



Tolérance maternelle et néonatale des antirétroviraux pendant la grossesse à l'ère des multithérapies

Jeanne Sibiude

► To cite this version:

Jeanne Sibiude. Tolérance maternelle et néonatale des antirétroviraux pendant la grossesse à l'ère des multithérapies. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLS050 . tel-01576558

HAL Id: tel-01576558

<https://theses.hal.science/tel-01576558>

Submitted on 23 Aug 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT : 2017SACLS050

**THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY
PREPAREE A
L'UNIVERSITE PARIS SUD**

**Ecole Doctorale n° 570
Santé Publique**

Spécialité de doctorat : Santé Publique-Epidémiologie

Par

Mme Jeanne Sibiude

**Tolérance maternelle et néonatale des antirétroviraux pendant la grossesse
à l'ère des multithérapies**

Thèse présentée et soutenue à Villejuif, le 24/02/2017

Composition du Jury :

Mme France Mentré, Professeure, Université Paris-Diderot, Présidente du Jury
M. Loïc Josseran, Professeur, Université Paris Saclay, Rapporteur
M. Pierre-Yves Ancel, Directeur de Recherche, Université Paris Descartes, Rapporteur
Mme Tessa Goetghebuer, Chargée de Recherche, Université Libre de Bruxelles, Examinatrice
M. Damien Subtil, Professeur, CHRU Hôpital Jeanne de Flandre-Lille, Examineur

RESUME DE THESE

L'objectif de cette thèse était d'étudier les associations potentielles entre les traitements antirétroviraux reçus par les femmes enceintes infectées par le VIH et les pathologies pouvant survenir au cours de la grossesse ou chez le nourrisson. Ce travail est issu en majeure partie des données de l'Enquête Périnatale Française (ANRS-EPF), cohorte nationale multicentrique ayant inclus plus de 20 000 couples mères-enfants depuis 1986. Actuellement, presque toutes les femmes sont traitées par combinaisons antirétrovirales puissantes (cART ; 98% en 2013) et le taux de transmission est très bas : 0.6% (IC95% : 0.4%-0.8% pour la période 2005-2013).

La première partie portait sur le risque d'accouchement prématuré dont le taux a augmenté significativement entre la période 1990-1993 et 2005-2009, passant de 9.2% à 14.3%. Le risque d'accouchement prématuré était significativement associé au traitement par cART, par rapport aux monothérapies et bithérapies d'INTI, et au traitement débuté avant la conception par rapport aux traitements débutés en cours de grossesse. Parmi les patientes initiant un traitement contenant un inhibiteur de protéase (IP), le risque de prématurité était plus élevé pour les IP boostés par le ritonavir par rapport aux IP non boostés. La survenue d'une cytololyse hépatique était fréquente (17%), et était liée à la fois à la prématurité, et au type de traitement, plus fréquentes avec les IP qu'avec les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse. La perturbation du bilan hépatique pourrait être un facteur intermédiaire dans la relation entre traitements et accouchement prématuré.

La seconde partie portait sur les malformations congénitales. D'une part, elle a permis de mettre en évidence une association entre exposition à l'efavirenz au premier trimestre de grossesse et les malformations neurologiques, bien que concernant peu de cas (n=4) et n'atteignant la significativité que dans une analyse de sensibilité. Cette association incite à maintenir une vigilance chez les enfants exposés *in utero* à cette molécule classée tératogène par la FDA mais prescrite de plus en plus largement. D'autre part, l'exposition au premier trimestre à la zidovudine était associée à la survenue de malformations cardiaques.

La troisième partie a complété cette étude par une analyse de la fonction cardiaque des enfants nés de femmes incluses dans l'essai randomisé PRIMEVA, évaluée par échographie à un mois et un an de vie. Des modifications infracliniques de la contractilité et de l'épaisseur des parois du ventricule gauche ont été mises en évidence chez les enfants exposés *in utero* à une combinaison de traitement contenant la zidovudine et la lamivudine, par rapport aux enfants exposés à une monothérapie d'IP (lopinavir/r), confirmant ainsi dans un essai randomisé des résultats retrouvés par des études observationnelles.

Ces résultats ne remettent pas en question l'efficacité majeure des traitements antirétroviraux pour la prévention de la transmission de la mère à l'enfant du VIH, mais incitent à la poursuite d'une surveillance épidémiologique des effets indésirables potentiels, de manière à optimiser les prescriptions pour un meilleur rapport bénéfice/risque.

Mots clés : VIH, grossesse, prématurité, malformations, PTME, antirétroviraux

ABSTRACT

Our objective was to study potential associations between antiretroviral treatment and obstetrical or neonatal complications in a population of HIV-positive pregnant women. Most of the analyses were conducted with data from the French Perinatal Cohort (ANRS-EPF), an ongoing multicenter national cohort with more than 20 000 mother-infant pairs included since 1986. In the recent years, most women receive combination antiretroviral therapies (cART; 98% in 2013) and the transmission rate is consistently under 1% : 0.6% (IC95% : 0.4%-0.8% for 2005-2013).

The first part of this work consisted in the study of preterm birth. The preterm birth rate has increased significantly between 1990-1993 and 2005-2009, from 9.2% to 14.3%. Risk of preterm birth was significantly associated with cART, when compared to NRTI monotherapy or dual therapy, and with timing of treatment, higher for women treated at conception than for those initiating treatment during pregnancy. Among women treated with PI-based regimens (per current French guidelines), the risk of preterm birth was higher for ritonavir-boosted PIs. The occurrence of liver enzyme elevation was frequent (17%), and was associated both with preterm birth and with PI-based treatment, when compared to NNRTIs. LEE could be an intermediate factor between cART and preterm birth.

The second part of this work was a study of congenital birth defect in the cohort, and showed an association between first trimester-exposure to efavirenz and neurological defects, but this concerned small numbers (n=4), and reached significance only in a sensitivity analysis. This association encourages us to maintain awareness concerning this molecule, considered teratogenic by the FDA but more and more largely prescribed. We also reported an association between first-trimester exposure to zidovudine and congenital heart defects.

In a third part, we studied heart function for all children born to women included in the PRIMEVA randomized controlled trial, with echocardiograms at one month and one year of age. Infraclinical differences in contractility and septum thickness of the left ventricle was found, among girls exposed to a combination containing zidovudine and lamivudine, compared to infants exposed to a monotherapy of lopinavir/r, confirming in a randomized trial results from observational cohorts.

These results do not question the great progress of antiretroviral treatment in the prevention of mother-to-child transmission, but they encourage us to continue epidemiologic surveillance of potential side effects, in order to optimize prescriptions for an improved benefit/risk ratio.

Keywords: HIV, pregnancy, preterm birth, congenital birth defect, PMTCT, antiretroviral treatment

Remerciements

Ces travaux de thèse ont été effectués avec la collaboration et le soutien de nombreuses personnes que je tiens à remercier.

Je souhaite exprimer ma grande reconnaissance à mes deux directeurs de thèse.

A Mme Josiane Warszawski, qui m'a encadrée et aidée dans tous mes travaux depuis mon master, je te remercie pour ta grande disponibilité et ton aide précieuse.

A M. Laurent Mandelbrot, qui a co-dirigé cette thèse, je vous remercie de m'avoir aidé pour l'ensemble de ces travaux, et d'être un modèle pour moi dans la pratique de l'obstétrique.

Je tiens à remercier M. Loïc Josseran et M. Pierre-Yves Ancel, qui ont accepté d'être les rapporteurs de ce travail, ainsi que Mme Tessa Goetghebuer, Mme France Mentré et M. Damien Subtil, qui ont accepté d'être membres du jury de cette thèse et d'évaluer mon travail. Je vous témoigne ici ma gratitude et mon profond respect.

Je remercie toute l'équipe d'EPF, dont le travail quotidien permet de rendre les travaux de recherche possibles.

J'adresse également mes remerciements aux membres de l'équipe de recherche d'EPF : Christine Rouzioux, Stéphane Blanche, Catherine Dollfus, Albert Faye, Roland Tubiana, Pierre Frangé.

Je remercie les médecins, les sages-femmes et les infirmières de la maternité Louis Mourier et de la maternité Port Royal, qui m'ont aidée et accompagnée pendant mes années de clinicat et de doctorat.

Je remercie le Dr Rodney Wright, qui m'a accueillie dans son service à l'hôpital Montefiore, et m'a aidée dans les travaux de recherche que nous avons menés ensemble.

Je remercie ma famille et mes amis pour leurs encouragements.

Pour finir, je souhaite remercier Julien, pour son soutien, sa compréhension et son aide.

Equipe d'accueil

CESP INSERM U1018

Equipe VIH/Reproduction/Pédiatrie

Hôpital Bicêtre

82, rue du Général Leclerc

94 276 Le Kremlin-Bicêtre

Financement

J'ai bénéficié d'une bourse doctorale de l'ANRS pour une année consacrée exclusivement au travail de thèse, ainsi que d'une bourse complémentaire de l'AIDS Healthcare Foundation.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE ET OBJECTIFS DE LA THESE	11
Forte diminution de la transmission mère-enfant du VIH dans les pays industrialisés en relation avec l'efficacité des stratégies de prévention.....	12
Conséquences éventuelles de l'exposition aux traitements antirétroviraux pour le déroulement de la grossesse, le fœtus et le nouveau-né	13
Objectif de la thèse.....	14
I-SOURCES DE DONNEES	15
L'enquête périnatale française (ANRS CO1/CO10/CO11)	16
L'essai contrôlé randomisé PRIMEVA (ANRS-135).....	19
Cohorte unicentrique exposé/non-exposé de l'hôpital Montefiore, Bronx, USA.....	20
II-CARACTERISTIQUES ET PRISE EN CHARGE DES FEMMES INFECTEES PAR LE VIH EN FRANCE.....	21
Caractéristiques sociodémographiques des femmes enceintes prises en charge dans EPF	22
Traitements antirétroviraux et stratégies de prévention de la transmission mère-enfant.....	22
Taux de transmission mère-enfant du VIH	23
III-PREMATURITE ET INFECTION PAR LE VIH.....	26
Introduction.....	27
Prématurité dans l'Enquête Périnatale Française : étude de l'évolution de la prévalence et du rôle des antirétroviraux.....	30
Cytolyses hépatiques dans EPF : prévalence et facteurs de risques.	37
Comparaison des taux de prématurité chez des patientes infectées et non-infectées par le VIH dans une cohorte unicentrique située dans le Bronx, New York, USA.	43
Discussion et mise à jour	48
IV-MALFORMATIONS CONGENITALES ET EXPOSITION AUX ANTIRETROVIRAUX	56
Introduction.....	57
Population et méthodes	59
Principaux résultats	62
Discussion	63
V-RISQUE DE TOXICITE CARDIAQUE LIEE AUX INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES	67
Introduction.....	68
Population et méthodes	69
Principaux résultats	71
Discussion	72
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	77

BIBLIOGRAPHIE	81
ANNEXE 1 : Liste des traitements antirétroviraux utilisés dans la cohorte EPF	90
ANNEXE 2 : Article Prématurité dans l'Enquête Périnatale Française	91
ANNEXE 3 : Article Cytolyses hépatiques dans EPF : prévalence et facteurs de risque	105
ANNEXE 4 : Abstract Comparaison des taux de prématurité chez des patientes infectées et non infectées par le VIH	125
ANNEXE 5 : Article Malformations congénitales dans la cohorte EPF	127
ANNEXE 6 : Article Risque de toxicité cardiaque liée aux inhibiteurs nucléosidiques	150
ANNEXE 7 : Revue de littérature Tolérance des antirétroviraux chez le nouveau-né exposé in utero	162
ANNEXE 8 : Editorial Antirétroviraux et issues périnatales : y-at 'il un lien ?	175

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ALAT	ALanine AminoTransférase
ANRS	Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales B et C
APR	Antiretroviral Pregnancy Registry
ARN	Acide Ribonucléique
ARV	Antirétroviral
ASAT	ASpartate AminoTransférase
cART	Combinaison d'antirétroviraux puissants / anciennement HAART (Highly active Anti -Retroviral Therapy)
CV	Charge Virale plasmatique en copies/ml
EPF	Enquête Périnatale Française
HELLP	Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets
HR(a)	Hazard Ratio (ajusté)
IC	Intervalle de Confiance
IMC	Indice de Masse Corporelle
INNTI / NNRTI	Analogues non nucléosidiques inhibiteurs de la transcriptase inverse
INTI / NRTI	Analogues nucléosidiques inhibiteurs de la transcriptase inverse
IP	Inhibiteur de Protéase
MACDP	Metropolitan Atlanta Congenital Program
OMS	Organisation Mondiale de la Santé / WHO (World Health Organisation)
OR(a)	Odds Ratio (ajusté)
PCR	Polymerase Chain Reaction
PTME	Prévention de la Transmission Mère-Enfant du VIH / PMTCT Prevention of Mother to Child HIV Transmission
RR	Risque relatif
SA	Semaines d'aménorrhée
SIDA	Syndrome de l'Immunodéficience Acquise
TME	Transmission mère-enfant du VIH
VHB	Virus de l'Hépatite B
VHC	Virus de l'Hépatite C
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

Liste des productions scientifiques

Articles scientifiques publiés dans le cadre de la thèse

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Dollfus C, Faye A, Rouzioux C, Teglas JP, Ekoukou D, Blanche S, Mandelbrot L.
Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost?
Clin Infect Dis. 2012 May;54(9):1348-60.

Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, Le Chenadec J, Boullag-Bonnet N, Faye A, Dollfus C, Tubiana R, Bonnet D, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J.
Association between prenatal exposure to antiretroviral therapy and birth defects: an analysis of the French perinatal cohort study (ANRS CO1/CO11).
PLoS Med. 2014 Apr 29;11(4):e1001635.

Sibiude J, Warszawski J, Blanche S.
Tolerance of the newborn to antiretroviral drug exposure in utero.
Expert Opin Drug Saf. 2015 May;14(5):643-54. doi: 10.1517/14740338.2015.1019462. Review.

Sibiude J, Le Chenadec J, Bonnet D, Tubiana R, Faye A, Dollfus C, Mandelbrot L, Delmas S, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J, Blanche S; French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis French Perinatal Cohort/Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation Trial.
In utero exposure to zidovudine and heart anomalies in the ANRS French perinatal cohort and the nested PRIMEVA randomized trial.
Clin Infect Dis. 2015 Jul 15;61(2):270-80.

Hleyhel M, Goujon S, **Sibiude J**, Blanche S, Warszawski J; on behalf the ANRS French Perinatal Cohort study Group.
In utero exposure to NELFINAVIR-EMS.
AIDS. 2016 Sep 20.

Zash RM, Williams PL, **Sibiude J**, Lyall H, Kakkar F.
Surveillance monitoring for safety of in utero antiretroviral therapy exposures: current strategies and challenges.
Expert Opin Drug Saf. 2016 Nov;15(11):1501-1513.

Mandelbrot L, **Sibiude J**.
A link between antiretrovirals and perinatal outcomes?
Lancet HIV. 2016 Nov 15. pii: S2352-3018(16)30188-6.

Article scientifique en cours de soumission

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Meier F, Faye A, Blanche S, Mandelbrot L, and the ANRS-French Perinatal Cohort Study Group
High Risk of Hepatotoxicity in Pregnant Women Receiving Protease Inhibitors in the ANRS-French Perinatal Cohort
Soumis à Clinical Infectious Diseases

Chapitre d'ouvrage

Sibiude J.

Prise en charge de la femme enceinte infectée par le VIH

Traité AKOS de l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale (éditions Elsevier-Masson 2016)

Sibiude J.

Tolérance des antirétroviraux durant la grossesse. Médecine Thérapeutique en Pédiatrie (éditions John Libbey Eurotext 2016)

Communications dans des colloques scientifiques internationaux

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Dollfus C, Faye A, Rouzioux C, Teglas JP, Ekoukou D, Blanche S, Mandelbrot L.

Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost? (**présentation orale**)

Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston (USA) 1er Mars 2011

Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, Le Chenadec J, Boullag-Bonnet N, Faye A, Dollfus C, Tubiana R, Khoshnood B, Warszawski J, EPF

Birth Defects and Antiretroviral Therapy in the EPF French Perinatal Cohort, a Prospective Exhaustive Study among 13,124 Live Births from 1994 to 2010 (**présentation orale**)

Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Atlanta (USA) March 2013

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Meier F, Galiba E, Faye A, Blanche S, Mandelbrot L, and the ANRS-French Perinatal Cohort Study Group

Higher Risk of Hepatotoxicity in pregnant women receiving boosted protease inhibitors in ANRS-EPF.

18th International Workshop on HIV observational Databases Sitges (Spain) March 2014

Sibiude J, Le Chenadec J, Bonnet D, Tubiana R, Faye A, Dollfus C, Mandelbrot L, Delmas S, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J, Blanche S; French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis French Perinatal Cohort/Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation Trial. In Utero Exposure to Zidovudine and neonatal heart anomalies in the ANRS-EPF/PRIMEVA.

Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston (USA) March 2014

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Meier F, Galiba E, Faye A, Blanche S, Mandelbrot L, and the ANRS-French Perinatal Cohort Study Group

High Risk of Liver Enzyme Elevation in Pregnant Women Receiving Protease Inhibitors.

Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston (USA) Feb 2016

Sibiude J, Cojocaru L, Wright R.

Liver enzyme elevation during pregnancy in HIV-infected women. Jeanne Sibiude, Liviu Cojocaru, Rodney Wright.

American Congress of Obstetricians and Gynecologists Washington DC (USA) mai 2016

Sibiude J, Wright R.

Risk of preterm birth and small for gestational age infants: comparison between HIV-infected and uninfected women.

Society for Maternal and Fetal Medicine, Las Vegas NV (USA) jan 2017

INTRODUCTION GENERALE ET OBJECTIFS DE LA THESE

Forte diminution de la transmission mère-enfant du VIH dans les pays industrialisés en relation avec l'efficacité des stratégies de prévention

En France, depuis 1993, le dépistage de l'infection par le VIH est proposé à toutes les femmes enceintes, si possible au premier trimestre de grossesse. Un traitement antirétroviral est recommandé systématiquement pour les femmes séropositives, qu'elles aient ou non une indication pour leur propre santé, dans le but de diminuer le risque de transmission mère-enfant (TME) du virus.

Les stratégies de prévention de la transmission mère-enfant du VIH ont beaucoup évolué au cours du temps (1). En France, à partir de 1994, la majorité des femmes enceintes séropositives a reçu jusqu'en 1996 le seul traitement antirétroviral disponible : une monothérapie d'inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (INTI), le plus souvent la zidovudine (ou AZT). Entre 1997 et 1999, une bithérapie d'INTI est devenue la prescription majoritaire, en relation avec un essai thérapeutique qui en a montré l'efficacité (2). La diffusion de combinaisons antirétrovirales puissantes (cART), disponibles à partir de 1996, a été progressive. Les cART sont définies par la présence d'une molécule de type inhibiteur de protéase (IP) ou de type inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI), et plus récemment de nouvelles classes (inhibiteurs de fusion, inhibiteurs de l'intégrase ou inhibiteurs du CCR5), presque toujours associée à deux INTI, ou par l'association de trois INTI au moins. Ces traitements représentaient en 2016 plus de 20 molécules différentes auxquelles les femmes pouvaient être exposées en cours de grossesse (Annexe 1).

Initialement, ces combinaisons ont été prescrites au cours de la grossesse sur indication maternelle, et donc pour des patientes ayant une pathologie plus avancée. A partir de 2004(3), la prescription systématique de cART en cours de grossesse, même en l'absence d'indication maternelle, a entériné une pratique déjà largement en cours dans les maternités en France. Pour les femmes sous traitement lors de la conception, un changement de molécule peut être effectué en cas de contre-indication liée à la grossesse, mais l'interruption thérapeutique n'est pas recommandée. Pour les femmes encore non traitées, la combinaison recommandée en première intention en France est l'association d'un IP à deux INTI, et les recommandations concernant le moment d'initiation du traitement ont également évolué entre un début vers 26 semaines d'aménorrhée (SA) en 2004 jusqu'à un début le plus tôt possible et au plus tard à 14 SA dans les dernières recommandations de 2015 (4).

D'autres mesures ont été associées au traitement antirétroviral dans le but de diminuer la TME, en particulier une perfusion maternelle de zidovudine pendant le travail et une monothérapie de zidovudine pendant six semaines chez le nouveau-né. Ces deux mesures étaient recommandées pour toutes les patientes jusqu'en 2013. Désormais l'indication de perfusion de zidovudine est restreinte aux patientes à risque élevé de TME, et le traitement du nouveau-né est réduit à 4 semaines. A partir de 1998, une césarienne programmée, avant le travail et à membranes intactes, a été recommandée selon des critères laissés à l'appréciation des cliniciens. Actuellement, elle est recommandée uniquement en cas de charge virale plasmatique mal contrôlée à l'approche du terme. L'allaitement est déconseillé dans tous les cas (4).

Ces stratégies se sont accompagnées d'une diminution spectaculaire du taux de transmission mère-enfant de 20% avant 1994, à 8% dans la période 1996-1998 pour atteindre environ 1% actuellement (5,6). Des évolutions similaires sont observées dans d'autres pays industrialisés (7-11).

Conséquences éventuelles de l'exposition aux traitements antirétroviraux pour le déroulement de la grossesse, le fœtus et le nouveau-né

Parallèlement à la mise en place des stratégies de prévention de la transmission du VIH, de nombreuses études se sont intéressées à la tolérance pour la mère et pour l'enfant des traitements reçus in utero. En effet, alors que les traitements antirétroviraux ont définitivement fait la preuve de leur efficacité dans la prévention de la transmission du virus de la mère à l'enfant, ils n'ont pas fait la preuve de leur innocuité, et ceci est source de préoccupation (12). Ces traitements sont reçus souvent dès la conception, et au moins pendant une très grande partie de la grossesse. Ils passent la barrière placentaire pour la plupart d'entre eux (13), et ainsi peuvent avoir non seulement une action sur la femme enceinte, mais également une toxicité directe sur le fœtus. Plusieurs points, que nous détaillerons ci-dessous puis dans chaque partie de cette thèse ont été le sujet d'études depuis le début du traitement des femmes enceintes. Les résultats contradictoires rapportés et les insuffisances de certaines de ces études ont justifié l'élaboration de ce travail.

Prématurité. Il a été évalué que la naissance prématurée, définie par une naissance avant 37 semaines d'aménorrhées est responsable d'une fraction très importante de la mortalité périnatale dans le monde, plus de 50% de la mortalité périnatale aux Etats-Unis, ainsi que de d'une importante morbidité à long terme (14,15). Aux Etats-Unis, une augmentation importante de la prématurité chez les femmes infectées par le VIH a été observée au cours des vingt dernières années jusqu'à atteindre des taux particulièrement élevés (17 à 26 %) (16,17). Le même phénomène a été observé dans une étude anglaise, mais avec des niveaux de prématurité moins élevés (13.3%) (18). En France, l'évolution de la prématurité n'a pas été décrite, mais les taux de prématurité se rapprochent plus des études anglaises (14.3% sur la période 2005-2009).

Une augmentation de la prématurité a également été observée en France en population générale sur la même période, mais à des niveaux nettement moins élevés que chez les femmes infectées par le VIH : 4.9% des naissances en 1995 (19) et 5.8% en 2003 (20), et 6.3% en 2010 (21).

Le rôle possible des traitements antirétroviraux prescrits pendant la grossesse dans l'augmentation de la prématurité a été évoqué dès 1998 dans une étude Suisse (22), puis de nombreuses études s'y sont intéressées, avec des résultats contradictoires. L'augmentation de la prématurité, parallèle à la diffusion des combinaisons antirétrovirales puissantes justifie de s'interroger sur leur responsabilité.

Malformations congénitales. Parmi les effets indésirables potentiels des molécules antirétrovirales, un effet tératogène éventuel a été particulièrement recherché, d'autant plus qu'une étude animale a évoqué en 1998 une relation entre anomalies de fermeture du tube neural et exposition à l'efavirenz¹ au début de la gestation chez le singe (23,24). Aussitôt, des mesures ont été prises pour contre-indiquer ou tout au moins déconseiller la prescription d'efavirenz au premier trimestre de grossesse. La molécule a alors été classée D (potentiel tératogène) par la Food and Drug Administration, avec un impact en termes de santé publique car cette molécule est par ailleurs bien tolérée, peu coûteuse et très largement répandue. Aucun des autres traitements antirétroviraux n'est classé A (sans danger) à ce jour.

¹ L'efavirenz ou Sustiva ® est un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI)

Risque de toxicité cardiaque et expositions aux inhibiteurs nucléosidiques. Deux études ont retrouvé une association entre malformations cardiaques et zidovudine² d'une part (25) ou antirétroviraux globalement (26) d'autre part. Cependant, ces études sont restées très prudentes dans leur conclusion et ces associations n'ont pas été retrouvées dans d'autres études. Des questions ont également été soulevées quant au risque de troubles de la fonction cardiaque chez des enfants exposés in utero à la zidovudine (27). L'enjeu est majeur car la zidovudine reste l'antirétroviral le plus utilisé pendant la grossesse dans de nombreux pays.

Objectif de la thèse

Notre objectif était d'étudier les associations potentielles entre les traitements antirétroviraux reçus par les femmes enceintes infectées par le VIH et les pathologies pouvant survenir au cours de la grossesse ou être diagnostiquées dans la période néonatale.

Cette thèse comporte cinq parties :

Les deux premières parties décrivent les sources de données et la prise en charge des patientes infectées par le VIH en France à partir de l'enquête périnatale française, au sein de laquelle sont menées la majorité des études de cette thèse.

Les trois parties suivantes correspondent aux résultats des travaux réalisés

- sur le risque de prématurité et ses mécanismes.
- sur le risque de malformation congénitale.
- sur le lien entre toxicité cardiaque et exposition aux inhibiteurs nucléosidiques.

La conclusion générale porte sur la synthèse et les perspectives de ces résultats.

² La zidovudine (ou AZT ou Retrovir ®) est l'inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (INTI) de loin le plus utilisé chez la femme enceinte, longtemps cité en exemple dans les recommandations nationales de traitement de la femme enceinte.

I-SOURCES DE DONNEES

L'enquête périnatale française (ANRS CO1/CO10/CO11)

L'Enquête Périnatale Française (EPF) est une cohorte prospective nationale multicentrique soutenue par l'Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les Hépatites virales (ANRS). Cette cohorte a inclus depuis 1986, plus de 20 000 femmes enceintes infectées par le VIH ayant accouché dans une centaine de maternités en France métropolitaine et dans les Départements d'Outre-mer. Depuis le début des années 2000, environ 1000 femmes sont incluses chaque année, représentant environ 70% des femmes enceintes séropositives en France d'après des estimations non publiées.

EPF est coordonnée par Josiane Warszawski au sein de l'équipe « Épidémiologie et évaluation des stratégies de prise en charge : VIH, Reproduction, Pédiatrie », dirigée par Laurence Meyer et Jean Bouyer, du Centre de recherche en épidémiologie et santé des populations (CESP)-INSERM 1018.

Objectifs. Les principaux objectifs de cette cohorte sont les suivants : décrire l'évolution au cours du temps du taux de transmission mère-enfant du VIH et sa prévention ; identifier les facteurs de risque de transmission et les situations de vulnérabilité exposant à une prise en charge non optimale des femmes enceintes à l'ère des cART ; et évaluer la tolérance des stratégies de PTME sur le déroulement et l'issue des grossesses et chez les enfants non infectés par le VIH.

Inclusion et modalités de suivi. Toutes les femmes enceintes infectées par le VIH-1 et/ou le VIH-2, désirant accoucher dans l'une des maternités participant à l'enquête, sont incluses prospectivement dans la cohorte EPF au plus tard le jour de l'accouchement. Le moment de l'inclusion pendant la grossesse a varié au cours du temps, et diffère depuis 2005 selon deux modalités de participation à EPF qui seront détaillées plus loin. La prise en charge du VIH et de la grossesse et des enfants ainsi que le calendrier de leur suivi suivent les recommandations nationales du groupe d'expert qui sont publiées tous les deux ans, sans ajout d'examen ou intervention spécifique à la recherche.

Les mères sont suivies jusqu'à une semaine après l'accouchement et les enfants jusqu'à 18-24 mois s'ils s'avèrent non infectés ou tant que leur statut VIH reste indéterminé. En cas de diagnostic d'infection par le VIH, les enfants sont inclus pour un suivi semestriel jusqu'à 18 ans.

Depuis 2005, EPF comporte trois volets distincts (Figure 1.1) :

- **Un volet détaillé pour l'étude de la transmission du virus de la mère à l'enfant (ANRS CO1-EPF) :** inclusion le plus tôt possible pendant la grossesse des mères séropositives pour le VIH et suivi des enfants jusqu'à 24 mois dans les plus grosses maternités d'EPF, avec des questionnaires détaillés (26 sites participant, soit environ 750 inclusions annuelles).
- **Un volet simplifié constituant avec le volet ci-dessus un observatoire épidémiologique et de pharmacovigilance des enfants non infectés (ANRS CO11-EPF) :** ce dispositif allégé (notamment absence de données biologiques recueillies) est implanté dans des maternités plus petites et représente environ 300 inclusions annuelles.
- **Une cohorte d'enfants infectés par le VIH diagnostiqués avant l'âge de 13 ans (ANRS CO10-EPF)**

Le nombre de femmes incluses dans EPF a augmenté de 1986 à 2000 pour se stabiliser depuis autour de 1000 femmes chaque année (Figure 1.2).

Ethique et consentement, participation. L'enquête CO1 dont l'ANRS est promoteur, correspond à une évolution de l'Enquête Périnatale Française qui a reçu un avis favorable du CCPPRB de Paris-Cochin (EPF - Etude prospective multicentrique de la transmission materno-fœtale du VIH-1 et du VIH-2 et de sa prévention - ANRS EP13 - Référence N° 1304) le 10 juin 1997, suivis d'amendements dont le dernier est le N°13 du 4 décembre 2015). Cette enquête a reçu un avis favorable de la CNIL le 29 décembre 2004. L'observatoire CO11 est une enquête sans promoteur, pour laquelle les données recueillies chez les mères et les enfants correspondent à des données du suivi médical habituel dans ce contexte, sans examens cliniques ou biologiques spécifiques à cette étude. CO11 a obtenu un avis favorable de la CNIL le 2 juillet 2006 (N°904471 version 1).

Une note d'information est remise individuellement à toutes les femmes éligibles. Une attestation est signée par le médecin investigateur qui s'engage à avoir informé et obtenu l'accord de sa patiente pour sa participation et celle de l'enfant à naître à EPF. En 2011, le bilan annuel effectué par le monitoring sur site au sein de chaque maternité participant à EPF montrait que moins de 5% des femmes enceintes séropositives n'avaient pas été incluses dans la cohorte. A l'échelle nationale, une estimation montrait une couverture des femmes enceintes séropositives de 70% environ.

Principales variables étudiées. Les questionnaires sont remplis par les cliniciens avec l'assistance éventuelle de techniciens d'études cliniques. Un monitoring sur site pour les données incomplètes ou incohérentes est effectué par des moniteurs d'études cliniques attachés à l'équipe de coordination.

Les informations utilisées pour les travaux rapportés dans cette thèse proviennent d'une part des questionnaires « mère » portant sur les femmes enceintes, la grossesse et l'issue, et d'autre part des questionnaires « enfants » portant sur le suivi des enfants non-infectés et infectés jusqu'à 18-24 mois. Les variables relevées sont présentées dans l'encadré 1.3.

Figure 1.1. Schéma de la cohorte ANRS – EPF/CO1/CO10/CO11

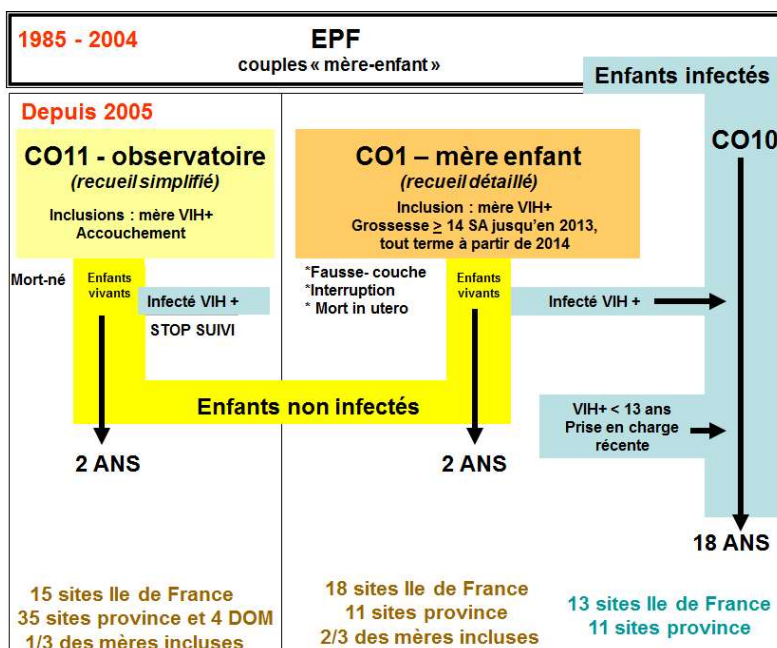


Figure 1.2 – Inclusion des grossesses dans la cohorte ANRS – EPF/CO1 /CO11 (octobre 2016)

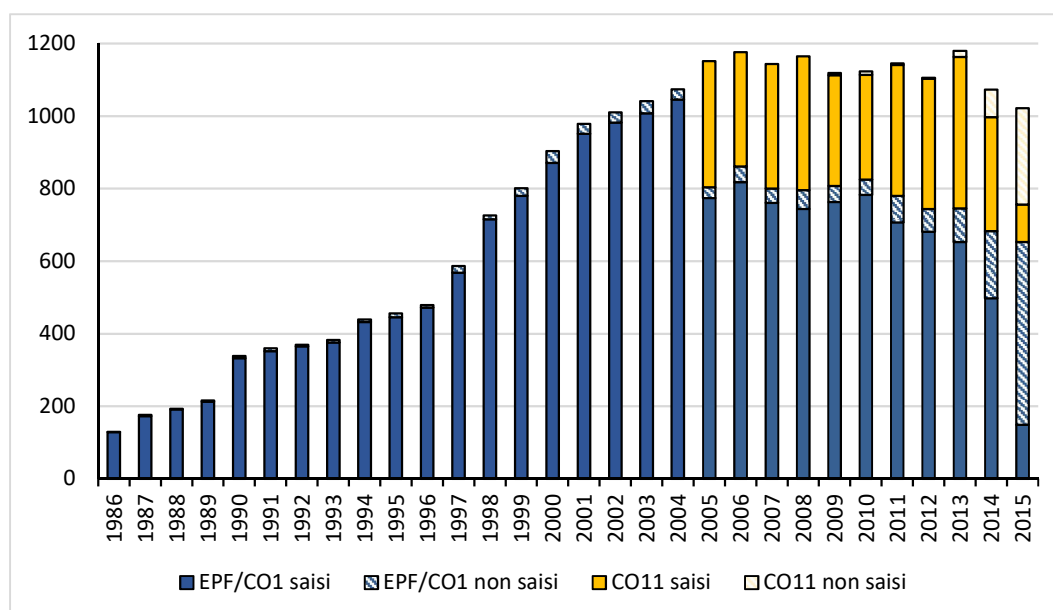


Figure 1.3 – Variables recueillies dans la cohorte ANRS – EPF/CO1 /CO11

Variables maternelles disponibles dans toutes les périodes et volets d'EPF :

- **données sociodémographiques maternelles au moment de la grossesse** : âge, origine géographique
- **informations sur la grossesse actuelle** : date des dernières règles, date de début de grossesse, date et terme de première consultation prénatale dans la maternité, grossesse multiple
- **informations sur les antécédents obstétricaux** : nombre de grossesses antérieures, nombre d'accouchements antérieurs, issue des grossesses précédentes
- **informations sur le VIH** : type de VIH de la mère (VIH-1, VIH-2, ou les deux), date du diagnostic (avant ou pendant la grossesse), détail de la succession des traitements antirétroviraux reçus pendant la grossesse jusqu'à l'issue (molécules, date et fin de chaque séquence), interruptions (dates et motifs), mesure la plus proche de l'accouchement de CD4 et d'ARN-VIH (charge virale) plasmatique.
- **données sur l'issue de la grossesse** : date, terme, type d'issue, mode d'accouchement.

Variables maternelles détaillées disponible uniquement dans le volet détaillé CO1 à partir de 2005

- **informations sociodémographiques et sur les conditions de vie à l'inclusion** : activité professionnelle, pays de naissance et nationalité de la femme enceinte et du père de l'enfant à naître, pays de naissance de la grand-mère maternelle de l'enfant à naître, statut marital et cohabitation avec le père
- **informations sur le VIH** : mode de contamination présumé, antécédents d'événements classant SIDA (stade C), primo-infection VIH au cours de la grossesse, tous les bilans de CD4 et charge virale plasmatique effectués depuis le début de la grossesse jusqu'à l'issue
- **récapitulatif clinique** : pathologies obstétricales ou autres survenues en cours de grossesse avec la date de survenue (infections cervico-vaginales, infections sexuellement transmissibles, herpès, pré-éclampsie, diabète gestationnel, cholestase gravidique, hémorragie génitale, pathologies classant SIDA, autre pathologie) et les hospitalisations (date, motif et durée)
- **données sur l'accouchement** : déclenchement ou travail spontané, indication de césarienne, durée d'ouverture de l'œuf, rupture prématurée des membranes, extraction instrumentale

Variables de suivi de l'enfant

- **poids et taille à la naissance**
- **examen clinique et données biologiques** de la naissance à l'âge de 2 ans, comprenant des questions spécifiques (syndromes malformatifs, anomalies neurologiques ou infectieuses) et des questions ouvertes (autres anomalies cliniques)
- **diagnostic d'infection par le VIH** du nouveau-né questions spécifiques (syndrome malformatif, anomalie neurologique, syndrome infectieux), soit par une question ouverte (autres anomalies cliniques).

L'essai contrôlé randomisé PRIMEVA (ANRS-135)

Objectif de l'essai. L'essai contrôlé randomisé PRIMEVA est un essai multicentrique de phase 2/3, ouvert, réalisé en France entre 2007 et 2010 dans 25 maternités participant à EPF. L'objectif principal de l'essai était d'évaluer l'efficacité virologique d'une monothérapie d'inhibiteur de protéase en cours de grossesse. Parmi les objectifs secondaires figurait notamment une évaluation de la tolérance clinique et biologique, chez la mère et chez l'enfant. Le groupe recevant une monothérapie de lopinavir/ritonavir (Kaletra®) était comparé au groupe contrôle, recevant à partir de la randomisation un traitement classique par deux INTI (zidovudine/lamivudine ou Combivir®) et lopinavir/ritonavir. Les résultats principaux de l'étude ont fait l'objet d'une publication (28).

Critères d'inclusion, randomisation et modalités de suivi. Les critères pour être incluse dans l'essai randomisé PRIMEVA était un âge ≥ 18 ans, une grossesse évolutive et prise en charge au plus tard à 24 semaines d'aménorrhées (SA), une infection confirmée par le VIH-1, aucun antécédent de traitement par inhibiteur de protéase, et l'absence d'indication clinique à un traitement antirétroviral. La charge virale (ARN-VIH1 plasmatique) devait être inférieure à 30 000 copies/mL.

La randomisation des patientes incluses avait lieu avant 25SA, et elles étaient alors réparties entre les deux bras de traitements qui étaient administrés en ouvert. Toutes les patientes quel que soit le bras de randomisation étaient traitées par une perfusion de zidovudine au cours de l'accouchement, et tous les enfants ont reçu un traitement de prophylaxie post-natale par zidovudine pendant 4 semaines.

Le critère de jugement principal, la charge virale plasmatique, était évalué une première fois à 8 semaines de traitement, et si elle était ≥ 200 copies/mL, une évaluation de l'observance était réalisée et le traitement était intensifié. Une patiente sous monothérapie de lopinavir/ritonavir pouvait donc recevoir par la suite une trithérapie contenant des INTI.

Après la naissance, les enfants étaient vus par un pédiatre selon les recommandations habituelles. La réalisation d'échographies cardiaques pour tous les nouveau-nés à un mois et à un an de vie était prévue par le protocole dans le cadre de l'évaluation de la tolérance des traitements et sur la base d'études cliniques ayant montré un impact des traitements sur la fonction cardiaque (29).

Ethique et consentement. Seules les patientes ayant signé un consentement éclairé pouvaient être incluses dans l'essai. L'essai avait reçu un avis favorable du comité de protection des personnes de la Pitié Salpêtrière ainsi que de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps). Il est inscrit sur ClinicalTrials.gov sous le numéro NCT00424814.

Résultats principaux de l'essai. Les patientes ont été randomisées entre le groupe monothérapie de lopinavir/ritonavir (N=69) et le groupe trithérapie (N=36). Le traitement par monothérapie d'IP a permis d'obtenir pour 90% des patientes une charge virale < 200 copies à 8 semaines de traitement, et a donc été jugé efficace selon les critères définis dans le protocole. A l'accouchement, les proportions de femmes avec une charge virale < 200 copies ne différaient pas entre les deux bras de traitement, en revanche, elles étaient moins nombreuses à obtenir une charge virale < 50 copies/mL dans le groupe traité par monothérapie de lopinavir/ritonavir (78% vs 97%, $p=0.01$). Seul un cas de transmission mère-enfant du virus est survenu, et ce dans le groupe traité par trithérapie. Concernant la tolérance, elle était meilleure dans le groupe monothérapie de lopinavir/ritonavir, avec significativement moins de changement pour intolérance que dans le groupe trithérapie (1.4% vs 11.1%, $p=0.046$).

Cohorte unicentrique exposé/non-exposé de l'hôpital Montefiore, Bronx, USA

La cohorte unicentrique de patientes infectées par le VIH de l'hôpital Montefiore a été initialement créée en 2008 pour étudier les issues de grossesses chez les patientes infectées par le VIH, au sein d'une population vivant dans des quartiers socialement défavorisés du Bronx. Au cours de mon séjour au sein de cet hôpital, j'ai souhaité réaliser une comparaison des issues de grossesse entre ces femmes et des femmes accouchant dans le même hôpital, et donc issues du même bassin de population, mais non-infectées par le VIH. Cette nouvelle cohorte a donc fait l'objet d'un nouveau protocole intitulé « Determinants of preterm birth and small for gestational age infants in a population of HIV-infected pregnant women ».

Principaux objectifs. L'objectif principal de cette étude était de comparer les taux de prématurité et d'enfant de petit poids pour l'âge gestationnel chez des patientes infectées et non infectées par le VIH. Les objectifs secondaires étaient d'étudier les facteurs de risque de ces deux issues et notamment le rôle facteurs psychosociaux dans cette population connue pour être socialement défavorisée.

Inclusion des patientes.

Groupe exposé. Toutes les patientes infectées par le VIH suivies pour une grossesse ou qui ont un diagnostic d'infection par le VIH en cours de grossesse sont vues au moins une fois en consultation par le Dr Rodney Wright, médecin gynécologue-obstétricien du service de gynécologie-obstétrique de l'hôpital Montefiore (affilié à l'université Albert Einstein College of Medicine). A partir d'une file active de toutes les patientes infectées par le VIH vues au moins une fois en consultation par le Dr Wright entre janvier 2005 et décembre 2014, une liste de grossesses a été établie. Afin de vérifier l'exhaustivité, cette liste a été croisée avec une liste indépendante, établie par une pharmacologue (Mme Angela Giovanello) à partir des médicaments antirétroviraux délivrés par la pharmacie de l'hôpital et à partir des bilans (charge virale VIH) réalisés sur site. Pour l'analyse de la prématurité et des petits poids pour l'âge gestationnel, nous avons ensuite restreint la population d'étude aux naissances vivantes ayant lieu à un terme ≥ 22 SA et avons exclu les grossesses multiples.

Groupe non exposé. Pour chaque femme infectée par le VIH incluse dans la population d'analyse, nous avons apparié une femme non-infectée par le VIH. Les critères d'appariement étaient : la date de l'accouchement, l'ethnie, et le terme de début de suivi en maternité.

Recueil et sécurisation des données. Le recueil de données était rétrospectif, à partir des dossiers médicaux informatisés des mères et des enfants. Au terme du recueil de données la base de données a été anonymisée, et les correspondances d'identification localisées uniquement dans un fichier protégé par un mot de passe sur l'ordinateur fixe du Dr Rodney Wright.

Ethique et consentement. Le protocole a été soumis au comité d'éthique local de l'hôpital (Institutional Review Board of Albert Einstein College of Medicine), et reçu un avis favorable sous le numéro 2015-4948, référence 007576. Le recueil du consentement des patientes n'était pas nécessaire en raison du caractère rétrospectif et non-interventionniste de l'étude (catégorie 5 selon le Health Insurance Portability and Accountability Act).

II-CARACTERISTIQUES ET PRISE EN CHARGE DES FEMMES INFECTEES PAR LE VIH EN FRANCE

Caractéristiques sociodémographiques des femmes enceintes prises en charge dans EPF

La proportion de femmes primipares parmi les inclusions a diminué passant de 52% en 1990 à 38% en 1998, et 22% en 2013. Parallèlement, l'âge à la première grossesse a augmenté : 24% des primipares avaient 35 ans ou plus en 2013, alors que cette proportion était de 12% en 1998 et 1% en 1988. Près de 46% des femmes incluses dans EPF ayant accouché en 2013 avaient déjà été incluses antérieurement pour une autre grossesse.

Entre 1986 et 2013, pour 2,4% des grossesses incluses, les femmes étaient infectées par le VIH-2 exclusivement (1% en 2013).

La proportion des femmes originaires d'Afrique sub-saharienne a considérablement augmenté, aussi bien globalement que chez les primipares, passant de 26% en 1988 à 41% en 1996, 65% en 2004 et 80% en 2013. En 2013, 73% des mères incluses étaient nées dans un pays d'Afrique sub-saharienne et 9% en France métropolitaine.

La proportion de femmes découvrant leur séropositivité pendant la grossesse a diminué au cours du temps pour atteindre 15% (29% chez les primipares) en 2013. Cette proportion reste cependant encore élevée chez les femmes originaires d'Afrique sub-saharienne (31% des primipares en 2013, versus 50% en 2004). La prise en charge tardive dans la maternité (c'est-à-dire au cours du 3ème trimestre) a fortement diminué entre 1988 et 1996, est restée relativement stable jusqu'en 2003 (13%) pour fluctuer ensuite entre 8 et 12%.

Entre 2006 et 2013, 40% des femmes enceintes incluses dans CO1 vivaient seules du point de vue du statut marital, et 20% vivaient seules et n'avaient pas d'activité professionnelle.

Concernant les coinfections, la sérologie de l'hépatite B, réalisée chez 93% (5908) des femmes incluses dans le volet CO1 depuis 2005, était positive pour 6.9% d'entre elles (IC 95% 6,2- 7,5). L'ADN VHB a été recherché chez deux tiers des femmes positives. La sérologie de l'hépatite C, réalisée chez 92% (5854) des femmes, était positive pour 3.2% (2.9-3.8). La prévalence de femmes PCR VHC+ était : 1.6% (IC 95% : 1.3-1.9).

Traitements antirétroviraux et stratégies de prévention de la transmission mère-enfant

Traitements antirétroviraux pendant la grossesse. En 2014, seules 1.2% des femmes n'ont reçu aucun traitement pendant la grossesse ; 67% des femmes étaient déjà sous traitement antirétroviral au moment où elles débutaient leur grossesse (Figure 2.1.), 22% initiaient les antirétroviraux (ARV) au deuxième trimestre et 6% au troisième trimestre. Les fenêtres thérapeutiques, soit l'interruption temporaire volontaire d'un traitement en début de grossesse, sont passées de 29% en 1997 à 2% en 2007 et moins de 1,4% en 2013. La prescription de cART d'emblée a augmenté de 2% en 1997 à 76% en 2004, et 98% en 2013. La grande majorité des femmes n'a eu qu'une séquence thérapeutique (72%). En 2013, 0.1% des femmes ont accouché sous monothérapie de zidovudine, 0.9% sous bithérapie et le reste sous cART. Un IP à l'accouchement était présent chez 86% des femmes.

La figure 2.2 montre la très grande diversité de molécules administrées dès la conception, et la figure 2.3 l'évolution au cours du temps de l'exposition aux principales molécules, avec notamment une diminution de l'exposition à la zidovudine et à la lamivudine au profit du ténofovir et dans une moindre mesure de l'abacavir.

Statut immuno-virologique. L'évolution des traitements s'est accompagnée d'une amélioration du contrôle virologique et du statut immunitaire des patientes. La proportion de charge virale <400 cp/mL est passée de 46% en 1997 à 77% en 2004, et 95% en 2013. En 2013, elle était indétectable (<50 cp/mL) chez 85% des femmes prélevées en fin de grossesse (figure 2.4). La proportion de femmes dont la mesure du nombre de CD4 la plus proche de l'accouchement était supérieure à > 350 cellules/mm³ a augmenté légèrement sur l'ensemble de cette période (de 65 à 81%), et la proportion d'immunodépression sévère <200 cell/mm³ a diminué (5% en 2013).

Modalités d'accouchement. L'accouchement par césarienne programmée a augmenté entre 1997 et 1999 et commencé à diminuer à partir de 2001 pour atteindre 40% des accouchements en 2004, et 20% en 2013 (figure 2.4). Entre 2005 et 2014, La survenue d'une pré-éclampsie est rapportée chez 3% des femmes, un diabète gestationnel chez 7%, une pathologie classant SIDA chez 1%.

Traitement per-partum et prophylaxie post-natale. La majorité des femmes a eu un traitement per partum jusqu'en 2011, mais cette proportion a commencé à diminuer en 2012, suite aux nouvelles recommandations (90% en 2011, 78% en 2012 et 68% en 2013). Il s'agissait presque exclusivement de zidovudine en perfusion, et très rarement de névirapine monodose (<1% en 2013). Quasiment tous les nouveau-nés ont reçu une prophylaxie postnatale, essentiellement de la zidovudine en monothérapie (91% en 2013). L'allaitement est exceptionnel.

Taux de transmission mère-enfant du VIH

Le taux de transmission a commencé à diminuer à partir de 1990, mais a très fortement chuté à partir de l'introduction des traitements anti-rétroviraux en 1994. En France métropolitaine, pour la période 2005-2013, le taux de transmission estimé chez les enfants dont on dispose du statut VIH était de 0.6% (52/8879 ; IC95% : 0.4%-0.8%) ; figure 2.5.

On ne relève notamment aucune transmission parmi les 2651 enfants nés de femmes ayant reçu des antirétroviraux depuis la conception entre 2000 et 2011 avec une charge virale <50cp/mL en fin de grossesse, (borne supérieure de l'intervalle de confiance : 0.1%) (11).

Figure 2.1 Evolution de la proportion de femmes sous traitement antirétroviral à la conception ;
ANRS – EPF/CO1/CO11

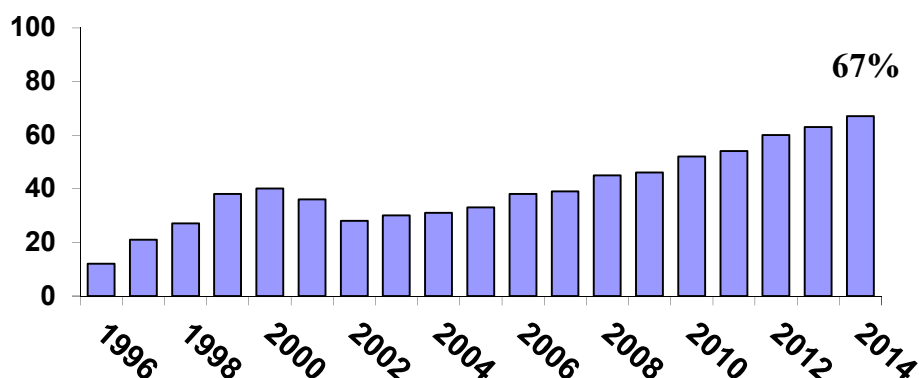
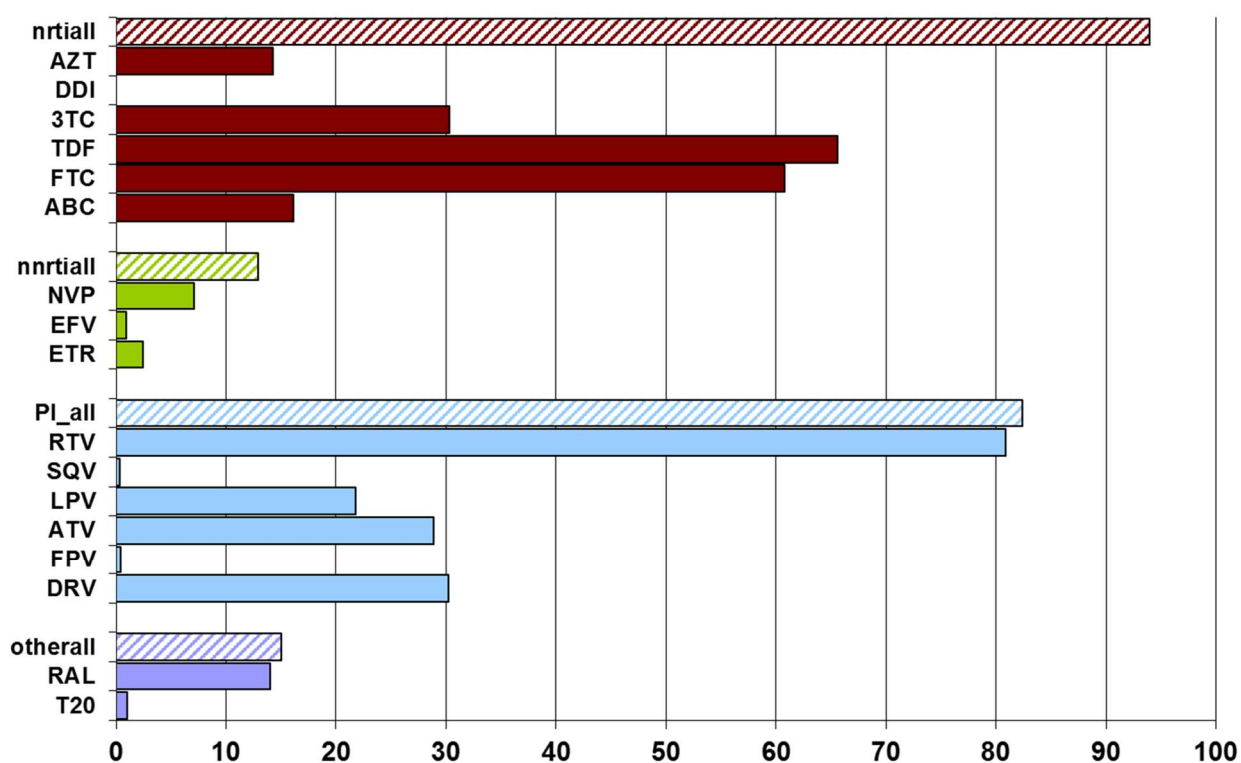


Figure 2.2 Molécules reçues à la conception en 2013 ; ANRS – EPF/CO1/CO11



nrtiall: au moins un INTI, AZT : zidovudine; DDI : didanosine; 3TC : lamivudine; TDF: tenifovir; FTC: emtricitabine; ABC: abacavir; nnrtriall : au moins un INNTI; NVP: névirapine ; EFV : efavirenz; ETR: etravirine; PI_all: au moins un inhibiteur de protéase ; RTV: ritonavir (boost); SQV: saquinavir; LPV: lopinavir; ATV: atazanavir; FPV: fosamprenavir ; DRV: darunavir; otherall : au moins un antirétroviral appartenant à une autre classe thérapeutique; RAL: raltégravir (inhibiteur de l'intégrase); T20 : enfuvirtide (inhibiteur de fusion)

Figure 2.3. Evolution des molécules reçues au moins une fois pendant la grossesse, par classe thérapeutique, ANRS – EPF/CO1/CO11

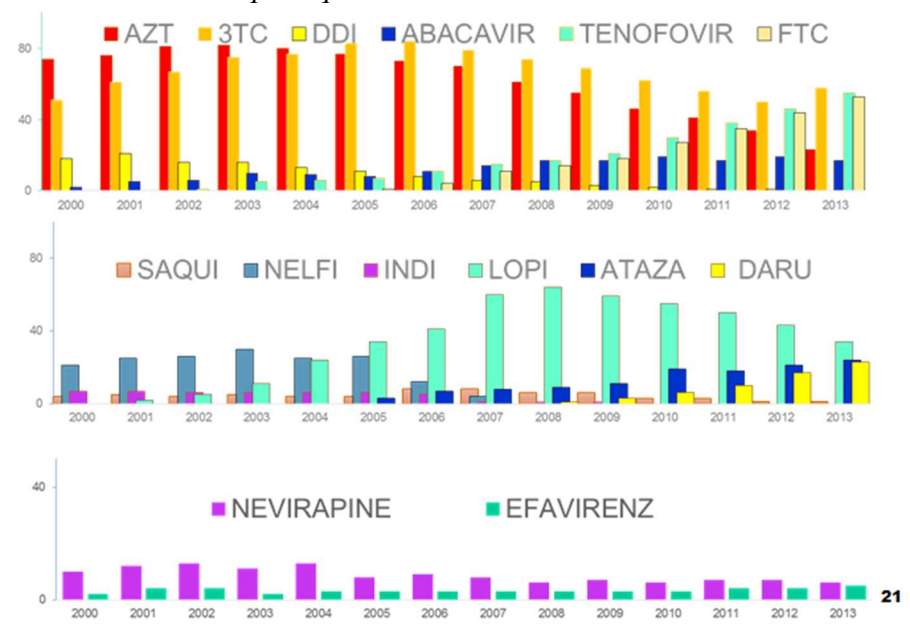


Figure 2.4 Evolution du taux de naissances par césariennes, ANRS – EPF/CO1/CO11

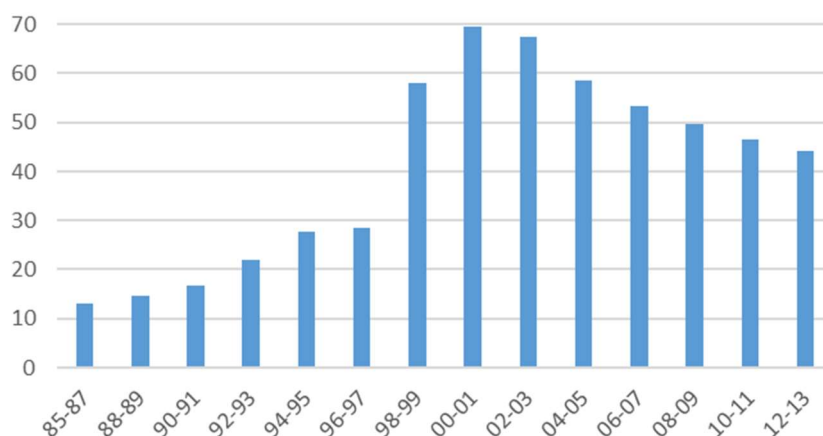
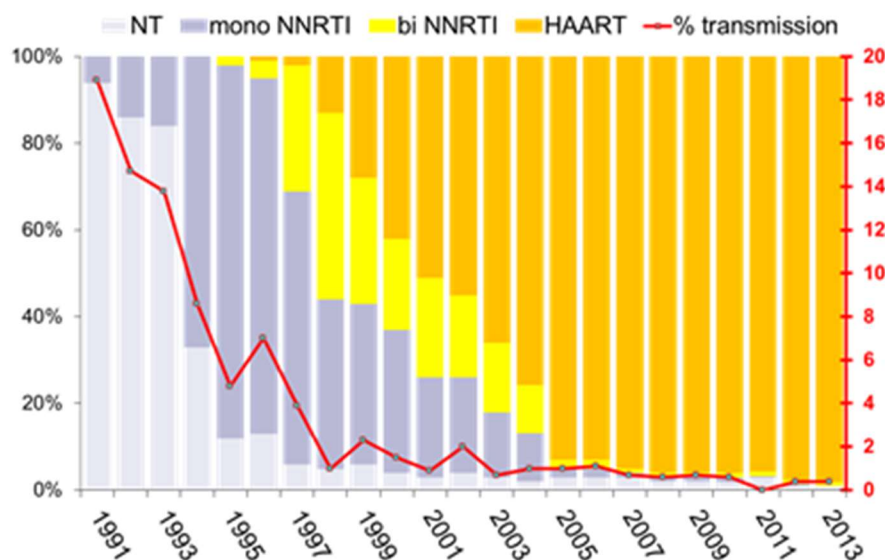


Figure 2.5. Evolution du taux de transmission mère-enfant et de la diffusion des antirétroviraux pendant la grossesse ; ANRS – EPF/CO1/CO11



III-PREMATURITE ET INFECTION PAR LE VIH

L'étude de la prématurité et de ses mécanismes potentiels chez les femmes infectées par le VIH a fait l'objet :

(1) d'un article publié (Annexe 2):

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Dollfus C, Faye A, Rouzioux C, Teglas JP, Ekoukou D, Blanche S, Mandelbrot L.

Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost?

Clin Infect Dis. 2012 May;54(9):1348-60.

(2) d'un article en cours de soumission, dont les données ont été présentées sous forme de poster (Annexe 3):

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Meier F, Galiba E, Faye A, Blanche S, Mandelbrot L, and the ANRS-French Perinatal Cohort Study Group

High Risk of Liver Enzyme Elevation in Pregnant Women Receiving Protease Inhibitors.

Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston (USA) Feb 2016

Article soumis à Clinical Infectious Diseases

(3) d'un abstract présenté sous forme de poster (Annexe 4):

Sibiude J, Wright R.

Risk of preterm birth and small for gestational age infants: comparison between HIV-infected and uninfected women.

Society for Maternal and Fetal Medicine, Las Vegas NV (USA) jan 2017

Introduction

Une première étude a évoqué une relation possible entre les traitements antirétroviraux et la prématurité dès 1998 (22). De nombreuses équipes se sont ensuite intéressées à ce sujet, primordial étant donné les conséquences en terme de santé publique représentée par la prématurité (15). La différence entre les taux de prématurité chez les patientes infectées par le VIH et la population générale était particulièrement préoccupante et les études portant sur le rôle des traitements antirétroviraux décrivaient des résultats contradictoires (Tableau 3.1).

Nous avons souhaité étudier l'évolution de la prématurité dans la cohorte EPF et particulièrement le rôle des traitements antirétroviraux. Lors d'un premier travail, nous avons donc étudié les associations entre les types de traitements antirétroviraux et la prématurité. Nous avons mis en évidence une association entre prématurité et traitement par inhibiteurs de protéase boostés par le ritonavir, par rapport aux IP non boostés.

Au cours de ce premier travail, nous avons également mis en évidence une association particulièrement significative et non précédemment décrite entre la survenue d'une cytolysse hépatique en cours de grossesse et la prématurité. Or la cytolysse hépatique était également associée significativement au traitement par IP boostés. Nous avons donc souhaité explorer de manière plus approfondie les cytolyses hépatiques chez les patientes enceintes infectées par le VIH dans la cohorte EPF, et étudier les rôles des traitements dans la survenue de cette cytolysse dans une population plus large. Ceci a fait l'objet d'un deuxième travail.

Enfin, la différence de taux de prématurité entre les patientes infectées par le VIH et la population générale étant particulièrement préoccupante, nous nous sommes interrogés sur les autres facteurs, non liés au VIH, et qui pourraient intervenir dans la différence de risque de prématurité. Il n'y avait pas d'étude comparant les patientes infectées par le VIH aux patientes non infectées et nous avons donc souhaité monter une étude exposé/non exposé pour pouvoir comparer ces patientes, en ajustant sur de nombreux facteurs psycho-sociaux pouvant être liés à la prématurité et étant malheureusement le plus souvent non recueillis dans les cohortes de grande envergure. Ce troisième travail est un travail unicentrique mené dans une maternité du Bronx, dans l'Etat de New York.

Tableau 3.1 : Principales études sur les traitements antirétroviraux et le risque de prématurité

Auteur Année	N	Pays	Période étudiée	Traitements comparés	% préma (n/N)	Comparaison principale			Facteurs d'ajustement
						AOR	IC 95%	p	
Lorenzi 1998	594	Suisse	1996-1998	Aucun monothérapie INTI bithérapie INTI ou plus	14% (63/452) 17% (19/112) 33% (10/30)	1 2.3	ref [1.17-7.10]	 <0.05	toxicomanie, stade SIDA voie d'accouchement
Cooper 2002	1542	Etats-Unis	1990-2000	Aucun monothérapie INTI bithérapie INTI cART	21% (85/396) 17% (116/710) 19% (34/186) 17% (42/250)	Chi2 sur ensemble des traitements		0.71	Aucun
Tuomala 2002	3266	Etats-Unis	1990-1998	Aucun monothérapie INTI multithérapie sans IP cART-IP	20% (228/1143) 16% (254/1590) 14% (55/396) 18% (25/137)	ARV vs aucun multi vs mono IP vs pas d'IP		0.02 0.65 0.15	CD4, toxicomanie, âge, ethnie antécédent obs., année, tabac, alcool
Thorne 2004	4372	9 pays d'Europe	1986-2004	Aucun monothérapie INTI bithérapie INTI cART	17% (402/2339) 17% (118/704) 13% (34/254) 25% (274/1075)	référence : mono et bi regroupés 2.1	 [1.4-2.7]	 <0.002	CD4, toxicomanie, âge ethnie, voie d'accouchement
Szyld 2006	681	Amérique Lat. Caraïbes	2002-2005	mono ou bi INTI cART-INNTI cART-IP	6% (7/94) 6% (15/257) 11% (35/330)	1 0.6 1.1	 [0.2-1.7] [0.5-2.8]	0.11	pays, stade SIDA, CV diabète, IMC, HTA voie d'accouchement
Cotter 2006	1337	Etats-Unis Unicentrique	1990-2002	Aucun monothérapie INTI multithérapie sans IP cART-IP	26% (89/338) 24% (118/492) 27% (101/373) 37% (49/134)	ARV vs aucun multi vs mono IP vs pas d'IP AOR= 1.6		0.42 0.86 0.03	CD4, atcd obs., toxicomanie ethnie, alcool, IST, année
Townsend 2007	4939	Royaume Uni et Irlande	1/90-12/05	Aucun mono ou bi INTI cART cART-3 INTI cART-INNTI cART-IP Début cART <= 12 SA Début cART 13-26 SA	16% (77/494) 10% (107/1061) 14% (476/3384) 9% (6/69) 14% (261/1831) 14% (169/1256) 16% (150/914) 15% (188/1287)	1 1.39 cART-IP vs cART sans IP AOR = 0.96 AOR = 1.11	 [1.05-1.83] 	 0.74 0.46	toxicomanie, ethnie, âge stade SIDA

Tableau 3.1 (suite) : Principales études sur les traitements antirétroviraux et le risque de prématurité

Auteur [ref]	Année	N	Pays	Période étudiée	Traitements comparés	% préma (n/N)	Comparaison principale		p	Facteurs d'ajustement
							AOR	IC 95%		
Grosch 2008	183	Allemagne Autriche	1995-2001	monothérapie INTI bithérapie INTI cART cART-IP	26% (20/76) 44% (14/32) 39% (29/75) 62% (13/21)	1 1.57 3.4	 [0.61-4.05] [1.13-10.2]	 0.35 0.03		CD4, toxicomanie, ethnique âge
Machado 2009	696	Brésil Unicentrique	1996-2006	monothérapie INTI bithérapie INTI cART-INNTI cART-IP Début cART avant gross. Début cART > 13 SA	12% (21/179) 9% (18/204) 11% (11/100) 14% (30/213) 20% (20/99) 10% (21/205)	 5.1 1(ref)	 [1.5-17.0]	 0.002		Aucun
Patel 2010	777	Etats-Unis	2002-2008	tout traitement sans IP cART-IP prématurité spontanée tout traitement sans IP cART-IP	13% (28/219) 18% (102/558) 9% (20/211) 11% (55/511)	1(ref) 1.29 1(ref) 1.22	 [0.77-2.15] [0.70-2.12]	 0.33 0.49		CD4, CV, stade SIDA âge, ethnique, toxicomanie, tabagisme, atcd obs.
Essai Mma Bana * Powis 2011	530	Botswana	2006-2008	3 INTI lopinavir/r + 2INTI	12% (31/263) 21% (57/267)	1(ref) 2.03	 [1.26–3.27]	 0.004		
Essai PROMOTE * Koss 2014	356	Ouganda	2009-2012	efavirenz + 2 INTI lopinavir/r + 2 INTI	15% (26/177) 16% (29/179)	1(ref) 1.12	 [0.63–2.00]	 0.69		
Essai PROMISE * Fowler 2016	2817	6 pays d'Afrique sub-saharienne	2011-2014	monothérapie zidovudine lopinavir/r + 2 INTI	13% (185/1411) 21% (286/1406)			 0.001		

* Les résultats des essais randomisés n'étaient pas disponibles au moment de notre premier travail sur la prématurité dans la cohorte EPF

Prématurité dans l'Enquête Périnatale Française : étude de l'évolution de la prévalence et du rôle des antirétroviraux.

Introduction

La plupart des études européennes portant sur la prématurité chez les patientes infectées par le VIH avaient mis en évidence un lien entre traitements antirétroviraux et prématurité, mais cette association n'a pas été retrouvée dans plusieurs études américaines (cf Tableau 3.1).

Ces études présentent plusieurs limites.

a) La première limite concerne un biais d'indication pour la comparaison de patientes sous combinaisons antirétrovirales puissantes (cART), sous bithérapie ou sous monothérapie d'INTI. Depuis 2000, les monothérapies de zidovudine sont réservées à une minorité de femmes très peu avancées dans cette maladie et ne peuvent constituer un groupe de comparaison pour les autres traitements donnés dans la même période. Ce biais d'indication peut être limité par des comparaisons historiques entre femmes sous cART depuis 2005 et femmes sous monothérapie de zidovudine entre 1994 et 1996, ou sous bithérapie d'INTI entre 1998 et 1999. En effet, la monothérapie de zidovudine a été la règle entre 1994 et 1996, les cART sont la règle depuis 2005 en France. Entre ces deux périodes, une bithérapie d'INTI a remplacé la monothérapie tandis que les cART, d'abord prescrites à des patientes dont la maladie VIH était plus avancée, se sont largement diffusées. Cependant, les comparaisons historiques se heurtent aux évolutions calendaires des caractéristiques socio-démographiques et comportementales, du degré d'avancement de la maladie en début de grossesse, et de la prise en charge obstétricale des femmes enceintes séropositives, ces évolutions n'étant pas entièrement réductibles aux variables généralement disponibles dans les études pour les ajustements :

- d'une part le degré d'avancement initial de l'infection à VIH (en particulier les niveaux de CD4 et de charge virale) dont dépendent le choix et le moment de l'introduction du traitement antirétroviral n'est en général pas disponible dans les études publiées (17,18,30). Les bilans utilisés dans les ajustements sont le plus souvent ceux proches de l'accouchement. Or ces bilans sont en partie le résultat du traitement administré pendant la grossesse mais aussi du terme d'accouchement puisqu'un accouchement prématuré peut limiter le temps d'action du traitement.

- d'autre part, peu de facteurs reconnus de prématurité sont disponibles dans ces études en dehors de l'âge, des antécédents de toxicomanie, de l'origine ethnique et de la parité. D'autres facteurs de risque, mis en évidence en population générale en France ou aux Etats-Unis (19,31), ne sont en général pas recueillis en routine dans les études publiées chez les femmes enceintes séropositives: tabagisme, situation socio-économique, qualité du suivi médical, traitement de l'infertilité, indice de masse corporelle (IMC) et antécédents obstétricaux.

b) La seconde limite concerne la puissance. Si certaines associations pourraient s'expliquer par les biais évoqués ci-dessus, difficilement contournables, l'absence d'association pourrait dans certains cas s'expliquer par le nombre faible de femmes incluses (17,32).

c) La troisième limite tient au peu d'hypothèses physiopathologiques pour expliquer le rôle éventuel des traitements dans la prématurité. Une modification de l'équilibre des cytokines provoquée par la reprise immunitaire sous multithérapie pourrait être à l'origine du déclenchement d'un travail spontané prématuré (33). Certaines études évoquent aussi une augmentation possible des pathologies vasculo-placentaires et du diabète gestationnel induits par les traitements contenant un IP (32).

Quasiment aucune étude n'a étudié l'effet des traitements en séparant la prématurité spontanée de la prématurité induite pour essayer d'élucider les mécanismes sous-jacents. Seule une étude a exclu d'office les prématurités induites, c'est-à-dire liées à une pathologie maternelle ou fœtale pour étudier l'effet éventuel des inhibiteurs de protéase par rapport à d'autres molécules sur la prématurité spontanée, mais se privant ainsi d'étudier leurs liens avec la prématurité induite (17). Enfin, dans la compréhension du mécanisme, le rôle du terme à l'initiation du traitement, et/ou de sa durée serait un élément important à évaluer, mais plusieurs obstacles se posent : les traitements peuvent être modifiés en cours de grossesse, la durée du traitement est elle-même raccourcie par un accouchement prématuré, et la comparaison des traitements à durée équivalente est particulièrement difficile car les caractéristiques des femmes et les molécules administrées sont différentes selon qu'elles démarrent un traitement en fin de deuxième trimestre, précocement pendant la grossesse, ou encore qu'elles sont déjà sous traitement lorsqu'elles deviennent enceintes. Là encore, seul Patel a pris en compte cette difficulté en restreignant l'étude aux patientes démarrant le traitement en cours de grossesse (17).

