



# Inference dans les modeles dynamiques de population: applications au VIH et au VHC

Jérémie Guedj

## ► To cite this version:

Jérémie Guedj. Inference dans les modeles dynamiques de population: applications au VIH et au VHC. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Victor Segalen - Bordeaux II, 2006. Français. NNT: . tel-00204254

**HAL Id: tel-00204254**

<https://theses.hal.science/tel-00204254>

Submitted on 14 Jan 2008

**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.

# **Université Victor Segalen Bordeaux 2**

Année 2006

Thèse n° 1371

## **THESE**

pour le

## **DOCTORAT DE L'UNIVERSITE BORDEAUX 2**

Mention : Sciences Biologiques et Médicales

Option : Epidémiologie et Intervention en Santé Publique

**Présentée et soutenue publiquement**

Le 8 décembre 2006

Par

**Jérémie GUEDJ**

Né le 24 juin 1980 à Paris

## **Inférence dans les modèles dynamiques de population : applications au VIH et au VHC**

### **Membres du jury**

Madame France Mentré, Professeur, Paris

Rapporteur

Monsieur Avidan Neumann, Professeur, Tel-Aviv

Rapporteur

Monsieur Claude-Michel Brauner, Professeur, Bordeaux

Examinateur

Monsieur Daniel Commenges, Directeur de Recherche, Bordeaux

Membre invité

Monsieur Rodolphe Thiébaut, Chargé de Recherche, Bordeaux

Directeur de thèse

*“Comprendre c'est avant tout unifier. Si la pensée découvrait dans les miroirs changeants des phénomènes, des relations éternelles qui les puissent résumer et se résumer elles-mêmes en un principe unique, on pourrait parler d'un bonheur de l'esprit.”*

*Albert Camus, Le Mythe de Sisyphe*

## Remerciements

*Au Professeur France Mentré de me faire l'honneur de participer à l'évaluation de cette thèse. J'ai beaucoup d'admiration pour vos travaux en biostatistiques.*

*Au Professeur Avidan Neumann de venir de si loin pour être rapporteur de cette thèse. Je suis particulièrement enthousiaste à l'idée de bientôt travailler avec vous.*

*Au Professeur Claude-Michel Brauner de me faire l'honneur de participer à mon jury de thèse. Merci d'avoir accepté d'évaluer mes travaux.*

*A Daniel Commenges : vos connaissances et le souci constant de transmettre votre savoir m'auront été particulièrement précieux. Soyez assuré de ma profonde gratitude.*

*A Rodolphe pour la formation scientifique que tu m'as transmise. Ton attention, ton ouverture ainsi que ton enthousiasme ont rendu le travail sous ta direction particulièrement agréable. Merci pour m'avoir fait confiance durant ces trois années.*

*J'espère pouvoir continuer à travailler avec toi et Daniel.*

*A l'Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS) qui a financé ces travaux.*

*A l'ensemble de l'équipe E0338 et à Guillaume.*

*Aux doctorants qui se sont succédé : Sophie, Réza, Charlotte, Julia et Danaelle, les deux petites nouvelles ; et bien-sûr Cécile, Julien, Sandy et Gaelle pour votre soutien et vos conseils durant cette période.*

*A mes amis, en particulier Guilleret, Laffy, Mathieu, Mehdi, Moumou, Ndé et Yorgui : nos discussions, sérieuses ou légères, auront rythmé ces années !*

*A Pascal, Marie-Elise, Justine et Bertrand pour l'affection dont vous me témoignez.*

*A toute ma famille, avec une pensée particulière pour ma tante et mes grand-mères, dont la générosité et la sagesse m'ont aussi guidé.*

*A ma mère et à mon père pour votre amour, votre soutien inconditionnel. Je suis vraiment fier de ce que vous m'avez transmis.*

*Et bien-sûr à Hélène : tu as eu tant d'amour durant ces six dernières années, tu m'as soutenu et encouragé sans relâche, dans les bons jours comme dans les autres !*

---

## Productions scientifiques liées à la thèse

### Articles liés à la thèse

- *Estimation of dynamical model parameters taking into account undetectable marker values*, Thiébaut R., Guedj J. et al, BMC Medical Research Methodology 6 (2006) 6-38.
- *Maximum Likelihood Estimation in dynamical models of HIV*, Guedj J., Thiébaut R., Commenges D., Biometrics (en révision)
- *Practical Identifiability of HIV dynamics models*, Guedj J., Thiébaut R., Commenges D., Bulletin of Mathematical Biology (soumis)

### Communications dans un congrès avec comité de lecture

- *Impact of a stochastic term for the modelling of the primo-infection*, 11th International Discussion Meeting on HIV Dynamics & Evolution, Stockholm, Mai 2004 (Poster)
- *Optimal parameter estimation in HIV dynamical models via information matrix*, European Conference on Mathematical and Theoretical Biology (ECMTB), Dresde, 18-22 July 2005 (Communication orale)
- *Maximum Likelihood Estimation in dynamical models of HIV*, Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM) Conference on Life Sciences, Raleigh, 31-06 August 2006 (Communication orale)
- *Estimation par Maximum de Vraisemblance dans les modèles dynamiques du VIH*, Journées de Modélisation Aléatoire et Statistique (MAS) de la Société de Mathématiques et d'Applications Industrielles (SMAI), 4-6 September 2006 (Communication orale)

# Table des matières

<b>1 Description &amp; Modélisation de la dynamique des marqueurs du VIH</b>	<b>7</b>
1.1 Introduction générale sur le VIH . . . . .	7
1.1.1 Biologie de l'infection . . . . .	7
1.1.2 Evolution de l'infection à l'ère des traitements antirétroviraux hautement actifs . . . . .	9
1.1.3 Mesures des marqueurs viro-immunologiques . . . . .	11
1.2 Analyse de la dynamique des marqueurs . . . . .	13
1.2.1 Intérêt du suivi de la charge virale et des CD4 . . . . .	13
1.2.2 Analyse observationnelle . . . . .	14
1.2.3 Analyse longitudinale de la dynamique des marqueurs . . . . .	17
1.3 Modélisation explicative de la dynamique des marqueurs du VIH . . . . .	19
1.3.1 Les premiers modèles . . . . .	19
1.3.2 Structure générale de ces modèles . . . . .	24
1.3.3 Modèles simplifiés & limites . . . . .	27
1.3.4 Modèles non-simplifiés . . . . .	29
1.4 Conclusion . . . . .	30
<b>2 Estimation dans les modèles non-linéaires à effets mixtes</b>	<b>31</b>
2.1 Introduction . . . . .	31
2.2 Inférence . . . . .	35
2.2.1 Maximisation indirecte de la vraisemblance . . . . .	35
2.2.2 Paradigme Bayésien . . . . .	38
2.2.3 Maximisation directe de la vraisemblance . . . . .	39
2.2.4 Conclusion sur l'inférence . . . . .	46

2.3 Etude de l'identifiabilité . . . . .	47
2.3.1 Comparaison de designs . . . . .	48
2.3.2 Calcul de la matrice d'information . . . . .	49
2.3.3 Problématique des modèles dynamiques du VIH . . . . .	51
2.4 Objectif du travail de thèse . . . . .	52
<b>3 Impact des données censurées dans l'estimation des paramètres des modèles dynamiques</b>	<b>55</b>
<b>4 Estimation dans les modèles dynamiques définis par un système ODE</b>	<b>65</b>
4.1 Introduction d'un modèle biomathématique . . . . .	65
4.2 Méthode proposée pour l'estimation des paramètres . . . . .	66
<b>5 Etude de l'Identifiabilité</b>	<b>103</b>
<b>Discussion &amp; Perspectives</b>	<b>141</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>147</b>
<b>Annexes</b>	<b>161</b>

# **Chapitre 1**

## **Description & Modélisation de la dynamique des marqueurs du VIH**

### **1.1 Introduction générale sur le VIH**

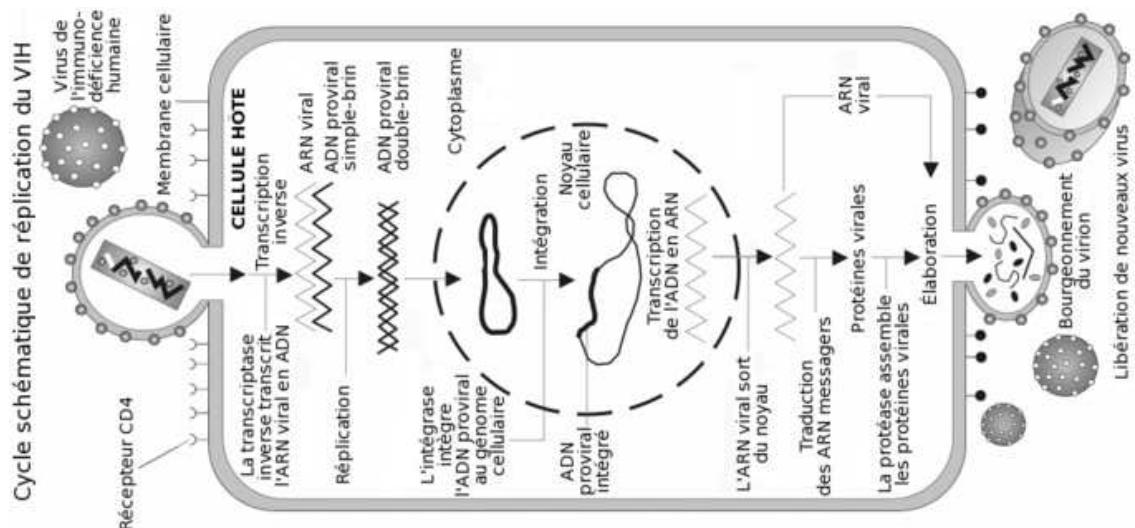
Découvert au début des années 80, le Virus de l’Immunodéficience Humaine (VIH) est devenu un enjeu majeur de santé publique à partir de la fin des années 80, dès lors qu'il a cessé d'être considéré comme une maladie restreinte à certains groupes à risque (homosexuels, toxicomanes). Les dernières estimations fournies par le rapport ONUSIDA (2006) portent à environ quarante millions le nombre de personnes séropositives dans le monde, à quatre millions le nombre de nouvelles infections annuelles, et à vingt-cinq millions le nombre de morts depuis 1981.

