolue rapidement, il faut être capable de fournir des réponses sur les effets néfastes de ceux-ci le plus rapidement possible, pour suivre les nouveaux moyens de prévention et de gestion du VIH par notre société et ultimement dans d'autres. Un autre objectif de l'ASPC est de prévenir la transmission du virus, et la réussite de la thérapie antirétrovirale s'inscrit également dans cette optique. Une thérapie antirétrovirale réussie abaisse au maximum la charge virale et le degré d'infectiosité s'en voit de beaucoup diminué.

Dans le cadre de la présente thèse, trois situations particulières ont été identifiées : les échecs virologiques suite à la persistance d'une faible charge virale (LLV), la perte de fonction rénale associée au ténofovir (TDF) et l'hyperbilirubinémie associée à l'atazanavir (ATV). Chacune de ces problématiques spécifiques a été examinée.

## **2.2 L'échec virologique et la faible charge virale persistante**

La charge virale constitue un important paramètre clinique dans le management des personnes infectées par le VIH à cause de son association directe avec le développement du SIDA, le décès, la qualité de vie et l'infectiosité du patient. L'objectif ultime est d'amener la charge virale du patient à un niveau indétectable, c'est-à-dire en dessous de 48 copies/mL d'acide ribonucléique (ARN) de VIH, et de l'y maintenir. On se retrouve devant un problème de persistance de LLV lorsque le patient affiche une charge virale demeurant entre 48 et 1000 copies/mL. Dans ce cas, il est essentiel de considérer les faits suivants :

- Pour élaborer une stratégie thérapeutique mieux adaptée à chaque patient, dans le but de maintenir la charge virale à un niveau indétectable, il faut s'intéresser au monitoring de celle-ci et à ce qu'elle représente et signifie cliniquement.
- À ce jour, les cliniciens se retrouvent dans une impasse, car il n'existe toujours pas de recommandations découlant de l'observation d'un sous-groupe de patients dont la charge virale persiste entre 48 et 200 copies/mL sur une longue période, en raison de l'absence d'études en ce sens.
- Le fait de ne pas être en mesure d'atteindre un niveau d'indéfectabilité pourrait augmenter les risques d'échec virologique et la résistance aux médicaments, en plus de réduire les possibilités de traitement par la suite.

## **2.3 La perte de fonction rénale et l'utilisation du ténofovir**

La perte de fonction rénale associée à l'utilisation du TDF fait toujours l'objet d'un débat. Les discordances observées dans la littérature ont été expliquées, entre autres, par le



manque de puissance, la taille insuffisante de l'échantillon, l'étude de populations différentes, la période de suivi trop courte ou l'utilisation de stratégies d'analyse différentes.

Devant ces résultats divergents, il est important de considérer les points suivants :

- Le TDF est l'un des ARV de première ligne les plus utilisés dans les pays industrialisés, et son efficacité est souvent mise en parallèle avec ses effets indésirables sur le rein sans qu'un consensus scientifique n'ait été établi, ce qui laisse le clinicien dans l'incertitude.

- Le TDF est maintenant approuvé pour son utilisation en prophylaxie.

- Peu d'études sur l'effet à long terme du TDF sur la perte rénale sont actuellement disponibles, et les chercheurs auraient tout intérêt à se consacrer à cette question afin que l'on puisse éclaircir le débat.

- Très peu d'études ont été en mesure de quantifier la perte de fonction rénale directement attribuable au TDF après plusieurs années d'utilisation.

## **2.4 L'hyperbilirubinémie et l'utilisation d'atazanavir**

L'hyperbilirubinémie relative à l'ATV est bien connue, mais n'est pas documentée suffisamment. La compréhension de son évolution dans le temps et de ses effets indésirables à long terme permettra aux cliniciens d'améliorer la prise en charge des patients VIH positifs qui développeront cette pathologie suite à la prise d'ATV. Il est tout de même important de souligner les faits suivants :

- À l'heure actuelle, il existe peu d'études quant à l'effet à long terme de l'ATV sur l'hyperbilirubinémie.

- Les déterminants de l'hyperbilirubinémie ne sont pas définis adéquatement.

- Sa signification clinique et son impact à long terme sont très peu étudiés.

### **3. Les objectifs et les questions de recherche de la thèse**

L'objectif général de la présente thèse consistait à s'interroger sur l'impact à long terme d'une LLV persistante sur le risque d'échec virologique subséquent, mais aussi à étudier les problèmes engendrés par certains ARV. Les trois objectifs spécifiques et questions de recherche de la présente thèse sont donc présentés.

#### **3.1 Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante**

- a) Quelle est l'ampleur des échecs virologiques chez les patients qui ont une LLV persistante pendant 6, 9 et 12 mois?
- b) Quelle est l'association entre l'échec virologique et la LLV?
- c) Y a-t-il une différence dans l'incidence des échecs virologiques entre les patients de moins de 40 ans et de plus de 40 ans?

#### **3.2 Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir**

- a) Quelle est l'ampleur de l'atteinte rénale à long terme chez les preneurs de TDF?
- b) Quelle est l'association entre la prise de TDF et la perte de fonction rénale?
- c) Y a-t-il une différence de perte de fonction rénale entre les patients de moins de 40 ans et de plus de 40 ans?

### **3.3 Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir**

- a) Quelle est l'ampleur de l'hyperbilirubinémie chez les preneurs d'ATV?
- b) Quels sont les déterminants de l'hyperbilirubinémie chez ces patients?
- c) Est-ce que l'hyperbilirubinémie diminue, se stabilise ou continue d'augmenter de grade dans le temps?
- d) L'hyperbilirubinémie est-elle associée à des effets cliniques indésirables?

## **4. Organisation de la thèse par article**

Le chapitre 1 expose l'état des connaissances sur l'échec virologique et la persistance d'une LLV, sur la perte de fonction rénale en lien avec l'utilisation de TDF et sur l'hyperbilirubinémie en lien avec l'utilisation d'ATV.

Le chapitre 2 explique la méthodologie utilisée, y compris la description du devis d'étude de cohorte utilisée, ainsi que les stratégies d'analyse employées pour atteindre les trois objectifs susmentionnés.

Le chapitre 3 se compose de la version intégrale des trois articles constituant la présente thèse, soit un article pour chacun des trois objectifs : le premier article traite du premier objectif, soit l'évaluation du risque d'échec virologique chez les patients avec une LLV persistante après plusieurs mois d'ART. Il s'attaque d'emblée à un problème pour lequel aucune recommandation n'a encore été formulée en raison du manque de données probantes. Le deuxième article couvre le deuxième objectif soit l'évaluation de la perte de fonction rénale

à long terme en relation avec l'exposition au TDF chez les patients VIH positifs. Il fait aussi l'analyse des déterminants possibles de la perte de fonction rénale et pour la première fois dans la littérature, le long suivi des patients permet d'alimenter le débat sur cette perte et le TDF. Le troisième et dernier article aborde le troisième objectif, soit l'évaluation de l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'ATV chez les patients VIH positifs. Pour la première fois dans la littérature, un long suivi des patients permet de bien décrire l'hyperbilirubinémie associée à l'ATV et de voir d'autres déterminants de celle-ci.

Le chapitre 4 conclut cette thèse par une discussion approfondie des résultats des trois articles, des forces et des faiblesses des trois études, des biais possibles et des difficultés rencontrées.

# Chapitre 1: État des connaissances

---

Ce chapitre dresse un portrait de l'état des connaissances concernant les trois objectifs principaux de la présente thèse. En premier lieu, il fournit de l'information sur le paramètre clinique de première importance qu'est la charge virale, sur l'échec virologique et sur la façon de le définir ainsi que sur la problématique de la LLV persistante. Les limites des études sur ce dernier point sont également discutées. En deuxième lieu, il fournit de l'information sur le TDF et son association à la perte de fonction rénale ainsi que sur d'autres facteurs de risques associés à cette perte, sur la façon de mesurer la perte de fonction rénale et sur les limites des études publiées à ce sujet. En dernier lieu, ce chapitre fournit de l'information sur l'ATV et l'hyperbilirubinémie et sur la façon de la mesurer pour en déterminer les différents stades de gravité.

## **1. Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante**

### **1.1 Charge virale, indétectabilité et échec virologique**

La charge virale est une composante étroitement liée à la prise en charge clinique des patients VIH, étant donné sa relation directe avec le décès (développement plus rapide du SIDA), la morbidité, la qualité de vie et l'infectiosité du patient (probabilité de transmission du VIH plus élevée) (Atia et al, 2009; Call et al, 2000; Korenromp et al, 2009; Palella et al, 1998).

L'évolution vers le SIDA et le décès étant directement liés à l'augmentation de la charge virale, celle-ci constitue une variable prédictive de l'évolution clinique de la maladie et renseigne sur l'efficacité de l'ART utilisée. Le but des traitements ARV est de restaurer et de préserver la fonction immunologique du patient, mais aussi de supprimer au maximum la charge virale plasmatique du VIH, jusqu'à la rendre indétectable par les tests les plus récents (généralement <20 jusqu'à <75 copies/mL d'ARN viral tout dépendant du test utilisé) (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, consulté le 19 février 2013). Pour un patient naïf (n'ayant pas été exposé aux ARV préalablement), la réduction et l'indétectabilité de la charge virale se produiraient, dans la majorité des cas, entre les 12 et 24 premières semaines de thérapie.

La réussite de la réduction de la charge virale jusqu'à l'indétectabilité dépend de plusieurs facteurs : les facteurs liés à la personne (dépression, détresse psychologique, statut socioéconomique), aux traitements ARV (caractéristiques du régime thérapeutique et restrictions associées, effets indésirables, fréquence de la prise de médication, nombre de comprimés à prendre, conditions d'administration), à la maladie (les patients confrontés à d'autres infections opportunistes) et à la relation entre le patient et l'équipe soignante (Paterson et al, 2000). Il arrive dans certains cas que cette réduction de la charge virale échoue et le patient se retrouve en échec virologique.

Tel que défini par divers groupes d'experts, l'échec virologique quant à lui correspond à une charge virale supérieure à 1000 copies/mL à 16 semaines de traitement, à une charge virale supérieure à 400 copies/mL après 24 semaines de traitement ou à une charge virale détectable (supérieure à 48 copies/mL, tout dépendant du test également) après 48 semaines de traitement. Pour considérer l'échec virologique à 24 ou à 48 semaines, un deuxième test doit

venir confirmer les soupçons (Baril et al, 2010). Différents facteurs ont également été associés à l'échec virologique, tels que la susceptibilité génétique individuelle (Le Clerc et al, 2009; Yu et al, 2009), la race (le fait d'être Noir ou de faire partie d'une minorité visible augmente les risques d'échec virologique) (Mugavero et al, 2009; Pence et al, 2008; Schackman et al, 2007), l'usage de drogue (p. ex., ecstasy) (Gorbach et al, 2008; Sethi et Gange, 2009), l'usage de drogues associées aux maladies d'ordre psychologique (Pence et al, 2007), la présence de tuberculose, une concentration plasmatique sous-thérapeutique de médicaments, la présence de symptômes cliniques généraux, un poids plus faible qu'au début du traitement (Ahoua et al, 2009), le nombre d'interruptions du traitement, la durée de l'indéteçtabilité chez les patients naïfs et le monitoring de la charge virale (assiduité aux rendez-vous, rendez-vous manqués, accès aux soins) (Bansi et al, 2008; Bongiovanni et al, 2006; Mata et al, 2005).

La liste des facteurs de risque reliés à la réussite de l'indéteçtabilité et par le fait même à l'échec virologique est établie depuis plusieurs années et est longue, ce qui complexifie d'autant le management clinique des patients.

## **1.2 La faible charge virale persistante (LLV)**

L'indéteçtabilité est le but ultime de la ART et l'échec virologique tel que défini précédemment ne veut pas être rencontré. Il est important de différencier les "blips" de la LLV. Le "blip" se définit comme un seul épisode non reconfirmé de charge virale déteçtable après avoir été indéteçtable, suivi d'un retour à l'indéteçtabilité. Le rebond virologique est également différent de la LLV, celui-ci consistant en des charges virales déteçtables confirmées, mais épisodiques, avec des retours à l'indéteçtabilité (par exemple, des charges virales successives de <50, 150, 75, <50 et ainsi de suite). Dans cette thèse, il n'est pas

question des "blips", ni des rebonds, mais bien de la LLV. Celle-ci se distingue des autres phénomènes virologiques par une charge virale détectable  $<1000$  copies/mL confirmée et continue sur une période de temps. Celle-ci peut s'expliquer aussi par les facteurs de risque énumérés précédemment: par un manque d'adhérence, une intolérance aux médicaments, des problèmes au niveau de la pharmacocinétique (interaction médicamenteuse par exemple) ou la suspicion d'une résistance au médicament. La persistance entre 200 et 1000 copies/mL est prédictive de l'échec virologique (contrairement aux "blips" par exemple): cette zone a été associée à une augmentation de la charge virale au fil du temps et à l'accumulation de résistances aux ARV (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, consulté le 19 février 2013). Par contre, la zone entre l'indétectabilité et 200 copies/mL n'a atteint aucun consensus (Cohen, 2009).

### **1.3 Limites des études**

La charge virale et l'échec virologique ont été brillamment maîtrisés par l'accès à des médicaments plus résistants au manque d'adhésion et mieux tolérés. Malgré tous les avantages de ces nouveaux régimes thérapeutiques, il reste des patients dont la charge virale est faible et persistante. La question qui n'a toujours pas été entièrement résolue est celle de savoir si ces patients ont plus de chances de développer un échec virologique dans l'avenir. La plupart des experts s'entendent sur le fait que les "blips"  $<400$  copies/mL sont communs, transitoires et ne sont pas prédictifs de l'échec virologique. En ce qui a trait à la LLV, les plus récentes directives du DHHS ont établi qu'il n'y avait pas d'évidences scientifiques définitives montrant que la LLV  $<200$  copies/mL pouvait augmenter les risques d'échec virologique. Le management le plus optimal et les conséquences cliniques pour le patient restent controversés,



spécialement pour les patients entre 50 et 200 copies/mL. Le DHHS a défini l'échec virologique comme possible à  $>200$ copies/mL, mais a tout de même admis l'absence de consensus sur les directives cliniques à suivre pour les patients avec une LLV  $<200$  copies/mL (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, consulté le 19 février 2013).

## **2. Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir**

### **2.1 Le ténofovir et la perte de fonction rénale**

La littérature fait état d'une association entre l'exposition au TDF, un ARV de la famille des NRTI parmi les plus efficaces et les plus prescrits dans les pays industrialisés, et les troubles rénaux chroniques (Kalayjian et al, 2012; Mocroft et al, 2010; Post et al, 2009; Scherzer et al, 2012; Tordato et al, 2011). Le TDF est largement utilisé pour son efficacité et sa tolérance chez les patients tant naïfs (première thérapie) qu'expérimentés (patients ayant déjà utilisé des ARV), mais il reste que sa structure, similaire à celles de l'adefovir et du cidofovir, des NRTI néphrotoxiques, le rend lui aussi susceptible d'engendrer une néphrotoxicité. Le mécanisme spécifique par lequel le TDF peut engendrer des problèmes rénaux reste inconnu, mais quelques possibilités ont été évoquées. Le TDF est soupçonné de s'attaquer aux tubules proximaux ou au glomérule du rein étant donné qu'il est éliminé par filtration glomérulaire et sécrétion active au niveau du tubule proximal. Les mécanismes d'actions suggérés sont 1) que le TDF crée une toxicité mitochondriale (crée un dysfonctionnement ou une perturbation des activités de l'acide désoxyribonucléique (ADN)

mitochondrial) et une perturbation du système de transport des protéines et 2) qu'une affection à long terme perturbe la clairance de la créatinine. Ultiment, des dysfonctionnements tubulopathiques apparaissent et donnent lieu, entre autres, à des maladies rénales chroniques (Ryom et al, 2012).

La prévalence de l'atteinte rénale sévère chez les gens atteints du VIH a été décrite chez les Africains comme étant de 1,3 % ( $<30\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ), mais elle est plus fréquente, soit 13,1 %, pour les atteintes modérées (entre  $30\text{-}60\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ) (Franey et al, 2009). En France, une prévalence de perte de fonction rénale (définie à  $<90\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ) de 39 % a été observée (Deti et al, 2010). En Italie, une perte de filtration glomérulaire de plus de 20 % a été observée chez les patients VIH positifs, se traduisant par un taux d'incidence de 6,8 par 100 personnes-années (Tordato et al, 2011). En Europe (cohorte EuroSIDA), un taux d'incidence de 1,05 cas par 100 personnes-années de perte de fonction rénale (plus de 25 % de perte par rapport à la fonction rénale de départ ou  $<60\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ) a été observé (Mocroft et al, 2010). Toutes ces études (cohortes, transversales) ont montré que la prise de TDF était un facteur déterminant de la perte de fonction rénale.

La relation entre les troubles rénaux et la prise de TDF a été étudiée maintes fois, ce qui a permis la publication d'une méta-analyse incluant des études de cohortes et des essais cliniques randomisés sur le sujet afin de quantifier la perte de fonction rénale (Cooper et al, 2010). Ces résultats montrent une association positive statistiquement significative, quoique modeste, entre la prise de ténofovir et la diminution de la fonction rénale, appuyée tant par les cohortes que par les essais cliniques randomisés. La différence des moyennes de pertes du débit de la fonction glomérulaire sur un suivi moyen de 48 semaines en  $\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$  des

patients exposés au TDF et ceux non exposés a été évaluée à  $-3.90 \text{ mL/min/1,73m}^2$  (95 % IC : 2,13-5,70 mL/min).

Parmi les autres facteurs de risque associés à une diminution de la fonction rénale les plus souvent évoqués, mis à part le VIH en soi et la prise de TDF on retrouve la prise d'indinavir ou d'ATV (IP) (Mocroft 2010), l'âge élevé, le sexe féminin, la présence d'autres comorbidités (diabète et hypertension, précisément), la charge virale élevée et le faible niveau de départ de lymphocytes CD4, ainsi que l'utilisation de didanosine et d'autres IP avec le TDF (Horberg et al, 2010; Tordato et al, 2011). La présence d'une co-infection de type hépatite C et l'usage de cocaïne a également été soulevée (Garg et al, 2011). Un faible poids, la filtration glomérulaire de départ ou la prise de drogues néphrotoxiques constituent aussi des facteurs associés à une perte de 25 % de filtration glomérulaire (Chaisiri et al, 2010).

## **2.2 Mesure de la perte de fonction rénale : le débit de filtration glomérulaire**

L'évaluation de la fonction rénale s'effectue habituellement au moyen du débit de filtration glomérulaire. Ce dernier permet de déceler une insuffisance rénale susceptible, dans ce cas-ci, d'avoir été engendrée par un ARV. L'estimation du débit de filtration glomérulaire (eGFR) se fait à l'aide d'une des formules suivantes basée sur la clairance de la créatinine plasmatique (en  $\text{mL/min/1,73 m}^2$ ) : la Cockcroft-Gault (CG) (Cockcroft et al, 1976), la Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) (Levey et al, 1999) et, la plus récente Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) ((1)Levey et al, 2009) (pour les formules, consulter l'Annexe 1). La CKD-EPI a d'ailleurs été recommandée récemment pour

l'usage clinique de routine chez les patients infectés par le VIH, au détriment de la MDRD, qui surestimerait la sévérité des troubles rénaux chez ces patients (Ibrahim et al, 2012).

Différents niveaux de défaillance rénale découlant de l'eGFR et adaptés de la National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease (Levey et al, 2003) servent de guide pour évaluer l'atteinte rénale et sont détaillés à l'Annexe 2. Les complications de la perte de fonction rénale incluent l'hypertension, l'anémie, la malnutrition, les maladies osseuses, les neuropathies et la perte progressive de la qualité de vie ((2)Levey et al, 2009).

### **2.3 Limites des études**

Malgré que l'on dispose de ces données sur la toxicité rénale associée au TDF, la compréhension de son impact, particulièrement à long terme, demeure limitée. La période de suivi moyenne des études existantes est relativement courte (48 semaines en moyenne) (Cooper et al, 2010). De même, l'ensemble des études existantes n'incluent souvent que de jeunes patients (intervalle moyen entre 34 et 45 ans), et les données sont donc insuffisantes pour déterminer l'ampleur de cette atteinte chez les plus de 40 ans. Enfin, la validité externe de la grande majorité des données existantes des essais cliniques randomisés pose problème, car l'ensemble des études n'incluent souvent que des patients relativement jeunes et en santé, donc moins susceptibles de subir une perte de fonction rénale.

### **3. Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir**

#### **3.1 L'atazanavir et l'hyperbilirubinémie**

La durée de vie d'un globule rouge est d'environ 120 jours. Au terme de cette période, il est normalement détruit par différents phagocytes, ce qui entraîne la libération de bilirubine non conjuguée. Habituellement, au niveau du foie, des enzymes transforment la bilirubine en sa forme conjuguée, soluble et filtrable par le rein, mais certaines substances toxiques ont la capacité de bloquer l'activité de diverses enzymes hépatiques, dont l'enzyme UDP-glucuronosyltransférase (UGT), responsable de la conjugaison de la bilirubine (Zhang et al, 2005). Le cas échéant, le taux de bilirubine sanguin augmente, et c'est l'hyperbilirubinémie de grade 1 à 4, en fonction de la gravité. La prise d'ATV, un ARV homologué par la FDA en 2003, a été associée à une hausse du taux de bilirubine sanguin, et ce, dès les premiers essais cliniques randomisés, à cause de sa capacité à bloquer l'enzyme UGT et a été reconfirmée par la suite (Barrios et al, 2004; (1)Elion et al, 2008; (2) Elion et al, 2008; Josephson et al, 2010) Smith et al, 2008; Squires et al, 2010; Stebbing et al, 2006). L'observation d'hyperbilirubinémie de grade 3 ou plus, qui peut être considérée comme cliniquement problématique en raison de l'ictère sclérotique qu'elle occasionne (l'adhérence au traitement pouvant diminuer), est fréquente chez les patients traités avec l'ATV : entre 20 et 47 % des patients la développent dès les premières semaines de traitement (Molina et al, 2008; Torti et al, 2009).

La littérature a identifié plusieurs facteurs de risque possibles au développement de l'hyperbilirubinémie, dont le sexe (être un homme augmente le risque), un niveau antérieur élevé de bilirubine (Torti et al, 2009) et un niveau antérieur bas de CD4 (Park et al, 2010). L'effet de différentes combinaisons d'antirétroviraux est de plus en plus documenté : lorsqu'associé au ritonavir, l'ATV augmente davantage les risques d'hyperbilirubinémie de grade 4 que lorsqu'il est utilisé seul ((1) Rodriguez-Novoa et al, 2008; Rubio et al, 2010; Squires et al, 2010). Il pourrait également avoir une interaction bénéfique avec l'efavirenz (Kummer et al, 2007) et une interaction néfaste avec le ribavirin, un antiviral pour l'hépatite C (hyperbilirubinémie de 9 à 45 % après le début du traitement au ribavirin chez les preneurs d'ATV) ((2) Rodriguez-Novoa et al, 2008). De plus, la coadministration d'un ARV de la famille des NNRTI a aussi été associée négativement à l'hyperbilirubinémie (Torti et al, 2009).

Par ailleurs, l'épidémiologie génétique a montré que la réponse au traitement peut être différente selon les génotypes de chacun, c'est-à-dire de la présence de différents gènes ou allèles sur un même gène impliqué dans le métabolisme du médicament. Les différents polymorphismes des gènes « multi drug resistance » et de l'enzyme UGT-1A1 peuvent engendrer une résistance au traitement (Barrios et al, 2004; Lankisch et al, 2009; Rodriguez-Novoa et al, 2006; Rodriguez-Novoa et al, 2007). Les autres déterminants possibles de l'hyperbilirubinémie comme l'âge, le statut socioéconomique, les comorbidités incluant les hépatites, les niveaux d'enzymes du foie, la charge virale de départ ainsi que les habitudes de vie (alcool, drogues et tabagisme) restent à explorer.

## **3.2 Mesure de l'hyperbilirubinémie : concentration de bilirubine**

### **totale sérique**

L'atazanavir possède donc cette capacité de provoquer l'hyperbilirubinémie, en bloquant l'enzyme UGT et en empêchant ainsi la conjugaison de la bilirubine, et ce, dès les toutes premières semaines de traitement. L'altération de cette fonction enzymatique du foie entraîne une atteinte physiologique qui se traduit par l'hyperbilirubinémie, se divisant elle-même en quatre stades de gravité dont seuls les grades 3 et 4 sont d'intérêt clinique (pour la classification des grades d'hyperbilirubinémie, consulter l'Annexe 3).

## **3.3 Limites des études**

Une étude récente a montré que l'hyperbilirubinémie n'avait pas d'impact négatif clinique, et qu'aucune différence de qualité de vie, ni d'adhérence n'était observée entre les patients qui ont développé la maladie et ceux qui ne l'ont pas développée (McDonald et al, 2012). Il s'agit d'une des seules études d'observations disponibles avec un groupe de comparaison, et la durée de suivi des patients n'est pas considérable. Les études le plus souvent effectuées sont surtout des essais cliniques randomisés et des essais croisés. Les groupes de comparaison sont parfois utilisés pour comparer l'efficacité ou l'équivalence de traitements, mais ils sont souvent absents. En matière d'épidémiologie clinique, l'essai clinique randomisé demeure le meilleur choix pour valider l'efficacité d'un médicament. Toutefois, ce devis ne permet pas de suivre les patients sur de longues périodes et l'effet à long terme de l'hyperbilirubinémie de grade élevé reste inconnu.

## Chapitre 2: Méthodes

---

Ce chapitre dresse tout d'abord l'historique de la cohorte de la Clinique médicale du Quartier latin, située au centre-ville de Montréal, qui a été à la base des trois articles constituant la présente thèse. Il fournit une description détaillée de sa constitution et de la façon dont les données ont été recueillies pour répondre aux objectifs de recherche. Les stratégies d'analyse y sont résumées en fonction des objectifs de chacun des articles.

### **1. Devis de l'étude : la cohorte de la Clinique médicale du Quartier latin**

Dans le but d'atteindre les objectifs de recherche et répondre aux questions soulevées dans le cadre de la présente thèse, la cohorte de patients VIH positifs de la Clinique médicale du Quartier latin (CMQL) a été utilisée. La CMQL est une clinique de médecine familiale composée à l'heure actuelle de 19 médecins spécialistes et elle est spécialisée également dans le traitement des patients VIH. À elle seule, la Clinique suit entre 25 et 30 % des patients VIH résidant à Montréal et ses environs. Trois établissements semblables sont présents dans la ville de Montréal et font le suivi de patients VIH en clinique, incluant la CMQL. D'autres patients VIH sont également suivis aux Centres Hospitaliers de l'Université de Montréal et Centre Universitaire de Santé McGill. Les centres hospitaliers diffèrent de par leur clientèle VIH,



ceux-ci suivant des patients qui ont été hospitalisés d'abord avec une plus grande proportion de femmes et de personnes venant de pays endémiques. La clientèle VIH de la CMQL quant à elle se compose majoritairement d'hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (HARSAH).

La cohorte de la CMQL est une cohorte ouverte ayant débuté le 1<sup>er</sup> juillet 1997. La raison première de la mise en place de cette cohorte était de créer un support au centre de recherche de la CMQL pour recueillir des données cliniques sur les patients et identifier ceux pouvant se qualifier pour certains essais cliniques. Une autre raison de l'élaboration de la cohorte était que ces données permettaient de suivre de façon efficace l'évolution clinique des patients VIH pour faciliter leur prise en charge. Les participants VIH/SIDA positifs ont été recrutés depuis ce temps et le sont toujours aujourd'hui par les médecins traitants de la Clinique, suite à un diagnostic de VIH. Les participants signent tous un formulaire de consentement éclairé à leur entrée dans la cohorte (annexe 4). Ce consentement n'a pas été créé spécialement pour les trois projets spécifiques de cette thèse, mais pour donner un consentement pour l'accès aux données de leur dossier pour des projets de recherche passés, en cours ou à venir. La participation s'élève à 100 % : tous les patients VIH/SIDA positifs de la Clinique ont consenti à faire partie de la cohorte. Les patients VIH sont vus sur une base régulière, soit environ tous les 3 mois. Des analyses de sang et d'urine sont réalisées systématiquement à chaque visite et ce depuis 1997, et les résultats biochimiques sont accessibles concernant la charge virale, les CD4, la bilirubine, la créatinine et les enzymes hépatiques (ALT et AST). Des données concernant les facteurs individuels et les habitudes de vie des patients sont également accessibles, soit l'âge, le sexe, le pays d'origine, l'année du

diagnostic du VIH, le mode d'infection le plus probable, la consommation de drogues injectables, la consommation d'autres drogues ou d'alcool et le tabagisme. Tout un ensemble d'autres variables sont aussi accessibles, notamment l'historique de traitement antirétroviral, soit tout ARV ou combinaison d'ARV prescrit ou modifié durant les années.

## **2. Complétion de la base de données**

### **2.1 Les données manquantes**

Cette cohorte a évolué et a été modifiée avec le temps : toutes les données biochimiques faites de façon systématique et l'historique de traitement aux ARV sont disponibles depuis le début en 1997. Cependant, plusieurs variables ont été créées ou complétées au fil du temps pour différents projets. Étant donné que l'objectif premier de la cohorte n'était pas de faire des projets de recherche épidémiologiques, beaucoup de données étaient manquantes, voire absentes, concernant les facteurs individuels, les données sociodémographiques, les habitudes de vie, les comorbidités, et plusieurs autres variables nécessaires à l'élaboration des projets de cette thèse. La base de données a donc été complétée spécialement pour les besoins de cette thèse.

### **2.2 Logistique de recouvrement des données manquantes**

La stratégie utilisée pour aller chercher l'information manquante ou absente s'est réalisée en différentes étapes. La première étape a été de faire trois revues de littérature, une pour chacun des projets. Tous les facteurs décelés dans la littérature précédemment et ceux soupçonnés de jouer un rôle déterminant dans l'apparition soit d'une toxicité rénale ou

d'hyperbilirubinémie ou de l'échec virologique qu'ils soient individuels, environnementaux ou sociodémographiques ont été identifiés dans le but de construire les cadres conceptuels des projets, planifier les stratégies d'analyse, et surtout pour savoir quelles informations devaient être présentes dans la base de données pour la réalisation des projets. Deux problématiques se sont présentées : soit une variable était présente, mais non complète (présence de données manquantes), soit elle était absente complètement de la base de données. La stratégie utilisée a été de retrouver ces données rétrospectivement par le biais d'un questionnaire chez les patients toujours actifs (vus à la clinique à ce moment). Celui-ci a été utilisé par le médecin pour questionner ses patients. Un questionnaire électronique a été construit en collaboration avec un ingénieur informatique, celui-ci contenant toutes les variables nécessaires aux trois projets, dans le but qu'il soit utilisé et rempli par les médecins lors de la prochaine visite de leurs patients. Étant donné le manque de temps en clinique des médecins et la réticence à le remplir de façon électronique, la version électronique a été abandonnée pour une version papier qui a également dû être écourtée pour des raisons de logistique. La version originale du questionnaire a évolué en cours de route. Au même moment où ce questionnaire était créé et mis sur pied, un nouveau projet venait de voir le jour : plusieurs centres et cliniques faisant du suivi de patients VIH à Montréal voulaient réunir leurs bases de données pour ne former qu'une seule cohorte montréalaise. Le groupe de chercheurs responsable de ce projet avait également leur questionnaire pré-établi avec pour but de retrouver sensiblement les mêmes données. Le questionnaire a dû être complètement revu et adapté avec celui de l'autre groupe de chercheurs pour ne faire faire qu'une seule cueillette de données par le médecin. Dans ce questionnaire, plusieurs variables n'étaient pas mesurées de la même façon et certaines étaient absentes, une nouvelle version du questionnaire a alors été créée (annexe 5) spécialement pour

répondre aux trois objectifs principaux de la présente thèse et la fusion de la cohorte. Pour gagner du temps et limiter les questions au patient durant le rendez-vous, une première vérification des dossiers patients était faite pour retrouver les données manquantes recherchées qui se trouvaient souvent dans les dossiers, mais non dans la base de données. Les données non retracées au dossier étaient ciblées pour le médecin pour que celui-ci puisse compléter le questionnaire de façon rapide et efficace. En ce qui concerne les patients inactifs à la clinique, certaines variables n'ont jamais pu être retrouvées telles qu'elles auraient été souhaitées, malgré la mise en place rigoureuse de la collecte de données pour mettre à jour les données patients. En effet, il était impossible d'obtenir certaines données manquantes pour les patients inactifs puisqu'ils n'étaient pas présents pour compléter leurs données ou encore, car leurs dossiers avaient été en grande partie déportés dans un entrepôt. À la CMQL, 5 médecins font le suivi de patient VIH (plus de 200 patients chacun) et 4 médecins sur 5 ont accepté de participer à la complétion des données. Ceci a donc occasionné des données non complétées chez certains patients. Par ailleurs, la question du statut socioéconomique et de la scolarité ont été le sujet de multiples discussions. Certaines questions se posaient mal dans un contexte clinique et certains médecins n'étaient pas à l'aise de poser ce genre de questions. Les comorbidités entre autres ont été problématiques, voire impossibles à retrouver de façon systématique. Les données manquantes de comorbidités concernant l'hypertension et le diabète ont été retrouvées directement dans les dossiers par une revue de dossiers pour les besoins d'un projet en particulier, celui sur l'association entre le ténofovir et la perte de fonction rénale à long terme. La création de la base de données pour la thèse a également représenté un défi. Les données originales étaient regroupées dans ACCESS avec de multiples ramifications qui ont rendu complexe l'extraction des données par l'entremise de plusieurs fichiers « Excel »

qui ont par la suite été fusionnés. La base de données finale a été validée avec environ 2 % des patients pour s'assurer de l'exactitude de la base de données finale qui a été analysée dans le logiciel d'analyse statistique (Stata).