Au moment de notre travail, aucune étude n'associait la prise en compte de nombreux facteurs de risque de prématurité en tant que facteurs de confusion possibles, la possibilité de l'étude des molécules grâce à une puissance apportée par un grand nombre de patiente et la distinction entre prématurité induite et prématurité spontanée grâce à l'étude précise des dossiers.

Les objectifs de notre étude étaient :

- (1) d'étudier l'évolution de la prématurité dans la cohorte EPF, parallèlement à l'évolution des recommandations de traitement
- (2) d'évaluer les facteurs de risques et les mécanismes associés à la prématurité au sein d'une population sélectionnée de patientes démarrant un traitement antirétroviral contenant un inhibiteur de protéase en cours de grossesse, en distinguant prématurité spontanée de prématurité induite, et en identifiant les complications obstétricales.

Population et méthodes

Sélection de la population d'étude (diagramme de flux, Figure 3.2)

L'analyse de l'évolution de la prématurité entre 1996 et 2009 a été menée parmi toutes les grossesses uniques incluses dans la cohorte EPF, dont l'issue étaient ≥ 22 semaines d'aménorrhées, y compris les morts fœtales in utero et interruptions médicales de grossesse, soit un total de 13 271 grossesses.

L'analyse approfondie des facteurs de risque a été restreinte à la période 2005-2009 pour laquelle on disposait de données détaillées dans le volet CO1 d'EPF. Les patientes incluses dans ce volet étaient éligibles pour cette étude si elles étaient non traitées par ARV en début de grossesse et initiaient pendant la grossesse une combinaison contenant un inhibiteur de protéase (IP) associé ou non à un ou plusieurs inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI), combinaison recommandée classiquement en première intention.

Critère de jugement principal : prématurité

Selon une définition communément admise, un accouchement prématuré est un accouchement survenant avant 37 SA révolues, soit toute issue entre 22 SA et 36 SA + 6 jours inclus. La prématurité sévère est définie par un accouchement survenant avant 32 SA révolues (31). Le terme de l'accouchement était déterminé à partir de trois variables indépendantes : la date des dernières règles,

la date de début de grossesse (d'évaluation le plus souvent échographique) et le terme de l'accouchement rempli directement par le médecin. En cas de discordance, un monitoring était réalisé, permettant de trancher, on privilégiait alors le plus souvent le terme tel qu'il était rempli par le médecin à l'accouchement.

Nous avons défini pour notre étude la prématurité spontanée comme résultant soit d'une mise en travail spontanée soit d'une rupture prématurée des membranes avant terme (34). La prématurité induite était au contraire définie par un accouchement par césarienne programmée soit avant tout début du travail et à membranes intactes pour pathologie maternelle ou fœtale ou faisant suite à un déclenchement du travail pour pathologie autre que la rupture prématurée des membranes, avant 37 SA. Toutes les causes d'accouchement prématuré étaient relevées, permettant de les classer ainsi entre spontanés et induits.

Variable d'intérêt principal : les traitements antirétroviraux.

Toutes les molécules utilisées ont été recueillies avec les dates de début et de fin. D'une part chaque séquence thérapeutique (combinaison de molécules données simultanément) était classée en 3 catégories : monothérapie INTI, bithérapie INTI, et combinaison antirétrovirale puissante (cART : séquence contenant au moins un inhibiteur de protéase ou un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse ou séquence contenant 3 INTI ou plus). Par ailleurs, nous avons distingué les IP boostés (ou IP potentialisés) des IP non boostés (ou IP non potentialisés). Le boost est défini par l'adjonction à l'IP d'une petite dose de ritonavir, puissant inhibiteur enzymatique, qui inactive le cytochrome P450 et par ce biais, augmente le taux plasmatique de l'IP pris de manière concomitante. Le terme d'initiation de la première séquence thérapeutique a été catégorisé selon le trimestre gestationnel.

Autres facteurs étudiés

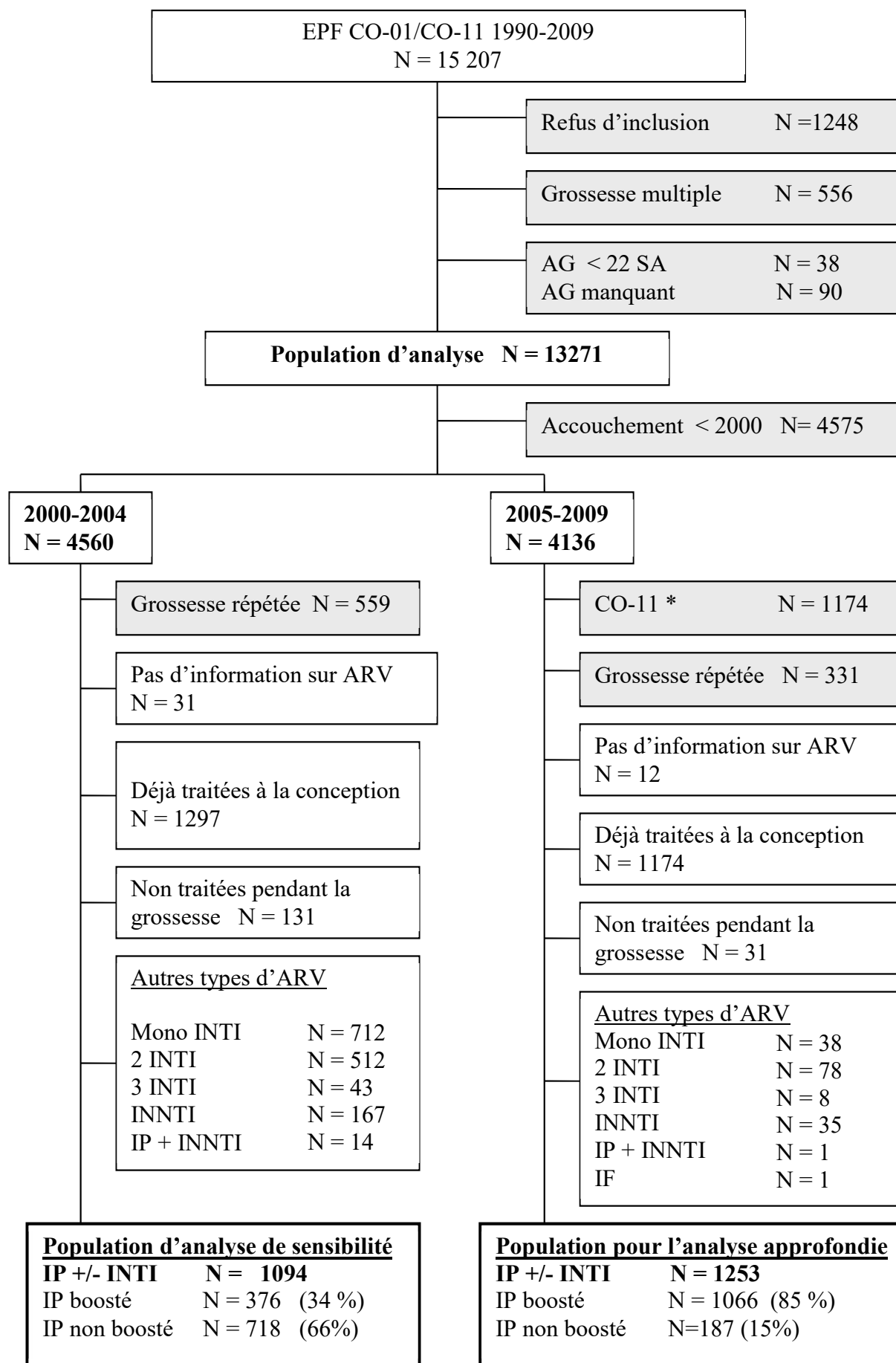
Les autres variables spécifiques de la maladie VIH comportaient : la date du diagnostic, l'existence d'une primo-infection en cours de grossesse, le stade SIDA atteint (35) et l'ensemble des bilans CD4 et charge virale pendant la grossesse, ce qui a permis de distinguer en particulier le bilan pré-thérapeutique pour les femmes débutant un traitement en cours de grossesse.

L'existence d'une co-infection par le virus de l'hépatite C a été définie par une sérologie positive en cours de grossesse. En cas de PCR positive, la co-infection était considérée comme active.

Les paramètres cliniques et obstétricaux comportaient : l'indice de masse corporelle (IMC) au début de la grossesse défini par le rapport poids (en kilos) / taille * taille (en mètres), la gestité (nombre de grossesses antérieures y compris la grossesse actuelle), la parité (nombre d'accouchements antérieurs) et le recours à un traitement de l'infertilité pour la grossesse en cours. Le terme de première consultation dans la maternité de suivi a été utilisé comme une approximation de la qualité du suivi obstétrical.

Par ailleurs, les caractéristiques socio-démographiques et comportementales étaient l'âge de la mère, la consommation de tabac, la toxicomanie intraveineuse, le statut marital et l'origine géographique. Celle-ci était établie à partir d'un algorithme utilisant la nationalité, le pays de naissance de la femme et le pays de naissance de sa mère.

Figure 3.2. Diagramme de flux de l'étude de la prématurité dans la cohorte EPF



AG : âge gestationnel ; ARV : antirétroviraux ; INNTI : inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ; INTI : inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse ; IP : inhibiteurs de protéase ; * CO-11 : volet non détaillé de la cohorte EPF

Stratégie d'analyse

Evolution de la prématurité et relation avec le type de séquence antirétrovirale

Les pourcentages de prématurité ont été estimés au cours des différentes périodes de 1990 à 2009. L'association entre prématurité (variable dépendante) et le type de séquence thérapeutique (mono, bi, multi) a été étudiée par des régressions logistiques uni et multivariées, avec prise en compte des grossesses répétées grâce à des modèles multiniveaux (generalized linear mixed effects) à intercept aléatoire. Les autres variables du modèle étaient le moment d'introduction du traitement, ainsi que les facteurs de confusion potentiels classiquement retrouvés dans la littérature et disponibles sur l'ensemble de la période (usage de drogues intraveineuses, origine ethnique, âge maternel à l'accouchement et nombre de CD4 à l'accouchement).

Relation entre prématurité et IP boosté

Pour cette étude, menée dans le volet CO1 entre 2005 et 2009, les patientes traitées par IP boostés vs non boostés ont été comparées pour les différentes caractéristiques évoquées, par des tests de χ^2 ou de Fischer pour les variables catégorielles et des tests de Student ou de Wilcoxon pour les variables quantitatives.

L'analyse de l'association entre prématurité et IP boosté a été menée par une analyse de survie (méthode de Kaplan-Meier et modèles de Cox uni et multivariée) conduisant à l'estimation de Hazard Ratios (HR). Une seule grossesse était retenue pour chaque femme : parmi les femmes ayant eu plusieurs grossesses pendant cette période, la dernière a été retenue pour explorer les pratiques les plus récentes. Ces analyses permettaient de prendre le traitement comme variable dépendante du temps et de distinguer la prématurité spontanée de la prématurité induite. Dans cette situation, l'évènement considéré était : (1) soit la survenue de tout accouchement prématuré, (2) soit la survenue d'un accouchement prématuré spontané avec dans ce cas, une censure à la date de l'accouchement pour les prématurités induites. Dans les rares cas où le type de prématurité n'a pu être classé entre prématurité induite et spontanée, les patientes ont été exclues. Nous avons réalisé une troncature à droite à 37 SA pour toutes les autres patientes, date à laquelle les patientes ne sont plus à risque d'accouchement prématuré. La date d'inclusion était la date des dernières règles pour toutes les femmes (corrigée si nécessaire par la datation échographique de manière à être toujours 14 jours avant la date de début de grossesse estimée).

Les variables introduites dans les modèles complets étaient les facteurs de risque classiques de prématurité et celles associées à la prématurité à un seuil inférieur à 20% en analyse univariée. Pour aboutir à un modèle plus parcimonieux, nous avons retiré du modèle complet les variables non reconnues comme facteurs de risque classiques et non associées à la prématurité dans le modèle complet au seuil 5%.

Afin de vérifier la validité de nos résultats, nous avons étudié au sein des femmes ayant les mêmes critères d'inclusion sur la période 2000-2004, l'association brute entre traitement et prématurité au moyen de tests de χ^2 . Pendant cette période, les variables recueillies étaient moins nombreuses, et il n'a donc pas été possible d'ajuster sur les nombreux facteurs disponibles pour la période 2005-2009. Il n'a pas non plus été possible de distinguer prématurité spontanée et induite.

Principaux résultats et conclusion

Evolution du taux de prématurité entre 1990 et 2009 et relation avec le type de séquence

Le taux de prématurité a augmenté de manière significative, passant de 9.2% en 1990-1993 à 14.3% pour la période 2005-2009. Le risque de prématurité était plus bas pour les patientes traitées par monothérapie de zidovudine que pour celles traitées par bithérapie d'INTI ou par cART ($p < 0.001$).

L'association entre cART et prématurité persistait après ajustement sur les facteurs de confusions potentiels : OR ajusté = 1.69 [IC 95% 1.38-2.07]. Le risque de prématurité était également plus élevé pour les femmes ayant débuté un traitement avant la conception (ORa = 1.31 [1.11-1.55] ; $p = 0.001$) indépendamment du type de traitement reçu. Les autres variables significativement associées au risque de prématurité étaient l'utilisation de drogues intraveineuses (ancienne ou active vs non ; ORa = 1.78 [1.30-2.45] ; $p < 0.001$), ainsi que le nombre de CD4 $< 200/\text{mm}^3$ à l'accouchement (par rapport à un nombre de CD4 $\geq 500/\text{mm}^3$; ORa = 1.64 [1.28-2.11] ; $p = 0.001$).

Analyse approfondie de la relation entre IP boosté et prématurité

La majorité des 1253 patientes incluses dans cette étude approfondie étaient originaires d'Afrique sub-saharienne (87%), étaient multipares, n'avaient jamais reçu de traitement antirétroviral auparavant, et avaient commencé le traitement au cours du 2^{ème} trimestre de la grossesse. Parmi les traitements reçus, tous contenant un inhibiteur de protéase par définition, 85% contenait un IP boosté par le ritonavir. L'IP boosté le plus fréquemment donné était le lopinavir/r (81% des IP boostés) et l'IP non boosté le plus fréquemment donné était le nelfinavir (91% des IP non boostés).

Le taux de prématurité dans cette population était de 13.6% (170/1253, IC95% 11.7%-15.5%), et était plus élevé pour les patientes traitées par IP boostés (14.4%) vs non boostés (9.1%) sans atteindre la significativité ($p = 0.053$). Le taux de prématurité sévère était de 2.7% (28/1253, IC95% 1.8%-3.6%) et ne différait pas entre les deux groupes. Dans le modèle de Cox, le risque de prématurité globale (spontané ou induite) était significativement associé au traitement par IP boosté vs IP non-boosté (HRajusté = 2.03 [IC95% 1.06-3.89]). Les autres variables associées significativement à la prématurité étaient le terme à l'entrée dans le système de soin, le statut marital et le stade SIDA atteint.

La prématurité spontanée représentait 61% de la prématurité totale. Les causes de prématurité induites étant principalement représentées par la pré-éclampsie ($n = 17$) et les retards de croissance intra-utérins ($n = 14$). Dans le modèle étudiant la prématurité spontanée, en censurant à la date de l'accouchement les prématurités induites, il n'y avait pas d'association significative avec le traitement par IP boosté (HRa = 1.51 [IC95% 0.72-3.17]). L'étude des complications de la grossesse a mis en évidence une association entre IP boosté et certaines complications obstétricales, telles que les pathologies métaboliques ou vasculaires (incluant diabète et désordres hypertensifs), mais sans atteindre la significativité ($p = 0.06$). L'association entre IP boosté et cytolysé hépatique était très significative ($p = 0.01$). Il n'y avait pas d'association entre les complications néonatales et le traitement par IP boosté.

Des analyses de sensibilité ont été effectuées, restreignant la population d'étude aux patientes primipares, aux patientes n'ayant jamais reçu d'antirétroviraux auparavant, ou aux naissances vivantes, ou excluant les patientes ayant transmis le VIH à leur enfant ou usagères de drogue intraveineuse. Les HR pour l'association entre IP boosté et prématurité restaient du même ordre, mais sans atteindre toujours la significativité. Enfin l'étude dans la population de 2000-2004 retrouvait des

résultats très similaires : la proportion de patientes introduisant un traitement par IP boosté était plus faible (34% ; 376/1094) mais l'association brute entre IP boosté et prématurité était significative (16% vs 11.7%, $p=0.05$), et également pour la prématurité sévère dans cette population (4.0% vs 1.8%, $p=0.03$)

Conclusion

Au total, le taux de prématurité a augmenté régulièrement jusqu'au début des années 2000 puis s'est stabilisé à une valeur très supérieure à celle observés en population générale en France. La prématurité était plus fréquente chez les femmes traitées par multithérapies que mono ou bithérapie.

L'analyse approfondie au sein des femmes ayant initié en cours de grossesse une combinaison contenant un inhibiteur de protéase montre que le risque de prématurité est significativement plus élevé en cas de traitement par IP boosté que non boosté, indépendamment des autres facteurs du modèle. On retrouve également une relation avec le terme à l'entrée dans le système de soin, le statut marital, et le stade SIDA atteint, étaient significativement associés à la prématurité. On retrouve également le lien connu avec la prééclampsie et la cholestase gravidique.

En revanche, la relation entre prématurité et cytolysse dont le taux est élevé dans cette population et plus encore chez les femmes traitées par IP boosté que non boosté, était un résultat inattendu. Ce résultat suggère que ces anomalies hépatiques peuvent éventuellement être des facteurs intermédiaires entre le traitement et le taux de prématurité. Il nous a donc conduit à mener une analyse plus détaillée des liens entre cytolyses hépatiques, ART et prématurité (chapitre suivant).

Par ailleurs, nous avons constaté que dans la cohorte EPF, la prématurité est deux fois plus élevée qu'en population générale. Ceci a également été constaté dans d'autres pays industrialisés. Il n'est pas possible d'écarter la possibilité que les femmes infectées par le VIH soient dans des situations socio-économique particulières : majoritairement originaires d'Afrique subsaharienne, pour une petite partie usagère de drogues intraveineuses. D'autres caractéristiques non mesurées peuvent également différer des femmes non infectées par le VIH. Et les données comparant les femmes infectées et non infectées par le VIH manquent sur ce sujet. C'est pour cela que nous avons décidé de réaliser une étude exposé/non-exposé dans une maternité drainant un bassin de population défini. Ceci sera développé en dernière partie de ce chapitre portant sur la prématurité.

Cytolyses hépatiques dans EPF : prévalence et facteurs de risques.

Introduction

D'autres équipes avaient déjà relevé un taux élevé de cytolysé hépatique chez les femmes enceintes infectées par le VIH et traitées. Notamment deux études ont trouvé un taux de cytolyses hépatiques plus élevé chez les femmes enceintes infectées par le VIH par rapport au taux constaté chez les femmes non enceintes (36,37).

Pathologies hépatiques gravidiques. La possible implication de pathologies hépatiques gravidiques n'a pas été prise en considération par ces études, qui admettaient, sur la base d'une étude ancienne, que le taux de pathologies gravidiques n'était pas différent entre les patientes infectées et non infectées par le VIH (38). Cependant, plusieurs pathologies spécifiques à la grossesse sont susceptibles d'entraîner une cytolysé hépatique, et certaines de ces pathologies peuvent être liées à la prématurité.

L'hyperémésis gravidarum ou vomissements gravidiques incoercibles apparaît au 1^{er} trimestre et concerne 0,3 à 1% des grossesses (39,40). Dans 50% des cas, on constate une élévation des transaminases qui prédomine sur les ALAT. Cette élévation est attribuée au jeûne et sans valeur pronostique sur la fonction hépatique. L'hyperémésis gravidarum disparaît habituellement à la fin du premier trimestre de la grossesse, soit vers 14 SA.

La cholestase gravidique est la plus fréquente des hépatopathies gravidiques des 2^e et 3^e trimestres, elle disparaît après l'accouchement. La prévalence en France est évaluée entre 2 et 7 pour 1000 accouchements (41). L'effet cholestasiant des œstrogènes ou une anomalie du métabolisme de la progestérone sont impliqués (42) ainsi que des facteurs génétiques (43). Dans 95% des cas, un prurit généralisé parfois très intense et insomniant est présent et dans 10% des cas un ictère apparaît après le prurit. Le taux des sels biliaires est élevé. L'augmentation des transaminases n'est pas obligatoire, mais quand elle est présente, prédomine sur les ALAT (44). Les perturbations des tests hépatiques peuvent aussi apparaître plusieurs semaines après le prurit.

La pré-éclampsie est une pathologie spécifique de la grossesse qui apparaît plus souvent au 3^e trimestre et complique environ 2% des grossesses(45). Elle est définie par l'association d'une hypertension artérielle (HTA) > 140/90 mmHg et d'une protéinurie > 0,3 g/24h. Dans 10 à 12 % des cas (46), un HELLP syndrome complique la pré-éclampsie. Le diagnostic de HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets) repose sur l'association d'une cytolysé, d'une hémolyse intravasculaire (haptoglobine abaissée, lactate déshydrogénases sériques augmentées) et d'une thrombopénie.

Enfin, la stéatose hépatique aigue gravidique (SHAG) est une hépatopathie gravidique beaucoup plus rare, qui apparaît également au 3^e trimestre. L'étiologie est indéterminée mais peut être associée à un déficit héréditaire de la bêta-oxydation mitochondriales des acides gras. Elle se définit histologiquement par une stéatose microvésiculaire. L'hyperuricémie et l'augmentation des transaminases peuvent précéder les symptômes de plusieurs semaines. Les symptômes cliniques typiques sont des nausées, des vomissements, un syndrome polyuro-polydipsique ou des douleurs abdominales. Si elle n'est pas prise en charge rapidement, elle peut évoluer vers une insuffisance hépatocellulaire avec encéphalopathie hépatique.

Aucune étude n'a jusqu'à présent étudié la proportion de cytolyses liées à des pathologies gravidiques chez les patientes infectées par le VIH, mais il est important de noter que les trois dernières pathologies citées ci-dessus (cholestase gravidique, pré-éclampsie et SHAG), par leur mécanisme physiopathologique ne peuvent guérir qu'après l'accouchement et peuvent donc être à l'origine de prématurité induite.

Rôle des traitements. Quant au rôle des traitements antirétroviraux, il a été particulièrement étudié pour la nevirapine, pour laquelle une augmentation du risque de cytolysé a été mise en évidence dans certaines études (47–49) mais n'a pas été retrouvé pour d'autres (50–52). Des cas d'hépatites fulminantes ayant été décrits, il a été recommandé aux Etats Unis de ne pas introduire la nevirapine en cours de grossesse pour les femmes avec des taux de CD4 > 250/mm³(53).

Dans l'étude de la toxicité hépatique des antirétroviraux, aucune étude n'avait clairement séparé les deux situations cliniques différentes que sont les femmes déjà sous traitement au moment du début de la grossesse, par rapport aux femmes initiant un traitement en cours de grossesse. En effet, les mécanismes potentiels de toxicité sont différents, et surtout la question clinique est différente : dans un cas, faut-il changer un traitement bien toléré car il peut être toxique en cours de grossesse ? Et dans l'autre, quel traitement instaurer pour être à la fois efficace et peu toxique ? Enfin, aucune étude n'avait mené d'analyse systématique de l'association entre la survenue de cytolysé hépatique et chaque molécule antirétrovirale reçue pendant la grossesse.

Dans notre étude précédente, nous avons mis en évidence une association entre le boost de ritonavir (associé dans la majorité des cas au lopinavir) et la toxicité hépatique, chez les patientes initiant un traitement en cours de grossesse. Or la cytolysé hépatique était également liée à la prématurité dans cette population. Nous avons souhaité aller plus loin dans l'étude du rôle des traitements antirétroviraux sur la survenue de cytolysé hépatique, en étudiant spécifiquement les molécules, et en étendant notre travail à la population de femmes déjà traitées à la conception. Nous avons également souhaité étudier l'association entre cytolysé et prématurité de manière plus approfondie, en prenant en compte les hépatopathies gravidiques décrites ci-dessus.

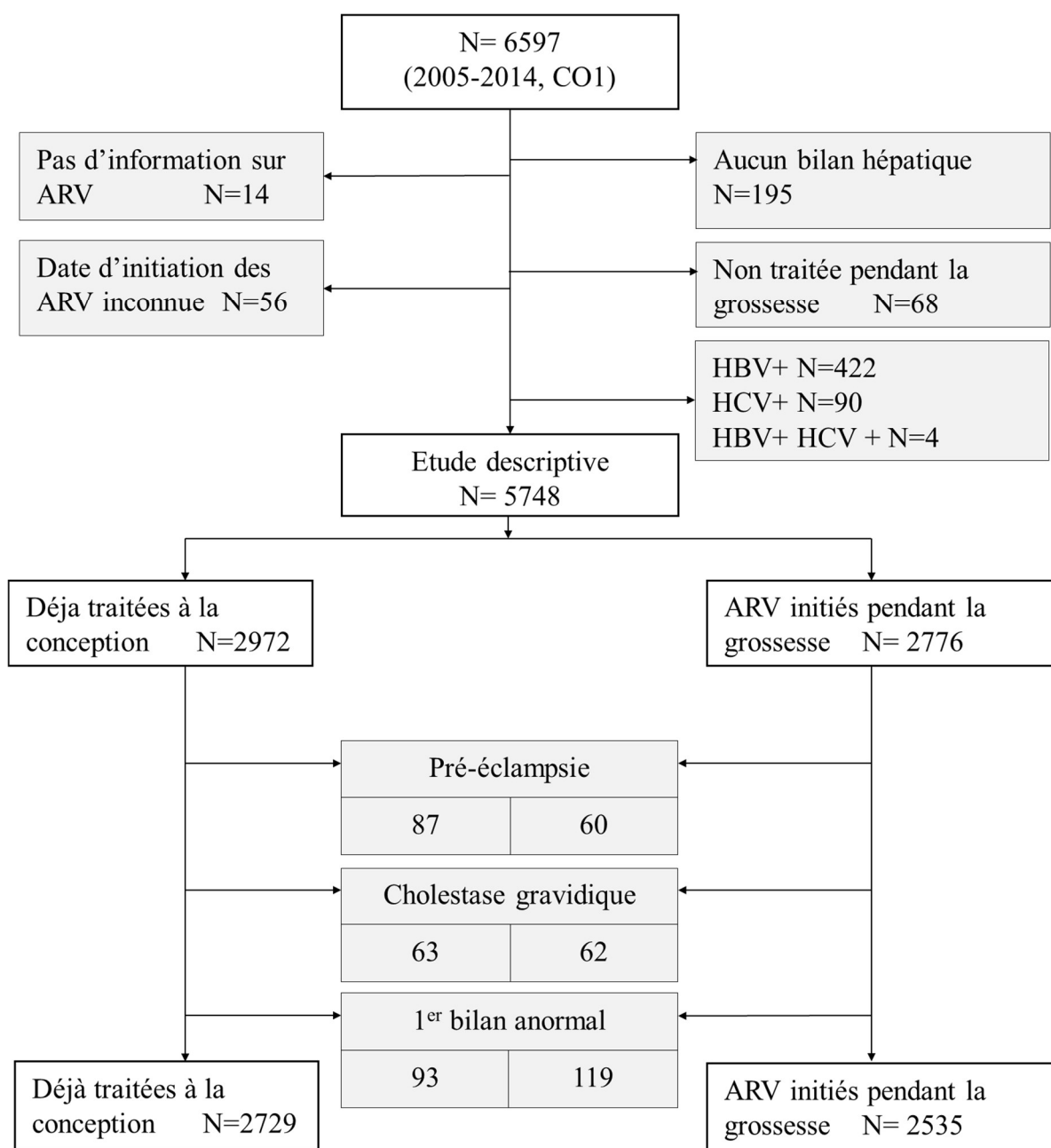
Notre objectif pour ce travail était d'estimer la prévalence et les facteurs de risque de survenue de cytolysé hépatique dans la cohorte EPF, et d'étudier particulièrement le rôle des antirétroviraux dans deux populations différentes : les femmes déjà sous traitement au moment de la conception et les femmes démarrant un traitement antirétroviral en cours de grossesse.

Population et méthodes

Sélection de la population d'étude (diagramme de flux, Figure 3.3)

Parmi les patientes incluses dans l'enquête périnatale française, décrite ci-dessus, nous avons retenu pour l'analyse les patientes ayant accouché entre janvier 2005 et janvier 2015, dans les maternités participant au volet CO1 de l'étude, car c'est dans ce volet que des données biologiques étaient recueillies. Après exclusion des femmes pour lesquelles aucun bilan hépatique n'était retrouvé (n=195), ainsi que celles pour qui l'information sur le traitement antirétroviral manquait ou qui n'étaient pas traitées pendant la grossesse (respectivement 70 et 68 patientes), et enfin après exclusion des patientes ayant une co-infection active par l'hépatite B ou l'hépatite C (n=516), nous avons retenu 5748 patientes pour l'analyse.

Figure 3.3. Diagramme de flux de l'étude des cytolyses hépatiques dans la cohorte EPF



ARV : antirétroviraux ; CO1 : volet détaillé de la cohorte EPF ; HBV+ : infection active par le virus de l'hépatite B ; HCV+ : infection active par le virus de l'hépatite C

Critères de jugement principal : cytolysse hépatique

Le dosage des enzymes hépatiques (aspartate aminotransférase ou ASAT et alanine aminotransférase ou ALAT) étaient recueillis dans le questionnaire à 3 reprises au cours de la grossesse, avec les dates correspondantes. Les moments de recueils étaient : une fois avant 28 semaines d'aménorrhées, une fois après 28 SA, et une fois le jour de l'accouchement ou à défaut dans les 7 jours suivant l'accouchement. La cytolysse hépatique était classée en grade selon l'augmentation des transaminases en fonction de la limite supérieure de la normale (LSN) selon les critères du AIDS clinical trials group (54).

Distinction de cytolysse expliquée et non expliquée

Concernant les complications obstétricales d'intérêt pour notre étude, certaines étaient reportées dans les questionnaires sous la forme de questions spécifiques (pré-éclampsie, cholestase gravidique) avec la date de survenue, d'autres étaient reportées dans des questions ouvertes (cause d'hospitalisation, cause de césarienne ou de déclenchement).

Variable d'exposition principale pour le risque de cytolysse : les traitements antirétroviraux.

Nous avons étudié les différentes molécules antirétrovirales séparément et en combinaisons. Toutes les causes de changement de traitement étaient notées.

Critère de jugement secondaire : la prématurité.

La définition de la prématurité était toute naissance avant 37 SA (selon les mêmes modalités que décrites ci-dessus dans la chapitre précédent).

Stratégie d'analyse

Toutes les analyses ont été réalisées séparément pour les patientes déjà traitées à la conception (N=2972) et celles initiant un traitement pendant la grossesse (N=2776). Nous avons décrit les taux et grades de cytolyses, ainsi que les causes potentielles rapportées dans les questionnaires, et les nombres d'hospitalisations, de césariennes ou déclenchement, et de changements de traitements directement attribués aux cytolyses. Nous avons étudié l'association entre cytolysse et prématurité par des tests de χ^2 .

Pour l'analyse de l'association entre cytolysse (var dépendante) et le type de traitements, nous avons exclu les patientes présentant une situation pouvant favoriser le cytolysse (pré-éclampsie (N=155), cholestase gravidique (N=117)) afin de cibler uniquement les cytolyses sans explications évidentes. Nous avons également exclu les patientes dont le premier bilan hépatique était pathologique (N=212). Notre nouvelle population d'étude comprenait donc 2729 patientes déjà traitées à la conception et 2535 qui initiaient un traitement antirétroviral en cours de grossesse. Les facteurs de risque de cytolysse hépatique ont été étudiés au moyen d'analyse de survie par un modèle de Cox, l'évènement étant la survenue d'une cytolysse hépatique (grade ≥ 1).

Pour les patientes déjà traitées à la conception, l'origine du temps t_0 était la date de conception : les patientes étaient censurées à la date du dernier bilan hépatique ou au premier changement de traitement, en l'absence de cytolysse avant cette censure. Ainsi, seul les évènements survenant sous le traitement présent à la conception était pris en considération.

Pour les patientes débutant un traitement antirétroviral en cours de grossesse, le t0 était la date de début de ce traitement, et les patientes étaient toutes censurées au dernier bilan hépatique en l'absence de cytolysse ; les traitements étaient inclus dans le modèle comme variable dépendante du temps.

Les modèles multivariés étaient ajustés systématiquement sur la parité et sur les facteurs associés en analyse univariée avec un $p < 0.2$).

Des analyses de sensibilité ont été réalisées, notamment en considérant uniquement les cytolyses de grade 2 à 4, ou faisant varier la population d'étude (inclusion des pré-éclampsies et cholestases, des patientes dont le premier bilan est anormal ou exclusion des patientes recevant des traitements rares, $N < 80$).

Principaux résultats et conclusion

Fréquence des cytolyses expliquées et inexpliquées

Parmi les 5748 patientes, le taux de cytolysse (grade 1-4) était de 16.7% ($n=959$) et le taux de cytolyses sévères (grade 3-4) de 2% ($n=112$). Les taux étaient similaires entre les patientes traitées dès la conception et celles initiant un traitement en cours de grossesse.

Les causes rapportées dans les questionnaires pour la cytolysse étaient la pré-éclampsie pour 6.7% des patientes, la cholestase gravidique pour 9.8% des patientes et d'autres causes plus rares pour 1.4% des patientes (causes biliaires, paludisme, drépanocytose ou infection à cytomégalovirus). Aucun cas de stéatose hépatique aiguë gravidique, ni d'acidose lactique n'était reporté. La majorité des cytolyses n'avait pas de cause obstétricale ou médicale identifiée (82.2%, soit $n=788$).

Relation entre cytolysse hépatique et déroulement obstétrical

Parmi ces 788 patientes, la cytolysse était rapportée comme étant la cause principale de 51 hospitalisations (d'une durée médiane de 6 jours), 13 césariennes, 3 déclenchements, et 49 changements de traitement.

Enfin, le taux d'accouchement prématuré était plus élevé pour les patientes ayant une cytolysse inexpliquée (donc après exclusion des pré-éclampsies et cholestase) que pour celles n'ayant pas de cytolyses (16.9% vs 11.5%, $p < 0.01$) et ceci était retrouvé à la fois pour les patientes déjà traitées à la conception et pour celles initiant un traitement en cours de grossesse.

Relation entre cytolysse hépatique et traitement ARV

Les traitements reçus étaient différents selon le moment d'initiation. Ainsi, parmi les patientes déjà traitées à la conception, une majorité recevait un traitement comportant un inhibiteur de protéase (65%), mais une proportion importante recevait un traitement comportant un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (24%), alors que parmi les patientes initiant un traitement en cours de grossesse, la quasi-totalité initiait un traitement comportant un IP (89%). Les molécules reçues, parmi les IP, étaient plus variées pour les patientes déjà traitées (39% de lopinavir/r, 27% d'atazanavir/r and 14% de darunavir/r) que pour celles initiant un traitement, (72% initiaient du lopinavir/r).

Parmi les femmes déjà traitées à la conception, la survenue d'une cytolyse était associée significativement au type de traitement reçu à la conception ($p=0.001$), la cytolyse était moins fréquente pour les patientes recevant des traitements contenant un INNTI ($HRa=0.5$ [IC95% 0.3-0.8], taux d'incidence = 6/100 personnes-années), et plus fréquente pour les femmes recevant à la fois un INNTI et un IP ($aHR: 2.7$ [1.3-5.5], taux d'incidence = 35/100 PA), par rapport aux femmes recevant un traitement contenant un IP (taux d'incidence = 14/100 PA).

L'étude individuelle des molécules n'a pas mis en évidence de différence entre les IP. Le taux de cytolyse était plus bas pour les patientes recevant de la nevirapine (de la classe des INNTI) par rapport au lopinavir/r (classe des IP) et cela de manière indépendante des inhibiteurs nucléosidiques reçus concomitamment, et en ajustant également sur les grossesses gémellaires et le nombre d'années depuis le diagnostic de VIH ($HRa=0.4$ [0.3-0.8]). La survenue de cytolyse hépatique n'était pas associée de manière significative avec aucune des molécules d'inhibiteur nucléosidiques, après ajustement sur le 3^{ème} agent.

Parmi les femmes initiant un traitement en cours de grossesse, nous avons choisi de restreindre l'analyse aux femmes initiant un traitement contenant un inhibiteur de protéase comme 3^{ème} agent, car celles-ci représentaient la quasi-totalité du groupe, en raison de l'application des recommandations françaises. L'étude des molécules retrouvait une tendance pour une association entre l'inhibiteur de protéase utilisé et la cytolyse hépatique ($p=0.08$). Par rapport au lopinavir/r (taux d'incidence = 40/100 personnes-années), le risque était plus bas pour le nelfinavir ($HR=0.4$ [0.2-0.8], taux d'incidence = 11/100 PA), ainsi que pour l'atazanavir/r mais sans atteindre la significativité ($HRa = 0.6$ [0.3-1.04], taux d'incidence = 28/100 PA), et tendait à être plus élevé pour le saquinavir/r ($HRa = 1.5$ [0.96-2.4], taux d'incidence = 52/100 PA). Aucune molécule d'INTI n'était associée aux cytolyses hépatiques dans ce groupe non plus.

Conclusion

Nous avons mis en évidence une association entre cytolyse hépatique et traitements par inhibiteur de protéase par rapport aux traitements par INNTI dans le groupe des patientes déjà traitées à la conception, et avons confirmé le résultat retrouvé précédemment dans le groupe des patientes initiant un traitement en cours de grossesse, à savoir un risque de cytolyse moins élevé pour le nelfinavir (non boosté par le ritonavir) que pour le lopinavir/r (toujours boosté par le ritonavir). Dans les deux groupes, la cytolyse hépatique, non expliquée par des pathologies gravidiques identifiées, était significativement associée à la prématurité.

Comparaison des taux de prématurité chez des patientes infectées et non-infectées par le VIH dans une cohorte unicentrique située dans le Bronx, New York, USA.

Introduction

La question de la différence entre le taux de prématurité observé dans les cohortes de patientes infectées par le VIH et la population générale ne peut pas être résolue au sein de cohortes n'incluant que des patientes infectées par le VIH. Seule une étude avait comparé des patientes infectées et non infectées par le VIH (100 patientes dans chaque groupe) en France, et trouvait une différence significative du pourcentage de prématurité (21%, vs 10%), mais cette étude ne prenait en compte que peu de facteurs d'ajustement (55).

Le risque de survenue d'un accouchement prématuré est multifactoriel, et plusieurs études ont mis en évidence l'intérêt de facteurs sociaux et psychologiques qui ne sont habituellement pas mesurés dans les cohortes de grande envergure.

Ainsi, le rôle de la précarité a été démontré dans plusieurs études françaises et anglaises (56–58). Le rôle du tabagisme a également été mis en évidence (59–61), même pour un tabagisme modéré, entre 1 et 10 cigarettes/jour (62). Les troubles dépressifs et anxieux sont associés à un risque plus élevé de prématurité (63,64). Et une femme victime de violence domestique est également plus à risque de donner naissance à son enfant prématurément (65). Or tous ces facteurs psycho-sociaux qui sont liés au risque de prématurité sont susceptibles de différer, à la fois en fonction de la population étudiée (Europe, Etats Unis, Afrique) mais aussi en fonction du statut de la femme vis-à-vis de l'infection par le VIH. L'insuffisance de prise en compte de ces facteurs peut donc expliquer une partie des résultats discordants entre les études réalisées dans des régions différentes.

Il n'y a à ce jour pas d'étude comparant spécifiquement le taux de prématurité chez les femmes infectées et non infectées par le VIH, avec prise en compte de ces nombreux facteurs pouvant influencer sur le risque de prématurité.

L'objectif de ce travail était de comparer les taux de prématurité et de fœtus petits pour l'âge gestationnel chez des patientes infectées par le VIH par rapport à des femmes enceintes non infectées par le VIH mais issues du même bassin de population.

L'objectif secondaire était d'étudier l'association entre la survenue de prématurité et les facteurs de risque psycho-sociaux dans cette population.

Population et méthodes

Sélection de la population d'étude.

Nous avons mené une études exposé/non exposé au VIH parmi les patientes ayant accouché après 22 SA à l'hôpital Montefiore. Les caractéristiques de la cohorte ont été présentées ci-dessus.

Pour chaque femme infectée par le VIH, la première patiente ayant accouché immédiatement après était incluse si elle avait la même origine ethnique (classée en afro-américaine, hispanique, ou autre) et le même terme de début du suivi à la maternité (en trimestre). Au total 311 patientes infectées par le VIH et 311 patientes non infectées ont été incluses dans l'étude.

Pour l'analyse de poids de naissance, une donnée était manquante pour une patiente, l'effectif pour cette analyse était donc de 310 patientes exposées et 310 patientes non exposées.

Critères de jugement principaux : prématurité et petit poids pour l'âge gestationnel

La prématurité était définie par toute naissance avant 37 SA, selon la même définition que pour les chapitres précédents et le petit poids pour l'âge gestationnel était un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel et ajusté sur le sexe

Exposition principale : infection par le VIH

Autres facteurs

En plus des variables d'appariement, les variables maternelles recueillies étaient : l'âge maternel, l'indice de masse corporelle (poids/taille² en kg/m²), la parité (nombre d'accouchements antérieurs sans compter la grossesse actuelle), le statut marital (célibataire, en couple, ou autre situation, notamment divorcée ou séparée). Les variables psycho-sociales recueillies étaient les suivantes : statut vis-à-vis de l'emploi (sans emploi, occupe un emploi rémunéré, étudiante), antécédent de violence conjugale, antécédent de pathologie psychiatrique, avec le détail de la pathologie et le fait d'être traitée au cours de la grossesse ou non, tabagisme, consommation d'alcool, consommation de drogues, avec le détail des produits utilisés avant ou en cours de grossesse.

Stratégie d'analyse

Les caractéristiques des patientes entre les groupes exposés et non exposés ont été comparées par des tests de Mc Nemar. Les associations avec la prématurité et avec le petit poids pour l'âge gestationnel ont été analysées grâce à des régressions logistiques conditionnelles univariées et multivariées permettant de prendre en compte l'appariement. Les modèles multivariés incluaient dans chaque cas toutes les variables associées à l'issue considérée en univarié avec un $p < 0.1$.

Principaux résultats et conclusion

Les patientes infectées par le VIH suivie pour leur grossesse à l'hôpital Montefiore étaient en majorité d'origine Afro-Américaine (63%) et consultaient pour la plupart dès le premier trimestre de la grossesse (67%). Ainsi qu'attendu du fait de l'appariement, les patientes appariées avaient la même répartition d'origine ethnique et de terme au moment du début de suivi dans la maternité.

Pour les autres variables, les patientes différaient de manière importante, notamment pour les caractéristiques psycho-sociales. Les patientes infectées par le VIH étaient plus souvent célibataires, et plus souvent sans emploi. Elles rapportaient également plus d'antécédents de violence conjugale et avaient plus souvent été suivies pour des pathologies psychiatriques. Enfin les prises de toxiques (tabac, alcool ou drogues) étaient plus fréquentes chez elles (Tableau 3.4).

Concernant l'association entre VIH et prématurité, le taux de prématurité était plus élevé chez les patientes infectées par le VIH que chez les patientes non exposées, (17.7% vs 10.9%, OR=1.7 [IC95% 1.1-2.7], $p=0.02$), cependant, après ajustement sur les variables également liées à la prématurité (multiparité, antécédent de violence conjugale, antécédent de pathologie psychiatrique, tabagisme et usage de drogue), cette association disparaissait totalement : (OR=1.0 [IC95% 0.5-1.9], $p=0.91$; Tableau 3.5).

Nous n'avons pas mis en évidence de différence dans les taux d'enfants de petit poids pour l'âge gestationnel en fonction de l'infection par le VIH (7.1% vs 6.2%, OR=1.2 [IC95% 0.6-2.2], $p=0.62$), et ceci n'était pas modifié par l'ajustement sur les facteurs confondants éventuels. Le petit poids de naissance était lié significativement au tabagisme et inversement lié à la multiparité (Tableau 3.6).

Conclusion

Au total, cette étude originale cherchant à comparer les issues de grossesse chez les patientes infectées vs non infectées par le VIH a permis de montrer que même si le taux brut de prématurité était très différent entre les deux groupes, après prises en comptes de nombreux facteurs confondants, il n'y avait plus d'effet significatif de l'infection par le VIH sur le risque de prématurité.

Tableau 3.4 : Caractéristiques des patientes infectées par le VIH (groupe exposé) et non infectées par le VIH (groupe non exposé), Montefiore, Bronx, USA

Variables d'appariement	Groupe exposé : HIV+		Groupe non exposé : HIV-		p
	n	%	n	%	
Année d'accouchement					
2005-2008	88	28.3	88	28.3	1
2009-2011	112	36.0	111	35.7	
2012-2014	111	35.7	112	36.0	
Origine ethnique					
Afro-américaine	195	62.7	195	62.7	1
Hispanique	102	32.8	102	32.8	
Autre	14	4.5	14	4.5	
Terme à la première consultation (en SA)					
≤ 14	208	66.9	208	66.9	1
15-27	66	21.2	66	21.2	
≥ 28	37	11.9	37	11.9	
Caractéristiques maternelles	n	%	n	%	p
Age maternel (années)					
< 25	73	23.5	85	27.3	0.14
25-34	157	50.5	165	53.1	
≥ 35	81	26.0	61	19.6	
Indice de masse corporelle (kg/m ²)					
< 25	49	29.5	83	26.8	0.43
25-29	42	25.3	96	31.0	
≥ 30	75	45.2	131	42.3	
Parité (nb accouchements antérieurs)					
0	107	35.2	114	36.7	0.15
1	87	28.6	106	34.1	
≥ 2	110	36.2	91	29.3	
Statut Marital					
Mariée	53	18.3	72	27.6	<0.001
Célibataire	222	76.8	189	72.4	
Autres	14	4.8	0	0.0	
Emploi					
Non	161	60.3	70	34.7	<0.001
Oui	100	37.5	108	53.5	
Etudiante	6	2.2	24	11.9	
ATCD de violences conjugales					
Non	200	69.9	294	94.5	<0.001
Oui	86	30.1	17	5.5	
ATCD de pathologie psychiatrique					
Non	184	63.2	280	90.0	<0.001
Oui	107	36.8	31	10.0	
Tabagisme					
Non	212	71.9	277	89.1	<0.001
Oui	83	28.1	34	10.9	
Consommation d'alcool					
Non	271	91.9	301	96.8	0.009
Oui	24	8.1	10	3.2	
Usage de drogues					
Non	233	79.0	297	95.5	<0.001
Oui	62	21.0	14	4.5	

Tableau 3.4 : Association entre prématurité et caractéristiques maternelles. Régression logistique conditionnelle univariée et multivariée.

Caractéristiques maternelles	Analyse univariée			Analyse multivariée		
	OR	IC95%	p	ORa	IC95%	p
Infectée par le VIH (vs non)	1.7	[1.1-2.7]	0.02	1.0	[0.5-1.9]	0.91
Age maternel (années)						
< 25	1		0.62			
25-34	0.7	[0.3-1.6]				
≥ 35	1.0	[0.4-2.3]				
Indice de masse corporelle (kg/m2)						
< 25	1		0.63			
25-29	0.7	[0.2-2.0]				
≥ 30	0.6	[0.2-1.7]				
Multiparité (vs nullipare)	0.5	[0.3-0.99]	0.05	0.4	[0.2-0.9]	0.03
Célibataire ou Autres (vs mariée)	0.6	[0.2-1.5]	0.26			
Sans emploi rémunéré (vs oui)	1.9	[0.8-4.4]	0.15			
ATCD de violences conjugales (vs non)	2.7	[1.1-6.5]	0.02	1.2	[0.4-3.6]	0.78
ATCD de pathologie psychiatrique (vs non)	2.4	[1.0-5.9]	0.048	2.1	[0.7-6.7]	0.21
Tabagisme (vs non)	5.3	[1.8-15.3]	0.002	6.1	[1.3-29.3]	0.02
Consommation d'alcool (vs non)	1.6	[0.5-4.9]	0.41			
Usage de drogues (vs non)	3.3	[1.1-9.9]	0.04	1.2	[0.2-7.8]	0.84

Tableau 3.5 : Association entre petit poids pour l'âge gestationnel et caractéristiques maternelles. Régression logistique conditionnelle univariée et multivariée.

Caractéristiques maternelles	Analyse univariée			Analyse multivariée		
	OR	IC95%	p	ORa	IC95%	p
Infectée par le VIH (vs non)	1.2	[0.6-2.2]	0.62	1.5	[0.5-4.9]	0.46
Age maternel (années)						
< 25	1		0.41			
25-34	0.5	[0.2-1.9]				
≥ 35	0.5	[0.1-1.5]				
Indice de masse corporelle (kg/m2)						
< 25	1		0.22			
25-29	0.3	[0.1-1.6]				
≥ 30	0.3	[0.1-1.9]				
Multiparité (vs nullipare)	0.4	[0.1-0.99]	0.048	0.2	[0.02-0.8]	0.03
Célibataire ou Autres (vs mariée)	2.5	[0.5-12.9]	0.27			
Sans emploi rémunéré (vs oui)	2.3	[0.6-9.0]	0.22			
ATCD de violences conjugales (vs non)	0.7	[0.2-2.4]	0.53			
ATCD de pathologie psychiatrique (vs non)	4.5	[0.97-20.8]	0.05	4.2	[0.5-33]	0.18
Tabagisme (vs non)	11	[1.4-85.2]	0.02	17	[1.5-204]	0.02
Usage de drogues (vs non)	2.5	[0.5-12.9]	0.27			

Discussion et mise à jour

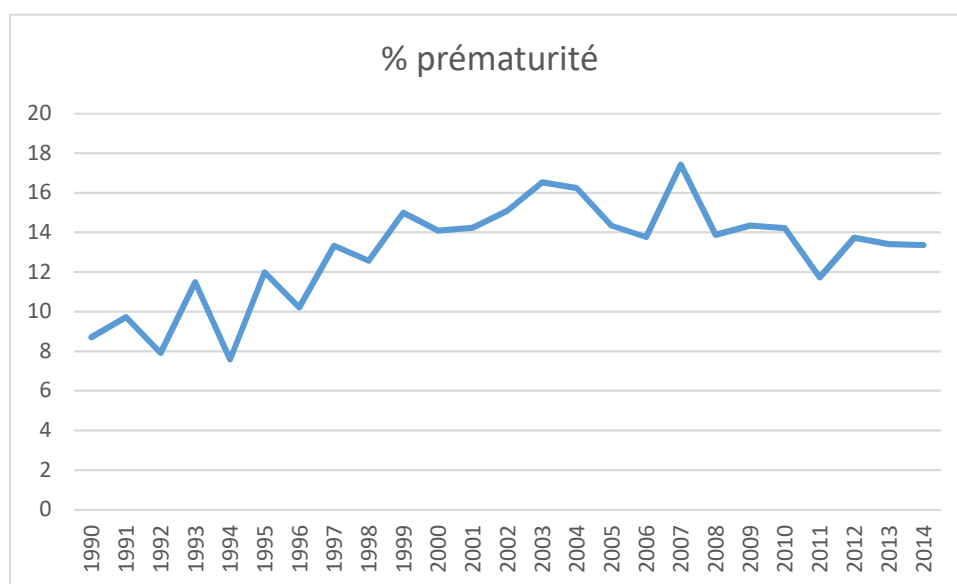
Taux de prématurité en France et ailleurs

Le taux de prématurité a évolué au cours du temps dans la cohorte EPF, passant de 9.2% en 1990-1993 à 14.3% en 2005-2009. Il s'est par la suite stabilisé, puisque le pourcentage de naissances prématurées était de 12.8% entre 2011 et 2014 (Fig 3.6).

Dans la population générale, on a également observé une augmentation du taux de prématurité, mais à des niveaux bien moindres, et avec une pente moins marquée. En effet, ce taux en population générale était de 5.3% en 1998, 5.8% en 2003, et de 6.3% en 2010. La différence de taux de prématurité entre la population générale et la population infectée par le VIH a été retrouvée dans d'autres pays occidentaux, notamment le Royaume Uni, l'Irlande, et les Etats unis (5,16-18).

Cette différence peut être la traduction de plusieurs mécanismes : (1) L'infection par le VIH elle-même peut être responsable d'une augmentation du risque de prématurité (2) d'autres facteurs de risque de prématurité, non liés au VIH, notamment socio-démographiques, peuvent être très différents chez les patientes infectées par le VIH et représenter ainsi des facteurs de confusion mal pris en compte dans la plupart des études (3) les traitements reçus par les patientes peuvent être en cause, (4) la fréquence de pathologies gravidiques susceptibles d'entraîner une prématurité peut être augmentée, en raison du VIH lui-même ou des traitements.

Fig 3.6 Evolution du pourcentage de prématurité dans la cohorte EPF



Infection par le VIH et prématurité

Plusieurs études ont montré une association entre l'avancée de la maladie VIH et la prématurité (66,67). Elles suggèrent que l'état inflammatoire lié à la maladie peut augmenter le risque d'accouchement prématuré. Cependant le fait que le pourcentage de prématurité était bien plus bas avant l'apparition de traitements efficaces ne plaide pas pour l'hypothèse que la seule infection par le VIH est responsable de la différence observée avec la population générale.

L'ensemble des études observationnelles s'étant intéressées au risque de prématurité chez les patientes infectées par le VIH ont comme défaut l'absence d'information sur de nombreuses caractéristiques maternelles pouvant influencer le risque de prématurité. Aucune étude récente n'a pu comparer les issues de grossesses chez des patientes infectées et non infectées par le VIH, et ce avec suffisamment de données pour pouvoir ajuster sur les autres facteurs de risque de prématurité. C'est dans ce contexte que nous avons mené l'étude exposé/non-exposé au sein de la maternité Montefiore dans le Bronx.

Cette étude a montré que l'infection par le VIH était significativement associée au risque de prématurité, mais qu'après ajustement sur plusieurs caractéristiques psycho-sociale, cette association disparaissait totalement, l'OR diminuant de 1.7 à 1.0. Si les seules variables significativement associées au risque de prématurité dans le modèle multivarié étaient la primiparité (vs la multiparité) et le tabagisme (à partir de 1 cigarette par jour), on note que l'OR pour l'antécédent de pathologie psychiatrique n'était pas modifié, même si l'association n'atteignait plus la significativité. En revanche, les violences conjugales et l'usage de drogues n'étaient plus associées à la prématurité après ajustement sur les autres facteurs.

La primiparité et le tabagisme sont des facteurs classiques de prématurité, retrouvés également dans la population française (34). Le fait de n'avoir pas retrouvé le tabagisme comme facteur de risque dans notre étude précédente menée dans EPF est probablement dû au fait que seuls les tabagismes > 10 cigarettes/jour étaient rapportés. Il est pourtant démontré que le tabagisme même modéré est associé à un risque augmenté de prématurité (59–61), notamment de prématurité sévère (62).

L'usage de drogues n'était plus associé à la prématurité en analyse multivariée. Il est difficile de faire la part du rôle de chaque exposition quand on étudie les comportements à risque, et notamment ceux qui sont illégaux. En effet, dans toutes les études, l'usage de drogue est un usage rapporté, il n'est donc pas à exclure qu'une sous-déclaration puisse avoir lieu en raison de craintes de la patiente. De plus les consommations sont souvent multiples et quasiment toujours associées au tabagisme. Plusieurs études rapportent la difficulté d'analyse pour mettre en évidence le rôle propre de chaque substance, même s'il est probable que l'usage de drogues renforce le risque lié au tabagisme (60,61,68).

De même le fait d'être victime de violence conjugale n'était plus associé significativement au risque de prématurité dans le modèle multivarié. Une méta-analyse récente a mis en évidence une augmentation du risque de prématurité chez les femmes victimes de violence conjugale (OR=1.9 [IC95%1.6-2.3])(65). Il est possible que l'absence d'association retrouvée dans notre population soit due à un manque de puissance.

Enfin, si l'association entre antécédent de pathologie psychiatrique et prématurité n'atteignait plus la significativité dans le modèle multivarié c'est probablement en raison d'un manque de puissance, car l'OR ne variait pas. Il a déjà été rapporté à de multiples reprises que la dépression et l'anxiété étaient associés au risque de prématurité (63,64). Or dans notre étude, la proportion de patientes infectées par le VIH ayant un antécédent de pathologie psychiatrique était particulièrement élevée : 37% vs 10% pour les patientes non infectées par le VIH.

Au total, le taux de prématurité dans cette population était particulièrement élevé chez les femmes infectées par le VIH (18%), mais pour le groupe des patientes non exposées il était identique à celui décrit en population générale américaine, soit 11% (15).

Il n'y a aucune étude récente ayant comparé les issues de grossesses chez les femmes infectées par le VIH à des femmes issues de la même population, mais non infectées par le VIH. En effet l'ensemble des études récentes se sont attachées à comparer les traitements uniquement, et ce, parmi des femmes toutes infectées par le VIH. Notre étude suggère qu'une partie de la différence observée dans les taux de prématurité chez les femmes infectées par le VIH et non infectées par le VIH, du moins aux Etats Unis, est due aux caractéristiques très différentes de ces populations.

Il n'est pas possible de conclure à l'absence d'effet de l'infection par le VIH sur ces seuls résultats, car il s'agit d'une étude unique et de faible effectif, mais cela souligne l'importance de prêter attention également aux autres facteurs de risque de prématurité, sur lesquels il est possible d'agir, dans cette population particulièrement à risque.

Traitements et prématurité

Combinaisons antirétrovirales puissantes.

Dans notre étude menée dans la cohorte nationale Française EPF, nous avons mis en évidence une association significative entre le traitement par combinaison antirétrovirales puissantes et le risque de prématurité, par rapport aux traitements par monothérapies ou bithérapies d'INTI.

Ceci est en accord avec une large majorité des études (18,22,69–71), même si certaines, notamment américaines ne retrouvaient pas ce résultat (38,72). Depuis notre travail, d'autres études observationnelles ont trouvé une association entre cART et prématurité (73,74).

Enfin un essai randomisé de grande envergure, l'essai PROMISE, conduit dans 6 pays d'Afrique subsaharienne et en Inde a comparé une stratégie de monothérapie de zidovudine chez 1411 patientes versus une combinaison contenant zidovudine/lamivudine et lopinavir boosté par le ritonavir chez 1406 patientes (Tableau 3.1). Les taux de prématurité étaient de 13% vs 21% respectivement ($p<0.001$).

La randomisation permet de s'affranchir des limites souvent trouvées dans les études observationnelles et citées en introduction. Il semble donc y avoir une littérature suffisante pour affirmer aujourd'hui que les combinaisons antirétrovirales multiples sont associées à un risque de prématurité plus élevé que les traitements moins puissants, tels que les monothérapies et les bithérapies de zidovudine.

Cependant, il a également été largement démontré, et justement confirmé dans l'essai PROMISE, que le traitement par combinaisons antirétrovirales puissantes était plus efficace pour prévenir la transmission mère-enfant, et le rapport bénéfice risque est donc largement en faveur de l'utilisation des cART.

Rôle spécifique des inhibiteurs de protéase

La question actuelle est donc de déterminer si, au sein des cART, certaines molécules sont plus associées à un risque d'accouchement prématuré que d'autres. Les inhibiteurs de protéase ont été particulièrement incriminés dans ce risque, or en France, la quasi-totalité des patientes initiant un traitement en cours de grossesse sont traitées par inhibiteurs de protéase.

Nous avons mis en évidence que parmi les patientes traitées par inhibiteur de protéase, l'utilisation du boost de ritonavir était associé à un risque plus élevé d'accouchement prématuré.

Notre étude est la plus large à disposer de détails sur le déroulement de la grossesse, et sur le type de prématurité (spontanée vs induite). Elle est également la seule parmi les études observationnelles à avoir pu utiliser les caractéristiques immuno-virologiques avant la mise en place du traitement et donc à avoir pu ajuster sur l'indication du traitement, alors que toutes les autres études observationnelles ajustaient sur les caractéristiques immuno-virologiques à l'accouchement, celles-ci étant directement dépendantes du terme d'accouchement.

Notre étude présente également certaines limites. La majorité des IP boostés étant représentés par le lopinavir/r et des non-boostés par le nelfinavir, il ne peut être exclu qu'il s'agisse d'un effet de molécule plutôt que d'un effet propre au boost. La puissance n'était pas suffisante pour étudier séparément chacune des molécules d'IP, cependant nous avons noté que les niveaux de prématurités étaient homogènes et élevés pour les autres molécules boostées par le ritonavir.

Aucune autre étude n'ayant à ce jour étudié l'impact spécifique de chaque molécule antirétrovirale, notre résultat peut expliquer les différences entre les autres études. En effet la plupart des études parues entre 2000 et 2010 avaient une proportion importante d'IP non boostés dans leur groupe traité par IP et ceci pouvait probablement expliquer l'absence de différence avec le groupe traité par d'autres molécules que les IP (17,38). Une méta-analyse parue récemment a compilé les 10 études ayant comparé des traitements par IP aux traitements sans IP, et a trouvé une association significative avec le risque de prématurité : OR = 1.32 (IC95% 1.04-1.59)(75).

Deux essais randomisés menés en Afrique ont trouvé des résultats contradictoires (Tableau 3.1). Ainsi, l'essai Mma Bana, au Botswana, a trouvé un taux de prématurité plus élevé pour des patientes traitées par cART contenant du lopinavir/r que pour les patientes recevant une cART contenant 3 inhibiteurs nucléosidiques (21% vs 12% respectivement, $p=0.004$)(76). En revanche, un autre essai randomisé mené en Ouganda a comparé un traitement contenant du lopinavir/r à un traitement contenant de l'efavirenz, une molécule de la classe des INNTI, et les taux de prématurité ne différaient pas significativement : 16% vs 15%, $p=0.69$ (77).

Il est donc difficile aujourd'hui d'affirmer la responsabilité des inhibiteurs de protéase. L'effet observé sur la prématurité est-il un effet de classe, un effet de certaines molécules ? Ou est-il dû à l'efficacité virologique du traitement reçu ?

Mécanisme physiopathologique du lien entre antirétroviraux et prématurité

Une étude ancienne avait suggéré le rôle d'une modification de l'équilibre des cytokines TH1-TH2 provoquée par la restauration immunitaire lors d'introduction de multithérapies, mais aucune autre étude n'a poursuivi ou confirmé cette hypothèse(33).

Notre hypothèse concernant l'effet du boost de ritonavir était basée sur l'observation que les IP dans leur ensemble, mais particulièrement les IP boostés sont responsables de modifications endocriniennes complexes, qui incluent l'axe cortico-surrénalien et peuvent être à l'origine d'une augmentation de la sécrétion d'ACTH maternel(78). Il a été démontré que l'exposition in utero au lopinavir/r pouvait entraîner des dysfonctions surrénaliennes transitoires chez les nouveau-nés (79). Or l'activation de l'axe cortico-surrénalien est impliquée dans la cascade d'évènements à l'origine du déclenchement du travail spontané (31). Cependant notre étude a montré que l'augmentation de prématurité liée au boost passait plus particulièrement par de la prématurité induite. Concernant la prématurité spontanée, l'association n'était pas significative, même s'il est possible que ceci soit lié à un manque de puissance, ceci contredit donc partiellement notre hypothèse sur l'implication des cytochromes CP3A4.

De plus, le boost de ritonavir ne peut pas expliquer l'augmentation importante du taux de prématurité observé entre 1997 et 1999 car à cette période, les molécules boostées par le ritonavir étaient encore très minoritaires. Ceci suggère donc comme cité ci-dessus une possible participation de l'efficacité des traitements.

Notre étude est la première à avoir évalué le risque des différentes complications obstétricales, à la fois en rapport avec le traitement et avec la prématurité, de manière à tenter d'identifier des facteurs intermédiaires pour expliquer le risque d'accouchement prématuré. Les inhibiteurs de protéase sont des molécules qui augmentent la résistance à l'insuline chez l'adulte, mais le lien avec l'augmentation du risque de diabète gestationnel n'a pas été clairement établi dans les rares études s'y étant intéressé (80,81). De même certaines études ont suggéré qu'il existait une association entre pré-éclampsie et traitement par IP (32,82,83), qui passeraient potentiellement par un phénomène de restauration immunitaire. Si notre étude montre une tendance à l'augmentation de certaines de ces pathologies, elle manque de puissance pour pouvoir démontrer une association significative.

L'identification d'un risque de cytolysé hépatique très significativement plus élevé chez les patientes traitées par IP boostés, alors même que cette cytolysé hépatique était également liée à la prématurité nous a encouragé à mener un travail plus approfondi sur ce sujet.

Une autre piste intéressante explorée récemment est celle du rôle de la progestérone. Cette hormone, impliquée de manière indiscutable dans le maintien de la gestation, a été retrouvée à des taux plus faibles en cas de traitement par lopinavir/r, et ceci a été démontré dans des lignées cellulaires in vitro, chez des souris, et chez des patientes infectées par le VIH (84). En lien avec nos résultats concernant les cytolyses hépatiques, un dysfonctionnement du foie chez les patientes traitées par IP pourrait perturber le métabolisme de la progestérone. L'interaction entre progestérone, cytolysé hépatique et accouchement prématuré pourrait également être plus complexe.

Cytolyses hépatiques, traitements antirétroviraux et risque de prématurité

Nous avons trouvé un taux particulièrement élevé de cytolyses hépatiques chez les patientes infectées par le VIH enceintes. Ce taux ne différait pas en fonction du moment d'introduction du traitement : 17% environ que les femmes soient déjà sous traitement avant la conception ou qu'elles introduisent le traitement en cours de grossesse. La grande majorité (82%) des cytolyses hépatiques n'étaient pas expliquée par des causes obstétricales telles que la pré-éclampsie ou la cholestase gravidique. Seules 1% des femmes incluses déclaraient consommer de l'alcool au cours de la grossesse, et ceci n'était pas associé à la survenue d'une cytolysé hépatique. La cause principale potentielle des cytolyses observées est donc le traitement antirétroviral, même si le lien causal n'est pas démontré.

Deux études précédentes avaient rapporté les taux de cytolyses chez des femmes enceintes infectées par le VIH et trouvaient des chiffres proches des nôtres : 14% pour les femmes déjà sous traitement au moment de la conception pour Ouyang (36) et 12% pour les femmes initiant un traitement antirétroviral au cours de la grossesse pour Huntington (37). Ces deux études ont mis en évidence un risque plus important de survenue de cytolysé hépatique pendant la grossesse par rapport à en dehors de toute grossesse, pour les femmes infectées par le VIH. Au contraire, chez les femmes non infectées par le VIH, une grossesse sans pathologie ne s'accompagne habituellement pas d'une élévation des transaminases (85–87). Certains auteurs ont même rapporté une baisse de la valeur des transaminases en raison d'une expansion du volume plasmatique au cours de la grossesse (88,89).

Cytolyses hépatiques et issues de grossesse

A la lumière de notre étude précédente sur la prématurité, nous avons voulu évaluer si la survenue d'une cytolysé inexplicée, c'est-à-dire après exclusion des cholestases gravidiques et des pré-éclampsies, avaient des conséquences sur le déroulement de la grossesse et les issues obstétricales. Parmi ces femmes, 6% étaient hospitalisées en raison de la cytolysé hépatique, 5% modifiaient leur traitement antirétroviral et 2% avaient une césarienne ou un déclenchement du travail dont la raison principale était la cytolysé hépatique.

Ainsi que nous l'avons mis en évidence dans l'étude sur la prématurité, la cytolysé hépatique était significativement associée au risque de prématurité. Il est à noter que ceci était toujours vrai après exclusion des cholestases gravidiques et pré-éclampsies, facteurs de risque classiques de prématurité, et que cette association était également retrouvée dans le groupe de femmes déjà traitées à la conception, qui n'avaient pas été étudiées dans notre étude précédente. L'association entre cytolysé hépatique et prématurité n'est pas quelque chose de connu. Cela n'a jamais été décrit chez des femmes non infectées par le VIH ; les seules études ayant collecté en routine les valeurs de transaminases en population générale ne donnaient pas les termes de naissance(85,87).

Cytolysé hépatique et traitements antirétroviraux

Notre étude est la première à analyser de manière systématique, dans une cohorte nationale, les associations entre traitements antirétroviraux et cytolysé hépatique.

Parmi les femmes déjà traitées à la conception, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'association entre une molécule d'inhibiteur de protéase particulière et le risque de cytolysé hépatique. En revanche, il apparaissait que le risque était plus élevé pour les patientes sous traitement contenant un inhibiteur de protéase par rapport aux patientes recevant un traitement à base d'INNTI. Ceci n'a encore jamais été décrit chez les femmes enceintes, mais certaines études menées en dehors de la grossesse rapportaient déjà ce résultat (90,91). Dans l'étude de Huntington, il était également retrouvé

que la durée de traitement par IP était associée à la cytolysé alors que la durée sous INNTI diminuait ce risque (37). Les mécanismes de toxicité hépatique de chaque traitement expliquent ce résultat : le mécanisme des INNTI est principalement immuno-allergique, alors que les IP ont une toxicité cellulaire directe.

Des études anciennes incriminaient particulièrement la nevirapine dans la survenue d'une toxicité hépatique en cours de grossesse(47–49), et plusieurs cas d'hépatites fulminantes ont conduit l'OMS et les Américains à déconseiller l'introduction de la nevirapine chez les patientes ayant des CD4 > 350 ou 250 respectivement(53,92). Cette précaution ne concerne pas les patientes déjà traitées au moment de la conception, qui ne sont plus à risque pour un mécanisme immuno-allergique. Nos résultats dans ce groupe de patientes sont en accord avec les études plus récentes ne trouvant pas d'association entre nevirapine et cytolysé hépatique(37,52). Il n'a pas été possible dans notre étude de comparer le lopinavir/r et la nevirapine chez les patientes introduisant un traitement pendant la grossesse en raison des effectifs faibles.

En effet, dans ce groupe de patientes, non traitées en début de grossesse, les traitements introduits étaient dans l'immense majorité des combinaisons contenant un inhibiteur de protéase, en application des recommandations françaises. Nous avons trouvé un taux de cytolysé hépatique plus bas pour les patientes traitées par nelfinavir (non boosté) par rapport au lopinavir/r (boosté), confirmant ainsi sur une plus large période les résultats rapportés dans notre étude précédente. Cette différence avait déjà été rapportée en dehors de la grossesse, avec le nelfinavir décrit comme le moins toxique sur le plan hépatique parmi tous les IP (93).

Notre étude des cytolyses dans la cohorte EPF est l'étude incluant le plus grand nombre de patientes à ce jour (N=5748 contre N=1229 pour Ouyang)(36), et la seule à avoir une envergure nationale. Nous avons pu étudier toutes les molécules prescrites dans la cohorte, et avons étudié séparément les patientes déjà traitées à la conception et celles initiant un traitement en cours de grossesse, car les mécanismes toxiques sont potentiellement différents entre ces deux populations. C'est également la seule étude à avoir recueilli des informations obstétricales, permettant de différencier les cytolyses d'origine obstétricales de celles potentiellement associées aux ARV, et augmentant donc la puissance d'analyse.

Notre étude présente également certaines limites. En raison de l'application forte des recommandations françaises, qui encouragent l'utilisation d'IP, il n'a pas été possible de comparer les IP aux INNTI chez les femmes initiant un traitement en cours de grossesse. Une autre limite est l'absence d'information sur les médicaments concomitants, possiblement responsables de survenue de cytolyses hépatiques. Seuls 3 prélèvements étaient recueillis pour la cohorte EPF, ce qui a comme inconvénient de potentiellement sous-estimer le taux de cytolysé, et de ne pas repérer dans tous les cas l'acmé de la cytolysé, mais qui limite les biais d'indication du prélèvement, car les données recueillies l'étaient selon un calendrier pré-défini. Enfin, nous n'avons pas pu étudier l'évolution dans le post-partum immédiat des cytolyses hépatiques, qui auraient pu donner des informations précieuses sur la responsabilité de la grossesse dans la cytolysé hépatique, particulièrement en l'absence de modification thérapeutique.

Les associations retrouvées entre traitements antirétroviraux et cytolysé hépatique inexpliquée en cours de grossesse semble cohérente avec ce qui a été décrit en dehors de la grossesse. Cependant, ceci ne permet pas d'élucider les taux plus élevés des cytolyses observées pendant la grossesse. Il est possible qu'il existe une interaction entre les traitements et l'état de grossesse.

Une hypothèse est que les concentrations et la distribution plasmatiques des antirétroviraux sont modifiées par la grossesse. Cependant il a été bien décrit que les concentrations d'IP diminuent généralement en fin de grossesse, des surdosages ne devraient donc pas être observés (94,95). La surveillance en routine des concentrations par dosage plasmatiques n'est pas recommandée et n'était pas disponible pour notre étude. A ce jour, aucune étude n'a rapporté de relation entre les concentrations plasmatiques en IP et la survenue de cytolysé hépatique.