#### **1.1.1 Biologie de l'infection**

##### **Cycle de réPLICATION du virus**

Le VIH est un lentivirus (longue période d'incubation) de la famille des rétrovirus : le virus doit, pour se multiplier, se lier à une cellule cible, la pénétrer et intégrer son noyau. Les cellules cibles du VIH sont principalement les lymphocytes T-CD4+, en particulier lorsqu'ils sont activés par des cytokines ou des antigènes, et, dans une moindre mesure, les monocytes et les macrophages. Dans le cas du VIH-1, qui est la souche la plus virulente et la plus répandue en Europe, le virion (virus circulant) se lie aux récepteurs (CD4) et

aux co-récepteurs (CXCR4, CCR5) présents à la surface des cellules cibles. Le virion, composé de deux bras identiques, pénètre ensuite la cellule, devenue hôte. Une fois dans le cytoplasme de la cellule hôte, l'ARN viral est transformé en ADN viral par l'action de l'enzyme transcriptase inverse, puis dupliqué pour former un double brin d'ADN. Ce brin d'ADN est ensuite aléatoirement intégré au génome de la cellule hôte grâce, en particulier, à l'action d'une autre enzyme, l'intégrase. L'ARN polymérase de la cellule hôte transcrit l'ADN proviral en ARN messagers qui permettent la synthèse de protéines virales (voir Fig. 1.1). La durée de vie d'une cellule hôte devenue productrice de virus est alors très faible. Une fois le provirus intégré dans son génome, la cellule cible ne produit pas toujours immédiatement du virus, et elle peut dans ce cas revenir à un état quiescent (latent). Dans cet état, le lymphocyte a une durée de vie comparable à une cellule saine et les cellules quiescentes constituent ainsi un réservoir pour le virus, malgré leur très faible concentration dans l'organisme (Chun et al., 1997).



**Fig. 1.1 :** Cycle de réPLICATION du virus

## Réponses immunitaire et traitements

Le système immunitaire est à la fois une ligne de défense contre le virus et une cible pour ce dernier. Le système immunitaire oppose deux types de réactions aux antigènes : une réponse humorale et une réponse à médiation cellulaire.

La réponse humorale aide le réseau de défense à reconnaître et détruire les agents pathogènes libres ; il s'attaque donc directement au virus circulant en produisant des anticorps,

sécrétés par certains lymphocytes. Toutefois, nous ne détaillerons pas plus cette réponse car l'influence de son action sur la réPLICATION virale est encore discutée (Paul, 1995).

La réponse à médiation cellulaire repose sur l'action directe de certains lymphocytes et élimine directement les cellules infectées. On distingue dans cette réponse la réponse innée assurée par les Natural Killers et la réponse acquise essentiellement portée par les lymphocytes T-CD4 (CD4). Ces cellules sont chargées de reconnaître les déterminants antigéniques présents à la surface des cellules infectées et stimulent la prolifération des lymphocytes T-CD8 (CD8) : après une période de maturation, ces derniers éliminent grâce à leurs propriétés cytotoxiques les cellules présentant des protéines du VIH.

Le VIH est donc un défi au système immunitaire : sa cible est précisément constituée par une cellule centrale dans la mise en place de réponses immunitaires, à savoir les CD4. Les traitements peuvent cependant aider à suppléer le système immunitaire. L'essentiel des traitements administrés visent les mécanismes de la réPLICATION virale. Les inhibiteurs de la transcriptase inverse empêchent la synthèse de l'ADN proviral tandis que les inhibiteurs de la protéase augmentent la proportion de virus défectueux produits par la cellule infectée. D'autres stratégies thérapeutiques visent à stimuler la réponse immunitaire *via* des vaccins thérapeutiques ou des cytokines telles que l'IL-2 (Levy et al., 2005).

### 1.1.2 Evolution de l'infection à l'ère des traitements antirétroviraux hautement actifs

L'évolution naturelle de l'infection ainsi que de ses principaux biomarqueurs (CD4 et charge virale en particulier) est classiquement divisée en trois phases comme indiquée sur la Fig. 1.2. La primo-infection est caractérisée par un pic de la charge virale, suivi de l'apparition de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) et d'une réponse anticorps soutenue. Des symptômes cliniques légers proches de ceux de la grippe peuvent être diagnostiqués à ce moment là. Cette période est suivie d'une phase asymptomatique de stabilisation de l'infection souvent appelée, à tort, *phase de latence*, au cours de laquelle les niveaux de charge virale et de CD4 varient beaucoup plus lentement (Pantaleo et Fauci, 1996). Comme nous l'expliquerons dans la section 1.3, l'emploi de modèles dynamiques a contribué à démontrer que cette phase, stable en terme de concentration de virus, était en fait le siège d'une réPLICATION très intense du virus : Perelson et al. (1996) estiment à  $10^{10}$  le

nombre de virions produits quotidiennement. De plus, cette stabilité reste relative puisque ce stade de l'infection est associé à un déclin progressif du niveau des CD4. Cette phase est de durée variable et dépend de nombreux facteurs (âge, sexe, alimentation, niveau de vie, consommation de substances, etc.), d'une moyenne de huit ans chez des patients ne recevant pas de traitements ou des traitements faiblement actifs (Curran et al., 1988). Enfin, le dernier stade de l'infection correspond au stade SIDA (Syndrome de l'Immuno-Déficience Acquise). Le niveau des CD4 est particulièrement bas (moins de 200 cellules/mm<sup>3</sup> contre [600–1400] chez un sujet sain), créant ainsi une situation d'immunodéficience générale. Du fait de l'immunodépression, le patient est particulièrement sujet à des affections/maladies opportunistes (certaines formes rares de cancer par exemple) pouvant causer son décès.

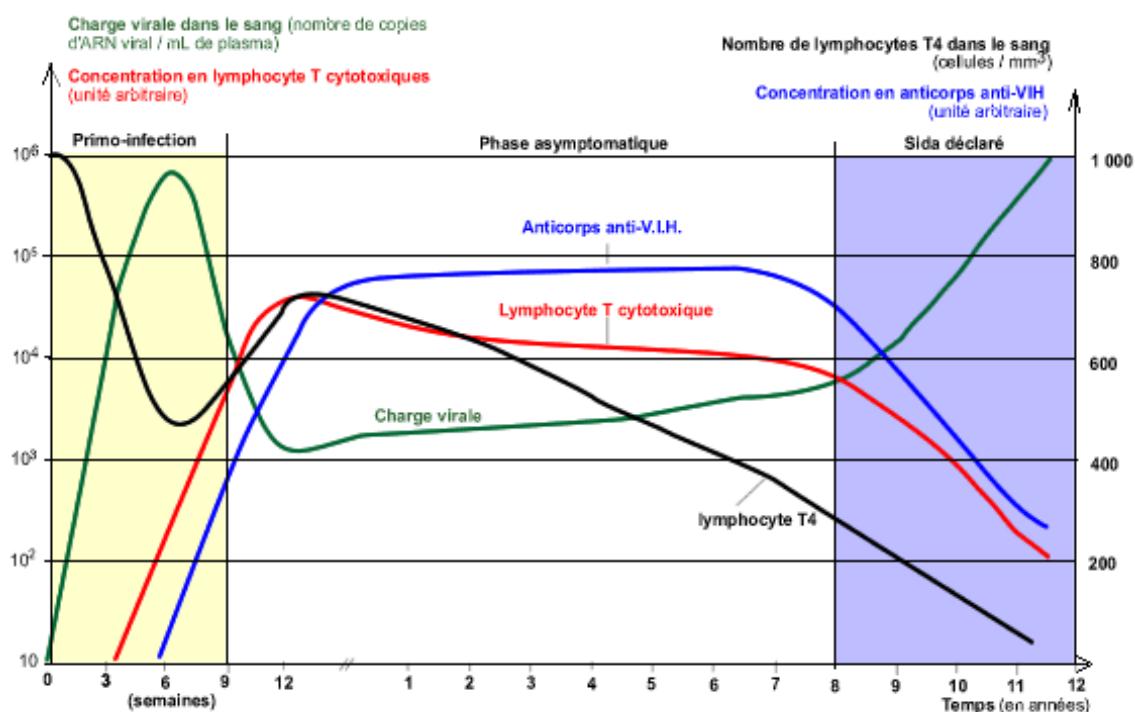


Fig. 1.2 : Evolution naturelle de l'infection et de ses principaux biomarqueurs

L'apparition, au milieu des années 90, des traitements antirétroviraux hautement actifs (HAART pour Highly Active Antiretroviral Therapy) a permis de considérablement allonger la phase asymptomatique, estimée désormais à près de vingt ans (Tassie et al., 2002). En outre, quatre-vingt-dix pour cent des patients survivent aujourd'hui plus de dix ans (Porter, 2003). Ces traitements sont basés sur une association de molécules antirétrovirales, le plus souvent composée de deux molécules de la classe des inhibiteurs de l'enzyme

transcriptase inverse et un inhibiteur de la protéase (ou un inhibiteur non nuléosidique de la transcriptase inverse). Cependant, la constitution, dès le début de l'infection, de réservoirs pour le virus *via* l'infection de cellules à durée de vie longue (Chun et al., 1997 ; Chun et Fauci, 1999), ainsi que les mutations très fréquentes du virus qui empêchent la mise en place d'une réponse immunitaire acquise efficace, continuent de rendre inéluctable la progression de la maladie. Le maintien, durant des années, de la charge virale à un niveau très bas (souvent en dessous du seuil de détectabilité) n'est donc pas synonyme d'éradication du virus. Par ailleurs, les lourds effets secondaires associés à une stratégie HAART entraînent une faible adhérence aux traitements : Bartlett (2002) estime qu'entre 40% et 60% des patients ont une adhérence inférieure à 90% et que cette adhérence diminue avec le temps, augmentant ainsi les risques de mutation du virus et d'émergence de nouvelles souches virulentes (Chun et al., 1999).