La complétion et la gestion de la base de données ont été réalisées avec la collaboration étroite de l'étudiante dans un délai d'environ 3 ans. Même si à l'arrivée de l'étudiante la cohorte était en place depuis plusieurs années, elle n'était pas conçue pour répondre aux objectifs de cette recherche. Suite au passage de l'étudiante à la CMQL, celle-ci a développé une importante expertise sur la cohorte basée en clinique, sujet peu discuté dans la littérature. L'étudiante a contribué à la collecte des données en créant le questionnaire et en assistant aux différentes étapes de la collecte. L'étudiante a elle-même revu près de 1100 dossiers de la clinique pour collecter les données sur l'hypertension et le diabète. Elle a eu une influence importante sur la mise en place de la base de données dans un contexte de recherche épidémiologique. Encore aujourd'hui, des données sont recueillies à la clinique sur la base de ces stratégies et la base de données ne cesse d'être améliorée suite au passage de l'étudiante.

L'approbation éthique de la recherche présentée dans la présente thèse a été obtenue par le Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine.

### **3. Stratégies d'analyse par objectif**

#### **3.1 Cadres conceptuels**

Suite à l'établissement de l'état des connaissances, toutes les variables pouvant jouer un rôle déterminant dans l'apparition soit de l'échec virologique, d'une perte de fonction rénale ou d'hyperbilirubinémie, qu'ils soient individuels, environnementaux ou

sociodémographiques ont été recensées rigoureusement dans la littérature. Trois cadres conceptuels, un pour chacun des objectifs principaux, ont été construits directement en fonction de ce qui a été identifié. Ces cadres conceptuels sont présentés en annexe (annexe 6) et constituent le rationnel derrière toute la méthodologie. Ces cadres ont directement servi à répondre spécifiquement aux trois objectifs principaux. Les relations entre les différentes variables (exposition, issue, variables de confusion et d'interaction) sont explicitement décrites

### **3.2 Objectif 1 : Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante**

#### Questions de recherche

a) Quelle est l'ampleur des échecs virologiques chez les patients qui ont une LLV persistante pendant 6, 9 et 12 mois?

Des courbes de Kaplan-Meier ont été utilisées pour comparer les courbes de survie des patients indétectables (<50 copies/mL d'ARN de VIH) et des patients maintenant une charge virale faiblement détectable (entre 50 et 199 copies/mL, 200 et 499 copies/mL et 500 et 1000 copies/mL). Le test du « log rank » a permis de déterminer s'il existait une différence significative entre ces quatre courbes. Un modèle de régression de COX a également été établi pour étudier l'association entre les échecs virologiques et la LLV persistante, y compris un ajustement pour les variables de confusion identifiées par la littérature. Cette procédure a permis de déterminer si l'échec virologique était associé à une LLV persistante.

b) Y a-t-il une différence dans l'incidence des échecs virologiques entre les patients de moins de 40 ans et de plus de 40 ans?

Le modèle de régression de COX a été élaboré afin de déterminer s'il existe un effet d'interaction de la variable « âge » (soit plus ou moins 40 ans et plus ou moins 50 ans) sur la relation étudiée.

### **3.3 Objectif 2 : Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir**

#### Questions de recherche

a) Quelle est l'ampleur de l'atteinte rénale à long terme chez les preneurs de TDF?

Des courbes de Kaplan-Meier ont été utilisées pour comparer les courbes de survie des exposés et des non-exposés au TDF, calculées selon l'eGFR établi par la CKD-EPI. Le test du « log rank » a permis de déterminer s'il existait une différence significative entre ces deux courbes. L'atteinte rénale était définie par une eGFR inférieure à 90 mL/min/1,73m<sup>2</sup>.

b) Quelle est l'association entre la prise de TDF et la perte de fonction rénale?

Un modèle de régression de COX a été établi pour quantifier l'association entre la prise de TDF et la perte de fonction rénale. Un contrôle de la confusion très conservateur a été appliqué pour chacune des variables identifiées dans la littérature. Un modèle de régression logistique d'équations d'estimation généralisées (GEE) a également été effectué, comme procédé d'analyse secondaire, pour prendre en compte les événements répétés possibles chez un même patient. Un modèle de régression linéaire pour quantifier la perte de fonction rénale

directement associée au TDF a été élaboré. Les interactions entre l'âge et l'utilisation d'inhibiteurs de protéases, jugées sur la base du cadre conceptuel, ont également été considérées lors des analyses.

c) Y a-t-il une différence de perte de fonction rénale entre les patients de moins de 40 ans et de plus de 40 ans?

Le modèle de régression de COX final réalisé précédemment a permis de déterminer si l'âge constituait une variable d'interaction, notamment par une comparaison des patients de moins de 40 ans à ceux de 40 ans et plus.

### **3.4 Objectif 3 : Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir**

#### Questions de recherche

a) Quelle est l'ampleur de l'hyperbilirubinémie chez les preneurs d'ATV?

Des courbes de Kaplan-Meier ont été utilisées pour comparer l'incidence cumulative de l'hyperbilirubinémie des exposés et des non-exposés à l'ATV. L'hyperbilirubinémie a été dichotomisée par rapport à la valeur de la bilirubine sérique, en fonction de ce que l'on trouve dans la littérature, soit en considérant les grades 3 et 4. Le test du « log-rank » a permis de déterminer si une différence statistiquement significative existait quant à l'incidence cumulative de l'hyperbilirubinémie entre les deux courbes (exposés et non-exposés).

b) Quels sont les déterminants de l'hyperbilirubinémie chez ces patients?



Un modèle de régression de COX a été établi, tel que décrit pour l'objectif 2 au point 3.2 b) de la section Méthodes, en ayant pour variable dépendante l'hyperbilirubinémie de grades 3 ou 4. Différents déterminants basés sur l'état des connaissances ont été vérifiés quant à leur rôle dans le développement de l'hyperbilirubinémie.

c) Est-ce que l'hyperbilirubinémie diminue, se stabilise ou continue d'augmenter de grade dans le temps?

Une analyse de l'évolution des patients du groupe avec hyperbilirubinémie a été effectuée pour établir la proportion de patients évoluant vers des grades plus élevés. Pour ce faire, des courbes Kaplan-Meier montrant l'incidence de progression de ces patients vers des grades supérieurs ont été réalisées. Des courbes Kaplan-Meier ont également été élaborées pour montrer la proportion de patients régressant vers des stades moins sévères, en fonction de la prise d'ATV.

d) L'hyperbilirubinémie est-elle associée à des effets cliniques indésirables?

Un score composite a été créé pour représenter les effets indésirables pouvant être observés en considérant la charge virale, les CD4 et les enzymes hépatiques. Un modèle de GEE a été effectué pour vérifier l'association entre l'hyperbilirubinémie et le score composite d'effets indésirables, en contrôlant les facteurs de confusion identifiés dans la littérature.

### **3.5 Processus de sélection des patients pour chaque objectif**

La cohorte de la CMQL comportait 2416 patients en date d'octobre 2012 (dernière mise à jour), mais pour chaque projet, seul un sous-groupe de la cohorte était sélectionné pour répondre spécifiquement à chacun des objectifs. Les raisons de ces exclusions sont diverses et diffèrent dépendamment de l'objectif. De façon générale, les patients dont l'information était manquante soit pour établir une exposition ou une issue et les patients ne prenant aucun ARV étaient exclus. Un tableau récapitulatif du processus de sélection des patients incluant les raisons d'exclusion pour chacun des projets est présenté en annexe 7.

Les trois articles présentés au chapitre suivant fournissent aussi de l'information détaillée sur les sous-groupes de patients qui ont été sélectionnés et utilisés pour chaque projet. Les variables à l'étude utilisées pour répondre à chaque question de recherche ont été choisies soigneusement en fonction des cadres conceptuels. L'annexe 7 montre également, projet par projet, la façon dont ces variables ont été utilisées et modélisées. Les articles du prochain chapitre expliquent également plus en détail les stratégies et analyses énumérées plus haut. Il faut également souligner que le protocole établi avant la thèse et établissant les objectifs, les questions de recherche et la méthodologie susmentionnés a été approuvé par le Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine en mai 2011.

## Chapitre 3 : Articles

---

### **1. Article 1 : Échec virologique à la suite d'une faible charge virale persistante**

**Titre :** Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: Findings from 12 years of observation

**Auteurs :** Claudie Laprise, Alexandra de Pokomandy, Jean-Guy Baril, Serge Dufresne, Helen Trottier.

**État actuel de l'article :** Cet article a été publié en ligne le 14 août 2013 dans la revue *Clinical Infectious Diseases*.

**Contribution de l'étudiante :** L'étudiante a participé au design de l'étude et à la collecte de données, a fait toutes les analyses et a participé à la rédaction du manuscrit sous la supervision d'Helen Trottier et avec l'étroite collaboration d'Alexandra de Pokomandy.

**Contribution des coauteurs :** Alexandra de Pokomandy et Helen Trottier ont participé au design, aux analyses et à la rédaction du manuscrit. Jean-Guy Baril et Serge Dufresne ont participé au design de l'étude, à sa conduite et à la collecte de données ainsi qu'à la rédaction du manuscrit.

**Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients:  
Findings from 12 years of observation**

**Claudie Laprise, MSc, Alexandra de Pokomandy, MDCM MSc, Jean-Guy Baril, MD, Serge Dufresne, MD, Helen Trottier, PhD**

**Corresponding author: Helen Trottier**

**Word count (text): 2997**

**Word count (abstract): 250**

**Figure/table count: 2 figures, 3 tables**

**Reference count: 15**

**Abstract**

**Background:** The current goal of antiretroviral therapies (ART) is to maintain HIV virologic suppression below limits of assay detection. When viral loads remain in low-level viremia (LLV), especially between 50-200 copies/mL, the best management and clinical consequences remain unknown. Our objective was to study the long-term impact of persistent LLV on subsequent risk of virologic failure in a cohort of people living with HIV in Montreal, Canada.

**Methods:** We compared the cumulative incidence of subsequent virologic failure (HIV RNA >1000 copies/mL) in patients under ART for at least 12 months, following 4 persistence status (<50, 50-199, 200-499 and 500-999 copies/mL) for 6, 9 or 12 months using Kaplan-Meier analysis. The association between subsequent virologic failure and persistence status were estimated using Cox proportional hazards model.

**Results:** The cumulative incidence of virologic failure one year after having maintained a LLV for 6 months was 22.7%(95%CI:14.9-33.6) for 50-199 copies/mL, 24.2%(95%CI:14.5-38.6) for 200-499 copies/mL and 58.9%(95%CI:43.1-75.2) for 500-999 copies/mL, compared to 6.6% (95%CI:5.3-8.2) when remaining undetectable. Even after adjustment for potential confounders, persistent LLV of 50-199 copies/mL for 6 months doubled the risk of virologic failure (Hazard Ratio=2.22, 95%CI:1.60-3.09) when compared to undetectable viral loads for the same duration. Similar results have been found for persistent LLV of 9 or 12 months.

**Conclusions:** In this cohort, all sub-categories of persistent LLV between 50-999 copies/mL were associated with an increased risk of virologic failure. The results shed new light for the management of patients with LLV, especially with regards to LLV of 50-199 copies/mL.

**Keywords:** Cohort study, HIV, viral load, virological failure, low-level viremia.

## Introduction

The prognosis of people living with HIV has improved consistently in developed countries since the advent of antiretroviral therapy(ART) in 1996. Although it remains virtually impossible to cure HIV infection, ART allows the suppression of plasma HIV viral loads(VL), which permits the restoration of immune function and avoids progression to AIDS and death[1,2]. Virologic suppression also decreases the virus ability to develop antiretroviral(ARV) resistance. The current goal of treatment with ART is therefore to achieve and maintain virologic suppression below limits of assay detection, which is generally  $<20$  to  $<75$  copies/mL depending on the assay used[3]. While complete virologic suppression is ideal, it can be challenging in practice. Some patients may maintain a persistent low-level viremia(LLV), defined as below 1000 copies/mL and the clinical consequences and optimal management of these patients remain unclear, especially for LLV of 50-200 copies/mL. In addition, the exact minimal value of VL at which viral replication does occur, is unknown[3,4]. Most experts agree that occasional transient  $VL < 400$  copies/mL (blips) are common and do not reflect viral replication nor predict virologic failure(VF). However, the best management and the potential clinical consequences of a persistent LLV, especially between 50-200 copies/mL, remain controversial. The guidelines recently published by the Department of Health and Human Services state that “low-level positive viral load results (typically  $<200$  copies/mL) appear to be more common with some VL assays than with others. Furthermore, there is no definitive evidence that patients with VL quantified as  $<200$  copies/mL using these assays are at increased risk for VF”[3]. The same guidelines therefore define VF as a  $VL > 200$  copies/mL and admit the absence of consensus regarding the best conduct for persistent LLV between 50-200 copies/mL. Our objective was to study and

compare the long-term impact of three categories of persistent LLV(50-199, 200-499 and 500-999 copies/mL) on the subsequent risk of VF(>1000 copies/mL) in a cohort of HIV-positive patients.

## **Methods**

### ***Patient and data collection***

We used data from an opened cohort of 2416 HIV infected patients of the Clinique médicale du Quartier Latin in Montreal, Canada. This is an observational cohort started in July 1997 and recruitment and follow-up are still ongoing. All participants signed an informed consent form, and the study protocol was approved by the Research Ethics Board of Sainte-Justine Hospital. Data collected included laboratories results such as HIV VL and CD4 cell counts usually repeated every 3 months, socio-demographics information and a complete history of ART. Data were collected from the time of HIV diagnosis (prospectively for most data, and retrospectively for data between HIV diagnosis and start of follow-up at the clinic when different, or for certain socio-demographics data such as race, socioeconomic status and sexual orientation). The majority of laboratory analyses were completed through the regular health care system at the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, where the VERSANT®HIV-1 RNA 3.0 Assay(bDNA) detecting <50 copies/mL was used from 1999 to 2010, and Abbott Real Time HIV-1 assay detecting <40 copies/mL was used since 2010.

### ***Statistical analysis***

Participants were included if they had at least one measurement of VL and had received any ARV for a period of at least 12 months to allow enough time to reach treatment potential,

confirming a VL suppression or not. We also only considered data from July 1<sup>st</sup>, 1999 corresponding to the moment where the VL assay used was able to quantify VL<50 copies/mL. Baseline characteristics were determined at the first HIV-related appointment on or after July 1<sup>st</sup>, 1999.

Kaplan-Meier analysis was used to estimate the cumulative incidence of VL>1000 copies/mL, stratified according to 4 different exposure status defined as: 1) undetectable VL(<50 copies/mL), 2) persistent LLV between 50-199 copies/mL, 3) persistent LLV between 200-499 copies/mL and 4) persistent LLV between 500-999 copies/mL. Duration of persistence were analysed in 3 different models, one model for every duration of LLV of at least 6, 9 and 12 months. Subjects were followed until a VL occurred or, for censored observations, the most recent visit for which a VL measurement was available. Participants were entered in the survival analysis at the visit following the occurrence of persistence defined as above. The duration of persistence was measured as the time between the first and last VL of an episode in which all consecutive VL remained in a specific LLV category(50-199, 200-499 or 500-999 copies/mL). Analyses of the 6-month persistence therefore only included patients whose duration of a specific LLV category was at least 6 months. Patients remaining in a LLV category for 12 months were also in the 9 months duration and 6 months duration analysis of the same LLV category. The undetectable reference category only included patients whose VL remained undetectable for the selected duration(at least 6, 9 or 12 months) and who never had a LLV of 6 months or more. Patients that never reached a VL below 1000 copies/mL were excluded. The few patients that never had undetectable levels for at least 6 months, but also never had a persistent LLV status, nor a VL>1000 copies/mL were excluded (i.e. patients with recurrent blips defined as a VL between 50-999 copies/mL



preceded or followed by a VL<50 copies/mL). Once a patient reached a higher category of LLV persistence, he remained in this higher category for the analyses. For example, if a patient had LLV between 50-199 copies/mL for 6 months, followed by LLV between 500-999 copies/mL for 6 months before VF, he was categorised in the exposure status of “500-999 copies/mL” for 6 months. We used the log-rank test to assess the significance of differences in incidence of VF between exposure status. In order to see if there was a diminution of the risk of VF following a LLV in more recent years, the 3-year cumulative incidence of VF(>1000 copies/mL) by LLV category(6-month persistence status) was stratified for the periods when LLV occurred (1999-2000, 2000-2004 and 2004-2008).

Cox proportional hazard regression modeling was used to measure the association between VF and exposure status. Multivariate model was used to control for potential confounders using the 10% change in estimate method (included variables that changed the Hazard Ratios(HR) for the association between LLV and VF by +/-10%) among the following list of variables: age, sex, date of HIV diagnosis, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, CD4 cells count, injectable drugs use (IDU) and use of any ARV. All analyses were done using STATA version 11(Stata, Corp.).

## **Results**

Out of 2416 patients, 459 were excluded because they were not exposed to any ARV, 79 were excluded because they were followed for less than one year and 18 were excluded because they had no VL measurement. The baseline characteristics of the 1860 participants included in the study are shown in Table 1. The date of HIV diagnosis varied from 1980 to 2012.

For the 6-month persistence analysis, 1357 patients were included (443 were excluded because they never reached a persistent VL status for at least 6 months, neither undetectable nor LLV, and 60 patients because they had only one VL measurement after the persistence period). At entry for survival analysis, the protease inhibitor mostly used was lopinavir with 17.3%(235/1357), the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor mostly used was efavirenz with 26.8%(364/1357) and nucleoside reverse transcriptase inhibitor only regimen were used in 13.2%(179/1357). These data were similar for the 9 and 12 month analysis except that the number of excluded patients was higher as it was restricted to patients with longer follow-up. Median time between VL measurements was 97 days (interquartile range(IQR):84-121). The median number of VL measurement by patient was 14(IQR:5-27), 13(IQR:5-25) and 13(IQR:5-24) for the 6, 9, and 12 month groups, respectively.

***Cumulative incidence of VF according to persistent LLV status***

Figure 1 shows the cumulative incidences of subsequent VF>1000 copies/mL, over a period of 5 years, following a LLV persistence of 6, 9, or 12 months. Participants with all status of LLV persistence, including LLV of 50-199 copies/mL, were at higher risk of VF than patients who maintained undetectable VL. The 1-year cumulative incidences of VF after 6-month LLV persistence of 50-199, 200-499 and 500-999 copies/mL were 22.7%(95%CI:14.9-33.6), 24.2%(14.5-38.6) and 58.9%(43.1-75.2) respectively, versus 6.6%(5.3-8.2) for patients who maintained undetectable VL (p=0.000). Similar results were found for patients who have persisted with these VL status for 9 or 12 months. When looking at the 50-199 copies/mL LLV persistence, the cumulative incidence was significantly higher than the undetectable group regardless of the duration of this persistence. Descriptive data for Kaplan-Meier graphs

are shown in Table 2. Of the 41 patients who had VF after a persistent LLV of 50-199 copies/mL for at least 6 months, 56%(23/41) have been virologically suppressed prior to LLV episode and 34%(14/41) had an episode of a complete suppression(<50 copies/mL) between their LLV episode and VF.

Figure 2 shows the 3-years cumulative incidence of subsequent VF by 6-month persistence status stratified according to the periods when persistence status occurred. Although, the graph suggests a tendency towards a decreasing risk for VL after persistent status between 50-199 copies/mL, confidence intervals(CI) overlap widely. However, the undetectable category remains at significantly lower risk of VF at 3 years than all other LLV categories regardless of the period.

#### ***Association between persistent LLV and subsequent VF***

Table 3 shows the results for the Cox modeling. After adjustment for confounders, persistent LLV between 50-199 copies/mL or 200-499 copies/mL for at least 6 months doubled the risk of VF (HR=2.22[95%CI:1.60–3.09] and HR=2.15[1.46-3.17], respectively), while a persistent VL between 500-999 copies/mL increased the risk by almost 5 times (HR=4.85[3.16-7.45]) when compared to patients who maintained undetectable VL. Similar effects were seen for LLV persisting for 9 or 12 months.

#### **Discussion**

In this study, we estimated the cumulative incidence of VF in patients who experienced persistent LLV for 6 to 12 months. The Kaplan-Meier curves showed that all LLV categories lead to a higher incidence of VF when compared to undetectable VL for similar duration. The

multivariate regression models also showed that all categories of LLV lead to an increased risk of VF, and this risk was similar for all durations of LLV persistence. Although the CI overlap more in the longer duration category because the number of participants is smaller, the study was powered enough to show statistically significant relative risks in all models. A persistent LLV of 500-999 copies/mL carried the highest risk of VF(almost 5 times that of a maintained undetectable VL), but both lower categories of persistent LLV between 50-199, and 200-499 copies/mL doubled the risk of eventual VF when compared to persistent undetectable VL for the same durations. These findings suggest that persistent LLV including LLV of 50-199 copies/mL, may have clinical consequences.

It is possible that the risk of VF following LLV have been decreasing in recent years due to the use of newer ART, but further studies will be required to investigate this. The 3-year cumulative incidence of VF following LLV developed between 2000-2004 or 2004-2008 was lower than the one following LLV developed in 1999-2000, but CI largely overlap between periods and we cannot conclude that there is a significant difference across periods. Furthermore, the risk of VF remains higher for all LLV categories compared to undetectable VL across all periods.

There is a paucity of data regarding the impact of LLV, especially regarding very low level viremia(such as 50-199 copies/mL) on the risk of VF. Our results support those of previous studies on the risk of eventual VF with persistent LLV. In a study of 2055 patients achieving viral suppression(<50 copies/mL), Greub et al. found that 2 consecutives VL between 51-500 copies/mL (which occurred in 155 patients) increased the risk of VF>500 copies/mL by more than 5 times(HR=5.8, 95%CI:4.26-7.90)[5]. Geretti et al. studied 1386 patients on a first regimen in which 85 had persistent LLV(defined as 50-400 copies/mL on

two or more consecutive measurements) after a viral suppression. The risk of VF>400 copies/mL for patients with persistent LLV was more than double that of patients remaining undetectable(HR=2.29, 95%CI:1.22-4.29)[6]. Garcia-Gasco' et al. showed that VF>500 copies/mL occurred in 20/131(15%) of patients who had been virologically suppressed previously and who maintained LLV between 51-500 copies/mL on 2 consecutive measurements[7]. However, these studies used a lower cut-off than we used for the definition of VF(>400-500 copies/mL). The following studies are smaller but used the same definitions of VF as we did(>1000 copies/mL). In a retrospective cohort of 362 patients, Sungkanuparph et al. found that patient who had achieved viral suppression and experiencing a 3-month persistent LLV(51-1000 copies/mL) had a 3.8 times higher risk(95%CI:2.2-6.4) of VF than patients with undetectable VL, the risk being higher with LLV of >400 copies/mL[8]. Pham et al. reviewed the charts of 149 patients with at least 2 consecutive VL between 50-1000 copies/mL, 26 who had a change in treatment and 123 who had no change[9]. No significant difference was found between the groups with regards to the proportion reaching complete virological suppression nor VF after 6 months(VF occurred in 7% of the group with no change). The majority remained in LLV 6 months later. Karlsson et al. also showed that the 18 patients with persistent LLV had a higher risk of VF than the 13 with sustained viral suppression[10]. Despite many differences in the study design and specific methods of all these previous studies and ours, we all conclude that persistent LLV does increases the risk of eventual VF. Our study is the first investigating the impact of 3 categories of LLV and 3 persistence durations on the risk of VF in such details.

Our study has strengths and limitations. One of the strengths is the long follow-up period of the cohort with a considerable sample size. Another strength is the stratification of

persistent LLV by several categories which allow studying the impact of different VL threshold. There are also some limitations. The cohort was mainly composed of Caucasian men having sex with men, making the results generalizable to this population. Confounding variables may also have biased the results as groups of patients may differ in unmeasured characteristics although most important variables associated with VF have been considered into the modeling strategy. It would have been interesting to analyse the difference in rates of persistent LLV and in the risk of VF by ART regimen. Our regression models suggest some ARV have a protective effect (abacavir, tenofovir, efavirenz, and ritonavir), but the study was not designed nor powered enough to look into this. Further studies will be required to investigate the specific role of ART. Despite the large sample size, persistent LLV remains a relatively rare occurrence, which explains the wide and overlapping CI between the 3 categories of persistent LLV. Although the higher risk of failure for all 3 LLV persistence status compared to undetectable VL is clear, the difference between the groups would require a larger sample size to be delineated with more precision. We admit that clinical scenarios can differ widely around a persistent LLV, including previous viral suppression or not. However, when we restricted the analyses only to patients who suppressed before their LLV episode, the association was similar to previous studies (HR=1.52,95%IC:0.99-2.33). Other factors may also influence the results such as adherence, being naïve (first ART), social situation, etc. However, our study was not powered to stratify by more categories and we understand that caution and clinical judgement needs to be used in the generalizability of these results. Another limitation is that we did not have information on patients's adherence nor intervention taken to improve adherence and we did not take into account changes in ART regimen during follow-up. Moreover, we did not analyse the cause of the VF or its impact on risk of

developing resistance mutations. Some authors have clearly shown the risk of developing resistance mutation with LLV[11]. For example, Delaugerre et al. showed that 11 of 37 patients with an episode of LLV<500 copies/mL developed at least one drug-resistance mutations[11]. Taiwo et al. showed that 37% (out of 54 patients) had developed new resistance mutations during LLV[12]. In patients with VL between 50-400 copies/mL, Nettles et al. found that 9 out of 21 patients had resistance mutations[13]. McConnell also documented in a cohort of 92 patients that optimising ART based on genotyping at LLV was more successful at achieving undetectable VL than observing on current regimen [14]. Our cases of VF probably include many situations, including HIV resistance and adherence issues. The 34%(14/41) of our patients who suppressed completely between their LLV episode and their VF could suggest an adherence problem that improved after an intervention, but also a suppression following an ART change/addition with later failure due to resistance.

VF>1000 copies/mL is known to have clinical consequences, and our analyses showed that any persistent LLV>50 copies/mL increased the risk of such failures. One of the difficulties when managing LLV is that HIV genotyping is mostly accessible and reliable on VL>1000 copies/mL and less between 400-1000 copies/mL[15]. Therefore, in the context of LLV, ART would often need to be adjusted blindly or based on past ART and genotypes history. This is why the option to observe and follow was and remains often considered, with most actions being taken on adherence counselling. However, the clearly increased risk of VF shown here suggest that, for all persistent LLV>50 copies/mL, even when <200 copies/mL, it might be beneficial to act more aggressively (adherence, plasmatic ART dosage if available, interactions, genotyping, closer monitoring, etc).

In conclusion, our study was intended to better understand the consequences of persistent LLV. Our analyses showed that the risk of subsequent VF>1000 copies/mL was higher after persistent LLV, even when it is as low as 50-199 copies/mL for only 6 months, and the impact appears as soon as few months after the LLV persistence. For the patient with LLV(especially 50-199 copies/mL), the decision to either change ART rapidly or observe further is a difficult one to take; the clinician has limited data to support either decision and both options may be heavy of consequences for the patient. We hope that our data may contribute to the knowledge required to guide clinical conduct in such situations.

### **Funding**

This work was supported by the Canadian Institutes of Health Research [doctoral research award Funding Reference Number: 96236 to CL].

### **Potential conflicts of interest**

CL has no conflict. A de Pokomandy has served as a consultant on advisory boards for Abbott/Abbvie and Tibotec, has received speaker fees from Abbott/Abbvie, Pfizer, Tibotec, Merck Canada, and Gilead Sciences, and is a member of institutions that have received research funding from Abbott/Abbvie, Bristol-Myers Squibb Canada, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, ViiV Healthcare, Boehringer Ingelheim, Pfizer, Roche, Tibotec, Merck Canada, and Gilead Sciences. J-GB has served as a consultant and on advisory boards, has received speaker fees from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, ViiV Healthcare, Pfizer, Tibotec, Merck Canada, and Gilead Sciences, and is



a member of institutions that have received research funding from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, ViiV Healthcare, Boehringer Ingelheim, Pfizer, Roche, Tibotec, Merck Canada, and Gilead Sciences. SD has served as a consultant and on advisory boards, has received speaker fees from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, Janssen , Merck Canada, and ViiV Healthcare, and has received grants to attend conferences from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, Merck Canada and ViiV Healthcare. HT has served as a consultant and on advisory boards and has received speaker fees and travel assistance from Merck-Frosst Canada, Glaxo SmithKline Pharmaceuticals, Belgium, and Gilead Sciences.