Ainsi que nous l'avons évoqué ci-dessus, il est possible qu'une interaction survienne entre les hormones de la grossesse, métabolisées par le foie, comme la progestérone, et les traitements antirétroviraux. Il a déjà été décrit que la toxicité hépatique liée aux traitements est plus élevée chez les femmes que chez les hommes, justement possiblement à cause d'interaction avec les hormones stéroïdes (96). Or la progestérone a un rôle important pour maintenir la relaxation du muscle utérin et empêcher le travail prématuré (97,98). Une étude récente a montré *in vitro* et *in vivo* que les concentrations de progestérone étaient justement modifiées par un traitement contenant un inhibiteur de protéase (84). La cytolysé hépatique pourrait être un facteur intermédiaire entre les traitements antirétroviraux et la survenue de la prématurité. Dans ce contexte, l'implication des hormones stéroïdes de la grossesse est donc une piste à explorer.

Conclusion

La proportion d'accouchements prématurés est particulièrement élevée dans la population de femmes infectées par le VIH, et ceci est constaté à la fois dans les pays du Nord et du Sud. Il s'agit d'un sujet majeur de préoccupation. La prématurité a une origine éminemment multifactorielle, et les mécanismes expliquant ces taux élevés ne sont pas tous élucidés. Il apparaît maintenant admis que certains traitements sont en cause dans une augmentation du risque, peut-être par l'intermédiaire de perturbations révélées par une cytolysé hépatique. Si les praticiens doivent s'attacher à trouver les traitements les moins toxiques, les nombreux autres facteurs associés, notamment psycho-sociaux, ne doivent pas être négligés dans la prise en charge de cette population à risque.

IV-MALFORMATIONS CONGENITALES ET EXPOSITION AUX ANTIRETROVIRAUX

L'étude des malformations congénitales chez les femmes infectées par le VIH dans EPF a fait l'objet d'un article publié (Annexe 5) :

Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, Le Chenadec J, Boullag-Bonnet N, Faye A, Dollfus C, Tubiana R, Bonnet D, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J.

Association between prenatal exposure to antiretroviral therapy and birth defects: an analysis of the French perinatal cohort study (ANRS CO1/CO11).

PLoS Med. 2014 Apr 29;11(4):e1001635.

Introduction

Comme nous l'avons exposé dans l'introduction générale, les stratégies de prévention de la transmission mère-enfant du VIH ont beaucoup évolué au cours du temps. En France, un traitement antirétroviral est recommandé systématiquement pour les femmes séropositives depuis 1994. Et depuis 2004, la prescription systématique de cART en cours de grossesse a eu pour conséquence une diversification majeure des molécules utilisées en cours de grossesse. Le pourcentage de femmes sous traitement à la conception a également augmenté de manière importante, l'exposition au premier trimestre concernait 67% des patientes en 2014. Le premier trimestre est la période de l'organogenèse pour l'embryon, et celui de la susceptibilité aux agents tératogènes, c'est-à-dire pouvant provoquer des malformations congénitales.

Malformations congénitales. Le rapport de l'organisation mondiale de la santé (OMS) 2010 (99) définit les malformations congénitales comme des anomalies de structure ou de fonction présentes à la naissance. Les troubles congénitaux sont responsables d'une part importante des décès néonataux (100). En Europe, où le taux global de mortalité infantile est faible, on attribue jusqu'à 25 % des décès néonataux aux anomalies congénitales. Les causes des malformations congénitales sont nombreuses et peuvent s'associer : anomalies d'un seul ou de plusieurs gènes, troubles chromosomiques, maladies maternelles, infectieuses (syphilis, rubéole) ou métaboliques (diabète sucré, phénylcétonurie), ou encore l'exposition pendant la grossesse à des agents tératogènes qui peuvent être l'alcool, des substances présentes dans l'environnement, mais aussi des médicaments.

Il n'existe pas actuellement d'estimation sûre du nombre d'enfants qui naissent avec un trouble congénital grave imputable à des causes génétiques ou environnementales. Des registres de surveillance ont été mis en place en population générale dans de nombreux pays. Ils ont la mission de surveiller, pendant de longues périodes de temps, des populations géographiquement définies, afin d'y détecter des variations de fréquence inexplicables (101) et ainsi parfois, ils ont un rôle majeur d'alerte pour détecter l'apparition de molécules tératogènes, comme ce fut le cas pour les effets du valproate de sodium sur le fœtus (102).

Il existe quatre registres des malformations congénitales en France qui appartiennent à un réseau de registres européens, EUROCAT. Ce réseau regroupe 43 registres dans 23 pays différents qui utilisent la même méthodologie, en particulier les mêmes définitions pour les cas, pour rendre le plus comparable possible les prévalences des malformations observées dans chaque registre (103). Un autre important registre de malformations congénitales en population générale est le registre américain basé à Atlanta : le Metropolitan Atlanta Congenital Program (MACDP). Les comparaisons entre le registre américain et le réseau de registres européens sont difficiles car ceux-ci n'utilisent pas les mêmes définitions pour les anomalies congénitales.

Le réseau EUROCAT utilise une définition basée sur la 10^{ème} révision de la classification internationale des maladies (CIM10) et ne comporte pas de malformations mineures. Seules les malformations majeures sont comptabilisées. Le registre américain MACDP utilise une autre définition des malformations congénitales, basée sur la 9^{ème} révision de la classification internationale des maladies et cette différence de définition est importante, car d'une manière générale, la définition EUROCAT est plus restrictive que la définition MACDP. Le plus souvent c'est la classification MACDP qui a été utilisée pour les études concernant les patientes séropositives pour le VIH, mais cela n'est pas systématique, ni toujours précisé dans les méthodes, et pourrait expliquer des différences dans les résultats retrouvés.

Rôle éventuel des traitements antirétroviraux. Suite à l'alerte portant sur l'efavirenz, avec 3 malformations majeures observées chez 20 singes exposés in utero, la surveillance des patientes sous traitement pendant la grossesse s'est renforcée.

Un registre de surveillance des malformations congénitales a été mis en place aux Etats Unis à partir de 1989 : l'Antiretroviral Pregnancy Registry (APR). C'est un système de recueil sur une base de volontariat de toutes les grossesses exposées aux antirétroviraux. Il inclut chaque année environ 1300 grossesses aux Etats Unis et 200 dans d'autres pays du monde. Malgré son nom, il ne répond pas à la définition épidémiologique d'un registre, en particulier par l'absence d'inclusion systématique et exhaustive sur un territoire donné. L'APR utilise la classification du MACDP, et l'élargit en incluant dans le numérateur les enfants ayant deux malformations mineures, même sans malformation majeure. Cette base a donné lieu aux publications sur les malformations congénitales incluant le plus grand nombre d'enfants au moment de notre travail (14735 en janvier 2012). Dans son dernier rapport intermédiaire, l'APR signalait une augmentation modérée des malformations congénitales (toutes malformations confondues) pour la didanosine et le nelfinavir³ par rapport aux autres molécules, mais sans différence de niveau entre les enfants exposés au premier trimestre ou ultérieurement (APR), et ne retrouvait pas d'association entre l'exposition à l'efavirenz et le risque de malformation congénitale(104).

D'autres études portant sur des effectifs moins importants sont parues sur le sujet, la plupart utilisant la même définition de cas que l'APR, mais pas toujours. Les résultats de ces études sont présentés dans un tableau récapitulatif dans l'article issu de notre travail (p130 du manuscrit).

L'innocuité de l'efavirenz chez l'homme n'a pas pu être démontrée, car deux études retrouvaient une association entre exposition à l'efavirenz au premier trimestre et le risque de malformation congénitale (25,105). Les autres études généralistes n'ont pas trouvé de lien, cependant leur puissance était limitée, en raison d'une prescription très faible d'efavirenz au premier trimestre de la grossesse. Une méta-analyse parue en 2011(106) a permis de réunir 1437 enfants exposés à l'efavirenz au cours du premier trimestre de la grossesse. Cette méta-analyse ne retrouvait pas de différence entre ces enfants et ceux non exposés à l'Efavirenz in utero : risque relatif (RR) = 0.87 [0.61-1.24].

Une vigilance accrue était donc toujours d'actualité concernant l'efavirenz au moment de notre travail. Il restait très important de réussir à confirmer ou infirmer le risque associé à ce médicament car certaines patientes ont un panel thérapeutique limité en raison des résistances aux antirétroviraux et un changement peut être compliqué chez elle. En outre, un nombre croissant de femmes commencent leur grossesse alors qu'elles reçoivent comme traitement cette molécule, et le risque, s'il existe, est probablement majeur lors de l'embryogenèse, c'est-à-dire au premier trimestre.

Par ailleurs, deux études ont retrouvé une association entre malformations cardiaques et zidovudine d'une part (25) ou antirétroviraux globalement (26) d'autre part. Ces études sont restées très prudentes dans leur conclusion, et ces associations n'ont pas été retrouvées dans d'autres études. Nous avons donc considéré ce résultat comme un signal, méritant de plus amples investigations concernant le risque de malformations cardiaques.

Notre objectif était d'observer la prévalence des malformations congénitales chez les enfants nés de mères infectées par le VIH ayant reçu un traitement pendant la grossesse, et d'identifier des associations avec certaines molécules reçues in utero.

³ La Didanosine ou Videx® est un inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (INTI) de moins en moins utilisé chez la femme enceinte à cause de sa toxicité mitochondriale importante, le Nelfinavir ou Viracept® est un inhibiteur de protéase (IP) qui n'est plus commercialisé.

Population et méthodes

Sélection de la population d'étude (Fig 4.1)

L'étude a été menée au sein de l'enquête périnatale française, décrite ci-dessus. Nous avons inclus pour l'analyse toutes les naissances vivantes exposées aux antirétroviraux entre Janvier 1994 et Décembre 2011, soit 13,124 nouveau-nés. Nous avons exclu de l'analyse principale les interruptions médicales de grossesse (n=43) et les morts fœtales in utero (n=90) car jusqu'à récemment, les inclusions dans EPF étaient réalisées à partir de 28 semaines d'aménorrhées, et elles n'étaient donc généralement pas représentées.

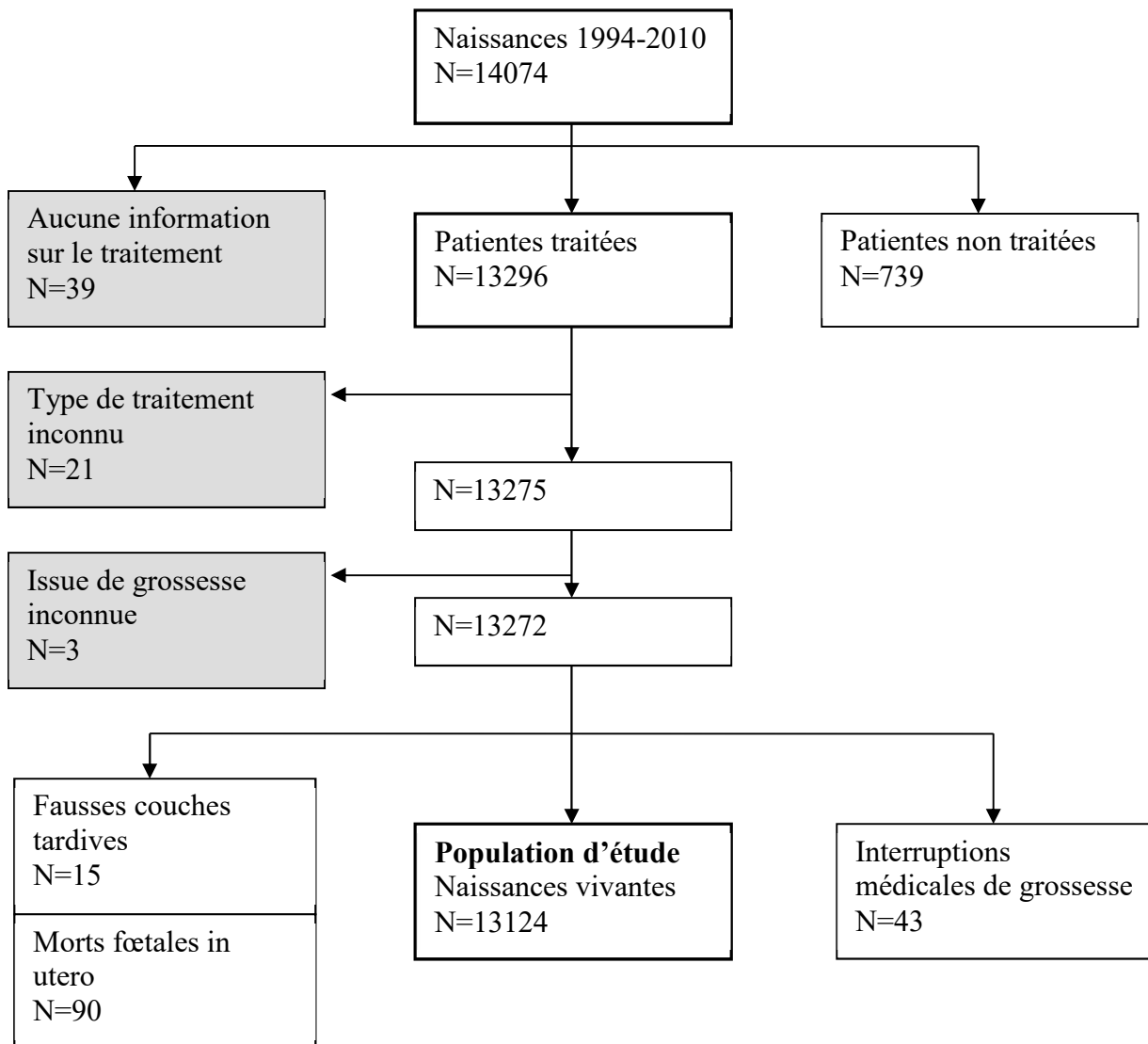
Critère de jugement principal : les malformations congénitales

Les malformations congénitales étaient relevées sur les questionnaires naissance du nouveau-né au moyen d'une question spécifique, et pouvait ensuite être notées sur tous les questionnaires de suivi (entre 1 mois et 18-24 mois) dans les questions ouvertes portant sur toute anomalie clinique constatée dans l'intervalle. Toutes les anomalies correspondant à des malformations congénitales ont été extraites puis codées selon la CIM 10. Elles ont ensuite été classées : (1) dans un premier temps selon les directives du réseau EUROCAT : pour la définition des malformations à inclure de manière générale dans le calcul de prévalence, puis pour le regroupement par organe (107); (2) dans un deuxième temps, ces troubles ont été classés selon les directives du MACDP (108), pour le calcul de prévalence et pour le regroupement par organe, afin de pouvoir comparer à la littérature existante sur le VIH, utilisant majoritairement la définition du MACDP.

Variable d'intérêt principal : les traitements antirétroviraux

Pour chaque molécule antirétrovirale étudiée, l'exposition a été classée en 3 catégories : (1) non exposée pendant toute la grossesse, (2) sous traitement au moment de la conception ou démarrant le traitement au premier trimestre, c'est-à-dire jusqu'à 13 SA + 6 jours inclus, ou (3) démarrant le traitement au deuxième ou au troisième trimestre. Ainsi les patientes du groupe 1 ou du groupe 3 pouvaient avoir reçu des antirétroviraux au premier trimestre, mais n'incluant pas la molécule étudiée. Une autre méthode de catégorisation en 3 classes des traitements a été utilisée pour des analyses de sensibilité : (1) aucun traitement au premier trimestre, (2) molécule étudiée au cours du premier trimestre, (3) tout autre traitement que la molécule étudiée au premier trimestre. Cette deuxième méthode ne permettait pas de mettre en évidence une éventuelle association entre troubles congénitaux et exposition à une molécule au deuxième ou troisième trimestre, or cette association serait possible en théorie pour des pathologies développementales dont la genèse se poursuit tout au long de la grossesse.

Fig 4.1 Population d'étude pour l'analyse des malformations congénitales dans EPF



Autres facteurs étudiés

Les autres variables maternelles étudiées étaient : l'âge maternel, l'origine géographique (classée en France Métropolitaine, Afrique sub-saharienne, autres), l'utilisation de drogues intraveineuses au cours de la grossesse, la gestité et la parité. Les caractéristiques de la maladie VIH comportaient le degré d'immunité (taux de CD4 en nb/mL) et la charge virale (en copies/mL), mesurés au plus près de l'accouchement. Les caractéristiques obstétricales et néonatales étaient : le type de grossesse (simple ou multiple), la voie et le terme d'accouchement, le sexe de l'enfant, son poids de naissance et son statut vis-à-vis de l'infection VIH (infecté, non infecté ou encore indéterminé).

Stratégie d'analyse

Nous avons estimé la prévalence des malformations congénitales et avons comparé les caractéristiques maternelles et néonatales au moyen de des tests de χ^2 ou de Fischer pour les variables catégorielles et des tests de Student ou de Wilcoxon pour les variables quantitatives.

Nous avons ensuite étudié l'association entre les traitements et la présence de malformation fœtale dans leur ensemble selon les définitions d'EUROCAT puis MACDP par des régressions logistiques univariées et multivariées. Les variables introduites dans le modèle multivarié étaient celles classiquement utilisées dans la littérature et qui étaient disponibles sur l'ensemble de la période d'analyse : l'âge maternel, l'utilisation de drogue intraveineuse au cours de la grossesse et l'origine géographique. Nous avons choisi d'introduire également de manière systématique la maternité de naissance de l'enfant dans le modèle multivarié, dans l'hypothèse que celui-ci pourrait avoir une influence sur la qualité et la quantité des diagnostics de malformation congénitale. La période d'étude n'a pas été introduite dans le modèle multivarié en raison d'une colinéarité avec les traitements. L'usage d'alcool ou de tabac au cours de la grossesse n'étaient pas disponible pour l'ensemble de la période d'étude, et les éventuels traitements non liés au VIH n'étaient pas recueillis.

Pour les molécules pour lesquelles une association significative était retrouvée, ainsi que pour celles mises en causes dans la littérature (efavirenz, zidovudine, nelfinavir, didanosine) nous avons alors étudié l'association entre les principaux types de malformations par organe et ces molécules, à nouveau selon les regroupements donnés par EUROCAT mais aussi par le MACDP afin de pouvoir comparer nos résultats à la littérature.

Enfin pour évaluer l'effet indépendant de chaque molécule, comme celles-ci étaient le plus souvent utilisées en association, nous avons introduit dans les modèles multivariés toutes les molécules associées dans les analyses univariées avec le type de malformation considérée avec un $p < 0.10$.

Nous n'avons pas fait d'ajustement pour prendre en compte les comparaisons multiples, car les analyses étaient basées sur des hypothèses pré-existantes à partir de la littérature. Plusieurs analyses de sensibilité ont été réalisées, en faisant varier la population sélectionnée, la définition des événements, ou les variables incluses dans les modèles multivariés.

La puissance de notre étude était $> 95\%$ pour un OR à 2 et $> 70\%$ pour un OR à 1.5 pour la majorité des molécules étudiées.

Principaux résultats

Malformations congénitales dans leur ensemble

La proportion d'enfants atteints de malformations congénitales était de 4.4% selon la classification EUROCAT et de 7.0% selon la classification MACDP. La présence d'une malformation congénitale était significativement associée avec le sexe masculin et un âge maternel plus avancé. Les nouveau-nés atteints de malformation congénitale étaient également plus souvent nés par césarienne, avant terme et avec un poids de naissance < 2500g. Concernant les traitements, une association significative était retrouvée entre malformation congénitale (selon EUROCAT) et exposition au premier trimestre à la zidovudine (OR ajusté = 1.39 [1.06-1.83]), à la didanosine (ORa = 1.44 [1.08-1.92]), à la lamivudine (ORa = 1.37 [1.06-1.76]) et à l'indinavir (ORa = 1.66 [1.09-2.53]). En utilisant la classification MACDP, ces 4 associations étaient également retrouvées, et on observait également une association significative entre malformations et exposition à la zalcitabine au premier trimestre, ainsi qu'avec les INNTI regroupés en une catégorie.

Malformations congénitales par organe

L'efavirenz n'était pas associé aux malformations congénitales dans leur ensemble dans notre étude, mais l'exposition à cette molécule au premier trimestre était associée significativement aux malformations neurologiques selon la classification MACDP (1.1% vs 0.4%, ORa= 3.0 [1.1-8.5]). Cette association n'atteignait cependant pas la significativité quand la classification EUROCAT était considérée. Les 4 malformations neurologiques observées chez les enfants exposés à l'efavirenz au premier trimestre étaient : une ventriculomégalie bilatérale, une agénésie partielle du corps calleux, un kyste sous-épendymaire, et une pachygyrie associée à une macrocéphalie.

L'exposition à la zidovudine au premier trimestre était significativement associée au risque de malformation cardiaque congénitale selon EUROCAT (2.3% vs 1.1%, ORa= 2.2 [1.3-3.7]), et cette association persistait après ajustement sur les autres molécules incluses dans le modèle, zalcitabine, indinavir, et lamivudine. Aucune de ces 3 molécules n'étaient associée significativement aux malformations congénitales après ajustement sur la zidovudine. Enfin l'association entre zidovudine et malformation cardiaque persistait dans de nombreuses analyses de sensibilité : excluant les diagnostics faits après 6 mois de vie ou après la première semaine de vie, en incluant d'autres variables dans l'analyse multivariée, en changeant les catégories d'exposition à la zidovudine, en incluant les interruptions médicales de grossesse et morts fœtales in utero. L'association était également retrouvée en utilisant la classification MACDP.

Discussion

Efavirenz et malformations neurologiques.

Résultat principal et contexte

Une association significative entre efavirenz au premier trimestre et malformations neurologiques a été mise en évidence dans notre étude, mais uniquement avec la définition du MACDP : (ORa= 3.0 [1.1-8.5]), c'est donc un résultat à prendre avec précaution. Nous n'avons pas trouvé de relation entre l'efavirenz et les malformations congénitales dans leur ensemble, ou avec les malformations neurologiques en prenant la définition d'EUROCAT. De plus, après prise en compte des interruptions médicales de grossesse et MFIU, l'association avec les malformations neurologiques codées selon le MACDP n'atteignait plus la significativité statistique.

La première étude ayant entraîné une alerte vis-à-vis de l'efavirenz rapportait 3 cas de malformations majeures parmi 20 singes exposés à l'efavirenz in utero (une anencéphalie associée à une anophtalmie unilatérale, une microphthalmie bilatérale et une fente palatine), soit une prévalence très élevée, de 15% (24) vs aucune malformations parmi les 20 singes non exposés à l'efavirenz. Par la suite, plusieurs cas ont été rapportés chez des enfants de mères infectées par le VIH et traitées par efavirenz (109,110).

De nombreuses études se sont alors intéressées à cette question. L'hétérogénéité des résultats est difficile à interpréter. Les deux seules études à avoir montré une association significative portaient sur un nombre d'exposés réduit : 6 enfants atteints de malformations parmi 47 enfants exposés (prévalence de 12.8%) (105) et 5 enfants atteints parmi 32 enfants exposés (prévalence de 15.6%) (25). Cependant, deux des enfants atteints de malformations sont communs à ces deux études. Parmi les malformations observées, une seule appartient au groupe des troubles neurologiques, il s'agit d'un spina bifida (anomalie de fermeture du tube neural) et l'enfant atteint est commun aux deux études.

Mise à jour

Une mise à jour de la méta-analyse de Ford et al., publiée en 2014 regroupait 1490 enfants exposés au premier trimestre à l'efavirenz et ne mettait pas en évidence d'association avec les malformations congénitales (111). Cependant, celle-ci ne s'intéressait qu'au nombre total de malformations et pas à leur type, et regroupait des études de qualité variable et hétérogènes sur le plan méthodologique. Notre étude n'était malheureusement pas incluse dans cette méta-analyse, car sa publication était postérieure à celle de la méta-analyse, les résultats de celle-ci étaient donc largement dépendant des résultats de l'antiretroviral pregnancy registry, qui contribuait pour 766 des 1490 patientes exposées.

Le dernier rapport de l'antiretroviral pregnancy registry (112) retrouvait un taux de malformation similaire pour les nouveau-nés exposés à l'efavirenz au premier trimestre (2.4% [1.5%-3.7%], 22/902) par rapport à l'exposition aux autres antirétroviraux. Ils rapportent parmi ces 22 enfants atteints de malformation, 3 enfants atteints de malformations du système nerveux central, mais n'ont pas fait d'analyse systématique comparant pour les malformations du système nerveux le groupe exposé à un groupe non exposé. Ils rapportent également avoir reçu 6 case reports de myéloméningocèle dont 4 avaient été exposés à l'efavirenz au premier trimestre, mais non pris en compte dans les calculs de prévalence. Certaines des limites de l'antiretroviral pregnancy registry ont été exposées dans l'introduction.

- Le recueil de données n'est pas systématisé, et malgré un désir d'inclusion des patientes de manière prospective, la déclaration de chaque cas étant faite sur la base du volontariat, par le praticien prenant la patiente en charge, il n'est pas possible d'exclure un biais de sélection. En théorie, ce biais pourrait aller en faveur d'une surreprésentation des cas graves, mais il est difficile d'évaluer s'il serait différentiel selon les molécules reçues.
- La caractérisation des cas peut être faite différemment selon les centres. Notamment, seuls les cas diagnostiqués immédiatement à la naissance sont notifiés car les données sont transmises à la sortie de la maternité de la patiente. Ceci est susceptible de diminuer le nombre de cas repérés, et donc de diminuer la puissance des analyses.
- Le nombre d'échographies prénatales réalisées de manière systématique est moins important aux Etats Unis (d'où sont issus la très grande majorité des cas) qu'en France. D'une manière générale une seule échographie morphologique réalisée entre 18 et 20 SA. Ceci peut également expliquer un défaut de repérage des malformations congénitales et donc une diminution de la puissance. Il est à noter que parmi les quatre malformations neurologiques retrouvées dans notre cohorte chez les enfants exposés à l'efavirenz, trois n'étaient visibles que par échographie.

Ces deux dernières remarques sont valables pour la majorité des études anglo-saxonnes, et expliquent probablement la différence de taux de malformation observée dans notre cohorte (7.0% [IC95% 6.5%-7.4%] selon la classification MACDP), par rapport à l'APR (2.4%) ou aux études de cohortes anglaises (2.8%). Au contraire, une étude américaine récente, suivant les enfants jusqu'à l'âge de un an, trouve un taux de malformations congénitales bien plus proche du nôtre : 6.8% [IC95% 5.9-7.8] (113). Cette étude ne met pas en évidence de risque accru pour les enfants exposés à l'efavirenz : ORa = 1.1 [0.5-2.5] pour un nombre d'enfants exposés au premier trimestre de 94.

Enfin, parmi les autres études postérieures à notre travail, il n'a pas été mis en évidence d'association entre efavirenz et malformations congénitales, cependant, ces études étaient toutes de plus petite envergure, avec au maximum 80 enfants exposés au premier trimestre(114–118).

Forces et limites de notre étude

Notre étude présente de nombreuses forces.

C'est l'étude prospective la plus importante à ce jour avec une méthodologie homogène sur l'ensemble des sites, une couverture nationale et des recommandations communes (N=13 124).

Les centres participant à l'étude sont déterminés à l'avance et couvrent 70% du territoire ; au sein de chaque centre participant, il y a très peu de défaut d'inclusion, qui sont évalués par une exhaustivité réalisée régulièrement sur site (<5%). Il y a donc peu de risque de biais de sélection à l'inclusion.

Pour ce qui est du diagnostic des malformations, la France est un pays où la prise en charge prénatale est standardisée (3 échographies prénatales dont la dernière entre 32 et 34 SA, dépistage généralisé de la trisomie 21) et donc moins variable qu'aux Etats Unis.

Enfin, le suivi des enfants est effectué dans tous les centres participant de la même manière jusqu'à l'âge de 2 ans pour tous les enfants exposés, quel que soit le traitement reçu in utero. Ceci limite donc les biais de classement. Ce suivi des enfants par des pédiatres à échéances régulières permet un diagnostic probablement assez exhaustif de toutes les malformations dans la cohorte, et le remplissage direct des questionnaires par les pédiatres optimise la qualité des informations recueillies.

Notre étude présente également certaines limites.

L'évaluation du risque d'anomalie de fermeture du tube neural est difficile à réaliser à partir des naissances vivantes. En effet, le diagnostic prénatal de ces anomalies est très élevé (92 à 100% dans le registre de Paris) (119) et le taux d'interruption médicale de grossesse également (88% dans le registre de Paris sur la période 1994-2009). Nous avons observé dans EPF 6 cas de non fermeture du tube neural (3 parmi les naissances vivantes et 3 parmi les interruptions médicales de grossesse), aucun n'étant survenu chez une patiente exposée à l'efavirenz au premier trimestre.

Par ailleurs, il ne peut être exclu qu'un certain nombre de patientes ait décidé de faire une interruption volontaire de grossesse dès le premier trimestre en apprenant le risque potentiel de l'efavirenz, ou encore que des patientes exposées à l'efavirenz au premier trimestre ait bénéficié d'un diagnostic prénatal rapide ayant abouti à une interruption médicale de grossesse précoce. Ceci entraînerait alors une sous-estimation du nombre de cas, sans qu'il soit possible de l'évaluer. Les interruptions médicales de grossesses précoces ne sont pas collectées dans EPF et dans la plupart des études.

La puissance de notre étude est l'une des plus élevées, mais elle reste seulement de 40% pour l'efavirenz pour un OR de 1,5.

Conclusion

Au vu de nos données, il n'est pas possible de conclure à la certitude d'une relation causale entre l'efavirenz et la survenue de malformations congénitales, mais il nous paraît difficile d'affirmer son innocuité en particulier pour ce qui concerne les malformations neurologiques.

Suite à la publication de la méta-analyse de Ford, il a été décidé de modifier les recommandations sur la pratique dans de nombreux pays. L'OMS a été la première instance à indiquer que : «après évaluation des bénéfices et des risques, l'efavirenz devrait être considéré comme l'une des molécules à recommander en première intention même chez les femmes en âge de procréer ou enceintes» (120).

L'efavirenz fait donc désormais partie des options thérapeutiques recommandées en première intention pour la généralisation de l'«option B+» dans les pays du Sud. Ceci signifie qu'il est recommandé de débiter un traitement antirétroviral pour toute femme chez qui le diagnostic d'infection par le VIH est porté pendant la grossesse et de le poursuivre à vie. Elle le recevra donc au moment de la conception pour toutes ses futures grossesses. Les collègues britanniques et américains ont également retiré de leurs recommandations la notion de tératogénicité pour l'efavirenz, qui est cependant toujours présente sur la plaquette du médicament(24). En France, les recommandations nationales n'ont pas changé, et il est toujours conseillé d'éviter cette molécule au premier trimestre.

Devant la généralisation future de l'efavirenz chez une majorité des femmes en âge de procréer dans les pays du Sud, il apparaît primordial de poursuivre la surveillance épidémiologique des malformations congénitales. Cependant, il ne faut pas oublier que les moyens disponibles pour les diagnostics dans ces pays sont très différents de ceux mis en œuvre dans les pays du Nord. Les échographies prénatales ne sont pas réalisées en routine dans la majorité de ces pays, et il semble peu probable que le suivi pédiatrique des enfants permette un rattrapage sur des signes cliniques survenant plus tardivement.

Zidovudine et malformations cardiaques.

Dans EPF, la prévalence des malformations congénitales était significativement associée à l'exposition à la Zidovudine au premier trimestre. Ce surcroît de malformation portait uniquement sur les malformations cardiaques.

La relation mise en évidence entre zidovudine et malformations cardiaques dans notre étude nous semble présenter une certaine robustesse.

- Malgré les nombreux ajustements réalisés, sur les autres molécules impliquées, sur la maternité de naissance et sur la prématurité (qui pourraient augmenter le taux de diagnostics réalisés), ainsi que sur l'année de naissance (pour éliminer un effet période), ce qui limite au maximum les biais de confusion, la force de l'association entre Zidovudine et malformations cardiaques restait inchangée.
- Le pourcentage de malformations plus élevé en cas d'exposition au premier trimestre par rapport à l'absence de Zidovudine ou à son introduction plus tardive était cohérent avec la chronologie de la morphogenèse cardiaque.
- Nous trouvons les mêmes résultats quelle que soit la classification utilisée : EUROCAT ou MACDP.

Pour ces malformations cardiaques, bien que nous ayons pu recueillir de nombreux détails par rapport aux études existantes, nous souhaitons obtenir encore plus de renseignements, par exemple sur le type de communications inter-ventriculaires, qui peuvent relever de différents mécanismes physiopathologiques. Le monitoring de l'ensemble des dossiers de malformations cardiaques a donc été entrepris par un cardiopédiatre expert afin d'approfondir l'analyse concernant les malformations congénitales dans le cohorte EPF. L'étude issue de cette relecture experte sera l'objet de la partie suivante.

V-RISQUE DE TOXICITE CARDIAQUE LIEE AUX INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES

L'étude du lien entre toxicité cardiaque et inhibiteurs nucléosidiques a fait l'objet d'un article publié :

Sibiude J, Le Chenadec J, Bonnet D, Tubiana R, Faye A, Dollfus C, Mandelbrot L, Delmas S, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J, Blanche S; French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis French Perinatal Cohort/Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation Trial.

In utero exposure to zidovudine and heart anomalies in the ANRS French perinatal cohort and the nested PRIMEVA randomized trial.

Clin Infect Dis. 2015 Jul 15;61(2):270-80.

Introduction

Malformations cardiaques congénitales. Notre étude décrite ci-dessus ayant mis à jour une association significative et robuste entre l'exposition à la zidovudine au premier trimestre et les malformations cardiaques, nous avons souhaité approfondir cette analyse en bénéficiant de l'aide d'un expert en malformations cardiaques congénitales. Les objectifs de cette relecture étaient : (1) de reclasser un certain nombre d'enfant pour lesquelles les malformations notifiées par les pédiatres de maternité ne correspondaient pas à une réelle anomalie structurelle, et donc considérés comme des cœurs sains par les cardiopédiatres ; (2) de préciser le diagnostic de la malformation et (3) de regrouper les malformations repérées selon une classification ayant un sens sur le plan embryologique et clinique (121).

Fonction myocardique et exposition aux antirétroviraux. Sur le plan fonctionnel, il a été démontré que la toxicité de médicaments reçus in utero peut se traduire plusieurs années après la naissance et occasionner des dysfonctions d'organes (122).

L'impact potentiel sur la fonction myocardique de l'exposition in utero à la zidovudine chez des enfants non infectés a été étudiée à plusieurs reprises, sous plusieurs formes, et parfois avec des résultats contradictoires par une équipe américaine. La première étude comparait la fraction de raccourcissement du ventricule gauche chez l'exposition in utero à la zidovudine versus l'absence d'exposition et concluait à l'absence d'impact sur la fonction myocardique, mais les groupes incluaient des enfants infectés et non infectés par le VIH (123). Dans une deuxième étude, Lipshultz et al ont rapporté une fraction de raccourcissement du ventricule gauche plus élevée à 4 mois chez des enfants nés de mère séropositives, dont un tiers étaient exposés in utero à la zidovudine, par rapport à des enfants nés de mères séronégatives pour le VIH (29).

Les mêmes auteurs ont montré des différences de morphologie et de fonction cardiaque dans une cohorte d'enfants nés de mère séropositives, dont certains seulement étaient également exposés aux antirétroviraux. Ils rapportent une diminution de l'épaisseur du septum interventriculaire, un ventricule gauche plus petit, ainsi qu'une contractilité augmentée et une fraction de raccourcissement plus élevée pour les enfants exposés aux antirétroviraux par rapport aux enfants nés de mères infectées par le VIH mais non exposés aux antirétroviraux, avec des différences persistant jusqu'à l'âge de 2 ans. Il est à noter que dans cette étude les différences étaient plus marquées chez les filles que chez les garçons (27). Enfin dans une étude plus récente, comparant des enfants nés de mère séropositives à des enfants nés de mères séronégatives, ils ne montraient pas de lien entre l'exposition au VIH et des différences de paramètres échographiques, mais mettaient en évidence des différences en fonction des traitements reçus in utero (124).

Toutes ces études observationnelles comportent des biais potentiels, liés à la comparabilité des deux groupes. En effet, le fait de ne pas distinguer les enfants infectés des enfants non-infectés (123) pose un problème car l'infection virale évolutive peut avoir des conséquences sur le muscle cardiaque. Un autre biais possible est la comparaison sur une même période des femmes traitées par antirétroviraux avec celles ne recevant pas de traitement, qui sont très probablement différentes (29). L'étude ayant mis en évidence une différence dans la fonction cardiaque des filles exposées aux antirétroviraux avait tenté de s'affranchir de ce biais en utilisant des témoins historiques, avant l'utilisation généralisée des antirétroviraux (27).

L'objectif de ce travail était d'étudier les associations entre l'exposition périnatale à la zidovudine et les anomalies cardiaques, structurelles ou fonctionnelles.

Population et méthodes

Analyse des malformations cardiaques congénitales dans EPF

Sélection de la population d'étude

La population d'étude a été décrite dans l'étude précédente, portant sur l'ensemble des malformations congénitales dans EPF. Pour cette analyse approfondie des malformations cardiaques, nous avons exclu les patientes pour qui la date de début de traitement pour la zidovudine était inconnue, et avons exclu tous les enfants atteints d'anomalie chromosomique.

Critère de jugement principal : les malformations cardiaques congénitales

Pour l'étude actuelle, les questionnaires de tous les enfants pour qui un diagnostic de malformation cardiaque avait été porté dans l'étude précédente ont été relus par un cardiopédiatre expert en cardiopathies congénitales, et en cas de nécessité de clarification, un monitoring sur site était réalisé. Plusieurs malformations cardiaques ont ainsi été considérées comme non significatives et ces enfants ont été reclassés parmi les non-malades, expliquant ainsi la différence entre le nombre de cas retenu ici ($n=120$) et le nombre de cas de l'étude précédente ($n=182$). Aucun examen complémentaire et notamment aucune échographie cardiaque n'était réalisée spécifiquement en raison de l'étude ou d'une exposition particulière en cours de grossesse. Celles-ci n'étaient réalisées que sur point d'appel clinique (notamment souffle cardiaque constaté par le pédiatre).

Variable d'intérêt principal : les traitements antirétroviraux

Pour étudier spécifiquement l'exposition au premier trimestre à la zidovudine, les catégories d'exposition ont été définies par (1) traitement contenant de la zidovudine reçu au premier trimestre de grossesse, soit entre la conception et 13SA+6 vs (2) pas de traitement par zidovudine reçu au premier trimestre, cette catégorie regroupant donc les patientes n'ayant reçu aucun traitement au premier trimestre et celles ayant reçu des antirétroviraux sans zidovudine.

Stratégie d'analyse

Nous avons décrit la prévalence des malformations cardiaques congénitales, avant et après reclassification, et avons étudié les associations avec l'exposition à la zidovudine par des régressions logistiques univariées et multivariées, incluant dans les modèles multivariés toutes les variables associées en univarié avec $p < 0.20$, ainsi que l'âge maternel et l'usage de drogues intraveineuses, classiquement retrouvés dans la littérature. Nous avons recherché des interactions entre le traitement et le sexe de l'enfant.

Analyse de la fonction cardiaque dans PRIMEVA.

Sélection de la population d'étude

L'essai randomisé PRIMEVA ANRS-135 a été décrit ci-dessus. Dans le cadre de l'évaluation de la tolérance des deux bras de traitement (combinaison de zidovudine/lamivudine et lopinavir/r versus monothérapie de lopinavir/r), et au vu de la littérature, des échographies cardiaques étaient prévues pour tous les enfants nés de mères incluses dans l'essai, à un mois et à un an de vie. L'objectif était de comparer la fonction cardiaque des enfants exposés in utero à une monothérapie d'inhibiteur de protéase par lopinavir/r versus une combinaison de deux inhibiteurs nucléosidiques zidovudine/lamivudine et d'un IP, le lopinavir/r. Tous les enfants ayant eu au moins une échographie cardiaque ont été inclus dans la présente analyse (n=53 dans 12 sites).

Critère de jugement principal : mesures échocardiographiques de la fonction myocardique.

Les échographistes étaient en aveugle du bras de traitement. Les mesures suivantes ont été réalisées sous forme standardisée : masse du ventricule gauche, épaisseur du mur postérieur et du septum interventriculaire, fraction de raccourcissement et fraction d'éjection, diamètre des valves aortiques et pulmonaires, flux mitral diastolique mesuré par Doppler.

Stratégie d'analyse

Les caractéristiques maternelles et néonatales en fonction du bras de traitement et en fonction de la réalisation ou non d'une échographie cardiaque ont été comparées au moyen de tests de Chi2 et de Fisher pour les variables catégorielles et de test de Student ou de Wilcoxon pour les variables quantitatives. Les comparaisons de paramètres échographiques entre les deux bras de traitement ont été réalisées globalement et en stratifiant par sexe. Des régressions linéaires univariées et multivariées ont également été réalisées pour comparer les paramètres échographiques entre les deux groupes de traitement, avec un terme d'interaction entre le sexe et le traitement introduit de manière systématique sur la base de la littérature existante. Les modèles multivariés incluaient comme variable d'ajustement le poids de l'enfant et le taux d'hémoglobine.

Principaux résultats

Analyse des malformations cardiaques congénitales dans EPF

La proportion de malformations cardiaques congénitales dans notre population après relecture de l'ensemble des dossiers était de 0.93% (120/12 888). Le taux était donc plus bas que dans l'étude précédente, car 62 enfants ont été reclassés comme n'ayant pas de pathologie malformative. La plupart de ces enfants avaient un diagnostic de communication inter-auriculaire ayant spontanément régressé.

Parmi les 120 enfants ayant un diagnostic de malformation, la plus fréquemment retrouvée était une communication interventriculaire (n=90, représentant 75% des malformations cardiaques).

L'exposition à la zidovudine au premier trimestre était associée à la présence d'une malformation $ORa = 2.2$ [IC95% 1.5-3.2], après ajustement sur l'âge maternel, l'antécédent de toxicomanie intraveineuse, le nombre de CD4 à l'accouchement, le sexe du nouveau-né et l'année d'accouchement. La prévalence des malformations cardiaques tendait à être plus importante chez les filles que chez les garçons (1.1% vs 0.8%, $p=0.06$), mais il n'y avait pas d'interaction avec le traitement ($p=0.89$).

L'association entre zidovudine et malformation était retrouvée pour les communications interventriculaires ($ORa = 2.4$ [IC95% = 1.4-3.5]), mais aussi pour les pathologies cardiaques après exclusion des CIV et CIA ($ORa = 2.4$ [1.0-5.9]).

Parmi les 120 enfants atteints de malformations cardiaques, 11 ont dû subir une intervention chirurgicale, et 4 sont décédés d'insuffisance cardiaque sans différence significative entre les groupes d'exposition au traitement.

Analyse de la fonction cardiaque dans PRIMEVA.

Parmi les 105 enfants issus de mères incluses dans PRIMEVA, 53 ont bénéficié d'une échographie à l'âge de 1 mois et 42 à l'âge de 1 an.

La comparaison des enfants des deux bras de traitement retrouvait comme seule différence une hémoglobine légèrement plus élevée à l'âge d'un an pour les enfants ayant été exposés à la monothérapie de lopinavir/r.

En comparant globalement les enfants des deux bras de traitement, aucune différence n'était mise en évidence pour les paramètres échographiques. En revanche, en stratifiant sur le sexe, on constatait que les filles exposées au traitement incluant la zidovudine et la lamivudine avait une fraction de raccourcissement plus élevée à un mois et un mur postérieur du ventricule gauche plus épais à un an que les filles exposées uniquement à la monothérapie de lopinavir/r. Aucune différence n'était retrouvée parmi les garçons.

Après ajustement sur le poids de l'enfant et la valeur de l'hémoglobine, la différence restait significative pour la fraction de raccourcissement ($\Delta = -3.61$ [IC95% -6.57 à -0.65] ; $p=0.02$), et approchait la significativité pour l'épaisseur du mur postérieur ($\Delta = -1.13$ [IC95% -2.28 à 0.03] ; $p=0.07$).

Discussion

Malformations cardiaques et exposition à la zidovudine

Résultat principal et contexte

Notre premier résultat est la confirmation d'une association entre exposition à la zidovudine au premier trimestre et risque de malformation cardiaque congénitale. La relecture et classification par un cardiopédiatre expert en malformations congénitales a permis d'exclure les anomalies non structurales du cœur, en majorité des communications inter-auriculaires chez des enfants nés prématurément, correspondant à des persurances du foramen ovale et évoluant vers une résolution spontanée. Après cette analyse et l'exclusion de 62 cas par rapport à notre étude précédente, l'association significative entre malformation cardiaque et exposition à la zidovudine persistait. De plus, la prévalence des malformations cardiaques chez les enfants non exposés à la zidovudine au premier trimestre était proche de celle retrouvée dans une étude en population réalisée dans la région parisienne (EPICARD) (125) : 0.7% [IC 95% 0.6-0.9%] et 0.68 [IC95% 0.67-0.73%], respectivement.

D'autres études antérieures à notre travail avaient déjà évoqué cette relation, mais sans pouvoir l'affirmer en raison de plusieurs limites.

Brogly et al en 2010 (25) a rapporté plus de malformations cardiaques en cas d'exposition à la Zidovudine au premier trimestre, mais pas d'association avec les malformations congénitales dans leur ensemble, car parallèlement il existait une diminution des malformations musculo-squelettiques pour les enfants exposés à la Zidovudine au premier trimestre. Ne pouvant expliquer cet « effet protecteur » en miroir, ils concluaient qu'une confusion résiduelle était probable et émettaient des réserves sur le lien statistique observé entre la molécule et les malformations cardiaques. Watts et al (126) avaient décrit un lien entre les traitements antirétroviraux pris au premier trimestre (dans leur ensemble) et les malformations cardiaques. Ils n'avaient pas pu identifier l'effet d'un ARV en particulier, ni un effet pour une malformation cardiaque en particulier, et concluaient donc à un signal sans affirmer l'existence d'une association.

Mise à jour

Depuis la publication de ce travail, une étude s'est intéressée spécifiquement au risque de malformation cardiaque congénitale chez les enfants exposés à la zidovudine. Cette étude a été réalisée au sein de l'antirétroviral pregnancy registry, décrit ci-dessus, et ne retrouvait pas de différence dans le taux de malformations cardiaques congénitales entre les enfants exposés à la zidovudine au premier trimestre (26 cas pour 4000 enfants, prévalence = 0.65% [IC95% 0.43-0.95] par rapport aux enfants exposés à la zidovudine uniquement au deuxième ou troisième trimestre (52 cas pour 9047 enfants, prévalence = 0.57% [IC95% 0.43-0.75], $p=0.62$). Il n'y avait pas de comparaison entre les enfants exposés au premier trimestre et les enfants non exposés à la zidovudine. On note que dans cette étude, la prévalence globale est inférieure à celle retrouvée dans notre étude, et dans la seule étude en population à ce jour. Ceci est cohérent avec la méthode de recueil des données de l'APR, faite à partir de déclaration des pédiatres de maternité. La puissance d'analyse en est donc diminuée.

Il n'y a pas d'autre étude à ce jour qui se soit intéressée spécifiquement à l'association entre malformation cardiaque et antirétroviraux.

Aucune autre caractéristique maternelle n'était associée de manière significative et indépendante à la présence de malformation cardiaque, mais on notait une tendance à un risque plus élevé chez les patientes âgées de plus de 35 ans (aOR=2.5 [IC95% 0.96-6.4]) par rapport aux patientes âgées de moins de 25 ans. Cette association avec l'âge a déjà été décrite dans la littérature (127).

La prévalence des malformations cardiaques a régulièrement diminué entre 1997-1999 (1.3%) et 2005-2010 (0.7%), une tendance temporelle également décrite en population générale dans une étude européenne (128), mais la recherche d'interaction entre la période et le traitement était négative ($p=0.69$).

Enfin, il y avait une tendance à un risque plus élevé de malformations cardiaques chez les filles par rapport aux garçons dans notre étude (aOR=1.4 [IC95% 0.96-2.1, $p=0.08$]) ce qui n'avait jamais été décrit précédemment, et pourrait être mis en perspective avec les résultats spécifiques sur le sexe retrouvés dans l'étude de la fonction myocardique. Cependant, la recherche d'interaction entre le sexe et l'exposition à la zidovudine pour le risque de malformation congénitale était négative ($p=0.89$).

Forces et limites de notre étude

Pour l'analyse des malformations cardiaques, notre étude présente plusieurs avantages.

Il s'agit de l'étude avec le plus grand effectif ayant une méthodologie prospective, une prise en charge homogène et un suivi des enfants jusqu'à deux ans, et donc de l'étude avec la plus forte puissance à ce jour. La relecture par un cardiopédiatre expert est unique dans la littérature et a permis à la fois d'exclure des pathologies non structurelles pour obtenir un diagnostic plus précis de malformation congénitale mais aussi de classer les groupes de pathologies malformatives afin de pouvoir étudier les associations avec chaque sous-groupe de malformation cardiaque.

Notre étude présente également certaines limites.

L'exposition au premier trimestre à d'autres médicaments, au tabac ou à l'alcool n'était pas recueillie dans EPF et n'a donc pas pu être prise en compte dans l'ajustement réalisé. Cependant, la prescription de zidovudine chez la femme enceinte n'étant en théorie pas liée à ces expositions, l'absence de ces données ne devrait pas être à l'origine de biais de confusion.

La réalisation d'une échographie cardiaque fœtale était prescrite par le pédiatre en charge de l'enfant uniquement en cas de souffle cardiaque et pas pour l'ensemble des enfants nés de mère séropositives. Ceci ne devrait pas être à l'origine d'un biais différentiel de classement car il n'y avait pas d'alerte concernant la zidovudine pendant l'ensemble de la période et les enfants exposés à ce traitement n'auraient donc pas dû bénéficier de plus d'échographie de manière systématique en raison de leur exposition in utero.

Fonction myocardique et exposition à la zidovudine

Résultat principal et contexte

Nous avons pu mettre en évidence dans un essai randomisé une différence dans des paramètres reflétant la fonction myocardique chez des petites filles exposés in utero aux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse pendant le 3^{ème} trimestre de la grossesse par rapport à celles n'ayant pas été exposées à ces traitements. Les différences mises en évidence étaient visibles à l'âge de un mois et à l'âge de 1 an.

L'étude de la fonction myocardique chez les enfants exposés aux antirétroviraux n'avaient jusque-là été décrite que dans des études observationnelles. Nos résultats en accord avec certaines observations de la littérature : fraction de raccourcissement plus élevée et uniquement chez les filles dans la cohorte CHAART-1 (27), épaisseur du mur postérieure plus importantes pour les enfants exposés à la zidovudine (mais au premier trimestre) dans l'étude la plus récente(124). Cependant les résultats des études observationnelles décrites en détail ci-dessus et pourtant toutes réalisées par la même équipe sont souvent contradictoires, ce qui montre la limite des études de cohorte pour cette étude.

Une autre équipe américaine a étudié la fonction myocardique chez des adolescents exposés in utero aux antirétroviraux et n'a pas retrouvé de différence sur la fonction systolique, mais a mis en évidence des flux de remplissage diastoliques plus lents pour les adolescents exposés par rapport aux enfants nés de mères non infectées par le VIH(129).

Les implications cliniques des différences mises en évidence sont incertaines. En effet, dans PRIMEVA, malgré les différences significatives observées, la majorité des paramètres mesurés restaient dans la normale, et aucun enfant n'était atteint d'insuffisance cardiaque.

Le lien entre certains biomarqueurs cardiaques (troponines T, CRP ultra-sensible et le NT-proBNP) et les anomalies échocardiographiques a été étudié chez des enfants exposés aux antirétroviraux in utero. L'élévation de certains de ces marqueurs était significativement corrélée à plusieurs mesures échocardiographiques chez ces enfants : la troponine T avec l'épaisseur des parois myocardiques, les CRP ultrasensibles étaient négativement corrélées à l'épaisseur des parois et à la contractilité du ventricule gauche, et le NT-proBNP était corrélé à au volume ventriculaire gauche. Les auteurs émettent l'hypothèse que le dosage de ces marqueurs pourrait permettre de cibler les enfants plus à risque de dysfonction myocardique liée aux ARV(130).

Mise à jour

Il n'y a pas eu d'étude postérieure à notre travail concernant l'association entre fonction myocardique des enfants exposés et zidovudine in utero.

En revanche, une équipe espagnole a réalisé des échographies cardiaques anténatales pour 42 fœtus de mère HIV+ traitées par ARV et 84 fœtus de mère non infectées par le VIH. Ces échographies étaient réalisées entre 26SA et 32SA et ont montré que les cœurs des enfants exposés à l'infection par le VIH et aux traitements antirétroviraux étaient en moyenne plus gros, avec plus d'épanchements péricardiques, et des parois myocardiques plus épaisses. Dans l'analyse multivariée, seul le traitement par zidovudine reçu par la mère était associé à ces modifications. Ces résultats sont donc tout à fait en accord avec les nôtres et les auteurs concluent que les modifications observées dans la période post-natale commencent probablement dès la grossesse (131).

Forces et limites de notre étude

L'avantage principal de notre étude est la randomisation, qui permet de rendre les groupes comparables et de s'affranchir des biais possibles des études observationnelles publiées précédemment, notamment confusion résiduelle, effets différents en fonction de l'âge gestationnel à l'exposition et doses reçues. De plus, dans l'essai PRIMEVA, les échographies ont toutes été réalisées en aveugle du traitement reçu par la mère.

La limite principale de notre étude est le faible effectif d'enfants ayant eu une échographie. Ceci ne devrait pas être à l'origine de biais de sélection car les caractéristiques des mères et des enfants ne diffèrent pas selon que l'échographie a été réalisée ou non, mais cela limite la puissance de l'étude, notamment pour pouvoir affirmer l'absence d'effet chez les garçons.

Mécanisme physiopathologique

Le mécanisme potentiellement commun aux malformations associées à l'exposition au premier trimestre, et aux anomalies fonctionnelles associées à une exposition plus tardive n'est pas encore élucidé. La piste de la toxicité mitochondriale des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, et notamment de la zidovudine semble la plus probable. En effet, plusieurs arguments vont dans ce sens.

La toxicité cardiaque de la zidovudine au long cours pour les adultes et les enfants infectés par le VIH a été démontrée, et attribuée à une toxicité mitochondriale de cette molécule (132).

Concernant les malformations cardiaques, et particulièrement les communications inter-ventriculaires, plusieurs cas dans la littérature ont été associés à des pathologies mitochondriales diagnostiquées chez l'enfant (133), et des recherches génétiques sont en cours pour déterminer s'il existe un lien entre mutations mitochondrial et survenue de cardiopathies congénitales (134,135). Or la toxicité mitochondriale des INTI lors des expositions in utero a été démontrée à de nombreuses reprises, même chez des enfants non infectés par le VIH (136,137).

Concernant la fonction myocardique, des études animales avaient trouvé des résultats en cohérence avec les études cliniques rapportées ci-dessus et avaient tenté d'explorer le mécanisme physiopathologique sous-jacent. Dans un modèle murin d'exposition à la zidovudine ou à la lamivudine in utero, des anomalies des mitochondries étaient mises en évidence dans les cellules myocardiques, et des anomalies biochimiques évoquaient une dysfonction mitochondriale. Après la naissance, les échographies réalisées chez les souris montraient un amincissement de la paroi postérieure du ventricule gauche, qui persistait 26 semaines après la naissance (138,139). Ces anomalies étaient uniquement observées pour les souris de sexe féminin (140). Dans un modèle simien, un an après la naissance, des dysfonctions ultrastructurelles et biochimiques persistaient également (141).

La sensibilité particulière des individus de sexe féminin à la toxicité des ARV est comparable à la toxicité des anthracyclines, qui est justement médiée par la dysfonction mitochondriale et proportionnelle à la dose cumulée reçue (142). Les conséquences cardiaques des anthracyclines persistent de nombreuses années avec un impact important sur la qualité de vie (143).

D'autres hypothèses pouvant expliquer des différences échographiques, comme une inflammation chronique du myocarde, ont été évoquées par certains auteurs et nécessitent plus d'explorations (124).

Conclusion

Notre étude a mis en évidence une association significative entre exposition au premier trimestre à la zidovudine et le risque de malformations cardiaques congénitales. Elle a également permis de confirmer au sein d'un essai randomisé l'existence d'une dysfonction myocardique déjà décrite dans la littérature chez les enfants nés de mères infectées par le VIH, exposés aux antirétroviraux et eux-même non infectés.

Dans notre population, les conséquences cliniques étaient modérées, sans différence en termes d'intervention chirurgicale et de décès par insuffisance cardiaque selon l'exposition à la zidovudine pour les malformations cardiaques, et sans résultat échocardiographique pathologique observé parmi les enfants de l'essai PRIMEVA.

Ces résultats ne remettent pas en question l'intérêt majeur des traitements antirétroviraux dans la prévention de la transmission mère-enfant, mais ils soulignent le fait que certains antirétroviraux peuvent avoir une toxicité in utero plus importante que d'autres.

La tendance actuelle est à une diminution de la prescription de zidovudine chez l'ensemble des patients vivant avec le VIH et donc également pour les femmes en âge de procréer. Mais cette molécule a longtemps été prescrite en première intention, et l'exposition in utero concerne donc actuellement de très nombreux enfants et jeunes adultes. La poursuite des recherches concernant l'effet à moyen et long terme de cette molécule sur le myocarde est donc nécessaire.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Prématurité et VIH

Nos travaux dans la cohorte EPF et dans la cohorte unicentrique de l'hôpital Montefiore ont permis d'apporter plusieurs réponses au problème du taux élevé de prématurité chez les femmes infectées par le VIH qui est constaté dans l'ensemble des pays où ceci a été étudié.

Les traitements par multithérapies sont associés à plus de prématurité que les traitements donnés antérieurement (monothérapies et bithérapies d'INTI), cependant la littérature nous montre que le bénéfice dépasse de loin le risque, car la diminution de la transmission mère-enfant du virus est bien plus efficace avec les multithérapies par rapport aux monothérapies et bithérapies d'INTI.

La question est alors de savoir, au sein des multithérapies, lesquelles sont associées à un moindre risque de prématurité. Nous avons mis en évidence un risque moins élevé pour les IP non boostés, notamment le nelfinavir. Cependant cette molécule n'est aujourd'hui plus prescrite, en raison de sa moindre efficacité antirétrovirale et de ces contraintes de prises (très grand nombre de comprimés quotidiens). Le risque plus élevé de prématurité pour les IP boostés et notamment le lopinavir/r pourrait être expliqué par une augmentation de certaines pathologies gravidiques (diabète, pré-éclampsie, retard de croissance intra-utérin), qui peuvent entraîner une prématurité induite.

Une étude plus large étendue également aux patientes déjà traitées à la conception doit être menée prochainement dans la cohorte EPF.

Une augmentation du taux de cytolyses hépatiques a également été observée, pour les IP par rapport aux INNTI chez les patientes déjà traitées à la conception, et pour le lopinavir/r par rapport au nelfinavir chez les patientes initiant un traitement en cours de grossesse. Dans les deux groupes de patientes, la cytolysé était fortement associée à la prématurité, et ce même après avoir exclu les pathologies susceptibles d'entraîner une prématurité induite que sont la cholestase gravidique et la pré-éclampsie. Ce résultat suggère que la cytolysé hépatique pourrait être un marqueur intermédiaire entre les traitements et la prématurité. Il souligne également la moindre toxicité des INNTI dans le groupe de patientes déjà traitées au moment de la conception. Ces traitements sont peu donnés en France, mais il est intéressant d'évaluer de manière plus approfondie les issues de grossesses chez les patientes traitées par INNTI par rapport aux traitements par IP.

Cette étude sera menée dans la cohorte américaine, après ajout des données d'un deuxième centre qui sont en cours de recueil.

Une étude sur l'évolution des cytolyses dans le post-partum chez les femmes infectées par le VIH a été menée sur 3 centres dans le cadre d'une thèse de médecine que j'ai dirigée. Elle est actuellement en cours d'analyses complémentaires.

Concernant le rôle potentiel de la progestérone, une étude est en cours de demande de financement et porte sur trois populations de la cohorte EPF : une population historique de patientes incluses entre 1990 et 2002 pour lesquelles une sérothèque a été conservée, permettant de comparer des patientes non traitées, sous monothérapie d'INTI, bithérapie d'INTI ou cART, la populations de femmes incluses dans l'essai PRIMEVA, permettant de comparer des patientes recevant ou non des INTI associés dans tous les cas au lopinavir/r et les patientes incluses dans l'essai prospectif Monogest, pour lesquelles un changement de traitement pour une monothérapie d'IP par darunavir/r est proposé. Des dosages de progestérone mais aussi de ses métabolites sont prévus, afin de comprendre comment les traitements interviennent sur la synthèse et le métabolisme des stéroïdes de la grossesse.

Enfin la recherche sur le rôle des traitements ne doit pas faire oublier le rôle majeur des autres facteurs de risque, notamment dans la population fragile des femmes infectées par le VIH. Alors que le taux de prématurité est particulièrement élevé chez ces patientes, les soignants doivent penser à la prise en charge des facteurs de risque modifiables, notamment le tabagisme, mais aussi l'accompagnement psychologique et l'aide sociale.

La comparaison de patientes infectées et non infectées par le VIH avec informations détaillées sur les facteurs psycho-sociaux est prévue dans une population française, en tant que sous-étude de la cohorte PRECARE.

Malformations congénitales

Notre étude a mis en évidence une association significative et robuste entre malformation cardiaque congénitale et exposition au premier trimestre par la zidovudine. La zidovudine est actuellement de moins en moins utilisée, que ce soit dans les pays du Nord, et notamment dans EPF (Fig 2.3) ou dans les pays du Sud où l'option B+ recommandée par l'OMS suggère en première intention une association contenant comme INTI le tenofovir et l'emtricitabine.

Notre étude n'a pas permis de rassurer sur le caractère tératogène de l'efavirenz, sujet à controverse depuis sa mise sur le marché en 1998. Même si le lien causal entre les malformations neurologiques observées et l'exposition au premier trimestre à l'efavirenz n'a pas pu être affirmé, cette molécule reste déconseillée au premier trimestre dans les recommandations françaises. Cela n'est cependant pas le cas dans les pays anglo-saxons, ni dans les recommandations de l'OMS. Le traitement par efavirenz est en train de se généraliser en Afrique sub-saharienne. Des réseaux de surveillance épidémiologiques ont été mis en place, mais ne résolvent pas tous les problèmes, car beaucoup de malformations neurologiques ne sont accessibles au diagnostic que par une imagerie qui n'est pas disponible en routine dans les pays à forte prévalence du VIH. Il y a une responsabilité internationale à rester vigilant sur ce sujet et à la mise en évidence de tout effet indésirable survenant chez les jeunes enfants et potentiellement imputable aux traitements reçus in utero. Les modalités de cette vigilance restent à déterminer.

Toxicité cardiaque et zidovudine

Nous avons enfin mis en évidence des modifications de la fonction myocardique chez les petites filles exposées à la zidovudine in utero, modifications persistant à l'âge de un an. Ces modifications n'avaient pas de caractère pathologique et étaient dans notre population sans retentissement sur la qualité de vie de ces enfants. De plus, ainsi que noté ci-dessus, la zidovudine a vocation à être de moins en moins prescrite. Cependant, cette constatation pose la question plus large des conséquences possibles à long terme sur des enfants non infectés par le VIH et donc en bonne santé, pas toujours régulièrement suivis par un pédiatre, et qui pour une grande proportion d'entre eux ignorent le statut VIH de leur mère et donc leur exposition à des traitements in utero. D'autres équipes ayant montré que ces dysfonctions pouvaient persister jusqu'à l'adolescence au moins, il semble justifié de poursuivre la surveillance de ces enfants.

Une étude a donc été montée dans cet objectif pour pouvoir recueillir des informations sur les enfants de plus de 2 ans des mères incluses dans EPF, il s'agit de l'étude DEVENIR. L'objectif est de pouvoir donner la meilleure information possible aux enfants exposés non infectés, et si possible de pouvoir les rassurer.

Conclusion

Le développement des stratégies de prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant fait partie des succès spectaculaires de la médecine moderne, au point que l'on parle désormais de « l'élimination du VIH pédiatrique ».

Désormais, l'enjeu majeur de la recherche dans ce domaine est de pouvoir identifier les traitements ayant le moins d'effets indésirables pour la mère, pour le nouveau-né et même pour toute la vie de l'enfant exposé non infecté.

Au-delà des problèmes posés par la prématurité et les malformations, ce sont les conséquences sur l'ensemble de la grossesse qui doivent être étudiées, avec la généralisation des traitements : les fausses couches spontanées, les morts fœtales in utero, toutes les pathologies survenant en cours de grossesse et nécessitant une hospitalisation ou non, et même la prise en charge obstétricale. Les conséquences potentielles sur le nouveau-né à court et long terme doivent aussi être étudiées.

Les difficultés sont nombreuses, pour étudier des événements qui peuvent être mal recensés (fausses couches spontanées précoces), ou qui sont rares et nécessitent des cohortes de grande taille (morts fœtales in utero, malformations). Cependant, c'est au sein de cohortes telles qu'EPF, recueillant de manière systématisée des données prospectives à l'échelle nationale, qu'il est possible d'établir une surveillance épidémiologique indispensable, pour les mères, et aussi pour les enfants exposés non infectés.

L'étude des mécanismes physiopathologiques des effets secondaires observés doit être poursuivie, afin de pouvoir mieux expliquer les associations observées dans les études épidémiologiques.

Enfin, l'observation rapprochée des effets des nouvelles molécules, peu connues pendant la grossesse, est nécessaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Teglas JP, Faye A, Dollfus C, et al. Transmission mère-enfant du VIH en France : l'impact majeur des stratégies de prévention. Résultats de l'Enquête périnatale française ANRS-EPF. BEH. 2008;14:98–101.
2. Mandelbrot L, Landreau-Mascaro A, Rekacewicz C, Berrebi A, Benifla JL, Burgard M, et al. Lamivudine-zidovudine combination for prevention of maternal-infant transmission of HIV-1. *Jama*. 2001;285(16):2083–93.
3. Delfraissy JF. Prise en charge thérapeutique des personnes infectées par le VIH. Rapport 2004. Recommandations du groupe d'expert. . Flammarion M-S, editor. 2004.
4. Morlat P. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Actualisation 2015 du rapport 2013.
5. Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;29(5):484–94.
6. Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Blanche S, Teglas JP, Dollfus C, et al. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *Aids*. 2008;22(2):289–99.
7. EuropeanCollaborativeStudy. Mother-to-Child Transmission of HIV Infection in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clin Infect Dis*. 2005;40:458–65.
8. Mofenson LM. Protecting the Next Generation — Eliminating Perinatal HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2010 Jun 17;362(24):2316–8.
9. Siegfried N, van der Merwe L, Brocklehurst P, Sint TT. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. In: Siegfried N, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2011. p. CD003510.
10. Townsend CL, Byrne L, Cortina-Borja M, Thorne C, de Ruiter A, Lyall H, et al. Earlier initiation of ART and further decline in mother-to-child HIV transmission rates, 2000-2011. *AIDS*. 2014 Apr 24;28(7):1049–57.
11. Mandelbrot L, Tubiana R, Le Chenadec J, Dollfus C, Faye A, Pannier E, et al. No Perinatal HIV-1 Transmission From Women With Effective Antiretroviral Therapy Starting Before Conception. *Clin Infect Dis*. 2015 Dec 1;61(11):1715–25.
12. Mofenson LM. Antiretroviral Therapy and Adverse Pregnancy Outcome: The Elephant in the Room? *J Infect Dis*. 2016 Apr 1;213(7):1051–4.
13. Else LJ, Taylor S, Back DJ, Khoo SH. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the fetal compartment (placenta and amniotic fluid). *Antivir Ther*. 2011 Jan;16(8):1139–47.
14. McCormick MC. The Contribution of Low Birth Weight to Infant Mortality and Childhood Morbidity. *N Engl J Med*. 1985 Jan 10;312(2):82–90.
15. Kramer MS, Demissie K, Yang H, Platt RW, Sauvé R, Liston R. The contribution of mild and moderate preterm birth to infant mortality. Fetal and Infant Health Study Group of the Canadian Perinatal Surveillance System. *JAMA*. 2000 Aug 16;284(7):843–9.
16. Cotter AM, Garcia AG, Duthely ML, Luke B, O'Sullivan MJ. Is antiretroviral therapy during pregnancy associated with an increased risk of preterm delivery, low birth weight, or stillbirth? *J Infect Dis*. 2006;193(9):1195–201.

17. Patel K, Shapiro DE, Brogly SB, Livingston EG, Stek AM, Bardeguez AD, et al. Prenatal protease inhibitor use and risk of preterm birth among HIV-infected women initiating antiretroviral drugs during pregnancy. *J Infect Dis.* 2010;201(7):1035–44.
18. Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and premature delivery in diagnosed HIV-infected women in the United Kingdom and Ireland. *Aids.* 2007;21(8):1019–26.
19. Foix-L'Hélias L, Ancel P-Y, Blondel B. Facteurs de risque de prématurité en France et comparaisons entre prématurité spontanée et prématurité induite. Résultats de l'enquête nationale périnatale de 1995. . *J Gynecol Obs Biol Reprod.* 2000;29(1):55–65.
20. Blondel B, Supernant K, Mazaubrun C, Bréart G. Enquête nationale Périnatale. Situation en 2003 et évolution depuis 1998. . 2005.
21. Blondel B, Kermarrec M. Enquête nationale périnatale 2010. Les naissances en 2010 et leur évolution depuis 2003. 2010.
22. Lorenzi P, Spicher VM, Laubereau B, Hirschel B, Kind C, Rudin C, et al. Antiretroviral therapies in pregnancy: maternal, fetal and neonatal effects. Swiss HIV Cohort Study, the Swiss Collaborative HIV and Pregnancy Study, and the Swiss Neonatal HIV Study. *Aids.* 1998;12(18):F241-7.
23. Cadman J. Efavirenz pregnancy warning. *GMHC Treat Issues.* 1998;12(3):12.
24. Bristol-MyersSquibbCompany. SUSTIVA® (efavirenz) capsules and tablets leaflet. accessed July 6th, 2013. <http://www>.
25. Brogly SB, Abzug MJ, Watts DH, Cunningham CK, Williams PL, Oleske J, et al. Birth defects among children born to human immunodeficiency virus-infected women: pediatric AIDS clinical trials protocols 219 and 219C. *Pediatr Infect Dis J.* 2010;29(8):721–7.
26. Watts DH, Huang S, Culnane M, Kaiser KA, Scheuerle A, Mofenson L, et al. Birth defects among a cohort of infants born to HIV-infected women on antiretroviral medication. *J Perinat Med.* 2011;39(2):163–70.
27. Lipshultz SE, Shearer WT, Thompson B, Rich KC, Cheng I, Orav EJ, et al. Cardiac effects of antiretroviral therapy in HIV-negative infants born to HIV-positive mothers: NHLBI CHAART-1 (National Heart, Lung, and Blood Institute Cardiovascular Status of HAART Therapy in HIV-Exposed Infants and Children cohort study). *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(1):76–85.
28. Tubiana R, Mandelbrot L, Le Chenadec J, Delmas S, Rouzioux C, Hirt D, et al. Lopinavir/ritonavir monotherapy as a nucleoside analogue-sparing strategy to prevent HIV-1 mother-to-child transmission: the ANRS 135 PRIMEVA phase 2/3 randomized trial. *Clin Infect Dis.* 2013 Sep;57(6):891–902.
29. Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, Kaplan S, Starc TJ, Bricker JT, et al. Cardiovascular status of infants and children of women infected with HIV-1 (P(2)C(2) HIV): a cohort study. *Lancet.* 2002;360(9330):368–73.
30. Tuomala RE, Shapiro DE, Mofenson LM, Bryson Y, Culnane M, Hughes MD, et al. Antiretroviral therapy during pregnancy and the risk of an adverse outcome. *N Engl J Med.* 2002;346(24):1863–70.
31. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371(9606):75–84.
32. Szyld EG, Warley EM, Freimanis L, Gonin R, Cahn PE, Calvet GA, et al. Maternal antiretroviral drugs during pregnancy and infant low birth weight and preterm birth. *Aids.* 2006;20(18):2345–53.