### 1.1.3 Mesures des marqueurs viro-immunologiques

La mesure des CD4 est généralement obtenue par la technique de cytométrie de flux et s'exprime en nombre de cellules par  $mm^3$ . D'autres techniques plus performantes ou moins coûteuses sont actuellement développées (Rodriguez et al., 2005). Cependant, malgré l'amélioration des techniques de numération, la mesure des CD4 est connue pour avoir une grande variabilité avec des fluctuations diurnes (Malone et al., 1990).

La mesure du virus porte sur la quantité de virus circulants dans le compartiment sanguin : le terme de "charge virale" couramment utilisé est donc abusif puisque la quantification effectuée est en fait celle de l'ARN viral. Cette dernière est un reflet de la multiplication active du virus, et pas nécessairement de la quantité totale de virus dans l'organisme. La quantification est faite grâce à deux techniques de biologie moléculaire, PCR ou bDNA. Le résultat s'exprime en nombre de copies d'ARN-VIH/mL ou en logarithmes (de base 10) du nombre de copies, afin de minimiser les variations de faible amplitude et d'approcher une distribution normale. Par ailleurs, les techniques de mesure de la charge virale ont une sensibilité limitée. Bien qu'en constante progrès, la majorité des techniques utilisées ont des seuils de détection supérieurs à 20 copies/mL (souvent 50 copies/mL dans les essais cliniques).

Si la charge virale plasmatique et les CD4 sont les données les plus fréquemment dispo-

nibles, d'autres mesures peuvent être effectuées pour étudier certaines hypothèses biologiques. Il existe notamment d'autres mesures du virus comme la mesure de l'ADN proviral ainsi que la virémie cellulaire infectieuse : ces dernières reflètent la quantité de virus intégré dans les cellules sanguines mononucléées. Cependant, l'interprétation de l'évolution de ces biomarqueurs est plus difficile, car l'ADN proviral est présent à la fois dans les cellules activées et dans les cellules quiescentes. Par ailleurs, l'intensité de la réponse immunitaire *via* la concentration en CTL est souvent mesurée en raison de son rôle dans le contrôle de l'infection (Davenport et al., 2003). Le rôle de l'activation dans la dynamique de l'infection est majeur : c'est pourquoi de nombreuses études se sont intéressées à la dynamique propre des cellules activées, en utilisant l'incorporation de bromodeoxyuridine (BrDU) par les CD4 comme marqueur de la prolifération de ces cellules (Grossman et al., 2002 ; Mohri et al., 1998). Toutefois, l'analyse des données issues de ce type d'expérimentation est complexe et nécessite l'utilisation de modèles mathématiques (Ribeiro et al., 2002). Notons que les mesures de tous ces marqueurs sont réalisées dans le compartiment sanguin, bien que l'infection se déroule quasi exclusivement dans les organes lymphoïdes où se situent 98% des CD4 (Rosenberg et Janossy, 1999) : on considère en général le compartiment sanguin comme une bonne estimation des quantités présentes dans le corps. Certains auteurs ont proposé des modèles permettant de remonter des quantités présentes dans le compartiment sanguin à celles, non-observées, dans les organes lymphoïdes mais ces modèles sont basés sur des hypothèses de diffusion encore trop simplistes (Bajaria et al., 2002).

## 1.2 Analyse de la dynamique des marqueurs

S'il existe de nombreux biomarqueurs potentiels, la plupart ne sont analysés que marginalement. En effet, l'objectif principal est souvent de disposer de marqueurs dont la dynamique est liée à la progression de la maladie.

### 1.2.1 Intérêt du suivi de la charge virale et des CD4

A l'ère des traitements HAART, peu de cas de progression clinique sont désormais diagnostiqués : l'efficacité d'une stratégie thérapeutique ne peut donc plus être mesurée par l'incidence (très faible) des pathologies opportunistes. Il est donc nécessaire de trouver des marqueurs (observés) qui reflètent l'effet (sous-jacent) du traitement ou qui ont une capacité prédictive de l'évènement d'intérêt. C'est pourquoi la recherche de marqueurs, éventuellement de substitutions, c'est-à-dire des reflets (observables) de l'effet du traitement sur la probabilité de survenue de l'évènement d'intérêt (ici la progression de la maladie), est devenue d'une importance cruciale pour juger de l'efficacité d'un traitement. De manière plus formelle, un marqueur de substitution doit satisfaire les trois critères suivants : i) le marqueur doit être pronostique de la survenue de l'évènement (ici la progression de la maladie) ; ii) le marqueur doit être affecté par le traitement à évaluer ; iii) l'effet du traitement sur le marqueur doit mesurer l'ensemble de l'effet du traitement sur la survenue de l'évènement d'intérêt (Prentice, 1989).

L'utilisation de la charge virale seule comme marqueur de substitution semble admis (Mellors et al., 1996 ; Mellors et al., 1997a) en dépit de certaines limites (Aboulker et al., 1999). Au contraire, la décroissance de l'ADN proviral sous HAART est bien plus lente que celle de la charge virale plasmatique (Finzi et al., 1999), rendant ce dernier marqueur difficile à utiliser comme marqueur de substitution. Par ailleurs, de nombreux travaux soulignent les limites des CD4, utilisés seuls, comme marqueur de substitution, en raison notamment de leur variabilité. D'autre part, DeGruttola et al. (1993) montrent, à l'aide d'un modèle intégrant conjointement le suivi longitudinal des CD4 et le temps de survie avant le stade SIDA, que la variation des CD4 ne saurait refléter tout l'effet du traitement, violant ainsi le critère iii). Par contre, utilisés conjointement avec la charge virale, les CD4 constituent un bon outil pronostique de l'évolution de l'infection (Ledergerber et al., 1999 ; Kim et al.,

2000 ; Ghani et al., 2001).

La charge virale et les CD4 s'imposent donc comme les marqueurs les plus naturels de l'infection. La définition de critères de jugements, que ce soit dans les essais cliniques randomisés ou dans le suivi habituel des patients, va donc être basée sur l'analyse de leurs dynamiques.

### **1.2.2 Analyse observationnelle**

Trois types de critères d'analyse observationnelle peuvent être distingués pour juger de l'efficacité d'une stratégie thérapeutique :

1. critère de survie : temps d'atteinte d'un évènement clinique (stade classant SIDA), d'un succès virologique (temps avant que la charge virale ne tombe sous le seuil de détection) ou de l'échappement virologique (rebond de la charge virale au-dessus du seuil de détectabilité).
2. critère binaire : analyse, à l'issue d'une période de traitement définie à l'avance, de la proportion de patients en échec virologique, immunologique ou clinique. Le rapport Delfraissy (2002) définit l'échec virologique en trois stades : i) mineur si la concentration d'ARN-VIH plasmatique (noté [ARN-VIH]) est telle que  $[ARN-VIH] < 5000$  copies/ml; ii) modéré si  $5000 < [ARN-VIH] < 30000$  copies/ml; iii) sévère (qualifié d'échec biologique) si  $[ARN-VIH] > 30000$  copies/ml et un nombre de CD4 en dessous de 200 cellules/ $mm^3$ . L'échec immunologique est défini par l'absence d'ascension des CD4 malgré un traitement antirétroviral efficace depuis au moins six mois. Enfin, l'échec clinique se caractérise par la survenue de manifestations cliniques, témoin de la progression de la maladie (symptômes liés au VIH, nouvelle infection opportuniste ou rechute d'une infection préexistante, survenue de tumeurs).
3. critère continu : analyse du suivi longitudinal d'un marqueur. Par exemple, il est courant d'analyser le déclin de la charge virale à une date donnée par rapport à son niveau lors de l'initiation du traitement.

La principale limite de ces critères est qu'il sont, dans une certaine mesure, exploratoires. Par exemple, de nombreux auteurs ont montré qu'un point d'équilibre haut atteint par la charge virale après la primo-infection est associé à une progression rapide vers le stade SIDA alors qu'un point d'équilibre bas est associé à une progression plus lente (Mellors

et al., 1996 ; Ho, 1996 ; Pedersen et al., 1997 ; Mellors et al., 1997b). Cette constatation, appliquée au nouvel état d'équilibre atteint sous traitement, est l'un des rationnels de l'utilisation d'un critère binaire basé sur l'indétectabilité de la charge virale plasmatique ou d'un critère de survie basé sur le temps passé avec une charge virale indétectable. Ainsi suppose-t-on que plus le nadir de charge virale (valeur la plus basse atteinte) sera bas, plus l'émergence des mutations et donc l'évolution de la maladie seront ralenties (Carpenter et al., 1998).

Une fois choisi le critère d'analyse, la question de la méthodologie statistique à employer reste posée. L'essentiel des approches reposent sur des méthodes statistiques simples (test de comparaison de moyennes, de proportions). La détection de covariables/facteurs de risques (sex, mode de transmission, temps entre la séroconversion et la mise sous traitements, molécules de traitements) se fait elle aussi à l'aide de modèles de régression classiques. Pourtant, qu'on se situe dans le cadre d'un essai clinique ou dans celui d'une cohorte observationnelle, l'analyse statistique est fortement perturbée par les difficultés méthodologiques posées par :

- la prise en compte la censure de la charge virale (Ghani et al., 2001) : les biais engendrés par les approximations habituelles, comme l'imputation des valeurs censurées à la valeur du seuil de détection ou à sa moitié, peuvent être importants (Lynn, 2001).
- l'information apporté par le caractère répété des données : les critères définis ci-dessus s'intéressent essentiellement à des valeurs ponctuelles et négligent cet aspect. Le critère de survie, pour sa part, en tient compte indirectement mais il est très sensible à la fréquence des mesures, ce qui rend ce critère potentiellement instable.
- la prise en compte des sorties d'étude (Gruttola et Tu, 1994). En raison principalement de la faible adhérence aux traitements (voir section 1.1.2) et du changement de statut du patient (décision d'hospitalisation, décès), celles-ci peuvent être importantes. Ignorer ce processus qui est potentiellement corrélé à l'évolution des marqueurs étudiés (en particulier les CD4) peut conduire à des biais importants dans l'évaluation des déterminants de l'évolution de l'infection (Laird, 1988 ; Touloumi et al., 1999). De façon plus générale, le lien entre le temps d'atteinte d'un évènement et l'évolution des marqueurs requiert d'être pris en compte rigoureusement.

