



HAL
open science

Traitement du virus de l'hépatite C (VHC) par agents antiviraux directs : modélisation de l'optimisation des traitements et impact sur l'histoire naturelle et l'épidémiologie

Victor Virlogeux

► To cite this version:

Victor Virlogeux. Traitement du virus de l'hépatite C (VHC) par agents antiviraux directs : modélisation de l'optimisation des traitements et impact sur l'histoire naturelle et l'épidémiologie. Santé publique et épidémiologie. Université de Lyon, 2018. Français. NNT : 2018LYSE1165 . tel-01927298

HAL Id: tel-01927298

<https://theses.hal.science/tel-01927298v1>

Submitted on 19 Nov 2018

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.



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de

l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N°340

Biologie Moléculaire Intégrative et Cellulaire (BMIC)

Spécialité de doctorat : Recherche clinique, innovation technologique, sante publique

Discipline : Epidémiologie, Biostatistiques

Soutenue publiquement le 10/09/2018, par :

Victor Virlogeux

Traitement du virus de l'hépatite C (VHC) par agents antiviraux directs: Modélisation de l'optimisation des traitements et impact sur l'histoire naturelle et l'épidémiologie

Devant le jury composé de :

Pr. Massimo Levrero, PU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, INSERM U1052 - CNRS 5286, CRCL
Président

Pr. Dominique Thabut, PU-PH, UMPC Paris VI, APHP, UMR 938 - CRSA
Rapporteure et Examinatrice

Pr. Karine Lacombe, PU-PH, UMPC Paris VI, APHP, UMR 1136 - iPLESP
Rapporteure et Examinatrice

Pr. Nathalie Ganne-Carrié, PU-PH, Université Paris XIII, APHP, UMR 1162 - Génétique fonctionnelle des tumeurs solides
Examinatrice

Pr. Fabien Zoulim, PU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, INSERM U1052 - CNRS 5286, CRCL
Co-directeur de thèse

Dr. Christophe Combet, Université Claude Bernard Lyon 1, INSERM U1052 - CNRS 5286, CRCL
Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement Christophe Combet et Fabien Zoulim, mes directeurs de thèse, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse, de m'avoir co-encadré et aidé au cours de ces trois années de travail.

Je remercie sincèrement les rapporteurs de cette thèse, Dominique Thabut et Karine Lacombe, de me faire l'honneur de consacrer de leur temps précieux à la lecture de ce manuscrit. Je remercie aussi Nathalie Ganne-Carrié et Massimo Levrero d'avoir accepté d'examiner ce travail en participant à ce jury de thèse.

Je remercie Marianne Maynard, médecin coordinatrice du Centre de Recherche Clinique de l'hôpital de la Croix-Rousse, de m'avoir accueilli et d'avoir assuré les conditions matérielles et logistiques favorables au bon déroulement de ce travail.

Je tiens à remercier vivement Laurent Cotte et l'ensemble des protagonistes et des partenaires de Dat'AIDS.

Je remercie également toute l'équipe du Centre de Recherche Clinique de l'hôpital de la Croix-Rousse, pour leurs échanges, leurs encouragements et leurs sourires rendant l'environnement de travail très agréable.

Je tiens à remercier également tous mes collègues du service d'hépatologie, du service de maladies infectieuses de l'hôpital de la Croix-Rousse et du service de pharmacologie de l'hôpital Edouard Herriot et plus particulièrement François Bailly, Joseph Koffi, Kerstin Hartig-Lavie, Patrick Mialhes, Christian Trépo, Laure Choupeaux, Georgiana Funingana et Marie-Claude Gagnieu pour leur implication dans ce travail et leur soutien.

Enfin j'exprime toute ma reconnaissance à Pierre Pradat, pour tout le travail accompli ensemble durant toutes ces années, les échanges enrichissants et son indéniable grand soutien humain et professionnel.

SOMMAIRE

RESUME.....	5
ABSTRACT:.....	7
1 Epidémiologie de l'infection par le virus de l'hépatite C.....	13
1.1 Prévalence et répartition du virus de l'hépatite C dans le monde	13
1.1.1 Prévalence de l'ARN du VHC dans le monde: nouvelles estimations.....	13
1.1.2 Répartition de la prévalence du VHC dans le monde.....	13
1.1.3 Prévalence du VHC en France	14
1.2 Prévalence de la coinfection VIH-VHC	16
1.2.1 Prévalence de la coinfection VIH-VHC dans le Monde.....	16
1.2.2 Prévalence de la coinfection VIH-VHC en France	16
1.3 Transmission du virus de l'hépatite C, prévention et dépistage.....	17
1.3.1 Modes de transmission du VHC et particularités géographiques.....	17
1.3.2 Recommandations de dépistage	18
1.4 Incidence de l'infection par le VHC	19
1.4.1 Dans la population générale	19
1.4.2 Dans la population VIH.....	20
1.5 Bases sur les modèles compartimentaux dynamiques	21
1.5.1 Conceptualisation des modèles compartimentaux dynamiques	21
1.5.2 Calibration du modèle par une approche Bayésienne de l'estimation des paramètres incluant une méthode de Monte Carlo Markov Chain (MCMC)	23
2 Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite C	24
2.1 Phase aiguë de l'infection par le virus de l'hépatite C	25
2.1.1 Diagnostic de la phase aiguë de l'infection	25
2.1.2 Guérison spontanée de l'infection par le VHC suite à une phase aiguë.....	26
2.2 Phase chronique de l'infection par le VHC et complications.....	27
2.2.1 Evaluation de la fibrose hépatique dans l'infection chronique du VHC.....	27
2.2.2 Evolution de la fibrose hépatique dans l'infection chronique du VHC.....	28
2.2.3 Progression de la fibrose hépatique vers la cirrhose.....	29
2.2.4 Estimation du risque d'apparition d'un carcinome hépatocellulaire	30
2.3 Effets bénéfiques du traitement de l'hépatite C.....	30
2.3.1 Amélioration de la fibrose et de l'inflammation hépatique après traitement de l'hépatite C chronique.....	30
2.3.2 Effet du traitement sur le risque de CHC.....	31
2.3.3 Risque de récurrence du CHC et traitement du VHC.....	33
2.4 Introduction sur la méthodologie de l'analyse de survie et sur le score de propension	34
2.4.1 Méthodologie de l'analyse de survie	34
2.4.2 Score de propension.....	37
3 Les traitements de l'hépatite C.....	38
3.1 Rappels sur les objectifs du traitement et sur la bithérapie PEG-IFN/RBV	38
3.2 Rappels sur la trithérapie PEG-IFN/RBV + inhibiteur de protéase NS3/4A (télaprévir et bocéprévir)	38
3.2.1 Modalités du traitement et taux de réponse.....	38
3.2.2 Facteurs prédictifs de la RVS et tolérance de la trithérapie.....	40
3.2.3 Bases statistiques sur l'analyse d'un test diagnostique.....	42
3.2.4 Dosage de la ribavirine et traitement par trithérapie	43
3.3 Les nouveaux traitements du VHC par agents antiviraux directs	44
3.3.1 Modalités des nouveaux traitements par AAD	44
3.3.2 Taux de réponse au traitement et facteurs prédictifs.....	47
3.3.3 Technique de dosage des AAD	48
4 Optimisation de l'efficacité et de la tolérance des traitements par AAD	48

4.1	Optimisation de la réponse virologique et de la tolérance des traitements par trithérapie	48
4.1.1	Présentation des articles	48
4.1.2	Articles	52
4.2	Optimisation des traitements anti-VHC par AAD grâce aux dosages pharmacologiques	70
4.2.1	Présentation des articles	70
4.2.2	Articles	73
5	Impact des nouveaux traitements par AAD sur le risque de récurrence du CHC	85
5.1	Présentation de l'article	85
5.2	Article.....	88
6	Modélisation de l'impact des nouveaux traitements par AAD sur l'épidémiologie de la coinfection VIH-VHC en France.....	109
6.1	Présentation de l'article	109
6.2	Article.....	112
7	Discussion.....	141
8	Conclusions et perspectives	159

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1. Prévalence et nombre d'individus infectés chroniquement par le VHC dans les différentes régions du monde.....	14
Tableau 2. Estimation de la prévalence et du nombre total de personnes positives aux Ac anti-VHC et ARN VHC positives dans la population française des 18-80 ans, en 2011.....	15
Tableau 3. Performance d'un test diagnostique.....	42
Tableau 4. Les différents AAD ayant reçu une AMM en France.....	45
Tableau 5. Recommandations de combinaison d'AAD pour le traitement de l'hépatite C chronique chez les patients sans cirrhose décompensée.....	46
Tableau 6. Études de cohorte publiées sous forme d'articles entre Juillet 2016 et Avril 2018 analysant le taux de récurrence du CHC après un traitement par AAD.....	150
Figure 1. Evolution de l'incidence de première infection par le VHC dans la cohorte Dat'AIDS chez les HSH et les autres groupes à risque entre 1997 et 2015.....	21
Figure 2. Modèle SIR de Kermack et McKendrick	22
Figure 3. Structure de la polyprotéine virale du VHC.....	25
Figure 4. Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite C.....	26
Figure 5. Les différents stades de fibrose.....	29
Figure 6. Mécanismes d'action de la ribavirine et de l'interféron.....	39

RESUME

Le traitement du virus de l'hépatite C (VHC) a connu une révolution récente, rapide et exemplaire grâce à l'arrivée des agents antiviraux directs (AAD) en plusieurs vagues depuis 2011, détrônant ainsi la bithérapie interféron-pégylé/ribavirine. Ces nouveaux traitements ont été rapidement confrontés à des limites concernant leur efficacité et leur tolérance notamment à leurs débuts avec les inhibiteurs de la protéase NS3/4A de première génération. L'arrivée de nouveaux AAD sur le marché lors d'une 2^{ème} vague en 2014 a permis toutefois de surpasser celles-ci et de devenir le traitement de référence du VHC.

Leur efficacité remarquable a laissé naître l'idée d'une potentielle élimination du VHC grâce à l'utilisation universelle de ces traitements. Cependant, leur coût élevé et les comportements à risque observés dans des sous-groupes de population (utilisateurs de drogues intraveineuses et homosexuels) restent encore des problématiques cruciales à surmonter pour espérer atteindre les objectifs fixés par l'Organisation Mondiale de la Santé en 2030 concernant l'élimination du VHC. De plus ces traitements, permettant l'élimination virale quasi-systématique et donc consécutivement une diminution du risque de complications hépatiques, ont été récemment confrontés à une polémique concernant un potentiel risque de récurrence précoce de carcinome hépatocellulaire (CHC) suite à une exposition à ces derniers.

Le travail présenté dans cette thèse s'articule autour de trois problématiques ayant toutes pour objectif principal d'optimiser l'utilisation de ces traitements dans l'optique de contrôler l'histoire naturelle de la maladie à l'échelle individuelle et à l'échelle populationnelle par l'intermédiaire de diverses méthodes statistiques.

Nos résultats ont permis de montrer au sein d'une première problématique ayant exploré l'efficacité et la tolérance de ces traitements antiviraux à l'échelle individuelle: (i) une efficacité antivirale moindre que celle annoncée dans les essais de phase III des inhibiteurs de protéase de première génération (télaprévir et bocéprévir), (ii) un effet indésirable significatif des inhibiteurs de protéase de première génération sur la fonction rénale, (iii) une tolérance moins bonne de ces premières molécules que lors du traitement par bithérapie avec une incidence accrue d'anémie probablement liée à un surdosage en ribavirine induit par les inhibiteurs de protéase et (iv) une efficacité antivirale remarquable des AAD arrivés depuis 2014 sans impact des caractéristiques du patient ni des dosages pharmacologiques sur la réponse virologique. Dans un second temps, la problématique d'un risque de récurrence de CHC accru après un traitement par AAD a également été explorée par l'analyse d'une cohorte locale, celle-ci ayant conclu à l'absence de risque accru comparé à un groupe de patients non exposés. Enfin, nos travaux basés sur la modélisation de la transmission du VHC en France dans la population coinfectede VIH-VHC ont montré qu'un taux annuel de traitement par AAD de 50% était nécessaire dans la population homosexuelle ayant des pratiques à haut-risque de transmission pour contrer l'épidémie actuellement observée.

Nos travaux ont donc permis d'apporter des données pour optimiser l'utilisation des nouveaux traitements anti-VHC par l'intermédiaire de diverses approches statistiques et ont apporté des éléments de réponse aux grandes problématiques actuelles. L'efficacité exemplaire et la tolérance quasi-parfaite des dernières molécules antivirales permettent une utilisation universelle de ces traitements dans toutes les populations de patients. Des études complémentaires robustes sont cependant nécessaires pour apporter des arguments à la question de la récurrence du CHC. Des efforts sont également attendus concernant l'accès au traitement, la diminution des coûts associés et un dépistage renforcé du VHC pour espérer pouvoir éradiquer un jour cette maladie.

Mots-clés: hépatite C, carcinome hépatocellulaire, coinfection, agents antiviraux directs, modélisation, dosage pharmacologique, récurrence, réponse virologique soutenue, tolérance, inhibiteurs de protéase, virus de l'immunodéficience humaine

ABSTRACT:

The arrival of direct-acting antiviral agents (DAAs) has spurred a rapid revolution in the treatment of hepatitis C virus (HCV), supplanting the previous standard of care, *i.e.* pegylated interferon and ribavirin. These new treatments are associated with an increased rate of virological response however they rapidly faced some limits more particularly at the beginning with the first generation NS3/4A protease inhibitors. From 2014 on the second wave of DAA was available for treatment of chronic HCV infection and surpassed previous encountered limits. These treatments are nowadays the gold standard for HCV treatment in high-income countries.

The idea of HCV eradication recently emerged since DAA treatment are highly effective. However, their associated high cost and recent high-risk behaviors associated with an increased risk of HCV transmission (among intravenous drug users and homosexuals) have been reported. These issues need therefore to be addressed in order to achieve the objectives of the World Health Organization for 2030 of an HCV eradication. Moreover, these treatments allow a sustained virological response in almost all patients and consequently reduce the risk of liver-related complications, but a recent controversy regarding a potential increased risk of hepatocellular carcinoma after DAA treatment has been raised.

Three issues will be extensively discussed in this manuscript regarding how these treatments can be used to optimize their effect on HCV natural history at the individual and population level through different statistical approaches.

As regards the first issue, this project allowed us to demonstrate regarding the tolerance and efficacy of DAA treatment: (i) a lower antiviral efficacy than previously reported in the phase III trials for first-generation protease inhibitor regimen (telaprevir and boceprevir), (ii) impairment of renal function during first generation protease inhibitor treatment, (iii) an increased rate of reported side effects during first-generation protease inhibitor treatment and more particularly anemia, potentially related to an increased ribavirin bioavailability induced by protease inhibitor intake and (iv) a remarkable antiviral efficacy of second generation DAAs without impact of patients' characteristics nor pharmacology on virological response rate. The recent issue regarding a higher risk of HCC recurrence after DAA treatment was also explored through a local cohort study and no impact of DAA treatment was observed when comparing DAA-exposed vs non DAA-exposed patients. Finally, we conducted a modelling study on HCV transmission in the coinfecting HIV-HCV French population and our results suggested that an annual DAA treatment coverage rate of 50% was required in the homosexual population with high-risk behaviors to counter the recent observed epidemic in this population.

Our different works provide new insights on how to optimize the use of DAA treatment through several statistical approaches and bring new elements for discussion on the recent controversy. The new DAA have an excellent efficacy and tolerance profile and should be universally used in all populations without restriction. However, further studies are required to explore on a deeper level the question regarding HCC recurrence after DAA treatment. Efforts are also still needed regarding DAA treatment access, associated costs and HCV screening to reach the objective of HCV eradication.

Keywords: hepatitis C virus, hepatocellular carcinoma, coinfection, direct-acting antivirals, modelling, pharmacology, recurrence, sustained virological response, tolerance, protease inhibitor, human immunodeficiency virus

VALORISATIONS DES TRAVAUX DE THESE

Publications issues de la thèse:

- "**Boceprevir and telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C: virological efficacy and impact on kidney function and model for end-stage liver disease score**" V. Virlogeux, P. Pradat, F. Bailly, G. Funingana, F. Gonçalves, M. Maynard, K. Hartig-Lavie, M. Amiri, F. Zoulim. Journal of Viral Hepatitis, 2014;21(9):e98-e107

- "**Early virological assessment during telaprevir- or boceprevir-based triple therapy in hepatitis C cirrhotic patients who failed a previous interferon based regimen — The ANRS CO20-CUPIC study**" F. Bailly, V. Virlogeux, C. Dufour, P. Pradat, C. Hézode, D. Larrey, L. Alric, D. Samuel, M. Bourliere, S. Metivier, JP. Zarski, H. Fontaine, V. Loustuad-Ratti, L. Serfaty, JP. Bronowicki, F. Carrat, F. Zoulim and the CUPIC Study Group, Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology, 2015; 39(4):443-50.

- "**Increased Ribavirin Bioavailability Associated With Telaprevir Use in Hepatitis C Patients Treated With PEGylated -Interferon/Ribavirin/Telaprevir Triple Therapy**" P. Pradat, V. Virlogeux, M. Maynard, M. Leclercq, G. Hatu, M. Amiri, F. Lebosse, P. Miaillhes, F. Zoulim, MC. Gagnieu, F. Bailly, Hepatitis Monthly, 2015; 15 (9); e28879

- "**Sofosbuvir plus daclatasvir with or without ribavirin for chronic hepatitis C infection: impact of drug concentration on viral load decay**" V. Virlogeux, L. Choupeaux, P. Pradat, M. Maynard, F. Bailly, C. Scholtès, MC Gagnieu, F. Zoulim. Digestive Liver Disease, 2016; 48(11):1351-1356

- "**Direct-acting antiviral therapy decreases hepatocellular carcinoma recurrence rate in cirrhotic patients with chronic hepatitis C**" V. Virlogeux, P. Pradat, K. Hartig-Lavie, F. Bailly, M. Maynard, G. Ouziel, D. Poinot, F. Lebossé, M. Ecochard, S. Radenne, S. Benmakhlouf, J. Koffi, P. Lack, C. Scholtes, AC Uhres, C. Ducerf, JY Mabrut, A. Rode, M. Levrero, C. Combet, P. Merle, F. Zoulim. Liver International, Avril 2017; 37(8):1122-1127.

- "**Modeling HIV-HCV coinfection epidemiology in the DAA era: the road to elimination**" V. Virlogeux, F. Zoulim, P. Pugliese, I. Poizot-Martin, MA Valantin, L. Cuzin, J. Reynes, E. Billaud, T.

Huleux, F. Bani-Sadr, D. Rey, A. Frésard, C. Jacomet, C. Duvivier, A. Cheret, L. Hustache-Mathieu, B. Hoen, A. Cabié, L. Cotte and the Dat'AIDS study Group. BMC Medicine, Decembre 2017;15(1):217.

Communications orales

- Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), 2017, Seattle (oral): "**Modeling HIV-HCV coinfection epidemiology in the DAA era: the road to eradication**". V. Virlogeux, L. Cotte, P. Puglièse, I. Poizot-Martin, MA Valantin, L. Cuzin, J. Reynes, E. Billaud, T. Huleux. Abstract 135

Communications affichées

- International Liver Congress (EASL), 2016, Barcelona (poster): "**Real life experience in treating chronic hepatitis C with direct acting antivirals: genotyping and subtype matter**." C. Ramière, M. Maynard, K. Hartig-Lavie, F. Bailly, V. Virlogeux, F. Zoulim, P. Miaillhes, L. Cotte, O. Guillaud, J. Dumortier, J. Ritter, P. André, C. Scholtès. Abstract SAT-124

- International Liver Congress (EASL), 2017, Amsterdam (poster): "**Interferon-free direct-acting antiviral therapy decreases the rate of hepatocellular carcinoma recurrence in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis**". V. Virlogeux, P. Pradat, K. Hartig-Lavie, F. Bailly, M. Maynard, G. Ouziel, D. Poinso, F. Lebosse, M. Ecochard, S. Radenne, S. Benmakhlouf, J. Koffi, P. Lack, C. Scholtes, AC Uhres, C. Ducerf, JY Mabrut, A. Rode, M. Levrero, C. Combet, P. Merle, F. Zoulim. Abstract SAT-289

LISTE DES ABBREVIATIONS

AAD: agents antiviraux directs
AASLD: American association for the study of liver diseases
AFEF: Association Française pour l'Étude du Foie
AMM: autorisation de mise sur le marché
ATU: autorisation temporaire d'utilisation
AUC: aire sous la courbe
BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer
CHC: carcinome hépatocellulaire
DFG: débit de filtration glomérulaire
EASL: European Association for the Study of the Liver
EIG: évènement indésirable grave
EPO: érythropoïétine
eRVR: réponse virologique rapide précoce
HSH: hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes
IC 95%: intervalle de confiance à 95%
ICr 95%: intervalle de crédibilité à 95%
IQ: interquartile
MELD: model for end-stage liver disease
OMS: organisation mondiale de la santé
PA: personne-année
PBH: ponction biopsie de foie
PEG-IFN/RBV: interféron-pegylé/ribavirine
PreP: prophylaxie pré-exposition
RVR: réponse virologique rapide
RVS: réponse virologique soutenue
UDI: usagers de drogues injectées
VHB: virus de l'hépatite B
VHC: virus de l'hépatite C
VIH: virus de l'immunodéficience humaine
VPN: valeur prédictive négative
VPP: valeur prédictive positive

La structure de ce manuscrit

La structure de ce mémoire de thèse a été faite sous la forme d'une "thèse sur articles".

Ce mémoire commence par une introduction générale composée de trois grandes parties reprenant les grands points de l'épidémiologie de l'hépatite C sur les 10 dernières années, l'histoire naturelle de la maladie et enfin l'impact des traitements sur ces deux composantes. Ces différents chapitres fourniront ainsi les outils nécessaires pour comprendre les pistes de recherche de cette thèse, qui s'inscrit dans la période florissante des nouveaux traitements de l'hépatite C.

Les quatrième, cinquième et sixième chapitres seront consacrés aux travaux de recherche réalisés pendant cette thèse. Chacun de ces chapitres est composé d'une présentation de la thématique abordée avec une contextualisation de la recherche et une présentation succincte des résultats. Les grands éléments de discussion de chacun des articles sont repris consécutivement. Le texte intégral de chacun des articles viendra ensuite s'intégrer.

Les deux premiers articles présentés au quatrième chapitre ont été publiés respectivement dans *Journal of Viral Hepatitis* et *Clinical Research in Hepatology and Gastroenterology*, les deux suivants dans *Hepatitis Monthly* et *Digestive and Liver Disease*, le cinquième article (au cinquième chapitre) dans *Liver International* et le sixième article (au sixième chapitre) dans *BMC Medicine*.

Un septième et dernier chapitre est consacré à une discussion générale concernant les traitements de l'hépatite C et leurs limites ainsi que les perspectives d'élimination du VHC.

INTRODUCTION

Le traitement de l'infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC) a connu une révolution récente depuis l'arrivée des nouveaux agents antiviraux à action directe (AAD) de deuxième génération, avec une première autorisation de mise sur le marché (AMM) obtenue en Janvier 2014 en France. Ils ont ainsi laissé derrière eux définitivement la trithérapie comprenant un AAD de première génération, c'est-à-dire un inhibiteur de la protéase NS3/4A arrivée en 2011 et l'association interféron-pégylé/ribavirine (PEG-IFN/RBV), bithérapie qui était elle utilisée depuis plus de 15 ans. Ces nouveaux traitements permettent l'élimination virale sur le long terme et donc une guérison virologique chez plus de 90% des patients traités. Cette efficacité remarquable est cependant associée à un coût financier élevé, ayant entraîné dans un premier temps une restriction d'accès de ces traitements aux populations de patients ayant une maladie hépatique avec un stade de fibrose avancé ou présentant des comorbidités particulières sujettes à une priorisation. La diminution des coûts associée à un élargissement du nombre de molécules sur le marché permettant ainsi de couvrir toutes les populations de patients a finalement conduit à l'annonce de l'accès universel aux traitements de l'hépatite C en Mai 2016 par le Ministère de la Santé. (1)

Le travail présenté dans cette thèse s'inscrit dans cette logique évolutive rapide que connaît le traitement de l'hépatite C depuis ces dernières années. Après avoir rappelé les grandes lignes de l'épidémiologie, de l'histoire naturelle et du traitement de l'hépatite C, nous présenterons nos premiers travaux qui se sont penchés sur l'optimisation des traitements par trithérapie comprenant un inhibiteur de la protéase NS3/4A et la bithérapie PEG-IFN/RBV par l'analyse de la cinétique virale et des facteurs prédictifs de réponse virologique. Dans cette même problématique d'optimisation des traitements, nous présenterons également nos travaux concernant l'impact des dosages pharmacologiques de la ribavirine et des agents antiviraux directs de deuxième génération sur la réponse virologique lors des traitements par trithérapie et par ces AAD de deuxième génération. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons aux bénéfices à long terme de ces traitements suite à la guérison virologique chez des patients ayant un antécédent d'hépatocarcinome mis en rémission complète. Enfin, nous présenterons une étude de modélisation analysant l'impact dans les dix prochaines années du taux de traitement sur la prévalence du VHC dans la population française coinfectée par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

1 Epidémiologie de l'infection par le virus de l'hépatite C

L'infection chronique par le VHC, définie par un portage actif de l'ARN du VHC dans le sang, est un problème majeur de santé publique dans le monde, touchant plus de 71 millions de personnes et responsable de 400 000 décès par an. (2) Environ 1,75 millions de nouveaux cas ont été estimés dans le monde en 2015. (3)

1.1 Prévalence et répartition du virus de l'hépatite C dans le monde

1.1.1 Prévalence de l'ARN du VHC dans le monde: nouvelles estimations

Une étude récente, sur laquelle s'appuie le Global Hepatitis Report de 2017 rédigé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), a estimé par une nouvelle méthode la prévalence de l'infection chronique active par le VHC à 71,1 millions d'individus (intervalle de confiance à 95% (IC 95%): 62,5 - 79,4) dans le monde en 2015 soit une prévalence de 1,0% (IC 95%: 0,8 - 1,1). (2) Cette estimation est bien en dessous des 130 à 150 millions d'individus infectés chroniquement souvent rapportés. (4) Cette méta-analyse se base sur une revue de la littérature des études épidémiologiques du VHC publiées entre Janvier 2000 et Mars 2016 et réalisées dans 110 pays différents (représentant ainsi 92% de la population mondiale). Pour estimer la prévalence du VHC dans ces 110 pays en 2015, les auteurs utilisent pour la première fois un modèle de Markov appliqué à chaque pays. Ce modèle est capable de prendre en compte le facteur temporel et permet ainsi d'extrapoler à l'année 2015 les prévalences rapportées antérieurement. Pour soutenir cette nouvelle approche, une méthode de Delphes (qui s'appuie sur une concertation d'experts locaux) a été employée pour valider les données d'entrée du modèle dans chacun des pays considérés. Au total, la prévalence a pu être estimée pour 59 pays. Pour les 51 pays restants, les données de la littérature ont dû être utilisées directement par manque de données suffisamment robustes pour établir un modèle fiable. Cette méthode inédite permet ainsi de renouveler la méthode conservatrice qui pouvait aboutir à des surestimations dans le passé. Toutefois, cette étude n'a pu considérer que 110 pays sur les 250 reconnus dans le monde en raison d'une part à un manque de données de la littérature et d'autre part à la qualité des données sources très variable selon les pays. Cette étude reste à l'heure actuelle la seule à considérer le facteur temporel et notamment l'impact des nouveaux traitements sur l'épidémiologie du VHC et peut par conséquent servir de référence.

1.1.2 Répartition de la prévalence du VHC dans le monde

En reprenant les résultats publiés dans cette dernière étude, la prévalence de l'ARN du VHC varie fortement selon les régions du monde (Tableau 1). Celle-ci est notamment forte en Asie Centrale et en

Europe de l'Est touchant plus de 3% de la population dans ces régions. L'Europe Centrale, l'Afrique du Nord, l'Afrique Centrale, l'Afrique de l'Ouest, le Moyen-Orient et l'Australasie sont des régions où la prévalence de l'ARN du VHC est d'environ 1 à 3%, celle-ci atteignant moins de 1% dans les autres régions du monde y compris les pays d'Europe de l'Ouest (la prévalence moyenne étant de 0,5% dans ces derniers). Les migrants originaires d'Asie, d'Afrique sub-saharienne et d'Europe de l'Est entraineraient par ailleurs une augmentation de la prévalence dans les pays d'accueil d'Europe de l'Ouest et d'Amérique du Nord. (5)

Tableau 1. Prévalence et nombre d'individus infectés chroniquement par le VHC dans les différentes régions du monde (d'après l'étude du Polaris Observatory HCV (2))

Régions du monde	Prévalence du VHC (IC 95%)	Population (millions)	Nombre d'individus infectés (millions; IC 95%)
Asie-Pacifique (pays développés)	0,6% (0,3 - 0,7)	183	1,1 (0,6 - 1,3)
Asie Centrale	3,6% (2,8 - 3,9)	88	3,2 (2,5 - 3,4)
Asie de l'Est	0,7% (0,5 - 0,8)	1439	10,5 (7,3 - 11,6)
Asie du Sud	0,9% (0,7 - 1,3)	1742	15,3 (12,3 - 22,7)
Asie du Sud-Est	0,7% (0,5 - 0,8)	654	4,7 (3,2 - 5,2)
Australasie	1,0% (0,8 - 1,0)	29	0,3 (0,2 - 0,3)
Caraïbes	0,5% (0,4 - 0,8)	45	0,2 (0,2 - 0,4)
Europe Centrale	1,0% (0,8 - 1,0)	118	1,2 (0,9 - 1,2)
Europe de l'Est	3,3% (2,1 - 3,4)	206	6,7 (4,2 - 7,0)
Europe de l'Ouest	0,5% (0,4 - 0,8)	426	2,3 (1,9 - 3,2)
Amérique Latine (Andes)	0,5% (0,3 - 0,6)	59	0,3 (0,2 - 0,3)
Amérique Centrale	0,5% (0,4 - 0,5)	247	1,3 (0,9 - 1,3)
Amérique Latine (Sud)	0,6% (0,3 - 0,9)	64	0,4 (0,2 - 0,6)
Amérique Latine (Tropicale)	0,9% (0,6 - 0,9)	211	1,8 (1,3 - 2,0)
Afrique du Nord/Moyen-Orient	1,7% (1,4 - 1,9)	498	8,5 (6,8 - 9,2)
Amérique du Nord	0,9% (0,7 - 1,1)	362	3,2 (2,4 - 4,0)
Océanie	1,1% (0,8 - 3,7)	11	0,1 (0,1 - 0,4)
Afrique Sub-saharienne (Centrale)	2,1% (0,1 - 6,9)	115	2,4 (0,1 - 8,0)
Afrique Sub-saharienne (Est)	0,5% (0,4 - 0,7)	425	2,1 (1,6 - 2,9)
Afrique Sub-saharienne (Sud)	0,7% (0,4 - 0,9)	76	0,5 (0,3 - 0,7)
Afrique Sub-saharienne (Ouest)	1,3% (1,1 - 1,4)	399	5,1 (4,3 - 5,7)
Total	1,0% (0,8 - 1,1)	7397	71,1 (62,5 - 79,4)

Concernant le nombre de cas, une grande partie des personnes infectées vit en Asie du Sud et de l'Est avec 25,8 millions de cas estimés, 8,5 millions vivent en Afrique du Nord/Moyen-Orient, 4,7 millions en Asie du Sud-Est et 2,3 millions en Europe de l'Ouest. Les 5 pays présentant le plus grand nombre d'individus infectés chroniquement par le VHC sont dans l'ordre décroissant: la Chine (9,8 millions), le Pakistan (7,1 millions), l'Inde (6,2 millions), l'Egypte (5,6 millions) et la Russie (4,7 millions).

1.1.3 Prévalence du VHC en France

La France est un pays de faible endémicité pour l'infection chronique par le VHC. La première étude de prévalence a été réalisée en 1994 dans une population de 6,300 individus choisis aléatoirement dans

les centres médicaux de la sécurité sociale et âgés de 20 à 59 ans. Elle a permis d'estimer à 1,05% (IC 95%: 0,75-1,34) la prévalence des anticorps (Ac) anti-VHC et à 0,92% la prévalence de l'ARN du VHC. (6) Une deuxième enquête transversale de prévalence élargie à la population âgée entre 18 et 80 ans a été réalisée en 2004 auprès de 14,400 individus. (7) Elle a estimé la prévalence des Ac anti-VHC à 0,84% (IC 95%: 0,65-1,10) et celle de l'ARN du VHC à 0,53% (IC 95%: 0,40-0,70) correspondant à plus de 232 000 personnes atteintes par le VHC. La dernière étude d'estimation de la séroprévalence des Ac anti-VHC et de la prévalence de l'ARN du VHC publiée en 2016 par Pioche et al. s'appuie sur des données de la population française métropolitaine de 2011. (8) La population a été subdivisée en 5 groupes distincts: usagers de drogues injecteurs (UDI) ou non injecteurs, personnes transfusées avant 1992, personnes immigrées et le reste de la population. La séroprévalence et la prévalence de l'ARN du VHC pour chacun des groupes ont été estimées à partir des données de la littérature et appliquées à la taille de ces populations en utilisant un modèle bayésien (Tableau 2). Au total, la séroprévalence du VHC dans la population générale a été estimée à 0,75% (intervalle de crédibilité à 95% (ICr 95%): 0,62 - 0,92) correspondant à environ 350 000 personnes ayant été infectées par le VHC. La prévalence de l'ARN du VHC a été estimée à 0,42% (ICr: 0,33 - 0,53) correspondant à environ 190 000 personnes avec une infection chronique par le VHC. (8)

Tableau 2. Estimation de la prévalence et du nombre total de personne positives aux Ac anti-VHC et ARN VHC positives dans la population française des 18-80 ans, en 2011 (d'après Pioche et al. (8))

Sous-groupes de populations	Ac anti-VHC		ARN du VHC	
	Prévalence (ICr 95%)	Nombre de cas total estimé	Prévalence (ICr 95%)	Nombre total de cas estimé
Usagers de drogues injecteurs	63,8% (59,4 - 68,3)	94 450	29,6%	43 860
Usagers de drogues non injecteurs	4,9% (2,4 - 7,4)	6 325	2,2%	2 935
Personnes transfusées	3,41%	93 219	2,1%	59 859
Personnes immigrées	1,83%	90 035	1,0%	51 166
Autres	0,15%	58 718	0,09%	33 210
Total	0,75% (0,62 - 0,92)	344 503	0,42% (0,33 - 0,53)	192 737

Depuis l'arrivée des nouveaux AAD sur le marché en 2014 permettant d'atteindre des taux de réponse virologique >95% et ce quel que soit le génotype, une diminution nette de la prévalence de l'infection est attendue dans les prochaines années. Du fait de l'accessibilité au traitement pour tous en France, l'association française pour l'étude du foie (AFEF) s'est donnée pour objectif d'éradiquer si possible l'infection par le VHC d'ici 2025. (9) Il est par ailleurs estimé que suite aux traitements par AAD de 2014 à 2017, un total de 57 600 patients auraient été guéris en France. (10)

1.2 Prévalence de la coinfection VIH-VHC

1.2.1 Prévalence de la coinfection VIH-VHC dans le Monde

Peu d'études ont été publiées concernant la séroprévalence de la coinfection VIH-VHC comparée à la monoinfection VHC dans le monde. La dernière grande étude d'épidémiologie de la coinfection disponible a été publiée en 2016. (11) Cette étude est une méta-analyse réalisée à partir de 783 études épidémiologiques rapportant des données de séroprévalence de la coinfection VIH-VHC entre Janvier 2002 et Janvier 2015 avec comme critère d'inclusion une population minimale de 50 individus. Le nombre total d'individus coinfectés a été estimé à 2,3 millions (interquartile (IQ): 1,3 - 4,3 millions) dont la moitié seraient des utilisateurs de drogues intraveineuses (1,2 millions, IQ: 0,89 - 1,4 million). Une prévalence globale de 2,4% (IQ: 0,8 - 5,8) d'individus infectés par le VHC dans la population VIH a été estimée. La prévalence était de 4,0% (IQ: 1,2–8,4) parmi les hétérosexuels, de 6,4% (IQ: 3,2–10,0) parmi les homosexuels et de 82,4% (IQ: 55,2–88,5) parmi les UDI. Parmi les régions du monde les plus touchées par la coinfection, l'étude retient l'Europe de l'Est et l'Asie Centrale avec 607,700 individus, l'Afrique sub-saharienne avec 429,600 individus suivie de l'Amérique du Nord avec 319,000 individus. En Europe de l'Ouest un total de 103,800 individus coinfectés a été estimé. Cette méta-analyse est néanmoins représentative de seulement 88 pays dans le monde, aucune étude n'étant disponible dans les 106 autres pays identifiés pendant le processus de revue. Les auteurs soulignent à nouveau la grande hétérogénéité de qualité des données en fonction des pays considérés. Cette étude estime également la séroprévalence de la coinfection et non les infections actives de VHC chez les patients VIH à cause du faible nombre de données disponibles concernant la prévalence de l'ARN du VHC (seulement 10% des études intégrées dans la méta-analyse fournissent des données sur la prévalence de l'ARN du VHC).

Concernant la séroprévalence de la coinfection VIH-VHC en Europe, la cohorte EuroSIDA est une des cohortes de référence pour décrire l'épidémiologie de la coinfection. (12,13) Cette cohorte multicentrique a inclus depuis 1994 environ 23 000 patients VIH suivis dans plus de 100 hôpitaux répartis dans 35 pays européens et en Argentine et Israël. En 2014, la séroprévalence totale de la coinfection VIH-VHC a été estimée à 32,4%, celle-ci variant fortement entre les régions considérées allant de 20,1% en Europe de l'Ouest à 57,7% en Europe de l'Est (sachant que le mode de transmission par utilisation de drogues intraveineuses serait le mode de transmission majeur dans cette région). La prévalence de l'ARN du VHC a été estimée à 23% cette même année.

1.2.2 Prévalence de la coinfection VIH-VHC en France

La référence française en termes de cohorte prospective de patients VIH est la cohorte Dat'AIDS. (14) Cette cohorte nationale est répartie sur 15 centres en France métropolitaine ainsi qu'en outre-mer et suit à l'heure actuelle environ 25% des patients infectés par le VIH en 2016 (N=28,808 patients) incluant

également les patients coinfectés VIH-VHC. Les données patients considérées dans cette cohorte sont récoltées depuis Novembre 2000 grâce à un dossier médical standardisé via le logiciel Nadis©. La qualité des données est contrôlée à la fois de façon continue par des vérifications automatiques au moment de la saisie ainsi que mensuellement par un technicien dans chaque centre et également annuellement à travers l'évaluation de 2 critères : (i) le contrôle de la proportion d'informations collectées pour chacune des variables de la base et (ii) le contrôle de la proportion d'informations collectées erronées.

Une première étude s'est intéressée à l'évolution de la séroprévalence des anticorps du VHC dans cette cohorte de 2000 à 2012 et une diminution de 38,4% en 2000 à 15,1% en 2012 a été rapportée. (15) Deux enquêtes ANRS-VESPA et ANRS-VESPA2 ont également estimé la séroprévalence du VHC chez des patients VIH suivis dans différents services hospitaliers français (avec des effectifs de 2932 patients pour ANRS-VESPA et de 3022 patients pour ANRS-VESPA2) en 2003 et en 2011. (16,17) En 2003, la prévalence du VHC était de 22% tandis qu'en 2011 celle-ci était estimée à 16,4%.

Une deuxième étude réalisée également à partir des données de la cohorte Dat'AIDS a étudié l'évolution de la séroprévalence du VHC chez les patients VIH de 2012 à 2015. (18) La séroprévalence de la coinfection a été estimée à 16,6% au 1^{er} Janvier 2012 et a diminué à 14,8% au 31 décembre 2015. Parmi les patients VIH séropositifs pour le VHC, 63% d'entre eux étaient guéris ou avaient éliminé leur infection de façon spontanée fin 2015 soit une prévalence de l'ARN du VHC de 5,4% dans la population totale de patients VIH. (18) L'impact des nouveaux traitements sur la prévalence du VHC est l'objet de l'étude de modélisation présentée dans le chapitre 6 de ce manuscrit.

1.3 Transmission du virus de l'hépatite C, prévention et dépistage

1.3.1 Modes de transmission du VHC et particularités géographiques

La transmission du virus de l'hépatite C se fait de "sang à sang" c'est-à-dire principalement par voie parentérale ou par l'exposition des muqueuses à du sang ou à des dérivés sanguins contaminés. Avant la découverte du VHC en 1989, la principale source de contamination était la transfusion sanguine. Depuis l'instauration en routine d'un test de dépistage du VHC chez les donneurs de sang, le risque d'infection *via* ce mode de contamination est devenu quasi inexistant.

Hélas, 40 pays dans le monde ne pratiquent toujours aucun dépistage du VHC sur les produits sanguins et de nombreux pays utilisent encore des méthodes de dépistage du VHC peu fiables. Le test de dépistage *via* la recherche de l'ARN du VHC est très peu présent dans les pays à faible et moyen revenus. (19) L'infection nosocomiale du VHC est une source d'infection majeure dans les pays où la prévalence est élevée, tels que l'Égypte, le Pakistan et les pays d'Europe de l'Est. (20–22) L'organisation

mondiale de la santé (OMS) estime que chaque année, environ 2 millions de nouvelles infections sont dues à des transmissions nosocomiales. (23) En Egypte, pays où la prévalence est la plus élevée, on observe encore plus de 100 000 nouveaux cas par an. (24) Le lancement de larges campagnes de sensibilisation associées à un renforcement de l'éducation thérapeutique à propos des risques liés à la réutilisation d'instruments médicaux à usage unique est une des solutions pour diminuer le nombre de contaminations nosocomiales dans les pays en voie de développement.

Dans les pays développés, le VHC est principalement transmis par les échanges de matériel contaminé entre toxicomanes lors de la consommation de drogue intraveineuse. (25) La prévalence des anticorps anti-VHC chez les utilisateurs de drogues intraveineuses est estimée dans le monde entre 31% et 98%. (26) Il a été montré que l'utilisation de drogues intraveineuses était respectivement responsable de 60% et 80% des infections récentes par le VHC aux Etats-Unis et en Australie. (27) Chaque année, ce mode de transmission serait responsable de 2,3 à 4,7 millions de nouvelles infections dans le monde. (28) Les autres sources de contamination possibles sont les activités impliquant un risque d'exposition au sang ou dérivés sanguins telles que les tatouages, l'acupuncture, le piercing et les soins esthétiques. (27) La transmission verticale de la mère au nourrisson reste un évènement rare (<5%) et cette transmission dépend fortement de la charge virale du VHC de la mère et d'une potentielle coinfection avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). (29) La transmission au sein d'un même foyer *via* le partage d'objets de toilette responsables de petites plaies ou au sein d'un couple est également possible bien que rare en général. Les études de séroprévalence transversales n'ont pas permis d'affirmer que la transmission du VHC pouvait réellement s'effectuer par l'intermédiaire des sécrétions biologiques. (27) Chez les homosexuels hommes (HSH) ayant des pratiques dites à « haut risque » (HR), le risque d'infection et de réinfection du VHC est plus élevé que dans la population hétérosexuelle. (30) Il existe en effet un risque de réinfection par une souche VHC de génotype différent chez les sujets à haut risque, en particulier chez les utilisateurs de drogues intraveineuses mais également chez les homosexuels aux pratiques sexuelles évoquées ci-dessus.

1.3.2 Recommandations de dépistage

Un autre point fondamental pour endiguer l'épidémie de VHC est d'identifier tous les porteurs actifs de VHC dans chaque pays en renforçant le dépistage systématique. Cependant, cette tâche est titanesque car il est estimé que 90% des personnes infectées par le VHC dans le monde ignoreraient leur infection. (31,32) Il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandations universelles de l'OMS pour le dépistage du VHC. Certains pays ont par ailleurs mis en œuvre des directives de dépistage bien définies: aux Etats-Unis par exemple, le dépistage est fortement recommandé pour toutes les personnes nées pendant le "baby-boom", c'est-à-dire de 1945 à 1965. En effet, 73% de la population américaine infectée par le VHC serait née pendant cette période. (33) Au Canada, un dépistage systématique de la cohorte des sujets nés entre 1945 et 1975 est également recommandé.

En France, 43% des patients porteurs du VHC ignoreraient leur statut. (7) Le dépistage est obligatoire chez les donneurs de sang depuis mars 1990 et la recherche de l'ARN du VHC est obligatoire depuis Juillet 2001. De plus, les autorités de santé recommandent de réaliser systématiquement un dépistage du VHC chez les patients appartenant aux populations dites à risque : antécédents de transfusion avant 1990, coinfection VIH ou virus de l'hépatite B (VHB), prises de risques régulières telles que l'injection de drogues intraveineuses ou rapports homosexuels non protégés et accident d'exposition au sang. (34) Des suggestions de renforcement du dépistage du VHC mais aussi du VHB et du VIH, notamment chez les hommes âgés de 18 à 60 ans n'ayant jamais été dépistés, ainsi que chez les femmes lors de la grossesse ont récemment été suggérées. (35) Les tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) ont été introduits en août 2016 en France pour un usage restreint au milieu médico-social ou associatif. (36) Ces tests permettent de faciliter le dépistage en ciblant des populations auparavant difficiles à atteindre. Les dernières recommandations de l'AFEF publiées en Mars 2018 ont suggéré de nouvelles stratégies de dépistage dans un objectif d'identifier un maximum d'individus infectés par le VHC avec un dépistage universel de chaque adulte au moins une fois dans leur vie au lieu du dépistage ciblé comme recommandé jusqu'à présent par les autorités de santé. (9) Toutefois, seuls les tests de dépistage réalisés selon les anciennes recommandations sont remboursés par la sécurité sociale à l'heure actuelle.

1.4 Incidence de l'infection par le VHC

1.4.1 Dans la population générale

Les données d'incidence sont rarement disponibles dans les données de la littérature. Une série d'études publiées dans *Journal of Viral Hepatitis* ont estimé ces données d'incidence *via* une méthode mathématique de « back-calculation » dans le cadre d'un modèle statique suivant l'histoire naturelle du VHC. Pour estimer l'incidence de l'infection par le VHC, les auteurs utilisent de façon schématique le nombre total d'infections VHC d'une année donnée et soustraient le nombre de clairances spontanées, le nombre de personnes guéries et le nombre de décès. (37–40) Globalement, le taux d'incidence a déjà atteint un pic dans la plupart des pays, sauf pour la Russie où ce taux continue d'augmenter. (38) Ce pic d'incidence a été observé en 1970 en Egypte, Suède et Mongolie; au début des années 80 en Nouvelle-Zélande, Norvège, Arabie Saoudite et Canada; entre 1989 et 1992 pour les pays d'Europe et les Etats-Unis alors que pour la Finlande, l'Iran, l'Australie, le Brésil, la République Tchèque, le pic a été observé plus récemment à la fin des années 90 jusqu'au début des années 2000. (37–40) Au Pakistan, l'incidence a atteint un pic et ensuite un plateau en 2005. (39)

En France, l'évolution de l'incidence de l'infection par le VHC avant 2004 a également été estimée par une méthode de back-calculation à partir de données de mortalité du CHC et des paramètres de

l'histoire naturelle. (41) Dans cette étude, les auteurs montrent que le plateau d'incidence a été atteint dans les années 70 et 80, avec un nombre de nouveaux cas estimé à 25 000 ± 5 000 par an avant de diminuer de 40% au début des années 90. Aucune autre étude plus récente ne s'est intéressée à l'évolution de l'incidence du VHC en France dans la population générale.

Concernant la population UDI, une étude de cohorte lilloise réalisée en 2003 a estimé un taux d'incidence d'infections par le VHC dans cette population de 9% personnes-années. (42) Une étude récente de modélisation publiée en 2017 a estimé le taux d'incidence de l'infection par le VHC en utilisant les données de séroprévalence des deux études transversales de l'InVS-ANRS Coquelicot de 2004 et 2011. (43–45) Leur modèle est basé sur la combinaison d'un modèle de régression et d'un modèle compartimental déterministe afin de pouvoir intégrer les données de prévalence du VHC par groupe d'âge et d'en déduire l'incidence en combinant les deux enquêtes. (43) A travers cette approche originale qui permet de pallier l'absence de données de cohorte prospective dans cette population, les auteurs ont pu montrer que l'incidence de l'infection par le VHC avait diminué de 7,9% en 2004 à 4,4% en 2011, suggérant ainsi l'efficacité des programmes de prévention dans cette population à risque tels que les programmes d'échange de seringues.

1.4.2 Dans la population VIH

Il existe très peu d'études à l'échelle mondiale qui rapportent des données sur les taux d'incidence de l'infection par le VHC dans la population VIH. Une étude de cohorte prospective américaine ayant suivi 1941 patients dans 9 centres différents aux Etats-Unis entre 2000 et 2013 rapporte un taux d'incidence global de 1,07% personnes-années (PA). (46) Concernant l'évolution de ce taux d'incidence une diminution globale sur les 13 années a été observée, ce taux ayant diminué de 1,83% PA en 2000-2003 à 0,94% PA en 2004-2007, puis s'est stabilisé à 0,95% PA en 2008-2010 avant de rediminuer à 0,88% PA en 2011-2013. Parmi les groupes à risques inclus dans cette cohorte (61% d'HSH, 30% d'hétérosexuels, 3% d'UDI et 6% autres), le taux d'incidence était de 3,4% pour les UDIs, 1,04% pour les HSH, 0,92% pour les hétérosexuels et 0,97% pour les autres groupes à risque.

De nombreuses études se sont intéressées plus particulièrement à la population HSH VIH+ et une méta-analyse publiée en 2015 basée sur 17 études suivant au total 13 000 HIV+ HSH entre 1984 et 2012 a décrit une augmentation de l'incidence du VHC dans cette population passant de 0,42% en 1991 à 1,09% en 2010 et à 1,34% en 2012, avec parmi les séroconvertis une très grande proportion rapportant des pratiques sexuelles à haut-risque. (47)

De nombreuses études récentes ont également rapporté des résultats similaires dans la population HSH, avec un taux d'incidence ayant augmenté ces dernières années en lien avec des pratiques

sexuelles à haut-risque telles que le "chemsex". (48–51) En effet, des clusters de transmission du VHC ont même pu être identifiés dans des séries de cas d'hépatite C aiguë. (52,53)

Concernant l'évolution du taux d'incidence du VHC dans la population VIH française, la cohorte prospective Dat'AIDS reste encore la référence à l'échelle nationale. Etant donnée la multiplication des études concluant à une augmentation de l'incidence du VHC dans la population HSH VIH+ dans les autres pays, nous avons entrepris un travail de modélisation de l'infection par le VHC dans la population VIH française en s'appuyant sur les données de la cohorte Dat'AIDS de 2012 à 2016. En effet au sein de cette cohorte, une augmentation de l'incidence de première infection au sein des HSH a été également observée sur cette période (Figure 1). Ce travail, présenté dans le chapitre 7, explore la dynamique de l'infection dans différents groupes à risque: homosexuels, hétérosexuels, utilisateurs de drogues intraveineuses, et autres groupes à risque et évalue sur les 10 prochaines années l'impact potentiel des nouveaux traitements par AAD sur l'épidémiologie de la coinfection.

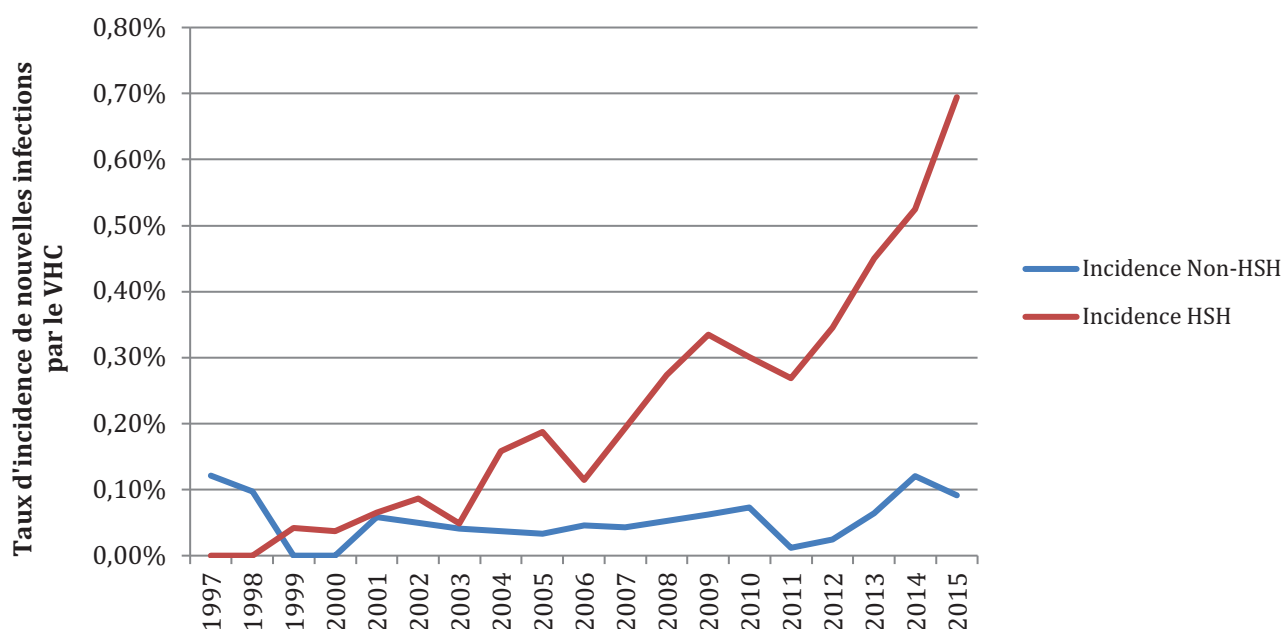


Figure 1. Evolution de l'incidence de première infection par le VHC dans la cohorte Dat'AIDS chez les HSH et les autres groupes à risque entre 1997 et 2015 (données Dat'AIDS non publiées)

1.5 Bases sur les modèles compartimentaux dynamiques

1.5.1 Conceptualisation des modèles compartimentaux dynamiques

Les modèles compartimentaux sont des modèles déterministes (c'est-à-dire ne faisant pas appel à des calculs de probabilités contrairement aux modèles stochastiques) où la population d'individus considérée est divisée en plusieurs catégories selon les caractéristiques de chacun (facteurs démographiques) et répartie dans différents compartiments en fonction du stade de l'histoire naturelle d'une maladie. (54) Le changement de compartiment des individus est gouverné par un

système d'équations différentielles qui permet de décrire l'ensemble des flux. Un modèle est par définition une représentation simplifiée de la réalité mais ses objectifs sont de mieux comprendre les mécanismes par lesquels une maladie se propage, de prévoir l'évolution future de l'épidémiologie de celle-ci et comprendre l'impact d'interventions (comme les traitements par exemple) sur l'évolution de l'épidémiologie.

Le modèle historique sur lequel sont dérivés la plupart des modèles dynamiques compartimentaux utilisés actuellement pour modéliser les épidémies de maladies infectieuses est celui de Kermack et McKendrick publié en 1927 et dénommé le modèle *SIR* (Susceptible Infectious Recovered, Figure 2). (55)

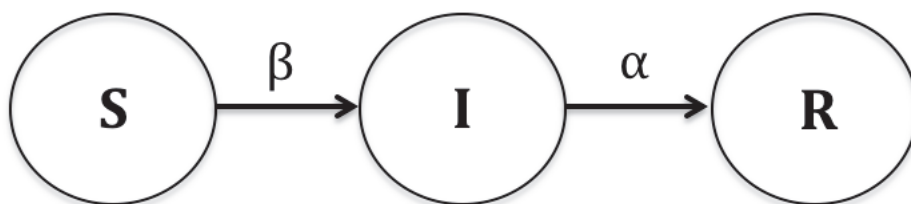


Figure 2. Modèle *SIR* de Kermack et McKendrick (55). *S*: susceptible, *I*: infectieux, *R*: recovered, β : probabilité d'infection par contact, α : taux de guérison

Ce modèle schématise de façon succincte la dynamique entre les différents stades de l'histoire naturelle d'une maladie au cours du temps: le compartiment *S* correspond aux individus susceptibles d'être infectés par la maladie à un instant t , le compartiment *I* correspond aux individus qui sont infectés à un instant t et le compartiment *R* correspond aux individus qui sont guéris de la maladie à un instant t . Pour décrire les flux entre les différents compartiments, des taux de transition sont définis: β représente la probabilité d'être infecté par la maladie lors d'un contact entre un individu du compartiment *S* et un individu du compartiment *I* et α est le taux d'individus infectés qui guérissent par unité de temps.

Ce modèle peut s'écrire sous la forme d'un système d'équations différentielles ordinaires:

$$\begin{cases} \frac{dS(t)}{dt} = -\beta I(t)S(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} = \beta I(t)S(t) - \alpha I(t) \\ \frac{dR(t)}{dt} = \alpha I(t) \end{cases}$$

A partir des conditions initiales (c'est-à-dire les valeurs attribuées à $S(t)$, $I(t)$ et $R(t)$ à $t=0$), on peut résoudre ce système et connaître l'évolution du nombre d'individus dans chacun des compartiments du modèle au cours du temps. Le modèle présenté ici peut être complexifié afin de décrire au mieux tous les états observables de l'histoire naturelle d'une maladie ainsi que les potentielles interventions

explorées. Des entrées et sorties dans chacun des compartiments peuvent être considérées et chaque compartiment peut également être subdivisé à nouveau en sous-groupes de population (en fonction de l'âge, de groupe à risque, etc.). Cette complexification entraîne en parallèle une augmentation du nombre de paramètres du modèle et par conséquent du temps de calcul. La recherche d'un ratio équilibré entre complexité et efficacité est donc primordiale lors de l'élaboration d'un tel modèle. Concernant les paramètres, ils peuvent être soit issus directement des données de littérature soit estimés pendant le processus de calibration du modèle. En effet, pour qu'un modèle soit valable, une des étapes nécessaire à sa validation est de le confronter aux données épidémiologiques observées. Pour permettre un certain degré de liberté au modèle et dû à une méconnaissance des valeurs de certains paramètres, un processus de calibration par maximisation d'une vraisemblance peut être employé pour estimer les valeurs les plus probables des paramètres inconnus. Une fois le processus de calibration terminé et la pertinence du modèle avec les valeurs estimées validée, celui-ci peut être employé pour réaliser les différentes projections envisagées.

Parmi les avantages à souligner des modèles compartimentaux comparés à l'autre grand groupe de modèles stochastiques comme les modèles dits "individu-centré", ceux-ci sont plus synthétiques et nécessitent un nombre de paramètres plus faible. D'autre part, les calculs sont basés sur la résolution d'équations différentielles facilement reproductibles et leur approche est formalisée. Bien que moins flexibles et moins réalistes que les modèles "individu-centré", ils sont bien adaptés à la modélisation à l'échelle de populations de la dynamique de propagation des maladies infectieuses dans leur état "d'équilibre". En effet, si l'objectif de modélisation est d'étudier le début ou la fin d'une épidémie, les modèles "individu-centré" sont plus pertinents à utiliser, car ils permettent de prendre en compte l'aspect aléatoire de la transmission lors de ces phases lié à l'hétérogénéité individuelle, souvent "gommée" dans l'approche compartimentale. Le travail de modélisation présenté dans le chapitre 6 s'est donc appuyé sur un modèle compartimental dérivé de la méthode présentée ci-dessus.

1.5.2 Calibration du modèle par une approche Bayésienne de l'estimation des paramètres incluant une méthode de Monte Carlo Markov Chain (MCMC)

Pour estimer les paramètres du modèle de l'étude de modélisation présentée au chapitre 6, nous avons utilisé une approche bayésienne par méthode de MCMC pour les paramètres dont les valeurs étaient méconnues (la probabilité d'infection par contact entre la population de susceptibles et d'infectés dans chacun des groupes à risque considérés). Nous avons défini une vraisemblance basée sur une loi de Poisson (cf. Appendix chapitre 6). Pour maximiser cette vraisemblance nous avons utilisé l'algorithme MCMC ainsi qu'un échantillonneur de Metropolis-Hasting. (56–58)

Dans cet algorithme, si on considère θ un vecteur de paramètres et y les données, le théorème de Bayes nous donne la relation suivante:

$$p(\theta|y) = \frac{p(y|\theta)p(\theta)}{p(y)}$$

où $p(\theta)$ est la probabilité a priori ("prior") des paramètres θ , $p(y|\theta)$ est la fonction de vraisemblance et $p(\theta|y)$ est la probabilité a posteriori ("posterior") de θ sachant les données y . L'algorithme de MCMC a été initié en donnant des valeurs aléatoires aux paramètres θ et en choisissant des lois non informatives de probabilité a priori. Un algorithme de Metropolis-Hasting a été utilisé pour mettre à jour les valeurs des paramètres à chaque itération j du MCMC. L'objectif est de calculer à chaque "run" la vraisemblance avec les nouvelles valeurs des paramètres. On obtient ainsi au bout de nombreux runs ($\geq 10\ 000$) des intervalles pour chacun des paramètres dans lesquels la vraisemblance est maximale. Ces intervalles de valeurs pour chacun des paramètres peuvent être utilisés par la suite pour les projections.

Algorithme de Metropolis-Hasting

A chaque itération, tous les k paramètres sont choisis aléatoirement en utilisant une loi normale $(\theta_k^{j-1}, \sigma_k)$ avec une moyenne θ_k^{j-1} (c'est-à-dire la valeur du paramètre k à l'itération $j-1$) et une erreur standard σ_k (fixée pour chacun des paramètres pendant la calibration de l'algorithme d'échantillonnage de Metropolis-Hasting). La nouvelle valeur de la vraisemblance à chaque itération est calculée avec les nouvelles valeurs des paramètres. Elle est ensuite comparée à la précédente en utilisant la méthode d'acceptation-rejet suivante:

$$q = \frac{p(y|\theta^j)p(\theta^j)}{p(y|\theta^{j-1})p(\theta^{j-1})}$$

si $q \geq 1$, les nouvelles valeurs des paramètres θ^j sont acceptées.

si $q < 1$, les valeurs des paramètres θ^j sont acceptées avec une probabilité q .

Une période de rodage ("burn-in") de 5 000 itérations a été utilisée pour réduire le biais de choix des valeurs des paramètres initiaux et pour générer directement des valeurs dans la distribution stationnaire. L'algorithme de MCMC a été répété un total de 10 000 fois après la phase de burn-in, avec un taux d'acceptation des paramètres inclus dans $[0,45 ; 0,55]$ (cette probabilité variant en fonction de chaque valeur pré-définie de σ_k pour chacun des paramètres k , ce qui signifie schématiquement que lorsque $q \geq 1$, la nouvelle valeur du paramètre est acceptée par l'algorithme dans 50% des cas).

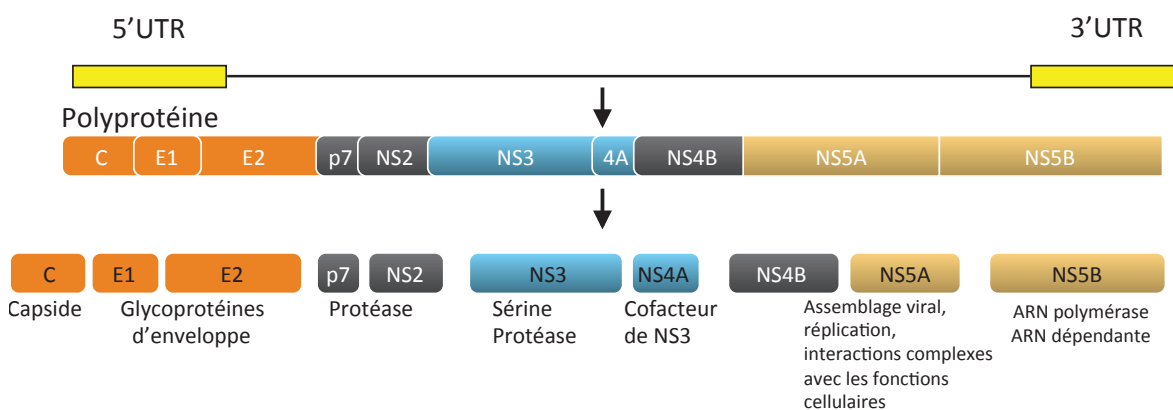
2 Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite C

Le virus de l'hépatite C est un virus à ARN appartenant à la famille des *Flaviviridae*. (59) Il présente une grande variabilité génétique avec 7 génotypes différents indentifiés à l'heure actuelle. (60) Les

particules de VHC infectent l'homme et circulent de façon associée aux lipoprotéines de faible densité formant ainsi des particules lipovirales contenant des triglycérides, l'ARN viral, la protéine de capsid, les glycoprotéines E1 et E2 et les apolipoprotéines B et E.

Le génome du virus de l'hépatite C est composé d'un ARN simple brin à polarité positive comprenant 9600 nucléotides codant ainsi pour une polyprotéine unique d'environ 3000 acides aminés. (59) Cette polyprotéine est clivée co- et post-traductionnellement en 10 protéines distinctes se divisant en protéines structurales et en protéines non structurales. Les protéines structurales comportent les protéines de capsid, les deux glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 ainsi que la protéine p7 qui jouerait un rôle dans la morphogénèse du virus. Les protéines non structurales comprennent: la protéine membranaire NS2, la protéase NS3-4A, la protéine trans-membranaire NS4B, la phosphoprotéine virale NS5A et enfin la polymérase virale NS5B. Ces différentes protéines sont répertoriées dans la figure 3.

Figure 3. Structure de la polyprotéine virale du VHC



L'infection par le VHC est reconnue comme la cause principale des maladies chroniques du foie *via* l'activité nécro-inflammatoire responsable de la fibrose. Cette fibrose évolue au stade de cirrhose chez 15 à 40% des patients au bout de 20 à 30 années d'infection chronique. (61) Au stade de cirrhose, le risque de développer un carcinome hépatocellulaire (CHC) varie de 1 à 3% par an et un tiers des CHC dans le monde est attribuable à une infection par le VHC. (62)

2.1 Phase aiguë de l'infection par le virus de l'hépatite C

2.1.1 Diagnostic de la phase aiguë de l'infection

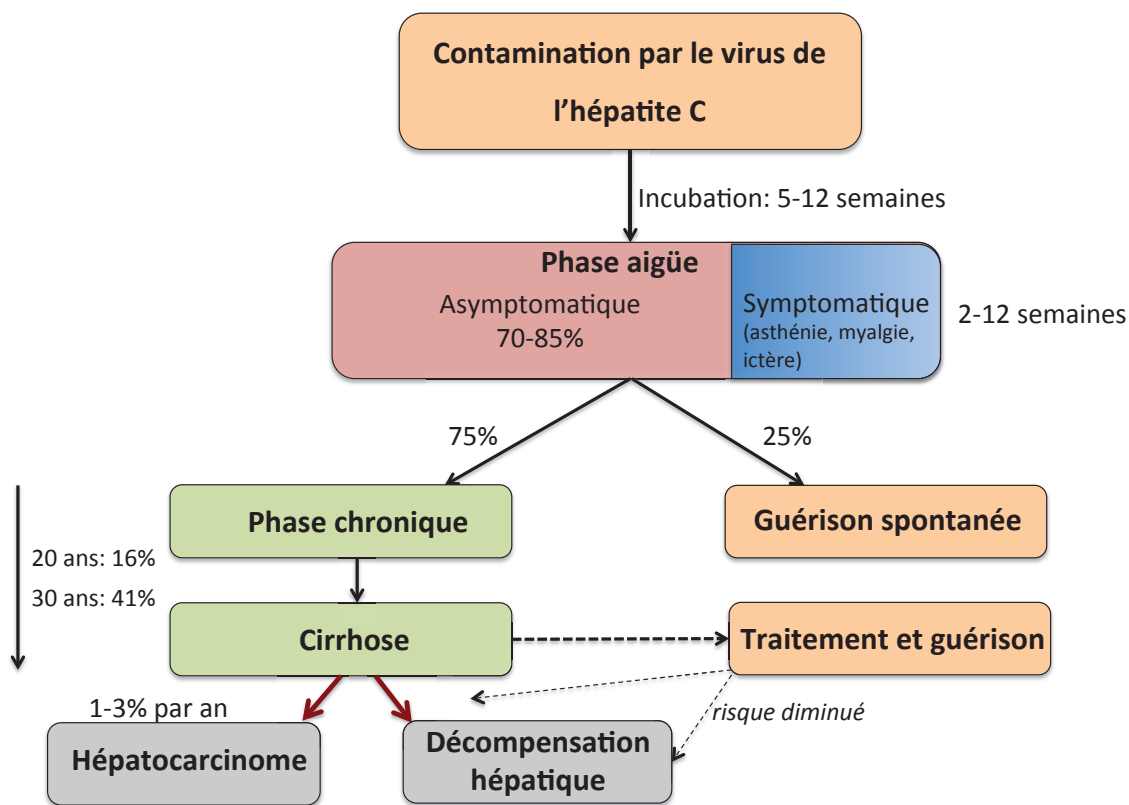
La phase aiguë suite à l'infection par le virus de l'hépatite C correspond aux six premiers mois suivant l'infection durant lesquels des signes cliniques/symptômes peuvent apparaître (Figure 4). Cependant, la phase aiguë se manifeste cliniquement uniquement chez 15 à 30% des individus infectés. Celle-ci

débutent dans les 5 à 12 semaines suivant la primo-infection et durent entre 2 et 12 semaines au total. (63) Dans le cas d'une phase aiguë symptomatique, les symptômes sont généralement peu marqués et aspécifiques. Ils peuvent se manifester par de l'asthénie, des myalgies mais aussi parfois par une phase ictérique. (63) La plupart des patients présentant une phase aiguë symptomatique sont diagnostiqués. Cependant, chez la majorité des patients asymptomatiques, le diagnostic de la maladie se fait le plus souvent par la recherche d'anticorps anti-VHC lors de la phase chronique.