### **Acknowledgements**

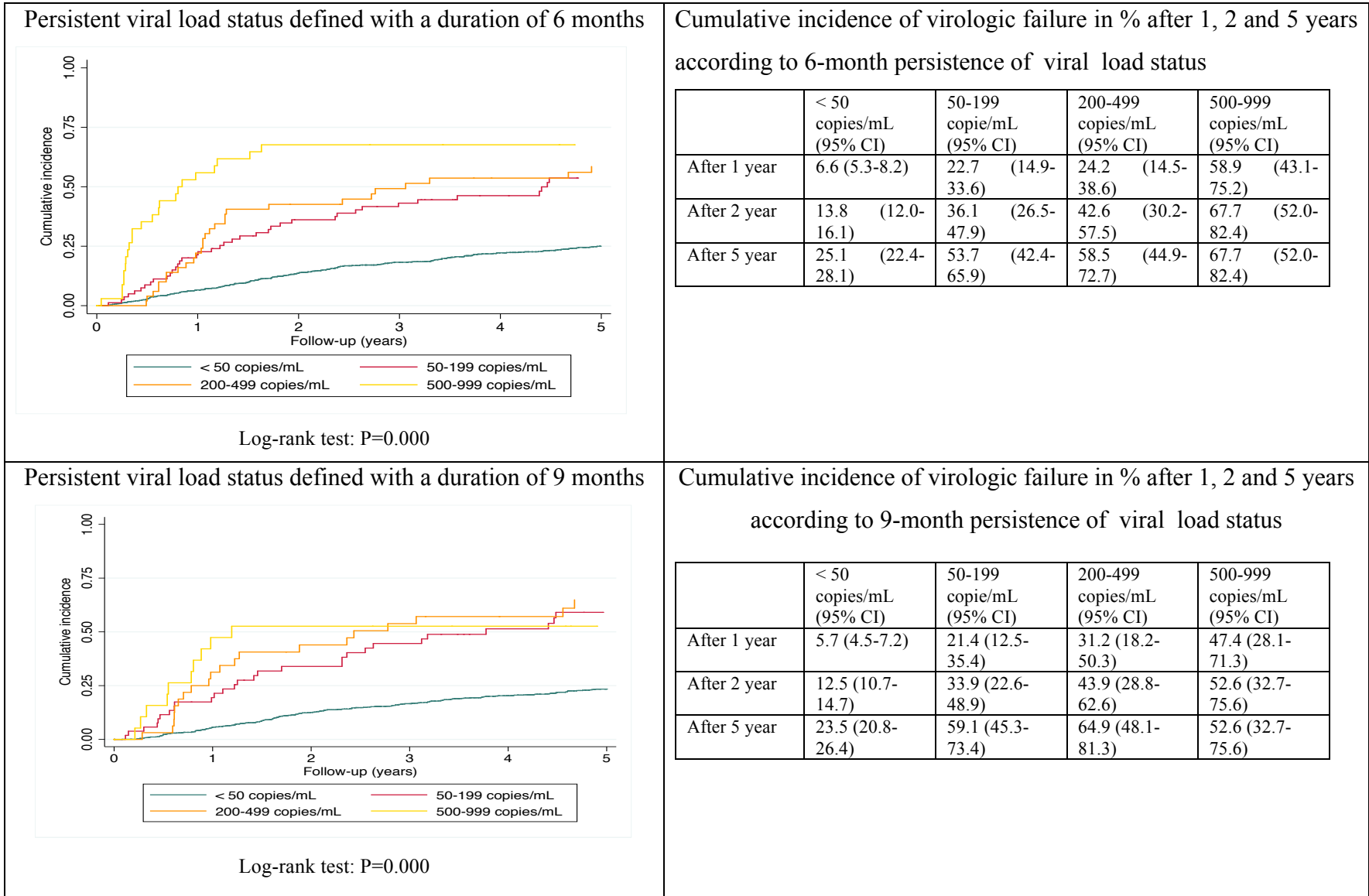
We are grateful to all the study participants, and to Dr. Pierre Côté and all the physicians of the Clinique Médicale du Quartier Latin who collected and managed cohort data. We would like to thank Lucie Height for managing the database and Louise Laporte for the quality of her data verification. HT received a salary award (chercheur-boursier) from the Fonds de la recherche en santé du Québec and CL received a doctoral research award from the Canadian Institutes of Health Research (Funding Reference Number: 96236), ADP received a salary award (chercheur- clinicien boursier) from the Fonds de la recherche en santé du Québec.

### **References**

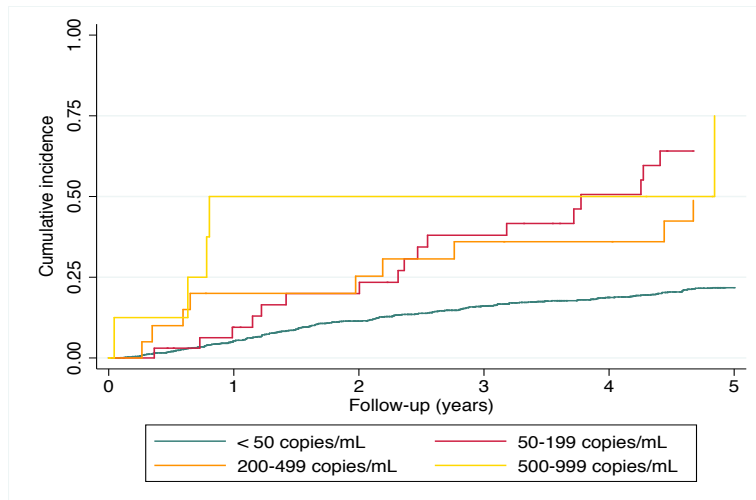
1. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet* **2008** Jul 26;372(9635):293-9.
- 2.. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* **1998** Mar 26;338(13):853-60.
3. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. Available at <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Section accessed July 8, 2013.
4. Cohen C. Low-level viremia in HIV-1 infection: consequences and implications for switching to a new regimen. *HIV Clin Trials* **2009** Mar-Apr;10(2):116-24.
5. Greub G, Cozzi-Lepri A, Ledergerber B, et al. Intermittent and sustained low-level HIV viral rebound in patients receiving potent antiretroviral therapy. *AIDS* **2002** Sep 27;16(14):1967-9.
6. Geretti AM, Smith C, Haberl A, et al. Determinants of virological failure after successful viral load suppression in first-line highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther* **2008**;13(7):927-36.
7. Garcia-Gasco P, Maida I, Blanco F, et al. Episodes of low-level viral rebound in HIV-1 infected patients on antiretroviral therapy: frequency, predictors and outcome. *J Antimicrob Chemother* **2008** Mar;61(3):699-704.

8. Sungkanuparph S, Groger RK, Overton ET, Fraser VJ, Powderly WG. Persistent low-level viraemia and virological failure in HIV-1-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* **2006** Oct;7(7):437-41.
9. Pham T, Alrabaa S, Somboonwit C, Le H, Montero J. The HIV Virologic Outcomes of Different Interventions Among Treatment-Experienced Patients With 2 Consecutive Detectable Low-Level Viremia. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)* **2011** Jan-Feb;10(1):54-6.
10. Karlsson AC, Younger SR, Martin JN, et al. Immunologic and virologic evolution during periods of intermittent and persistent low-level viremia. *AIDS* **2004** Apr 30;18(7):981-9.
11. Delaugerre C, Gallien S, Flandre P, et al. Impact of low-level-viremia on HIV-1 drug-resistance evolution among antiretroviral treated-patients. *PloS one* **2012**;7(5):e36673.
12. Taiwo B, Gallien S, Aga E, et al. Antiretroviral drug resistance in HIV-1-infected patients experiencing persistent low-level viremia during first-line therapy. *J Infect Dis* **2011** Aug 15;204(4):515-20.
13. Nettles RE, Kieffer TL, Simmons RP, et al. Genotypic resistance in HIV-1-infected patients with persistently detectable low-level viremia while receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* **2004** Oct 1;39(7):1030-7.
14. McConnell MJ, Mier-Mota J, Flor-Parra F, et al. Improved viral suppression after treatment optimization in HIV-infected patients with persistent low-level viremia. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2011** Dec 15;58(5):446-9.
15. Rossouw T, Lessels R, de Oliveira T. HIV & TB Drug Resistance & Clinical Management Case Book. **2013**.

**Figure 1. Cumulative incidence of virological failure defined at >1000 HIV RNA copies/mL according to VL persistence status**



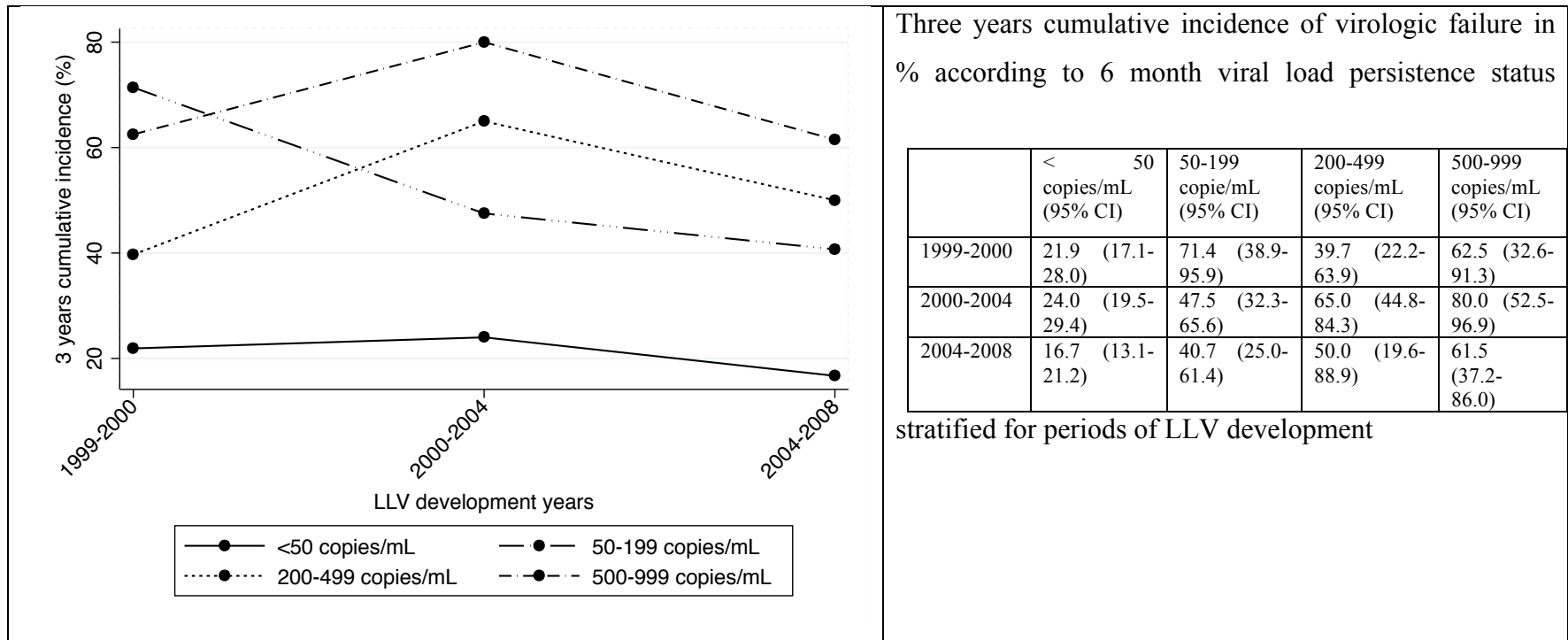
Persistent viral load status defined with a duration of 12 months



Cumulative incidence of virologic failure in % after 1, 2 and 5 years according to 12-month persistence of viral load status

	< 50 copies/mL (95% CI)	50-199 copie/mL (95% CI)	200-499 copies/mL (95% CI)	500-999 copies/mL (95% CI)
After 1 year	5.3 (4.1-6.8)	9.5 (3.2-26.7)	20.3 (8.0-44.9)	50.0 (22.5-84.8)
After 2 year	11.4 (9.6-13.5)	23.4 (11.9-43.0)	25.3 (11.4-50.6)	50.0 (22.5-84.8)
After 5 year	21.9 (19.3-24.8)	64.1 (45.7-82.1)	48.8 (28.7-73.4)	75.0 (36.5-98.6)

**Figure 2. Three years cumulative incidence of virologic failure (defined at >1000 HIV RNA copies/ml) according to 6-month viral load persistence status stratified by periods of persistence development**



Three years cumulative incidence of virologic failure in % according to 6 month viral load persistence status

	< 50 copies/mL (95% CI)	50-199 copie/mL (95% CI)	200-499 copies/mL (95% CI)	500-999 copies/mL (95% CI)
1999-2000	21.9 (17.1-28.0)	71.4 (38.9-95.9)	39.7 (22.2-63.9)	62.5 (32.6-91.3)
2000-2004	24.0 (19.5-29.4)	47.5 (32.3-65.6)	65.0 (44.8-84.3)	80.0 (52.5-96.9)
2004-2008	16.7 (13.1-21.2)	40.7 (25.0-61.4)	50.0 (19.6-88.9)	61.5 (37.2-86.0)

stratified for periods of LLV development

**Table 1. Baseline characteristics of 1,860 HIV-infected patients\***

<b>Characteristics</b>		<b>Number (%)</b>
All participants		1,860
Sex	Male	1744 (93.8)
	Female	116 (6.2)
Race	White	985 (91.8)
	Black	31 (2.9)
	Other	57 (5.3)
Country of birth	Canada	951 (88.2)
	Other	127 (11.8)
Sexual orientation	Homosexual	1,112 (86.3)
	Heterosexual	132 (10.3)
	Other	44 (3.4)
Injection drug user	Yes	521 (28.0)
	No/Unknown	1339 (72.0)
Monthly income	≤\$1500	203 (20.5)
	>\$1500	789 (79.5)
Employment	Full time	523 (55.9)
	Other	413 (44.1)
<b>Continuous variables</b>		<b>Median (IQR)</b>
Age (years)		40.8 (35.4-46.9)
Duration of HIV infection at baseline, (years)		1.99 (1.0-5.4)
Follow-up duration, (years)		7.1 (2.9-11.2)

Abbreviations: IQR, interquartile range.

\*Baseline characteristics were determined at the first HIV-related appointment on or after July 1<sup>st</sup>, 1999.

Missing data are not listed, and total frequencies may differ slightly from total numbers of patients.

<sup>a</sup> Period prevalence (July 1997, March 2012).

<sup>b</sup> Time in years between the first and the last appointment.

**Table 2. Descriptive data of Kaplan-Meier graphs according to duration of viral persistence**

Persistent viral load status for at least 6 months*				
	< 50 copies/mL	50-199 copie/mL	200-499 copies/mL	500-999 copies/mL
Number of patients	1192	81	50	34
Failure	272	41	29	24
Person-years	5575.7	298.3	223.7	82.7
Incidence rate	4.9 (4.3-5.5)	13.7 (10.1-18.7)	13.0 (9.0-18.7)	29.0 (19.5-43.3)
Persistent viral load status for at least 9 months				
	< 50 copies/mL	50-199 copie/mL	200-499 copies/mL	500-999 copies/mL
Number of patients	1186	53	32	19
Failure	248	30	20	11
Person-years	5539.4	185.3	121.8	52.1
Incidence rate	4.7 (4.0-5.1)	16.2 (11.3-23.2)	16.4 (10.6-25.5)	21.1 (11.7-38.1)
Persistent viral load status for at least 12 months				
	< 50 copies/mL	50-199 copie/mL	200-499 copies/mL	500-999 copies/mL
Number of patients	1166	34	20	8
Failure	224	19	9	5
Person-years	5329.0	117.2	103.1	25.7
Incidence rate	4.2 (3.7-4.8)	16.2 (10.3-25.4)	8.7 (4.5-16.8)	19.5 (8.1-46.7)

\* Participants without at least 6 months of follow-up (patients with a follow-up too short to define a persistence status) or patients without follow-up data after their VL persistence episode were excluded.



**Table 3. Association between persistent viral load status and subsequent virologic failure (defined at >1000 HIV RNA copies/mL): Univariate and multivariate analysis using Cox Model**

Definition of persistence	Persistence of HIV RNA copies/mL	Univariate		Multivariate*	
		HR (95% CI)	P	Adjusted HR (95% CI)	P
Persistent viral load status for at least 6 months	< 50 (ref.)	1.00		1.00	
	50-199	2.61 (1.88-3.63)	0.000	2.22 (1.60-3.09)	0.000
	200-499	2.92 (1.99-4.28)	0.000	2.15 (1.46-3.17)	0.000
	500-999	5.57 (3.67-8.46)	0.000	4.85 (3.16-7.45)	0.000
Persistent viral load status for at least 9 months	< 50 (ref.)	1.00		1.00	
	50-199	3.35 (2.29-4.89)	0.000	2.32 (1.57-3.42)	0.000
	200-499	3.73 (2.36-5.88)	0.000	2.18 (1.37-3.47)	0.001
	500-999	4.11 (2.25-7.53)	0.000	4.70 (2.54-8.71)	0.000
Persistent viral load status for at least 12 months	< 50 (ref.)	1.00		1.00	
	50-199	3.52 (2.20-5.63)	0.000	1.90 (1.16-3.11)	0.011
	200-499	2.33 (1.20-4.53)	0.013	1.60 (0.81-3.14)	0.174
	500-999	4.37 (1.80-10.60)	0.001	4.16 (1.68-10.29)	0.002

Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; VL, viral load.

\* Empirical control for confounding was done (see text for more details) among the following variables: age, gender, date of HIV diagnosis, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, CD4 cells count at baseline, IDU and use of ARTs. Variables were included in the multivariate models and were kept if they changed the HR by +/- 10% (inclusion or the confounding variables may be different in each model). In the multivariate model with a 6-month persistence definition: date of HIV infection and use of tenofovir, emtricitabine and efavirenz were kept; for the model defined with 9-month persistence: date of HIV infection and use of abacavir, emtricitabine, tenofovir, efavirenz, and, ritonavir were included and for the model defined with 12-month persistence: race, date of HIV infection and use of abacavir, emtricitabine, tenofovir, efavirenz, etravirine, darunavir, ritonavir and raltegravir, were included.

## **2. Article 2: Association entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale à long terme**

**Titre :** Association between tenofovir exposure and reduced kidney function in a cohort of HIV-positive patients: results from 10 years of follow-up

**Auteurs :** Claudie Laprise, Jean-Guy Baril, Serge Dufresne, Helen Trottier.

**État actuel de l'article :** Cet article a été publié dans la revue *Clinical Infectious Diseases* comme article invité (*Clinical infectious Diseases*, Volume 56, Issue 4, February 15, 2013.).

**Contribution de l'étudiante :** L'étudiante a participé au design de l'étude et à la collecte de données, a fait toutes les analyses et a participé à la rédaction du manuscrit sous la supervision d'Helen Trottier.

**Contribution des coauteurs :** Helen Trottier a participé au design, aux analyses et à la rédaction du manuscrit. Jean-Guy Baril et Serge Dufresne ont participé au design de l'étude, à sa conduite et à la collecte de données ainsi qu'à la réduction du manuscrit.

**Association Between Tenofovir Exposure and Reduced Kidney Function in a Cohort of HIV-Positive Patients: Results from 10 Years of Follow-up**

Claudie Laprise, Jean-Guy Baril, Serge Dufresne, Helen Trottier

**Running title:** Kidney Function and Tenofovir

**Corresponding author:** Claudie Laprise

**Alternate corresponding author:** Professor Helen Trottier

**Word count (text):** 3187

**Word count (abstract):** 226

**Figure/table count:** 1 figure, 4 tables

**Reference count:** 24

**Summary**

Tenofovir was associated with reduced kidney function (measured by eGFR estimated with CKD-EPI formula) in a cohort study of HIV-infected patients with a median follow-up of 7.9 years.

**Abstract**

**Background.** Some studies have shown that tenofovir disoproxil fumarate (TDF), a drug widely used in highly active antiretroviral therapies (HAART), is associated with kidney dysfunction, but the magnitude of the effect and its clinical impact is still being debated. Our objective was to evaluate the association between long-term TDF exposure and kidney dysfunction in a cohort of 1,043 HIV-positive patients followed for 10 years and to quantify the loss of estimated glomerular filtration rate (eGFR) in patients exposed to TDF in comparison to those exposed to other antiretroviral therapies.

**Methods.** Adjusted hazard ratio (HR) and odds ratio (OR) for the association between TDF and kidney dysfunction (defined as an eGFR  $<90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ ) were calculated using the Cox proportional hazards model and generalized estimating equations. Mean loss of eGFR attributable to TDF by cumulative years of exposure was estimated using linear regressions.

**Results.** Tenofovir exposure increased the risk of kidney dysfunction by 63% (HR=1.63; 95% CI:1.26–2.10). The cumulative eGFR loss directly attributable to TDF after 1, 2, 3, and 4 years of TDF exposure was respectively -3.05 ( $P=0.017$ ), -4.05 ( $P=0.000$ ), -2.42 ( $P=0.023$ ), and -3.09  $\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  ( $P=0.119$ ), which shows that most of the loss occurred during the first years of exposure.

**Conclusions.** In this cohort, TDF exposure was associated with reduced kidney function, but the loss of eGFR attributable to TDF is relatively mild in a long-term perspective.

Keywords: HIV, antiretroviral therapy, estimated glomerular filtration rate, kidney function, tenofovir

## **Introduction**

Kidney dysfunction is associated with morbidity and mortality in HIV-positive patients and clinical follow-up is therefore important(1). HIV infection itself has been identified as a risk factor for kidney dysfunction(2), as have many other non-HIV-related factors, such as baseline glomerular filtration rate under 90 or 60mL/min/1.73m<sup>2</sup>, high HIV viral load, low CD4 cell count, being female, older age, black race, low weight and comorbidities (diabetes, hepatitis B or C, hypertension, proteinuria, albuminuria)(3-7). Atazanavir, didanosine, indinavir, lopinavir/ritonavir, other nephrotoxic drugs and recreational drugs, particularly cocaine, have also been identified as risk factors for loss of kidney function(6, 8-12). Many studies have shown that tenofovir disoproxil fumarate (TDF), a drug widely used in highly active antiretroviral therapies (HAART), is associated with kidney dysfunction, but the magnitude of the effect and its clinical impact are still being debated(13, 14). Discrepancies in the literature can be explained by lack of power or limited sample size, dissimilar study populations, short follow-up and different analysis strategies.

In an effort to inform the current debate, our objective was to evaluate the association between long-term TDF exposure and kidney dysfunction and to quantify the loss of estimated glomerular filtration rate (eGFR) attributable to TDF in a cohort of HIV-positive patients exposed to antiretroviral (ARV) therapy and followed between January 2002 and March 2012.

## **Methods**

### ***Patients and data collection***

We used data from an open cohort of 2,352 HIV-infected patients at the Clinique médicale du Quartier Latin in Montreal, Canada. The cohort started in July 1997; recruitment

and follow-up are still ongoing. All participants signed an informed-consent form at enrolment, the first appointment related to their HIV diagnosis. The study protocol was approved by the research ethics committee of Sainte-Justine Hospital. Data collected include sociodemographic information, a complete history of antiretroviral therapies and results of laboratory tests, such as CD4 cell count, HIV viral load and serum creatinine, which have generally been done every 3 months since 1997. All clinical data were collected prospectively, although certain sociodemographic data such as race, socioeconomic status and sexual orientation were gathered retrospectively.

Glomerular filtration rate was estimated using the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formula for every visit for which a serum creatinine test was available. CKD-EPI is recommended for routine clinical use in HIV-positive patients instead of the Modification of Diet in Renal Disease equation, MDRD, who may overestimate the severity of renal impairment in HIV-positive patients(15-17), as it is known to be more accurate at high glomerular filtration rates and as good at low rates.

### ***Statistical analysis***

As TDF was approved by the U.S. Food and Drug Administration in October 2001, follow-ups of exposed as well as unexposed patients were considered from January 1, 2002, to March 7, 2012. In other words, all patients became at risk on January 1<sup>st</sup> 2002 if they were exposed to any ARV. All patients not exposed to ARVs or not entered in the cohort at that date entered in the analysis (became at risk) in the course of follow-up at the time they became exposed to any ARVs. Patients who had taken TDF alone or in combination were considered to be exposed to TDF. Patients exposed to any ARV therapy except TDF were considered to be unexposed.

The classification of stages of chronic kidney disease in the National Kidney Foundation's Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease was used to establish a cut-point for decreased kidney function,  $eGFR < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$  (18). Kaplan-Meier analysis was used to estimate the cumulative incidence of reduced kidney function according to exposure status. Failure (outcome) was considered to occur only after 2 consecutive measurements of  $eGFR < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$  at least 3 months apart. Patients were followed until failure occurred or, for censored observations, the most recent recorded visit for which an eGFR measurement was available. We used the log-rank test to assess the significance of differences in incidence of reduced kidney function by exposure status.

We used 2 types of regression models to analyze the association between TDF exposure and kidney function. First, we used Cox proportional hazards regression modeling to calculate hazard ratios (HR) and respective 95% confidence intervals (CI) for the association between reduced kidney function (2 consecutive measurements of  $eGFR < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$  at least 3 months apart) and ARV exposure (TDF versus other ARVs). As Cox regression models incidence data, patients with  $eGFR < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$  at baseline (prevalent cases) were excluded. Patients exposed to TDF for less than 3 months were also excluded. Multivariate model was built to control a priori for confounders and included the following variables measured at baseline: eGFR, age, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, smoking and injection drug users (IDU) as well as the following time-dependent variables: alcohol consumption, diabetes, hypertension, viral load, CD4 cell count and use of nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs), nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NNRTIs), protease inhibitors (PIs), fusion inhibitors (FIs), entry inhibitors (EIs),

and HIV integrase strand transfer inhibitors (INSTIs). Possible interaction of age, diabetes, hypertension and use of PIs was verified.

We also performed generalized estimating equation (GEE) logistic regression, which essentially correlates outcome and exposure cross-sectionally by taking into account the clustering within each individual caused by the repeated-measurements design. Cox modeling does not allow to analyze what happen after failure whereas GEE can handle repeated events within a subject. GEE analysis was therefore used as a secondary analysis to document the complete trajectory of patients with multiple repeated events and to confirm the role of TDF on kidney function. The models incorporated an exchangeable correlation pattern for repeated events. Outcome was defined as  $eGFR < 90 \text{ mL/min/1.73m}^2$  and exposure status as being exposed to TDF versus being exposed to any other ARVs. Multivariate model was built to control a priori for confounders and included the following variables measured at baseline: eGFR, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, smoking and injection drug users as well as time-varying variables: tenofovir exposure, age, alcohol consumption, diabetes, hypertension, viral load, CD4, and use of NRTIs, NNRTIs, FIs, EIs, INSTIs and PIs.

To further study the impact of TDF on kidney function, we calculated the mean loss of eGFR per year after exposure to TDF compared with other ARVs. Loss per cumulative year of exposure (measured from the beginning of exposition/year 1) was calculated for every patient, along with a mean loss of eGFR per cumulative year. Linear regression was used to estimate the cumulative loss of eGFR per year directly attributable to TDF exposure. A multivariate linear regression model was used to control for empirical confounders using the 5% change in estimates Method. All analyses were done using Stata/SE 11 (Stata Corp.).



## Results

Out of 2,352 patients, 2,058 were followed after January 2002, 630 were excluded because they were not actively followed up at the clinic (had not been seen at least once in the last 2 years), 242 were excluded because they had no eGFR measurements or missing information about race, which is required for the calculation of CKD-EPI, and 143 were excluded because they were not exposed to any ARVs. The baseline characteristics of the 1,043 patients included in the analysis are shown in Table 1. The median length of follow-up was 7.9 years. The median age at baseline was 39.3 years and 3.8% of the cohort were women. The median number of eGFR measurements (per patient) for the TDF exposed group was 19 [interquartile range (IQR):10–30] and 25[IQR:15–34] for the unexposed group. The median time between serum creatinine measurements was 97 days(IQR: 84-125) for the exposed group and 98 days(IQR: 84-120) for the unexposed group. The group exposed to TDF differed from the unexposed group (exposed to other ARVs) in terms of monthly income: 20.4% of those exposed have a monthly income under \$1,500, in contrast to 14.7% of those not exposed. HIV viral load at baseline was lower in the unexposed group than in the exposed group (median of 467 and 2,198 HIV RNA copies/mL, respectively) and IDU were more frequent in the unexposed group (41.2% in contrast to 33.6%)

### *Association between tenofovir and reduced kidney function*

Figure 1 shows the cumulative incidence of reduced kidney function (defined as 2 consecutive measurements of eGFR<90mL/min/1.73m<sup>2</sup> at least 3 months apart), over a 10-year period, by exposure status. The cumulative incidence of reduced kidney function after 2, 5, and 10 years of exposure to TDF was 15.12% (95%CI:11.15–20.34), 31.47%

(95%CI:26.17–37.54) and 52.29% (95%CI:45.65–59.26), respectively. In the unexposed group, the cumulative incidence after 2, 5, and 10 years was 10.27%(95% CI:7.94–13.23), 25.89%(95% CI:21.78–30.62) and 40.53%(95% CI:34.82–46.80), respectively. The log-rank test showed that the difference is statistically significant ( $P=0.024$ ).

Totally, there were 271 incident cases of reduced kidney function for 4,285.00 person-years (incidence rate(IR)=63.2 per 1000 person-years; 95%CI:56.2-71.2). In the TDF exposed group, 133 events occurred for 1,809.66 person-years (IR=73.5 per 1000 person-year; 95%CI:62.0-87.1) and for the unexposed group, 138 events occurred for 2,475.34 person-years (IR=55.8 per 1000 person-year; 95%CI:47.2-65.9).

Table 2 shows the results for the Cox proportional hazards regression model. Tenofovir exposure increased the risk of reduced kidney function by 63% (adjusted HR=1.63,  $P=0.000$ ) compare to other ARV exposure. Other determinants associated with a significant increased risk were older age at baseline (HR=1.03,  $P=0.004$ ; every additional year of age increased the risk by 3%), lower eGFR at baseline (HR=0.93,  $P=0.000$ ; every additional mL/min/1.73m<sup>2</sup> of eGFR at baseline decreased the risk by 7%) and alcoholic status (HR=2.04,  $P=0.022$ ). NRTI users (HR=0.39,  $P=0.019$ ) had a lower risk than non-NRTI users. PI users (HR=1.46,  $P=0.018$ ) had a higher risk than non-PI users. The relation between TDF and kidney function was not affected by interaction with age, protease inhibitors, diabetes or hypertension (data not shown).

Table 3 reports the results for the GEE logistic regression models. Exposure to TDF increased the risk of reduced kidney function by 63% (OR=1.63,  $P=0.000$ ). Other determinants that increased significantly the risk were older age (OR=1.06,  $P=0.000$ , which showed a 6% greater risk for each additional year of age), lower eGFR at baseline (OR=0.93,

$P=0.000$ ), alcoholic status (OR=1.57,  $P=0.020$ ), INSTI use (OR=1.49,  $P=0.000$ ) and PI use (OR=1.82  $P=0.000$ ). Finally, Black patients had a lower risk than patients of other races (OR=0.39,  $P=0.019$ ) and smokers had a lower risk than those who never smoked (OR=0.73  $P=0.000$ ).

### ***Quantification of mean loss of eGFR***

Table 4 quantifies mean loss of eGFR by exposure status. Cumulative mean loss of eGFR was calculated after 1, 2, 3, 4, 5, and 6 years or more of exposure to TDF or any other ARVs. For the group exposed to TDF, cumulative mean loss increased consistently over the years, from  $-3.31\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  after 1 year of exposure to  $-10.46\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  after 6 years or more. For the unexposed group, cumulative mean loss of eGFR started at  $-0.25\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  after 1 year of exposure and reached  $-9.42\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  after 6 years or more. The univariate models show the cumulative mean loss directly attributable to TDF exposure. The multivariate models show that the adjusted mean loss directly attributable to TDF exposure after 1 year of exposure was  $-3.05\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ . However, there was no clear trend associated with the number of years of exposure; the adjusted cumulative mean loss were relatively stable over the years ( $-3.05$ ,  $-4.05$ ,  $-2.42$  and  $-3.09\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  after 1, 2, 3 and 4 years of exposition, respectively) indicating that most of the loss was acquired during the first year of exposition and stabilized after.

### **Discussion**

In this study, we evaluated the association between TDF exposure and kidney function and quantified the mean loss of eGFR attributable to TDF through the cumulative years of exposure. The Kaplan-Meier curve shows that the cumulative incidence of reduced kidney

function is higher among patients exposed to TDF than those exposed to other ARVs ( $P=0.024$ ). We used 2 different regression models (GEE and Cox modeling) and found that there was a consistently higher risk of reduced kidney function associated with exposure to TDF than with any other ARVs. Cox modeling analysis showed that TDF exposure increased the risk of reduced kidney function by 63% (adjusted HR=1.63, 95%CI:1.26–2.10). Other researchers have made comparable findings. For example, a large cohort of 10,841 HIV-infected patients with a median follow-up of 3.9 years presented by Scherzer et al.(11) used a similar strategy with Cox modeling, although the outcome was defined by an  $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$ . They found a 33% higher risk of chronic kidney disease, defined as 2 consecutive measurements of  $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$  at least 3 months apart calculated with the MDRD formula. They also found that 11% of patients newly exposed to TDF had a rapid annual decline (defined as a loss of  $3 \text{ mL/min/1.73m}^2$  or more in 2 consecutive years).

We also analyzed determinants of renal function with GEE modeling which allow taking into account multiple events (persistent kidney dysfunction). We confirmed that TDF exposure increases the risk of renal dysfunction (adjusted OR=1.63, 95%CI:1.48–1.79).

We observed no effect modification (interaction) for age, PI use, diabetes or hypertension in the association between TDF and renal function. For example, older patients (aged 50 and over) exposed to TDF were at no greater risk of kidney dysfunction than those under 50.

We also found that adjusted loss of eGFR directly attributable to TDF exposure was  $-3.05 \text{ mL/min/1.73m}^2$  after 1 year of treatment. In a systematic review of 17 studies (including 9 randomized controlled trials), Cooper et al.(13) found that the pooled loss attributable to TDF was  $-3.72 \text{ mL/min/1.73m}^2$ .