En outre, une telle approche observationnelle, si elle établit des règles de discrimination entre différentes stratégies thérapeutiques, ne fournit pas une aide majeure à une meilleure compréhension des dynamiques observées. Par exemple, Schmitz et al. (1999) montrent sur des singes qu'une dépletion transitoire de CD8 entraîne une augmentation de la charge virale dans un rapport de un à quatre logs. Réciproquement, la restauration à son niveau initial du système immunitaire entraîne un retour de la charge virale à son niveau d'équilibre initial. Comme le souligne Perelson (2002), cette expérience indique clairement que le niveau des CD8 est corrélé avec le niveau de charge virale. Mais comment aller plus loin que cette conclusion purement descriptive ? Comment savoir si ce lien est dû à une action directe anti-virale ou à une action indirecte, la remontée de CD8 stimulant d'autres mécanismes ?

Ainsi, les approches classiques d'analyse d'essais cliniques et de cohortes observationnelles ont trois principaux défauts : i) elles restent descriptives et supposent qu'on dispose de bons marqueurs de substitution, ce qui n'est jamais totalement le cas ; ii) l'analyse statistique basique est potentiellement biaisée ; iii) en se basant sur ces marqueurs, c'est à dire sur des reflets de l'infection, les hypothèses biologiques qu'on peut faire sur les déterminants de l'infection, en particulier les liens de causalité, sont limitées.

Afin de surmonter ces limites, de nombreux auteurs ont proposé des modélisations plus complexes de la dynamique des marqueurs.

### 1.2.3 Analyse longitudinale de la dynamique des marqueurs

L'utilisation de modèles linéaires mixtes (Laird et Ware, 1982) permet de prendre en compte et d'analyser le suivi longitudinal des marqueurs. Sous leur forme la plus simple, ces modèles peuvent s'écrire :

$$\begin{cases} Y_i = X_i\beta + Z_i\gamma_i + \epsilon_i \\ \gamma_i \sim N(0, G) \\ \epsilon_i \sim N(0, \Sigma_i) \\ \gamma_i \perp \epsilon_i, \forall i \end{cases} \quad (1.1)$$

où  $Y_i$  est le vecteur des variables à expliquer,  $\beta$  est le vecteur des effets fixes (communs à tous les patients étudiés),  $\gamma_i$  est le vecteur des effets aléatoires de l'individu  $i$  : ces derniers représentent l'écart individuel à la tendance globale (ou marginale) et  $\epsilon_i$  est le vecteur des erreurs individuelles (essentiellement des erreurs de mesures).  $X_i$  représente l'ensemble des variables explicatives (les temps de mesure en particulier) et  $Z_i$  est une sous matrice de  $X_i$  qui ne contient que les variables sur lesquels on alloue une variabilité individuelle, *i.e.* un effet aléatoire. Ce type de modèle permet de décrire l'évolution (supposée linéaire) d'une population, tout en prenant en compte la spécificité de la trajectoire de chaque individu, ainsi que la corrélation entre les mesures de chaque individu.

L'utilité de ces modèles dans l'étude de la dynamique virale est importante. Tout d'abord, d'un point de vue méthodologique, ils permettent de prendre en compte de manière rigoureuse les données de charge virale censurées, en particulier lorsque les paramètres sont estimés par maximum de vraisemblance (Jacqmin-Gadda et al., 2000). En outre, ces modèles constituent une première approche dans une tentative d'explication des déterminants de l'évolution de la charge virale. La pertinence d'un modèle linéaire à deux pentes (en fonction du temps depuis l'initiation du traitement) va par exemple dans le sens d'une décroissance virale en deux phases : un déclin très prononcé dans les premiers jours suivi d'une seconde phase beaucoup moins rapide. Cela donne du poids à l'idée, développée en section 1.1.2, de sanctuaires pour le virus, notamment un pool de cellules infectées à durée de vie plus longue (Perelson et al., 1997) qui permettent de relancer l'infection, malgré l'impact des régimes HAART.

Des analyses longitudinales des CD4 par modèles linéaires mixtes ont aussi été proposées. Toutefois, ces derniers étant une cible pour le virus, il semble pertinent de plutôt modéliser

la dynamique des CD4 avec celle du virus : l'utilisation de modèles bivariés a été proposée entre autres par Boscardin et al. (1998). Thiébaut et al. (2003) montrent la supériorité de cette approche par rapport à des approches séparées des deux marqueurs (dans le cas d'une modélisation par modèles linéaires mixtes). De plus, l'analyse de la corrélation dans ce type de modèle permet d'aller plus loin dans l'explication, car elle élimine en partie les problèmes liés à l'étude de la causalité : est-ce le niveau de CD4 qui a un impact sur la charge virale ou l'inverse ? (Brown et al., 2001). Les mêmes auteurs montrent des corrélations négatives entre les pentes de charge virale et celles de CD4. Ce résultat confirme l'intérêt des traitements HAART : plus le traitement sera puissant en terme de chute de la charge virale, plus la remontée des CD4 sera importante. Toutefois, l'utilisation des modèles bivariés est limitée par la difficulté de bien modéliser la structure de corrélation. De façon plus générale, l'inclusion de plusieurs biomarqueurs est difficile, les interactions entre ces derniers ne pouvant être synthétisés et compris par la seule analyse de la matrice de corrélation.

Les modèles conjoints représentent une autre possibilité de complexification. Ces modèles permettent de prendre en compte simultanément l'évolution longitudinale d'un marqueur et le temps de survenue d'un évènement, qu'on soupçonne justement d'être lié à l'évolution de ce marqueur. Dans le cas du VIH, ces modèles sont particulièrement pertinents pour étudier l'effet de l'évolution d'un marqueur sur la progression clinique, en corrigeant l'estimation des trajectoires en cas de sorties d'études informatives (Touloumi et al., 1999 ; Little, 1995 ; Gruttola et Tu, 1994). Thiébaut et al. (2005) combinent les approches ci-dessus, en proposant un modèle bivarié conjoint : cette modélisation permet ainsi de prendre en compte les informations biologiques et cliniques dans un même modèle.

Les modèles que nous avons présentés restent toutefois essentiellement descriptifs et exploratoires car leurs formulations sont faiblement conditionnées par la connaissance biologique. En conséquence, malgré des résultats intéressants, le pouvoir explicatif de ces modèles est limité. En outre, ces derniers n'intègrent pas de manière optimale les nouvelles données à disposition. Enfin, les hypothèses faites sur les dynamiques des marqueurs sont très fortes, et accordent peu de souplesse au modèle, que ce soit au niveau de la structure statistique (souvent complètement paramétrique) ou mathématique (le plus souvent linéaire). Thiébaut et al. (2003) rappellent par exemple que leurs analyses de déclin viral

sous HAART sont à prendre avec précaution, car le modèle linéaire ne permet pas d'intégrer la survenue d'éventuels rebonds de charge virale, qui est pourtant un évènement d'importance dans l'analyse de la dynamique virale.

Partant de ces constats, nous proposons d'étudier la dynamique des marqueurs à partir de modèles basés sur les connaissances de la physiopathologie de l'interaction virus/système immunitaire. Nous avons choisi de qualifier ces modèles d'*explicatifs*.

## 1.3 Modélisation explicative de la dynamique des marqueurs du VIH

Bien entendu, il est difficile d'établir une séparation nette entre les modèles purement explicatifs et ceux purement descriptifs. Par exemple, le modèle linéaire mixte peut intégrer certaines connaissances biologiques et contribuer à une meilleure compréhension de la dynamique de l'infection. Toutefois, nous réservons le terme de modèles explicatifs à des modèles entièrement fondés sur les connaissances que l'on a de l'interaction entre le virus et le système immunitaire. Une conséquence remarquable est que les paramètres de ces modèles ont une signification biologique.

### 1.3.1 Les premiers modèles

L'objectif est donc de traduire en équations les principaux mécanismes de l'interaction virus/système immunitaire décrits en section 1.1.1. Le virus  $V$  est produit par des cellules infectées, qui sont essentiellement des CD4. Si l'on note  $P$  le taux de production de virus par les CD4 et  $c$  le taux de décès *in vivo* supposé constant du virus, on a donc  $dV/dt = P - cV$ . Suite à la mise en place d'un traitement, qu'on peut considérer comme parfait dans les premiers jours qui suivent son initiation ( $P = 0$ ), la dynamique virale s'écrit donc  $dV/dt = -cV$  (Ho et al., 1995). Si l'on dispose de données de charge virale dans les premiers jours de l'infection, cette équation permet donc de déduire une estimation minimale de  $c$  (car en réalité le traitement n'est pas parfait et  $P > 0$ ), et donc de la demi-vie du virus  $\ln(2)/c$ . Si l'on considère qu'on se situe dans la phase asymptomatique au moment de la mise sous traitement ( $t = 0$ ), la charge virale est approximativement stables et on a donc  $P = cV_0$ . Cette équation permet donc de déduire le taux de produc-

tion  $P$  du virus. La même approche peut être appliquée pour la dynamique des CD4 afin de déduire le taux de production  $P'$  des lymphocytes. Wei et al. (1995), dans le même numéro de *Nature*, proposent un modèle comparable. Ces deux articles fournissent une estimation comparable du taux de décès du virus ( $2 \text{ jours}^{-1}$ ). Ces deux papiers ont eu un impact considérable car ils ont démontré que, bien que le niveau de charge virale soit constant, le cycle de réPLICATION du virus est extrêmement rapide : l'état asymptomatique ne doit donc pas être compris comme une pause dans l'infection, mais au contraire comme une période de renouvellement intensif du virus et les CD4. En outre, Ho et al. (1995) décrivent une corrélation négative entre le niveau de départ des CD4 et la remontée des CD4 : la déplétion lymphocytaire devrait donc être comprise comme une conséquence de la cytopathogénicité du virus, et non comme un déficit de production.