2.1.2 Guérison spontanée de l'infection par le VHC suite à une phase aiguë

Chez environ 25% des patients, l'infection aiguë évolue vers une guérison spontanée, définie par l'élimination complète du virus et un ARN du VHC indétectable dans le sérum, tandis que 75% des infections évoluent vers un stade chronique (Figure 4). (63)

Figure 4. Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite C



L'évolution vers la guérison spontanée est un processus difficilement prévisible, liée à de nombreuses interactions entre l'hôte et la souche virale. De nombreuses études prospectives ont montré que certains facteurs de l'hôte, tels que le sexe (féminin), la présence d'une réponse immune forte et à grande échelle, la présence d'anticorps neutralisants spécifiques et certains marqueurs génétiques sont significativement associés à une probabilité accrue de guérison spontanée du virus. (29,64,65)

Des facteurs extrinsèques liés au virus tels que la présence de nombreux variants viraux d'une quasi-espèce virale et l'infection par un génotype 1 ont également été associés avec une probabilité augmentée d'évoluer vers une guérison spontanée. (66)

2.2 Phase chronique de l'infection par le VHC et complications

2.2.1 Evaluation de la fibrose hépatique dans l'infection chronique du VHC

Pour évaluer la fibrose hépatique, deux grands types de méthodes peuvent être employées: la méthode dite "invasive" par une ponction biopsie hépatique (PBH) ou par des méthodes "non-invasives" telles que l'utilisation de marqueurs sériques pour calculer des scores de fibrose et l'élastométrie.

2.2.1.1 La ponction biopsie hépatique

L'avantage de la PBH est qu'elle permet à la fois de quantifier l'importance de la fibrose hépatique mais aussi d'exclure les autres causes de maladie du foie en recherchant des lésions associées comme la stéatose ou la surcharge en fer au moment de l'analyse anatomopathologique. (67) Les lésions histologiques observées lors de l'infection par le VHC sont caractérisées par une nécrose hépatocytaire, un infiltrat inflammatoire cellulaire et une fibrose portale. La sévérité de la fibrose est stadifiée grâce à un score histologique semi-quantitatif de METAVIR s'échelonnant du stade F0 (foie normal) au stade F4 (foie cirrhotique). En parallèle, l'activité nécro-inflammatoire est stadifiée, celle-ci s'étalant du stade A0: foie normal au stade A3: activité sévère. L'analyse histologique des fragments prélevés nécessite donc une bonne expérience de la part de l'anatomopathologiste. De plus, les lésions sont réparties de façon inhomogène dans le foie expliquant le fait que la performance diagnostique de la PBH soit imparfaite liée à la fluctuation d'échantillonnage. (68) Cet examen invasif est associé à des douleurs chez 30% des patients et entraîne exceptionnellement des complications hémodynamiques graves (0,03%) pouvant aboutir au décès (0,01%). (67) Etant donné l'aspect invasif et l'existence d'autres tests "non-invasifs", la PBH n'est plus employée en première intention actuellement.

2.2.1.2 Marqueurs sériques de fibrose

Les marqueurs sériques de fibrose utilisés sont pour la plupart des protéines dosables facilement lors des analyses de routine de biologie médicale. La plupart de ces marqueurs sont non spécifiques à la fibrose mais sont relargués dans le sang ou les tissus en cas d'inflammation. Ces marqueurs sont utilisés de façon combinée et leurs valeurs respectives sont utilisées dans des scores qui permettent d'évaluer la fibrose. (69) Parmi les scores les plus utilisés on retient: le score APRI (ASAT et taux de plaquettes), le FIB-4 (ASAT, ALAT, plaquettes et âge), le fibrotest (haptoglobine, α -2 macroglobuline, apolipoprotéine A1, γ -GT et bilirubine), l'index FORNS (âge, plaquettes, cholestérol, γ -GT), l'Hépascore

(sexe, âge, bilirubine, γ -GT, acide hyaluronique, α -2 macroglobuline) et le fibromètre (plaquettes, ASAT, α -2 macroglobuline, âge, acide hyaluronique, urée, taux de prothrombine). (69) Les différents scores permettent de diagnostiquer de façon précise une fibrose avancée ou une cirrhose mais leurs performances restent limitées pour les stades intermédiaires de fibrose. Aucune différence significative de qualité diagnostique n'a toutefois été observée entre ces différents scores. (70) Leurs avantages résident dans leur grande facilité d'utilisation, avec une bonne reproductibilité inter-laboratoire. Cependant, certains des marqueurs sériques utilisés fluctuent sur le nyctémère, pouvant aboutir ainsi à des faux-positifs ou faux-négatifs. En France, les scores recommandés par l'AFEF sont le Fibromètre® et le Fibrotest®. (9)

2.2.1.3 L'élastométrie impulsionnelle ultrasonore

L'élastométrie impulsionnelle en 1-dimension (FibroScan®) est une méthode non-invasive permettant d'évaluer le stade de fibrose grâce à l'évaluation d'une onde de choc de faible amplitude émise à partir de la paroi thoracique en regard du foie. Le volume exploré par cette technique est 100 fois plus important que celui exploré dans un fragment de biopsie. (71) Un total de 10 mesures est réalisé et les valeurs exprimées en kPa sont regroupées dans des intervalles correspondant à des stades de fibrose distincts. Pour que l'examen soit valide, l'interquartile entre les différentes mesures doit être <30% et le taux de réussite des dix mesures doit être >60%. Pour les patients infectés par le VHC, une méta-analyse de 50 études retrouvait une valeur prédictive positive de 75% et une valeur prédictive négative de 90% pour cette méthode pour évaluer la présence d'une cirrhose ou non. (72) Cette méthode reste compliquée à utiliser chez des patients obèses et dépendante de l'expérience de l'opérateur.

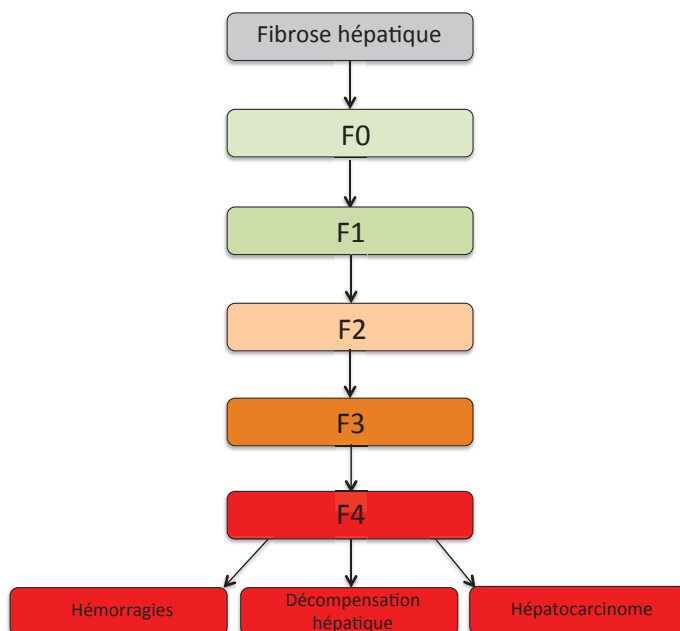
Les recommandations de l'EASL pour l'évaluation de la fibrose chez des patients infectés par le VHC sont d'utiliser en première intention la combinaison de l'élastométrie avec un score basé sur des marqueurs sériques. En cas de discordance entre les deux tests, si celle-ci perdure après les avoir répétés une seconde fois, la ponction biopsie hépatique est alors indiquée. (73)

2.2.2 Evolution de la fibrose hépatique dans l'infection chronique du VHC

La vitesse de progression de la fibrose chez les patients infectés par le VHC est généralement très variable (Figure 5). Les facteurs de l'hôte pouvant jouer sur la progression de la fibrose sont: le sexe (masculin), l'origine ethnique (origine sub-saharienne), l'âge (> 40 ans au moment de l'infection), l'immunosuppression (comme lors d'une coinfection avec le VIH), la coinfection chronique avec le VHB, le diabète, la résistance à l'insuline, l'obésité et la stéatose. (74–76) Des facteurs environnementaux et de mode de vie, tels que la consommation excessive d'alcool, sont également associés avec une progression accélérée de la fibrose. De même, la consommation quotidienne de cannabis et de tabac pourrait également être associée avec une augmentation de la fibrose. (77,78) D'autres facteurs, tels

que le génotype viral ou la charge virale, ne semblent pas impacter significativement la progression de la fibrose hépatique. (79)

Figure 5. Les différents stades de fibrose



L'infection chronique par le VHC progresse généralement lentement, avec un faible risque d'évolution rapide dans les 10-15 premières années d'infection.

Le taux de progression de la fibrose hépatique a été évalué dans deux grandes études concernant des patients VHC mono-infectés pour l'une et des patients coinfecteds VIH-VHC pour l'autre. La probabilité annuelle moyenne de changer de stade (score METAVIR) était de 0,117 (F0 à F1), 0,085 (F1 à F2), 0,120 (F2 à F3) et 0,116 (F3 à F4) parmi les patients infectés par le VHC seulement. (80) Parmi les patients coinfecteds VIH-VHC, les probabilités de transition annuelle d'un stade à un autre étaient similaires: 0,122 (F0 à F1), 0,115 (F1 à F2), 0,124 (F2 à F3) et 0,115 (F3 à F4). (81)

2.2.3 Progression de la fibrose hépatique vers la cirrhose

Une revue systématique de la littérature a précisé que l'évolution de la fibrose vers la cirrhose après 20 ans d'infection était observée chez 4 à 24% des patients, mais la méthodologie des études incluses était très variable de même que les populations de patients considérées. L'estimation la plus faible de 4% concernait une série de donneurs de sang tandis que la plus haute estimation de 24% concernait une cohorte de patients infectés lors d'une transfusion. La meilleure estimation est celle issue d'une

méta-analyse qui a estimé qu'au bout de 20 ans d'infection, 7% des patients présentaient une cirrhose. (82)

Une autre revue de la littérature a estimé le risque de développer une cirrhose suite à l'infection par le VHC et en a déduit une relation exponentielle entre la durée d'infection et le risque de cirrhose. La probabilité alors estimée au bout de 20 ans d'infection de développer une cirrhose (en l'absence de tout traitement VHC) était de 16% et au bout de 30 ans de 41%. (80) Une étude de cohorte française a montré qu'il existait également une association significative entre le stade de fibrose et l'âge du patient au moment de la biopsie. (76)

2.2.4 Estimation du risque d'apparition d'un carcinome hépatocellulaire

Le risque de développer un hépatocarcinome a été estimé parmi les patients chroniquement infectés par le VHC à 1–3% après 30 ans d'infection. (62) Cependant, chez les patients cirrhotiques VHC, le risque annuel de développer un CHC est de 2 à 4% avec des taux pouvant atteindre 7% au Japon. (4) Les facteurs associés au risque de développer un CHC sont: l'âge (>55 ans), une consommation alcoolique excessive et le sexe (masculin). (83) Parmi les patients ayant une infection chronique au VHC et une fibrose avancée, l'élastométrie est un bon moyen de prédire le risque de développer un CHC. Dans une large étude de cohorte, des patients infectés chroniquement par le VHC ont été suivis en moyenne pendant 3 ans et une forte corrélation positive a été retrouvée entre le risque de développer un CHC et le score d'élasticité déterminé par un examen au Fibroscan® au début du suivi. (84)

2.3 Effets bénéfiques du traitement de l'hépatite C

2.3.1 Amélioration de la fibrose et de l'inflammation hépatique après traitement de l'hépatite C chronique

Une réponse virologique soutenue (RVS) suite à un traitement est aujourd'hui définie par l'absence d'ARN viral dans le sang 12 semaines après l'arrêt du traitement. La RVS permet, chez une majorité des patients (57-94%), une diminution de l'inflammation et une amélioration du score de fibrose, bien que chez une minorité de patients (1-14%), malgré la guérison virologique, la fibrose continue de progresser. (85) La régression de la fibrose après une RVS a été significativement associée avec l'âge et le taux de plaquettes. La présence de cofacteurs tels que l'intoxication alcoolique ou un syndrome métabolique peuvent infléchir l'effet bénéfique attendu du traitement sur la fibrose. La guérison a

également été associée avec une réduction de l'hypertension portale, du risque de décompensation hépatique et du développement d'un CHC. (86) Concernant les mécanismes physiopathologiques sous-jacents à la régression de la fibrose suite à la guérison virologique, ceux-ci ne sont pas encore complètement élucidés. Les données d'études expérimentales réalisées dans des modèles animaux montrent que les mécanismes impliqués dépendraient de la sévérité de la fibrose. Ces mécanismes suggérés doivent toutefois être considérés avec précaution, la fibrose étant induite dans les modèles animaux en quelques semaines seulement. Chez les patients avec une fibrose modérée, la RVS permettrait une disparition des mécanismes inflammatoires de réparation cellulaire induits par l'infection chronique par le VHC, impliquant une diminution du nombre de cellules stellaires hépatiques activées, celles-ci jouant un rôle crucial dans la fibrose en produisant du collagène. Des populations spécifiques de macrophages sembleraient également impliquées dans le processus de régression de la fibrose. (87) Chez les patients cirrhotiques, les éléments de physiopathologie élucidés jusqu'à présent sont moins convaincants, bien qu'une accumulation de collagène de haute densité (type I et III) ainsi que de protéoglycanes soit décrite dans cette population. (88) Les liaisons intra- et intermoléculaires de collagène de haute densité seraient associées à une résistance accrue à la dégradation pouvant expliquer en partie la difficulté de régression de la fibrose. Une accumulation d'élastine, une autre protéine composant la matrice extracellulaire et elle aussi difficilement dégradable, a été observée chez les patients cirrhotiques. (89)

L'hypertension portale est une conséquence directe de la fibrose, entraînant une perturbation de la circulation sanguine veineuse au niveau du système porte hépatique ainsi que l'apparition de varices gastriques et œsophagiennes, présentes chez 50% des patients cirrhotiques. La rupture de varices œsophagiennes entraîne des hémorragies digestives qui sont la deuxième cause de mortalité après le CHC chez les patients cirrhotiques. (90) L'incidence d'apparition de varices chez les patients cirrhotiques ou avec une fibrose extensive est estimée à 6,5% par an avec un risque hémorragique annuel évalué à 1%. Les patients non cirrhotiques et guéris ne développeront pas d'hypertension portale et ne seront pas à risque de telles complications. Les patients cirrhotiques guéris du VHC ont vu une diminution de leur hypertension portale comparés à des patients non-répondeurs au traitement, bien qu'un petit nombre de patients aient présenté des varices œsophagiennes post-guérison. (91,92)

2.3.2 Effet du traitement sur le risque de CHC

2.3.2.1 CHC de novo et bithérapie

Le risque de développement d'un CHC *de novo* suite à une réponse virologique soutenue obtenue par un traitement à base de PEG-IFN/RBV a été analysé dans de nombreuses études. Une méta-analyse

publiée en 2013 s'est appuyée sur un total de 12 études observationnelles pour la plupart rétrospectives explorant cette thématique afin de réaliser une analyse poolée. (93) Les auteurs ont comparé le taux d'incidence de CHC *de novo* chez les patients avec une RVS et chez les non-répondeurs (N=25 500). Ils ont observé une incidence annuelle de CHC de 1,67% PA chez les non-répondeurs vs 0,33% PA chez les patients avec une RVS. Dans l'analyse de survie multivariée, les auteurs rapportent une diminution de 76% du risque de développer un CHC chez les patients avec une RVS et ce quel que soit le stade de fibrose. Ce bénéfice d'une RVS sur le risque de développer un CHC a également été décrit dans des études de cohortes prospectives. (94,95)

Une étude de cohorte prospective s'est également intéressée aux patients non répondeurs à la bithérapie et au traitement suspensif par monothérapie d'interféron qui était alors prescrit. Cependant, les résultats montrent qu'un traitement suspensif ne permettait pas de diminuer le risque de CHC. (96) Des résultats opposés ont cependant été observés dans une étude rétrospective japonaise évaluant également le risque de CHC chez des patients non répondeurs à la bithérapie et sous traitement suspensif par monothérapie d'interféron. (97)

2.3.2.2 CHC *de novo* et AAD

Concernant le CHC *de novo* suite à un traitement par AAD, il n'existe actuellement qu'un nombre limité d'études publiées dû à l'arrivée récente de ces traitements. Une grande étude de cohorte rétrospective réalisée chez les vétérans américains (N=22500) a comparé le taux d'incidence du CHC *de novo* chez les patients ayant ou non une RVS après un traitement par AAD. Les auteurs rapportent une diminution significative de l'incidence du CHC *de novo* chez les patients ayant obtenu une RVS (0,90/100 PA) comparé aux patients non-répondeurs (3,45/100 PA). Cet effet bénéfique d'une RVS post-traitement par AAD était également retrouvé dans l'analyse de survie multivariée avec une diminution du risque de CHC évaluée à 76%. (98)

Une autre grande étude rétrospective réalisée elle aussi dans une cohorte de vétérans américains (N=63354) a comparé cette fois-ci l'impact du type de traitement (3 groupes: AAD±RBV, AAD+IFN±RBV et PEG-IFN±RBV) sur le taux d'incidence de CHC. (99) La RVS était au final significativement associée avec un risque diminué de CHC dans tous les groupes (71% pour les AAD±RBV, 52% pour AAD+IFN±RBV et 68% pour IFN±RBV) et aucune différence significative entre les différents types de traitement n'a été observée.

Enfin, une méta-analyse a également comparé le taux de récurrence du CHC post-RVS chez des patients traités soit par AAD (9 études), soit par PEG-IFN/RBV (17 études). (100) Le taux d'incidence post-RVS était de 1,14/100 PA (95% CI: 0,96 - 1,52) pour les patients traités par PEG-IFN/RBV vs 2,96/100 PA

(95% CI: 1,76 - 4,96) pour les patients traités par AAD. L'analyse de méta-régression ne retrouvait toutefois pas de différence significative entre ces deux types de traitement ($p=0,550$).

Deux études récentes réalisées dans les cohortes ANRS HEPATHER et CIRVIR ont également analysé l'impact des AAD sur le risque de complications de la maladie hépatique (CHC *de novo*, décompensation hépatique et décès) suite au traitement. (101,102) Dans la cohorte CIRVIR, les auteurs ont montré que le taux d'incidence de CHC *de novo* suite à une RVS obtenue par un traitement par AAD était similaire à celui observé chez des patients ayant obtenu une RVS après un traitement comprenant de l'IFN. Dans la cohorte HEPATHER, les auteurs ont montré que le risque de CHC *de novo* et le taux de mortalité toutes causes confondues étaient significativement plus faibles chez les patients traités par AAD que chez les patients non traités par AAD. Toutefois aucun impact significatif du traitement par AAD n'a pu être observé concernant la décompensation hépatique. Ces études suggèrent ainsi que suite à l'obtention d'une RVS, le suivi des patients concernant leur maladie hépatique devra être maintenue en surveillant notamment l'apparition de signes d'insuffisance hépatique, de décompensation et de CHC *de novo*.

2.3.3 Risque de récurrence du CHC et traitement du VHC

2.3.3.1 Risque de récurrence du CHC et traitement par interféron ± ribavirine

Le traitement de référence avant l'arrivée des AAD chez les patients ayant développé un CHC et mis en rémission complète était la monothérapie suspensive à base d'interféron. Une méta-analyse basée sur 10 études a évalué le taux de récurrence du CHC chez des patients mis en rémission complète chirurgicalement et traités par une monothérapie d'IFN ou en abstention thérapeutique. Aucune différence d'incidence de récurrence locale n'a été observée entre les deux groupes de patients mais concernant les récurrences à distance, l'incidence était plus élevée chez les patients non traités que chez les patients recevant de l'interféron. L'incidence était également plus faible chez les patients ayant développé une RVS post-traitement suspensif que chez les patients traités mais sans RVS. (103)

Une étude de cohorte taïwanaise a comparé l'impact d'un traitement par PEG-IFN/RBV d'une durée minimale de 16 semaines et d'une abstention thérapeutique chez des patients avec un CHC mis en rémission complète. Le taux de récurrence à 5 ans était significativement plus faible chez les patients traités que chez les patients non-traités (52% vs 64%). Cette association était aussi retrouvée dans l'analyse de survie multivariée. (104)

2.3.3.2 Risque de récurrence du CHC et traitement par AAD

Lors du congrès organisé par l'EASL en 2016, l'équipe espagnole à l'origine de la classification Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) du CHC a présenté des résultats alarmants concernant le taux de récurrence du CHC chez des patients mis en rémission complète et traités consécutivement par AAD. Les auteurs ont rapporté dans une cohorte de 58 patients un taux de récurrence de 27,6% pour une durée de suivi médiane de 5,7 mois. (105) Ce taux était anormalement élevé, notamment en comparaison avec celui issu de la cohorte historique de l'essai clinique STORM. A ce même congrès, une étude italienne a également rapporté un taux anormalement élevé de récurrence du CHC de 28,8% chez 59 patients traités par AAD. (106) La durée médiane de suivi était également de 6 mois. Ces études présentaient des faiblesses méthodologiques du fait de l'absence de groupe contrôle, d'une durée de suivi très courte et de l'absence d'analyse multivariée. Etant donné le peu de recul sur les nouveaux traitements par AAD, ce signal d'alarme nous a poussés à réaliser une étude locale et rétrospective de l'incidence de la récurrence du CHC chez des patients traités par AAD vs non traités afin de savoir si ces observations étaient également visibles à notre échelle. Cette étude est présentée dans le chapitre 5 de ce manuscrit.

Depuis ce travail, de nombreuses études ont été publiées sur le sujet. Une discussion des nouveaux résultats sera présentée dans le chapitre 7 de ce manuscrit.

2.4 Introduction sur la méthodologie de l'analyse de survie et sur le score de propension

2.4.1 Méthodologie de l'analyse de survie

2.4.1.1 Analyse de survie univariée

L'analyse des durées de survie est très courante en recherche clinique dès que l'on souhaite analyser la distribution des temps de survie (c'est-à-dire la fonction de survie) dans le temps pour un événement donné (communément appelé "décès" dans l'analyse mais cet événement peut par exemple correspondre à une guérison, une rechute, ou à la survenue d'une complication). (107) Cette analyse a lieu le plus souvent dans le cadre d'études longitudinales de cohortes et est très utilisée dans le domaine de la cancérologie. (108) Elle permet notamment de comparer les fonctions de survie entre plusieurs groupes de patients mais également de comprendre comment certaines variables explicatives peuvent modifier les fonctions de survie. Il est nécessaire dans une telle analyse de définir différentes dates qui permettent de calculer consécutivement la durée de survie: la date d'origine qui correspond au temps initial de la durée étudiée (par exemple la date de rémission d'un cancer), la date

de point qui correspond à la date d'arrêt définitif de suivi des patients et la date des dernières nouvelles qui correspond à la date la plus récente où des informations sur un sujet ont été recueillies.

Si l'on dénote par X la durée de survie qui est une variable continue positive ou nulle, sa loi de probabilité peut être définie par la fonction de survie S , qui est pour un temps t la probabilité de survivre jusqu'à cet instant, c'est-à-dire pour $t \geq 0$:

$$S(t) = P(X > t)$$

Cette fonction est monotone décroissante avec pour $t=0$, $S(t)=1$ et pour $t=\infty$, $S(t)=0$.

Il est fréquent d'observer des données incomplètes dans ce type d'analyse longitudinale de survie. Dans le cadre de notre étude, le temps de survie a été censuré à droite chez plusieurs patients, c'est-à-dire que l'évènement d'intérêt (la récurrence du CHC) n'a pas été observé chez tous les patients pendant la période de suivi qui s'est arrêtée à la date de point comme définie ci-dessus. Ce mécanisme de censure à droite peut également être observé chez les patients perdus de vue, c'est-à-dire ceux dont le suivi s'interrompt avant la date de point de manière inopinée. Il est important pour ces derniers que la raison du départ des patients de l'étude soit indépendante du risque d'évènement.

L'estimation de la proportion de patients sans évènement d'intérêt à un temps t est réalisée grâce à la méthode "brute" d'analyse non-paramétrique de survie de Kaplan et Meier. (109) Cette méthode prend en compte la probabilité de censure à droite et se base sur le principe que la probabilité d'avoir vécu à un instant t est conditionnelle au fait d'être en vie jusqu'à cet instant. La survie à un instant quelconque est donc le produit des probabilités conditionnelles de survie de chacun des instants précédents. Elle est décrite par:

$$S(t) = \prod_{t_i < t} \frac{n_i - d_i}{n_i}$$

- t_i est le délai de suivi après l'inclusion dans l'étude

- n_i est le nombre de sujets à risque à l'instant t_i

- d_i est le nombre d'évènements d'intérêt au temps t_i

A chaque évènement observé dans le temps, un nouvel intervalle est considéré et un calcul de la nouvelle probabilité de survie $S(t)$ est réalisé, ce qui explique la forme typique des courbes de survie en "marche d'escaliers". En cas de données censurées, il n'y a pas de répercussion sur la probabilité de survie cumulée à ce temps donné. Par contre, le nombre de patients considérés à risque décroît du nombre d'observations censurées à ce temps t sur l'intervalle suivant.

La comparaison de deux courbes de survie peut s'effectuer par la méthode du Log-Rank, qui teste l'hypothèse nulle d'égalité des probabilités de survie entre 2 études de survie. (110)

2.4.1.2 Analyse de survie multivariée par modèle de Cox

Le modèle de Cox est le modèle d'analyse de survie multivariée le plus utilisé en recherche biomédicale. (111) Il permet d'estimer à partir de données de survie l'effet d'une variable (le traitement par AAD dans notre cas) sur la survie après ajustement sur les autres variables potentiellement explicatives de l'évènement. Ce modèle est semi-paramétrique, c'est-à-dire qu'il ne modélise pas la fonction de survie mais estime uniquement l'effet des variables sur celle-ci; il est à risque multiplicatif, c'est-à-dire que la présence d'une covariable en particulier multiplie le risque d'évènement par rapport au risque basal (absence de cette covariable), appelé également hypothèse de log-linéarité; les coefficients de régression estimés (appelés hazard ratio ou risque relatif) sont considérés comme indépendants du temps.

Le risque d'évènement instantané (c'est-à-dire la probabilité d'apparition d'un évènement dans l'intervalle de temps $[t, t+Dt]$, sachant que l'évènement ne s'est pas réalisé avant l'instant t pour un individu i , est décrit dans le modèle de Cox au temps t par:

$$\lambda_i(t) = \lambda_0(t) \exp(X_i \beta)$$

avec $\lambda_0(t)$: le risque de base de survenue de l'évènement considéré

X_i : ensemble des covariables qualitatives ou quantitatives du patient i (c'est-à-dire les données observées comme l'âge, le sexe, le traitement,...)

β : matrice des coefficients de régression associés

Le principe du modèle de Cox est basé sur les risques proportionnels. On définit dans ce cadre le risque relatif d'évènement pour deux sujets i et j :

$$\frac{\lambda_i(t)}{\lambda_j(t)} = \frac{\exp(X_i \beta)}{\exp(X_j \beta)} = \exp(\beta(X_i - X_j))$$

On s'affranchit donc ici du risque basal $\lambda_0(t)$ qui n'est pas estimé dans la régression (d'où l'appellation semi-paramétrique du modèle). Ce rapport doit être indépendant du temps (c'est-à-dire que chaque covariable doit avoir un effet indépendant du temps), c'est une des hypothèses importantes du modèle de Cox pour justifier de l'aspect des risques proportionnels.

L'estimation des coefficients beta est basée sur une fonction de vraisemblance partielle définie par Cox lui-même. (112) Il définit ainsi la probabilité $L_i(\beta)$ qu'un sujet i ait un évènement par rapport à tous les autres sujets j comme:

$$L_i(\beta) = \frac{\exp(X_i \beta)}{\sum_{j \neq i} \exp(X_j \beta)}$$

La vraisemblance partielle pour n patients s'écrit alors de la façon suivante:

$$L(\beta) = \prod_{i=1}^n L_i(\beta)$$

L'estimation des coefficients se fait par la recherche d'un maximum de la fonction de vraisemblance $L(\beta)$ par l'intermédiaire d'un algorithme de Newton-Raphson. (113) Cet algorithme est couramment utilisé pour résoudre des systèmes d'équations non linéaires (dans notre cas, il essaye d'estimer le "maximum" de la fonction de vraisemblance) et consiste à construire, à partir de valeurs approchées de la solution, une suite convergente vers une solution.

Une fois les coefficients de régression estimés, leur significativité peut être testée par le test de Wald. (114) Le hazard ratio fourni dans les études correspond à l'exponentielle du coefficient β pour la variable d'intérêt.

2.4.2 Score de propension

Pour pallier l'absence de randomisation dans les études de cohorte rétrospectives, une des solutions envisageables est d'utiliser un score de propension. (115–117) En effet dans un essai non-randomisé, les variables explicatives non considérées ne sont pas contrôlées et certaines variables (parmi celles considérées ou non) ont potentiellement un effet direct sur le critère de jugement (dans notre cas la récurrence du CHC) mais également sur le choix de modalité de traitement. Le score de propension est défini comme la probabilité d'être traité par une thérapeutique donnée en prenant en compte les covariables d'un individu. (115–117) L'idée est donc d'estimer ce score par l'intermédiaire d'une régression logistique binaire (le traitement étant la variable dépendante) afin d'obtenir une probabilité pour chacun des individus de la cohorte d'avoir reçu le traitement en fonction de ses covariables (les variables indépendantes de la régression logistique binaire). Ce score de propension permet de condenser l'information d'un très grand nombre de variables qui pour la plupart d'entre elles ne pourront être considérées dans les analyses multivariées étant donné le nombre limité d'individus dans les groupes à comparer.

L'hypothèse forte sous-jacente à ce score est que ce qui n'est pas observé n'influence pas le choix du traitement. Ce score de propension peut être utilisé comme méthode d'appariement (appariement des patients avec des témoins ayant un score de propension similaire), en strate de patients ayant des scores de propension proches pour une analyse multivariée, par pondération inverse de la probabilité d'avoir reçu le traitement et enfin en tant que covariable dans la régression multivariée afin d'apporter l'information manquante quant au risque de biais lié à l'attribution du traitement. C'est cette dernière méthode que nous avons utilisée dans l'étude présentée au chapitre 6 du manuscrit, les autres proposées étant moins appropriées au schéma de notre étude (faible nombre de patients dans chacun des deux groupes et analyse de survie notamment).

3 Les traitements de l'hépatite C

3.1 Rappels sur les objectifs du traitement et sur la bithérapie PEG-IFN/RBV

L'objectif du traitement de l'hépatite C chronique consiste à éliminer durablement le virus de l'organisme afin de prévenir la progression de la fibrose hépatique et des complications associées telles que la cirrhose et le CHC. L'élimination du virus est évaluée en pratique clinique par la mesure de la charge virale par des techniques standardisées de PCR. (118)

De 2000 à 2011, le traitement de référence du VHC était la bithérapie composée d'interféron-pégylé α -2a ou α -2b (d'efficacité similaire) et de ribavirine. (119) L'interféron était administré par voie sous-cutanée à un rythme hebdomadaire tandis que la ribavirine était administrée per os avec une posologie adaptée au poids du patient (1000 mg/j si <75kg et 1200 mg/j si >75kg). (120,121) Les mécanismes d'action de ces deux molécules (encore non complètement élucidés) sont présentés en Figure 6. (122–124)

Cette bithérapie était prescrite pour une durée allant de 24 à 48 semaines selon le génotype viral et la réponse virologique observée durant la première partie du traitement. Le taux de RVS pour les génotypes 1, 4, 5 et 6 était de l'ordre de 40 à 50% tandis que pour les génotypes 2 et 3 ce taux s'élevait à 80%. (120,125) Cependant, dû aux effets secondaires nombreux comprenant entre autres l'asthénie, l'anémie, les troubles intestinaux, le syndrome pseudo-grippal, le prurit et les troubles psychiatriques, il était fréquent de devoir diminuer les posologies afin d'atténuer les effets secondaires avec pour conséquence une diminution des chances de RVS. La prescription de ces traitements ne se fait plus dans les pays développés à l'heure actuelle depuis l'arrivée des AAD mais se fait toujours dans les pays aux ressources limitées où le coût des AAD reste très élevé.

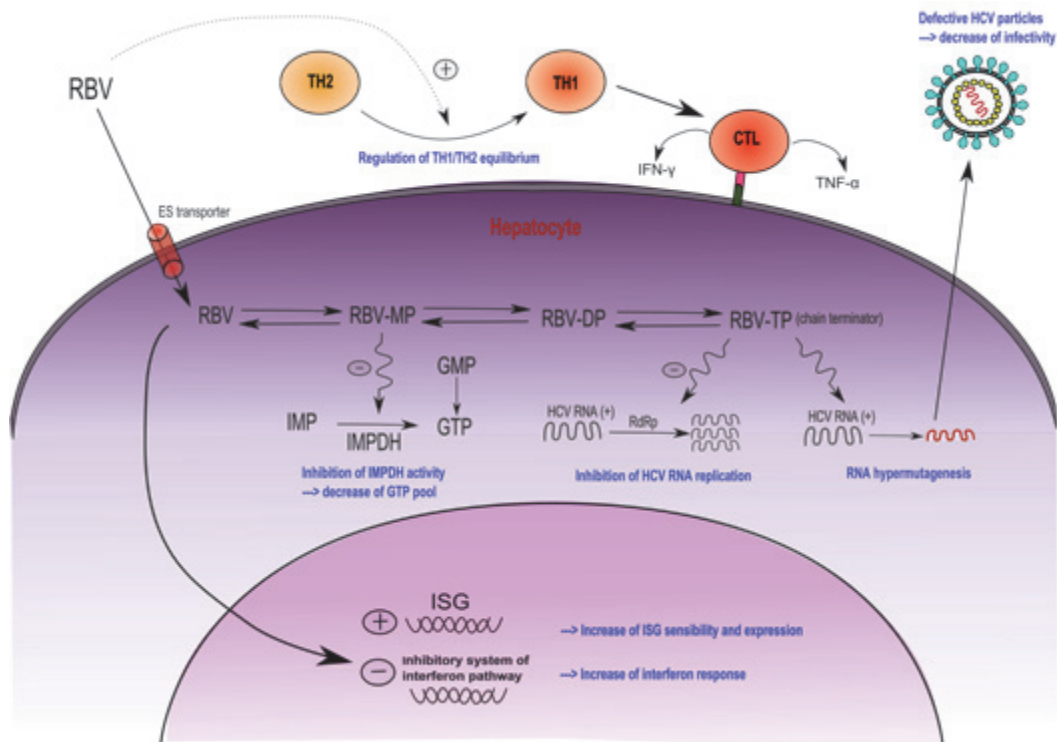
3.2 Rappels sur la trithérapie PEG-IFN/RBV + inhibiteur de protéase NS3/4A (télaprévir et bocéprévir)

3.2.1 Modalités du traitement et taux de réponse

En 2011, deux antiviraux à action directe, les inhibiteurs de la protéase NS3/4A, le bocéprévir et le télaprévir, sont arrivés sur le marché et ont conduit à une modification complète des stratégies thérapeutiques dans la prise en charge du VHC. Ces deux molécules ont une action antivirale efficace uniquement chez les patients infectés par le génotype 1 du VHC et ont donc été utilisées uniquement dans ce sous-groupe de patients. (126–129)

Concernant les modalités de traitement qui ont été définies lors des essais de phase III, la trithérapie comprenant le bocéprévir était débutée d'abord par une phase de bithérapie simple PEG-IFN/RBV

A.



B.

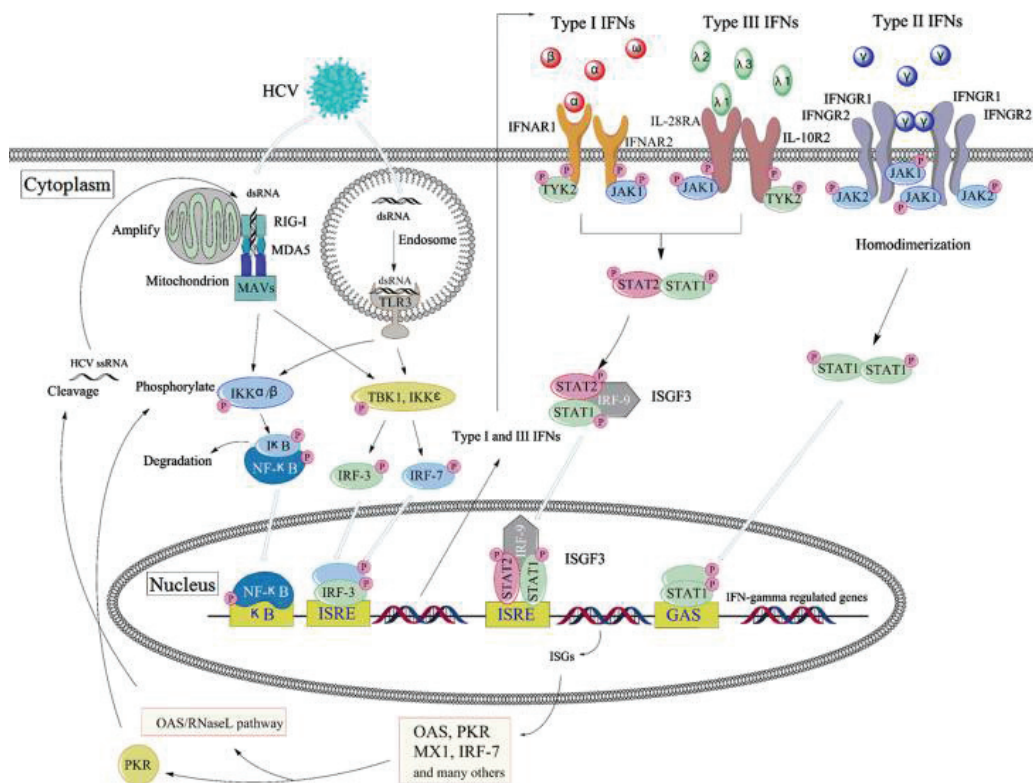


Figure 6. Mécanismes d'action de la ribavirine (panel A) d'après Pradat et al. (122) et Testoni et al. (124) et de l'interféron (panel B) d'après Huang et al. (123). Dans le **panel A**, la ribavirine entraîne: (i) une immunomodulation stimulant la transition TH1-TH2; (ii) une inhibition de l'IMPDH entraînant une déficience de GTP ; (iii) une inhibition de la polymérase de l'ARN du VHC ; (iv) une stimulation de la mutagenèse de l'ARN viral entraînant une diminution de l'infektivité. Dans le **panel B**, l'ARN du VHC induit une transcription des gènes de l'interféron *via* TLR3 dans l'endosome et RIG-I dans le cytoplasme. Les IFN de type I et III se lient à leurs récepteurs respectifs puis activent la même voie de signalisation JAK-SAT et les gènes cibles de l'interféron (ISG). L'interféron de type II active lui STAT-1 ce qui entraîne également une stimulation des ISG, entraînant notamment la synthèse des protéines PKR, OAS/RNase-L ayant une activité antivirale.

pendant 4 semaines aux posologies habituelles puis le bocéprévir était rajouté à partir de la 4^{ème} semaine à une posologie de 2400 mg/jour. La durée totale du traitement variait en fonction du stade de fibrose, du statut concernant la réponse à un précédent traitement par bithérapie et de la présence d'une réponse virologique précoce (eRVR) définie par l'indéteçtabilité de l'ARN du VHC à la 4^{ème} et 12^{ème} semaine du traitement par trithérapie. La durée des traitements s'étalait de 24 à 48 semaines au total.

Pour la trithérapie à base de télaprévir, les 3 molécules étaient débutées d'emblée (avec une posologie de 2250 mg pour le télaprévir) et poursuivies pendant 12 semaines. La bithérapie PEG-IFN/RBV était ensuite poursuivie seule pour une durée qui variait de 12 à 36 semaines en fonction des mêmes critères que ceux appliqués à la trithérapie à base de bocéprévir. Pour prévenir l'émergence de souches virales résistantes, des règles d'arrêt précoce par l'analyse de la cinétique de la charge virale ont été définies lorsque les probabilités de RVS étaient faibles voire nulles. (130)

Le taux de RVS des grandes études de phase III, réalisées uniquement chez des patients avec un VHC de génotype 1 et naïfs de traitement, étaient de 63-66% pour la trithérapie bocéprévir (vs 38% pour la bithérapie contrôle) et de 69-75% pour la trithérapie télaprévir (vs 44% pour la bithérapie contrôle). (126,127) Pour les patients en échec de bithérapie, les études de phase III ont rapporté un taux de RVS de 59-66% pour le bocéprévir et de 64-66% pour le télaprévir. (128,129)

En ce qui concerne les études de la "vraie vie", la cohorte française ANRS CO20 CUPIC a été une cohorte prospective multicentrique de référence pour analyser l'efficacité et la tolérance de la trithérapie chez les patients cirrhotiques compensés de génotype 1 en échec de traitement par bithérapie. (131) Le taux de RVS au sein de cette cohorte variait en fonction du type de réponse obtenue au cours d'une précédente bithérapie: 54-74% chez les rechuteurs, 38-40% chez les répondeurs partiels et 0-19% chez les non-répondeurs.

3.2.2 Facteurs prédictifs de la RVS et tolérance de la trithérapie

3.2.2.1 Facteurs prédictifs de la RVS

Les facteurs prédictifs de RVS à l'initiation de la trithérapie étaient dans les études de phase III du bocéprévir: une charge virale initiale basse, un âge <40 ans, l'origine ethnique (afro-américains désavantagés), l'absence de cirrhose, le génotype 1b, un traitement concomitant par statine, un génotype IL-28B CC et pour les patients déjà traités un statut de rechuteur. (126,128) Concernant le paramètre prédictif d'une RVS pendant le traitement, une décroissance $> 1 \log_{10}$ de l'ARN du VHC à la 4^{ème} semaine était significativement associée à une RVS. (132)

Pour le télaprévir, les facteurs prédictifs de RVS à l'initiation de la trithérapie rapportés dans les études de phase III étaient: un âge <40 ans, le sexe féminin, l'absence de cirrhose, un IMC<25, un génotype 1b, un génotype IL-28B CC, un taux de LDL-c bas et un statut de rechuteur pour les patients déjà traités. Concernant le paramètre prédictif d'une RVS pendant le traitement, la présence d'une réponse virologique précoce était significativement associée à une RVS. (127,129)

Ces différents facteurs prédictifs ont également été explorés dans l'étude de cohorte CUPIC et une grande partie d'entre eux étaient également associés à une RVS. (131)

Une définition de réponse virologique précoce étendue (eRVR) a été instaurée en se basant sur le principe de réponse virologique rapide (RVR) utilisée lors de la bithérapie comme facteur pronostic de RVS qui était définie par une absence d'ARN viral à la 4^{ème} semaine de traitement. (133) Pour le bocéprévir, l'eRVR était définie comme un ARN indétectable à partir de la 8^{ème} semaine jusqu'à la 24^{ème} semaine et pour le télaprévir de la 4^{ème} semaine à la 12^{ème} semaine. (134)

3.2.2.2 Tolérance de la trithérapie

Les effets indésirables rapportés dans les essais de phase III étaient ceux habituellement observés dans le cadre de la bithérapie ainsi que quelques effets propres à la trithérapie (notamment un prurit anal pour le télaprévir et une dysgueusie pour le bocéprévir). L'effet indésirable le plus fréquent rapporté lors des trithérapies était l'anémie avec une fréquence de 40% pour le télaprévir et de 50% pour le bocéprévir. (126–129) L'anémie n'était généralement pas une cause d'arrêt du traitement antiviral mais des diminutions de dose de ribavirine étaient fréquentes ainsi que le recours à l'érythropoïétine (EPO) en deuxième intention. La présence d'une anémie et les diminutions de dose associées ne semblaient pas influencer la probabilité de RVS dans le cadre du bocéprévir. (135,136)

Les lésions cutanées qui étaient déjà observées sous bithérapie ont également été fréquemment rapportées sous trithérapie avec une fréquence allant jusqu'à 54% chez les patients traités par télaprévir. (137) Ces lésions étaient de type eczématiforme de sévérité et d'extension variable associées à un prurit intense. Dans 5% des cas sous télaprévir, des éruptions sévères de par leur extension pouvaient survenir et entraîner un arrêt prématuré du traitement. Cependant, pour la majorité des cas la prise en charge précoce permettait une poursuite du traitement sans perte de chance d'un point de vue de l'efficacité.

Les troubles digestifs étaient observés dans 20 à 40% des cas avec ces deux molécules. Des événements indésirables graves (EIG) ont également été rapportés chez 3 à 10% des patients des études de phase III, entraînant un arrêt prématuré du traitement chez 16% d'entre eux. L'étude CUPIC montre par ailleurs que chez les patients cirrhotiques, les effets indésirables sont plus sévères et plus fréquents:

44 à 55% des patients ont présenté un EIG au cours du traitement et 17 à 24% ont dû arrêter le traitement. (131)

Face aux résultats des études de phase III, qui certes montraient une amélioration du taux de RVS par rapport à la bithérapie notamment chez les patients avec une maladie hépatique non avancée, de nombreuses questions restaient en suspens quant à l'optimisation de ces traitements afin d'augmenter au maximum les chances de RVS: quelle efficacité virologique de ces traitements pouvait-on espérer dans une cohorte de la "vraie vie" et à l'échelle locale ? Quel impact pouvait avoir le monitoring précoce de la charge virale au cours de la trithérapie sur le taux de RVS ? Quelle était la prise en charge la plus optimale des effets indésirables et comment les prévenir ? Face à ces questions, nous avons conduit dans le service une première étude de cohorte rétrospective afin de répondre notamment aux questions d'efficacité virologique et de tolérance de la trithérapie. Une deuxième étude concernant l'analyse de la cinétique virale et de la prédiction de la RVS a également été réalisée dans le cadre de la cohorte nationale CUPIC. Ces deux études d'optimisation de la trithérapie sont présentées en partie 4.

3.2.3 Bases statistiques sur l'analyse d'un test diagnostique

La méthode d'analyse d'un test diagnostique peut être utilisée pour qualifier l'aspect prédictif d'un paramètre quantitatif sur un évènement (dans le cas de notre étude présentée dans la partie 4, l'aspect prédictif de la décroissance virale à un instant donné lors du traitement sur la probabilité de RVS). (138)

Dans le cas général, les performances d'un test diagnostique sont caractérisées par sa sensibilité et sa spécificité. La sensibilité (Se) d'un test correspond à la probabilité que le test soit positif lorsque la personne est réellement malade.

La spécificité (Sp) d'un test est définie par sa « capacité » à détecter les sujets sains, c'est-à-dire la probabilité que le test soit négatif lorsque la personne n'est pas malade.

Tableau 3. Performance d'un test diagnostique

		Maladie		Total
		+	-	
Test	+	a	b	L1
	-	c	d	L2
Total		C1	C2	

La Se et la Sp sont définies par: $Se = \frac{a}{c_1}$ et $Sp = \frac{d}{c_2}$

Un test diagnostique est souvent caractérisé par ses valeurs prédictives (positive et négative) qui mesurent la capacité du test à prédire la présence/absence de maladie.

La valeur prédictive positive (VPP) correspond à la probabilité d'être malade lorsque le test est positif.

La valeur prédictive négative (VPN) correspond à la probabilité d'être non-malade lorsque le test est négatif.

La VPP et la VPN sont donc définies par: $VPP = \frac{a}{L_1}$ et $VPN = \frac{d}{L_2}$

Pour estimer la valeur seuil du paramètre pour laquelle on obtient un ratio Sensibilité/Spécificité optimal (la meilleure discrimination possible de la population), on utilise une analyse par courbe ROC (Receiver Operating Characteristic curve).

Le principe de construction de la courbe se base sur une estimation de la Se et de la Sp pour différentes valeurs quantitatives du test étudié en construisant à chaque fois un tableau 2x2 comme le Tableau 3. Il s'agit ensuite de représenter graphiquement les différentes valeurs de sensibilité en fonction de (1-spécificité). Une fois la courbe ROC obtenue, on peut donc tester la pertinence de la courbe en évaluant l'Aire Sous la Courbe (AUC) et en la comparant à celle obtenue par un test qui ne discrimine pas (test aléatoire c'est-à-dire $AUC=0,5$). Le seuil peut être ensuite choisi de façon arbitraire, même si habituellement le seuil le plus discriminant correspond au point pour lequel la sensibilité et la spécificité sont maximales.

3.2.4 Dosage de la ribavirine et traitement par trithérapie

3.2.4.1 Rappels de l'intérêt du dosage de la ribavirine dans le cadre de la bithérapie

Le dosage pharmacologique de la concentration en ribavirine plasmatique potentiellement suivie par une adaptation posologique a pour objectif de réduire la variabilité des concentrations plasmatiques. En effet, il a été montré qu'il existait une relation entre la concentration plasmatique en ribavirine et l'efficacité antivirale ainsi que la tolérance. (139–146) Le caractère prédictif du dosage de ribavirine sur la RVS a été retrouvé à plusieurs moments pendant le traitement en évaluant l'aire sous la courbe (AUC) à J0, à la 4^{ème} semaine, à la 12^{ème} semaine et en calculant une moyenne de la concentration sur toute la durée du traitement. Il est intéressant de noter qu'il n'existe pas de corrélation directe entre la dose de ribavirine ingérée et la concentration plasmatique. (147) Cependant certains cofacteurs tels que le poids, le sexe, l'âge, la prise alimentaire et le taux de créatinine interviendraient dans la pharmacocinétique de la ribavirine. (139)

3.2.4.2 Particularités techniques de dosage de la ribavirine

Le dosage plasmatique de la ribavirine dans le cadre de l'étude présentée dans le chapitre 6 de ce manuscrit a été réalisé grâce à une méthode validée de chromatographie liquide haute performance (HPLC). (148) Cette méthode ayant un bon ratio spécificité/sensibilité présente un seuil de quantification à 0,05 mg/L. Il a été montré qu'*in vitro* la concentration plasmatique en ribavirine diminuait avec le temps si l'échantillon n'était pas analysé immédiatement après le prélèvement dû à un passage intra-érythrocytaire de cette dernière. Cette diminution a été quantifiée à environ 30% après une heure de conservation du prélèvement et à 60% après 3 heures. La phase pré-analytique de mesure des concentrations plasmatiques de ribavirine a donc été standardisée: la mesure résiduelle plasmatique est effectuée à partir d'un échantillon sanguin déposé dans la glace dès que le prélèvement est réalisé et centrifugé dans les 15 minutes afin de prévenir cette diminution.

3.2.4.3 Dosage de la ribavirine et trithérapie

Dans le cadre de la trithérapie, il a été montré que la proportion de patients présentant une anémie avait significativement augmenté par rapport à la bithérapie. (126–129,136) La sévérité de l'anémie a été corrélée à la concentration plasmatique en ribavirine lors des traitements par bithérapie, celle-ci entraînant une toxicité directe sur les érythrocytes. (149,150)

Pour essayer de comprendre les mécanismes pharmacologiques derrière l'augmentation de la fréquence de l'anémie chez les patients traités par trithérapie, nous avons mené une étude prospective comprenant 37 patients en échec de bithérapie et retraités par PEG-IFN/RBV + télaprèvir en réalisant des dosages de la ribavirine à l'initiation du traitement, à la 4^{ème} semaine, à la 8^{ème} semaine et à la 16^{ème} semaine et en évaluant en parallèle les paramètres biologiques. Les résultats de cette étude sont présentés dans le chapitre 4 de ce manuscrit.

3.3 Les nouveaux traitements du VHC par agents antiviraux directs

3.3.1 Modalités des nouveaux traitements par AAD

Les nouveaux traitements par AAD sont arrivés sur le marché français début 2014 avec comme premières molécules ayant reçu l'AMM au premier semestre le sofosbuvir, le siméprèvir et le daclatasvir. Depuis, de nombreuses autres molécules ont été développées et ont reçu l'AMM. Les trois grandes classes de molécules utilisées à l'heure actuelle sont : les inhibiteurs de la protéase NS3/4A, les inhibiteurs de la protéine NS5A et les inhibiteurs nucléos(t)idiques ou non nucléosidiques de la

polymérase NS5B (Tableau 4). Ces molécules ciblent différentes étapes de la réplication virale du VHC et sont donc combinées entre elles avec ou sans ribavirine afin d'obtenir un effet synergique antiviral. Lorsque le sofosbuvir était la seule molécule autorisée sur le marché, l'interféron était toujours utilisé en combinaison avec la ribavirine mais son éviction a été très rapide dès l'arrivée des autres molécules d'AAD dites "interferon-free". Son mode d'administration par injection sous-cutanée, sa mauvaise tolérance et l'absence de spécificité d'effet antiviral ont été des arguments clés dans le choix de son éviction de l'arsenal thérapeutique disponible pour le VHC.

Un grand nombre de combinaisons d'AAD sont actuellement disponibles. Les recommandations pour chacune des combinaisons de molécules à associer, la durée de traitement et l'ajout de ribavirine dépendent de plusieurs facteurs: (i) le génotype viral, (ii) le statut du patient (naïf ou en échec d'un précédent traitement par AAD), (iii) la présence ou non de comorbidités particulières (coinfection VIH, VHB, transplanté hépatique, cirrhose décompensée, insuffisance rénale, etc.). (9,151,152)

Tableau 4. Les différents AAD ayant reçu une AMM en France (d'après AFEF 2018)(9)

Classes thérapeutiques	Molécules
Inhibiteurs de protéase NS3/4A	Paritaprévir/ritonavir*
	Grazoprévir
	Voxilaprévir
	Glécaprévir
	Siméprévir*
Inhibiteurs de NS5A	Daclatasvir
	Lédipasvir
	Ombitasvir*
	Elbasvir
	Velpatasvir
	Pibrentasvir
Inhibiteurs de la polymérase NS5B nucléos(t)idiques ou non-nucléosidiques	Sofosbuvir
	Dasabuvir*

* Ces molécules ne sont plus utilisées à l'heure actuelle en France en pratique.

Les différentes combinaisons thérapeutiques possibles en France et recommandées par l'AFEF en 2018 sont présentées dans le Tableau 5. A leur arrivée en 2014 et en raison de leur coût très élevé, l'indication de ces traitements a d'abord été restreinte aux malades ayant une maladie hépatique sévère, des manifestations extrahépatiques ou une coinfection par le VIH. L'accès universel à ces traitements a été annoncé par la ministre de la Santé en Mai 2016 et mis en place en 2017 après une renégociation des coûts associés. (1) De plus, certains AAD (l'inhibiteur de protéase NS3/4A le

siméprevir et la trithérapie paritaprévir/ombitasvir/dasabuvir) ont été utilisés pendant plusieurs années après leur mise sur le marché mais étant donné l'arrivée a posteriori de nouvelles molécules avec une barrière génétique et une efficacité antivirale plus élevée, ces derniers ont été retirés du marché. La ribavirine était également très régulièrement utilisée dans les combinaisons antivirales comprenant des AAD de première génération. Sa place à l'heure actuelle depuis l'arrivée d'AAD ayant des taux de réponse très élevés est devenue mineure (Tableau 5).

L'objectif du traitement par AAD reste similaire à celui des précédents traitements avec comme ligne de mire une RVS. Le suivi des patients initiant un traitement par AAD est recommandé toutes les 4 semaines par l'AFEF notamment chez les patients cirrhotiques afin de s'assurer de la bonne observance thérapeutique, d'évaluer les effets secondaires potentiels et de repérer d'éventuelles interactions médicamenteuses. (9)

Tableau 5. Recommandations de combinaison d'AAD pour le traitement de l'hépatite C chronique chez les patients sans cirrhose décompensée (d'après l'AFEF 2018) (9)

Conditions	Traitement	Durée (semaines)
Parcours simplifié¹		
Pangénotypique	Sofosbuvir + Velpatasvir	12
	Glécaprévir + Pibrentasvir	8
Parcours spécialisé		
Pangénotypique	Sofosbuvir + Velpatasvir	12
	Glécaprévir + Pibrentasvir	8 - 16
Génotype 1 sans maladie hépatique sévère	Sofosbuvir + Lédipasvir	8
Génotype 1b ou Génotype 1a avec charge virale initiale < 800 000 UI/mL ou génotype 4 naïf de traitement par PEG-IFN/RBV	Grazoprévir + Elbasvir	12
En échec d'un traitement par AAD de 1^{ère} génération²		
Génotype 3 et cirrhotique	Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprévir	12
	Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprévir ± ribavirine	12-24
En échec d'un traitement comprenant un anti-NS5A de 2^{ème} génération³		
Aucune option thérapeutique recommandée à ce jour		

¹Les conditions pour pouvoir rentrer dans ce parcours simplifié: absence de coinfection VIH et/ou VHB, absence d'insuffisance rénale sévère (DFG<30mL/min/1,73m²), absence de comorbidité hépatique mal contrôlée, absence de maladie hépatique sévère et absence de traitement antiviral VHC antérieur

² Les combinaisons d'AAD considérées ici sont: sofosbuvir+ribavirine, sofosbuvir+simeprevir, sofosbuvir+daclatasvir, sofosbuvir+ledipasvir et paritaprevir+ombitasvir ± dasabuvir

³ Les AAD anti-NS5A de 2^{ème} génération sont: l'elbasvir, pibrentasvir et velpastasvir

3.3.2 Taux de réponse au traitement et facteurs prédictifs

Actuellement, les traitements par AAD assurent une RVS chez plus de 90 à 95% des patients traités et ce quels que soient le génotype, la présence d'une ou plusieurs comorbidités et l'échec à un précédent traitement par AAD (et la potentielle présence de substitutions associées à une résistance). (153,154) Peu de facteurs prédictifs de réponse ont donc été identifiés lors de l'utilisation des dernières combinaisons d'AAD recommandés du fait des taux de réponse très élevés.

Concernant les mutations de résistance, tout traitement antiviral peut naturellement entraîner l'émergence spontanée de populations de virions présentant des substitutions associées à une résistance vis-à-vis des AAD utilisés, lié au processus de pression de sélection. Ces populations de variants résistants vont être caractérisées majoritairement par leur fitness, qui correspond à la capacité relative de se répliquer dans un environnement donné. Bien que les traitements utilisés actuellement permettent une RVS dans plus de 90-95% des cas, parmi les 5-10% d'individus non répondeurs, une portion d'entre eux présente probablement une ou des population(s) virale(s) résistante(s) pouvant ainsi expliquer l'échec observé. Toutefois, la recherche de variants résistants par des techniques de PCR avant l'instauration d'un nouveau traitement chez les patients en échec d'une première ligne n'est pas recommandée dans le cas général. Celle-ci est conseillée par l'AFEF uniquement chez les patients en échec d'un traitement de première ligne comprenant un inhibiteur de NS5A de 2^{ème} génération (elbasvir, pibrentasvir et velpatasvir) au plus près de l'initiation du nouveau traitement. (9)

Lors de leur arrivée en 2014, le peu de recul disponible sur les taux élevés annoncés dans les études de phase III, leur coût élevé et leur restriction d'accès nous ont poussés à réaliser une étude de cohorte rétrospective dans l'objectif d'analyser les facteurs prédictifs de réponse virologique ainsi que l'impact des dosages pharmacologiques sur la cinétique virale. Cette étude est détaillée dans la partie 5 de ce manuscrit.

3.3.2.1 Efficacité des traitements par AAD dans la population co-infectée VIH-VHC

Concernant la population co-infectée VIH-VHC, les traitements par AAD de 2^{ème} génération sont à l'heure actuelle ceux recommandés pour le traitement de l'infection par le VHC. (155) L'efficacité et la tolérance de ces derniers sont similaires à celles observées dans la population mono-infectée VHC comme ont pu le montrer les résultats de deux grandes études de cohorte françaises : la cohorte ANRS CO23 HepaVIH et la cohorte d'autorisation temporaire d'utilisation (ATU) daclatasvir. (156,157) Ces deux études ont pu montrer que le taux de RVS était de plus de 90% et ce quelle que soit la combinaison de molécules considérée, le statut du patient (présence ou non d'une cirrhose, en échec

d'un précédent traitement anti-VHC ou naïf, la charge virale VIH et le traitement antirétroviral), la durée du traitement par AAD et l'utilisation concomitante de ribavirine. La tolérance de ces traitements était également très bonne, des troubles intestinaux légers et une asthénie ayant été principalement décrits. Des résultats similaires en termes d'efficacité virologique ont pu être observés dans la cohorte Dat'AIDs en 2015. (18)

3.3.3 Technique de dosage des AAD

Les dosages de daclatasvir et de sofosbuvir ont été réalisés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse tandem (LC-MS/MS par Xevo TQ) dans le service de pharmacologie spécialisé du laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire de l'hôpital Edouard Herriot à Lyon. Des solutions marquées permettent un étalonnage interne et des gammes de concentrations servent de points de calibration à la méthode. Les échantillons sont prélevés sur des tubes héparinés avec gel. Après le traitement de 50µL de plasma décanté par une solution de précipitation et par un flux d'azote, 5µL de la solution finale est injecté dans un chromatogramme afin de séparer les espèces présentes puis la détection est faite par un spectromètre de masse en tandem. Les concentrations plasmatiques en mg/L du sofosbuvir et du daclatasvir sont ainsi obtenues. En ce qui concerne le sofosbuvir, le dosage le plus pertinent à recueillir est celui de son métabolite actif circulant: le GS-331007. (158) En effet, la concentration résiduelle du sofosbuvir est presque toujours indétectable avec cette méthode. La concentration résiduelle, c'est-à-dire la concentration plasmatique de référence 24 heures après la prise, est de 0,095 mg/L pour le GS-331007 et de 0,210 mg/L pour le daclatasvir. Depuis la réalisation de cette étude, de nombreuses autres molécules sont apparues sur le marché afin de répondre aux besoins de tous les génotypes du VHC et de tous les profils de patients. Ce sont ces techniques de dosage qui ont été utilisées dans l'étude analysant l'impact des dosages de sofosbuvir et daclatasvir sur la RVS présentée dans le chapitre 4 de ce manuscrit.

4 Optimisation de l'efficacité et de la tolérance des traitements par AAD

4.1 Optimisation de la réponse virologique et de la tolérance des traitements par trithérapie

4.1.1 Présentation des articles

La trithérapie composée de PEG-IFN/RBV et d'un inhibiteur de protéase a reçu son AMM en France en Juillet 2011 pour le bocéprévir et en Septembre 2011 pour le télaprévir. Cette trithérapie a ouvert la nouvelle ère des AAD avec des taux de RVS annoncés dans les différents essais cliniques de phase III de 60-70% contre les 40-50% pour la bithérapie. (126–129,134) Ce taux de réponse variant en fonction

du statut vis-a-vis de la bithérapie était toutefois prometteur même chez les patients cirrhotiques. C'est dans cette optique que la cohorte CUPIC a été conçue afin d'analyser l'impact et la tolérance de ces nouveaux traitements chez les patients expérimentés et cirrhotiques. En effet, dans les essais de phase III la tolérance au traitement n'était pas optimale, avec des effets indésirables plus fréquents chez les patients traités par trithérapie que bithérapie. (126–129,134) Concernant les cinétiques de décroissance de la charge virale, une diminution $>1\log_{10}$ de la charge virale à la 4^{ème} semaine (S4) pour le traitement par bocéprévir a été associée à une RVS et 86-88% des patients avec un ARN indétectable à la 8^{ème} semaine (S8) de traitement avaient une RVS. (126,132) Pour le télaprévir, c'était la eRVR qui était le facteur de cinétique virale le plus prédictif de RVS. Dans le cadre de la cohorte CUPIC, l'analyse de la RVR et de la eRVR a montré que l'indétectabilité de l'ARN viral à S4 pour le télaprévir et à S8 pour le bocéprévir était le plus associé avec une RVS. (159)

Face aux résultats des phases III et à ceux de la cohorte CUPIC, des incertitudes concernant la tolérance et les taux de guérison dans le cadre de la "vraie vie" nous ont poussées à réaliser deux études: (i) une première étude à l'échelle locale afin d'évaluer l'efficacité de ces traitements ainsi que les facteurs prédictifs de réponse, par une analyse en régression logistique et la tolérance par un suivi longitudinal des paramètres biologiques; (ii) une deuxième étude à l'échelle nationale dans la cohorte CUPIC afin d'analyser plus finement la cinétique virale précoce (mesure de la charge virale à la 2^{ème} semaine (S2) pour le télaprévir et à la 6^{ème} semaine (S6) pour le bocéprévir) et son potentiel impact sur la RVS grâce à une analyse par courbe ROC.

Dans la première étude locale publiée dans *Journal of Viral Hepatitis*, une cohorte rétrospective de 186 patients suivis à la Croix-Rousse et traités par trithérapie (69% par télaprévir et 31% par bocéprévir + PEG-IFN/RBV) entre Janvier 2011 et Novembre 2012 a été constituée. Une partie de ces patients (22%) étaient également inclus dans la cohorte nationale CUPIC (soit 6% des patients de la cohorte) et 61% d'entre eux étaient cirrhotiques. Concernant la réponse virologique précoce, une RVR a été observée chez 58% d'entre eux tandis qu'une eRVR chez 57% d'entre eux. Le taux de RVS global était de 53% sans différence significative entre les deux molécules. Ce taux variait en fonction de la réponse à une précédente bithérapie: 31% pour les non-répondeurs, 59% pour les répondeurs partiels, 75% pour les rechuteurs et 63% pour les naïfs. Les analyses multivariées des facteurs prédictifs de réponse virologique d'eRVR et de RVS par des analyses en régression logistique retrouvaient: pour la eRVR qu'une charge virale VHC basse était positivement corrélée à une eRVR tandis qu'un statut de non-répondeur à la bithérapie était négativement corrélé; pour la RVS, seul le statut de non-répondeur à la bithérapie était associé à un risque diminué. Concernant la tolérance au traitement, des effets secondaires similaires à ceux rapportés dans les études de phase III (mauvaise tolérance hémodynamique, prurit et dysgueusie) ont été observés. L'analyse longitudinale des paramètres

biologiques a toutefois retrouvé une diminution significative du débit de filtration glomérulaire (DFG) évalué par l'échelle de MDRD (Model for End-Stage Liver Disease) pour les deux inhibiteurs de protéase. En parallèle de cette diminution, le score de MELD augmentait au cours du traitement et ce de façon corrélée aux concentrations de créatinine. A l'arrêt de l'inhibiteur de protéase, le DFG retrouvait une valeur normale pour les patients sous télaprevir uniquement.

La deuxième étude rapportée ci-dessous décrit l'analyse de la cinétique virale précoce et son potentiel caractère prédictif de RVS au sein de la cohorte française CUPIC. Les patients inclus étaient des cirrhotiques compensés de génotype 1 en échec d'une bithérapie PEG-IFN/RBV et traités par trithérapie dans 56 centres français entre Février 2011 et Avril 2012. Les patients ayant des données de charge virale à la 2^{ème} semaine (télaprevir) ou à la 6^{ème} semaine (bocéprevir) de traitement sans coinfection VHB ou VIH, non transplantés et sans insuffisance rénale ont été inclus. Un total de 262 patients a été analysé (90 traités par bocéprevir et 172 traités par télaprevir + PEG-IFN/RBV). Aucune différence n'a été retrouvée concernant les caractéristiques démographiques entre les deux groupes avec une bonne représentativité par rapport à l'ensemble de la cohorte CUPIC. Les taux de RVS étaient de 55% pour le télaprevir et de 46% pour le bocéprevir. Concernant la mesure de la charge virale à S2 pour le télaprevir, 28% des patients avait un ARN indétectable à S2 et 86% d'entre eux ont atteint une RVS, tandis que 67% avait un ARN indétectable à S4 et 67% d'entre eux une RVS. Concernant le bocéprevir, 20% des patients avait un ARN indétectable à S6 et 86% d'entre eux une RVS, tandis que 36% des patients avaient un ARN indétectable à S8 et 73% d'entre eux une RVS. La VPN de l'indétectabilité de l'ARN à S2 ou S6 sur la RVS était de 55% pour le télaprevir et de 63% pour le bocéprevir. La recherche d'un seuil optimal de décroissance virale entre J0 et S2 pour le télaprevir et entre J0 et S6 pour le bocéprevir grâce à une analyse par courbe ROC a montré qu'une décroissance de 70% de la charge virale pour le télaprevir et de 50% pour le bocéprevir était pertinente en terme de VPP (60% pour le télaprevir et 56% pour le bocéprevir). La VPN associée à ces seuils était alors de 63% pour le télaprevir et de 87% pour le bocéprevir. Un arbre de décision pour chacune des deux molécules a été réalisé à partir du statut avant le traitement vis-à-vis de la bithérapie et des seuils respectifs cités ci-dessus, arbres donnés seulement à titre indicatif les valeurs de VPP et de VPN étant trop basses. La mesure précoce de la charge virale à S2 ou S6 a également permis d'identifier les échappements virologiques précoces autrement non visibles si la mesure avait été réalisée uniquement à J0 et S4 ou S6 pour 4 patients sous télaprevir et 5 patients sous bocéprevir.

Ces deux études réalisées dans des cohortes de la "vraie vie" à l'arrivée de ces nouveaux traitements sur le marché en France ont pu montrer pour la première fois que les inhibiteurs de protéase avaient: (i) un effet délétère significatif sur la fonction rénale, (ii) des taux de RVS légèrement plus bas que ceux annoncés dans les essais cliniques de phase III avec un rôle significatif du type de réponse à une

précédente bithérapie sur le taux de RVS, (iii) une moindre pertinence du caractère prédictif de la eRVR sur la RVS. En effet, dans notre étude 20 à 30% des patients sans eRVR ont eu une RVS.