Importantly, we found that adjusted loss of eGFR directly attributable to TDF exposure was  $-3.05\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  after 1 year of treatment and that this loss stayed relatively constant through the following years of exposure. Losses were  $-4.05(P=0.000)$ ,  $-2.42(P=0.023)$ ,  $-3.09(P=0.119)$ ,  $-0.12(P=0.946)$  and  $0.32\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2(P=0.898)$  after 2, 3, 4, 5, and 6 or more years of exposure, respectively. This seems to indicate that the loss induced by TDF occurred mainly during the first year of exposure and stayed relatively constant afterward. Although comparison has to be made with caution as the CIs overlap), it is also possible that a few loss acquired during the first 2 years of exposition to TDF were recovered in the following years (mean loss attributable to TDF is lower after 3 years than after one or 2 years).

This analysis calculated the mean loss for the entire cohort; one might wonder about the possible individual variability, i.e., whether the effect might be large in a small group. However, the standard deviation, median, and interquartile range for the exposed and unexposed groups were comparable. For example, after 6 years or more of TDF, a mean loss of  $-10.46\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  was observed in exposed (SD:14.00, median:-8.76 (IQR:-18.51--3.31)), whereas in patients exposed to other ARVs it was  $-9.42\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  (SD:12.50, median: -8.56 (IQR:-17.62--1.20)).

Like other studies, we found an increased risk of renal dysfunction in older patients, those with a lower eGFR at baseline and those exposed to PIs, as well as a reduced risk with NRTI use(3, 5, 7, 10, 19). Surprisingly, however, in the GEE models, we found a negative association with black race and smoking as well as a positive association with INSTI use, contrary to what is reported in the literature(20-24). One possible reason for the negative association with black race is the adjustment for race in the formulas used to estimate the glomerular function rate, such as CKD-EPI or MDRD. Black patients are scored higher than

those of other races to compensate for their lower glomerular function rate. It is therefore to be expected that regression models using eGFR as the dependant variable will find a negative association with black race. The same results were observed recently in the large D:A:D cohort study(12).

Our study has strengths and limitations. One of the strengths is the long follow-up period. The sample was also of considerable size. Furthermore, ours is a real-life cohort including older patients, making the results more generalizable to a clinic-based cohort of HIV-positive patients although there was a low number of blacks and females. The cohort was essentially composed of white homosexual men and included a large proportion of IDUs. Among the limitations are also the observational design (non randomized) and the potential for the presence of confounding by indication. However, we made a very conservative adjustment for potential confounding in every multivariate model. Although it would have been interesting to include hepatitis C status (variable not collected), most of its potential confounding effect might be controlled with the inclusion of IDU in the models. We also controlled for monthly income and type of employment, which are known to reflect global health and lifestyle. Also, it would have been interesting to analyze the association between TDF and renal function in our cohort using an eGFR under  $60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ . However, few patients in our clinic-based cohort had this outcome, as eGFR seldom goes below  $60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  without changes in ARV therapy. Because we used a cut point at  $90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ , our study demonstrated a loss of kidney function and not a formal chronic kidney disease as stated by National Kidney Foundation(18). Moreover, it would have been interesting to have results data on urinalysis or proteinuria but these data were not available. In addition, although the sample was large, we did not have the power to look at the impact of

every ARV taken individually. Another limitation was the lack of power to evaluate the loss of eGFR attributable to TDF after more than 4 years of exposure. Although the loss of eGFR attributable to TDF seems to occur during the first year and then stay relatively stable after that, it is not possible to draw definite conclusion about the magnitude of the effect after 4 years of exposure. This needs to be elucidated. Furthermore, it is possible that we underestimated the loss of eGFR attributable to TDF because patients in the TDF-exposed group may have been more likely to experience significant changes in eGFR and to switch to alternative ARVs leaving more stable eGFR patients in the analysis. Finally, a large number of patients were excluded from the analysis because they had not visited the clinic within the last 2 years. However, they were very similar at baseline to the active patients in term of age, sex (data not shown). CD4 were also similar (471(IQR:310-680) for excluded patients compared to 480(260-900) for included patients). Median viral load at baseline was slightly different with 2,506(49-27,851) for excluded patients and 1,550(49-42,285) for active patients. It is possible that excluded patients were less “healthy” and this may have affected the results of the study.

There has been debate about the association between TDF exposure and renal dysfunction and about the clinical impact of the loss of eGFR due to TDF exposure. Our study shows that the association was not of a high magnitude and that the quantified loss of eGFR attributable to TDF is relatively modest after many years of exposure. Importantly, the loss attributable to TDF seems to occur during the first year of exposure and stabilizes after that. Although the loss is maintained, it does not seem to further deteriorate with additional years of exposure. The clinical impact of this association need to be analyzed, taking into account the efficacy of TDF, but it is highly plausible that TDF exposure, although associated with

reduced kidney function, has no severe adverse effects over the long term for most HIV-positive patients.

### **Acknowledgments**

We are grateful to Dr. Pierre Côté and all the physicians of the Clinique Médicale du Quartier Latin who collected and managed cohort data. We would like to thank Lucie Height for managing the database and Louise Laporte for the quality of her data verification. HT received a salary award (chercheur-boursier) from the Fonds de la recherche en santé du Québec and CL received a doctoral research award from the Canadian Institutes of Health Research (FRN: 96236).

### **Presentation of preliminary results**

Parts of this paper were presented in poster form at the 21st annual Canadian Conference on HIV/AIDS Research in April 2012 in Montreal (C. Laprise et al., poster number P096).

### **References**

1. Levey AS, Atkins R, Coresh J, Cohen EP, Collins AJ, Eckardt KU, et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives - a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int.* 2007;72(3):247-59.
2. Islam FM, Wu J, Jansson J, Wilson DP. Relative risk of renal disease among people living with HIV: a systematic review and meta-analysis. *BMC public health.* 2012;12(1):234.
3. Ando M, Tsuchiya K, Nitta K. How to manage HIV-infected patients with chronic kidney disease in the HAART era. *Clinical and experimental nephrology.* 2012.



4. Rodriguez-Novoa S, Alvarez E, Labarga P, Soriano V. Renal toxicity associated with tenofovir use. *Expert opinion on drug safety*. 2010;9(4):545-59.
5. Horberg M, Tang B, Towner W, Silverberg M, Bersoff-Matcha S, Hurley L, et al. Impact of tenofovir on renal function in HIV-infected, antiretroviral-naive patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*.53(1):62-9.
6. Tordato F, Cozzi Lepri A, Cicconi P, De Luca A, Antinori A, Colangeli V, et al. Evaluation of glomerular filtration rate in HIV-1-infected patients before and after combined antiretroviral therapy exposure. *HIV Med*. 2011; 12(1):4-13.
7. O'Donnell EP, Scarsi KK, Darin KM, Gerzenshtein L, Postelnick MJ, Palella FJ, Jr. Low incidence of renal impairment observed in tenofovir-treated patients. *J Antimicrob Chemother*.
8. Chaisiri K, Bowonwatanuwong C, Kasettrat N, Kiertiburanakul S. Incidence and risk factors for tenofovir-associated renal function decline among Thai HIV-infected patients with low-body weight. *Curr HIV Res*.8(7):504-9.
9. Garg S, Hoenig M, Edwards EM, Bliss C, Heeren T, Tumilty S, et al. Incidence and Predictors of Acute Kidney Injury in an Urban Cohort of Subjects with HIV and Hepatitis C Virus Coinfection. *AIDS Patient Care STDS*.25(3):135-41.
10. Mocroft A, Kirk O, Reiss P, De Wit S, Sedlacek D, Beniowski M, et al. Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS*.24(11):1667-78.
11. Scherzer R, Estrella M, Li Y, Choi AI, Deeks SG, Grunfeld C, et al. Association of tenofovir exposure with kidney disease risk in HIV infection. *AIDS*. 2012;26(7):867-75.

12. Ryom L. and the D:A:D Study Group. Exposure to ARV and the risk of renal impairment among HIV+ persons with normal baseline renal function: the D:A:D study. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; March 5-8, 2012.; Seattle. Abstract 865.2012.
13. Cooper RD, Wiebe N, Smith N, Keiser P, Naicker S, Tonelli M. Systematic review and meta-analysis: renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis.* 51(5):496-505.
14. Hall AM, Hendry BM, Nitsch D, Connolly JO. Tenofovir-associated kidney toxicity in HIV-infected patients: a review of the evidence. *Am J Kidney Dis.* 2011;57(5):773-80.
15. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009;150(9):604-12.
16. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):461-70.
17. Ibrahim F, Hamzah L, Jones R, Nitsch D, Sabin C, Post FA. Comparison of CKD-EPI and MDRD to estimate baseline renal function in HIV-positive patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(6):2291-7.
18. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med.* 2003;139(2):137-47.
19. Tordato F, Cozzi Lepri A, Cicconi P, De Luca A, Antinori A, Colangeli V, et al. Evaluation of glomerular filtration rate in HIV-1-infected patients before and after combined antiretroviral therapy exposure. *HIV Med.* 2011; 12(1):4-13.

20. Fernando SK, Finkelstein FO, Moore BA, Weissman S. Prevalence of chronic kidney disease in an urban HIV infected population. *The American journal of the medical sciences*. 2008;335(2):89-94.
21. Jotwani V, Li Y, Grunfeld C, Choi AI, Shlipak MG. Risk factors for ESRD in HIV-infected individuals: traditional and HIV-related factors. *Am J Kidney Dis*. 2012;59(5):628-35.
22. Naicker S, Fabian J. Risk factors for the development of chronic kidney disease with HIV/AIDS. *Clinical nephrology*. 2010;74 Suppl 1:S51-6.
23. Plaisier E, Lescure FX, Ronco P. Rein et infection par le virus de l'immunodeficiency humaine [Kidney and HIV infection]. *Presse Med*. 2012;41(3 Pt 1):267-75.
24. Szczech LA, Gange SJ, van der Horst C, Bartlett JA, Young M, Cohen MH, et al. Predictors of proteinuria and renal failure among women with HIV infection. *Kidney Int*. 2002;61(1):195-202.

**Table 1. Baseline characteristics of 1,043 HIV-infected patients, by tenofovir exposure status at end of follow-up\***

		Exposed	Unexposed (exposed to other ARVs)	All
		<i>N</i> (%)	<i>N</i> (%)	<i>N</i> (%)
All		736 (70.6)	307 (29.4)	1043 (100)
Sex	Male	706 (95.9)	297 (96.7)	1,003 (96.2)
	Female	30 (4.1)	10 (3.3)	40 (3.8)
Race	White	679 (92.3)	279 (90.9)	958 (91.9)
	Black	17 (2.3)	12 (3.9)	29 (2.8)
	Other	40 (5.4)	16 (5.2)	56 (5.4)
Diabetes	Yes	27 (3.7)	19 (6.2)	46 (4.4)
	No	681 (92.5)	275 (89.6)	956 (91.7)
Hypertension	Yes	103 (14.0)	60 (19.5)	163 (15.6)
	No	605 (82.2)	234 (76.2)	839 (80.4)
Smoking	Never smoked	257 (34.9)	104 (33.9)	361 (34.6)
	Smoker	212 (28.8)	84 (27.4)	296 (28.4)
	Former smoker	180 (24.5)	87 (28.3)	267 (25.6)
Alcohol	No	75 (10.2)	31 (10.1)	106 (10.2)
	Former drinker	33 (4.5)	14 (4.6)	47 (4.5)
	Social drinker	516 (70.1)	221 (72.0)	737 (70.7)

	Alcoholic	57 (7.8)	24 (7.8)	81 (7.8)
Injection Drug Users	Yes	247 (33.6)	126 (41.2)	373 (35.8)
	No	273 (37.1)	115 (37.5)	388 (37.2)
Country of birth	Canada	643 (87.4)	272 (88.6)	915 (87.8)
	Other	88 (12.0)	32 (10.4)	120 (11.5)
Sexual orientation	Homosexual	625 (84.9)	263 (85.7)	888 (85.1)
	Heterosexual	69 (9.4)	26 (8.5)	95 (9.1)
	Other	28 (3.8)	11 (3.6)	40 (3.8)
Monthly income	≤ \$1,500/month	150 (20.4)	45 (14.7)	195 (18.7)
	> \$1,500/month	523 (71.2)	237 (77.2)	760 (72.9)
	Unknown	3 (0.4)	1 (0.3)	4 (0.4)
Type of employment	Full-time	348 (47.3)	152 (49.5)	404 (38.7)
	Other	284 (38.6)	120 (39.1)	500 (47.9)
Continuous variables		Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Age	Years	39.0 (33.9–44.8)	40.2 (34.5–46.2)	39.3 (34.0–45.2)
Duration of HIV infection	Years	6.54 (3.01–12.01)	6.47 (2.89–12.25)	6.50 (2.99–12.04)
Follow-up duration	Years	7.2 (3.0–9.5)	8.6 (4.8–9.6)	7.9 (3.4–9.6)
HIV RNA viral load	log <sub>10</sub> copies/mL	2,198 (49–46,887)	467 (49–37,040)	1,550 (49–42,285)
CD4 cell count		460 (300–673)	480 (320–840)	471 (310–680)
eGFR	mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	104.9 (94.2–113.1)	103.5 (93.4–112.2)	104.5 (93.8–112.9)

Abbreviations: eGFR, estimated glomerular filtration rate; IQR, interquartile range; n, number; TDF, tenofovir disoproxil fumarate.

\*Baseline characteristics determine at first HIV-related appointment on or after January 1, 2002. Diabetes and hypertension status were defined according to the diagnosis or related medication and data report the period-prevalence. Missing data not listed. Total frequencies may differ slightly from total number of patients.

**Table 2. Determinants of reduced kidney function: univariate and multivariate analysis using time-dependent Cox model\***

Variables*		Univariate		Multivariate	
		HR (95% CI)	<i>P</i>	Adjusted HR (95% CI)	<i>P</i>
Tenofovir exposure	Yes vs. no	1.33 (1.04–1.69)	0.024	<b>1.63</b> (1.26–2.10)	0.000
eGFR at baseline <sup>a</sup>	mL/min/1.73 m <sup>2</sup> (continuous)	0.92 (0.91–0.93)	0.000	<b>0.93</b> (0.91–0.94)	0.000
Age at baseline	Years (continuous)	1.07 (1.05–1.08)	0.000	<b>1.03</b> (1.01–1.05)	0.004
Sex	Female vs. male	0.86 (0.43–1.75)	0.683	1.59 (0.63–3.71)	0.305
Race	Black vs. other	0.36 (0.12–1.13)	0.079	0.74 (0.21–2.54)	0.630
Sexual orientation	Heterosexual vs homosexual	0.78 (0.50–1.22)	0.277	0.79 (0.44–1.40)	0.413
Monthly income	> \$1,500/month vs ≤ \$1,500/month	1.09 (0.82–1.45)	0.559	1.08 (0.76–1.55)	0.663
Type of employment	Full-time vs other	0.72 (0.55–0.93)	0.014	0.88 (0.64–1.22)	0.438
Alcohol consumption	No (ref.)	1.00			
	Former drinker	1.18 (0.60–2.33)	0.627	1.42 (0.71–2.87)	0.322
	Social drinker	1.44 (0.90–2.30)	0.131	1.39 (0.85–2.29)	0.193
	Alcoholic	1.79 (1.00–3.21)	0.050	<b>2.04</b> (1.11–3.73)	0.022

Smoking	Smoker/former smoker vs never smoked	0.87 (0.67-1.13)	0.290	0.76 (0.57-1.00)	0.053
Injection Drug Users	No vs Yes	1.11 (0.83-1.47)	0.482	1.04 (0.77-1.41)	0.792
Hypertension	Yes vs no	1.17 (0.82-1.67)	0.388	0.80 (0.53-1.20)	0.280
Diabetes	Yes vs no	1.03 (0.51-2.08)	0.482	1.31 (0.79-2.19)	0.301
Viral load <sup>b</sup> (log <sub>10</sub> copies/mL)	0–400 (ref.)	1.00		1.00	
	401–10,000	0.42 (0.22-0.83)	0.012	0.46 (0.23-0.91)	0.026
	10,001–99,999	0.47 (0.19-1.13)	0.093	0.54 (0.22-1.37)	0.196
	100,000 and over	3.84(0.54-27.56)	0.180	2.86 (0.36-22.94)	0.323
CD4 cell count <sup>c</sup>	0–200 (ref.)	1.00		1.00	
	200–499	1.39 (0.80-2.43)	0.241	1.22 (0.67-2.23)	0.512
	500 and over	1.22 (0.70-2.12)	0.484	1.09 (0.60–2.01)	0.776
NRTIs	Yes vs. no	0.38 (0.18–0.81)	0.012	<b>0.39</b> (0.18–0.86)	0.019
NNRTIs	Yes vs. no	0.78 (0.59–1.02)	0.070	0.97 (0.69–1.37)	0.877
FIs	Yes vs. no	1.36 (0.34–5.49)	0.665	0.64 (0.15-2.77)	0.553
EIs	Yes vs. no	0.91 (0.13–6.49)	0.925	0.57 (0.07-4.57)	0.597
INSTIs	Yes vs. no	0.89 (0.44–1.82)	0.751	0.68 (0.32-1.45)	0.320
PIs	Yes vs. no	1.41 (1.10–1.82)	0.007	<b>1.46</b> (1.07-2.01)	0.018



Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; *N*, number; *P*, *P* value; EIs, entry inhibitors (maraviroc); FIs, fusion inhibitors (enfuvirtide); INSTIs, HIV integrase strand transfer inhibitors (raltegravir); NRTIs, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (abacavir, didanosine, emtricitabine, lamivudine, stavudine, zalcitabine, zidovudine); NNRTIs, nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors (efavirenz, etravirine, delavirdine, nevirapine, rilpivirine); PIs, protease inhibitors (amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir, tipranavir).

\* Variables measured at baseline: eGFR, age, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, smoking and injection drug users (IDU) and time-dependent variables: tenofovir exposure, alcohol consumption, diabetes, hypertension, viral load, CD4 cell count and use of NRTIs, NNRTIs, PIs, FIs, EIs, and INSTIs.

Out of 1,043 patients, 198 were excluded because they had eGFR <90mL/min/1.73 m<sup>2</sup> at baseline, 24 were excluded because they were exposed to TDF for less than 3 months, 15 were excluded because they had a failure at the first visit. 806 patients were included. Outcome defined by 2 consecutive measurements of eGFR <90mL/min/1.73 m<sup>2</sup> at least 3 months apart.

<sup>a</sup>Baseline defined at first HIV-related condition appointment on or after January 1, 2002 and exposition to any ARV at the same time.

<sup>b</sup>Categorization of continuous variables based on clinical significance.

<sup>c</sup>Categorization based on World Health Organisation guidelines.

**Table 3. Determinants of prevalence of reduced renal function: univariate and multivariate analysis using GEE models\***

		Univariate		Multivariate	
		OR (95% CI)	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	<i>P</i>
Tenofovir exposure	Yes vs. no	1.84 (1.73–1.96)	0.000	<b>1.63</b> (1.48–1.79)	0.000
eGFR at baseline	mL/min/1,73 m <sup>2</sup> (continuous)	0.92 (0.91-0.92)	0.000	<b>0.93</b> (0.92-0.93)	0.000
Age	Years (continuous)	1.11 (1.10–1.12)	0.000	<b>1.06</b> (1.05–1.07)	0.000
Sex	Female vs. male	0.86 (0.51–1.47)	0.590	1.50 (0.88-2.54)	0.140
Race	Black vs. other	0.28 (0.11–0.67)	0.004	<b>0.39</b> (0.18–0.86)	0.019
Sexual orientation	Heterosexual vs homosexual	0.70 (0.48–1.01)	0.054	0.84 (0.58-1.21)	0.347
Monthly income	>\$1,500/month vs ≤ \$1,500/month	0.92 (0.71–1.19)	0.503	1.04 (0.82-1.33)	0.728
Type of employment	Full-time vs other	0.65 (0.52–0.80)	0.000	0.90 (0.73-1.10)	0.301
Smoking	Former smoker/smoker vs never smoked	0.74 (0.60-0.91)	0.005	0.73 (0.62-0.87)	0.000
Alcohol	No (ref.)	1.00		1.00	
	Former drinker	0.62 (0.34-1.13)	0.116	0.93 (0.60-1.51)	0.830
	Social drinker	1.01 (0.73-1.41)	0.933	1.17 (0.88-1.55)	0.293
	Alcoholic	1.16 (0.73-1.85)	0.532	<b>1.57</b> (1.07-2.28)	0.020
Injection drug user	No vs yes	1.32 (1.05-1.67)	0.017	1.09 (0.91-1.31)	0.359

Diabetes	Yes vs no	1.17 (0.96-1.43)	0.118	0.93 (0.73-1.20)	0.577
Hypertension	Yes vs no	1.56 (1.40-1.73)	0.000	1.06 (0.91-1.23)	0.473
Viral load <sup>a</sup> (log <sub>10</sub> copies/mL)	0–400 (ref.)	1.00		1.00	
	401–10,000	0.62 (0.56–0.70)	0.000	0.85 (0.81–1.01)	0.062
	10,001–99,999	0.71 (0.60–0.83)	0.000	0.86 (0.66–1.12)	0.254
	100,000 and over	0.90 (0.26–3.18)	0.873	1.21 (0.25–5.99)	0.813
CD4 cell count <sup>b</sup>	0–200 (ref.)	1.00		1.00	
	200–499	1.07 (0.95–1.20)	0.256	0.94 (0.79–1.11)	0.472
	500 and +	1.21 (1.07–1.36)	0.003	0.99 (0.83–1.19)	0.927
NRTIs	Yes vs. no	0.67 (0.55–0.81)	0.000	0.78 (0.58–1.04)	0.094
NNRTIs	Yes vs. no	0.73 (0.68–0.79)	0.000	0.98 (0.87–1.11)	0.774
FIs	Yes vs. no	1.08 (0.70–1.67)	0.735	0.74 (0.41–1.35)	0.324
EIs	Yes vs. no	1.69 (1.08–2.64)	0.021	0.59 (0.31–1.12)	0.107
INSTIs	Yes vs. no	1.80 (1.58–2.05)	0.000	<b>1.49</b> (1.22–1.83)	0.000
PIs <sup>d</sup>	Yes vs. no	1.69 (1.56–1.83)	0.000	<b>1.82</b> (1.61–2.05)	0.000

Abbreviations: CI, confidence interval; GEE, generalized estimating equation; OR, odds ratio; *P*, *P* value; EIs, entry inhibitors (maraviroc); FIs, fusion inhibitors (enfuvirtide); INSTIs, HIV integrase strand transfer inhibitors (raltegravir); NRTIs, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (abacavir, didanosine, emtricitabine, lamivudine, stavudine, zalcitabine, zidovudine); NNRTIs, nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors (efavirenz, etravirine, delavirdine, nevirapine, rilpivirine); PIs, protease inhibitors (amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir, tipranavir).

\*Multivariate model included variables measured at baseline: eGFR, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, smoking and injection drug users as well as time-varying variables: tenofovir exposure, age, alcohol consumption, diabetes, hypertension, viral load, CD4 cell count, NRTIs, NNRTIs, FIs, EIs, INSTIs and PIs. 1,043 patients were included in analysis because they had at least one eGFR measurement. Outcome defined by eGFR <90mL/min/1.73 m<sup>2</sup>.

<sup>a</sup>Categorization of continuous variables based on clinical significance.

<sup>b</sup>Categorization based on World Health Organisation guidelines.

**Table 4. Loss of eGFR: Crude mean, univariate and multivariate linear regression analysis, by TDF exposure**

Cumulative exposure	Exposed		Unexposed		Univariate linear regression analysis		Multivariate linear regression analysis**	
	N	Mean loss of eGFR* (CI 95%)	N	Mean loss of eGFR (CI 95%)	Loss of eGFR* attributable to TDF (CI 95%)	P	Adjusted loss of eGFR* attributable to TDF (CI 95%)	P
After 1 year	483	-3.31 (-5.02, -1.60)	389	-0.25 (-2.02, 1.51)	-3.08 (-5.55, -0.60)	0.015	<b>-3.05</b> (-5.55, -0.54)	0.017
After 2 years	358	-5.79 (-7.00, -4.58)	344	-1.66 (-3.22, -0.10)	-4.16 (-6.12, -2.20)	0.000	<b>-4.05</b> (-6.03, -2.08)	0.000
After 3 years	241	-6.44 (-8.00, -4.88)	283	-3.76 (-5.13, -2.38)	-2.75 (-4.75, -0.61)	0.009	<b>-2.42</b> (-4.57, -0.28)	0.023
After 4 years	149	-8.27 (-10.62, -5.92)	224	-5.14 (-7.80, -2.48)	-3.15 (-6.92, 0.61)	0.101	-3.09 (-6.98, 0.80)	0.119
After 5 years	78	-8.61 (-11.69, -5.53)	168	-7.73 (-9.51, -5.95)	-0.88 (-4.21, 2.45)	0.602	-0.12 (-3.59, 3.35)	0.946
After 6 years and +	32	-10.46(-15.43, -5.49)	143	-9.42 (-11.45, -7.39)	-1.05 (-5.90, 3.80)	0.671	0.32 (-4.55, 5.19)	0.898

Abbreviations: eGFR, estimated glomerular filtration rate (mL/min/1.73 m<sup>2</sup>); CI, confidence interval; P, P value.

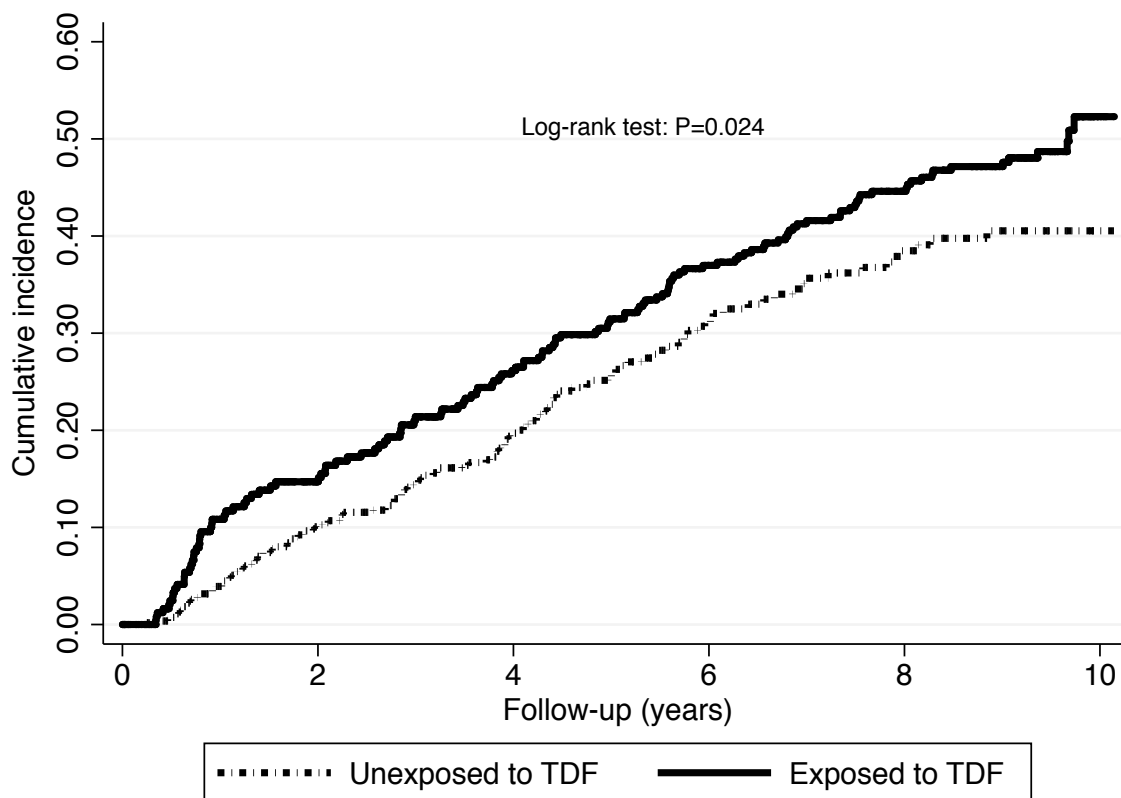
\*Loss of eGFR directly attributable to TDF exposure.

\*\*Empirical control of confounders was done using +/- 5% change in estimates Method (if the inclusion of the co-variable in the model changed the estimate by 5%, the variable was kept in the multivariate model) considering the following variables measured at the beginning of exposure (TDF or other ARVs):

eGFR, alcohol consumption as well as variables measured at baseline: age, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, smoking, and variable measured during follow-up (period-prevalence): IDU, diabetes, hypertension, use of NRTIs, NNRTIs, FIs, EIs, INSTIs and PIs. Variables (confounders) included in the model were: eGFR at baseline NNRTIs and PIs.

Patients with eGFR  $<90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$  at baseline were not excluded; 872 patients were included in this analysis because they had adequate measurement of eGFR at beginning of exposure (TDF or other ARVs) and were exposed at least one year.

Figure 1. Kaplan-Meier graph of cumulative incidence of reduced kidney function, stratified by antiretroviral exposure



\*Outcome defined as 2 consecutive measurements of eGFR < 90 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> at least 3 months apart. P, P value; eGFR, estimated glomerular filtration rate; TDF, tenofovir disoproxil fumarate.

### **3. Article 3: Atazanavir et autres déterminants de l'hyperbilirubinémie**

**Titre :** Atazanavir and other determinants of hyperbilirubinemia in a cohort of 1,150 HIV-positive patients: results from 9 years of observation

**Auteurs :** Claudie Laprise, Jean-Guy Baril, Serge Dufresne, Helen Trottier.

**État actuel de l'article :** Cet article a été publié dans la revue *AIDS Patient Care and STDs* (July 2013, 27(7): 378-386).

**Contribution de l'étudiante :** L'étudiante a participé au design de l'étude et à la collecte de données, a fait toutes les analyses et a participé à la rédaction du manuscrit sous la supervision d'Helen Trottier.

**Contribution des coauteurs :** Helen Trottier a participé au design, aux analyses et à la rédaction du manuscrit. Jean-Guy Baril et Serge Dufresne ont participé au design de l'étude, à sa conduite et à la collecte de données ainsi qu'à la réduction du manuscrit.



**Atazanavir and other determinants of hyperbilirubinemia in a cohort of 1,150 HIV-positive patients: results from 9 years of follow-up**

**Claudie Laprise, MSc, Jean-Guy Baril, MD, Serge Dufresne, MD, Helen Trottier, PhD**

**Word count (abstract):** 197 words

**Word count (text):** 3,208

**Figure/Table count:** 2 figures, 3 tables

**Correspondence and reprints**

Ms Claudie Laprise

**Running head**

Hyperbilirubinemia and Atazanavir

**Keywords:** Anti-HIV Agents; Atazanavir; Determinants; Cohort Studies; Hyperbilirubinemia; Incidence; Regression

**Abstract**

Hyperbilirubinemia is common among patients exposed to atazanavir (ATV), but its long-term significance is not well documented. The objective was to analyze hyperbilirubinemia (incidence, regression, determinants and outcome) among 1150 HIV-positive patients followed-up in a prospective cohort between 2003 and 2012. Cumulative incidence of hyperbilirubinemia grades 3-4 and its probability of regression were estimated using Kaplan-Meier Method. Cox proportional hazards model was used to study the determinants. Generalized estimating equation(GEE) regression was used to evaluate the association between hyperbilirubinemia grades 3-4 and adverse health outcome. Eight-years cumulative incidence of hyperbilirubinemia was 83.6%(95%CI:79.0-87.7) and 6.6%(95%CI:4.7-9.2) among ATV users and non users, respectively. This clinical outcome fluctuated considerably as most patients exposed to ATV (91%) regressed, transiently, to lower grade at some point during follow-up. Determinants were atazanavir(HR=147.90,95%CI: 33.64-604.18), ritonavir(HR=5.18,95%CI:2.33-11.48), zidovudine(HR=2.62,95%CI:1.07-6.46) and age(HR=1.04 95%CI:1.01-1.08). Alcohol consumption and others non-ART medications including hepatotoxic and recreational drugs were not available for analyses. Incidence of hyperbilirubinemia was very high among ATV users and although regression to lower grade was frequent in the clinical follow-up of these patients, this was usually transient as the mean level of bilirubin stayed at relatively high level. Importantly, long-term hyperbilirubinemia was not associated with adverse health outcome.