Perelson et al. (1996) proposent d'affiner les estimations précédentes en intégrant la dynamique des CD4 infectés et présentent un modèle biomathématique de l'interaction hôte-pathogène de type "proie-prédateur" (Fig 1.3). Ce modèle deviendra par la suite le modèle standard dans la modélisation dynamique de l'interaction virus-système immunitaire. En l'absence de traitement, ce modèle s'écrit sous la forme d'un système d'Equations Différentielles Ordinaires (abrégé en ODE en anglais) :

$$\begin{cases} \frac{dT}{dt} = \lambda - kVT - dT \\ \frac{dI}{dt} = kVT - \delta I \\ \frac{dV}{dt} = pI - cV \end{cases} \quad (1.2)$$

où  $T$  est la concentration de CD4 activés non infectées,  $I$  est la concentration de CD4 activées infectées et  $V$  est la concentration de virus.  $\lambda$  est le taux de production journalier de nouvelles cellules saines par le thymus,  $p$  est le nombre de virions produits par une cellule infectée et  $kVT$  est un terme de loi d'action des masses : dans l'hypothèse où le sang est un espace parfaitement homogène, le nombre de nouvelles cellules infectées est proportionnel à la fois au nombre de virus et au nombre de cellules cibles. Enfin  $d$ ,  $\delta$  et  $c$  sont les taux de décès de  $T$ ,  $I$  et  $V$  (respectivement).

A l'initiation d'un traitement basé sur une antiprotéase (du ritonavir dans Perelson et al., 1996), il devient nécessaire de distinguer le virus infectieux  $V_I$  du virus non-infectieux  $V_{NI}$ . L'antiprotéase, d'efficacité  $\eta_{PI}$ , produit du virus non-infectieux (voir section 1.1.1).

Le modèle sous antiprotéase est donc :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dT}{dt} = \lambda - kV_I T - dT \\ \frac{dI}{dt} = kV_I T - \delta I \\ \frac{dV_I}{dt} = (1 - \eta_{PI})pI - cV_I \\ \frac{dV_{NI}}{dt} = \eta_{PI}pI - cV_{NI} \end{array} \right. \quad (1.3)$$

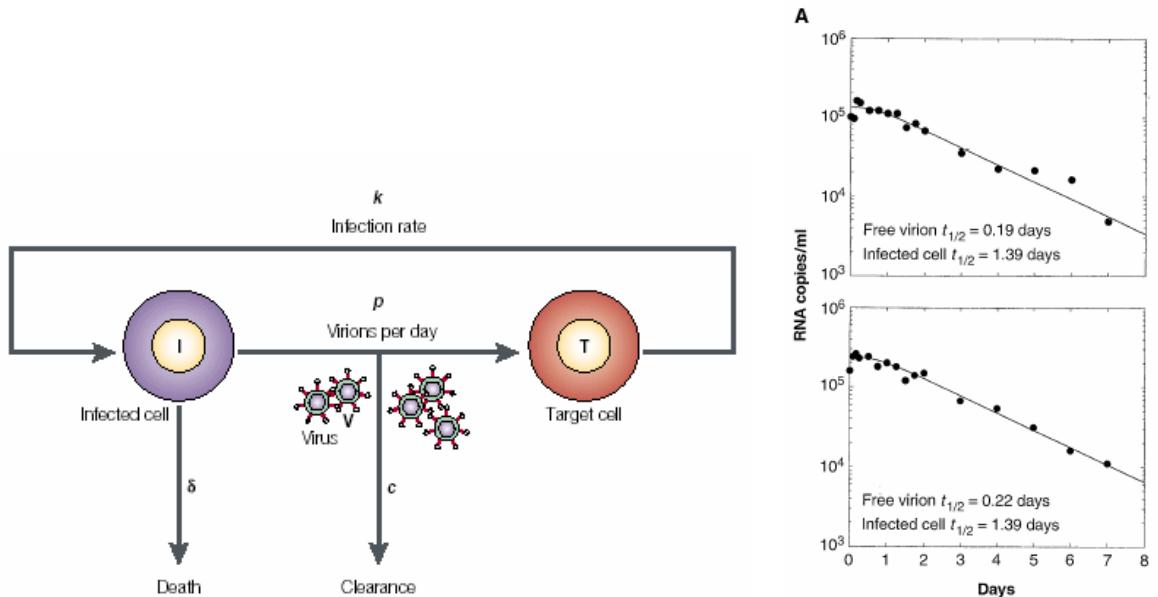
On peut ajouter à ce modèle l'effet éventuel d'inhibiteurs de la transcriptase inverse.

Dans ce cas, l'effet des inhibiteurs est noté  $\eta_{RT}$  et l'infectivité du modèle (1.3) devient  $k' = (1 - \eta_{RT})k$ .

En se focalisant sur les tous premiers jours (jusque J8) qui suivent l'initiation du traitement, on peut considérer que  $T$  est constant et le système (1.3) devient linéaire ; si l'on suppose en outre que l'efficacité des inhibiteurs de la protéase est totale ( $\eta_{PI} = 1$ ), la dynamique virale  $V = V_I + V_{NI}$  est décrite par l'expression suivante :

$$V(t) = V_0 \exp(-ct) + \frac{cV_0}{c - \delta} * \left\{ \frac{c}{c - \delta} [\exp(-\delta t) - \exp(-ct)] - \delta t \exp(-ct) \right\} \quad (1.4)$$

Disposant de mesures fréquentes de charge virale, Perelson et al. (1996) effectuent ensuite



**Fig. 1.3 :** (gauche) Cycle simplifié de réplication du virus (Perelson, 2002). (droite) Fit de la charge virale sous HAART par régression non-linéaire de l'équation (1.4) (Perelson et al., 1996)

une régression non linéaire patient par patient (voir Fig 1.3) et affinent ainsi les estimations

de  $c$  ( $3 \text{ jour}^{-1}$ ) et de  $\delta$  (1,6).

Dans une étude ultérieure intégrant de nouveaux types de données, Perelson et al. (1997) ont étudié la dynamique virale sur une plus longue période (jusque J40). La modélisation inclue les CD4 latents infectés L (taux de décès  $\mu_L$ ) et les cellules infectées M présentes dans les tissus, macrophages ou cellules dendritiques (taux de décès  $\mu_M$ ). La dynamique virale est décrite par l'équation suivante :

$$V(t) = V_0 [A \exp(-\delta t) + B \exp(-\mu_L t) + C \exp(-\mu_M t) + (1 - AB - C) \exp(-ct)] \quad (1.5)$$

Si la charge virale plasmatique décroît très vite jusque J14 (comme constaté dans les études précédentes), la décroissance est moins rapide par la suite. En analysant les mesures d'ADN proviral et de virémie cellulaire infectieuse à disposition (voir section 1.1.3), Perelson et al. (1997) ré-estiment  $\delta$  ( $1,1 \text{ jour}^{-1}$ ),  $\mu_L$  (8,5) et  $\mu_M$  (14,1). Ces résultats expliquent le déclin biphasique de la charge virale : la seconde phase moins rapide pourrait être due à l'activité de cellules infectées à durée de vie plus longue ( $L$  et  $M$ ). En quantité négligeable en l'absence de traitement, celles-ci deviennent proportionnellement plus importantes sous HAART car les CD4 infectés, principale source de production du virus, sont alors grandement réduits. Perelson et al. (1997) suggèrent de ce fait l'existence de "sanctuaires" pour le virus dans les tissus (voire dans d'autres zones non modélisées comme le cerveau), qui rendent son éradication impossible avant plusieurs années.

Ainsi, contrairement aux méthodes descriptives de la section 1.2.3, c'est en allant de la biologie vers le modèle qu'une explication pertinente du déclin biphasique de la charge virale sous HAART a pu être donné, tout en permettant une première quantification des cinétiques sous-jacentes. Pour résumer, l'intérêt de cette approche "méchanistique" est triple :

1. Proposer et simuler un modèle biomathématique permet de discuter la pertinence d'une hypothèse biologique ; Phillips (1996) montre que le déclin de la charge virale après le pic de primo-infection peut s'expliquer simplement par la nature "proie-prédateur" du système biomathématique (1.2) sans avoir à intégrer une réaction du système immunitaire ; Perelson et al. (1993) étudient l'hypothèse d'une déplétion progressive des CD4 en fonction de la cytopathicité des souches virales.
2. Une fois posé un modèle satisfaisant, l'estimation des paramètres permet de quantifier les interactions en jeu et de mesurer notamment l'effet *in vivo* des molécules de

traitement et plus seulement les conséquences de cet effet. Le principal apport des trois articles princeps est d'avoir changé la vision de l'infection en rappelant l'aspect intensif du cycle de réPLICATION du virus et du turnover des CD4.

3. Les capacités prédictives du modèle sont améliorées puisqu'on intègre de l'information biologique dans la construction de ces derniers.

Toutefois, Le Corfec et al. (2000), dans une revue très didactique de cette approche, rappellent certaines limites de ces modèles. Tout d'abord, l'hypothèse d'équilibre avant traitement est discutable. En effet, la décision de mise sous traitement est souvent prise en raison précisément de la dégradation de l'un des biomarqueurs. En particulier, les données de charge virale à la mise sous traitement ne sont visiblement pas stables pour certains patients dans Ho et al. (1995) et de même, les données de CD4 dès la première semaine de traitement dans Perelson et al. (1996) ne sont pas à l'équilibre (Markowitz et al., 1995). L'analyse de données sur une plus longue période, comme c'est le cas dans Perelson et al. (1997), où des données jusque au 40ème jour sont utilisées, est donc d'autant plus discutable. Enfin, si le potentiel explicatif de ces modèles est important, leur maniement doit être fait avec prudence, car les conclusions, suivant les modèles introduits, peuvent être contradictoires. Par exemple, une discussion majeure a lieu sur l'origine de la déplétion des CD4 au cours de l'infection. Nous avons vu que Ho et al. (1995), observant une corrélation négative entre la remontée des CD4 sous HAART et leur niveau de départ, ont attribué une majeure partie de la dépletion lymphocytaire à la cytopathicité du virus. Mohri et al., 1998, généralisant cette observation, émet l'hypothèse que la déplétion progressive des CD4 pendant l'infection pourrait être due en grande partie aux destructions lymphocytaires induites par le virus. Le thymus, pour maintenir l'homéostasie, augmente sa production, mais sa capacité à contenir la pression intense du virus diminue au fil du temps. Grossman et al. (2002), pour leur part, proposent une autre hypothèse en partant du constat que le taux de cellules activées, en raison des nombreuses stimulations antigéniques, est très important chez les sujets infectés. Ce surcroît d'activation pourrait expliquer le déclin progressif des CD4 car les cellules activées ont naturellement un taux de décès plus important et forment en outre la cible prioritaire du virus. L'importance du turnover des CD4 démontrée par l'équipe de David Ho proviendrait quant à elle de la prolifération importante due à une activation élevée.