33. Fiore S, Newell ML, Trabattoni D, Thorne C, Gray L, Savasi V, et al. Antiretroviral therapy-associated modulation of Th1 and Th2 immune responses in HIV-infected pregnant women. *J Reprod Immunol*. 2006;70(1–2):143–50.
34. Prunet C, Delnord M, Saurel-Cubizolles M-J, Goffinet F, Blondel B. Risk factors of preterm birth in France in 2010 and changes since 1995: Results from the French National Perinatal Surveys. *J Gynécologie Obs Biol la Reprod*. 2016 Apr 5;
35. Center for Disease Control. From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Jama*. 1993;269(6):729–30.
36. Ouyang DW, Shapiro DE, Lu M, Brogly SB, French AL, Leighty RM, et al. Increased risk of hepatotoxicity in HIV-infected pregnant women receiving antiretroviral therapy independent of nevirapine exposure. *AIDS*. 2009 Nov 27;23(18):2425–30.
37. Huntington S, Thorne C, Newell M-L, Anderson J, Taylor GP, Pillay D, et al. Pregnancy is associated with elevation of liver enzymes in HIV-positive women on antiretroviral therapy. *AIDS*. 2015 Feb 23;
38. Tuomala RE, Watts DH, Li D, Vajaranant M, Pitt J, Hammill H, et al. Improved obstetric outcomes and few maternal toxicities are associated with antiretroviral therapy, including highly active antiretroviral therapy during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005 Apr 1;38(4):449–73.
39. Bottomley C, Bourne T. Management strategies for hyperemesis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009 Aug;23(4):549–64.
40. Verberg MFG, Gillott DJ, Al-Fardan N, Grudzinskas JG. Hyperemesis gravidarum, a literature review. *Hum Reprod Update*. 2005 Aug 2;11(5):527–39.
41. Roger D, Vaillant L, Fignon A, Pierre F, Bacq Y, Brechot JF, et al. Specific pruritic diseases of pregnancy. A prospective study of 3192 pregnant women. *Arch Dermatol*. 1994 Jun;130(6):734–9.
42. Reyes H, Sjövall J. Bile acids and progesterone metabolites in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Ann Med*. 2000 Mar;32(2):94–106.
43. Trauner M, Fickert P, Wagner M. *MDR3 (ABCB4)* Defects: A Paradigm for the Genetics of Adult Cholestatic Syndromes. *Semin Liver Dis*. 2007 Feb;27(1):077–98.
44. Bacq Y, Sapey T, Brechot M, Pierre F, Fignon A, Dubois F. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: A French prospective study. *Hepatology*. 1997 Aug;26(2):358–64.
45. Ronsmans C, Graham WJ, Lancet Maternal Survival Series steering group. Maternal mortality: who, when, where, and why. *Lancet*. 2006 Sep 30;368(9542):1189–200.
46. Barton JR, Sibai BM. Diagnosis and management of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Clin Perinatol*. 2004 Dec;31(4):807–33.
47. Hitti J, Frenkel LM, Stek AM, Nachman SA, Baker D, Gonzalez-Garcia A, et al. Maternal toxicity with continuous nevirapine in pregnancy: results from PACTG 1022. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004 Jul 1;36(3):772–6.
48. Lyons F, Hopkins S, Kelleher B, McGeary A, Sheehan G, Geoghegan J, et al. Maternal hepatotoxicity with nevirapine as part of combination antiretroviral therapy in pregnancy. *HIV Med*. 2006 May;7(4):255–60.
49. Marazzi MC, Germano P, Liotta G, Guidotti G, Loureiro S, da Cruz Gomes A, et al. Safety of nevirapine-containing antiretroviral triple therapy regimens to prevent vertical transmission in an African cohort of HIV-1-infected pregnant women. *HIV Med*. 2006 Jul;7(5):338–44.
50. Joy S, Poi M, Hughes L, Brady MT, Koletar SL, Para MF, et al. Third-trimester maternal toxicity with nevirapine use in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2005 Nov;106(5 Pt 1):1032–8.

51. McKoy JM, Bennett CL, Scheetz MH, Differding V, Chandler KL, Scarsi KK, et al. Hepatotoxicity associated with long- versus short-course HIV-prophylactic nevirapine use: a systematic review and meta-analysis from the Research on Adverse Drug events And Reports (RADAR) project. *Drug Saf.* 2009;32(2):147–58.
52. Ouyang DW, Brogly SB, Lu M, Shapiro DE, Hershow RC, French AL, et al. Lack of increased hepatotoxicity in HIV-infected pregnant women receiving nevirapine compared with other antiretrovirals. *AIDS.* 2010 Jan 2;24(1):109–14.
53. Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. Nevirapine and Hepatic/Rash Toxicity.
54. AIDS Clinical Trials Group. Table of grading severity of adult adverse experiences. Rockville, MD : Division of AIDS, National Institute of Allergy and Infectious Disease, Bethesda; 1996.
55. Azria E, Moutafoff C, Schmitz T, Le Meaux JP, Krivine A, Pannier E, et al. Pregnancy outcomes in women with HIV type-1 receiving a lopinavir/ritonavir-containing regimen. *Antivir Ther.* 2009;14(3):423–32.
56. Germany L, Saurel-Cubizolles M-J, Ehlinger V, Napoletano A, Alberge C, Guyard-Boileau B, et al. Social context of preterm delivery in France in 2011 and impact on short-term health outcomes: the EPIPAGE 2 cohort study. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2015 May;29(3):184–95.
57. Bonet M, Smith LK, Pilkington H, Draper ES, Zeitlin J. Neighbourhood deprivation and very preterm birth in an English and French cohort. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2013 Apr 25;13(1):97.
58. Zeitlin J, Combier E, Levailant M, Lasbeur L, Pilkington H, Charreire H, et al. Neighbourhood socio-economic characteristics and the risk of preterm birth for migrant and non-migrant women: a study in a French district. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2011 Jul;25(4):347–56.
59. Dahlin S, Gunnerbeck A, Wikström A-K, Cnattingius S, Edstedt Bonamy A-K. Maternal tobacco use and extremely premature birth - a population-based cohort study. *BJOG.* 2016 Nov;123(12):1938–46.
60. Smith LK, Draper ES, Evans TA, Field DJ, Johnson SJ, Manktelow BN, et al. Associations between late and moderately preterm birth and smoking, alcohol, drug use and diet: a population-based case-cohort study. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* 2015 Nov;100(6):F486–91.
61. Dew PC, Guillory VJ, Okah FA, Cai J, Hoff GL. The effect of health compromising behaviors on preterm births. *Matern Child Health J.* 2007 May 28;11(3):227–33.
62. Burguet A, Kaminski M, Abraham-Lerat L, Schaal J-P, Cambonie G, Fresson J, et al. The complex relationship between smoking in pregnancy and very preterm delivery. Results of the EpiPAGE study. *BJOG.* 2004 Mar;111(3):258–65.
63. Liu C, Cnattingius S, Bergström M, Östberg V, Hjern A. Prenatal parental depression and preterm birth: a national cohort study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2016 Nov;123(12):1973–82.
64. Dayan J, Creveuil C, Marks MN, Conroy S, Herlicoviez M, Dreyfus M, et al. Prenatal Depression, Prenatal Anxiety, and Spontaneous Preterm Birth: A Prospective Cohort Study Among Women With Early and Regular Care. *Psychosom Med.* 2006 Nov;68(6):938–46.

65. Donovan B, Spracklen C, Schweizer M, Ryckman K, Saftlas A. Intimate partner violence during pregnancy and the risk for adverse infant outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2016 Jul;123(8):1289–99.
66. Zack RM, Golan J, Aboud S, Msamanga G, Spiegelman D, Fawzi W. Risk Factors for Preterm Birth among HIV-Infected Tanzanian Women: A Prospective Study. *Obstet Gynecol Int*. 2014;2014:261689.
67. van der Merwe K, Hoffman R, Black V, Chersich M, Coovadia A, Rees H. Birth outcomes in South African women receiving highly active antiretroviral therapy: a retrospective observational study. *J Int AIDS Soc*. 2011 Aug 15;14(1):42.
68. Pinto SM, Dodd S, Walkinshaw SA, Siney C, Kakkar P, Mousa HA. Substance abuse during pregnancy: effect on pregnancy outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010 Jun;150(2):137–41.
69. Thorne C, Patel D, Newell ML. Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HIV-infected women treated with highly active antiretroviral therapy in Europe. *Aids*. 2004;18(17):2337–9.
70. Grosch-Woerner I, Puch K, Maier RF, Niehues T, Notheis G, Patel D, et al. Increased rate of prematurity associated with antenatal antiretroviral therapy in a German/Austrian cohort of HIV-1-infected women. *HIV Med*. 2008;9(1):6–13.
71. Rudin C, Spaenhauer A, Keiser O, Rickenbach M, Kind C, Aebi-Popp K, et al. Antiretroviral therapy during pregnancy and premature birth: analysis of Swiss data. *HIV Med*. 2011;12(4):228–35.
72. Kourtis AP, Schmid CH, Jamieson DJ, Lau J. Use of antiretroviral therapy in pregnant HIV-infected women and the risk of premature delivery: a meta-analysis. *Aids*. 2007;21(5):607–15.
73. Short C-E, Douglas M, Smith J, Taylor G. Preterm delivery risk in women initiating antiretroviral therapy to prevent HIV mother-to-child transmission. *HIV Med*. 2014 Apr;15(4):233–8.
74. Li N, Sando MM, Spiegelman D, Hertzmark E, Liu E, Sando D, et al. Antiretroviral Therapy in Relation to Birth Outcomes among HIV-infected Women: A Cohort Study. *J Infect Dis*. 2016 Apr 1;213(7):1057–64.
75. Mesfin YM, Kibret KT, Taye A. Is protease inhibitors based antiretroviral therapy during pregnancy associated with an increased risk of preterm birth? Systematic review and a meta-analysis. *Reprod Health*. 2016;13:30.
76. Powis KM, Kitch D, Ogwu A, Hughes MD, Lockman S, Leidner J, et al. Increased risk of preterm delivery among HIV-infected women randomized to protease versus nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based HAART during pregnancy. *J Infect Dis*. 2011;204(4):506–14.
77. Koss CA, Natureeba P, Plenty A, Luwedde F, Mwesigwa J, Ades V, et al. Risk factors for preterm birth among HIV-infected pregnant Ugandan women randomized to lopinavir/ritonavir- or efavirenz-based antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014 Oct 1;67(2):128–35.
78. Yanovski JA, Miller KD, Kino T, Friedman TC, Chrousos GP, Tsigos C, et al. Endocrine and metabolic evaluation of human immunodeficiency virus-infected patients with evidence of protease inhibitor-associated lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(6):1925–31.
79. Simon A, Warszawski J, Kariyawasam D, Le Chenadec J, Benhammou V, Czernichow P, et al. Association of prenatal and postnatal exposure to lopinavir-ritonavir and adrenal dysfunction among uninfected infants of HIV-infected mothers. *Jama*. 2011;306(1):70–8.

80. Hitti J, Andersen J, McComsey G, Liu T, Melvin A, Smith L, et al. Protease inhibitor-based antiretroviral therapy and glucose tolerance in pregnancy: AIDS Clinical Trials Group A5084. *Am J Obs Gynecol*. 2007 Apr;196(4):331 e1-7.
81. Watts DH, Balasubramanian R, Maupin Jr. RT, Delke I, Dorenbaum A, Fiore S, et al. Maternal toxicity and pregnancy complications in human immunodeficiency virus-infected women receiving antiretroviral therapy: PACTG 316. *Am J Obs Gynecol*. 2004;190(2):506–16.
82. Wimalasundera RC, Larbalestier N, Smith JH, de Ruiter A, McG Thom SA, Hughes AD, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *Lancet*. 2002 Oct 12;360(9340):1152–4.
83. Suy A, Martínez E, Coll O, Lonca M, Palacio M, de Lazzari E, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. *Aids*. 2006 Jan 2;20(1):59–66.
84. Papp E, Mohammadi H, Loutfy MR, Yudin MH, Murphy KE, Walmsley SL, et al. HIV protease inhibitor use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. *J Infect Dis*. 2015 Jan 1;211(1):10–8.
85. Bacq Y, Zarka O, Bréchet JF, Mariotte N, Vol S, Tichet J, et al. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology*. 1996 May;23(5):1030–4.
86. Joshi D, James A, Quaglia A, Westbrook RH, Heneghan MA. Liver disease in pregnancy. *Lancet (London, England)*. 2010 Feb 13;375(9714):594–605.
87. Al-Kuran O, Al-Mehaisen L, Beitawi S, Amarín ZO. Validation of reportable indices of haematology, liver and renal function in pregnancy for the Middle Eastern population. *J Obstet Gynaecol*. 2012 Oct;32(7):639–42.
88. Walker I Al, Nelson-Piercy C, Williamson C. Role of bile acid measurement in pregnancy. *Ann Clin Biochem*. 2002 Mar;39(Pt 2):105–13.
89. Moore M, Nelson-Piercy C. Pregnancy and the liver. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2011 Nov;72(11):M170-3.
90. Núñez M, Lana R, Mendoza JL, Martín-Carbonero L, Soriano V. Risk factors for severe hepatic injury after introduction of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001 Aug 15;27(5):426–31.
91. De Luca A, Cozzi-Lepri A, Antinori A, Zaccarelli M, Bongiovanni M, Di Giambenedetto S, et al. Lopinavir/ritonavir or efavirenz plus two nucleoside analogues as first-line antiretroviral therapy: a non-randomized comparison. *Antivir Ther*. 2006;11(5):609–18.
92. World Health Organization. Antiretroviral drugs for treating pregnant women and preventing HIV infection in infants. Recommendations for a public health approach. 2010;
93. Núñez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. *J Hepatol*. 2006;44(1 Suppl):S132-9.
94. Else LJ, Douglas M, Dickinson L, Back DJ, Khoo SH, Taylor GP. Improved oral bioavailability of lopinavir in melt-extruded tablet formulation reduces impact of third trimester on lopinavir plasma concentrations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Feb;56(2):816–24.
95. Ivanovic J, Bellagamba R, Nicastri E, Signore F, Vallone C, Tempestilli M, et al. Use of darunavir/ritonavir once daily in treatment-naïve pregnant woman: pharmacokinetics, compartmental exposure, efficacy and safety. *AIDS*. 2010 Apr 24;24(7):1083–4.
96. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med*. 2003 Jul 31;349(5):474–85.

97. Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, Zingg HH. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature*. 1998 Apr 2;392(6675):509–12.
98. Astle S, Slater DM, Thornton S. The involvement of progesterone in the onset of human labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003 Jun 10;108(2):177–81.
99. Organisation Mondiale de la Santé. Malformations congénitales. Rapport du secrétariat. . 2010.
100. Organisation Mondiale de la Santé. The global burden of disease. 2004 update. . 2008.
101. Khoshnood B, Cadot E, Vodovar V, Goffinet F. Le Registre des malformations de Paris : un outil pour la surveillance des malformations et l'évaluation de leur prise en charge. *Bull épidémiologique Hebd*. 2008;28–29:250–3.
102. Jentink J, Loane MA, Dolk H, Barisic I, Garne E, Morris JK, et al. Valproic acid monotherapy in pregnancy and major congenital malformations. *N Engl J Med*. 2010;362(23):2185–93.
103. EUROCAT. EUROCAT Guide 1.3 and reference documents. Instructions for the Registration and Surveillance of Congenital Anomalies. 2005.
104. Antiretroviral Pregnancy Registry Steering Committee. Antiretroviral Pregnancy Registry International Interim Report for 1 January 1989 through 31 January 2012. 2012.
105. Knapp KM, Brogly SB, Muenz DG, Spiegel HM, Conway DH, Scott GB, et al. Prevalence of congenital anomalies in infants with in utero exposure to antiretrovirals. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(2):164–70.
106. Ford N, Calmy A, Mofenson L. Safety of efavirenz in the first trimester of pregnancy: an updated systematic review and meta-analysis. *Aids*. 2011;25(18):2301–4.
107. EUROCAT. Coding of EUROCAT Subgroups of Congenital Anomalies (Version 2012). 2012.
108. MACDP. Birth Defects and Genetic Diseases Branch 6-digit code for Reportable Congenital Anomalies. 2007.
109. Fundaro C, Genovese O, Rendeli C, Tamburrini E, Salvaggio E. Myelomeningocele in a child with intrauterine exposure to efavirenz. *Aids*. 2002;16(2):299–300.
110. Saitoh A, Hull AD, Franklin P, Spector SA. Myelomeningocele in an infant with intrauterine exposure to efavirenz. *J Perinatol*. 2005;25(8):555–6.
111. Ford N, Mofenson L, Shubber Z, Calmy A, Andrieux-Meyer I, Vitoria M, et al. Safety of efavirenz in the first trimester of pregnancy: an updated systematic review and meta-analysis. *AIDS*. 2014 Mar;28 Suppl 2:S123–31.
112. Antiretroviral Pregnancy Registry. Antiretroviral Pregnancy Registry International Interim Report for 1 January 1989 through 31 January 2016. 2016;
113. Williams PL, Crain MJ, Yildirim C, Hazra R, Van Dyke RB, Rich K, et al. Congenital Anomalies and In Utero Antiretroviral Exposure in Human Immunodeficiency Virus–Exposed Uninfected Infants. *JAMA Pediatr*. 2015 Jan 1;169(1):48.
114. Floridia M, Mastroiacovo P, Tamburrini E, Tibaldi C, Todros T, Crepaldi A, et al. Birth defects in a national cohort of pregnant women with HIV infection in Italy, 2001–2011. *Bjog*.
115. Bisio F, Nicco E, Calzi A, Giacobbe DR, Mesini A, Banguissa H, et al. Pregnancy outcomes following exposure to efavirenz-based antiretroviral therapy in the Republic of Congo. *New Microbiol*. 2015 Apr;38(2):185–92.
116. Phiri K, Hernandez-Diaz S, Dugan KB, Williams PL, Dudley JA, Jules A, et al. First Trimester Exposure to Antiretroviral Therapy and Risk of Birth Defects. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Jul;33(7):741–6.

117. Prieto LM, González- Tomé MI, Muñoz E, Fernández-Ibieta M, Soto B, Álvarez A, et al. Birth defects in a cohort of infants born to HIV-infected women in Spain, 2000-2009. *BMC Infect Dis.* 2014 Dec 24;14(1):700.
118. Maria Tudor A. Severe birth defects in children perinatal exposed to HIV from a “real-world” setting: Infectious Diseases National Institute, Bucharest, Romania. *J Int AIDS Soc.* 2014 Nov 2;17(4(Suppl 3)).
119. Lelong N, Thieulin AC, Vodovar V, Goffinet F, Khoshnood B. Surveillance épidémiologique et diagnostic prénatal des malformations congénitales en population parisienne : évolution sur 27 ans, 1981–2007. *Arch Pediatr.* 2012;
120. Antiretroviral drugs for treating women and preventing HIV infections in infants. WHO guidelines.
121. Houyel L, Khoshnood B, Anderson RH, Lelong N, Thieulin AC, Goffinet F, et al. Population-based evaluation of a suggested anatomic and clinical classification of congenital heart defects based on the International Paediatric and Congenital Cardiac Code. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;6:64.
122. Newell M-L, Bunders MJ. Safety of antiretroviral drugs in pregnancy and breastfeeding for mother and child. *Curr Opin HIV AIDS.* 2013 Sep;8(5):504–10.
123. Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, Kaplan S, Starc TJ, Bricker JT, et al. Absence of cardiac toxicity of zidovudine in infants. *Pediatric Pulmonary and Cardiac Complications of Vertically Transmitted HIV Infection Study Group.* *N Engl J Med.* 2000;343(11):759–66.
124. Lipshultz SE, Williams PL, Zeldow B, Wilkinson JD, Rich KC, Van Dyke RB. Cardiac effects of in-utero exposure to antiretroviral therapy in HIV-uninfected children born to HIV-infected mothers. *AIDS.* 2015;29:91–100.
125. Khoshnood B, Lelong N, Houyel L, Thieulin AC, Jouannic JM, Magnier S, et al. Prevalence, timing of diagnosis and mortality of newborns with congenital heart defects: a population-based study. *Heart.* 2012;
126. Watts DH, Li D, Handelsman E, Tilson H, Paul M, Foca M, et al. Assessment of birth defects according to maternal therapy among infants in the Women and Infants Transmission Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;44(3):299–305.
127. Miller A, Riehle-Colarusso T, Siffel C, Frías JL, Correa A. Maternal age and prevalence of isolated congenital heart defects in an urban area of the United States. *Am J Med Genet Part A.* 2011 Sep;155(9):2137–45.
128. Khoshnood B, Loane M, Garne E, Addor M-C, Arriola L, Bakker M, et al. Recent decrease in the prevalence of congenital heart defects in Europe. *J Pediatr.* 2013 Jan;162(1):108–13.e2.
129. Cade WT, Waggoner AD, Hubert S, Krauss MJ, Singh GK, Overton ET. Reduced diastolic function and left ventricular mass in HIV-negative preadolescent children exposed to antiretroviral therapy in utero. *AIDS.* 2012 Oct 23;26(16):2053–8.
130. Wilkinson JD, Williams PL, Leister E, Zeldow B, Shearer WT, Colan SD, et al. Cardiac biomarkers in HIV-exposed uninfected children. *AIDS.* 2013 Apr 24;27(7):1099–108.
131. García-Otero L, López M, Gómez O, Goncé A, Bennasar M, Martínez JM, et al. Zidovudine treatment in HIV-infected pregnant women is associated with fetal cardiac remodelling. *AIDS.* 2016 Jun 1;30(9):1393–401.
132. Remick J, Georgiopoulou V, Marti C, Ofotokun I, Kalogeropoulos A, Lewis W, et al. Heart failure in patients with human immunodeficiency virus infection: epidemiology, pathophysiology, treatment, and future research. *Circulation.* 2014 Apr 29;129(17):1781–9.

133. von Kleist-Retzow JC, Cormier-Daire V, Viot G, Goldenberg A, Mardach B, Amiel J, et al. Antenatal manifestations of mitochondrial respiratory chain deficiency. *J Pediatr*. 2003;143(2):208–12.
134. Abaci N, Arıkan M, Tansel T, Sahin N, Cakiris A, Pacal F, et al. Mitochondrial mutations in patients with congenital heart defects by next generation sequencing technology. *Cardiol Young*. 2014 Jun 10;1–7.
135. Solomon BD, Patel A, Cheung SW, Pineda-Alvarez DE. VACTERL association and mitochondrial dysfunction. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011 Mar;91(3):192–4.
136. Barret B, Tardieu M, Rustin P, Lacroix C, Chabrol B, Desguerre I, et al. Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants: clinical screening in a large prospective cohort. *Aids*. 2003;17(12):1769–85.
137. Brogly SB, Ylitalo N, Mofenson LM, Oleske J, Van Dyke R, Crain MJ, et al. In utero nucleoside reverse transcriptase inhibitor exposure and signs of possible mitochondrial dysfunction in HIV-uninfected children. *Aids*. 2007;21(8):929–38.
138. Torres SM, March TH, Carter MM, McCash CL, Seilkop SK, Poirier MC, et al. In utero exposure of female CD-1 Mice to AZT and/or 3TC: I. Persistence of microscopic lesions in cardiac tissue. *Cardiovasc Toxicol*. 2010 Mar;10(1):37–50.
139. Torres SM, Divi RL, Walker DM, McCash CL, Carter MM, Campen MJ, et al. In utero exposure of female CD-1 mice to AZT and/or 3TC: II. Persistence of functional alterations in cardiac tissue. *Cardiovasc Toxicol*. 2010 Jun;10(2):87–99.
140. Chan SSL, Santos JH, Meyer JN, Mandavilli BS, Cook DL, McCash CL, et al. Mitochondrial toxicity in hearts of CD-1 mice following perinatal exposure to AZT, 3TC, or AZT/3TC in combination. *Environ Mol Mutagen*. 2007;48(3–4):190–200.
141. Divi RL, Einem TL, Fletcher SLL, Shockley ME, Kuo MM, St Claire MC, et al. Progressive mitochondrial compromise in brains and livers of primates exposed in utero to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). *Toxicol Sci*. 2010 Nov;118(1):191–201.
142. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Mone SM, Goorin AM, Sallan SE, Sanders SP, et al. Female sex and drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *N Engl J Med*. 1995 Jun 29;332(26):1738–43.
143. Sawyer DB. Anthracyclines and heart failure. *N Engl J Med*. 2013 Mar 21;368(12):1154–6.

ANNEXE 1 : Liste des traitements antirétroviraux utilisés dans la cohorte EPF

Dénomination commune internationale	Abréviation	Nom commercial
Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI)		
Zidovudine	AZT	Retrovir ®
Didanosine	DDI	Videx®
Zalcitabine	DDC	Hivid ®
Lamivudine	3TC	Epivir ®
Stavudine	D4T	Zerit ®
Abacavir	ABC	Ziagen ®
Tenofovir	PMPA	Viread ®
Emtricitabine	FTC	Emtriva ®
Combinaisons d'INTI		
Zidovudine + Lamivudine		Combivir ®
Zidovudine + Lamivudine + Abacavir		Trizivir ®
Lamivudine + Abacavir		Kivexa ®
Tenofovir + Emtricitabine		Truvada ®
Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)		
Nevirapine	NVP	Viramune ®
Efavirenz	EFV	Sustiva ®
Etravirine	ETR	Intelence ®
Combinaison INTI + INNTI		
Efavirenz + Tenofovir + Emtricitabine		Atripla ®
Inhibiteurs de protéase		
Amprenavir	APV	Agenerase ®
Ritonavir	RTV	Norvir ®
Saquinavir	SQV	Invirase ®
Nelfinavir	NFV	Viracept ®
Indinavir	IDV	Crixivan ®
Lopinavir	LPV	Kaletra ®
Atazanavir	ATV	Reyataz ®
Fosamprenavir	FPV	Telzir ®
Darunavir	DRV	Prezista ®
Inhibiteurs de l'intégrase		
Raltégravir	RAL	Isentress ®
Dolutégravir	DTG	Tivicay ®
Inhibiteur de fusion		
Enfuvirtide	T20	Fuzeon ®

ANNEXE 2 : Article Prématurité dans l'Enquête Périnatale Française

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Dollfus C, Faye A, Rouzioux C, Teglas JP, Ekoukou D, Blanche S, Mandelbrot L.

Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost?

Clin Infect Dis. 2012 May;54(9):1348-60.

Premature Delivery in HIV-Infected Women Starting Protease Inhibitor Therapy During Pregnancy: Role of the Ritonavir Boost?

Jeanne Sibiude,^{1,2} Josiane Warszawski,^{1,10,11} Roland Tubiana,^{4,5} Catherine Dollfus,⁶ Albert Faye,^{3,7} Christine Rouzioux,^{8,9} Jean-Paul Teglas,¹ Dieudonné Ekoukou,¹² Stéphane Blanche,^{8,9} and Laurent Mandelbrot^{1,2,3}

¹CESP INSERM U1018, Le Kremlin-Bicêtre; ²Department of Obstetrics and Gynecology, AP-HP Hôpital Louis Mourier, Colombes; ³Univ Diderot Paris 7, ⁴Department of Infectious Diseases, AP-HP Hôpital Pitié Salpêtrière, ⁵INSERM U943, ⁶Department of Pediatrics, AP-HP Hôpital Trousseau, ⁷Department of Pediatrics, AP-HP Hôpital Robert Debré, ⁸Department of Pediatrics, AP-HP Hôpital Necker, ⁹EA 3620 Univ Paris Descartes 5, ¹⁰Univ Paris Sud, ¹¹Department of Epidemiology, AP-HP Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre; and ¹²Department of Obstetrics and Gynecology, Centre Hospitalier Général Delafontaine, Saint-Denis, France

(See the Editorial Commentary by Thorne and Townsend, on pages 1361–3.)

Background. The association between combination antiretroviral (cARV) therapy use by human immunodeficiency virus (HIV)–infected women during pregnancy and risk of prematurity is still controversial. We explored this question, focusing on the initiation of ritonavir-boosted protease inhibitors (PIs) during pregnancy, which is now standard care.

Methods. Trends in prematurity (<37 gestational weeks) were studied among all singleton pregnancies in the Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS) French Perinatal Cohort from 1990 through 2009 (n = 13 271). In-depth analysis was conducted in a more detailed substudy of the cohort, among women starting PI-based ARV therapy during pregnancy (n = 1253). Multivariable analysis adjusted for immunovirological status and known risk factors for prematurity.

Results. Prematurity increased from 9.2% during 1990–1993 (no therapy) and 9.6% during 1994–1996 (mostly zidovudine monotherapy) to 12.4% during 1997–1999 (dual-nucleoside analog therapy) and 14.3% during 2005–2009 (routine cARV therapy; $P < .01$). Prematurity was associated with cARV therapy, compared with zidovudine monotherapy, with an adjusted odds ratio of 1.69 (95% confidence interval [CI], 1.38–2.07; $P < .01$) when accounting for maternal age, intravenous drug use, geographic origin, and CD4 cell count. During 2005–2009, the prematurity rate was higher with boosted than with nonboosted PI therapy started during pregnancy (14.4% vs 9.1% [$P = .05$]; adjusted hazard ratio, 2.03 [95% CI, 1.06–3.89; $P = .03$] in multivariate analysis). The difference concerned mainly induced preterm delivery for maternal or fetal indications (5.6% vs 1.6%; $P = .02$).

Conclusions. The prematurity rate among HIV-infected pregnant women was twice that in the general population in France; this was not entirely explained by sociodemographic characteristics. Prematurity was independently associated with cARV therapy and, particularly, with the initiation of ritonavir-boosted PI therapy during pregnancy.

The use of antiretroviral (ARV) treatment regimens during pregnancy has led to a decrease in mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus (HIV)

type 1 to 1% in industrialized countries [1]. Since 1994, the standard of care has changed from zidovudine monotherapy to dual-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs) and to triple-combination ARV regimens [2].

There is ongoing concern about ARV-related toxicity to the mother and/or the developing fetus [3–7]. Adverse effects could be reflected in poor pregnancy outcomes, including preterm delivery. In a previous study [8], we found no association between ARV and in utero growth restriction. The relationship between ARV and preterm delivery is a topic of controversy. A strong relationship between ARV and preterm delivery has been consistently

Received 13 October 2011; accepted 19 December 2011; electronically published 28 March 2012.

Correspondence: Jeanne Sibiude, MD, MSc, CESP INSERM U1018 - Equipe 4 site bicêtre, 82 rue du Général Leclerc, 94276 Le Kremlin-Bicêtre cedex, Colombes, France (jeannesibiude@yahoo.fr).

Clinical Infectious Diseases 2012;54(9):1348–60

© The Author 2012. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.

DOI: 10.1093/cid/cis198

reported in European cohorts [9–13] and in 1 American study [14] but was not found in most American studies [15–17]. Most studies failed to adjust for premature birth risk factors, such as socioeconomic conditions, access to care, obstetrical history, infertility treatments, body mass index, or smoking.

Indication bias was a problem in all of these studies. Because guidelines and practice changed over time, with regard to both the mother's own health and prevention of in mother-to-child transmission, the same ARV had different indications during different periods. Adjusting for CD4 cell counts or viral loads was insufficient to account for these biases because they result not only from baseline characteristics but also from a treatment effect dependant on duration, thus differing between term and preterm deliveries.

The most puzzling aspect of the controversy is the lack of a plausible biological mechanism, whereby ARV therapy might increase the risk of preterm delivery. Fiore et al suggested that the influence of ARV therapy on the T-helper 1/T-helper 2 cytokine shift may be implicated, but this hypothesis has not been confirmed [18].

Finally, because of the small numbers of patients, no study was able to investigate preterm delivery with respect to specific drugs, in particular ritonavir-boosted protease inhibitors (PIs), which are now standard care. Ritonavir is a potent inducer or inhibitor of several P450 cytochromes and interacts with adrenal enzymes through the inhibition of CYP3A4, which is involved in glucocorticoid metabolism [19]. This may be important because maternal and fetal adrenal axes are implicated in spontaneous preterm birth outside the context of HIV infection and therapy [20], even though the mechanisms involved are not fully understood.

The objectives of our study were (1) to study trends in prematurity between periods with different types of standard care and (2) to evaluate factors and attempt to identify potential mechanisms associated with preterm birth among patients starting PI-based ARV therapy during pregnancy. We also distinguished spontaneous from induced preterm births and identified the pregnancy complications that led to these outcomes.

METHODS

French Perinatal Cohort (EPF; ANRS C01/C011)

Since 1986, EPF has prospectively enrolled pregnant HIV-infected women delivering at 90 centers throughout France [21]. EPF is a cohort funded by the ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le SIDA) that includes several components. The C01 and C011 components focus on pregnant women and were used in this study. Informed consent was obtained from all mothers. Clinicians were encouraged to follow regularly updated French national guidelines [2, 22]. The study was approved by the Hôpital Cochin institutional review board and the French computer database watchdog commission.

Overall Study Population, 1990–2009

Trends in the incidence of preterm delivery from 1990 through 2009 and their relation to the type of ARV therapy were studied in all singleton births, including stillbirths and terminations of pregnancies, occurring beyond 22 weeks gestation ($n = 13\,271$) (Figure 1).

Substudy Population: PI-Based Combination ARV Therapy Initiated During Pregnancy, 2005–2009

We performed an in-depth analysis among the singleton births from 2005 through 2009 for mothers enrolled in the EPF-CO1 component of the cohort, which recorded more detailed data. Exclusion criteria are presented in Figure 1. The choice of restricting the substudy to women starting PI-based regimens during pregnancy was made to reduce treatment bias and because it corresponded to a relevant clinical situation that induces rapid immunovirological changes and potential unexpected adverse effect. We retained the last pregnancy for women who had several pregnancies in the study period. The analysis thus included 1253 births. We also selected a second substudy population including the 1094 births that occurred during the previous period, 2000–2004, according to the same algorithm as that used for the in-depth substudy analysis (Figure 1), for which only the crude association of preterm birth with boosted versus nonboosted PI was studied.

Variables

Preterm delivery was defined as those occurring before 37 weeks gestation, and very preterm delivery was defined at <32 weeks. Gestational age was determined from the last menstrual period, corrected, if necessary, according to the first-trimester ultrasound. All preterm births during 2005–2009 were classified into 2 groups: (1) spontaneous prematurity after either preterm labor or preterm premature rupture of membranes or (2) induced prematurity resulting from induction of labor or cesarean section after maternal or fetal complications other than preterm premature rupture of membranes.

Obstetrical complications were recorded specifically (pre-eclampsia, gestational diabetes, bleeding, and hospitalization) or in open questions (cause for hospitalization and other medical conditions during pregnancy). Liver toxicity was defined by elevated liver enzyme levels on a standardized scale [23].

All ARV combinations were recorded with dates at initiation and end. For the overall analysis, ARV combinations were classified as NRTI monotherapy, NRTI dual therapy, or combination ARV (cARV) therapy, defined as a combination containing ≥ 3 drugs or at least a PI or a nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor (NNRTI). For the substudy population, PI-based ARV was defined as boosted if ritonavir was included. Ritonavir was never used as the sole PI.

Sociodemographic, clinical, and other obstetrical characteristics were collected. Gestational age at first visit to the

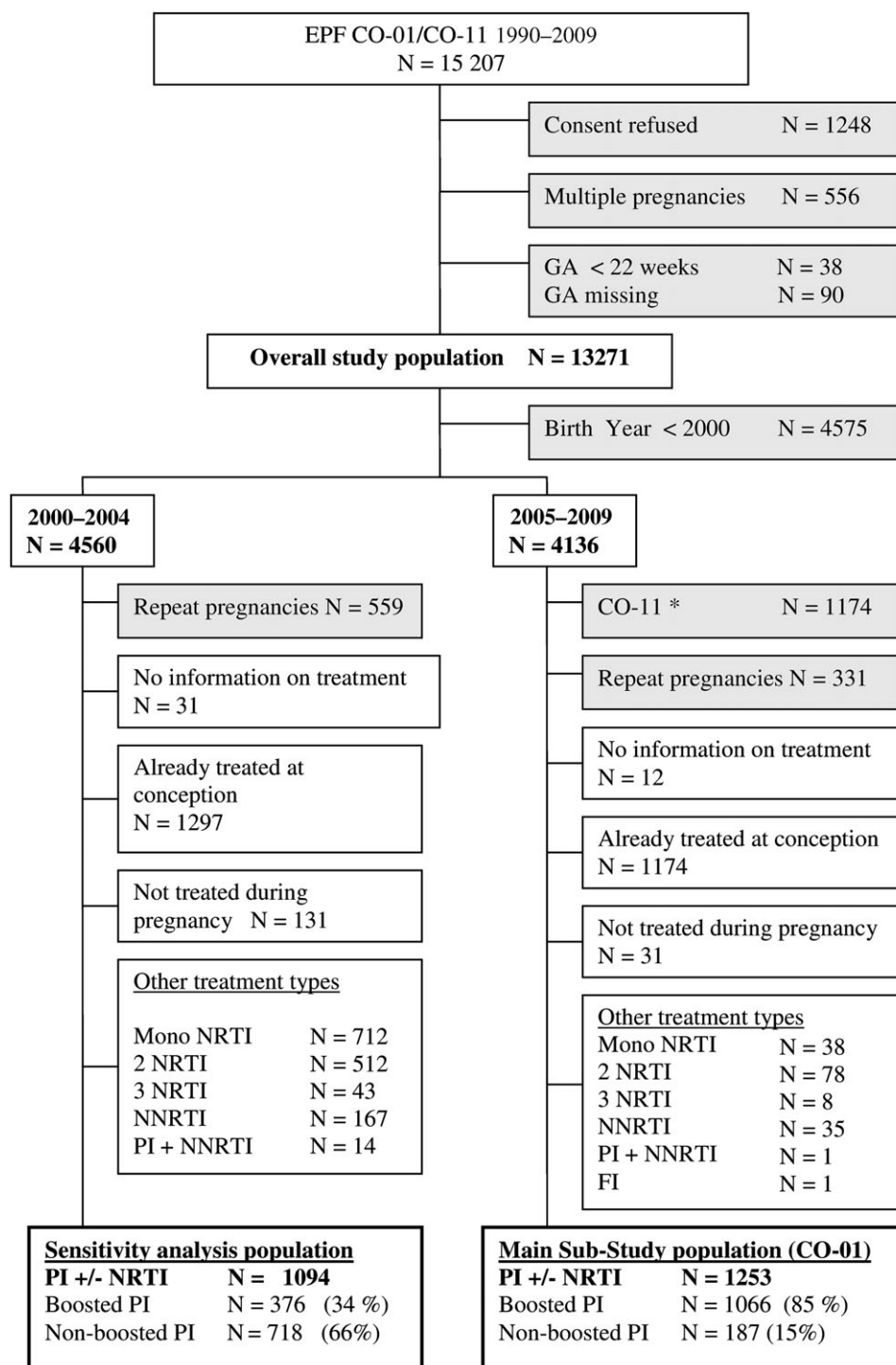


Figure 1. Study population. Since 2005, the French Perinatal Cohort has been divided into 2 components. The CO1 component includes women from the largest maternity wards (two-thirds of total enrollment) and collects very detailed sociodemographic, clinical, and biological information. The CO11 component includes the smaller maternity wards and collects less-detailed information. FI, fusion inhibitor; GA, gestational age; NRTI, nucleoside reverse-transcriptase inhibitor; NNRTI, nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor; PI, protease inhibitor.

obstetrical center was used as a marker of their level of access to care. Characteristics of HIV disease included date of diagnosis, primary infection during pregnancy, highest Centers

for Disease Control and Prevention (CDC) clinical category [24], and all viral load and CD4 cell counts during the pregnancy. We also recorded hepatitis C coinfections, defined as

active if polymerase chain reaction test results were positive. Obstetrical complications, pretherapeutic blood tests and detailed sociodemographic variables were not available before 2005 or for the CO11 component of the cohort.

Statistical Methods

The rates of preterm birth were described throughout the 1990–2009 period. For the overall study, associations between preterm birth and type of ARV were performed using logistic regression models. Odds ratios (ORs) were adjusted systematically for time at ARV therapy initiation and for the following potential confounders (selected because they were used in the literature and were available for the whole period during 1990–2009): intravenous drug use, ethnic origin, maternal age at delivery, and CD4 cell count at delivery. To allow for repeated pregnancies in the same woman, generalized linear mixed effects were used to fit logistic regression models accounting for random effects attributed to the mother [25].

In the substudy (2005–2009), we first compared characteristics of women who started ritonavir-boosted PI with those of women who started nonboosted PI therapy during pregnancy. We then compared these 2 groups for the rates of preterm and very preterm delivery and for the frequency of obstetrical complications using χ^2 and Fisher's exact tests, as appropriate, to determine statistical significance.

Risk factors for premature birth were analyzed using survival analyses (Kaplan-Meier and the Cox proportional hazard model), generating adjusted hazard ratios (aHRs), in which induced prematurity was considered as an event to study overall prematurity (ie, all preterm births), or censored at the date of delivery to study spontaneous prematurity. Boosted versus nonboosted PI was used as a time-varying variable. Time was truncated at 37 weeks gestation for all patients. Repeated pregnancies were excluded from this substudy to perform survival analysis. The initial model was adjusted for factors found to be associated with prematurity in bivariable analyses ($P < .20$) or known to be risk factors for prematurity. A parsimonious model was obtained after excluding variables not known to be risk factors for prematurity and variables for which $P > .05$ in the initial model. Sensitivity analyses were conducted by varying different parameters for the association between prematurity and ARV type. Data were analyzed using Stata software, version 11.0 (StataCorp) [26].

RESULTS

Overall Study: 1990–2009

The overall prematurity rate increased significantly from 9.2% during 1990–1993 to 14.3% during 2005–2009 (Figure 2 and Supplementary Material Table A). Characteristics of the women receiving ARV therapy during pregnancy are presented in Table 1.

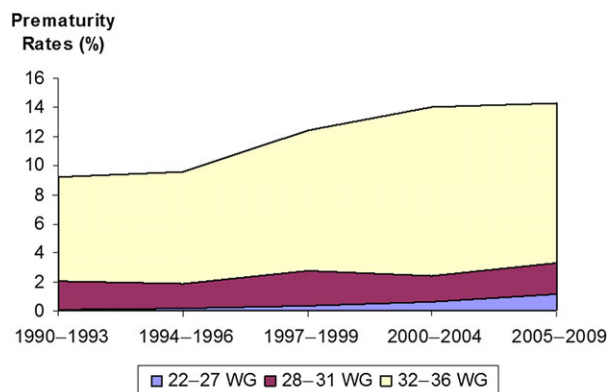


Figure 2. Trends in preterm delivery rate in the French Perinatal Cohort. Abbreviation: WG, weeks of gestation.

Among them, the risk of prematurity was lower with zidovudine alone than with NRTI dual therapy or cARV therapy ($P < .001$) (results shown in Table 2). The association with cARV therapy remained significant after adjustment for potential confounders mentioned above (adjusted OR, 1.69; 95% confidence interval [CI], 1.38–2.07). The risk of prematurity was higher among women already being treated at conception, compared with women whose treatment began during pregnancy, regardless of ARV therapy type (adjusted OR, 1.31; 95% CI, 1.11–1.55; $P = .001$). The other factors except geographic origin also remained independently associated.

Substudy: PI-Based cARV Therapy Initiated During Pregnancy, 2005–2009

The majority of this group of 1253 women were from sub-Saharan Africa, multiparous, and ARV therapy naive and had started treatment during the second trimester (Table 3). Among all PI-based ARV therapy regimens, 85% were ritonavir boosted (1066 of 1253). The boosted PI most frequently used was lopinavir (81%), and the most frequently used nonboosted PI was nelfinavir (92%) (Supplementary Material Table B). Women receiving boosted (vs nonboosted) PIs had less illicit drug use or smoking, first visited the obstetrical center at a later gestational age, and were more likely to deliver in the 2007–2009 period but did not differ in any characteristic of their HIV infection (Table 3).

The prematurity rate was 13.6% (170 of 1253; 95% CI, 11.7%–15.5%), higher in case of boosted (14.4%; 153 of 1066) than nonboosted PI therapy (9.1%; 17 of 187) although it did not reach significance ($P = .053$). The rate of severe prematurity was 2.7% (28 of 1253; 95% CI, 1.8%–3.6%) and was similar for the 2 groups (2.8% vs 2.1%, $P = .60$). The prematurity rate was homogeneously higher among the boosted PIs than for the nonboosted PIs (Supplementary Material Table C).

Table 1. Characteristics of Patients (Overall Study)

Characteristic	Zidovudine Monotherapy (n = 2975)		NRTI Dual Therapy (n = 1664)		cARV Therapy (n = 6738)		P
	No.	%	No.	%	No.	%	
Initiation of ARV							<.0001
Before conception	2739	92.1	1113	66.9	3561	52.9	
During pregnancy	214	7.2	551	33.1	3128	46.4	
Missing	22	0.7	0	0.0	49	0.7	
Geographic origin							<.0001
Mainland France	836	28.1	510	30.7	1253	18.6	
Sub-Saharan Africa	1503	50.5	875	52.6	4283	63.6	
Other	622	20.9	267	16.0	1110	16.5	
Missing	14	0.5	12	0.7	92	1.4	
Maternal age, years							<.0001
<25	513	17.2	207	12.4	678	10.1	
25–34	1930	64.9	1046	62.9	3866	57.4	
≥35	526	17.7	411	24.7	2179	32.3	
Missing	6	0.2	0	0.0	15	0.2	
Intravenous drug use (past or active)							<.0001
Yes	2640	88.7	1504	90.4	6424	95.3	
No	297	10.0	149	8.9	215	3.2	
Missing	38	1.3	11	0.7	99	1.5	
CD4 cell count, cells/mL							<.0001
≥500	1353	45.5	716	43.0	2414	35.8	
350–500	634	21.3	394	23.7	1759	26.1	
200–350	512	17.2	340	20.4	1461	21.7	
<200	252	8.5	136	8.1	681	10.1	
Missing	224	7.5	78	4.7	423	6.3	
Years of delivery							<.0001
1990–1993	133	4.5	1	0.1	0	0.0	
1994–1996	997	33.5	29	1.7	3	0.0	
1997–1999	878	29.5	663	39.8	291	4.3	
2000–2004	903	30.4	828	49.8	2645	39.3	
2005–2009	64	2.1	143	8.6	3799	56.4	

Abbreviations: ARV, antiretroviral therapy; cARV, combination ARV; NRTI, nucleoside reverse-transcriptase inhibitor.

Cox model analysis for overall prematurity is shown in Table 4. In the initial multivariable model, premature birth remained significantly associated with boosted-PI, compared with nonboosted PI (aHR, 2.03; 95% CI, 1.06–3.89; $P = .03$). The association remained of the same magnitude (aHR, 1.76; 95% CI, .97–3.19; $P = .06$) in a more parsimonious model that excluded hepatitis C infection, viral load, and time of initiation of treatment. Early first visit at the obstetrical center, marital status, and CDC stage were also significantly associated with prematurity.

The type of prematurity differed according to boosted or nonboosted PI use (Table 5). The main reasons for induced prematurity are presented in Table 5. Spontaneous prematurity represented 61% of total prematurity. Spontaneous prematurity was not significantly associated with boosted PI in the multivariable Cox model, in which induced premature births were

censored at the date of delivery (aHR, 1.51; 95% CI, .72–3.17; $P = .27$).

Pregnancy complications were more frequent in women receiving boosted PIs (Table 5). All of the complications described were significantly associated with prematurity (results not shown).

Neonatal complications did not differ according to boosted or nonboosted PI use. Rates for neonatal hospitalizations (8% vs 9%; $P = .86$), respiratory distress (3% vs 4%, $P = .68$), neurological symptoms (2% vs 3%; $P = .87$), and birth weight (Z score, -0.14 vs -0.2 ; $P = .49$) were similar for both groups.

Association Between Premature Birth and Boosted Versus Nonboosted PIs: Sensitivity Analyses

We first restricted the multivariable Cox model to various subpopulations (primiparous mothers, non-drug users, women

Table 2. Association Between Antiretroviral Therapy and Preterm Birth (Overall Study)

Therapy Type	Total No.	Premature Births, %	Bivariable Analysis (n = 11 377)			Multivariable Analysis (n = 10 402)		
			OR	95% CI	P	aOR	95% CI	P
ARV therapy					<.001			<.001
Monotherapy	2975	9.6	1			1		
Dual therapy	1664	11.3	1.27	(0.99–1.63)		1.24	(0.96–1.60)	
HAART	6738	14.7	1.92	(1.59–2.30)		1.69	(1.38–2.07)	
Initiation of ARV					<.001			.001
Before conception	3893	15.9	1.66	(1.43–1.93)		1.31	(1.11–1.55)	
During pregnancy	7413	11.2	1			1		
Missing	71	22.5						
Geographic origin					.03			.12
Mainland France	2599	12.9	1			1		
Sub-Saharan Africa	6661	12.3	0.92	(0.77–1.11)		1.00	(0.82–1.23)	
Other	1999	14.9	1.21	(0.96–1.52)		1.24	(0.97–1.58)	
Missing	118	13.6						
Maternal age, years					<.001			.05
<25	1398	11.4	1			1		
25–34	6842	11.9	1.12	(0.88–1.41)		0.91	(0.72–1.16)	
≥35	3116	15.5	1.67	(1.29–2.15)		1.12	(0.86–1.47)	
Missing	21	38.1						
Intravenous drug use (past or active)					.001			<.001
Yes	661	17.4	1.60	(1.20–2.13)		1.78	(1.30–2.45)	
No	10 568	12.6	1			1		
Missing	148	18.2						
CD4 cell count, cells/mL					<.001			.001
≥500	4483	11.5	1			1		
350–500	2787	12.2	1.12	(0.93–1.34)		1.05	(0.87–1.27)	
200–350	2313	13.5	1.26	(1.04–1.52)		1.17	(0.96–1.43)	
<200	1069	16.6	1.74	(1.26–2.22)		1.64	(1.28–2.11)	
Missing	725	17.1						

Abbreviation: aOR, adjusted odds ratio (OR); ARV, antiretroviral; CI, confidence interval; HAART, highly active ARV therapy.

naive for ARV therapy, HIV nontransmitters, and live births); the aHRs remained of the same magnitude, although they did not always reach significance (additional [Material Online Table D](#)). Finally, among the 1094 cases selected from the previous period (2000–2004), results of bivariable analysis were very similar to those for 2005–2009. The overall prematurity rate was 13.2% (144 of 1094). The proportion of ritonavir-boosted PIs initiated during pregnancy was lower (376 [34%] of 1094), but the differences between boosted and nonboosted PIs were significant for all premature births (16.0% vs 11.7%; $P = .05$) and for severe prematurity (4.0% vs 1.8%; $P = .03$).

DISCUSSION

Our findings suggest a relationship between cARV use and preterm delivery. First, the preterm rate in the EPF cohort increased over a 20-year period. The current rate (13.6%) was

markedly higher than in the general French population (5.8%) [27]. Preterm delivery rates well above national rates have also been reported by HIV perinatal cohorts in the United Kingdom, Ireland [11], and the United States [14, 17, 28]. Furthermore, we found that the use of cARV therapy during pregnancy was a highly significant risk factor, even after adjusting for other factors known to increase the risk of preterm delivery. These findings are consistent with mounting evidence in Europe for a relationship between ARV therapy use and premature birth [9–13, 29] and have been recently described in a randomized study in Africa [30] but conflict with several studies performed in the United States [15–17] that found no such relationship. The differences may be attributable simply to chance or to variability in the numbers of patients studied, but there may be real differences between countries and between periods with respect to the populations studied, confounding risk factors, and drug regimens used.

Table 3. Patient Characteristics According to Type of Protease Inhibitor Treatment for Women Initiating Antiretroviral Therapy During Their Last or Only Pregnancy During 2005–2009 (ANRS French Perinatal Cohort)

Characteristic	Total (n = 1253)		Boosted PI (n = 1066)		Nonboosted PI (n = 187)		P
	No.	%	No.	%	No.	%	
Period							<.001
2005–2006	585	46.7	408	38.3	177	94.6	
2007–2009	668	53.3	658	61.7	10	5.4	
Maternal age, years							.27
<25	135	10.8	120	11.3	15	8.0	
25–39	1038	82.8	881	82.6	157	84.0	
≥40	79	6.3	64	6.0	15	8.0	
Missing	1	0.1	1	0.1	0	0.0	
Geographic origin							.08
Europe	145	11.6	118	11.1	27	14.4	
Sub-Saharan Africa or Caribbean	1088	86.8	934	87.6	154	82.4	
Other	17	1.4	12	1.1	5	2.7	
Missing	3	0.2	2	0.2	1	0.5	
Marital status							.15
Couple	707	56.4	593	55.6	114	61.0	
Single, information on partner	480	38.3	412	38.6	68	36.4	
Single, no information on partner	66	5.3	61	5.7	5	2.7	
Past or active intravenous drug use							.007
No	1232	98.3	1052	98.7	180	96.3	
Yes	19	1.5	12	1.1	7	3.7	
Missing	2	0.2	2	0.2	0	0.0	
Smoking during pregnancy							.007
No	1166	93.1	998	93.6	168	89.8	
Yes	68	5.4	50	4.7	18	9.6	
Missing	19	1.5	18	1.7	1	0.5	
BMI, kg/m ²							.57
≤18.5	60	4.8	49	4.6	11	5.9	
18.5–30	916	73.1	775	72.7	141	75.4	
>30	155	12.4	135	12.7	20	10.7	
Missing	122	9.7	107	10.0	15	8.0	
Parity							.06
Primiparous	386	30.8	339	31.8	47	25.1	
Multiparous	861	68.7	721	67.6	140	74.9	
Missing	6	0.5	6	0.6	0	0.0	
Assisted conception							.21
No	1200	95.8	1020	95.7	180	96.3	
Yes	20	1.6	15	1.4	5	2.7	
Missing	33	2.6	31	2.9	2	1.1	
Gestational age at first visit to obstetrical center, weeks							.006
≤20	897	71.6	747	70.1	150	80.2	
>20	313	25.0	281	26.4	32	17.1	
Missing	43	3.4	38	3.6	5	2.7	
HCV coinfection							.08
No	1183	94.4	1012	94.9	171	91.4	
Inactive	26	2.1	21	2.0	5	2.7	
Active	23	1.8	16	1.5	7	3.7	
Missing	21	1.7	17	1.6	4	2.1	

Table 3 continued.

Characteristic	Total (n = 1253)		Boosted PI (n = 1066)		Nonboosted PI (n = 187)		P
	No.	%	No.	%	No.	%	
ARV as PMTCT in a previous pregnancy							.06
No	720	57.5	624	58.5	96	51.3	
Yes	515	41.1	426	40.0	89	47.6	
Missing	18	1.4	16	1.5	2	1.1	
Highest CDC category [24]							
A/B	1168	93.2	997	93.5	171	91.4	
C	50	4.0	42	3.9	8	4.3	
Missing	35	2.8	27	2.5	8	4.3	
Primary HIV infection during pregnancy							1.00
No	1219	97.3	1036	97.2	183	97.9	
Yes	17	1.4	15	1.4	2	1.1	
Missing	17	1.4	15	1.4	2	1.1	
Pretherapeutic CD4 cell count, cells/mL							.24
>500	281	22.4	233	21.9	48	25.7	
351–500	329	26.3	273	25.6	56	29.9	
201–350	374	29.8	324	30.4	50	26.7	
≤200	156	12.5	138	12.9	18	9.6	
Missing	113	9.0	98	9.2	15	8.0	
Pretherapeutic viral load, copies/mL							.07
<400	159	12.7	143	13.4	16	8.6	
400–10 000	460	36.7	388	36.4	72	38.5	
10 000–50 000	338	27.0	277	26.0	61	32.6	
>50 000	165	13.2	146	13.7	19	10.2	
Missing	131	10.5	112	10.5	19	10.2	
Time of first-line initiation, gestational weeks							.95
<14	147	11.7	125	11.7	22	11.8	
14–20	267	21.3	229	21.5	38	20.3	
21–27	529	42.2	453	42.5	76	40.6	
≥28	292	23.3	246	23.1	46	24.6	
Missing	18	1.4	13	1.2	5	2.7	
Maternal diseases before ARV during current pregnancy							
Hospitalization	79	6.4	70	6.7	9	4.9	.36
For premature labor	12	1.0	10	1.0	2	1.1	.70
For vascular or metabolic cause ^a	11	0.9	11	1.0	0	0.0	.39
For infectious cause	23	1.9	20	1.9	3	1.6	1.00
Preeclampsia	3	0.2	3	0.3	0	0.0	1.00
Gestational diabetes	9	0.7	9	0.9	0	0.0	.37
Bleeding	12	1.0	12	1.1	0	0.0	.23
Vascular or metabolic problem ^a	19	1.5	19	1.8	0	0.0	.10
Liver enzyme elevation (grade ≥1) ^b	44	5.2	41	5.7	3	2.5	.15
Stillbirth or TOP	19	1.5	17	1.6	2	1.1	.75

Abbreviations: ANRS, Agence nationale de recherche sur le SIDA; ARV, antiretroviral; BMI, body mass index; CDC, Centers for Disease Control and Prevention; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; PI, protease inhibitor; PMTCT, prevention of mother-to-child transmission; TOP, termination of pregnancy.

^a Hospitalization for vascular or metabolic cause includes preeclampsia, diabetes, hypertension, proteinuria; vascular or metabolic problem includes all causes cited above with hospitalization, as well as preeclampsia and diabetes without hospitalization.

^b Total sample corresponding to patients who had blood tests before initiation of treatment: 845, 724, and 121 patients, respectively.

Our study is the largest to focus on a homogenous population starting routine standard-care PI-based ARV therapy and allows for adjustment of factors known to be associated with

prematurity in the general population [20, 31]. These factors, such as smoking and maternal age, were also associated with prematurity in our population. In addition, women with

Table 4. Factors Associated With Premature Birth for Women Initiating Antiretroviral Therapy During Their Only or Last Pregnancy, 2005–2009 (ANRS French Perinatal Cohort)

Variable	Premature Birth		Bivariable Analysis (n = 1253)			Multivariable Analysis (n = 945)		
	%	No./Total Sample	HR	(95% CI)	P	aHR	(95% CI)	P
Maternal age, years					.53			.97
<25	13.3	(18/135)	0.99	(.6–1.61)		0.98	(.54–1.78)	
25–39	13.3	(138/1038)	1			1		
≥40	17.7	(14/79)	1.37	(.79–2.37)		1.10	(.51–2.4)	
Missing	0.0	(0/1)						
Marital status					.004			.06
Info on father or couple	12.9	(153/1187)	1			1		
Single and no info on father	25.8	(17/66)	2.08	(1.26–3.43)		1.87	(.97–3.61)	
Past or active intravenous drug use					.17			.43
No	13.3	(164/1232)	1			1		
Yes	26.3	(5/19)	2.00	(.82–4.86)		1.82	(.41–8.09)	
Missing	50.0	(1/2)						
Smoking during pregnancy					.11			.42
No	13.1	(153/1166)	1			1		
Yes	20.6	(14/68)	1.61	(.93–2.77)		1.35	(.65–2.82)	
Missing	15.8	(3/19)						
BMI, kg/m ²					.55			.62
≤18.5	16.7	(10/60)	1.25	(.66–2.39)		1.46	(.67–3.15)	
18.5–30	13.4	(123/916)	1			1		
>30	11.0	(17/155)	0.82	(.49–1.35)		0.97	(.56–1.65)	
Missing	16.4	(20/122)						
Assisted conception					.04			.35
No	13.2	(158/1200)	1			1		
Yes	30.0	(6/20)	2.70	(1.19–6.1)		1.75	(.54–5.67)	
Missing	18.2	(6/33)						
Gestational age at first visit to obstetrical center, weeks					.007			.009
≤20	11.8	(106/897)	1			1		
>20	17.9	(56/313)	1.57	(1.14–2.17)		1.72	(1.15–2.57)	
Missing	18.6	(8/43)						
HCV coinfection					.03			.90
No or inactive	13.1	(158/1209)	1			1		
Active	30.4	(7/23)	2.66	(1.25–5.67)		0.91	(.23–3.66)	
Missing	23.8	(5/21)						
Highest CDC category [24]					.02			.04
A/B	12.8	(150/1168)	1			1		
C	26.0	(13/50)	2.16	(1.23–3.81)		2.10	(1.04–4.23)	
Missing	20.0	(7/35)						
Primary HIV infection during pregnancy					.22			
No	13.4	(163/1219)	1					
Yes	23.5	(4/17)	1.99	(.74–5.37)				
Missing	17.6	(3/17)						
Pretherapeutic CD4 cell count, cells/mL					.83			
>500	14.2	(40/281)	1					
350–500	12.8	(42/329)	0.89	(.58–1.37)				
201–350	13.1	(49/374)	0.91	(.6–1.38)				
≤200	15.4	(24/156)	1.09	(.66–1.81)				
Missing	13.3	(15/113)						

Table 4 continued.

Variable	Premature Birth		Bivariable Analysis (n = 1253)			Multivariable Analysis (n = 945)		
	%	No./Total Sample	HR	(95% CI)	P	aHR	(95% CI)	P
Pretherapeutic viral load, copies/mL					.34			.60
<400	11.9	(19/159)	1			1		
400–10 000	12.6	(58/460)	1.05	(.63–1.77)		1.31	(.69–2.48)	
10 000–50 000	12.7	(43/338)	1.06	(.62–1.81)		1.40	(.72–2.71)	
>50 000	17.6	(29/165)	1.52	(.85–2.72)		1.62	(.8–3.3)	
Missing	16.0	(21/131)						
Time of first-line initiation of ARV, gestational weeks					.18			.23
<14	10.2	(15/147)	1			1		
14–20	13.9	(37/267)	1.38	(.76–2.51)		1.49	(.67–3.3)	
21–27	16.4	(87/529)	1.64	(.95–2.83)		1.85	(.87–3.94)	
≥28	8.90	(26/292)	0.85	(.45–1.6)		0.96	(.4–2.29)	
Ritonavir-boosted PI ^a					.04			.03
No	9.1	(17/187)	1			1		
Yes	14.4	(153/1066)	1.78	(1.03–3.09)		2.03	(1.06–3.89)	

Abbreviations: aHR, adjusted hazard ratio (adjusted on all variables shown in table); ARV, antiretroviral; BMI, body mass index; CDC, Centers for Disease Control and Prevention; CI, confidence interval; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; HR, hazard ratio; info, information; PI, protease inhibitor.

A Cox proportional hazards model was used. Premature birth was defined as birth at <37 weeks gestation.

^a Ritonavir-boosted PI treatment was used as a time-varying variable in the model.

a history of AIDS-defined illness had a higher risk of preterm delivery than women who did not, even after adjustment in multivariable analysis. However, of interest, although the maternal CD4 cell count correlated with the risk of premature birth in the overall cohort population, this relationship was not significant in the women who started cARV therapy during their pregnancy during the 2005–2009 period. This suggests that the relationship between HIV infection and premature birth cannot be attributed to only the severity of the immunodeficiency.

Our most important finding was a significant association between prematurity and ritonavir-boosted PI therapy, compared with nonboosted PI-based therapy. This could not be explained by differences in the characteristics of the mothers in the 2 groups. Ritonavir is associated with complex metabolic changes and could interfere with the adrenal systems of both the mother and the fetus through its interactions with CYP3A4 [19]. Recently, transient adrenal dysfunction was reported for neonates exposed to ritonavir-boosted PIs both in utero and after birth [32]. Because these adrenal systems are involved in the spontaneous onset of labor [20], ritonavir-boosted PIs may influence its timing. To date, no study has specifically examined the effects of boosted PIs, compared with nonboosted PIs, on premature birth. Patel et al and Tuomala et al found no significant differences in the rate of prematurity associated with PI-based treatments, compared with non-PI-based treatments [16, 17]. However, in both of these studies, most of the PI

treatments used were nonboosted. In other studies, whether the PI was ritonavir boosted or not was not specified.

We found that boosted PI was more strongly associated with induced than with spontaneous premature birth. Pregnancy complications, including preeclampsia, gestational diabetes, and liver toxicity, were associated with induced prematurity and were also significantly more frequent in the boosted than nonboosted PI group. The medical decision to deliver may account for part of the increase in mild prematurity. Gestational complications have not been investigated previously with respect to the use of ritonavir-boosted PIs. PIs are known to increase insulin resistance in adults, including pregnant women, although the incidence of gestational diabetes mellitus may be only slightly increased [7, 33]. Some studies have suggested that there may be a relation between PI-based ARV therapy and low birth weight or preeclampsia [34]. Wimalasundera et al and Suy et al [5, 6] hypothesized that immune restoration might be involved in preeclampsia. Although some studies have reported an increased risk of low birth weight in association with ARV therapy, this was not the case in our cohort [8].

Although ARV therapy was more strongly related to induced prematurity, we also observed a trend for spontaneous prematurity. The aHR for boosted PI-based ARV therapy and spontaneous prematurity was 1.5; however, it did not reach statistical significance, possibly because of lack of power. Of interest, there were more hospitalizations for threatened preterm labor in the boosted PI group. The study by Patel

Table 5. Rates of Obstetrical Complications Overall and According to Treatment Type (ANRS French Perinatal Cohort 2005–2009)

Complication	Total		Boosted PI		Nonboosted PI		P
	%	No./Total Sample	%	No./Total Sample	%	No./Total Sample	
Preeclampsia	1.9	24/1240	2.2	23/1054	0.5	1/186	.24
Gestational diabetes	2.7	33/1237	2.9	30/1050	1.6	3/187	.46
Vascular or metabolic problem	6.3	77/1244	6.8	71/1037	3.2	6/187	.06
Liver enzyme elevation (grade ≥ 1)	12.7	150/1183	13.7	138/1005	6.7	12/178	.01
Bleeding	2.4	30/1232	2.5	26/1045	2.1	4/187	1.00
Hospitalization (any cause)	26.0	300/1155	28.3	277/980	13.1	23/175	<.001
Premature labor ^a	5.1	59/1155	5.6	55/980	2.3	4/175	.003
Vascular or metabolic problem ^a	4.3	51/1155	4.8	47/980	2.3	4/175	
Infection or fever ^a	3.1	36/1155	3.5	34/980	1.1	2/175	
Anomalies of FHR ^a	1.7	20/1155	1.9	19/980	0.6	1/175	
Other ^a	11.6	134/1155	12.4	122/980	6.9	12/175	
Type and classification of preterm births (n = 170)							
Spontaneous premature birth	8.2	103/1253	8.4	90/1066	7.0	13/187	.05 ^b
Spontaneous onset of labor		51		47		4	
Preterm premature rupture of membranes		47		38		9	
Missing		5		5		0	
Induced premature birth	5.0	63/1253	5.6	60/1066	1.6	3/187	
Preeclampsia and IUGR-associated		4		4		0	
Preeclampsia alone		13		12		1	
IUGR alone		10		10		0	
Anomalies of FHR		7		7		0	
Hepatotoxicity		4		4		0	
Bleeding		5		5		0	
Stillbirth or TOP		16		14		2	
Missing		4		4		0	
Premature birth type missing		4/1253		3/1066		1/187	

Abbreviations: Vascular or metabolic problem, includes preeclampsia, diabetes, hypertension, proteinuria; FHR, fetal heart rate; IUGR, intrauterine growth restriction; PI, protease inhibitor; TOP, termination of pregnancy.

^a Listed as main cause of hospitalization, these categories are mutually exclusive in the statistical analysis.

^b P value determined by overall χ^2 test (2 df) comparing prematurity in 3 categories (none, induced, spontaneous) according to boosted or nonboosted-PI.

et al [17] was the only previous analysis to differentiate spontaneous from overall premature births. Although the ORs associated with PI treatment were higher for all preterm births than for spontaneous preterm births alone, neither was statistically significant.

Our study presents several advantages over previous studies. Detailed information was available for premature birth risk factors, HIV status, ARV type, and pregnancy care. Pretherapeutic viral load and CD4 cell count data allowed us to adjust for treatment indication, whereas prior studies used measures at delivery that depend on the duration of therapy and, thus, on gestational age at birth.

Our study also has some limitations. We cannot rule out differences caused by the PI, lopinavir or nelfinavir, rather than the ritonavir boost, although the prematurity rate was homogeneously higher for all the boosted PIs than it was for nelfinavir. It would have been useful to compare PI-based treatments with NNRTI-based treatments or cARV therapy with monotherapy or

dual therapy, but the numbers of patients in the cohort during the 2005–2009 period were insufficient for these comparisons. Finally, much of the increase in premature birth occurred during 1997–1999, a period during which boosted-PI therapy was not yet predominant. This might suggest that the efficacy of therapy, rather than the type of cARV therapy, might be the main correlate with prematurity, as has been suggested elsewhere [35]. This could possibly be explained by the phenomenon of immune restoration. The association between premature birth and boosted PI therapy cannot be entirely attributed to an action on the adrenal system, which would be expected to influence spontaneous prematurity more than induced prematurity.

In conclusion, we found a higher rate of prematurity associated with boosted PI, compared with nonboosted ARV, which was independent of other risk factors. Patients receiving ritonavir had more maternal metabolic and vascular complications, leading to an increase in induced premature births. Although a causal

relationship cannot be confirmed, our findings suggest a plausible explanation for the association between cARV therapy and prematurity that merits further investigation. Because boosted PI therapies are standard care during pregnancy, this may have important clinical implications.

Supplementary Data

Supplementary materials are available at *Clinical Infectious Diseases* online (<http://cid.oxfordjournals.org>). Supplementary materials consist of data provided by the author that are published to benefit the reader. The posted materials are not copyedited. The contents of all supplementary data are the sole responsibility of the authors. Questions or messages regarding errors should be addressed to the author.