**Keywords:** Anti-HIV Agents; Atazanavir; Determinants; Cohort Studies; Hyperbilirubinemia; Incidence; Regression

## Introduction

Atazanavir (ATV), approved by U.S. Food and Drug Administration in 2003, is a protease inhibitor drug widely used in highly active antiretroviral therapies (HAART) of HIV-infected patients. According to United States Department of Health and Human Service (DHHS) guidelines, ATV is included in one of the fourth first line combination regimens for treatment-naive HIV-infected patients<sup>1</sup>. ATV is frequently associated with hyperbilirubinemia. It has been identified for its ability to inhibit bilirubin UDP-glucosyltransferase (UGT) enzymatic activity, leading to increase of unconjugated serum bilirubin, like other previously used protease inhibitors, such as Indinavir<sup>2,3</sup>. Clinical signs of jaundice and scleral icterus are most of the recognized consequences of hyperbilirubinemia and these esthetic consequences may lead ultimately to loss of adherence to treatment<sup>4</sup>.

Some authors have shown that the incidence of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4 (bilirubin elevation greater than 2.5 and 5 times upper limit of normal (ULN), respectively) can reach 44.6% to 49% in ATV users<sup>5,6</sup>. Use of ritonavir with ATV as a booster has also been identified as a major determinant of hyperbilirubinemia, since this antiretroviral increased plasma ATV concentrations<sup>6</sup>. Other risk factors may exacerbate hyperbilirubinemia in the context of ATV use such as low CD4 and, abnormal bilirubin at the beginning of the treatment as well as use of ribavirin (antiretroviral treatment used for hepatitis C). The UGT1A1 variant has also been associated to hyperbilirubinemia in ATV users<sup>7</sup>. On the other hand, being a female and use of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) (possibly related to the pharmacological interaction of atazanavir with efavirenz) have been associated with a protective effect against hyperbilirubinemia<sup>6,8-12</sup>.

Although hyperbilirubinemia is common in ATV exposed patients, there is a paucity of data regarding the long-term significance and the clinical epidemiology of this problem in a large cohort of HIV-infected patients. A previous randomized study with 96 weeks of follow-up showed that hyperbilirubinemia associated to boosted ATV was not a barrier to achieve virologic response and that it did not affect quality of life and adherence to ATV<sup>13</sup>. In an effort to document the long-term cumulative incidence of hyperbilirubinemia (grades 3 and 4) and its probability of regression to lower grade as well as to characterize the determinants of hyperbilirubinemia and its impact on health outcome, we conducted a 9 years follow-up cohort study among HIV-infected patients exposed to antiretroviral therapies (ARVs).

## **Methods**

### ***Patients and data collection***

#### ***Patients and data collection***

We used data from an open prospective cohort of 2,352 HIV-infected patients at the Clinique médicale du Quartier Latin in Montreal, Canada. A detailed description of the design and methods of the study has been published previously<sup>14</sup>. The cohort started in July 1997; recruitment and follow-up are still ongoing. All data were used initially to enhance follow-up and to better manage patients and participants did not receive money incentive. All participants signed an informed-consent form at enrollment, the first appointment related to their HIV diagnosis (100% of participation rate). As ATV was approved on June 20, 2003 by the U.S. Food and Drug Administration, follow-ups of patients (exposed and unexposed) were considered in this analysis only from June 20, 2003 to March 7, 2012. The study protocol was approved by the research ethics committee of Sainte-Justine Hospital in Montreal. Data

collected include sociodemographic information, a complete history of antiretroviral therapies (ARVs) and results of laboratory tests, such as CD4 cell counts, HIV viral load and total bilirubin (conjugated and unconjugated), which have generally been done every 3 months since July 1997. All clinical data were collected prospectively and retrieved in patient's medical chart, although certain socio-demographics data such as race, socioeconomic status and sexual orientation were gathered retrospectively by physician's survey.

### ***Measurement of ATV exposure status and other determinants***

The prescription of every ARV was documented with the starting and ending date in medical charts. ATV exposure was evaluated from the medical chart for every patient. Patients who had taken ATV alone or in combination for at least 3 months were considered to be exposed to ATV. Patients who were exposed to ATV less than 3 months were excluded. Patients exposed to any ARV therapies except ATV were considered to be unexposed. All patients became at risk on June 20<sup>th</sup> 2003 if they were exposed to any ARVs. All patients not exposed to ARVs or not entered in the cohort at that date entered in the analysis (became at risk) in the course of follow-up at the time they became exposed to any ARVs. For ATV exposure and for any ARV exposure, no measurement of medication adherence was available except the prescription and information on the starting and ending date. All ARV were considered in time-varying frame, based on prescriptions from the medical chart.

Viral load was categorised in four categories: 0-400 log<sub>10</sub> copies/ml, 401-10 000, 10 001-99 999 and 100 000 or more for modeling. CD4 cell count was also categorised in three categories: 0-200, 200-499 and 500 or more. Viral load, CD4 and bilirubin at baseline were defined at appointment at or after June 20 2003. Liver enzymes, aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) categorised as grade 1 to 4 (defined with 40 UI/L for

ULN at 1.25-2.5 X ULN, >2.5-5.0 X ULN, >5-10 X ULN and >10 X ULN, respectively) were also considered. Age at baseline, sex (male or female), race (Black, white and else), sexual orientation (heterosexual or homosexual), monthly income (under or over 1,500\$ by month) and type of employment (working full time or other kind of work), which are known to reflect global health and lifestyle, have been considered as potential determinants of hyperbilirubinemia.

## ***Outcomes***

### ***Hyperbilirubinemia***

Total bilirubin results were retrieved from medical chart and patients must had at least two measurements of total bilirubin to be included. Hyperbilirubinemia grades were defined at every visit on basis of ULN set to 1.2mg/dl. Grades 1, 2, 3 and 4 equal to >1-1.5 X ULN, >1.5-2.5 X ULN, >2.5-5 X ULN and >5 X ULN, respectively. As we considered that hyperbilirubinemia of grades 3 and 4 is of clinical relevance, failure (outcome) was defined as any bilirubin elevation to or by more than 2.5 X ULN. Two different definitions for hyperbilirubinemia outcome were defined: one for any occurrence of grades 3 and 4 (failure considered to occur after one measure of grade 3 or 4) and another one for persistent occurrence (failure was considered to occur only after 2 consecutive measures of grade 3 or 4 separated by at least 3 months).

### ***Adverse health outcome***

Adverse health outcome was defined using a composite measure of variables including: viral load, CD4, ALT and AST. Patient must have one of these conditions to be

considered as having developed health adverse outcome: viral load >400 HIV-ARN copies/ml, CD4<500 cell counts, ALT>=grade 3 or AST>=grade 3.

### ***Statistical analysis***

#### ***Incidence of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4***

The cumulative incidence of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4 was estimated using Kaplan-Meier technique according to exposure status (ATV exposure versus other ARVs exposure). Two different curves were estimated: one for any occurrence of grades 3 and 4 and another one for persistent occurrence (2 consecutive measures of grade 3 or 4 separated by at least 3 months). For both curves, patients were followed until a failure occurred or, for censored observations, the most recent recorded visit for which a total bilirubin measurement was available. We used the log-rank test to assess the significance of difference in incidences of hyperbilirubinemia between exposure status (ATV versus other ARVs).

#### ***Determinants of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4***

Determinants of hyperbilirubinemia have been analyzed with Cox proportional Hazard regression modeling with time-dependent variables (ATV exposure, every ARV individually, ALT, AST) and non time-dependent variables (age at baseline, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, viral load at baseline, CD4 at baseline). Hazard ratios (HR) and their respective 95% confidence intervals (CI) were estimated for the association between hyperbilirubinemia (occurrence defined with at least 2 consecutive measures of grade 3 or 4 separated by at least 3 months) and potential determinants. Variables with a p-value higher than 0.25 in univariate analysis were excluded in the final multivariate model, except if

they were considered of clinical significance or confounding (change the estimated relative risk by more than 10%). Interactions with efavirenz and ritonavir use have been also analyzed.

### ***Regression of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4***

Sub-analysis for patients who developed persistent hyperbilirubinemia (grades 3 and 4 for more than 3 months) was undertaken using Kaplan-Meier analysis to estimate the probability of regression to lower grade. In order to describe the long-term distribution of bilirubin among these patients, we also estimated the mean level of bilirubin after every 3 months following the development of persistent hyperbilirubinemia.

### ***Adverse health outcome***

To analyze whether or not patients who developed hyperbilirubinemia have a higher risk of developing health adverse outcome, we also undertook generalized estimating equation (GEE) logistic regression models, which is essentially a logistic regression that correlates outcome and exposures cross-sectionally by taking into account the clustering within each individual caused by the repeated-measurements design. In this approach, correlation between outcome event is treated as a nuisance variable allowing for inference based on the coefficients for the covariates in the model. Models incorporated an exchangeable correlation pattern for the repeated events. We estimated the adjusted odd ratios (OR) and their 95% CI for the association between this composite health adverse outcome and hyperbilirubinemia (categorised in 5 grades: from 0 to 4). In order to provide adjusted OR (control for potential confounding effect), possible confounders variables such as age, gender, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, age, CD4 and viral load and atazanavir,



efavirenz, ritonavir, lopinavir, lamivudine and zidovudine uses were included in the multivariate model .

All analyses were done using STATA SE version 11 (Stata, Corp.).

## **Results**

Out of 2352 patients, 1946 were followed after June 20 2003, 518 were excluded because they were not actively followed up at the clinic (had not been seen at least once in the last 2 years), 179 were excluded because they were not exposed to any ARVs, 55 were excluded because they were exposed to ATV less than 3 months and 44 were excluded because they did not have at least two measurements of total bilirubin. The baseline characteristics of the 1,150 patients included in the analysis are shown in Table 1. Stratification has been made according to ATV exposure measured at the end of follow-up (patients exposed to ATV in the course of follow-up versus patients exposed to all other ARVs except ATV). The median duration of exposure to ATV was 3.70 years (interquartile range (IQR): 1.88-5.02). Use of ritonavir among ATV users was common: 85.35% were exposed to ritonavir at the same time than ATV during the period of exposure.

The prevalences of hyperbilirubinemia of grade 3 or 4 at baseline were 6.4% in ATV users and at 0.3% in non users. The median time of follow-up was 6.6 years ((IQR): 3.5-8.2). The median age at baseline was 43.6 years and 4.1% of the cohort were women. The median number of bilirubin measurements per patient was 21 (IQR: 13-27) for ATV users and 18 (IQR: 9-25) for non users. The median time between bilirubin measurements was 97 days (IQR:84-126) for ATV users and 98 days (IQR: 84-126) for non users.

### ***Incidence of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4***

Cumulative incidence of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4 (failure defined as one measure of grade 3 or 4) after 1, 5 and 8 years of exposure to ATV were 30.1% (95% CI:23.5-38.0), 73.4% (95% CI:67.9-78.7) and 83.6% (95% CI:79.0-87.7), respectively (Figure 1A). The mean and the median time to develop hyperbilirubinemia after ATV exposure were 3.3 years (95% CI: 2.8-3.7) and 2.2 years (95% CI:1.6-2.8), respectively. Cumulative incidence in unexposed group (not exposed to ATV but exposed to any other ARVs) after 1, 5 and 8 years were 1.0% (95% CI:0.4-2.0), 3.5% (95% CI:2.4-5.1) and 6.6% (95% CI: 4.7-9.2), respectively. Log-rank test showed that the difference was statistically significant ( $P=0.000$ ). Overall, there were 237 incident cases of hyperbilirubinemia of grades 3-4 for 5512.05 person-years (incidence rate(IR)=43.0 per 1000 person-years; 95% CI: 37.9-48.9). In the ATV exposed group, 199 events occurred for 805.16 person-years (IR=247.2 per 1000 person-years; 95% CI:215.1-284.0) and for the unexposed group, 38 events occurred for 4700.20 person-years (IR=8.1 per 1000 person-years; 95% CI: 5.9-11.1).

Figure 1B shows the cumulative incidence of persistent occurrence of hyperbilirubinemia grades 3 and 4 (defined as at least two consecutive measures of grade 3 or 4 separated by at least 3 months), over the 9 years period, by exposure status. Cumulative incidence of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4 persisting for more than 3 months after 1, 5 and 8 years of exposure to ATV were 4.3% (95% CI: 2.1-8.9), 33.8% (95% CI: 27.9-40.7) and 46.8% (95% CI: 40.0-54.3), respectively. Cumulative incidences in unexposed group (unexposed to ATV but exposed to any other ARVs) after 1, 5 and 8 years were 0.1% (95% CI: 0.02-0.82), 0.3% (95% CI: 0.10-1.41) and 0.8% (95% CI: 0.27-2.43), respectively. The log-rank test indicated that the difference was statistically significant ( $P=0.000$ ). Overall, there were 99 incident cases of persistent hyperbilirubinemia of grades 3-4 for 6053.44 person-years

(IR=16.4 per 1000 person-years; 95% CI: 13.4-19.9). In the ATV exposed group, 95 events occurred for 1207.42 person-years (IR=78.7 per 1000 person-years; 95% CI: 64.3-96.2) and for the unexposed group, 4 events occurred for 4846.02 person-years (IR=0.8 per 1000 person-years; 95% CI: 0.3-2.2).

#### ***Determinants of hyperbilirubinemia grades 3 and 4***

Table 2 shows the results for the univariate and multivariate Cox proportionnal hazards regression model. ATV exposure increased substantially the risk of hyperbilirubinemia (adjusted HR=147.90,  $P=0.000$ ) compared to other ARVs exposure. Other determinants associated with an increased risk were older age at baseline (adjusted HR = 1.04,  $P=0.006$ ; each additional year of age at baseline increase the risk by 4%), use of ritonavir (adjusted HR=5.18,  $P=0.000$ ) and use of zidovudine (adjusted HR=2.62,  $P=0.035$ ). No interaction (modification effect) has been observed with efavirenz use or ritonavir use (results not shown).

#### ***Regression of hyperbilirubinemia of grades 3 and 4***

Figure 2A shows the probability of regression of patients with persistent hyperbilirubinemia grade 3/4 to lower grade (0, 1 or 2) stratified according to ARVs exposition. Among patients with persistent hyperbilirubinemia (grade 3 or 4), 91% of exposed to ATV regressed to lower grade at some points during follow-up. The median time to regress was 1.12 years (95%CI:0.71-1.46); which mean that 50% of the ATV users patients regress to lower grade after 1.12 years even if they were still exposed to ATV. However, the outcome was highly fluctuant because most patients who regressed have re-progressed to higher grade (3 or 4) later on. Figure 2B shows that the mean level of bilirubin following the first event of persitent hyperbilirubinemia stayed relatively high and constant through years of exposure to ATV. Interestingly, 100% of patients with hyperbilirubinemia (grade 3 or 4) who stopped

ATV drugs regressed to lower grade (figure 2A) after 1.98 years, with a median time of 0.64 year (95% CI: 0.22-1.05).

#### *Association of hyperbilirubinemia at adverse health outcome*

Table 3 shows the odd ratios (OR) and their 95% CI for the association between the hyperbilirubinemia and composite health adverse outcome. There was no association between the development of adverse health outcome and the presence of hyperbilirubinemia (risk of adverse health outcome was similar in all grades as all adjusted ORs were around 1 for all grades 1 to 4 compared to grade 0).

#### **Discussion**

In this study, we quantified the cumulative incidence of hyperbilirubinemia grade 3 or 4 among ATV users and non users. We also analyzed the probability and time for regression to lower grade for patient who developed hyperbilirubinemia grade 3 or 4 stratified according to ATV use as well as the determinants of hyperbilirubinemia and its clinical long term impact among HIV positive patients.

We observed a very high incidence of hyperbilirubinemia of grade 3 or 4 in ATV exposed patients. The incidence of hyperbilirubinemia of grade 3 or 4 were higher when we used the usual definition of outcome (failure considered to occur after one measure of grade 3 or 4) compare to persistent outcome (failure was considered to occur only after 2 consecutive measures of grade 3 or 4 separated by at least 3 months), 83.6% vs 46.8%, respectively after 8 years of follow-up. These long-term results indicated that most patients exposed to ATV developed hyperbilirubinemia of grade 3 or 4 at some point (83.6%) but also that this outcome fluctuated as only about half (46.8%) of patient developed persistent (at least 3

months) hyperbilirubinemia. Incidence reported by Torti et al. (estimated by using one measure of grade 3 or 4 as outcome) was 44.6% after a median time of 257 days(28). This is similar to our results as the cumulative incidence in ATV users after 1 year was 30.1%. However, our long-term follow-up cohort study shows that the development of hyperbilirubinemia was not only a short term side effect. Most of the patients after 8 years of exposition have developed hyperbilirubinemia. To our knowledge our study is the cohort with the longest follow-up that has reported on the risk of hyperbilirubinemia and showed that most of the patients will develop hyperbilirubinemia at some point (some relatively rapidly after ATV exposure whereas others after many years of exposition). The mean time to develop hyperbilirubinemia after ATV exposure was 3.3 years (%95CI: 2.8-3.7).

Cox modeling permitted to analyze the determinants of hyperbilirubinemia. Conservative control for confounding was applied. For example, hyperbilirubinemia of grade 3 or 4 at baseline was higher in ATV users compared to non users (6.4% vs 0.3%). The possible explanation we found for this difference at baseline was that ATV users were more likely to have been exposed to Indinavir (6.28% in ATV users vs 2.26% in non-users) which is known to cause hyperbilirubinemia by inhibiting UGT enzymatic activity in 25% of patients(34). We controlled for total bilirubine at baseline in our multivariate regression models.

Unsurprisingly, the association between hyperbilirubinemia and ATV was very strong (adjusted HR=147.90,  $P=0.000$ ). Other significant risk factors associated to hyperbilirubinemia were age at baseline, use of ritonavir and use of zidovudine. Ritonavir, a protease inhibitor commonly used with ATV as a booster, is known to increase ATV plasma concentration and is correlated to hyperbilirubinemia, as such as other proteases inhibitors

like lopinavir (31, 35). Zidovudine, a nucleoside analog reverse-transcriptase inhibitor (NRTI), is not known to be associated to hyperbilirubinemia; further investigations would be necessary before we can conclude on this possible relationship. Efavirenz did not have a protective effect in our multivariate analysis contrarily to what has been found in a case report(29). However, the HR estimated for the group of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTIs) in our multivariate analysis was protective although not statistically significant (adjusted HR=0.65,  $P=0.481$ ) (data not shown). Potential for interaction of efavirenz and ritonavir with ATV was also analyzed in our study but was not found. Female patients were also found to have a higher likelihood of hyperbilirubinemia although the results were not statistically significant. Conflicting results regarding sex have been described in the literature as some authors found a protective effect in women (28) whereas others described female sex as a factor associated with high ATV plasma concentrations and bilirubin level over 1.3 mg/dL (35).

Our results confirmed that hyperbilirubinemia grade 3 or 4 is a very common side effect of ATV use. Our results also shown that the clinical trajectory regarding bilirubin level of patients exposed to ATV fluctuated considerably as most patients regressed to lower grade at some point during follow-up. However, regressions are virtually transient as the mean level of bilirubin stayed relatively high following the development of hyperbilirubinemia. Importantly, hyperbilirubinemia was, as confirmed in the literature, reversible when ATV was stopped(25).

One important question about the development of hyperbilirubinemia is to know whether it is associated with the development of adverse clinical outcome. Our results indicated that hyperbilirubinemia was not associated with adverse outcome such as high viral

load, low CD4 cell counts or markers of hepatotoxicity (ALT/AST). McDonald et al, 2012 (36) also found no association between hyperbilirubinemia and the development of adverse health outcome. These authors also showed that there was no difference in quality of life or adherence to treatment between HIV-infected patients with and without hyperbilirubinemia.

Our study has many strengths. To our knowledge, this cohort study provides data using the longest follow-up time in the evaluation of hyperbilirubinemia with a substantial sample of patients. Furthermore, this is a real-life cohort including older patients, making the results more generalizable to a clinic-based cohort of HIV-positive patients. Our study has however also some limitations. The results can not be generalized to all HIV-positive patients given the low numbers of blacks and females patients in our study. Moreover, as the study was observational (not randomized), there is a potential for the presence of confounding by indication although we applied a conservative strategy as explained above to control for potential confounding bias. Residual confounding due to lack of information such as medication adherence or baseline health status is possible. Also, it would have been interesting to analyze the role of other determinants such as comorbidities, alcohol consumption, others non-ART medications, including hepatotoxic and recreational drugs, but it was not possible as these variables were not available. Also, as our objective was to describe the clinical implication of ATV we did not considered genetic mutations such as UGT1A1 in this study. Another limitation was the absence of information regarding the reason why ATV was interrupted, the icterus diagnosis and the adherence to treatment. Finally, a large number of patients were excluded from the analysis because they did not have a visit at the clinic within the last 2 years and subsequently, important data evaluated in this study were missing.

However, these patients were similar to the active patients in term of age, sex and CD4 count (data not shown).

Hyperbilirubinemia was a very common side effect of ATV exposure but fluctuation and regression to lower grade was also very common. Importantly hyperbilirubinemia was not associated with the development of adverse health outcome. There is no clinical indication for a change in the ATV therapy based on the development of hyperbilirubinemia, apart from the signs of jaundice and scleral icterus which are mostly esthetical symptoms.

## **FOOTNOTES**

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We are grateful to Dr. Pierre Côté and all the physicians of the Clinique Médicale du Quartier Latin who collected and managed cohort data. We would like to thank Lucie Height for managing the database and Louise Laporte for the quality of her data verification.

## **FUNDING SOURCES**

HT received a salary award (chercheur-boursier) from the Fonds de la recherche en santé du Québec and CL received a doctoral research award from the Canadian Institutes of Health Research (FRN: 96236).

## **AUTHOR DISCLOSURE**

CL has no conflicts of interest to declare. J-GB has served as a consultant and on advisory boards, has received speaker fees from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, ViiV Healthcare, Pfizer, Tibotec, Merck Canada, and Gilead Sciences, and is a member of institutions that have received research funding from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, ViiV Healthcare,



Boehringer Ingelheim, Pfizer, Roche, Tibotec, Merck Canada, and Gilead Sciences. SD has served as a consultant and on advisory boards, has received speaker fees from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, Janssen, Merck Canada, and ViiV Healthcare, and has received grants to attend conferences from Abbott, Bristol-Myers Squibb Canada, Merck Canada and ViiV Healthcare. HT has served as a consultant and on advisory boards and has received speaker fees and travel assistance from Merck-Frosst Canada, Glaxo SmithKline Pharmaceuticals, Belgium, and Gilead Sciences.

### **PREVIOUS PRESENTATION**

Portions of the contents of this manuscript were presented at the 21st annual Canadian Conference on HIV/AIDS Research in April 2012 in Montreal and an abstract was published in Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 23:119 supp. A, 2012

### **References**

1. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. Available at <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Section accessed April 12, 2013; F-1.
2. Zhang D, Chando TJ, Everett DW, Patten CJ, Dehal SS, Humphreys WG. In vitro inhibition of UDP glucuronosyltransferases by atazanavir and other HIV protease inhibitors and the relationship of this property to in vivo bilirubin glucuronidation. *Drug Metab Dispos*. Nov 2005;33(11):1729-1739.

3. Barrios A, Rendon AL, Gallego O, et al. Predictors of virological response to atazanavir in protease inhibitor-experienced patients. *HIV Clin Trials*. Jul-Aug 2004;5(4):201-205.
4. Hawkins T. Appearance-related side effects of HIV-1 treatment. *AIDS Patient Care STDS*. Jan 2006;20(1):6-18.
5. Johnson M, Grinsztejn B, Rodriguez C, et al. Atazanavir plus ritonavir or saquinavir, and lopinavir/ritonavir in patients experiencing multiple virological failures. *AIDS*. Apr 29 2005;19(7):685-694.
6. Torti C, Lapadula G, Antinori A, et al. Hyperbilirubinemia during atazanavir treatment in 2,404 patients in the Italian atazanavir expanded access program and MASTER Cohorts. *Infection*. Jun 2009;37(3):244-249.
7. Ribaud HJ, Daar ES, Tierney C, et al. Impact of UGT1A1 Gilbert variant on discontinuation of ritonavir-boosted atazanavir in AIDS Clinical Trials Group Study A5202. *J Infect Dis*. Feb 1 2013;207(3):420-425.
8. Kummer O, Mossdorf E, Battegay M, et al. Treatment of an atazanavir associated grade 4 hyperbilirubinaemia with efavirenz. *Gut*. Oct 2007;56(10):1477-1478.
9. Park WB, Choe PG, Song KH, et al. Genetic factors influencing severe atazanavir-associated hyperbilirubinemia in a population with low UDP-glucuronosyltransferase 1A1\*28 allele frequency. *Clin Infect Dis*. Jul 1;51(1):101-106.
10. Rodriguez-Novoa S, Martin-Carbonero L, Barreiro P, et al. Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS*. Jan 2 2007;21(1):41-46.

11. Rodriguez-Novoa S, Morello J, Barreiro P, et al. Switch from ritonavir-boosted to unboosted atazanavir guided by therapeutic drug monitoring. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Jun 2008;24(6):821-825.
12. Squires KE, Young B, Dejesus E, et al. Similar efficacy and tolerability of atazanavir compared with atazanavir/ritonavir, each with abacavir/lamivudine after initial suppression with abacavir/lamivudine plus ritonavir-boosted atazanavir in HIV-infected patients. *AIDS*. Aug 24;24(13):2019-2027.
13. McDonald C, Uy J, Hu W, et al. Clinical significance of hyperbilirubinemia among HIV-1-infected patients treated with atazanavir/ritonavir through 96 weeks in the CASTLE study. *AIDS Patient Care STDS*. May 2012;26(5):259-264.
14. Laprise C, Baril JG, Dufresne S, Trottier H. Association between tenofovir exposure and reduced kidney function in a cohort of HIV-positive patients: results from 10 years of follow-up. *Clin Infect Dis*. Feb 2013;56(4):567-575.
15. Zucker SD, Qin X, Rouster SD, et al. Mechanism of indinavir-induced hyperbilirubinemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Oct 23 2001;98(22):12671-12676.
16. Rodriguez Novoa S, Barreiro P, Rendon A, et al. Plasma levels of atazanavir and the risk of hyperbilirubinemia are predicted by the 3435C-->T polymorphism at the multidrug resistance gene 1. *Clin Infect Dis*. Jan 15 2006;42(2):291-295.

**Table 1. Baseline characteristics of 1,150 HIV-infected patients, by atazanavir exposure status at the end of follow-up\***

		Exposed to ATV	Unexposed to ATV	All
		<i>N</i> (%)	<i>N</i> (%)	<i>N</i> (%)
		<i>N</i> =389 (33.8)	<i>N</i> =761 (66.2)	<i>N</i> =1,150
Sex	Male	367 (94.3)	736 (96.7)	1,103 (95.9)
	Female	22 (5.7)	25 (3.3)	47 (4.1)
Race	White	339 (87.1)	562 (73.9)	901 (78.4)
	Black	15 (3.9)	13 (1.7)	28 (2.4)
	Else	12 (3.1)	40 (5.3)	52 (4.5)
Country of birth	Canada	326 (83.8)	536 (70.4)	862 (75.0)
	Else	36 (9.3)	81 (10.6)	117 (10.2)
Sexual orientation	Homosexual	319 (82.0)	607 (79.8)	926 (80.5)
	Heterosexual	34 (8.7)	64 (8.4)	98 (8.5)

	Else	22 (5.7)	20 (2.6)	42 (3.7)
Monthly income	<= 1500\$/month	63 (16.2)	125 (16.4)	188 (16.4)
	> 1500\$/month	275 (70.7)	448 (58.9)	723 (62.9)
	Unknown	0 (0)	4 (0.5)	4 (0.35)
Type of employment	Full time	174 (44.7)	298 (39.2)	472 (41.0)
	Else	150 (38.6)	242 (31.8)	392 (34.1)
ALT	Grade 0	331 (85.1)	651 (85.6)	982 (85.4)
	Grade 1	45 (11.6)	86 (10.9)	131 (11.4)
	Grade 2	11 (2.3)	17 (2.4)	28 (2.4)
	Grade 3	2 (0.5)	6 (0.8)	8 (0.7)
	Grade 4	0 (0)	1 (0.1)	2 (0.2)
AST	Grade 0	357 (91.2)	687 (90.3)	1044 (90.8)
	Grade 1	27 (6.9)	58 (7.6)	85 (7.4)
	Grade 2	4 (1.0)	11 (1.5)	15 (1.3)
	Grade 3	1 (0.3)	5 (0.7)	6 (0.5)
	Grade 4	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Hyperbilirubinemia	Grade 0	247 (63.5)	701 (92.1)	948 (82.4)
	Grade 1	70 (18.0)	49 (6.4)	119 (10.4)
	Grade 2	47 (12.1)	9 (1.2)	56 (4.9)
	Grade 3	24 (6.2)	1 (0.1)	25 (2.2)
	Grade 4	1 (0.3)	1 (0.1)	2 (0.2)
Continuous variables		Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Age	In years	43.9 (38.6-49.1)	43.6 (38.6-49.5)	43.6 (38.6-49.4)
Follow-up duration	In years	7.3 (4.2-8.2)	6.5 (3.0-8.1)	6.6 (3.5-8.2)
HIV-ARN viral load	(log <sub>10</sub> copies/ml)	134 (49-1004)	69 (49-873)	82 (49-936)
CD4 cell count	T-cell/mm <sup>3</sup>	390 (250-570)	410 (270-597)	410 (270-590)
Total bilirubin	mg/dl	1.0 (0.7-1.5)**	0.8 (0.6-0.9)	0.8 (0.6 -1.0)

Abbreviations: ALT, alanine transaminase enzyme; AST, aspartate transaminase enzyme; ATV, atazanavir; IQR, interquartile range.

\*Baseline characteristics determined when patients become at risk (on or after June 20, 2003). Missing data are not listed.

Total frequencies may differ slightly from total number of patients.

\*\*Baseline values of bilirubin were measured before the initiation of ATV.

**Table 2. Determinants of hyperbilirubinemia : Univariate and multivariate analysis using time-dependent Cox regression model\***

		Univariate		Multivariate	
Variables		HR (95% CI)	<i>P</i>	HR (95% CI)	<i>P</i>
Atazanavir exposure	Yes vs no	92.3 (33.93-251.20)	0.000	<b>147.90</b> (33.64-604.18)	0.000
Bilirubin at baseline <sup>a</sup>	Per mg/dl (continuous)	2.90 (2.04-4.14)	0.000	1.22 (0.82-1.80)	0.332
Age at baseline	Per years (continuous)	1.04 (1.001-1.05)	0.049	<b>1.04</b> (1.01-1.08)	0.006
Sex	Female vs male	1.06 (0.38-2.84)	0.913	2.70 (0.40-16.48)	0.293
Race	Black vs else	0.37 (0.05-2.67)	0.326	0.40 (0.04-3.81)	0.423
Sexual orientation	Heterosexual vs homosexual	0.40 (0.15-1.09)	0.071	0.27 (0.05-1.71)	0.128
Monthly income	>1500\$/month vs ≤1500\$/month	0.74 (0.43-1.27)	0.267	1.04 (0.55-2.32)	0.734
Type of employment	Else vs full time	1.14 (0.75-1.74)	0.544	1.42 (0.81-2.48)	0.217
Viral load at baseline <sup>b</sup>	0-400 (ref.)	1.00			

(log <sub>10</sub> copies/ml)	401-10000	1.79 (1.14-2.82)	0.011	1.46 (0.88-2.44)	0.143
	10001-99999	0.58 (0.18-1.84)	0.352	1.35 (0.39-4.59)	0.635
	100000 and +	1.50 (0.60-3.73)	0.386	3.22 (1.15-9.05)	0.026
CD4 at baseline <sup>c</sup>	0-200 (ref.)	1.00		1.00	
	200-499	1.00 (0.54-1.86)	0.989	1.81 (0.87-3.80)	0.115
	500 and +	0.87 (0.47-1.63)	0.667	1.54 (0.71-3.37)	0.275
ALT	Grade 3/4 vs grade 0/1/2	1.29 (0.18-9.26)	0.800	0.87 (0.09-8.45)	0.903
Use of efavirenz	Yes vs no	0.11 (0.04-0.30)	0.000	2.53 (0.85-7.48)	0.094
Use of lamivudine	Yes vs no	0.63 (0.38- 1.03)	0.065	1.34 (0.73-2.48)	0.344
Use of lopinavir	Yes vs no	0.10 (0.03-0.32)	0.000	1.78 (0.41-7.66)	0.441
Use of ritonavir	Yes vs no	9.98 (5.03-19.82)	0.000	<b>5.18</b> (2.33-11.48)	0.000
Use of zidovudine	Yes vs no	0.51 (0.26-0.99)	0.048	<b>2.62</b> (1.07-6.46)	0.035

Abbreviations: ALT, alanine transaminase; ATV, atazanavir; CI, confidence intervals; HR, hazard ratio; *P*, p-value.