Concernant l'impact sur la fonction rénale, plusieurs études ont été publiées au même moment que la nôtre et montraient un impact similaire avec une diminution significative du DFG sous trithérapie. (160–162) Cet effet délétère sur la fonction rénale était réversible dans notre étude chez les patients traités par télaprévir, ce qui n'était pas observé chez les patients sous bocéprévir, probablement lié à un suivi post-traitement trop court. Le mécanisme d'action à l'échelle cellulaire reste incompris même si certains transporteurs de cations bloqués par les inhibiteurs de protéase seraient probablement impliqués. (163) Cet impact sur la fonction rénale a probablement des effets directs sur les dosages de ribavirine et sur les potentiels effets secondaires observés durant ces traitements. Cet effet a été exploré dans l'étude sur les dosages de ribavirine pendant la trithérapie présentée dans la partie 5 de ce manuscrit. Parmi les limites de notre étude, on retient en particulier le design rétrospectif et l'absence de données concernant la sévérité de la cirrhose (albumine et examens d'endoscopie). L'impact sur la fonction rénale non rapporté dans les études de phase III justifie l'importance de réaliser des études dans des conditions de la "vraie vie". Notre étude a permis de lancer un "signal d'alarme" concernant l'importance du suivi de la fonction rénale au cours de ces traitements.

Dans la seconde étude, l'impact de la mesure précoce de la charge virale sur la prédiction d'une RVS a montré qu'il était plus pertinent de mesurer à S2 et S6 la charge virale plutôt qu'à S4 et S8 pour le télaprévir et le bocéprévir. Toutefois, les VPP retrouvées dans nos analyses pour chacune des trithérapies étaient trop basses pour pouvoir utiliser nos conclusions à grande échelle. En effet, l'arrêt précoce du traitement chez un patient n'ayant pas négativé à S2 ou à S6 n'est pas recommandé car dans notre étude 45% des patients sous télaprévir atteignaient quand même une RVS et 37% sous bocéprévir. Cette mesure précoce a permis d'identifier les échappements virologiques précoces qui seraient passés inaperçus en évaluant uniquement la charge virale à J0 et à S4. Ce dépistage des échappeurs a permis un arrêt précoce du traitement voué à l'échec autrement chez ces patients et qui si poursuivi aurait probablement entretenu le processus de sélection de variants résistants. Ces résultats ont été observés sur la fin de la première vague d'AAD et leur impact sur la prise en charge thérapeutique a été restreint du fait de la rapidité des progrès thérapeutiques.

4.1.2 Articles

4.1.2.1 Article publié dans *Journal of Viral Hepatitis*



Journal of Viral Hepatitis, 2014, 21, e98–e107

doi:10.1111/jvh.12237

Boceprevir and telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C: virological efficacy and impact on kidney function and model for end-stage liver disease score

V. Virlogeux,^{1,2,3,4} P. Pradat,^{1,2,3} F. Bailly,^{1,2,3} G. Funingana,¹ F. Gonçalves,¹ M. Maynard,¹ K. Hartig-Lavie,¹ M. Amiri¹ and F. Zoulim^{1,2,3,5} ¹Department of Hepatology, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France; ²Lyon University, Lyon, France; ³Inserm U1052, Lyon, France; ⁴ENS, Lyon, France; and ⁵Institut Universitaire de France, Paris, France

Received September 2013; accepted for publication December 2013

SUMMARY. Triple therapy using telaprevir or boceprevir [hepatitis C virus (HCV)-NS3/NS4A protease inhibitors (PI)] in association with PEG-IFN/ribavirin has recently become the new standard of care (SOC) for treatment of HCV genotype 1 patients. Our objective was to assess the efficacy and tolerance of triple therapy in routine clinical practice. A total of 186 consecutive HCV patients initiating triple therapy were enrolled in a single centre study. Clinical, biological and virological data were collected at baseline and during follow-up as well as tolerance and side effect details. Among 186 HCV patients initiating triple therapy, 69% received telaprevir and 31% boceprevir. Sixty-one per cent of patients had cirrhosis. The overall extended rapid virological response (eVR) rate and sustained virological response (SVR) rate were 57.0% and 59.7%, respectively. IL28B CC phenotype was associated with increased probability of achieving eVR and SVR, whereas previous non-response was associated with low

eVR and SVR rates. The SVR rate increased from 30.8% in previously non-responders to 59.1% in partial non-responders and 75% in relapsers. SVR rate in naive patients was 62.5%. Glomerular filtration rate assessed by MDRD after 12 weeks of therapy was significantly reduced for both PI ($P < 0.001$). The model for end-stage liver disease (MELD) score was significantly increased at W12 for telaprevir ($P = 0.008$) and at W24 for boceprevir ($P = 0.027$). PI-based triple therapy leads to high rates of virological response even in previously non-responder patients. Renal function after triple therapy is impaired as well as MELD score in all patients. Cautious clinical monitoring should focus not only on haematological and dermatological side effects but also on renal function.

Keywords: glomerular filtration rate, hepatitis C virus, pegylated interferon, protease inhibitor, renal function, ribavirin, triple therapy, virological response.

INTRODUCTION

About 130–170 million people are chronically infected with the hepatitis C virus (HCV) worldwide [1], with 9 million infected in the United States and Western Europe [2,3]. During the past decade, the standard of care for HCV treatment was a combination of pegylated interferon (PEG-IFN) plus ribavirin (RBV), allowing a sustained virological response

(SVR) rate of about 50% in patients with HCV genotype 1 [4,5]. Response to therapy varied according to genotype with genotype 1 and 4 patients achieving lower SVR rates than patients infected with genotype 2 or 3 (40–50% vs >80%, respectively) [5,6]. Thus, the low SVR rate in genotype 1 and the poor response rates observed in special populations such as black patients and cirrhotics [7,8] have driven the development of novel antiviral therapies, and the

Abbreviations: ANRS, National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis; ANSM, The French National Agency for Medicines and Health Products Safety; BMI, body mass index; EPO, Erythropoietin; eVR, extended rapid virological response; GFR, glomerular filtration rate; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; INR, International Normalized Ratio; ITT, intention-to-treat; MATE1, multidrug and toxin extrusion type transporter 1; MATE, multidrug and toxin extrusion; MELD, model for end-stage liver disease; NPV, negative predictive value; PEG-IFN, pegylated interferon; PI, protease inhibitors; PPV, positive predictive value; RBV, ribavirin; RVR, rapid virological response; SAE, severe adverse events; SVR, sustained virological response.

Correspondence: Prof. Fabien Zoulim, INSERM U1052, 151 Cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France.
E-mail: fabien.zoulim@inserm.fr

© 2014 John Wiley & Sons Ltd

combination of boceprevir or telaprevir – two protease inhibitors (PI) of the NS3/NS4A of HCV – with PEG-IFN/RBV has become the new standard of care since the end of 2011 [9,10]. In boceprevir-based triple therapy, results from phase III clinical trials reported 60% of SVR for naïve patients (SPRINT-2 study, [11]) and 63% for relapsers and previous partial non-responders (RESPOND-2 study [12]). For telaprevir, SVR was reached in 75% of naïve patients (ADVANCE [13] and ILLUMINATE [14] studies) and 71% of previous relapsers or partial non-responders (REALIZE) [15]. Several side effects have been reported in phase III trials such as haematological side effects but also specific side effects such as pruritus for telaprevir and dysgeusia for boceprevir [12,13]. More recently, renal impairment has also been associated with telaprevir intake during triple therapy [16]. However, data on triple therapy outside clinical trials are scarce.

The objective of the present study was thus to assess the efficacy and tolerance of triple therapy in routine clinical practice with a special focus on renal function.

MATERIALS AND METHODS

Patients

All patients ($n = 186$) receiving a triple therapy with boceprevir or telaprevir in association with PEG-IFN/RBV at the Department of Hepatology of the Croix-Rousse Hospital, Lyon, France between January 2011 and November 2012 were enrolled. Among them, 40 (22%) were part of the CUPIC cohort with the following inclusion criteria: fibrosis stage IV (i.e. cirrhosis), relapser or partial responder ($>2 \log_{10}$ HCV RNA decline at Week 12) to a previous PEG-IFN/RBV therapy, HCV genotype 1, no viral co-infection and no transplantation. These patients received triple therapy as compassionate use before the PI marketing authorization in France (Boceprevir: 18/07/2011 and Telaprevir: 19/9/2011) in an early access programme from The French National Agency for Medicines and Health Products Safety (ANSM). The CUPIC cohort was sponsored by the National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis (ANRS). The remaining 146 patients started their treatment after the marketing authorization. The only inclusion criterion was HCV genotype 1 and absence of cirrhosis decompensation. All patients received triple therapy planned for 48 weeks as either PEG-IFN/RBV for 4 weeks + boceprevir/PEG-IFN/RBV for 44 weeks for boceprevir-treated patients or telaprevir/PEG-IFN/RBV for 12 weeks + PEG-IFN/RBV for 36 weeks for telaprevir-treated patients. The choice of protease inhibitor was at the discretion of the physician and independent of the patient's characteristics such as presence or absence of cirrhosis, high initial viral load, previous treatment response or IL28B genotype. PEG-IFN alpha-2a was prescribed in 82% of cases and alpha-2b in 18%. No difference in distribution of PEG-IFN type was observed between boceprevir and telaprevir.

In this prospective study, demographic, biochemical and virological data were collected at baseline and at different time points during and after therapy to assess treatment efficacy and safety. Fibrosis was assessed using the METAVIR scoring system [17]. The cut-offs used in this study to evaluate fibrosis score using transient elastography (FibroScan; Echoscans, Paris, France) were 9.5 for F3 and 12.5 for F4 patients [18]. Some patients declined being treated by triple therapy. The most frequent argument was the presence of potential heavy side effects and the long duration of treatment.

Virological response

Rapid virological response (RVR) was defined as undetectable HCV RNA 4 weeks after treatment initiation and extended rapid virological response (eRVR) as undetectable HCV RNA at weeks 8 and 24 of therapy for boceprevir-treated patients or undetectable HCV RNA at weeks 4 and 12 for telaprevir-treated patients [15]. SVR was defined as undetectable HCV RNA by sensitive assay (Abbott real-time PCR; Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA) 12 weeks after treatment end. Limit of HCV RNA detection was 12 IU/mL.

Safety

Data on adverse events (ANRS classification), modifications of treatment, severe adverse events (SAE) and additional treatments were collected. Erythropoietin (EPO) was used when haemoglobin level was below 10 g/L. If the use of EPO was not effective enough, RBV dose was reduced. PEG-IFN dose was reduced when platelet level was below $60.10^9/L$. The model for end-stage liver disease (MELD) score ($MELD = 3.78 [Ln \text{ serum bilirubin (mg/dL)}] + 11.2 [Ln INR] + 9.57 [Ln \text{ serum creatinine (mg/dL)}] + 6.43$; any value less than one was given a value of 1) [19] and glomerular filtration rate (GFR) assessed by the MDRD formula [20] – mostly used in France in routine clinical practice – were evaluated during triple therapy and 3 months after PI cessation to evaluate specific effects of treatment on liver health (MELD score) and on renal function (GFR).

Ethical consideration

All patients included in this study gave their written inform consent to allow the use of their personal clinical data in accordance with ethics regulations defined in France by the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

Statistical analysis

Nominal and categorical parameters were expressed as absolute numbers and percentages. Mean and standard deviation ($\pm SD$) were calculated for normally distributed

variables, and median and interquartile ranges for non-normally distributed variables.

Characteristics were compared between both groups of patients using a Pearson's Chi-square test for categorical parameters and a *t*-test or a non-parametric Mann-Whitney test for continuous parameters.

The relationship between treatment response and patients' characteristics was studied using a binary logistic regression analysis with an intention-to-treat (ITT) approach [21]. For all analyses, a two-tailed significance testing and a significance level of 0.05 were used. Statistical analysis was performed using SPSS version 19 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

Patient characteristics

Data on 186 consecutive HCV patients initiating triple therapy were analysed among whom 128 (69%) received telaprevir and 58 (31%) received boceprevir. Patient characteristics are presented in Table 1. No clear-cut difference appeared between both groups of patients. Male gender was predominant (67.7%), and mean age was 55.2 years (± 10.9). About 48% of patients were infected by HCV genotype 1a and 52% by genotype 1b. Twenty-two per cent of patients were treatment naive, 27% were relapsers and 49% were non-responders or partial responders to PEG-IFN/RBV combination. Sixty-one per cent of patients had cirrhosis. In the telaprevir subgroup, 2/128 patients were co-infected with HIV and 1/128 with HBV, whereas in the boceprevir subgroup, 2/58 were co-infected with HIV and 3/58 with HBV. Both groups of patients were comparable and were pooled together for specific analyses.

Virological response

The overall eRVR rate was 57%. In telaprevir-treated patients, eRVR rate (60%) was slightly higher than that for boceprevir (50%) but the difference did not reach statistical significance ($P = 0.231$). The overall RVR rate was 58%. Similarly, no significant difference was observed for RVR with 61% and 51% for telaprevir and boceprevir, respectively. Among 141 patients with information on SVR, the overall SVR rate was 52.5% varying from 46.9% for boceprevir to 55.4% for telaprevir (ITT analysis; $P = 0.336$). The SVR rate increased from 30.8% in previous non-responders to 59.1% in partial non-responders and 75% in relapsers. SVR rate in naive patients was 62.5%. Among patients with an end-of-treatment response, the relapse rate was higher among boceprevir-treated patients (30.3%) than among telaprevir-treated patients (12.1%; $P = 0.032$), whereas the proportion of true non-responders was similar in both treatment groups (16.9%). The overall rate of viral breakthrough was 8.5% varying from 6.1% in

boceprevir-treated patients to 9.8% in telaprevir-treated patients ($P = 0.757$). Among boceprevir-treated patients with a decrease in initial viral load >1 log at the end of the lead-in phase (week 4), 65% achieved SVR (positive predictive value, PPV), whereas 87% of patients with a decrease <1 log did not achieve SVR (negative predictive value, NPV). Fourteen per cent of patients receiving telaprevir stopped triple therapy because of adverse events compared with 8.1% of patients receiving boceprevir ($P = 0.300$).

Among patients with eRVR, 77% achieved SVR (PPV), whereas 5% had a breakthrough and 18% relapsed. Among patients without eRVR, 71% did not achieve SVR (NPV; 48% were non-responders, 14% had a breakthrough and 9% relapsed), whereas 29% still achieved SVR.

Factors associated with virological response

Univariate analysis showed that low baseline viral load and IL28B CC phenotype were associated with increased probability of achieving eRVR (Table 2). Conversely, null response to a previous course of therapy was associated with lower probability of eRVR (OR = 0.33; $P = 0.022$). Except for IL28B not retained in the model (too limited number of patients with IL28B information), these variables remained associated with eRVR after multivariate analysis.

Predictive factors of SVR were also studied with univariate and multivariate analysis (Table 3). In univariate analysis, IL28B CC phenotype was associated with SVR (OR = 3.54; $P = 0.031$), whereas null response to previous therapy (OR = 0.27; $P = 0.011$) was associated with failure to achieve SVR. Presence of cirrhosis was slightly above significance (OR = 0.53; $P = 0.082$). However, baseline viral load was not associated with SVR (OR = 0.85; $P = 0.310$). Using multivariate analysis, only null response to previous therapy remained associated with a low chance to achieve SVR (OR = 0.25; $P = 0.039$).

Evaluation of liver and renal functions

The evaluation of liver function (Fig. 1a) showed a significant increase in the MELD score after 12 weeks of treatment by telaprevir ($P = 0.008$) and after 24 weeks of treatment by boceprevir ($P = 0.025$). A significant decrease was also observed after cessation of telaprevir at W24 ($P = 0.015$) with a return to initial values (comparison between D0 and W24 gives $P = 0.672$). Variations in the three independent parameters of the MELD score (Fig. 1b) showed that the major parameter correlated with MELD score variations was creatinine level. No significant difference of MELD score variations was observed between cirrhotic and non-cirrhotic patients.

A significant decrease in GFR was observed in both treatment groups after the introduction of the protease

Table 1 Patient characteristics at baseline

Characteristics	Telaprevir (n = 128)	Boceprevir (n = 58)	Total	P
Age (years); mean ± SD	55.8 ± 10.1	53.8 ± 12.4	55.2 ± 10.9	0.235
Male gender, n (%)	86 (67.2)	40 (69.0)	126 (67.7)	0.810
BMI > 25, n (%) (n = 150)	50 (50.0)	30 (60.0)	80 (53.3)	0.247
Genotype, n (%) (n = 151)				
1a	54 (51.4)	18 (39.1)	72 (47.7)	0.164
1b	51 (48.6)	28 (60.9)	79 (52.3)	
Previous treatment response, n (%) (n = 176)				
Naïve	28 (23.0)	11 (20.4)	39 (22.2)	0.918
Relapser	30 (24.6)	17 (31.5)	47 (26.7)	
Viral breakthrough	2 (1.6)	1 (1.9)	3 (1.7)	
Partial response	22 (18.0)	9 (16.7)	31 (17.6)	
Null response	40 (32.8)	16 (29.6)	56 (31.8)	
Diabetes, n (%) (n = 166)	24 (21.4)	12 (22.2)	36 (21.7)	0.907
Histology*, n (%) (n = 181)				
F0–F1	23 (18.4)	5 (8.9)	28 (15.5)	0.155
F2	26 (20.8)	17 (30.4)	43 (23.8)	
F3–F4	76 (60.8)	34 (60.7)	110 (60.8)	
IL28B Genotype, n (%) (n = 70)				
C/C	13 (27.1)	7 (31.8)	20 (28.6)	0.577
C/T	29 (60.4)	14 (63.6)	43 (61.4)	
T/T	6 (12.5)	1 (4.5)	7 (10.0)	
Anti-HBc, n (%) (n = 139)				
Presence	35 (36.5)	20 (46.5)	55 (39.6)	0.263
Absence	61 (63.5)	23 (53.5)	84 (60.4)	
Average duration of infection (years), mean ± SD (n = 80)	32.0 ± 9.0	33.8 ± 7.7	32.6 ± 8.6	0.387
Viral load in log IU/mL, mean ± SD (n = 167)	6.0 ± 0.84	5.8 ± 0.68	5.9 ± 0.79	0.145
ALT > ULN, n (%) (n = 158)	37 (33.0)	21 (45.7)	58 (36.7)	0.135
Creatinine level in µmol/L, mean ± SD (n = 149)	65.9 ± 17.9	60.4 ± 18.6	64.2 ± 18.2	0.090
Model for end-stage liver disease score, mean ± SD (n = 114)	7.65 ± 1.57	7.63 ± 1.31	7.64 ± 1.49	0.936

*Assessed in 89% of patients by transient elastography (FibroScan), 6% by Fibrotest and 5% by liver biopsy.

inhibitor (Fig. 2). Three months after telaprevir withdrawal, a return to normal values was observed whereas for boceprevir-treated patients, the GFR remained significantly below the baseline value three months after the end of treatment. Figure 2(c,d) shows that 42% of patients receiving telaprevir had their GFR below 90 mL/mn/1.73 m² during triple therapy (vs 28% at baseline) compared with about 33% for boceprevir (vs 9% at baseline). At week 12, the proportion of cirrhotics was similar in the three GFR different groups (<60, 60–90 and >90; *P* = 0.164). Moreover, more than 40% of all patients had a maximal GFR decrease >20 mL/mn/1.73 m² (40% for telaprevir vs 48% for boceprevir).

When looking at the association between renal function and virological response, it appears that 86% of patients with a GFR decrease >20 mL/mn/1.73 m² after telaprevir exposure achieved eRVR compared with only 51% among

patients with a GFR decrease <20 mL/mn/1.73 m² (*P* < 0.001). This association was not observed either for SVR or for boceprevir-treated patients. Other factors such as age, gender, body mass index (BMI) and fibrosis stage were not correlated with a more significant decrease in GFR.

Side effects

Both drugs had heavy side effects (Table 4). More than half of patients had some sign of anaemia (63% for boceprevir and 47% for telaprevir; *P* = 0.050). The overall thrombocytopenia rate was 35% and was slightly more frequent with boceprevir (44%) than for telaprevir (30%) although this difference did not reach statistical significance. Neutropenia was reported in 32% of all patients and was also more frequent after boceprevir exposure (52.5%) than after telaprevir use (23%; *P* < 0.001).

Table 2 Predictive factors of extended rapid virological response

Characteristics	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR [95% CI]	P	OR [95% CI] (n = 111)	P
Age (n = 149)	0.98 [0.95–1.01]	0.293	–	–
Gender – M vs F (n = 124)	1.83 [0.90–3.71]	0.092	1.84 [0.68–4.97]	0.231
Obesity (BMI > 25) – presence vs absence (n = 123)	1.01 [0.50–2.06]	0.972	–	–
Diabetes – presence vs absence (n = 136)	0.90 [0.38–2.12]	0.816	–	–
ALT IU/L at baseline (n = 117)	1.00 [0.99–1.00]	0.498	–	–
Initial histology – cirrhosis vs non-cirrhosis (n = 146)	0.60 [0.3–1.19]	0.326	0.43 [0.16–1.14]	0.089
Previous treatment response – vs naïve (n = 143)				
Viral breakthrough	1.00 [0.81–12.4]	1.000	0.08 [0–115]	0.495
Null response	0.33 [0.13–0.85]	0.022	0.26 [0.08–0.88]	0.030
Partial response	0.63 [0.21–1.83]	0.391	0.39 [0.09–1.69]	0.210
Relapse	1.25 [0.43–3.59]	0.679	0.77 [0.22–2.71]	0.684
Genotype – 1b vs 1a (n = 118)	1.53 [0.73–3.19]	0.254	2.39 [0.93–6.12]	0.070
Initial viral load (n = 147)	0.58 [0.39–0.87]	0.008	0.48 [0.27–0.86]	0.014
Anti-HBc antibody – presence vs absence (n = 118)	0.93 [0.45–1.94]	0.844	–	–
IL28 genotype* – C/C vs C/T vs T/T (n = 57)	2.53 [0.98–6.55]	0.056	–	–

*This variable was not retained in the multivariate model since the information was available in a too limited number of patients.

Table 3 Predictive factors of sustained virological response (n = 141)

Characteristics	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR [95% CI]	P	OR [95% CI] (n = 102)	P
Age (n = 141)	1.02 [0.98–1.05]	0.351	–	–
Gender – M vs F (n = 141)	0.80 [0.40–1.60]	0.520	0.55 [0.20–1.49]	0.238
Obesity (BMI > 25) – presence vs absence (n = 117)	0.67 [0.32–1.39]	0.279	–	–
Diabetes – presence vs absence (n = 130)	1.09 [0.45–2.66]	0.855	–	–
ALT (n = 121)	0.99 [0.99–1.00]	0.047	–	–
Initial histology – cirrhosis vs non-cirrhosis (n = 139)	0.53 [0.26–1.08]	0.082	0.51 [0.19–1.35]	0.174
Previous treatment response vs naïve (n = 137)				
Viral breakthrough	1.20 [0.10–15.20]	0.888	0.43 [0.02–11.55]	0.617
Null response	0.27 [0.10–0.74]	0.011	0.25 [0.07–0.94]	0.039
Partial response	0.87 [0.27–2.84]	0.813	0.70 [0.15–3.33]	0.651
Relapse	1.80 [0.59–5.51]	0.303	1.62 [0.42–6.30]	0.484
Genotype – 1b vs 1a (n = 113)	1.50 [0.71–3.13]	0.297	1.54 [0.59–4.07]	0.379
Initial viral load (n = 134)	0.85 [0.62–1.17]	0.310	0.86 [0.57–1.29]	0.455
Anti-HBc antibody – presence vs absence (n = 109)	0.81 [0.38–1.76]	0.595	–	–
IL28 genotype* – C/C vs C/T vs T/T (n = 53)	3.54 [1.12–11.20]	0.031	–	–

*This variable was not retained in the multivariate model since the information was available in a too limited number of patients.

Concerning cutaneous adverse events, telaprevir induced more side effects than boceprevir with pruritus/erythema occurring in 72% and 54% of cases, respectively ($P = 0.018$), but no severe rash (generalized rash covering more than 50% of the body surface area) was

observed. Dysgeusia more often affected patients under boceprevir therapy (15% vs 7% for telaprevir; $P = 0.013$). No significant difference of side effect proportions was observed between cirrhotic and non-cirrhotic patients.

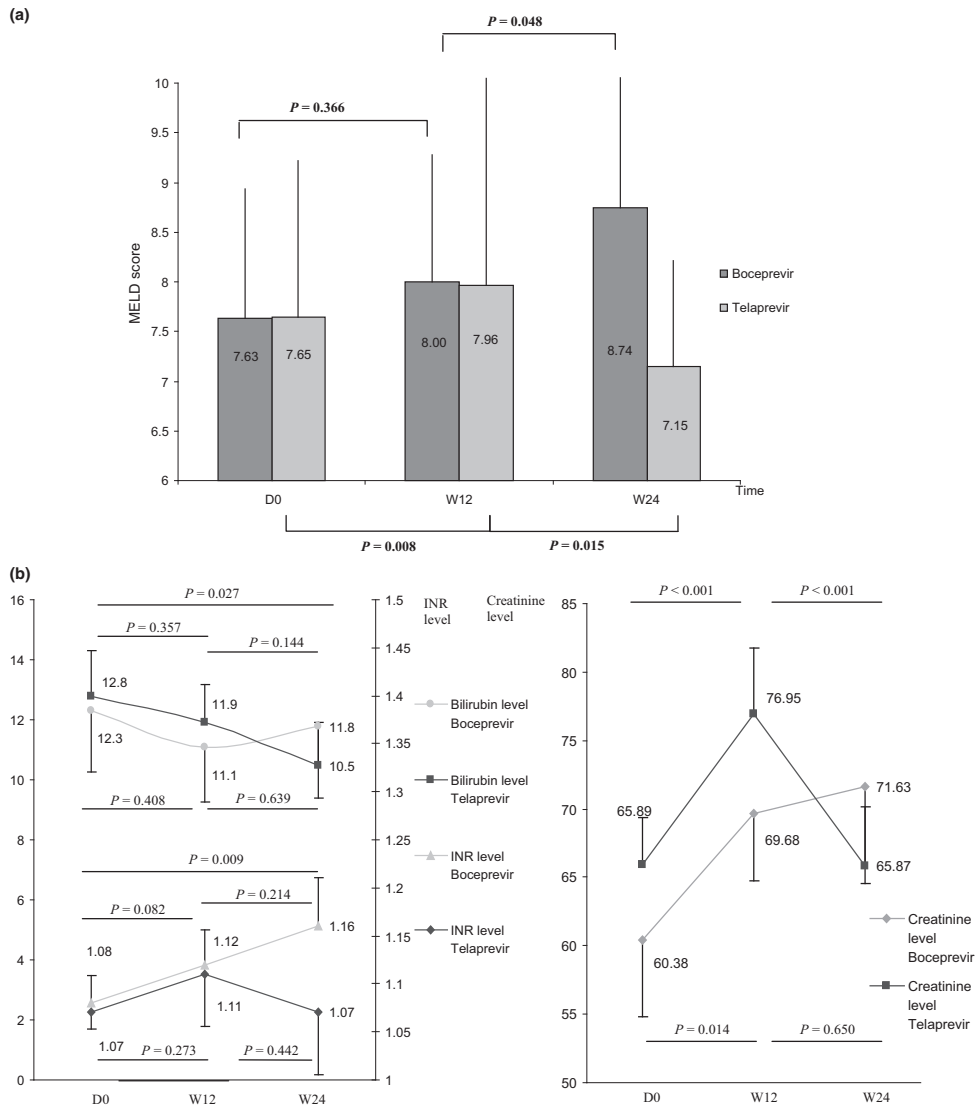


Fig. 1 Model for end-stage liver disease (MELD) score variations during triple therapy: (a) variations in MELD score during triple therapy. (b) Variations in bilirubin level, International Normalized Ratio (INR) level and creatinine level during triple therapy. Vertical bars indicate standard deviation.

Erythropoietin (EPO) seemed more often prescribed for patients receiving boceprevir (57.6%) than for patients receiving telaprevir (42%; $P = 0.065$) with an average time before EPO intake slightly shorter for telaprevir than for boceprevir (53 vs 66 days, respectively; $P = 0.191$).

DISCUSSION

Based on a large number of patients enrolled within routine clinical practice, this study reports an overall SVR rate of 52.5% varying from 48% in cirrhotic patients to 63% in

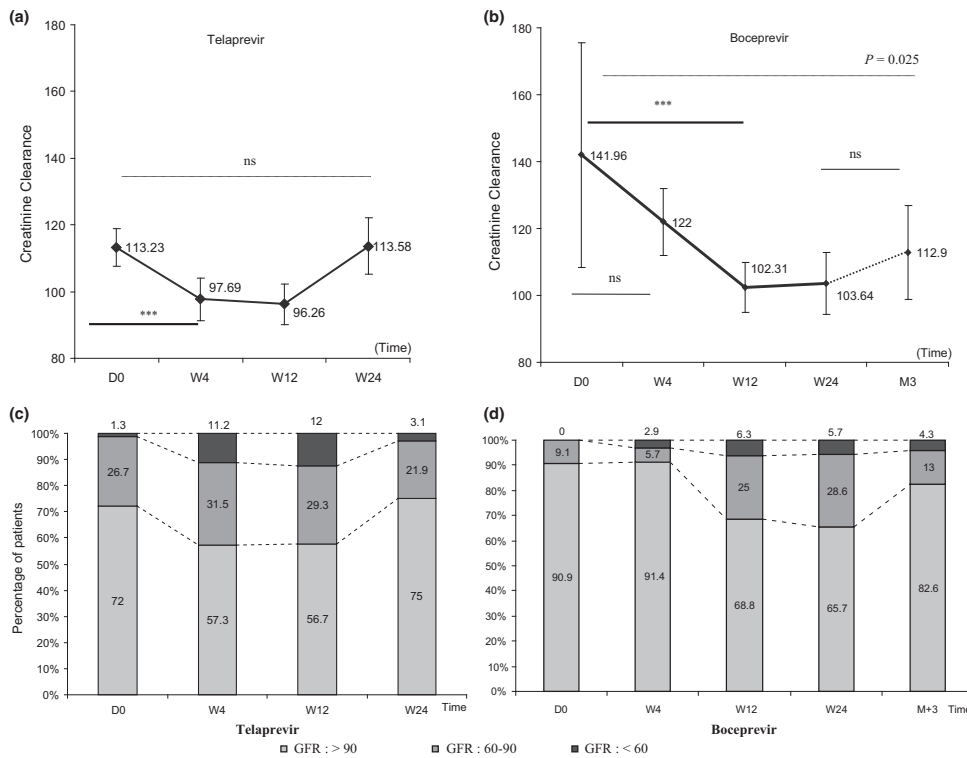


Fig. 2 Creatinine clearance variations during triple therapy. Creatinine clearance was calculated with the MDRD formula. (a, b) Creatinine clearance mean variations during triple therapy and 3 months after the end of therapy for boceprevir (M + 3) and 3 months after telaprevir withdrawal (W24). Vertical bars indicate 95% confidence interval. (c, d) Variations in proportions of patients with glomerular filtration rate (calculated with the MDRD formula) classified in three classes (>90, 60–90 and <60) during triple therapy (***P* < 0.001).

non-cirrhotics. These SVR rates are higher than those previously reported in patients receiving PEG-IFN/RBV combination therapy (20% of SVR in cirrhotics [22]) and are slightly higher than those reported in the CUPIC study based on cirrhotic patients only (44% for telaprevir vs 38% for boceprevir-treated patients) [23].

As expected, virological response is highly associated with response to previous therapy with SVR rates ranging from 31% in non-responders to about 63–69% in naive or relapsers/partial responders. These results are of the same magnitude as those reported in phase III trials [15].

Interestingly, 29% of patients failing to achieve eRVR in our study still achieved SVR, suggesting a slow virological response in these patients. Conversely, 23% of patients with eRVR had a subsequent virological breakthrough or relapse. eRVR was previously reported as being predictive of SVR [24]. However, our results illustrate that this is not

the case in 20–30% of patients and suggest that treatment could be successful with a slow virological response in patients without eRVR as about a third of them might still achieve SVR.

Univariate and multivariate analysis indicate that null response to previous therapy is associated with failure to achieve eRVR and SVR, whereas low baseline viral load seems to be associated with eRVR but not with SVR. The association between IL28B polymorphism and virological response did not reach statistical significance for eRVR despite elevated ORs but was associated with SVR, confirming the well-described association observed in PEG-IFN/RBV combination [25–27]. Viral genotype (1b vs 1a) is possibly associated with eRVR that is in line with previous observations [15]. Cirrhosis is often associated with failure to achieve SVR. In our study, despite an almost twofold higher risk of not achieving SVR in presence of cirrhosis,

Table 4 Side effects of triple therapy

Side effects	Telaprevir (n = 128)	Boceprevir (n = 58)	Total	P
Anaemia, n (%)	62 (47.3)	37 (62.7)	99 (52.1)	0.050
Degree ⁺ , n (%) (n = 56)				
1	19 (73.1)	22 (73.3)	41 (73.2)	0.189
2	7 (26.9)	4 (13.3)	11 (19.6)	
3	0	2 (6.7)	2 (3.6)	
4	0	2 (6.7)	2 (3.6)	
Thrombocytopenia, n (%)	40 (30.5)	26 (44.1)	66 (34.7)	0.070
Degree ⁺ , n (%) (n = 46)				
1	7 (31.8)	9 (37.5)	16 (34.8)	0.505
2	9 (40.9)	6 (25)	15 (32.6)	
3	6 (27.3)	9 (37.5)	15 (32.6)	
Neutropenia, n (%)	30 (22.9)	31 (52.5)	60 (31.6)	<0.001
Degree ⁺ , n (%) (n = 44)				
1	8 (53.3)	9 (31.0)	17 (38.6)	0.374
2	4 (26.7)	9 (31)	13 (29.5)	
3	3 (20.0)	8 (27.6)	11 (25.0)	
4	0	3 (10.3)	3 (6.8)	
Gastrointestinal, n (%)	42 (32.1)	18 (30.5)	60 (31.6)	0.831
Respiratory, n (%)	28 (21.4)	17 (28.8)	45 (23.7)	0.264
Muscular, n (%)	18 (13.7)	19 (32.2)	37 (19.5)	0.003
Skin, n (%)	94 (71.8)	32 (54.2)	126 (66.3)	0.018
Dysgeusia, n (%)	9 (6.9)	12 (15.3)	21 (11.1)	0.013
Therapeutic consequences				
Early termination of treatment, n (%)	9 (15.3)	18 (13.7)	27 (14.2)	0.782
Dose reduction in pegylated interferon, n (%)	8 (13.6)	9 (6.9)	17 (8.9)	0.222
Dose reduction in Ribavirin, n (%)	27 (20.6)	11 (18.6)	38 (20.0)	0.906
Erythropoietin (EPO), n (%)	55 (42.0)	34 (57.6)	89 (46.8)	0.065
Time before EPO intake (Days), mean ± SD	53.1 ± 44.8	66.5 ± 43.7	58.3 ± 44.6	0.191
Transfusion, n (%)	15 (11.7)	4 (6.9)	19 (10.2)	0.435
Neupogen, n (%)	5 (3.8)	12 (20.3)	17 (8.9)	<0.001
Revolade, n (%)	5 (3.8)	5 (6.8)	9 (4.7)	0.602

*Only a small proportion of patients had their haematological side effects classified according to National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis.

the association between cirrhosis and treatment failure did not reach statistical significance probably because of a too limited number of patients.

Our results show a significant decrease in the GFR after the introduction of the protease inhibitor in patients under triple therapy. Such a decrease was recently reported in a study limited to baseline, W12 and W24 of therapy [28]. For telaprevir-treated patients in our study, this impairment of renal function seems reversible with a return to normal function after telaprevir withdrawal. This decrease in renal function after telaprevir exposure has been previously observed in an *in vitro* system [29]. Drug and cation transporters such as the organic cation transporter 2 and the multidrug and toxin extrusion (MATE)-type transporter 1 (MATE1) [30] seem indeed to be inhibited by telaprevir exposure in HEK293 cell lines that over-express single transporters. This type of mechanism could explain the

GFR decrease in patients treated by protease inhibitor. Furthermore, an increase in serum RBV concentration has also been observed in a group of patients treated by telaprevir. Telaprevir-induced renal dysfunction leads to an early elevation of serum RBV concentration in triple therapy [31]. Interestingly, our results indicate that the eRVR rate is higher in patients with renal function impairment (86% in patients with GFR decrease >20 mL/min/1.73 m² vs 51% in patients with GFR decrease <20), suggesting that a decrease in renal function could be associated with a quick response to telaprevir possibly partly explained by a better RBV bioavailability.

Model for end-stage liver disease score is useful to evaluate liver health among cirrhotic patients. The increase in the MELD score in our study is only due to the creatinine increase after the dissociation of the three characteristics of this score [no major variations have been observed for

International Normalized Ratio (INR) and bilirubin]. For triple therapy-treated patients, MELD score should not be used to evaluate liver health due to major significant variations in creatinine during triple therapy that could bias the interpretation of the score.

Concerning side effects, boceprevir seems to more often induce haematological effects probably because of the longer duration of triple therapy. However in the present study, the type of PEG-IFN (same distribution of PEG-IFN subtypes among boceprevir and telaprevir-treated patients) does not seem to impact the occurrence of side effects. Anaemia is a well-known side effect of RBV exposure. Borroni *et al.* [32] recently showed that low GFR was a risk factor for RBV-associated anaemia. Molecular mechanisms of RBV are also well-known to be associated with anaemia [33]. Renal dysfunction due to PI could possibly increase RBV concentration thereby inducing anaemia. No correlation between haemoglobin level and GFR was observed due probably to the early use of EPO in routine clinical practice.

A possible limitation of our study is that it was not randomized and that PI allocation was at the discretion of the investigator. Therefore, the choice of PI could well be associated with patient profile and especially disease severity. However, the proportion of patients with severe fibrosis (F3–F4) and MELD scores were very similar between both groups of patients (Table 1), suggesting no bias in terms of

disease severity distribution. Another limitation is that some data on disease severity such as albuminemia or results from gastroscopic examination are lacking.

In conclusion, PI-based triple therapy leads to high rates of virological response even in previously non-responder patients. Non-response to previous therapy is strongly associated with subsequent failure to achieve virological response whereas baseline viral load only impacts early viral kinetics. Results of eRVR should be cautiously interpreted because a substantial proportion of patients are slow responders and may still achieve SVR. Moreover, renal function is impaired in all patients whatever the type of PI and patient characteristics. Clinical monitoring should thus focus not only on haematological and dermatological side effects but also on renal function.

CONFLICT OF INTEREST

Fabien Zoulim received consulting/speaker fees from Gilead Science, Bristol Myers Squibb, and Roche. The other authors have no conflict of interest to declare.

FUNDING

No financial support.

REFERENCES

- Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int* 2009; 29(Suppl 1): 74–81.
- Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* 2006; 144(10): 705–714.
- Trepo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol* 1999; 31(Suppl 1): 80–83.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR *et al.* Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347(13): 975–982.
- Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358(9286): 958–965.
- Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004; 40(6): 993–999.
- Aghemo A, Rumi MG, Monico S *et al.* The pattern of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin treatment failure in cirrhotic patients depends on hepatitis C virus genotype. *Antivir Ther* 2009; 14(4): 577–584.
- Pijak MR, Gazdik F, Hrusovsky S. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. *Hepatology* 2004; 40(3): 760–761; author reply 1.
- Farnik H, Zeuzem S. New antiviral therapies in the management of HCV infection. *Antivir Ther* 2012; 17(5): 771–783.
- Pearlman BL. Protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C genotype-1 infection: the new standard of care. *Lancet Infect Dis* 2012; 12(9): 717–728.
- Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR *et al.* Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364(13): 1195–1206.
- Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E *et al.* Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364(13): 1207–1217.
- Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G *et al.* Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 364(25): 2405–2416.
- Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH *et al.* Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 365(11): 1014–1024.
- Jacobson IM, Pawlotsky JM, Afdhal NH *et al.* A practical guide for the use of boceprevir and telaprevir for the treatment of hepatitis C. *J Viral Hepat* 2012; 19(Suppl 2): 1–26.
- Karino Y, Ozeki I, Hige S *et al.* Telaprevir impairs renal function and

- increases blood ribavirin concentration during telaprevir/pegylated interferon/ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2013. doi: 10.1111/jvh.12162
- 17 Poinard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet* 1997; 349(9055): 825–832.
 - 18 Castera L, Vergniol J, Foucher J *et al.* Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128(2): 343–350.
 - 19 Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 2007; 45(3): 797–805.
 - 20 Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6): 461–470.
 - 21 Hollis S, Campbell F. What is meant by intention to treat analysis? Survey of published randomised controlled trials. *BMJ* 1999; 319(7211): 670–674.
 - 22 Iacobellis A, Ippolito A, Andriulli A. Antiviral therapy in hepatitis C virus cirrhotic patients in compensated and decompensated condition. *World J Gastroenterol* 2008; 14(42): 6467–6472.
 - 23 Hezode C, Fontaine H, Dufour C *et al.* Efficacy and safety of telaprevir or boceprevir in combination with peginterferon alfa/ribavirin, in cirrhosis according to the age. Data from the CUPIC cohort (ANRS CO20). *Hepatology* 2013; 58(Suppl 1): 1093A.
 - 24 Wedemeyer H, Jensen DM, Godofsky E, Mani N, Pawlotsky JM, Miller V. Recommendations for standardized nomenclature and definitions of viral response in trials of hepatitis C virus investigational agents. *Hepatology* 2012; 56(6): 2398–2403.
 - 25 Ge D, Fellay J, Thompson AJ *et al.* Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461(7262): 399–401.
 - 26 Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G *et al.* IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41: 1100–1104.
 - 27 Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M *et al.* Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105–1109.
 - 28 Mauss S, Hueppe D, Alshuth U. Renal impairment is frequent in chronic hepatitis C patients under triple therapy with telaprevir or boceprevir. *Hepatology* 2014; 59(1): 46–48.
 - 29 Kunze A, Huwylar J, Camenisch G, Gutmann H. Interaction of the antiviral drug telaprevir with renal and hepatic drug transporters. *Biochem Pharmacol* 2012; 84(8): 1096–1102.
 - 30 Meyer zu Schwabedissen HE, Verstuyft C, Kroemer HK, Becquemont L, Kim RB. Human multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter: functional characterization, interaction with OCT2 (SLC22A2), and single nucleotide polymorphisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298(4): F997–F1005.
 - 31 Karino Y, Hige S, Nakajima T *et al.* Telaprevir induced renal dysfunction leads to an early elevation of serum ribavirin concentration in triple therapy. *Hepatology* 2012; 56(Suppl. 1): 1005A–1006A.
 - 32 Borroni G, Cazzaniga M, Andreoletti M *et al.* Low glomerular filtration rate is a risk factor for ribavirin-associated anaemia in old patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2013; 20(4): e90–e95.
 - 33 Russmann S, Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr Med Chem* 2006; 13(27): 3351–3357.



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com/en



ORIGINAL ARTICLE

Early virological assessment during telaprevir- or boceprevir-based triple therapy in hepatitis C cirrhotic patients who failed a previous interferon based regimen – The ANRS CO20-CUPIC study



François Bailly^{a,b,c}, Victor Virlogeux^{a,d}, Cécilie Dufour^e, Pierre Pradat^{a,b,c}, Christophe Hézode^f, Dominique Larrey^g, Laurent Alric^h, Didier Samuel^{i,j,k}, Marc Bourlière^l, Sophie Métivier^m, Jean-Pierre Zarskiⁿ, Hélène Fontaine^o, Véronique Loustaud-Ratti^p, Lawrence Serfaty^q, Jean-Pierre Bronowicki^r, Fabrice Carrat^e, Fabien Zoulim^{a,b,c,*}, and the CUPIC Study Group¹

^a Department of Hepatology, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, 69004 Lyon, France

^b Inserm U1052, 69003 Lyon, France

^c Université Lyon 1, 69622 Villeurbanne, France

^d École Normale Supérieure, 69007 Lyon, France

^e Inserm UMR-S 707, Université Pierre-et-Marie-Curie Paris 6, 75012 Paris, France

^f Hépatogastro-entérologie, CHU Henri-Mondor, 94010 Créteil, France

^g Hépatogastro-entérologie, CHU de Montpellier, Hôpital Saint-Éloi, 34090 Montpellier, France

^h Pôle Digestif, CHU Purpan, UMR 152, Université Toulouse 3, 31059 Toulouse, France

ⁱ Centre Hépatobiliaire, AP-HP Hôpital Paul-Brousse, 94870 Villejuif, France

^j Unité 785, Inserm, 94870 Villejuif, France

^k Université Paris-Sud, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

^l Department of Hepatology and Gastroenterology, Hôpital Saint-Joseph, 13285 Marseille, France

^m Pôle Digestif–Gastro-entérologie–Hépatologie, CHU Purpan, 31059 Toulouse, France

ⁿ Clinique universitaire d'Hépatogastro-entérologie, CHRU Michallon, 38043 Grenoble, France

^o Hôpital Cochin, AP-HP, Université Paris-René Descartes, Inserm U1016, 75014 Paris, France

^p Fédération Hépatologie, CHU Dupuytren, 87042 Limoges, France

^q Hépatogastro-entérologie orienté en hépatologie, CHU Saint-Antoine, 75012 Paris, France

^r Department of Hepatology and Gastroenterology, CHU de Nancy, Université de Lorraine, Inserm U954, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

Available online 27 January 2015

* Corresponding author. Department of Hepatology, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Croix-Rousse, 103, Grande-Rue-de-la-Croix-Rousse, 69004 Lyon, France.

E-mail address: fabien.zoulim@inserm.fr (F. Zoulim).

¹ Additional CUPIC investigators are listed in the supplementary Appendix A.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2014.12.007>

2210-7401/© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Summary

Background and objective: To assess within the ANRS CO20-CUPIC cohort whether the viral load (VL) at week 2/week 6 for telaprevir/boceprevir-based triple therapy, respectively, was predictive of sustained virological response (SVR) in patients with hepatitis C virus (HCV) infection and to study the relevance of this measurement to early diagnose drug resistance.

Methods: Observational study of HCV genotype 1 patients with compensated cirrhosis (Child-Pugh A), non-responders to a prior course of interferon (IFN)-based therapy and who started triple therapy. Patients received either 12 weeks of telaprevir in combination with PEG-IFN/ribavirin (RBV), then 36 weeks of PEG-IFN/RBV, or 4 weeks of PEG-IFN/RBV, then 44 weeks of PEG-IFN/RBV and boceprevir.

Results: A total of 262 patients were analyzed. For telaprevir-treated patients, 28% had undetectable VL at W2 of whom 81% achieved SVR12 whereas 67% had undetectable VL at W4 of whom 67% achieved SVR12. For boceprevir-treated patients 20% had undetectable VL at W6 and 86% of them achieved SVR12 whereas 36% had undetectable VL at W8 among whom 73% achieved SVR12. Five telaprevir-treated patients had a VL increase between W2 and W4 after a decrease between D0 and W2. Four of them did not achieve SVR12. Similarly, six boceprevir-treated patients had a VL increase between W6 and W8 after a decrease between D0 and W6. Five did not reach SVR12.

Conclusions: The assessment of HCV RNA level after two weeks of triple therapy in cirrhotic non-responder patients is a good predictor of SVR. This assessment was useful to do an early diagnosis of viral breakthrough.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

About 130–170 million people are chronically infected with the hepatitis C virus (HCV) worldwide [1], with 9 million infected in the United States and Western Europe [2,3]. During the past decade, the standard of care for HCV treatment was a combination of pegylated interferon (PEG-IFN) plus ribavirin (RBV) allowing a sustained virological response (SVR) rate of about 50% in patients with HCV genotype 1 [4,5]. Response to therapy varied according to genotype with genotype 1 and 4 patients achieving lower SVR rates than patients infected with genotype 2 or 3 (40–50% vs. > 80%, respectively) [5,6]. Thus, the low SVR rate in genotype 1 and the poor response rates observed in special populations, such as black patients and cirrhotics [7,8] have driven the development of novel antiviral therapies and the combination of boceprevir or telaprevir – two protease inhibitors (PI) of NS3/NS4A proteins of HCV – with PEG-IFN/RBV has become the new standard of care since the end of 2011 [9,10]. In boceprevir-based triple therapy, results from phase III clinical trials reported 60% of SVR for naïve patients (SPRINT-2 study [11]) and 75% and 52% for relapsers and previous partial non-responders respectively (RESPOND-2 study [12]). For telaprevir, SVR was reached in 75% of naïve patients (ADVANCE [13] and ILLUMINATE [14] studies) and 83% of previous relapsers, 59% of partial non-responders and 29% of previous null responders (REALIZE) [15].

Many studies in the literature including observational studies, clinical trials and meta-analyses, have conclusively shown that a rapid virological response (RVR) defined as an undetectable HCV RNA at week 4 of PEG-IFN/RBV combination therapy was highly associated with SVR in genotype 1 patients [16]. In boceprevir-treated patients, a > 1 log₁₀ decrease of HCV RNA at week 4 (end of lead-in-phase) is associated with SVR. In SPRINT-2 and RESPOND-2 studies,

88% and 86% of patients with undetectable HCV RNA at week 8 (week 4 of boceprevir) subsequently achieved SVR [11,17]. For triple therapy, the notion of an extended rapid virological response (eRVR), defined as undetectable HCV RNA at week 8 maintained until week 24 for boceprevir, and as undetectable HCV RNA at week 4 maintained until week 12 for telaprevir has been introduced. In telaprevir-treated patients, the REALIZE study conducted in patients previously non-responders to PEG-IFN/RBV combination therapy, reported that the eRVR was the highest predictive factor of SVR [15,18]. Similarly, in the French CUPIC cohort, the virological response at week 4 for telaprevir-treated patients and week 8 for boceprevir-treated patients, was associated with SVR [19]. In a recently published paper, we showed that the positive predictive value (PPV) of eRVR was 87% for telaprevir and 56% for boceprevir [20]. However, the predictive impact of an earlier detection of HCV RNA remains unknown.

French guidelines recommended the measurement of HCV RNA level after two weeks of triple therapy in order to early detect the emergence of resistance mutations [21].

In this study, we assessed whether the viral load at week 2/week 6 for telaprevir/boceprevir-treated patients, respectively, was predictive of SVR and assessed the relevance of this measurement to early detect resistance mutations and to adapt therapeutic strategies.

Material and methods

Patients

The ANRS CO20-CUPIC cohort (ClinicalTrials.gov number NCT01514890) is a national multicenter prospective cohort study conducted in 56 French centres. From February 2011 to April 2012, patients with compensated cirrhosis

(Child-Pugh class A) chronically infected with HCV genotype 1, who did not achieve SVR after a prior course of IFN-based therapy and who started triple therapy, were recruited. Initially, only relapsers and partial responders were eligible in the French early access program. Since the approval of both PIs, the inclusion criteria were amended in September 2011 allowing the inclusion of null responders. Patients received either 12 weeks of telaprevir in combination with PEG-IFN/RBV, then 36 weeks of PEG-IFN/RBV, or 4 weeks (lead-in phase) of PEG-IFN/RBV, then 44 weeks of PEG-IFN/RBV and boceprevir, according to the European label.

In the present study, only patients with viral load assessment at week 2 for telaprevir or week 6 for boceprevir were kept for the analysis. Patients with HIV or HBV co-infection, renal insufficiency (defined by creatinine clearance < 50 mL/min) or organ graft were not eligible for inclusion. More details on patients' inclusion in the CUPIC cohort were given previously [19,22].

HCV RNA level monitoring

HCV RNA levels were measured at baseline and at weeks 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, and 48 of therapy, and 12 weeks after the end of treatment, with a real-time PCR based assay, either COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan (Roche Molecular Systems, Pleasanton, California) with a lower limit of detection of 15 IU/mL, or m2000SP/m2000RT (Abbott Molecular, Des Moines, Illinois), with a lower limit of detection of 12 IU/mL. Both assays have been validated for their accuracy in patients infected with HCV genotype 1 [23,24].

Treatments

Treatment was prescribed at the discretion of each investigator without randomization, which precludes any comparison between the two treatment regimens.

Statistical analyses

Quantitative variables were presented as the mean \pm standard deviation. Categorical variables were studied using the two-sided Chi² test whereas quantitative variables were analyzed using *t*-test. A ROC curve analysis was performed to study the viral load decrease after two weeks of triple therapy as a predictor of SVR. A logistic regression analysis was also conducted to identify factors potentially associated with SVR. Statistical analysis was performed using SPSS v.19.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). All statistical tests were two-sided and a *P* value < 0.05 was considered statistically significant.

Ethical consideration

Written informed consent was obtained from each patient before enrolment. The protocol was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and French law for biomedical research and was approved by the 'Comité de France IX' Ethics Committee (Créteil, France).

Results

Patients' characteristics

Data on 262 patients from the ANRS CO20-CUPIC initiating triple therapy with boceprevir or telaprevir combined with PEG-IFN/RBV were analyzed. Twenty-two patients who received a 4-week PEG-IFN/RBV lead-in phase before telaprevir-based triple therapy were previously excluded. Patients' characteristics are presented in Table 1. Male gender was predominant in both groups of patients (74.4% for boceprevir and 70.9% for telaprevir) and mean age was 59.3 years (\pm 8.5) and 58.7 years (\pm 10.5) for boceprevir and telaprevir, respectively. HCV genotype 1b was more predominant than 1a in both groups of patients (62.0% and 62.3% respectively). Previous treatment status was similar in both groups with about 15–19% of null responders, 42–46% of partial non-responders and 33–37% of relapsers.

Patients' characteristics are similar to those from the overall CUPIC cohort in terms of gender, age, BMI, HCV subtype (1a/1b), previous treatment response and IL28B polymorphism [19,22].

Predictive factors of virological response

The SVR12 rate was 55% for telaprevir and 46% for boceprevir. For telaprevir-treated patients, 28% had undetectable viral load at week 2 of whom 81% achieved SVR12 (positive predictive value, PPV) whereas 67% had undetectable viral load at week 4 of whom 67% achieved SVR12 (Fig. 1A). For boceprevir-treated patients, 20% had undetectable viral load at week 6 and 86% of them achieved SVR12 whereas 36% had undetectable viral load at week 8 among whom 73% achieved SVR12 (Fig. 1B). On the other hand, 55% of patients with a detectable viral load at week 2 and 63% of patients with a detectable viral load at week 6 had no SVR12 (negative predictive values, NPV). For telaprevir-treated patients, univariate analysis indicated that predictive factors of undetectability at week 2 were low initial viral load ($P < 0.001$) and previous treatment response with 19% of undetectability among NR patients, 20% among partial NR and 41% among relapsers ($P = 0.012$). For boceprevir-treated patients, the only predictive factors of undetectability at week 6 were IL28B genotype ($P = 0.050$) and previous treatment response with 7% of undetectability among NR patients, 13% among partial NR and 35% among relapsers ($P = 0.047$). For telaprevir-treated patients, a multivariate logistic regression analysis indicated that only initial viral load remained associated with undetectability at week 2 whereas for boceprevir-treated patients, no factor remained associated with undetectability at week 6.

Percentage of viral load decrease between treatment initiation (D0) and week 2/week 6 was calculated. Using a ROC curve analysis, cut-off values which best predicted SVR were then determined. For telaprevir, a 70% decrease of viral load between D0 and week 2 gave the best compromise sensitivity/specificity (AUC = 0.612; $P = 0.037$; Se = 53%, Spe = 58%) and for boceprevir, a 50% decrease between D0 and week 6 gave the best ratio sensitivity/specificity (AUC = 0.759; $P < 0.001$; Se = 86%, Spe = 58%). Three patient profiles were

Table 1 Patients' characteristics at triple therapy initiation.

Characteristics (n=262)	Boceprevir (n=90)	Telaprevir (n=172)
Male gender n (%)	67 (74.4)	122 (70.9)
Age, mean \pm SD	59.3 \pm 8.5	58.7 \pm 10.5
BMI, mean \pm SD	26.1 \pm 4.2	26.6 \pm 4.1
HCV genotype n (%)		
1a	30 (38.0)	58 (37.7)
1b	49 (62.0)	96 (62.3)
1 unspecified	11	18
Previous treatment response n (%)		
Null response	13 (15.5)	32 (19.3)
Partial non-responder	39 (46.4)	69 (41.6)
Relapser	28 (33.3)	62 (37.3)
Viral breakthrough	4 (4.8)	3 (1.8)
Non-available	6	6
IL28B genotype n (%)		
C/C	10 (16.1)	14 (12.2)
C/T	43 (69.4)	80 (69.6)
T/T	9 (14.5)	21 (18.2)
Non-available	28	57

defined according to their viral load decrease at week 2 or week 6, respectively: patients with a decrease of less than 70% (or 50%), patients with a decrease of more than 70% (or 50%), and patients with undetectable viral load at

week 2 (or week 6 for boceprevir). Among telaprevir-treated patients, 60% of those with a >70% decrease in viral load at week 2 achieved SVR12 (PPV) whereas 63% of patients with a decrease <70% did not achieve SVR12 (NPV). For

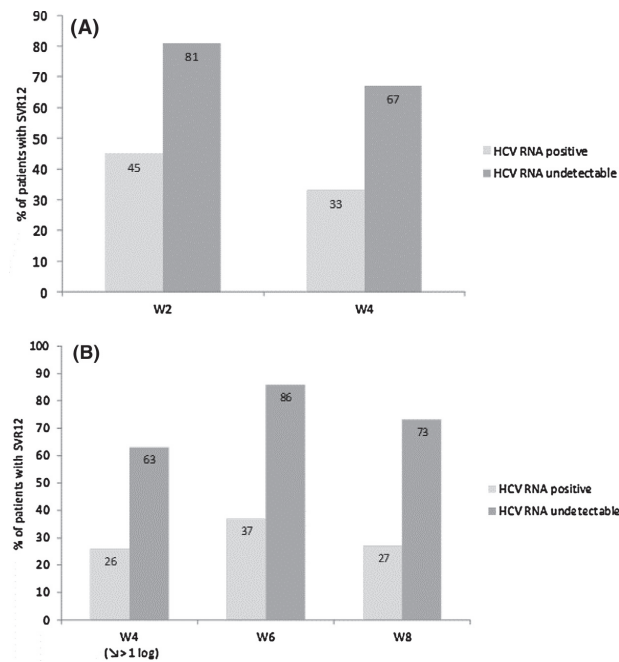


Figure 1 Sustained virological response rate (SVR) according to early HCV RNA undetectability. A. Telaprevir-treated patients. B. Boceprevir-treated patients.

boceprevir-treated patients, PPV and NPV were 56% and 87%, respectively for a viral load decrease of 50%.

A decision tree using SVR12 as dependent variable was performed including previous treatment response and week 2 virological responses. For telaprevir-treated patients (Fig. 2A), previous treatment response was highly predictive of subsequent treatment response with SVR12 rates varying from 22% in previous null responders, 43% in partial NR, and 81% in relapsers/breakthrough. Among previous null responders, week 2 virological response was a good predictor of SVR12 with 67% of patients undetectable at week 2 reaching SVR12 compared with only 11% of patients detectable at week 2 ($P=0.010$). Similarly, among partial NR with undetectable viral load at week 2 (or decrease $>70\%$ of initial viral load), 61% achieved SVR12 vs. 24% of those with a decrease $<70\%$ ($P=0.006$). Among relapsers/breakthrough, the SVR12 rate varied from 68% in patients with viral load decrease $<70\%$ at week 2 to 87% in those being undetectable or with a decrease $>70\%$ ($P=0.080$).

Among boceprevir-treated patients, virological response at week 6 was also associated with SVR12 both in partial NR ($P<0.001$) and in relapsers/breakthrough ($P=0.039$; see Fig. 2B). In the NR group, the number of patients was too limited to assess the effect of viral load at week 6.

Early detection of viral breakthrough

Among telaprevir-treated patients, five had an increase of their viral load between week 2 and week 4 after a decrease of their initial viral load between D0 and week 2 (Fig. 3A). Four of them did not achieve SVR12 despite a global decrease of their initial viral load between D0 and week 4. Similarly, six boceprevir-treated patients had an increase of their viral load between week 6 and week 8 after a decrease of their initial viral load between D0 and week 6 (Fig. 3B). Five of them did not reach SVR12 despite a global decrease of their initial viral load between D0 and week 8.

Discussion

This sub-analysis of the ANRS CO20-CUPIC cohort focused on the role of the assessment of HCV RNA level two weeks after the introduction of a protease inhibitor with or without a lead-in phase of PEG-IFN/RBV. Despite French guidelines which recommended the measurement of HCV RNA level at week 2 of triple therapy, only about 43% of all CUPIC patients were evaluated at week 2/week 6. However, patients analyzed in our study did not differ from the overall CUPIC cohort, which precludes any selection bias.

During PEG-IFN/RBV double therapy, early HCV RNA undetectability at week 4 was associated with a high positive predictive value of SVR whereas patients with detectable HCV RNA level at week 4 had a low probability of achieving SVR. This early undetectability of HCV RNA was even more strongly associated with SVR than IL28B genotype. With the recent use of more effective DAA, HCV RNA undetectability appears earlier during therapy and most patients have undetectable viral load at week 4 of triple therapy (68% of naive patients for telaprevir and 57% of naive patients for boceprevir) [11,13]. Among these patients more than

80% achieve SVR. Among treatment-experienced patients the proportion of HCV RNA undetectability at week 4 is lower but this undetectability is still associated with SVR. This fast virologic response led us to evaluate the role of viral load assessment at week 2 of triple therapy in order to identify a potential earlier predictive factor of SVR. The positive predictive values of SVR associated with the undetectability at week 2 were high (81% and 86% for telaprevir and boceprevir, respectively) and even higher than those at week 4 of triple therapy (67% and 73% for telaprevir and boceprevir, respectively). Conversely, the negative predictive value was really low (55% and 63%). Viral load assessment at week 2 can thus hardly be used to early detect a non-response to triple therapy and to stop therapy in these patients. Indeed, 45% and 37% of patients treated with telaprevir and boceprevir, respectively and with detectable HCV RNA at week 2 still achieved SVR12.

Using a ROC curve analysis, we determined the threshold of HCV RNA decrease between D0 and week 2 that could predict SVR12. However, the prognostic value of these thresholds is not high enough and cannot be used for response guided therapy.

A decision tree indicates that among cirrhotic non-responder patients treated with telaprevir, only 11.5% of those with a detectable HCV RNA at week 2 achieved SVR12. Among this subgroup, the too limited number of patients did not allow us to distinguish between those with a viral load decrease $<$ and $>70\%$. However, since patients with cirrhosis have a high likelihood of developing severe side effects while on first generation triple therapy, it is probable that treatment cessation could be considered in previous null responder patients failing to achieve a 70% decrease of viral load at week 2. A similar strategy could be discussed in partial non-responders with an HCV RNA decrease $<70\%$ at week 2 since SVR12 is only achieved in 24% of cases. However, in patients with previous relapse or breakthrough with HCV RNA decrease $<70\%$ at week 2, virological assessment should be confirmed at week 4. Since this study was conducted on a group of cirrhotic non-responder patients (difficult-to-treat and with characteristics which may impact the initial viral load decrease), our results are not representative of the overall HCV population. Unfortunately, data on IL28B genotype was only available in 73% and 66% of telaprevir- or boceprevir-treated patients, respectively. Nevertheless, as already reported, the impact of IL28B genotype on treatment response seems less important during triple therapy, and more particularly for telaprevir [18].

The CUPIC study has shown that telaprevir- or boceprevir-based triple therapy was associated with a poor tolerance in cirrhotic patients [19,22]. In such patients developing severe side effects and for whom the probability of achieving virological response is limited, early treatment discontinuation could be proposed. In this context, virological assessment at W2 could be useful to limit triple therapy based strategies to patients with high probability of achieving virological response.

The second potential role of HCV RNA assessment at week 2/week 6 of therapy is to detect viral breakthrough early. During phase I and phase II clinical trials, an increase of HCV RNA level was observed just after a quick initial decrease of HCV RNA during the first week of triple therapy suggesting the possible emergence of a new viral strain with PI

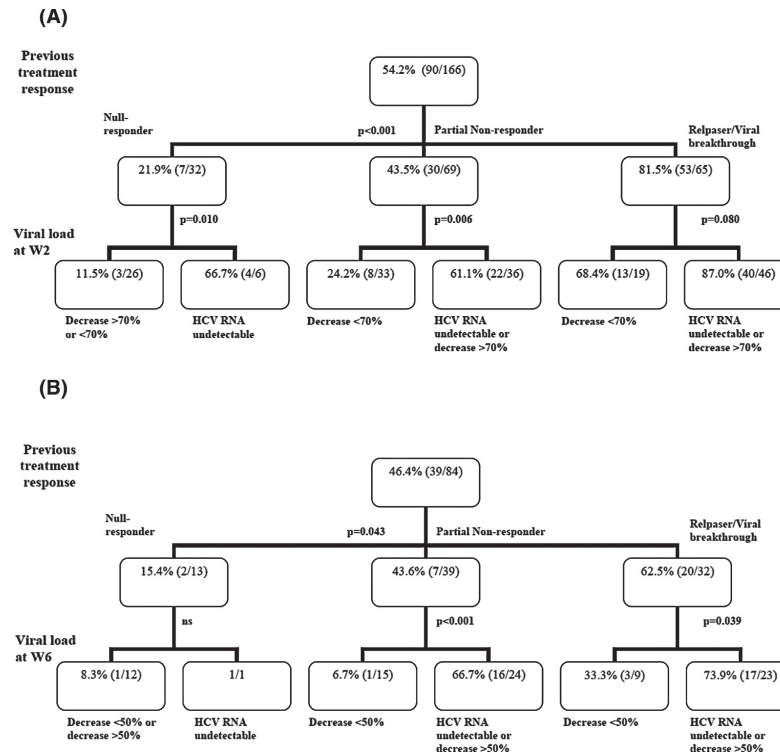


Figure 2 Decision tree giving the proportion of patients achieving SVR12 according to previous treatment response and viral load at week 2/week 6. In each box, the probability of achieving SVR12 is given. Figures slightly differ from the total number of cases since only patients with information on previous treatment response are included. A. Telaprevir-treated patients. B. Boceprevir-treated patients.

resistance mutation. Under DAA pressure, this resistant viral population will increase rapidly and become the major viral population. At the end of therapy, the new viral strain with resistance mutation will become progressively undetectable but can survive until 2 years after the end of treatment. Thus, it was recommended to stop treatment as soon as possible after the emergence of a viral resistance strain [21,25]. In our study, 11 patients had an early viral breakthrough characterized by a decrease of HCV RNA level during the first 2 weeks of triple therapy followed by an increase of HCV RNA level between week 2 and week 4. Nine of these patients did not achieve SVR. If the viral load was not assessed at week 2, this viral breakthrough would not have been detected until week 8 of triple therapy, with as a result, long-term virological, clinical and psychological consequences for the patients.

Even if these situations are rather uncommon, the potential consequences justify the viral load assessment at week 2/week 6. Virological monitoring at week 2/week 6 is thus relevant both for the early detection of resistance mutation allowing early treatment discontinuation, but also for the early assessment of treatment compliance.

However, the use of first generation PI-based triple therapy is today questionable and not anymore recommended by most of current guidelines. Emerging therapies with DAA based IFN-free regimens may thus limit the interest of our findings. However, because of cost issues, access to these new therapies is still limited in many parts of the world [26] where PI-based therapy may remain a treatment option to treat patients who failed previous PEG-IFN/RBV-based therapy. Moreover, beside IFN-free regimens, the latest EASL recommendations for HCV genotype 1 patients still include PEG-IFN/RBV combined with either sofosbuvir, simeprevir, or daclatasvir [27]. In that respect, the results of our study could provide new clinical meaningful information for a better management of PEG-IFN/RBV-based triple therapy.

In conclusion, the assessment of HCV RNA level two weeks after the introduction of a PI in cirrhotic non-responder patients is a good predictive factor of SVR. This could be useful in patients who had previously failed a PEG-IFN/RBV therapy, or in cirrhotic patients with high risk of side effects. In such patients, treatment could be discontinued in those with a low probability of response. Moreover, HCV RNA assessment at week 2 may be useful to detect early viral

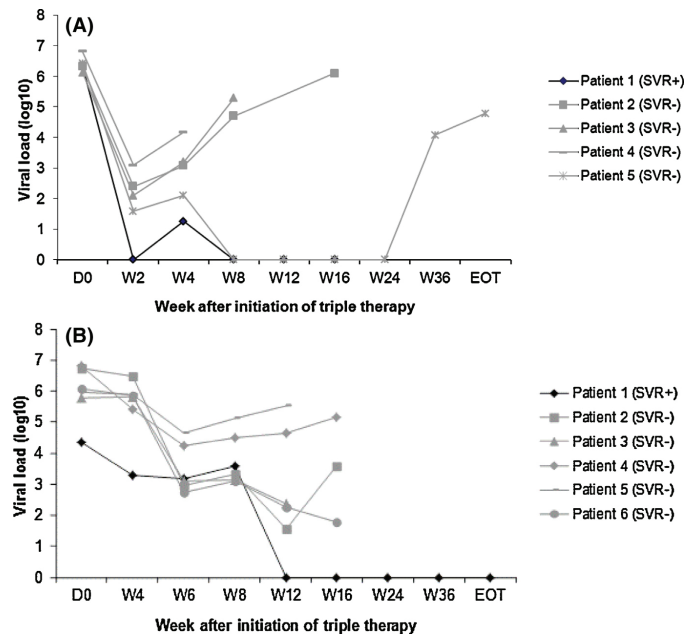


Figure 3 Patients with early virological rebound. A. Telaprevir-treated patients with virological rebound between W2 and W4. B. Boceprevir-treated patients with virological rebound between W6 and W8.

breakthrough. In such cases, treatment can be withdrawn earlier to prevent the outgrowth of viral resistant strains.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

Authors' contribution

FB, VV, CD, PP, FC, and FZ contributed substantially to the conception and design of the study and to the analysis of data.

CH, DL, LA, DS, MB, SM, JPZ, HF, VLR, LS, and JPB contributed substantially to the acquisition and interpretation of data.

All authors contributed to the drafting of the manuscript and to revising it critically for important intellectual content and all approved the final version to be published.

All authors agreed to be accountable for all aspects of the work.

Acknowledgements

This study was supported by the French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis (ANRS).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2014.12.007>.