Cette discussion illustre la limite de l'utilisation des modèles biomathématiques ; un modèle reste une représentation partielle de la réalité, en particulier quand il doit rester suffisamment simple pour pouvoir *in fine* estimer ses paramètres. Il est donc très optimiste de penser qu'un modèle mathématique puisse apporter seul la réponse à une hypothèse biologique. En outre, les travaux introduits présentent des limites méthodologiques que nous allons expliquer, en donnant au préalable aux modèles biomathématiques et statistiques un cadre plus formel.

### 1.3.2 Structure générale de ces modèles

#### Modèle biomathématique pour le système

Soit  $i$  un patient donné et  $n$  la taille de l'échantillon. On note  $K$  le nombre de composantes du vecteur d'état  $X$  ( $K = 3$  dans le modèle (1.2)). A chaque instant  $t \in \mathbb{R}^+$  la valeur de  $X$  est notée  $X^{(i)}(t) = (X_1^{(i)}(t), \dots, X_K^{(i)}(t))$ . Le modèle est régi par un vecteur de paramètres  $\xi^{(i)} = (\xi_1^{(i)}, \dots, \xi_p^{(i)})$  qui détermine la trajectoire attendue du vecteur d'état :

$$\begin{cases} \frac{dX^{(i)}(t)}{dt} = f(X^{(i)}(t), \xi^{(i)}) \\ X^{(i)}(0) = h(\xi^{(i)}) \end{cases} \quad (1.6)$$

où  $f$  et  $h$  sont supposées deux fois différentiables par rapport à  $\xi^{(i)}$ . On pose  $X(t, \xi^{(i)}) = X^{(i)}(t)$  pour souligner que  $\xi^{(i)}$  détermine complètement la trajectoire  $X^{(i)}(t)$ . L'existence d'une condition d'équilibre à  $t_0$  est une hypothèse fréquente, mais pas indispensable : cette hypothèse est souvent contredite par les données réelles (voir section précédente).

De nombreux auteurs proposent, dans la mesure où (1.6) n'a pas de solution analytique (système proie-prédateur), de faire certaines hypothèses biologiques (comme  $T$  constant ou  $\eta = 1$  dans (1.4)) qui permettent de simplifier le modèle de départ et de travailler sur un modèle défini par une solution explicite. Nous appelons donc *modèle simplifié* la réécriture du modèle biomathématique (1.6) après simplification, linéarisation et résolution. Afin de ne pas surcharger les écritures, nous considérons, sauf mention contraire, que ces modèles ont pour objectif, à l'instar de (1.4) et (1.5), la modélisation de la seule dynamique virale V. Dans ce cas, on peut donc écrire V comme une somme de termes exponentiels (Wu et

Ding, 1999) :

$$V(t, \boldsymbol{\xi}^{(i)}) = \sum_{k=1}^K P_k^{(i)} \exp\left(-\lambda_k^{(i)} t\right) \quad (1.7)$$

où  $P_k^{(i)}$  et  $\lambda_k^{(i)}$  sont des combinaisons des paramètres biologiques  $\boldsymbol{\xi}^{(i)}$ .

### Modèle statistique pour les observations

Les observations ne correspondent pas nécessairement aux vecteurs d'états du système. Par exemple, on peut distinguer dans un modèle explicatif la dynamique des CD4 quiescents de celle des CD4 activés alors que seule la concentration des CD4 totaux sera observée. Par ailleurs, on peut, pour des raisons d'adéquation aux hypothèses d'homoscedasticité, préférer travailler sur des transformations mathématiques des quantités mesurées ; comme expliqué en section 1.1.3, on travaille généralement sur l'échelle logarithmique de la charge virale plasmatique. De même, les travaux basés sur des modèles descriptifs (présentés en section 1.2.3) ont constaté que la modélisation des CD4 sur l'échelle naturelle conduit à des résidus hétéroscedastes (la variance des résidus augmente avec la valeur de la prédiction). Certains auteurs ont donc suggéré de travailler sur des transformations log ou racine : Taylor et al. (1994) proposent pour leur part une transformation en racine quatrième. De manière plus précise, on observe donc des fonctions des variables d'états du système  $g_m(\cdot)$  de  $\mathbb{R}^K$  vers  $\mathbb{R}$ . L'ensemble de ces  $M$  fonctions sera appelé dans la suite de ce document les *compartiments observés* du système. En outre, les valeurs des paramètres individuels  $\boldsymbol{\xi}^{(i)}$  des sujets d'une même étude clinique sont liées entre eux *via* des paramètres de population  $\phi'_l$  et  $\Sigma'$ <sup>1</sup>. En l'absence de covariables,  $\phi'_l$  et  $\Sigma'$  sont respectivement les vraies moyennes et variances des  $\boldsymbol{\xi}^{(i)}$ . Enfin, on pose  $y_{ijm}$  la  $j$ -ème observation du  $m$ -ème compartiment ( $j \leq n_{im}$ ) observé chez le sujet  $i$  au temps  $t_{ijm}$ .

Le modèle pour les observations peut s'écrire :

$$\begin{cases} y_{ijm} = g_m(X(t_{ijm}, \boldsymbol{\xi}^{(i)})) + \epsilon_{ijm} \\ \boldsymbol{\xi}^{(i)} \sim \mathcal{N}(\phi'_l, \Sigma') \\ \epsilon_{ijm} = \epsilon_{ijm,mes} + \epsilon_{ijm,ech} \end{cases} \quad (1.8)$$

où  $\epsilon_{ijm}$  représente les variations intra-sujets non expliquées par le modèle.  $\epsilon_{ijm}$  se décompose en une erreur d'observation  $\epsilon_{ijm,mes}$  et une erreur d'échantillon  $\epsilon_{ijm,ech}$ . Celles-ci sont

---

<sup>1</sup>le chapitre 2 revient en détail sur les méthodes d'inférence dans ces modèles

supposés gaussiennes et indépendantes conditionnellement à  $\boldsymbol{\xi}^{(i)}$ ; en outre  $\mathbb{E}(\epsilon_{ijm,mes}|\boldsymbol{\xi}^{(i)}) = \mathbb{E}(\epsilon_{ijm,ech}|\boldsymbol{\xi}^{(i)}) = 0$ . Le processus  $\epsilon_{ijm,mes}$  est le plus souvent considéré comme un processus indépendant ( $\text{corr}(\epsilon_{ijm,mes}, \epsilon_{ij'm,mes}) = 0, j \neq j'$ ); cependant, l'amplitude de l'erreur de mesure peut dépendre de la valeur obtenue, en particulier si la transformation  $g_m$  n'a pas éliminé intégralement l'hétéroscedasticité. Dans le cas de la mesure de la charge virale une valeur extrême, à la limite des seuils de détection (minimum ou maximum) risque d'être mesurée avec une grande imprécision car les techniques de quantifications sont optimisées pour des niveaux médians de charge virale. On peut prendre en compte cette difficulté en modélisant la variance des erreurs de mesure par  $\text{Var}(\epsilon_{ijm,mes}) = \sigma_m^2 [1 + g_m(X(t_{ijm}, \boldsymbol{\xi}^{(i)}))]$ . Si on considère en revanche que celle-ci est indépendante de la valeur mesurée, alors  $\text{Var}(\epsilon_{ijm,mes}) = \sigma_m^2$ . Les valeurs prédites en tenant compte des erreurs de mesure ( $g_m(X(t_{ijm}, \boldsymbol{\xi}^{(i)})) + \epsilon_{ijm,mes}$ ) ne correspondent cependant pas encore complètement aux données observées, amenant certains auteurs à réfléchir sur des extensions de la structure de ces modèles.

Dans le cadre du VIH, l'interaction virus-cellules cibles est modélisé par le terme  $kVT$  dans (1.2). Ce dernier ne rend pas compte de l'aspect aléatoire des mécanismes biologiques et le compartiment sanguin est considéré comme un volume homogène, parfaitement mixé, c'est à dire sans "poche" de virus ou de CD4. Une limite des modèles biomathématiques déterministes serait donc de ne pas intégrer l'aspect intrinsèquement aléatoire de ces interactions. Certains auteurs ont proposé d'ajouter une composante stochastique dans le système d'équations différentielles : Tuckwell et Le Corfec (1998) proposent notamment une amélioration du modèle de primo-infection (1.2) :

$$\begin{cases} \frac{dT}{dt} = \lambda - dT - kVT - \sqrt{kVT}dW \\ \frac{dI}{dt} = kVT - \delta I + \sqrt{kVT}dW \\ \frac{dV}{dt} = pI - cV - \sqrt{kVT}dW \end{cases} \quad (1.9)$$

où  $W$  est un processus Brownien standard, de moyenne 0 et de variance  $t$  à la date  $t$ : la rencontre virus-CD4 devient un processus aléatoire. D'autres modélisations de ces interactions, privilégiant des lois discrètes plutôt que continues ont aussi été proposées (Tan et Wu, 1998 ; Kamina et al., 2001). Toutefois, l'inférence est impossible sur des modèles non simplifiés (systèmes d'équations différentielles non-linéaires stochastiques) et elle est très compliquée sur des modèles simplifiés. En outre, cette composante stochastique n'a d'in-

fluence que lorsque les quantités en jeu sont faibles, comme c'est le cas en primo-infection. Dans ce cadre, ces modèles peuvent servir pour donner plus de souplesse à la dynamique, en modifiant la date du pic charge virale (voir en Annexe) et en modélisant la possibilité d'une extinction naturelle de l'infection. Nous choisissons donc, en raison du faible gain de cette modélisation en regard de sa complexité, d'ignorer cette modélisation dans la suite de notre exposé, et de nous focaliser sur des systèmes d'équations différentielles déterministes.