\*Out of 1,150, 27 were removed because they had hyperbilirubinemia grades 3 or 4 at baseline. Outcome defined by two consecutive measures of hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (see text for details). Data are not shown for AST because of insufficient grade 3 and 4 observation during follow-up.

<sup>a</sup>Baseline defined at appointment at or after June 20 2003.



<sup>b</sup>Categorization of continuous variables were based on clinical significance.

<sup>c</sup>Categorization based on World Health Organisation guidelines.

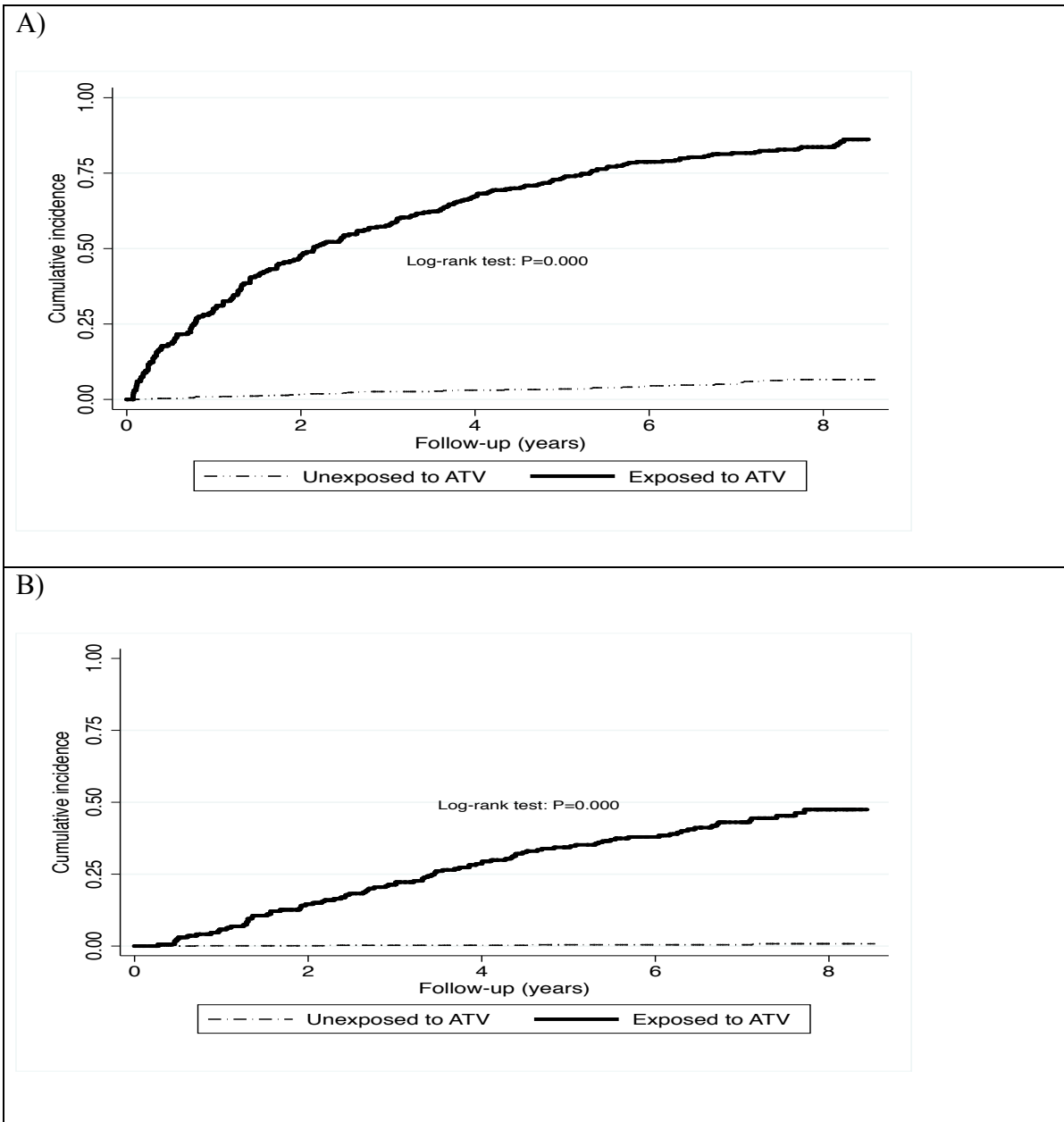
**Table 3. Association between persistent hyperbilirubinemia and composite health adverse outcome in HIV patients: Univariate and multivariate analysis with GEE model**

Hyperbilirubinemia	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	<i>P</i>	OR (95% CI)	<i>P</i>
Grade 0 (ref)	1.00		1.00	
Grade 1	1.08 (1.00-1.15)	0.041	1.02 (0.95-1.10)	0.529
Grade 2	1.23 (1.13-1.33)	0.000	1.07 (0.97-1.17)	0.195
Grade 3	1.25 (1.12-1.39)	0.000	1.04 (0.92-1.18)	0.523
Grade 4	1.20 (0.85-1.69)	0.307	1.08 (0.76-1.54)	0.671

Abbreviations: CI, confidence intervals; GEE, generalized estimating equation; OR, odds ratio; *P*, p-value.

\* Multivariate model included age, sex, race, sexual orientation, monthly income, type of employment, use of atazanavir, efavirenz, lamivudine, ritonavir and zidovudine.

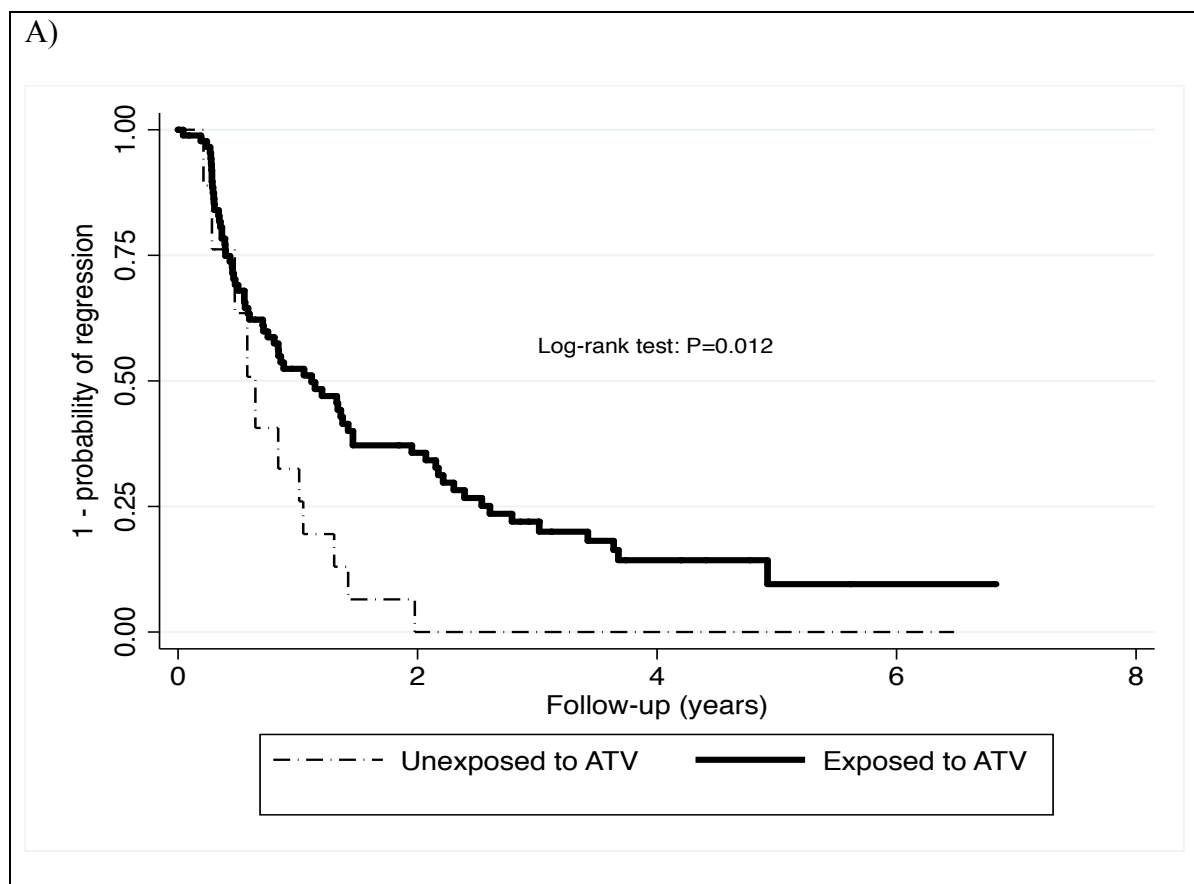
**Figure 1. Kaplan-Meier graph of cumulative incidence of A) hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (outcome defined as the first measure of grade 3 or 4) and B) persistent hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (outcome defined as at least two consecutive measures of hyperbilirubinemia grade 3 or 4 (>2.5X ULN))**

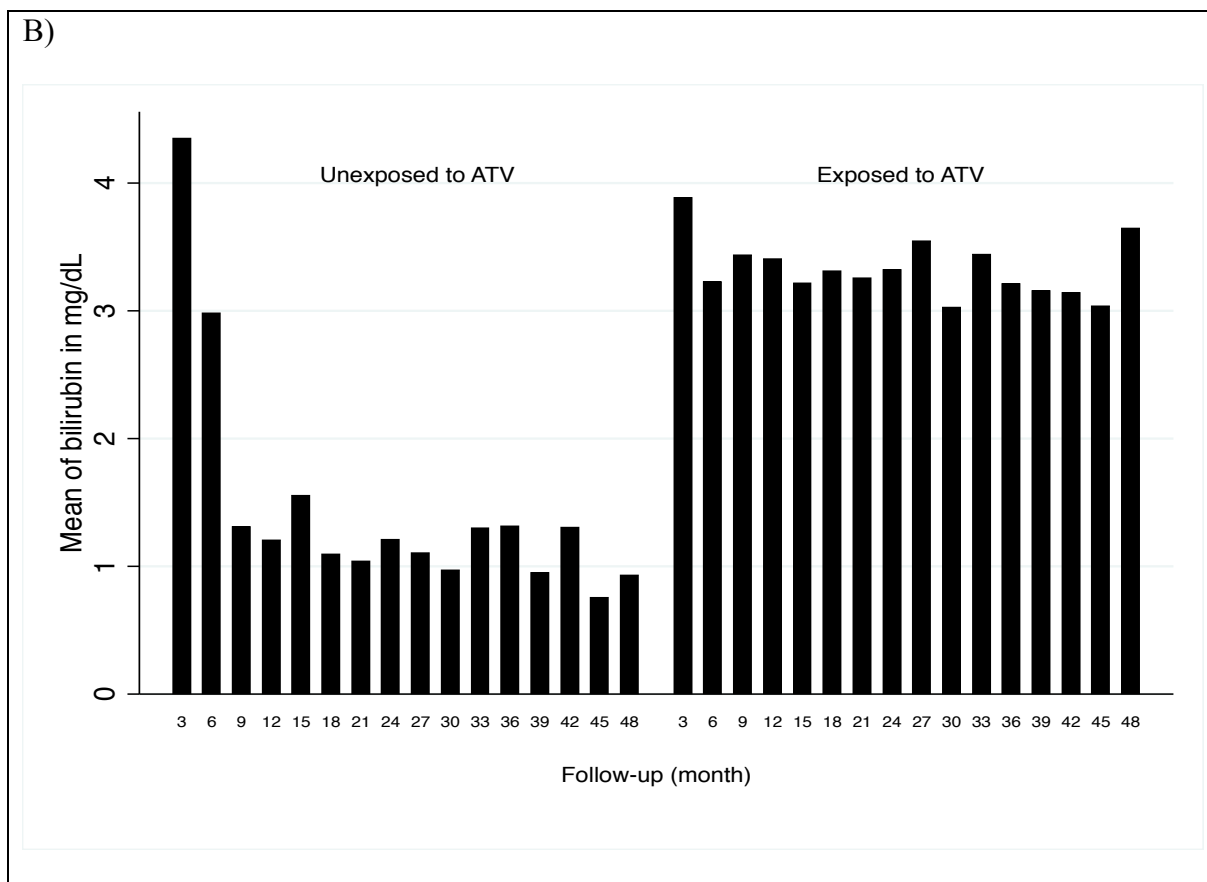


\*Out of 1150, 1122 has been used for analysis: 28 were excluded because they had the outcome at baseline.

ATV, atazanavir; P, p-value, ULN, upper limit normal.

**Figure 2. A) Probability of regression of patients with persistent hyperbilirubinemia grade 3 or 4 to lower grade, stratified by atazanavir exposure. B) Mean level of bilirubin at individual visits following the development of persistent hyperbilirubinemia\***





## Chapitre 4: Discussion et conclusion

---

Les problématiques cliniques reliées au management des patients infectés par le VIH sont nombreuses, particulièrement en ce qui concerne les effets secondaires et toxiques des thérapies antirétrovirales. Cette thèse a analysé trois différentes problématiques cliniques qui ont donné d'intéressants résultats en ce qui concerne les échecs virologiques des patients sous thérapie suite à une faible charge virale persistante, la perte de fonction rénale associée au ténofovir et l'hyperbilirubinémie associée à l'atazanavir. En premier lieu, les principaux défis de l'utilisation d'une cohorte basée en clinique sont abordés et s'ensuit une discussion sur la présence potentielle de biais d'information et de biais de sélection. En deuxième lieu, chaque problématique est revue en remettant les résultats obtenus en perspective avec la littérature et est abordée relativement à la validité interne et au regard des forces et faiblesses des analyses. La validité externe des résultats est également discutée, pour terminer avec la conclusion de cette thèse.

### 1. Les défis de la recherche épidémiologique avec une cohorte clinique

#### *1.1 Biais d'information*

Un des principaux défis de cette étude de cohorte basée en clinique a été de retrouver les informations manquantes chez les patients. Les données biochimiques et l'historique de traitement aux ARV étaient très détaillées, constantes et faites de façon systématique. Par

contre, les données socio-démographiques individuelles, les habitudes de vie, les comorbidités étaient quasi absentes. Malgré une stratégie rigoureuse mise en place, certains facteurs étaient hors de contrôle pour retrouver les informations souhaitées nécessaires aux trois projets. Par exemple, pour les patients VIH qui étaient inactifs, les médecins n'ont pu compléter les informations manquantes. Il est également arrivé que les questionnaires que devaient remplir les médecins reviennent incomplets. Un médecin qui soignait plus de 200 patients a refusé de participer. Dans toutes ces situations, plusieurs données sont restées manquantes. Dans ce contexte, les variables utilisées avaient un potentiel de biais d'information. Certaines données obtenues de façon rétrospective par le biais du questionnaire ont dû être recueillies une seule fois, à la date de l'interview, quand elles auraient dû l'être plusieurs fois tout au long du suivi parce qu'elles changeaient dans le temps (tabagisme, comorbidités, usage de drogues injectables). Il ne pouvait être assumé que ces variables n'avaient pas beaucoup changé dans le temps. D'autres étaient propices à une réponse non désirable socialement (orientation sexuelle, habitudes de vie). Les informations recueillies chez le patient concernant les données biochimiques sont également à risque, car la sensibilité et la spécificité des tests ne sont pas de 100 %. Un potentiel de classification différentiel, par contre, n'apparaît pas plausible puisque le patient et les interviewers ne connaissent pas les objectifs précis de la cueillette d'informations. Il n'était pas exclu cependant qu'un suivi plus serré de ceux qui avaient des charges virales particulièrement hautes ou de ceux qui prenaient tel ou tel médicament amène une recherche plus intense de l'issue chez les exposés et engendre donc un biais d'information différentielle. Ces différents biais d'information sont expliqués en profondeur pour chacun des articles dans la section 2 qui suit.

## ***1.2 Biais de sélection***

Les données manquantes ont donné lieu à l'utilisation de sous-groupes pour la cohorte de chacun des articles. Le fait de ne conserver que les patients actifs pour laisser supposer que ces patients étaient probablement des patients plus stables au niveau de leur maladie, plus en santé, qui avaient survécu à l'infection VIH et réagissaient plutôt bien aux ARV. Étant donné le contexte clinique, les patients VIH les plus affectés ou en moins bonne santé risquaient plus d'être hospitalisés et donc d'être suivis en milieu hospitalier plutôt qu'en milieu clinique. Comme mentionné précédemment, des centres hospitaliers à Montréal font du suivi de patients VIH. Il se peut que les perdus de vue se soient retrouvés hospitalisés, donc soient aussi en moins bon état. Ces biais de sélection sont expliqués en profondeur pour chacun des articles dans la section qui suit.

## **2. Article 1: Échec virologique à la suite d'une faible charge virale persistante**

L'article 1 présente les résultats de l'impact des faibles charges virales persistantes (LLV). Dans cet article, l'incidence de l'échec virologique défini à  $>1000$  copies/mL a été décrite chez les patients qui présentaient de faibles charges virales persistantes sur une période entre 6 et 12 mois comparativement aux patients qui demeuraient avec une charge virale indétectable. Les résultats ont montré des incidences cumulées supérieures chez les patients avec une LLV par rapport aux patients qui avaient des charges virales indétectables et une association positive entre la LLV et l'échec virologique. L'incidence cumulative de l'échec virologique sur une période de un an après une persistance qui avait duré 6 mois était de



22,7 % (95 % IC:14,9-33,6) pour les patients entre 50-199 copies/mL, 24,2 % (95 % IC:14,5-38,6) pour ceux entre 200-499 copies/mL et 58,9 % (95 % IC:43,1-75,2) pour ceux entre 500-999 copies/mL comparativement à 6,6 % (95 % IC:5,3-8,2) pour ceux qui avaient connu une charge virale indétectable (<50 copies/mL). Même après un ajustement conservateur des possibles variables de confusion, le modèle de Cox multivarié a montré un risque deux fois plus élevé pour une persistance de 6 mois entre 50-199 copies/mL (HR : 2,22; 95% IC:1,60-3,09) en comparaison avec une persistance de la même durée en bas de 50 copies/mL. Ces résultats ont été observés non seulement pour les différentes périodes de persistance étudiées, mais également pour toutes les catégories de persistance analysées. Cette étude a montré qu'il est possible qu'une charge virale persistante entre 50 et 200 copies/mL soit associée à l'échec virologique. Alors que le DHHS a établi l'échec viral à >200 copies/mL (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2013), les résultats de cette étude suggèrent un monitoring peut-être plus agressif face à une charge virale faible qui persiste au-delà des 50 copies/mL plus de 6 mois. Aucune recommandation n'a été formulée dans le DHHS pour les patients avec une charge virale se situant entre 50-199 copies/mL en raison de manque de données épidémiologiques sur le sujet. Les résultats de cette analyse apportent une lumière importante sur la prise en charge potentielle des patients qui ont une charge virale persistante entre 50-199 copies/mL.

Cette étude de cohorte a eu ses avantages et ses limites. Celle-ci a été particulièrement unique en son genre en raison du long suivi des patients qui a permis de voir la trajectoire de la charge virale à long terme et l'échec virologique à long terme sur un nombre important de patients. Il faut mentionner aussi que la persistance de faible charge virale n'est pas un phénomène fréquent, mais la taille d'échantillon de la cohorte a permis de regarder ce

phénomène et d'obtenir des résultats significatifs quoiqu'un échantillon plus large aurait permis d'avoir plus de précision autour des intervalles de confiance.

Les censures et les pertes au suivi par contre se doivent d'être discutées. Il est possible que les patients perdus en cours de suivi ne soient pas représentatifs de l'ensemble des patients de la cohorte. Par exemple, il est possible que ces cas soient en moins bon état de santé avec une charge virale élevée plus persistante et un risque plus important d'échec virologique. Ces patients pourraient avoir tendance à se diriger plutôt vers les hôpitaux pour leur suivi. Si un tel biais de sélection était survenu, nos résultats auraient sous-estimé probablement l'incidence de l'échec virologique dans nos groupes d'exposés et ce faisant, auraient sous-estimé les mesures d'associations réelles

Il y a aussi des possibles biais d'information concernant la mesure d'exposition. La façon de classifier les patients dans la bonne catégorie de persistance s'est voulue conservatrice. La stratégie privilégiée a consisté à classifier l'exposition selon la plus haute zone de persistance atteinte par le patient. Cette approche a permis d'avoir une catégorie de patients se situant entre 50-200 copies/mL la plus « pure » possible et d'exclure les patients qui ont progressé vers des catégories de charges virales persistantes plus élevées. Il est donc possible que l'incidence cumulée des échecs virologiques soit sous-estimée dans les groupes de charges virales persistantes plus faibles. De plus, les risques relatifs estimés ne peuvent être que sous-estimés puisque le biais d'information est non différentiel.

Pour contrôler le biais de confusion potentiel, une stratégie conservatrice de modélisation multivariée a été appliquée. En effet, une multitude de variables (âge, sexe, utilisation d'autres ARV, date d'infection au VIH, etc.) ont été testées empiriquement dans les

modèles pour s'assurer d'un contrôle adéquat de la confusion potentielle. Par contre, malgré cette stratégie, il est possible qu'il ait persisté de la confusion. Par exemple, il est possible que les groupes de patients diffèrent pour une variable non considérée et que cette variable agisse en tant que variable de confusion. Il est aussi possible qu'il reste un effet de confusion pour les variables considérées pour lesquelles il y avait beaucoup de données manquantes comme c'est souvent le cas dans les études de cohortes (les données sociodémographiques comme la race par exemple). La présence d'interaction en fonction de l'âge a aussi été analysée (information non donnée dans l'article) et aucune différence n'a été trouvée en comparant les moins et les plus de 40 ans et les moins et les plus de 50 ans.

Il est important aussi de noter que cet article ne s'est pas intéressé aux raisons de la persistance des charges virales en haut de 50 copies/mL ou encore aux résistances qui auraient pu être développées durant cette période, mais plutôt au risque qu'elle procure de développer un échec virologique. Cette étude a plutôt voulu apporter de nouveaux résultats sur le devenir des patients qui connaissent une persistance de faible charge virale. En d'autres mots le but de l'analyse a été de montrer l'impact possible de la faible charge virale persistante sur le risque d'échec virologique, sans avoir pour but d'expliquer le pourquoi de cette persistance. Par exemple, une persistance de faible charge virale pourrait s'expliquer par une interruption de traitement dans les mois précédents la reprise de la thérapie qui va éventuellement se résorber lorsque la potentialisation des médicaments repris sera atteinte. Cette potentialisation prend généralement quelques mois. Quoiqu'il faut noter que ces interruptions de traitement sont rares, il pourrait expliquer certaines persistances au niveau de charges virales de faible amplitude qui ne perdure généralement pas plus de quelques mois. Il est peu probable que ces

cas soient inclus dans l'analyse comme les analyses regardent l'effet de la persistance de plus de 6 mois, plus de 9 mois et aussi de plus de 12 mois.

Une autre limite concerne l'absence d'information sur la prise réelle de la médication ou plus communément, l'adhérence au traitement. Il faut comprendre que les prescriptions inscrites au dossier ne sont pas exactement représentatives de la prise réelle du médicament. Cette méthode de mesure demeure un excellent indicateur de ce à quoi le patient est exposé, mais reste que seul le patient sait ce qu'il prend et la façon dont il les prend. Il est aussi possible que le patient ait des épisodes dans son historique de traitement où il ne semble exposé à aucun ARV, mais que ceci s'explique par des arrêts de prise de médicaments ou encore parce que le patient a obtenu une prescription ailleurs, le patient a des réserves et n'a pas renouvelé dans les délais, la prescription n'est pas inscrite au dossier, mais a été remise au patient. Quoique certaines mesures cliniques sont priorisées pour favoriser l'adhérence (vérification avec le patient de l'adhérence au traitement, dosage plasmatique des ARV, vérification des interactions médicamenteuses possibles), l'absence d'information détaillée devant la prise réelle de médication est une réalité. Il n'a pas été possible de documenter la cause potentielle de l'échec virologique, c'est-à-dire trouver si la persistance était due à un arrêt/interruption de traitement (problème d'adhérence par exemple) ou si le patient suivait sa ART, mais qu'elle était maintenant inefficace. Dans ce contexte, le terme "loss of virologic response"(TLOVR) aurait pu être utilisé au lieu d'échec virologique. En effet, le terme TLVOR suggère une montée de charge virale, peu importe la raison (ce qui peut inclure les arrêts de traitement ou l'inefficacité des traitements) alors que l'échec virologique sous-entend plutôt que l'ART est toujours prise, mais qu'elle ne fonctionne plus. Le fait d'avoir utilisé une définition libérale de l'échec virologique (qui correspond au TLOVR) peut amener une

surestimation de l'incidence des « vrais » échecs virologiques dans notre cohorte. Par contre, il n'y a pas lieu de penser que ce phénomène est différentiel entre les groupes d'expositions et que les risques relatifs estimés pourraient être biaisés à la hausse.

### **3. Article 2: Association entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale à long terme**

Dans cet article, l'association entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale a été analysée et a amené de nouveaux résultats au débat scientifique. Le long suivi de nos patients, une des grandes forces de l'étude, a permis de porter attention à l'utilisation du TDF à long terme, mais également sur la quantification de cette perte. Les résultats ont montré une association positive entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale (HR=1.63; 95% IC:1.26–2.10). Quelques autres auteurs (Mocroft et al, 2010; Post et Holt, 2009; Scherzer et al, 2012; Tordato et al, 2011) ont également obtenu des résultats similaires avec des cohortes au suivi généralement plus court.

Une des grandes avancées de l'analyse présentée dans cette thèse est la quantification de la perte de fonction rénale en fonction des années d'exposition au TDF. Pour la première fois, cette étude a été en mesure de quantifier la perte à travers les années d'exposition. La quantification cumulative de la perte rénale directement attribuable au TDF après 1, 2, 3 et 4 ans d'exposition étaient respectivement de -3.05 ( $P=0.017$ ), -4.05 ( $P=0.000$ ), -2.42 ( $P=0.023$ ), et -3.09 mL/min/1.73m<sup>2</sup> ( $P=0.119$ ), montrant ainsi que la perte est survenue majoritairement durant la première année d'exposition. Il semble donc que la perte ait été non substantielle et

soit survenue principalement en début de traitement. Les résultats de cette thèse sont rassurants et contribuent à diminuer l'anxiété quant au fait de laisser un patient exposé au TDF pendant plusieurs années. La revue systématique et méta-analyse de Cooper et al en 2010, regroupant entre autres 9 essais cliniques randomisés avec des temps moyens de suivi de 48 semaines a d'ailleurs quantifié une perte semblable à celle établie dans cette étude soit  $-3.72 \text{ mL/min/1.73m}^2$ , mais ces études n'avaient pas regardé la perte à long terme.

Malgré le long suivi, cette étude a certaines limites à considérer. D'abord, les patients inactifs (qui n'avaient pas été vus à la clinique depuis 2 ans) ont tous été exclus en raison des données manquantes importantes les concernant. L'exclusion de ces patients peut avoir engendré un biais de sélection. Il fallait avoir la race pour calculer la eGFR et cette donnée était fortement manquante chez les patients inactifs et non indiquée dans les dossiers. Pour voir si les patients exclus étaient différents, certaines de leurs caractéristiques à l'entrée dans la cohorte (charge virale et CD4) ont été comparées avec celle des patients non exclus. Les CD4 de départ étaient très similaires (médiane de 480 (écart interquartile (EIQ):260-900) pour les patients inclus comparativement à 471 (EIQ: 310-680) pour les patients exclus). Par contre, la charge virale de départ était légèrement différente (médiane de 1550 copies/mL (EIQ: 49-42285) pour les patients inclus comparativement à une médiane de 2506 (EIQ:49-27851) pour les patients exclus. Cette différence peut laisser croire que les patients exclus étaient en moins bonne santé et donc qu'il est possible qu'un biais de sélection entache la validité des résultats.

L'issue utilisée dans notre étude était l'eGFR  $<90 \text{ mL/min/1.73m}^2$ , ce qui n'est pas l'issue relative à une toxicité rénale chronique telle que définie dans la littérature, mais bien relative à une perte de fonction rénale. Pour vraiment évaluer une toxicité proprement dite, il aurait fallu

avoir accès aux analyses d'urine ou la quantification de protéines dans l'urine pour l'évaluer. Pour parler de maladie rénale chronique de stade 1, l'eGFR doit être  $<90\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  et accompagnée de dommages aux reins, d'anormalités dans l'urine ou dans le sang. Il aurait été aussi idéal d'utiliser comme issue une définition claire de la maladie chronique rénale soit  $<60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ , telle qu'établie par The National Kidney Foundation, mais étant une cohorte suivie en clinique, cet événement arrive trop rarement et nécessite l'intervention (changement d'ART par exemple) avant d'en arriver à ce seuil.

Il est important aussi de mentionner qu'il y a eu en 2005 un changement sur les tests de laboratoire de la mesure de la créatinine. La calibration de cette dernière ne s'effectuait plus de la même façon (creatinine-IDMS). Cette nouvelle calibration a influencé les nouvelles mesures qui ont avec le changement induit une tendance des résultats légèrement à la hausse. Il est improbable que cela ait pu affecter les risques relatifs établis par le modèle de Cox et le GEE, car tous les patients exposés ou non en ont été affectés de la même façon. La perte moyenne de fonction rénale calculée en régression linéaire a pu sous-estimer la perte par rapport aux mesures d'avant et d'après 2005 de chacun des groupes séparément, mais au final, la différence de perte moyenne entre exposés et non-exposés ne s'en trouvait pas affectée.

Un ensemble important de facteurs de confusion potentiels identifiés dans la littérature ont été considérés lors des analyses. Par contre, l'ajustement pour certaines variables a été grossier. Par exemple, pour contrôler la confusion possible relative à l'infection à différentes hépatites et spécialement le type C, la variable « utilisation de drogues injectables » a dû être utilisée comme proxy (en raison des données manquantes sur le statut d'hépatite). Aussi, il a été impossible de contrôler pour certaines variables pour lesquelles aucune information n'avait été collectée. Par exemple, il a été impossible d'ajuster pour le fait que le patient soit naïf ou

non à l'entrée dans la cohorte. Également, toutes les interactions médicamenteuses possibles n'ont pas été vérifiées, seulement celles identifiées clairement dans la littérature. Il est donc possible que certaines interactions encore inconnues jusqu'à maintenant aient pu influencer les résultats. De la confusion par indication aurait également pu être un problème (ex : le TDF est prescrit à des gens susceptibles de mieux y réagir). Il est toujours possible que de la confusion résiduelle demeure dans nos analyses.

Les résultats ont montré un effet protecteur de la race noire sur la perte d'eGFR alors qu'il est connu que la population noire est plus à risque de perte de fonction rénale. Il est fort plausible que cette association trouvée provienne en partie du fait que le calcul de l'eGFR est pondéré à la hausse pour les noirs. Une autre étude a regardé le rôle de la race sur l'eGFR et a trouvé les mêmes résultats (cohorte D:A:D (Ryom et al, 2012)).

De plus, étant donné que le TDF est reconnu pour potentiellement créer des problèmes aux reins, il est plausible de penser que les patients traités au ténofovir aient été suivis de plus près quant à leur condition rénale. Si tel est le cas, une meilleure documentation de l'issue pourrait être survenue dans le groupe d'exposés au ténofovir et donc engendrer un biais d'information différentielle. Pour vérifier ce problème potentiel, le temps médian entre les mesures de créatinines de chacun des groupes a été investigué et des temps médians similaires ont été observés (97 jours entre les mesures pour les exposés au ténofovir et 98 jours entre les mesures pour les non-exposés).