Notes

Acknowledgments. We thank all women who agreed to participate and the doctors, midwives, and personnel in the centers participating in the French Perinatal Cohort: Hôpital d'Aix en Provence* (B. Tadrict); Hôpital Nord, Amiens (N. Decaux, Y. Douadi, J. Gondry, V. Li Thiao Te, J. L. Schmit); Hôpital d'Angers (A. Fournié); Hôpital Victor Dupouy, Argenteuil (C. Allisy, D. Brault); Hôpital Paris La Roseraie,* Aubervilliers (M. A. Rozan); Hôpital Robert Ballanger, Aulnay (E. Questiaux, A. Zakaria, C. Goldenstein); Hôpital Saint Claude, Basse-Terre* (G. Sibille); Hôpital de Bastia (O. Pincemaille, B. Rusjan); Hôpital de la Côte Basque, Bayonne (F. Bonnal, C. Cayla); Clinique du Blanc Mesnil* (P. Balde); Hôpital Saint Jacques, Besançon (J. M. Estavoyer, R. Maillet); Hôpital Avicenne, Bobigny (M. Bentata); Hôpital Jean Verdier, Bondy (L. Benoist, S. Bolie, N. Bonier, V. Jeantils, E. Lachassine, A. Rodrigues); Hôpital Pellegrin, Bordeaux (D. Douard, D. Roux, V. Schaeffer); Hôpital Ambroise Paré,* Boulogne Billancourt (D. Zenaty); Hôpital Clémenceau, Caen (J. Brouard, P. Goubin); Hôpital André Rosemon, Cayenne (N. Elenga); Hôpital Beaujon (P. Cecaldi-Carp, B. Fantin, D. Luton, H. Pejoan), Clichy (A. De Curtis); Hôpital de Creil (B. Carpentier, M. Duval-Arnould, C. Kingue-Ekollo); Hôpital Intercommunal, Créteil (V. Garrait, S. Lemerle, C. Pichon, C. Richier, C. Touboul); Hôpital Bécélère, Clamart (D. Bornarel, V. Chambrin, L. Clech, L. Foix L'Hélias, P. Labrune, H. Schoen); Hôpital Louis Mourier, Colombes (C. Crenn-Hebert, C. Floch-Tudal, F. Mazy, E. Hery, L. Mandelbrot, C. Meier); Hôpital de Compiègne* (A. Lagrue); Hôpital d'enfants, Dijon (S. Martha, I. Reynaud); Hôpital de Dourdan* (V. Ercoli); Hôpital de Dreux* (M. F. Denavit); Hôpital des Feugrais,* Elbeuf (K. Lahsinat); Hôpital Intercommunal, Evreux (C. Allouche, K. Touré); Hôpital Francilien Sud, Evry-Corbeil (P. Chevojon, A. Devidas, M. Granier, M. Guignier, Y. Lakhdari, C. Marchand, A. May, R. Nguyen, I. Turpault); Hôpital de Fontainebleau (C. Routier); Hôpital Victor Fouché, Fort de France (Y. Hatchuel, C. William); Hôpital de Gonesse* (P. Balde); Hôpital Jean Rostand,* Ivry (T. Jault, I. Jrad); Hôpital de Lagny (A. Chalvon Demersay, E. Froguel, B. Gourdel); Hôpital du Lamentin* (M. Monlouis); Hôpital Les Oudairies, La Roche sur Yon (O. Aubry, J. P. Brossier, J. L. Esnault; S. Leautez; P. Perré, I. Suaud); Hôpital de La Seyne sur Mer (J. M. Chamouilli); Hôpital Louis Domergue, La Trinité* (N. Hugon); Hôpital André Mignot, Le Chesnay (V. Hentgen, F. Messaoudi); Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre (K. Bourdic, C. Colmant, C. Fourcade, S. Fridman, D. Peretti); Hôpital Jeanne de Flandres, Lille (S. D'angelo, Y. Hammou, F. Mazingue, Y. Yazdanpanah); Hôpital Dupuytren,* Limoges (L. De lumley); Hôpital de Longjumeau (P. Bailly-Salin, I. Turpault H. Seau); Hôpital de la Croix Rousse, Lyon (C. Brochier, L. Cotte, J. M. Labaune, T. Le Thi, M. J. Roussouly, O. Tariel, V. Thoirain); Institut d'hématologie-oncologie pédiatrique, Lyon (Y. Bertrand, K. Kebaïli, N. Tache); Centre Hospitalier Lyon Sud, Lyon (J. Massardier); Hôpital François Quesnay, Mantes La Jolie (A. Delanete, A. Doumet, F. Granier, J. L. Salomon); Hôpital la Conception, Marseille (L. Cravello); Hôpital La Timone, Marseille (I. Thuret); Hôpital de Meaux (L. Karaoui,

V. Lefèvre); Hôpital de Meulan* (D. Seguy); Hôpital Marc Jacquet, Melun (B. Le Lorier); Hôpital Intercommunal, Montfermeil (M. Dehlinger, M. Echard, C. Mullard, P. Talon); Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier (P. Benos, N. Guigue, M. Lalonde); Hôpital Intercommunal, Montreuil (B. Heller-Roussin, C. Riehl, C. Winter); Maternité Régionale A. Pinard, Nancy (C. Hubert); Hôpital de Nanterre* (P. Karoubi); Hôpital de Nantes (C. Brunet-François, F. Mechinaud, V. Reliquet); Hôpital de Neuilly sur Seine* (D. Berterottiere); Hôpital l'Archet-Fondation Lenal, Nice (A. Bongain, A. Deville, E. Galiba, F. Monpoux); Hôpital Caremeau, Nîmes (J. Dendale-Nguyen); Hôpital Orléans (P. Arsac); Hôpital d'Orsay (S. Chanzy, C. De Gennes, V. Isart); Hôpital Bichat, Paris (H. Bastian, A. Batallan, M. Bodard, N. Elaoun, S. Matheron, M. Rajguru); Hôpital Boucicaud,* Paris (M. C. Lafay-Pillet); Hôpital Cochin-Port Royal, Paris (N. Boudjoudi, G. Firtion, M. Fouchet, I. Goupil, E. Pannier, D. Salmon); Hôpital Lariboisière, Paris (D. Ayral, N. Ciraru-Vigneron, G. Mouchino); Hôpital des Métallurgistes,* Paris (M. Rami); Institut Mutualiste Montsouris,* Paris (Carlus Moncomble); Hôpital Necker, Paris (S. Boucly, S. Blanche, V. Cayol, P. Frange, M. C. Mourey, S. Parat, C. Rouzioux, J. P. Viard); Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris (M. Bonmarchand, P. Bourse, N. Edeb, M. Harif, S. Marcel, A. Naime-Alix, F. Quetin, M. Pauchard, R. Tubiana); Hôpital Robert Debré, Paris (A. De Lauzanne, A. Faye, D. Garion, S. Leveille, M. Levine, A. Ottenwalter, A. Recoules); Hôpital Saint-Antoine, Paris (E. Bui, B. Carbonne, M. C. Meyohas, J. Rodriguez); Hôpital Notre-Dame du Bon-Secours, Paris (C. Aufrant); Hôpital Tenon, Paris (C. Duvivier, F. Hervé, M. G. Lebrétte, A. Maignan, J. P. Viard); Hôpital Trousseau, Paris (C. Dollfus, M. D. Tabone, G. Vaudre, A. Wallet); Hôpital Marechal Joffre, Perpignan (G. Bachelard; M. Medus); Hôpital Les Abymes, Pointe-à-Pitre (H. Bataille); Hôpital de Poissy-Saint-Germain en Laye* (M. C. Rousset); Hôpital René Dubos, Pontoise (G. Mouchino); Hôpital Américain, Reims (M. Munzer); Hôpital Charles Nicolle, Rouen (V. Brossard); Hôpital de Saint-Denis (M. C. Allemon, P. Bolot, S. Dandris, D. Ekoukou, N. Ghibaudo, M. A. Khuong); Hôpital Nord, Saint Etienne (K. Billiemaz); Hôpital de Saint Martin (F. Bissuel, V. Walter); Hôpital Esquirol,* Saint-Maurice (M. Robin); Hôpital de Sèvres* (L. Segard); Hôpital de Haute Pierre-Hôpital Civil, Strasbourg (M. Cheneau, N. Entz-Werle, J. Favreau, M. Partisani); C. M. C. Foch, Suresnes* (C. Botto); Hôpital Chalucet, Toulon (G. Hittinger); Hôpital Paule de Viguier, Toulouse (M. Antras, E. Armand, A. Berrebi, J. Tricoire); Hôpital Bretonneau, Tours (J. M. Besnier, P. Nau); Hôpital Brabois, Vandoeuvre les Nancy (L. Neimann); Hôpital Paul Brousse,* Villejuif (E. Dussaix); Hôpital de Villeneuve Saint Georges (A. Chacé, F. Guillot, I. Matheron, S. Tilouche). The asterisks signify the sites that participated in the study, but are now closed and do not include any more women.

Financial support. This work was supported by the French Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS).

Potential conflicts of interest. J. W. received grants from Viiv Healthcare and Abbot Laboratories. R. T. received support for travel to meetings from BMS, honoraria for lectures from Gilead France and BMS, and board membership from Gilead France. C. D. received support for travel to meetings by Janssen Cilag and has received honoraria for lectures and/or educational presentations by Viiv Healthcare, Abbott, MSD, BMS, and Boehringer. A. F. received support for travel to meetings from GSK and Wyeth Laboratories. C. R. received support for travel to meetings from Abbott Laboratories. S. B. received support for travel to meetings from Abbott Laboratories and honoraria for lectures and for development of educational presentations from Astellas, Boehringer Ingelheim, Glaxo-SmithKline, and Tibotec Laboratories. L. M. received honoraria for lectures from Gilead, Abbott, and Bristol-Myers-Squibb Laboratories.

All other authors: No reported conflicts. All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

- Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, et al. Transmission mère-enfant du VIH en France: l'impact majeur des stratégies de prevention:

- résultats de l'Enquête périnatale française ANRS-EPF. *Wkly Epidemiol Bull* **2008**; 14:98–101.
2. Delfraissy JF. Prise en charge thérapeutique des personnes infectées par le VIH. Rapport 2004. Recommandations du groupe d'expert, Cachan, France: Médecine-Sciences, Flammarion, **2004**.
 3. Blanche S, Tardieu M, Benhammou V, Warszawski J, Rustin P. Mitochondrial dysfunction following perinatal exposure to nucleoside analogues. *AIDS* **2006**; 20:1685–90.
 4. Ekouevi DK, Toure R, Becquet R, et al. Serum lactate levels in infants exposed peripartum to antiretroviral agents to prevent mother-to-child transmission of HIV: Agence Nationale de Recherches Sur le SIDA et les Hépatites Virales 1209 study, Abidjan, Ivory Coast. *Pediatrics* **2006**; 118:e1071–7.
 5. Wimalasundera RC, Larbalestier N, Smith JH, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *Lancet* **2002**; 360: 1152–4.
 6. Suy A, Martinez E, Coll O, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS* **2006**; 20:59–66.
 7. Hitti J, Andersen J, McComsey G, et al. Protease inhibitor-based antiretroviral therapy and glucose tolerance in pregnancy: AIDS Clinical Trials Group A5084. *Am J Obstet Gynecol* **2007**; 196:331.e1–7.
 8. Briand N, Mandelbrot L, Le Chenadec J, et al. No relation between in-utero exposure to HAART and intrauterine growth retardation. *AIDS* **2009**; 23:1235–43.
 9. Lorenzi P, Spicher VM, Laubereau B, et al. Antiretroviral therapies in pregnancy: maternal, fetal and neonatal effects. Swiss HIV Cohort Study, the Swiss Collaborative HIV and Pregnancy Study, and the Swiss Neonatal HIV Study. *AIDS* **1998**; 12:F241–7.
 10. Thorne C, Patel D, Newell ML. Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HIV-infected women treated with highly active antiretroviral therapy in Europe. *AIDS* **2004**; 18:2337–9.
 11. Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and premature delivery in diagnosed HIV-infected women in the United Kingdom and Ireland. *AIDS* **2007**; 21:1019–26.
 12. Grosch-Woerner I, Puch K, Maier RF, et al. Increased rate of prematurity associated with antenatal antiretroviral therapy in a German/Austrian cohort of HIV-1-infected women. *HIV Med* **2008**; 9:6–13.
 13. Rudin C, Spaenhauer A, Keiser O, et al. Antiretroviral therapy during pregnancy and premature birth: analysis of Swiss data. *HIV Med* **2011**; 12:228–35.
 14. Cotter AM, Garcia AG, Duthely ML, Luke B, O'Sullivan MJ. Is antiretroviral therapy during pregnancy associated with an increased risk of preterm delivery, low birth weight, or stillbirth? *J Infect Dis* **2006**; 193:1195–201.
 15. Kourtis AP, Schmid CH, Jamieson DJ, Lau J. Use of antiretroviral therapy in pregnant HIV-infected women and the risk of premature delivery: a meta-analysis. *AIDS* **2007**; 21:607–15.
 16. Tuomala RE, Shapiro DE, Mofenson LM, et al. Antiretroviral therapy during pregnancy and the risk of an adverse outcome. *N Engl J Med* **2002**; 346:1863–70.
 17. Patel K, Shapiro DE, Brogly SB, et al. Prenatal protease inhibitor use and risk of preterm birth among HIV-infected women initiating antiretroviral drugs during pregnancy. *J Infect Dis* **2010**; 201:1035–44.
 18. Fiore S, Newell ML, Trabattoni D, et al. Antiretroviral therapy-associated modulation of Th1 and Th2 immune responses in HIV-infected pregnant women. *J Reprod Immunol* **2006**; 70:143–50.
 19. Yanovski JA, Miller KD, Kino T, et al. Endocrine and metabolic evaluation of human immunodeficiency virus-infected patients with evidence of protease inhibitor-associated lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* **1999**; 84:1925–31.
 20. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* **2008**; 371:75–84.
 21. Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, et al. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *AIDS* **2008**; 22:289–99.
 22. Yeni P, ed. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandations du groupe d'experts. Cachan, France: Flammarion, Médecine-Sciences, **2006**.
 23. AIDS Clinical Trials Group. Table of grading severity of adult adverse experiences. Rockville, MD: Division of AIDS, National Institute of Allergy and Infectious Disease, Bethesda, **1996**.
 24. Centers for Disease Control. From the Centers for Disease Control and Prevention 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Jama* **1993**; 269(6):729–30.
 25. Rabe-Hesketh S, Skrondal A, Pickles A. Reliable estimation of generalized linear mixed models using adaptive quadrature. *Stata J* **2002**; 2:1–21.
 26. Stata Corporation. Stata 11.0 for Windows. College Station, TX: Stata Corporation, **2009**.
 27. Blondel B, Supernant K, Mazaubrun C, Bréart G. Enquête nationale périnatale: situation en 2003 et évolution depuis 1998. **2005**. Available at: http://www.perinat-france.org/upload/professionnelle/plan/enquete_nationale/enquete_perinatale_2003.pdf. Accessed 26 February 2012.
 28. Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2002**; 29:484–94.
 29. Townsend C, Schulte J, Thorne C, et al. Antiretroviral therapy and preterm delivery—a pooled analysis of data from the United States and Europe. *BJOG* **2010**; 117:1399–410.
 30. Powis KM, Kitch D, Ogbu A, et al. Increased risk of preterm delivery among HIV-infected women randomized to protease versus nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based HAART during pregnancy. *J Infect Dis* **2011**; 204:506–14.
 31. Foix-L'Hélias L, Ancel P-Y, Blondel B. Facteurs de risque de prématurité en France et comparaisons entre prématurité spontanée et prématurité induite: résultats de l'enquête nationale périnatale de 1995. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* **2000**; 29:55–65.
 32. Simon A, Warszawski J, Kariyawasam D, et al. Association of prenatal and postnatal exposure to lopinavir-ritonavir and adrenal dysfunction among uninfected infants of HIV-infected mothers. *JAMA* **2011**; 306:70–8.
 33. Watts DH, Balasubramanian R, Maupin RT Jr, et al. Maternal toxicity and pregnancy complications in human immunodeficiency virus-infected women receiving antiretroviral therapy: PACTG 316. *Am J Obstet Gynecol* **2004**; 190:506–16.
 34. Szyld EG, Warley EM, Freimanis L, et al. Maternal antiretroviral drugs during pregnancy and infant low birth weight and preterm birth. *AIDS* **2006**; 20:2345–53.
 35. Martin F, Taylor GP. Increased rates of preterm delivery are associated with the initiation of highly active antiretroviral therapy during pregnancy: a single-center cohort study. *J Infect Dis* **2007**; 196:558–61.

ANNEXE 3 : Article Cytolyses hépatiques dans EPF : prévalence et facteurs de risque

Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Meier F, Galiba E, Faye A, Blanche S, Mandelbrot L, and the ANRS-French Perinatal Cohort Study Group
High Risk of Liver Enzyme Elevation in Pregnant Women Receiving Protease Inhibitors.
Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston (USA) Feb 2016
Article soumis à Clinical Infectious Diseases

Hepatotoxicity in Pregnant Women Receiving Protease Inhibitors in the ANRS-French Perinatal Cohort

Authors: Jeanne Sibiude, Josiane Warszawski, Roland Tubiana, Jérôme Le Chenadec, Françoise Meier, Albert Faye, Stéphane Blanche, Laurent Mandelbrot, and the ANRS-French Perinatal Cohort Study Group

Names and affiliations of authors:

Jeanne Sibiude, Department of Obstetrics and Gynecology, APHP-Maternité Port Royal, Paris, 75014 France; Department of Epidemiology, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1018, Le Kremlin-Bicêtre 94270, France

Josiane Warszawski, Epidemiologist, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1018, Le Kremlin-Bicêtre 94270, France, INED, Paris, France, Univ Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre 94270, France

Roland Tubiana, Department of infectiology, APHP-GH Pitié Salpêtrière, Paris 75013, France ; Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 F-75005; INSERM- UMR_S 1136 Pierre Louis Institute of Epidemiology and Public Health, Paris France

Jérôme Le Chenadec, Statistician, Department of Epidemiology, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1018, Le Kremlin-Bicêtre 94270, France

Françoise Meier, Department of infectiology, APHP-Hôpital Louis Mourier, Colombes, 92700 France

Albert Faye, Professor, Department of Pediatrics, AP-HP Hôpital Robert Debré, Paris 75019, France; Univ Diderot Paris 7, Paris, France

Stéphane Blanche, Professor, Department of Pediatrics, Hôpital Necker, Paris, 75015 France; EA 7223: Évaluation Thérapeutique et Pharmacologie Périnatale et Pédiatrique, Univ Paris Descartes 5, Paris 75006, France

Laurent Mandelbrot, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Hôpital Louis Mourier, Colombes, 92700 France, Department of Epidemiology. Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1018, Le Kremlin-Bicêtre 94270, France. Univ Diderot Paris 7, Paris, France

Keywords: hepatotoxicity, PMTCT, antiretroviral treatment, protease inhibitors

Running title: Hepatotoxicity in HIV+ pregnant women.

Abstract

Background

High rates of liver enzyme elevation (LEE) in women receiving antiretroviral treatment (ART) during pregnancy have been reported, but the causes remain unclear. We sought to estimate the prevalence and risk factors of LEE in a national prospective multicenter cohort.

Methods

We studied 5748 HIV-infected pregnant women enrolled in the French Perinatal Cohort between 2005 and 2014, who were treated with ART, and were not co-infected with hepatitis B or C. Adjusted hazard ratio (aHR) were estimated using multivariate Cox models with ART as time-dependent variable, separately for women on ART at conception and those starting ART during pregnancy.

Results

Liver enzyme elevation (grade>1) was observed in 16.7%, grade 3-4 in 2%. Among women with LEE, 6.7% had preeclampsia, 9.8% intrahepatic cholestasis of pregnancy, and 1.4% other identified medical causes. Most LEE (82.2%) were unexplained: some were the reason for hospitalizations (n=51), cesarean sections (13), labor induction (3), and changes in ART regimens (49). Unexplained LEE was associated with higher risk of preterm births, $p<0.001$.

Among women already on ART at conception, risk of unexplained LEE was lower with NNRTI-based regimens than with protease inhibitors (PI)-based regimens: aHR=0.4[0.2-0.8], with no difference among the PI drugs. Among the women initiating ART during pregnancy, most regimens included PIs (89%). Compared with lopinavir/r, LEE were less frequent for nelfinavir: aHR=0.4[0.2-0.8] and did not differ significantly for other PIs.

Conclusion

Rates of LEE among HIV-infected women are high and impact obstetrical care management. Our results suggest a possible role of PIs needing further investigation.

Introduction

Strategies for the prevention of mother-to-child transmission of HIV, including antiretroviral treatment (ART) during pregnancy have led to a decrease in the rate of mother-to-child transmission from about 20% to less than 1% in industrialized countries [1]. With the widespread use of ART, there is ongoing concern that these medications can have adverse effects for the child exposed in utero [2], increase poor pregnancy outcomes[3–5], and lead to toxicities in the pregnant woman herself [6].

Liver enzyme elevations (LEE) have been reported to be more frequent in pregnant than in non-pregnant HIV-infected women, independently of ART exposure [7,8], whereas in non-HIV-infected women, liver enzymes are similar in pregnant and non-pregnant women [9–11]. Surveillance including liver enzymes is recommended for all HIV+ pregnant women in France [12].

Hepatotoxicity of ART during pregnancy has been previously studied and nevirapine especially incriminated in some studies [13–15], while others found more mitigated results [16–18]. To our knowledge, there has not been specific study of the other ART drugs individually, except for a preliminary report where we showed an association between ritonavir use and LEE [5]. We also observed that LEE was associated with preterm birth.

Finally, when investigating hepatotoxicity of ART in pregnancy, no study to date has clearly separated the two very different situations of women initiating treatment during pregnancy or already on therapy. The potential mechanisms of toxicity differ as well as the clinical issues which are in the first situation to choose the least toxic treatment for initiation, and in the latter where the tolerance of the treatment has already been established, to know the risks related to pregnancy and whether a change of treatment should be considered.

Our objective was to estimate the prevalence and risk factors for liver enzyme elevation in HIV-infected pregnant women, and especially the role of ART, in two different populations: women already taking ART at conception and women initiating ART during pregnancy.

Methods

The French Perinatal Cohort (EPF ANRS CO1).

EPF is an ongoing multicenter national cohort that has enrolled since 1986 all HIV-positive pregnant women delivering in the 90 participating centers [1]. Informed consent was obtained for all mothers, and standardized questionnaires were filled out by clinicians at delivery. Clinicians were encouraged to follow regularly updated French national guidelines, which include regular monitoring of liver biomarkers throughout pregnancy [12]. EPF is made of two components, a detailed component (CO1), with collection of biological data, including 2/3 of the women in EPF, and a less detailed component (CO11), including 1/3 of the women. EPF coverage is estimated to be around 70% of the HIV-infected women in metropolitan France.

Study population.

Among 6,597 pregnancies included in the EPF-CO1 detailed component from 2005 to 2015, we excluded 195 women with no liver enzyme record, 70 women with insufficient data on HIV treatment, 68 women untreated during pregnancy, and 516 women with active hepatitis B or C, resulting in 5748 women included in the analysis (Figure 1).

Variables

Liver function tests, ie aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were recorded in the Case Report Form 3 times during pregnancy, with corresponding dates, once before 28 weeks gestation (WG), once after 28 WG and once at delivery (or if no test was available on the day of delivery, at the latest seven days after delivery). Liver enzyme elevation (LEE) was defined as AST or ALT at least 1.25 x upper limit of normal (ULN, assumed to be 40 IU/L), and then graded from 1 to 4 on a standardized scale [19].

All ART combinations were recorded with dates at initiation and end. We studied the exposure to each drug separately, and in combinations. The cause for all changes in ART combination was recorded. Change in ART was considered as due to LEE if notified as such or if happening in the 15 days following the occurrence of LEE.

Obstetrical complications of interest were recorded specifically (preeclampsia, intrahepatic cholestasis of pregnancy) with the corresponding date of onset, or in open questions (cause for hospitalization, cause for cesarean section or induction of delivery). Preterm delivery was defined as birth occurring before 37 weeks gestation.

Characteristics of HIV disease included number of years since diagnosis, highest Centers for Disease Control and Prevention (CDC) clinical category [20], and all viral load and CD4 cell counts during the pregnancy.

Statistical analysis.

All analyses were performed separately for women who were already receiving ART at conception (N=2972) and those initiating ART during pregnancy (N=2776). We described the rate and grades of liver enzyme elevation (LEE) in the study population, and the potential cause of LEE reported in the questionnaires when available, as well as the number of hospitalizations, induction of delivery or cesarean

sections and change in treatment directly attributed to LEE in clinical charts. We studied the association with preterm delivery and with mode of delivery using χ^2 test.

For the analysis of association with ART, we considered a restricted study population: we excluded women with preeclampsia (N=155) or cholestasis of pregnancy (N=117), and women whose first reported liver biomarker measure was abnormal (N=212), resulting in 2729 patients treated at conception and 2535 patients initiating ART during pregnancy (Figure 1). Risk factors for LEE were analyzed using survival analyses (Kaplan-Meier and the Cox proportional hazard model), generating adjusted hazard ratios (aHRs), in which onset of LEE was considered as the studied event. For patients already treated at conception, follow-up started at the date of conception and patients were censored at the date of last available liver function test or at the first change of ART regimen, thus only the drug already taken when the pregnancy occurred was taken into consideration. For patients initiating ART during pregnancy, we restricted the analysis to women starting a PI-based treatment because it concerned most women (89%) as a result of the French guidelines for PMTCT; follow-up started at ART initiation, patients were censored at the date of last available LFT and ART combinations were used as a time-varying variable. The initial model was adjusted systematically for parity to account for repeated pregnancies, and for factors found to be associated with LEE in bivariable analyses ($P < .20$). Sensitivity analyses were conducted by varying different parameters for the association between LEE and ART type, particularly by keeping in the analysis patients with preeclampsia or cholestasis of pregnancy, by keeping patients with first LFT value $> 1.25 \times \text{ULN}$, by excluding patients receiving rarely prescribed ART ($N < 80$), or by considering as an event only LEE grades 2-4.

Data were analyzed using Stata software, version 14.0.[21]

Results

Maternal characteristics. In our study population, most women were originally from Sub-Saharan Africa (79%), less than 1% had past or active drug use, about 4% were current smokers (more than 10 cigarettes/day), 1% had alcohol use during pregnancy, and 14% were obese (pre-pregnancy BMI > 30). About $\frac{1}{4}$ of women were primiparous and 2% were expecting a twin pregnancy.

Concerning immuno-virological characteristics and ART, women differed greatly per treatment group: already treated at conception or initiating ART during pregnancy as shown in Table 1.

The median time between HIV diagnosis and current pregnancy was 7 years for women already treated vs 3 years for women starting ART during pregnancy, $p < 0.001$. First viral load (VL) in pregnancy was < 50 copies/mL for 74% of women treated at conception whereas 62% of patients initiating treatment during pregnancy had a first VL > 1000 copies/mL. Median CD4 counts were respectively 457 and 392 cell/mm³ ($p < 0.01$).

Rates of LEE. Among the 5,748 patients, 959 (16.7%) developed any LEE during pregnancy (grade 1-4) and 112 (2%) developed severe LEE (grade 3-4; Fig 2). The percentage of LEE did not differ significantly between patients already treated at conception (16.2%) and patients initiating treatment during pregnancy (17.3%, $p = 0.26$). The incidence of grades 1, 2 or 3-4 did not differ between the two groups.

Attributed causes. The attributed causes of LEE were preeclampsia for 6.7% of patients (N=64), intrahepatic cholestasis of pregnancy for 9.8% of patients (N=94) and other conditions such as bile duct obstruction, sickle cell disease, malaria, or cytomegalovirus infection in 1.4% of cases (N=13; Table 2). There was no case of acute fatty liver, lactic acidosis or voluntary intoxication. Most LEE (82.2%; $n = 788$) were not attributed to an obstetrical cause or an identified medical condition.

Consequences. Among these 788 patients with LEE not explained by an obstetrical or medical condition, LEE was the reason for 51 hospitalizations (for a median of 6 days, IQR 4-9 days), 13 cesarean sections, 3 inductions of labor, and 49 changes in ART regimens. Attributed causes of LEE and consequences of unexplained LEE were similar among the two groups of patients, as shown in table 2, except for change

in ART due to LEE which was more frequent in patients already treated at conception (8.1% vs 4.3%, $p=0.03$).

Finally, after excluding all patients with preeclampsia or cholestasis of pregnancy, preterm birth rate was higher among women with unexplained LEE than for women without LEE (16.9% vs 11.5%, $p<0.001$), and this was found both for women on ART at conception and for women initiating ART during pregnancy. There was no difference in mode of delivery between women with or without LEE (49.2% of cesarean delivery vs 49.8%, $p=0.75$).

Associations of antiretroviral therapy with LEE.

Type of treatment and molecules received differed according to timing of ART. Women already treated at conception received mostly PI-based ART (65%) or NNRTI-based ART (24%) whereas when initiating ART during pregnancy they mostly received PI-based ART (89%). The PI molecules were more varied in the group of patients treated at conception (39% lopinavir/r, 27% atazanavir/r and 14% darunavir/r) than in those starting ART during pregnancy (72% received lopinavir/r). Finally, 38% of women in group 1 received more than one combination of ARV during pregnancy versus 18% in group 2.

In women already treated at conception, LEE grade 1-4 was significantly associated with type of initial combination in univariate and multivariate analysis ($p=0.001$), less frequent in women receiving NNRTI based regimens ($aHR=0.5$ [0.3-0.8], incidence rate=6/100 person-years), and more frequent in women with both PI/NNRTI therapy ($aHR=2.7$ [1.3-5.5], incidence rate=35/100 PY), when compared to PI based regimens (incidence rate=14/100 PY) (Table 3). When studying specific molecules, no difference was noted among PIs (Table 4). LEE was lower among women treated with nevirapine than lopinavir/r, independently of NRTIs ($aHR=0.4$ [0.3-0.8], adjusted for twin pregnancies and number of years since diagnosis of HIV). LEE was not significantly associated with any NRTI drugs in multivariate analysis, after adjusting on the third agent. LEE occurred more frequently in case of twin than single pregnancy. No other variables were significantly associated with LEE.

In women initiating ART during pregnancy, we restricted the analysis to women starting a PI-based treatment concerning most women as described above (Table 5). There was a trend toward an association between the risk of LEE and the type of PI ($p=0.08$). Compared with lopinavir/r (incidence rate = 40/100 person-years), it was significantly lower with nelfinavir ($aHR=0.4$ [0.2-0.8], incidence rate=11/100 PY), tended to be lower with atazanavir/r ($aHR=0.6$ [0.3-1.04], incidence rate=28/100 PY), and tended to be higher with saquinavir/r ($aHR=1.5$ [0.96-2.4], incidence rate=52/100 PY). There was no association with any NRTI drugs. In this group, risk of LEE was also independently associated with twin pregnancy, but also with body mass index (higher for obese patients, $aHR=1.6$ [1.1-2.2]); and with first viral load (the risk was lower for women with first viral load < 50 copies/mL: $aHR=0.6$ [0.4-0.9]).

Results remained the same in sensitivity analyses. When considering only LEE grades 2-4, ORs for the associations described above stayed on the same order, although they did not always reach significance, as numbers decreased.

Discussion

This study aimed to estimate the rate of liver enzyme elevation (LEE) in a national cohort of HIV-positive pregnant women treated by antiretroviral treatment, study their potential consequences for the course of pregnancy and whether specific ARV drugs may be associated with their occurrence.

The rate of LEE was around 17% both for women already receiving ART at conception and for women initiating treatment during pregnancy. The majority (82%) of these LEE were not explained by an obstetrical cause or identified medical condition. Women with hepatitis B or C were excluded and no underlying liver diseases were reported. Thus, the leading cause is likely to be drug toxicities, although

proof of causality is lacking. Two previous studies reported LEE rates among HIV-positive pregnant women, with results on the same order. Ouyang and Huntington found rates of 14% and 12% respectively among HIV-positive pregnant women[7,8]. Both studies found higher rates of LEE in pregnant than in non-pregnant HIV-positive women. In contrast, no physiological increase in LEE during pregnancy has been described in HIV-negative women[10,11]. Some authors have even described transaminase levels as declining during pregnancy due to plasma volume expansion [22,23].

We sought to evaluate if occurrence of unexplained LEE in our population had consequences on pregnancy outcomes. Among women with LEE of an unidentified cause, 6% required hospitalization, 5% required a change in ART for LEE, and 2% had an induction of labor or cesarean section decided solely because of LEE.

We found a significantly higher risk of preterm birth with than without LEE, after exclusion of pregnancy complications such as preeclampsia or cholestasis of pregnancy. This association had previously been reported in the French perinatal cohort[5] among women initiating ART during pregnancy. In the current study, the association between LEE and preterm birth was also observed in women already receiving ART at conception. The association between LEE and preterm birth has never been described in HIV-negative women, however, the few studies that have routinely collected liver function tests in women did not report gestational age at delivery [9,10].

The association between combination ART regimens and preterm birth has been reported in numerous cohort studies and two randomized controlled trials [5,24–26]. A recent randomized trial has reported both a higher rate of LEE $\geq$ grade 2 and a higher rate of preterm birth for women receiving combination ART containing lopinavir/r compared to zidovudine alone[26]. It remains unclear whether LEE is a cause of prematurity, an intermediate factor, or a marker of yet unknown conditions which lead to preterm delivery.

The large EPF cohort offered us the opportunity to conduct, for the first time, a systematic analysis of independent associations of each drugs present at conception, or initiated during pregnancy with the subsequent occurrence of LEE. Among women on ART at the time of conception, we did not find that any particular PI was specifically associated with an increased risk of LEE. The incidence of LEE was higher with PI-based compared to NNRTI-based therapies. This observation has not yet been described in pregnant women, but has been reported in the few studies seeking to compare PI and NNRTI outside of pregnancy [27,28]. Huntington observed that duration on PI regimen increased the risk of liver toxicity, while duration on NNRTI regimen decreased this risk[8], which is coherent with the mechanisms of liver toxicity: mainly immuno-allergic for NNRTI vs direct toxicity for PIs [29]. Several older studies described hepatic toxicity linked to nevirapine use during pregnancy[13–15], which we specifically did not find in the group treated at conception, in accordance with recent studies [8,18]. However, it was not possible to compare nevirapine to lopinavir in the group of women initiating ART during pregnancy, because of small numbers.

In the group of women starting ART during pregnancy, the only significant association observed was a lower risk of LEE with initiation of nelfinavir during pregnancy when compared to lopinavir. This is consistent with results outside of pregnancy which showed that all PIs may be responsible for LEE, but that nelfinavir was described as the least toxic (28).

The relation between ART and LEE which we observed during pregnancy seems consistent with toxicities described outside pregnancy, but does not explain the higher rates of LEE during pregnancy. An interaction between ART and pregnancy may exist, increasing the toxic effects of ART in pregnant women. One hypothesis could be that pregnancy modifies drug concentrations and distribution. However, blood levels of protease inhibitors have been shown to usually decrease in the third trimester of pregnancy [32,33]. Routine therapeutic drug monitoring was not available for the present study. To date, no study has reported the association between drug plasma concentrations and LEE in pregnant women.

The possibility of interactions between hormones of pregnancy that are metabolized by the liver, such as progesterone, and ART could also explain the higher rate of LEE in pregnancy. It has already been shown that drug-induced hepatotoxicity is higher among women than among men, [34]. Moreover, progesterone levels have a role in maintaining pregnancy by suppressing smooth muscle activity in the uterus [35,36] and have been shown recently to be modified in HIV-positive pregnant women on PI-based treatment [37]. The progesterone pathway must therefore be further explored as it could explain both the association between PI and LEE, and LEE with preterm birth.

Our study has several strengths. It is the largest to study LEE among pregnant women on ART [7,8], and the only one to be performed in a nationwide cohort. We studied separately women already treated at conception and those initiating treatment during pregnancy, as toxicity mechanisms may differ among these two groups, and we performed a systematic study of all molecules in each group. Liver enzymes were tested regularly during pregnancy, and 3 measurements were collected in the cohort at planned timing, ensuring that no classification bias was created. This is also the first study with information on obstetrical conditions that may be associated with LEE, enabling the differentiation between unexplained/possibly ART related LEE and obstetrical LEE. The power to detect an association between ART and LEE is therefore greater.

Our study also presents some limitations. Since most women initiating ART received PI-based regimens, according to French guidelines, we could not make comparisons between exposures to each of the classes of antiretroviral drugs. Another limitation was the potential residual confounding of concomitant medications as they were not recorded in the case report form.

In conclusion, our study highlights the high rate of LEE in HIV-positive pregnant women, and the impact it has on pregnancy and obstetrical management. The association between PI-based treatment and the occurrence of LEE needs further study to elucidate potential mechanisms.

References

1. Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, et al. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *Aids* **2008**; 22:289–299.
2. Sibiude J, Warszawski J, Blanche S. Tolerance of the newborn to antiretroviral drug exposure in utero. *Expert Opin. Drug Saf.* **2015**; 14:643–54.
3. Wimalasundera RC, Larbalestier N, Smith JH, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *Lancet* **2002**; 360:1152–1154.
4. Suy A, Martínez E, Coll O, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. *Aids* **2006**; 20:59–66.
5. Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, et al. Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost? *Clin. Infect. Dis.* **2012**; 54:1348–60.
6. Hitti J, Andersen J, McComsey G, et al. Protease inhibitor-based antiretroviral therapy and glucose tolerance in pregnancy: AIDS Clinical Trials Group A5084. *Am J Obs. Gynecol* **2007**; 196:331 e1-7.
7. Ouyang DW, Shapiro DE, Lu M, et al. Increased risk of hepatotoxicity in HIV-infected pregnant women receiving antiretroviral therapy independent of nevirapine exposure. *AIDS* **2009**; 23:2425–30.

8. Huntington S, Thorne C, Newell M-L, et al. Pregnancy is associated with elevation of liver enzymes in HIV-positive women on antiretroviral therapy. *AIDS* **2015**;
9. Bacq Y, Zarka O, Bréchet JF, et al. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology* **1996**; 23:1030–4.
10. Al-Kuran O, Al-Mehaisen L, Beitawi S, Amarin ZO. Validation of reportable indices of haematology, liver and renal function in pregnancy for the Middle Eastern population. *J. Obstet. Gynaecol.* **2012**; 32:639–42.
11. Joshi D, James A, Quaglia A, Westbrook RH, Heneghan MA. Liver disease in pregnancy. *Lancet (London, England)* **2010**; 375:594–605.
12. Morlat P. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Rapport 2013.
13. Hitti J, Frenkel LM, Stek AM, et al. Maternal toxicity with continuous nevirapine in pregnancy: results from PACTG 1022. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2004**; 36:772–6.
14. Lyons F, Hopkins S, Kelleher B, et al. Maternal hepatotoxicity with nevirapine as part of combination antiretroviral therapy in pregnancy. *HIV Med.* **2006**; 7:255–60.
15. Marazzi MC, Germano P, Liotta G, et al. Safety of nevirapine-containing antiretroviral triple therapy regimens to prevent vertical transmission in an African cohort of HIV-1-infected pregnant women. *HIV Med.* **2006**; 7:338–44.
16. Joy S, Poi M, Hughes L, et al. Third-trimester maternal toxicity with nevirapine use in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **2005**; 106:1032–8.
17. McKoy JM, Bennett CL, Scheetz MH, et al. Hepatotoxicity associated with long- versus short-course HIV-prophylactic nevirapine use: a systematic review and meta-analysis from the Research on Adverse Drug events And Reports (RADAR) project. *Drug Saf.* **2009**; 32:147–58.
18. Ouyang DW, Brogly SB, Lu M, et al. Lack of increased hepatotoxicity in HIV-infected pregnant women receiving nevirapine compared with other antiretrovirals. *AIDS* **2010**; 24:109–14.
19. AIDS Clinical Trials Group. Table of grading severity of adult adverse experiences. Rockville, MD : Division of AIDS, National Institute of Allergy and Infectious Disease, Bethesda, 1996.
20. Center for Disease Control. From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Jama* **1993**; 269:729–730.
21. StataCorporation. Stata Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP. **2015**;
22. Walker I, Chappell LC, Williamson C. Abnormal liver function tests in pregnancy. *BMJ* **2013**; 347:f6055.
23. Moore M, Nelson-Piercy C. Pregnancy and the liver. *Br. J. Hosp. Med. (Lond).* **2011**; 72:M170-3.
24. Mesfin YM, Kibret KT, Taye A. Is protease inhibitors based antiretroviral therapy during pregnancy associated with an increased risk of preterm birth? Systematic review and a meta-analysis. *Reprod. Health* **2016**; 13:30.
25. Powis KM, Kitch D, Ogwu A, et al. Increased risk of preterm delivery among HIV-infected women

- randomized to protease versus nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based HAART during pregnancy. *J Infect Dis* **2011**; 204:506–514.
26. Fowler MG, Qin M, Fiscus SA, et al. Benefits and Risks of Antiretroviral Therapy for Perinatal HIV Prevention. *N. Engl. J. Med.* **2016**; 375:1726–1737.
 27. Núñez M, Lana R, Mendoza JL, Martín-Carbonero L, Soriano V. Risk factors for severe hepatic injury after introduction of highly active antiretroviral therapy. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2001**; 27:426–31.
 28. De Luca A, Cozzi-Lepri A, Antinori A, et al. Lopinavir/ritonavir or efavirenz plus two nucleoside analogues as first-line antiretroviral therapy: a non-randomized comparison. *Antivir. Ther.* **2006**; 11:609–18.
 29. Núñez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. *J. Hepatol.* **2006**; 44:S132-9.
 30. Kontorinis N, Dieterich D. Hepatotoxicity of antiretroviral therapy. *AIDS Rev.* 5:36–43.
 31. Lapadula G, Costarelli S, Chatenoud L, et al. Risk of Liver Enzyme Elevation During Treatment With Ritonavir-Boosted Protease Inhibitors Among HIV-Monoinfected and HIV/HCV-Coinfected Patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2015**; 69:312–8.
 32. Else LJ, Douglas M, Dickinson L, Back DJ, Khoo SH, Taylor GP. Improved oral bioavailability of lopinavir in melt-extruded tablet formulation reduces impact of third trimester on lopinavir plasma concentrations. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**; 56:816–24.
 33. Ivanovic J, Bellagamba R, Nicastrì E, et al. Use of darunavir/ritonavir once daily in treatment-naïve pregnant woman: pharmacokinetics, compartmental exposure, efficacy and safety. *AIDS* **2010**; 24:1083–4.
 34. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N. Engl. J. Med.* **2003**; 349:474–85.
 35. Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, Zingg HH. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* **1998**; 392:509–12.
 36. Astle S, Slater DM, Thornton S. The involvement of progesterone in the onset of human labour. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2003**; 108:177–81.
 37. Papp E, Mohammadi H, Loutfy MR, et al. HIV protease inhibitor use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. *J. Infect. Dis.* **2015**; 211:10–8.

Table 1 Maternal characteristics according to treatment group. ANRS-EPF CO1 2005-2014

Maternal characteristics	Treated at conception		Started ART during pregnancy		p
	n	%	n	%	
Maternal age (years)					
< 25	129	4,7	315	12,4	<0.001
25-39	2293	84,0	2085	82,2	
≥ 40	306	11,2	135	5,3	
Geographical Origin					
Metropolitan France	332	12,2	235	9,3	0.002
Sub-Saharan Africa	2128	78,0	2024	79,8	
Other	265	9,7	272	10,7	
<i>missing</i>	4	0,1	4	0,2	
Past or active intravenous drug use					
No	2698	98,9	2508	98,9	0.92
Yes	23	0,8	22	0,9	
<i>missing</i>	8	0,3	5	0,2	
Smoking during pregnancy					
No	2629	96,3	2407	95,0	0.002
Yes	76	2,8	111	4,4	
<i>missing</i>	24	0,9	17	0,7	
Alcohol use during pregnancy					
No	2679	98,2	2470	97,4	0.01
Yes	21	0,8	38	1,5	
<i>missing</i>	29	1,1	27	1,1	
Body Mass Index (kg/m2)					
≤ 18.5	101	3,7	103	4,1	0.58
18.5-30	2105	77,1	1892	74,6	
> 30	388	14,2	335	13,2	
<i>missing</i>	135	4,9	205	8,1	
Parity					
Primiparous	604	22,1	738	29,1	<0.001
Multiparous	2113	77,4	1785	70,4	
<i>missing</i>	12	0,4	12	0,5	
Twin pregnancy					
No	2661	97,5	2474	97,6	0.95
Yes	62	2,3	57	2,2	
<i>missing</i>	6	0,2	4	0,2	
Highest CDC category					
A/B	1975	72,4	2172	85,7	<0.001
C	338	12,4	107	4,2	
<i>missing</i>	416	15,2	256	10,1	
Number of years HIV+					
≤ 1	158	5,8	1046	41,3	<0.001
2-5	951	34,8	773	30,5	
6-10	999	36,6	510	20,1	
>10	606	22,2	199	7,9	
<i>missing</i>	15	0,5	7	0,3	
First CD4 count/mL					
<200	185	6,8	290	11,4	<0.001
200-499	1346	49,3	1386	54,7	
≥500	1101	40,3	758	29,9	
<i>missing</i>	97	3,6	101	4,0	
First viral load (copies/mL)					
< 50	2016	73,9	371	14,6	<0.001
50-999	358	13,1	479	18,9	
≥ 1000	260	9,5	1583	62,4	
<i>missing</i>	95	3,5	102	4,0	

Type of first ART					
NRTI monotherapy	2	0,1	57	2,2	<0.001
NRTI dual therapy	28	1,0	103	4,1	
NRTI triple therapy	150	5,5	5	0,2	
PI +/-NRTI	1763	64,6	2261	89,2	
NNRTI +/- NRTI	654	24,0	66	2,6	
PI + NNRTI +/- NRTI	41	1,5	2	0,1	
Other (integrase or fusion inhibitors)	91	3,3	41	1,6	
First PI					
Two PIs	31	1,7	5	0,2	<0.001
Darunavir/r	253	13,7	95	4,1	
Fosamprenavir/r	107	5,8	25	1,1	
Atazanavir/r	501	27,1	110	4,8	
Indinavir/r	40	2,2	55	2,4	
Saquinavir/r	53	2,9	129	5,6	
Lopinavir/r	716	38,8	1649	71,9	
Atazanavir	88	4,8	20	0,9	
Nelfinavir	42	2,3	198	8,6	
other	15	0,8	6	0,3	
First NNRTI					
Nevirapine	424	23,0	58	2,5	0.001
Efavirenz	239	12,9	8	0,3	
Rilpivirine	12	0,7	1	0,0	
Etravirine	30	1,6	4	0,2	
First NRTI					
Zidovudine	827	30,3	1938	76,4	<0.001
Lamivudine	1493	54,7	2030	80,1	<0.001
Tenofovir	1151	42,2	277	10,9	<0.001
Emtricitabine	991	36,3	255	10,1	<0.001
Abacavir	723	26,5	121	4,8	<0.001
Didanosine	193	7,1	36	1,4	<0.001
Stavudine	42	1,5	14	0,6	<0.001
First other treatment					
Raltegravir	78	2,9	41	1,6	0.002
Enfuvirtide	6	0,2	2	0,1	0.19
Time of first-line initiation (gestational weeks)					
< 14			525	20,7	
14-27			1551	61,2	
≥ 28			459	18,1	
Previous ART					
No			1439	56,8	
Yes			1073	42,3	
missing			23	0,9	
Number of lines of ART					
1	1681	61,6	2090	82,4	<0.001
2	844	30,9	372	14,7	
≥3	204	7,5	73	2,9	

ART: antiretroviral treatment; CDC: center for disease control; NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NNRTI: non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor

Table 2 Attributed causes and consequences of LEE – ANRS-EPF CO1 2005-2014

	Treated at conception		Starting during pregnancy	
	N = 480	%	N = 479	%
Known factor associated with LEE				
Preeclampsia	38	7.9	26	5.4
Cholestasis of pregnancy	42	8.8	52	10.9
Other	7	1.5	6	1.3
Unidentified cause	393	81.9	395	82.5
Potential impact of LEE of unidentified cause on the course of pregnancy				
	N=393	% ^a	N=395	% ^a
Induction or cesarean section	7	1.8	9	2.3
Hospitalization to explore LEE	27	6.9	24	6.1
Change in ART	32	8.1	17	4.3

^a: % among LEE of unidentified causes; ART: antiretroviral treatment; LEE: liver enzyme elevation (grade ≥ 1)

Table 3: Association of liver enzyme elevation (grade 1-4) during pregnancy with type of antiretroviral combinations present at time of conception. *ANRS-EPF CO1 2005-2014*

Maternal characteristics	Bivariable analysis			Multivariable analysis		
	HR	[95%CI]	p	AHR	[95% CI]	p
Type of ART at conception						
NRTI dual therapy	2.5	[0.6-10.1]	0.001	2.5	[0.6-10.1]	0.001
NRTI triple therapy	0.2	[0.03-1.4]		0.2	[0.03-1.6]	
PI +/-NRTI	1	ref		1	ref	
NNRTI +/- NRTI	0.4	[0.3-0.7]		0.4	[0.3-0.7]	
PI + NNRTI +/- NRTI	2.8	[1.4-5.8]		2.7	[1.3-5.5]	
Other (integrase or fusion inhibitors)	0.7	[0.3-1.9]		0.7	[0.2-1.8]	
Maternal age (years)						
< 25	0.8	[0.4-1.8]	0.88			
25-39	1	ref				
≥ 40	1.0	[0.6-1.7]				
Geographical Origin						
Metropolitan France	1	ref	0.99			
Sub-Saharan Africa	1.0	[0.7-1.6]				
Other	1.0	[0.6-1.9]				
Past or active IV drug use (Yes vs No)	1.6	[0.4-6.5]	0.50			
Smoking during pregnancy (Yes vs No)	1.1	[0.5-2.4]	0.90			
Alcohol use during pregnancy (Yes vs No)	1.0	[0.1-6.9]	0.97			
Body Mass Index (kg/m2)						
< 18.5	1.0	[0.5-2.1]	0.91			
18.5-30	1	ref				
> 30	1.1	[0.7-1.7]				
Parity (multiparous vs nulliparous)	0.9	[0.6-1.2]	0.41			
Twin pregnancy						
No	1	ref	0.001	1	ref	0.001
Yes	3.7	[1.9-7.3]		3.5	[1.7-7.1]	
Nb years HIV+						
≤ 1	1.6	[0.8-3.1]	0.19	1.5	[0.8-3.0]	0.21
2-5	1	ref		1	ref	
6-10	1.3	[0.9-1.9]		1.3	[0.9-1.9]	
>10	1.5	[1-2.2]		1.5	[0.99-2.2]	
First CD4 count in pregnancy (/dL)						
< 200	1.2	[0.6-2.5]	0.21			
200-499	1	ref				
≥ 500	1.3	[0.97-1.8]				
First viral load in pregnancy (copies/mL)						
< 50	1.1	[0.7-1.8]	0.82			
50-999	1	ref				
≥ 1000	0.9	[0.4-2.0]				

ART: antiretroviral treatment; NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NNRTI: non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor; HR : hazard ratio ; Cox proportional hazards model, t0 = date of conception, event = occurrence of liver enzyme elevation (grade 1-4), censoring at last blood test available or first change in ART sequence. AHR = adjusted Hazard Ratio, adjusting for parity, twin pregnancy and number of years since diagnosis of HIV infection.

Table 4: Association of liver enzyme elevation (grade 1-4) during pregnancy with specific ART drugs present at conception. ANRS-EPF CO1 2005-2014

Maternal characteristics	Bivariable analysis			Multivariable analysis		
	HR	[95%CI]	p	AHR	[95% CI]	p
3 rd agent						
Two PIs	0.6	[0.1-4.3]	<0.001	0.6	[0.1-4.6]	0.15
Darunavir/r	1.0	[0.6-1.7]		0.9	[0.5-1.7]	
Fosamprenavir/r	0.8	[0.4-1.7]		0.8	[0.4-1.7]	
Atazanavir/r	1.2	[0.8-1.8]		1.1	[0.7-1.7]	
Indinavir/r	NA			NA		
Saquinavir/r	1.6	[0.8-3.3]		1.3	[0.7-2.8]	
Lopinavir/r	1	ref		1	ref	
Atazanavir	0.6	[0.2-1.9]		0.5	[0.2-1.6]	
Nelfinavir	1.2	[0.4-3.3]		1.3	[0.5-3.6]	
Nevirapine	0.4	[0.2-0.7]		0.4	[0.3-0.8]	
Raltegravir	0.5	[0.1-3.3]		0.3	[0.1-2.6]	
None (3NRTIs)	0.2	[0.1-1.5]		0.2	[0.1-1.9]	
NRTI						
Zidovudine (yes vs no)	0.6	[0.4-0.8]	0.002	0.7	[0.4-1.4]	0.34
Lamivudine (yes vs no)	0.7	[0.5-0.92]	0.02	1.5 ^a	[0.8-2.8]	0.26
Tenofovir (yes vs no)	1.1	[0.8-1.5]	0.51	1.0	[0.5-1.8]	0.90
Emtricitabine (yes vs no)	1.4	[1.0-1.9]	0.05			
Abacavir (yes vs no)	1.1	[0.8-1.5]	0.52	1.0	[0.6-1.9]	0.94
Didanosine (yes vs no)	1.8	[1.1-3.0]	0.02	1.7	[0.8-3.5]	0.15

ART: antiretroviral treatment; NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor

HR : hazard ratio ; Cox proportional hazards model, t0 = date of conception, event = occurrence of liver enzyme elevation (grade 1-4), censoring at last blood test available or first change in ART sequence. AHR = adjusted Hazard Ratio, adjusting for parity, twin pregnancy and number of years since diagnosis of HIV infection. ^a: in multivariate analysis, emtricitabine and lamivudine were grouped as one category as they were mutually exclusive.

Table 5: Association of liver enzyme elevation (grade 1-4) during pregnancy with specific ART drugs started during pregnancy. ANRS-EPF CO1 2005-2014

Maternal characteristics	Bivariable analysis			Multivariable analysis		
	HR	[95%CI]	p	AHR	[95% CI]	p
Protease inhibitor						
Two PIs	2.9	[0.9-9.1]	0.05	1.6	[0.4-6.5]	0.08
Darunavir/r	1.1	[0.7-1.8]		1.2	[0.7-2.0]	
Fosamprenavir/r	1.4	[0.6-3.2]		1.3	[0.5-3.2]	
Atazanavir/r	0.6	[0.3-1.0]		0.6	[0.3-1.04]	
Indinavir/r	0.7	[0.2-1.8]		0.7	[0.2-2.2]	
Saquinavir/r	1.2	[0.8-1.9]		1.5	[0.96-2.4]	
Lopinavir/r	1	ref		1	ref	
Atazanavir	1.1	[0.3-4.6]		1.1	[0.3-4.6]	
Nelfinavir	0.3	[0.1-0.7]		0.4	[0.2-0.8]	
Other	0.9	[0.1-6.5]		1.3	[0.2-9.6]	
NRTI						
Zidovudine (yes vs no)	0.9	[0.7-1.2]	0.39	1.0	[0.6-1.6]	0.89
Lamivudine (yes vs no)	0.9	[0.6-1.2]	0.37	0.6 ^a	[0.4-1.0]	0.07
Tenofovir (yes vs no)	0.8	[0.5-1.2]	0.22	0.8	[0.5-1.5]	0.57
Emtricitabine (yes vs no)	0.8	[0.6-1.3]	0.40			
Abacavir (yes vs no)	1.4	[0.96-2.1]	0.08	1.4	[0.8-2.5]	0.20
Didanosine (yes vs no)	0.6	[0.2-1.7]	0.38	0.3	[0.1-1.2]	0.08
Maternal age (years)						
< 25	1.2	[0.8-1.7]	0.62			
25-39	1	ref				
≥ 40	1.0	[0.6-1.8]				
Geographical Origin						
Metropolitan France	1	ref	0.71			
Sub-Saharan Africa	1.0	[0.7-1.5]				
Other	0.8	[0.5-1.4]				
Past or active IV drug use (Yes vs No)	0.6	[0.1-4.2]	0.59			
Smoking during pregnancy (Yes vs No)	0.6	[0.3-1.3]	0.21			
Alcohol use during pregnancy (Yes vs No)	1.4	[0.6-3.3]	0.49			
Body Mass Index (kg/m2)						
< 18.5	1.0	[0.5-1.8]	0.04	0.9	[0.5-1.8]	0.03
18.5-30	1	ref		1	ref	
> 30	1.5	[1.1-2.1]		1.6	[1.1-2.2]	
Parity (multiparous vs nulliparous)	0.7	[0.5-0.9]	<0.01			
Twin pregnancy						
No	1	ref	<0.01	1	ref	<0.01
Yes	2.9	[1.7-5.0]		2.8	[1.6-5.1]	
Nb years HIV+						
≤ 1	1.1	[0.8-1.5]	0.72			
2-5	1.0	ref				
6-10	0.9	[0.6-1.3]				
>10	0.9	[0.6-1.5]				
First CD4 count/mL						
< 200	0.8	[0.6-1.2]	0.30			
200-499	1	ref				
≥ 500	1.1	[0.9-1.5]				
First viral load (copies/mL)						
< 50	0.6	[0.4-0.9]	0.03	0.6	[0.4-0.9]	0.03
50-999	1	ref		1	ref	
≥ 1000	1.0	[0.7-1.4]		1.0	[0.7-1.3]	

ART: antiretroviral treatment; NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor

HR : hazard ratio ; Cox proportional hazards model, t0 = initiation of ART, event = occurrence of liver enzyme elevation (grade 1-4), censoring at last blood test available, ART drug used as time-varying variable. aHR = adjusted Hazard Ratio, adjusting for twin pregnancy, body mass index, first viral load and parity.

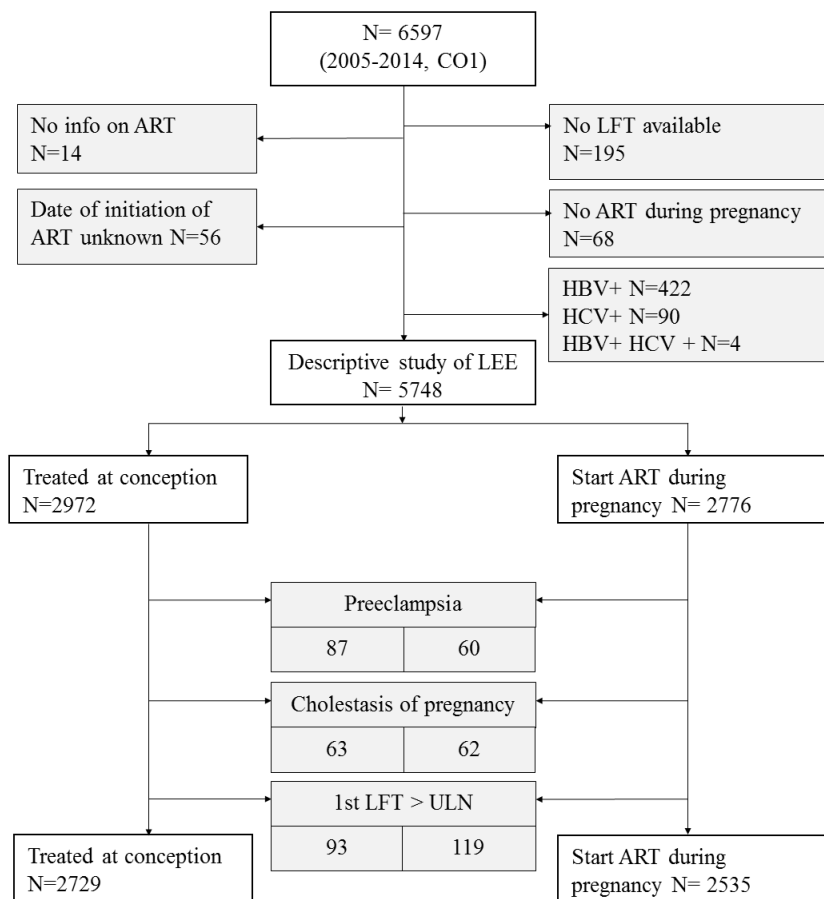
^a: in multivariate analysis, emtricitabine and lamivudine were grouped as one category as they were mutually exclusive.

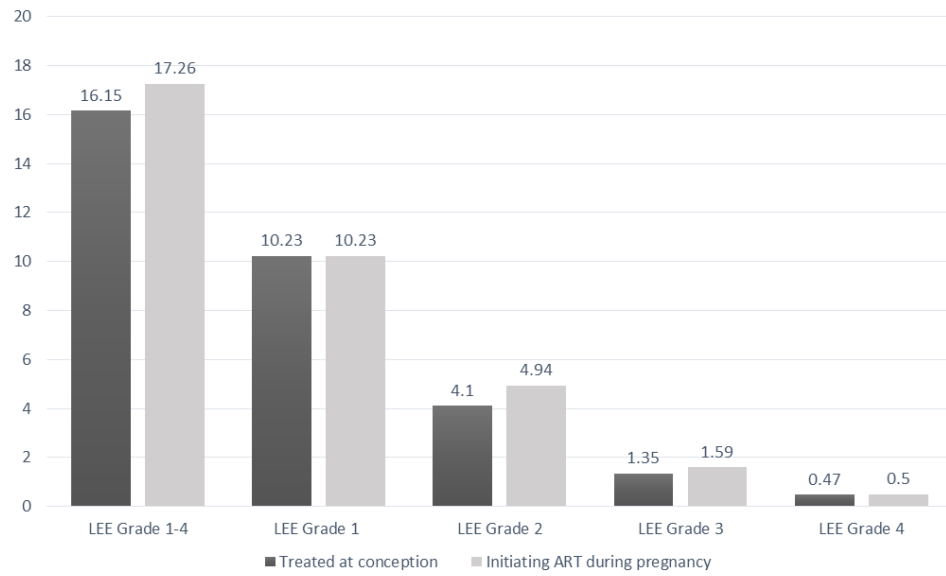
Figure 1: Selection of study population - *ANRS-EPF CO1 2005-2014*

ART: antiretroviral treatment; CO1: detailed component of the French Perinatal Cohort, representing 2/3 of all women included; HBV+: co-infected with hepatitis B; HCV+ : co-infected with hepatitis C; LEE: liver enzyme elevation; LFT: liver function tests; ULN: upper limit of normal.

Figure 2: Rates and grade of LEE occurring during pregnancy according to timing of antiretroviral treatment - *ANRS-EPF CO1 2005-2014*

ART: antiretroviral treatment; LEE: liver enzyme elevation.





ANNEXE 4 : Abstract Comparaison des taux de prématurité chez des patientes infectées et non infectées par le VIH

Sibiude J, Wright R.

Risk of preterm birth and small for gestational age infants: comparison between HIV-infected and uninfected women.

Society for Maternal and Fetal Medicine, Las Vegas NV (USA) jan 2017

Risk of preterm birth and small for gestational age infants: comparison between HIV-infected and uninfected women.

Jeanne Sibiude^{1,2}, Rodney Wright¹

¹Department of Obstetrics & Gynecology and Womens Health, Albert Einstein College of Medicine/Montefiore Medical Center, Bronx, NY

²CESP, INSERM U1018, Le Kremlin-Bicêtre, France

OBJECTIVE: To compare rates of preterm birth and small for gestational age (SGA) infants in HIV-infected (HIV+) and HIV-uninfected (HIV-) mothers.

METHODS: A retrospective chart review was conducted for all HIV-infected women delivering at the Montefiore Medical Center in Bronx, NY from 2005 to 2014. Multiple gestations and deliveries < 22 weeks gestation were excluded. For each HIV+ woman, one HIV- woman was matched by date of delivery, ethnicity, and gestational age at first prenatal visit. Conditional logistic regression was used to compare HIV+ vs HIV- patients for both outcomes, and paired t-test was used to compare continuous variables, such as birthweight z-scores. Preterm birth was defined by gestational age at delivery < 37 WG and SGA by birthweight <10th centile.

RESULTS: We included 622 pregnancies. Preterm birth rate was 17.7% among HIV+ women, and 10.9% among HIV- women, OR=1.7, 95%CI [1.1-2.7], p=0.02. However, in multivariate analysis adjusting for variables associated with preterm birth with a p-value < 0.10, the association between HIV-infection and preterm birth did not remain: AOR = 1.0, 95%CI [0.5-1.9] (Table 1). Parity and smoking were the only two variables that remained significantly associated with preterm birth, as shown in Table 1.

SGA rate was 7.1% among HIV+ women and 6.2% among HIV- women, p=0.68. In multivariate analysis, SGA was significantly associated with nulliparity and smoking, but not with HIV status (Table 1). However, the comparison of birthweight z-scores showed a higher z-score in children born to HIV- than to HIV+ women: +0.07 vs -0.15, respectively, p=0.007.

CONCLUSION: The rate of preterm birth among HIV+ women is high, and the role of HIV and HIV treatment in preterm birth has been controversial. However, in our population increased preterm birth seemed mostly explained by psychosocial factors and behaviors, and not HIV per se. Birthweight z-scores are statistically different between HIV exposed and not exposed infants but this is of low clinical significance, as there was no difference in SGA rates.

	Univariate logistic regression			Multivariate logistic regression		
	OR	[95%CI]	p	AOR	[95% CI]	p
Preterm birth						
HIV positive (vs negative)	1.7	[1.1-2.7]	0.02	1.0	[0.5-1.9]	0.91
Multiparity	0.5	[0.3-1.0]	0.05	0.4	[0.2-0.9]	0.03
Smoking	5.3	[1.8-15.3]	0.002	6.1	[1.3-29.3]	0.02
Drugs	3.3	[1.1-10.0]	0.04	1.2	[0.2-7.8]	0.84
Domestic violence	2.7	[1.1-6.4]	0.02	1.2	[0.4-3.6]	0.78
Mental health condition	2.4	[1.0-5.9]	<0.05	2.1	[0.7-6.7]	0.21
Small for gestational age						
HIV positive (vs negative)	1.2	[0.6-2.2]	0.62	1.5	[0.5-4.9]	0.46
Multiparity	0.4	[0.1-0.99]	<0.05	0.2	[0.02-0.8]	0.03
Smoking	11	[1.4-85.2]	0.02	17	[1.5-204]	0.02
Mental health condition	4.5	[0.97-20.8]	0.05	4.2	[0.5-33]	0.18

Table 1. Association between maternal characteristics and preterm birth or small for gestational age infants. Multivariate analysis was adjusted for variables shown in the table. OR: Odds ratio; AOR: adjusted odds ratio; CI: confidence interval.

ANNEXE 5 : Article Malformations congénitales dans la cohorte EPF

Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, Le Chenadec J, Boullag-Bonnet N, Faye A, Dollfus C, Tubiana R, Bonnet D, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J.
Association between prenatal exposure to antiretroviral therapy and birth defects: an analysis of the French perinatal cohort study (ANRS CO1/CO11).
PLoS Med. 2014 Apr 29;11(4):e1001635.



Association between Prenatal Exposure to Antiretroviral Therapy and Birth Defects: An Analysis of the French Perinatal Cohort Study (ANRS CO1/CO11)

Jeanne Sibiude^{1,2*}, Laurent Mandelbrot^{1,2,3}, Stéphane Blanche^{4,5}, Jérôme Le Chenadec^{2,6}, Naima Boullag-Bonnet², Albert Faye^{3,7}, Catherine Dollfus⁸, Roland Tubiana^{9,10}, Damien Bonnet¹¹, Nathalie Lelong¹², Babak Khoshnood¹², Josiane Warszawski^{2,6,13}

1 Hôpital Louis Mourier, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Colombes, France, **2** Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, INSERM U1018, Le Kremlin-Bicêtre, France, **3** Université Paris Diderot—Paris 7, Paris, France, **4** Hôpital Necker, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Paris, France, **5** EA 3620, Université Paris Descartes 5, Paris, France, **6** Institut National d'Études Démographiques, Paris, France, **7** Hôpital Robert Debré, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Paris, France, **8** Hôpital Trousseau, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Paris, France, **9** Hôpital Pitié Salpêtrière, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Paris, France, **10** INSERM U943, Paris, France, **11** Pediatric Cardiology, M3C Necker-Enfants Malades, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France, **12** INSERM UMR S953, Université Paris 6, Paris, France, **13** Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France

Abstract

Background: Antiretroviral therapy (ART) has major benefits during pregnancy, both for maternal health and to prevent mother-to-child transmission of HIV. Safety issues, including teratogenic risk, need to be evaluated. We estimated the prevalence of birth defects in children born to HIV-infected women receiving ART during pregnancy, and assessed the independent association of birth defects with each antiretroviral (ARV) drug used.

Methods and Findings: The French Perinatal Cohort prospectively enrolls HIV-infected women delivering in 90 centers throughout France. Children are followed by pediatricians until 2 y of age according to national guidelines. We included 13,124 live births between 1994 and 2010, among which, 42% ($n=5,388$) were exposed to ART in the first trimester of pregnancy. Birth defects were studied using both European Surveillance of Congenital Anomalies (EUROCAT) and Metropolitan Atlanta Congenital Defects Program (MACDP) classifications; associations with ART were evaluated using univariate and multivariate logistic regressions. Correction for multiple comparisons was not performed because the analyses were based on hypotheses emanating from previous findings in the literature and the robustness of the findings of the current study. The prevalence of birth defects was 4.4% (95% CI 4.0%–4.7%), according to the EUROCAT classification. In multivariate analysis adjusting for other ARV drugs, maternal age, geographical origin, intravenous drug use, and type of maternity center, a significant association was found between exposure to zidovudine in the first trimester and congenital heart defects: 2.3% (74/3,267), adjusted odds ratio (AOR) = 2.2 (95% CI 1.3–3.7), $p=0.003$, absolute risk difference attributed to zidovudine +1.2% (95% CI +0.5; +1.9%). Didanosine and indinavir were associated with head and neck defects, respectively: 0.5%, AOR = 3.4 (95% CI 1.1–10.4), $p=0.04$; 0.9%, AOR = 3.8 (95% CI 1.1–13.8), $p=0.04$. We found a significant association between efavirenz and neurological defects ($n=4$) using the MACDP classification: AOR = 3.0 (95% CI 1.1–8.5), $p=0.04$, absolute risk +0.7% (95% CI +0.07%; +1.3%). But the association was not significant using the less inclusive EUROCAT classification: AOR = 2.1 (95% CI 0.7–5.9), $p=0.16$. No association was found between birth defects and lopinavir or ritonavir with a power >85% for an odds ratio of 1.5, nor for nevirapine, tenofovir, stavudine, or abacavir with a power >70%. Limitations of the present study were the absence of data on termination of pregnancy, stillbirths, tobacco and alcohol intake, and concomitant medication.

Conclusions: We found a specific association between in utero exposure to zidovudine and heart defects; the mechanisms need to be elucidated. The association between efavirenz and neurological defects must be interpreted with caution. For the other drugs not associated with birth defects, the results were reassuring. Finally, whatever the impact that some ARV drugs may have on birth defects, it is surpassed by the major role of ART in the successful prevention of mother-to-child transmission of HIV.

Please see later in the article for the Editors' Summary.

Citation: Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, Le Chenadec J, Boullag-Bonnet N, et al. (2014) Association between Prenatal Exposure to Antiretroviral Therapy and Birth Defects: An Analysis of the French Perinatal Cohort Study (ANRS CO1/CO11). *PLoS Med* 11(4): e1001635. doi:10.1371/journal.pmed.1001635

Academic Editor: Clara Menéndez, Hospital Clinic Barcelona, Spain

Received: October 20, 2013; **Accepted:** March 19, 2014; **Published:** April 29, 2014

Copyright: © 2014 Sibiude et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: The study/trial was sponsored and funded by the French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis (ANRS). ANRS is an autonomous agency at Inserm. The ANRS functions as promoter and funding, and had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abbreviations: ANRS, Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les Hepatites; AOR, adjusted odds ratio; APR, Antiretroviral Pregnancy Registry; ART, antiretroviral therapy; ARV, antiretroviral; CHD, congenital heart defect; EPF, French Perinatal Cohort; EUROCAT, European Surveillance of Congenital Anomalies; IDU, intravenous drug use; MACDP, Metropolitan Atlanta Congenital Defects Program; NNRTI, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NRTI, nucleoside reverse transcriptase inhibitor; OR, odds ratio; PI, protease inhibitor; PMTCT, prevention of mother-to-child transmission; TOP, termination of pregnancy; WHO, World Health Organization.

* E-mail: jeannesibiude@yahoo.fr

Introduction

In France and other industrialized countries, the use of antiretroviral therapy (ART) during pregnancy has led to a spectacular decrease of the mother-to-child transmission rate of HIV-1, from about 20% down to about 1% currently [1–3]. Since 2004, standard care is to treat every HIV-infected pregnant woman with triple-combination ART [4]. Many HIV-infected women are already taking these drugs for their own health when conception occurs, or start during the first trimester. Concern has been raised about the potential toxicity of these drugs during fetal development [5–8].

The risk of birth defects associated with ART has been investigated following an animal study suggesting a teratogenic effect in monkeys exposed in utero to efavirenz [9]. Results from clinical studies were discrepant. A large meta-analysis found no increased risk of birth defects [10], despite the inclusion of two recent prospective studies that found an increased risk with first-trimester exposure to efavirenz [11,12]. The largest database for birth defects and ART today is the Antiretroviral Pregnancy Registry (APR), with 15,451 births included [13]. To date, the only antiretrovirals (ARVs) for which use during the first trimester is associated with increased rates of overall birth defects in the APR compared with the general population (2.8%) are nelfinavir (3.9%) and didanosine (4.6%); no association with specific birth defects was identified for these two drugs. Two other studies found an association between congenital heart defects (CHDs) and ART: zidovudine in one of these studies (adjusted odds ratio [AOR] = 2.04 [95% CI 1.03–4.05] for zidovudine in the first trimester compared to no zidovudine in the first trimester) [11], and any kind of ART in the other (rate of CHDs = 2.5% for children exposed in the first trimester versus 0.8% for infants exposed only later in pregnancy, $p = 0.02$) [14].

The diversity of the results may be due to differences between populations and the variety of follow-up protocols that determine how birth defects are diagnosed (Table 1). Moreover, definitions of birth defects differed between studies. The Metropolitan Atlanta Congenital Defects Program (MACDP) classification was most often used, and almost always adapted as described for the APR [13]. A recent Italian study found no association between ART and birth defects using the APR-modified MACDP classification [15]. Only one study used the European Surveillance of Congenital Anomalies (EUROCAT) classification, which is less inclusive than the MACDP classification [16], and several studies provided no information about the system of classification used [17–19]. Many studies suffered from lack of power. Some cases were enrolled in more than one study, leading to lower precision of risk estimates than if they were provided by totally independent studies [7,8].

Our objective was to estimate the prevalence of birth defects in children exposed in utero to ARV drugs taken by their mothers during pregnancy in the large national prospective French Perinatal Cohort (EPF) (Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les Hepatites [ANRS] CO1/CO11), and to assess the association of specific birth defects with each in

utero ARV drug, taking several known risk factors into account.

Methods

The study was approved by the Hôpital Cochin Institutional Review Board and the French computer database watchdog commission (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

The French Perinatal Cohort (ANRS CO1/CO11)

Since 1986, EPF has prospectively enrolled pregnant HIV-infected women delivering in 90 centers throughout France [1]. In each participating maternity center, around 95% of all HIV-infected pregnant women were included, with informed consent. No specific recommendation for HIV treatment and obstetric care was made for women included in the cohort, but clinicians were encouraged to follow current French national guidelines, which include trimestrial prenatal ultrasound for all women, whatever their HIV status, and pediatric clinical and biological examinations at birth and 1, 3, 6, 12, and 18–24 mo for children exposed to maternal HIV [4,20]. No additional ultrasound imaging was done systematically because of the study or because of the HIV status of the mother. Standardized questionnaires were filled out by clinicians, after delivery for pregnancy, and at each visit for children. Variables collected are described below. EPF coverage is estimated to be around 70% of the HIV-infected women in metropolitan France.

Study Population

Among 14,074 fetuses of 13,761 pregnancies included in EPF from 1 January 1994 to 31 December 2010, the main analysis concerned all live births exposed to ART during pregnancy ($n = 13,124$) (Figure 1). The small group of women not receiving ART was excluded because it could not be a valid reference group: failing to take ART was related to being socially marginalized, with inadequate access to care and follow-up, as previously reported [21]. We also excluded 43 terminations of pregnancy (TOPs) for fetal abnormalities and 90 stillbirths because, until recently, patients were enrolled after 28 wk of gestation, such that most TOPs and many stillbirths were not represented in EPF. TOPs and stillbirths were added subsequently in sensitivity analyses. No study participants, except 288 women in a collaborative ancillary analysis [14], had been previously included in any published study on birth defects.

Variables

All clinical events in infants were recorded at each visit (at birth, and at 1, 3, 6, 12, and 18–24 mo). We first coded the birth defects with International Classification of Diseases (ICD-10) codes. We then used EUROCAT inclusion criteria and guidelines in order to assess the overall prevalence of anomalies and to classify them in different organ systems [22,23]. To facilitate comparison with other studies, we also

Table 1. Main studies on ART exposure and birth defects.