Un assouplissement plus simple des modèles déterministes est de considérer les  $\epsilon_{ijm,ech}$  comme les fluctuations d'échantillons et de proposer pour ces derniers une structure de variance-covariance adaptée (Diggle et al., 2002). En particulier, on peut considérer une corrélation temporelle entre ces fluctuations, qui s'atténuerait de manière exponentielle avec le temps  $corr(\epsilon_{ijm,ech}, \epsilon_{ij'm,ech}) = e^{(-\rho|t_{ijm} - t_{ij'm}|)}$ . Dans le contexte du VIH, les données ne sont cependant pas assez riches pour envisager de distinguer cette erreur d'échantillon de l'erreur de mesure. En conséquence, nous considérerons dans la suite de ce document que l'erreur est essentiellement une erreur de mesure :  $\epsilon_{ijm} = \epsilon_{ijm,mes}$ .

Enfin, nous tiendrons compte des contraintes existants sur les paramètre, en particulier celle de positivité des paramètres biologiques, en imposant des transformations  $\Psi$  sur les paramètres. En notant  $\tilde{\xi}_l^{(i)} = \Psi_l(\xi_l^{(i)})$ ,  $l \leq p$  le vecteur des paramètres individuels reparamétrisés, le système (1.8) devient :

$$\begin{cases} y_{ijm} = g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\xi}^{(i)})) + \epsilon_{ijm} \\ \tilde{\xi}_l^{(i)} \sim \mathcal{N}(\phi_l, \Sigma) \\ \epsilon_{ijm} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_m^2) \end{cases} \quad (1.10)$$

Les fonctions  $g_m$  sont obtenues par résolution numérique du système d'équations différentielles (1.6). Toutefois, l'essentiel des travaux de la littérature reposent sur une approche simplifiée type (1.7) et  $g_m$  a dans ce cas une écriture explicite.

### 1.3.3 Modèles simplifiés & limites

Si les modèles simplifiés sont par définition de maniements plus faciles que les modèles originaux, l'interprétation biologique des paramètres n'est pas aussi directe. Cependant, on peut souvent relier les pentes  $\lambda_k$  de (1.7) à l'effet du traitement : Ding et Wu (1999) démontrent dans un modèle biexponentielle de déclin de la charge virale que les  $\lambda_k$  sont

des fonctions monotones de l'efficacité des traitements : la comparaison des pentes de décroissance virale *via* l'estimation des  $\lambda_k$  fournit donc une estimation des différences d'efficacité de traitement sur le court-terme. Mueller et al. (1998) montrent en outre que ces paramètres sont corrélés avec les réponses à long-terme. Néanmoins, il serait néanmoins délicat d'utiliser ces marqueurs comme des marqueurs de substitution car ces modèles sont adaptés uniquement à des analyses sur de courtes périodes de temps.

Pour l'estimation des paramètres, trois approches peuvent être distinguées ; i) consiste à estimer les  $\tilde{\xi}^{(i)}$  patient par patient et à présenter moyenne, médiane ou variance empirique obtenus sur l'ensemble des sujets (Perelson et al., 1996 ; Neumann et al., 1998 ; Ribeiro et al., 2002 ; Dixit et al., 2005) ; ii) consiste à estimer les paramètres individuellement sur chaque patient puis à agréger les données observées en introduisant des pondérations liées à la contrainte sur la dispersion des paramètres (Steimer et al., 1984 ; Davidian et Giltinan, 1995) ; iii) consiste à traiter directement (1.8) par des méthodes d'estimations propres aux modèles non-linéaires à effets mixtes que nous développons en détail au chapitre 2. L'approche i) est la plus courante bien qu'elle soit connue pour fournir de mauvais estimateurs des paramètres, en surestimant la dispersion inter-individus. Wu et al. (1998) comparent, par simulation, les estimations fournies par ii) et iii) et montrent l'intérêt de iii) en termes d'erreurs quadratiques moyennes, en particulier quand le nombre de données par sujet est faible. En effet, l'approche individuelle est très instable en raison de sa sensibilité au nombre de données par individus. Par ailleurs, Ding et Wu (2001) comparent ces approches pour détecter des différences de déclin virale entre deux groupes A et B ( $H_0 : \lambda_{1A} = \lambda_{1B}$ ). Par simulation, les auteurs étudient les caractéristiques de leur test (erreur de type I et puissance). Comets et Mentré (2001), dans un contexte différent, ajoutent l'approche i) à la comparaison : les deux articles concluent assez nettement à la supériorité de l'approche populationnelle. Notons cependant que les tests utilisés ne sont pas les mêmes : dans l'approche populationnelle, Ding et Wu (2001) proposent d'utiliser un test basés sur les estimateurs Bayésiens empiriques alors que Comets et Mentré (2001) utilisent un test de rapport de vraisemblance.

Indépendamment des méthodes d'inférence utilisées, si les modèles simplifiés permettent de fournir de bons estimateurs de l'efficacité des traitements (au moins sur le court terme), cette approche conserve trois limites importantes :

1. En simplifiant le modèle, la focalisation est uniquement sur la dynamique virale (voir (1.7)) et on se prive de l'information contenue dans la dynamique des CD4.
2. Ces simplifications éliminent également du modèle final certains paramètres d'intérêt, comme l'infectivité  $k$  du virus qui disparaît entre (1.3) et (1.4).
3. Enfin, les hypothèses nécessaires pour simplifier le modèle sont discutables : par exemple, supposer le nombre de lymphocytes CD4 constant est déjà discutable sur des analyses à très court-terme, et l'est d'autant plus lorsqu'on traite des données sur de plus longues périodes de temps.

Ces limites peuvent être surmontées en travaillant sur les modèles biologiques non-simplifiés.

#### 1.3.4 Modèles non-simplifiés

L'absence de solution analytique dans le système ODE rend l'estimation des paramètres très difficile et constitue la principale difficulté des modèles non-simplifiés. C'est pourquoi les travaux reposant sur une estimation dans les systèmes biologiques non-simplifiés sont assez peu nombreux et reposent sur des estimations patient par patient (Stafford et al., 2000 ; Ciupe et al. (2006)). Pourtant, le design des études n'étant pas suffisamment intensif “là où il y a de l'information”, c'est à dire dans les premiers jours qui suivent la mise sous HAART (dans le cas de l'analyse d'essais cliniques), peu de paramètres peuvent être estimés simultanément. Les problèmes d'identifiabilité constituent donc un écueil majeur de l'approche patient par patient sur modèle non-simplifié. Par ailleurs, l'intérêt de l'approche populationnelle a été démontré dans le cas des modèles simplifiés, à la fois pour surmonter les problèmes d'identifiabilité et pour améliorer l'estimation des paramètres de population. Il paraît donc naturel de chercher à estimer, dans un cadre populationnel, les paramètres biologiques sur un modèle non-simplifié. Pour le moment, seules des approches Bayésiennes (voir section 2.2.2) ont été proposées (Putter et al., 2002 ; Han et Chaloner, 2004, Banks et al., 2005 ; Wu et al., 2005 ; Huang et Wu, 2006 ; Huang et al., 2006). Nous revenons plus en détail sur la méthodologie de l'approche Bayésienne dans le chapitre 2.

## 1.4 Conclusion

Cette introduction a permis de montrer l'apport des modèles explicatifs. Dans l'analyse d'essais cliniques, ces derniers peuvent fournir une estimation *in vivo* de l'efficacité des traitements et, de façon plus générale, ils peuvent attester de la pertinence d'hypothèses biologiques ou encore quantifier des dynamiques biologiques.

La grande majorité des modèles explicatifs présentés dans la littérature sont des modèles simplifiés, c'est à dire des modèles dans lesquels le modèle biomathématique basé sur un système ODE a été simplifié et linéarisé pour obtenir une équation explicite de la charge virale. Ces modèles simplifiés présentent cependant l'inconvénient de ne pas décrire l'infection dans son ensemble. Il est donc nécessaire de développer la modélisation et l'inférence sur des modèles explicatifs non-simplifiés mais les difficultés numériques rendent cette approche particulièrement compliquée.

Enfin, quel que soit le modèle retenu, simplifié ou non, l'utilisation de méthodes d'inférence adaptées s'imposent pour l'estimation des paramètres. Ces méthodes rentrent dans le cadre de l'inférence dans les modèles non-linéaires à effets mixtes.

# Chapitre 2

## Estimation dans les modèles non-linéaires à effets mixtes

Le chapitre 1 a conclu sur l’importance d’une modélisation populationnelle de la dynamique virale sur des modèles non simplifiés. Afin de comprendre et de justifier les choix qui nous ont menés à proposer une méthode originale d’estimation des paramètres de ces modèles au chapitre 4, nous proposons ici une revue des principales méthodes d’inférence dans les modèles non-linéaires à effets mixtes. Cet “état de l’art” n’a pas prétention à être exhaustif; l’objectif de ce travail étant la modélisation de la dynamique virale, certaines des hypothèses générales sur les modèles non-linéaires à effets mixtes ne sont pas discutées ici et nous renvoyons dans ce cas le lecteur aux ouvrages de Davidian et Giltinan (1995) et Pinheiro et Bates (2000), ainsi qu’à Pillai et al. (2005) qui proposent un aperçu historique de la naissance et de l’évolution des modèles non-linéaires à effets mixtes.

### 2.1 Introduction

Nous avons déjà introduit au cours du chapitre précédent des exemples de modèles non-linéaires. Tentons de définir ces modèles de façon plus générale.