#### **4. Article 3: Atazanavir et autres déterminants de l'hyperbilirubinémie**

Dans cet article, la relation entre l'utilisation de l'ATV ainsi que d'autres déterminants possibles avec l'hyperbilirubinémie a été explorée. Il est connu dans la littérature que l'hyperbilirubinémie est un effet secondaire fréquent et commun associé à l'utilisation d'ATV qui occasionne un ictère sclérotique pouvant être dérangeant esthétiquement pour le patient. Même si le phénomène est bien connu, il y a très peu de données épidémiologiques et cliniques à long terme sur les déterminants et l'impact de l'hyperbilirubinémie. L'incidence cumulée après 8 ans de suivi était de 83.6 % (95 % IC:79.0-87.7) chez les exposés comparativement à 6.6 % (95 % CI:4.7-9.2) chez les non-exposés. L'ATV s'est avéré, sans surprise, un déterminant majeur (HR=147.90, 95 % CI: 33.64-604.18), mais d'autres également ont été observés comme l'utilisation de ritonavir (HR=5.18, 95 % CI:2.33-11.48), de zidovudine (HR=2.62, 95 % CI:1.07-6.46) et l'âge (HR=1.04 95 % CI:1.01-1.08). L'utilisation de ritonavir avait déjà été soulevée ((1)Rodriguez-Novoa et al, 2008). L'utilisation de zidovudine a été soulevée pour la première fois et reste à investiguer, car aucun mécanisme pharmacologique n'explique pour l'instant sa relation avec l'hyperbilirubinémie.

Le but était de décrire adéquatement l'hyperbilirubinémie à long terme, trouver des variables cliniques qui pourraient expliquer son apparition mis à part l'ATV et surtout, évaluer si l'hyperbilirubinémie a un impact sur la santé à long terme. Tout ceci a été fait dans un but d'améliorer les pratiques cliniques et de guider les cliniciens dans leurs décisions.

Pour cette étude-ci aussi, les patients actifs seulement ont été analysés. Par contre, les patients qui ont été exclus étaient similaires en terme d'âge, de sexe et de CD4 à l'entrée dans

la cohorte. Les charges virales avaient été investiguées auparavant et montraient que les patients exclus étaient peut-être en moins bonne santé que les patients inclus. Il est donc possible que l'on sous-estime l'ampleur de l'hyperbilirubinémie dans cette étude ayant peut-être exclu les patients les plus malades. L'analyse concernant l'impact à long terme de l'hyperbilirubinémie sur l'état de santé (score composite de santé) peut avoir été également biaisée par l'exclusion de patients. En effet, si les patients exclus étaient en moins bonne santé, les exposés exclus étaient peut-être plus susceptibles de développer ces effets. Il est également possible que les patients ayant développé des effets indésirables au niveau des ALT, AST, ou des charges virales très élevées aient été des observations censurées pour diverses raisons : hospitalisation, décès, perte de vue, changement d'endroit pour le suivi en milieu hospitalier. Il est donc possible d'avoir sous-estimé cette association, quoi que McDonald et al, en 2012, la seule étude retrouvée sur le sujet, arrivait sensiblement aux mêmes résultats, que l'hyperbilirubinémie n'était pas associée à des issues négatives cliniques pour les patients, sur une moins longue période de temps (96 semaines).

Une autre limite importante était le contexte clinique du développement de l'hyperbilirubinémie. L'apparition de l'ictère sclérotique aurait-il pu être une raison d'arrêt de traitement ou aurait-il pu provoquer un manque d'adhérence par exemple quoique McDonald et al, 2012, ont montré que non. Dans le contexte de cette étude, cette information (adhérence) n'était pas disponible et n'a pas pu être étudiée.

## 5. Validité externe

Il convient également de discuter de la validité externe de cette étude. La cohorte analysée était composée majoritairement d'hommes blancs, pour la plupart homosexuels, avec une proportion importante d'utilisateurs de drogues injectables, suivis en clinique médicale. La population de référence visée dans ce type d'étude est idéalement la population des personnes atteintes du VIH. La provenance de la cohorte via une clinique médicale porte à croire que la population incluse dans cette thèse est peut-être plus en santé que la population générale de personnes vivant avec le VIH, car elle a été suivie en clinique médicale (excluant les patients suivis en milieu hospitalier). Par contre, les caractéristiques sociodémographiques des personnes atteintes du VIH dans les pays industrialisés étaient comparables à celles de la cohorte à l'étude. Au Canada, selon l'Agence de la santé publique, environ 50 % de toutes les personnes vivant avec le VIH au Canada sont des hommes homosexuels ou ayant des relations sexuelles avec des hommes tandis que 20 % sont des utilisateurs de drogues injectables (Agence de la santé publique, 2011). Aux États-Unis, les homosexuels, les bisexuels et autres hommes ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes (HARSAH) peu importe la race, restent également la population la plus affectée par l'infection VIH. En 2010, les HARSAH comptaient pour 78 % des nouvelles infections VIH chez les hommes et en 2009, 52 % des personnes vivant avec le VIH étaient des HARSAH, ce qui est très comparable avec la situation canadienne ((1) Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2012; (2) Centers for Disease Control and Prevention, 2012). Les pays nord-américains partagent donc les mêmes facteurs de risque que la cohorte à l'étude.

Il serait difficile d'appliquer ces résultats dans les pays endémiques ou en voie de développement. Si l'attention se portait sur l'Afrique subsaharienne par exemple, une région du

monde particulièrement touchée par l'infection VIH, les facteurs de risque de l'infection sont différents. Une grande majorité des cas incidents sont dus à des rapports hétérosexuels non protégés avec plusieurs partenaires, ainsi qu'à la transmission verticale soit de la mère à l'enfant. Les femmes représentent d'ailleurs plus de 60 % des personnes vivant avec le VIH dans cette région (United Nations, Economic Commission for Africa, 2008). L'accès aux ARV et aux soins ainsi que suivis cliniques pour l'infection sont également réduits par rapport aux pays industrialisés.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse ne peuvent donc se généraliser uniquement qu'aux personnes atteintes du VIH suivies en clinique dans les pays industrialisés, qui ont sensiblement les mêmes facteurs de risque que la cohorte à l'étude, soit le fait d'être un homme blanc ayant des relations sexuelles avec un autre homme et faisant l'utilisation de drogues injectables.

## **6. Conclusion**

Les soins donnés dans le domaine du VIH sont en constant développement et connaissent une évolution particulièrement rapide. Dans un milieu où beaucoup de données basées sur des évidences scientifiques sortent dans la littérature, il devient parfois difficile pour le clinicien et le patient de s'y retrouver. Les lignes directrices du DHHS, entre autres pour la conduite clinique avec les patients VIH, restent une référence dans le domaine et elles sont faites spécialement pour assister le médecin et lui fournir des outils pour donner la meilleure information au patient et prendre une décision de traitement optimale avec celui-ci.

Les projets réalisés dans le cadre de cette thèse voulaient particulièrement apporter des données à ce niveau.

La première étude a voulu mieux comprendre les conséquences de la LLV en rapport avec les échecs virologiques. Présentement, aucune recommandation ne fait partie des lignes directrices du DHHS pour les patients avec une LLV entre 50 et 200 copies/mL par manque d'études épidémiologiques répondant directement à cette question. La décision repose sur le médecin traitant. Le but premier de cet article était de devenir une référence pour l'établissement de ces lignes directrices pour qui les données probantes manquent. La raison d'être des lignes directrices est de fournir un outil au médecin traitant sur les options de traitements à un patient dans une situation particulière, dans ce cas à informer celui-ci des conséquences d'une LLV. Une autre raison de vouloir contribuer à l'établissement des lignes directrices et de contribuer à la qualité des décisions cliniques est d'uniformiser la pratique quant aux LLV, pour que chaque patient, où qu'il soit, profite du meilleur traitement, de la meilleure option pour réduire ses chances de morbidité et de mortalité reliées au VIH. À la lumière de nos résultats, il a été montré que les risques élevés d'échec virologique étaient réels dès la première année suivant cette persistance, même si la charge virale persistait entre 50 et 200 pendant seulement 6 mois. Pour ces patients présentant une LLV, particulièrement celle entre 50 et 200 copies/mL, et aussi pour le médecin traitant, la décision de changer de thérapie ou d'attendre et d'observer la trajectoire de la charge virale dans le temps reste difficile, car les conséquences d'une ou l'autre de cette décision se reflète directement sur le patient. Chaque cas est particulier et doit être considéré dans son entier lors de la prise de décision, mais le fait de se diriger vers l'échec virologique va conduire au redoublement de vigueur pour la prévention en insistant sur l'adhérence par exemple, un facteur très important de la réussite du

traitement. Cette étude a aussi montré qu'il était possible après une LLV d'atteindre l'indétectabilité de nouveau. Dans le but d'amener de nouveaux résultats pouvant avoir un impact significatif sur les conduites cliniques à adopter en pratique, cette étude a du moins présenté une nouvelle facette de la LLV, celle d'une association avec l'échec virologique.

La deuxième étude a montré que malgré tout, la perte de fonction rénale observée dans cette cohorte de patients suivis en clinique a été relativement modérée dans une perspective à long terme. Une détérioration marquée, continue et évoluant vers des stades plus élevés de perte de fonction rénale au fil des années n'a pas été observée. Compte tenu de ces observations, on peut penser que les effets néfastes du TDF sur le rein à long terme ne sont pas sévères et que les bénéfices engendrés par cette thérapie sont probablement plus grands que le dommage rénal attendu chez ces patients. Un débat est actuellement en cours sur l'utilisation de ténofovir et la perte de fonction rénale et l'incertitude du médecin sur la bonne décision à prendre se présente devant un tel débat. Beaucoup d'études sont présentes dans la littérature concernant le rein et l'utilisation de ténofovir, mais cette étude a voulu apporter de nouveaux éléments soit le risque de perte de fonction rénale à long terme et surtout la quantification de cette perte au fil du temps. Le but premier est le bien-être du patient et étant donné que cette perte semble se stabiliser dès les premières années, le médecin pourra informer le patient de la situation et suggérer ce qui lui semble la meilleure option. Il pourra choisir d'observer une perte de fonction rénale, s'il s'avère que cette perte se stabilise avec les années. Cette étude amène également un regard nouveau sur l'impact à long terme de la prise du ténofovir en prophylaxie; il est possible de penser que l'impact rénal sera à tout le moins comparable sinon mieux dans une population en santé.

La troisième étude a voulu décrire et renseigner sur l'ATV et l'hyperbilirubinémie. Ce phénomène est très courant chez les utilisateurs d'ATV, cette relation est indéniable et très forte, mais ce qu'il faut retenir est que la régression est possible après l'arrêt du traitement. Et mieux encore, car le changement de traitement est toujours une décision difficile à prendre et pour le patient et pour le médecin, le fait de continuer le traitement et d'avoir une hyperbilirubinémie de grade 3 ou 4 sur une longue période n'a pas été associée à des effets indésirables notoires à l'exception de l'ictère sclérotique. Au niveau des pratiques cliniques, le médecin pourra donc informer le patient de cet effet secondaire avant de commencer la prise d'ATV, lui confirmer que c'est réversible et qu'en aucun cas, l'hyperbilirubinémie n'affecte son traitement et la réussite de celui-ci. Il pourra le mettre en garde de la situation, mais aussi le rassurer par la même occasion.

La particularité de cette thèse est qu'elle a été basée sur une cohorte clinique, type d'étude observationnelle plutôt rare dans la littérature, mais qui émerge de plus en plus dans les publications. Le suivi des patients VIH dure toute leur vie, les paramètres biochimiques sont étroitement suivis par le personnel soignant et plusieurs cohortes cliniques existent déjà probablement. L'information disponible à long terme chez ces patients est extrêmement précieuse et plusieurs questions de recherche pourraient être répondues à l'aide de celles-ci. Ce type de devis par contre représente un défi majeur. Ce type de cohorte n'est pas créé pour faire de la recherche. Ce qui fait que plusieurs variables qui ne sont pas nécessairement d'intérêt clinique manquent à l'appel (exemple : statut socio-économique) alors qu'elles sont d'une importance capitale pour mener à bien les études épidémiologiques. Dans une étude de cohorte, il est important d'avoir plusieurs données sociodémographiques, les caractéristiques

individuelles et les facteurs environnementaux ne serait-ce que pour contrôler les potentiels biais de confusion ou pour cibler le profil de la cohorte et pouvoir par la suite discuter de généralisabilité. Il faut donc tenter de retrouver ces informations dans la meilleure des mesures. Il ne faut pas sous-estimer toute l'ampleur du travail qui mène au recouvrement des données manquantes ainsi que les impossibilités de collecter parfois ces dernières. Les ressources humaines autant que matérielles pour retrouver les informations manquantes sont nécessaires. Idéalement, une revue de tous les dossiers patients, inactifs comme actifs doit être réalisée incluant un questionnaire en main pour retrouver le maximum d'informations de façon systématique dans le but d'obtenir des informations complètes et valides. Une personne attitrée à la gestion de la base de données devrait y travailler en permanence pour l'amélioration d'une cohorte déjà existante et l'entrée de nouvelles données en bonne et due forme. La base de données devrait être modifiée dans un format facilement utilisable qui minimise les erreurs par des personnes qualifiées dans ce domaine. Il faut également être très conscient de tous les biais que peut engendrer ce type d'étude déjà en place (biais d'information, biais de sélection, confusion, etc.) et du fait que sa généralisabilité peut être réduite (clientèle très spécifique par exemple, d'où l'importance de bien connaître son profil). Une cohorte clinique est une cohorte qui subit aussi des interventions durant son suivi, ce qui est non négligeable quant à l'évaluation d'une issue (exemple : le médecin laisse rarement descendre l'eGFR de son patient en deçà de  $60 \text{ ml/ml/1.73m}^2$ , donc il a été impossible d'étudier cette issue avec l'exposition au ténofovir, qui est beaucoup plus d'intérêt dans la littérature qu'en deçà de 90). Une étude minutieuse doit être faite en passant tous les biais possibles pour les identifier et voir ce qu'auraient pu faire ces biais sur les résultats obtenus. Il faut retenir qu'elle a ses limites : les



données manquantes vont rester un enjeu majeur si elles ne sont pas recueillies dès le départ et il faudra trouver une façon de les retrouver et de les gérer lors des analyses.

La mise en place d'une cohorte clinique devrait bénéficier d'une équipe multidisciplinaire formée et de chercheurs et de cliniciens pour s'assurer dès le départ la collaboration de tous, leur rôle à jouer et l'entente sur les informations qui seront recueillies, la façon qu'elles le seront et comment seront gérées ces informations. Il devrait y avoir des objectifs de recherche précis dès le départ pour recueillir toutes les variables nécessaires pour y répondre, mais plus encore : il faut pouvoir décrire adéquatement la cohorte à l'aide d'informations supplémentaires et évaluer son profil. L'établissement d'une cohorte demande beaucoup de travail et doit servir à plusieurs projets : il faut penser à des projets possibles futurs et à l'information qui sera nécessaire pour la recueillir dès le départ.

Malgré toutes les difficultés rencontrées et les différents biais possibles relatifs à ce type d'étude d'observation, les résultats obtenus restent significatifs et peuvent avoir d'importants impacts cliniques. Quoiqu'il reste encore beaucoup à faire pour comprendre les effets néfastes des thérapies antirétrovirales et optimiser le management des patients infectés par le VIH, cette thèse a permis d'apporter un éclairage nouveau sur la prise en charge de ces patients.

L'amélioration du bien-être du patient, de son état de santé malgré la maladie restera toujours à la base de ce type d'étude. C'est en travaillant de pair que morbidité et mortalité dus au VIH, médicaments contrant les effets secondaires des ARV, hospitalisations prolongées ou fréquentes, soins d'urgence ou intensifs et autres procédures ou chirurgies nécessaires seront

diminués. Il est donc d'une importance capitale de continuer à investir dans le système de santé, mais aussi dans la recherche en santé, tout particulièrement en VIH qui demeure un enjeu majeur de santé publique.

## Bibliographie

---

- Agence de la santé publique du Canada, Estimations de la prévalence et de l'incidence du VIH/SIDA au Canada, 2011. <http://www.phac-aspc.gc.ca/aidssida/publication/epi/2010/1-fra.php>. Consulté le 23 janvier 2013.
- Ahoua, L, G Guenther, L Pinoges, et al., Risk factors for virological failure and subtherapeutic antiretroviral drug concentrations in HIV-positive adults treated in rural northwestern Uganda. *BMC Infect Dis*, 2009. **9**: p. 81.
- Bansi, LK, AA Benzie, AN Phillips, et al., Are previous treatment interruptions associated with higher viral rebound rates in patients with viral suppression? *AIDS*, 2008. **22**(3): p. 349-56.
- Baril JG, et al., La thérapie antirétrovirale pour les adultes infectés par le VIH. *Ministère de la Santé et des Services Sociaux*. <http://publications.msss.gouv.qc.ca/acrobat/f/documentation/2010/10-337-02.pdf>. Consulté le 23 janvier 2013.
- Barrios, A, AL Rendon, O Gallego, et al., Predictors of virological response to atazanavir in protease inhibitor-experienced patients. *HIV Clin Trials*, 2004. **5**(4): p. 201-5.
- Bongiovanni, M, M Casana, C Tincati, et al., Treatment interruptions in HIV-infected subjects. *J Antimicrob Chemother*, 2006. **58**(3): p. 502-5.

(1) Centers for Disease Control and Prevention. Monitoring selected national HIV prevention and care objectives by using HIV surveillance data United States and 6 U.S. dependent areas—2010. HIV Surveillance Supplemental Report 2012;17 (No. 3,partA).[http://www.cdc.gov/hiv/surveillance/resources/reports/2010supp\\_vol17no3/index.htm](http://www.cdc.gov/hiv/surveillance/resources/reports/2010supp_vol17no3/index.htm). Publié en juin 2012 et consulté le 19 janvier 2013.

(2) Centers for Disease Control and Prevention. Estimated HIV incidence in the United States, 2007–2010. HIV Surveillance Supplemental Report 2012;17(No. 4). <http://www.cdc.gov/hiv/topics/surveillance/resources/reports/#supplemental>. Publié en décembre 2012 et consulté le 19 janvier 2013.

Chaisiri, K, C Bowonwatanuwong, N Kasettrat, et al., Incidence and risk factors for tenofovir-associated renal function decline among Thai HIV-infected patients with low-body weight. *Curr HIV Res*, 2010. **8**(7): p. 504-9.

Cockcroft, DW and MH Gault, Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*, 1976. **16**(1): p. 31-41.

Cohen C. Low-level viremia in HIV-1 infection: consequences and implications for switching to a new regimen. *HIV Clin Trials*. 2009;10(2).

Cooper, RD, N Wiebe, N Smith, et al., Systematic review and meta-analysis: renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis*, 2010. **51**(5): p. 496-505.

Deti, EK, R Thiebaut, F Bonnet, et al., Prevalence and factors associated with renal impairment in HIV-infected patients, ANRS C03 Aquitaine Cohort, France. *HIV Med*, 2010. **11**(5): p. 308-17.

(1) Elion, R, E Dejesus, M Sension, et al., Once-daily abacavir/lamivudine and ritonavir-boosted atazanavir for the treatment of HIV-1 infection in antiretroviral-naive patients: a 48-week pilot study. *HIV Clin Trials*, 2008. **9**(3): p. 152-63.

(2) Elion, R, C Cohen, D Ward, et al., Evaluation of efficacy, safety, pharmacokinetics, and adherence in HIV-1-infected, antiretroviral-naive patients treated with ritonavir-boosted atazanavir plus fixed-dose tenofovir DF/emtricitabine given once daily. *HIV Clin Trials*, 2008. **9**(4): p. 213-24.

Franey, C, D Knott, T Barnighausen, et al., Renal impairment in a rural African antiretroviral programme. *BMC Infect Dis*, 2009. **9**: p. 143.

Garg, S, M Hoenig, EM Edwards, et al., Incidence and Predictors of Acute Kidney Injury in an Urban Cohort of Subjects with HIV and Hepatitis C Virus Coinfection. *AIDS Patient Care STDS*, 2011. **25**(3): p. 135-41.

Gorbach, PM, LN Drumright, M Javanbakht, et al., Antiretroviral drug resistance and risk behavior among recently HIV-infected men who have sex with men. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2008. **47**(5): p. 639-43.

Ibrahim F, Hamzah L, Jones R, Nitsch D, Sabin C, Post FA. Comparison of CKD-EPI and MDRD to estimate baseline renal function in HIV-positive patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;**27**(6):2291-7.

- Jansson J et al. Currently available medications might not be sufficient for lifelong treatment of HIV. Eleventh International Congress on Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, abstract O132, 2012. Disponible à <http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/18077>. Consulté le 23 janvier 2013.
- Josephson, F, MC Andersson, L Flamholz, et al., The relation between treatment outcome and efavirenz, atazanavir or lopinavir exposure in the NORTHIV trial of treatment-naive HIV-1 infected patients. *Eur J Clin Pharmacol*. **66**(4): p. 349-57.
- Kalayjian RC, Lau B, Mehekano RN, et al. Risk factors for chronic kidney disease in a large cohort of HIV-1 infected individuals initiating antiretroviral therapy in routine care. *AIDS*. 2012;26(15):1907-15.
- Korenromp, EL, BG Williams, GP Schmid, et al., Clinical prognostic value of RNA viral load and CD4 cell counts during untreated HIV-1 infection--a quantitative review. *PLoS One*, 2009. **4**(6): p. e5950.
- Kummer, O, E Mossdorf, M Battegay, et al., Treatment of an atazanavir associated grade 4 hyperbilirubinaemia with efavirenz. *Gut*, 2007. **56**(10): p. 1477-8.
- Lankisch, TO, G Behrens, U Ehmer, et al., Gilbert's syndrome and hyperbilirubinemia in protease inhibitor therapy--an extended haplotype of genetic variants increases risk in indinavir treatment. *J Hepatol*, 2009. **50**(5): p. 1010-8.

Le Clerc, S, S Limou, C Coulonges, et al., Genomewide association study of a rapid progression cohort identifies new susceptibility alleles for AIDS (ANRS Genomewide Association Study 03). *J Infect Dis*, 2009. **200**(8): p. 1194-201.

Levey, AS, JP Bosch, JB Lewis, et al., A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*, 1999. **130**(6): p. 461-70.

(1) Levey, AS, LA Stevens, CH Schmid, et al., A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*, 2009. **150**(9): p. 604-12.

(2) Levey AS, Stevens LA, Coresh J. Conceptual model of CKD: applications and implications. *Am J Kidney Dis*. 2009; **53**(3 Suppl 3): S4-16.

Levey, AS, J Coresh, E Balk, et al., National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med*, 2003. **139**(2): p. 137-47.

Mata, RC, P Viciano, A de Alarcon, et al., Discontinuation of antiretroviral therapy in patients with chronic HIV infection: clinical, virologic, and immunologic consequences. *AIDS Patient Care STDS*, 2005. **19**(9): p. 550-62.

May M. Life expectancy of HIV-1-positive individuals approaches normal, conditional on response to antiretroviral therapy: UK collaborative HIV cohort study. Eleventh International Congress on Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, abstract O133, 2012. Disponible à <http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/18078>. Consulté le 23 janvier 2013.

McDonald C, Uy J, Hu W, et al. Clinical significance of hyperbilirubinemia among HIV-1-infected patients treated with atazanavir/ritonavir through 96 weeks in the CASTLE study. *AIDS patient care and STDs*. 2012;26(5):259-64.

Mocroft, A, O Kirk, P Reiss, et al., Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS*. 2010;24(11): p. 1667-78.

Molina, JM, J Andrade-Villanueva, J Echevarria, et al., Once-daily atazanavir/ritonavir versus twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: 48 week efficacy and safety results of the CASTLE study. *Lancet*, 2008. **372**(9639): p. 646-55.

Mugavero, MJ, HY Lin, JJ Allison, et al., Racial disparities in HIV virologic failure: do missed visits matter? *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2009. **50**(1): p. 100-8.

(1) Organisation Mondiale de la Santé, La riposte mondiale au VIH/SIDA: Le point sur l'épidémie et sur les progrès du secteur de la santé vers un accès universel, 2011. Disponible à <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr61/fr/index.html>. Consulté le 23 janvier.

(2) Organisation Mondiale de la Santé, L'observance aux traitements prescrits pour les maladies chroniques pose problème dans le monde entier, 2003. Disponible à <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr54/fr/>. Consulté le 4 août 2013.



- (3) Organisation Mondiale de la Santé, Stratégie mondiale du secteur de la santé sur le VIH/SIDA 2011-2015. 2011. Disponible à [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789242501650\\_fre.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789242501650_fre.pdf). Consulté le 23 janvier 2013.
- Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998;338(13):853-60.
- Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. Available at <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Consulté le 19 février 2013.
- Park, WB, PG Choe, KH Song, et al., Genetic factors influencing severe atazanavir-associated hyperbilirubinemia in a population with low UDP-glucuronosyltransferase 1A1\*28 allele frequency. *Clin Infect Dis*, 2010. **51**(1): p. 101-6.
- Paterson, DL, S Swindells, J Mohr, et al., Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Ann Intern Med*, 2000. **133**(1): p. 21-30.
- Pence, BW, WC Miller, BN Gaynes, et al., Psychiatric illness and virologic response in patients initiating highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2007. **44**(2): p. 159-66.

Pence, BW, J Ostermann, V Kumar, et al., The influence of psychosocial characteristics and race/ethnicity on the use, duration, and success of antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2008. **47**(2): p. 194-201.

Post, FA and SG Holt, Recent developments in HIV and the kidney. *Curr Opin Infect Dis*, 2009. **22**(1): p. 43-8.

Post, FA, GJ Moyle, HJ Stellbrink, et al., Randomized comparison of renal effects, efficacy, and safety with once-daily abacavir/lamivudine versus tenofovir/emtricitabine, administered with efavirenz, in antiretroviral-naive, HIV-1-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010. **55**(1): p. 49-57.

Rodriguez-Novoa, S, P Barreiro, A Rendon, et al., Plasma levels of atazanavir and the risk of hyperbilirubinemia are predicted by the 3435C-->T polymorphism at the multidrug resistance gene 1. *Clin Infect Dis*, 2006. **42**(2): p. 291-5.

Rodriguez-Novoa, S, L Martin-Carbonero, P Barreiro, et al., Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS*, 2007. **21**(1): p. 41-6.

(1) Rodriguez-Novoa, S, J Morello, P Barreiro, et al., Switch from ritonavir-boosted to unboosted atazanavir guided by therapeutic drug monitoring. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2008. **24**(6): p. 821-5.

(2) Rodriguez-Novoa, S, J Morello, M Gonzalez, et al., Increase in serum bilirubin in HIV/hepatitis-C virus-coinfected patients on atazanavir therapy following initiation of pegylated-interferon and ribavirin. *AIDS*, 2008. **22**(18): p. 2535-7.

Rubio, R, O Serrano, J Carmena, et al., Effect of simplification from protease inhibitors to boosted atazanavir-based regimens in real-life conditions. *HIV Med*, 2010. **11**(9): p. 545-53.

Ryom L, Mocroft A, Lundgren J. HIV therapies and the kidney: some good, some not so good? *Current HIV/AIDS reports*, 2012.9(2):111-20.

Santé Canada, Votre santé et vous, VIH/SIDA, 2011. Disponible à [http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/alt\\_formats/pdf/iyh-vsv/diseases-maladies/hiv-vih-fra.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/alt_formats/pdf/iyh-vsv/diseases-maladies/hiv-vih-fra.pdf). Consulté le 23 janvier 2013.

Schackman, BR, HJ Ribaud, A Krambrink, et al., Racial differences in virologic failure associated with adherence and quality of life on efavirenz-containing regimens for initial HIV therapy: results of ACTG A5095. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2007. **46**(5): p. 547-54.

Scherzer R, Estrella M, Li Y, et al. Association of tenofovir exposure with kidney disease risk in HIV infection. *AIDS*, 2012. **26**(7):867-75.

Sethi, AK and SJ Gange, Parametric models for studying time to antiretroviral resistance associated with illicit drug use. *WMJ*, 2009. **108**(5): p. 266-8.

Smith, KY, WG Weinberg, E Dejesus, et al., Fosamprenavir or atazanavir once daily boosted with ritonavir 100 mg, plus tenofovir/emtricitabine, for the initial

treatment of HIV infection: 48-week results of ALERT. *AIDS Res Ther*, 2008. **5**: p. 5.

Squires, KE, B Young, E Dejesus, et al., Similar efficacy and tolerability of atazanavir compared with atazanavir/ritonavir, each with abacavir/lamivudine after initial suppression with abacavir/lamivudine plus ritonavir-boosted atazanavir in HIV-infected patients. *AIDS*, 2010. **24**(13): p. 2019-27.

Stebbing, J, M Bower, P Holmes, et al., A single centre cohort experience with a new once daily antiretroviral drug. *Postgrad Med J*, 2006. **82**(967): p. 343-6.

Tordato, F, A Cozzi Lepri, P Cicconi, et al., Evaluation of glomerular filtration rate in HIV-1-infected patients before and after combined antiretroviral therapy exposure. *HIV Med*, 2011. **12**(1): p. 4-13.

Torti, C, G Lapadula, A Antinori, et al., Hyperbilirubinemia during atazanavir treatment in 2,404 patients in the Italian atazanavir expanded access program and MASTER Cohorts. *Infection*, 2009. **37**(3): p. 244-9.

United Nations, Economic Commission for Africa. Securing our future, *Report of the Commission on HIV/AIDS and Governance in Africa*, 2008. Disponible à <http://www.regionalcommissions.org/chgareport.pdf>. Consulté le 15 février 2013.

Yu, G, Y Li, J Li, et al., Genetic diversity and drug resistance of HIV type 1 circulating recombinant Form\_BC among drug users in Guangdong Province. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2009. **25**(9): p. 869-75.

Zhang, D, TJ Chando, DW Everett, et al., In vitro inhibition of UDP glucuronosyltransferases by atazanavir and other HIV protease inhibitors and the relationship of this property to in vivo bilirubin glucuronidation. *Drug Metab Dispos*, 2005. **33**(11): p. 1729-39.

## Annexes

### Annexe 1 : Formules pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire

Formule	Équation complète de la formule (eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ))	Définition des composantes de la formule
<b>CG</b>	$\frac{[(140-\hat{\text{Age}}) \times \text{Poids} / \text{Créat P} \times 0,814 \times F]}{[ \text{Créat P} \times 0,814 \times F]}$	<p>Âge : en années</p> <p>Poids : en Kg</p> <p>Créat P= créatinine plasmatique en umol/L</p> <p>F=1 chez l'homme et 0,85 chez la femme</p>
<b>MDRD</b>	$186 \times (\text{Créat P} \times 0,0113)^{1,154} \times \hat{\text{Age}}^{-0,203} \times F \times E$	<p>Créat P= créatinine plasmatique en umol/L</p> <p>Âge : en années</p> <p>E : 1,21 chez le noir et 1 pour autres</p> <p>F : 1 chez l'homme et 0,742 chez la femme</p>
<b>CKD-EPI</b>	$141 \times \min(\text{SCr}/k, 1)^a \times \max(\text{SCr}/k, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\hat{\text{Age}}} \times F \times E$	<p>K : 0,9 chez l'homme et 0,7 chez la femme</p> <p>a: -0,411 chez l'homme et -0,329 chez la femme</p> <p>F : 1 chez l'homme et 1,018 chez la femme</p> <p>E : 1,159 chez le noir et 1 pour autres</p>

**Annexe 2 : Niveaux de défaillances rénales établis et adaptés de la  
National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney  
Diseases**

<b>Classification</b>	<b>Description</b>	<b>Valeur de l'estimation du taux de filtration glomérulaire (eGFR) (ml/min/1,73m<sup>2</sup>)</b>
Niveau 1 (normal)	Dommmages aux reins* avec un GFR normal ou augmenté	≥ 90
Niveau 2 (faible)	Dommmages aux reins avec diminution faible du GFR	60-89
Niveau 3 (moyenne)	Diminution moyenne du GFR	30-59
Niveau 4 (aiguë)	Sévère diminution du GFR	15-29
Niveau 5 (totale)	Insuffisance rénale	<15

\*Anormalités pathologiques, biomarqueurs de dommages dans le sang ou dans les urines, études d'imagerie

### Annexe 3 : Classification des grades d'hyperbilirubinémie

<b>Grades d'hyperbilirubinémie</b>	<b>Signes cliniques</b>
Grade 1 : *TBS > 1 -1,5 * LSN	Asymptomatique, symptômes légers,
Grade 2 : TBS > 1,5 – 2,5 LSN	possible ictère, fatigue.
Grade 3 : TBS > 2,5 - 5 LSN	Fatigue, nausées, ictère sclérotique et de
Grade 4 : TBS > 5 LSN	la peau, urines foncées, cholédolithiases et autres lithiases possibles.