Study and Year	Time Period	ARV Drugs Compared	N (Exposed)	Percent with BD	Conclusion
Knapp [12] 2012	2002–2007	All children	1,112	5.5	Significant difference for EFV
		EFV, unexposed	1,055	5.2	
		EFV, 1st T	47	12.8	
		EFV, 2nd–3rd T	9	0	
APR [13] 2013	1989–2013	All children	15,451	2.9	No difference between 1st T and later exposure for any drug
		Any ART, 1st T	6,526	2.9	
		Any ART, 2nd–3rd T	8,523	2.8	
		Didanosine, 1st T	416	4.8	Didanosine and nelfinavir have higher rate of BDs than general population
		Nelfinavir, 1st T	1,211	3.9	
Ford [10] 2011	Until 2011	EFV, 1st T	1,290	2.9	No difference
		No EFV	8,122	3.9	
Watts [14] 2011	1997–2000	All ARTchildren	1,414	4.2	No difference for overall defects
		Any ART, 1st T	636	4.7	
		Any ART, 2nd–3rd T	778	3.9	
		Heart defects			Significantly more heart defects for exposure in the 1st T
		Any ART, 1st T		2.5	
Brogly [11] 2010	1993–2000	Any ART, 2nd–3rd T		0.8	
		All children	2,033	5.3	Significant difference for EFV
		Any ART, 1st T	763	5.8	
		No ART, 1st T	1,270	4.8	
		EFV, 1st T	32	15.6	
		No EFV, 1st T	2,001	5.0	
Joao [27] 2010	2002–2007	All children	995	6.2	No difference between exposure groups
		Any ART, 1st T	242	6.2	
		Any ART, 2nd T	518	6.8	
		Any ART, 3rd T	208	4.3	
Fernandez [16] 2009	2000–2005	All children	623	8.3	No difference between exposure groups
		Any ART, 1st T		8.8	
		Any ART, 2nd–3rd T		7.4	
Townsend [17] 2009	1990–2007	All children	8,242	2.8	No difference between exposure groups
		Any ART, 1st T	1,708	3.1	
		Any ART, 2nd–3rd T	5,427	2.7	
		No ART	498	2.8	
Patel [18] 2005	1986–2003	All children	3,740	1.5	No difference between exposure groups
		Any ART, 1st T	789	1.8	
		Any ART, 2nd–3rd T	1,184	1.4	
		No ART	1,767	1.4	
		ART, 1st T			No difference between exposure groups
		Monotherapy or dual nucleoside	243	1.2	
		Combination ART	546	2.0	
		EFV	19	0.0	

BD, birth defect; EFV, efavirenz; T, trimester.
doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t001

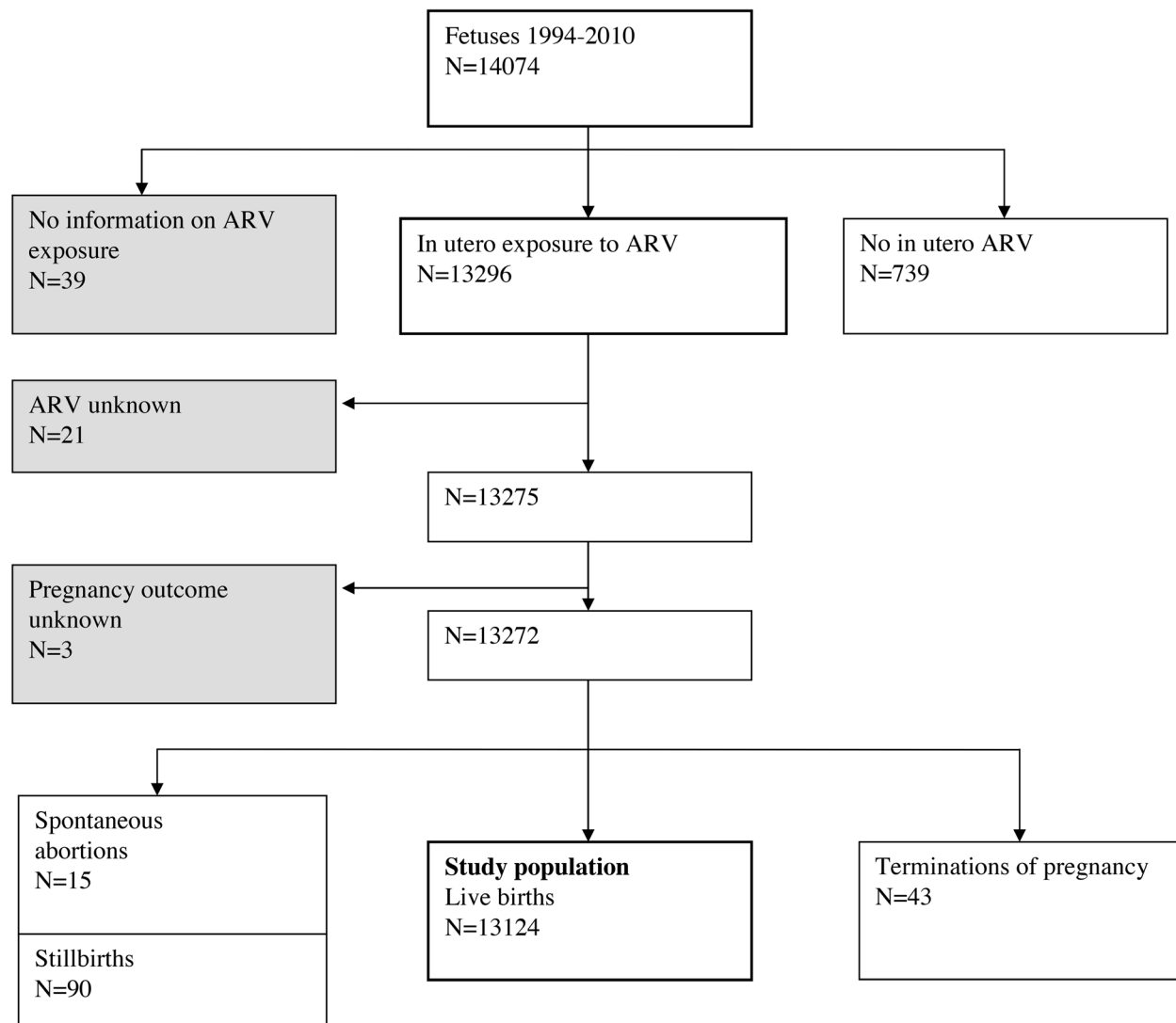


Figure 1. Study population: French Perinatal Cohort (ANRS CO1/CO11).
doi:10.1371/journal.pmed.1001635.g001

coded birth defects according to the modified MACDP classification used by the APR [13,24,25], which considered as cases children presenting one major defect and/or two conditional defects. In both classifications, each child is counted only once per organ system, even if several defects included in the same organ system are described. The use of both classifications was decided a priori; the EUROCAT classification was used for the primary analysis, and the modified MACDP classification for the secondary analysis.

Maternal variables included age, geographical origin, intravenous drug use (IDU), gravidity, parity, CD4 cell count, and HIV-1 viral load closest to the delivery, i.e., the day of delivery or in the 7 d after delivery. Alcohol and tobacco use were recorded only after 2005, and data on concomitant medications were not available in the cohort.

All ART combinations administered during pregnancy were recorded, with the dates when started and stopped. For each drug (called “index drug”), exposure status was categorized as follows: (1) unexposed to the index drug, but exposed to other

drugs (control group), (2) exposed to the index drug since conception or the first trimester, or (3) exposed to the index drug only since the second or third trimester. Another categorization was used in sensitivity analyses concerning only first-trimester exposure: (1) unexposed to any ART in the first trimester, i.e., ART was initiated during second or third trimester (control group), (2) exposed to the index drug in the first trimester, (3) exposed to another drug in the first trimester of pregnancy. Since 1994, the standard of care changed from zidovudine monotherapy (1994–1996), to dual nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) (1997–1999), to triple-combination drug regimens (selected patients for 2000–2004, and all pregnant women after 2004). We tested 18 ARV drugs for the analysis on overall birth defects and three combinations of drugs: any NRTI, any non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), and any protease inhibitor (PI).

Neonatal variables used in the analysis included gender, gestational age, birth weight, and HIV infection status.

Table 2. Association between overall birth defects and antiretroviral drugs (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]).

In Utero Exposure	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR ^c	95% CI	p-Value ^d	AOR ^e	95% CI	p-Value ^d	Power ^f
Zidovudine										
Unexposed	2,152	4.0	86	1		0.12	1		0.046	88%
1st T	3,267	5.1	165	1.28	0.98–1.67		1.39	1.06–1.83		
2nd–3rd T	7,493	4.3	322	1.08	0.85–1.38		1.16	0.90–1.51		
Missing	212	0.9	2							
Didanosine										
Unexposed	11,651	4.3	500	1		0.01	1		0.02	75%
1st T	927	6.3	58	1.49	1.12–1.97		1.44	1.08–1.92		
2nd–3rd T	529	3.2	17	0.74	0.45–1.21		0.77	0.47–1.27		
Missing	17	0	0							
Zalcitabine										
Unexposed	13,010	4.4	567	1		0.2	1		0.07	15%
1st T	103	7.8	8	1.85	0.89–3.82		2	0.94–4.25		
2nd–3rd T	11	0	0	NA			NA			
Lamivudine										
Unexposed	3,734	4.0	148	1		0.07	1		0.02	97%
1st T	3,772	5.0	190	1.29	1.03–1.60		1.37	1.06–1.73		
2nd–3rd T	5,398	4.3	234	1.1	0.89–1.35		1.26	1.01–1.57		
Missing	220	1.4	3							
Stavudine										
Unexposed	12,127	4.3	520	1		0.17	1		0.43	71%
1st T	819	5.6	46	1.33	0.97–1.81		1.18	0.86–1.63		
2nd–3rd T	169	5.3	9	1.26	0.64–2.47		1.34	0.67–2.67		
Missing	9	0	0							
Abacavir										
Unexposed	11,985	4.4	526	1		0.69	1		0.78	76%
1st T	920	4.7	43	1.07	0.78–1.47		1.01	0.73–1.41		
2nd–3rd T	184	3.3	6	0.73	0.32–1.66		0.74	0.32–1.71		
Missing	35	0	0							
Tenofovir										
Unexposed	12,043	4.5	536	1		0.51	1		0.3	72%
1st T	823	3.6	30	0.81	0.56–1.18		0.75	0.51–1.10		
2nd–3rd T	208	3.8	8	0.86	0.42–1.75		0.82	0.40–1.69		
Missing	50	2.0	1							
Emtricitabine										
Unexposed	12,420	4.5	553	1		0.07	1		0.04	55%
1st T	552	2.5	14	0.56	0.33–0.96		0.52	0.30–0.90		
2nd–3rd T	118	5.9	7	1.35	0.63–2.92		1.38	0.63–3.02		
Missing	34	2.9	1							
Any NRTI										
Unexposed	176	2.3	4	1		0.04	1		0.09	14%
1st T	5,288	4.9	261	2.23	0.82–6.06		2.36	0.86–6.47		
2nd–3rd T	7,375	4.2	307	1.87	0.69–5.07		2.04	0.75–5.59		
Missing	285	1.1	3							
Nevirapine										
Unexposed	11,936	4.4	521	1		0.94	1		0.82	71%
1st T	819	4.5	37	1.03	0.74–1.46		1	0.71–1.42		
2nd–3rd T	342	4.7	16	1.07	0.64–1.79		1.18	0.70–2.00		
Missing	27	3.7	1							

Table 2. Cont.

In Utero Exposure	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR ^c	95% CI	p-Value ^d	AOR ^e	95% CI	p-Value ^d	Power ^f
Efavirenz										
Unexposed	12,729	4.4	554	1		0.42	1		0.7	41%
1st T	372	5.4	20	1.25	0.79–1.98		1.16	0.73–1.85		
2nd–3rd T	17	5.9	1	1.37	0.18–10.4		1.83	0.23–14.5		
Missing	6	0	0							
Any NNRTI										
Unexposed	11,587	4.3	504	1		0.86	1		0.78	84%
1st T	1161	4.7	54	1.07	0.80–1.43		1.02	0.76–1.37		
2nd–3rd T	343	4.7	16	1.08	0.65–1.79		1.21	0.72–2.03		
Missing	33	3.0	1							
Amprenavir										
Unexposed	13,069	4.4	573	1		0.56	1		0.96	6%
1st T	23	0	0	NA			NA			
2nd–3rd T	32	6.3	2	1.45	0.35–6.10		0.96	0.22–4.14		
Ritonavir										
Unexposed	7,808	4.6	362	1		0.39	1		0.45	97%
1st T	2,196	4.1	91	0.89	0.70–1.12		0.86	0.67–1.10		
2nd–3rd T	2,891	4.1	119	0.88	0.71–1.09		0.92	0.74–1.15		
Missing	229	1.3	3							
Saquinavir										
Unexposed	12,403	4.4	542	1		0.21	1		0.31	35%
1st T	308	6.2	19	1.44	0.89–2.31		1.4	0.86–2.27		
2nd–3rd T	400	3.5	14	0.79	0.46–1.36		0.84	0.48–1.46		
Missing	13	0	0							
Nelfinavir										
Unexposed	11,070	4.4	482	1		0.87	1		0.82	60%
1st T	625	4.3	27	0.99	0.67–1.47		0.89	0.59–1.33		
2nd–3rd T	1,419	4.7	66	1.07	0.82–1.39		1.03	0.78–1.36		
Missing	10	0	0							
Indinavir										
Unexposed	12,492	4.3	540	1		0.01			0.03	38%
1st T	350	7.7	27	1.85	1.24–2.77		1.66	1.09–2.53		
2nd–3rd T	275	2.9	8	0.66	0.33–1.35		0.69	0.33–1.44		
Missing	7	0	0							
Atazanavir										
Unexposed	12,591	4.4	560	1		0.19			0.18	47%
1st T	447	2.7	12	0.59	0.33–1.06		0.58	0.32–1.05		
2nd–3rd T	66	4.5	3	1.02	0.32–3.27		1.23	0.38–4.01		
Missing	20	0	0							
Lopinavir										
Unexposed	9,225	4.4	406	1		0.67	1		0.42	88%
1st T	1,333	4.1	55	0.93	0.70–1.25		0.92	0.68–1.23		
2nd–3rd T	2,371	4.7	112	1.08	0.87–1.33		1.13	0.90–1.41		
Missing	195	1.0	2							
Fosamprenavir										
Unexposed	12,873	4.4	564	1		0.73			0.77	22%
1st T	172	5.2	9	1.21	0.61–2.37		1.13	0.57–2.25		
2nd–3rd T	72	2.8	2	0.62	0.15–2.55		0.63	0.15–2.61		
Missing	7	0.0	0							

Table 2. Cont.

In Utero Exposure	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR ^c	95% CI	p-Value ^d	AOR ^e	95% CI	p-Value ^d	Power ^f
Any PI										
Unexposed	5,642	4.6	257	1		0.81			0.69	99%
1st T	3,125	4.4	139	0.98	0.79–1.20		0.91	0.73–1.13		
2nd–3rd T	4,110	4.3	176	0.94	0.77–1.14		0.94	0.77–1.16		
Missing	247	1.2	3							

Missing data were excluded from all statistical tests.

^aTotal number of patients exposed in each category.

^bNumber of birth defects observed among *N* patients of the category.

^cORs obtained by univariate logistic regression.

^dGlobal *p*-value for exposure to each drug, including the three categories (no exposure, exposure in the first trimester, and exposure in the 2nd or 3rd trimester).

^eAOR obtained by multivariate logistic regression, adjusted systematically for mother's age, geographical origin, IDU, and maternity center.

^fPower for an OR of 1.5 concerning exposure in the first trimester to each drug as compared to no exposure to this drug.

BD, birth defect; NA, not applicable/no child in this category; T, trimester.

doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t002

Statistical Analysis

The prevalence of birth defects was estimated and compared according to various maternal and neonatal characteristics, using the χ^2 test and Fisher's exact test, as appropriate.

We first studied associations between overall birth defects and each ARV drug using univariate and multivariate logistic regression. Multivariate models included IDU, geographical origin, maternal age, and maternity center. These variables were selected because they were used in the literature and were available for the whole study period. Year of birth was not included in the main analyses because of collinearity with prevention of mother-to-child transmission (PMTCT) strategies; however, it was adjusted for in sensitivity analyses. Alcohol and tobacco use could not be included as adjustment variables because they were not available for the whole study period.

We then studied specific associations between birth defects by organ system and (1) efavirenz, zidovudine, didanosine, and nelfinavir, on the basis of prior studies, and (2) any other ARV drugs associated with overall birth defects at $p \leq 0.20$ in previous multivariate analysis (these drugs being zalcitabine, lamivudine, emtricitabine, any NNRTI, and indinavir). In order to evaluate the independent effects of drugs often used in combinations, such as zidovudine with lamivudine, we also adjusted for all drugs found to be associated with the type of birth defect under consideration, with a univariate $p \leq 0.10$, in either the EUROCAT or the MACDP classification.

For each drug considered, the primary analysis compared neonates exposed in the first trimester and those exposed during the second or third trimester with neonates not exposed to the drug during the whole pregnancy (control group). Women with missing data for any adjustment variables were excluded from multivariate analysis, since they did not exceed 2% of the study population for each variable. Correction for multiple comparisons was not performed because the analyses were based on hypotheses emanating from previous findings in the literature and the robustness of the findings of the current study.

Several sensitivity analyses were conducted: (1) exclusion of IDU, (2) inclusion of TOPs and stillbirths, (3) not considering birth defects diagnosed beyond the first week or 6 mo postnatally, (4) using alternative categories for ART exposure status (unexposed to any ART in the first trimester as control group), (5) excluding infants exposed to more than one combination of ART during

pregnancy, (6) using more or less parsimonious multivariate models and, particularly, including year of birth, CD4 cell count, or maternal viral load closest to delivery as adjustment variables.

A two-sided $p < 0.05$ was taken as indicating statistical significance. Data were analyzed using Stata 11.0 software (Stata Corp) [26]. No adjustment was used for multiple testing.

For each ARV drug, we calculated the power to detect an association between overall birth defects and first-trimester exposure (compared with no exposure during pregnancy). Power to show an odds ratio (OR) of 1.5 was $>85\%$ for zidovudine, lamivudine, ritonavir, and lopinavir, and was $>70\%$ for didanosine, stavudine, abacavir, tenofovir, and nevirapine (data shown in Table 2). For all these drugs, power was $>95\%$ to detect an OR of 2.

Results

The analysis was conducted in 13,124 live-born children, born between 1 January 1994 and 31 December 2010, among whom 42% ($n = 5,388$) were exposed to ART in the first trimester of pregnancy. PMTCT strategies varied over time, and the proportion of infants exposed to ART in the first trimester increased from 19% in 1994–1996 to 52% in 2005–2010. The evolution in time of types of treatment and trimesters of exposure are presented in Table 3. The median maternal age was 31 y, most women were from sub-Saharan Africa (61%) and parous (62%), and very few were intravenous drug users (2%). Most women had a good immunovirological status ($CD4 \geq 350$ cells/ml and viral load < 400 copies/ml; Table 4). Data at birth was collected for the newborns of all women enrolled. Median follow-up of children was 19 mo (interquartile range 12–24 mo).

Overall Birth Defects

The overall birth defect rate was 4.4% (95% CI 4.0%–4.7%) ($n = 575/13,124$), according to the EUROCAT classification and 7.0% (95% CI 6.5%–7.4%) ($n = 914/13,124$) according to the MACDP classification. The rate increased from 1994–1996 to 1997–1999 and then decreased slightly afterwards. The presence of a birth defect was significantly associated with male gender and higher maternal age. Neonates with birth defects were more frequently born by cesarean section, preterm, and with low birth weight (Table 4).

Table 3. Evolution of antiretroviral drugs during the study period.

ART	Time Period				p-Value
	1994–1996	1997–1999	2000–2004	2005–2010	
Any ART (n)	1,055	1,884	4,555	5,342	
1st T (percent)	19.1	35.7	38.5	51.7	<0.001
2nd–3rd T (percent)	80.9	64.3	61.5	48.3	
Monotherapy ZDV (n)	1,002	376	817	63	
1st T (percent)	17.0	8.0	3.3	7.9	<0.001
2nd–3rd T (percent)	83.0	92.0	96.7	92.1	
Dual-therapy NRTI (n)	18	581	721	120	
1st T (percent)	50.0	38.0	24.8	13.3	<0.001
2nd–3rd T (percent)	50.0	62.0	75.2	86.7	
Combination ART (n)	3	307	2,745	5,084	
1st T (percent)	100.0	79.8	51.9	53.0	<0.001
2nd–3rd T (percent)	0	20.2	48.1	47.0	
ZDV (n)	1,055	1,885	4,559	5,413	
No ZDV (percent)	0	8.7	13.6	25.3	<0.001
1st T (percent)	18.4	22.9	23.4	29.1	
2nd–3rd T (percent)	81.6	68.4	63.0	45.6	
EFV (n)	1,080	1,889	4,567	5,582	
No EFV (percent)	100	99.6	96.3	96.2	<0.001
1st T (percent)	0	0.3	3.4	3.7	
2nd–3rd T (percent)	0	0.1	0.2	0.1	

EFV, efavirenz; T, trimester; ZDV, zidovudine.
doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t003

Associations with ARV drugs are presented using the EURO-CAT classification, and studied in sensitivity analyses for the MACDP classification. Using the EUROCAT classification, overall birth defects were significantly associated with zidovudine in the first trimester, compared with no zidovudine during pregnancy (5.1% for $n=3,267$ children exposed in the first trimester versus 4.0% for $n=2,152$ children not exposed to zidovudine, AOR = 1.39 [95% CI 1.06–1.83], $p<0.05$), as well as with didanosine (6.3%, $n=927$, for first-trimester exposure versus 4.3%, $n=11,651$, for unexposed, AOR = 1.44 [95% CI 1.08–1.92], $p=0.02$), lamivudine (5.0%, $n=3,772$, for first-trimester exposure versus 4.0%, $n=3,734$, for unexposed, AOR = 1.37 [95% CI 1.06–1.76], $p=0.02$) and indinavir (7.7%, $n=350$, for first-trimester exposure versus 4.3%, $n=12,492$, for unexposed, AOR = 1.66 [95% CI 1.09–2.53], $p=0.03$) (Figure 2; Table 2). Defects according to the MACDP classification were associated with the same four drugs, as well as with zalcitabine (AOR = 2.16 [95% CI 1.17–4.00], $p=0.01$) and any kind of NNRTI (AOR = 1.33 [95% CI 1.07–1.66], $p=0.03$) (Table 5). These associations were independent of IDU, geographical origin, maternal age, and maternity center.

Birth Defects by Organ System

Exposure to efavirenz during the first trimester was not found to be associated with birth defects overall in the EUROCAT classification (5.4%, $n=20/372$, AOR = 1.16 [95% CI 0.73–1.85], $p=0.70$) (Figure 2; Table 2). However, there was a statistically significant association between neurological birth defects and efavirenz in the first trimester in the secondary analysis using the modified MACDP classification (1.1% among

372 children exposed to efavirenz in the first trimester versus 0.4% among 12,729 children unexposed, AOR = 3.0 [95% CI 1.1–8.5], $p=0.04$, absolute risk difference +0.7% [95% CI +0.07%; +1.3%]) (Table 6). This association did not reach significance in the primary analysis using the EUROCAT classification (AOR = 2.1 [95% CI 0.7–5.9], $p=0.16$). The four neurological defects, according to MACDP, reported in children exposed to efavirenz in the first trimester were ventricular dilatation with anomalies of the white substance, partial agenesis of the corpus callosum, subependymal cyst, and pachygyria. Congenital infection or associated non-neurological defects were not reported for these four children. Efavirenz was not associated with other birth defects.

Exposure to zidovudine during the first trimester was associated with CHDs according to the EUROCAT classification (2.3% among the 3,267 children exposed to zidovudine in the first trimester versus 1.1% among the 2,152 children unexposed to zidovudine, AOR = 2.2 [95% CI 1.3–3.7], $p=0.003$) (Table 6). The absolute risk difference attributed to zidovudine was therefore +1.2% (95% CI +0.5; +1.9%). CHDs according to EUROCAT classification were also associated with zalcitabine, lamivudine, and indinavir in the univariate analysis, but after adjustment for other concomitant ARV drugs, the association did not reach significance. Six children exposed to emtricitabine during the second or third trimester were diagnosed with a CHD (5.1%, $n=6/118$, versus 1.4% among the 12,420 children unexposed to emtricitabine, AOR = 4.5 [95% CI 1.9–10.9], $p=0.001$), but four of them were also exposed to zidovudine during the first trimester. The association between zidovudine and heart defects remained the same when (1) limited to diagnoses made in the first

Table 4. Maternal and neonatal characteristics, and associations with overall birth defects, according to the EUROCAT classification (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]).

Characteristic	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR	95% CI	p-Value ^c
Maternal age (years)						
<25	1,502	3.4	51	1		0.046
25–34	7,800	4.3	337	1.28	0.95–1.73	
>35	3,781	4.9	186	1.47	1.07–2.02	
Missing	41	2.4	1			
Geographical origin						
France	2,818	4.7	132	1		0.31
Sub-Saharan Africa	7,920	4.2	331	0.89	0.72–1.09	
Other	2,225	4.8	107	1.03	0.79–1.33	
Missing	161	3.1	5			
IDU during pregnancy						
No	12,622	4.4	557	1		0.69
Yes	264	4.9	13	1.12	0.64–1.97	
Missing	238	2.1	5			
CD4 count (cells/mm³)						
>350	7,605	4.6	353	1		0.56
200–350	2,361	4.4	103	0.93	0.75–1.17	
<200	1,059	5.2	55	1.12	0.84–1.51	
Missing	2,099	3.0	64			
Viral load (copies/ml)						
<400	8,710	4.5	391	1		0.76
400–1,000	668	5.4	36	1.21	0.85–1.72	
1,000–10,000	1,292	4.6	60	1.04	0.78–1.36	
>10,000	649	4.6	30	1.03	0.71–1.51	
Missing	1,805	3.2	58			
Parity						
Nulliparous	4,909	4.3	209	1		0.52
Parous	8,137	4.5	366	1.06	0.89–1.26	
Missing	78	0.0	0			
Pregnancy						
Singleton	12,545	4.4	547	1		0.59
Multiple	579	4.8	28	1.12	0.76–1.65	
Gender of neonate						
Male	6,567	4.9	322	1		0.01
Female	6,265	4.0	249	0.8	0.68–0.95	
Missing	292	1.4	4			
Neonate HIV-infected						
Yes	174	2.9	5	0.62	0.25–1.52	0.29
No	11,777	4.5	535	1		
Undetermined	1,173	3.0	35			
Year of birth						
1994–1996	1,080	3.1	34	0.8	0.56–1.16	0.001
1997–1999	1,889	5.7	107	1.49	1.17–1.88	
2000–2004	4,567	4.8	217	1.23	1.02–1.50	
2005–2010	5,588	3.9	217	1		
Mode of delivery^d						
Vaginal	5,076	3.9	197	1		0.002
Cesarean	2,388	5.1	352	1.33	1.11–1.59	

Table 4. Cont.

Characteristic	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR	95% CI	p-Value ^c
Missing	1,144	2.3	26			
Premature delivery (<37 wk)^a						
Yes	1,901	6.6	126	1.69	1.38–2.07	<0.001
No	11,154	4.0	449	1		
Missing	69	0.0	0			
Low birth weight (<2,500 g)^d						
Yes	2,127	6.9	146	1.78	1.47–2.16	<0.001
No	10,713	4.0	426	1		
Missing	284	1.1	3			

^aTotal patients in each category.^bNumber of birth defects among the N patients of the category.^c χ^2 test or Fisher's exact test; missing data excluded.^dAssociation with mode of delivery, premature delivery and low birth weight could be a consequence but not a risk factor for birth defects, and thus were not included in the multivariate analysis.

doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t004

6 mo or in the first week of life, or to infants exposed to only one combination of ART during pregnancy, (2) adjusted for prematurity, parity, CD4 count, year of birth, and gender (AOR for zidovudine = 2.2 [95% CI 1.3–3.6], $p=0.003$), (3) using alternate categorization for zidovudine exposure (AOR = 2.1 [95% CI 1.3–3.6], $p=0.003$, for zidovudine in the first trimester versus no treatment at all during the first trimester), (4) using the MACDP classification (Table 6), and (5) including TOPs and stillbirths. Zidovudine was not found to be associated with other types of birth defects. In the largest multivariate model cited above, the other variables significantly associated with CHDs were maternal age >35 y, prematurity (AOR = 2.5 [95% CI 1.7–3.6]), female gender (AOR = 1.4 [95% CI 1.0–2.0]), and CD4 count <200 cells/ml (AOR = 1.7 [95% CI 1.1–2.7] versus CD4>350 cells/ml). Time period was not independently associated with heart defects ($p=0.23$). Among the 74 children with a diagnosis of CHD and exposed to zidovudine during the first trimester, the most frequent heart defects were ventricular septal defects ($n=43$), atrial septal defects ($n=13$), and persistence of the ductus arteriosus ($n=9$). We found no significant association between heart defects and any of the other ARV drugs included in the multivariate model, which were lamivudine, zalcitabine, emtricitabine, and indinavir. No interaction was found between zidovudine and lamivudine.

Head and neck defects, as described in the EUROCAT guidelines [22,23], were associated with didanosine (0.5%, $n=5/927$, for first-trimester exposure versus 0.2%, $n=18/11,651$, in the unexposed group, AOR = 3.4 [95% CI 1.1–10.4], $p=0.04$) and with indinavir (0.9%, $n=3/350$, in the exposed versus 0.2%, $n=22/12,470$, in the unexposed group, AOR = 3.8 [95% CI 1.1–13.8], $p=0.04$) (Table 6). Didanosine and indinavir were prescribed to 6.9% and 3% of the women in the study in the last 6 y, respectively.

The association between birth defect by organ system and each ARV drug is described in Table 7. All birth defects among live births are listed Table 8, and birth defects among TOP are listed in Table 9. We found no association between exposure to other ARV drugs and overall birth defects or specific birth defects, including for tenofovir, with 823 children exposed in the first trimester: AOR = 0.75 (95% CI 0.51–1.10), with a power of 72% for an OR of 1.5 (Table 2).

Discussion

The prevalence of birth defects in our study population was 4.4% as assessed using the EUROCAT guidelines and 7% using the MACDP classification. This is higher than the rates reported in most large studies including patients exposed to ARV drugs, which were 1.5% in the European Collaborative Study, published in 2005 and thus including different drugs than those used in more recent studies [18], 2.8% in a recent study in the United Kingdom [17], and 2.9% in the APR [13]. The prevalence in our cohort is, however, consistent with that observed in smaller prospective studies, which all report higher rates, from 5.3% to 8.3% [11,12,16,27]. We hypothesize that studies involving few centers may have a higher level of reporting because of greater motivation of clinicians for the specific research program and more intensive data monitoring than in large multicenter cohort studies and registries. In this sense, the higher prevalence in EPF despite the large number of pregnancies and study sites may result from the high level of completeness of our data collection, which is sustained through regular monitoring at study sites and motivated clinicians uniting in an active national network, but may also result from easier referral for free further investigations, facilitated by the French health insurance system.

An important result is that no association was found between birth defects and lopinavir or ritonavir with a power >80% for an OR of 1.5, and for tenofovir, nevirapine, and abacavir with a power >70%. For all these drugs, the power was >95% for an OR of 2. This result is very reassuring in view of the fact that several of these ARV drugs are currently being increasingly used.

We found a specific association between exposure to zidovudine during the first trimester and CHDs, for both classifications. It persisted after adjusting for potential confounding variables, including other ARV drugs, and in all sensitivity analyses, including adjustment for year of birth. The association with heart defects was of a larger magnitude than that with birth defects overall, and no association was found between zidovudine and other types of defects, suggesting a specific association. We found the same risk factors (maternal age and prematurity) for heart defects as in general population [28,29], which argues against uncontrolled selection biases. The other risk factors were maternal CD4 count <200 cells/ml and female gender. The association between immune status and heart defects may be due to a direct

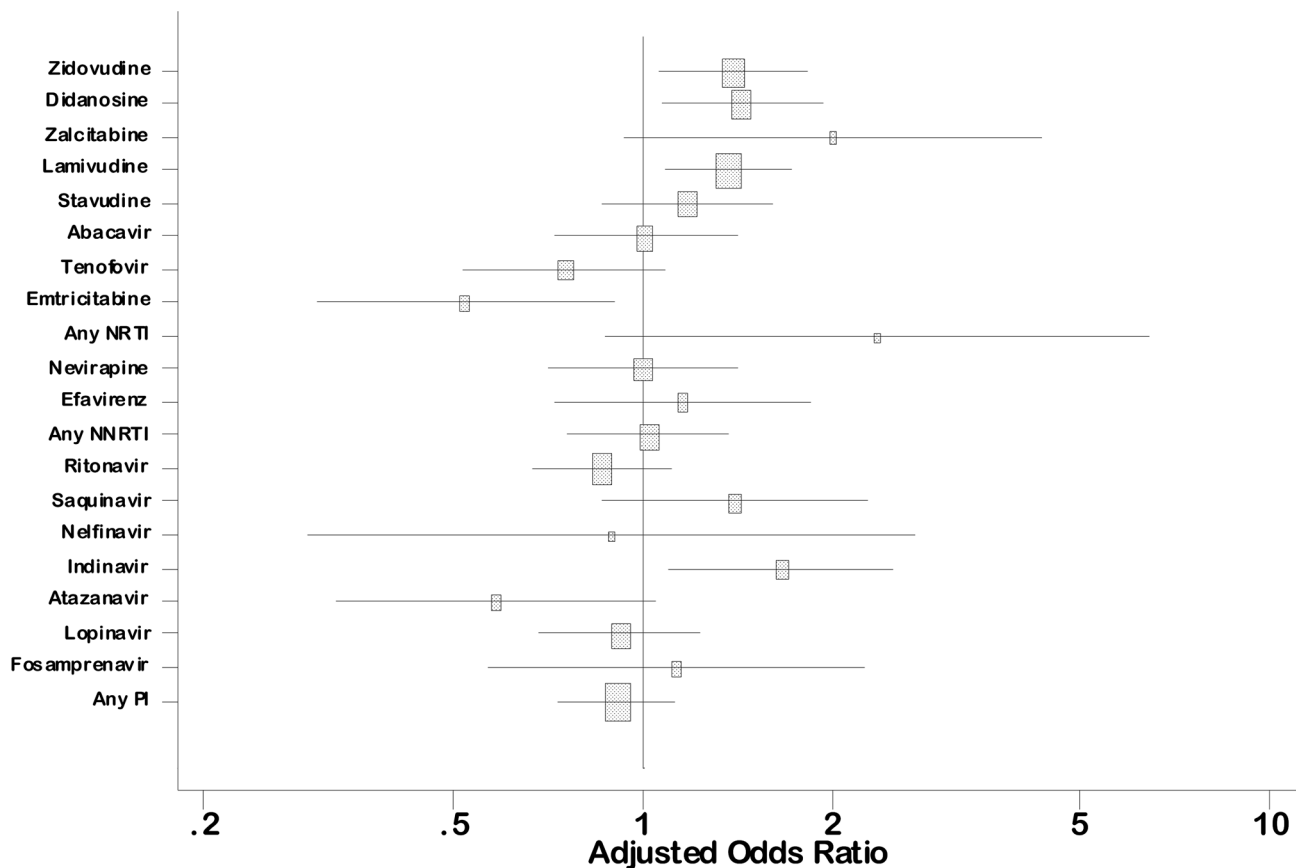


Figure 2. Association between overall birth defects and first trimester antiretroviral drug exposure (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]): multivariate analysis. Squares indicate AORs for exposure in the first trimester versus no exposure to the drug, adjusted on IDU, geographical origin, maternal age, and maternity center. Lines indicate 95% confidence intervals and square areas are proportional to the power for an OR of 1.5. Total number of birth defects = 575/13,124. Numbers for each ARV drug are shown in Table 3. doi:10.1371/journal.pmed.1001635.g002

effect of immune status or to cotrimoxazole, which is recommended in patients with CD4 <200 cells/ml [30] but which has been shown to be associated with birth defects [31–34]. Unfortunately, concomitant medications were not documented in our cohort. Brogly et al. reported more heart defects for children exposed to zidovudine during the first trimester [11] but stressed that this association was based on a small number of defects, and needed further confirmation. Watts et al. described an association between ART and CHDs, but could not incriminate any drug in particular [14]. Finally, zidovudine was found to be associated with heart dysfunction [35]: this association was stronger for females than for males. Similarly, a gender difference regarding heart dysfunction and zidovudine has been described in an animal study [36]. The potential pathological mechanism has yet to be elucidated. Other studies on birth defects did not find the same association, but most of them lacked statistical power since the numbers of children included were between 344 [37] and 8,242 [17]. The APR, the only previous study with a number of patients similar to that of our study, was not designed as a cohort study and includes data collected from different countries with highly diverse follow-up protocols, which may lead to classification and selection biases [13]. The strength of our prospective cohort in this respect is the free access for all pregnant women in France to standardized prenatal and postnatal evaluations, according to national guidelines, including detailed fetal ultrasound in each of the three trimesters of pregnancy, and meticulous examination at

birth and at follow-up visits through the age of 2 y by a pediatrician. We are aware that the prevalence of CHDs may be overestimated in our cohort compared to population studies [29,38], as they were adjudicated by general pediatricians and not heart defect specialists, as done in some other HIV studies [13,17]. However this possible overestimation should not lead to differential misclassification bias in the association between these defects and zidovudine, since there was no alert for such risk at the time of the study. The adjudication method was homogeneous throughout our cohort, and, in particular, echocardiograms were performed in children only if there was an anomaly during routine prenatal ultrasound screening or if clinical symptoms such as a heart murmur were present during routine clinical examination. Thus, there was no guideline to perform cardiac evaluations specifically in infants exposed to zidovudine. According to new World Health Organization (WHO) recommendations [39] and current practices in European countries, exposure to zidovudine during pregnancy should decrease in the future, but it remains important to continue investigation into the effects of this drug to evaluate potential consequences for development for the large number of children exposed in the past to this drug.

We found a significant association between exposure to efavirenz during the first trimester and neurological defects, using the MACDP classification: AOR = 3.0 (95% CI 1.1–8.5). This association did not reach significance using the EUROCAT classification (AOR = 2.5 [95% CI 0.9–6.8], $p = 0.13$) because this

Table 5. Association between overall birth defects and antiretroviral drugs according to MACDP classification (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]).

In Utero Exposure	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR ^c	95% CI	p-Value ^d	AOR ^e	95% CI	p-Value ^d
Zidovudine									
Unexposed	2,152	6.4	137	1		0.007	1		0.002
1st T	3,267	8.3	271	1.32	1.07–1.63		1.41	1.13–1.76	
2nd–3rd T	7,493	6.7	502	1.05	0.87–1.28		1.1	0.89–1.35	
Didanosine									
Unexposed	11,651	6.8	796	1		0.002	1		0.006
1st T	927	9.7	90	1.46	1.16–1.84		1.4	1.11–1.78	
2nd–3rd T	529	5.3	28	0.76	0.51–1.12		0.77	0.52–1.14	
Zalcitabine									
Unexposed	13,010	6.9	900	1		0.02	1		0.01
1st T	103	13.6	14	2.11	1.20–3.72		2.16	1.17–4.00	
2nd–3rd T	11	0	0	NA			NA		
Lamivudine									
Unexposed	3,734	6.3	237	1		0.006	1		<0.001
1st T	3,772	8.2	308	1.31	1.10–1.56		1.43	1.18–1.72	
2nd–3rd T	5,398	6.7	362	1.06	0.90–1.26		1.2	1.01–1.44	
Stavudine									
Unexposed	12,127	6.9	838	1		0.48	1		0.75
1st T	819	7.9	65	1.16	0.89–1.50		1.07	0.82–1.41	
2nd–3rd T	169	5.9	10	0.84	0.44–1.60		0.84	0.43–1.61	
Abacavir									
Unexposed	11,985	7	833	1		0.48	1		0.51
1st T	920	7.7	71	1.12	0.87–1.44		1.09	0.84–1.42	
2nd–3rd T	184	5.4	10	0.77	0.40–1.46		0.73	0.38–1.41	
Tenofovir									
Unexposed	12,043	7.1	854	1		0.05	1		0.03
1st T	823	6.2	51	0.89	0.66–1.18		0.8	0.59–1.08	
2nd–3rd T	208	3.4	7	0.46	0.21–0.97		0.42	0.19–0.90	
Emtricitabine									
Unexposed	12,420	7.1	877	1		0.22	1		0.13
1st T	552	5.6	31	0.81	0.56–1.16		0.74	0.51–1.07	
2nd–3rd T	118	4.2	5	0.58	0.24–1.43		0.55	0.22–1.36	
Any NRTI									
Unexposed	176	4	7	1		<0.001	1		0.002
1st T	5,288	8	425	2.12	0.99–4.53		2.13	0.98–4.61	
2nd–3rd T	7,375	6.5	476	1.68	0.78–3.58		1.69	0.78–3.65	
Nevirapine									
Unexposed	11,936	6.9	821	1		0.1	1		0.11
1st T	819	8.7	71	1.28	0.99–1.65		1.31	1.00–1.69	
2nd–3rd T	342	5.6	19	0.79	0.50–1.27		0.88	0.54–1.41	
Efavirenz									
Unexposed	12,729	6.9	878	1		0.21	1		0.31
1st T	372	9.4	35	1.4	0.98–1.99		1.32	0.92–1.91	
2nd–3rd T	17	5.9	1	0.84	0.11–6.34		1.06	0.13–8.31	
Any NNRTI									
Unexposed	11,587	6.8	789	1		0.02	1		0.03
1st T	1,161	8.9	103	1.33	1.07–1.64		1.33	1.07–1.66	
2nd–3rd T	343	5.5	19	0.8	0.50–1.28		0.89	0.55–1.44	

Table 5. Cont.

In Utero Exposure	N ^a	Percent with BD	Number with BD ^b	OR ^c	95% CI	p-Value ^d	AOR ^e	95% CI	p-Value ^d
Amprenavir									
Unexposed	13,069	7	909	1		0.45	1		0.3
1st T	23	0	0	NA			NA		
2nd–3rd T	32	15.6	5	2.47	0.95–6.43		1.68	0.63–4.50	
Ritonavir									
Unexposed	7,808	7.4	576	1		0.25	1		0.16
1st T	2,196	7	153	0.95	0.79–1.14		0.91	0.75–1.11	
2nd–3rd T	2,891	6.2	179	0.83	0.70–0.99		0.84	0.70–1.01	
Saquinavir									
Unexposed	12,403	7	863	1		0.46	1		0.58
1st T	308	8.4	26	1.23	0.82–1.84		1.21	0.80–1.84	
2nd–3rd T	400	6	24	0.85	0.56–1.29		0.9	0.59–1.39	
Nelfinavir									
Unexposed	11,070	6.8	757	1		0.29	1		0.58
1st T	625	8.5	53	1.26	0.94–1.68		1.17	0.87–1.58	
2nd–3rd T	1419	7.3	103	1.06	0.86–1.31		1.02	0.82–1.29	
Indinavir									
Unexposed	12,492	6.9	859	1		0.006	1		0.04
1st T	350	11.4	40	1.74	1.24–2.44		1.52	1.07–2.17	
2nd–3rd T	275	5.5	15	0.78	0.46–1.32		0.76	0.44–1.31	
Atazanavir									
Unexposed	12,591	7	883	1		0.58	1		0.57
1st T	447	6.3	28	0.88	0.60–1.30		0.85	0.57–1.26	
2nd–3rd T	66	4.5	3	0.63	0.20–2.01		0.65	0.20–2.11	
Lopinavir									
Unexposed	9,225	7.3	669	1		0.36	1		0.4
1st T	1,333	6.4	85	0.88	0.70–1.11		0.86	0.67–1.09	
2nd–3rd T	2,371	6.6	156	0.91	0.76–1.08		0.93	0.77–1.12	
Fosamprenavir									
Unexposed	12,873	7	896	1		0.41	1		0.61
1st T	172	8.7	15	1.27	0.75–2.17		1.18	0.68–2.03	
2nd–3rd T	72	4.2	3	0.58	0.18–1.84		0.62	0.19–2.00	
Any PI									
Unexposed	5,642	7.1	403	1		0.19	1		0.45
1st T	3,125	7.6	237	1.07	0.90–1.26		1.01	0.85–1.21	
2nd–3rd T	4,110	6.5	267	0.9	0.77–1.06		0.91	0.77–1.08	

Missing data were excluded from all statistical tests.

^aTotal of patients exposed in each category.

^bNumber of birth defects observed among N patients of the category.

^cOR obtained by univariate logistic regression.

^dFor exposure to each drug, including the three categories (no exposure, exposure in the first trimester and in the second or third trimester).

^eAOR obtained by multivariate logistic regression.

BD, birth defect; NA, not applicable/no child in this category; T, trimester.

doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t005

classification excluded a case with a subependymal cyst. The neurological defect rate among children exposed to efavirenz in the first trimester was 1.1%. There has been concern about a teratogenic effect because a preclinical study found three birth defects among 20 monkeys exposed to efavirenz [9], and two cases of neural tube defects were reported in humans [40,41]. Recently, two studies found an association between efavirenz and birth

defects in general [11,12], with a high prevalence of birth defects (12.8% and 15.6%) among children exposed to efavirenz in the first trimester (47 and 32 children, respectively, for [11] and [12]). The updated APR reported a prevalence of 2.3% among 766 children exposed during the first trimester, not different from children exposed later (1.9% for 160 children). A meta-analysis including these studies found a relative risk of 0.85 [95% CI 0.61–1.20]

Table 6. Association between birth defects by organ system and ARV drug exposures (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]).

Type of BD	In Utero Exposure	Percent with BD n/N ^a	EUROCAT					MACDP				
			LBs Only					LBs Only				
			OR	p-Value	AOR	95% CI	p-Value	AOR	95% CI	p-Value	AOR	95% CI
Central nervous system	EFV			0.13			0.16			0.22		
	Unexposed	0.4 56/12,729	1		1		1		1		1	
	1st T	1.1 4/372	2.5	0.9–6.8	2.1	0.7–5.9	1.9	0.7–5.4	3.0	1.1–8.5	2.7	0.9–7.5
	2nd–3rd T	0.0 0/17	NA		NA		NA		NA		NA	
	EFV, 1st T			0.31			0.30			0.41		
	No drugs, 1st T	0.4 32/7,448	1		1		1		1		1	
Heart and circulatory system	EFV, 1st T	1.1 4/372	2.5	0.9–7.2	1.8	0.6–5.4	1.7	0.6–5.1	2.5	0.8–7.5	2.3	0.8–6.8
	Other, 1st T	0.5 23/5,012	1.1	0.6–1.8	0.8	0.4–1.4	0.8	0.5–1.5	0.7	0.4–1.4	0.8	0.4–1.4
	ZDV			<0.001			0.003			0.005		
	Unexposed	1.1 23/2,152	1		1		1		1		1	
	1st T	2.3 74/3,267	2.1	1.3–3.4	2.2	1.3–3.7	2.1	1.3–3.5	2.4	1.4–4.1	2.3	1.4–3.9
	2nd–3rd T	1.1 84/7,493	1.1	0.7–1.7	1.1	0.6–1.9	1.1	0.6–1.9	1.4	0.8–2.4	1.4	0.8–2.4
Head and neck defects	ZDV, 1st T			<0.001			0.003			0.006		
	No drugs, 1st T	1.1 83/7,448	1		1		1		1		1	
	ZDV, 1st T	2.3 74/3,267	2.1	1.5–2.8	2.1	1.3–3.6	2.0	1.2–3.4	1.9	1.2–3.2	1.8	1.1–3.0
	Other, 1st T	1.1 24/2,117	1.0	0.6–1.6	1.1	0.6–1.9	1.1	0.6–1.9	0.9	0.5–1.6	0.9	0.5–1.6
	DDI			0.06			0.07			0.049		
	Unexposed	0.2 18/11,651	1		1		1		1		1	
	1st T	0.5 5/927	3.5	1.3–9.5	3.4	1.1–10.4	3.3	1.1–10.3	1.9	1.1–3.3	1.9	1.1–3.3
	2nd–3rd T	0.4 2/529	2.5	0.6–10	2.7	0.6–12.0	2.7	0.6–12.1	0.6	0.2–1.9	0.6	0.2–1.9
	DDI, 1st T			0.12			0.12			0.13		
	No drugs, 1st T	0.2 12/7,448	1		1		1		1		1	
	DDI, 1st T	0.5 5/927	3.4	1.2–9.6	2.9	0.8–10.9	2.8	0.7–10.7	1.5	0.8–2.9	1.5	0.8–2.9
	Other, 1st T	0.2 8/4,457	1.1	0.5–2.7	NA		NA		NA		NA	
IND				0.01			0.04			0.04		
	Unexposed	0.2 22/12,470	1		1		1		1		1	
	1st T	0.9 3/350	4.9	1.5–16	3.8	1.1–13.8	3.8	1.0–13.7	1.6	0.7–3.5	1.6	0.7–3.5

Table 6. Cont.

Type of BD	In Utero Exposure	Percent with BD n/N ^a	EUROCAT			LBs, TOPs, and SBs			MACDP			LBs, TOPs, and SBs		
			LBs Only			LBs Only			LBs Only			LBs Only		
			OR	95% CI	p-Value	AOR	95% CI	p-Value	AOR	95% CI	p-Value	AOR	95% CI	p-Value
2nd–3rd T	0	0/275	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.8	0.2–3.1	0.38	0.8	0.2–3.1	0.34
IND, 1st T					0.02			0.04						
No drugs, 1st T	0.2	12/7,448	1			1			1			1		
IND, 1st T	0.9	3/350	5.4	1.5–19		4.0	1.1–15.0		1.5	0.6–3.2		1.5	0.7–3.3	
Other, 1st T	0.2	10/5,038	1.2	0.5–2.9		NA	NA		NA			NA		

All organ system defects significantly associated with ART in multivariate main analysis with either EUROCAT or MACDP classification are presented in this table. AORs obtained by multivariate logistic regression adjusted systematically for maternal age, geographical origin, IDU, and type of maternity center (ranged from 1 to 3 according to the presence of a pediatrician on site, a neonatology unit, or a neonatal intensive care unit), and for all other drugs associated in univariate analysis with $p < 0.10$ to the organ system considered in either classification (central nervous system defects adjusted for didanosine; heart defects adjusted for indinavir, emtricitabine, lamivudine, and zalcitabine; head and neck defects adjusted for zidovudine, zalcitabine, lamivudine, emtricitabine and efavirenz). Univariate analysis showing the association between birth defects by organ system and all drugs evaluated is presented in Table 3. p -Values are global p -value for the three categories in each type of exposure.

^aNumber of birth defects/total in exposure category.

BD, birth defect; DDI, didanosine; EFV, efavirenz; IND, indinavir; LB, live birth; NA, not applicable/no child in this category; SB, stillbirth; T, trimester; ZDV, zidovudine.

doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t006

among 1,437 women exposed to efavirenz in the first trimester compared to non-efavirenz-based regimens [10]. There are two difficulties in studying this association in high-income countries, where detailed studies of birth defects are feasible. First, because the use of efavirenz was, until recently, discouraged in pregnant women and women planning to become pregnant, the number of exposed fetuses is relatively small, and power is lacking. With 372 children exposed to efavirenz in the first trimester, our study is larger than any prospective cohort studies to date. Second, detailed ultrasound examination is recommended, which presumably would lead to the detection of major birth defects early in pregnancy, thus allowing for TOP before inclusion in perinatal studies. The possible non-inclusion of patients with fetuses with major defects because of early TOPs may explain why the association was lower, using the EUROCAT classification, which includes only major defects. Efavirenz is efficacious and inexpensive and is consequently widely prescribed worldwide. Recent guidelines from the US Department of Health and the WHO state that efavirenz does not necessarily need to be changed at the beginning of pregnancy [39,42]. Our findings are less reassuring, but no causal association can be concluded, because of the small number of defects, and especially since the different neurological anomalies reported do not correspond to a specific malformative pathway.

Didanosine was associated with head and neck defects, whatever the classification. A higher risk of birth defects for children exposed to didanosine has also been reported in the APR, but not in other studies [13]. Our study has the greatest number of children exposed to didanosine during the first trimester, and thus the discrepancy between our results that those of other studies could be due to lack of power in the other studies.

Nevertheless, didanosine is no longer recommended and is not commonly prescribed during pregnancy (6.9% over the last 5 y in EPF).

Finally, a significant association was found between indinavir and head and neck defects. Birth defects associated with PIs have been less studied, because the placental transfer is low. Nevertheless, an increased risk of birth defects was reported in rats exposed to indinavir [43]. As is the case for didanosine, indinavir is no longer prescribed (less than 3% in the last 5 y). For both of these drugs, the absolute numbers of defects in the exposed groups were low, leading to large confidence intervals, reinforcing cautiousness in any causal conclusion.

There is no nationwide description of the birth defect rate in the French general population, but there are exhaustive regional registries. The birth defect rate observed in our study was higher than in the Paris Birth Defect Registry [44]: 4.4% versus 2.3% ($p < 0.001$) among live births, with the same classification (EUROCAT) and during the same period. However, interpretation of this difference is difficult and cannot be attributed solely to treatments and/or HIV infection, because of the longer follow-up of children in our cohort and because of potential confounding factors and regional disparities. The rate of birth defects in our cohort changed over time, with an increase between 1994 and 1996, and a slight decrease afterwards. This decrease is unlikely to be due solely to changes in the general population, since the trend in the birth defect rate among live births in the Paris registry was a regular decrease from 2.4% in 1994–1996 to 2.1% in 2005–2009. We chose not to include time period in the main analysis because of collinearity with PMTCT strategies. However, when included in sensitivity analyses, adjustment for year of birth did not change the association between zidovudine and heart defects.

Table 7. Univariate analysis: association between birth defects by organ system and antiretroviral drugs.

In Utero Exposure	Central Nervous System										Heart and Circulatory System										Renal and Urinary System										Limb and Musculoskeletal System										Head and Neck (Including Eyes and Ears)									
	EUROCAT (n=60)					MACDP (n=50)					EUROCAT (n=182)					MACDP (n=198)					EUROCAT (n=53)					MACDP (n=57)					EUROCAT (n=133)					MACDP (n=373)					EUROCAT (n=25)					MACDP (n=129)				
	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value														
Zidovudine																																																		
Unexposed	1			0.96	1	0.47	1			<0.001	1			<0.001	1			0.64	1			0.52	1			0.45	1			0.13	1			0.91	1			0.07												
1st T	1.1	0.48–2.51		0.66	0.26–1.66		2.14	1.34–3.44		2.45	1.51–3.98		1.13	0.44–2.87		1.22	0.49–3.07		1.32	0.77–2.27		1.29	0.93–1.79		0.79	0.24–2.59		1.39	0.82–2.33																					
2nd–3rd T	1.11	0.54–2.33		1.02	0.49–2.14		1.05	0.66–1.67		1.34	0.84–2.16		1.4	0.62–3.16		1.52	0.68–3.42		1.05	0.64–1.72		1.03	0.76–1.39		0.8	0.29–2.23		0.87	0.53–1.43																					
Didanosine																																																		
Unexposed	1			0.09	1	0.77	1			0.82	1			0.81	1			0.57	1			0.87	1			0.06	1			0.07	1			0.06	1			0.03												
1st T	2.37	1.16–4.85		1.17	0.42–3.27		1.18	0.69–2.01		1.15	0.69–1.93		1.34	0.53–3.37		1.26	0.50–3.16		1.64	0.95–2.81		1.45	1.02–2.05		3.5	1.30–9.46		1.97	1.18–3.31																					
2nd–3rd T	1.38	0.43–4.44		1.54	0.48–4.98		0.96	0.45–2.06		0.88	0.41–1.88		0.47	0.06–3.40		0.88	0.21–3.63		0.38	0.09–1.53		0.74	0.40–1.36		2.45	0.57–10.6		0.6	0.19–1.91																					
Zalcitabine																																																		
Unexposed	NA			NA			1			0.04	1			0.009	1			0.44	1			0.47	1			0.96	1			0.97	NA			NA	1			0.06												
1st T	NA			NA			2.91	1.06–8.00		3.39	1.36–8.42		2.44	0.33–17.9		2.27	0.31–16.5		0.96	0.13–6.90		1.02	0.32–3.25		NA			NA	3.07	0.96–9.80																				
2nd–3rd T	NA			NA			NA			NA		NA		NA		NA		NA		NA		NA							NA																					
Lamivudine																																																		
Unexposed	1			0.85	1	0.84	1			0.02	1			0.1	1			0.31	1			0.3	1			0.27	1			0.02	1			0.27	1			0.004												
1st T	0.89	0.46–1.71		0.8	0.39–1.67		1.48	1.02–2.25		1.36	0.95–1.95		1.35	0.62–2.95		1.32	0.62–2.80		1.3	0.84–2.01		1.29	0.99–1.68		2.48	0.78–7.91		2.07	1.29–3.31																					
2nd–3rd T	0.84	0.46–1.54		0.91	0.47–1.74		0.94	0.64–1.37		0.97	0.68–1.39		1.7	0.84–3.43		1.68	0.85–3.29		0.94	0.61–1.45		0.92	0.71–1.19		1.9	0.61–5.98		1.28	0.79–2.07																					
Tenofovir																																																		
Unexposed	1			0.93	1	0.65	1			0.21	1			0.69	1			0.82	1			0.85	1			0.86	1			0.03	1			0.75	1			0.21												
1st T	1.04	0.38–2.89		1.27	0.48–3.55		0.79	0.40–1.54		0.8	0.42–1.51		0.88	0.27–2.82		1.1	0.40–3.06		0.94	0.46–1.92		0.87	0.56–1.36		1.27	0.30–5.41		0.59	0.24–1.44																					
2nd–3rd T	NA			NA			2.11	0.92–4.83		1.27	0.47–3.46		NA		NA		NA		NA		NA		0.16	0.02–1.15		NA		NA																						
Emtricitabine																																																		
Unexposed	1			0.78	1	0.56	1			0.02	1			0.16	1			0.86	1			0.72	1			0.21	1			0.62	NA			NA	1			0.08												
1st T	1.18	0.37–3.80		1.44	0.44–4.64		0.65	0.27–1.60		0.59	0.24–1.44		0.88	0.21–3.63		1.25	0.39–4.01		0.52	0.16–1.63		0.87	0.51–1.50		NA			NA	0.35	0.09–1.43																				

Table 7. Cont.

In Utero Exposure	Central Nervous System						Heart and Circulatory System						Renal and Urinary System						Limb and Musculoskeletal System						Head and Neck (Including Eyes and Ears)					
	EUROCAT (n=60)			MACDP (n=50)			EUROCAT (n=182)			MACDP (n=198)			EUROCAT (n=53)			MACDP (n=57)			EUROCAT (n=133)			MACDP (n=373)			EUROCAT (n=25)			MACDP (n=129)		
	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value	OR	95% CI	P-Value			
2nd-3rd T	NA			NA			3.84	1.67–8.85		2.27	0.83–6.22		NA			NA			NA			NA			NA					
Nevirapine																														
Unexposed	1			0.12	1	0.37	1	0.16	1	0.46	1	0.12	1	0.09	1	0.32	1	0.03	NA							1		0.19		
1st T	1.75	0.75–4.10		1.36	0.49–3.79		0.8	0.41–1.57		0.9	0.49–1.66		0.28	0.04–2.02		0.26	0.04–1.88		1.49	0.82–2.71		1.57	1.10–2.23		NA		1.39	0.74–2.58		
2nd-3rd T	2.81	1.01–7.83		2.45	0.76–7.93		1.94	0.98–3.83		1.58	0.77–3.24		NA			NA			0.15	0.15–2.39		0.63	0.28–1.42		NA		0.3	0.04–2.15		
Efavirenz																														
Unexposed	1			0.13	1	0.04	1	0.46	1	0.51	1	0.66	1	0.77	1	0.67	1	0.11	1	0.2	1					0.2	1	0.04		
1st T	2.46	0.89–6.82		3	1.07–8.37		1.18	0.52–2.67		0.89	0.36–2.17		0.66	0.09–4.77		1.25	0.30–5.13		0.79	0.25–2.49		1.56	0.93–2.60		2.99	0.70–12.7	2.29	1.11–4.72		
2nd-3rd T	NA			NA			4.48	0.59–34.0		4.08	0.54–30.9		NA			NA			NA			NA			NA		NA			
Any NNRTI																														
Unexposed	1			0.03	1	0.1	1	0.19	1	0.47	1	0.13	1	0.28	1	0.44	1	0.01	1	0.84	1					0.84	1	0.05		
1st T	2.18	1.10–4.33		2.05	0.96–4.41		0.87	0.51–1.52		0.92	0.55–1.54		0.39	0.09–1.60		0.55	0.17–1.77		1.31	0.76–2.24		1.57	1.15–2.13		0.87	0.20–3.68	1.65	1.00–2.74		
2nd-3rd T	2.96	1.06–8.27		2.61	0.80–8.50		1.94	0.98–3.82		1.56	0.77–3.23		NA			NA			0.59	0.14–2.38		0.63	0.28–1.43		NA		0.31	0.04–2.21		
Nelfinavir																														
Unexposed	1			0.29	1	0.16	1	0.73	1	0.68	1	0.4	1	0.36	1	0.84	1	0.51	1	0.87	1					0.87	1	0.89		
1st T	1.54	0.55–4.30		0.93	0.22–3.87		1.29	0.69–2.39		1.29	0.71–2.32		1.73	0.62–4.85		1.61	0.58–4.51		0.78	0.32–1.90		1.28	0.82–1.99		0.8	0.11–5.98	1.16	0.54–2.50		
2nd-3rd T	1.7	0.86–3.38		2.06	1.02–4.14		0.97	0.60–1.58		0.94	0.59–1.50		1.53	0.71–3.26		1.6	0.78–3.28		0.96	0.96–1.67		1.1	0.79–1.51		0.71	0.17–3.02	1.09	0.64–1.88		
Indinavir																														
Unexposed	1			0.59	1	0.22	1	0.07	1	0.04	1	0.04	1	0.06	1	0.86	1	0.64	1	0.03	1					0.03	1	0.21		
1st T	1.92	0.60–6.16		2.29	0.71–7.39		2.13	1.11–4.07		2.16	1.16–4.00		3.92	1.55–9.93		3.61	1.43–9.10		1.13	0.41–3.06		1.21	0.68–2.18		4.9	1.46–16.4	2.1	0.97–4.54		
2nd-3rd T	0.81	0.11–5.87		NA			0.53	0.13–2.15		0.49	0.12–1.97		1.98	0.48–8.21		1.82	0.44–7.53		0.71	0.18–2.90		0.76	0.34–1.72		NA		0.76	0.19–3.07		

NA, not applicable/no child in this category; T, trimester.
doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t007

Table 8. Description of births defects among 13,124 live births (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]).

Organ System Classification (EUROCAT)	N
Nervous system	60
Spina bifida	3
Hydrocephalus, dilatation of ventricular system	31
Microcephaly	13
Agenesis/malformation of corpus callosum	4
Pachygyria	1
Cerebral cyst, single or multiple	7
Malformation of spinal cord	1
Eye, ear, face, and neck	25
Anophthalmos	1
Congenital cataract	1
Congenital glaucoma/buphthalmos	5
Congenital ptosis/malformation of eyelid	8
Malformation of lacrimal duct/apparatus	2
Coloboma of iris	1
Aniridia	1
Congenital corneal opacity/malformation of cornea	4
Absence of auditory canal	1
Cyst of tongue	1
CHDs	182
Ventricular septal defects	101
Atrial septal defects	30
Atrioventricular septal defects	1
Tetralogy of Fallot	1
Pulmonary valve stenosis/dysplasia	14
Hypoplastic left heart	1
Coarctation of aorta	6
Tricuspid valve malformation	3
Aortic valve stenosis/malformation	1
Mitral insufficiency	1
Other CHD	2
Patent ductus arteriosus as only CHD in term infants (≥ 37 wk)	15
Pulmonary artery stenosis/other malformation	6
Respiratory	6
Choanal atresia	3
Underdevelopment of nose	1
Congenital cystic lung	1
Hypoplasia of lung	1
Oro-facial clefts	9
Other malformations	25
Genetic syndromes and microdeletions	7
Chromosomal	24
Teratogenic syndromes with malformations	11
Fetal alcohol syndrome	6
Cytomegalovirus infection resulting in malformation	5
Digestive	21
Esophageal atresia	2
Duodenal atresia	1

Table 8. Cont.

Organ System Classification (EUROCAT)	N
Imperforate anus	3
Hirschsprung disease	4
Diaphragmatic hernia	3
Fistula of rectum and anus	2
Microcolon	3
Other malformation of intestines	1
Malformation of bile ducts	1
Duplication of digestive organs	1
Abdominal wall defects	2
Gastroschisis	1
Omphalocele	1
Urinary	53
Renal dysplasia	7
Hydronephrosis/renal pelvis dilatation	25
Renal agenesis, unilateral	5
Renal cyst	2
Pelviureteric junction syndrome	3
Vesicoureteric junction syndrome	2
Megaloureter	3
Duplication of ureter	1
Ectopic kidney	1
Other malformation of kidney or urethra	4
Genital	45
Hypospadias	26
Indeterminate sex	1
Ovarian cyst	10
Malformation of clitoris	4
Agenesis of testis, unilateral	1
Micropenis	3
Limb and musculoskeletal	133
Talipes equinovarus	14
Hip dislocation and/or dysplasia	25
Polydactyly	61
Syndactyly	2
Reduction defect of upper limb	2
Reduction defect of lower limb	4
Other malformation of upper limb	6
Other malformation of lower limb	2
Arthrogryposis multiplex congenita	1
Achondroplasia, hypochondroplasia	1
Amniotic band syndrome	1
Other malformation of skull and bones	14

Total number of defects exceeds 575 because some children were included in several organ systems. Each child was included only once in each organ system. doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t008

Strengths and Limitations of the Study

Our study presents many strengths. To our knowledge, it is the largest national cohort of live births among HIV-infected women, with homogeneous prenatal and postnatal follow-up via standardized questionnaires, and thus has higher power than most studies

Table 9. Description of birth defects among terminations of pregnancy (French Perinatal Cohort [ANRS CO1/CO11]).

Organ System Classification (EUROCAT)	N
Nervous system	5
Anencephaly	1
Spina bifida	1
Agenesis of corpus callosum	1
Anomalies of gyration	1
CHDs	4
Severe heart defects	3
Atrioventricular septal defects	1
Urinary	1
Renal hypoplasia, bilateral	1
Other malformations	5
Multiple congenital malformations	4
Cystic hygroma	1
Genetic and microdeletion syndromes	1
Goldenhar syndrome	1
Chromosomal	9
Trisomy 21	6
Trisomy 13	2
Unbalanced translocation	1

doi:10.1371/journal.pmed.1001635.t009

to date, which is reassuring for drugs found to be not associated with birth defects. Women were included prospectively during pregnancy, before any detection of birth defects. Clinical examinations of children were performed during the first 2 y of life, such that it is unlikely that many birth defects were missed. We used the EUROCAT classification, which excludes most minor anomalies and contains very few decision trees, minimizing the need for additional details for classification, which seems to make it more reproducible. We also used the APR-modified MACDP classification in secondary analyses to facilitate comparisons with previous studies. We studied birth defects by organ system, which is a more specific approach than considering the overall incidence of birth defects. Indeed, teratogenic agents generally affect particular developmental pathways and not several pathways randomly. Therefore, although the number of defects per organ system is lower than the total number of defects, the power for finding an association can be higher. Finally, many characteristics of the mother and neonate were available for adjustment for potential confounders.

Our study also presents some limitations. Gestational age at inclusion varied over time, and early TOPs were not captured before 2005. We then decided to exclude stillbirths and TOPs from the main analysis. The reasons were to avoid false associations of major defects with drugs prescribed more often in recent years, and to limit underestimation of major defects likely to be detected earlier in pregnancy for efavirenz than for other drugs. In sensitivity analyses including TOPs and stillbirths, as expected, the association remained unchanged for zidovudine with CHDs, but decreased for efavirenz with neurological defects. We also excluded the small group of women not treated with ART, as relevant variables to adjust for this very precarious situation were not available in the EPF study. Another concern is the risk of false positive associations due to multiple testing. We chose not to

perform adjustments for multiple testing because such an approach is questionable for exploratory studies such as this from a methodological standpoint [45]. Additionally, most statistical tests were not significant, and for significant associations, our discussion was based both on (1) hypotheses emanating from previous findings in the literature and (2) the robustness of the findings of the current study, which was important for the association between zidovudine and heart defects. Lastly, we were cautious in any causal interpretation. Except for the interaction of zidovudine with other drugs, we did not address other possible interactions because of the number of possible combinations, and hence potential interaction effects, and the lack of previous literature to guide the analyses. Missing data were excluded as they were rare for most maternal covariates, except for viral load and CD4 cell count, which were not measured routinely before 1996. These covariates were not likely to be related to birth defect detection and reporting.

Another limitation, common to most studies of birth defects and ART, is the lack of data on concomitant medication and alcohol and tobacco use, which in the case of the current study were not available for the whole study period. Cotrimoxazole use was indirectly accounted for by adjusting for CD4 cell counts in sensitivity analyses. Exposure to tobacco and alcohol during pregnancy was reported by 5% and 1.9% of women, respectively, between 2005 and 2010. Whatever their impact on birth defects, these factors were unlikely to be related to the prescription of any particular ARV drug, and thus should not bias the results.

Conclusions

In conclusion, we found a higher rate of CHDs in children exposed in utero to zidovudine, which should be taken into consideration, given the large number of children exposed to perinatal zidovudine in the world. Potential mechanisms underlying this association must be investigated. This alert reinforces recent recommendations for PMTCT, which no longer consider zidovudine to be the first-line ART during pregnancy [39]. Though the higher rate of neurological birth defects observed in infants exposed to efavirenz in the first trimester must be interpreted with caution, as discussed previously, our results reinforce the importance of careful clinical follow-up of children in case of perinatal exposure to efavirenz, as recommended in the WHO guidelines [39]. In our study, ventricular dilatation, partial agenesis of the corpus callosum with an interhemispheric cyst, pachygyria, and subependymal cyst, detected by routine prenatal ultrasound screening and/or clinical postnatal follow-up, may have been missed by neonatal examination only. The absence of association between birth defects and several ARV drugs that are increasingly prescribed during pregnancy, such as tenofovir, which is the first-line WHO recommendation for PMTCT, is reassuring and may encourage us to explore various zidovudine-sparing regimens. Nonetheless, whatever the impact some ARV drugs may have on birth defects, it is largely surpassed by the major role of ART in successful PMTCT, leading to the decrease of transmission rates from 20% without ART to the current rate of less than 1%.

Acknowledgments

We are indebted to all families who agreed to participate and thank all the centers participating in EPF.