References

- [1] Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int* 2009;29(Suppl. 1):74–81.
- [2] Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* 2006;144:705–14.
- [3] Trepo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol* 1999;31(Suppl. 1):80–3.
- [4] Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncalves Jr FL, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975–82.
- [5] Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958–65.
- [6] Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M, Goeser T, Marcellin P, Sanchez-Tapias J, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004;40:993–9.

- [7] Aghemo A, Rumi MG, Monico S, Prati GM, D'Ambrosio R, Donato MF, et al. The pattern of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin treatment failure in cirrhotic patients depends on hepatitis C virus genotype. *Antivir Ther* 2009;14:577–84.
- [8] Pijak MR, Gazdik F, Hrusovsky S. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. *Hepatology* 2004;40:760–1 [author reply 761].
- [9] Farnik H, Zeuzem S. New antiviral therapies in the management of HCV infection. *Antivir Ther* 2012;17:771–83.
- [10] Pearlman BL. Protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 infection: the new standard of care. *Lancet Infect Dis* 2012;12:717–28.
- [11] Poordad F, McCone Jr J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364:1195–206.
- [12] Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364:1207–17.
- [13] Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011;364:2405–16.
- [14] Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH, Nelson DR, Sulkowski MS, Everson GT, et al. Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011;365:1014–24.
- [15] Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011;364:2417–28.
- [16] Martinot-Peignoux M, Maylin S, Moucari R, Ripault MP, Boyer N, Cardoso AC, et al. Virological response at 4 weeks to predict outcome of hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther* 2009;14:501–11.
- [17] Poordad F, Bronowicki JP, Gordon SC, Zeuzem S, Jacobson IM, Sulkowski MS, et al. Factors that predict response of patients with hepatitis C virus infection to boceprevir. *Gastroenterology* 2012;143:608–18 [e601–5].
- [18] Pol S, Aerssens J, Zeuzem S, Andreone P, Lawitz EJ, Roberts S, et al. Limited impact of IL28B genotype on response rates in telaprevir-treated patients with prior treatment failure. *J Hepatol* 2013;58:883–9.
- [19] Hezode C, Fontaine H, Dorival C, Zoulim F, Larrey D, Canva V, et al. Effectiveness of telaprevir or boceprevir in treatment-experienced patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis. *Gastroenterology* 2014;147:132e134–42e134.
- [20] Virlogeux V, Pradat P, Bailly F, Funingana G, Goncalves F, Maynard M, et al. Boceprevir and telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C: virological efficacy and impact on kidney function and model for end-stage liver disease score. *J Viral Hepat* 2014 [doi:10.1111/jvh12237].
- [21] Leroy V, Serfaty L, Bourliere M, Bronowicki JP, Delasalle P, Pariente A, et al. Protease inhibitor-based triple therapy in chronic hepatitis C: guidelines by the French Association for the Study of the Liver. *Liver Int* 2012;32:1477–92.
- [22] Hezode C, Fontaine H, Dorival C, Larrey D, Zoulim F, Canva V, et al. Triple therapy in treatment-experienced patients with HCV-cirrhosis in a multicentre cohort of the French Early Access Programme (ANRS CO20-CUPIC)—NCT01514890. *J Hepatol* 2013;59:434–41.
- [23] Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky JM. Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction-based method. *Hepatology* 2007;46:22–31.
- [24] Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Pawlotsky JM. Performance of the Abbott real-time PCR assay using m2000sp and m2000rt for hepatitis C virus RNA quantification. *J Clin Microbiol* 2009;47:1726–32.
- [25] EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;60:392–420.
- [26] Hoofnagle JH, Sherker AH. Therapy for hepatitis C—the costs of success. *N Engl J Med* 2014;370:1552–3.
- [27] EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C; 2014 http://www.easl.eu/assets/application/files/easl_recommendations.hcv.2014.full.pdf (Visited December 1st).

4.2 Optimisation des traitements anti-VHC par AAD grâce aux dosages pharmacologiques

4.2.1 Présentation des articles

Le dosage pharmacologique lors du traitement de l'hépatite C a eu un intérêt significatif lors des traitements par bithérapie PEG-IFN/RBV, comme le témoignent les nombreuses études ayant exploré la relation entre la concentration plasmatique en RBV et l'efficacité antivirale ainsi qu'avec la tolérance au traitement. (139–146) Concernant le lien entre la concentration en RBV et la tolérance, une toxicité directe sur les érythrocytes de cette dernière a été prouvée dans de nombreuses études, expliquant l'anémie observée lors des traitements. (149,150,164,165) Face à ces données de la littérature et à la tolérance de la trithérapie PEG-IFN/RBV + inhibiteur de protéase rapportée dans les essais de phase III, avec une incidence plus élevée d'anémie pendant la trithérapie que pendant la bithérapie, nous avons voulu explorer dans une première étude le lien qui pouvait exister entre la concentration en ribavirine pendant la trithérapie et l'anémie associée. (126–129) Dans la continuité méthodologique de cette approche de dosage pharmacologique, nous nous sommes penchés dans une deuxième étude sur l'impact des dosages d'AAD de deuxième génération sur la réponse virologique. En effet, lors de l'arrivée de la deuxième vague d'AAD malgré les taux de RVS annoncés très élevés, les "expériences" de la bithérapie et de la trithérapie laissaient subsister des doutes quant au profil d'efficacité et de tolérance "parfait" annoncé de ces nouveaux AAD.

Dans la première étude publiée dans *Hepatitis Monthly* concernant les dosages pharmacologiques de RBV, une cohorte rétrospective de 37 patients traités par trithérapie PEG-IFN/RBV + télaprévir dans le service d'hépatologie de l'hôpital de la Croix-Rousse et ayant eu des dosages de RBV pendant la phase de lead-in (T-1), et à la 4^{ème} semaine (S4) et/ou à la 8^{ème} semaine (S8) et/ou après l'arrêt du télaprévir (c'est-à-dire après la 16^{ème} semaine, S16) a été analysée. La fonction rénale était également évaluée à ces différents moments du traitement. Parmi les patients inclus, une majorité était de sexe masculin (73%), 31% étaient cirrhotiques et 18% d'entre eux présentaient des signes de décompensation hépatique. Trois patients avaient un DFG compris entre 30 et 60 mL/min/1,73 m² et un patient présentait un DFG inférieur à 30 mL/min/1,73 m². Ce dernier patient a été exclu de l'analyse. Pour pallier la variabilité des dosages pharmacologiques de la concentration plasmatique en ribavirine, la variable analysée a été la biodisponibilité définie par le ratio concentration/posologie/poids.

Une augmentation significative de la biodisponibilité de la ribavirine a été observée entre T-1 et S4 ainsi qu'entre S4 et S8. Dans un sous-groupe de patients (N=13) ayant eu des dosages de ribavirine à T-1, S4 et/ou S8 et à S16, des résultats similaires ont été observés entre T-1 et S8 ainsi qu'une diminution mais non significative entre S8 et S16 de la biodisponibilité. Onze patients sur les treize

(85%) ont eu une diminution de leur posologie de RBV entre S4 et S8 mais tous ont vu leur biodisponibilité en RBV augmenter. Une diminution en parallèle du DFG entre T-1 et S4 et une ré-augmentation de celui-ci après l'arrêt du télaprévir a également été observée, bien que ces variations soient statistiquement non significatives. Enfin, le taux d'hémoglobine a diminué significativement entre T-1 et S4 et entre S4 et S8 mais aucune variation n'a été observée entre S8 et S16.

Cette première étude a permis de confirmer le lien entre l'augmentation de la biodisponibilité de la ribavirine pendant la trithérapie et l'apparition d'une anémie. En effet, la toxicité de la ribavirine sur les érythrocytes a été préalablement montrée, celle-ci s'accumulant dans les érythrocytes avec une demi-vie évaluée à 40 jours avant d'être éliminée lors de l'hémolyse splénique puis dans 40% des cas par excrétion rénale. (147) Une augmentation de la concentration plasmatique en ribavirine a été déjà décrite chez des insuffisants rénaux de stade III traités par PEG-IFN/RBV et les auteurs recommandaient d'adapter la posologie au poids et à la concentration mesurée pendant le traitement. (166) Comme suggéré dans l'article présenté précédemment, les inhibiteurs de protéase de première génération semblent perturber significativement la fonction rénale ce qui expliquerait ainsi l'effet observé sur la concentration en ribavirine.

Pour pallier la grande variabilité inter-individuelle des concentrations plasmatiques en ribavirine observée chez les patients sous bithérapie, la biodisponibilité a été utilisée dans notre étude afin de s'affranchir de l'effet du poids et de la posologie. Notre étude souffre quoi qu'il en soit de puissance à cause du nombre restreint de patients inclus, effet encore plus accru dans la sous-analyse s'intéressant au sous-groupe de patients ayant eu des dosages avant, pendant et après le traitement par inhibiteur de protéase. L'absence de données de dosage et ce nombre restreint de patients inclus est dû en partie au design rétrospectif et à l'absence de recommandation en routine du dosage de la ribavirine.

Dans la deuxième étude publiée dans *Digestive and Liver Diseases* concernant les dosages pharmacologiques des AAD de 2^{ème} génération, nous nous sommes intéressés à une cohorte rétrospective de patients traités par sofosbuvir + daclatasvir +/- RBV entre février et septembre 2014 dans le service d'hépatologie de l'hôpital de la Croix-Rousse. Ces patients devaient avoir eu au moins 1 dosage de sofosbuvir et de daclatasvir durant toute la durée du traitement qui allait de 12 à 24 semaines pour être inclus dans l'étude. Un total de 130 patients a été considéré et 74% d'entre eux ont reçu en plus de la combinaison des deux AAD de la RBV. Parmi eux 69% (N=89) étaient de génotype 1, 19% (N=24) de génotype 3 et 11% (N=14) de génotype 4; 76% (N=99) présentaient une cirrhose et 7 patients avaient une insuffisance rénale de stade 3 avec un DFG compris entre 30 et 60 mL/min/1,73 m². Le taux de RVS en analyse en intention de traiter était de 95%, avec 3 patients en échec dont 2 rechuteurs. Concernant le suivi des concentrations en sofosbuvir et en daclatasvir pendant le traitement, l'analyse multivariée par régression linéaire multiple avec la concentration médiane en

AAD pendant le traitement comme variable dépendante montrait que celle-ci augmentait en l'absence de cirrhose et lorsque le DFG était diminué. L'impact des dosages sur la cinétique de décroissance virale a été exploré et une corrélation positive a été observée entre une décroissance de la charge virale de J0 à S4 et une concentration médiane en sofosbuvir/daclatasvir pendant le traitement plus élevée. Aucune analyse n'a pu être réalisée concernant l'impact des dosages sur la non-réponse étant donné le faible nombre de patients non-répondeurs (N=3).

Cette deuxième étude a été initiée au moment de l'arrivée des nouveaux AAD en France. Le nombre conséquent d'échecs observés en trithérapie notamment chez les patients cirrhotiques et la mauvaise tolérance nous ont poussés à considérer avec prudence les résultats de phase III décrits pour ces nouvelles molécules. De ce fait, une approche pharmacologique avec un potentiel effet sur la cinétique virale nous a paru intéressante étant donné l'absence de données sur cet aspect lors des essais cliniques publiés à ce moment-là. Le taux de réponse observé dans notre étude était finalement similaire à ceux rapportés dans les essais de phase III et notre analyse s'est donc reconcentrée sur la cinétique virale précoce. Les facteurs associés à une concentration médiane augmentée en AAD identifiés dans notre étude (une diminution du DFG et une absence de cirrhose) sont directement liés au métabolisme des deux molécules. Le métabolite actif du sofosbuvir le GS-331007 est principalement éliminé par la voie rénale, comme le suggère une étude de phase II. (167) Le daclatasvir n'est éliminé lui qu'en partie par voie rénale, cependant nos résultats sont en accord avec ceux d'une autre étude réalisée chez des insuffisants rénaux avec également une augmentation des concentrations en AAD. (168,169) Concernant l'impact de la cirrhose sur les concentrations, les fonctions hépatiques altérées dans le cadre de la cirrhose entraînent une baisse générale du métabolisme ce qui pourrait expliquer cette association observée.

Notre étude présente plusieurs limites avec notamment l'absence de dosages de ribavirine en parallèle de celui des AAD et un manque de puissance concernant la sous-analyse du génotype 3 qui était un génotype plus difficile à traiter à ce moment-là, les taux de RVS étant plus faible pour ce génotype dans les essais de phase III. L'effet prédictif des dosages sur la non-réponse n'a pu être exploré dû à un taux de RVS très élevé dans notre étude.

4.2.2 Articles

4.2.2.1 Article publié dans *Hepatitis Monthly*

Hepat Mon. 2015 September; 15(9): e28879.

DOI: 10.5812/hepatmon.28879

Published online 2015 September 01.

Brief Report

Increased Ribavirin Bioavailability Associated With Telaprevir Use in Hepatitis C Patients Treated With PEGylated -Interferon/Ribavirin/Telaprevir Triple Therapy

Pierre Pradat^{1,2,3,*}; Victor Virlogeux^{1,4}; Marianne Maynard^{1,2,3}; Mathilde Leclercq¹; Giorgiana Hatu^{1,5}; Majid Amiri¹; Fanny Lebosse^{1,2,3}; Patrick Mialhes⁶; Fabien Zoulim^{1,2,3,7}; Marie-Claude Gagnieu⁸; François Bailly^{1,2,3}

¹Department of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²National Institute of Health and Medical Research (INSERM) U1052, Lyon, France

³Claude Bernard Lyon 1 University, Lyon, France

⁴Ecole Normale Supérieure, Lyon, France

⁵University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

⁶Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁷Institut Universitaire de France, Paris, France

⁸Department of Pharmacology, Edouard Herriot Hospital, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

*Corresponding Author: Pierre Pradat, Department of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France. Tel: +33-426732715, Fax: +33-426732734, E-mail: pierre.pradat@univ-lyon.fr

Received: March 30, 2015; Revised: March 31, 2015; Accepted: June 30, 2015

Background: Anemia is more frequent in patients receiving telaprevir with PEGylated interferon/ribavirin (PEG-IFN/RBV) than in those receiving PEG-IFN/RBV alone.

Objectives: The objective was to measure the impact of telaprevir on RBV bioavailability and to assess the concomitant renal function.

Materials and Methods: Thirty-seven hepatitis C virus (HCV) patients non-responders to a previous course of PEG-IFN/RBV therapy and re-treated with triple therapy combining PEG-IFN/RBV and telaprevir were analyzed. RBV bioavailability was measured before the triple therapy initiation, during telaprevir treatment at week (W) 4 and W8, and after telaprevir cessation (post W16). The renal function was assessed by estimating the glomerular filtration rate (eGFR).

Results: At W4, RBV bioavailability, expressed as mg/L/daily dose/kg body weight, was significantly increased (median increase = 0.06 mg/L/dose/kg; $P < 0.001$). In parallel, the renal function was impaired with a mean eGFR decrease of -6.8 mL/minutes/1.73 m² ($P = 0.109$). Between W4 and W8, RBV bioavailability continued to increase ($P < 0.001$) but subsequently decreased slightly after telaprevir discontinuation with a concomitant restoration of the renal function (eGFR increase of 6.34 mL/minutes/1.73 m²).

Conclusions: Our results indicated a reversible increase in RBV bioavailability after telaprevir exposure, which might be linked to the impairment of the GFR. This also suggests a RBV-telaprevir pharmacological interaction, a possible source of severe anemia observed under triple therapy. These results suggest that RBV pharmacological monitoring may be clinically relevant, especially in the context of first-generation HCV protease inhibitor-based therapy.

Keywords: Anemia; Antiviral Agents; Glomerular Filtration Rate; Hepatitis C; Ribavirin; Telaprevir

1. Background

Before the arrival of new direct-acting antiviral agents (DAAs), triple therapy combining PEGylated interferon (PEG-IFN), ribavirin (RBV), and protease inhibitors (boceprevir or telaprevir) was the standard of care for the treatment of hepatitis C virus (HCV) infection (1-4).

Anemia is commonly observed during RBV-based therapy and often results in dose reduction and decreased antiviral efficacy. Because of a large inter-individual variability in exposure (5-7), the weight-based RBV daily dose is poorly correlated with the RBV plasma concentration

(8). Previous studies have indicated that anemia is about twice more frequent in patients receiving telaprevir with PEG-IFN/RBV than in those receiving PEG-IFN/RBV alone (9).

2. Objectives

The objective of this study was to determine whether telaprevir-based therapy was associated with an increased RBV plasma exposure, which could in part explain the increased incidence of anemia. In parallel, we studied the impact of telaprevir on the renal function.

Copyright © 2015, Kowsar Corp. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

3. Materials and Methods

3.1. Patients

HCV patients with a previous non-response to PEG-IFN/RBV therapy and re-treated with PEG-IFN/RBV and telaprevir were prospectively recruited from the department of hepatology, Croix-Rousse hospital, Lyon, France. Non-response was defined as a failure to achieve a sustained virological response and could thus include null response, virological breakthrough, and virological relapse. Patients with decompensated liver cirrhosis were not included. Patients were selected if they had consecutive assessment of plasma RBV trough concentrations (prescribed at the clinician's discretion). Baseline was considered as the date of triple therapy initiation. Patients with chronic kidney disease (CKD) stage 4 (estimated glomerular filtration rate (eGFR) < 30 mL/minutes/1.73 m²) were excluded from the study.

3.2. Assessment of Plasma Ribavirin Concentration

Plasma RBV trough concentrations were measured using a validated high-performance liquid chromatography-diode array detector method (10). This method is highly specific, sensible (limit of quantification = 0.05 mg/L), and precise (total imprecision, calculated by measuring the coefficient of variation of the internal quality control values, was < 10% for concentrations from 0.20 - 5.00 mg/L). Plasma RBV trough concentrations were measured before telaprevir initiation during the previous course of PEG-IFN/RBV combination therapy (T-1), during the early phase (week (W) 4 ± 2 weeks), the later phase (W 8 ± 2 weeks), and after telaprevir cessation (at least 4 weeks after telaprevir withdrawal (W16)).

As RBV daily doses may vary among patients and during the study course, RBV exposure was calculated using the ratio concentration/dose/body weight and used as a mean of estimated inter-individual bioavailability.

3.3. Renal Function Assessment

The commonly used Modification of the Diet in Renal Disease (MDRD) study equation was used for the eGFR as follows: in males: $186 \times (\text{creatinine} \times 0.0113)^{-1.154} \times \text{age}^{-0.203}$. If the patient was of African origin or female, multiplicative factors of 1.21 and 0.742 were applied, respectively. The occurrence of renal insufficiency during treatment was defined as an eGFR < 60 mL/minutes/1.73 m².

3.4. Statistical Analysis

The nominal and categorical parameters were expressed as absolute numbers and percentages. Means and standard deviations (± SD) were calculated for the normally distributed variables, and medians and interquartile ranges (IQR) for the skewed variables.

The non-parametric test for paired data (Wilcoxon test) was used to analyze the variations in RBV bioavailability and the eGFR before, during, and after triple therapy.

A P value < 0.05 was considered statistically significant. All the analyses were performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 19.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

3.5. Ethical Consideration

All the patients included in this study gave their written informed consent to allow the use of their personal clinical data in accordance with the ethics regulation defined in France by the CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

4. Results

The data on 37 consecutive HCV patients initiating triple therapy were analyzed. The patients' characteristics are presented in Table 1. Male gender was predominant (73.0%), and mean age was 56.5 years (± 10.7). Thirty-one per cent of the patients were cirrhotics, among whom 18% had some sign of decompensation. Three (8.1%) patients had renal insufficiency defined as 30 < eGFR < 60 mL/minutes/1.73 m² (CKD stage 3). One patient with severe renal insufficiency (eGFR < 30 mL/minutes/1.73 m²) was excluded from the analysis.

A significant increase in RBV bioavailability was observed between T-1 and W4 (N = 37, 0.06 ± 0.09 mg/L/dose/kg; P < 0.001). This increase was even stronger between T-1 and W8 (N = 20, 0.18 ± 0.21 mg/L/dose/kg; P < 0.001). A significant increase was also observed between W4 and W8 (N = 20, 0.11 ± 0.17 mg/L/dose/kg; P < 0.001).

Among these patients, 13 had measures of RBV bioavailability before, during, and after triple therapy. In this subgroup of patients, similar results were observed with an increase after telaprevir initiation (0.08 ± 0.10 mg/L/dose/kg between T-1 and W4; P = 0.017 and 0.07 ± 0.12 mg/L/dose/kg between W4 and W8; P = 0.012). A decrease in bioavailability, albeit non-significant, was observed after telaprevir cessation (-0.03 ± 0.14 mg/L/dose/kg between W8 and W16; P = 0.839) (Figure 1). Eleven patients had a RBV dose reduction between W4 and W8, and all of them still increased their RBV bioavailability despite a reduced plasma concentration in five of them.

None of the following factors was predictive of the variations in RBV bioavailability: gender (P = 0.837); IL-28B genotype (P = 0.630); cirrhosis versus non cirrhosis (P = 0.414); fibrosis stage (P = 0.858); HCV genotype 1a versus 1b (P = 0.937); and body mass index (BMI) (P = 0.436), and nor was the eGFR at baseline associated with RBV bioavailability (P = 0.527). Only age was significantly associated with a higher increase in RBV bioavailability in the older patients (P = 0.011).

In parallel to these variations, the eGFR was evaluated. A decrease in the eGFR was observed between T-1 and W4 (N = 37, -6.8 ± 25.21 mL/minutes/1.73 m²; P = 0.109) and an increase after telaprevir cessation in the subgroup of 13

Table 1. Patients' Characteristics at Baseline

Characteristics	Number of Patients	Values ^a
Male gender	37	27 (73.0)
Hepatitis C virus genotype	34	
1a		7 (20.6)
1b		13 (38.2)
1 undetermined		9 (26.5)
2		2 (5.9)
4		3 (8.8)
Genotype II-28B	14	
C/C		4 (28.6)
T/C		4 (28.6)
T/T		6 (42.8)
Presence of diabetes	37	4 (11.8)
Presence of renal insufficiency ^b	37	3 (8.1)
Fibrosis stage	35	
F0/F1		11 (31.4)
F2		2 (5.8)
F3		11 (31.4)
F4		11 (31.4)
Body mass index, kg/m²	21	24.8 ± 3.0
Age, y	37	56.5 ± 10.7

^a Values are presented as No. (%) except Body Mass Index and age that are presented as mean ± SD.

^b Defined by 30 < estimated glomerular filtration rate (eGFR) < 60 mL/minutes/1.73 m².

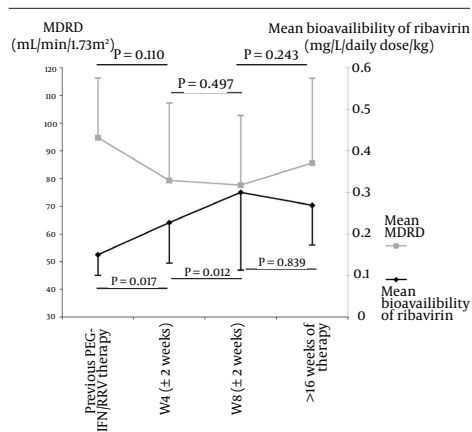


Figure 1. Mean Ribavirin Bioavailability and Estimated Glomerular Filtration Rate Assessed by MDRD Before, During, and After Telaprevir Exposure in Hepatitis C Virus Patients Treated With PEGylated Interferon /Ribavirin/ Telaprevir Combination

patients (6.34 ± 23.7 mL/minutes/1.73 m²; $P = 0.243$) (Figure 1).

When comparing between three different groups of patients characterized by their eGFR at T-1 (i.e. eGFR < 60, 60 - 90, and > 90 mL/minutes/1.73 m², respectively), the group of patients with an initial eGFR > 90 was associated with the most important decrease in the eGFR between T-1 and W4 compared with the other two groups ($P < 0.001$). No significant difference in the mean RBV bioavailability increase was observed between these three groups ($P = 0.555$).

Anemia was also assessed during the different phases of therapy. A significant decrease in the hemoglobin level was observed between T-1 and W4 ($N = 36$, 12.4 ± 22.9 g/L; $P = 0.004$) and also between W4 and W8 ($N = 20$, 8.5 ± 18.8 g/L; $P = 0.09$). However, no significant variations were observed between W8 and W16 for the subgroup of 13 patients.

5. Discussion

The assessment of RBV bioavailability measures the actual exposure to RBV, whereas the trough plasma con-

centration varies with posology. RBV bioavailability is known to range between 45% and 65% with an important variability within and between individuals, which can reach 30% after an oral single dose (11). Equilibrium state is reached after 4 weeks of multiple dosing and the half-life is 300 hours. Our results showed that during triple therapy, RBV bioavailability was significantly increased after the introduction of telaprevir irrespective of the variations in the RBV doses. This increase was progressive throughout exposure to telaprevir. After the cessation of the HCV protease inhibitor, a 4-week period was necessary to observe a decrease in RBV bioavailability. In parallel to these variations, the eGFR also seemed to have been impaired by telaprevir. Recently, some authors have shown in HIV-HCV coinfecting patients that telaprevir enhances RBV-induced anemia through renal function impairment (12). Telaprevir was already known to play a role in the inhibition of renal drug transporter in the in vitro system (13). In HEK 293 cell lines, telaprevir exposure seems to result in the inhibition of the organic cation transporter 2 (OCT2) and of the multidrug and toxin extrusion (MATE)-type transporter 1 (MATE1) (14). This mechanism could explain the eGFR decrease in patients treated with telaprevir, which in turn is a risk factor for anemia (15). RBV-induced anemia is thought to result from molecular mechanisms such as the inhibition of intracellular energy metabolism and oxidative membrane damage (16). It is thus possible that renal dysfunction due to HCV protease inhibitor increases RBV exposure, thereby inducing anemia.

Our study, including 37 patients, was possibly underpowered to detect potential associations between RBV bioavailability and co-factors such as gender, BMI, and other clinical factors. In a previous study, Jen et al. (6) reported associations between the RBV apparent clearance and body weight, gender, and age and showed that the RBV apparent clearance was increased among the patients with a higher BMI and among the males, but decreased among the patients above 40 years of age. This latter observation is in accordance with our results, showing a higher increase in RBV bioavailability in the older patients. A more recent study also showed that among the HCV genotype 2/3 patients treated with PEG-IFN/RBV, obesity (BMI > 30) was associated with lower RBV concentrations (17). Similar findings were reported by Wade et al. (18), who observed that lean body weight was the only covariate with a clinically significant influence on RBV pharmacokinetics and that RBV exposure decreased as weight increased.

In the present study, we did not include data on albumin, bilirubin, or prothrombin time, involved in the hepatocellular function. However, various studies have demonstrated that the liver function has no effect on the RBV concentration (19-21).

Although conducted on a limited number of patients, our study clearly shows a reversible increase in RBV exposure during telaprevir treatment, which might be linked

to the impairment of the eGFR. This also suggests a RBV-telaprevir pharmacological interaction, a possible source of severe anemia observed under triple therapy and already reported in HCV-monoinfected (22) or HIV-HCV coinfecting cirrhotic patients (23). The persistence of a high RBV exposure despite RBV dose reductions recommended for severe anemia could explain why these dose reductions do not impact the virological response. As recently suggested, RBV pharmacological monitoring may still be clinically relevant even in the context of direct-acting antiviral-based therapy (24, 25). This monitoring, potentially followed by RBV dose adaptations, could ensure an optimal RBV exposure, thereby improving safety and reducing the relapse risk. Cautious clinical monitoring of patients focusing not only on hematological parameters but also on the renal function is warranted.

Acknowledgements

The authors gratefully thank the Hospices Civils de Lyon for funding this study.

Authors' Contributions

Study concept and design: Pierre Pradat, Marianne Maynard, Fabien Zoulim, Marie Claude Gagnieu, and Francois Bailly. Acquisition of data: Marianne Maynard, Majid Amiri, Fanny Lebosse, Patrick Mialhes, Fabien Zoulim, Francois Bailly, and Marie Claude Gagnieu. Analysis and interpretation of data: Victor Virlogeux, Mathilde Leclercq, Giordiana Hatu, Pierre Pradat, Marianne Maynard, Marie Claude Gagnieu, and Francois Bailly. Drafting of the manuscript: Victor Virlogeux, Giordiana Hatu, and Pierre Pradat. Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Pierre Pradat, Victor Virlogeux, Marianne Maynard, Mathilde Leclercq, Giordiana Hatu, Majid Amiri, Fanny Lebosse, Patrick Mialhes, Fabien Zoulim, Marie Claude Gagnieu, and Francois Bailly. Statistical analysis: Victor Virlogeux and Pierre Pradat. Study supervision: Francois Bailly and Fabien Zoulim.

Funding/Support

The study was funded and hosted by the Hospices Civils de Lyon.

References

1. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;**364**(13):1207-17.
2. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2011;**364**(25):2405-16.
3. Poordad F, McCone JJ, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;**364**(13):1195-206.
4. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011;**364**(25):2417-28.
5. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin. *Semin Liver Dis*. 1999;**19** Suppl 1:17-24.

6. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D, Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit.* 2000;**22**(5):555-65.
7. Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, Zarski JP, Bessard G, Souvignat C. Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;**47**(1):124-9.
8. Jen J, Laughlin M, Chung C, Heft S, Afrime MB, Gupta SK, et al. Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;**72**(4):349-61.
9. Sitole M, Silva M, Spooner I, Comee MK, Malloy M. Telaprevir versus boceprevir in chronic hepatitis C: a meta-analysis of data from phase II and III trials. *Clin Ther.* 2013;**35**(2):190-7.
10. Sauvage FL, Stanke-Labesque F, Gagnieu MC, Jourdil JF, Babany G, Marquet P. Feasibility of ribavirin therapeutic drug monitoring in hepatitis C. *Ther Drug Monit.* 2009;**31**(3):374-81.
11. Preston SL, Drusano GL, Glue P, Nash J, Gupta SK, McNamara P. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ribavirin in healthy volunteers as determined by stable-isotope methodology. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;**43**(10):2451-6.
12. Cotte L, Barraill-Tran A, Vincent C, Valantin MA, Fournier J, Lacombe K, et al. Telaprevir enhances ribavirin-induced anaemia through renal function impairment. *Antivir Ther.* 2015.
13. Kunze A, Huwylar J, Camenisch G, Gutmann H. Interaction of the antiviral drug telaprevir with renal and hepatic drug transporters. *Biochem Pharmacol.* 2012;**84**(8):1096-102.
14. Meyer zu Schwabedissen HE, Verstuyft C, Kroemer HK, Becque-mont L, Kim RB. Human multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter: functional characterization, interaction with OCT2 (SLC22A2), and single nucleotide polymorphisms. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;**298**(4):F997-F1005.
15. Borroni G, Cazzaniga M, Andreoletti M, Ceriani R, Guerzoni P, Omazzi B, et al. Low glomerular filtration rate is a risk factor for ribavirin-associated anaemia in old patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2013;**20**(4):e90-5.
16. Russmann S, Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr Med Chem.* 2006;**13**(27):3351-7.
17. Alsio A, Rembeck K, Askarieh G, Christensen PB, Farkkila M, Langeland N, et al. Impact of obesity on the bioavailability of peginterferon-alpha2a and ribavirin and treatment outcome for chronic hepatitis C genotype 2 or 3. *PLoS One.* 2012;**7**(5):e37521.
18. Wade JR, Snoeck E, Duff F, Lamb M, Jorga K. Pharmacokinetics of ribavirin in patients with hepatitis C virus. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;**62**(6):710-4.
19. European Medicines Agency. *Summary of Product Characteristics.* European Medicines Agency; 2015. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000246/WC500048210.pdf.
20. Glue P, Schenker S, Gupta S, Clement RP, Zambas D, Salfi M. The single dose pharmacokinetics of ribavirin in subjects with chronic liver disease. *Br J Clin Pharmacol.* 2000;**49**(5):417-21.
21. Takaki S, Tsubota A, Hosaka T, Akuta N, Someya T, Kobayashi M, et al. Factors contributing to ribavirin dose reduction due to anemia during interferon alfa2b and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol.* 2004;**39**(7):668-73.
22. Hezode C, Fontaine H, Dorival C, Zoulim F, Larrey D, Canva V, et al. Effectiveness of telaprevir or boceprevir in treatment-experienced patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis. *Gastroenterology.* 2014;**147**(1):132-142 e4.
23. Miallhes P, Gilbert C, Lacombe K, Arends JE, Puoti M, Rockstroh JK, et al. Triple therapy with boceprevir or telaprevir in a European cohort of cirrhotic HIV/HCV genotype 1-coinfected patients. *Liver Int.* 2015.
24. Brochot E, Bodeau S, Duverlie G. Does therapeutic drug monitoring of ribavirin in HCV genotype 3 treatment with sofosbuvir and ribavirin still have a role? *Ther Drug Monit.* 2015;**37**(4):550-1.
25. Pradat P, Virlogeux V, Gagnieu MC, Zoulim F, Bailly F. Ribavirin at the Era of Novel Direct Antiviral Agents for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection: Relevance of Pharmacological Monitoring. *Adv Hepatol.* 2014;**2014**:1-13.



Liver, Pancreas and Biliary Tract

Sofosbuvir plus daclatasvir with or without ribavirin for chronic hepatitis C infection: Impact of drug concentration on viral load decay



Victor Virlogeux^{a,b,c,1}, Laure Choupeaux^{a,1}, Pierre Pradat^{a,b,c}, Marianne Maynard^{a,b,c}, François Bailly^{a,b,c}, Caroline Scholtès^d, Marie-Claude Gagnieu^e, Fabien Zoulim^{a,b,c,*}

^a Department of Hepatology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

^b Lyon University, Lyon, France

^c Cancer Research Center of Lyon, UMR Inserm U1052, CNRS 5286, Lyon, France

^d Department of Virology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

^e Department of Pharmacology, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 March 2016

Accepted 13 July 2016

Available online 21 July 2016

Keywords:

Cirrhosis

Direct acting antiviral agents

HCV

Pharmacological monitoring

ABSTRACT

Background: Sofosbuvir (SOF) plus daclatasvir (DCV) with or without ribavirin is one of the currently recommended treatment option for chronic hepatitis C.

Aims: Our objectives were to identify factors associated with SOF/DCV plasma concentrations [C] variations and to evaluate their impact on viral kinetics.

Methods: 130 consecutive HCV patients initiating SOF/DCV therapy with or without ribavirin were enrolled. Clinical, biological, virological and pharmacological data were collected at baseline, at week 4, 8, 12, and 24 of therapy and 12 weeks after the end of therapy.

Results: Mean age was 57 years, 68% of patients were males, 69% were infected by HCV genotype 1 and cirrhosis was observed in 76% of patients. Multivariate analysis showed that higher SOF [C] and DCV [C] during treatment were associated with eGFR impairment and absence of cirrhosis. We found a significant correlation between the magnitude of HCV viral load decrease from day 0 to week 4 and a higher SOF [C] at week 4 ($p = 0.032$) and a higher DCV [C] at week 8 ($p = 0.013$).

Conclusions: Pharmacological monitoring showed significant associations between elevated SOF or DCV [C] and absence of cirrhosis, decreased eGFR and viral load decrease during the first month of treatment.

© 2016 Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

About 170 million people are chronically infected with the hepatitis C virus (HCV) worldwide [1] and HCV is a major cause of cirrhosis and hepatocellular carcinoma [2]. Before the recent approval of new direct-acting antiviral agents (DAA), triple therapy combining PEGylated interferon (PEG-IFN), ribavirin, and protease inhibitor (boceprevir or telaprevir) was the standard of care for HCV treatment [3,4]. Previous studies with PEG-IFN/ribavirin or its association with telaprevir or boceprevir showed an association between ribavirin plasma concentration and occurrence of side effects such as anaemia and renal dysfunction [5–8]. An impact of

ribavirin plasma concentration on viral kinetics and efficacy has also been reported [5,7,9–11].

Two recent DAAs NS5A/NS5B inhibitors (daclatasvir and sofosbuvir) have been approved in Europe and in the USA for the treatment of HCV infection [12–14]. In phase III trials, a sustained virological response 12 weeks after the end of therapy (SVR₁₂) was observed in 98% of genotype 1, 92% of genotype 2 and 89% of genotype 3 patients, respectively. No difference was observed between regimens with or without ribavirin [12]. Current guidelines recommend for all patients a dose of 60 mg orally once daily of daclatasvir and a dose of 400 mg orally once daily of sofosbuvir with or without ribavirin. Moreover, the recommended treatment duration is 12 weeks for non-cirrhotic and 24 weeks for cirrhotic patients [15]. As these new treatments are highly expensive, one of the current questions is to shorten treatment duration without jeopardizing the high SVR rate. Sofosbuvir first undergoes intracellular activation into GS-461203 and is then metabolized into GS-331007 an inactive renally eliminated metabolite that would present an interest for therapeutic drug monitoring during therapy [16]. On the other

* Corresponding author at: INSERM U1052, 151 Cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France. Fax: +33 4 72 68 19 71.

E-mail address: fabien.zoulim@inserm.fr (F. Zoulim).

¹ Equal contribution.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2016.07.014>

1590-8658/© 2016 Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

hand the renal clearance of daclatasvir is the minor elimination pathway and no impact on virological efficacy has been observed among patients with renal impairment [17].

Therefore, we evaluated in patients treated with sofosbuvir plus daclatasvir the potential factors associated with drug concentrations and the impact of plasma concentration on viral kinetics.

2. Material and methods

2.1. Patients

All HCV infected patients from the Department of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Lyon, France receiving sofosbuvir/daclatasvir with or without ribavirin between February and September 2014 were considered. Other inclusion criteria were at least one measurement of sofosbuvir or daclatasvir plasma concentration during therapy and a follow-up of at least 3 months after the end of treatment. Exclusion criteria were severe renal failure (estimated glomerular filtration rate (eGFR) < 30 ml/min/1.73 m²) and liver transplantation during therapy. A total of 148 patients were consequently considered and 18 (12%) of them were not eligible and excluded from the analysis, among whom 6 (33%) had no measurement of sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration, 3 (17%) had liver transplantation during therapy, 1 (6%) had severe renal failure and 8 (44%) never started their treatment.

In this retrospective analysis of prospectively followed patients, demographic, clinical, biochemical and virological data were collected at baseline and at different time points during treatment (week 4, 8, 12 and 24) and 12 weeks after the end of therapy. More than 95% of patients (N = 123) were treated during 24 weeks, among whom 74% (N = 91) received ribavirin and 7 patients were treated during 12 weeks, among whom 71% (N = 5) received ribavirin. Sustained virological response was defined as undetectable HCV RNA by sensitive assay (Abbot real-time PCR, Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA) 12 weeks after the end of treatment (SVR₁₂). The lower limit of quantification of HCV RNA was 12 IU/mL.

2.2. Assessment of sofosbuvir and daclatasvir plasma concentration

Plasma trough concentrations of sofosbuvir/daclatasvir were assessed using a validated ultra-performance liquid chromatographic method (UPLC) associated with tandem mass spectrometry detector (Xevo-Waters). Regarding sofosbuvir, the main circulating form in plasma is the GS-331007 metabolite; sofosbuvir is regularly undetectable in plasma 3 h after the last intake. Consequently, in this study, we used the metabolite plasma concentration as surrogate marker of sofosbuvir exposition [16]. Plasma concentrations were measured at week 4, 8, 12 and 24 during therapy and the median concentration was calculated for each patient.

2.3. Ethical considerations

All patients included in this study gave their written informed consent to allow the use of their personal clinical data in accordance with the ethics regulation defined in France by the CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

2.4. Statistical analysis

Nominal and categorical parameters were expressed as absolute numbers and percentages. Mean and standard deviation (SD) were calculated for normally distributed variables, and median and interquartile ranges (IQR) for non-normally distributed variables.

The association between the median plasma concentration of sofosbuvir/daclatasvir during treatment and factors such as age,

gender, body mass index (BMI), ribavirin, history of liver transplantation, initial histology, history of hepatocellular carcinoma (past and present) and initial eGFR was evaluated using simple and multivariate linear regression. Correlation between the HCV viral load decrease from day 0 (D0) to week 4 (W4) of therapy and the plasma concentration of sofosbuvir/daclatasvir at W4 and W8 respectively was assessed using Pearson correlation coefficient analysis. For all analyses, a two-tailed significance testing and a significance level of 0.05 were used. Analyses were conducted using R version 3.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. Results

3.1. Patients' characteristics

Data on 130 consecutive HCV patients receiving sofosbuvir/daclatasvir with ribavirin (N = 96; 74%) or without ribavirin (N = 34; 26%) were analyzed. Patients' characteristics are presented in Table 1. Sixty-eight percent (N = 88) of patients were males, mean age was 60.1 years (±9.5) and 69% of patients (N = 89) were infected by HCV genotype 1, 39 (30%) by genotype 1a and 50 (39%) by genotype 1b; 24 patients (19%) were infected by genotype 3 and 14 patients (11%) by genotype 4. Regarding previous antiviral therapy (i.e. PEG-IFN/ribavirin or PEG-IFN/ribavirin with telaprevir or boceprevir), 57% of patients (N = 73) were previous null-responders, 21% (N = 27) were relapsers, 9% (N = 12) experienced viral breakthrough and 13% (N = 17) were naive. More than 76% (N = 99) of

Table 1
Patients' characteristics at baseline.

Characteristics	Total (N = 130)
Age (years); mean ± SD	60.1 ± 9.5
Male gender—n (%)	88 (67.7)
BMI; mean ± SD (N = 120)	25.5 ± 5.2
Genotype—n (%) (N = 130)	
1a	39 (30.0)
1b	50 (38.5)
2	1 (0.8)
3	24 (18.5)
4	14 (10.8)
Other	2 (1.5)
Previous treatment response—n (%) (N = 129)	
Naive	17 (13.2)
Relapser	27 (20.9)
Viral breakthrough	12 (9.3)
Null response	73 (56.6)
Diabetes—n (%) (N = 130)	31 (23.8)
Histological METAVIR score ^a —n (%) (N = 130)	
F1	5 (3.8)
F2	11 (8.5)
F3	15 (11.5)
F4	99 (76.2)
IL28B Genotype—n (%) (N = 48)	
C/C	14 (29.2)
C/T	29 (60.4)
T/T	5 (10.4)
Liver transplantation—n (%) (N = 130)	17 (13.1)
Hepatocellular carcinoma—n (%) (N = 130)	19 (14.6)
Coinfection—n (%) (N = 130)	
HIV	5 (3.8)
HBV	3 (2.3)
Viral load in log IU/mL—mean ± SD (N = 130)	6.0 ± 0.76
Renal function ^b —n (%) (N = 130)	
eGFR > 90 ml/min/1.73 m ²	100 (76.9)
eGFR 60–89	23 (17.7)
eGFR 30–59	7 (5.4)
eGFR < 30	0
MELD score—mean ± SD (N = 126)	9.1 ± 3.4

^a Assessed in 58% of patients by transient elastography (FibroScan), 34% by Fibrotest and 8% by liver biopsy; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

^b Renal function was evaluated using the modification of diet in renal disease (MDRD) study equation to estimate the glomerular filtration rate (eGFR).

patients were cirrhotics, 13% (N = 17) had liver transplantation and 15% (N = 19) had hepatocellular carcinoma, with 53% (N = 10) during the therapy. Only 8 patients (6%) were co-infected with HIV or HBV. Seven patients (5%) had a moderate renal insufficiency (30 < eGFR < 60 ml/min/1.73 m²) at treatment initiation.

3.2. Treatment efficacy

Using a per-protocol approach, more than 98% (N = 124/127; 3 patients were lost to follow-up) of patients achieved SVR₁₂, representing 95.3% in intent-to-treat (ITT) analysis (Fig. 1). No difference was observed regarding SVR₁₂ when comparing 12 and 24 weeks of therapy (100% vs. 97%, respectively). At week 4 after the initiation of therapy, 50% of patients achieved HCV RNA levels below the lower limit of quantification and 96% at week 12 (Fig. 1). Three patients failed to achieve SVR₁₂. Two of them experienced a relapse after the end of therapy and one never achieved undetectable viral load during the 24 weeks of antiviral therapy (Fig. 2). We also explored HCV viral kinetics among patients treated with a shorter course of DAA (12 weeks) with or without ribavirin, but we did not observe any specific pattern for this subgroup (Fig. 3).

Concerning treatment tolerance, only 41% of patients (N = 53) reported at least one adverse event during therapy. More than 22% (N = 29) reported asthenia, 19% (N = 25) neurological adverse events (more specifically headaches, insomnia and irritability), 8% (N = 10) muscular side effects and 8% (N = 10) digestive side effects.

3.3. Pharmacological monitoring

We evaluated the potential effect of different factors on sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration (Tables 2 and 3). We observed an increase of the median plasma concentration of sofosbuvir

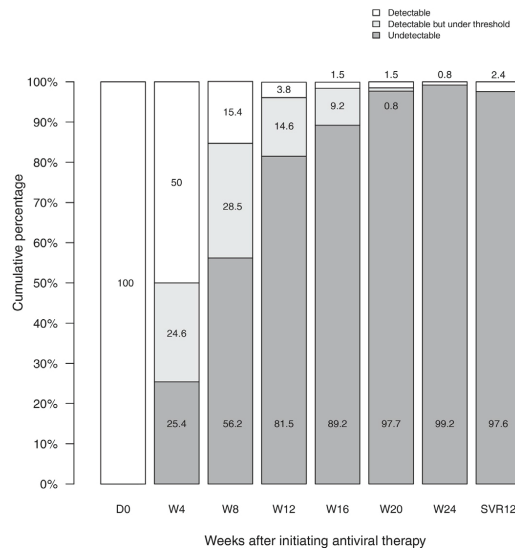


Fig. 1. Evaluation of HCV viral load kinetics among patients treated with sofosbuvir/daclatasvir with or without ribavirin.

between W4 (median = 0.49; IQ: 0.31–0.77) and W8 (median = 0.59; IQ: 0.38–0.87) of therapy when considering all patients but this difference was slightly over the limit of statistical significance (p = 0.082). Univariate analysis showed an association between

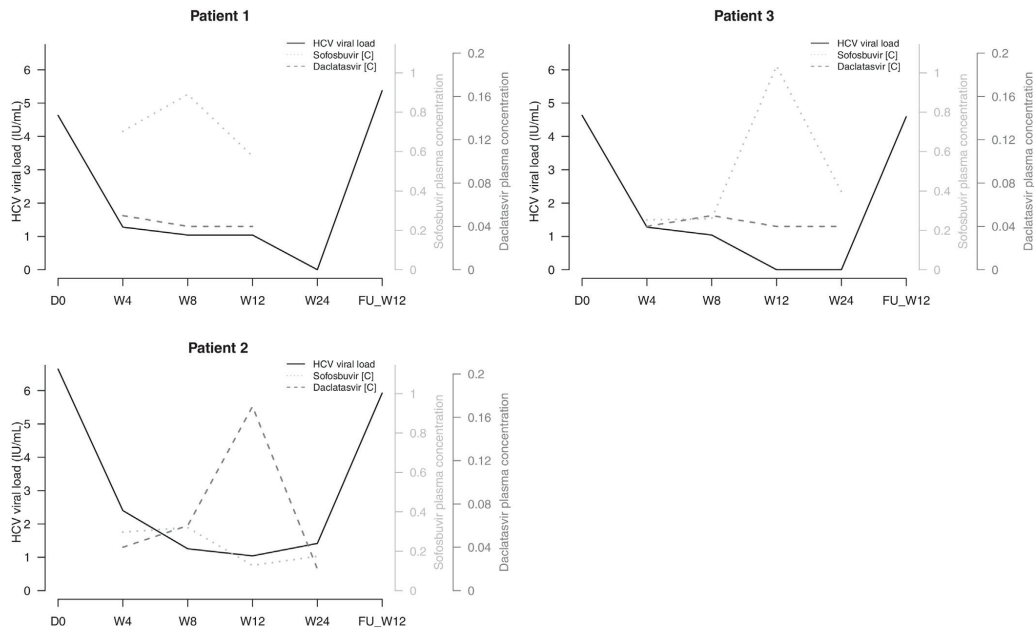


Fig. 2. HCV viral load kinetics and sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration monitoring during therapy among non-responder patients. D0: first day of treatment, W: week after treatment initiation, FU-12: 12-week follow-up after the end of treatment.

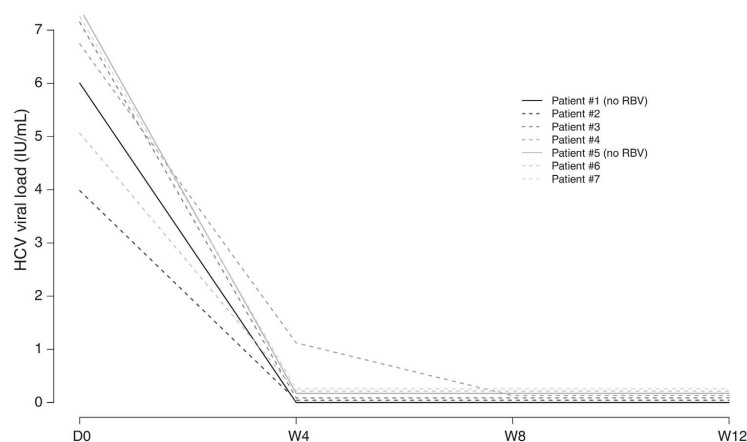


Fig. 3. HCV viral load decrease among patients receiving 12 weeks of sofosbuvir and daclatasvir with or without ribavirin therapy.

Table 2

Median plasma concentration of sofosbuvir/daclatasvir during treatment.

Median plasma concentration, mg/L (IQ)	Patients with cirrhosis (N=88)	Patients without cirrhosis (N=26)	All patients
Sofosbuvir			
Week 4	0.43 (0.31–0.71)	0.70 (0.49–1.10)	0.49 (0.31–0.77)
Week 8	0.56 (0.34–0.75)	0.90 (0.58–1.29)	0.59 (0.38–0.87)
Week 12	0.57 (0.37–0.84)	0.88 (0.53–1.35)	0.63 (0.40–0.90)
Week 16	0.47 (0.34–0.72)	0.88 (0.61–1.36)	0.58 (0.37–0.95)
Week 20	0.58 (0.38–0.80)	0.86 (0.66–1.29)	0.61 (0.41–0.84)
Week 24	0.56 (0.29–0.85)	0.73 (0.66–0.92)	0.68 (0.36–0.86)
Whole treatment	0.56 (0.36–0.74)	0.90 (0.62–1.24)	0.62 (0.40–0.81)
Daclatasvir			
Week 4	0.16 (0.09–0.27)	0.30 (0.15–0.61)	0.18 (0.09–0.31)
Week 8	0.17 (0.08–0.25)	0.31 (0.18–0.48)	0.19 (0.11–0.34)
Week 12	0.17 (0.08–0.30)	0.42 (0.10–0.63)	0.18 (0.09–0.35)
Week 16	0.13 (0.07–0.26)	0.40 (0.24–0.70)	0.17 (0.09–0.38)
Week 20	0.14 (0.08–0.24)	0.35 (0.22–0.57)	0.19 (0.10–0.28)
Week 24	0.15 (0.07–0.23)	0.21 (0.09–0.34)	0.16 (0.07–0.27)
Whole treatment	0.16 (0.09–0.23)	0.33 (0.18–0.60)	0.18 (0.10–0.28)

higher sofosbuvir median plasma concentration and the following factors: female gender ($p=0.006$), absence of ribavirin in treatment regimen ($p=0.029$), history of liver transplantation ($p=0.027$), absence of cirrhosis ($p=0.001$), older age ($p=0.006$) and decreased baseline eGFR ($p<0.001$, Appendix). Multivariate analysis reported only absence of cirrhosis and decreased baseline eGFR as factors significantly associated with a higher median plasma concentration of sofosbuvir during treatment ($p<0.001$). In the case of daclatasvir, univariate analysis reported an association between higher median plasma concentration and liver transplantation ($p=0.039$), absence of cirrhosis ($p=0.005$) and decreased initial eGFR ($p<0.001$, Appendix). Similarly to sofosbuvir, multivariate analysis showed that only absence of cirrhosis ($p=0.004$) and decreased baseline eGFR ($p=0.020$) were significantly associated with higher daclatasvir plasma concentration. We reproduced these analyses in a subgroup of HCV genotype 3 patients ($N=24$) and we also found that decreased baseline eGFR was associated with higher sofosbuvir ($p=0.003$) and daclatasvir ($p=0.004$) median plasma concentration in the univariate analysis. Similar conclusion was observed in the multivariate analysis but only for sofosbuvir median plasma concentration ($p=0.033$).

We then assessed the potential correlation between sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration and decrease of HCV viral load between D0 and W4 of therapy. We found that patients with elevated median plasma concentration of sofosbuvir and/or daclatasvir had a higher HCV viral load decrease between D0 and W4 of therapy ($r=0.202$; 95% CI [0.028–0.363]; $p=0.021$ and $r=0.234$; 95% CI [0.062–0.392]; $p=0.008$, respectively). Consequently, we analyzed more precisely the time at which plasma concentration of sofosbuvir/daclatasvir could be more correlated with the HCV viral load decrease between D0 and W4 and we found that for sofosbuvir, a significant correlation was only observed for the plasma concentration at W4 ($r=0.208$; 95% CI [0.018–0.384]; $p=0.032$), whereas for daclatasvir this was only observed at W8 ($r=0.251$; 95% CI [0.055–0.428]; $p=0.013$).

Median plasma concentration of sofosbuvir and daclatasvir during treatment for the 3 non-responder patients are described in Fig. 2. We then compared the median plasma concentration of sofosbuvir between responders (median=0.63 mg/L; IQR: 0.40–0.81) and non-responders (median=0.31 mg/L; IQR: 0.24–0.44) to treatment. Similar differences were observed for daclatasvir (responders, median=0.18 mg/L; IQR: 0.10–0.29; non-responders, median=0.04 mg/L; IQR: 0.04–0.06). However, since

Table 3
Factors associated with median sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration during antiviral therapy. Bold type indicates statistical significance.

Factors	Sofosbuvir		Daclatasvir	
	β^a [CI 95%] (N = 106)	p	β^a [CI 95%] (N = 106)	p
Age	-0.002 [-0.008–0.005]	0.648	-0.003 [-0.009–0.003]	0.370
Gender (male vs. female)	-0.030 [-0.162–0.101]	0.648	-0.045 [-0.162–0.072]	0.444
Body mass index (BMI)	-0.004 [-0.015–0.007]	0.483	-0.001 [-0.011–0.009]	0.791
Ribavirin (presence vs. absence)	-0.064 [-0.194–0.067]	0.335	0.108 [-0.007–0.224]	0.066
Liver transplant (presence vs. absence)	-0.039 [-0.238–0.160]	0.700	0.164 [-0.012–0.341]	0.068
Baseline histology (cirrhosis vs. non-cirrhosis)	-0.279 [-0.426 to -0.131]	<0.001	-0.193 [-0.324 to -0.062]	0.004
Hepatocellular carcinoma (presence vs. absence)	0.102 [-0.074–0.278]	0.252	0.009 [-0.147–0.165]	0.912
Baseline estimated glomerular filtration rate (eGFR)	-0.007 [-0.010 to -0.005]	<0.001	-0.002 [-0.004 to -0.001]	0.020

^a β coefficients were calculated using multiple linear regression where the median sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration was the outcome variable and age, gender, BMI, ribavirin, liver transplant, initial histology and initial glomerular filtration rate were the predictor.

only 3 patients were non-responders, no statistical test was performed. In the restricted subgroup of HCV genotype 3 patients (N = 24), these results could not be replicated.

4. Discussion

The present study reports a significant association between absence of cirrhosis as well as low baseline eGFR and higher median plasma concentration of sofosbuvir/daclatasvir during treatment. Moreover, a significant correlation between magnitude of HCV viral load decline between baseline and W4 of therapy and plasma concentration at W4 for sofosbuvir and at W8 for daclatasvir was observed. To our knowledge, this is the first study to explore the potential factors associated with sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration and the correlation between DAA plasma concentration and viral kinetics during treatment.

In this study, decreased baseline eGFR and absence of cirrhosis were significantly associated with increased plasma concentration of sofosbuvir and daclatasvir. Indeed, sofosbuvir is metabolized first via intracellular activation resulting in an "active" form the GS-461203 and then in an inactive metabolite called GS-331007 which is mostly renally eliminated and used to assess the plasma concentration of sofosbuvir during therapeutic drug monitoring [16,18]. Two previous phase II studies (ELECTRON and PROTON studies) analyzed the potential effect of renal impairment on sofosbuvir plasma concentration. The authors found a higher GS-331007 AUC_{0-∞} among patients with impaired renal function, which is in accordance with our findings [18]. Decreased renal function could lead to a decrease of sofosbuvir renal clearance and consequently increase its plasma concentration during treatment. Concerning daclatasvir, even if renal clearance is the minor elimination pathway for this antiviral agent [19], a previous study also showed an increased daclatasvir plasma concentration after a single dose intake among patients with impaired renal function [17]. However, since daclatasvir is essentially metabolized in the liver, the biological mechanism of this observation deserves further explorations.

Cirrhotic patients usually present decreased hepatic function, which impairs the metabolic pathways. This could explain why cirrhotic patients present lower sofosbuvir and/or daclatasvir plasma concentration. Concerning sofosbuvir, a previous study showed an increased AUC_{0-24h} among patients with impaired hepatic function but the authors did not observe such variations for GS-331007 [20]. In the case of daclatasvir, a previous study found similar association in phase II trial with lower AUC_{0-∞} among patients with hepatic impairment [21].

In this "real life" study including 76% of cirrhotics, more than 95% of patients achieved SVR₁₂. Such high rates of SVR₁₂ were also observed in phase III trials [12]. HCV viral load rapidly decreased after treatment initiation with more than 50% of patients being

under the limit of quantification at W4. We evaluated the correlation between plasma concentration of sofosbuvir and daclatasvir and HCV viral load decrease during the early phase of treatment, i.e. from day 0 to week 4. Elevated plasma concentration of sofosbuvir at W4 was correlated with higher HCV viral load decrease between baseline and W4, whereas higher plasma concentration of daclatasvir at W8 was significantly correlated with higher HCV viral load decrease between baseline and W4. The correlation between plasma concentration of antiviral agent and HCV viral load decrease was previously observed during PEG-IFN/ribavirin therapy, but such an association had never been reported in case of sofosbuvir/daclatasvir therapy [5,7,9–11]. In this study, even if the correlation between the HCV viral load decrease from baseline to W4 and the DAA plasma concentration at W4/W8 is observed and cannot be used as a predictive factor, these results stress the relevance of achieving optimal DAA plasma concentration to expect virological efficacy. Among the large panel of newly available DAA, one of the current treatment recommendations for HCV genotype 3 patients is the association of sofosbuvir and daclatasvir ± ribavirin [22]. We replicated the analysis in this target HCV genotype 3 population that is of particular interest but we could not replicate the results due to a lack of power. Further studies focusing on HCV genotype 3 patients only are needed for this association of DAA.

Our study has some limitations. The DAA pharmacological monitoring and the assessment of HCV viral load were not performed at week 2 of treatment, which could have been of particular interest to more precisely evaluate the correlation between HCV viral load decrease and DAA plasma concentration during the very early phase. Moreover, due to the limited number of patients failing to achieve SVR₁₂, we could not accurately compare the DAA plasma concentration between responder and non-responder patients. Another limitation is that we did not assess ribavirin plasma concentration during treatment. Previous studies about PEG-IFN/ribavirin therapy showed that optimal ribavirin plasma concentration is associated with early virological response and that reduced renal function can have on the other hand a negative impact on treatment virological efficacy [5,7]. Further studies are needed to explore the potential impact of ribavirin plasma concentration on DAA treatment efficacy and tolerance.

In conclusion, sofosbuvir/daclatasvir treatment in real life setting with or without ribavirin leads to a high rate of virological response even among cirrhotic patients. Pharmacological monitoring of DAA during therapy showed the impact of cirrhosis and renal function on plasma drug concentration. Moreover, our results report a significant correlation between DAA plasma concentration and HCV viral load kinetics during the early phase of treatment. Larger studies are needed to investigate the potential effect of plasma drug concentration on virological failure in non-responder patients.

Conflict of interest

Fabien Zoulim received consulting/speaker fees from Gilead Science, Bristol Myers Squibb, and Abbvie. The other authors have no conflict of interest to declare.

Appendix A. Supplementary data

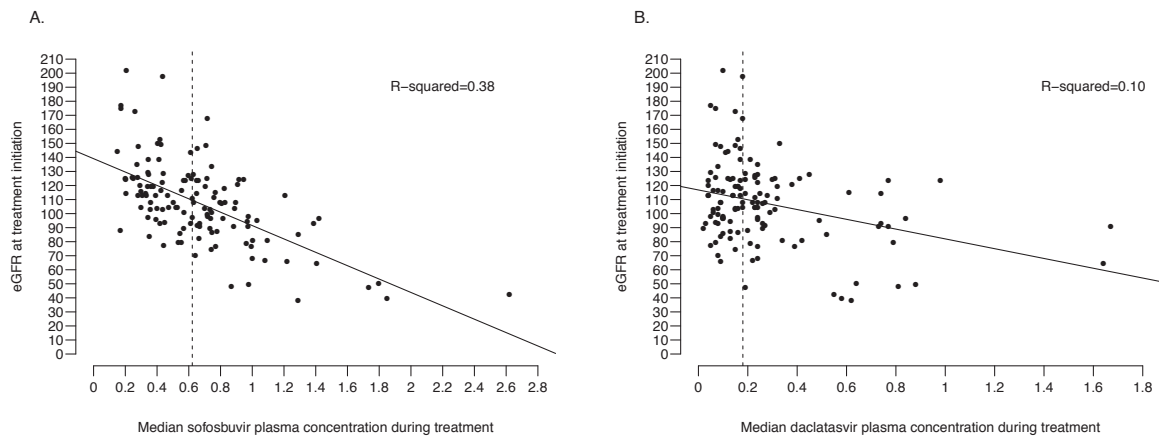
Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2016.07.014>.

References

- [1] Averhoff FM, Glass N, Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases: Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2012;55(Suppl 1):S10–5.
- [2] de Oliveira Andrade LJ, D'Oliveira A, Melo RC, et al. Association between hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Journal of Global Infectious Diseases* 2009;1:33–7.
- [3] Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *New England Journal of Medicine* 2011;364:1207–17.
- [4] Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *New England Journal of Medicine* 2011;364:2417–28.
- [5] Morello J, Rodríguez-Novoa S, Jiménez-Nácher I, et al. Usefulness of monitoring ribavirin plasma concentrations to improve treatment response in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008;62:1174–80.
- [6] Deltenre P, Moreno C, Tran A, et al. Anti-viral therapy in haemodialysed HCV patients: efficacy, tolerance and treatment strategy. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2011;34:454–61.
- [7] Pradat P, Virlogeux V, Gagnieu M-C, et al. Ribavirin at the era of novel direct antiviral agents for the treatment of hepatitis C virus infection: relevance of pharmacological monitoring. *Advances in Hepatology* 2014;2014:1–13.
- [8] Virlogeux V, Pradat P, Bailly F, et al. Boceprevir and telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C: virological efficacy and impact on kidney function and model for end-stage liver disease score. *Journal of Viral Hepatitis* 2014;21:e98–107.
- [9] Jin R, Cai L, Tan M, et al. Optimum ribavirin exposure overcomes racial disparity in efficacy of peginterferon and ribavirin treatment for hepatitis C genotype 1. *American Journal of Gastroenterology* 2012;107:1675–83.
- [10] Pedersen C, Alsio A, Lagging M, et al. Ribavirin plasma concentration is a predictor of sustained virological response in patients treated for chronic hepatitis C virus genotype 2/3 infection. *Journal of Viral Hepatitis* 2011;18:245–51.
- [11] Maynard M, Pradat P, Gagnieu M-C, et al. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients. *Antiviral Therapy* 2008;13:607–11.
- [12] Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *New England Journal of Medicine* 2014;370:211–21.
- [13] Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *New England Journal of Medicine* 2013;368:1878–87.
- [14] Pol S, Ghalib RH, Rustgi VK, et al. Daclatasvir for previously untreated chronic hepatitis C genotype-1 infection: a randomised, parallel-group, double-blind, placebo-controlled, dose-finding, phase 2a trial. *Lancet Infectious Diseases* 2012;12:671–7.
- [15] EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. EASL 2015. <http://www.easl.eu/medias/cpg/HEPC-2015/Summary.pdf> [accessed 24.11.15].
- [16] Kirby BJ, Symonds WT, Kearney BP, et al. Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and drug-interaction profile of the hepatitis C virus NS5B polymerase inhibitor sofosbuvir. *Clinical Pharmacokinetics* 2015;54:677–90.
- [17] Garimella T, Wang R, Luo W-L, et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of daclatasvir in subjects with renal function impairment. *Antiviral Therapy* 2015;20:535–43.
- [18] Cornpropst MT, Denning JM, Clemons D, et al. The effect of renal impairment and end stage renal disease on the single-dose pharmacokinetics of PSI-7977. *Journal of Hepatology* 2012;56:S433.
- [19] Vespasiani-Gentilucci U. Hepatitis C treatment in the elderly: new possibilities and controversies towards interferon-free regimens. *World Journal of Gastroenterology* 2015;21:7412.
- [20] Lawitz E, Rodriguez-Torres M, Cornpropst MT, et al. The effect of hepatic impairment on the pharmacokinetics and antiviral activity of PSI-7977 in hepatitis C infected subjects treated for seven days. *Journal of Hepatology* 2012;56:S445–6.
- [21] Bifano M, Sevinsky H, Persson A, et al. Single-dose pharmacokinetics of daclatasvir (DCV; BMS-790052) in subjects with hepatic impairment compared with healthy subjects. *Hepatology* 2011;54:1004A.
- [22] HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C – initial treatment of HCV infection – AASLD/IDSA; 2016. <http://www.hcvguidelines.org/full-report/initial-treatment-hcv-infection> [accessed 03.04.16].

Appendix

Supplementary Figure 1. Correlation between eGFR at treatment initiation and median sofosbuvir (Panel A)/ daclatasvir (Panel B) plasma concentration during treatment. Dashed vertical lines represent the median of sofosbuvir/daclatasvir plasma concentration during treatment for all patients



5 Impact des nouveaux traitements par AAD sur le risque de récurrence du CHC

5.1 Présentation de l'article

Face à la polémique lancée par les résultats de l'étude espagnole de Reig et al. présentée à l'EASL en Avril 2016 et publiée consécutivement, résultats soutenus par une autre équipe italienne de Conti et al., nous avons voulu explorer à notre échelle cette question alarmante afin de savoir si l'on observait ou non la même association. (105,106)

Nous avons donc décidé de réaliser une étude rétrospective comprenant des patients VHC avec un seul antécédent de CHC mis en rémission complète et divisés en deux groupes: non-exposés (non traités par AAD) et exposés (traités par AAD). Nous avons considéré tous les patients VHC ayant développé un CHC entre Janvier 2009 et Mars 2016 et suivis à l'hôpital de la Croix-Rousse. Parmi les 227 patients identifiés, 159 ont été exclus pour les raisons suivantes: transplantation hépatique avant 2009, antécédents de multiples CHC avant 2009, traitement du premier CHC par transplantation hépatique, pas de traitement du CHC, exposition aux AAD avant le premier épisode de CHC, apparition du CHC sous traitement AAD, absence de rémission post-traitement du CHC, perdu de vue, coinfection VIH et cirrhose décompensée.

Au final, 68 patients ont été considérés dans l'analyse avec 23 patients exposés et 45 patients non-exposés aux AAD. La date de début de suivi (J0) a été définie comme étant la date de rémission du premier CHC, c'est-à-dire l'examen d'imagerie de contrôle post-traitement du CHC. Les données de suivi de ces patients ont été collectées à chaque visite de contrôle avec un rythme trimestriel la première année et trimestriel ou semestriel à partir de la deuxième année selon les recommandations de la société américaine pour l'étude des maladies du foie (AASLD) et ce jusqu'à une récurrence du CHC ou jusqu'à la date limite de suivi de l'étude le 28/02/2017.

Etant donné le type de suivi longitudinal pour chacun des patients, l'analyse du taux de récurrence de CHC a été réalisée par une méthode d'analyse de survie univariée et multivariée comme décrite dans le chapitre 2.4. Pour faire face à l'absence de randomisation entre les 2 groupes et prendre en compte ainsi au maximum les potentiels facteurs confondants dans l'analyse, un score de propension (c'est-à-dire la probabilité d'avoir reçu un traitement par AAD) a été calculé en fonction de nombreuses caractéristiques du patient au J0 de l'analyse. Ce score a ensuite été directement intégré dans l'analyse multivariée, permettant ainsi un ajustement lors de l'estimation des coefficients des autres variables dépendantes considérées. La sélection "rigoureuse" de la population de patients à comparer, divisée en "exposés" et "non-exposés", et l'utilisation d'un score de propension nous ont paru être les

méthodes les plus robustes à employer étant donné le design "rétrospectif" de notre étude pour essayer de répondre à la problématique alors posée. De plus, les études publiées à ce moment-là, également rétrospectives, souffraient fortement de ces lacunes méthodologiques.


Les deux groupes de patients comparés dans cette étude étaient similaires concernant les caractéristiques démographiques à J0 mise à part que les patients non traités par AAD étaient significativement plus âgés que ceux traités par AAD. La majorité des patients inclus dans l'étude étaient des hommes (76%), infectés par un VHC de génotype 1 (67%), non-répondeurs à un précédent traitement par PEG-IFN/RBV (70%) et tous étaient cirrhotiques. Le temps médian entre la rémission du premier CHC et le début du traitement par AAD était de 7,2 mois (min-max: 0,3 - 71,4 mois) et le temps médian entre le début du traitement par AAD et la récurrence de CHC était de 12,3 mois (min-max: 3 - 21,5 mois). Le taux de RVS était de 91% (21/23 patients). Le temps médian entre la rémission et la récurrence de CHC était de 15,5 mois (min-max: 5,3 - 44,4 mois) pour les patients non-exposés vs 10,1 mois (min-max: 2,3 - 59,4 mois) pour les patients exposés. Le taux "brut" de récurrence de CHC était de 1,6/100 PA pour les patients exposés vs 4,3/100 PA pour les patients non-exposés (p -value=0,008). Cette différence significative entre les 2 groupes était également observée dans l'analyse de survie univariée de Kaplan-Meier.