\* Total de bilirubine sérique normal (TBS) : 0,1 – 1,2 mg/dl

Limite supérieure normale chez l'adulte (LSN) : 1,2 mg/dl



## Annexe 4: Formulaire de consentement éclairé pour l'entrée dans la cohorte

CLINIQUE MÉDICALE  
**QUARTIER LATIN**

**Consentement à l'utilisation des données non nominales  
des patients de la clinique pour fins de recherche**

Par la présente, j'autorise la Clinique médicale du Quartier Latin à utiliser, de façon non nominale et confidentielle (sans le nom, le numéro d'assurance-maladie, ni aucune autre façon de me retracer) les données contenues dans mon dossier médical pour fin de recherche.

\_\_\_\_\_  
Nom du patient

\_\_\_\_\_  
No de dossier

\_\_\_\_\_  
Signature du patient

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Nom de la personne responsable de  
l'explication du consentement

\_\_\_\_\_  
Signature de la personne responsable de  
l'explication du consentement

\_\_\_\_\_  
Date

---

**Annexe 5: Version du formulaire pour la complétion de la base de données émergeant du consensus avec le groupe de chercheurs responsable de la fusion de la cohorte du CMQL**

**Données à compléter pour la banque de données de la CMQL**

**SVP remplissez toutes les données possibles pour ce patient.**

<b>No dossier :</b> _____	<b>Médecin traitant :</b> _____
---------------------------	---------------------------------

**Nom :** \_\_\_\_\_ **Prénom :** \_\_\_\_\_

**Taille :** \_\_\_\_\_ cm OU \_\_\_\_\_ pieds \_\_\_\_\_ pouces

**Poids :** \_\_\_\_\_ kg OU \_\_\_\_\_ livres

**Pays de naissance:**

- Canada  
 Autre (préciser) \_\_\_\_\_

**Date d'arrivée au Canada:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (JJ / MM / AAAA)

**Ethnicité (cochez une case):**

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Asiatique<br><input type="checkbox"/> Blanc<br><input type="checkbox"/> Noir | <input type="checkbox"/> Aborigène (Inuit, Première Nations, Métis)<br><input type="checkbox"/> Hispanique/Latino<br>Autre (préciser) _____ |
|---|---|

**Éducation (cochez une case) :**

- < Primaire  
 Primaire  
 Secondaire  
 CEGEP  
 Université  
 Inconnu

---

**Statut matrimonial (cochez une case) :**

- Célibataire  
 Marié/ Conjoint de fait  
 Veuf(f/ve)  
 Divorcé  
Inconnu

**Situation domiciliaire (cochez une case) :**

- Demeure seul(e)  
 Partage un logis  
 Demeure dans un centre ou une résidence  
 Sans domicile fixe  
Inconnu

**Source de revenu (cochez une case) :**

- Temps plein  
 Temps partiel  
 Autonome  
 Bien être social  
Prêt ou bourse étudiant  
 Aucune  
 Autre (préciser) \_\_\_\_\_  
 Inconnu

**Salaire mensuel brut (cochez une case) :**

- ≤1500/mois  
 >1500/mois  
 Inconnu

**Orientation sexuelle (cochez une case) :**

- Homosexuel(le)  
 Hétérosexuel(le)  
 Bisexuel(le)

**Facteur(s) de risque pouvant avoir causé l'infection par le VIH (cochez tout ce qui s'applique) :**

- Relation sexuelle non protégée avec: F  M   
 Originaire de région endémique  
 Exposition accidentelle  
 Chirurgie  
 Partenaire à risque:       UDI       Prostitué/ée  
                                     VIH +       Endémique (préciser) \_\_\_\_\_  
                                     Hémophile       Autre (préciser) \_\_\_\_\_  
                                     Bisexuel
- Partenaires multiples  
 Transmission mère-enfant (verticale)  
 UDI  
 Piqûre d'aiguille (tatouage, piercing...etc.)  
 Transfusion  
 Hémophile  
 Prostitution  
 Liquides sérologiques contaminés  
 Autre (préciser) \_\_\_\_\_  
 Inconnu

**Date de l'infection par le VIH** ou date du diagnostic (si la date de l'infection est inconnue, inscrivez la première date à laquelle on a connu/confirmé le diagnostic)

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**JJ / MM / AAAA**

**Tabac (cochez une case appropriée):**

- Jamais fumé  
 Ancien Fumeur,  
     • A cessé de fumer depuis \_\_\_\_ an(s),  
     • Avait commencé à fumer à l'âge de \_\_\_\_ ans  
 Fumeur,  
     • \_\_\_\_ cigarettes par jour depuis l'âge de \_\_\_\_ ans  
 Inconnu

**Alcool (cochez une case appropriée):**

- Ne boit pas
- Ex-buveur- *Nombre de consommations par semaine:* \_\_\_\_\_ *Année de l'arrêt :* \_\_\_\_\_
- Consomme de l'alcool sans consommation excessive
- Boit de façon problématique ou excessive (problème social ou médical liée à l'alcool, alcoolisme, ou consommation jugée excessive selon Santé Canada :

**Pour un homme, consommation excessive = plus de 14 consommations par semaine**

**Pour une femme, consommation excessive= plus de 9 consommations par semaines)**

Veuillez noter qu'une consommation équivaut a une bière (341ml a 5% d'alcool), un verre de vin (5 onces a 12% d'alcool) ou un verre de spiritueux (1.5 once a 40% alcool)

**Consommation de drogues illicites (cochez tout ce qui s'applique) :**

- Aucune
- UDI connu, sans plus de précisions disponibles

**Si possible, précisez la consommation :**

- |   |   |  |  |                          |
|---|---|--|--|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> <i>Cocaïne</i>                       | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Héroïne</i>                       | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Speedball (mélange coke/héro)</i> | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Crack</i>                         | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> <i>Inconnu</i>                       | <input type="checkbox"/>                  | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i>  | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> |
| <i>PCP</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>                     |   |  |  |                          |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Méthadone</i>                     | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Morphine</i>                      | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>LSD</i>                           | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Amphétamines/Metamphétamines</i>  | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |
| <input type="checkbox"/> <i>Talwin / Ritalin</i>              | <input type="checkbox"/> <i>Injection</i> | <input type="checkbox"/> <i>Inhalation</i> | <input type="checkbox"/> <i>Ingestion</i>  | <input type="checkbox"/> |
| <i>Inconnu</i>  |   |  |  |                          |

<input type="checkbox"/> Benzodiazépines <i>Inconnu</i>	<input type="checkbox"/> Injection <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Inhalation <input type="checkbox"/>	<i>Ingestion</i>
<input type="checkbox"/> Ecstasy <i>Inconnu</i>	<input type="checkbox"/> Injection	<i>Inhalation</i>	<i>Ingestion</i>
<input type="checkbox"/> Ketamines <i>Inconnu</i>	<input type="checkbox"/> Injection	<input type="checkbox"/> Inhalation	<i>Ingestion</i>
<input type="checkbox"/> Marijuana <i>Inconnu</i>	<input type="checkbox"/> Injection	<input type="checkbox"/> Inhalation	<i>Ingestion</i>
<i>Autres (préciser) _____</i> <i>Inconnu</i>	<i>Injection</i>	<i>Inhalation</i>	<i>Ingestion</i>

Année du début \_\_\_\_\_ ou âge au début : \_\_\_\_\_

Année de l'arrêt \_\_\_\_\_ ou âge à l'arrêt : \_\_\_\_\_ ou consomme toujours

**Statut clinique (cochez une case) :**

Asymptomatique  
 Infection aigu  
 Infection symptomatique chronique  
 SIDA (préciser la maladie indicatrice) \_\_\_\_\_  
 Symptômes non-spécifiques  
 Autre (préciser) \_\_\_\_\_  
 Inconnu

**État thérapeutique à l'arrivée à la CMQL (cochez une case) :**

Inconnu    Nai(f/ve)    Traité(e)    Arrêt de traitement

*Si non-naïf, Date de début de la prise d'ARV : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_*

**JJ / MM / AAAA**

**Antécédent(s) médicaux (cochez tout ce qui s'applique) :**    Oui    Non

Maladie cardiovasculaire  
 Hypercholestérolémie  
 Hypertension  
 Diabète  
 Maladie auto-immune

- 
- Maladie de la thyroïde  
 Lypodystrophie  
 Psoriasis  
 Ostéoporose  
 Cancer (préciser) \_\_\_\_\_  
 Problème hépatique (préciser) \_\_\_\_\_  
 Problème rénal (préciser) \_\_\_\_\_  
 Dépression  
 Trouble bipolaire  
 Schizophrénie  
 Trouble de la personnalité  
 Autre (préciser) \_\_\_\_\_

**Antécédent(s) ITSS (cochez tout ce qui s'applique) :**

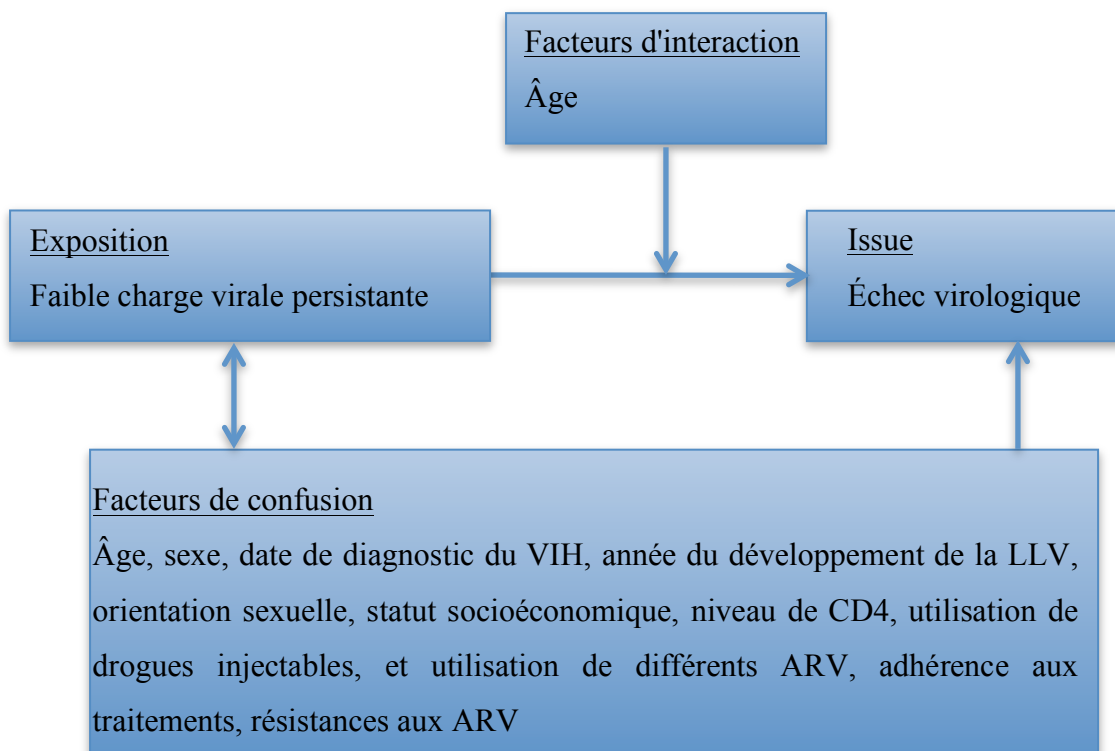
**Oui**       **Non**

- Urétrite  
 Herpes génital  
 Hépatite A  
 Hépatite B →  *Aigu*       *Chronique*       *Résolue*  
 Hépatite C →  *Aigu*       *Chronique*       *Résolue*  
 Chlamydia  
 Condylomes  
 Gonorrhée  
 Syphilis

---

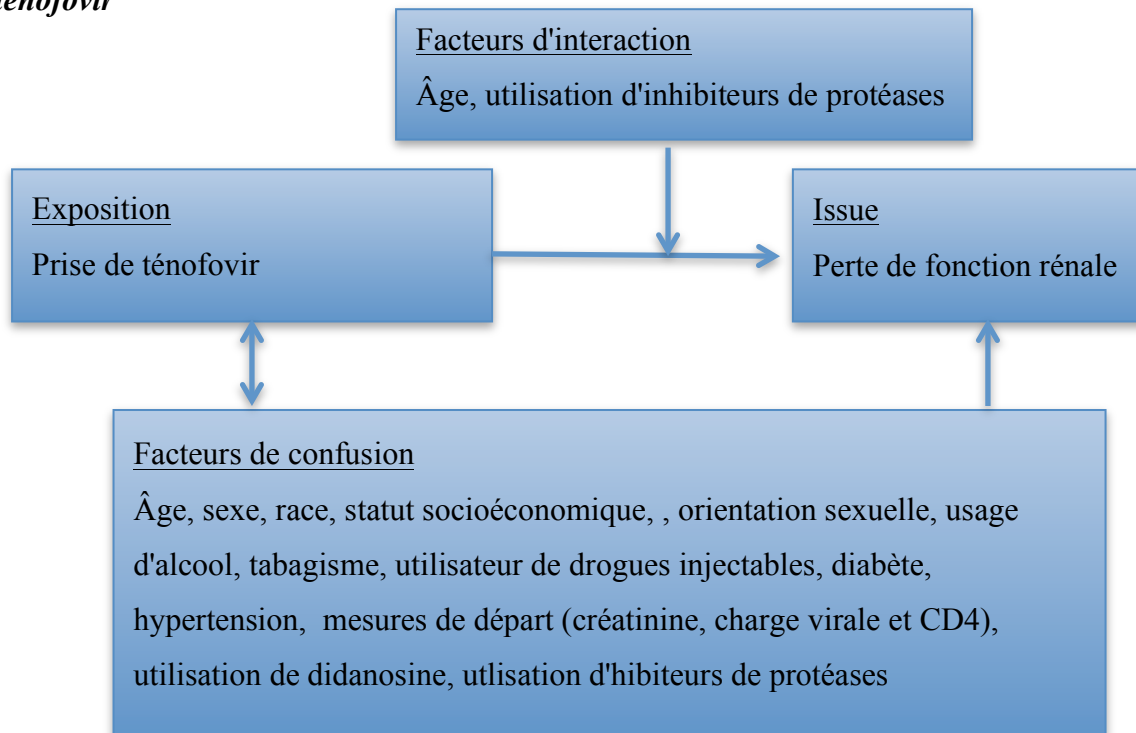
## Annexe 6 : Cadres conceptuels

### 6.1 Évaluer l'échec virologique en relation avec les patients présentant une faible charge virale persistante

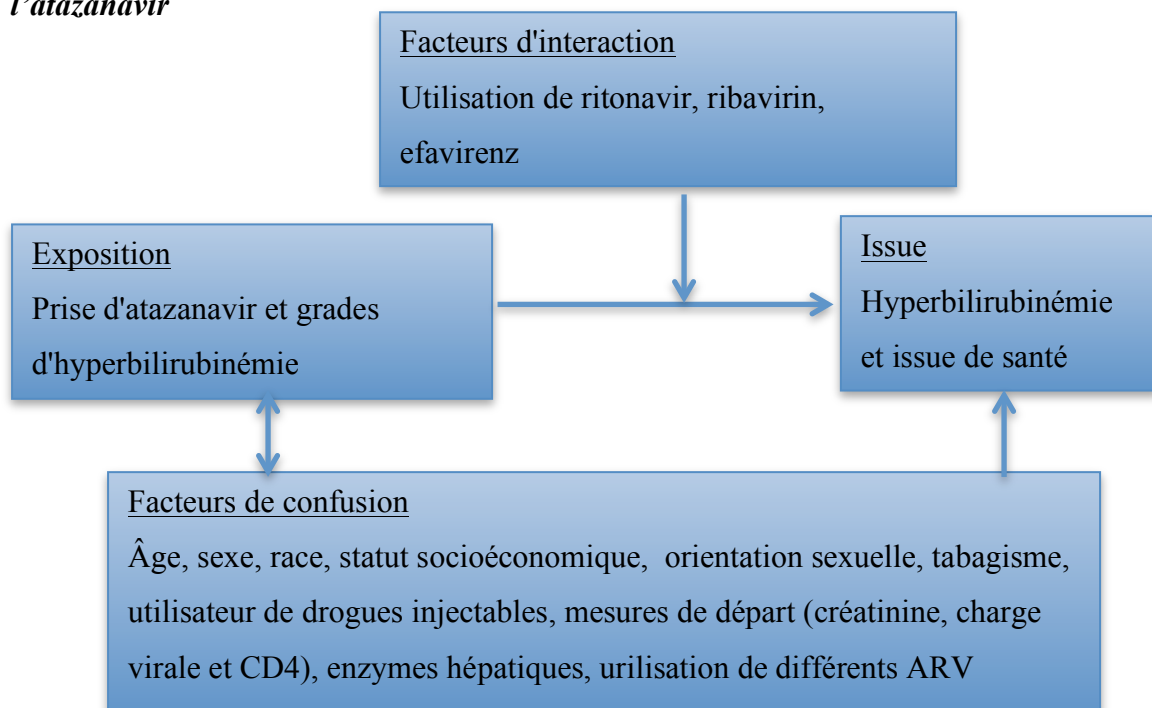




**6.2 Évaluer la perte de fonction rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir**



**6.3 Évaluer l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir**



**Annexe 7: Sélection des patients pour chacun des projets et leurs variables respectives à l'étude**

	<b>Nombre de patients de la cohorte: 2416 patients</b>		
	<b>Article 1: Échec virologique à la suite d'une faible charge virale persistante</b>	<b>Article 2: Association entre l'exposition au ténofovir et la perte de fonction rénale à long terme</b>	<b>Article 3: Atazanavir et autres déterminants de l'hyperbilirubinémie</b>
<b>Nombre de patients inclus</b>	<b>1860</b>	<b>1042</b>	<b>1150</b>
<b>Raisons des exclusions (N)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Patients non exposés aux ARV (479)</li> <li>-Patients suivis moins d'un an, potentiel thérapeutique non-atteint (79)</li> <li>-Patients n'ayant aucune mesure de charge virale (18)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Dossier patient créé, aucune donnée entrée (64)</li> <li>-Patients n'ayant pas été suivis après janvier 2002, date de sortie du ténofovir (294)</li> <li>-Patients inactifs (vus dans les deux dernières années), la race n'a pu être retrouvée pour calculer l'eGFR, soit l'issue (630)</li> <li>-Patients actifs, la race n'a pu être retrouvée pour calculer l'eGFR, soit l'issue (242)</li> <li>- Patients non exposés aux ARV (143)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Dossier patient créé, aucune donnée entrée (64)</li> <li>-Patients n'ayant pas été suivis après juin 2003, date de sortie d'atazanavir (406)</li> <li>-Patients inactifs, les déterminants étudiés figuraient parmi les plus manquants (518)</li> <li>- Patients non exposés aux ARV (179)</li> <li>-Patients exposés &lt;3 mois à atazanavir (55)</li> <li>-Patients n'ayant pas deux mesures de bilirubine (44)</li> </ul>

	<b>Variables à l'étude</b>		
<b>Exposition*</b>	<p>Exposés:            -50 et 199 copies/mL            -200 et 499 copies/mL            -500 et 1000 copies/mL            (persistant dans cette zone 6,9 ou 12 mois)            Non-exposés: patients indétectables (&lt;50 copies/mL) depuis 6,9 ou 12 mois</p>	<p>Exposés: utilisation de ténofovir depuis au moins 3 mois            Non-exposés: utilisation de tout autre ARV depuis au moins 3 mois</p>	<p>1) Exposés: utilisation d'atazanavir depuis au moins 3 mois            Non-exposés: utilisation de tout autre ARV depuis au moins 3 mois            2) Exposés: grades 1,2,3 et 4 d'hyperbilirubinémie            Non-exposés: Grade 0 d'hyperbilirubinémie</p>
<b>Issue</b>	<p>Échec virologique défini à &gt;1000 copies/mL</p>	<p>eGFR défini à &lt;90/ml/min/1.73m<sup>2</sup></p>	<p>1) Hyperbilirubinémie de grade 3 ou 4 (non persistant et persistant plus de 3 mois)            2) Score composite de paramètres cliniques renseignant sur l'évolution du VIH/SIDA ou d'une toxicité hépatique défini comme répondant à un de ces critères: charge virale &gt;400 copies/ml, CD4&lt;500, ALT&gt;=grade 3 ou AST&gt;=grade 3</p>

<b>Variables communes aux trois articles</b>	<p>Âge: Continue et catégorisé en plus ou moins de 40 et plus ou moins de 50 (afin de tester les interaction)</p> <p>Sexe: Dichotomique, homme ou femme</p> <p>Race: Dichotomique, Noir ou autre</p> <p>Orientation sexuelle: Homosexuel, hétérosexuel ou autre</p> <p>Salaire mensuel: ≤\$1500 ou &gt;\$1500 par mois</p> <p>Type d'emploi: Temps plein ou autre</p> <p>CD4 de départ: Catégorisé en 0-200, 200-499 ou 500 et plus</p>		
<b>Variables spécifiques à chaque article</b>	<p>-Date de diagnostic du VIH: Continue</p> <p>-Utilisation de drogue injectable: Dichotomique, prévalence de période</p> <p>-Utilisation d'ARV (variable dans le temps): Dichotomique, chaque ARV a été modélisé individuellement</p>	<p>-eGFR au départ: Continue</p> <p>-Tabagisme: Catégorisé, fumeur/ancien fumeur ou n'a jamais fumé</p> <p>-Utilisation de drogue injectable: Dichotomique, prévalence de période</p> <p>-Consommation d'alcool (variable dans le temps): Catégorisé, Non, ancien buveur, buveur social, ou alcoolique</p> <p>-Diabète (variable dans le temps): Dichotomique</p> <p>-Hypertension (variable dans le temps): Dichotomique</p> <p>-Charge virale de départ: Catégorisé en 0-400, 401-10 000, 10 001-99 999 ou 100 000 et plus</p> <p>-Utilisation d'ARV (variable</p>	<p>-Bilirubine de départ: Continue</p> <p>-Charge virale de départ: Catégorisée en 0-400, 401-10 000, 10 001-99 999 ou 100 000 et plus</p> <p>-Utilisation d'ARV(variable dans le temps): Dichotomique, chaque ARV a été modélisé individuellement</p>

		dans le temps): Dichotomique pour chaque famille d'ARV soit les NRTIs, NNRTIs, FIs, EIs, INSTIs et PIs.	
--	--	---	--

\*Modélisée comme variable dans le temps, variables d'exposition dichotomiques ou à 4 catégories pour l'article 1.

\*\* Les CD4 et les charges virales ont été catégorisées selon la signification clinique établie par l'OMS. Le salaire mensuel et le type d'emploi étaient les seules variables concernant le statut socioéconomique. Le salaire mensuel a été catégorisé pour identifier de façon certaine les patients bénéficiant de l'aide sociale dans le but d'avoir un profil de la cohorte quant à son statut socioéconomique, mais aussi pour rendre plus à l'aise le médecin qui posait la question. Certaines variables comme le type d'emploi et le tabagisme, certaines catégories ont dû être regroupées.

## Curriculum Vitae

---

### Cheminement académique

**2013-**        **Stagiaire postdoctorale**

Sous la direction des Drs Eduardo Franco et Belinda Nicolau  
Cancer Research Society Division of Epidemiology, Department of Oncology,  
Université McGill, Qc

**2008-2013**    **Candidate au Doctorat en Santé Publique, option Épidémiologie**

Université de Montréal, QC

-Association et collaboration avec la Clinique médicale du Quartier latin (projet de thèse)

**2006-2008**    **Maîtrise en Santé environnementale et santé au travail**

**Option Toxicologie générale**

Université de Montréal, QC

**Stage final de recherche**

Institut national de santé publique du Québec, septembre à décembre 2007

-Collaboration à la mise en place du projet de monitoring sur les cancers anogénitaux au Québec

-Collaboration au sondage chez les gynécologues, dermatologues et pathologistes du Québec pour le projet et l'équipe VIN-MonIQ (projet de monitoring sur les lésions précancéreuses et cancéreuses de la vulve)

-Responsable de la revue systématique sur l'association entre le VPH et les lésions néoplasiques de la vulve et du vagin (projet de recherche final)

**2002-2006      Baccalauréat en sciences biomédicales**

Université de Montréal, QC

**Stage final de recherche**

Institut universitaire de médecine légale à Lausanne, Suisse, septembre à novembre 2005.

-Assistance à 24 autopsies, 37 examens externes, 5 levées de corps, 2 examens cliniques sur personnes vivantes et 3 cas d'identification en odontologie légale

-Séminaires de formation sur la médecine, la génétique et la toxicologie forensiques

-Journée de formation avec le DVI Team (Disaster Victim Identification)

-Stage en diaphanoscopie

-Évaluation d'un triple homicide d'enfants et discussion sur la cause du décès se rapportant à la strangulation manuelle et différentes sortes d'asphyxies potentielles (projet de recherche final)

**2002-2003      Baccalauréat 120 : Structure d'accueil**

Équivalent du Diplôme d'études collégiales en sciences pures

Université de Montréal, QC

**1996-2000      Diplôme d'études collégiales en techniques d'hygiène dentaire**

Cégep de Chicoutimi, QC

### **Autres formations**

Certification nationale en Santé Publique, Avril 2012

### **Bourses et prix**

- Bourse postdoctorale du Réseau de recherche en santé buccodentaire et osseuse, 2013
- Bourse de fins d'études doctorales, 2012
- Bourse de recherche de Doctorat F. Banting and C. Best des Instituts de Recherche en Santé du Canada, 2009

### **Autres emplois relatifs à la formation doctorale**

- Tutrice pour le cours Épidémiologie clinique, 2010, 2012 et 2013
- Examinatrice aux examens ECOS pour la Faculté de Médecine, mai 2012 et 2013
- Assistante d'enseignement pour le cours d'Analyse épidémiologique 2008-2013
- Assistante de recherche au Centre de recherche Ste-Justine 2008-2013

### **Publications**

**LAPRISE C, BARIL JG, DUFRESNE S, TROTTIER H.** Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: Findings from 12 years of observation. (publié en ligne dans *Clinical Infectious Diseases* le 14 août 2013, <http://cid.oxfordjournals.org/content/early/2013/08/14/cid.cit529.full.pdf+html>, facteur d'impact: 9.154)

**LAPRISE C, BARIL JG, DUFRESNE S, TROTTIER H.** Atazanavir and other determinants of hyperbilirubinemia in a cohort of 1,150 HIV-positive patients: Results from 9 years of follow-up. *AIDS Patient Care and STDs*, July 2013, 27(7): 378-386. (facteur d'impact 3.090)



**LAPRISE C, BARIL JG, DUFRESNE S, TROTTIER H.** Association between tenofovir exposure and reduced kidney function in a cohort of HIV-positive patients: Results from 10 Years of Follow-up, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 56, Issue 4, February 15, 2013. (facteur d'impact: 9.154)

**LAPRISE C, BLANCHETTE MA.** Controlling asthma during pregnancy prevents asthma in children: a Berkson fallacy?, *European Respiratory Journal*; 35:6, 2010. (facteur d'impact: 5.895)

BLANCHETTE MA, **LAPRISE C.** Possible explanation for the lower-than-expected preterm birth rate. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 24, 19-320, 2010. (facteur d'impact: 2.307)

**LAPRISE C, MARIANO C, DUARTE-FRANCO E, STEBEN M.** Human papillomaviruses: input from epidemiology for better prevention, *The Libyan Journal of Infectious Diseases*; 3:1, January 2009. (facteur d'impact: 0.18)

**LAPRISE C.** Rapport final de recherche dans le cadre de la Maîtrise : Vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia, presence of 4 HPV types (6, 11, 16 and 18) and cofactors : A systematic review, Faculté de Médecine, Université de Montréal, avril 2008.

**LAPRISE C.** Rapport final de recherche dans le cadre du Baccalauréat : Homicide par suffocation ou par strangulation : Quand les lésions manquent..., Université de Montréal, décembre 2005.

## **Chapitres de livres**

**LAPRISE C, TROTTIER H.** Epidemiology of Anogenital Human Papillomavirus Infections; Human Papillomavirus and Related Diseases From Bench to Bedside A Diagnostic and Preventive Perspective, Intech, ISBN-980-953-307-831-6, Avril 2013.

## Résumés publiés

LAPRISE C, BARIL JG, DUFRESNE S, CÔTÉ P, TROTTIER H. Évaluation de l'hyperbilirubinémie à long terme en relation avec l'exposition à l'atazanavir chez les patients infectés par le VIH de la cohorte de la Clinique médicale du Quartier Latin, Montréal, Canada. (*Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 23:119 supp. A, 2012)

## Articles en préparation

LAPRISE C, TROTTIER H, MAYRAND MH, MONIER P, COUtlÉE F. Prevalence of human papillomavirus in semen: A systematic review. (En révision dans *Human Reproduction*, 3 août 2013)

## Conférences et présentations

LAPRISE C, TROTTIER H, MAYRAND MH, MONIER P, COUtlÉE F. Prevalence of human papillomavirus in semen: A systematic review (25th International papillomavirus Présentation par affiche, décembre 2012)

LAPRISE C, BARIL JG, DUFRESNE S, CÔTÉ P, TROTTIER H. Évaluation de la toxicité rénale à long terme en relation avec l'exposition au ténofovir chez les patients infectés au VIH de la Clinique médicale du Quartier Latin, Montréal. Présentation par affiche, Congrès canadien VIH CAHR, avril 2012.

LAPRISE C, MAYRAND MH, TROTTIER H, MONNIER P. Should we test donor sperm for HPV? Review of the evidence. Présentation par affiche, Congrès VPH, Malmö, mai 2009.

LAPRISE C, MAYRAND MH, COUtlÉE F, MONNIER P, FRASER W, CARCELLER A, FRANCOEUR D, TROTTIER H. Perinatal transmission of human papillomaviruses: a systematic review. Présentation par affiche, Congrès VPH, Malmo, mai 2009.

**LAPRISE C.** Lésions néoplasiques de la vulve et du vagin et leur relation avec différents types de VPH : Revue systématique, Conférence, Rencontres scientifiques, Faculté de médecine, Département de santé environnementale et santé au travail, avril 2008.

STEBEN M, DUARTE-FRANCO E, RODIER C, GOGGIN P, LOUCHINI R, SAMPALIS J, VOUMA JI, **LAPRISE C**, HADJERES R, MANSI, JA, COUTLEE F. HPV genotyping in archived specimens of anal cancer diagnosed during one decade in Quebec (1995-2005). Présentation par affiche, International Multidisciplinary Conference Eurogin 2008: Joining forces for cervical cancer prevention. Nice, France, novembre 2008.

DUARTE-FRANCO E, RODIER C, **LAPRISE C**, GOGGIN P, BERGERON S, RENAUD M-C, SAUTHIER P, HADJERES R, COUTLÉE F, FERENCZY, A, MANSI, JA, STEBEN M. VIN-MONIQ: vulvar intraepithelial neoplasia (VIN) monitoring in Québec: surveillance, clinical epidemiology, biomarkers, and quality of life. Présentation par affiche, International Multidisciplinary Conference Eurogin 2008: Joining forces for cervical cancer prevention. Nice, France, novembre 2008.

**LAPRISE C.** Homicide par suffocation ou par strangulation : Quand les lésions manquent..., Conférence, Faculté de Médecine, Sciences biomédicales, Université de Montréal, décembre 2005.

**LAPRISE C.** La strangulation manuelle, Conférence, Institut universitaire de médecine légale de Lausanne, Suisse, novembre 2005.