Active contributors of current clinical centers participating in EPF (the asterisks indicate the main investigator of each clinical site): Assistance Publique–Hôpitaux de Paris (APHP) Hôpital Louis Mourier, Colombes, France (Laurent Mandelbrot*, Françoise Meier,

Dominique Duro, Marine Joras, Emmanuel Mortier, Catherine Crenn-Hebert, Corinne Floch-Tudal*, Fabienne Mazy); APHP Hôpital Beaujon, Clichy, France (Mariam Bensalah, Agnès Villenmant-Uludag, Agnès Lefort, Virginie Zarrouk, Pierre-François Ceccaldi*); Hôpital Sainte Musse, Toulon, France (Gilles Hittinger*); Centre Hospitalier Général (CHG) Marechal Joffre, Perpignan, France (Martine Malet, Bruno Bachelard, Marie Medus*); Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Caremeau, Nîmes, France (Joëlle Dendale-Nguyen*); Centre Hospitalier Départemental les Oudairies, La Roche sur Yon, France (Jean-Pierre Brossier, Olivier Aubry, Jean-Luc Esnault, Sophie Leautez, Philippe Perré*); Centre Hospitalier William Morey, Chalon sur Saone, France (Sandrine-Anne Martha*); Centre Hospitalier, Vernon, France (Mahfoud Rouha); Centre Hospitalier Intercommunal de Cornouaille, Quimper, France (Pascale Perfezou*, Gilles Blondin, Charles Bellot); Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France (Séverine Ansart*, Philippe Le Moine, Karine Bages-Jaffuel, Michel Garré, Sylvain Jaffuel); Centre Hospitalier, Saint-Brieuc, France (Corinne Daniel*, Christian Calvez, Claude Beuscart, Emmanuelle Boutaric, Jennifer Rohan, Sylvie Lemoal); Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France (Linda Lassal, Ghislaine Cotten, Christelle Dupré, Esther Beauville, Cédric Arvieux*); Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France (Anabelle Dos Santos*, Corinne Cudeville, Yves Poinsignon, Virginie Mouton-Rioux, Gaétane Mousset, Anne Grellier); Centre Hospitalier de Bretagne Sud, Lorient, France (Philippe Moreau, Philippe Tillaut, Virginie Mouton-Rioux, Odile Luyx-Vaillant, Philippe de Morel, Marie-Françoise Le Coz, Isabelle Belzic, Mathilde Niaux*); Centre Hospitalier de la Région d'Annecy, Annecy, France (Anne Vandenberg, Cécile Janssen, Susanne Braig, Virginie Vitrat*, Jacques Gaillat, Gaëlle Clavere, Jean-Pierre Bru, Blandine Peyret); Centre Hospitalier Intercommunal, Montfermeil, France (Catherine Mullard, Marie Echard, Philippe Talon*, Marion Dehlinger); Centre Hospitalier Intercommunal, Montreuil, France (Cécile Winter, Brigitte Heller-Roussin*); APHP Hôpital Cochin-Port Royal, Paris, France (Odile Launay, Maria Fouchet, Ghislaine Firtion*, Isabelle Goupil, Emmanuelle Pannier*, Nora Boudjoudi); APHP Hôpital Bichat, Paris, France (Marylène Bodard, Valérie Vivier, Mandovi Rajguru, Virginie Huri, Elie Azria, Sophie Matheron*, Neila Elaoun); Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France (Valérie Garrait*, Christiane Komme, Laurent Richier, Claudine Touboul); Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France (Valérie Thoirain, Laurent Cotte*, Olivier Tariel, Joseph Koffi, Jean-Marc Labaune, Corinne Brochier); Centre Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France (Denis Roux*, Christophe Elleau, Camille Runel*); CHU Les Abymes, Pointe à Pitre, France (Henri Bataille*, Marie-Thérèse Sow, Ketty Samar, Blandine Muanza); Centre Hospitalier Général, Creil, France (Marc Duval*, Clarisse Kingue-Ekollo, Bénédicte Carpentier); Centre Hospitalier Intercommunal (CHI) la Seyne sur Mer, La Seyne sur Mer, France (Isabelle Ronda, Jean-Marc Chamouilli*); Hôpital de Haute Pierre, Strasbourg, France (Natacha Entz-Werle); Centre Hospitalier Général, Longjumeau, France (Hervé Seaumé*, Sarah Ducrocq, Yvon Lemercier); Hôpital Paule de Viguier, Toulouse, France (Joëlle Tricoire*, Alain Berrebi*, Michèle Antras, Evelyne Armand); Centre Hospitalier de la Côte Basque, Bayonne, France (Claudine Cayla, François Bonnal, Catherine Chabanier); Centre Hospitalier Intercommunal, Villeneuve-Saint-Georges, France (Isabelle Matheron, Anne Chacé); Centre Hospitalier Intercommunal, Poissy Saint Germain en Laye, France (Sophie Couderc, Anne Boutemy*); Centre Hospitalier Général, Fontainebleau, France (Marie-Christelle Dallot, Alain Al-Issa, Corinne Routier*); Centre Hospitalier Robert Ballanger, Aulnay, France (Ahmed Zakaria, Véronique Favret, Juliette Gerbe, Elisabeth Questiaux); Hôpital Civil, Strasbourg, France (MariaLuisa Partisani*, David Rey, Christine Cheneau); Centre Hospitalier Victor Dupouy, Argenteuil, France (Christine Allisy, Dominique Brault*); APHP Hôpital Tenon, Paris, France (François Hervé, Marie-Gisèle Lebreton*, Lise Selleret); Centre Hospitalier Général, Saint-Denis, France (Dieudonné Ekoukou, Pascal Bolot*, Marie-Aude Khuong-Josses, Marie-Christine Allemon, Nelly Ghibaudo); APHP Hôpital Necker, Paris, France (Pierre Frange, Christine Rouzioux, Florence Veber, Stéphane Blanche*, Delphine Lemercier*, Marie-Christine Mourey); Centre Hospitalier Sud Francilien, Evry Corbeil, France (Gilles Blasquez); Centre Hospitalier Sud Francilien, Evry Corbeil, France (Michèle Granier*, Rose Nguyen, Alain Devidas*); Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical, Schiltigheim, France (Israël Nisand, Michèle Weil, Christophe Vayssiére); Centre Hospitalier Régional (CHR) American Memorial Hospital, Reims, France (Jean-Luc Berger, Martine Munzer*, Olivier Graesslin); APHP Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

(Anne-Florence Alix-Naïme, Roland Tubiana*, Frédérique Quetin, Anne Laubies, Manuela Bonmarchand, Jennifer Sommer, Patricia Bourse); Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France (Anne Coursol*, Michel Youssef); APHP Hôpital Bécélère, Clamart, France (Mariem Raho, Véronique Chambrin*, Philippe Labruné*, Laure Clech, Alexandra Benachi); Centre Hospitalier Marc Jacquet, Melun, France (Bertrand Le Lorier*, Isolde Pauly-Ravelly); Centre Hospitalier Général, Evreux, France (Claude Allouche, Ama Johnson*); APHP Hôpital Jean Verdier, Bondy, France (Laurence Benoist, Catherine Delannoy, Eric Lachassine, Stéphanie Bolie, Joël Gaudelus, Vincent Jeantils, Amélie Benabara*); Centre Hospitalier de Meaux, Meaux, France (Leila Karaoui*, Véronique Lefèvre); CHU de l'Archet, Nice, France (André Bongain*, Eliane Galiba, Anne Deville, Fabrice Monpoux*, Jacques Durant); Centre Hospitalier François Quesnay, Mantes La Jolie, France (Jean Furioli, Jean-Louis Salomon, Françoise Granier, Antoine Doumet*); CHU Hôpital Nord, Amiens, France (Youssef Douadi, Jean Gondry, Jean-Luc Schmit*, Brigitte Pautard); Hôpital de la Conception, Marseille, France (Marc Gamarre, Ludovic Cravello*, Isabelle Thuret*); CHU de Brabois-Hôpital des Adultes, Vandoeuvre les Nancy, France (Laurence Neimann, Claire Hubert*); APHP Hôpital Trousseau, Paris, France (Bruno Carbone*, Geneviève Vaudre, Marie-Dominique Tabone, Catherine Dollfus*); Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France (Didier Pinquier, Gaëlle Pinto Cardoso*, Brigitte Clavier, Françoise Borsa-Lebas); APHP Hôpital Robert Debré, Paris, France (Agathe De Lauzanne, Constance Borie, Sandrine Leveillé, Albert Faye*, Erianna Bellaton, Dominique Garion, Martine Levine*); APHP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France (Claire Colmant, Cécile Goujard, Marc Tardieu, Ikram Jrad, Delphine Peretti*, Katia Bourdic, Corinne Fourcade*); Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) Hôpital Saint Jacques, Besançon, France (Catherine Chirouze, Jean-Marie Estavoyer*, Robert Maillet); CHU de Nantes, Nantes, France (Véronique Reliquet*, Norbert Winer, Cécile Brunet*); CHRU Hôpital du Bocage, Dijon, France (Isabelle Reynaud*, Claire Briandet); CHRU Hôpital Clemenceau, Caen, France (Jacques Brouard*, Gaël Beucher, Pascale Goubin); Centre Hospitalier de Lagny, Lagny, France (Cécile Lanty, Eric Froguel, Arnaud Chalvon Demersay*, Gilbert Algava); Hôpital André Mignot, Le Chesnay, France (Véronique Hentgen*, Fabienne Messaoudi); CHRU de Tours, Tours, France (Louis, Bernard*, Pascale Nau, Jérôme Potin); Institut d'Hémo-Oncologie Pédiatrique, Lyon, France (Nadine Taché, Yves Bertrand, Kamila Kebaïli*); Hôpital Nord, Saint Etienne, France (Véronique Ronat, Anne Fresard, Kareen Billimaz*); Centre Hospitalier Général, Bastia, France (Ramona Abrudan*); Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France (Alain Fournié, Jean-Marie Chenebault*); Centre Hospitalier Régional, Orléans, France (Philippe Arsac*); APHP Hôpital Lariboisière, Paris, France (Nicole Ciraru-Vigneron*, Geneviève Mouchnino, Dominique Ayrat); CHR Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France (Nelly Guigue, Muriel Lalande*); Centre Hospitalier Général, Orsay, France (Christiane De Gennes*, Sonia Chanzy, Valérie Isart); Centre Hospitalier de Saint Martin, Saint Martin, France (François Cazassus, Véronique Walter, François Bissuel*); CHR Jeanne de Flandres, Lille, France (Yamina Hammou*, Sophie d'Angelo, Faïza Ajana, Françoise Mazingue*); CHU Maison de la Femme et de l'Enfant, Fort de France, France (Raymond Mezin, Yves Hatchuel*, André Cabié).

Clinical centers that contributed in the past to EPF: CHRU de Dourdan, Dourdan; CHG de Gonesse, Gonesse; Hôpital Max Fourestier, Nanterre; APHP Hôpital Hôtel Dieu, Paris; Hôpital d'Aix en Provence, Aix en Provence; CHI Jean Rostand, Sèvres; Centre Hospitalier de Neuilly, Neuilly sur Seine; APHP Hôpital Saint-Antoine, Paris; Centre Médico-Chirurgical Foch, Suresnes; Hôpital Esquirol, Saint-Maurice; Institut Mutualiste Montsouris, Paris; Clinique du Blanc Mesnil, Blanc Mesnil; Hôpital des Métallurgistes, Paris; APHP Hôpital Avicennes, Bobigny; Centre Hospitalier Victor Jousset, Dreux; APHP Hôpital Boucicaud, Paris; Hôpital Saint Michel, Paris; Hôpital Jean Rostand, Ivry; Hôpital Hôtel Dieu, Lyon; Hôpital Saint Claude, Basse Terre; CHG des Feugrais, Elbeuf; APHP Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt; APHP Hôpital Paul Brousse, Villejuif; Centre Hospitalier Louis Domergues, La Trinité; Centre Hospitalier Saint Joseph, Paris.

Steering committee of EPF: Stéphane Blanche, Naïma Bouallag, Nelly Briand, Sandrine Delmas, Catherine Dollfus, Albert Faye, Jérôme Le Chenadec, Laurent Mandelbrot, Christine Rouzioux, Jeanne Sibude, Jean-Paul Teglas, Roland Tubiana, Josiane Warszawski.

Coordinating center of EPF: INSERM U1018, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Le

Kremlin-Bicêtre: Souad Belaggoun, Naïma Bouallag, Leïla Boufassa, Nelly Briand, Sandrine Delmas, Céline Ferey, Paulette Huynh, Julie Lamarque, Corinne Laurent, Jérôme Le Chenadec, Jacques Ngondi, Marlène Pérès, Anaïs Perillou, Marine Pytkowski, Elisa Ramos, Jean-Paul Teglas, Thierry Wack, Josiane Warszawski.

Author Contributions

Analyzed the data: JS JW. Wrote the first draft of the manuscript: JS JW. Contributed to the writing of the manuscript: JS LM JW SB DB BK. ICMJE criteria for authorship read and met: JS LM JW SB JL NB DB NL BK RT AF CD. Agree with manuscript results and conclusions: JS LM JW SB JL NB DB NL BK RT AF CD. Enrolled patients: JS LM SB RT AF CD. Conceived the study design: JS JW SB LM.

References

- Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Blanche S, Teglas JP, et al. (2008) Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *AIDS* 22: 289–299.
- European Collaborative Study (2005) Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 40: 458–465.
- Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, et al. (2002) Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 29: 484–494.
- Delfrayssy JF (2004) Prise en charge thérapeutique des personnes infectées par le VIH. Rapport 2004. Recommandations du groupe d'experts. Paris: Flammarion Médecine-Sciences.
- Blanche S, Tardieu M, Benhammou V, Warszawski J, Rustin P, et al. (2006) Mitochondrial dysfunction following perinatal exposure to nucleoside analogues. *AIDS* 20: 1685–1690.
- Thorne C, Newell ML (2007) Safety of agents used to prevent mother-to-child transmission of HIV: is there any cause for concern? *Drug Saf* 30: 203–213.
- Briand N, Mandelbrot L, Le Chenadec J, Tubiana R, Teglas JP, et al. (2009) No relation between in-utero exposure to HAART and intrauterine growth retardation. *AIDS* 23: 1235–1243.
- Jao J, Abrams EJ (2013) Metabolic complications of in utero maternal HIV and antiretroviral exposure in HIV-exposed infants. *Pediatr Infect Dis J*. E-pub ahead of print. doi:10.1097/INF.0000000000000224
- Bristol-Myers Squibb Company (2006) Sustiva (efavirenz) capsules and tablets leaflet. Available: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2006/021360s014bl.pdf. Accessed 6 July 2013.
- Ford N, Calmy A, Mofenson L (2011) Safety of efavirenz in the first trimester of pregnancy: an updated systematic review and meta-analysis. *AIDS* 25: 2301–2304.
- Brogly SB, Abzug MJ, Watts DH, Cunningham CK, Williams PL, et al. (2010) Birth defects among children born to human immunodeficiency virus-infected women: pediatric AIDS clinical trials protocols 219 and 219C. *Pediatr Infect Dis J* 29: 721–727.
- Knapp KM, Brogly SB, Muenz DG, Spiegel HM, Conway DH, et al. (2012) Prevalence of congenital anomalies in infants with in utero exposure to antiretrovirals. *Pediatr Infect Dis J* 31: 164–170.
- Antiretroviral Pregnancy Registry Steering Committee (2013) The Antiretroviral Pregnancy Registry: interim report—1 January 1989 through 31 July 2013. Available: http://www.apregistry.com/forms/interim_report.pdf. Accessed 27 January 2014.
- Watts DH, Huang S, Culnane M, Kaiser KA, Scheuerle A, et al. (2011) Birth defects among a cohort of infants born to HIV-infected women on antiretroviral medication. *J Perinat Med* 39: 163–170.
- Floridia M, Mastroiacovo P, Tamburrini E, Tibaldi C, Todros T, et al. (2013) Birth defects in a national cohort of pregnant women with HIV infection in Italy, 2001–2011. *BJOG* 120: 1466–1475.
- Fernandez Ibieta M, Ramos Amador JT, Bellon Cano JM, Gonzalez-Tome MI, Guillen Martin S, et al. (2009) Birth defects in a cohort of uninfected children born to HIV-infected women. *An Pediatr (Barc)* 70: 253–264.
- Townsend CL, Willey BA, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA (2009) Antiretroviral therapy and congenital abnormalities in infants born to HIV-infected women in the UK and Ireland, 1990–2007. *AIDS* 23: 519–524.
- Patel D, Thorne C, Fiore S, Newell ML (2005) Does highly active antiretroviral therapy increase the risk of congenital abnormalities in HIV-infected women? *J Acquir Immune Defic Syndr* 40: 116–118.
- Newschaffer CJ, Cocroft J, Anderson CE, Hauck WW, Turner BJ (2000) Prenatal zidovudine use and congenital anomalies in a medicaid population. *J Acquir Immune Defic Syndr* 24: 249–256.
- Yeni P, editor (2006) Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandations du groupe d'experts.: Flammarion, Médecine-Sciences.
- Mayaux MJ, Teglas JP, Blanche S (2003) Characteristics of HIV-infected women who do not receive preventive antiretroviral therapy in the French Perinatal Cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* 34: 338–343.
- EUROCAT (2005) EUROCAT Guide 1.3 and reference documents. Instructions for the Registration and Surveillance of Congenital Anomalies. Available at: <http://www.eurocat-network.eu/content/EUROCAT-Guide-1.3.pdf> last accessed 01/27/2014
- EUROCAT (2012) Coding of EUROCAT Subgroups of Congenital Anomalies (Version 2012). Available at: <http://www.eurocat-network.eu/content/EUROCAT-Guide-1.3.pdf> last accessed 01/27/2014
- MACDP (2007) Birth Defects and Genetic Diseases Branch 6-digit code for Reportable Congenital Anomalies. Available at: <http://www.cdc.gov/ncbddd/birthdefects/documents/MACDPcode0807.pdf> last accessed 01/27/2014
- Scheuerle A, Tilson H (2002) Birth defect classification by organ system: a novel approach to heighten teratogenic signalling in a pregnancy registry. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 11: 465–475.
- Stata Corporation (2009) Stata 11.0 for Windows. College Station, Texas: Stata Corporation
- Joao EC, Calvet GA, Krauss MR, Freimanis Hance L, Ortiz J, et al. (2010) Maternal antiretroviral use during pregnancy and infant congenital anomalies: the NISDI perinatal study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 53: 176–185.
- Du ZD, Roguin N, Barak M, Bihari SG, Ben-Elisha M (1996) High prevalence of muscular ventricular septal defect in preterm neonates. *Am J Cardiol* 78: 1183–1185.
- Laas E, Lelong N, Thieulin AC, Houyel L, Bonnet D, et al. (2012) Preterm Birth and Congenital Heart Defects: A Population-based Study. *Pediatrics*. Oct;130(4):e829–37.
- Yeni P (2010) Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH: rapport 2010—Recommandations du groupe d'experts. Paris: La Documentation Française.
- Czeizel AE, Rockenbauer M, Sorensen HT, Olsen J (2001) The teratogenic risk of trimethoprim-sulfonamides: a population based case-control study. *Reprod Toxicol* 15: 637–646.
- Forna F, McConnell M, Kitabire FN, Homsy J, Brooks JT, et al. (2006) Systematic review of the safety of trimethoprim-sulfamethoxazole for prophylaxis in HIV-infected pregnant women: implications for resource-limited settings. *AIDS Rev* 8: 24–36.
- Jungmann EM, Mercey D, DeRuiter A, Edwards S, Donoghue S, et al. (2001) Is first trimester exposure to the combination of antiretroviral therapy and folate antagonists a risk factor for congenital abnormalities? *Sex Transm Infect* 77: 441–443.
- Richardson MP, Osrin D, Donaghy S, Brown NA, Hay P, et al. (2000) Spinal malformations in the fetuses of HIV infected women receiving combination antiretroviral therapy and co-trimoxazole. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 93: 215–217.
- Lipshultz SE, Shearer WT, Thompson B, Rich KC, Cheng I, et al. (2011) Cardiac effects of antiretroviral therapy in HIV-negative infants born to HIV-positive mothers: NHLBI CHAART-1 (National Heart, Lung, and Blood Institute Cardiovascular Status of HAART Therapy in HIV-Exposed Infants and Children cohort study). *J Am Coll Cardiol* 57: 76–85.
- Desai VG, Lee T, Moland CL, Branham WS, Mittelstaedt RA, et al. (2012) Evaluation of hepatic mitochondria and hematological parameters in zidovudine-treated B6C3F1 mice. *AIDS Res Treat* 2012: 317695.
- Ekouevi DK, Coffie PA, Ouattara E, Moh R, Amani-Bosse C, et al. (2011) Pregnancy outcomes in women exposed to efavirenz and nevirapine: an appraisal of the IeDEA West Africa and ANRS Databases, Abidjan, Cote d'Ivoire. *J Acquir Immune Defic Syndr* 56: 183–187.
- Houyel L, Khoshnood B, Anderson RH, Lelong N, Thieulin AC, et al. (2012) Population-based evaluation of a suggested anatomic and clinical classification of congenital heart defects based on the International Paediatric and Congenital Cardiac Code. *Orphanet J Rare Dis* 6: 64.
- World Health Organization (2013) Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Available: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/download/en/index.html>. Accessed 27 January 2014.
- Fundaro C, Genovese O, Rendeli C, Tamburrini E, Salvaggio E (2002) Myelomeningocele in a child with intrauterine exposure to efavirenz. *AIDS* 16: 299–300.
- Saitoh A, Hull AD, Franklin P, Spector SA (2005) Myelomeningocele in an infant with intrauterine exposure to efavirenz. *J Perinatol* 25: 555–556.
- Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission (2012) Recommendations for use of antiretroviral drugs in pregnant HIV-1-infected women for maternal health and interventions to reduce perinatal HIV transmission in the United States. Available: <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/3/perinatal-guidelines/0>. Accessed 27 January 2014.
- Riecke K, Schulz TG, Shakibaei M, Krause B, Chahoud I, et al. (2000) Developmental toxicity of the HIV-protease inhibitor indinavir in rats. *Teratology* 62: 291–300.
- EUROCAT (2012) Prevalence tables. Available: <http://www.eurocat-network.eu/accessprevalencedata/prevalencetables>. Accessed 27 January 2014.
- Rothman KJ (1990) No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1: 43–46.

Editors' Summary

Background AIDS and HIV infection are commonly treated with antiretroviral therapy (ART), a combination of individual drugs that work together to prevent the replication of the virus and further spread of the infection. Starting in the 1990s, studies have shown that ART of HIV-infected women can substantially reduce transmission of the virus to the child during pregnancy and birth. Based on these results, ART was subsequently recommended for pregnant women. Since 2004, ART has been standard therapy for pregnant women with HIV/AIDS in high-income countries, and it is now recommended for all HIV-infected women worldwide. Several different antiviral drug combinations have been shown to be effective and are used to prevent mother-to-infant transmission. However, as with any other drugs taken during pregnancy, there is concern that ART can harm the developing fetus.

Why Was This Study Done? Several previous studies have assessed the risk that ART taken by a pregnant woman might pose to her developing fetus, but the results have been inconsistent. Animal studies suggested an elevated risk for some drugs but not others. While some clinical studies have reported increases in birth defects in children born to mothers on ART, others have shown no such increase. The discrepancy may be due to differences between the populations included in the studies and the different methods used to diagnose birth defects. Additional large studies are therefore necessary to obtain more and better evidence on the potential harm of individual anti-HIV drugs to children exposed during pregnancy. So in this study, the authors conducted a large cohort study in France to assess the relationship between different antiretroviral drugs and specific birth defects.

What Did the Researchers Do and Find? The researchers used a large national health database known as the French Perinatal Cohort that contains information on HIV-infected mothers who delivered infants in 90 centers throughout France. Pediatricians follow all children, whatever their HIV status, to two years of age, and health statistics are collected according to national health-care guidelines. Analyzing the records, the researchers estimated the rate at which birth defects occurred in children exposed to antiretroviral drugs during pregnancy.

The researchers included 13,124 children who were born alive between 1994 and 2010 and had been exposed to ART during pregnancy. Children exposed in the first trimester of pregnancy, and those exposed during the second or third trimester, were compared to a control group (children not exposed to the drug during the whole pregnancy). Using two birth defect classification systems (EUROCAT and MACDP—MACDP collects more details on disease classification than EUROCAT), the researchers sought to detect a link between the occurrence of birth defects and exposure to individual antiretroviral drugs.

They found a small increase in the risk for heart defects in children with exposure to zidovudine. They also found an association between efavirenz exposure and a small increase

in neurological defects, but only when using the MACDP classification system. The authors found no association between other antiretroviral drugs, including nevirapine (acting similar to efavirenz); tenofovir, stavudine, and abacavir (all three acting similar to zidovudine); and lopinavir and ritonavir (protease inhibitors) and any type of birth defect.

What Do These Findings Mean? These findings show that, overall, the risks of birth defects in children exposed to antiretroviral drugs in utero are small when considering the clear benefit of preventing mother-to-child transmission of HIV. However, where there are safe and effective alternatives, it might be appropriate to avoid use by pregnant women of those drugs that are associated with elevated risks of birth defects.

Worldwide, a large number of children are exposed to zidovudine in utero, and these results suggest (though cannot prove) that these children may be at a slightly higher risk of heart defects. Current World Health Organization (WHO) guidelines for the prevention of mother-to-child transmission no longer recommend zidovudine for first-line therapy.

The implications of the higher rate of neurological birth defects observed in infants exposed to efavirenz in the first trimester are less clear. The EUROCAT classification excludes minor neurological abnormalities without serious medical consequences, and so the WHO guidelines that stress the importance of careful clinical follow-up of children with exposure to efavirenz seem adequate, based on the findings of this study. The study is limited by the lack of data on the use of additional medication and alcohol and tobacco use, which could have a direct impact on fetal development, and by the absence of data on birth defects and antiretroviral drug exposure from low-income countries. However, the findings of this study overall are reassuring and suggest that apart from zidovudine and possibly efavirenz, other antiretroviral drugs are not associated with birth defects, and their use during pregnancy does not pose a risk to the infant.

Additional Information. Please access these websites via the online version of this summary at <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1001635>.

- This study is further discussed in a *PLOS Medicine* Perspective by Mofenson and Watts
- The World Health Organization has a webpage on mother-to-child transmission of HIV
- The US National Institutes of Health provides links to additional information on mother-to-child transmission of HIV
- The Elizabeth Glaser Pediatric AIDS Foundation also has a webpage on mother-to-child transmission
- The French Perinatal Cohort has a webpage describing the cohort and its main publications (in French, with a summary in English)

ANNEXE 6 : Article Risque de toxicité cardiaque liée aux inhibiteurs nucléosidiques

Sibiude J, Le Chenadec J, Bonnet D, Tubiana R, Faye A, Dollfus C, Mandelbrot L, Delmas S, Lelong N, Khoshnood B, Warszawski J, Blanche S; French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis French Perinatal Cohort/Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation Trial. In utero exposure to zidovudine and heart anomalies in the ANRS French perinatal cohort and the nested PRIMEVA randomized trial. Clin Infect Dis. 2015 Jul 15;61(2):270-80.

In Utero Exposure to Zidovudine and Heart Anomalies in the ANRS French Perinatal Cohort and the Nested PRIMEVA Randomized Trial

Jeanne Sibiude,^{1,2} Jérôme Le Chenadec,² Damien Bonnet,³ Roland Tubiana,⁴ Albert Faye,^{5,6} Catherine Dollfus,⁷ Laurent Mandelbrot,^{1,2,6} Sandrine Delmas,² Nathalie Lelong,⁸ Babak Khoshnood,⁸ Josiane Warszawski,^{2,9,10} and Stéphane Blanche^{11,12}; for the French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis French Perinatal Cohort/Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation Trial^a

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Hôpital Louis Mourier, Colombes, ²Department of Epidemiology, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1018, Le Kremlin-Bicêtre, ³M3C-Pediatric Cardiology, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris (APHP) Hôpital Necker Enfants malades, Université Paris Descartes, ⁴Department of Infectiology, AP-HP, GH Pitié-Salpêtrière, Pierre Louis Institute of Epidemiology and Public Health, Sorbonne University, UPMC, INSERM UMR-S1136, ⁵Department of Pediatrics, AP-HP Hôpital Robert Debré, ⁶Université Diderot Paris 7, ⁷Department of Pediatrics AP-HP Hôpital Trousseau, ⁸INSERM, UMR S953, Université Paris-6, ⁹Institut National d'études Démographiques, Paris, ¹⁰Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, ¹¹Department of Pediatrics, Hôpital Necker, and ¹²EA 7223: Évaluation Thérapeutique et Pharmacologie Périnatale et Pédiatrique, Université Paris Descartes, France

Background. Antiretroviral (ARV) regimens during pregnancy are highly effective in preventing mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus (HIV). Congenital heart defects (CHDs) and anomalies in cardiac function have been reported in zidovudine (ZDV)–exposed uninfected children. We explored these associations in a large observational cohort and a randomized clinical trial.

Methods. Since 1986, the French Perinatal Cohort prospectively enrolled all HIV-infected women in 90 centers and collected follow-up on their children through 2 years of age. All CHDs were reviewed by a specialist blinded to exposures. Additionally, in a randomized trial (PRIMEVA ANRS 135) of 2 ARV regimens during pregnancy, 1 of which was without nucleoside reverse transcriptase inhibitors, infants had a specific follow-up including echocardiography at 1 month and 12 months.

Results. Among 12 888 children included, ZDV exposure in the first trimester was significantly associated with CHD (1.5% vs 0.7%; adjusted odds ratio, 2.2 [95% confidence interval, 1.3–3.7]; $P < .001$). This association was significant for ventricular septal defects (1.1% vs 0.6%; $P = .001$) and other CHDs (0.31% vs 0.11%; $P = .02$). In the randomized trial, among 50 infants, girls (but not boys) exposed in utero to ZDV/lamivudine/ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r) had a higher left ventricular shortening fraction at 1 month (40% vs 36%; $P = .008$), and an increased posterior wall thickness at 1 year (5.4 mm vs 4.4 mm; $P = .01$) than the LPV/r group.

Conclusions. This study confirms a specific association between in utero exposure to ZDV and CHDs, and a long-lasting postnatal myocardial remodeling in girls. A potential common mechanism, including the involvement of mitochondrial dysfunction, must be explored, and long-term consequences on cardiac function warrant specific attention.

Clinical Trials Registration. NCT00424814.

Keywords. PMTCT; congenital heart defects; zidovudine; randomized trial; heart function.

Received 3 December 2014; accepted 24 March 2015; electronically published 1 April 2015.

^aThe members of the ANRS French Perinatal Cohort study group are listed in the Appendix.

Correspondence: Jeanne Sibiude, MD, MPH, Equipe VIH/IST CESP 1018 INSERM, 82 rue du Général Leclerc, 94276 Le Kremlin-Bicêtre Cedex, France (jeannesibiude@yahoo.fr).

Clinical Infectious Diseases® 2015;61(2):270–80

© The Author 2015. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.

DOI: 10.1093/cid/civ260

The use of antiretroviral (ARV) medications during pregnancy has led to a spectacular decrease in the mother-to-child transmission rate of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), from about 20% to <1% in recent years [1–3]. Careful evaluation of tolerance after in utero ARV exposure is needed, as most antiviral drugs cross the placenta [4], and every year, >700 000 children are exposed worldwide [5].

Birth defects and their potential association with ARVs have been investigated previously, with discrepant results. Most studies did not have the power necessary to evaluate the relation with congenital heart defects (CHDs); however 2 studies found a significant association between CHDs and ARV use [6, 7]. Recently, in a study of >13 000 mother–child pairs in the French Perinatal Cohort (EPF), we observed a strong specific association between zidovudine (ZDV) in utero exposure and CHD incidence [8].

In utero drug toxicity has also been shown to induce various organ dysfunctions, some of which may not be apparent at birth [9]. The potential impact of in utero ZDV exposure on myocardial function among HIV-exposed but uninfected (HEU) children was investigated in successive studies from the same group. The first study on a small number of children concluded that there was no impact on myocardial function [10]. In a second study, Lipshultz et al reported an increased left ventricular (LV) shortening fraction at 4 months of age in HEU children (of whom one-third were exposed in utero to ZDV), compared to controls born to HIV-negative mothers [11]. The same authors showed differences in LV morphology and function parameters in a large cohort of HEU children, not all exposed to ARVs. They reported decreased septal wall thickness, smaller LV dimensions, increased contractility, and increased LV shortening fraction, persisting up to 2 years of age. Interestingly, these anomalies were significantly more marked in girls than in boys [12]. However, in a more recent study comparing once again HEU children to children not exposed in utero to HIV, they failed to show a difference in echocardiographic parameters, but described several differences among individual ARV drugs [13].

The objective of this study was to explore the relationship between perinatal ZDV exposure and structural or functional heart anomalies in children.

METHODS

Study of Congenital Heart Defects in EPF

Data Source, Study Population, and Variables

The EPF–French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis [ANRS] CO1/CO11 study has prospectively enrolled pregnant HIV-infected women delivering in 90 centers in France since 1986, and has been described previously [1]. In participating maternity wards, approximately 95% of all HIV-infected pregnant women gave informed consent and were included. Follow-up was done according to French national guidelines, which include trimestrial fetal ultrasound for all pregnant women. For children exposed to maternal HIV, pediatric examination was done at birth and at 1, 3, 6, 12, and 18–24 months [14], and all clinical events were recorded at each visit. No additional imaging was done systematically because of

enrollment in the cohort or because of the HIV status of the mother; in particular, echocardiography was only requested in case of detection of a heart murmur or clinical suspicion of cardiac anomaly. The study was approved by the Hôpital Cochin institutional review board and the French computer database watchdog commission.

The study population was the same as described in our previous study of all types of congenital defects [8], including all live births exposed to ARVs during pregnancy. Terminations of pregnancy and stillbirths were not included because until recently they were not consistently recorded in EPF. We also excluded patients with unknown dates for starting ZDV or with chromosomal abnormalities.

For the present study, all files of children diagnosed with CHD by the pediatrician in the previous EPF study [8] were reviewed by a pediatric cardiologist and, when needed, additional information was collected on-site. When the defect was considered to be nonsignificant, the case was considered to have a normal heart, thus explaining the difference in the number of CHDs between the present study and the previous EPF study [8]. Exposure to ZDV was categorized as (1) unexposed to any ARV in the first trimester, (2) exposed to ZDV with or without other ARVs in the first trimester, or (3) exposed to other ARVs in the first trimester. Based on the embryological chronology of heart formation and on previous literature [6, 15], to specifically study exposure to ZDV in the first trimester, categories (1) and (3) were then grouped together as unexposed to ZDV in the first trimester. Since 1994, the recommended dose for ZDV has been 500 mg daily [16]. Maternal variables included age, geographical origin, intravenous drug use, gravidity, parity, CD4 cell count, and HIV-1 RNA load closest to the delivery. Neonatal variables included sex, gestational age, birth weight, and HIV infection status. Alcohol and tobacco use were recorded only after 2005, and data on concomitant medications and preexisting maternal conditions such as diabetes mellitus were not available in the cohort.

Statistical Analysis

We described the prevalence of CHDs before and after expert reclassification, and detailed each type of defect. We studied associations between reclassified CHD and ZDV in univariate analysis and multivariate logistic regressions. Multivariate models included all variables associated with CHD in the univariate analysis with a *P* value <.20, as well as classical risk factors of CHD (maternal age, intravenous drug use). Sex-by-treatment and time-by-treatment interactions, and interactions between ZDV and other ARVs used simultaneously, were tested. A 2-sided *P* < .05 was taken as the statistical significance level. Data were analyzed using Stata 11.0 software (StataCorp, College Station, Texas).

Study of Heart Function in the ANRS 135 PRIMEVA Phase 2/3 Randomized Trial

Data Source, Study Population, and Variables

The PRIMEVA randomized trial was designed to evaluate the efficacy of ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r; Kaletra) monotherapy, a protease inhibitor with low placental transfer, in reducing viral load during pregnancy in women starting ARV in the third trimester. All mother–child pairs were also included in EPF. The design and main results of the study have been described in detail elsewhere [17] and registered at ClinicalTrials.gov with identifier NCT00424814. The LPV/r monotherapy group was compared to a triple therapy group receiving LPV/r and ZDV/lamivudine (ZDV/3TC; Combivir). Both groups started treatment at 26 gestational weeks, and had not received any ARV previously during this pregnancy. All mothers received ZDV per partum and all infants received the conventional postnatal prophylaxis with ZDV during 4 weeks. Echocardiography was planned as part of the PRIMEVA study, at 1 month and 1 year of age, based on previous literature [12], except if a CHD was present ($n = 2$). A specific secondary objective of the study was to evaluate cardiac function and to compare the 2 study arms.

All children who had at least 1 echocardiogram as part of the PRIMEVA protocol were included in the present analysis

($n = 53$ in 12 sites). Operators were blinded to the treatment group. The following measurements were collected in a standardized form: LV mass, septum and posterior wall thickness, fractional shortening and ejection fraction, aortic and pulmonary valve diameters, and early to late mitral inflow during diastole measured by Doppler imaging.

Statistical Analysis

Comparisons of maternal and neonatal characteristics between treatment groups (LPV/r vs ZDV/3TC and LPV/r) and between children who underwent echocardiography and those who did not were done with χ^2 and Fisher exact test for categorical variables and with Student t test or Wilcoxon nonparametric test as appropriate for quantitative variables. Comparisons between ultrasound heart measures according to the randomization group were done globally and stratified by sex. Univariate analysis and multivariate linear regressions were used to study the associations between cardiac parameters and treatment group. A sex–treatment group interaction term was systematically added to the models, based on previous literature. Multivariate models were adjusted for hemoglobin value and child weight. A P value $< .05$ was considered significant.

Table 1. Description of Congenital Heart Defects—French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis Perinatal Cohort (N = 12 888)

Description of Congenital Heart Defect	Total No.	In Utero Exposure	
		Zidovudine in First Trimester, No. ($n = 3262$)	No Zidovudine in First Trimester, No. ($n = 9626$)
Ventricular septal defects	90		
Perimembranous	17	9	8
Muscular	31	12	19
Not specified	42	16	26
Atrial septal defect	9	2	7
Other congenital heart defects	21		
Functionally univentricular hearts			
Hypoplastic left heart syndrome	1	0	1
Pulmonary valve atresia with intact ventricular septum	1	0	1
Anomalies of atrioventricular junction			
Complete atrioventricular septal defect (in a child with associated defects)	1	1	0
Anomalies of ventriculoarterial connections			
Tetralogy of Fallot	1	1	0
Anomalies of the extrapericardial arterial trunks			
Coarctation of the aorta	7	2	5
Patent ductus arteriosus (in term infants, necessitating surgery, 1 of them had associated defects)	2	2	0
Right pulmonary artery absent	1	1	0
Pulmonary valvar anomalies			
Pulmonary valve stenosis: congenital	5	2	3
Dysplastic pulmonary valve	1	1	0
Aortic valve anomalies			
Bicuspid aortic valve	1	0	1

Table 2. Maternal and Neonatal Characteristics and Associations With Congenital Heart Defects—French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis Perinatal Cohort (N = 12 888)

Characteristic	No.	% CHDs	OR	(95% CI)	P Value*	aOR ^a	(95% CI)	P Value*
Zidovudine first trimester					<.001			<.001
No	9626	0.7	1			1		
Yes	3262	1.5	2.1	(1.4–3.0)		2.2	(1.5–3.2)	
Maternal age, y					.04			.12
<25	1475	0.3	1			1		
25–34	7678	1.0	3.1	(1.2–7.6)		2.6	(1.0–6.4)	
≥35	3703	1.0	2.9	(1.1–7.4)		2.5	(.96–6.4)	
Geographic origin					.38			
France	2786	1.0	1					
Sub-Saharan Africa	7784	0.9	0.8	(0.5–1.3)				
Other	2165	1.2	1.2	(0.7–2.0)				
Intravenous drug use during pregnancy					.34			
No	12 143	1.0	1			1		
Yes	260	0.4	0.4	(.06–2.9)		0.3	(.04–2.4)	
CD4 count, cells/μL					.36			
>350	7568	1.0	1			1		
200–350	2354	0.9	1.0	(.6–1.5)		0.9	(.5–1.4)	
<200	1050	1.4	1.5	(.8–2.6)		1.3	(.8–2.3)	
Parity								
Nulliparous	4787	1.0	1		.68			
Parous	8035	0.9	0.9	(0.6–1.3)				
Pregnancy					.88			
Singleton	12 314	0.9	1					
Multiple	574	0.9	0.9	(.4–2.3)				
Sex of neonate					.06			.08
Male	6434	0.8	1			1		
Female	6166	1.1	1.4	(.98–2.0)		1.4	(.96–2.1)	
Year of birth					.02			.07
1994–1996	1053	0.5	1			1		
1997–1999	1883	1.3	0.7	(.3–1.7)		.8	(.3–2.1)	
2000–2004	4551	1.1	1.8	(1.1–3.1)		1.8	(1.1–3.1)	
2005–2010	5401	0.7	1.6	(1.0–2.4)		1.5	(.97–2.4)	
Preterm delivery <37 wk ^b					<.001			
Yes	1862	1.7	2.2	(1.4–3.3)				
No	11 010	0.8	1					
Low birthweight < 2500 g ^b					.04			
Yes	2083	1.3	1.6	(1.0–2.4)				
No	10 529	0.9	1					

Abbreviations: aOR, adjusted odds ratio; CHD, congenital heart defect; CI, confidence interval; OR, odds ratio.

^a Multivariate logistic regression adjusting for zidovudine, maternal age, intravenous drug use, number of CD4 cells, sex of neonate, and year of delivery.

^b Association with preterm delivery, and low birthweight could be a consequence but not a risk factor for birth defects, and thus were not included in the multivariate analysis.

* χ^2 test or Fisher exact test. Missing data were excluded.

RESULTS

Congenital Heart Defects in the French Perinatal Cohort

The EPF birth defect study included 13 124 live-born children, born between 1994 and 2010, and exposed in utero to ARV(s).

After excluding patients with an unknown date for ZDV initiation (n = 212) and children with chromosomal abnormalities (n = 24), 12 888 children were included in the main analysis.

The CHD rate, as reclassified by the pediatric cardiologist, was 0.93% (n = 120; 95% confidence interval [CI], .76%–1.10%). The

Table 3. Characteristics of Mothers and Neonates According to Treatment Group and Echocardiographic Follow-up

Characteristic	Echocardiography at Age 1 mo (n = 53)			No Echocardiography (n = 52)	P Value**
	ZDV/3TC/LPV/r (n = 20)	LPV/r Monotherapy (n = 33)	P Value*		
Maternal characteristics at inclusion					
Maternal age	30 (26.5–33)	31 (27–35)	.71	29 (26.5–32)	.42
Geographical origin: sub-Saharan Africa	17 (85)	24 (75)	.74	38 (73)	.83
BMI, kg/m ²	27.2 (25.5–29.3)	26.6 (22.9–30.1)	.53	26.6 (24.3–31.6)	.29
Smoking during pregnancy (>10 cigarettes/day)	0 (0)	1 (3)	1	2 (4)	.62
Pregnancy characteristics					
Gestational diabetes mellitus	3 (15)	5 (15)	1	2 (4)	.09
Hospitalization	8 (40)	12 (36)	.79	13 (25)	.16
Gestational age at beginning of treatment, wk	25 (25–26)	25 (25–26)	.95	25 (25–26)	.68
Treatment change before delivery	2 (10)	1 (3)	.37	13 (25)	.01
Treatment duration, d	93 (82–98)	90 (87–98)	.93	90 (82–96)	.18
Maternal CD4 count at delivery ^a , nb/mL	642 (513–748)	633 (538–771)	.81	609 (500–841)	.84
Maternal viral load at delivery <50 copies/mL ^b	20 (100)	28 (85)	.14	41 (80)	.14
Gestational age at delivery, wk	39 (37.5–39.5)	38 (38–40)	.92	39 (38–39)	.22
ZDV intrapartum, h	5.4 (3.1–6.8)	5.1 (2.4–7.6)	.63	5.1 (3.2–7.7)	.21
Clinical postpartum events unrelated to HIV	4 (22)	8 (28)	.74	3 (6)	.01
Characteristics of children					
Postnatal treatment duration, d	33 (30–43)	31 (30–42)	.77	42 (31–42)	.03
Sex, female	12 (60)	21 (64)	1	28 (54)	.43
Weight, kg	3.0 (2.9–3.3)	3.0 (2.8–3.2)	.94	3.2 (2.9–3.6)	.04
Length, cm	49 (46–50)	50 (48–50)	.16	49 (47–50)	.62
Intrapartum asphyxia	2 (10)	6 (18)	.69	1 (2)	.03
Hospitalization during first 7 d	2 (10)	5 (15)	.69	7 (13)	1
Hemoglobin at birth	15.7 (13.5–18.1)	16.5 (15.5–17.7)	.31	15.1 (13.6–17.5)	.14
Hemoglobin 1 mo	10.1 (9.4–10.8)	10.2 (9.1–11.4)	.57	10.1 (9.3–11.0)	.86
Hemoglobin 1 y	11.5 (10.2–11.9)	11.9 (11.3–12.4)	.04	11.7 (11.1–12.4)	.79

From the randomized PRIMEVA French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis 135 Study. Data are presented as No. (%) or median (interquartile range).

Abbreviations: 3TC, lamivudine; BMI, body mass index; HIV, human immunodeficiency virus; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; PRIMEVA, Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation; ZDV, zidovudine.

^a CD4 count closest to delivery, maximum 15 days before or 7 days after delivery.

^b Viral load closest to delivery, maximum 30 days before or 7 days after delivery.

* P value for test comparing ZDV/3TC/LPV/r to LPV/r monotherapy.

** P value for test comparing children who underwent echocardiography to those who did not.

overall rate was lower than in the previous EPF study on birth defects, because 62 children were reclassified without CHD after thorough review, mostly atrial septal defects (ASDs) that spontaneously resolved (n = 24).

After reclassification, the most frequent CHDs were ventricular septal defects (VSDs) (n = 90 [75% of CHDs]). The remaining 30 are shown in Table 1.

The presence of a CHD was significantly associated with maternal age, year of delivery, and exposure to ZDV in the first trimester in univariate analysis (Table 2). There was no association with HIV infection (169 HIV-infected infants in this population, none of whom had a birth defect; P = .21). The prevalence

of CHD was similar for children unexposed to any ARV during the first trimester (0.77% [n = 57/7429]) or exposed to ARVs other than ZDV during the first trimester (0.66% [n = 14/2116]). These 2 categories were then combined into a single category “not exposed to ZDV during the first trimester,” which served as reference. In multivariate analysis, first-trimester ZDV exposure remained associated with CHD (adjusted odds ratio [OR], 2.2 [95% CI, 1.5–3.2]; P < .001); no other factors remained significantly associated with CHD.

The prevalence of CHD tended to be higher among girls than among boys (1.1% vs 0.8%; P = .06) in univariate and in multivariate analyses. The ORs associated with ZDV were similar

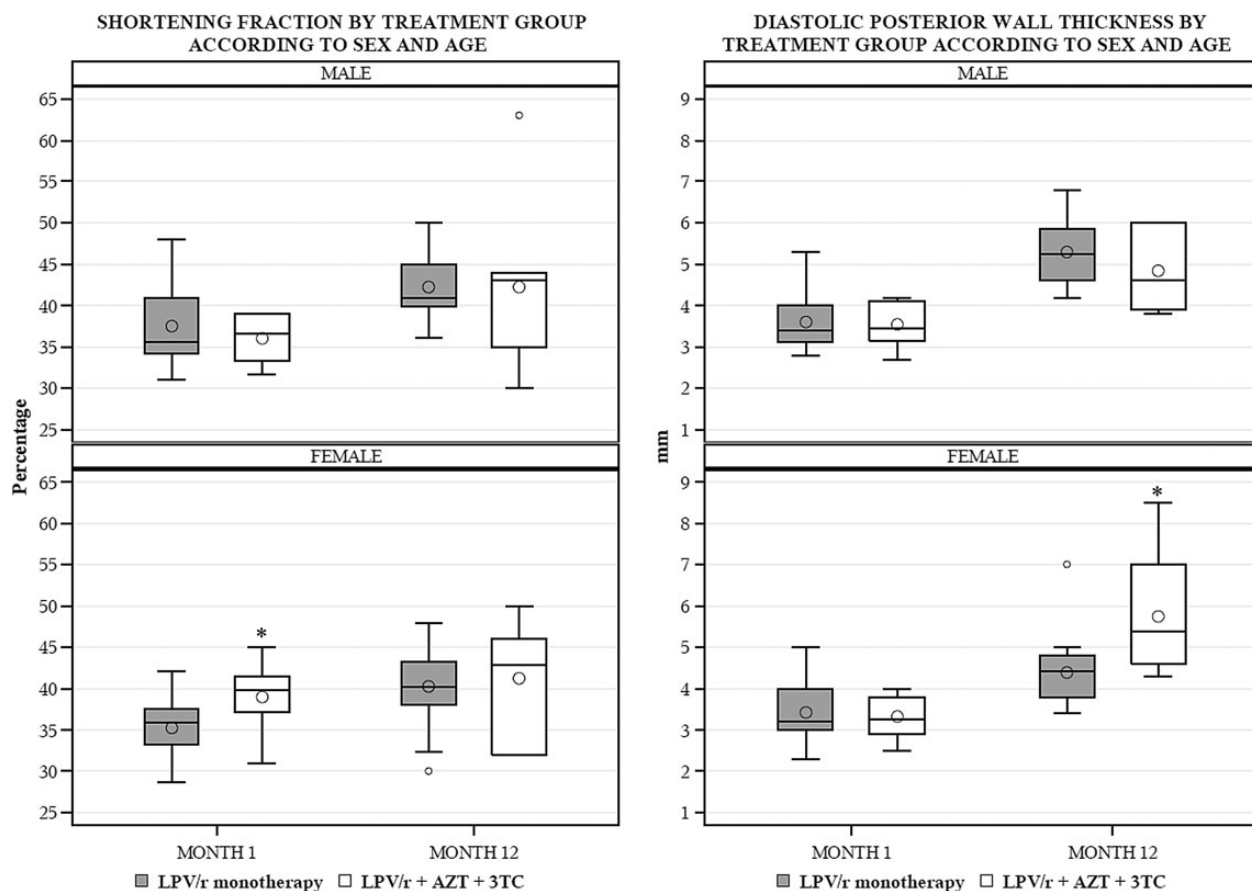


Figure 1. Comparison of echocardiographic functional parameters between children exposed and unexposed to nucleosides in the Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis 135 study. * $P = .01$, for nonparametric Wilcoxon test comparing ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r) monotherapy to triple therapy (zidovudine [AZT]/lamivudine [3TC]/LPV/r), at 1 month for shortening fraction, and at 1 year for posterior wall, in both cases for girls only. Interaction test for sex–treatment group interaction at 1 month for shortening fraction, $P = .03$; and at 1 year for posterior wall, $P = .02$.

between boys and girls (2.1 [95% CI, 1.2–3.7] and 2.0 [95% CI, 1.2–3.2], respectively), with no significant sex-by-treatment interaction ($P = .89$).

The prevalence of CHD was variable when considering different periods: 1994–1996 (0.5%), 1997–1999 (1.3%), 2000–2004 (1.1%), and 2005–2010 (0.7%) ($P = .02$), but multivariate analysis showed no time-by-treatment interaction ($P = .67$).

We did not find a significant interaction between ZDV and 3TC ($P = .11$). Furthermore, the prevalence of CHD did not differ significantly between those exposed in the first trimester to ZDV alone (1.5% [95% CI, .2%–2.9%]), ZDV plus other ARV drugs not including 3TC (2.6% [95% CI, .9%–4.2%]), or ZDV plus 3TC with or without other ARVs (1.4% [95% CI, .9%–1.8%]) ($P = .19$).

The association with first-trimester ZDV was significant for non-VSD non-ASD CHD (adjusted OR, 2.4 [95% CI, 1.0–5.9]; $P = .049$), as well as for VSDs (adjusted OR, 2.2 [95% CI, 1.4–3.5]; $P < .001$).

Surgery was required during infancy in 11 of 120 children with CHD. One had cardiac arrest during the operation and has sequelae with persistent major motor and developmental disability. The remaining 109 children were regularly followed at their local pediatric cardiology clinic and did not require intervention at time of last follow-up. Mortality in this group was 4 of 120, including 2 cases of univentricular heart (1 hypoplastic left heart syndrome and 1 pulmonary atresia with intact septum); 1 case of coarctation of the aorta, and 1 child with a complete atrioventricular septal defect, associated with hemivertebrae and microcephaly, for whom no genetic syndrome could be identified (Table 1). All of these deaths were due to heart failure.

Heart Function in the ANRS 135 PRIMEVA Randomized Trial

Among the 105 children included in the PRIMEVA randomized trial, 53 children underwent echocardiography at age 1 month and 42 at age 1 year. Children who did not undergo

Table 4. Univariate and Multivariate Linear Regression Comparing Cardiac Parameters Between Children Exposed (Reference) and Unexposed to Nucleosides

Cardiac Parameter	Univariate Analysis ^a				Multivariate Analysis ^b			
	Δ	(95% CI)	P Value	P for Interaction Test	Δ	(95% CI)	P Value	P for Interaction Test
Shortening fraction								
1 mo								
Boys	1.45	(−2.12 to 5.02)	.43	.03	1.75	(−1.88 to 5.38)	.35	.03
Girls	−3.77	(−6.63 to −.91)	.01		−3.61	(−6.57 to −.65)	.02	
1 year								
Boys	−0.72	(−7.66 to 6.22)	.84	.84	0.61	(−8.01 to 9.23)	.89	.70
Girls	0.20	(−5.72 to 6.12)	.95		2.72	(−4.04 to 9.48)	.44	
Posterior wall								
1 mo								
Boys	0.05	(−.52 to .62)	.85	.88	0.10	(−.47 to .67)	.74	.94
Girls	0.11	(−.36 to .58)	.63		0.13	(−.34 to .60)	.59	
1 year								
Boys	0.74	(−.44 to 1.92)	.22	.02	0.81	(−.66 to 2.28)	.29	.046
Girls	−1.25	(−2.25 to −.25)	.02		−1.13	(−2.28 to .03)	.07	

From the randomized PRIMEVA French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis 135 Study.

Abbreviations: CI, confidence interval; PRIMEVA, Protease Inhibitor Monotherapy Evaluation.

^a Univariate linear regression comparing cardiac parameters between ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r) and zidovudine (ZDV)/lamivudine (3TC)/LPV/r groups. A sex-group interaction term was systematically added to the models. Combination therapy (ZDV/3TC/LPV/r) serves as reference.

^b Multivariate linear regression adjusted on hemoglobin (at birth for measures at 1 month and at 1 year for measures at 1 year) and weight.

echocardiography (1) had the exam outside of the time limit defined by protocol, (2) declined the exam, or (3) were lost to follow-up. Most of the children's characteristics were similar between those who underwent echocardiography and those who did not, or between treatment groups (Table 3). In particular, they did not differ significantly for hemoglobin values at birth and at 1 month. There was a difference in hemoglobin values at 1 year, with higher hemoglobin values in the LPV/r monotherapy group (11.9 vs 11.5 g/dL; $P = .04$).

Overall, LV echocardiographic parameters did not differ between groups (results not shown). However, when stratifying by sex, girls exposed to triple therapy (including ZDV/3TC) had a higher LV shortening fraction and LV ejection fraction at 1 month, and a thicker posterior wall of the left ventricle at 1 year than girls not exposed to in utero nucleosides. No differences were found among boys (Figure 1).

We performed linear regression with a sex-treatment group interaction term, which was significant both for shortening fraction at 1 month ($P = .03$) and for thickness of posterior wall at 1 year ($P = .046$; Table 4). After adjusting for hemoglobin values and child weight, the difference, for girls, between treatment groups remained significant for shortening fraction at 1 month ($\Delta = -3.61$ [95% CI, -6.57 to $-.65$]; $P = .02$) and approached statistical significance for posterior wall thickness at 1 year ($\Delta = -1.13$ [95% CI, -2.28 to $.03$]; $P = .07$).

DISCUSSION

The purpose of this study was to evaluate the potential impact of ZDV on cardiac development regarding 2 different outcomes: birth defects and functional anomalies.

First, the association between exposure to ZDV during the first trimester and CHD that we previously reported [8] was here confirmed with details and precision. In the present analysis, all cases were thoroughly reviewed by an expert pediatric cardiologist, thus improving the quality of CHD diagnoses and excluding nonsignificant anomalies [18, 19]. The majority of the cases that were excluded were ASDs in premature babies. The review of all cases did not change the association between ZDV treatment and CHD. The prevalence of CHD in children not exposed to ZDV in the first trimester was 0.7% (95% CI, .6%–.9%), which did not differ from the prevalence of CHD in European population-based studies [18, 20].

Our study presents some limitations, such as the lack of data on concomitant medication, alcohol, and tobacco use; however, these conditions should not be linked to ZDV prescription, and therefore should not lead to confounding bias. For the study on birth defects, only children with suspicion of clinical anomaly underwent echocardiography. However, this should not lead to differential classification bias as there was no alert on ZDV and CHD at the time of the study.

In the second part of the study, we confirmed the impact of in utero exposure to nucleoside reverse transcriptase inhibitors on myocardial function for girls. The main strength of this study was the randomization between the groups exposed and not exposed to ZDV/3TC, thus avoiding the possible selection biases of previous observational studies. Although the number of children included in the PRIMEVA trial was small, there was a significant difference in LV shortening and ejection fractions at 1 month, and a thicker posterior LV wall at 1 year in children exposed to ZDV/3TC. The specific female sex-related association was consistent with previous reports [12, 21]. Three recent observational studies have focused on myocardial function in HEU children and reported differences according to in utero exposure. Some results were consistent with our findings (increased contractility and stronger association for girls in the Cardiovascular Status of HAART Therapy in HIV-Exposed Infants and Children study [12]; thicker posterior wall with exposure to ZDV, but in the first trimester only, in the most recent study [13]); however, discrepant results were also noted in all of these studies [12, 13, 22]. Residual confounding, different effects according to the gestational age at exposure, and dose received may partly explain these discrepant results, and show the limits of cohort studies in this case.

Clinical implications of these results remain uncertain. Most of the CHDs observed were minor defects. In particular, VSDs may require only a closer follow-up of the child, but this can be difficult in resource-limited settings and thus have more important consequences [23, 24]. The clinical significance of the differences in cardiac function observed here is also unknown. Most of the echocardiographic parameters in these children remained within the normal reference values albeit statistically different. Persistent echocardiographic anomalies have been described in 8-year-old preadolescents exposed in utero to ZDV [22]. Cardiac biomarkers linked to differences in echocardiographic parameters have been studied at birth for HEU children. The association with ARVs needs to be further explored and may allow us to identify those requiring specific follow-up [25].

The potential common pathway for birth defects occurring in the first trimester of pregnancy and myocardial remodeling secondary to exposure throughout pregnancy remains to be determined. Cardiac toxicity of ZDV for children and adults receiving long-term treatments is well known and was found to be due to mitochondrial toxicity [26]. Antenatal diagnoses of 2 cases of VSD and 4 cases of hypertrophic cardiomyopathy have been linked to mitochondrial diseases [27]. Genetic studies, including those on genes involved in mitochondrial diseases, are under way on VSDs [28, 29]. Finally, 2 animal models of in utero exposure to ZDV have been developed. In a murine model, mitochondrial ultrastructural abnormalities were found in myocardial cells, as well as biochemical anomalies compatible with mitochondrial dysfunction [30]. After birth,

echocardiography showed a thinner LV posterior wall persisting at 26 weeks of age [31]. These anomalies were also sex specific (limited to females) [21]. In simian models, 1 year after birth, ultrastructural and biochemical anomalies also confirmed a persistent dysfunction [32]. The higher toxicity among girls is comparable to the cardiac toxicity linked to anthracyclines [33], which is mediated by mitochondrial dysfunction and is related to cumulative exposure to the drugs [34]. The toxicity of anthracyclines persists long after the end of the exposure and has a high impact on quality of life. Other hypotheses, such as myocardial inflammation, could also participate to these echocardiographic differences [13]. Finally, it has been suggested that diastolic function and cardiac strain may be more sensitive measures of cardiac effects of early ARV exposures and should be studied further [22, 35].

Our results suggest that ZDV should be added to the list of drugs that, when administered in the first trimester of pregnancy, are associated with an increased risk of heart defects [36]. The functional myocardial changes should also encourage us to pursue the study of potential long-term toxicity, including the potential role of cumulative in utero exposure to ZDV. The toxicity described here may appear to be modest in comparison to the major role of ZDV in the successful prevention of mother-to-child transmission of HIV. The trend today is to recommend ARV regimens without ZDV, but all of them include nucleoside analogues. Investigations must be pursued to establish which drug combinations will be the least toxic for the pregnancy and the health of the newborn.

Notes

Acknowledgments. We are indebted to all families who agreed to participate, and thank all the centers participating in the French Perinatal Cohort.

Disclaimer. The funding agency had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Financial support. This work was supported by the French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis, an autonomous agency at Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.

Potential conflicts of interest. All authors: No reported conflicts.

All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

- Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, et al. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *AIDS* 2008; 22:289–99.
- European Collaborative Study. Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2005; 40:458–65.
- Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 29:484–94.

4. Else LJ, Taylor S, Back DJ, Khoo SH. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the fetal compartment (placenta and amniotic fluid). *Antivir Ther* **2011**; 16:1139–47.
5. World Health Organization. Antiretroviral drugs for treating pregnant women and preventing HIV infection in infants: recommendations for a public health approach, **2010**. Available at: <http://www.who.int/hiv/pub/mtct/antiretroviral2010/en/>. Accessed 8 April 2015.
6. Brogly SB, Abzug MJ, Watts DH, et al. Birth defects among children born to human immunodeficiency virus-infected women: pediatric AIDS clinical trials protocols 219 and 219C. *Pediatr Infect Dis J* **2010**; 29:721–7.
7. Watts DH, Huang S, Culnane M, et al. Birth defects among a cohort of infants born to HIV-infected women on antiretroviral medication. *J Perinat Med* **2011**; 39:163–70.
8. Sibuide J, Mandelbrot L, Blanche S, et al. Association between prenatal exposure to antiretroviral therapy and birth defects: an analysis of the French Perinatal Cohort Study (ANRS CO1/CO11). *PLoS Med* **2014**; 11:e1001635.
9. Newell M-L, Bunders MJ. Safety of antiretroviral drugs in pregnancy and breastfeeding for mother and child. *Curr Opin HIV AIDS* **2013**; 8:504–10.
10. Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, et al. Absence of cardiac toxicity of zidovudine in infants. Pediatric Pulmonary and Cardiac Complications of Vertically Transmitted HIV Infection Study Group. *N Engl J Med* **2000**; 343:759–66.
11. Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, et al. Cardiovascular status of infants and children of women infected with HIV-1 (P2)C(2) HIV): a cohort study. *Lancet* **2002**; 360:368–73.
12. Lipshultz SE, Shearer WT, Thompson B, et al. Cardiac effects of antiretroviral therapy in HIV-negative infants born to HIV-positive mothers: NHLBI CHART-1 (National Heart, Lung, and Blood Institute Cardiovascular Status of HAART Therapy in HIV-Exposed Infants and Children cohort study). *J Am Coll Cardiol* **2011**; 57:76–85.
13. Lipshultz SE, Williams PL, Zeldow B, Wilkinson JD, Rich KC, Van Dyke RB. Cardiac effects of in-utero exposure to antiretroviral therapy in HIV-uninfected children born to HIV-infected mothers. *AIDS* **2015**; 29:91–100.
14. Yeni P. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Rapport 2010. Paris: La Documentation Française, **2010**.
15. Mølgaard-Nielsen D, Pasternak B, Hviid A. Use of oral fluconazole during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med* **2013**; 369:830–9.
16. Dormont J. Prise en charge des personnes atteintes par le VIH. Rapport 1996. Paris: La Documentation Française, **1996**; 182–8.
17. Tubiana R, Mandelbrot L, Le Chenadec J, et al. Lopinavir/ritonavir monotherapy as a nucleoside analogue-sparing strategy to prevent HIV-1 mother-to-child transmission: the ANRS 135 PRIMEVA phase 2/3 randomized trial. *Clin Infect Dis* **2013**; 57:891–902.
18. Khoshnood B, Lelong N, Houyel L, et al. Prevalence, timing of diagnosis and mortality of newborns with congenital heart defects: a population-based study. *Heart* **2012**; 98:1667–73.
19. Houyel L, Khoshnood B, Anderson RH, et al. Population-based evaluation of a suggested anatomic and clinical classification of congenital heart defects based on the International Paediatric and Congenital Cardiac Code. *Orphanet J Rare Dis* **2012**; 6:64.
20. Khoshnood B, Loane M, Garne E, et al. Recent decrease in the prevalence of congenital heart defects in Europe. *J Pediatr* **2013**; 162: 108–13.e2.
21. Chan SSL, Santos JH, Meyer JN, et al. Mitochondrial toxicity in hearts of CD-1 mice following perinatal exposure to AZT, 3TC, or AZT/3TC in combination. *Environ Mol Mutagen* **2007**; 48:190–200.
22. Cade WT, Waggoner AD, Hubert S, Krauss MJ, Singh GK, Overton ET. Reduced diastolic function and left ventricular mass in HIV-negative preadolescent children exposed to antiretroviral therapy in utero. *AIDS* **2012**; 26:2053–8.
23. Penny DJ, Vick GW. Ventricular septal defect. *Lancet* **2011**; 377: 1103–12.
24. Chinawa JM, Eze JC, Obi I, et al. Synopsis of congenital cardiac disease among children attending University of Nigeria teaching hospital Ituku Ozalla, Enugu. *BMC Res Notes* **2013**; 6:475.
25. Wilkinson JD, Williams PL, Leister E, et al. Cardiac biomarkers in HIV-exposed uninfected children. *AIDS* **2013**; 27:1099–108.
26. Remick J, Georgiopoulos V, Marti C, et al. Heart failure in patients with human immunodeficiency virus infection: epidemiology, pathophysiology, treatment, and future research. *Circulation* **2014**; 129: 1781–9.
27. Von Kleist-Retzow JC, Cormier-Daire V, Viot G, et al. Antenatal manifestations of mitochondrial respiratory chain deficiency. *J Pediatr* **2003**; 143:208–12.
28. Abaci N, Arıkan M, Tansel T, et al. Mitochondrial mutations in patients with congenital heart defects by next generation sequencing technology. *Cardiol Young* **2015**; 25:705–11.
29. Solomon BD, Patel A, Cheung SW, Pineda-Alvarez DE. VACTERL association and mitochondrial dysfunction. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* **2011**; 91:192–4.
30. Torres SM, March TH, Carter MM, et al. In utero exposure of female CD-1 mice to AZT and/or 3TC: I. Persistence of microscopic lesions in cardiac tissue. *Cardiovasc Toxicol* **2010**; 10:37–50.
31. Torres SM, Divi RL, Walker DM, et al. In utero exposure of female CD-1 mice to AZT and/or 3TC: II. Persistence of functional alterations in cardiac tissue. *Cardiovasc Toxicol* **2010**; 10:87–99.
32. Divi RL, Leonard SL, Kuo MM, et al. Cardiac mitochondrial compromise in 1-yr-old *Erythrocebus patas* monkeys perinatally-exposed to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Cardiovasc Toxicol* **2005**; 5:333–46.
33. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Mone SM, et al. Female sex and drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *N Engl J Med* **1995**; 332:1738–43.
34. Sawyer DB. Anthracyclines and heart failure. *N Engl J Med* **2013**; 368: 1154–6.
35. Sims A, Frank L, Cross R, et al. Abnormal cardiac strain in children and young adults with HIV acquired in early life. *J Am Soc Echocardiogr* **2012**; 25:741–8.
36. Matok I, Pupco A, Koren G. Drug exposure in pregnancy and heart defects. *J Cardiovasc Pharmacol* **2011**; 58:20–4.

APPENDIX

ANRS –EPF Study Group (asterisks indicate the main investigator at each clinical site).

Currently active contributors to ANRS-EPF. APHP Hôpital Louis Mourier, Colombes, France (Laurent Mandelbrot, Catherine Crenn-Hebert*, Corinne Floch-Tudal*, Fabienne Mazy, Marine Joras, Françoise Meier, Emmanuel Mortier, Catherine Briquet, Dominique Duro, Houria Ichou, Laurence Marty); APHP Hôpital Beaujon, Clichy, France (Pierre-François Ceccaldi*, Maïa Banige, Agnès Villemant Uludag, Virginie Zarouk, Agnès Lefort, Mariam Ben Salah); Hôpital Sainte Musse, Toulon, France (Gilles Hittinger*, Jean-Marc Chamouilli, Christian Burle, Alain Lafeuillade, Gisèle Philip); CHG Marechal Joffre, Perpignan, France (Marie Medus*, Germaine Bachelard, Martine Malet); CHU Caremeau, Nîmes, France (Joëlle Dendale-Nguyen*); CHD les Oudairies, La Roche sur Yon, France (Thomas Guimard*, Karine

Guimard, Jean-Pierre Brossier, Philippe Perré, Jean-Luc Esnault, Olivier Bollengier Stragier, Sophie Leautez-Nainville, Isabelle Suaud); Centre Hospitalier William Morey, Chalon sur Saone, France (Sandrine-Anne Martha*, Benoît Martha, Elise Maurel, Michel Françoise, Muriel Barat, Patricia Murger); Centre Hospitalier, Vernon, France (Mahfoud Rouha*, Philippe Lumbroso, Alain Checoury); Centre Hospitalier Intercommunal de Cornouaille, Quimper, France (Pascale Perfezou*, Gilles Blondin, Jean-Charles Duthé); Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France (Séverine Ansart*, Luc De Saint Martin*, Philippe Le Moine, Jean-Charles Duthé); Centre Hospitalier, St Brieuc, France (Corinne Daniel*, Christian Calvez, Emmanuelle Boutaric, Jennifer Rohan); Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France (Cédric Arvieux*, Estelle Bauville, Christelle Dupre, Pascal Lotton, Enora Ouamara-digue); Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France (Yves Poinssignon*, Anne Grelrier, Gaetane Mousset, Corinne Cudeville, Virginie Mouton-Rioux); Centre Hospitalier de Bretagne Sud, Lorient, France (Mathilde Niaux*, Isabelle Belzic, Philippe Moreau, Marie-Françoise Le Coz, Odile Luyx Vaillant, Virginie Mouton-Rioux, Philippe De Morel); Centre Hospitalier de la région d'Annecy, Annecy, France (Virginie Vitrat*, Didier Tardif, Jacques Gaillat, Anne Vanderbergh, Suzanne Braig, Gaëlle Clavere); Centre Hospitalier Intercommunal, Montfermeil, France (Marion Dehlinger-Paul*, Khaled Mohamed, Marie Echard, Michel Camus); Centre Hospitalier Intercommunal, Montreuil, France (Brigitte Heller-Roussin*, Cécile Winter, Elyane Benveniste); APHP Hôpital Cochin-Port Royal, Paris, France (Ghislaine Firtion*, Emmanuelle Pannier*, Myriam Costa, Odile Launay, Dominique Salmon Ceron, Touraia Belkacem); APHP Hôpital Bichat, Paris, France (Sophie Matheron*, Neila Elaoun, Lahcene Allal, Agnès Bourgeois Moine, Marylène Bodard, Florence Damond, Virginie Huri); Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France (Valérie Garrait*, Isabelle Hau*, Claudine Touboul, Lanto Ratsimbazafy, Christiane Kommé, Brigitte Elharrar, Laurent Richier); Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France (Laurent Cotte*, Jean-Marc Labaune, René-Charles Rudigoz, Corinne Brochier, Stanislas Ogoudjobi); Centre Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France (Christophe Elleau*, Camille Runel-Belliard*, Thierry Pistone, Sandrine Delveaux); CHU Les Abymes, Pointe à Pitre, France (Blandine Muanza*, Mama Doufari Diallo, Marie-Thérèse Sow, Ketty Samar); Centre Hospitalier Général, Creil, France (Zafer Osman*, Bénédicte Carpentier, Etienne Dienga); Hôpital de Haute Pierre, Strasbourg, France (MariaLuisa Partisani*, Natacha Entz-Werle, Eric David, David Rey); Centre Hospitalier Général, Longjumeau, France (Hervé Seaume*, Sarah Ducrocq, Philippe Bailly-Salin, Christine de San Pedro); Hôpital Paule de Viguier, Toulouse, France (Joëlle Tricoire*, Alain Berrebi*, Caroline Simon-Toulza, Véronique Truillet, Julie Chiabrand, Evelyne Armand); Centre Hospitalier de la Côte Basque,

Bayonne, France (Claudine Cayla*); Centre hospitalier intercommunal, Villeneuve St Georges, France (Anne Chacé*, Isabelle Matheron, Laurent Richier, Joe Miantezila, Sandrine Bry); Centre Hospitalier Intercommunal, Poissy Saint Germain en Laye, France (Sophie Couderc*, Didier Armangaud, Catherine Narcy); Centre Hospitalier Général, Fontainebleau, France (Corinne Routier*, Rania Nassar); Centre Hospitalier Robert Ballanger, Aulnay, France (Elisabeth Questiaux*, Ahmed Zakaria, Hélène Dauphin, Céline Goissen, Marie Belloy, Jean-Luc Delassus, Mme Favret); Hôpital Civil, Strasbourg, France (MariaLuisa Partisani*, Christine Cheneau, Jean-Marie Lang); Centre Hospitalier Victor Dupouy, Argenteuil, France (Philippe Genet*, Dominique Brault, Christine Allisy, Juliette Gerbe, Virginie Masse, Bouchra Wifaq, Laurence Courdavault, Petra Gabor, Nathalie Tordjeman); APHP Hôpital Tenon, Paris, France (Marie-Gisèle Lebrète*, Lise Selleret, François Hervé, Déborah Samama, Geneviève Vaudre); Centre Hospitalier Général, Saint-Denis, France (Pascal Bolot*, Marie-Aude Khuong-Josses, Dieudonné Ekoukou, Stéphane Bounan, Nelly Ghibaud, Sabine Andris); APHP Hôpital Necker, Paris, France (Stéphane Blanche*, Delphine Lemerrier*, Pierre Frange, Florence Veber, Alain Fisher, Marie-Christine Mourey); Centre Hospitalier Sud Francilien, Evry Corbeil, France (Michèle Granier*, Alain Devidas*, Anne-Claire Donnadieu, Rose Nguyen, Adrien May, Amélie Chabrol, Pierre Chevojon, Zaitoun Abdallah Moussa, Audrey Sanchez, Claire Malbrunot, Joëlle Neizelien, Nouara Agher); Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical, Schiltigheim, France; CHR American Memorial Hospital, Reims, France (Claire Pluchart*, Christine Rouger); APHP Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France (Roland Tubiana*, Manuela Bonmarchand, Luminata Shneider, Fabienne Caby, Ruxandra-Oana Calin, Patricia Bourse, Catherine Lupin); Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France (Anne Coursol*, Juliette Laurent, A Ferry, Martine Deschaud, Laurent Blum); APHP Hôpital Bécère, Clamart, France (Véronique Chambrin*, Philippe Labrune*, Laure Clech, Mariem Raho-Moussa); Centre Hospitalier Marc Jacquet, Melun, France (Isolde Pauly-Ravelly*, Thierry Jault, Soufiane Bouabdallah, Lydie Sanchez, Anita Sanchez); Centre Hospitalier Général, Evreux, France (Ama Johnson*, Agnès Louchard); APHP Hôpital Jean Verdier, Bondy, France (Eric Lachassine*, Laurence Benoist, Vincent Jeantils, Joel Gaudelus, Amélie Benbara, Anne Borgne); Centre Hospitalier de Meaux, Meaux, France (Leïla Karaoui*, Véronique Lefevre Elbert, Valérie Balaz); CHU de l'Archet, Nice, France (André Bongain*, Fabrice Monpoux*, Anne Deville, Eliane Galiba); Centre Hospitalier François Quesnay, Mantes La Jolie, France (Antoine Doumet*, Martine Joutel); CHU Hôpital Nord, Amiens, France (Jean-Luc Schmidt*, Nathalie Decaux); Hôpital de la Conception, Marseille, France (Ludovic Cravello*, Katia Errichiello); CHU de Brabois-Hôpital des Adultes, Vandoeuvre les Nancy,

France (Claire Hubert*); APHP Hôpital Trousseau, Paris, France (Catherine Dollfus*, François Hervé, Marie-Dominique Tabone, Mary-France Courcoux, Guy Leverger, Bruno Carbone, Aurélie Schnurgier, Aurore Jensen, Geneviève Vaudre); Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France (Didier Pinquier*, Brigitte Clavier, Gaelle Pinto-Cardoso); APHP Hôpital Robert Debré, Paris, France (Albert Faye, Sophie Matheron*, Martine Levine*, Erianna Bellaton Marouts, Constance Borie, Christine Boissinot, Sandrine Leveille, Marie Astride Boumediene); APHP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France (Delphine Peretti*, Corinne Fourcade*, Claire Colmant, Katia Bourdic); CHRU Hôpital Saint Jacques, Besançon, France (Catherine Chirouze*, Cécile Hafner Mauvais, Odile Catteau, Quentin Gardiennet); CHU de Nantes, Nantes, France (Véronique Reliquet*, Cécile Brunet-Cartier*, Norbert Winer, Edouard Vaucel, Audrey Rodallec, Elisabeth Garnier-André); CHRU Hôpital du Bocage, Dijon, France (Claire Briandet*); CHRU Hôpital Clemenceau, Caen, France (Jacques Brouard*, Pascale Goubin); Centre Hospitalier de Lagny, Lagny, France (Arnaud Chalvon Demersay*, Sylvie Tassi, Gaelle Lavarenne); Hôpital André Mignot, Le Chesnay, France (Véronique Hentgen*, Fabienne Messaoudi, Nathalie Carre, Mandovi Rajguru); CHRU de Tours, France (Louis, Bernard*, Zoha Maakroun, Gaëlle Fajole); Institut d'Hémo-Oncologie Pédiatrique, Lyon, France (Kamila Kebaïli*); Hôpital Nord, Saint Etienne, France (Kareen Billiemaz*, Cécile Fanget, Véronique Ronat); Centre Hospitalier Général, Bastia, France (Ramona Abrudan*, Alice Moulin); Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France (Pascale Fialaire*, Stéphanie Proust, Sami Reham); Centre Hospitalier Régional, Orléans, France (Philippe Arsac*, Louis Mesnard,

Evelyne Werner, Nathalie Dukiel, Baya Desmergers); APHP Hôpital Lariboisière, Paris, France (Nicole Ciraru-Vigneron*, Geneviève Mouchnino, Dominique Ayral, Nora Keltoumi, Vincent Falgairou); CHR Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France (Emmanuelle Vintejoux*, Muriel Lalande, Jacques Reynes, Michel Segondy); Centre Hospitalier Général, Orsay, France (Christiane De Gennes*); Centre Hospitalier de Saint Martin, St Martin, France (Cyril Clavel*, François Cazassus, Véronique Walter); CHR Jeanne de Flandres, Lille, France (Françoise Mazingue*, Yamina Hammou, Odile Paquiez, Sophie D'angelo, Faiza Ajana, Laurence Boquet); Centre Hospitalier Dron, Tourcoing, France (Faïza Ajana); CHU - Maison de la Femme et de l'Enfant, Fort de France, France (Yves Hatchuel*, Imad Nahri, Jenny Zebeles); CHU Dupuytren, Limoges, France (Claire Genet*, Sophie Ducroix-Roubert, Yves Aubard, Anne Constanty, Pierre Weinbreck); Hôpital Intercommunal Sud Léman Valserine, Saint Julien, France (Emilie Piet*, Françoise Jacquier, Julie Robert); Centre Hospitalier Saint Nazaire Cité Sanitaire, Saint Nazaire, France (Christophe Michaud*, Hassan Safwan, Arnaud Boutet, Carole Grand-Courault); Groupe Hospitalier Saint Joseph, Paris, France (Fanny Autret*, Fakher Habibi, Elie Azria); Centre Hospitalier Léon Binet, Provins (Mohamed Abdelhadi*); Centre Hospitalier Andrée Rosemon, Cayenne (Narcisse Elenga*); Hôpital Calmette, Lille, France (Laurence Bocket, Françoise Taillet).