Dans l'analyse multivariée après ajustement sur le score de propension, l'âge, l'existence d'une intoxication alcoolique, le sexe et le score de MELD, le risque de récurrence de CHC était significativement diminué chez les patients exposés, avec un hazard-ratio= 0,21 (IC95%: 0,09 - 0,49; p -value<0,001). Pour prendre en compte certains facteurs confondants non considérés dans l'analyse principale, des analyses de sensibilité ont été réalisées: (i) en excluant les patients ayant des récurrences de CHC dites "précoces" c'est-à-dire dans les 6 mois suivant la rémission du CHC (soit 13 patients); (ii) en excluant les patients traités pour leur premier épisode de CHC avec des options thérapeutiques non reconnues comme étant "curatives" (c'est-à-dire alcoolisation ou chémoembolisation \pm radiothérapie de conformation; soit 8 patients). Dans ces deux analyses de sensibilité, des résultats similaires à ceux de l'analyse principale ont été observés.

Cette étude a finalement permis d'apporter des informations importantes concernant la récurrence précoce du CHC post traitement par AAD à notre échelle locale. La présence d'un groupe contrôle, de critères de sélection bien définis et d'un score de propension étaient des points forts de notre étude qui reste quoi qu'il en soit "rétrospective", avec tous les biais associés qui ne peuvent être contrôlés complètement par la méthode du score de propension. De plus, "l'hypersélection" réalisée dans notre étude a abouti à des effectifs de patients faibles dans les deux groupes considérés et donc également à une baisse de puissance. Les résultats observés dans notre étude sont uniquement applicables aux

patients cirrhotiques compensés avec un seul antécédent de CHC et ne peuvent être généralisables à la population entière de patients VHC. Le manque d'information d'anatomopathologie nous a également empêchés d'analyser la question concernant l'agressivité de la récurrence, une problématique qui sera rediscutée dans la section Discussion de ce manuscrit.

Direct-acting antiviral therapy decreases hepatocellular carcinoma recurrence rate in cirrhotic patients with chronic hepatitis C

Victor Virlogeux^{1,2}  | Pierre Pradat^{1,2} | Kerstin Hartig-Lavie^{1,2} | François Bailly^{1,2} | Marianne Maynard^{1,2} | Guillaume Ouziel^{1,2} | Domitille Poinot^{1,2} | Fanny Lebossé^{1,2} | Marie Ecochard^{1,2} | Sylvie Radenne^{1,2} | Samir Benmakhlouf^{1,2} | Joseph Koffi^{1,2} | Philippe Lack^{1,2} | Caroline Scholtes^{2,3} | Anne-Claire Uhres⁴ | Christian Ducer^{2,5} | Jean-Yves Mabrut^{2,5} | Agnès Rode⁶ | Massimo Levrero^{1,2} | Christophe Combet² | Philippe Merle^{1,2} | Fabien Zoulim^{1,2}

¹Department of Hepatology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²Centre Léon Bérard, Centre de recherche en cancérologie de Lyon, CNRS 5286, Inserm 1052, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

³Department of Virology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴Department of Pharmacology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁵Department of General Surgery and Liver Transplantation, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁶Department of Radiology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Correspondence

Pr Fabien Zoulim, INSERM U1052, Lyon, France.
Email: fabien.zoulim@inserm.fr

Handling Editor: Mario Mondelli

Abstract

Background and Aims: Arrival of direct-acting antiviral agents against hepatitis C virus with high-sustained virological response rates and very few side effects has drastically changed the management of hepatitis C virus infection. The impact of direct-acting antiviral exposure on hepatocellular carcinoma recurrence after a first remission in patients with advanced fibrosis remains to be clarified.

Methods: 68 consecutive hepatitis C virus patients with a first hepatocellular carcinoma diagnosis and under remission, subsequently treated or not with a direct-acting antiviral combination, were included. Clinical, biological and virological data were collected at first hepatocellular carcinoma diagnosis, at remission and during the surveillance period.

Results: All patients were cirrhotic. Median age was 62 years and 76% of patients were male. Twenty-three patients (34%) were treated with direct-acting antivirals and 96% of them achieved sustained virological response. Median time between hepatocellular carcinoma remission and direct-acting antivirals initiation was 7.2 months (IQR: 3.6–13.5; range: 0.3–71.4) and median time between direct-acting antivirals start and hepatocellular carcinoma recurrence was 13.0 months (IQR: 9.2–19.6; range: 3.0–24.7). Recurrence rate was 1.7/100 person-months among treated patients vs 4.2/100 person-months among untreated patients ($P=0.008$). In multivariate survival analysis, the hazard ratio for hepatocellular carcinoma recurrence after direct-acting antivirals exposure was 0.24 (95% confidence interval: 0.10–0.55; $P<0.001$).

Conclusions: Hepatocellular carcinoma recurrence rate was significantly lower among patients treated with direct-acting antivirals compared with untreated patients. Given

See Editorial on Page 1110

Abbreviations: AASLD, American Association for the Study of Liver Diseases; BCLC, Barcelona-Clinic Liver Cancer; DAA, direct-acting antivirals; EASL, European Association for the Study of the Liver; HCC, hepatocellular carcinoma; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; SVR, sustained virological response.

the potential impact of our observation, large-scale prospective cohort studies are needed to confirm these results.

KEYWORDS

direct-acting antivirals, hepatitis C virus, hepatocellular carcinoma, recurrence

1 | INTRODUCTION

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection leads to cirrhosis in 10%-15% of patients within the first 20 years and once cirrhosis is established, patients have an estimated 3%-5% annual risk of developing hepatocellular carcinoma (HCC) as well as a 3%-6% annual risk of hepatic decompensation, which are the major causes of death following HCV infection.^{1,2} Primary objective of HCV treatment is to reach a sustained virological response (SVR), which is associated with regression of fibrosis, reduction in portal hypertension and attenuated risk of developing hepatic decompensation and HCC.^{2,3}

HCV treatment has recently undergone a revolution with the development of direct-acting antivirals (DAA).² SVR rate now reaches 95% and above, even for patients infected with HCV genotype 3 and very few side effects have been reported compared with previous therapy.²

The expected outcome of DAA-induced SVR is to decrease the complications of chronic hepatitis C, including HCC development.⁴ However, the positive impact of DAA therapy in patients with HCC remission has recently been challenged. A recent study conducted by the *Barcelona-Clinic Liver Cancer* (BCLC) group reported an increased rate of HCC recurrence after HCC remission among HCV patients treated with DAA combination compared with the real-life recurrence rate.⁵ Analysis of the impact of DAA therapy on HCC recurrence in a large French cohort of patients with a variety of comorbidities did not show similar results.⁶ Notably, two other studies have reported an unexpected high incidence of HCC in patients following DAA therapy.^{7,8}

Therefore, we evaluated in a well-defined population of HCV patients, with a first HCC diagnosis followed by remission after treatment, the impact of DAA on HCC recurrence among patients who received antiviral therapy compared with untreated patients.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Patients

All HCV infected patients from the Department of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Lyon, France developing a first HCC and receiving or not a DAA combination therapy after HCC remission between January 2009 and March 2016 were considered. Inclusion criteria were the following: (i) first HCC diagnosed by invasive or non-invasive criteria following the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) guidelines during the study time horizon,⁹ (ii)

Keypoints

- Recent studies found an unexpected increased rate of HCC recurrence after HCC remission among HCV patients treated with DAA combination.
- HCC recurrence rate was compared in patients with a first HCC remission receiving or not a DAA-treatment. Untreated patients had a higher HCC recurrence rate compared with DAA-treated patients.
- A similar association with an increased risk of HCC recurrence among untreated patients was observed in a multivariate survival analysis.
- Our study suggests that DAA combination treatment could potentially induce a beneficial effect on HCC recurrence.

complete remission after HCC treatment defined by the European Association for the Study of the Liver (EASL) criteria as absence of residual tumour/complete necrosis at imaging 1 month after the end of HCC treatment.¹⁰

Exclusion criteria were: (i) prior history of HCC before January 2009, (ii) liver transplantation before HCC diagnosis, (iii) presence of "non-characterized nodules" after HCC treatment at imaging, (iv) history of DAA treatment before the first HCC diagnosis, (v) hepatic decompensation, (vi) human immunodeficiency virus (HIV) coinfection.

In this retrospective analysis of prospectively followed patients, demographic, clinical, biochemical, virological, radiological tumour response and surveillance imaging data were collected at first HCC diagnosis, at the remission time (liver imaging at least 1 month after the end of HCC treatment), at different time points during follow-up (every 3 months within the first year following HCC remission and every 3-6 months thereafter, according to AASLD routine clinical practice guidelines) and at the time of HCC recurrence, if any.⁹

2.2 | DAA-based therapy

Antiviral therapy and treatment duration were decided for each patient during the weekly multidisciplinary meeting in the Department of Hepatology according to the national and international guidelines at the time of treatment initiation.^{11,12} SVR was defined as undetectable HCV RNA by sensitive assay (Abbot real-time PCR, Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA) 12 weeks after the end of treatment (SVR₁₂). The lower limit of quantification of HCV RNA was 12 IU/mL.

2.3 | Ethical considerations

All patients included in this study gave their written informed consent to allow the use of their personal clinical data in accordance with the ethics regulation defined in France by the CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés). This study is a retrospective observational study and as defined by the French ethics regulation, no approval by a local ethics committee was needed.

2.4 | Statistical analysis

Nominal and categorical parameters were expressed as absolute numbers and percentages. For quantitative variables, median and interquartile ranges (IQR) were calculated, as well as minimum and maximum (range).

To assess the impact of DAA exposure on HCC recurrence, we conducted a univariate survival analysis using Kaplan–Meier estimator and secondly a multivariate analysis using a Cox proportional hazards model. To face the lack of proper randomization, we calculated a propensity score and we integrated it as a covariate in the Cox model to

reduce bias and increase precision through regression adjustment by taking into account several covariates that were not integrated directly in the multivariate analysis due to the restricted sample size and the risk of over parameterizing the model (see Appendix S1 for the list of covariates and a detailed description of the statistical analysis, Table S1 and Fig. S1).^{13,14} For all analyses, a two-tailed significance testing and a significance level of 0.05 were used. Analyses were conducted using R version 3.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3 | RESULTS

3.1 | Patients' characteristics

Between January 2009 and March 2016, 227 chronic hepatitis C patients followed at the Department of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Lyon, France, developed an HCC. One hundred and fifty-nine of them were excluded from the analysis (Figure 1). Among 68 patients included, 34% (N=23) were treated with DAA after HCC

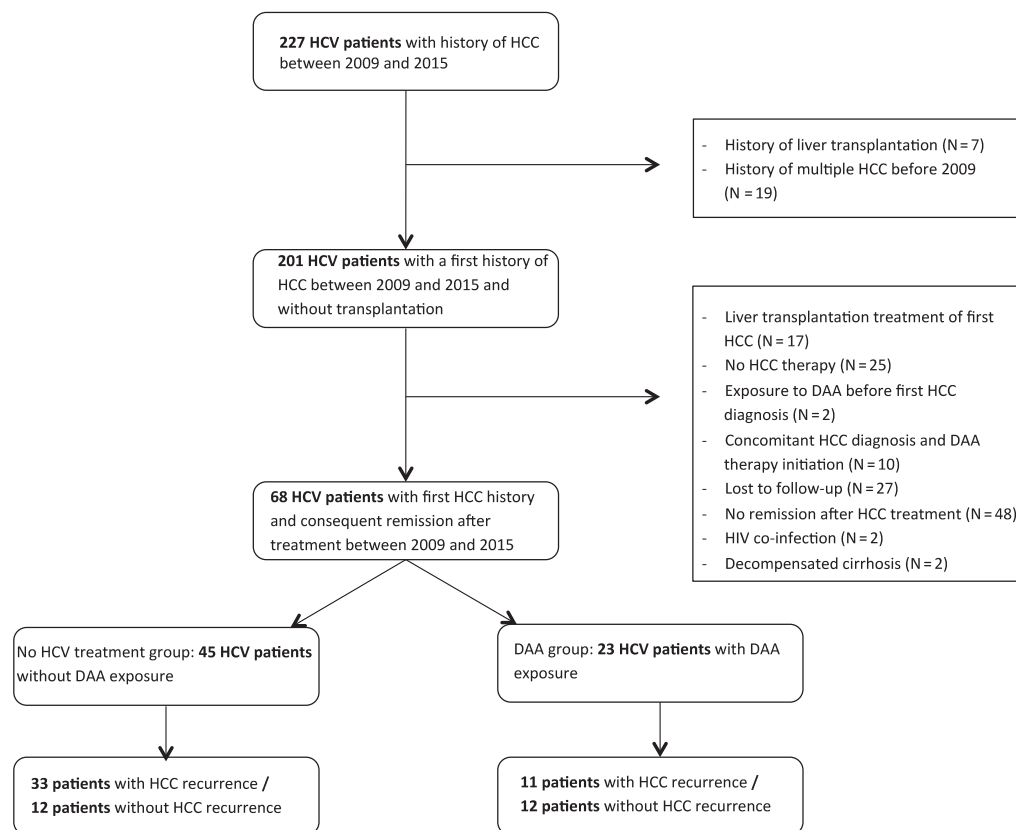


FIGURE 1 Flow chart showing patient selection. HCC: hepatocellular carcinoma, DAA: direct-acting antiviral drug

remission whereas 66% (N=45) did not receive any DAA combination after HCC remission (Appendix S1).

Patient's characteristics are reported in Table S2. No clear-cut difference appeared between both groups of patients. Male gender was predominant (76%, N=52) and untreated patients were older than treated patients (P=.002). About 67% (N=41) were infected by genotype 1, 70% (N=46) were non-responders to a previous non-DAA HCV therapy and all patients were cirrhotic.

DAA-treated and untreated patients had similar characteristics at the time of HCC diagnosis. The time between HCC diagnosis and HCC treatment was similar in both groups with a median delay of 51 days (range: 17-440). Regarding HCC treatment, 63% (N=43) were treated with radiofrequency ablation, 7% (N=5) with chemoembolization+conformal radiotherapy, 3% (N=2) with chemoembolization, 15% (N=10) by surgical resection and 12% (N=8) with different treatment combinations.

3.2 | DAA treatment characteristics

Median time between HCC remission and DAA initiation was 7.2 months (IQR: 3.6-13.5; range: 0.3-71.4) and median time between DAA start and HCC recurrence was 13.0 months (IQR: 9.2-19.6;

range: 3.0-24.7), with 64% (N=7) of patients with HCC recurrence having a follow-up >12 months after DAA treatment start. Among treated patients, 96% (22/23) achieved an SVR₁₂ and 1 had virological relapse and HCC recurrence 6.4 months after DAA treatment start. The mostly used DAA combination was sofosbuvir+daclatasvir. Ten patients (43%) received ribavirin in addition to the DAA combination. Antiviral treatment duration was 12 weeks in 57% of cases (Table S2).

3.3 | Hepatocellular carcinoma surveillance after remission

The median time between HCC remission and recurrence was 17.4 months (IQR: 12.3-34.9; range: 5.3-44.4) among DAA-treated patients and 10.1 months (IQR: 5.6-27.2; range: 2.3-59.4) among untreated patients. Among patients without HCC recurrence, the median follow-up time was 35.7 months (IQR: 27.5-39.0; range: 9.5-94.7) for treated patients and 15.4 months (IQR: 6.9-35.2; range: 3.9-79.5) for untreated patients (Appendix S1). We found a significant difference in HCC recurrence rate when comparing both groups with 11 recurrences of HCC among treated patients (at a rate of 1.7/100 person-months) and 33 recurrences of HCC among untreated patients

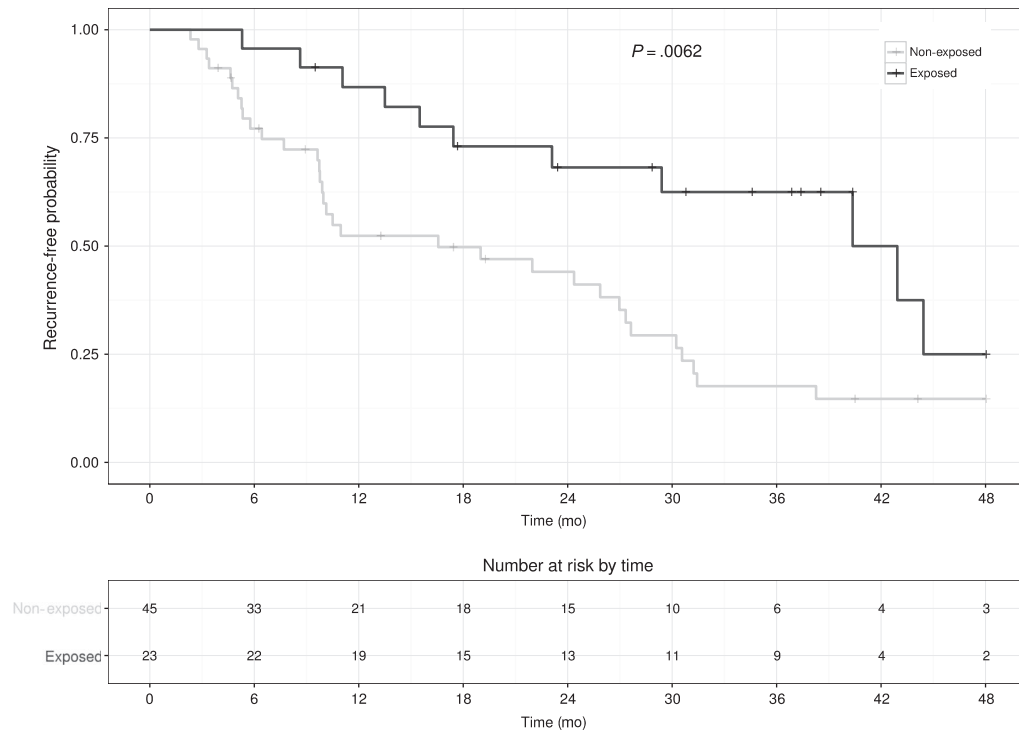


FIGURE 2 Hepatocellular carcinoma recurrence over time among HCV patients according to direct acting antiviral therapy exposure. Time zero is the date of HCC remission for all patients. Censored subjects are indicated on the Kaplan–Meier curve as tick marks. The number of patients at risk in each group (i.e without HCC recurrence and/or not lost to follow-up) is indicated at the bottom of the figure

(at a rate of 4.2/100 person-months; $P=.008$). We also observed a similar difference between both groups in the survival analysis, with an overall lower recurrence probability over time for treated patients (log rank P -value=.006, Figure 2).

To take into account the lack of randomization, we conducted a Cox proportional hazard regression including as a covariable a propensity score estimated on patients characteristics at first HCC diagnosis (Table S3). We observed a similar association with a hazard ratio for HCC recurrence after DAA exposure of 0.24 (95% confidence interval: 0.10-0.55, $P<.001$).

Among patients receiving DAA, we then compared characteristics at first HCC diagnosis between those presenting HCC recurrence and those without HCC recurrence. No significant difference was observed between both groups (Table S4). As a sensitivity analysis, we conducted similar survival analyses in subgroups of patients to take into account potential biases of selection: (i) by excluding all patients with HCC recurrence within 6 months after HCC remission and (ii) by excluding all patients treated with a non-curative option for their first HCC. In both analyses, we observed similar associations (Table S5 and Table S6 and Fig. S2 and Fig. S3 respectively). We also assessed the potential impact of previous IFN-based therapy exposure on HCC recurrence using univariate survival analysis and we observed no significant association (Fig. S4).

4 | DISCUSSION

The present study reports a potential decrease of HCC recurrence rate among patients with a first HCV-related HCC diagnosis followed by remission and consecutively treated with DAA compared with similar patients not receiving DAA.

These findings are contradictory with the recently published study by Reig et al. reporting an opposite association between DAA exposure and HCC recurrence with an increased recurrence rate among DAA-treated patients.⁵ However, the authors had no control group but instead compared their crude estimates with historical untreated groups using the STORM trial.¹⁵ Control group is crucial in this type of study, as a recently published meta-analysis reported that recurrence risk is extremely variable in HCV-untreated patients with successfully treated HCC.¹⁶ Other potential concerns that have been raised regarding Reig's study were the use of crude recurrence rate (with a wide confidence interval) instead of Kaplan-Meier curve, the potential selection bias introduced by including single vs multi-nodular HCCs, the wide range of time elapsed between HCC remission and the start of the DAAs and high clinical, biological and epidemiological heterogeneities of early HCCs.¹⁷ Moreover, the patients included in their study had a complete radiological remission of their HCC but multiple recurrences of HCC were not considered as an exclusion criterion. These differences in the selection of patients could explain, at least in part, why our findings are opposite, as multiple recurrences of HCC may reflect an higher biological aggressiveness of the primary tumor. Multiple HCC recurrences may be the consequence of residual tumor tissue undetectable by imaging after first HCC treatment. Similar differences regarding patients'

selection exist with the study conducted by Pol et al. in which the authors did not consider multiple recurrences of HCC as an exclusion criterion. Moreover, the different populations considered in their study were more heterogeneous compared with ours.⁶

A recent large-scale cohort study showed that HCC incidence was decreased after HCV eradication with IFN-based therapy in a cirrhotic population sharing similar characteristics as ours.¹⁸ Regarding HCC recurrence, a recent meta-analysis showed a positive impact of SVR with a decreased HCC recurrence rate.¹⁹ In our study, 96% of patients (22/23) achieved SVR₁₂ after DAA therapy which could potentially explain the lower HCC recurrence rate observed.

Our study has some limitations. Firstly, the number of patients treated with DAA was relatively small due to the recent introduction of DAA in routine clinical practice and to the inclusion/exclusion criteria needed to analyse a homogeneous and well-defined population. Secondly, patients were not randomized as this was a retrospective cohort study. Thirdly, we did not have histological information regarding HCC grade for all patients (44% [N=32] of patients had available information) and the severity of HCC was only assessed using the size and number of nodules. Fourthly, our cohort was only composed of patients with cirrhosis, frequently associated with comorbidities. Unfortunately, information on alcohol consumption or smoking after HCC diagnosis was not available, as in many other studies on this topic.^{5,6} Given the clinical impact of these findings, our results need to be reproduced in a larger and more heterogeneous HCV-HCC population, more particularly regarding the severity of the disease.

Our study does have some strengths. Lack of randomization and comparability of both groups were partially controlled by using a propensity score as a covariate in the multivariate analysis, which allowed to decrease the risk of confounding effects in the analysis as well as selection bias.¹³ We also conducted two sensitivity analyses in subgroups of patients without HCC recurrence within the first 6 months following remission or with a curative treatment option for their HCC and we observed similar associations. Furthermore, exclusion of patients with multiple history of HCC strengthened the relevance of comparing both groups and the potential validity of a potential effect of DAA exposure on HCC recurrence rate. Our study was also a single centre study that ensured homogeneity regarding patients' population and management.

In conclusion, the increased HCC recurrence rate reported in the literature is not observed in our study, which on the contrary suggests that DAA combination treatment could possibly induce a beneficial effect among HCV patients with compensated cirrhosis after first HCC curative treatment. Given the potential impact of our observation, large-scale prospective cohort studies are needed to confirm these results.

CONFLICT OF INTEREST

The authors do not have any disclosure to report for this study.

REFERENCES

1. El-Serag HB. Epidemiology of Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. 2012;142:1264-1273 e1.

2. Zoulim F, Liang TJ, Gerbes AL, et al. Hepatitis C virus treatment in the real world: optimising treatment and access to therapies: Table 1. *Gut*. 2015;64:1824-1833.
3. van der Meer AJ, Wedemeyer H, Feld JJ, et al. Life expectancy in patients with chronic HCV infection and cirrhosis compared with a general population. *JAMA*. 2014;312:1927-1928.
4. Carrat F. Clinical outcomes in HCV-infected patients treated with direct acting antiviral - 18-month post-treatment follow-up in the French ANRS CO22 HEPATHER Cohort study - EASL 2016. *J Hepatol*. 2016;64:S213-S242.
5. Reig M, Mariño Z, Perelló C, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J Hepatol*. 2016;65:719-726.
6. ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma (ANRS CO22 HEPATHER, CO12 CIRVIR and CO23 CUPILT cohorts). Lack of evidence of an effect of Direct Acting Antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: data from three ANRS cohorts. *J Hepatol*. 2016;65:734-740.
7. Kozbial K, Moser S, Schwarzer R, et al. Unexpected high incidence of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with SVR following IFN-free DAA treatment. *J Hepatol*. 2016;65:856-858.
8. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, et al. Early Occurrence and Recurrence of Hepatocellular Carcinoma in HCV-related Cirrhosis Treated with Direct Acting Antivirals. *J Hepatol*. 2016;65:727-733.
9. Bruix J, Sherman M. American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*. 2011;53:1020-1022.
10. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol*. 2001;35:421-430.
11. Recommendations AFEF sur la prise en charge des hépatites virales C [Internet]. 2016 [cited 2016 Jun 20]; at <http://www.afef.asso.fr/ckfinder/userfiles/files/recommandations-textes-officiels/Recoavril2016.pdf> Accessed 16 May, 2017.
12. European Association for Study of Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol*. 2015;63:199-236.
13. D'Agostino RB. Propensity score methods for bias reduction in the comparison of a treatment to a non-randomized control group. *Stat Med*. 1998;17:2265-2281.
14. Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. *Biometrics*. 2000;56:337-344.
15. Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, et al. Adjuvant sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation (STORM): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:1344-1354.
16. Cabibbo G, Petta S, Barbàra M, et al. A meta-analysis of single HCV-untreated arm of studies evaluating outcomes after curative treatments of HCV-related hepatocellular carcinoma. *Liver Int*. 2017;37:1157-1166.
17. Cammà C, Cabibbo G, Craxi A. Direct antiviral agents and risk for HCC early recurrence: much ado about nothing. *J Hepatol*. 2016;65:861-862.
18. Trinchet J-C, Bourcier V, Chaffaut C, et al. Complications and competing risks of death in compensated viral cirrhosis (ANRS CO12 CirVir prospective cohort). *Hepatology*. 2015;62:737-750.
19. Morgan RL, Baack B, Smith BD, Yartel A, Pitasi M, Falck-Ytter Y. Eradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Ann Intern Med*. 2013;158:329-337.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found online in the supporting information tab for this article.

How to cite this article: Virlogeux V, Pradat P, Hartig-Lavie K, et al. Direct-acting antiviral therapy decreases hepatocellular carcinoma recurrence rate in cirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2017;37:1122-1127. <https://doi.org/10.1111/liv.13456>

Appendix

Additional details on statistical analysis

To assess the impact of DAA exposure on HCC recurrence, we conducted a survival analysis using first the Kaplan-Meier estimator to roughly compare the recurrence rate among DAA exposed and non-exposed patients. We secondly conducted a multivariate analysis using a Cox proportional hazards model to take into account potential confounding factors such as age and portal hypertension. To face the lack of proper randomization, we calculated a propensity score for each patient using a binary logistic regression (exposed vs. non-exposed) after adjusting for several predictors such as gender, diabetes, hypertension, cryoglobulinemia, non-alcoholic steatohepatitis, coinfection, number of HCC nodules, previous alcoholic abuse, MELD score, delay from HCC diagnosis to HCC treatment and Child-Pugh score (Supplementary Table 6). The propensity score was then considered as a covariate in the Cox model to reduce bias and increase precision through regression adjustment by taking into account a lot of covariates that could not be integrated directly in the multivariate analysis due to the restricted sample size and the risk of over parametrizing the model. (117) Moreover, to validate the accuracy of our Cox proportional hazards model, we used cumulative/dynamic time-dependent area under the ROC curves analyses reported in Supplementary Figure 4. [14]

Reasons for not receiving DAA-treatment after HCC remission

Among untreated patients, 71% (N=32) did not receive any DAA combination after HCC remission because of HCC recurrence before DAA availability, 11% (N=5) received a DAA combination after multiple history of HCC, 9% (N=4) were lost to follow-up, 5% (N=2) died before DAA availability, 2% (N=1) had a recent HCC remission and 2% (N=1) were not treated with DAA due to cardiac comorbidities.

Liver fibrosis evaluation

All patients included in the study were cirrhotic. Cirrhosis was diagnosed by transient elastography with an elasticity value equal or greater than 12.5 KPa in 50% of patients (N=34) or by liver biopsy.

HCC surveillance after remission

During HCC follow-up, 18 patients (26%) developed at least one cirrhosis complication: 7 patients (39%) had portal hypertension and all of them developed esophageal varices, 6 patients (33%) had ascites, 3 patients (17%) presented one or several liver decompensation and 2 patients had hepatic encephalopathy (11%).

HCC remission follow-up was overall conducted using magnetic resonance imaging (74% of imaging exams), computed tomography imaging (17%) and abdominal ultrasound exams (9%) every 3 months within the first year following HCC remission and every 3 to 6 months thereafter, according to AASLD routine clinical practice guidelines.

Among patients without HCC recurrence, the follow-up time among untreated patients was usually shorter because 3 patients (25%) without HCC recurrence died during the follow-up period (two patients died from cirrhosis decompensation and one patient from acute pulmonary edema) compared with no patient in the treated group ($p < 0.001$).

Supplementary Table 1. Logistic regression estimates used to calculate the propensity score for each patient included in this study considering several baseline factors

Factors	Multivariate	
	OR [95% CI]	p
Male gender	1.64 [0.36 – 8.98]	0.537
Diabetes	0.25 [0.04 – 1.40]	0.133
Hypertension	3.49 [0.68 – 22.73]	0.155
Cryoglobulinemia	0.14 [0.00 – 1.79]	0.177
NASH	0.58 [0.06 – 3.79]	0.586
Coinfection	0.72 [0.02 – 25.34]	0.839
Number of HCC nodules	1.11 [0.45 – 2.72]	0.821
Child-Pugh score	2.14 [0.32 – 13.91]	0.416
Previous alcoholic abuse	3.46 [0.94 – 14.74]	0.073
MELD score	0.77 [0.52 – 1.08]	0.160
Delay from HCC diagnosis to HCC treatment	1.00 [0.99 – 1.00]	0.381

NASH: Nonalcoholic steatohepatitis; MELD: model for end-stage liver disease

Supplementary Table 2. Patients' characteristics at first HCC diagnosis, first HCC treatment (all patients) and DAA treatment (treated group) characteristics.

Characteristics	DAA-exposed (N=23)	Non-exposed (N=45)	Total (N=68)	p-value
Age (years); median (range)	58 (51 – 84)	66 (51 – 90)	62 (51 – 90)	0.002
Male gender — n (%) (N=68)	20 (87)	32 (71)	52 (76)	0.248
BMI; median (range)	25 (19 – 34)	25 (18 – 50)	25 (18 – 50)	0.721
Genotype — n (%) (N=61)				
1	13 (62)	28 (70)	41 (67)	0.475
2	-	1 (2)	1 (2)	
3	5 (24)	10 (25)	15 (25)	
4	2 (9)	1 (2)	3 (5)	
6	1 (5)	-	1 (2)	
Previous treatment response — n (%) (N=66)				0.395
Naïve	5 (23)	15 (34)	20 (30)	
Non-responder	17 (77)	29 (66)	46 (70)	
Previous triple therapy ¹ — n (%) (N=46)	6 (35)	5 (17)	11 (24)	0.282
Diabetes — n (%) (N=68)	4 (17)	14 (31)	18 (26)	0.356
Previous alcohol abuse — n (%) (N=68)	15 (63)	17 (38)	32 (47)	0.060
Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) — n (%) (N=68)	2 (9)	6 (13)	8 (12)	0.707
Cryoglobulinemia — n (%) (N=68)	1 (4)	4 (9)	5 (7)	0.656
Portal hypertension — n (%) (N=68)	14 (61)	22 (49)	36 (53)	0.497
Esophageal varices — n (%) (N=36)	13 (97)	19 (86)	32 (89)	0.389
Coinfection ² — n (%) (N=68)	1 (4)	1 (2)	2 (3)	1.000
MELD Score; median (range)	7.9 (6.4 – 14.0)	8.5 (6.4 – 15.6)	8.5 (6.4 – 15.6)	0.168
Child Pugh Score — n (%) (N=68)				
A	20 (87)	38 (84)	58 (85)	1.000
B	3 (13)	7 (16)	10 (15)	
AFP level at HCC diagnosis; median (range)	15 (3 – 48)	12 (2 – 170)	13 (2 – 170)	0.690
BCLC staging — n (%) (N=68)				
0	7 (30)	18 (40)	25 (37)	0.584
A	14 (61)	21 (47)	35 (51)	
B	2 (9)	6 (13)	8 (12)	
Number of HCC lesions — n (%) (N=68)				
1	16 (70)	32 (71)	48 (71)	0.155
2	3 (13)	11 (24)	14 (21)	
3	4 (17)	2 (4)	6 (9)	
Size of the largest HCC lesion (mm); median (range)	26 (11 – 55)	21 (11 – 90)	22 (11 – 90)	0.832
Imaging diagnosis of HCC — n (%) (N=68)				

CT	2 (9)	11 (24)	13 (19)	0.082
MRI	18 (78)	22 (49)	40 (59)	
Abdominal Ultrasound	3 (13)	12 (27)	15 (22)	
Delay between HCC diagnosis and treatment (days); median (range)	59 (24 – 269)	43 (17 – 440)	51(17 – 440)	0.683
HCC treatment — n (%) (N=68)				0.181
Radiofrequency ablation	14 (61)	29 (64)	43 (63)	
Chemoembolization+CR	0 (0)	5 (11)	5 (7)	
Chemoembolization	0 (0)	2 (5)	2 (3)	
Resection	6 (26)	4 (9)	10 (15)	
Other ³	3 (13)	5 (11)	8 (12)	
Viral load at DAA initiation (treated) or first HCC diagnosis (untreated; log IU/mL); median (range) ⁴	5.7 (3.1 – 6.5)	5.8 (4.2 – 7.1)	-	
DAA combination ⁵ (N=23)				
SOF	3 (13)	-	-	
SOF/DCV	11 (48)	-	-	
SOF/LEDI	4 (17)	-	-	
SOF/SIME	4 (17)	-	-	
3D ⁶	1 (4)	-	-	
Use of RBV — n (%) (N=23)	10 (43)	-	-	
Treatment duration (N=23)				
12 weeks	13 (57)	-	-	
24 weeks	10 (43)	-	-	

MELD: model for end-stage liver disease; HCC: hepatocellular carcinoma; DAA: direct acting antiviral therapy; SOF: sofosbuvir; DCV: daclatasvir; LEDI: ledipasvir; SIME: simeprevir; RBV: ribavirin; CT: computed tomography; MRI: magnetic resonance imaging; CR: conformal radiotherapy; BCLC: Barcelona clinic liver cancer

¹ Boceprevir or Telaprevir +PEG-IFN/RBV

² Two patients were co-infected with HBV. Both patients had undetectable HBV DNA levels

³ Five patients were treated with resection+chemoembolization, 1 with resection+radiofrequency ablation, 1 with radiofrequency ablation+chemoembolization, 1 with alcoholization.

⁴ No statistical test was performed as viral load were assessed at different calendar time in each group.

⁵ Three patients received a DAA treatment within the frame of a national compassionate use program

⁶ 3D: 3-drug combination paritaprevir/ritonavir/ombitasvir plus dasabuvir.

Supplementary Table 3. Univariate and multivariate overall survival analysis of HCC recurrence among treated and untreated patients by a Cox hazard proportional model.

Factors	Univariate		Multivariate	
	HR ¹ [95% CI]	p	HR ¹ [95% CI]	p
DAA treatment	0.40 [0.20 – 0.79]	0.008	0.24 [0.10 – 0.55]	<0.001
Age	0.99 [0.96 – 1.01]	0.353	0.96 [0.93 – 1.00]	0.057
Portal hypertension	0.58 [0.32 – 1.05]	0.071	0.64 [0.34 – 1.19]	0.159
Propensity score ²	1.10 [0.26 – 4.67]	0.894	1.75 [0.16 – 18.90]	0.644

DAA: direct acting antiviral therapy; MELD: model for end-stage liver disease

¹ HR: hazard ratio exp(β)

² The propensity score was calculated using a binary logistic regression (treated vs untreated) after adjusting for the following predictors: gender, diabétés, hypertension, cryoglobulinemia, non-alcoholic steatohepatitis, coinfection, number of HCC nodules, previous alcoholic abuse, MELD score, delay from HCC diagnosis to HCC treatment and Child-Pugh score.

Characteristics	HCC recurrence (N=11)	No HCC recurrence	p-value
Age (years); median (range)	61 (55 – 76)	56 (51 – 84)	0.073
Male gender — n (%)	11 (100)	9 (75)	0.217
BMI; median (range)	25 (19 – 34)	26 (19 – 30)	0.975
Genotype — n (%)			
1	7 (70)	6 (55)	0.635
2	-	-	
3	2 (20)	3 (27)	
4	-	2 (18)	
6	1 (10)	-	
Diabetes — n (%)	2 (18)	2 (17)	1.000
Previous alcoholic abuse — n (%)	7 (64)	8 (67)	1.000
MELD Score; median (range)	7.2 (6.4 – 14.0)	8.5 (6.4 – 13.1)	0.215
Portal hypertension — n (%)	6 (55)	8 (67)	0.680
Child Pugh Score — n (%)			
A	9 (82)	11 (92)	0.590
B	2 (18)	1 (8)	
BCLC staging — n (%)			
0	3 (27)	4 (33)	1.000
A	7 (64)	7 (58)	
B	1 (9)	1 (8)	
Number of HCC lesions — n (%)			
1	8 (73)	8 (67)	1.000
2	1 (9)	2 (17)	
3	2 (18)	2 (17)	
Size of the largest HCC lesion (mm);	28 (11 – 55)	24 (16 – 36)	0.915
HCC treatment — n (%)			
Radiofrequency ablation	7 (64)	7 (58)	1.000
Resection	3 (27)	3 (25)	
Other ¹	1 (9)	2 (16)	
DAA combination			
SOF	2 (18)	1 (8)	0.433
SOF/DCV	4 (36)	7 (58)	
SOF/LEDI	3 (27)	1 (8)	
SOF/SIME	1 (9)	3 (25)	
3D ²	1 (9)	0 (0)	
Use of RBV — n (%)	5 (45)	5 (42)	1.000
Viral load at DAA initiation (log IU/mL);	5.7 (4.2 – 6.3)	5.7 (3.1 – 6.5)	0.824

Treatment duration			
12 weeks	8 (73)	5 (42)	0.214
24 weeks	3 (27)	7 (58)	

Supplementary Table 4. Characteristics of patients receiving DAA combination with/without HCC recurrence during follow-up.

MELD: model for end-stage liver disease; HCC: hepatocellular carcinoma; DAA: direct acting antiviral therapy; SOF: sofosbuvir; DCV: daclatasvir; LEDI: ledipasvir; SIME: simeprevir; RBV: ribavirin; BCLC: Barcelona clinic liver cancer

¹ 2 patients were treated with resection+chemoembolization, 1 with alcoholization

² 3D: 3-drug combination paritaprevir/ritonavir/ombitasvir plus dasabuvir

Supplementary Table 5. Univariate and multivariate overall survival analysis of HCC recurrence among treated and untreated patients without recurrence within 6 months after remission by a Cox hazard proportional model.

Factors	Univariate		Multivariate	
	HR ¹ [95% CI]	p	HR ¹ [95% CI]	p
DAA treatment	0.45 [0.20 – 1.00]	0.050	0.29 [0.11 – 0.80]	0.017
Age	0.99 [0.96 – 1.02]	0.370	0.95 [0.92 – 0.99]	0.020
Portal hypertension	0.49 [0.24 – 1.00]	0.049	0.48 [0.22 – 1.02]	0.057
Propensity score ²	0.75 [0.18 – 3.19]	0.700	0.62 [0.05 – 7.13]	0.698

DAA: direct acting antiviral therapy; MELD: model for end-stage liver disease

¹ HR: hazard ratio $\exp(\beta)$

² The propensity score was calculated using a binary logistic regression (treated vs untreated) after adjusting for the following predictors: gender, diabetes, hypertension, cryoglobulinemia, non-alcoholic steatohepatitis, coinfection, number of HCC nodules, previous alcoholic abuse, MELD score, delay from HCC diagnosis to HCC treatment and Child-Pugh score.

Supplementary Table 6. Univariate and multivariate overall survival analysis of HCC recurrence among treated and untreated patients with curative treatment of HCC by a Cox hazard proportional model.

Factors	Univariate		Multivariate	
	HR ¹ [95% CI]	p	HR ¹ [95% CI]	p
DAA treatment	0.44 [0.22 – 0.89]	0.022	0.21 [0.08 – 0.54]	0.001
Age	0.98 [0.96 – 1.01]	0.266	0.97 [0.94 – 1.01]	0.139
Portal hypertension	0.62 [0.33 – 1.18]	0.149	0.66 [0.35 – 1.27]	0.214
Propensity score ²	1.20 [0.37 – 3.92]	0.763	3.40 [0.44 – 26.40]	0.242

DAA: direct acting antiviral therapy; MELD: model for end-stage liver disease

¹HR: hazard ratio exp(β)

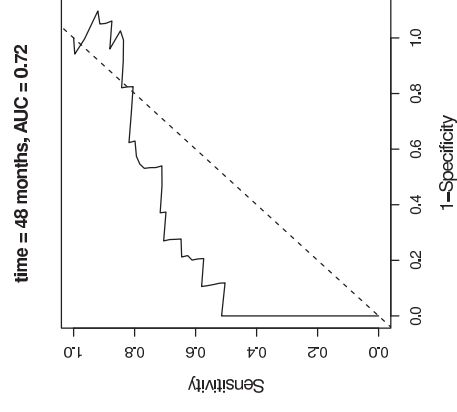
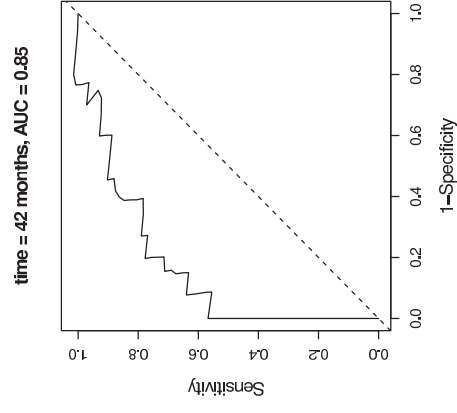
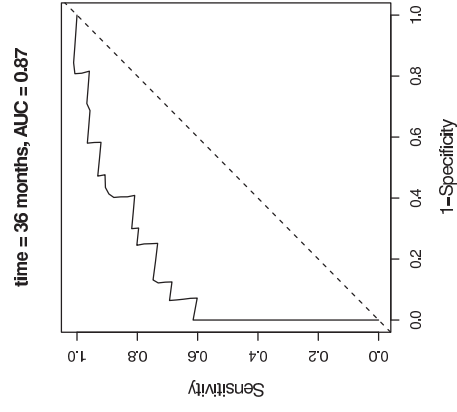
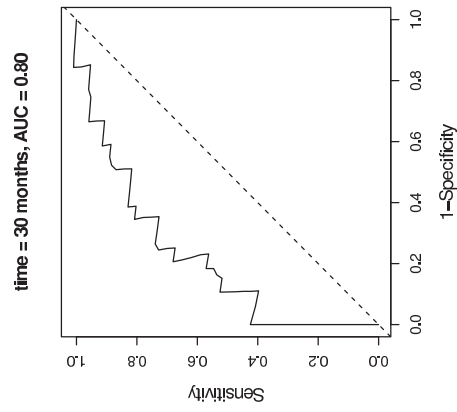
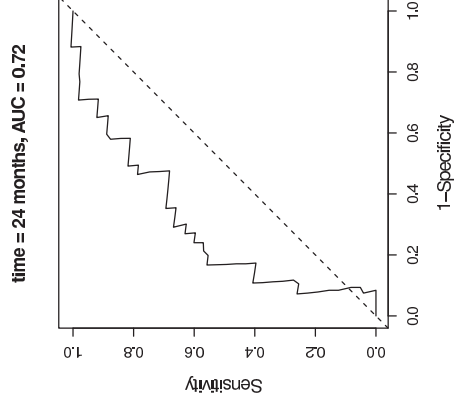
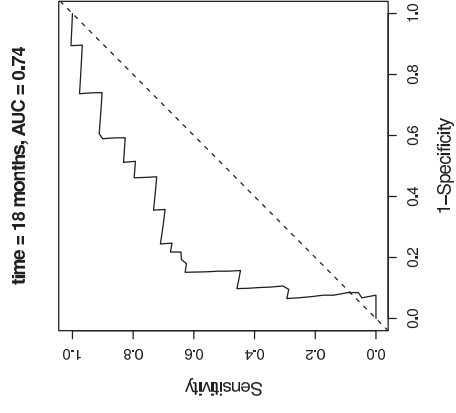
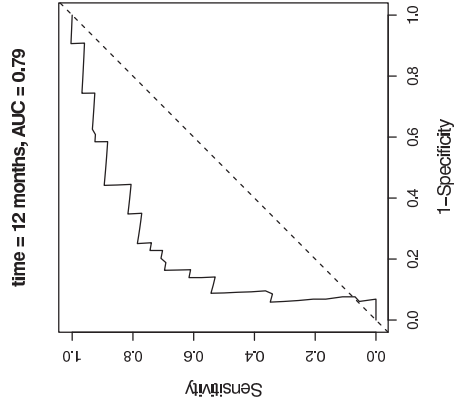
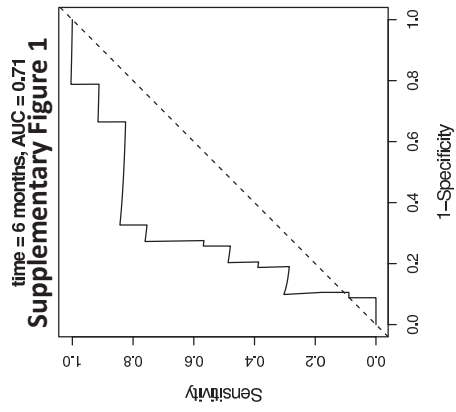
² The propensity score was calculated using a binary logistic regression (treated vs untreated) after adjusting for the following predictors: gender, diab  t  s, hypertension, cryoglobulinemia, non-alcoholic steatohepatitis, coinfection, number of HCC nodules, previous alcoholic abuse, MELD score, delay from HCC diagnosis to HCC treatment and Child-Pugh score.

Supplementary Figure 1. Cumulative/dynamic time-dependent ROC curves using 8 different timepoints during follow-up. ROC: receiver operating characteristic ; AUC: area under the curve.

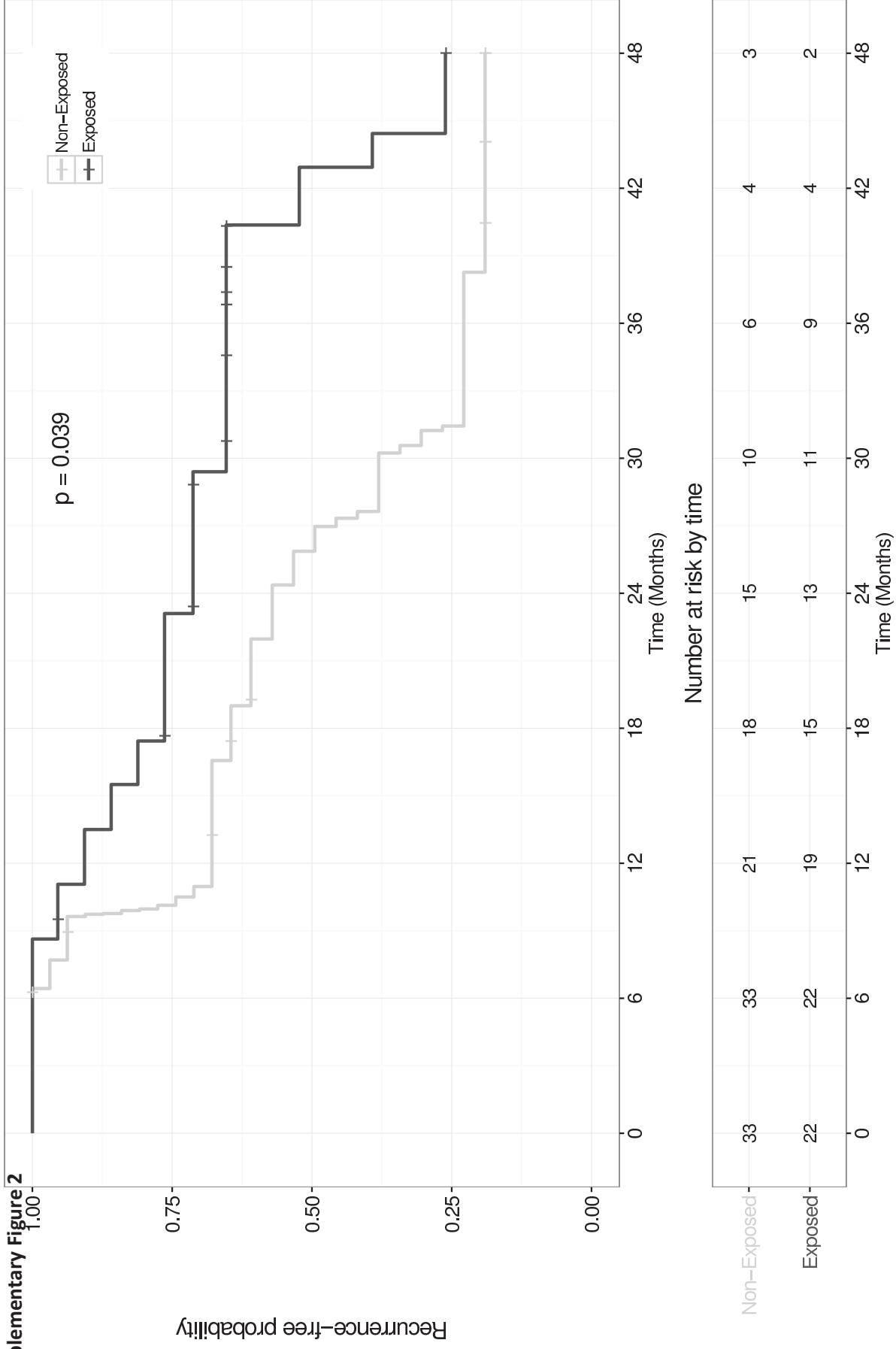
Supplementary Figure 2. Hepatocellular carcinoma recurrence over time among HCV patients without recurrence within 6 months after remission according to direct acting antiviral therapy exposure. Censored subjects are indicated on the Kaplan-Meier curve as tick marks. The number of patients at risk in each group (*i.e.* without HCC recurrence and/or not lost to follow-up) is indicated at the bottom of the figure. In this sensitivity analysis, we found a similar difference in HCC recurrence rate when comparing both groups with a rate of 1.6/100 person-months in treated patients vs 3.1/100 person-months in untreated patients but slightly beyond the limit of significance ($p=0.064$). We observed a similar association in the multivariate analysis with a hazard ratio for HCC recurrence after DAA exposure of 0.31 (95% CI : 0.12 – 0.81 ; p -value=0.016).

Supplementary Figure 3. Hepatocellular carcinoma recurrence over time among HCV patients with curative treatment of HCC according to direct acting antiviral therapy exposure. Censored subjects are indicated on the Kaplan-Meier curve as tick marks. The number of patients at risk in each group (*i.e.* without HCC recurrence and/or not lost to follow-up) is indicated at the bottom of the figure. In this sensitivity analysis, we found a similar difference in HCC recurrence rate when comparing both groups with a rate of 1.8/100 person-months in treated patients vs 4.0/100 person-months in untreated patients (p -value=0.019) and we observed a similar association in the multivariate analysis with a hazard ratio for HCC recurrence after DAA exposure of 0.21 (95% CI : 0.08 – 0.54 ; p -value=0.001).

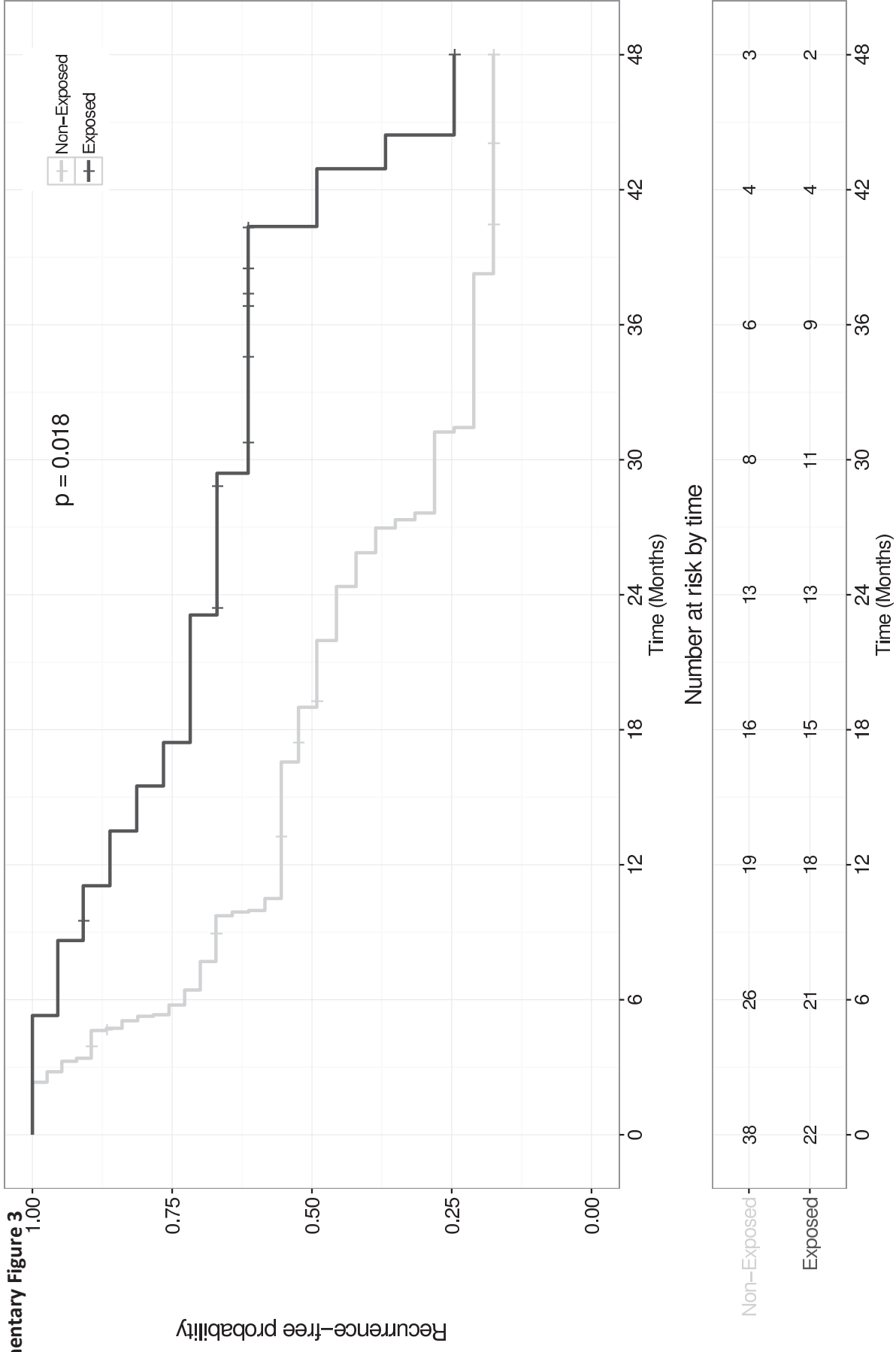
Supplementary Figure 4. Hepatocellular carcinoma recurrence over time among HCV patients according to interferon-based therapy exposure. Censored subjects are indicated on the Kaplan-Meier curve as tick marks. The number of patients at risk in each group (*i.e.* without HCC recurrence and/or not lost to follow-up) is indicated at the bottom of the figure. In this sensitivity analysis, we found no difference in HCC recurrence rate when comparing both groups with a rate of 2.9/100 person-months in treated patients vs 3.4/100 person-months in naive patients (p -value=0.677).

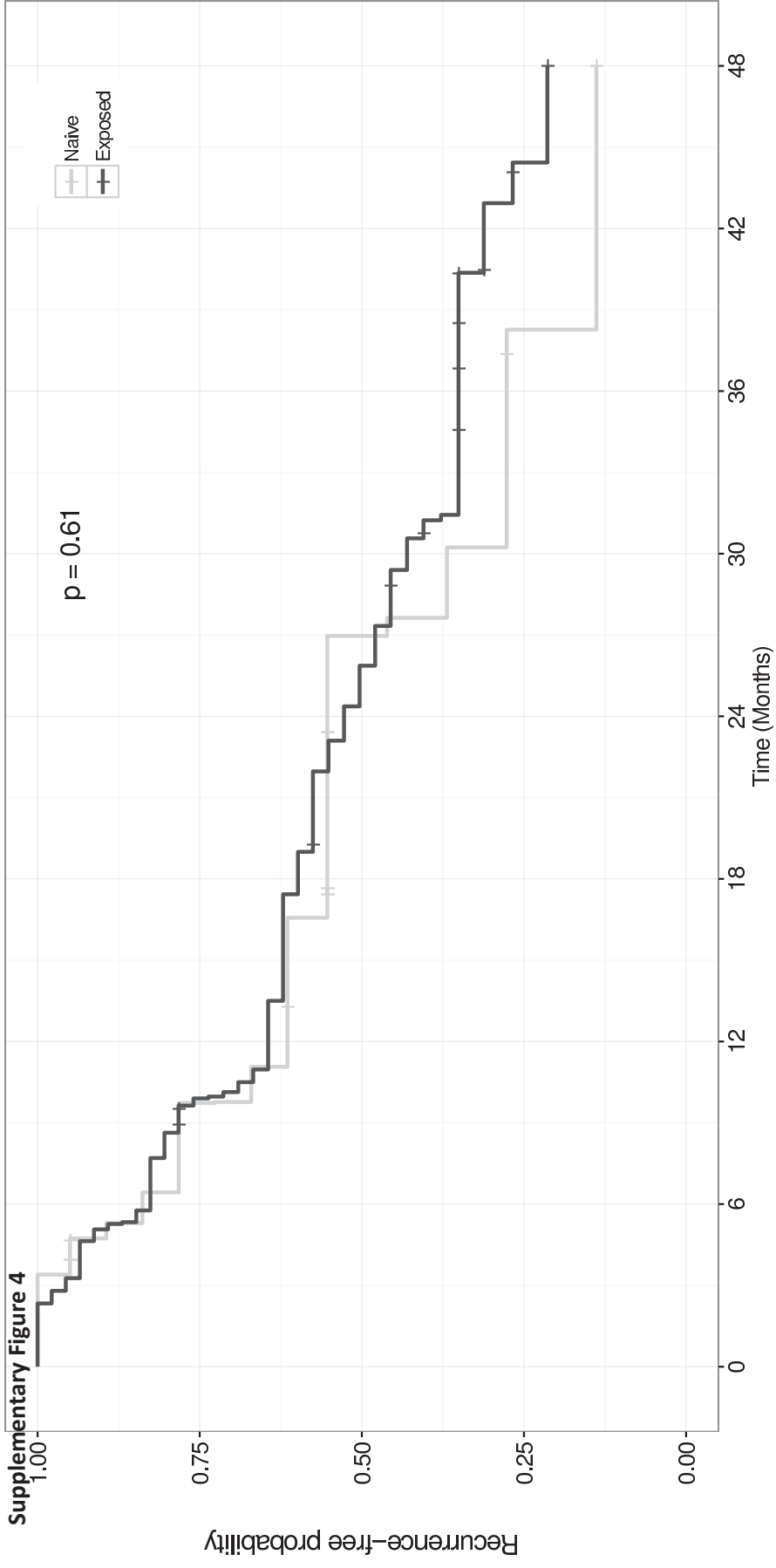


Supplementary Figure 2



Supplementary Figure 3





Number at risk by time

Time (Months)	0	6	12	18	24	30	36	42	48
Naive	20	15	11	7	6	4	3	1	1
Exposed	46	38	28	26	22	17	12	7	4

6 Modélisation de l'impact des nouveaux traitements par AAD sur l'épidémiologie de la coinfection VIH-VHC en France

6.1 Présentation de l'article

Depuis l'arrivée des nouveaux AAD sur le marché avec des taux de RVS très élevés, la question de l'élimination possible du VHC est apparue dans les pensées, tout du moins dans les pays où ces traitements sont disponibles à grande échelle. Une des populations de patients infectés par le VHC pour laquelle les données de suivi sont plus facilement accessibles est la population coinfectée VIH-VHC. En utilisant les données de la cohorte française Dat'AIDs, nous nous sommes aperçus que la prévalence de l'infection active par le VHC au sein de la population VIH avait drastiquement diminué depuis l'arrivée des AAD, pour atteindre une valeur de 5,4% fin 2015. Malgré ces résultats positifs, plusieurs études réalisées dans divers pays ont pointé du doigt l'augmentation récente de l'incidence de l'infection par le VHC chez les HSH ayant des pratiques à haut-risque. Suite à ce constat, la question de l'élimination "totale" de l'infection par le VHC était donc potentiellement remise en cause.

Pour évaluer l'impact à la fois de ces pratiques à haut-risque et de l'efficacité remarquable des AAD, nous avons réalisé une étude de modélisation basée sur un modèle compartimental dynamique décrivant l'histoire naturelle de l'infection par le VHC. La population de patients coinfectés VIH-VHC considérée dans ce modèle est subdivisée en huit groupes à risque: hétérosexuels, UDI et autres groupes à risque subdivisés en hommes/femmes; et les homosexuels subdivisés en pratique sexuelle à haut-risque et pas de pratique sexuelle à haut-risque. Pour ces derniers, l'hypothèse de l'existence d'un tel groupe s'est appuyée à la fois sur l'existence de nombreux articles décrivant de telles pratiques ainsi que sur les données d'incidence de la cohorte Dat'AIDs. En effet, en analysant les données d'incidence de cette cohorte de 2012 à 2016 chez les HSH, le taux de réinfection était sensiblement plus élevé que le taux de première infection par le VHC. De ce fait, nous avons fait l'hypothèse que ce taux de réinfection reflétait un taux de première infection dans une population d'HSH avec des pratiques à haut-risque, car il est peu probable que le taux de réinfection soit naturellement plus élevé que le taux de première infection. Pour les HSH sans pratique à haut-risque, nous avons également fait l'hypothèse que leur taux d'incidence de première infection était similaire à celui des autres groupes à risque. De ces hypothèses, nous avons estimé que 18% des patients mono-infectés VIH HSH avaient des pratiques sexuelles à haut-risque.

Afin d'analyser l'impact des nouveaux traitements par AAD sur la prévalence du VHC par l'intermédiaire de projections issues du modèle, nous avons extrapolé les données de la cohorte Dat'AIDs à l'ensemble de la population coinfectée VIH-VHC française au 1^{er} janvier 2016. Nous avons

également considéré en parallèle de cette population "connue", la population dite "cachée" VIH (c'est-à-dire les patients ayant une infection VIH ± VHC mais non suivis). Le modèle compartimental a été calibré sur les données d'incidence et de prévalence de chacun des sous-groupes à risque de la cohorte Dat'AIDs entre 2012 et 2016. Les projections du modèle ont été réalisées à partir du 1^{er} janvier 2016 et jusqu'au 1^{er} janvier 2026.

En considérant un taux annuel de traitement de 30% (c'est-à-dire celui observé en 2015 dans la cohorte), la prévalence de l'infection par le VHC dans la population VIH (population cachée incluse) devrait diminuer de 5,1% en 2016 à 1,0% en 2026 (N=2113 patients), 34% des patients faisant partie de la population « cachée ». L'augmentation du taux annuel de traitement à 50% et à 70% permettrait de diminuer le nombre de patients co-infectés en dessous de la barre de 1000 en 2026.

Les projections du modèle réalisées dans chacun des groupes à risque sur les 10 prochaines années retrouvent un impact similaire avec une diminution drastique de la prévalence de la coinfection, sauf pour les HSH ayant des pratiques à haut-risque. Dans ce sous-groupe, en considérant un taux annuel de traitement de 30%, la prévalence de la coinfection devrait diminuer de 7% en 2016 à 6,3% en 2026 mais le nombre total d'individus devrait lui augmenter passant de 700 à plus de 800 individus. Un taux annuel de traitement de 50% et de 70% permettrait de diminuer la prévalence dans ce sous-groupe à 2,4% et 1,3% respectivement.

Des analyses de sensibilité concernant les projections dans ce sous-groupe à risque ont été réalisées. La première a exploré l'impact d'initier un traitement par AAD plus tôt dans l'histoire naturelle de la maladie, c'est-à-dire dès la phase aiguë (soit à partir de 3 mois au lieu de 6 mois). Les projections du modèle montrent que cette mesure a peu d'effet pour contrer la tendance observée avec un taux annuel de traitement de 30%. Une deuxième analyse de sensibilité a exploré le rôle d'une potentielle augmentation de la proportion d'HSH avec des pratiques sexuelles à haut-risque sur les 10 prochaines années. Les projections du modèle dans ce scénario étaient similaires à l'analyse principale, avec un taux annuel de 50% qui suffirait à contrer l'effet observé, c'est-à-dire l'augmentation du nombre d'HSH ayant des pratiques à haut-risque, sous un taux annuel de 30%.

Notre étude soutient ainsi les signaux alarmants émanant des différentes études publiées précédemment et réalisées à des échelles plus restreintes. En effet, notre étude est la seule jusqu'à présent à avoir analysé dans la population générale VIH-VHC l'impact des nouveaux traitements sur la prévalence du VHC et, de plus, par groupe à risque. Les données utilisées pour calibrer le modèle sont basées sur la cohorte Dat'AIDs qui représente 25% des patients VIH français et qui de part sa répartition géographique peut être qualifiée comme très représentative de cette population.

Plusieurs limites se sont présentées dans notre travail: (i) nous n'avons pas pu considérer d'interactions entre les 4 grands groupes (homosexuels, hétérosexuels, UDI et patients d'autres groupes à risque),


(ii) la potentielle transmission du VHC entre la population HSH ayant des pratiques sexuelles à haut-risque VIH- et VIH+ n'a également pas pu être considérée étant donné le manque de données; (iii) la population cachée était considérée comme constante dans notre modèle, et (iv) les flux migratoires n'ont pas pu être considérés dans le modèle.

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Modeling HIV-HCV coinfection epidemiology in the direct-acting antiviral era: the road to elimination

Victor Virlogeux^{1,2,3,27} , Fabien Zoulim^{1,2,3,27}, Pascal Pugliese⁴, Isabelle Poizot-Martin⁵, Marc-Antoine Valantin^{6,7}, Lise Cuzin^{8,9,10}, Jacques Reynes¹¹, Eric Billaud¹², Thomas Huleux¹³, Firouze Bani-Sadr^{14,15}, David Rey¹⁶, Anne Frésard¹⁷, Christine Jacomet¹⁸, Claudine Duvivier^{19,20}, Antoine Cheret^{20,21}, Laurent Hustache-Mathieu²², Bruno Hoen²³, André Cabié^{24,25}, Laurent Cotte^{2,26,27*} and the Dat'AIDS Study Group

Abstract

Background: HCV treatment uptake has drastically increased in HIV-HCV coinfecting patients in France since direct-acting antiviral (DAA) treatment approval, resulting in HCV cure in 63% of all HIV-HCV patients by the end of 2015. We investigated the impact of scaling-up DAA on HCV prevalence in the whole HIV population and in various risk groups over the next 10 years in France using a transmission dynamic compartmental model.

Methods: The model was based on epidemiological data from the French Dat'AIDS cohort. Eight risk groups were considered, including high-risk (HR) and low-risk (LR) men who have sex with men (MSM) and male/female heterosexuals, intra-venous drug users, or patients from other risk groups. The model was calibrated on prevalence and incidence data observed in the cohort between 2012 and 2015.

Results: On January 1, 2016, 156,811 patients were registered as infected with HIV in France (24,900 undiagnosed patients) of whom 7938 (5.1%) had detectable HCV-RNA (722 undiagnosed patients). Assuming a treatment coverage (TC) rate of 30%/year (i.e., the observed rate in 2015), model projections showed that HCV prevalence among HIV patients is expected to drop to 0.81% in 2026. Sub-analyses showed a similar decrease of HIV-HCV prevalence in most risk groups, including LR MSM. Due to higher infection and reinfection rates, predicted prevalence in HR MSM remained stable from 6.96% in 2016 to 6.34% in 2026. Increasing annual TC rate in HR MSM to 50/70% would decrease HCV prevalence in this group to 2.35/1.25% in 2026. With a 30% TC rate, undiagnosed patients would account for 34% of HCV infections in 2026.

Conclusions: Our model suggests that DAA could nearly eliminate coinfection in France within 10 years for most risk groups, including LR MSM. Elimination in HR MSM will require increased TC.

Keywords: HIV, HCV, Coinfection, Treatment uptake, Mathematical modeling, Compartmental model, Direct-acting antiviral agent, HCV elimination

* Correspondence: laurent.cotte@chu-lyon.fr

²Université Claude Bernard Lyon 1, INSERM 1052, CNRS 5286, Centre Léon Bérard, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, F-69008 Lyon, France

²⁶Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Croix-Rousse Hospital, Hospices Civils de Lyon, 103 grande rue de la Croix-Rousse, 69317 Lyon, CEDEX 04, France

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2017 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection affects approximately 100 million people worldwide [1]. HCV coinfection is common among patients infected by human immunodeficiency virus (HIV), with a prevalence of 15.1% in 2012 in France [2]. HIV-HCV coinfection leads to accelerated disease progression, i.e., accelerated hepatic fibrosis progression and higher rates of liver decompensation and death [3, 4]. International guidelines consequently recommend that coinfecting patients should be given high priority for HCV treatment, regardless of the fibrosis stage [5, 6].

HCV direct-acting antiviral (DAA) agents are associated with a sustained virological response (SVR) rate of over 90% regardless of the genotype, including in HIV-infected patients [7, 8]. However, recent studies reported that, among HIV-infected men who have sex with men (MSM), HCV reinfection rates are alarmingly high and that specific strategies, such as frequent HCV RNA testing, were more particularly needed for this risk group [9–12]. Of note, such alarming HCV reinfection incidence rates have not been reported thus far for other risk groups. Recent modeling studies focusing on the MSM population showed that, despite high DAA treatment rates, the HCV epidemic would continue unless more effective behavioral interventions were undertaken in this population [13, 14].

To explore the potential impact of DAA treatment on HIV-HCV epidemic in France, we used incidence and prevalence data from a large HIV multicentric cohort [2, 15]. We developed a dynamic compartmental model of HCV transmission to assess the impact over the next 10 years of scaled-up HCV treatment across different risk groups.

Methods

Epidemiological data

The DatAIDS cohort is a collaborative network of 15 French HIV treatment centers covering approximately 25% of HIV-infected patients followed in France (Clinicaltrials.gov ref NCT02898987) [15]. HCV incidence and prevalence data, and HCV treatment coverage and SVR rates have been collected yearly within this cohort from January 2000 onwards [2]. Patients were divided into eight different risk groups, namely males and females for heterosexuals, intra-venous drug users (IVDU) and other risk-groups, and low- and high-risk for MSM. Death rates, proportion of HCV spontaneous clearance, and SVR rates were determined from the DatAIDS cohort [16]. HCV reinfection was defined as a positive HCV-RNA for more than 6 months following the end of a successful HCV treatment or following a spontaneous clearance, or HCV infection with a different genotype, regardless of the time period [2].

Estimation of the proportion of low- and high-risk MSM

As observed in other cohort studies [9–12], HCV reinfection incidence in MSM was higher than first infection incidence in our cohort. We therefore assumed a heterogeneous risk of HCV infection among MSM [17]. We considered that the observed reinfection rate in our cohort was representative of a first infection rate in a subgroup of MSM with high-risk behaviors, as it is unlikely that, after a first HCV infection, MSM increased their risk for HCV reinfection. On the other hand, we considered that MSM with low-risk behaviors had a similar first infection rate as other risk groups and we estimated it using the mean first infection incidence observed in other risk groups each calendar year. We thus estimated the proportion of high- and low-risk HIV-monoinfected MSM according to these assumptions (Additional file 1: Appendix).

Extrapolation of the DatAIDS cohort data to the total number of HIV patients in France

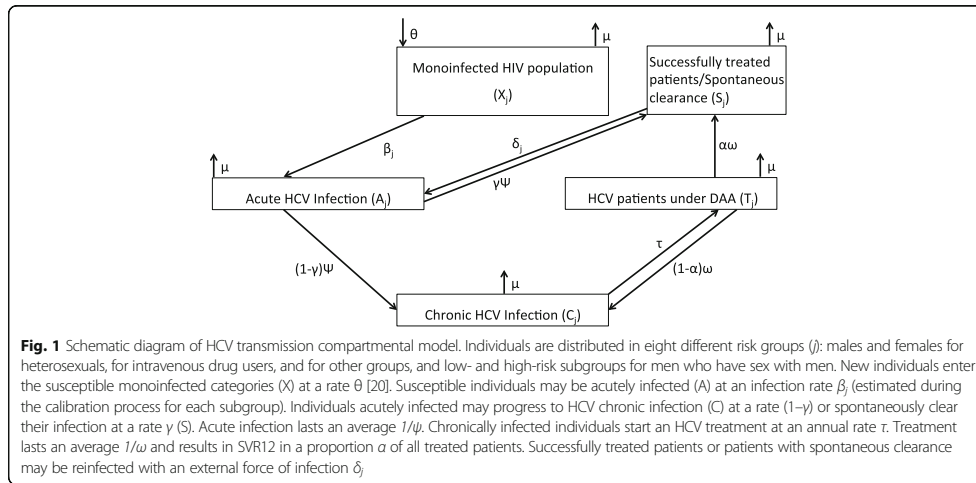
Prevalence of coinfection in each risk group was extrapolated from the DatAIDS cohort to the total number of HIV patients under care each year in France [18]. The extrapolated numbers in each risk group of HIV-monoinfected patients, HIV-HCV coinfecting patients with active HCV infection (defined as detectable plasma HCV-RNA), and patients with SVR following DAA treatment or with HCV spontaneous clearance on January 1, 2016, are described in Additional file 1: Tables S1, S2, and S3 [16].

Estimation of the HIV undiagnosed population

Considering that the HIV undiagnosed population [19] could significantly fuel the epidemic in the future, we estimated the number of HIV-HCV coinfecting patients in this population and included it in the model projections (Additional file 1: Table S4). To estimate the number of coinfecting patients in the undiagnosed HIV population, we assumed that HCV prevalence in this population was similar to the observed HCV prevalence among patients that were included in the DatAIDS cohort in 2015 with a mean of 2.9%. We therefore estimated the number of coinfecting patients in each subgroup using the estimates of the overall HIV undiagnosed population divided into subgroups reported by Supervie et al. [19]. These patients were considered as non-eligible for HCV DAA treatment and the population size was assumed to be constant over time.

Mathematical model

We developed a dynamic and deterministic model of HCV transmission, progression, and treatment among the whole under-care HIV population in France described in Fig. 1. Patients enter the model at HIV



diagnosis time. The number of new HIV infections arriving in the compartment of monoinfected HIV patients (X_i) each year was estimated using the French National Registries [20, 21]. For each compartment, the model is stratified into eight risk groups as previously described. HCV disease progression is stratified into acute phase, chronic phase, treatment phase, and successfully

treated (SVR) phase. We assumed that HIV-infected patients are infecting each other within each subgroup (heterosexual, MSM, IVDU, and others) for the first infection with a proportional mixing hypothesis. Regarding reinfection, we considered a constant risk derived from observed reinfection incidence. Since acute HCV infections are rarely reported among non-HIV infected MSM, we did

Table 1 Annual first infection rate, reinfection rate, and HCV treatment coverage observed in the Dat'AIDs cohort between 2012 and 2016

	MSM (low-risk/high-risk)	Heterosexuals	IVDU	Others
2012				
First infection rate (per 100 py)	0.02/1.84	0.01	0	0.09
Reinfection rate (per 100 py)	0.22 ^a /2.56 ^c	0.24 ^b	0.16 ^b	0.27 ^b
HCV treatment rate (%)	13.4	6.9	6.8	10.9
2013				
First infection rate (per 100 py)	0.06/2.23	0.03	0	0.29
Reinfection rate (per 100 py)	0.22 ^a /2.56 ^c	0.24 ^b	0.16 ^b	0.27 ^b
HCV treatment rate (%)	4.4	11.0	5.1	7.6
2014				
First infection rate (per 100 py)	0.12/2.40	0.07	2.13	0.23
Reinfection rate (per 100 py)	0.22 ^a /2.56 ^c	0.24 ^b	0.16 ^b	0.27 ^b
HCV treatment rate (%)	10.5	14.0	17.1	23.0
2015				
First infection rate (per 100 py)	0.09/3.42	0.05	1.69	0.17
Reinfection rate (per 100 py)	0.22 ^a /2.56 ^c	0.24 ^b	0.16 ^b	0.27 ^b
HCV treatment rate (%)	27.6	36.0	27.0	33.8

^aMean yearly reinfection rate observed in non-MSM risk groups between 2012 and 2015

^bMean yearly reinfection rate observed in heterosexuals, IVDU, and others risk groups between 2012 and 2015

^cMean yearly reinfection rate observed in MSM between 2012 and 2015

HCV hepatitis C virus, IVDU intravenous drug users, MSM men who have sex with men, py person-year

not consider any external force of infection in the model for this population. Projection of HIV-HCV coinfection started from January 1, 2016. Different annual treatment coverage rates were considered for projections (Additional file 1: Appendix).

Parameters and calibration of the model

The model was calibrated on the first infection rate β using yearly incidence and prevalence data (raw numbers) observed within the cohort from January 2012 to January 2016 and a Poisson-based likelihood within a Bayesian framework with a Monte Carlo Markov Chain method (Table 1, Additional file 1: Table S5 and Additional file 1: Appendix). We fitted our model (1) to the prevalence data observed in the Dat'AIDS cohort and extrapolated to the whole under-care HIV population in France for each risk group on January 1 between 2012 and 2016; and (2) to the incidence data observed in the Dat'AIDS cohort, i.e., the number of new first HCV infections in each risk group extrapolated to the total number of HIV under-care patients in France between 2012 and 2016. Specific HCV treatment and SVR rates were considered each year during the calibration period using observed data. Most parameters were measured from the Dat'AIDS cohort and are reported in Table 2. All HIV-HCV patients were considered eligible for HCV treatment regardless of fibrosis stage or genotype and if they were in the chronic phase of infection as defined by a detectable HCV-RNA more than 6 months following acute infection.

Sensitivity analysis

To estimate the potential impact of targeting HIV-HCV coinfecting high-risk MSM for treatment during the HCV acute phase, we derived a model considering potential DAA treatment during this phase (i.e., from 3 to 6 months following infection) with different coverage

rates (Additional file 2: Figure S1) [5, 6]. We also explored the impact of potential behavioral changes over the next 10 years among high-risk MSM on HIV-HCV prevalence by considering a linear increase in the proportion of HIV monoinfected high-risk MSM.

We also investigated, as a sensitivity analysis, the impact of considering a potential external source of HCV transmission for IVDU, i.e., from HIV-negative to HIV-positive IVDU, on the model projections over the next 10 years. We derived the main model by adding a constant external force of infection (i.e., independent of HCV prevalence among HIV-positive IVDU) among IVDU. To estimate this external force of infection, we considered several rates (20%, 40%, 60%, 80%, and 100%) of potentially observed external HCV cases among IVDU in the Dat'AIDS cohort. We therefore calibrated our model again on the adjusted dataset to take into account both internal and external forces of infection during the calibration process and considered two distinct reinfection rates for this risk group, namely the observed reinfection rate in the Dat'AIDS cohort (Table 1) and the mean first infection rate observed between 2012 and 2015. All analyses presented here were conducted using R version 3.3.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Results

HIV-HCV patients in France

On January 1, 2016, 156,811 patients were estimated to be infected with HIV in France, of whom 24,900 (16%) were part of the undiagnosed population [19]. Using our cohort data, we estimated a total of 7216 diagnosed and under-care HIV-patients with active HCV infection and 722 HIV-HCV undiagnosed patients (Additional file 1: Table S4). High- and low-risk MSM were estimated to represent 18% and 82% of HIV-monoinfected MSM, respectively. New HCV infections in high-risk MSM increased from 137 cases in 2012 to 291 cases in 2015

Table 2 Model parameters used to fit the incidence/prevalence of HCV patients observed in the Dat'AIDS cohort between 2012 and 2016 and for the different projections

Parameter	Symbol	Point value	Unit	References
Death rate	μ	1.4%	per year	Dat'AIDS
Infection rate of HIV (in each risk group j)	θ_j	see Reference	–	[19, 20]
Proportion of HCV spontaneous clearance	γ	12.6%	–	Dat'AIDS
Mean duration of acute infection	$1/\psi$	180	days	[9]
Infection rate of HCV among HIV patients in each risk group j	β_j	estimated	–	Dat'AIDS
Treatment coverage rate	τ	(30–90)	per year	–
Average treatment duration	$1/\omega$	12 (since 2015) and 24 (before 2015)	weeks	–
DAA treatment SVR12 rate	α	95%	–	Dat'AIDS
Re-infection rate of HCV among HIV patients after SVR12 or spontaneous clearance in each risk group j	δ_j	see Table 1	per year	Dat'AIDS

DAA direct-acting antivirals, HCV hepatitis C virus, HIV human immunodeficiency virus, SVR sustained virological response

(Additional file 1: Table S5), while the annual incidence rate increased in this group from 1.84% in 2012 to 3.42% in 2015 (Table 1).

Model goodness-of-fit and model projections over the next decade in the whole HIV-HCV population

Figure 2 depicts the model goodness-of-fit to the yearly prevalence data observed in the cohort between January 1, 2012, and January 1, 2016 (panel A). We observed a significant decrease of HIV-HCV coinfected individuals, in particular between 2013 and 2014 in the Dat'AIDS cohort, which follows the considering that DAA became available for all HIV-HCV coinfected patients in France in 2014 and 92% of HIV-HCV patients who started an HCV treatment received a DAA combination at that time. Mean observed SVR rate consequently increased from 70% to 89% and treatment coverage rate also increased from 6.1% in 2013 to 15.7% in 2014.

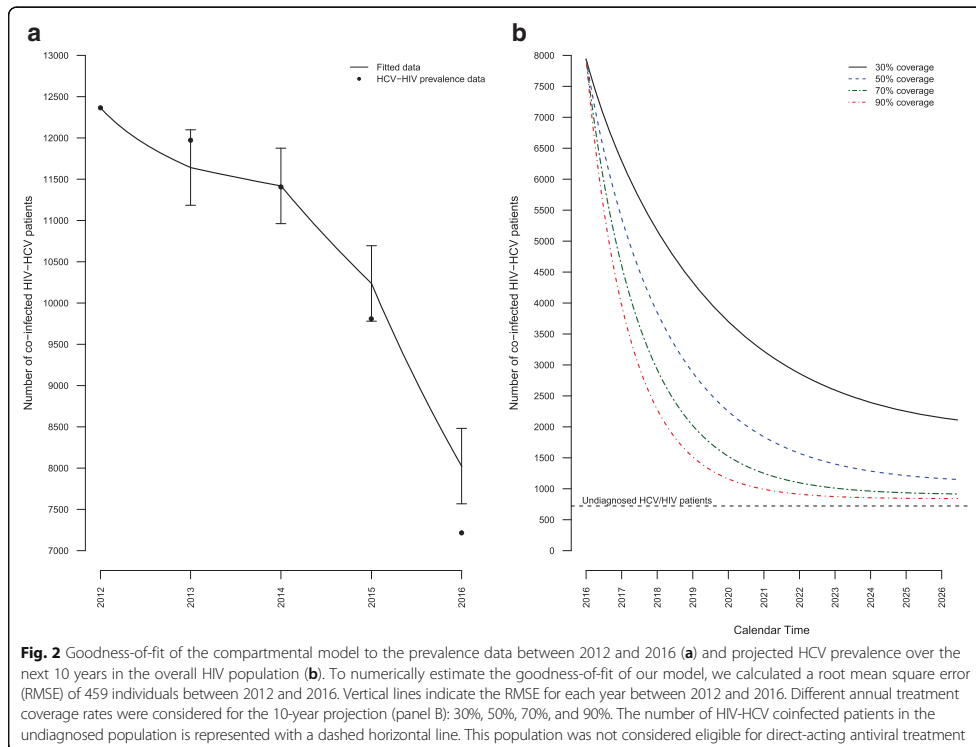
We observed an overall goodness-of-fit of the model to the yearly prevalence data. This goodness-of-fit was more precisely explored in each subgroup and we observed a similar close fit to the observed data

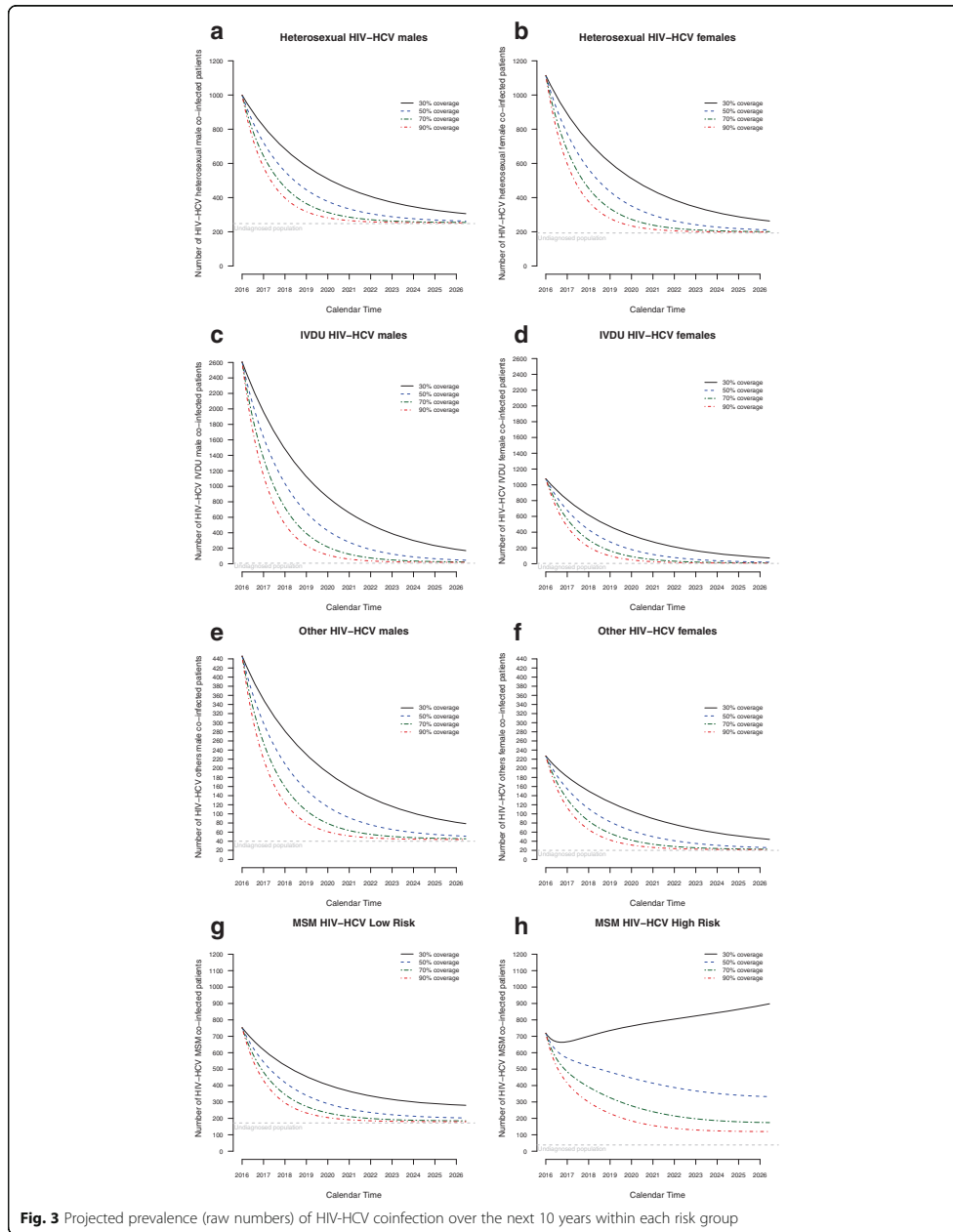
(Additional file 3: Figure S2), except for MSM, for whom observed data were slightly below model predictions.

We then compared several treatment coverage rates and observed a significant decrease of active HCV infections among all patients over the next 10 years (Fig. 2, panel b). Assuming an annual treatment coverage of 30% (i.e., the observed 2015 treatment coverage in our cohort), the HCV prevalence in 2026 is expected to drop from 5.09% to 1.08% in the whole HIV-HCV population and from 5.48% to 0.81% in patients under care. Under this hypothesis, the number of patients with active HCV infection will decrease to 2113 patients by 2026, with 34% remaining HIV-HCV undiagnosed. Increasing treatment coverage to 50% and 70% will result in 1151 and 916 patients with active HCV infection in 2026, respectively, among whom 63% and 79% will remain undiagnosed.

Model projections over the next decade in each risk group

We conducted similar projections for each subgroup considering several treatment coverage rates (Fig. 3, Additional file 4: Figures S3, and Additional file 5: Figure S4).





We observed a similar significant decrease in predicted prevalence over the next 10 years among heterosexuals, IVDU, and patients with other risk factors for both sexes as well as for low-risk MSM. For example, prevalence of HCV infection is expected to drop from 33.1% in 2016 to 2.4% in 2026 among male IVDU under care (the largest group of patients) with a treatment coverage rate of 30%, resulting in 173 patients with active infection in this subgroup in 2026. Increasing treatment coverage rate to 50% and 70% will result in less than 100 patients in this subgroup by 2023 and 2021, respectively.

On the other hand, prevalence among under-care, high-risk MSM is predicted to slightly decrease, from 6.96% in 2016 to 6.34% in 2026, with a 30% treatment coverage rate. Meanwhile, the number of high-risk MSM with active HCV infection will increase from 719 to 839 patients in 2026. An increase in the annual treatment coverage rate to 50% or 70% would be required in this subgroup to decrease the predicted prevalence to 2.35% and 1.25% in 2026, respectively. The number of under-care, coinfecting, high-risk MSM will drop below 100 cases by 2022 only if treatment coverage rate is increased up to 90%.

Sensitivity analyses

We explored the impact of treating acute HCV infection for high-risk MSM by deriving the model structure reported in Fig. 1 (Additional file 1: Figure S1). We assumed several treatment coverage rates for acute HCV infection combined with 30% and 50% treatment coverage rates for chronic HCV infection. Assuming a 30% treatment coverage rate for chronic infection, increasing the treatment coverage rate of acute infections to 30–50% would maintain the total number of active HCV infection in high-risk MSM, while increasing acute infection treatment coverage rate to 70–90% would marginally decrease this number. Thus, with a 50% treatment coverage rate for chronic infection, the benefit of treating acute HCV infection appears marginal (Additional file 6: Figure S5).

We also explored the impact of a potential increase in the proportion of HIV monoinfected high-risk MSM over the next 10 years on HIV-HCV prevalence in this subgroup (Additional file 7: Figure S6). We considered several treatment coverage rates of chronic HCV infection and two different rates of increase in the high-risk MSM proportion, namely 5% and 10% over the next 10 years (i.e., from 18% to 23% and from 18% to 28%, respectively). We observed similar results than those reported in the main analysis, with a significant increase in the number of HIV-HCV individuals when considering an annual treatment coverage rate of 30%. On the other hand, the number of HIV-HCV high-risk MSM is expected to decrease when the annual treatment coverage rate reaches at least 50% despite an increase in the

proportion of high-risk MSM in the HIV monoinfected population.

We finally investigated the impact of considering an external force of infection for IVDU to take into account the potential risk of HCV transmission between HIV-negative and HIV-positive individuals. We derived our main model and we considered several proportions of external cases among those observed in the DatAIDS cohort between 2012 and 2015. Estimated numbers of HIV-HCV IVDU over the next 10 years are reported in Additional file 1: Table S6 and S7 and Additional file 8: Figure S7 assuming several proportions of external cases. Under this hypothesis, the number of HIV-HCV IVDU in 2026 is expected to marginally increase compared with our main analysis, while HIV-HCV prevalence in this risk group is expected to significantly decrease over the next 10 years, even if the considered proportion of external HCV cases is high (>60% of total IVDU cases).

Discussion

Prevalence of active HCV infection among HIV patients in France is globally projected to decrease from 5.09% to 1.08% within the next 10 years under current treatment rates. This decrease should result in approximately 2100 patients with active HCV infection in 2026, 34% of whom will remain outside of the healthcare system. In our model, a decrease of active HCV infection prevalence is expected in almost all risk groups, except for high-risk MSM in whom HCV prevalence would remain almost stable, unless a minimum of 50% treatment coverage rate is reached.

To our knowledge, this is the first study to model HCV epidemic among HIV-infected patients in a whole country and within all risk groups. Since incidence and prevalence data of HIV-HCV coinfection were heterogeneous among the different risk groups in the DatAIDS cohort, we considered eight distinct risk groups, including high-risk MSM, who represent 18% of all HIV-monoinfected MSM. This estimated proportion is close to the 25% estimate reported within the Swiss HIV cohort using patients' unsafe sex reports as reference [14], while a lower estimate of 7% was reported in the UK Collaborative HIV cohort [13].

HIV-HCV coinfection was historically associated with intravenous drug use in France and this risk group remained the largest group of patients at the beginning of 2016. However, very few new HCV infections were observed in this risk group, resulting in a drastic decrease in our projections. On the other hand, HCV infection incidence rate in high-risk MSM increased in the cohort since the early 2000s and nearly doubled in this group between 2012 and 2015 [2]. This trend was also observed in the Swiss cohort [14, 22], as well as in cohorts from Netherlands [23] or Japan [24], with similar

estimates, but was not observed in the UK [13]. The reinfection rate observed in our cohort was similar to a pooled reinfection rate estimate of 32/1000 person-years reported in a meta-analysis [12], while higher rates were recently reported in the UK (7.8/100 person-years) and within the European NEAT cohort (7.3/100 person-years) [9, 11]. High-risk MSM could therefore drive an HIV-HCV epidemic over the next years in France and, potentially, in other high-income countries. In order to control such a future epidemic, the targeting of high-risk behavior MSM patients will be crucial.

In our study, we considered that all HIV patients after 6 months of HCV infection were eligible for DAA treatment as recommended in France. However, we also demonstrated a marginal effect of treating high-risk MSM from the third month of infection. Martin et al. [13] explored the benefit of HCV treatment at both the chronic and acute phases of HCV infection, but defined the acute phase after 1 year of infection. Patients after 6 months of HCV infection are eligible for DAA treatment in France. It is therefore likely that a high treatment coverage for all patients after 6 months of HCV infection would have a similar effect on HCV prevalence than a combined strategy of treating HCV patients during the acute phase (before 6 months) and after 6 months for other patients, but with a lower treatment coverage for the latter. Indeed, in our projections, increasing the acute infection treatment coverage rate to over 70% in high-risk MSM slightly strengthened a decrease in HIV-HCV coinfection prevalence. Increasing HCV treatment coverage after 6 months of infection in high-risk MSM consequently appears as an effective solution to significantly decrease HCV prevalence in this population over the next 10 years.

We used estimates of the undiagnosed HIV population to analyze the impact of HCV treatment on the whole HIV-HCV epidemic in France. Our projections show that the proportion of HIV-HCV undiagnosed patients could increase to 35% in 2026 considering a 30% treatment coverage rate. This proportion could increase to 64% and 79% in 2026 with treatment coverage rates of 50% and 70%, respectively. Although our estimates of coinfection in this undiagnosed population are relatively low, undiagnosed HIV-HCV patients could fuel an HCV epidemic in the future if no specific interventions are undertaken to identify and enroll undiagnosed patients in care.

Our model does have some limitations. First, we considered that no mixing occurred between MSM, heterosexuals, IVDU, and other risk groups. While HCV transmission among heterosexual couples is rare [25], the source of HCV infection in MSM is often difficult to establish due to concomitant use of intravenous or nasal drugs, and sexual risk behavior [26]. However, drug use

in MSM appears to be mostly driven by consumption during sexual intercourse, and there is no evidence that former opiate users could be a significant source of HCV infection in MSM [27–29].

Second, we modeled HCV transmission among HIV-infected patients only, without considering any other route of transmission such as from the monoinfected HCV population. In a sensitivity analysis, we considered an external force of infection for IVDU to investigate the impact of a potential risk of HCV transmission between HIV-negative and HIV-positive IVDU; the model projections under this hypothesis were similar to our main analysis projections. However, it is likely that HCV transmission between HIV-negative and HIV-positive IVDU could fuel the HCV epidemic in this risk group in other epidemiological contexts, more particularly in countries where HCV incidence and prevalence remain high in this risk group [30, 31]. Moreover, the observed reinfection rate among IVDU in the DatAIDS cohort was lower than the reinfection rate observed in other risk groups. Most of IVDU (90%) included in the cohort were former drug users with a median age of 55 years, which could explain why the observed reinfection rate in this risk group was relatively low. It is potentially likely that HCV reinfection rate in HIV-positive IVDU could be higher in younger, active IVDU, who may not be well represented in the DatAIDS cohort compared with other epidemiological context such as in the US.

On the other hand, a recent study from the Netherlands reported that similar HCV strains were circulating among HIV-HCV coinfecting MSM and among MSM with high-risk behaviors engaged in a pre-exposure prophylaxis program and acutely infected by HCV [32]. Since HCV infection incidence is usually lower in HIV-negative than in HIV-positive MSM, this study suggests that HCV infection is now spreading from HIV-positive to HIV-negative MSM. Another recent study from the Netherlands showed a significant decrease in the number of acute HCV infections among HIV positive MSM since the commencement of universal access to DAA treatment for this population [33]. These results are in favor of a limited HCV transmission from HIV-negative to HIV-positive patients. In any case, a recent increase in unprotected sexual intercourse and sexually transmitted infection incidence in HIV-negative MSM as well as acute HCV infections in MSM enrolled in a pre-exposure prophylaxis program warn us to increase regular HCV screening of all high-risk MSM regardless of HIV infection [34–37].

Third, we estimated the number of undiagnosed HIV-HCV patients in France using the hypothesis of a similar HCV prevalence in this population compared with new patients entering the DatAIDS cohort in recent years. Therefore, we added these patients as a constant over time in the projections and no interaction between this

population and HIV-diagnosed patients was considered. It is also possible that the size of this population will change in the future due to potential interventions for HIV-diagnosed patients.

Fourth, the model neglected international migration and did not consider the potential risk of HCV transmission related to MSM international networks, as previously described [38, 39], since no clear data were available to integrate this risk of HCV transmission in our model.

Fifth, we estimated the proportion of HIV-monoinfected high-risk MSM as a constant over time in our main analysis. A specific definition of this population is, to date, not globally approved. We assessed the impact of an increase in the proportion of HIV monoinfected high-risk MSM on HIV-HCV prevalence in the model projections but we did not assess the impact of effective behavioral interventions in this population because no study has thus far proved an effect of such an intervention for HCV infection on the size of the high-risk population.

Sixth, we considered the reinfection rate as a constant force of infection in each risk group (i.e., independent of HCV prevalence), as the proportion of low- and high-risk MSM could not be determined among HIV-HCV coinfecting MSM, except at the beginning of the calibration process, i.e. on January 1st, 2012 (Additional file 1: Appendix). Finally, our projections are promising as most HIV-infected individuals in France are under care and DAA treatment access is universal, i.e., not restricted to a specific fibrosis score and/or comorbidities. These projections are likely to be different if our model was fitted to another country's settings without universal DAA treatment access and/or with a different spectrum of engagement in HIV care.

Our study also has a number of strengths. The model is based on the largest and most exhaustive HIV-HCV database reported in the literature to date, with yearly data available for all included patients. Moreover, all risk groups were considered in the model for calibration and projections, and reliable HCV risk of transmission for the first infection in each risk group was thus estimated during the calibration by extending the observed data to the whole HIV-diagnosed population in France.

Conclusion

Our study demonstrates that the number of active HCV infection in under-care HIV-infected patients is expected to drastically decrease within the next decade. However, an increase in new infection and reinfection incidence in high-risk MSM as well as an increase in the proportion of undiagnosed patients and occurrence of acute HCV infection in non-HIV-infected MSM could fuel an HCV epidemic in the future. Addressing all these issues is necessary to achieve HCV elimination in this population.

Additional files

- Additional file 1: Appendix. Table S1.** Extrapolated numbers of HIV-monoinfected patients by subgroups in France in the population under care on January 1, 2016. **Table S2.** Extrapolated numbers of HIV-HCV coinfecting patients with detectable HCV-RNA by subgroups in France in the population under care on January 1, 2016. **Table S3.** Extrapolated numbers of HIV-infected patients successfully treated for HCV or after spontaneous HCV clearance by subgroups in France in the population under care on January 1, 2016. **Table S4.** Estimated numbers of HIV-HCV coinfecting patients by subgroup in France in the HIV undiagnosed population. **Table S5.** Number of first HCV infection observed each year in the DatAIDs cohort and extended to the diagnosed HIV population in France by risk group. **Table S6.** Estimated numbers of HIV-HCV coinfecting IDU considering several proportions of external cases, observed reinfection rate in the DatAIDs cohort, and an annual treatment coverage of 30% over the next 10 years. **Table S7.** Estimated numbers of HIV-HCV coinfecting IDU considering several proportions of external cases, reinfection rate based on mean first infection rate observed in the DatAIDs cohort, and an annual treatment coverage of 30% over the next 10 years. (DOCX 44 kb)
- Additional file 2: Figure S1.** Schematic diagram of HCV transmission compartmental model considering potential HCV treatment during acute phase. (PDF 26 kb)
- Additional file 3: Figure S2.** Goodness of fit of the compartmental model to prevalence data between 2012 and 2016 in each risk group (heterosexuals, IDU, MSM and others). (PDF 34 kb)
- Additional file 4: Figure S3.** Projected prevalence of HIV-HCV coinfection over the next 10 years within each risk group assuming an annual treatment coverage of 30%. (PDF 1673 kb)
- Additional file 5: Figure S4.** Projected prevalence (rate) of HIV-HCV coinfections over the next 10 years within each risk groups. (PDF 528 kb)
- Additional file 6: Figure S5.** Projected prevalence of HIV-HCV coinfections over the next 10 years considering potential HCV treatment during acute phase among high risk MSM. (PDF 187 kb)
- Additional file 7: Figure S6.** Projected prevalence of HIV-HCV coinfections over the next 10 years considering a linear increase of the proportion of high risk HIV monoinfected. (PDF 148 kb)
- Additional file 8: Figure S7.** Projected prevalence of HIV-HCV coinfections over the next 10 years in IDU considering a potential risk of HCV transmission between HIV-negative and HIV-positive individuals. (PDF 153 kb)

Acknowledgments

The authors gratefully thank Dr. Pierre Pradat and the members of the DatAIDs study group: L. Cotte, C. Chidiac, T. Ferry, F. Ader, F. Biron, A. Boibieux, P. Mialhes, T. Perpoint, I. Schlienger, J. Lippmann, E. Braun, J. Koffi, C. Longuet, V. Guéripel, C. Augustin-Normand, C. Brochier, S. Degroot (Lyon); P. Pugliese, C. Ceppi, E. Cua, J. Cottalorda, J. Courjon, P. Dellamonica, E. Demonchy, A. De Monte, J. Durant, C. Etienne, S. Ferrando, J.G. Fuzibet, R. Garraffo, A. Joulie, K. Rizzo, V. Mondain, A. Naqvi, N. Oran, I. Perbost, S. Pillet, B. Prouvost-Keller, S. Wehrlen-Pugliese, E. Rosenthal, S. Sausse, V. Rio, P.M. Roger (Nice); S. Brégigeeon, O. Faucher, V. Obry-Roguet, M. Ortoni, M.J. Soavi, P. Geneau de Lamarlière, H. Laroche, E. Ressiott, M. Carta, M.J. Ducassou, I. Jacquet, S. Gallie, A. Galinier, A.S. Ritleng, A. Ivanova, C. Blanco-Betancourt, C. Lions, C. Debreux, V. Obry-Roguet, I. Poizot-Martin (Marseille); R. Agher, C. Katlama, M.A. Valantin, C. Duvivier, O. Lortholary, F. Lanterrier, C. Charlier, C. Rouzaud, C. Aguilar, B. Henry, D. Lebeaux, G. Cessot, A. Gergely, P.H. Consigny, F. Touam, C. Louisin (Paris); M. Alvarez, N. Biezunski, L. Cuzin, A. Debard, P. Delobel, C. Delpierre, C. Fourcade, B. Marchou, G. Martin-Blondel, M. Porte, M. Mularczyk, D. Garipuy, K. Saune, I. Lepain, M. Marcel, E. Puntis (Toulouse); N. Atoui, M.L. Casanova, V. Faucherre, J.M. Jacquet, V. Le Moing, A. Makinson, C. Merle De Boever, A. Montoya-Ferrer, C. Psomas, J. Reynes (Montpellier); F. Raffi, C. Allavena, E. Billaud, C. Biron, B. Bonnet, S. Bouchez, D. Boutolle, C. Brunet, T. Jovelin, N. Hall, C. Bernaud, P. Morineau, V. Reliquet, O. Aubry, P. Point, M. Besnier, L. Larmet, H. Hüe, S. Pineau, E. André-Garnier, A. Rodallec (Nantes); Ph. Choisy, S. Vandame, Th. Huleux, F. Ajana, I. Alcaraz, V. Baclet, T.H. Huleux, H. Melliez, N. Viget, M. Valette, E. Aissi, Ch. Allienne, A. Meybeck, B. Riff (Tourcoing); F. Bani-Sadr, C. Rouger, J.L. Berger, Y. N'Guyen, D. Lambert, I. Kmiec, M. Hentzien, D. Lebrun, C. Migault (Reims); D. Rey,

M.L. Bataud, C. Bernard-Henry, C. Cheneau, E. de Mautort, P. Fischer, M. Parisani, M. Priester (Strasbourg); F. Lucht, A. Frésard, E. Botelho-Nevers, A. Gagneux-Brunon, C. Cazorla, C. Guglielminotti, F. Daoud, M.F. Lutz (Saint Etienne); C. Jacomet, H. Laurichesse, O. Lesens, M. Vidal, N. Mrozek, V. Corbin, C. Aumeran, O. Baud, S. Casanova, D. Coban (Clermont Ferrand); L. Hustache-Mathieu, M.C. Thiebaut-Drobacheff, A. Foltzer, V. Gendrin, F. Bozon, C. Chirouze (Besançon); S. Abel, A. Cabié, R. Césaire, G. Dos Santos, L. Fagour, F. Najjoulah, M. Ouka, S. Pierre-François, M. Pircher, B. Rozé (Fort-de-France); B. Hoen, R. Ouissa, I. Lamaury (Pointe-à-Pitre).

Funding

No financial support was provided for this study.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Authors' contributions

Literature search: LCo, VV. Study design: LCo, VV. Data collection: PP, IPM, MAV, LCU, JR, EB, TH, FBS, DR, AF, CJ, CD, ACh, LHM, BH, ACa, LCo. Data analysis: VV, LCo. Data interpretation: VV, FZ, PP, IPM, MAV, LCU, JR, EB, TH, FBS, DR, AF, CJ, CD, ACh, LHM, BH, ACa, LCo. Drafting of the manuscript: VV, LCo. Critical review of the final version of the manuscript: VV, FZ, PP, IPM, MAV, LCU, JR, EB, TH, FBS, DR, AF, CJ, CD, ACh, LHM, BH, ACa, LCo. All authors read and approved the final manuscript.

Ethics approval and consent to participate

All patients included in the DatAIDS cohort signed a written informed consent for the use of their personal data. The DatAIDS cohort is registered on ClinicalTrials.gov under reference number NCT02898987.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

Mr. Victor Virlogeux reports consulting/speaker fees from Sanofi and AbbVie, outside the submitted work. Pr. Fabien Zoulim reports consulting/speaker fees from Gilead Science, Bristol Myers Squibb, and Roche. Dr. Poizat-Martin reports personal fees from Gilead Sciences and MSD, and non-financial support from BMS, outside the submitted work. Dr. Valantin reports personal fees from BMS, Gilead Sciences, Janssen, MSD and ViiV Healthcare, outside the submitted work. Dr. Cuzin reports personal fees from BMS and ViiV Health Care and non-financial support from Janssen and MSD, outside the submitted work. Dr. Reynes reports personal fees from Gilead Sciences, Janssen, Pfizer, MSD and ViiV Healthcare, outside the submitted work. Dr. Billaud reports personal fees from BMS, Gilead, Janssen and ViiV Healthcare, outside the submitted work. Dr. Huleux reports non-financial support from Janssen and ViiV Healthcare, outside the submitted work. Dr. Rey reports personal fees from BMS, Gilead Sciences, MSD, and ViiV Healthcare, outside the submitted work. Dr. Jacomet reports personal fees from Convergence Edition, Gilead Sciences, Janssen, MSD and ViiV Healthcare and non-financial support from Abbvie, Gilead Sciences, Janssen and MSD, outside the submitted work. Dr. Cabié reports non-financial support from BMS, Gilead Sciences and Janssen, outside the submitted work. Dr. Cotte reports grants from ViiV Healthcare and MSD, personal fees from Abbvie, BMS, Gilead Sciences, Janssen, MSD, ViiV Healthcare and non-financial support from Abbvie, BMS, Gilead Sciences, Janssen, MSD and ViiV Healthcare, outside the submitted work. Dr. Pugliese, Dr. Bani-Sadr, Dr. Fresard, Dr. Duvivier, Dr. Cheret, Dr. Hustache-Mathieu, and Dr. Hoen have no conflicts of interest to disclose.

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

¹Department of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France. ²Université Claude Bernard Lyon 1, INSERM 1052, CNRS 5286, Centre Léon Bérard, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, F-69008 Lyon, France. ³Centre for Clinical Research, Department of Hepatology, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁴Department of Infectious Diseases, Centre Hospitalier Universitaire de Nice,

Hôpital l'Archet, Nice, France. ⁵Aix-Marseille University, APHM Hôpital Sainte-Marguerite, Service d'Immuno-hématologie clinique, INSERM U912 (SESSTIM), 13009 Marseille, France. ⁶Department of Infectious Diseases, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France. ⁷Sorbonne Université, UPMC Université Paris 06, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique (IPLESP UMRS 1136), Paris, France. ⁸CHU Toulouse, COREVIH Toulouse, Toulouse, France. ⁹Université de Toulouse III, Toulouse, France. ¹⁰INSERM, UMR 1027, Toulouse, France. ¹¹Department of Infectious Diseases, UMI 233 INSERM U1175, CHU de Montpellier, Montpellier, France. ¹²Department of Infectious Diseases, Hôtel-Dieu Hospital, Nantes, France. ¹³Department of Infectious Diseases and Travel Diseases, Centre Hospitalier Gustave-Dron, Tourcoing, France. ¹⁴Department of Internal Medicine, Infectious Diseases and Clinical Immunology, Hôpital Robert Debré, CHU Reims, Reims, France. ¹⁵Université de Reims Champagne-Ardenne, Faculté de Médecine, EA-4684/SFR CAP-SANTE, Reims, France. ¹⁶HIV Infection Care Centre, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France. ¹⁷Department of Infectious Diseases, CHU Saint-Etienne, Saint-Priest-en-Jarez, France. ¹⁸Department of Infectious Diseases, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France. ¹⁹Department of Infectious Diseases, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, IHU Imagine, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France. ²⁰Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, EA7327, Paris, France. ²¹Department of Internal Medicine, CHU Bicêtre, Paris, France. ²²Department of Infectious Diseases, CHRU de Besançon, Besançon, France. ²³Faculté de Médecine Hyacinthe Bastaraud, Université des Antilles, and Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Dermatologie et Médecine Interne, and INSERM CIC 1424, Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre, Pointe-à-Pitre, France. ²⁴Department of Infectious Diseases, CHU de Martinique, Fort-de-France, France. ²⁵Université des Antilles EA4537 and INSERM CIC1424, Fort-de-France, France. ²⁶Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Croix-Rousse Hospital, Hospices Civils de Lyon, 103 grande rue de la Croix-Rousse, 69317 Lyon, CEDEX 04, France. ²⁷Lyon University, Lyon, France.

Received: 17 March 2017 Accepted: 22 November 2017

Published online: 18 December 2017

References

- Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;61:545–57.
- Cotte L, Pugliese P, Valantin M-A, Cuzin L, Billaud E, Duvivier C, et al. Hepatitis C treatment initiation in HIV-HCV coinfecting patients. *BMC Infect Dis*. 2016;16:345.
- Rosenthal E, Salmon-Céron D, Lewden C, Bouteloup V, Pialoux G, Bonnet F, et al. Liver-related deaths in HIV-infected patients between 1995 and 2005 in the French GERMIMC Joint Study Group Network (Mortavic 2005 study in collaboration with the Mortalité 2005 survey, ANRS EN19). *HIV Med*. 2009;10:282–9.
- Kovari H, Ledergerber B, Cavasini M, Ambrosioni J, Bregenzer A, Stöckle M, et al. High hepatic and extrahepatic mortality and low treatment uptake in HCV-coinfecting persons in the Swiss HIV cohort study between 2001 and 2013. *J Hepatol*. 2015;63:573–80.
- AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology*. 2015;62:932–54.
- European Association for Study of Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2015. *J Hepatol*. 2015;63:199–236.
- Wyles DL, Sulkowski MS, Dieterich D. Management of hepatitis C/HIV coinfection in the era of highly effective hepatitis C virus direct-acting antiviral therapy: Table 1. *Clin Infect Dis*. 2016;63:53–11.
- Suwanthawornkul T, Anothaisintawee T, Sobhonslidsuk A, Thakkinian A, Teerawattananon Y. Efficacy of second generation direct-acting antiviral agents for treatment naïve hepatitis C genotype 1: a systematic review and network meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10:e0145953. Jhaveri R, editor.
- Ingiliz P, Martin TC, Rodger A, Stellbrink H-J, Mauss S, Boesecke C, et al. HCV reinfection incidence and spontaneous clearance rates in HIV-positive men who have sex with men in Western Europe. *J Hepatol*. 2017;66(2):282–7.
- Lambers FAE, Prins M, Thomas X, Molenkamp R, Kwa D, Brinkman K, et al. Alarming incidence of hepatitis C virus re-infection after treatment of sexually acquired acute hepatitis C virus infection in HIV-infected MSM. *AIDS*. 2011;25:F21–7.

11. Martin TCS, Martin NK, Hickman M, Vickerman P, Page EE, Everett R, et al. Hepatitis C virus reinfection incidence and treatment outcome among HIV-positive MSM. *AIDS*. 2013;27:2551–7.
12. Simmons B, Saleem J, Hill A, Riley RD, Cooke GS. Risk of late relapse or reinfection with hepatitis C virus after achieving a sustained virological response: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2016;62:683–94.
13. Martin NK, Thornton A, Hickman M, Sabin C, Nelson M, Cooke GS, et al. Can hepatitis C virus (HCV) direct-acting antiviral treatment as prevention reverse the HCV epidemic among men who have sex with men in the United Kingdom? Epidemiological and modeling insights. *Clin Infect Dis*. 2016;62:1072–80.
14. Salazar-Vizcaya L, Kouyouy RD, Zahnd C, Wandeler G, Battagay M, Darling KEA, et al. Hepatitis C virus transmission among human immunodeficiency virus-infected men who have sex with men: Modeling the effect of behavioral and treatment interventions. *Hepatology*. 2016;64(6):1856–69.
15. Pugliese P, Cuzin L, Cabié A, Poizot-Martin I, Allavena C, Duviolier C, et al. A large French prospective cohort of HIV-infected patients: the Nadis Cohort. *HIV Med*. 2009;10:504–11.
16. Pradat P, Pugliese P, Poizot-Martin I, Valantin M-A, Cuzin L, Reynes J, et al. Direct-acting antiviral treatment against hepatitis C virus infection in HIV-infected patients - "En route for eradication"? *J Infect*. 2017;75(3):234–41.
17. Hagan H, Jordan AE, Neurer J, Cleland CM. Incidence of sexually transmitted hepatitis C virus infection in HIV-positive men who have sex with men. *AIDS*. 2015;29:2335–45.
18. Guidelines for the Management of Patients Infected by HIV in France - Morlat Report 2013. http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_Morlat_2013_Mise_en_ligne.pdf. Accessed 12 Dec 2016.
19. Superville V, Ndawinz JDA, Lodi S, Costagliola D. The undiagnosed HIV epidemic in France and its implications for HIV screening strategies. *AIDS*. 2014;28:1797–804.
20. Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire (BEH) - New HIV and AIDS Diagnoses, France, 2003-2013. INVS. 2015. http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2015/9-10/pdf/2015_9-10.pdf. Accessed 9 Nov 2016.
21. French Institute for Public Health Surveillance (InVS) - Découvertes de séropositivité VIH et de sida. Point épidémiologique du 23 mars 2017. 2017. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/VIH-sida-IST/Infection-a-VIH-et-sida/Actualites/Decouvertes-de-seropositivite-VIH-et-de-sida-Point-epidemiologique-du-23-mars-2017>. Accessed 16 June 2017.
22. Wandeler G, Gsponer T, Bregenzner A, Günthard HF, Clerc O, Calmy A, et al. Hepatitis C virus infections in the Swiss HIV Cohort Study: a rapidly evolving epidemic. *Clin Infect Dis*. 2012;55:1408–16.
23. van de Laar TJW, van der Bij AK, Prins M, Bruisten SM, Brinkman K, Ruys TA, et al. Increase in HCV incidence among men who have sex with men in Amsterdam most likely caused by sexual transmission. *J Infect Dis*. 2007;196:230–8.
24. Nishijima T, Shimbo T, Komatsu H, Hamada Y, Gatanaga H, Oka S. Incidence and risk factors for incident Hepatitis C infection among men who have sex with men with HIV-1 infection in a large Urban HIV clinic in Tokyo. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014;65:213–7.
25. Terrault NA, Dodge JL, Murphy EL, Tavis JE, Kiss A, Levin TR, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus among monogamous heterosexual couples: the HCV partners study. *Hepatology*. 2013;57:881–9.
26. Matthews GV, Pham ST, Hellard M, Grebely J, Zhang L, Oon A, et al. Patterns and characteristics of hepatitis C transmission clusters among HIV-positive and HIV-negative individuals in the Australian trial in acute hepatitis C. *Clin Infect Dis*. 2011;52:803–11.
27. Larsen C, Chaix M-L, Le Strat Y, Velter A, Gervais A, Aupérin I, et al. Gaining greater insight into HCV emergence in HIV-infected men who have sex with men: the HEPAIG study. *PLoS One*. 2011;6:e29322.
28. Daskalopoulou M, Rodger A, Phillips AN, Sherr L, Speakman A, Collins S, et al. Recreational drug use, polydrug use, and sexual behaviour in HIV-diagnosed men who have sex with men in the UK: results from the cross-sectional ASTRA study. *Lancet HIV*. 2014;1:e22–31.
29. Schmidt AJ, Rockstroh JK, Vogel M, Ander Heiden M, Baillot A, Krznanic I, et al. Trouble with bleeding: risk factors for acute hepatitis C among HIV-positive gay men from Germany—a case-control study. *PLoS One*. 2011;6:e17781.
30. Williams IT, Bell BP, Kuhnert W, Alter MJ. Incidence and transmission patterns of acute hepatitis C in the United States, 1982-2006. *Arch Intern Med*. 2011;171:242–8.
31. Nelson PK, Mathers BM, Cowie B, Hagan H, Des Jarlais D, Horyniak D, et al. Global epidemiology of hepatitis B and hepatitis C in people who inject drugs: results of systematic reviews. *Lancet*. 2011;378:571–83.
32. Hoorneborgh E1, Achterbergh RCA, Schim Van Der Loeff MF, Davidovich U, Hogewoning A, Vries HJC, Schinkel J, Prins M, Laar TJW, Amsterdam PrEP Project team in the HIV Transmission Elimination Amsterdam Initiative, MOSAIC study group. Men who have sex with men starting pre-exposure prophylaxis (PrEP) are at risk of HCV infection: evidence from the Amsterdam PrEP study. *AIDS*. 2017. doi:10.1097/QAD.0000000000001522.
33. Boerekamps A1, Van den Berk GEZ, Fanny LN3, Leyten EM4, Van Kasteren ME5, van Eeden A6, Posthouwer D7, Claassen MA8, Dofferhoff AS9, Verhagen DWM10, Bierman WF11, Lettinga KD12, Kroon FP13, Delsing CE14, Groeneveld PH15, Soetekouw R16, Peters EJ17, Hullege SJ1, Popping S18, Van deVijver DAMC18, Boucher CA18, Arends JE19, Rijnders BJ1. Declining HCV incidence in Dutch HIV positive men who have sex with men after unrestricted access to HCV therapy. *Clin Infect Dis*. 2017. doi:10.1093/cid/cix1007.
34. Molina J-M, Capitant C, Spire B, Pialoux G, Cotte L, Charreau I, et al. On-demand preexposure prophylaxis in men at high risk for HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2015;373:2237–46.
35. McCormack S, Dunn DT, Desai M, Dolling DI, Gafos M, Gilson R, et al. Pre-exposure prophylaxis to prevent the acquisition of HIV-1 infection (PROUD): effectiveness results from the pilot phase of a pragmatic open-label randomised trial. *Lancet*. 2016;387:53–60.
36. Volk JE, Marcus JL, Phengsamy T, Hare CB. Incident hepatitis C virus infections among users of HIV preexposure prophylaxis in a clinical practice setting. *Clin Infect Dis*. 2015;60:1728–9.
37. Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire (BEH) - World AIDS day December 2016. INVS. 2016. http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2016/41-42/pdf/2016_41-42.pdf. Accessed 1 Jan 2017.
38. Vogel M, van de Laar T, Kupfer B, Stellbrink H-J, Kümmerle T, Mauss S, et al. Phylogenetic analysis of acute hepatitis C virus genotype 4 infections among human immunodeficiency virus-positive men who have sex with men in Germany. *Liver Int*. 2010;30:1169–72.
39. van de Laar T, Pybus O, Bruisten S, Brown D, Nelson M, Bhagani S, et al. Evidence of a large, international network of HCV transmission in HIV-positive men who have sex with men. *Gastroenterology*. 2009;136:1609–17.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Appendix

Hepatitis C transmission model

To model HCV transmission among HIV patients we designed a compartmental model defined by the following system of ordinary differential equations (see Figure 1 for the schematic diagram of HCV transmission compartmental model):

$$\frac{dX_j}{dt} = \theta_j - \beta_j X_j(t) \bar{I}(t) - \mu X_j(t)$$

$$\frac{dA_j}{dt} = \beta_j X_j(t) \bar{I}(t) - \gamma \psi A_j(t) + \delta_j S_j(t) - (1 - \gamma) \psi A_j(t) - \mu A_j(t)$$

$$\frac{dC_j}{dt} = (1 - \gamma) \psi A_j(t) - \tau C_j(t) + (1 - \alpha) \omega T_j(t) - \mu C_j(t)$$

$$\frac{dT_j}{dt} = -\alpha \omega T_j(t) - \mu T_j(t) - (1 - \alpha) \omega T_j(t) + \tau C_j(t)$$

$$\frac{dS_j}{dt} = \alpha \omega T_j(t) - \delta_j S_j(t) + \gamma \psi A_j(t) - \mu S_j(t)$$

where :

$\bar{I}(t) = A_{Mlr} + A_{Mhr} + C_{Mlr} + C_{Mhr}$ with Mlr for MSM low-risk and Mhr for MSM high-risk when $j=Mlr$ or $j=Mhr$

$\bar{I}(t) = A_{Hetero_males} + A_{Hetero_females} + C_{Hetero_males} + C_{Hetero_females}$ when $j=Hétéro_males$ or $j=Hétéro_females$

$\bar{I}(t) = A_{IVDU_males} + A_{IVDU_females} + C_{IVDU_males} + C_{IVDU_females}$ when $j=IVDU_males$ or $j=IVDU_females$

$\bar{I}(t) = A_{Others_males} + A_{Others_females} + C_{Others_males} + C_{Others_females}$ when $j=Others_males$ or $j=Others_females$

Calibration and estimation of paramétrés

We calibrated our model using yearly observed incidence and prevalence data (raw numbers) in the Dat'AIDS cohort from January 1st, 2012 to January 1st, 2016. Infection rate β_j (first infection) was estimated in each subgroup j . To estimate these paramétrés, we used a Poisson-based likelihood defined by:

$$L(\beta_j, Data_{incidence}, Data_{prevalence}) = \prod_{i=2012}^{i=2016} P(X_{i,j}, E(X_{i,j})) \times P(Y_{i,j}, E(Y_{i,j}))$$

where:

$X_{i,j}$ =number of new first HCV infection in subgroup j during the year i ($Data_{incidence}$)

$Y_{i,j}$ = number of co-infected patients (A_j+C_j) in the subgroup j on the 1st January of year $i+1$ ($Data_{prevalence}$)

$E(X_{i,j}) = \sum_{t=1}^{t=365} \beta \bar{I}(t) X_j(t)$ for each year i in each subgroup j

$E(Y_{i,j}) = \bar{I}(t = 01/01 \text{ of year } i + 1)$ in each subgroup j

P is the probability density function of a Poisson distribution, with a mean $E(X_i)$:

$$P(X_i, E(X_i)) = \frac{E(X_i)^{X_i} \times \exp(-E(X_i))}{X_i!}$$

Bayesian framework

In order to estimate these different paraméters, we used a Bayesian framework with a Monte Carlo Markov Chain Method (MCMC). In this framework, if θ represents a vector of paraméters and y the data, Bayes theorem gives us the following relationship:

$$p(\theta|y) = \frac{p(y|\theta)p(\theta)}{p(y)}$$

where $p(\theta)$ is the prior probability of the paraméters θ , $p(y|\theta)$ is the likelihood function and $p(\theta|y)$ is the posterior probability of θ given the data y .

MCMC process was initiated by giving random values to the paraméters θ and by choosing non-informative prior (flat prior) for θ , with a normal prior for all paraméters, $N(0,10000)$. A Metropolis Hastings algorithm was used to update the paraméter values in each iteration. In each iteration, all the k paraméters are randomly generated using the normal distribution with the mean θ_k^{j-1} (previous value of the k^{th} paraméter) and standard error σ_k , $N(\theta_k^{j-1}, \sigma_k)$ for each paraméter. The updated likelihood is compared with the previous one using the following accept-reject method:

$$q = \frac{p(y|\theta^j)p(\theta^j)}{p(y|\theta^{j-1})p(\theta^{j-1})}$$

If $q \geq 1$, the proposed new values of paraméters θ^j are accepted

If $q < 1$, then θ^j are accepted with probability q .

The above algorithm was repeated 10,000 times after a burn-in period of 5,000 repetitions, with an acceptance rate included in [0.45, 0.55] for each paraméter. To check the quality of the different runs, we used visual inspection of sampling, the Gelman-Rubin and the Geweke diagnostic tests using the R packages "MCMCpack" and "coda".

To numerically estimate the goodness-of-fit of our model to the prevalence data, we calculate the root mean square error (RMSE) using the R package "hydroGOF".

Estimation of the proportion of monoinfected high-risk MSM

To estimate the proportion of high-risk MSM, we assumed that the réinfection rate observed in MSM was representative of the first infection rate in this subgroup. On the other hand, we assumed that the first infection rate of low-risk MSM was equal to the first infection rate observed in other risk groups. We calculated the proportion of high-risk MSM p each year between 2012 and 2015 using the following equation and we used the mean proportion in our model ($p=0.18$):

$$p = \frac{\text{incidence}_{All\ MSM} - \text{incidence}_{Low-risk\ MSM}}{\text{incidence}_{High-risk\ MSM} - \text{incidence}_{Low-risk\ MSM}}$$

Estimation of the proportion of coinfecting high-risk MSM on January 1st, 2012

To estimate the proportion of coinfecting high-risk MSM on January 1st, 2012, we used yearly first infection and réinfection incidence rate data, SVR rates and treatment coverage rates from the DAT'AIDS cohort from January 1st, 2003 to January 1st, 2012. Using the same compartmental model for MSM only and a similar Poisson-based likelihood method using MSM coinfection prevalence data, we estimated a linear increase of the proportion of high-risk MSM entering the monoinfected status from 3% in 2003 to 18% in 2012 and we estimated a proportion of high-risk coinfecting MSM of 20% on January 1st, 2012.

Sensitivity Analyses: Impact of considering an external force of HCV infection among IVDU

We investigated the impact of considering a potential external source of HCV transmission for IVDU, *i.e.* from HIV-negative to HIV-positive IVDU, on our model projections over the next ten years. We derived our main model by adding a constant external force of infection (*i.e.* independent of HCV prevalence among HIV-positive IVDU) among IVDU.

To estimate this external force of infection, we considered several rates p (20%, 40%, 60%, 80% and 100%) of potentially observed external HCV cases among IVDU in the Dat'AIDs cohort. For each rate p of external HCV cases among IVDU, we re-estimated: (i) the number of new HCV cases per year resulting from HCV transmission within the HIV-positive IVDU (*i.e.* $(1 - p) \times N_{\text{total number of yearly observed HCV cases among IVDU}}$) and (ii) the number of new HCV cases per year resulting from HCV transmission between HIV-negative and HIV-positive IVDU (*i.e.* $p \times N_{\text{total number of yearly observed HCV cases among IVDU}}$).

We therefore could estimate the annual external HCV infection rate for each calendar year between 2012 and 2015 using the estimated raw number of "external HCV cases" as described above. In our model, we used the mean annual external HCV infection rate between 2012 and 2015 and the estimates are reported in Supplementary Tables 6 and 7 for each considered rate p of "external HCV cases".

Regarding the internal force of infection among IVDU (*i.e.* within the HIV-positive IVDU population) we calibrated again our model using the adjusted yearly observed incidence data (*i.e.* taking into account only the "internal HCV cases") and the prevalence data observed in the Dat'AIDs cohort from January 1st, 2012 to January 1st, 2016 using a similar Poisson-based likelihood and Bayesian framework as described above.

We also considered two distinct réinfection rates in this sensitivity analysis: the observed réinfection rate in the Dat'AIDs cohort (Table 1) and the mean first infection rate observed between 2012 and 2015 (*i.e.* 0.96% per year).

In this sensitivity analysis, we used the following system of ordinary differential equations for IVDUs (please see Table 2 for more details regarding the paramétér):

$$\frac{dX}{dt} = \theta - (\beta I(t) + \varepsilon)X(t) - \mu X(t)$$

$$\frac{dA}{dt} = (\beta I(t) + \varepsilon)X(t) - \gamma \psi A(t) + \delta S(t) - (1 - \gamma)\psi A(t) - \mu A(t)$$

$$\frac{dC}{dt} = (1 - \gamma)\psi A(t) - \tau C(t) + (1 - \alpha)\omega T(t) - \mu C(t)$$

$$\frac{dT}{dt} = -\alpha\omega T(t) - (1 - \alpha)\omega T(t) + \tau C(t) - \mu T(t)$$

$$\frac{dS}{dt} = \alpha\omega T(t) - \delta S(t) + \gamma \psi A(t) - \mu S(t)$$

where :

- ε is the external force of HCV infection among IVDUs, estimated for each rate p of "external HCV cases" (see Supplementary Tables 6 and 7).

A similar calibration process than the one described above was used to estimate the internal force of infection β using prevalence and adjusted incidence data from the Dat'AIDs cohort.

Supplementary Table 1. Extrapolated numbers of HIV-monoinfected patients by subgroups in France in the population under care on January 1st, 2016.

Sex	MSM	Hétérosexuel	IVDU	Others	Total
Female	0	29440	337	4045	33822
Male	LR*: 40173 HR*: 8819	22248	786	6292	78318
Total	48992	51688	1123	10337	112140

LR : low-risk ; HR : high-risk

** a proportion of 18% of high-risk MSM was estimated using the assumption that the mean réinfection incidence observed between 2012 and 2015 was representative of the first infection incidence among high-risk MSM, and that low-risk MSM had a similar first HCV infection incidence than the mean incidence observed in other risk groups.*

Supplementary Table 2. Extrapolated numbers of HIV-HCV coinfecting patients with détectable HCV-RNA by subgroups in France in the population under care on January 1st, 2016.

Gender	MSM	Hétérosexuel	IVDU	Others	Total
Female	0	921	1072	207	2200
Male	LR*: 580 HR*: 681	751	2598	406	5016
Total	1261	1672	3670	613	7216

LR : low-risk ; HR : high-risk

** A proportion of 54% of coinfecting HR MSM was estimated during the calibration process*

Supplementary Table 3. Extrapolated numbers of HIV-infected patients successfully treated for HCV or after spontaneous HCV clearance by subgroups in France in the population under care on January 1st, 2016.

Sex	MSM	Hétérosexuel	IVDU	Others	Total
Female	0	1381	1589	302	3272
Male	LR*: 1536 HR*: 791	1154	4460	1050	8991
Total	2327	2535	6049	1352	12263

LR: low-risk; HR: high-risk

** A proportion of 34% of successfully treated or with spontaneous HCV clearance in HR MSM was estimated during the calibration process.*

Supplementary Table 4. Estimated numbers* of HIV-HCV coinfecting patients by subgroup in France in the HIV undiagnosed population.

Sex	MSM	Hétérosexuel	IVDU	Others	Total
Female	0	193	4	20	217
Male	LR [†] : 172 HR [†] : 38	248	7	40	505
Total	210	441	11	60	722

LR: low-risk; HR: high-risk

**To estimate the number of coinfecting patients in the undiagnosed HIV population, we assumed that HCV prevalence in this population was similar to the observed HCV prevalence among patients that are yearly included in the DAT'AIDS cohort with a mean of 2.9% between 2012-2015. We therefore estimated the number of co-infected patients in each subgroup using the estimates of the overall HIV undiagnosed population divided into subgroups reported by Supervie et al. AIDS 2014.*

† A proportion of 18% of HR MSM was considered in this population as observed in the mono-infected HIV population

Supplementary Table 5. Number of first HCV infection observed each year in the DAT'AIDs cohort and extended to the diagnosed HIV population in France by risk group.

	MSM (low-risk/high-risk)	Hétérosexuel	IVDU	Others
2012				
Female	0	4	0	3
Male	7/137*	3	0	5
2013				
Female	0	8	0	10
Male	21/173*	6	0	15
2014				
Female	0	19	6	8
Male	44/195*	15	15	21
2015				
Female	0	15	5	7
Male	35/291*	11	14	10

**For high-risk MSM, we estimated the yearly incidence rate by combining the overall incidence rate among MSM, the incidence rate among low-risk MSM and the mean proportion of 18%. From 2012 to 2015, we estimated for high-risk MSM annual incidence rates of 1.84% (2012), 2.23% (2013), 2.40% (2014) and 3.42% (2015). For low-risk MSM, the observed mean incidence rates in all other subgroups were 0.02% (2012), 0.06% (2013), 0.12% (2014) and 0.09% (2015). To fit our model, we used the incidence data reported as raw numbers in this table.*

Supplementary Table 6. Estimated numbers of HIV-HCV coinfecting IVDU considering several proportions of external cases, observed réinfection rate in the Dat'AIDs cohort and an annual treatment coverage of 30% over the next ten years.

Proportion of external cases	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Annual external infection rate* (%)	0	0.19	0.39	0.60	0.79	0.96
2016	3670	3670	3670	3670	3670	3670
2021	870	872	873	875	876	876
2026	232	238	244	249	253	257

**The external infection rate was averaged using incidence data of the Dat'AIDs cohort between 2012 and 2015 and adjusted on the proportion of potentially observed external cases*

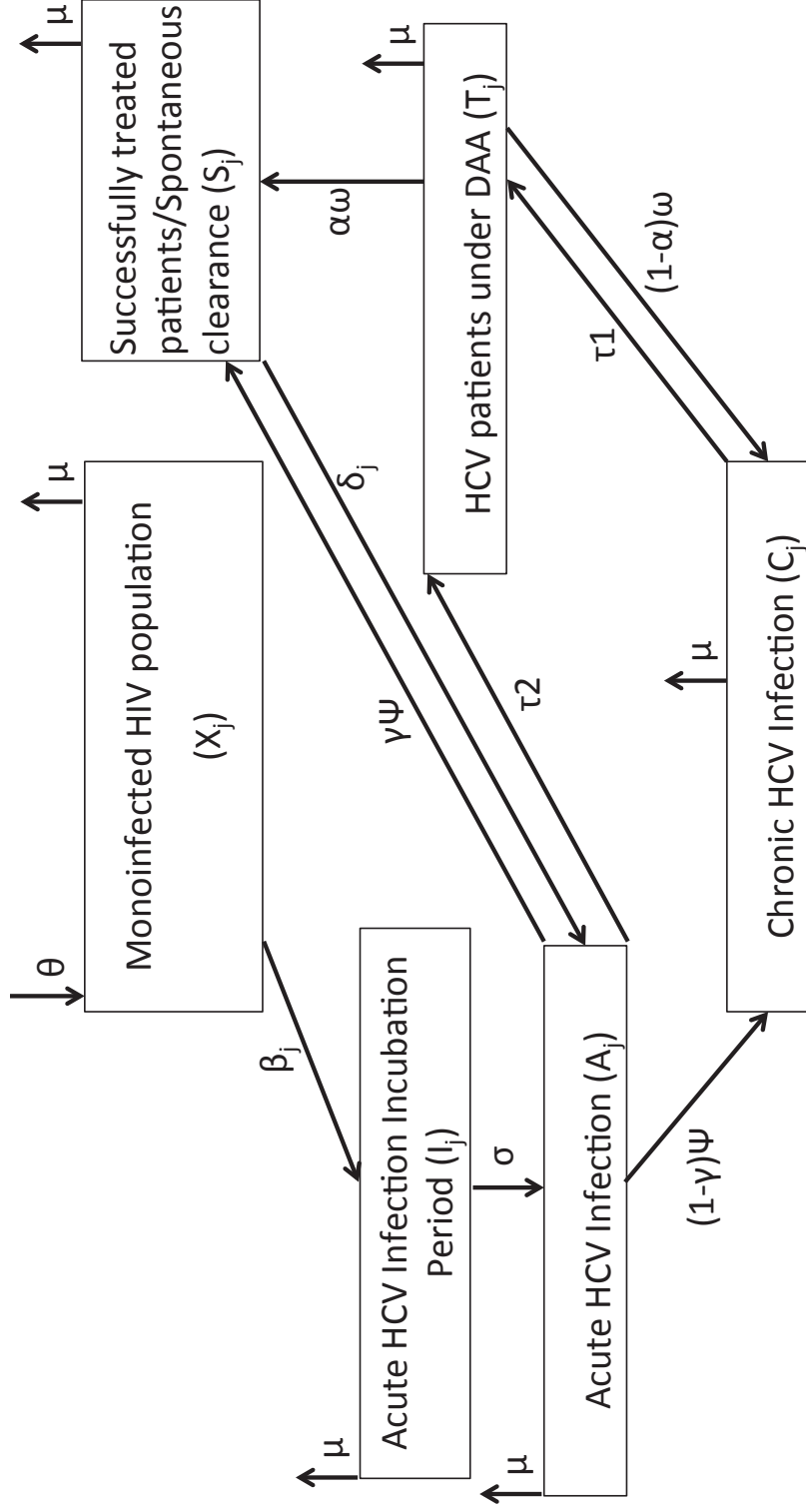
Supplementary Table 7. Estimated numbers of HIV-HCV coinfecting IVDU considering several proportions of external cases, réinfection rate based on mean first infection rate observed in the Dat'AIDs cohort and an annual treatment coverage of 30% over the next ten years.