Steering committee of ANRS-EPF. Stéphane Blanche, Sandrine Delmas, Catherine Dollfus, Albert Faye, Pierre Frange, Jérôme Le Chenadec, Laurent Mandelbrot, Anais Perillou, Antoine Rachas, Christine Rouzioux, Jeanne Sibuide, Roland Tubiana, Josiane Warszawski.

ANNEXE 7 : Revue de littérature Tolérance des antirétroviraux chez le nouveau-né exposé *in utero*

Sibiude J, Warszawski J, Blanche S.

Tolerance of the newborn to antiretroviral drug exposure in utero.

Expert Opin Drug Saf. 2015 May;14(5):643-54. doi: 10.1517/14740338.2015.1019462. Review.

EXPERT OPINION

1. Introduction
2. Passage of ARV drugs across the placenta
3. Observed morbidity in children born to mothers treated with ARV drugs
4. Long-term impact
5. Conclusion
6. Expert opinion

Tolerance of the newborn to antiretroviral drug exposure *in utero*

Jeanne Sibiude, Josiane Warszawski & Stéphane Blanche[†]

[†]*Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants Malades (APHP), Unité d'Immunologie Hématologie Rhumatologie Pédiatriques, and EA 7323 : Evaluation Thérapeutique et Pharmacologie Périnatale et Pédiatrique, Paris, France*

Introduction: The prevention of mother-to-child HIV-1 transmission by antiretroviral drug treatment is remarkably effective. The risk of transmission to the child is now almost zero for women optimally treated during pregnancy. The rapid expansion of this prophylactic treatment has led the World Health Organization to aspire to the virtual elimination of mother-to-child transmission and pediatric AIDS over the next few years. In 2014, more than 900,000 women worldwide were treated with antiretroviral drugs during pregnancy. The issue of fetal and neonatal antiretroviral drug tolerance is therefore extremely important.

Areas covered: This review focuses on the possible impact of *in utero* exposure to antiretroviral drug on newborn health. To restrict analysis to this period is justified by the specificities of transplacental drug exposure and fetal vulnerability. Relevant data are available from trials and observational cohorts. The significance of various bio-markers detectable at birth is still unresolved, but merits a careful evaluation. Long-term assessment is associated with various logistical difficulties.

Expert opinion: The health of 'exposed but not infected' children poses no major problem in the immense majority of cases, but a series of biological, clinical and imaging-based warning signs have emerged indicating the need for careful attention to be paid to this issue. Some effects that are straightforward to manage in industrialized countries may have more severe consequences in countries in which access to effective healthcare is limited. Nucleoside/nucleotide analogs are potentially genotoxic to mitochondrial and nuclear DNA, and the principal question to be addressed concerns their potential long-term effects.

Keywords: antiretrovirals, HIV, pregnancy

Expert Opin. Drug Saf. (2015) **14**(5):643-654

1. Introduction

The demonstration, in 1994, of the prevention of HIV transmission from mother to child during pregnancy was the first real success of antiretroviral (ARV) treatment [1]. The risk of transmission of the virus to the child has steadily decreased ever since and is now almost zero in industrialized countries [2-5]. Therapeutic regimens were initially based on the administration of a single nucleoside analog, zidovudine, during the pre- and peripartum periods in the mother and postpartum, for 6 weeks, in the child (Table 1). However, the treatments used have progressively intensified and, in a second step, diversified. Shortly after the demonstration of their antiviral and clinical efficacy in adults infected with HIV in 1996, combinations of molecules of different classes (tritherapy or HAART, for highly active antiretroviral treatment) were prescribed for pregnant women [6-10]. The question of the tolerance of children

informa
healthcare

Article highlights.

- Currently, nearly one million of HIV-infected women receive antiretroviral during pregnancy annually.
- The vast majority of exposed-uninfected newborns and infants are doing well in the short term.
- There are contradictory findings about the risks of prematurity associated with protease inhibitors and neurological defects associated with first trimester exposure to efavirenz remain.
- Few short-term side effects are observed at birth, generally without serious short-term consequences, at least when access to care is available.
- Genotoxicity for mitochondrial and nuclear DNA of some nucleoside analogs is associated with various long-lasting biological effects. The very long-term clinical impact is unknown.

This box summarizes key points contained in the article.

to the ARV drugs administered during pregnancy was raised as early as the trial of zidovudine monotherapy [11]. However, this issue was, justifiably, long considered secondary, given the overriding urgency of the situation and the complexity of implementing this extraordinarily effective prophylaxis on a large scale. Large-scale prevention programs were, and continue to be, implemented in countries in which HIV was highly endemic and resources and access to healthcare were limited. The World Health Organization (WHO), in its objectives for the new millennium, envisaged the possibility, in the medium term, of virtually eliminating mother-to-child transmission worldwide, if 90% of all seropositive women could be given appropriate ARV prophylaxis [12-14]. It has been estimated that almost 900,000 HIV-infected pregnant women (~ 2/3 of all such women) currently receive ARV prophylaxis each year (Figure 1) [15]. In parallel with this increase in the number of women treated, the general principles of treatment established for low-resource countries – initially based on simplified short-term treatment – have gradually evolved to match recommendations in industrialized countries: prolonged multitherapy involving a combination of two nucleoside/nucleotide analogs and a protease inhibitor or a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, initiated as early as possible during, or ideally before, pregnancy, and systematically maintained thereafter (option ‘B+’) [14]. The evaluation of child tolerance to the drugs taken by the mother is thus imperative, although it should not in any way cast doubts on the absolute necessity of this prevention or delay efforts to achieve the objective of the virtual elimination of transmission set by the WHO. These issues are complex and differ according to the geographical and economic context. Given the large number of women and thus children concerned, a serious effect, even if very rare, could have major consequences. Similarly, frequent effects that are straightforward to manage in industrialized countries, such as moderate prematurity or anemia, may have more severe consequences

for the child in poor countries in which access to effective healthcare is limited. Finally, in industrialized countries, the molecules used during pregnancy have diversified very rapidly since recommendations not to modify ARV treatments already in place at the time of conception were issued [7-9]. More than 15 molecules, from six different classes, are now used; for some, there has been no reasoned or evidence-based evaluation of their tolerance during pregnancy. Conversely, treatments in low-resource countries are, necessarily, carefully formatted, supervised and programmed over long periods by the international funding organizations.

2. Passage of ARV drugs across the placenta

All the ARV molecules in use in 2014 are able to cross the placenta (reviewed in [16]). However, rates of passage across the placenta differ between drug classes. They are expressed as a ratio of the concentrations of the drug in maternal to that in cord blood and are high, close to or higher than one for nucleoside/nucleotide analogs and for integrase inhibitors (at least for raltegravir, the only drug of this group studied to date). ‘Non-nucleoside’ reverse transcriptase inhibitors have intermediate ratios, whereas the ratios for protease inhibitors and anti-CCR5 antibodies (maraviroc) are low but non-zero. In addition to this passage across the placenta, there is a phenomenon of concentration in the amniotic fluid, sometimes to very high levels, which is well documented for nucleoside/nucleotide analogs [17,18]. The maternal to cord blood ratio, which is influenced by the structure of the molecule and by several enzymatic transporters, is thus not sufficient for the assessment of intratissue exposure throughout embryonic and fetal development.

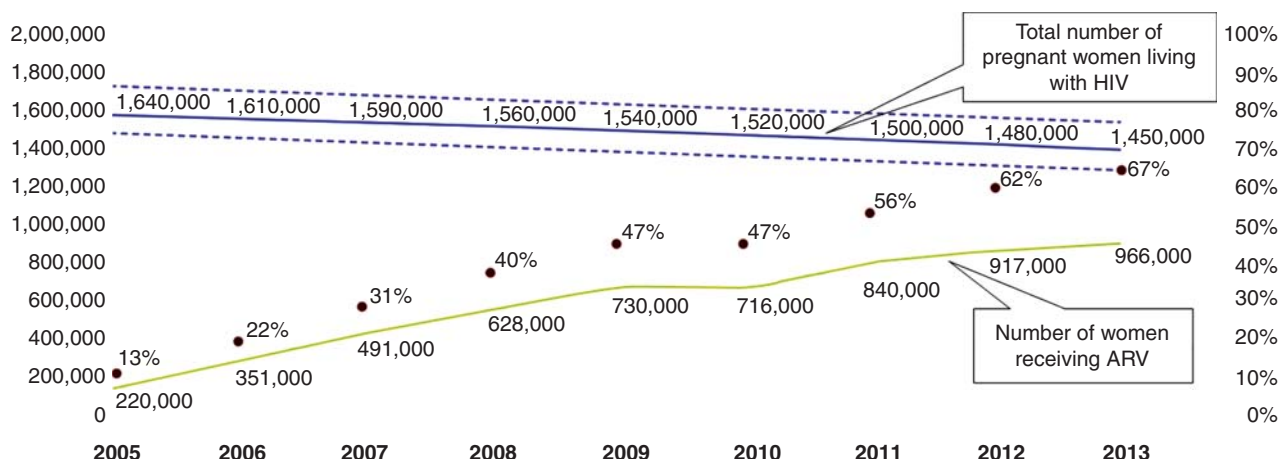
3. Observed morbidity in children born to mothers treated with ARV drugs

In the absence of a randomized trial, it is not straightforward to analyze possible drug intolerance in the child. However, few randomized studies have the statistical power to detect an increased incidence of rare events. For example, to detect a 50-times increase in the incidence of a rare disease occurring at 0.1/1000 in the general population would require a sample of 4300 patients (2n). To detect a 10-times increase would require randomization of 28,500 patients [19]. Analyses of large observational cohorts or registries such as the ‘Antiretroviral Pregnancy Registry’ can sometimes reach such numbers but are very susceptible to several biases, particularly: length of follow-up, ascertainment bias and control/reference populations, which are not matched for other potential confounders. Analyses of potential adverse events must also take into account the possible effects of maternal HIV infection, malnutrition, poverty, drug dependence and possible co-infections. Numerous abnormalities of innate or adaptive immunity have also been described in this context, with no clear link to drug exposure [20,21]. Various possibilities

Table 1. Summary of the main adverse effects observed in newborns and infants exposed *in utero* to antiretroviral agents.

	Obstetrical outcomes	Malformations	Disturbances observed at birth	Long-lasting events [‡]
<i>Nucleos(t)ide analogs</i> Zidovudine		Heart defects	Anemia Hyperlactatemia/lactic acidemia	Reduced hematopoiesis Mitochondrial encephalopathy Cardiac remodeling
Tenofovir			Decreased bone mineral content	
<i>Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors</i> Nevirapine Efavirenz		Neurological Defect*	Cutaneous rash	
<i>Protease inhibitors</i> r-lopinavir	Prematurity*		Cardiac dysrhythmia Adrenal dysfunction [§]	

*Discordant data.

[‡]Only those described at least in two independent cohorts are reported here.[§]Including adrenal insufficiency in premature newborns.**Figure 1. Number of pregnant women living with HIV in low and middle income countries and the number and percentage of those women receiving antiretroviral drugs.**

Sources: WHO and UNAIDS [15].

ARV: Antiretroviral.

have been proposed to explain this immunodeficiency state: it may be a consequence of a passive deficit in transplacental transfer of maternal immunoglobulins G, or of direct effects on ontogeny of the fetal immune system through the maternal inflammatory status, and/or exposure to HIV noninfectious proteins. This immune deficiency is clearly associated with an increased risk of bacterial infections, at least during the first year of life [22].

Studies of the impact on the child of exposure *in utero* to ARV drugs can be empirically subdivided into four separate themes: i) repercussions for the health of the child of changes to the course of the pregnancy; ii) the risk of embryonic

malformation; iii) the presence of clinical and/or biological abnormalities detectable at birth; iv) the risk of clinical and/or biological symptoms not clinically detectable at birth but emerging later in childhood or in adulthood (Table 1). Although the state of health of the vast majority of children exposed to ARV drugs *in utero* is unremarkable, there is no data on the real tolerance in the long-term. Several potential issues have been identified that merit particular attention.

3.1 Prematurity

Conflicting data have been published concerning the risk of prematurity linked to the use of ARV drugs, particularly for

Table 2. Biomarkers of genotoxicity to nuclear DNA detected in neonates exposed *in utero* to zidovudine, with or without lamivudine.

Incorporation of zidovudine into nuclear DNA* [70]
Mutagenesis of a 'reporter' gene (GPA)* [71]
Micronuclei [‡] [72]
Aneuploidy* [49]
Changes to the expression of genes implicated in chromosome segregation and DNA repair [§] [49]
Dispersion of heterochromatin* [73]

*Leukocytes.

[‡]Erythrocytes.[§]CD34⁺ hematopoietic stem cells.

GPA: Glycophorin A.

protease inhibitors [22-30]. Retrospectively, several factors may account for the difficulties encountered in the analysis and interpretation of the data: i) HIV infection is itself associated with a risk of prematurity, proportional to the state of advancement of the disease [23-26]; ii) the first protease inhibitor treatments were administered to the sickest patients, masking the benefits of the treatment and associating it, once again, with a risk of prematurity [27-34]; iii) protease inhibitors differ in their metabolic impact, but the initial analyses grouped them together indiscriminately, with and without ritonavir boosting; an observational cohort analysis suggested that there was a specific risk associated with protease inhibitors boosted with ritonavir, the treatment with the most powerful metabolic effect [35]. Contrary to expectations, randomized trials in various African countries have also yielded discordant results (Table 2). The Kesho Bora trial (Burkina Faso, Kenya and South Africa) compared a tritherapy including r-lopinavir with a simple treatment combining zidovudine with perinatal nevirapine and found no excess risk [36]. Conversely, the Mma-Bana trial (Botswana) compared a combination of two nucleoside analogues plus r-lopinavir to a combination of three nucleoside analogs and reported an excess risk of prematurity linked to the use of r-lopinavir [37]. More recently, the Promote trial (Uganda), comparing two combinations, one containing r-lopinavir and the other containing efavirenz, reported that there was no excess risk of prematurity associated with the protease inhibitor [38]. These results suggest that the risk of prematurity could be associated not so much with a particular drug but with the overall effect of a combination of drugs. If this risk is real, the underlying physiopathological mechanism may involve the consequences of ritonavir boosting on adrenal cytochromes, as suggested in a model based on the exposure of pregnant mice to r-lopinavir [39], or immune reconstitution inflammatory syndrome. In the Mma-Bana randomized trial, as in many observational cohorts, the increased risk mainly concerned moderate prematurity (34 – 37 weeks of gestation); however, in all randomized trials including patients in the third trimester, only moderate prematurity

can be studied, and no conclusions can be drawn about more severe prematurity.

Another difficulty, particularly relevant to observational studies in sub-Saharan Africa, is disentangling prematurity from Small-for-Gestational Age (SGA). These studies mostly use birth weight as a proxy for gestational age rather than dating pregnancy by ultrasound scanning. The risk of SGA seems to be associated with HIV infection [40], but one large observational study failed to show an association with a particular drug or combination of drugs [41]. Further investigations are required to assess possible metabolic complications of either HIV or ARV exposure [42].

The repercussions for the child should be carefully studied, particularly in countries in which access to perinatal care is limited or non-existent.

3.2 Embryonic and fetal abnormalities

The risk of malformation should be the simplest aspect of the evaluation of toxicity *in utero* (observable from birth for most malformations, strong motivation of perinatal health professionals, consensual coding etc.). It was therefore unexpected when a comparison of incidence across cohorts showed the rates of malformations to differ considerably [43-49]. A lack of sensitivity for the identification and/or declaration of malformations has been clearly observed for some conditions, suggesting a possible bias in the analysis. Despite this limitation, reports remain reassuring overall. Nevertheless, the power of the analysis remains limited for the most recently developed molecules, and uncertainties remain, even for molecules that have been used for the longest. A controversial issue is the possible risk of neurological malformations associated with the use of efavirenz, a non-nucleoside reverse transcription inhibitor. This molecule has been suspected to cause neurological abnormalities including, but not only, neural tube defects in non-human primates exposed at the start of gestation [50]. Conflicting data have been obtained for women. Following the description of a few clinical cases of neurological abnormalities, a meta-analysis of a series of cohorts and an American declarative registry suggested that there was no risk [51]: among 2026 live births to women exposed to efavirenz during the first trimester, only one neural tube defect was notified, for an overall prevalence of 0.05% (< 0.01 – 0.28). However, a large prospective cohort, of more than 13,000 pregnancies analyzed prospectively, did not confirm these findings, and indeed found a significant risk of neurological defects following exposure to this molecule during the first trimester of pregnancy [52]. In this cohort, 372 newborn were exposed during first trimester to efavirenz, and four experienced neurological defect (1.1%); this frequency is much higher than the 0.4% observed for more than 12,000 children unexposed or exposed to other ARV ($p < 0.04$). The methodologies and reference populations differ between these two large observational studies, and the discrepancy between their findings needs to be clarified. Indeed, any meta-analysis based principally on small studies of heterogeneous quality and low

power is liable to be affected by the same limitations. Also, even though a significant result was obtained for the vast prospective cohort considered, the absolute number of neurological events was small, and furthermore, they were not abnormalities of neural tube closure and were of diverse nature. Efavirenz has teratogenic effects in animals, and consequently its prescription during pregnancy has remained limited in industrialized countries. There is an urgent need to dispel doubts, if they are unfounded, as this molecule is one of the most widely used first-line treatments in low-resource countries, particularly through the prescription of a fixed-dose tablet combining efavirenz with tenofovir and emtricitabine. The number of children exposed to efavirenz *in utero* has remained limited in industrialized countries, but it has been widely used across sub-Saharan Africa for several years. Any small increased risk of congenital neurological malformation could pass unnoticed in a context of high rates of neonatal morbidity. An important point is that not all neurological malformations are detectable at birth in the absence of systematic, careful echographic imagery. Another highly significant risk of embryonic abnormalities was recently identified in three independent cohorts [45,46,52]: in the largest, exposure to zidovudine was found to be associated with a two-fold increase in the risk of congenital cardiopathy [52].

3.3 Clinical and/or biological abnormalities observed at birth

3.3.1 Abnormalities detected on routine check up

The occurrence of some abnormalities can be anticipated on the basis of the known toxicity of the molecules during their use other than during pregnancy. Nevertheless, more intense biological effects may be observed, linked to the immaturity of fetal physiology and/or pharmacological overexposure to the molecule during pregnancy. In contrast, well-established secondary effects in infected children and adults – even during pregnancy – are not necessarily observed in exposed newborns. Finally, as a consequence of the immaturity of physiological systems during the fetal and perinatal period, unexpected biological effects, not seen at other ages, may be observed (review in [53]).

3.3.1.1 Nucleos(t)ide analogs

Moderate, transient macrocytic anemia, the principal expected adverse effect of zidovudine, was observed in neonates exposed *in utero*, as early as the first protocol [1]. This condition is rarely severe, but may require treatment by red blood cell transfusion [54]. Adjunction of lamivudine to zidovudine increases the risk of anemia, even though there is no evidence that lamivudine itself is a hematotoxic drug [55]. The physiopathology of the anemia induced by zidovudine remains unclear. Mitochondrial toxicity (see below) is often evoked empirically, but the characteristics of the zidovudine-associated anemia do not match those of constitutional mitochondrial diseases with hematological involvement. We recently showed that hematopoietic stem cells in children

exposed to zidovudine presented a gene transcription profile indicative of a nuclear DNA repair phenomenon [56]. Severe but reversible lactic acidosis was the first non-hematological toxicity of zidovudine to be described, outside of the initial trial [57]. The link between this condition and mitochondrial toxicity is clear. It was subsequently shown that a large proportion of children presented transient hyperlactatemia that was mostly asymptomatic [58,59].

Little or nothing is known about the effects of other molecules of the nucleoside/nucleotide analog class. The consequences of exposure to tenofovir, which is known to display bone and renal toxicity in adults, should be rigorously assessed. An animal model showed a decrease of bone marrow density after exposure *in utero* [60]. Similarly, a recent comparative bone densitometry study showed that children exposed *in utero* to tenofovir had a bone density 12% lower than that of children exposed to other drug combinations [61]. The true clinical repercussions and possible reversibility remain to be determined. To our knowledge, there has been no detailed evaluation of tubular and glomerular function in neonates exposed to tenofovir.

3.3.1.2 Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors

A small risk of cutaneous hypersensitivity has been described in newborns receiving nevirapine in randomized trials: fewer than 2% are affected [62]. No other neonatal clinical or biological intolerance has been notified to date. No significant hepatotoxicity has been noted in newborns exposed to nevirapine. Although never explicitly studied, no neurosensorial disturbance has been reported in newborns exposed to efavirenz. The well-documented *in vitro* neuronal toxicity [63] and the neurosensorial disturbances frequently observed in infected children and adults receiving efavirenz [64] provide strong motivation for careful evaluation of the issue. The use of the second-generation molecules (etravirine, rilpivirine) is still too limited for any conclusions to be drawn.

3.3.1.3 Protease inhibitors

Unexpected adrenal abnormalities have been described following peri- and postnatal exposure to r-lopinavir. Children exposed pre- and postnatally to this molecule were found to have high concentrations of 17-hydroxyprogesterone and dehydroepiandrosterone sulfate [65]. The pharmacological 'boost' supplied by ritonavir (already suspected in prematurity) is thought to be involved in this effect; ritonavir is a potent substrate of CYP, a group including several adrenal enzymes. These abnormalities, which have no clear clinical consequences in children born at term, are likely to result in severe adrenal insufficiency in premature infants, as such infants have immature adrenal glands. These observations and others [66,67] should be seen in the context of those of the FDA concerning vital distress in premature infants exposed during the immediate postnatal period [68]. Although a specific deleterious cardiac effect of the syrup excipient was suggested in the warning report, it would seem to be essential

to consider adrenal insufficiency with hyperkalemia, rhythm disturbances and fatal shock secondary to adrenal insufficiency associated with protease inhibitors. Whatever the pathophysiology, it is reasonable to consider r-lopinavir to be contraindicated for premature infants, both for post-natal prophylaxis reinforcement and for very early treatment of infected newborns. Its use during the post-neonatal period should be restricted to infants born at term, and only in the absence of a suitable alternative, with monitoring of markers of adrenal insufficiency. The effects on adrenal activity, at birth, of other protease inhibitors, boosted or not boosted by ritonavir (darunavir or atazanavir), are unknown. Atazanavir is an inhibitor of uridine diphosphate-glucuronosyl transferase and unconjugated hyperbilirubinemia is always observed in infected children and adults. The risk of atazanavir-induced hyperbilirubinemia with a specific need for phototherapy in newborns exposed *in utero* seems low but the extent of the phenomenon is yet to be determined [69].

3.3.1.4 Other classes

There has been too little experience to date with integrase inhibitors, fusion inhibitors and anti-CCR5 to provide any solid data for neonates exposed to these classes of molecules.

3.3.2 Specific abnormalities observed in research programs: markers of the potential genotoxicity of nucleoside/nucleotide analogs

The very nature of ARV nucleoside/nucleotide analogs, with their capacity to integrate into human DNA, both mitochondrial and nuclear, necessitates consideration of the possible genotoxic effects of exposure to these drugs *in utero*. Particular care was taken during evaluation of the fetal and neonatal mitochondrial toxicity of zidovudine, which gave rise to many publications of experimental work and human clinical studies [70-73]. This toxicity was well known before the use of this molecule in pregnant women. We now know that inhibition of the mitochondrial gamma polymerase is not the only mechanism involved and that zidovudine can also induce qualitative changes to mitochondrial DNA [74]. In neonatal monkeys exposed *in utero* to zidovudine, several markers of mitochondrial dysfunction have been identified in various tissues, including those of the brain [75]. The data for humans are more difficult to interpret because maternal HIV infection could, at least theoretically, influence the mitochondria of the fetus and neonate and only blood cells are available for these evaluations. A recent biochemical and molecular analysis, nevertheless, reproduced the experimental findings for animals reasonably well, despite the possible bias that most control children were born to HIV-uninfected mothers [73]. Mitochondrial DNA levels are lower in children exposed than not exposed to zidovudine and the enzymatic activity of the respiratory chain complexes encoded by mitochondrial DNA is also lower in exposed newborns [73]. These quantitative and qualitative changes to the mitochondria are, in principle, reversible following the cessation of exposure to the

drug. There is no consensus about the magnitude of the clinical consequences, but most neonates remain asymptomatic (see below for the possible long-term consequences). The effects of other nucleoside/nucleotide analogs (other than stavudine and didanosine) appear to be weaker, but have not been extensively evaluated.

The genotoxicity of zidovudine for nuclear DNA has been much less studied, despite the clearly established experimental genotoxic profile of the drug, and the validation of the biological tools required being more straightforward than for mitochondrial DNA. A 'genotoxic signature' left on the child by maternal treatment has been identified in several animal (monkey) studies and clinical studies in humans (table) [76-79]. We recently showed that children exposed *in utero* to a combination of ARV drugs including zidovudine presented a frequency of aneuploid cells in cord blood three times higher than that in control children (Figure 2) [56]. Such chromosomal instability associated with a high frequency of aneuploidy is also observed experimentally in cells cultured in the presence of zidovudine. This phenomenon is also found in monkeys exposed *in utero* in an experimental model excluding all interference due to maternal HIV infection and/or exposure to other toxic substances during the pregnancy [80]. In this model, the cytogenetic abnormalities persist up to 3 years of age. No link has been established between these markers and clinical and/or biological distress during the perinatal period. Zidovudine use during pregnancy is progressively decreasing, but it remains one of the reference molecules in all guidelines. The genotoxicity profiles of other nucleoside/nucleotide analogs have yet to be compared *in vivo* with that of zidovudine. Preliminary data suggests that tenofovir, although less clastogenic than zidovudine, also strongly induces a DNA repair process in exposed newborns [81].

4. Long-term impact

The issue of long-term tolerance to ARV drugs, such as zidovudine and other nucleoside/nucleotide analogs in particular, has been raised by detection of markers of genotoxicity in neonates. Possible long-term effects not detectable at birth but emerging much later – several months, years or even decades after exposure to the drug – are particularly difficult to address. The identification of clinical or biological events occurring some time after birth, later in childhood or in adulthood, is hindered by many logistic and medical obstacles. Large-scale, very long-term follow-up of children free from infection is not possible: parental HIV infection is often associated with a situation of social and/or administrative instability, making follow-up difficult; the teams or physicians identifying clinical and biological events later in the life of the child are not always aware of the HIV-positive status of the mother or of exposure of the child to ARV drugs *in utero*. Furthermore, the disease of the mother may itself, at least theoretically, affect the health of the fetus, through the development of a state of chronic inflammation linked to

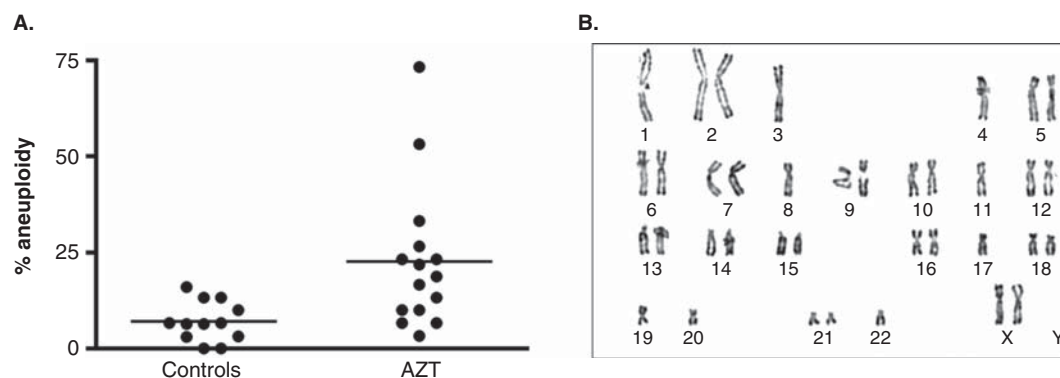


Figure 2. Percentage of aneuploid cells in cord blood of newborns exposed *in utero* to zidovudine AZT (A) and an example of a severe aneuploid karyotype (B).

From [49].

the HIV infection. Statistically, it is not always straightforward to compare the incidence of a given event between children born to HIV-seropositive mothers and the general population: i) the definition of the event concerned may not be consensual; ii) the incidence of the event in the general population is rarely known precisely, except for certain rare events for which there are exhaustive registries; and iii) many social, psychological and ethnic factors distinguish children born to HIV-seropositive mothers from the general population.

Several types of 'sustained or delayed' effects have been reported in children exposed to ARV drugs *in utero*. We will limit the description of these effects to those observed in at least two independent cohorts. To date, all these effects are linked to exposure to zidovudine alone or in combination with lamivudine.

4.1 Encephalopathy and persistent mitochondrial dysfunction

The first description of children born to mothers seropositive for HIV and displaying all the clinical, biological and radiological signs of a constitutional mitochondrial disorder dates from the end of the 1990s [70]. The incidence of such disorders in the general population is about 1 per 10,000 children according to the well-established registries of Northern European countries. The observed incidence in the French cohort is only 0.3%, but this may, nevertheless, be considered to constitute a significant excess risk [82]. Similar observations have also been reported in other countries, but with less detailed documentation of the mitochondrial effects [83]. The physiopathological mechanism underlying this persistent mitochondrial dysfunction is unknown. Evaluation of comparative incidence after exposure to other nucleoside analogues is underway. These very rare, albeit catastrophic, mitochondrial neurological events do not prevent large-scale evaluations of the cognitive and academic outcomes for zidovudine-exposed infants and children being reassuring overall [84].

4.2 Myocardial remodeling

Two American teams recently described echographic myocardial modifications in asymptomatic children and adolescents exposed *in utero* to zidovudine alone or in combination [85,86]. A progressive alteration to the mitochondria of the myocardial fibers, analogous to the long-term effect of anthracycline treatment, has been suggested, but the mechanism underlying this cardiac effect remains to be determined. The risk of later cardiac failure is unknown. As for the cardiac toxicity of anthracyclines, this effect was found to be stronger in girls than in boys in one of the two studies [85]. The specific role of *in utero* exposure to zidovudine in these observational studies remains to be confirmed more rigorously. However, we recently showed significant zidovudine-lamivudine-related myocardial remodeling 1 year after exposure in a randomized study of two different regimens, one of them free of nucleosides analogs [87]. Interestingly, this cardiac remodeling was observed only in girls. These observations are consistent with the demonstration, in animals (mice and monkeys) exposed *in utero* to zidovudine, of a persistent modification to the mitochondria of the myocardium [88,89]. In adults treated with nucleoside analogs, clonal expansion of the population of altered mitochondria has been described that could potentially account for this late effect of exposure *in utero* [90].

4.3 Changes to hematopoiesis

In addition to transient macrocytic anemia, several cohort studies have shown that children exposed to zidovudine present, at the age of 2 years (and until the age of 8 years in one study), lower levels of polynuclear cells, lymphocytes and platelets than children not exposed to zidovudine [91-93]. This is certainly the most robust finding clearly demonstrating a long-lasting impact of perinatal exposure to zidovudine. The effect is modest but statistically highly significant and indicates changes to the hematopoietic stem cells. CD34⁺ stem cells isolated from cord blood of exposed newborns display functional abnormalities and present a gene transcription profile consistent with a DNA repair process (see above; [56]).

The fate, within the body, of the damaged cells, and the possible clinical consequences, remain unknown. Their detection, in animal models three years after exposure *in utero*, suggests a possible long-term effect [80]. Evaluations of the risks of cancer and leukemia, including a large-scale analysis on the French cohort in 2007, have been carried out [94]. None of these studies revealed an increase in risk, but the low statistical power of two of the three studies and the short mean follow-up periods made it impossible to conclude definitively that there was no such risk. A continuous evaluation of the possible risks of oncogenesis is essential.

5. Conclusion

The overall morbidity associated with ARV exposure *in utero* appears to be minor, particularly in relation to their extraordinary efficacy. However, current recommendations about the choice of ARV are still largely empirical and could be refined. Among a series of low-intensity warnings in various domains, the most disturbing finding is clearly the long-lasting biological effects of zidovudine, detectable several months or years after exposure. Although not clearly associated with clinical consequences, these findings – mainly the reduced level of the three hematopoietic lineages and abnormal markers in cardiac echography images – are such that new combinations devoid of any long-term impact on infants' biology need to be identified. New genomic and proteomic tools could help in the comparative evaluations required, upstream in the drug development process from clinical events observed later. The potential affinity of nucleos(t)ide analogs for human DNA must be taken into account and carefully evaluated.

6. Expert opinion

6.1 What ARV combination during pregnancy for the future?

Although generally well tolerated and effective, we cannot consider current combinations (two nucleoside analogs and either a non nucleoside reverse transcriptase inhibitor or a protease inhibitor) are ideal for prophylaxis to prevent mother-to-child transmission. Even within a single class, potential toxicity differs from one molecule to another. The newest molecules are not necessarily the safest, but zidovudine, historically the most widely used molecule, will undoubtedly be beneficially replaced by more recent, less genotoxic nucleoside analogs with fewer effects on both mitochondrial and nuclear DNA. The tolerance to second-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors is still to be established, and it is to be hoped that these agents are devoid of any significant toxicity to embryos. A nonboosted, nonicterus-inducing protease inhibitor would be welcome. In addition to these traditional associations, it may be beneficial to consider other ARV strategies. The concept of 'triple therapy' is now competing with some monotherapies and two-drug combinations, which are as efficacious in terms of viral control. These new associations

are potentially less toxic (fewer drugs) and we recently reported a randomized study demonstrating the feasibility and efficacy of a nucleoside analog-free regimen [95]. Although transplacental passage of at least one or two drugs has often been considered essential for this type of prophylaxis, we believe that this is questionable: transplacental passage is clearly not necessary for highly active ARV therapy and durable viral control in the mother. Similarly, the value of post-natal treatment, the efficacy of which was demonstrated in the first trials [1] and in the absence of treatment during pregnancy [96], can also be questioned in cases in which maternal viral load is well and durably controlled. This last phase of the prophylaxis, acting in the newborn as a 'post exposure prophylaxis' is not free of toxicity, as demonstrated for zidovudine with or without lamivudine [91,95] or r-lopinavir [65].

6.2 The evaluation of tolerance during pregnancy is a complex, multi-faceted process

Two examples illustrate the difficulties involved: i) It took 20 years (1994 – 2004) to identify clearly the risk of cardiac malformation associated with zidovudine; and ii) The only molecule contraindicated in the countries of the Northern hemisphere (efavirenz) is one of the molecules promoted in countries in the South. Tolerance studies are based on cohorts, registries and clinical trials which provide complementary information. Nevertheless, the vast majority of women now treated are in the countries of the South, which are resource-poor and where access to care is limited. Detection of any symptoms and the additional analyses allowing differential diagnosis require resources, an availability of medical teams and an access to care, all of which are often lacking in this context. In addition, the possible effects may be subtle, or may only become manifest during adulthood, or both. Initiatives are being established to overcome these problems and should be supported [97].

The use of modern genomics or proteomics tools might make it possible to evaluate the footprint in the child of the molecule used to treat the mother during the pregnancy; this would improve the anticipation of secondary effects. This complementary approach may allow the prediction, or even prevention, of possible risks through the application of the 'precautionary principle'. Comparison of molecules and combinations of molecules based on bio-markers should provide objective findings to serve as a basis for choosing the most appropriate treatment during pregnancy; this would be a great improvement over 'historic' arguments, fashions or the availability of molecules. It can be extremely difficult to identify a much later event as possibly associated with *in utero* drug exposure, except if massive (unlikely) or exceptional by nature as was the case for vaginal cancers after *in utero* exposure to distillbene [98]; Clinicians need to be aware of this issue. The 'absence of data' cannot be considered to indicate 'good tolerance'. 'Prudent and reasoned dynamism' in the choice of molecules for use during pregnancy should prevail.

Declaration of interest

The French ANRS-EPF cohort, the basis of this work on the tolerance of antiretroviral drugs, receives financial support from the Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les Hépatites Virales (ANRS) and Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM). We thank the families who agreed to participate in this cohort, and the investigators, for their

strong commitment to this national collaborative research. The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.

Bibliography

Papers of special note have been highlighted as either of interest (●) or of considerable interest (●●) to readers.

- Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331:1173-80
- Forbes JC, Alimenti AM, Singer J, et al. A national review of vertical HIV transmission. *AIDS* 2012;26:757-63
- Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 2011;365:493-505
- Townsend CL, Byrne L, Cortina-Borja M, et al. Earlier initiation of ART and further decline in mother-to-child HIV transmission rates, 2000-2011. *AIDS* 2014;28:1049-57
- Tubiana R, Le Chenadec J, Rouzioux C, et al. Factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 despite a maternal viral load <500 copies/ml at delivery: a case-control study nested in the French perinatal cohort (EPF-ANRS CO1). *Cl Infect Dis* 2010;50:585-96
- Siegfried N, van der Merwe L, Brocklehurst P, Sint TT. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;6:CD003510
- Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. Available from: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/PerinatalGL.pdf> [Accessed 14 November 2014]
- Mandelbrot L, Berrébi A, Matheron S, et al. [HIV and pregnancy: 2013 guidelines from the French expert working group]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2014;43:534-48
- Taylor GP, Clayden P, Dhar J. British HIV Association guidelines for the management of HIV infection in pregnant women 2012. *HIV Med* 2012;13:87-157
- Greig JM, Anderson J. Optimizing antiretroviral therapy for women living with HIV. *Curr Opin Infect Dis* 2014;27:46-52
- Zidovudine for mother, fetus, and child: hope or poison? *Lancet* 1994;344:207-9
- Chi BH, Bolton-Moore C, Holmes CB. Prevention of mother-to-child HIV transmission within the continuum of maternal, newborn, and child health services. *Curr Opin HIV AIDS* 2013;8:498-503
- Mahy M, Stover J, Kiragu K, et al. What will it take to achieve virtual elimination of mother-to-child transmission of HIV? An assessment of current progress and future needs. *Sex Transm Infect* 2010;86:ii48-55
- Antiretroviral drugs for treating women and preventing HIV infection in infants. WHO guidelines. Available from: <http://www.who.int/hiv> [Accessed 14 November 2014]
- Global Aids Response Progress Reporting 2014. Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/
- GARPR_2014_guidelines_en_0.pdf [Accessed 14 November 2014]
- Else LJ, Taylor S, Back DJ, Khoo SH. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the fetal compartment (placenta and amniotic fluid). *Antivir Ther* 2011;16:1139-47
- Tomi M, Nishimura T, Nakashima E. Mother-to-fetus transfer of antiviral drugs and the involvement of transporters at the placental barrier. *J Pharm Sci* 2011;100:3708-18
- Chappuy H, Tréluyer JM, Jullien V, et al. Maternal-fetal transfer and amniotic fluid accumulation of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors in human immunodeficiency virus-infected pregnant women. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:4332-6
- Fleming TR. Evaluating the safety of interventions for prevention of perinatal transmission of HIV. *Ann N Y Acad Sci* 2000;918:201-11
- Dauby N, Goetghebuer T, Kollmann TR, et al. Uninfected but not unaffected: chronic maternal infections during pregnancy, fetal immunity, and susceptibility to postnatal infections. *Lancet Infect Dis* 2012;12:330-40
- Afran L, Garcia Knight M, Nduati E, et al. HIV-exposed uninfected children: a growing population with a vulnerable immune system? *Clin Exp Immunol* 2014;176:11-22
- Taron-Brocard C, Le Chenadec J, Faye A, et al. Increased risk of serious bacterial infections due to maternal immunosuppression in HIV-exposed uninfected infants in a European country. *Clin Infect Dis* 2014;59:1332-45
- European Collaborative S, Swiss M; Child HIVCS. Combination

- antiretroviral therapy and duration of pregnancy. *AIDS* 2000;14:2913-20
24. Zack RM, Golan J, Aboud S, et al. Risk factors for preterm birth among HIV-infected tanzanian women: a prospective study. *Obstet Gynecol Int* 2014;2014:261689
 25. Ezechi OC, David AN, Gab-Okafor CV, et al. Incidence of and socio-biologic risk factors for spontaneous preterm birth in HIV positive Nigerian women. *BMC Pregnancy Childbirth* 2012;12:93
 26. Van der Merwe K, Hoffman R, Black V, et al. Birth outcomes in South African women receiving highly active antiretroviral therapy: a retrospective observational study. *J Int AIDS Soc* 2011;14:42
 27. Tuomala RE, Watts DH, Li D, et al. Improved obstetric outcomes and few maternal toxicities are associated with antiretroviral therapy, including highly active antiretroviral therapy during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38:449-73
 28. Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and premature delivery in diagnosed HIV-infected women in the United Kingdom and Ireland. *AIDS* 2007;21:1019-26
 29. Schulte J, Dominguez K, Sukalac T, Pediatric Spectrum of HIVDC. Declines in low birth weight and preterm birth among infants who were born to HIV-infected women during an era of increased use of maternal antiretroviral drugs: pediatric Spectrum of HIV Disease, 1989-2004. *Pediatrics* 2007;119:e900-6
 30. Ravizza M, Martinelli P, Bucceri A, et al. Treatment with protease inhibitors and coinfection with hepatitis C virus are independent predictors of preterm delivery in HIV-infected pregnant women. *J Infect Dis* 2007;195:913-14
 31. Kourtis AP, Schmid CH, Jamieson DJ, Lau J. Use of antiretroviral therapy in pregnant HIV-infected women and the risk of premature delivery: a meta-analysis. *AIDS* 2007;21:607-15
 32. Patel K, Shapiro DE, Brogly SB, et al. Prenatal protease inhibitor use and risk of preterm birth among HIV-infected women initiating antiretroviral drugs during pregnancy. *J Infect Dis* 2010;201:1035-44
 33. Lopez M, Figueras F, Hernandez S, et al. Association of HIV infection with spontaneous and iatrogenic preterm delivery: effect of HAART. *AIDS* 2012;26:37-43
 34. Watts DH, Williams PL, Kacanek D, et al. Combination antiretroviral use and preterm birth. *J Infect Dis* 2013;207:612-21
 35. Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, et al. Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost? *Clin Infect Dis* 2012;54:1348-60
 36. Kesho Bora Study Group. de Vincenzi I. Triple antiretroviral compared with zidovudine and single-dose nevirapine prophylaxis during pregnancy and breastfeeding for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 (Kesho Bora study): a randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2011;11:171-80
 37. Powis KM, Kitch D, Ogwu A, et al. Increased risk of preterm delivery among HIV-infected women randomized to protease versus nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based HAART during pregnancy. *J Infect Dis* 2011;204:506-14
 38. Koss CA, Natureeba P, Plenty A, et al. Risk factors for preterm birth among HIV-infected pregnant Ugandan women randomized to lopinavir/ritonavir- or efavirenz-based antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2014;67:128-35
 39. Chen JY, Ribaud HJ, Souda S, et al. Highly active antiretroviral therapy and adverse birth outcomes among HIV-infected women in Botswana. *J Infect Dis* 2012;206:1695-705
 40. Ndirangu J, Newell ML, Bland RM, Thorne C. Maternal HIV infection associated with small-for-gestational age infants but not preterm births: evidence from rural South Africa. *Hum Reprod* 2012;27:1846-56
 41. Briand N, Mandelbrot L, Le Chenadec J, ANRS French Perinatal Cohort. No relation between in-utero exposure to HAART and intrauterine growth retardation. *AIDS* 2009;23:1235-43
 42. Jao J, Abrams EJ. Metabolic complications of in utero maternal HIV and antiretroviral exposure in HIV-exposed infants. *Pediatr Infect Dis J* 2014;33:734-40
 43. Newschaffer CJ, Cocroft J, Anderson CE, et al. Prenatal zidovudine use and congenital anomalies in a medicaid population. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;24:249-56
 44. Townsend CL, Willey BA, Cortina-Borja M, et al. Antiretroviral therapy and congenital abnormalities in infants born to HIV-infected women in the UK and Ireland, 1990-2007. *Aids* 2009;23:519-24
 45. Brogly SB, Abzug MJ, Watts DH, et al. Birth defects among children born to human immunodeficiency virus-infected women: pediatric AIDS clinical trials protocols 219 and 219C. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29:721-7
 46. Watts DH, Huang S, Culnane M, et al. Birth defects among a cohort of infants born to HIV-infected women on antiretroviral medication. *J Perinat Med* 2011;39:163-70
 47. Knapp KM, Brogly SB, Muenz DG, et al. Prevalence of congenital anomalies in infants with in utero exposure to antiretrovirals. *Pediatr Infect Dis J* 2012;31:164-70
 48. Antiretroviral Pregnancy Registry Steering Committee. Antiretroviral Pregnancy Registry international interim report for 1 Jan 1989-31 July 2013. 2013. Available from: <http://www.APREgistry.com> [Accessed 14 November 2014]
 49. Gibb DM, Kizito H, Russell EC, et al. DART trial team. Pregnancy and infant outcomes among HIV-infected women taking long-term ART with and without tenofovir in the DART trial. *PLoS Med* 2012;9:e1001217
 50. Food and Drug Administration. Sustiva drug label. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021360s024lbl.pdf [Accessed 14 November 2014]
 51. Ford N, Mofenson L, Shubber Z, et al. Safety of efavirenz in the first trimester of pregnancy: an updated systematic review and meta-analysis. *AIDS* 2014;28:S123-31
 - **Discordant data on efavirenz neuro-embryotoxicity [45].**
 52. Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, et al. Association between prenatal exposure to antiretroviral therapy and

- birth defects: an analysis of the French perinatal cohort study (ANRS CO1/CO11). *Plos Med* 2014;11:e1001635
- **Discordant data on efavirenz neuro-embryotoxicity [44].**
53. Gideon K. editor. *Maternal-Fetal Toxicology: a Clinician's Guide* (Medical Toxicology). Marcel DEKKER, New York (USA) - Basel (CH);2001
 54. Dryden-Peterson S, Shapiro RL, Hughes MD, et al. Increased risk of severe infant anemia after exposure to maternal HAART. Botswana. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011;56:428-36
 - **Mild side effects can be complex to manage a resource-poor setting.**
 55. Mandelbrot L, Landreau-Mascaro A, Rekacewicz C, Agence Nationale de Recherches sur le SIDA (ANRS) 075 Study Group. Lamivudine-zidovudine combination for prevention of maternal-infant transmission of HIV-1. *JAMA* 2001;285:2083-93
 56. André-Schmutz I, Dal-Cortivo L, Six E, et al. Genotoxic signature in cord blood cells of newborns exposed in utero to a zidovudine-based antiretroviral combination. *J Infect Dis* 2013;208(2):235-43
 - **Biomarkers of genotoxicity are detected at birth after zidovudine exposure, similar to observations in cell cultures and models of exposure in animals.**
 57. Scalfaro P, Chesaux JJ, Buchwalder PA, et al. Severe transient neonatal lactic acidosis during prophylactic zidovudine treatment Intensive Care. *Med* 1998;24:247-50
 58. Noguera A, Fortuny C, Muñoz-Almagro C, et al. Hyperlactatemia in human immunodeficiency virus-uninfected infants who are exposed to antiretrovirals. *Pediatrics* 2004;114:e598-603
 59. Alimenti A, Burdge DR, Ogilvie GS, et al. Lactic acidemia in human immunodeficiency virus-uninfected infants exposed to perinatal antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:782-9
 60. Tarantal AF, Castillo A, Ekert JE, et al. Fetal and maternal outcome after administration of tenofovir to gravid rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;29:207-20
 61. Siberry GK, Jacobson DL, Kalkwarf H, et al. Lower newborn bone mineral content (BMC) associated with maternal use of tenofovir disoproxil fumarate (TDF) [abstract 79]. CROI; Boston; 2014
 62. Chasela CS, Hudgens MG, Jamieson DJ, BAN Study Group. Maternal or infant antiretroviral drugs to reduce HIV-1 transmission. *N Engl J Med* 2010;362:2271-81
 63. Decloedt EH, Maartens G. Neuronal toxicity of efavirenz: a systematic review. *Expert Opin Drug Saf* 2013;12:841-6
 64. Arendt G, de Ncker D, von Giesen HJ, Nolting T. Neuropsychiatric side effects of efavirenz therapy. *Expert Opin Drug Saf* 2007;6:147-54
 65. Simon A, Warszawski J, Kariyawasam D, ANRS French Perinatal Cohort Study Group. Association of prenatal and postnatal exposure to lopinavir-ritonavir and adrenal dysfunction among uninfected infants of HIV-infected mothers. *JAMA* 2011;306:70-8
 66. McArthur MA, Kalu SU, Foulks AR, et al. Twin preterm neonates with cardiac toxicity related to lopinavir/ritonavir therapy. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28:1127-9
 67. Lopriore E, Rozendaal L, Gelinck LB, et al. Twins with cardiomyopathy and complete heart block born to an HIV-infected mother treated with HAART. *AIDS* 2007;21:2564-5
 68. Available from: <http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm246167.htm> [Accessed 14 November 2014]
 69. Mandelbrot L, Mazy F, Floch-Tudal C, et al. Atazanavir in pregnancy: impact on neonatal hyperbilirubinemia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;157:18-21
 70. Blanche S, Tardieu M, Rustin P, et al. Persistent mitochondrial dysfunction and perinatal exposure to antiretroviral nucleoside analogues. *Lancet* 1999;354:1084-9
 71. Brogly SB, DiMauro S, Van Dyke RB, et al. Transplacental nucleoside analogue exposure and mitochondrial parameters in HIV-uninfected children. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011;27:777-83
 72. Divi RL, Leonard SL, Kuo MM, et al. Cardiac mitochondrial compromise in one year old *Erythrocebus patas* monkeys exposed in utero to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Cardiovasc Toxicol* 2005;5:333-46
 73. Ross AC, Leong T, Avery A, et al. Effects of in utero antiretroviral exposure on mitochondrial DNA levels, mitochondrial function and oxidative stress. *HIV Med* 2012;13:98-106
 - **Quantitative and qualitative biomarkers of mitochondrial dysfunction at birth in newborns exposed to zidovudine.**
 74. Gardner K, Hall PA, Chinnery PF, Payne BA. HIV treatment and associated mitochondrial pathology: review of 25 years of in vitro, animal, and human studies. *Toxicol Pathol* 2013;42:811-22
 75. Divi RL, Einem TL, Fletcher SL, et al. Progressive mitochondrial compromise in brains and livers of primates exposed in utero to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). *Toxicol Sci* 2010;118:191-201
 76. Olivero OA, Shearer GM, Chougnet CA, et al. Incorporation of zidovudine into leukocyte DNA from HIV-1-positive adults and pregnant women, and cord blood from infants exposed in utero. *AIDS* 1999;13:919-25
 77. Escobar PA, Olivero OA, Wade NA, et al. Genotoxicity assessed by the comet and GPA assays following in vitro exposure of human lymphoblastoid cells (H9) or perinatal exposure of mother-child pairs to AZT or AZT-3TC. *Environ Mol Mutagen* 2007;48:330-43
 78. Witt KL, Cunningham CK, Patterson KB, et al. Elevated frequencies of micronucleated erythrocytes in infants exposed to zidovudine in utero and postpartum to prevent mother-to-child transmission of HIV. *Environ Mol Mutagen* 2007;48:322-9
 79. Senda S, Blanche S, Costagliola D, et al. Altered heterochromatin organization after perinatal exposure to zidovudine. *Antivir Ther* 2007;12:179-87
 80. Olivero OA, Torres LR, Gorjifard S, et al. Perinatal exposure of *patas* monkeys to antiretroviral nucleoside reverse-transcriptase inhibitors induces genotoxicity persistent for up to 3 years of age. *J Infect Dis* 2013;208:244-8
 - **Persistence up to 3 years of age of genotoxicity in monkeys perinatally exposed to various nucleoside analog combinations.**

81. Vivanti A, Cucuini W, Luce S, et al. Comparative genotoxic signature in cord blood cells from neonates exposed to AZT or TDF in utero [abstract P-T2 379]. 21th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections CROI;3 – 6 March 2014;Boston, USA; AIDS 2015, in press
82. Barret B, Tardieu M, Rustin P, et al. Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants : clinical screening in a large prospective cohort. AIDS 2003;17:1769-85
83. Crain MJ, Chernoff MC, Oleske JM, et al. Possible mitochondrial dysfunction and its association with antiretroviral therapy use in children perinatally infected with HIV. J Infect Dis 2010;202:291-301
84. Nozyce ML, Huo Y, Williams PL, et al. Safety of in utero and neonatal antiretroviral exposure: cognitive and Academic outcomes in HIV-exposed, uninfected children 5-13 years of age. Pediatr Infect Dis J 2014;33:1128-33
85. Lipshultz SE, Shearer WT, Thompson B, et al. Cardiac effects of antiretroviral therapy in HIV-negative infants born to HIV-positive mothers: the NHLBI CHAART-1 cohort study. J Am Coll Cardiol 2011;57:76-85
86. Cade WT, Waggoner AD, Hubert S, et al. Reduced diastolic function and left ventricular mass in HIV-negative pre-adolescent children exposed to antiretroviral therapy in Utero. AIDS 2012;26:2053-8
87. Sibiude J, Le Chenadec J, Bonnet D, et al. In utero exposure to zidovudine and neonatal heart abnormalities in the ANRS-EPF/PRIMEVA studies [abstract 862]. 21th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections CROI;3 – 6 March 2014; Boston, USA
88. Torres SM, Divi RL, Walker DM, et al. In utero exposure of female CD-1 mice to AZT and/or 3TC: II. Persistence of functional alterations in cardiac tissue. Cardiovasc Toxicol 2010;10:87-99
89. Divi RL, Leonard SL, Kuo MM, et al. Cardiac mitochondrial compromise in 1-yr-old Erythrocebus patas monkeys perinatally-exposed to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Cardiovasc Toxicol 2005;5:333-46
- **Long-lasting consequences of zidovudine on cardiac tissue in a monkey model of in utero exposure to zidovudine.**
90. Payne BAI, Wilson IJ, Hateley CA, et al. Mitochondrial aging is accelerated by anti-retroviral therapy through the clonal expansion of mtDNA mutations. Nat Genet 2011;43:806-10
- **Mechanism of progressive worsening of mitochondrial injury despite cessation of exposure to nucleoside analogs in HIV-infected adults.**
91. Le Chenadec J, Mayaux MJ, Guihenneuc-Jouyaux C, Blanche S; Enquête Périnatale Française Study Group. Perinatal antiretroviral treatment and hematopoiesis in HIV-uninfected infants. AIDS 2003;17:2053-61
- **First unambiguous demonstration of a long-lasting effect on hematopoietic stem cells of perinatal exposure to zidovudine with or without lamivudine.**
92. Pacheco SE, McIntosh K, Lu M, et al. Effect of perinatal antiretroviral drug exposure on hematologic values in HIV-uninfected children: an analysis of the women and infants transmission study. J Infect Dis 2006;194:1089-97
93. Bunders MJ, Bekker V, Scherpbier HJ, et al. Haematological parameters of HIV-1-uninfected infants born to HIV-1-infected mothers. Acta Paediatr 2005;94:1571-7
94. Benhammou V, Warszawski J, Bellec S, et al. Incidence of cancer in children perinatally exposed to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. AIDS 2008;22:2165-77
95. Tubiana R, Mandelbrot L, Le Chenadec J, et al. Lopinavir/ritonavir monotherapy as a nucleoside analogue-sparing strategy to prevent HIV-1 mother-to-child transmission : the ANRS 135 PRIMEVA phase 2/3 randomized trial. Clin Infect Dis 2013;57:891-902
96. Nielsen-Saines K, Watts DH, Veloso VG, et al. NICHD HPTN 040/ PACTG 1043 Protocol Team. Three postpartum antiretroviral regimens to prevent intrapartum HIV infection. N Engl J Med 2012;366:2368-79
97. Liu KC, Farhani M, Mashamba T, et al. Pregnancy outcomes and birth defects from an antiretroviral drug safety study of women in South Africa and Zambia. AIDS 2014;28:2259-68
98. Goodman A, Schorge J, Greene MF. The long-term effects of in utero exposures-the DES story. N Engl J Med 2011;364:2083-4
- **An instructive perinatal exposure catastrophe, in terms of delay before the detection of adverse events, despite the very large numbers of exposed newborns.**

Affiliation

Jeanne Sibiude^{1,2} MD PhD,
Josiane Warszawski² MD PhD &
Stéphane Blanche^{†3} MD

[†]Author for correspondence

¹Hôpital Louis Mourier, Service de Gynécologie et d'Obstétrique, Assistance Publique –Hôpitaux de Paris (APHP), Colombes, France

²Université Paris Sud, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, INSERM U1018, Le Kremlin-Bicêtre, UMRS 1018, Bicetre, France

³Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants Malades (APHP), Unité d'Immunologie Hématologie Rhumatologie Pédiatriques, and EA 7323 : Evaluation Thérapeutique et Pharmacologie Périnatale et Pédiatrique, 149 rue de Sèvres 75015, Paris, France
E-mail: stephane.blanche@nck.aphp.fr

ANNEXE 8 : Editorial Antirétroviraux et issues périnatales : y-at ’-il un lien ?

Mandelbrot L, **Sibiude J.**

A link between antiretrovirals and perinatal outcomes?

Lancet HIV. 2016 Nov 15. pii: S2352-3018(16)30188-6.

A link between antiretrovirals and perinatal outcomes?



Because starting combination antiretroviral therapy (ART) as early as possible is now the norm, all women with HIV should be on treatment before becoming pregnant (although some women might not be diagnosed until they are pregnant). The benefits of ART are overwhelming, but the risks include adverse pregnancy outcomes, which encompass a wide range of birth defects and maternal, obstetric, and perinatal complications.

A systematic review and meta-analysis¹ by Olalekan A Uthman and colleagues in *The Lancet HIV* shows a significant increase in preterm births associated with ART started before conception compared with ART started after conception. Many, though not all, studies have shown a strong association between ART and preterm births.² This review is the first in which adverse pregnancy outcomes by timing of ART are specifically assessed. The risk ratios are quite coherent among studies from low-income and high-income countries, although background risks differ. The increased risk concerns not only moderate preterm birth (ie, delivery between 34 and 37 weeks' gestation) but also deliveries at less than 34 weeks' gestation, which can lead to death or permanent disabilities.

The relation between timing of ART initiation and other outcomes is less clear. Low birthweight was significantly more frequent when ART was started before pregnancy than after pregnancy, but the frequency of small for gestational age did not differ significantly between groups. Low birthweight can be a proxy for preterm birth. By contrast, small for gestational age is, by definition, adjusted for gestational age. It is also an important indication for preterm induction or caesarean section. In the French Perinatal Cohort,³ ART was mostly associated with induced preterm birth for complications. Uthman and colleagues report that the incidence of pre-eclampsia was independently associated with starting ART before conception (rather than after conception). Small for gestational age and pre-eclampsia are both related to placental dysfunction, which is a consequence of faulty trophoblast invasion in early pregnancy. However, other studies showed no association between ART and pre-eclampsia.⁴

There was a non-significant risk of stillbirth, which is less frequent than preterm birth and small

for gestational age, when ART was started before conception compared with after conception. The risk of congenital anomalies is a major outcome. Congenital anomalies were an outcome in only one study⁵ included in Uthman and colleagues' analysis because preconception initiation of ART was not distinguished from initiation after conception in other studies. The teratogenic potential of efavirenz in first-trimester ART exposures is controversial.⁶ In the French Perinatal Cohort,⁷ CNS malformations were increased after first-trimester exposure to efavirenz, but that study was not included in the systematic review because the publication did not specify that all these exposures had begun before conception (unpublished).

The association between ART and preterm birth is intriguing and elusive. Multicentre observational cohorts are a good way to study outcomes in large populations, but are not designed to inform whether starting ART before pregnancy has an effect on outcomes. An important treatment bias to remember is that, until recently, ART used to be reserved for people with advanced immune deficiency. The timing of initiation of ART could be important for interactions between HIV and the immune system. HIV infection is a state of chronic inflammation. The effect of ART on this inflammatory state is complex: it depends on immune deficiency and the viral reservoir at the time of treatment initiation. Inflammation is also a major factor in preterm birth, intrauterine growth restriction, and pre-eclampsia. Concentrations of inflammatory markers related to microbial translocation were higher in pregnant women with HIV than in HIV-negative pregnant women,⁸ and were associated with preterm delivery.

One might thus assume that treating HIV infection improves pregnancy outcomes, but the opposite has been described.⁹ The effects could differ regarding spontaneous and induced prematurity, with HIV infection increasing the frequency of spontaneous preterm birth and boosted protease-inhibitor-based ART possibly increasing the frequency of induced preterm birth.¹⁰ Other researchers suggest that ART favours spontaneous preterm birth and adverse outcomes via the T helper cell 1 and T helper cell 2 shift or via decreased progesterone concentrations.¹¹



Anatomical Travelogue/Science Photo Library

Lancet HIV 2016

Published Online
November 15, 2016
[http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018\(16\)30188-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018(16)30188-6)

See Online/Articles
[http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018\(16\)30195-3](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018(16)30195-3)

Whether the adverse effects of ART on pregnancy will be increased or decreased by starting treatment earlier in the course of HIV infection—ie, before immune dysregulation occurs—is unknown,

Another cause for caution is the potential for toxicities in the developing fetus and the resulting short-term and long-term risks, including mitochondrial diseases, cardiac dysfunction, genotoxicity, and cancer, which were not topics of Uthman and colleagues' review but are of crucial importance when assessing risks related to use of ART in pregnancy. The next step in research should be to analyse outcomes according to the individual antiretrovirals used and the causes of adverse perinatal outcomes.

**Laurent Mandelbrot, Jeanne Sibiude*

Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Louis Mourier, Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Nord Val de Seine, 178 rue des Renouillers, 92700 Colombes, France (LM); Université Paris-Diderot, Université Sorbonne Paris-Cité, Paris, France (LM); Département Hospitalier Universitaire Risques et Grossesse, Paris, France (LM, JS); INSERM U1018, Kremlin-Bicêtre, France (LM, JS); and Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris, France (JS)

laurent.mandelbrot@lmr.aphp.fr

LM has received lecturing fees from Abbott Diagnostics. JS declares no competing interests.

Copyright © The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an Open Access article under the CC BY-NC-ND license.

- 1 Uthman OA, Nachega JB, Anderson J, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet HIV* 2016; published online Nov 15. [http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018\(16\)30195-3](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018(16)30195-3).
- 2 Townsend C, Schulte J, Thorne C, et al. Antiretroviral therapy and preterm delivery—a pooled analysis of data from the United States and Europe. *BJOG* 2010; **117**: 1399–410.
- 3 Sibiude J, Warszawski J, Tubiana R, et al. Premature delivery in HIV-infected women starting protease inhibitor therapy during pregnancy: role of the ritonavir boost? *Clin Infect Dis* 2012; **54**: 1348–60.
- 4 Canlorbe G, Matheron S, Mandelbrot L, Oudet B, Luton D, Azria E. Vasculoplacental complications in pregnant women with HIV infection: a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 2015; **213**: 241 e1–9.
- 5 Patel D, Thorne C, Fiore S, Newell ML, European Collaborative S. Does highly active antiretroviral therapy increase the risk of congenital abnormalities in HIV-infected women? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; **40**: 116–18.
- 6 Ford N, Mofenson L, Shubber Z, et al. Safety of efavirenz in the first trimester of pregnancy: an updated systematic review and meta-analysis. *AIDS* 2014; **28** (suppl 2): S123–31.
- 7 Sibiude J, Mandelbrot L, Blanche S, et al. Association between prenatal exposure to antiretroviral therapy and birth defects: an analysis of the French Perinatal Cohort Study. *PLoS Med* 2014; **11**: e1001635.
- 8 Lopez M, Figueras F, Coll O, et al. Inflammatory markers related to microbial translocation among HIV-infected pregnant women: a risk factor of preterm delivery. *J Infect Dis* 2016; **213**: 343–50.
- 9 Bagkeris E, Malyuta R, Volokha A, et al; for the Ukraine European Collaborative Study in EuroCoord. Pregnancy outcomes in HIV-positive women in Ukraine, 2000–12 (European Collaborative Study in EuroCoord): an observational cohort study. *Lancet HIV* 2015; **2**: e385–92.
- 10 Lopez M, Figueras F, Hernandez S, et al. Association of HIV infection with spontaneous and iatrogenic preterm delivery: effect of HAART. *AIDS* 2012; **26**: 37–43.
- 11 Papp E, Mohammadi H, Loutfy MR, et al. HIV protease inhibitor use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. *J Infect Dis* 2015; **211**: 10–18.

Titre : Tolérance maternelle et néonatale des antirétroviraux pendant la grossesse à l'ère des multithérapies

Mots clés : VIH, grossesse, prématurité, malformations, PTME, antirétroviraux

Résumé : L'objectif de cette thèse était d'étudier les associations potentielles entre les traitements antirétroviraux reçus par les femmes enceintes infectées par le VIH et les pathologies pouvant survenir au cours de la grossesse ou chez le nourrisson. Ce travail est issu en majeure partie des données de l'Enquête Périnatale Française (ANRS-EPF), cohorte nationale multicentrique ayant inclus plus de 20 000 couples mères-enfants depuis 1986. Actuellement, presque toutes les femmes sont traitées par combinaisons antirétrovirales puissantes (cART ; 98% en 2013) et le taux de transmission est très bas : 0.6% (IC95% : 0.4%-0.8% pour la période 2005-2013).

La première partie portait sur le risque d'accouchement prématuré dont le taux a augmenté significativement entre la période 1990-1993 et 2005-2009, passant de 9.2% à 14.3%. Le risque d'accouchement prématuré était significativement associé au traitement par cART, par rapport aux monothérapies et bithérapies d'INTI, et au traitement débuté avant la conception par rapport aux traitements débutés en cours de grossesse. La survenue d'une cytolysse hépatique était fréquente (17%), et était liée à la fois à la prématurité, et au type de traitement, plus fréquentes avec les IP qu'avec les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse.

La perturbation du bilan hépatique pourrait être un facteur intermédiaire dans la relation entre traitements et accouchement prématuré. La seconde partie portait sur les malformations congénitales. D'une part, elle a permis de mettre en évidence une association entre exposition à l'efavirenz au premier trimestre de grossesse et les malformations neurologiques, bien que concernant peu de cas (n=4) et n'atteignant la significativité que dans une analyse de sensibilité. Cette association incite à maintenir une vigilance chez les enfants exposés in utero à cette molécule classée tératogène par la FDA mais prescrite de plus en plus largement. D'autre part, l'exposition au premier trimestre à la zidovudine était associée à la survenue de malformations cardiaques.

La troisième partie a complété cette étude par une analyse de la fonction cardiaque, des modifications infracliniques de la contractilité et de l'épaisseur des parois du ventricule gauche ont été mises en évidence chez les enfants exposés in utero à une combinaison de traitement contenant la zidovudine et la lamivudine.

Ces résultats ne remettent pas en question l'efficacité majeure des traitements antirétroviraux pour la prévention de la transmission de la mère à l'enfant du VIH, mais incitent à la poursuite d'une surveillance épidémiologique des effets indésirables potentiels, de manière à optimiser les prescriptions pour un meilleur rapport bénéfice/risque.

Title : Maternal and neonatal tolerance of antiretroviral therapy during pregnancy in the HAART era.

Keywords : HIV, pregnancy, preterm birth, congenital birth defect, PMTCT, antiretroviral treatment

Abstract : Our objective was to study potential associations between antiretroviral treatment and obstetrical or neonatal complications in a population of HIV-positive pregnant women. Most of the analyses were conducted with data from the French Perinatal Cohort (ANRS-EPF), an ongoing multicenter national cohort. The first part of this work consisted in the study of preterm birth. The preterm birth rate has increased significantly between 1990-1993 and 2005-2009, from 9.2% to 14.3%. Risk of preterm birth was significantly associated with cART, when compared to NRTI monotherapy or dual therapy, and with timing of treatment, higher for women treated at conception than for those initiating treatment during pregnancy. The occurrence of liver enzyme elevation was frequent (17%), and was associated both with preterm birth and with PI-based treatment, when compared to NNRTIs. LEE could be an intermediate factor between cART and preterm birth.

The second part of this work was a study of congenital birth defect in the cohort, and showed an association between first trimester-exposure to efavirenz and neurological defects, but this concerned small numbers (n=4), and reached significance only in a sensitivity analysis. This association encourages us to maintain awareness concerning this molecule, considered teratogenic by the FDA but more and more largely prescribed. We also reported an association between first-trimester exposure to zidovudine and congenital heart defects.

In a third part, we studied heart function, differences in contractility and septum thickness of the left ventricle was found, among girls exposed to a combination containing zidovudine and lamivudine. These results do not question the great progress of antiretroviral treatment in the prevention of mother-to-child transmission, but they encourage us to continue epidemiologic surveillance of potential side effects, in order to optimize prescriptions for an improved benefit/risk ratio.