Proportion of external cases	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Annual external infection rate* (%)	0	0.19	0.39	0.60	0.79	0.96
2016	3670	3670	3670	3670	3670	3670
2021	995	997	999	1000	1001	1001
2026	408	412	418	423	428	431

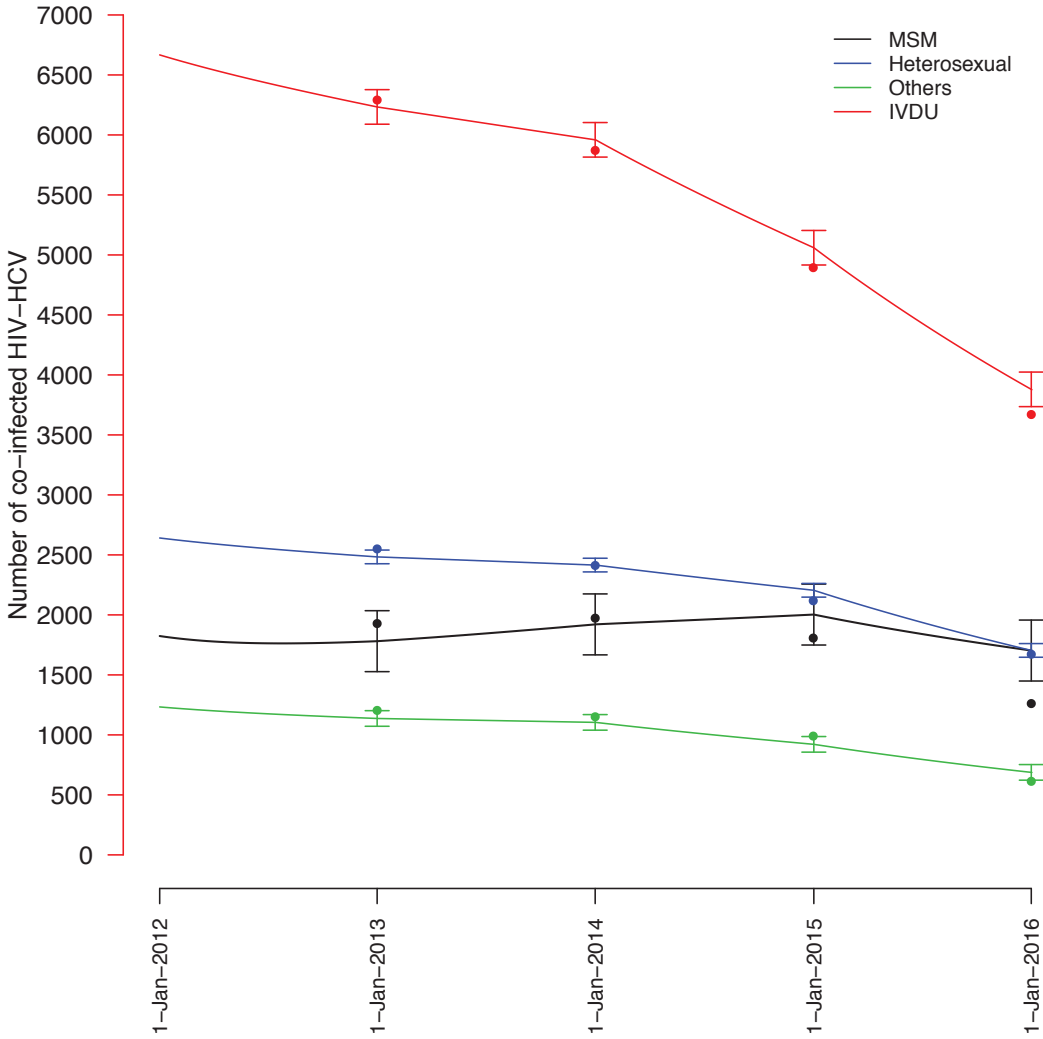
**The external infection rate was averaged using incidence data of the Dat'AIDs cohort between 2012 and 2015 and adjusted on the different proportions of potentially observed external cases. Réinfection rate was assumed here to be similar to the mean first infection rate observed in IVDU in the Dat'AIDs cohort between 2012 and 2015, i.e. 0.96% per year.*

Supplementary Figure 1. Schematic diagram of HCV transmission compartmental model considering potential HCV treatment during acute phase. New individuals enter the susceptible mono-infected categories (X) at a rate θ (170).

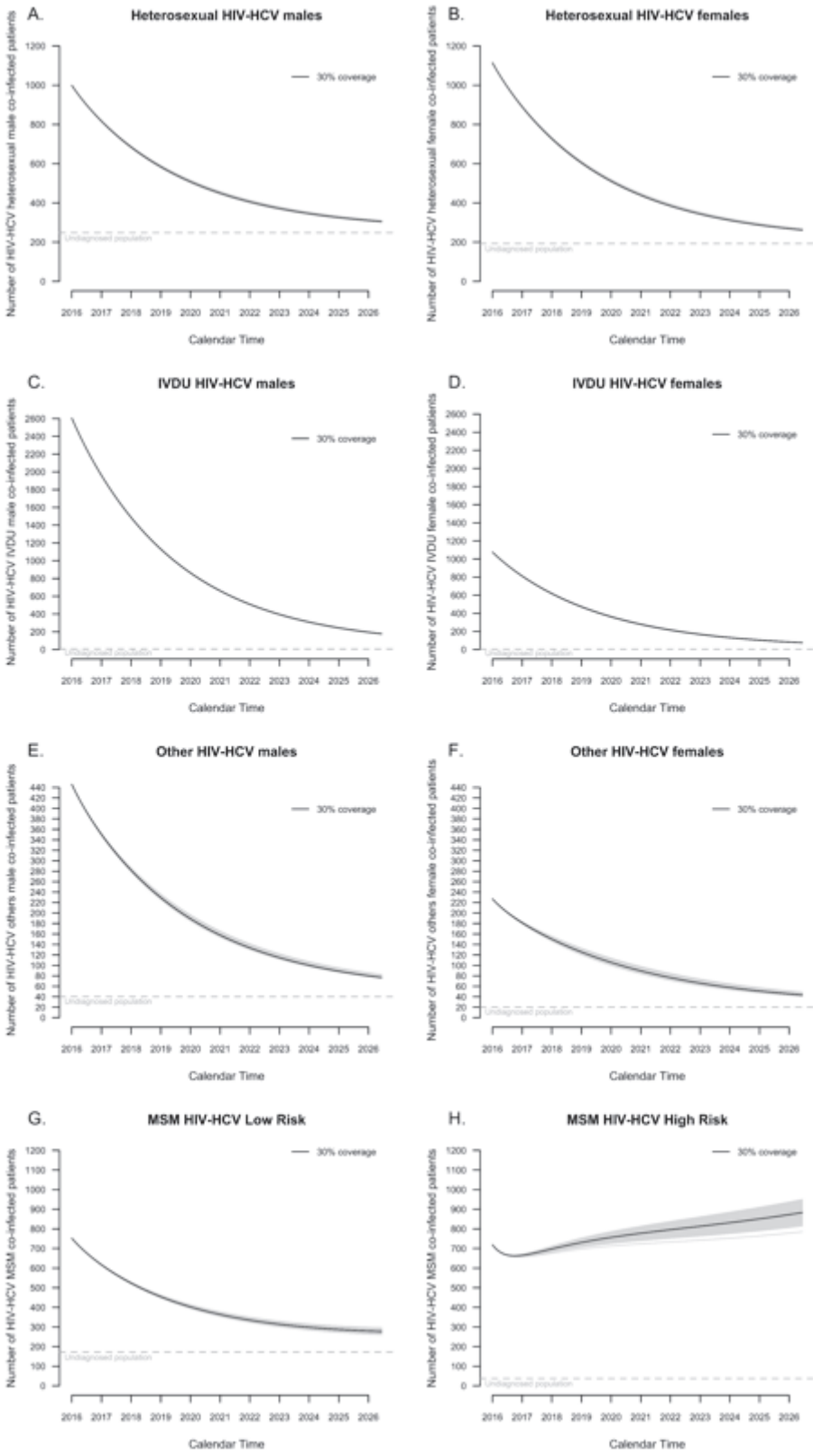
Susceptible individuals may be acutely infected (A) at an infection rate β_j (estimated during the calibration process for each subgroup) and the incubation period stage (I) will last an average $1/\sigma$. Individuals acutely infected may progress to HCV chronic infection (C) at a rate $(1-\gamma)$ or clear spontaneously their infection at a rate γ (S) or start HCV treatment at an annual rate τ_2 . Acute infection lasts an average $1/\mu$. For chronically infected individuals, they start an HCV treatment at an annual rate τ_1 . Treatment lasts an average $1/\omega$ and results in SVR12 for a proportion α of all treated patients. Successfully treated patients or patients with spontaneous clearance may be reinfected at a re-infection rate δ_j .



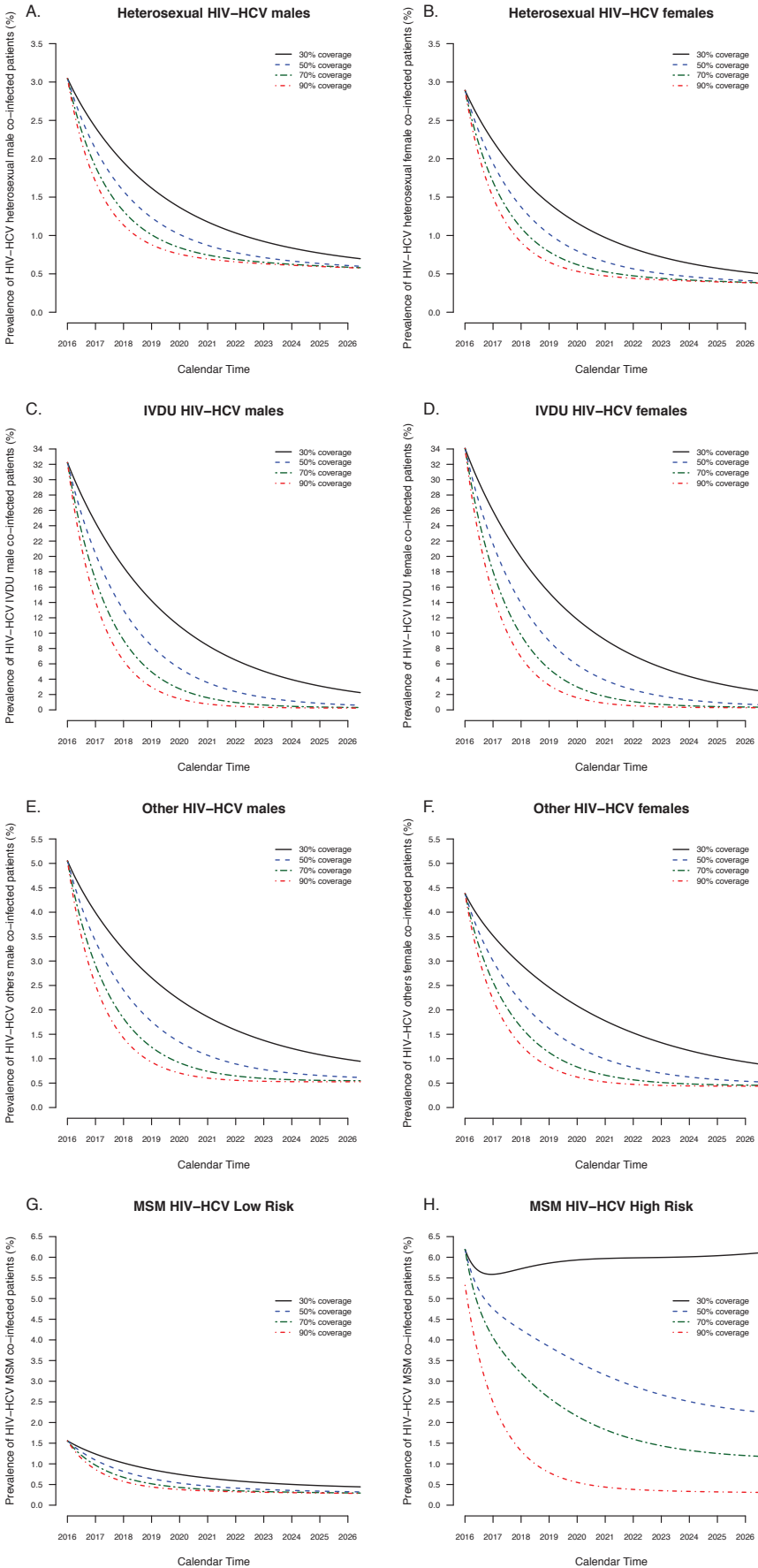
Supplementary Figure 2. Goodness of fit of the compartmental model to prevalence data between 2012 and 2016 in each risk group (hétérosexuels, IVDU, MSM and others). To estimate the goodness-of-fit of our model for the 4 different risk groups between 2012 and 2016, we calculated a root mean square error (RMSE) of 57 individuals for hétérosexuels, of 148 individuals for IVDU, of 254 individuals for MSM and of 65 individuals for others. Vertical lines indicate the RMSE for each risk group.



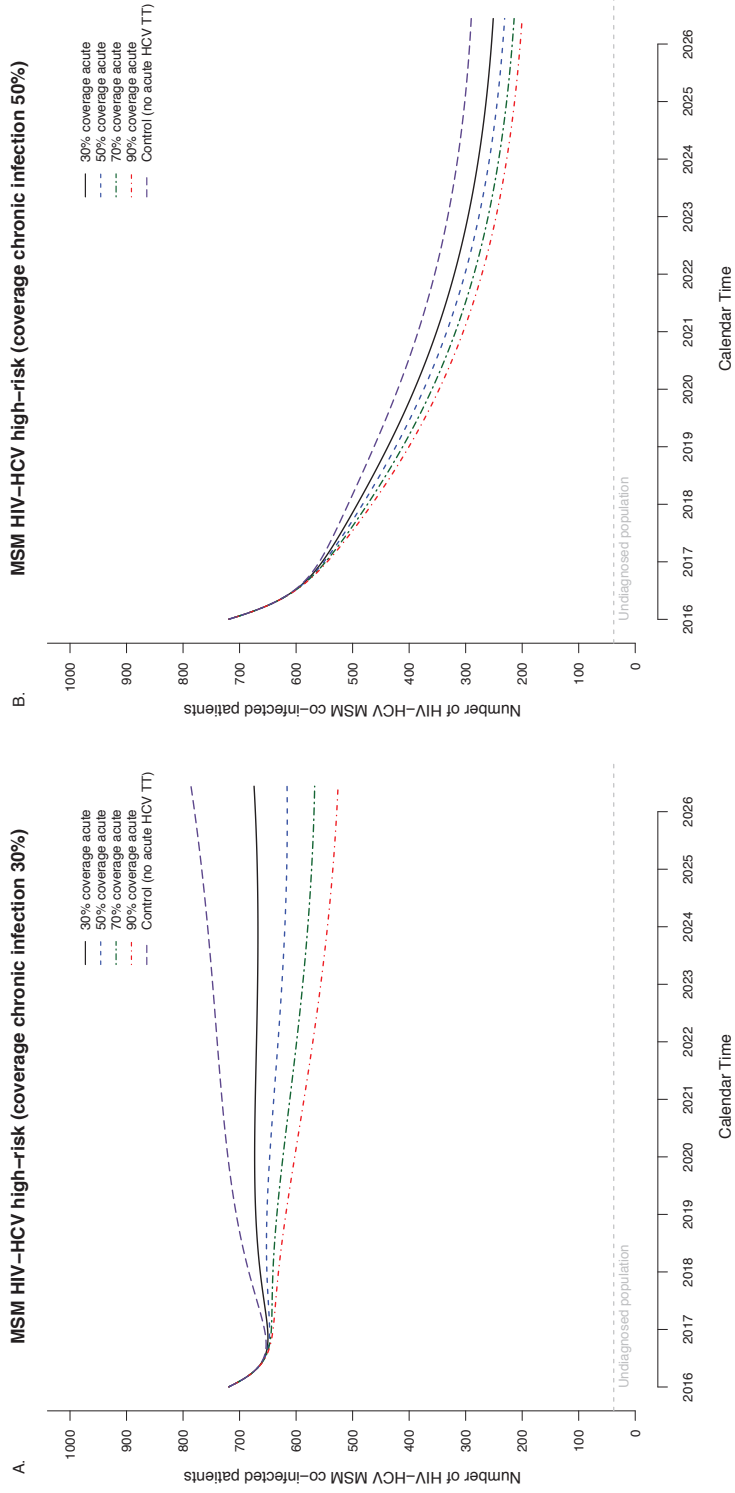
Supplementary Figure 3. Projected prevalence of HIV-HCV co-infection over the next 10 years within each risk group assuming an annual treatment coverage of 30%. Grey bands indicate 95% credibility intervals



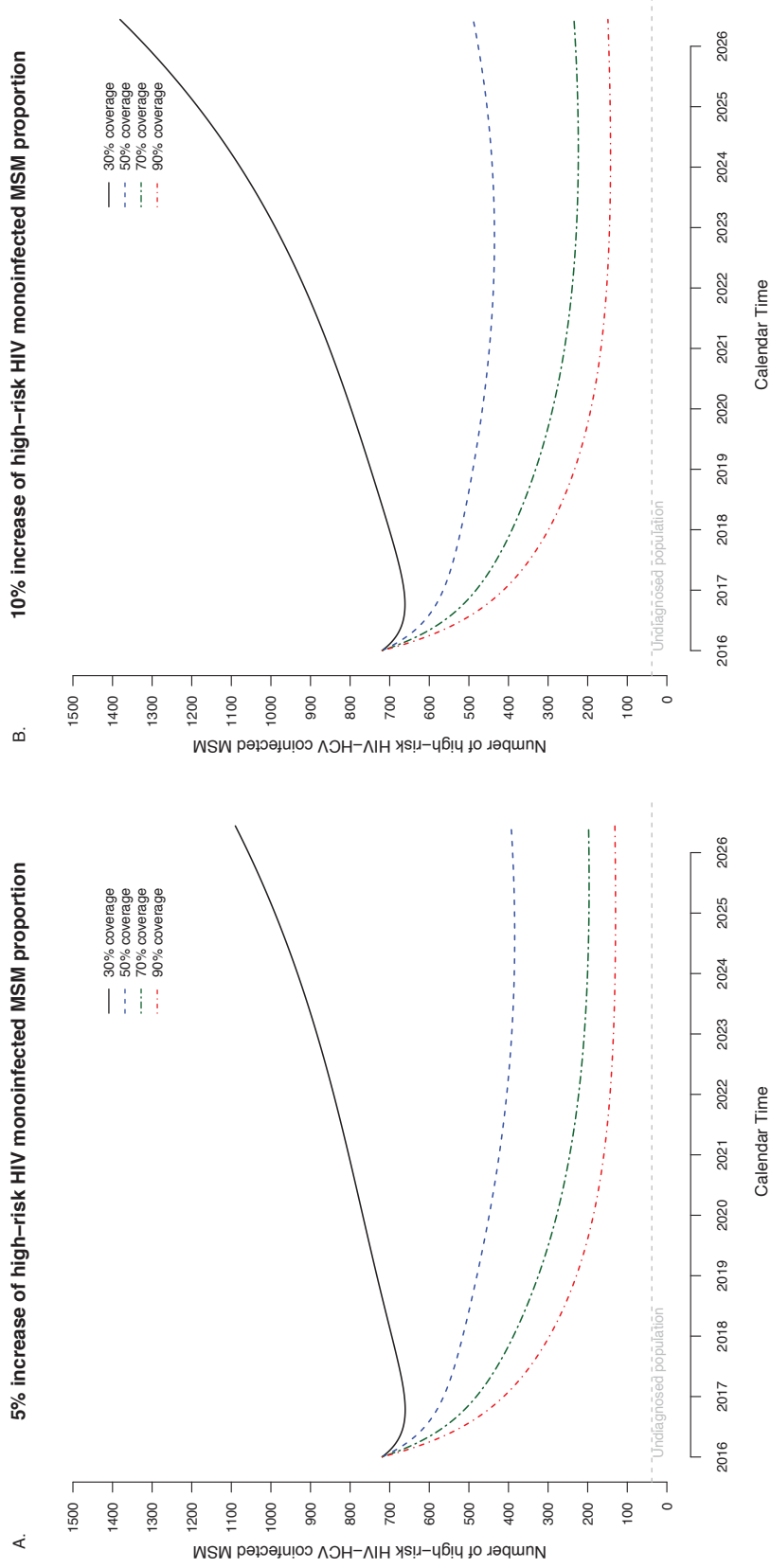
Supplementary Figure 4. Projected prevalence (rate) of HIV-HCV co-infections over the next 10 years within each risk groups.



Supplementary Figure 5. Projected prevalence of HIV-HCV co-infections over the next 10 years considering potential HCV treatment during acute phase among high risk MSM. Panel (A) shows HIV-HCV prevalence projections considering an annual treatment coverage of chronic HCV patients of 30% and different annual treatment coverage for acute HCV patients (30%, 50%, 70% and 90%). Panel (B) shows HIV-HCV prevalence projections considering an annual treatment coverage of chronic HCV patients of 50% and different annual treatment coverage for acute HCV patients (30%, 50%, 70% and 90%).

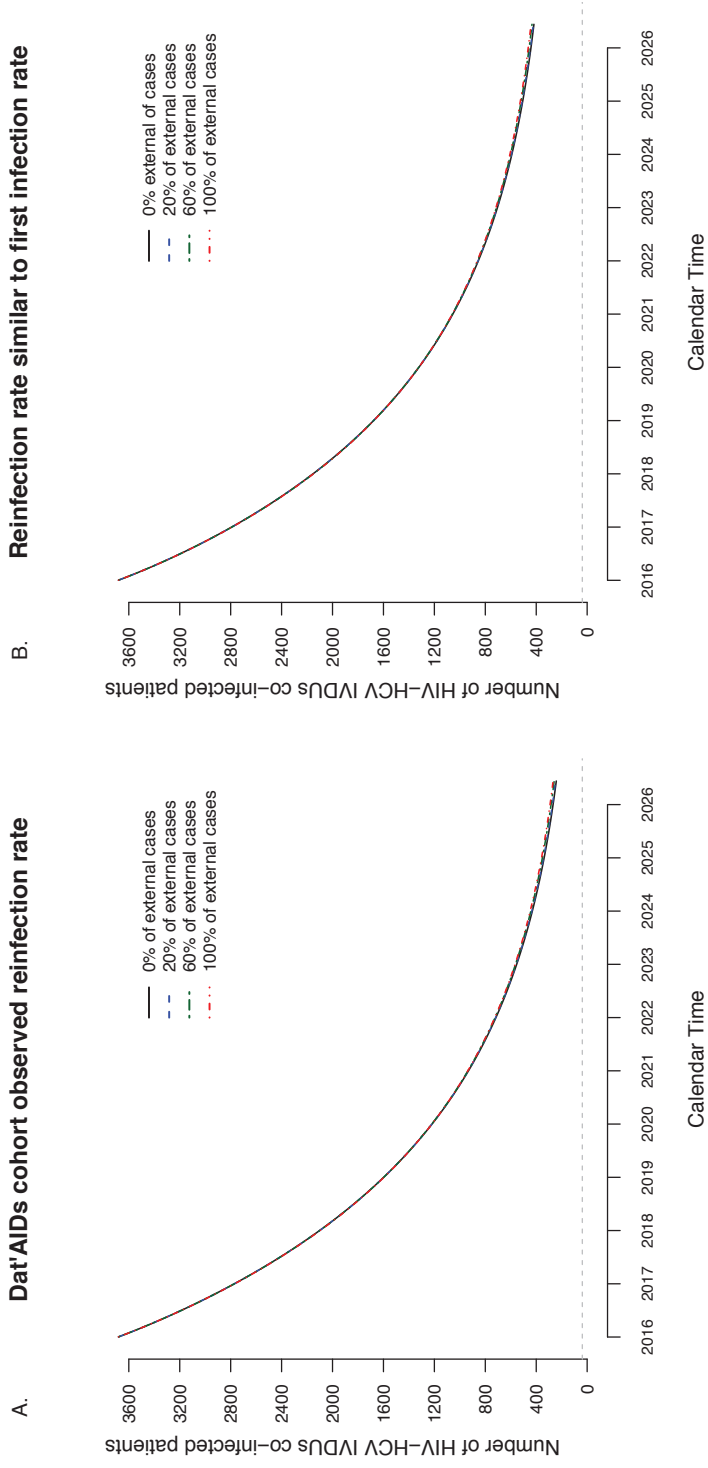


Supplementary Figure 6. Projected prevalence of HIV-HCV co-infections over the next 10 years considering a linear increase of the proportion of high risk HIV monoinfected. Panel (A) shows HIV-HCV prevalence projections considering different annual treatment coverage of chronic HCV patients of 30%, 50%, 70% and 90% and considering a 5% linear increase of the proportion of high risk HIV monoinfected over the next ten years. Panel (B) shows HIV-HCV prevalence projections considering different annual treatment coverage of chronic HCV patients of 30%, 50%, 70% and 90% and considering a 10% linear increase of the proportion of high risk HIV monoinfected over the next ten years.



Supplementary Figure 7. Projected prevalence of HIV-HCV co-infections over the next 10 years in IVDU considering a potential risk of HCV transmission between HIV-negative and HIV-positive individuals.

Panel (A) shows HIV-HCV prevalence projections considering: different proportion of external cases: 0%, 20%, 60% and 100% and the mean reinfection rate observed in the Dat'AIDs cohort between 2012 and 2015. Panel (B) shows HIV-HCV prevalence projections considering different proportion of external cases: 0%, 20%, 60% and 100% and the assumption that the reinfection rate is similar to the mean first infection rate observed in the Dat'AIDs cohort between 2012 and 2015.



7 Discussion

Les traitements de l'hépatite C qui pendant plus de quinze ans ont stagné autour de la bithérapie PEG-IFN/RBV ont connu une révolution récente et exemplaire étalée en plusieurs vagues. La première vague est arrivée en 2011 avec la mise sur le marché des premiers AAD, les inhibiteurs de la protéase NS3/4A (le télaprévir et le bocéprévir), suivis rapidement de la deuxième vague amenant cette fois-ci les anti-NS5A et les inhibiteurs de la polymérase NS5B ainsi que des inhibiteurs de protéase de 2^{ème} génération. Enfin, une troisième vague est récemment arrivée avec des AAD cette fois-ci dits pangénotypiques permettant de traiter l'ensemble de la population VHC.

Les inhibiteurs de la protéase NS3/4A, arrivés en 2011 et recommandés uniquement pour le génotype 1, ont été accueillis à bras ouverts, les taux annoncés de RVS dans les études de phase III étant de 60-70% alors que ceux-ci étaient généralement inférieurs à 50% avec la bithérapie PEG-IFN/RBV notamment chez les malades avec une maladie hépatique avancée. (126–129,134) Toutefois, en terme d'efficacité antivirale, ces molécules dépendaient encore fortement de nombreux facteurs de l'hôte avec entre autre l'origine ethnique, le stade de fibrose et le génotype IL-28B. (132) L'émergence de ces nouveaux traitements a été une étape cruciale pour ouvrir la nouvelle voie dans laquelle nous sommes actuellement, bien que leurs passages aient soulevé plusieurs limites: (i) ces traitements comportaient en effet un très mauvais profil pharmacocinétique, nécessitant 3 doses par jour et ce pendant une longue période allant d'un minimum de 12 semaines pour le télaprévir à 48 semaines pour le bocéprévir; (ii) de nombreuses interactions médicamenteuses existaient du fait de leur métabolisation dans le foie par la voie du cytochrome P450 3A limitant ainsi leur usage ou entraînant des effets indésirables non attendus (171); (iii) ces traitements étaient uniquement limités au génotype 1 et comportaient de nombreux effets indésirables encore plus prononcés que pendant la bithérapie PEG-IFN/RBV dont le prurit, la dysgueusie et l'anémie (126–129,134).

Leur développement a été conduit dans l'optique de couvrir les populations occidentales, où le génotype 1 est prédominant. Lors de leur arrivée en France, l'AFEF recommandait de les utiliser en priorité pour les malades les plus urgents à traiter, c'est-à-dire les cirrhotiques puis les patients avec un stade de fibrose moins avancé. (172) En effet, les études de phase III ont rapporté des taux de RVS encourageants dans la population de patients cirrhotiques: ceux-ci allaient pour la trithérapie bocéprévir de 52% pour les patients naïfs et de 50% à 83% pour les patients "expérimentés" (c'est-à-dire en fonction de leur réponse à la bithérapie) et pour le télaprévir de 62% pour les patients naïfs et de 26% à 85% pour les patients expérimentés. (126–129,134) Ces résultats aussi positifs n'ont malheureusement pas été retrouvés dans notre étude locale réalisée en conditions dites "de la vraie vie", les taux de RVS observés étant plus bas (47% pour le bocéprévir et 55% pour le télaprévir) sachant

que plus de 60% des patients étaient cirrhotiques et 78% expérimentés pour la bithérapie. Des taux plus bas que ceux annoncés dans les études de phase III ont également été rapportés lors des analyses de la cohorte ANRS CUPIC comprenant uniquement des patients cirrhotiques. Les taux de RVS variaient de 19% à 74% pour le télaprévir et de 0% à 54% pour le bocéprévir. (159) Ces discordances entre les résultats des études de phase III et les études de la "vraie vie" soulignent une nouvelle fois l'importance d'explorer l'efficacité de nouveaux traitements en conditions réelles et dans des populations de patients souvent différentes de celles impliquées dans les essais cliniques.

Cette remarque est également valable pour la tolérance et les effets indésirables. En effet, aucune mention de variation du DFG pendant le traitement n'a été rapportée lors des essais de phase III. Notre étude de cohorte qui visait à explorer au sens large l'efficacité virale et la tolérance des trithérapies a permis pour la première fois à ce moment-là d'objectiver cet effet indésirable du traitement sur la fonction rénale. D'autres équipes ont peu de temps après rapporté des résultats similaires aux nôtres. (160,162,173,174) Cet effet indésirable a été également exploré *in vitro* dans des cellules HEK-293 pour le télaprévir et le mécanisme physiopathologique suggéré a été celui d'une potentielle inhibition du transporteur de cation organique 2 et du transporteur MATE (multidrug and toxin extrusion) par les inhibiteurs de la protéase NS3/4A. (175)

Lors des essais de phase III, l'anémie était également observée plus fréquemment chez les patients traités par trithérapie et l'intensité de celle-ci était plus élevée en comparaison avec les patients traités par bithérapie (trithérapie bocéprévir vs PEG-IFN/RBV: 50% vs 31% et trithérapie télaprévir vs PEG-IFN/RBV: 37% vs 19%). (126–129,134) L'anémie était également plus fréquemment observée chez les patients cirrhotiques. De plus, dans les différents essais le taux d'utilisation d'EPO atteignait plus de 40% chez les patients anémiés, compliquant ainsi la prise en charge étant donné la longueur de ces traitements. Toutefois, peu de patients ont eu un arrêt prématuré de leur traitement en raison de leur anémie. La différence observée entre les deux inhibiteurs de protéase en termes de fréquence d'anémie rapportée dans les essais de phase III est probablement liée au schéma thérapeutique différent avec une administration prolongée du bocéprévir comparé au télaprévir administré que sur les 12 premières semaines.

Ces taux anormalement élevés d'anémie ont aussi été observés dans notre étude et dans celle réalisée dans la cohorte CUPIC. (159) Le clinicien se retrouvait donc face à un dilemme: fallait-il réduire les doses de RBV ou bien administrer de l'EPO/transfuser les patients ? Des analyses rétrospectives des études de phase III ont permis par la suite de montrer que ni une diminution de dose de la RBV ni l'utilisation d'EPO n'avaient un impact sur le taux de RVS. (135) Dans le cadre de la bithérapie PEG-IFN/RBV, il avait été montré que la diminution de la dose de RBV ne jouait plus lorsque l'ARN du VHC était indétectable. (176) De ce fait, il a été recommandé par prudence d'utiliser lors de la trithérapie de l'EPO en cas d'anémie afin de pouvoir maintenir la dose de RBV initiale et ce jusqu'à négativation

de la charge virale. Une fois la charge virale VHC indétectable, l'EPO pouvait être arrêtée et les doses de RBV diminuées. (177)

Concernant le probable mécanisme derrière cette augmentation de la fréquence d'anémie, plusieurs auteurs ont suggéré une synergie entre l'anémie induite et bien documentée liée à la RBV, un effet toxique sur la moelle osseuse de l'interféron pégylé et un effet potentialisateur de l'inhibiteur de protéase sans hypothèse mécanistique précise évoquée. (164,178,179) Cette absence de lien évident nous a donc poussés à réaliser une étude rétrospective basée sur les dosages pharmacologiques de la ribavirine grâce à des méthodes déjà bien mises au point lors des traitements par bithérapie. (148) Cette étude, présentée dans le chapitre 5, nous a permis d'établir un lien probable entre la prise d'inhibiteur de protéase, la diminution de la fonction rénale et l'augmentation de la fréquence d'anémie, celle-ci étant probablement liée à une augmentation induite de la biodisponibilité de la RBV. L'anémie induite par la trithérapie serait donc potentiellement liée à une toxicité centrale exercée par l'interféron-pégylé et à une toxicité périphérique exacerbée par l'inhibiteur de protéase *via* une diminution de la fonction rénale. Il est également important de préciser que notre étude rétrospective a été réalisée dans un échantillon très restreint de patients, le niveau de preuve restant par conséquent limité. De plus, cet effet sur les concentrations de ribavirine n'a pas été plus exploré en détail dans la littérature étant donné le "timing" très restreint des inhibiteurs de protéase dans la révolution médicamenteuse des traitements du VHC.

En effet, les nouvelles thérapies par AAD étaient alors annoncées pour la fin 2013 en France. En attendant leur arrivée, il a été nécessaire d'optimiser au mieux les traitements par trithérapie pour les malades les plus difficiles à traiter, notamment les patients cirrhotiques. C'est donc pour répondre à cette problématique que nous avons analysé les données de cinétique de la décroissance virale lors des traitements par trithérapie dans la cohorte CUPIC. L'impact notamment de la décroissance virale à S2 et S6 de trithérapie par télaprévir et bocéprévir respectivement nous a paru être un moment intéressant à analyser pour "prédire" la suite du traitement. En effet, si la probabilité d'obtenir une RVS était très "faible" en fonction de la décroissance virale obtenue lors de la phase initiale de traitement, l'arrêt du traitement était donc recommandé afin d'éviter des potentiels effets indésirables inutiles et associés à une probabilité de RVS trop faible. Le deuxième objectif de cette analyse précoce de la charge virale a été de montrer que l'on pouvait ainsi détecter des patients échappeurs "précoces" c'est-à-dire échappant lors des premières semaines de traitement et pour qui l'analyse isolée de la charge virale à S4 ou S6 n'aurait pas permis d'observer cet échappement. En effet, dans l'attente de nouvelles molécules, il était préférable de diminuer au maximum le risque d'émergence de variants résistants qui auraient pu entraîner une diminution de la sensibilité aux futures molécules alors annoncées. (180) Cette étude nous a permis d'obtenir des résultats pour optimiser la "fin de vie" des

inhibiteurs de protéase de 1^{ère} génération, ces derniers ayant été très vite surpassés par les AAD de 2^{ème} génération arrivés fin 2013 en France.

La deuxième vague de la révolution thérapeutique du VHC a été marquée par le sofosbuvir, symbolisant le candidat idéal après de très longues années d'exploration et d'échecs. Cette molécule inhibitrice de la polymérase NS5B, pangénotypique, avec une haute barrière de résistance, sans effet indésirable, administrée pour une durée courte à un rythme idéal (une fois par jour) et permettant une diminution rapide de la charge virale a été annoncée avec des taux de RVS allant de 82 à 100% lorsqu'elle était associée à la bithérapie PEG-IFN/RBV. (181) Cette molécule a été accompagnée quelques mois plus tard par l'arrivée des anti-NS5A (lédipasvir et daclatasvir) et d'un inhibiteur de la protéase NS3/4A de deuxième génération (siméprévir). Ces deux classes de molécules étaient alors associées avec le sofosbuvir ± RBV. Une quadrithérapie composée de ombitasvir/paritaprévir/ritonavir/dasabuvir a également vu le jour. Toutes ces combinaisons thérapeutiques permettaient d'atteindre des taux de RVS supérieurs à 90%. (182–185)

Fort de nos expériences vécues lors de la trithérapie, l'arrivée des nouveaux AAD sur le marché français nous a poussés à réaliser une étude évaluant l'efficacité virologique et l'impact des dosages pharmacologiques sur la réponse au traitement. Ces traitements ont été dans un premier temps réservés uniquement aux malades les plus sévères, souvent en double échec de bithérapie puis trithérapie. (186) De ce fait, l'optimisation de ces nouveaux traitements nous a paru être indispensable d'autant plus en considérant les effets post-hoc observés pour la trithérapie lors des études de la vraie vie. Notre étude a confirmé les taux de RVS très élevés annoncés en phase III et ce même chez les patients les plus difficiles à traiter diminuant ainsi l'intérêt des dosages pharmacologiques pour optimiser l'efficacité de ces traitements.

Le génotype 3 a été le génotype difficile à traiter lors de l'arrivée de ces nouveaux AAD, avec des taux de RVS plus faibles que pour les autres génotypes, sachant que l'infection par celui-ci est associée à une maladie hépatique évoluant plus rapidement vers la cirrhose, avec un risque plus élevé de stéatose, et de carcinome hépatocellulaire. (98,187) Notre étude n'a malheureusement pas pu explorer plus précisément l'impact des dosages chez les patients infectés par ce génotype, l'effectif de patients étant trop restreint dans ce sous-groupe. Dans les suites, l'optimisation des traitements pour ce génotype a permis de réduire les écarts en termes de taux de RVS observés avec les autres génotypes. Une méta-analyse publiée en 2016 a conclu que la meilleure option thérapeutique disponible à ce moment-là était l'association sofosbuvir+daclatasvir. (188)

Cette deuxième vague de traitements a été récemment remplacée par une troisième vague comprenant des molécules dites pangénotypiques avec une barrière de résistance élevée. Ces nouvelles molécules ont été conçues dans l'objectif de pouvoir traiter tous les malades et notamment ceux avec un profil jusqu'alors "difficile" à traiter: les cirrhotiques, les patients infectés par le génotype

3 et ceux en échec des premières lignes d'AAD de la deuxième vague. Les différents schémas thérapeutiques grâce à ces nouvelles molécules ont été simplifiés et celles-ci permettent dans la plupart des cas de s'affranchir d'une réunion de concertation pluridisciplinaire pour l'accès au traitement. (153,189–192)

L'AMM pour ces nouvelles molécules a été accordée en France en 2017, alors que l'application du traitement universel commençait à rentrer en vigueur un an après l'annonce de la ministre de la Santé. Ces nouveaux traitements pangénotypiques comprennent: le glécaprévir (inhibiteur de la protéase NS3/4A) associé au pibrentasvir (anti-NS5A), le velpatasvir (anti-NS5A) associé au sofosbuvir ± RBV et l'elbasvir (anti-NS5A) associé au grazoprévir (inhibiteur de la protéase NS3/4A). Ces traitements présentent des taux de RVS tout aussi élevés que ceux de la 2^{ème} vague (>95%) mais sont efficaces pour toutes les populations de patients. (153,189–192)

Dans les dernières recommandations publiées par l'AFEF concernant le traitement de l'hépatite C, les stratégies thérapeutiques se sont grandement simplifiées grâce à l'arrivée de ces nouvelles molécules sur le marché. (9) Deux stratégies sont donc maintenant disponibles: le parcours simplifié et le parcours spécialisé. Le parcours simplifié répond à l'objectif de santé publique que s'est imposée l'AFEF qui serait d'éradiquer le VHC avant 2025 en France sachant que 75 000 individus chroniquement infectés seraient encore non diagnostiqués. (193) Le parcours simplifié suggère 2 lignes de traitement et ce quel que soit le génotype du VHC et le stade de fibrose: sofosbuvir+velpatasvir pendant 12 semaines et le glécaprévir+pibrentasvir pendant 8 semaines, sachant que ces deux associations ont permis dans les essais de phase 3 d'obtenir des taux de RVS >96%. Le suivi médical pendant toute la durée du traitement n'est plus recommandé et un suivi paramédical concernant la tolérance, l'observance et de potentielles interactions médicamenteuses est suggéré.

Le parcours spécialisé existe toujours dans les nouvelles recommandations et reste très similaire aux recommandations qui étaient effectuées jusqu'à maintenant. Ce parcours propose des schémas thérapeutiques comprenant à la fois des combinaisons pangénotypiques mais également "génotype spécifique", bien que les premières combinaisons soient maintenant plus plébiscitées que les deuxièmes pour une question de simplicité.

A l'heure actuelle, la seule population de patients pour laquelle aucune option thérapeutique n'est proposée est la population en échec d'un traitement ayant compris un AAD anti-NS5A de 2^{ème} génération (c'est-à-dire elbasvir, pibrentasvir et velpatasvir). Les résultats d'une étude en cours (MAGELLAN-3) évaluant le retraitement de 23 patients en échec et présentant des mutations de résistance par sofosbuvir+glécaprévir+pibrentasvir+RBV pendant 12 semaines (N=2 patients) ou 16 semaines (N=21 patients) avec une recherche au préalable de mutations (NS5A et NS3/4A) ont récemment été communiqués. (194) Tous les patients inclus dans l'étude présentaient des mutations de résistance de la protéine NS5-A associant ou non des mutations de résistances dans la protéase

NS3/4A. Concernant l'efficacité virologique, les 2 patients traités pendant 12 semaines ont atteint une RVS tandis que 20/21 (95%) des patients traités pendant 16 semaines ont obtenu une RVS. A noter que tous les patients traités de génotype 3 ont atteint une RVS. Une deuxième étude (POLARIS-1) a également évalué l'efficacité virologique d'un retraitement par sofosbuvir+velpatasvir+voxilaprevir chez les patients en échec d'une première ligne de traitement comprenant un AAD anti-NS5A et le taux de RVS observé chez les 147 patients inclus était de 97%. (195) Ces deux combinaisons sont donc prometteuses chez les patients en échec d'une première ligne comprenant un AAD anti-NS5A. La recherche concernant les molécules antivirales anti-VHC est maintenant en train de s'essouffler étant donné l'arsenal thérapeutique disponible permettant l'élimination virale quasiment dans toutes les situations.

Un des grands débats actuels autour du traitement de l'hépatite C est celui du risque de récurrence du CHC qui pourrait être accru suite à un traitement par AAD. Ce débat est né à partir d'un "signal d'alarme" lancé au congrès international des maladies du foie organisé par l'EASL en 2016 où deux études de cohortes rétrospectives ont rapporté des taux de récurrence accrus de CHC parmi des patients traités par AAD. (105,106) L'étude de Conti et al. a décrit de façon rétrospective le taux de récurrence brut de CHC chez 59 patients cirrhotiques infectés par le VHC et traités par AAD puis suivis pendant 24 mois après la fin du traitement antiviral. (106) Le taux de RVS après traitement par AAD était de 90% et le taux de récurrence brut de CHC était de 29% sur la période de suivi (N=17/59). Le délai médian entre le traitement du précédent CHC mis en rémission complète et le début du traitement par AAD était de 376 jours (min-max: 45 - 2,706 jours) et 80% des patients ont reçu un traitement curatif pour ce précédent CHC. Dans l'analyse en régression logistique multivariée explorant les facteurs associés à la récurrence du CHC, un âge moins élevé et un score de fibrose avancé étaient significativement associés à une récurrence. Malgré l'absence d'un groupe contrôle, les auteurs de l'étude ont donc suggéré qu'il existait potentiellement un risque accru de récurrence du CHC chez les patients traités par AAD.

La deuxième étude plus plébiscitée à l'échelle internationale et réalisée par Reig et al. au BCLC de Barcelone rapportait un taux également alarmant de récurrence du CHC. (105) Le schéma d'étude était similaire à celui de l'étude de Conti et al. avec un design rétrospectif et sans groupe contrôle. Les auteurs ont rapporté un taux brut de récurrence de 28% chez 58 patients suivis pendant un délai médian de 5,7 mois, le J0 du suivi étant le début du traitement par AAD. Le taux de RVS était de 98% au moment de l'analyse et 90% des patients ont reçu un traitement curatif pour leur CHC.

Ces résultats, émergeant d'un centre de référence en termes de traitement pour le CHC, ont suscité de nombreuses réactions à l'échelle internationale étant donné le large déploiement des AAD à ce moment-là. Les premières critiques émises concernant ces études ont été: le délai de suivi extrêmement court (environ 6 mois), l'absence de groupe contrôle pour comparer le taux brut, le

design rétrospectif, la méthodologie statistique utilisant seulement un taux brut de récurrence et la taille d'échantillon restreinte.

En réponse à cette étude, Camma et al. ont détaillé dans une lettre à l'éditeur les faiblesses méthodologiques de l'étude espagnole. (196) Ils ont remis en question la grande hétérogénéité des patients considérés (un ou plusieurs nodules de CHC), la variabilité des modalités de traitement du CHC (résection, ablation, chimio-embolisation) et du délai entre le traitement du CHC et le début du traitement AAD (médiane: 11,2 mois; min-max: 1,2 - 87,7 mois). Les auteurs ont même refait une analyse du taux de récurrence en employant une méthode plus robuste (analyse de survie) et en employant un J0 d'analyse semblant plus pertinent (traitement du CHC plutôt que le J0 du traitement par AAD). Ils ont estimé un taux de récurrence plus faible que celui rapporté: 7% à 6 mois et 13% à 12 mois. De plus, dans leurs analyses de contrôle-qualité, le délai entre le traitement du CHC et l'imagerie de contrôle de la rémission semblait impacter fortement le taux de récurrence celui-ci étant plus élevé lorsque le délai était plus court (<6 mois).

Face à cette polémique et aux faiblesses méthodologiques des deux études, nous avons conduit une étude pour évaluer ce risque à notre échelle en nous concentrant plus particulièrement sur la méthodologie. Les aspects fondamentaux suivants ont été pris en compte dans notre analyse: une sélection rigoureuse des patients (les patients ayant plusieurs antécédents de CHC et traités consécutivement par AAD étaient exclus de l'analyse), la présence d'un groupe contrôle de patients non traités par AAD, le J0 de l'analyse comme étant la date de rémission du CHC *via* un examen d'imagerie de contrôle, une analyse statistique par un modèle de survie univarié et multivarié afin d'explorer les potentiels facteurs confondants et enfin pour diminuer le risque de biais entre les deux groupes, l'utilisation d'un score de propension.

Malgré ces aspects méthodologiques, notre étude a souffert de son design rétrospectif, les biais de sélection ne pouvant être totalement contrôlés par le score de propension. De plus, les effectifs de patients étaient faibles dans les deux groupes étant donné la sélection rigoureuse, et l'absence de données d'anatomopathologie précises concernant la récurrence du CHC ne nous a pas permis d'explorer les caractéristiques topographiques et morphologiques de la récurrence.

Pour répondre également rapidement à la question posée à ce moment-là, une étude française conduite par Pol et al. dans les grandes cohortes ANRS HEPATHER, CIRVIR et CUPILT a été réalisée. (197) Dans la cohorte HEPATHER, 267 patients mis en rémission complète pour leur CHC au moins un an avant l'inclusion dans la cohorte ont été analysés avec parmi eux 189 traités par AAD et 78 non traités. Le taux de récurrence était de 0,73/100 et 0,66/100 personne-mois respectivement sans différence significative entre les deux groupes ($p=0,876$). Le J0 considéré dans cette analyse était le jour de l'inclusion dans la cohorte HEPATHER. Le délai médian entre l'inclusion dans la cohorte et le début du traitement par AAD était de 1,4 mois et la durée de suivi totale était de 20,2 mois après le

traitement par AAD et de 26,1 mois pour les patients non traités. Il n'existait aucune différence entre les 2 groupes de patients concernant le délai entre la rémission du CHC et le début du suivi. Les seules caractéristiques à l'inclusion qui étaient significativement différentes entre les deux groupes étaient l'âge plus faible pour les patients traités par AAD, une cirrhose plus fréquente et un antécédent de traitement par PEG-IFN/RBV plus fréquent également. L'analyse de survie multivariée par un modèle de Cox ne retrouvait aucune association significative entre la récurrence et le traitement par AAD. Aucune différence n'a été observée lorsque les auteurs ont comparé le taux de récurrence du CHC pendant le traitement par AAD et le taux de récurrence après la fin du traitement.

Des résultats similaires ont été également rapportés dans ce papier concernant les cohortes CIRVIR (79 patients cirrhotiques) et CUPILT (314 patients receveurs de greffon hépatique et traités consécutivement par AAD). Pour comparaison avec l'étude ANRS réalisée dans la cohorte CIRVIR, le taux de récurrence de CHC dans le groupe de patients non-exposés aux AAD dans notre étude locale était 2,5 fois plus élevé (4,2% PM) que celui observé dans la cohorte CIRVIR chez les patients non exposés (1,7% PM), suggérant que les patients non-exposés aux AAD inclus dans notre étude avaient une maladie hépatique probablement plus « avancée ».

Des critiques ont été aussi émises concernant cette étude française. (198) Les patients inclus dans la cohorte avec un historique de CHC avaient pour 66% d'entre eux un CHC mis en rémission complète plus de 1 an avant l'inclusion et pour 35% d'entre eux plus de 3 ans auparavant. Ce délai long aurait empêché d'analyser la fenêtre précoce qui était une des remarques de l'équipe espagnole et pourrait avoir entraîné une sous-estimation du risque de récurrence dans l'analyse. De plus, un biais potentiel de sélection concernant les patients ayant eu une récurrence conduisant au décès et donc non inclus dans la cohorte aurait pu avoir lieu. L'analyse de survie employée dans l'étude ne compare pas exactement les deux groupes de patients, mais les patients traités vs les patients non traités et ceux traités mais censurés juste avant leur traitement par AAD, une méthodologie ayant pu là encore entraîner des biais.

Depuis ces premières études, de nombreuses études de cohorte ont été réalisées pour analyser cette question et sont répertoriées dans le Tableau 6. Parmi les 13 études publiées sous forme d'article et disponibles au 1^{er} Avril 2018, 4 ont conclu qu'il existait un probable risque accru de récurrence du CHC après traitement par AAD (105,106,199,200) tandis que les 9 autres ne retrouvaient pas de risque accru, le taux de récurrence étant ou non comparé à un groupe contrôle selon le design de l'étude. (197,201–208)

Par ailleurs, une étude similaire en termes d'objectifs et non répertoriée dans ce tableau a été réalisée dans la population coinfectée VIH-VHC et celle-ci concluait également à l'absence de risque de récurrence accru chez les patients traités par AAD. (209)

Parmi les différentes études répertoriées, on observe une grande hétérogénéité concernant la méthodologie employée:

- l'absence de groupe contrôle dans la moitié des études répertoriées. Celles-ci ont donc dû comparer le taux de récurrence observé aux données de la littérature, compliquant ainsi son interprétation

- les effectifs de patients considérés dans les différents groupes étaient faibles la plupart du temps avec seulement 3 études présentant des résultats pour plus de 100 patients dans un des groupes

- le type de traitement du CHC mis en rémission avant le traitement antiviral par AAD variait également entre les études: certaines études ont considéré uniquement des patients traités par des options thérapeutiques curatives tandis que d'autres ont considéré à la fois des options curatives et palliatives (chimioembolisation transartérielle et alcoolisation percutanée)

- Le JO de l'analyse variant principalement entre le début du traitement par AAD et la date de rémission du CHC

- la durée de suivi variait fortement en fonction des études allant de quelques mois à plusieurs années

- le design était rétrospectif pour 11 d'entre elles: pour pallier l'absence de randomisation obligatoire dans ce type de design, 4 études ont utilisé un score de propension soit par appariement entre les patients exposés vs non-exposés (N=3) soit par pondération inverse dans l'analyse multivariée

- le type d'analyse statistique employée: certaines ont employé la méthode de référence dans ce type d'étude qui est l'analyse de survie et ont exploré les potentiels facteurs associés à la récurrence *via* une analyse multivariée tandis que d'autres ont seulement calculé un taux brut de récurrence observé sur la période de suivi de l'étude

Parmi les facteurs non répertoriés dans le tableau par manque d'exhaustivité des données dans les différentes études publiées, une hétérogénéité existait concernant: la fréquence et le type de suivi par imagerie de la récurrence du CHC; l'absence de distinction quasi systématique entre les patients ayant un seul antécédent de CHC et ceux ayant eu plusieurs CHC mis en rémission complète avant d'être traités par AAD; l'hétérogénéité du délai entre la mise en rémission complète du CHC et le début du traitement par AAD; enfin le type de récurrence, locale ou à distance, nodule unique, multiple ou infiltrant. Ces différents aspects méthodologiques et la grande variabilité observée dans les différentes études peut expliquer en partie les différentes conclusions rapportées. Il n'existe pour le moment aucune étude plus convaincante qu'une autre, toutes présentant des faiblesses méthodologiques plus ou moins importantes.

Certaines de ces études ont par ailleurs analysé les facteurs associés au risque de récurrence de CHC autres que l'exposition à un traitement par AAD et ont retenu comme facteur significativement

Tableau 6. Études de cohorte publiées sous forme d'articles entre Juillet 2016 et Avril 2018 analysant le taux de récidive du CHC après un traitement par AAD

Auteurs	Effectifs	J0 analyse	CHC curatif ¹	Taux de récidive	Durée de suivi	Design/Statistiques	SVR	Conclusion
Probable risque accru observé								
El Kassas et al. (2018) (200)	<ul style="list-style-type: none"> 53 patients traités par AAD 63 patients non traités 	Début AAD	100%	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 4,1% PM non traités: 1,0% PM 	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 16 mois non traités: 23 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Prospectif Régression de Poisson multivariée et score de Propension (pondération inverse) 	77%	<ul style="list-style-type: none"> risque de récidive accru
Conti et al. (2016) (106)	<ul style="list-style-type: none"> 59 patients traités par AAD 	Début AAD	81%	Taux brut: 29%	24 mois	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Pas de groupe contrôle Analyse des FdR 	91%	<ul style="list-style-type: none"> risque de récidive accru
Reig et al (2016) (105)	<ul style="list-style-type: none"> 58 patients traités par AAD 	Début AAD	90%	Taux brut: 28%	5,7 mois	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Pas de groupe contrôle 	98%	<ul style="list-style-type: none"> risque de récidive accru
Bielen et al. (2017) (199)	<ul style="list-style-type: none"> 41 patients traités par AAD 	Début AAD	98%	Taux brut: 15%	6 mois	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Pas de groupe contrôle 	94%	<ul style="list-style-type: none"> probable risque accru
Pas de risque accru observé								
Pol et al. (2016) (197)	HEPATHER: <ul style="list-style-type: none"> 189 patients traités par AAD 78 patients non traités 	Date d'inclusion dans la cohorte	ND	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 0,73% PM non traités: 0,66% PM 	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 20 mois (depuis début AAD) contrôle: 26 mois (depuis J0) 	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Analyse de survie multivariée 	92%	<ul style="list-style-type: none"> pas de différence entre les deux groupes
Ikedo et al. (2017) (205)	<ul style="list-style-type: none"> 89 patients traités par AAD 89 patients non traités (appariés) 	Date de rémission du CHC	77%	A 1 an: <ul style="list-style-type: none"> AAD: 18% contrôle: 22% A 2 ans: <ul style="list-style-type: none"> AAD: 25% contrôle: 47% 	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 1,8 an Contrôle: 5,3 ans 	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Comparaison de deux groupes <i>via</i> appariement sur score de propension Analyse de survie multivariée 	90%	<ul style="list-style-type: none"> risque de récidive diminué
Cabibbo et al. (2017) (201)	<ul style="list-style-type: none"> 143 patients traités par AAD 	Début AAD	82%	<ul style="list-style-type: none"> 6 mois: 12% 12 mois: 27% 18 mois: 29% 	8,7 mois	<ul style="list-style-type: none"> Prospectif Pas de groupe contrôle Analyse de survie multivariée 	96%	<ul style="list-style-type: none"> pas de risque accru
Ogawa et al. (2018) (207)	<ul style="list-style-type: none"> 152 patients traités par AAD 	Date de rémission du CHC	85%	A 1 an <ul style="list-style-type: none"> non-cirrhotique: 7% cirrhotiques: 23% 	ND	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Pas de groupe contrôle Analyse de survie multivariée 	100%	<ul style="list-style-type: none"> pas de risque accru de récidive

Nagata et al. (2017) (202)	<ul style="list-style-type: none"> 83 patients traités par AAD (sans IFN) 60 patients traités par PR ± IP 	Date de rémission du CHC	100%	<p>A 5 ans:</p> <ul style="list-style-type: none"> AAD: 54% PR ± IP: 45% 	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 2,3 ans PR ± IP: 6,2 ans 	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Comparaison des deux groupes <i>via</i> appariement sur un score de propension Analyse de survie multivariée 	<p>AAD: 96%</p> <p>PR ± IP: 65%</p>	<ul style="list-style-type: none"> pas de différence entre les deux types de traitement
Adhoute et al. (2018) (206)	<ul style="list-style-type: none"> 22 patients traités par AAD 49 patients non traités (appariés) 	Date de diagnostic du CHC	63%	<p>Taux brut:</p> <ul style="list-style-type: none"> AAD: 41% contrôle: 35% 	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 68 mois non traité: 32 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Comparaison de deux groupes <i>via</i> appariement sur score de propension Analyse de survie univariée 	86%	<ul style="list-style-type: none"> pas de différence entre les deux groupes de patients
Warzyszyńska et al. (2017) (204)	<ul style="list-style-type: none"> 19 patients traités par AAD 32 patients non traités 	Date de rémission du CHC	100%	<p>A 1 an:</p> <ul style="list-style-type: none"> AAD: 53% non traité: 25% 	ND	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Analyse de survie univariée 	95%	<ul style="list-style-type: none"> pas de différence entre les deux groupes de patients
Zavaglia et al. (2017) (203)	<ul style="list-style-type: none"> 31 patients traités par AAD 	Début AAD	100%	<p>Taux brut: 3,2%</p>	8 mois	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Pas de groupe contrôle 	965	<ul style="list-style-type: none"> pas de risque accru
Mashiba et al. (2018) (208)	<ul style="list-style-type: none"> 78 patients traités par IFN ou PR ou PR+IP 347 patients traités par AAD (sans IFN) 	Date de fin de traitement antiviral	ND	<ul style="list-style-type: none"> Pas de différence dans l'analyse de survie comparative (absence de valeur numérique) 	<ul style="list-style-type: none"> Minimum: 24 mois post-traitement antiviral 	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Comparaison univariée des deux groupes 	100% (analyse incluant uniquement les patients avec une RVS)	<ul style="list-style-type: none"> pas de différence entre les deux groupes de patients
Etude locale (cf. chapitre 6)	<ul style="list-style-type: none"> 23 patients traités par AAD 45 patients non traités 	Date de rémission du CHC	79%	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 1,7/100 PM non traité: 4,2/100 PM 	<ul style="list-style-type: none"> AAD: 36 mois non traité: 15 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Rétrospectif Analyse de survie multivariée Score de propension utilisé comme covariable dans l'analyse multivariée 	96%	<ul style="list-style-type: none"> risque de récurrence diminué

¹ Les options thérapeutiques non curatives exclues étaient: la chimioembolisation trans-artérielle et l'alcoolisation percutanée
PR: interféron-pégylé/ribavirine; IFN: interféron; ND: non disponible; PM: personne-mois; IP: inhibiteur de la protéase NS3/4A

associé à un risque accru: un antécédent de plusieurs CHC, un score de Child-Pugh élevé, un taux d'AFP élevé, le type de traitement du CHC (palliatif vs curatif), un nombre de nodules de CHC élevé, des nodules de CHC de grande taille et un délai court entre le traitement du CHC et le début du traitement par AAD. (106,202,205,207)

Pour répondre en partie aux conclusions de toutes ces études rétrospectives comprenant de petits échantillons, Waziry et al. ont conduit une méta-analyse évaluant le risque de récurrence du CHC après traitement par AAD vs PEG-IFN/RBV. (100) Dix-sept études ont été considérées dans l'analyse dont 7 concernant des patients traités par PEG-IFN/RBV et 10 concernant des patients traités par AAD, représentant un total de 2352 patients. Parmi ces études, 11 avaient un design prospectif, 5 un design rétrospectif et une un design rétrospectif-prospectif. Les auteurs ont utilisé directement les données d'incidence rapportées dans les 17 études identifiées et ont utilisé un modèle à effet mixte pour estimer un taux de récurrence global dans les deux groupes de patients. Une analyse par méta-régression a également été employée pour comparer les taux d'incidence de récurrence de CHC entre les patients traités par AAD et ceux traités par PEG-IFN/RBV après ajustement sur l'âge et la durée de suivi. Une analyse de sensibilité excluant les études avec une durée de suivi médiane inférieure à un an a également été réalisée.

Le taux de récurrence de CHC chez les patients ayant une RVS a été estimé dans la méta-analyse à 9,2% PA (IC 95%: 7,2 - 11,0) pour les patients traités par PEG-IFN/RBV contre 12,2% (IC 95%: 5,0 - 29,6) chez les patients traités par AAD. Dans la méta-régression, après ajustement sur l'âge et la durée de suivi, le risque relatif de récurrence après traitement par AAD était de 0,62 (IC 95%: 0,11 - 3,45; p=0,560). Dans l'analyse de sensibilité, les auteurs ne retrouvaient pas non plus de différence entre les deux groupes de patients, le risque relatif étant de 0,57 (IC 95%: 0,21 - 1,55; p=0,250).

Les auteurs ont donc conclu à l'absence de différence entre les deux types de traitement concernant le risque de récurrence du CHC. Ils ont également suggéré suite à l'analyse des différentes études qu'il existait un "effet cohorte" avec un taux de récurrence plus faible dans les cohortes où le délai de suivi était plus long. Ce résultat serait probablement lié à l'histoire naturelle de la maladie, l'élimination du VHC entraînant consécutivement une diminution de l'inflammation au niveau hépatique. Les auteurs soulignent aussi le fait que la distinction entre la progression des lésions traitées et l'apparition de nouvelles lésions n'était pas toujours évidente dans les différentes études comme relaté par d'autres auteurs. (210,211)

Parmi les limites de cette méta-analyse, les auteurs soulignent un nombre total d'études disponibles encore limité, souvent rétrospectives (pour les AAD), avec des variations géographiques, la plupart conduites au Japon concernant le traitement par PEG-IFN/RBV et en Europe pour celles concernant les AAD. Une autre limite concernait l'absence de données précises sur le stade BCLC du cancer et sur l'agressivité des récurrences.

Une deuxième méta-analyse a également été publiée récemment, celle-ci ayant pour objectif principal de caractériser plus finement les récurrences observées après traitement par AAD. (212) Cette analyse est basée sur 24 études de cohortes (soit un total de 1820 patients) dont 19 avec un design rétrospectif et 11 seulement disponibles sous forme d'article complet et rapportant un taux de récurrence brut de récurrence du CHC chez des patients traités par AAD sans interféron. Les études incluant des patients transplantés n'ont pas été considérées dans la méta-analyse contrairement à celle de Waziry et al. L'analyse principale a estimé un taux de récurrence global de 25,1% (IC 95%: 19,4% - 31,2%) sachant que le taux d'hétérogénéité I^2 était de 86%, celui-ci correspondant à la variance du taux de récurrence entre les différentes études liée à l'hétérogénéité entre les études. Les auteurs ont également analysé les facteurs de chaque étude qui pourrait être associé au taux de récurrence (c'est-à-dire le design de l'étude, la durée de suivi, le JO de l'analyse et l'origine géographique de l'étude) par une analyse en méta-régression et seule la localisation était significativement associée, avec un risque de récurrence accru pour les études américaines comparées aux études européennes ou asiatiques.

L'hétérogénéité inter- et intra- études a été évaluée et celle-ci était liée: à une durée de suivi variable, à un délai variable entre la rémission du CHC et le début du traitement par AAD, à l'exclusion ou non des patients avec plusieurs antécédents de CHC, au type de traitement du CHC, à la définition de la rémission (exclusion ou non des patients avec des nodules à l'imagerie) et à l'absence de protocole standard de surveillance de la récurrence.

Face aux résultats observés à l'échelle clinique, des hypothèses physiopathologiques appuyées par des travaux scientifiques plus ou moins récents ont été émises. Les mécanismes pro-carcinogènes liés à l'infection par le VHC sont encore mal élucidés mais la plupart seraient des mécanismes dits indirects contrairement à l'infection par le virus du VHB. (213) Chez des modèles de souris transgéniques, l'apparition d'un CHC serait liée au renouvellement rapide des hépatocytes lié à l'infection par le VHC, à une dérégulation du mécanisme d'apoptose avec production d'espèces réactives à l'oxygène et à l'environnement pro-inflammatoire lié à l'infection elle-même. (213–215)

Une des grandes hypothèses concernant le mécanisme induit par le traitement par AAD serait une diminution des mécanismes de surveillance immuns du fait de la rapidité de l'élimination virale traduite par une potentielle perturbation de l'activité de plusieurs lignées cellulaires immunes. (216,217) Pendant la phase chronique de l'infection par le VHC les cellules NK, qui avaient médié en partie la réponse immunitaire lors de la phase aiguë par production d'IFN-gamma, vont voir leur activité se déréguler, lié à un excès d'activation *via* la présentation chronique d'antigène viral entraînant par conséquent une diminution de la production d'IFN. (218) Cette dérégulation de l'activité immunitaire est également observée pour les lymphocytes T spécifiques du VHC CD4+ et CD8+ avec comme conséquence une diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF-alpha, IFN-

gamma et IL-2). Malgré cette diminution de l'activité des cellules immunes à l'échelle hépatique, une surveillance immune est toujours fonctionnelle.

Lors des traitements par AAD, la diminution rapide de la charge virale entraînerait: une sous expression des gènes sensibles à l'IFN dans le foie et dans le sang, une diminution de la concentration sérique en IL-12 et IL-18, diminuant encore plus l'activité des cellules NK et des LT CD8+ et un départ des LT non spécifiques mais impliqués dans la surveillance immune au sens large. Ce retour à un état inflammatoire "normal" correspondrait finalement à une restauration de l'équilibre immunitaire à l'échelle hépatique. (219–221) Il a été montré par ailleurs que les cellules NK *in vitro* jouaient un rôle crucial dans la protection contre la carcinogénèse par la production d'IFN-gamma. (222) Le nombre de cellules NK circulantes semblerait également plus faible chez les patients atteints de CHC. (223) De plus, la production de cytokines par les cellules NK et les monocytes circulants serait diminuée lors des traitements par AAD. (224) Etant donné la dysfonction observée des cellules NK lors de l'infection par le VHC, d'autres études *in vivo* sont nécessaires pour confirmer leur rôle dans le processus tumoral.

Une des autres hypothèses physiopathologiques serait une diminution lors des traitements par AAD de l'expression d'un récepteur pro-apoptotique à la surface des cellules NK, le récepteur TRAIL-2, entraînant ainsi un environnement anti-apoptotique propice. Cette hypothèse doit cependant être confirmée car jusqu'à maintenant seul un polymorphisme du gène de ce récepteur a été associé à un risque élevé de CHC. (225) Un autre récepteur exprimé à la surface des cellules, le récepteur NKG2D, ayant une activité pro-inflammatoire, serait également moins exprimé chez les patients ayant des récurrences précoces de CHC. (226)

Une étude récente conduite par Villani et al. suggère que la concentration sérique en facteur pro-angiogénique VEGF serait augmentée pendant le traitement par AAD avec un retour à la normale à l'arrêt du traitement alors que les concentrations en IL-10 et en TNF-alpha diminueraient pendant le traitement. (227) Une autre étude suggère également une augmentation de la concentration sérique de deux molécules pro-angiogéniques le VEGF et l'angiopoïétine-2 pendant le traitement par AAD. (228) De plus, une expression accrue de l'angiopoïétine-2 dans le tissu hépatique tumoral et non tumoral avant traitement par AAD chez des patients ayant eu un CHC mis en rémission serait associée à un risque accru de récurrence tumorale. Les auteurs concluent pour cette deuxième étude que l'augmentation de la concentration sérique en VEGF pendant le traitement par AAD est significativement associée à un risque accru de récurrence chez des patients ayant déjà une suractivation à l'échelle tissulaire des voies pro-angiogéniques comme démontré par l'expression accrue en angiopoïétine-2.

Concernant l'hypothèse d'une sous-activité des cellules NK entraînant une diminution de la production d'IFN-gamma, une étude de cohorte réalisée chez des patients traités par PEG-IFN/RBV ne retrouvait aucun effet positif de l'IFN sur le risque de développer un CHC. (229)

Pour alimenter le débat sur l'impact potentiel des AAD sur le système immunitaire, plusieurs études ont rapporté également des cas de réactivation de l'infection par le VHB chez des patients traités pour leur VHC par AAD. (230,231)

Toutes ces études expérimentales ne permettent pas de démontrer pour le moment un effet bien réel du traitement par AAD sur la carcinogénèse mais apportent des éléments scientifiques indispensables à la discussion engagée. Il est important de continuer à multiplier les études, fondamentales mais également cliniques, en employant des méthodologies robustes pour contrer les différents biais observés jusqu'à présent. Etant donné l'infaisabilité d'un essai clinique randomisé pour des questions éthiques (l'absence de traitement anti-VHC chez les patients cirrhotiques entraînant une augmentation du risque de progression de la cirrhose et des complications associées), l'analyse de grandes cohortes prospectives et la réalisation de méta-analyses basées cette fois-ci sur des données à l'échelle du patient sont des pistes à explorer pour pouvoir répondre à cette problématique cruciale. En effet, le débat actuel peut freiner certains cliniciens à traiter le VHC et ainsi entraîner une perte de chance pour le patient.

Grâce aux traitements par AAD ayant apporté un optimisme concernant une potentielle élimination du virus de l'hépatite C, l'OMS a lancé en mai 2016 un programme ayant pour objectif "d'éradiquer" les hépatites virales d'ici l'année 2030 afin que celles-ci ne soient plus un enjeu majeur de santé publique. (232) L'élimination au sens propre du terme correspondrait à une incidence de nouvelles infections par le VHC nulle dans une population donnée, objectif malheureusement trop ambitieux. L'OMS a donc défini ces objectifs d'élimination pour 2030 comme étant:

- une réduction relative de 90% de l'incidence de nouvelles infections par le VHC
- 100% de dépistage du VHC sur les dons de sang
- 90% des injections réalisées à l'aide de matériel stérile ou à usage unique
- 300 seringues stériles par an pour chaque UDI *via* les programmes d'échanges
- 90% des patients infectés chroniquement par le VHC diagnostiqués
- 80% des patients infectés chroniquement par le VHC traités

Face à ces objectifs de l'OMS, de multiples études épidémiologiques descriptives et de modélisation ont été réalisées pour savoir si l'élimination du VHC était un objectif réalisable. A notre échelle, étant donné les publications récentes d'études épidémiologiques rapportant des taux d'infection et de réinfection par le VHC élevés dans la population HSH VIH+ et de deux études de modélisation démontrant une certaine difficulté à contrer l'épidémie dans ce sous-groupe à risque, nous avons exploré cette problématique dans la population VIH-VHC française subdivisée en groupes à risque

grâce à la cohorte Dat'AIDS. (47,233–235) En effet, l'analyse descriptive des données épidémiologiques de cette cohorte confirmait en France les résultats observés ailleurs, avec une augmentation du taux d'incidence de première infection VHC chez les HSH et un taux de réinfection globalement élevé dans ce sous-groupe à risque, tendance qui a été confirmée à deux reprises. (18,236)

Notre étude a permis de répondre en partie à la problématique de la transmission de l'infection du VHC dans la population HSH VIH+ ayant des pratiques à haut-risque en explorant les taux annuels de traitements par AAD nécessaires pour contrer l'épidémie observée. Notre approche méthodologique s'est basée sur un modèle dynamique compartimental étant donné le type de données disponibles (données descriptives à l'échelle populationnelle) et des résultats/projections souhaitées pour répondre à notre problématique. (54) Notre étude a montré qu'il était réalisable de contrer l'épidémie du VHC dans la population HSH VIH+ ayant des pratiques à haut-risque en maintenant un taux de traitement annuel de 50% dans cette population, et ce même si la proportion de patients ayant ces pratiques à haut-risque augmente.

Nos résultats optimistes sont soutenus par ceux d'une équipe hollandaise, qui a analysé le taux d'incidence du VHC chez les HSH VIH+ en 2014 (avant l'accès universel aux AAD en Hollande) et en 2016 (après l'accès universel aux AAD) dans une base de données couvrant 74% des HSH VIH+ hollandais. (237) L'incidence du VHC a significativement diminué passant de 1,12% PA en 2014 à 0,55% PA en 2016 entraînant ainsi une diminution totale de 51% de l'incidence. Toutefois, les auteurs rapportent en parallèle sur la même période une augmentation de l'incidence d'infections par la syphilis (+2,2%) et la gonorrhée (+2,8%) allant à l'encontre d'une hypothèse de diminution des prises de risque, mais soutenant ainsi l'importance de diminuer le "pool" de patients infectés maintenant un risque élevé de transmission.

Cette importance de l'accès "facilité" au traitement par AAD dans la population HSH VIH+ a également été démontrée dans une étude de modélisation récente suisse. (238) Les auteurs montrent qu'un traitement précoce par le VHC ciblant tous les génotypes sans restriction d'accès permettait de diminuer plus rapidement la prévalence globale de l'infection que de cibler seulement les patients infectés par un génotype 1 ou 4. De plus, les auteurs insistent sur l'importance de traiter tous les patients et ce quel que soit le stade de fibrose et la présence ou non de manifestations extra-hépatiques, le traitement par AAD étant en Suisse encore réservé à une population "ciblée" de patients VHC+.

Dans notre étude de modélisation, nous avons aussi exploré l'effet d'un traitement précoce de l'infection VHC, c'est-à-dire la possibilité d'initier dès la phase aiguë de l'infection un traitement antiviral. Cette analyse de sensibilité a conclu que le fait d'avancer la date de début d'un potentiel traitement de 6 mois à 3 mois avait un effet négligeable sur la diminution de la prévalence dans le groupe d'HSH ayant des pratiques à haut-risque. Une étude australienne a également exploré cette

question de traitement précoce du VHC *via* une étude de modélisation utilisant plusieurs modèles: deux modèles individus-centrés et un modèle dynamique, dans une population de 5000 individus HSH VIH+ de Victoria avec une prévalence de 10% de coinfection VIH-VHC. (239) Les auteurs ont montré qu'un objectif de diminution de 80% de la prévalence du VHC dans cette population pouvait être atteint plus rapidement en passant à une durée moyenne de 4 mois entre le diagnostic et le début d'un traitement par AAD plutôt que de 6 mois, les résultats étant similaires selon les différentes approches méthodologiques considérées. Les auteurs soulignent également les limites générales des modèles compartimentaux qui sont conservateurs et considèrent souvent peu de variables décrivant le comportement des individus, alors que pour la population HSH VIH+ ces variables sembleraient jouer un rôle important dans la transmission.

Un des problèmes majeurs à l'heure actuelle au sein de la population HSH VIH+ ayant des pratiques à haut-risque est le taux élevé de réinfection. (47,240) Une des limites de notre modèle est de ne pas avoir pu considérer une probabilité de réinfection proportionnelle au nombre d'individus infectés par le VHC comme nous avons pu le faire pour la probabilité de première infection, sur laquelle le modèle est calibré. En effet, au sein de la cohorte Dat'AIDS, les données de réinfection étaient disponibles pour un échantillon de chacun des groupes à risque considéré, cependant la taille de la population dite susceptible à la réinfection ne pouvait pas être estimée sur la période de calibration, contrairement à celle des susceptibles à une première infection (c'est-à-dire la population VIH+ mono-infectée). Cette approximation a donc pour conséquence d'avoir considéré un taux fixe de réinfection, indépendant du pool d'individus infectés. Nos résultats sont ainsi qualifiés de scénario "le plus pessimiste".

Une des questions non-explorée dans notre étude est le risque de transmission entre la population HSH VIH- et HSH VIH+, et ce notamment par l'intermédiaire des programmes de prophylaxie pré-exposition (PreP). Une étude hollandaise a montré que la prévalence de l'infection par le VHC était aussi élevée chez les HSH VIH- (prévalence de 4%) en PreP que chez les HSH VIH+ (prévalence de 4,2%) avec des souches virales communes dans les deux populations. (241) Une étude lyonnaise basée sur l'analyse phylogénétique de 49 séquences virales de VHC dans une population de HSH ayant développé une hépatite C aiguë a également conclu qu'il existait des clusters de transmission comprenant à la fois des HSH VIH- et VIH+, soutenant ainsi l'existence d'une réelle transmission entre ces deux populations. (52)

Un des autres groupes à risque pour lequel l'infection par le VHC continue de progresser à l'échelle internationale est le groupe des UDI. En France, grâce à la mise en place de programmes d'échanges de seringues depuis de nombreuses années, le taux d'incidence observé dans la cohorte Dat'AIDS dans ce sous-groupe à risque est très faible et similaire aux hétérosexuels et aux "autres" groupes à risque. (18) Ce constat n'est malheureusement pas observé dans les autres pays et notamment les pays anglo-saxons où l'incidence du VHC reste élevée chez les UDI. (242) Toutefois, peu de données spécifiques à

la population VIH+ pour ce sous-groupe à risque sont disponibles avec consécutivement aucune étude de modélisation réalisée dans cette population pour évaluer la transmission. Cependant, étant donné l'ampleur de la transmission observée dans la population générale UDI, cette population reste une des populations à cibler pour stopper la transmission du virus. Les études de modélisation dans cette population ont montré qu'il était nécessaire d'avoir un taux suffisant de traitement (similairement à la population HSH VIH+ à haut-risque) ainsi que la mise en place d'interventions réduisant le risque de transmission telles que les programmes d'échanges de seringues et la substitution par opiacés. (243–246)

Les objectifs de l'OMS dans la population générale ont été évalués à la fois dans les pays développés, où l'accès au traitement par AAD est simplifié et la prévention de la transmission du VHC déjà bien développée, et dans les pays en voie de développement. Dans ces études, les auteurs démontrent la différence significative entre les différents pays considérés, avec la nécessité d'augmenter "seulement" le taux de traitement dans les pays européens pour atteindre les objectifs alors que dans les pays en voie de développement les objectifs pour 2030 semblent irréalisables, les efforts à fournir en termes de dépistage et de taux de traitement étant trop importants. (247,248)

Pour éliminer l'infection par le VHC et essayer d'atteindre les objectifs fixés par l'OMS en 2030, plusieurs enjeux sont encore à prendre en compte et à améliorer avec parmi eux:

- un taux de personnes diagnostiquées encore trop faible du fait de l'aspect "silencieux" de l'infection notamment dans les phases précoces de la maladie

- une difficulté d'accès aux traitements par AAD dans tous les pays et aux outils de dépistage à des coûts raisonnables

- un problème de restriction d'accès des traitements par AAD dans certains pays en fonction du statut de fibrose, du génotype et de certaines comorbidités, dont l'utilisation de drogues intraveineuses

- le manque d'interventions mises en place pour réduire le risque de transmission dans les populations à risque: UDI et HSH

- le taux de réinfection élevé dans la population HSH, avec une transmission entre les populations VIH- et VIH+ notamment par la mise en place de programmes de PreP et les pratiques dites à haut-risque

- l'existence de souches virales résistantes aux traitements par AAD

- l'existence de réseaux internationaux de transmission du VHC chez les HSH VIH+

Ces différentes problématiques sont les enjeux à résoudre à l'heure actuelle *via* un effort commun de la part des autorités de santé publique aux échelles locales, nationales et internationales mais également de tous les acteurs de la chaîne de soin et des industries pharmaceutiques.

8 Conclusions et perspectives

Actuellement, la course au "perfectovir" est en train de prendre fin, les derniers AAD arrivés sur le marché permettant une RVS dans plus de 95% des cas, et ce par un traitement court (8-24 semaines), très bien toléré, accessible à la fois aux patients les moins sévères avec une fibrose minime et aux patients cirrhotiques décompensés. La présence de comorbidités n'est également plus une barrière vis-à-vis de ces traitements, le choix particulier d'une molécule en fonction des potentielles interactions médicamenteuses et de la fonction rénale permettant de surpasser celles-ci. Toutefois, 5% des patients traités restent encore en échec de traitement soit lié à une rechute à l'arrêt du traitement soit par la sélection de mutations de résistance principalement dans la protéine NS5A. (249) Pour ces patients, des résultats d'études évaluant les trithérapies de secours sont en attente, avec beaucoup "d'espoirs" pour celles-ci car à l'échelle internationale, le nombre de patients en échec de traitement n'est pas négligeable. Pour les patients qui seraient en échec de ces thérapies de secours, les combinaisons disponibles seraient celles déjà utilisées donc sous-optimales. Les combinaisons utilisées pour ces patients en échec seraient alors allongées à une durée totale de 24 semaines et complétées par de la RBV. (250)

Concernant le risque de récurrence du CHC après traitement par AAD, aucune conclusion ne peut être tirée des études publiées jusqu'à présent étant donné l'absence de robustesse méthodologique. Pour répondre à cette controverse récente, la mise en place d'un essai randomisé contrôlé, qui sous-entendrait l'existence d'un groupe contrôle non traité par AAD, semble illégitime pour des raisons éthiques. De ce fait, la multiplication des études sur cette problématique dans des populations larges et diverses, en optimisant la méthodologie employée, est requise. De plus, des études prospectives de grande ampleur désignées pour répondre à cette problématique et des méta-analyses basées sur des études fournissant des données à l'échelle individuelle permettraient d'apporter des réponses plus robustes au problème actuel.

L'objectif fixé par l'OMS en 2016 "d'éradiquer" le VHC en tant que problème de santé publique en 2030 est un objectif ambitieux: en effet en 2015, des estimations montraient que uniquement 20% des patients infectés par le VHC étaient diagnostiqués et que seulement 7% avaient débuté un traitement, avec de très grandes variations en fonction des pays considérés. (251) Une des plus grandes barrières pour les nouveaux traitements à l'heure actuelle pour permettre un accès global est leur coût élevé

incitant de nombreux pays à établir des restrictions d'accès. L'arrivée de médicaments génériques à bas coût est toutefois prometteuse dans les pays aux ressources limitées. (252,253)

Les résultats des études de modélisation publiées jusqu'à présent sont encourageants dans certains pays si les mesures en termes de taux de traitement annuel et d'intervention sont bien mises en place. (246,248,254–256)

En France, 75 000 patients seraient encore chroniquement infectés par le VHC. L'AFEF s'est fixé pour objectif d'éliminer le VHC avant 2025. Pour se faire, un accent a été mis dans les dernières recommandations sur une simplification maximale du traitement en élargissant l'autorisation de prescription à l'ensemble des médecins, en simplifiant les schémas thérapeutiques, et en insistant sur le dépistage par les tests rapides d'orientation diagnostiques dans les différentes structures disponibles. (9) De plus, une étude récente a comparé l'aspect coût-efficacité de différentes stratégies de dépistage du VHC et notamment la stratégie de dépistage universel (c'est-à-dire celle recommandée par l'AFEF dans ses dernières recommandations) vs des stratégies dites « ciblées ». (257) Les auteurs ont pu montrer que la stratégie le meilleur ratio coût-efficacité était le dépistage universel couplé à l'instauration d'un traitement par AAD dans les mois suivant le diagnostic de l'infection par le VHC.

Dans son dernier rapport d'avril 2018, l'OMS tire un bilan du début de son programme d'élimination du VHC et retient notamment: une amélioration du dépistage du VHC dans les dons du sang (97%, objectif: 100%), une diminution de la proportion d'utilisation de seringues usagées à 5% (objectif: 0%), un nombre moyen de 27 seringues stériles fournies aux IDU par an (objectifs: 300) et un diagnostic de 20% de toutes les infections VHC dans le monde (objectif: 90%). (258)

L'infection par le VHC est sur le point d'être maîtrisée grâce aux efforts pharmacologiques, cliniques et épidémiologiques réalisés. Cette infection virale sera peut-être la première maladie virale chronique dans l'Histoire à être éradiquée par la seule utilisation de molécules antivirales sans l'apport de la vaccination.

REFERENCES

1. Commission de la Transparence - Avis - Haute Autorité de Santé [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 6]. Available from: https://www.has-sante.fr//portail/upload/docs/application/pdf/2016-05/aad_avis_25052016_ct_25052016.pdf
2. Blach S, Zeuzem S, Manns M, Altraif I, Duberg A-S, Muljono DH, et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2017 Mar;2(3):161–76.
3. World Health Organization. Hepatitis C, Fact Sheet 2017 [Internet]. [cited 2018 Feb 19]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>
4. El-Serag HB. Epidemiology of Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. 2012 May;142(6):1264-1273.e1.
5. Greenaway C, Thu Ma A, Kloda LA, Klein M, Clossen S, Schwarzer G, et al. The Seroprevalence of Hepatitis C Antibodies in Immigrants and Refugees from Intermediate and High Endemic Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. Grebely J, editor. *PLOS ONE*. 2015 Nov 11;10(11):e0141715.
6. Dubois F, Desenclos JC, Mariotte N, Goudeau A. Hepatitis C in a French population-based survey, 1994: seroprevalence, frequency of viremia, genotype distribution, and risk factors. The Collaborative Study Group. *Hepatology*. 1997 Jun;25(6):1490–6.
7. Meffre C, Le Strat Y, Delarocque-Astagneau E, Dubois F, Antona D, Lemasson J-M, et al. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C virus infections in France in 2004: social factors are important predictors after adjusting for known risk factors. *J Med Virol*. 2010 Apr;82(4):546–55.
8. Pioche C, Pelat C, Larsen C, Desenclos J-C, Jauffret-Roustide M, Lot F, et al. Estimation de la prévalence de l'hépatite C en population générale, France métropolitaine, 2011. *Bull Epidemiol Hebd*. 2016;(13–14):224–9.
9. Recommandations AFEF pour l'élimination de l'infection par le virus de l'hépatite C en France [Internet]. 2018 [cited 2018 Mar 16]. Available from: <http://www.afef.asso.fr/ckfinder/userfiles/files/recommandations-textes-officiels/recommandations/VF%20INTERACTIF-%20RECO-VHC%20AFEF.pdf>
10. Barometre de l'éradication du VHC - Campagne savoirCguerir [Internet]. [cited 2018 Feb 21]. Available from: <https://www.savoir-c-guerir.com/barometre/>
11. Platt L, Easterbrook P, Gower E, McDonald B, Sabin K, McGowan C, et al. Prevalence and burden of HCV co-infection in people living with HIV: a global systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016 Jul;16(7):797–808.
12. Peters L, Mocroft A, Lundgren J, Grint D, Kirk O, Rockstroh J. HIV and hepatitis C co-infection in Europe, Israel and Argentina: a EuroSIDA perspective. *BMC Infectious Diseases*. 2014;14(Suppl 6):S13.

13. CHIP centre of excellence for health, immunity and infections. EuroSIDA cohort [Internet]. [cited 2018 Sep 10]. Available from: <https://chip.dk/Studies/EuroSIDA/About>
14. Pugliese P, Cuzin L, Cabié A, Poizot-Martin I, Allavena C, Duvivier C, et al. A large French prospective cohort of HIV-infected patients: the Nadis Cohort. *HIV Med.* 2009 Sep;10(8):504–11.
15. Cotte L, Pugliese P, Valantin M-A, Cuzin L, Billaud E, Duvivier C, et al. Hepatitis C treatment initiation in HIV-HCV coinfecting patients. *BMC Infectious Diseases.* 2016 Dec;16(1).
16. Roux P, Demoulin B, Sogni P, Carrieri P, Dray-Spira R, Spire B, et al. La co-infection par le virus de l'hépatite C chez les personnes infectées par le VIH : données de l'enquête ANRS-Vespa2. *Bull Epidemiol Hebd.* 2011;(26–27):314–20.
17. Cot M, Cournut M, Le Goaster C. Premiers résultats de l'enquête ANRS-VESPA auprès des personnes vivant avec le VIH/sida. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2005;53(1):79–85.
18. Pradat P, Pugliese P, Poizot-Martin I, Valantin M-A, Cuzin L, Reynes J, et al. Direct-acting antiviral treatment against hepatitis C virus infection in HIV-Infected patients - "En route for eradication"? *J Infect.* 2017 Jun 2;
19. Lemoine M, Thursz M. Hepatitis C, a global issue: access to care and new therapeutic and preventive approaches in resource-constrained areas. *Semin Liver Dis.* 2014 Feb;34(1):89–97.
20. Kandeel AM, Talaat M, Afifi SA, El-Sayed NM, Fadeel MAA, Hajjeh RA, et al. Case control study to identify risk factors for acute hepatitis C virus infection in Egypt. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. 2012 Dec [cited 2017 Jan 13];12(1). Available from: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-12-294>
21. Chlabicz S, Grzeszczuk A, Prokopowicz D. Medical procedures and the risk of iatrogenic hepatitis C infection: case-controlled study in north-eastern Poland. *J Hosp Infect.* 2004 Nov;58(3):204–9.
22. Safi SZ, Waheed Y, Sadat J, Solat-Ul-Islam null, Salahuddin S, Saeed U, et al. Molecular study of HCV detection, genotypes and their routes of transmission in North West Frontier Province, Pakistan. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012 Jul;2(7):532–6.
23. Hauri AM, Armstrong GL, Hutin YJF. The global burden of disease attributable to contaminated injections given in health care settings. *Int J STD AIDS.* 2004 Jan;15(1):7–16.
24. Lehman EM, Wilson ML. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. *J Viral Hepat.* 2009 Sep;16(9):650–8.
25. Armstrong GL. The Prevalence of Hepatitis C Virus Infection in the United States, 1999 through 2002. *Annals of Internal Medicine.* 2006 May 16;144(10):705.
26. Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *Journal of Viral Hepatitis.* 2002 Mar;9(2):84–100.
27. Lee M-H, Yang H-I, Yuan Y, L'Italien G, Chen C-J. Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 28;20(28):9270–80.
28. Kane A, Lloyd J, Zaffran M, Simonsen L, Kane M. Transmission of hepatitis B, hepatitis C and

- human immunodeficiency viruses through unsafe injections in the developing world: model-based regional estimates. *Bull World Health Organ*. 1999;77(10):801–7.
29. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol*. 2005 Mar;5(3):215–29.
30. Midgard H, Weir A, Palmateer N, Lo Re V, Pineda JA, Macías J, et al. HCV epidemiology in high-risk groups and the risk of reinfection. *J Hepatol*. 2016 Oct;65(1 Suppl):S33–45.
31. Thomas DL. Curing hepatitis C with pills: a step toward global control. *The Lancet*. 2010 Oct;376(9751):1441–2.
32. Hatzakis A, Wait S, Bruix J, Buti M, Carballo M, Cavaleri M, et al. The state of hepatitis B and C in Europe: report from the hepatitis B and C summit conference*. *J Viral Hepat*. 2011 Sep;18 Suppl 1:1–16.
33. Smith BD, Morgan RL, Beckett GA, Falck-Ytter Y, Holtzman D, Ward JW. Hepatitis C virus testing of persons born during 1945–1965: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention. *Ann Intern Med*. 2012 Dec 4;157(11):817–22.
34. Indications de dépistage de l'hépatite C, selon les recommandations de l'Anaes [Internet]. INPES. 2001 [cited 2017 Jan 13]. Available from: <http://inpes.santepubliquefrance.fr/CFESBases/catalogue/pdf/494.pdf>
35. Prise en charge des personnes infectées par les virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C [Internet]. 2014 [cited 2017 Jan 1]. Available from: http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_Prise_en_charge_Hepatites_2014.pdf
36. Journal Officiel de la République Française - Arrêté du 1er août 2016 fixant les conditions de réalisation des tests rapides d'orientation diagnostique de l'infection par les virus de l'immunodéficience humaine (VIH 1 et 2) et de l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) en milieu médico-social ou associatif. 2016.
37. Razavi H, Waked I, Sarrazin C, Myers RP, Idilman R, Calinas F, et al. The present and future disease burden of hepatitis C virus (HCV) infection with today's treatment paradigm. *J Viral Hepat*. 2014 May;21 Suppl 1:34–59.
38. Hatzakis A, Chulanov V, Gadano AC, Bergin C, Ben-Ari Z, Mossong J, et al. The present and future disease burden of hepatitis C virus (HCV) infections with today's treatment paradigm - volume 2. *J Viral Hepat*. 2015 Jan;22 Suppl 1:26–45.
39. Sibley A, Han KH, Abourached A, Lesmana LA, Makara M, Jafri W, et al. The present and future disease burden of hepatitis C virus infections with today's treatment paradigm - volume 3. *Journal of Viral Hepatitis*. 2015 Dec;22:21–41.
40. Chan HLY, Chen CJ, Omede O, Al Qamish J, Al Naamani K, Bane A, et al. The present and future disease burden of hepatitis C virus infections with today's treatment paradigm: Volume 4. *J Viral Hepat*. 2017 Oct;24 Suppl 2:25–43.
41. Deuffic-Burban S, Wong JB, Valleron A-J, Costagliola D, Delfraissy J-F, Poinard T. Comparing the public health burden of chronic hepatitis C and HIV infection in France. *J Hepatol*. 2004

Feb;40(2):319–26.

42. Lucidarme D, Bruandet A, Illef D, Harbonnier J, Jacob C, Decoster A, et al. Incidence and risk factors of HCV and HIV infections in a cohort of intravenous drug users in the North and East of France. *Epidemiology and Infection*. 2004 Jun;132(4):699–708.
43. Leon L, Kasereka S, Barin F, Larsen C, Weill-Barillet L, Pascal X, et al. Age- and time-dependent prevalence and incidence of hepatitis C virus infection in drug users in France, 2004-2011: model-based estimation from two national cross-sectional serosurveys. *Epidemiol Infect*. 2017 Apr;145(5):895–907.
44. Jauffret-Roustide M, Pillonel J, Weill-Barillet L, Leon L, Le Strat Y, Brunet S, et al. Estimation de la séroprévalence du VIH et de l'hépatite C chez les usagers de drogues en France - Premiers résultats de l'enquête ANRS-Coquelicot 2011. *Bull Epidémiol Hebd*. 2013 Nov;39–40:504–9.
45. Jauffret-Roustide M, Couturier E, LE Strat Y, Barin F, Emmanuelli J, Semaille C, et al. Estimation de la séroprévalence du VIH et du VHC et profils des usagers de drogues en France, étude InVSANRS Coquelicot, 2004. *BEH*. 2006 Jan;33:244–7.
46. Samandari T, Tedaldi E, Armon C, Hart R, Chmiel JS, Brooks JT, et al. Incidence of Hepatitis C Virus Infection in the Human Immunodeficiency Virus Outpatient Study Cohort, 2000-2013. *Open Forum Infect Dis*. 2017;4(2):ofx076.
47. Hagan H, Jordan AE, Neurer J, Cleland CM. Incidence of sexually transmitted hepatitis C virus infection in HIV-positive men who have sex with men. *AIDS*. 2015 Nov;29(17):2335–45.
48. Nishijima T, Shimbo T, Komatsu H, Hamada Y, Gatanaga H, Oka S. Incidence and risk factors for incident Hepatitis C infection among men who have sex with men with HIV-1 infection in a large Urban HIV clinic in Tokyo. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014 Feb 1;65(2):213–7.
49. van Santen DK, van der Helm JJ, Del Amo J, Meyer L, D'Arminio Monforte A, Price M, et al. Lack of decline in hepatitis C virus incidence among HIV-positive men who have sex with men during 1990-2014. *J Hepatol*. 2017 Aug;67(2):255–62.
50. Ireland G, Higgins S, Goorney B, Ward C, Ahmad S, Stewart C, et al. Evaluation of hepatitis C testing in men who have sex with men, and associated risk behaviours, in Manchester, UK. *Sex Transm Infect*. 2017 Sep;93(6):404–9.
51. Ingiliz P, Martin TC, Rodger A, Stellbrink H-J, Mauss S, Boesecke C, et al. HCV reinfection incidence and spontaneous clearance rates in HIV-positive men who have sex with men in Western Europe. *J Hepatol*. 2016 Sep 17;
52. Charre C, Cotte L, Kramer R, Mialhes P, Godinot M, Koffi J, et al. Hepatitis C virus spread from HIV-positive to HIV-negative men who have sex with men. *PLoS ONE*. 2018;13(1):e0190340.
53. Caro-Pérez N, Martínez-Rebollar M, Gregori J, Quer J, González P, Gambato M, et al. Phylogenetic analysis of an epidemic outbreak of acute hepatitis C in HIV-infected patients by ultra-deep pyrosequencing. *J Clin Virol*. 2017 Jul;92:42–7.
54. Keeling MJ, Rohani P. *Modeling infectious diseases in humans and animals*. Princeton: Princeton University Press; 2008. 366 p.

55. Kermack WO, McKendrick AG. A Contribution to the Mathematical Theory of Epidemics. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 1927 Aug 1;115(772):700–21.
56. Hamra G, MacLehose R, Richardson D. Markov Chain Monte Carlo: an introduction for epidemiologists. *International Journal of Epidemiology*. 2013 Apr;42(2):627–34.
57. Hastings WK. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. *Biometrika*. 1970 Apr 1;57(1):97–109.
58. Brooks S, editor. *Handbook for Markov chain Monte Carlo*. Boca Raton: Taylor & Francis; 2011. 592 p.
59. Tan S-L, editor. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology* [Internet]. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006 [cited 2018 Jun 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1613/>
60. Murphy DG, Sablon E, Chamberland J, Fournier E, Dandavino R, Tremblay CL. Hepatitis C Virus Genotype 7, a New Genotype Originating from Central Africa. Loeffelholz MJ, editor. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015 Mar;53(3):967–72.
61. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2001 Jul 5;345(1):41–52.
62. Grebely J, Dore G. What Is Killing People with Hepatitis C Virus Infection? *Seminars in Liver Disease*. 2011 Nov;31(04):331–9.
63. Orland JR, Wright TL, Cooper S. Acute hepatitis C. *Hepatology*. 2001 Feb;33(2):321–7.
64. Page K, Hahn JA, Evans J, Shiboski S, Lum P, Delwart E, et al. Acute Hepatitis C Virus Infection in Young Adult Injection Drug Users: A Prospective Study of Incident Infection, Resolution, and Reinfection. *The Journal of Infectious Diseases*. 2009 Oct 15;200(8):1216–26.
65. Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, Wiese M, Tenckhoff H, Nischalke HD, et al. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1586–92, 1592.e1.
66. Harris HE, Eldridge KP, Harbour S, Alexander G, Teo C-G, Ramsay ME, et al. Does the clinical outcome of hepatitis C infection vary with the infecting hepatitis C virus type? *J Viral Hepat*. 2007 Mar;14(3):213–20.
67. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001 Feb 15;344(7):495–500.
68. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003 Dec;38(6):1449–57.
69. Chou R, Wasson N. Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2013 Jun 4;158(11):807–20.
70. Castera L, Pinzani M. Biopsy and non-invasive methods for the diagnosis of liver fibrosis: does it take two to tango? *Gut*. 2010 Jul;59(7):861–6.
71. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph J-M, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient

- elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003 Dec;29(12):1705–13.
72. Friedrich-Rust M, Ong M-F, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008 Apr;134(4):960–74.
73. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of Hepatology*. 2015 Jul;63(1):237–64.
74. Rüeger S, Bochud P-Y, Dufour J-F, Müllhaupt B, Semela D, Heim MH, et al. Impact of common risk factors of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut*. 2015 Oct;64(10):1605–15.
75. Cholet F, Noursbaum J-B, Richecoeur M, Oger E, Cauvin J-M, Lagarde N, et al. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol*. 2004 Mar;28(3):272–8.
76. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997 Mar 22;349(9055):825–32.
77. Hézode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, Grenard P, Julien B, Zafrani E-S, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005 Jul;42(1):63–71.
78. Hézode C, Lonjon I, Roudot-Thoraval F, Mavier J-P, Pawlotsky J-M, Zafrani ES, et al. Impact of smoking on histological liver lesions in chronic hepatitis C. *Gut*. 2003 Jan;52(1):126–9.
79. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo G, et al. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology*. 2006 May;130(6):1636–42.
80. Thein H-H, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology*. 2008 Aug;48(2):418–31.
81. Thein H-H, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Natural history of hepatitis C virus infection in HIV-infected individuals and the impact of HIV in the era of highly active antiretroviral therapy: a meta-analysis. *AIDS*. 2008 Oct 1;22(15):1979–91.
82. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2001 Oct;34(4 Pt 1):809–16.
83. Hamada H, Yatsunami H, Yano K, Daikoku M, Arisawa K, Inoue O, et al. Impact of aging on the development of hepatocellular carcinoma in patients with posttransfusion chronic hepatitis C. *Cancer*. 2002 Jul 15;95(2):331–9.
84. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, et al. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology*. 2009 Jun;49(6):1954–61.

85. Poynard T, Moussalli J, Munteanu M, Thabut D, Lebray P, Rudler M, et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2013 Oct;59(4):675–83.
86. Backus LI, Boothroyd DB, Phillips BR, Belperio P, Halloran J, Mole LA. A sustained virologic response reduces risk of all-cause mortality in patients with hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011 Jun;9(6):509-516.e1.
87. Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Resolution of liver fibrosis: basic mechanisms and clinical relevance. *Semin Liver Dis*. 2015 May;35(2):119–31.
88. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis*. 2001 Aug;21(3):351–72.
89. Pellicoro A, Aucott RL, Ramachandran P, Robson AJ, Fallowfield JA, Snowden VK, et al. Elastin accumulation is regulated at the level of degradation by macrophage metalloelastase (MMP-12) during experimental liver fibrosis. *Hepatology*. 2012 Jun;55(6):1965–75.
90. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology*. 2006 Jun;43(6):1303–10.
91. Rincon D, Ripoll C, Lo Iacono O, Salcedo M, Catalina MV, Alvarez E, et al. Antiviral therapy decreases hepatic venous pressure gradient in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Am J Gastroenterol*. 2006 Oct;101(10):2269–74.
92. Bruno S, Crosignani A, Facciotto C, Rossi S, Roffi L, Redaelli A, et al. Sustained virologic response prevents the development of esophageal varices in compensated, Child-Pugh class A hepatitis C virus-induced cirrhosis. A 12-year prospective follow-up study. *Hepatology*. 2010 Jun;51(6):2069–76.
93. Morgan RL, Baack B, Smith BD, Yartel A, Pitasi M, Falck-Ytter Y. Eradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Ann Intern Med*. 2013 Mar 5;158(5 Pt 1):329–37.
94. Ogawa E, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Maruyama T, et al. Efficacy of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin treatment on the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a prospective, multicenter study. *J Hepatol*. 2013 Mar;58(3):495–501.
95. Yu M-L, Lin S-M, Chuang W-L, Dai C-Y, Wang J-H, Lu S-N, et al. A sustained virological response to interferon or interferon/ribavirin reduces hepatocellular carcinoma and improves survival in chronic hepatitis C: a nationwide, multicentre study in Taiwan. *Antivir Ther (Lond)*. 2006;11(8):985–94.
96. Bruix J, Poynard T, Colombo M, Schiff E, Burak K, Heathcote E, et al. Maintenance therapy with peginterferon alfa-2b does not prevent hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011 Jun;140(7):1990–9.
97. Takeyasu M, Akuta N, Suzuki F, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, et al. Long-term interferon monotherapy reduces the risk of HCV-associated hepatocellular carcinoma. *J Med Virol*. 2012

Aug;84(8):1199–207.

98. Kanwal F, Kramer J, Asch SM, Chayanupatkul M, Cao Y, El-Serag HB. Risk of Hepatocellular Cancer in HCV Patients Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. *Gastroenterology*. 2017 Oct;153(4):996-1005.e1.
99. Ioannou GN, Green PK, Berry K. HCV eradication induced by direct-acting antiviral agents reduces the risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2017 Sep 5;
100. Waziry R, Hajarizadeh B, Grebely J, Amin J, Law M, Danta M, et al. Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: A systematic review, meta-analyses, and meta-regression. *Journal of Hepatology*. 2017 Dec;67(6):1204–12.
101. Carrat F, Fontaine H, Dorival C, Simony M, Diallo A, Hézode C, et al. Clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C following direct-acting antiviral therapy: a prospective cohort study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. In press;
102. Nahon P, Layese R, Bourcier V, Cagnot C, Marcellin P, Guyader D, et al. Incidence of Hepatocellular Carcinoma After Direct Antiviral Therapy for HCV in Patients With Cirrhosis Included in Surveillance Programs. *Gastroenterology*. 2018 Jul 19;
103. Singal AK, Freeman DH, Anand BS. Meta-analysis: interferon improves outcomes following ablation or resection of hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 Oct;32(7):851–8.
104. Hsu Y-C, Ho HJ, Wu M-S, Lin J-T, Wu C-Y. Postoperative peg-interferon plus ribavirin is associated with reduced recurrence of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2013 Jul;58(1):150–7.
105. Reig M, Mariño Z, Perelló C, Iñarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J Hepatol*. 2016 Oct;65(4):719–26.
106. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, Crespi C, Bolondi L, Caraceni P, et al. Early Occurrence and Recurrence of Hepatocellular Carcinoma in HCV-related Cirrhosis Treated with Direct Acting Antivirals. *J Hepatol*. 2016 Oct;65(4):727–33.
107. Kleinbaum DG, Klein M. *Survival Analysis* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2012 [cited 2018 Feb 23]. (Statistics for Biology and Health). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-6646-9>
108. Clark TG, Bradburn MJ, Love SB, Altman DG. Survival Analysis Part I: Basic concepts and first analyses. *British Journal of Cancer*. 2003 Jul;89(2):232–8.
109. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*. 1958 Jun;53(282):457.
110. Fleming TR, Harrington DP. *Counting processes and survival analysis*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience; 2005. 429 p. (Wiley series in probability and statistics).
111. Cox D. Regression Models and Life-Tables. *JSTOR*. 1972;34(2):187–220.
112. Cox DR. Partial likelihood. *Biometrika*. 1975 Aug 1;62(2):269–76.

113. Jennrich RI, Robinson SM. A Newton-Raphson algorithm for maximum likelihood factor analysis. *Psychometrika*. 1969 Mar;34(1):111–23.
114. Bangdiwala SI. The Wald Statistic in Proportional Hazards Hypothesis Testing. *Biometrical Journal*. 1989;31(2):203–11.
115. Rosenbaum PR, Rubin DB. The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika*. 1983;70(1):41–55.
116. Rubin DB. Using Multivariate Matched Sampling and Regression Adjustment to Control Bias in Observational Studies. *Journal of the American Statistical Association*. 1979 Jun;74(366):318.
117. D’Agostino RB. Propensity score methods for bias reduction in the comparison of a treatment to a non-randomized control group. *Stat Med*. 1998 Oct 15;17(19):2265–81.
118. Pearlman BL, Traub N. Sustained Virologic Response to Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis C Virus Infection: A Cure and So Much More. *Clinical Infectious Diseases*. 2011 Apr 1;52(7):889–900.
119. Swain MG, Lai M-Y, Shiffman ML, Cooksley WGE, Zeuzem S, Dieterich DT, et al. A sustained virologic response is durable in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alfa-2a and ribavirin. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1593–601.
120. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001 Sep 22;358(9286):958–65.
121. Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, Nelson D, Harley H, Solá R, et al. Peginterferon Alfa-2a and Ribavirin for 16 or 24 Weeks in HCV Genotype 2 or 3. *New England Journal of Medicine*. 2007 Jul 12;357(2):124–34.
122. Pradat P, Virlogeux V, Gagnieu M-C, Zoulim F, Bailly F. Ribavirin at the Era of Novel Direct Antiviral Agents for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection: Relevance of Pharmacological Monitoring. *Advances in Hepatology*. 2014;2014:1–13.
123. Huang M, Jiang J-D, Peng Z. Recent advances in the anti-HCV mechanisms of interferon. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2014 Aug;4(4):241–7.
124. Testoni B, Durantel D, Lebossé F, Fresquet J, Helle F, Negro F, et al. Ribavirin restores IFN α responsiveness in HCV-infected livers by epigenetic remodelling at interferon stimulated genes. *Gut*. 2016 Apr;65(4):672–82.
125. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002 Sep 26;347(13):975–82.
126. Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for Untreated Chronic HCV Genotype 1 Infection. *New England Journal of Medicine*. 2011 Mar 31;364(13):1195–206.
127. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Virus Infection. *New England Journal of Medicine*. 2011 Jun 23;364(25):2405–16.

128. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011 Mar 31;364(13):1207–17.
129. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011 Jun 23;364(25):2417–28.
130. Petta S, Craxì A. Therapeutic algorithms for chronic hepatitis C in the DAA era during the current economic crisis: whom to treat? How to treat? When to treat? *BMC Infectious Diseases*. 2012;12(Suppl 2):S3.
131. Hézode C, Fontaine H, Dorival C, Zoulim F, Larrey D, Canva V, et al. Effectiveness of Telaprevir or Boceprevir in Treatment-Experienced Patients With HCV Genotype 1 Infection and Cirrhosis. *Gastroenterology*. 2014 Jul;147(1):132-142.e4.
132. Poordad F, Bronowicki J-P, Gordon SC, Zeuzem S, Jacobson IM, Sulkowski MS, et al. Factors that predict response of patients with hepatitis C virus infection to boceprevir. *Gastroenterology*. 2012 Sep;143(3):608-618.e5.
133. Martinot-Peignoux M, Maylin S, Moucari R, Ripault M-P, Boyer N, Cardoso A-C, et al. Virological response at 4 weeks to predict outcome of hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther (Lond)*. 2009;14(4):501–11.
134. Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH, Nelson DR, Sulkowski MS, Everson GT, et al. Response-Guided Telaprevir Combination Treatment for Hepatitis C Virus Infection. *New England Journal of Medicine*. 2011 Sep 15;365(11):1014–24.
135. Poordad F, Lawitz E, Reddy KR, Afdhal NH, Hézode C, Zeuzem S, et al. Effects of ribavirin dose reduction vs erythropoietin for boceprevir-related anemia in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection—a randomized trial. *Gastroenterology*. 2013 Nov;145(5):1035-1044.e5.
136. Sulkowski MS, Poordad F, Manns MP, Bronowicki J-P, Rajender Reddy K, Harrison SA, et al. Anemia during treatment with peginterferon Alfa-2b/ribavirin and boceprevir: Analysis from the serine protease inhibitor therapy 2 (SPRINT-2) trial. *Hepatology*. 2013 Mar;57(3):974–84.
137. Cacoub P, Bourlière M, Lübbe J, Dupin N, Buggisch P, Dusheiko G, et al. Dermatological side effects of hepatitis C and its treatment: patient management in the era of direct-acting antivirals. *J Hepatol*. 2012 Feb;56(2):455–63.
138. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J Intern Med*. 2013;4(2):627–35.
139. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D, Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit*. 2000 Oct;22(5):555–65.
140. Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, Zarski J-P, Bessard G, Souvignet C. Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Jan;47(1):124–9.
141. Loustaud-Ratti V, Alain S, Rousseau A, Hubert IF, Sauvage FL, Marquet P, et al. Ribavirin exposure after the first dose is predictive of sustained virological response in chronic hepatitis C.

Hepatology. 2008 May;47(5):1453–61.

142. Maynard M, Pradat P, Gagnieu M-C, Souvignet C, Trepo C. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients. *Antivir Ther (Lond)*. 2008;13(4):607–11.

143. Arase Y, Ikeda K, Tsubota A, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, et al. Significance of serum ribavirin concentration in combination therapy of interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *Intervirology*. 2005;48(2–3):138–44.

144. Tsubota A, Hirose Y, Izumi N, Kumada H. Pharmacokinetics of ribavirin in combined interferon-alpha 2b and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus infection. *Br J Clin Pharmacol*. 2003 Apr;55(4):360–7.

145. Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, Schvarcz R. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005 Feb;41(2):275–9.

146. Pedersen C, Alsö Å, Lagging M, Langeland N, Färkkilä M, Buhl MR, et al. Ribavirin plasma concentration is a predictor of sustained virological response in patients treated for chronic hepatitis C virus genotype 2/3 infection. *J Viral Hepat*. 2011 Apr;18(4):245–51.

147. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin. *Semin Liver Dis*. 1999;19 Suppl 1:17–24.

148. Sauvage F-L, Stanke-Labesque F, Gagnieu M-C, Jourdil J-F, Babany G, Marquet P. Feasibility of ribavirin therapeutic drug monitoring in hepatitis C. *Ther Drug Monit*. 2009 Jun;31(3):374–81.

149. Morello J, Rodríguez-Novoa S, Jiménez-Nácher I, Soriano V. Usefulness of monitoring ribavirin plasma concentrations to improve treatment response in patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Dec;62(6):1174–80.

150. Russmann S, Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr Med Chem*. 2006;13(27):3351–7.

151. HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. The American Association for the Study of Liver Diseases and the Infectious Diseases Society of America Present. 2018.

152. Pawlotsky J-M, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *Journal of Hepatology* [Internet]. 2018 Apr [cited 2018 Jun 4]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827818319688>

153. Hézode C. Treatment of hepatitis C: Results in real life. *Liver International*. 2018 Feb;38:21–7.

154. Falade-Nwulia O, Suarez-Cuervo C, Nelson DR, Fried MW, Segal JB, Sulkowski MS. Oral Direct-Acting Agent Therapy for Hepatitis C Virus Infection: A Systematic Review. *Annals of Internal Medicine*. 2017 May 2;166(9):637.

155. Pr. Philippe Morlat, CNS, ANRS. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH - Recommandations du groupe d'experts. Prise en charge des coinfections hépatites [Internet]. 2017 [cited 2018 Sep 10]. Available from: <https://cns.sante.fr/wp-content/uploads/2017/07/experts->

156. Piroth L, Wittkop L, Lacombe K, Rosenthal E, Gilbert C, Mialhes P, et al. Efficacy and safety of direct-acting antiviral regimens in HIV/HCV-co-infected patients - French ANRS CO13 HEPAVIH cohort. *J Hepatol*. 2017 Jul;67(1):23–31.
157. Lacombe K, Fontaine H, Dhiver C, Metivier S, Rosenthal E, Antonini T, et al. Real-World Efficacy of Daclatasvir and Sofosbuvir, With and Without Ribavirin, in HIV/HCV Coinfected Patients With Advanced Liver Disease in a French Early Access Cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2017 01;75(1):97–107.
158. Kirby BJ, Symonds WT, Kearney BP, Mathias AA. Pharmacokinetic, Pharmacodynamic, and Drug-Interaction Profile of the Hepatitis C Virus NS5B Polymerase Inhibitor Sofosbuvir. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Jul;54(7):677–90.
159. Hézode C, Fontaine H, Dorival C, Zoulim F, Larrey D, Canva V, et al. Effectiveness of telaprevir or boceprevir in treatment-experienced patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis. *Gastroenterology*. 2014 Jul;147(1):132-142.e4.
160. Mauss S, Hueppe D, Alshuth U. Renal impairment is frequent in chronic hepatitis C patients under triple therapy with telaprevir or boceprevir: Mauss, Hueppe, and Alshuth. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):46–8.
161. Fukuda K, Imai Y, Hiramatsu N, Irishio K, Igura T, Sawai Y, et al. Renal impairment during the treatment of telaprevir with peginterferon and ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 2014 Nov;44(12):1165–71.
162. Karino Y, Ozeki I, Hige S, Kimura M, Arakawa T, Nakajima T, et al. Telaprevir impairs renal function and increases blood ribavirin concentration during telaprevir/pegylated interferon/ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis*. 2014 May;21(5):341–7.
163. Kunze A, Huwylar J, Camenisch G, Gutmann H. Interaction of the antiviral drug telaprevir with renal and hepatic drug transporters. *Biochem Pharmacol*. 2012 Oct 15;84(8):1096–102.
164. De Franceschi L, Fattovich G, Turrini F, Ayi K, Brugnara C, Manzato F, et al. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection: role of membrane oxidative damage. *Hepatology*. 2000 Apr;31(4):997–1004.
165. Sulkowski MS. Anemia in the treatment of hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2003;37 Suppl 4:S315-322.
166. Bruchfeld A, Lindahl K, Schvarcz R, Ståhle L. Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit*. 2002 Dec;24(6):701–8.
167. Cornpropst MT, Denning JM, Clemons D, Marbury TC, Alcorn H, Smith WB, et al. The effect of renal impairment and en stage renal disease on the single-dose pharmacokinetics of PSI-7977. *Journal of Hepatology*. 2012 Apr;56:S433.
168. Garimella T, Wang R, Luo W-L, Hwang C, Sherman D, Kandoussi H, et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of daclatasvir in subjects with renal function impairment. *Antivir Ther*

(Lond). 2015;20(5):535–43.

169. Vespasiani-Gentilucci U. Hepatitis C treatment in the elderly: New possibilities and controversies towards interferon-free regimens. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(24):7412.
170. Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire (BEH) - New HIV and AIDS diagnoses, France, 2003-2013 [Internet]. INVS. 2015 [cited 2016 Nov 9]. Available from: http://invs.santepubliquefrance.fr//beh/2015/9-10/pdf/2015_9-10.pdf
171. Wilby KJ, Greanya ED, Ford J-AE, Yoshida EM, Partovi N. A review of drug interactions with boceprevir and telaprevir: implications for HIV and transplant patients. *Ann Hepatol*. 2012 Apr;11(2):179–85.
172. Prise de position de l'Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF) sur les trithérapies (Peg-IFN + ribavirine + inhibiteur de protéase) dans la prise en charge des malades atteints d'hépatite chronique C [Internet]. AFEF. 2011 [cited 2018 Apr 17]. Available from: <http://www.soshepatites.org/actu/pdf/reco%20afef%20V2%2030%2011%2011.pdf>
173. Sise ME, Backman ES, Wenger JB, Wood BR, Sax PE, Chung RT, et al. Short and long-term effects of telaprevir on kidney function in patients with hepatitis C virus infection: a retrospective cohort study. *PLoS ONE*. 2015;10(4):e0124139.
174. Kozielowicz D, Dybowska D, Karwowska K, Wietlicka-Piszcz M. Renal impairment in patients with chronic hepatitis C treated with first generation protease inhibitors. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2015 Dec 2;14(12):1815–25.
175. Meyer zu Schwabedissen HE, Verstuyft C, Kroemer HK, Becquemont L, Kim RB. Human multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter: functional characterization, interaction with OCT2 (SLC22A2), and single nucleotide polymorphisms. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010 Apr;298(4):F997–1005.
176. Reddy KR, Shiffman ML, Morgan TR, Zeuzem S, Hadziyannis S, Hamzeh FM, et al. Impact of Ribavirin Dose Reductions in Hepatitis C Virus Genotype 1 Patients Completing Peginterferon Alfa-2a/Ribavirin Treatment. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2007 Jan;5(1):124–9.
177. Hézode C. Boceprevir and telaprevir for the treatment of chronic hepatitis C: safety management in clinical practice. *Liver International*. 2012 Feb;32:32–8.
178. Romero-Gómez M, Berenguer M, Molina E, Calleja JL. Management of anemia induced by triple therapy in patients with chronic hepatitis C: challenges, opportunities and recommendations. *J Hepatol*. 2013 Dec;59(6):1323–30.
179. Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Homoncik-Kraml M, Kreil A, Hofer H, Jessner W, et al. Rapid suppression of hematopoiesis by standard or pegylated interferon-alpha. *Gastroenterology*. 2002 Jul;123(1):141–51.
180. Leroy V, Serfaty L, Bourlière M, Bronowicki J-P, Delasalle P, Pariente A, et al. Protease inhibitor-based triple therapy in chronic hepatitis C: guidelines by the French Association for the Study of the Liver. *Liver Int*. 2012 Nov;32(10):1477–92.

181. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, Rodriguez-Torres M, Hassanein T, Gordon SC, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med*. 2013 May 16;368(20):1878–87.
182. Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, Rodriguez-Torres M, Younossi ZM, Corregidor A, et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: the COSMOS randomised study. *The Lancet*. 2014 Nov;384(9956):1756–65.
183. Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med*. 2014 Jan 16;370(3):211–21.
184. Lawitz E, Poordad FF, Pang PS, Hyland RH, Ding X, Mo H, et al. Sofosbuvir and ledipasvir fixed-dose combination with and without ribavirin in treatment-naïve and previously treated patients with genotype 1 hepatitis C virus infection (LONESTAR): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet*. 2014 Feb 8;383(9916):515–23.
185. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J, Cohen D, Luo Y, Cooper C, et al. ABT-450/r–Ombitasvir and Dasabuvir with or without Ribavirin for HCV. *New England Journal of Medicine*. 2014 May 22;370(21):1983–92.
186. Prise en charge des personnes infectées par les virus de l’hépatite B ou de l’hépatite C - Rapport de recommandations 2014 - ANRS/AFEF [Internet]. 2014 [cited 2018 Apr 17]. Available from: solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_Prise_en_charge_Hepatites_2014.pdf
187. Ampuero J, Romero-Gómez M, Reddy KR. Review article: HCV genotype 3 – the new treatment challenge. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014 Apr;39(7):686–98.
188. Ampuero J, Reddy KR, Romero-Gomez M. Hepatitis C virus genotype 3: Meta-analysis on sustained virologic response rates with currently available treatment options. *World J Gastroenterol*. 2016 Jun 14;22(22):5285–92.
189. Poordad F, Pol S, Asatryan A, Buti M, Shaw D, Hézode C, et al. Glecaprevir/Pibrentasvir in patients with hepatitis C virus genotype 1 or 4 and past direct-acting antiviral treatment failure. *Hepatology*. 2018 Apr;67(4):1253–60.
190. Ahmed H, Abushouk AI, Menshawy A, Attia A, Mohamed A, Negida A, et al. Meta-Analysis of Grazoprevir plus Elbasvir for Treatment of Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection. *Ann Hepatol*. 2018 Feb;17(1):18–32.
191. Bourlière M, Gordon SC, Flamm SL, Cooper CL, Ramji A, Tong M, et al. Sofosbuvir, Velpatasvir, and Voxilaprevir for Previously Treated HCV Infection. *New England Journal of Medicine*. 2017 Jun;376(22):2134–46.
192. Pol S, Parlati L. Treatment of hepatitis C: the use of the new pangenotypic direct-acting antivirals in “special populations.” *Liver International*. 2018 Feb;38:28–33.
193. Brouard C, Le Strat Y, Larsen C, Jauffret-Roustide M, Lot F, Pillonel J. The Undiagnosed Chronically-Infected HCV Population in France. Implications for Expanded Testing Recommendations in 2014. Villa E, editor. *PLOS ONE*. 2015 May 11;10(5):e0126920.

194. Wyles D, Weiland O, Yao B, Reindollar R, Weilert F, Dufour J-F, et al. Retreatment of patients who failed glecaprevir/pibrentasvir treatment for hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology*. 2018 Apr;68:S23–4.
195. Bourlière M, Gordon SC, Schiff ER, Tran TT, Ravendhran N, Landis CS, et al. Deferred treatment with sofosbuvir–velpatasvir–voxilaprevir for patients with chronic hepatitis C virus who were previously treated with an NS5A inhibitor: an open-label substudy of POLARIS-1. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* [Internet]. 2018 May [cited 2018 Jun 6]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468125318301183>
196. Cammà C, Cabibbo G, Craxì A. Direct antiviral agents and risk for HCC early recurrence: Much ado about nothing. *Journal of Hepatology*. 2016 Oct;65(4):861–2.
197. Pol S. Lack of evidence of an effect of Direct Acting Antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: The ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma (ANRS CO22 HEPATHER, CO12 CIRVIR and CO23 CUPILT cohorts). *J Hepatol*. 2016 Oct;65(4):734–40.
198. Kolly P, Dufour J-F. A strong message is needed to address the issue of HCC recurrence after DAA therapy. *Journal of Hepatology*. 2016 Dec;65(6):1268–9.
199. Bielen R, Moreno C, Van Vlierberghe H, Bourgeois S, Mulkay J-P, Vanwolleghem T, et al. The risk of early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in hepatitis C-infected patients treated with direct-acting antivirals with and without pegylated interferon: A Belgian experience. *J Viral Hepat*. 2017 Nov;24(11):976–81.
200. El Kassas M, Funk AL, Salaheldin M, Shimakawa Y, Eltabbakh M, Jean K, et al. Increased recurrence rates of hepatocellular carcinoma after DAA therapy in a hepatitis C-infected Egyptian cohort: A comparative analysis. *J Viral Hepat*. 2017 Dec 23;
201. Cabibbo G, Petta S, Calvaruso V, Cacciola I, Cannavò MR, Madonia S, et al. Is early recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV cirrhotic patients affected by treatment with direct-acting antivirals? A prospective multicentre study. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2017 Oct;46(7):688–95.
202. Nagata H, Nakagawa M, Asahina Y, Sato A, Asano Y, Tsunoda T, et al. Effect of interferon-based and -free therapy on early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2017 Nov;67(5):933–9.
203. Zavaglia C, Okolicsanyi S, Cesarini L, Mazzarelli C, Pontecorvi V, Ciaccio A, et al. Is the risk of neoplastic recurrence increased after prescribing direct-acting antivirals for HCV patients whose HCC was previously cured? *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):236–7.
204. Warzyszyńska K, Jonas M, Wasiak D, Kosieradzki M, Małkowski P. Accelerated hepatocellular carcinoma recurrence rate after postoperative direct-acting antivirals treatment – preliminary report. *Clinical and Experimental Hepatology*. 2017;4:194–7.
205. Ikeda K, Kawamura Y, Kobayashi M, Kominami Y, Fujiyama S, Sezaki H, et al. Direct-Acting Antivirals Decreased Tumor Recurrence After Initial Treatment of Hepatitis C Virus-Related Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis Sci*. 2017;62(10):2932–42.
206. Adhoute X, Penaranda G, Raoul JL, Sellier F, Castellani P, Oules V, et al. Hepatocellular

carcinoma recurrence in hepatitis C virus-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals: a case-control study. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2018 Jan;1.

207. Ogawa E, Furusyo N, Nomura H, Dohmen K, Higashi N, Takahashi K, et al. Short-term risk of hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication following direct-acting anti-viral treatment. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018 Jan;47(1):104–13.

208. Mashiba T, Joko K, Kurosaki M, Ochi H, Osaki Y, Kojima Y, et al. Does interferon-free direct-acting antiviral therapy for hepatitis C after curative treatment for hepatocellular carcinoma lead to unexpected recurrences of HCC? A multicenter study by the Japanese Red Cross Hospital Liver Study Group. *PLoS ONE*. 2018;13(4):e0194704.

209. Merchante N, Rodríguez-Arrondo F, Revollo B, Merino E, Ibarra S, Galindo MJ, et al. Hepatocellular carcinoma after sustained virological response with interferon-free regimens in HIV/HCV-coinfected patients. *AIDS*. 2018 Mar 28;

210. Nault J-C, Colombo M. Hepatocellular carcinoma and direct acting antiviral treatments: Controversy after the revolution. *J Hepatol*. 2016 Oct;65(4):663–5.

211. Marubashi S, Sakon M. “Local recurrence” is not equal to “Local dissemination” after resection for hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*. 2016 Nov;65(5):1061.

212. Saraiya N, Yopp AC, Rich NE, Odewole M, Parikh ND, Singal AG. Systematic review with meta-analysis: recurrence of hepatocellular carcinoma following direct-acting antiviral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018 May 30;

213. Vescovo T, Refolo G, Vitagliano G, Fimia GM, Piacentini M. Molecular mechanisms of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Oct;22(10):853–61.

214. Farinati F, Cardin R, Bortolami M, Burra P, Russo FP, Rugge M, et al. Hepatitis C virus: from oxygen free radicals to hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat*. 2007 Dec;14(12):821–9.

215. Kamegaya Y, Hiasa Y, Zukerberg L, Fowler N, Blackard JT, Lin W, et al. Hepatitis C virus acts as a tumor accelerator by blocking apoptosis in a mouse model of hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2005 Mar;41(3):660–7.

216. Comarmond C, Garrido M, Pol S, Desbois A-C, Costopoulos M, Le Garff-Tavernier M, et al. Direct-Acting Antiviral Therapy Restores Immune Tolerance to Patients With Hepatitis C Virus-Induced Cryoglobulinemia Vasculitis. *Gastroenterology*. 2017;152(8):2052-2062.e2.

217. Debes JD, Janssen HLA, Boonstra A. Hepatitis C treatment and liver cancer recurrence: cause for concern? *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017 Feb;2(2):78–80.

218. Mondelli MU, Varchetta S, Oliviero B. Natural killer cells in viral hepatitis: facts and controversies: NK CELLS IN VIRAL HEPATITIS. *European Journal of Clinical Investigation*. 2010 Jun 29;40(9):851–63.

219. Meissner EG, Kohli A, Virtaneva K, Sturdevant D, Martens C, Porcella SF, et al. Achieving sustained virologic response after interferon-free hepatitis C virus treatment correlates with hepatic interferon gene expression changes independent of cirrhosis. *J Viral Hepat*. 2016;23(7):496–505.

220. Spaan M, van Oord G, Kreeft K, Hou J, Hansen BE, Janssen HLA, et al. Immunological Analysis

- During Interferon-Free Therapy for Chronic Hepatitis C Virus Infection Reveals Modulation of the Natural Killer Cell Compartment. *J Infect Dis*. 2016 Jan 15;213(2):216–23.
221. Serti E, Park H, Keane M, O’Keefe AC, Rivera E, Liang TJ, et al. Rapid decrease in hepatitis C viremia by direct acting antivirals improves the natural killer cell response to IFN α . *Gut*. 2017 Apr;66(4):724–35.
222. Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cell memory in infection, inflammation and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2016 Feb;16(2):112–23.
223. Chew V, Tow C, Huang C, Bard-Chapeau E, Copeland NG, Jenkins NA, et al. Toll-like receptor 3 expressing tumor parenchyma and infiltrating natural killer cells in hepatocellular carcinoma patients. *J Natl Cancer Inst*. 2012 Dec 5;104(23):1796–807.
224. Ning G, Li Y-T, Chen Y-M, Zhang Y, Zeng Y-F, Lin C-S. Dynamic Changes of the Frequency of Classic and Inflammatory Monocytes Subsets and Natural Killer Cells in Chronic Hepatitis C Patients Treated by Direct-Acting Antiviral Agents. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2017;2017:3612403.
225. Körner C, Riesner K, Krämer B, Eisenhardt M, Glässner A, Wolter F, et al. TRAIL receptor I (DR4) polymorphisms C626G and A683C are associated with an increased risk for hepatocellular carcinoma (HCC) in HCV-infected patients. *BMC Cancer*. 2012 Mar 8;12:85.
226. Chu P, Nakamoto N, Taniki N, Ojio K, Amiya T, Makita Y, et al. On-treatment decrease of NKG2D correlates to early emergence of clinically evident hepatocellular carcinoma after interferon-free therapy for chronic hepatitis C. Liu C-H, editor. *PLOS ONE*. 2017 Jun 15;12(6):e0179096.
227. Villani R, Facciorusso A, Bellanti F, Tamborra R, Piscazzi A, Landriscina M, et al. DAAs Rapidly Reduce Inflammation but Increase Serum VEGF Level: A Rationale for Tumor Risk during Anti-HCV Treatment. Kanda T, editor. *PLOS ONE*. 2016 Dec 20;11(12):e0167934.
228. Faillaci F, Marzi L, Critelli R, Milosa F, Schepis F, Turola E, et al. Liver Angiopoietin-2 is a key predictor of de novo or recurrent hepatocellular cancer after HCV direct-acting antivirals. *Hepatology* [Internet]. 2018 Mar 31 [cited 2018 Apr 11]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.29911>
229. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology*. 2009 Jan;136(1):138–48.
230. Mücke MM, Backus LI, Mücke VT, Coppola N, Preda CM, Yeh M-L, et al. Hepatitis B virus reactivation during direct-acting antiviral therapy for hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jan 19;
231. Chen G, Wang C, Chen J, Ji D, Wang Y, Wu V, et al. Hepatitis B reactivation in hepatitis B and C coinfecting patients treated with antiviral agents: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2017;66(1):13–26.
232. Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030 [Internet]. WHO. 2016 [cited 2016 Apr 14]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/206453/WHO_HIV_2016.04_eng.pdf?sequence=1

233. Jordan AE, Perlman DC, Neurer J, Smith DJ, Des Jarlais DC, Hagan H. Prevalence of hepatitis C virus infection among HIV+ men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. *Int J STD AIDS*. 2017;28(2):145–59.
234. Salazar-Vizcaya L, Kouyos RD, Zahnd C, Wandeler G, Battegay M, Darling KEA, et al. Hepatitis C virus transmission among human immunodeficiency virus-infected men who have sex with men: Modeling the effect of behavioral and treatment interventions. *Hepatology* [Internet]. 2016 Oct [cited 2016 Nov 15]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.28769>
235. Martin NK, Thornton A, Hickman M, Sabin C, Nelson M, Cooke GS, et al. Can Hepatitis C Virus (HCV) Direct-Acting Antiviral Treatment as Prevention Reverse the HCV Epidemic Among Men Who Have Sex With Men in the United Kingdom? Epidemiological and Modeling Insights. *Clinical Infectious Diseases*. 2016 May 1;62(9):1072–80.
236. Pradat P, Huleux T, Raffi F, Delobel P, Valantin M-A, Poizot-Martin I, et al. Incidence of new hepatitis C virus infection is still increasing in French MSM living with HIV. *AIDS*. 2018 Feb 12;
237. Boerekamps A, van den Berk GE, Lauw FN, Leyten EM, van Kasteren ME, van Eeden A, et al. Declining Hepatitis C Virus (HCV) Incidence in Dutch Human Immunodeficiency Virus-Positive Men Who Have Sex With Men After Unrestricted Access to HCV Therapy. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2017 Nov 23 [cited 2018 Apr 12]; Available from: <http://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/cix1007/4654729>
238. Salazar-Vizcaya L, Kouyos RD, Fehr J, Braun D, Estill J, Bernasconi E, et al. On the potential of a short-term intensive intervention to interrupt HCV transmission in HIV-positive men who have sex with men: A mathematical modelling study. *J Viral Hepat*. 2018 Jan;25(1):10–8.
239. Scott N, Stoové M, Wilson DP, Keiser O, El-Hayek C, Doyle J, et al. Eliminating hepatitis C virus as a public health threat among HIV-positive men who have sex with men: a multi-modelling approach to understand differences in sexual risk behaviour. *J Int AIDS Soc*. 2018 Jan;21(1).
240. Ingiliz P, Martin TC, Rodger A, Stellbrink H-J, Mauss S, Boesecke C, et al. HCV reinfection incidence and spontaneous clearance rates in HIV-positive men who have sex with men in Western Europe. *J Hepatol*. 2017 Feb;66(2):282–7.
241. Hoornenborg E, Achterbergh RCA, Schim van der Loeff MF, Davidovich U, Hogewoning A, de Vries HJC, et al. MSM starting preexposure prophylaxis are at risk of hepatitis C virus infection. *AIDS*. 2017 Jul 17;31(11):1603–10.
242. Negro F. Epidemiology of hepatitis C in Europe. *Dig Liver Dis*. 2014 Dec 15;46 Suppl 5:S158-164.
243. Zelenev A, Li J, Mazhnaya A, Basu S, Altice FL. Hepatitis C virus treatment as prevention in an extended network of people who inject drugs in the USA: a modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2018 Feb;18(2):215–24.
244. Martin NK, Hickman M, Hutchinson SJ, Goldberg DJ, Vickerman P. Combination interventions to prevent HCV transmission among people who inject drugs: modeling the impact of antiviral treatment, needle and syringe programs, and opiate substitution therapy. *Clin Infect Dis*. 2013 Aug;57 Suppl 2:S39-45.

245. Martin NK, Vickerman P, Dore GJ, Hickman M. The hepatitis C virus epidemics in key populations (including people who inject drugs, prisoners and MSM): the use of direct-acting antivirals as treatment for prevention. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2015 Sep;10(5):374–80.
246. Gountas I, Sypsa V, Anagnostou O, Martin N, Vickerman P, Kafetzopoulos E, et al. Treatment and primary prevention in people who inject drugs for chronic hepatitis C infection: is elimination possible in a high-prevalence setting? *Addiction*. 2017 Jul;112(7):1290–9.
247. Alfaleh FZ, Nugrahini N, Matičič M, Tolmane I, Alzaabi M, Hajarizadeh B, et al. Strategies to manage hepatitis C virus infection disease burden - volume 3. *J Viral Hepat*. 2015 Dec;22 Suppl 4:42–65.
248. Razavi H, Robbins S, Zeuzem S, Negro F, Buti M, Duberg A-S, et al. Hepatitis C virus prevalence and level of intervention required to achieve the WHO targets for elimination in the European Union by 2030: a modelling study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2017 May;2(5):325–36.
249. Di Maio VC, Cento V, Lenci I, Aragri M, Rossi P, Barbaliscia S, et al. Multiclass HCV resistance to direct-acting antiviral failure in real-life patients advocates for tailored second-line therapies. *Liver International*. 2017 Apr;37(4):514–28.
250. Gane EJ, Shiffman ML, Etzkorn K, Morelli G, Stedman CAM, Davis MN, et al. Sofosbuvir-velpatasvir with ribavirin for 24 weeks in hepatitis C virus patients previously treated with a direct-acting antiviral regimen. *Hepatology*. 2017;66(4):1083–9.
251. World Health Organization, World Health Organization, Global Hepatitis Programme. Global hepatitis report, 2017 [Internet]. 2017 [cited 2018 Apr 14]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255016/1/9789241565455-eng.pdf?ua=1>
252. Gupta S, Rout G, Patel AH, Mahanta M, Kalra N, Sahu P, et al. Efficacy of generic oral directly acting agents in patients with hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat*. 2018 Jan 28;
253. Elsharkawy A, El-Raziky M, El-Akel W, El-Saeed K, Eleteby R, Hassany M, et al. Planning and prioritizing direct-acting antivirals treatment for HCV patients in countries with limited resources: Lessons from the Egyptian experience. *J Hepatol*. 2017 Dec 6;
254. Ayoub HH, Al Kanaani Z, Abu-Raddad LJ. Characterizing the temporal evolution of the hepatitis C virus epidemic in Pakistan. *Journal of Viral Hepatitis* [Internet]. 2018 Feb 21 [cited 2018 Apr 14]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jvh.12864>
255. Scott N, Ólafsson S, Gottfreðsson M, Tyrfingsson T, Rúnarsdóttir V, Hansdóttir I, et al. Modelling the elimination of hepatitis C as a public health threat in Iceland: A goal attainable by 2020. *J Hepatol*. 2018 May;68(5):932–9.
256. Scott N, McBryde ES, Thompson A, Doyle JS, Hellard ME. Treatment scale-up to achieve global HCV incidence and mortality elimination targets: a cost-effectiveness model. *Gut*. 2017 Aug;66(8):1507–15.
257. Deuffic-Burban S, Huneau A, Verleene A, Brouard C, Pillonel J, Le Strat Y, et al. Assessing the cost-effectiveness of hepatitis C screening strategies in France. *J Hepatol*. 2018 Oct;69(4):785–92.

258. Hutin YJ-F, Bulterys M, Hirnschall GO. How far are we from viral hepatitis elimination service coverage targets? *Journal of the International AIDS Society*. 2018 Apr;21:e25050.