On appelle “modèle non-linéaire” un modèle dans lequel la fonction reliant les paramètres du modèle aux observations est non-linéaire. Dans le cadre du VIH, la fonction  $f$ , non-linéaire en les paramètres  $\xi^{(i)}$ , déterminent les observations  $y_{ijm}$  (comme dans (1.6) et (1.7)). Cette modélisation est particulièrement adaptée aux modèles “méchanistiques” ou

“explicatifs” c'est à dire des modèles dans lesquels on connaît (ou tout du moins on suppose connaître) le mécanisme produisant la réponse observée. Notons qu'une fonction non-linéaire pourrait être approximée par un modèle linéaire polynômial : l'intérêt d'une modélisation non-linéaire par rapport à une telle approximation est très claire puisque, d'une part, elle obéit au principe de parcimonie (en diminuant le nombre de paramètres du modèle) et, d'autre part, les paramètres du modèle non-linéaire ont une interprétation biologique, ce qui leur confère une capacité explicative que n'ont pas ceux des modèles polynômiaux.

Le terme “effets mixtes” renvoie pour sa part au fait que certaines observations issues de la même entité (par exemple les données d'un même patient) partagent des caractéristiques communes, c'est à dire, en termes statistiques, des paramètres communs. De plus, la valeur de ce paramètre peut varier entre les différentes entités considérées. Ces variations “inter-sujets” peuvent être en partie expliquées par certaines covariables : le sexe, l'âge ou la molécule de traitement administrée par exemple. Cependant, ces covariables ne suffisent pas toujours à expliquer toute la différence observée sur un paramètre donné entre les sujets : cette part aléatoire peut être considérée, comme classiquement en statistique, comme un manque de connaissances biologiques (l'oubli de facteurs de risque par exemple) ou comme la part d'aléatoire irréductible. Sheiner et al. (1972) ont proposé en conséquence de considérer, dans un cadre non linéaire, le paramètre en question comme la réalisation d'une variable aléatoire ayant une distribution connue. Nous considérerons dans ce chapitre uniquement des effets aléatoires Gaussiens comme c'est le cas dans les équations (1.8)-(1.10), bien que certains auteurs aient proposé des modélisations non paramétriques des distributions des effets aléatoires (Mallet, 1986). Les effets mixtes confèrent une souplesse au modèle, puisqu'ils permettent à chaque entité d'avoir une valeur de paramètre qui lui soit propre, tout en posant un lien entre les différentes valeurs prises par ce paramètre entre les entités en question.

Comme l'ont résumé Davidian et Giltinan (2003), les objectifs d'un modèle non-linéaires à effets mixtes sont donc de comprendre le comportement “typique” d'un processus décrit par une fonction (non-linéaire) de paramètres d'intérêt, de “capturer” le rôle de covariables dans la distribution d'un paramètre, c'est à dire leurs influences dans la dynamique en question, et enfin d'augmenter, grâce à l'aspect explicatif, les capacités prédictives.

## Notations

Dans le cadre de la modélisation de la dynamique virale, nous considérons un échantillon de  $n$  patients indépendants. Le mécanisme reliant les observations aux paramètres biologiques est expliqué tout au long de la section 1.3 et est modélisé par des fonctions non-linéaires  $g_m$ . Pour chaque individu, le modèle biologique est défini par un vecteur de paramètres inconnus de dimension  $p$ , notés  $\xi^{(i)}$  et redimensionnés  $\tilde{\xi}^{(i)}$ . Le modèle statistique pour les observations est une extension du modèle (1.10) :

$$\begin{cases} y_{ijm} = g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\xi}^{(i)})) + \epsilon_{ijm} \\ \tilde{\xi}_l^{(i)} = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l + \mathbf{w}_l^{(i)'} \mathbf{b}^{(i)}, \quad l \leq p \end{cases} \quad (2.1)$$

où les  $\phi_l$  sont les intercepts du  $l$ -ème paramètre biologique  $\tilde{\xi}_l^{(i)}$ ,  $\mathbf{z}_l^{(i)}$  et  $\mathbf{w}_l^{(i)}$  (' pour la transposée) sont les vecteurs des variables explicatives associées respectivement aux effets fixes et aléatoires de  $\tilde{\xi}_l^{(i)}$ .  $\boldsymbol{\beta}_l$  est le vecteur des coefficients de régression associés aux effets fixes. En outre  $\mathbf{b}^{(i)} \sim \mathcal{N}(0, \Sigma)$ , où  $\mathbf{b}^{(i)}$  est le vecteur individuel des effets aléatoires de dimension  $q$ . De plus, comme il est fait classiquement, on suppose  $\mathbf{b}^{(i)} | \mathbf{z}^{(i)} \perp \epsilon_i | \mathbf{z}^{(i)}$ , où  $\mathbf{z}^{(i)} = (\mathbf{z}_l^{(i)})_{l=1,\dots,p}$ . Soit  $\mathbf{A} = (a_{l''l'})_{l' \leq l'' \leq q}$  la matrice triangulaire inférieure de termes diagonaux positifs telle que  $\mathbf{A}\mathbf{A}' = \Sigma$  (décomposition de Cholesky). On peut écrire  $\mathbf{b}^{(i)} = \mathbf{A}\mathbf{u}^{(i)}$  avec  $\mathbf{u}^{(i)} \sim \mathcal{N}(0, I_q)$ . Notons  $\boldsymbol{\phi} = (\phi_l)_{l=1,\dots,p}$ ,  $\boldsymbol{\beta} = (\boldsymbol{\beta}_l)_{l=1,\dots,p}$ ,  $\boldsymbol{\sigma} = (\sigma_m)_{m=1,\dots,M}$  et  $\boldsymbol{\theta} = (\boldsymbol{\phi}, \boldsymbol{\beta}, \mathbf{A}, \boldsymbol{\sigma})$  avec  $\dim(\boldsymbol{\theta}) = s$ . Soit  $p(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}, \mathbf{u}^{(i)}; \boldsymbol{\phi}, \boldsymbol{\beta}, \mathbf{A}, \boldsymbol{\sigma})$  la vraisemblance de l'individu  $i$  sachant les effets aléatoires  $\mathbf{u}^{(i)}$  et les covariables  $\mathbf{z}^{(i)}$ . On peut écrire<sup>1</sup> :

$$p(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}, \mathbf{u}^{(i)}; \boldsymbol{\phi}, \boldsymbol{\beta}, \mathbf{A}, \boldsymbol{\sigma}) = \prod_{j,m} \frac{1}{\sigma_m \sqrt{2\pi}} \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{Y_{ijm} - g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\xi}^{(i)}))}{\sigma_m} \right)^2 \right] \quad (2.2)$$

On en déduit la contribution marginale de l'individu  $i$  à la vraisemblance observée, en notant  $\phi$  la densité de la loi normale standard de dimension  $q$  :

$$p(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}; \boldsymbol{\phi}, \boldsymbol{\beta}, \mathbf{A}, \boldsymbol{\sigma}) = \int_{\mathbf{u} \in \mathbb{R}^q} \left\{ \prod_{j,m} \frac{1}{\sigma_m \sqrt{2\pi}} \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{Y_{ijm} - g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\xi}^{(i)}))}{\sigma_m} \right)^2 \right] \right\} \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u} \quad (2.3)$$

La vraisemblance observée sur l'échantillon  $p(\mathbf{y} | \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta})$  ainsi que la logvraisemblance  $L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})$

---

<sup>1</sup>Nous proposons au chapitre 3 une modification de (2.2) dans le cas où certaines données sont censurées.

sont déduites par indépendance entre les patients :

$$\begin{aligned} p(\mathbf{y}|\mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}) &= \prod_i p(\mathbf{y}_i|z^{(i)}; \boldsymbol{\theta}) \\ L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}) &= \sum_i L(\mathbf{y}_i; \boldsymbol{\theta}) = \sum_i \ln [p(\mathbf{y}_i|z^{(i)}; \boldsymbol{\theta})] \end{aligned} \quad (2.4)$$

L'estimateur du maximum de vraisemblance est :  $\hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV} = \underset{\boldsymbol{\theta} \in \mathbb{R}^s}{\operatorname{Argmax}} L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})$ .

Soit  $\mathcal{I}_i(\boldsymbol{\theta})$  la Matrice d'Information de Fisher (FIM) individuelle  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta})$  la FIM sur tout l'échantillon. Pour simplifier les notations, supposons qu'il n'y a pas de variables explicatives dans le modèle (la généralisation à l'existence de  $\mathbf{z}^{(i)}$  ne pose pas de difficultés théoriques). On a :

$$\mathcal{I}_i(\boldsymbol{\theta}) = \mathbb{E}_{\boldsymbol{\theta}} \left( -\frac{\partial^2 L(\mathbf{y}_i; \boldsymbol{\theta})}{\partial \boldsymbol{\theta} \partial \boldsymbol{\theta}'} \right) \quad \mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}) = \mathbb{E}_{\boldsymbol{\theta}} \left( -\frac{\partial^2 L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})}{\partial \boldsymbol{\theta} \partial \boldsymbol{\theta}'} \right) \quad (2.5)$$

Soit  $\mathbf{H}$  la Hessienne de la log-vraisemblance  $L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})$  :

$$\mathbf{H}(\boldsymbol{\theta}) = \frac{\partial^2 L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})}{\partial \boldsymbol{\theta} \partial \boldsymbol{\theta}'} \quad (2.6)$$

et on a  $\frac{1}{n} \mathbf{H}(\hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV}) \xrightarrow{P} -\mathcal{I}_i(\boldsymbol{\theta}^*)$  (borne de Rao). Sous réserve de régularité et d'identifiabilité du modèle, l'estimateur du maximum de vraisemblance est asymptotiquement distribué selon une loi normale, d'espérance  $\boldsymbol{\theta}^*$  et de matrice de variance-covariance  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}^*)^{-1}$  :  $\sqrt{n} (\hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV} - \boldsymbol{\theta}^*) \xrightarrow{n \rightarrow \infty} \mathcal{N}(0, \mathcal{I}_i(\boldsymbol{\theta}^*)^{-1})$ . La Hessienne au maximum de vraisemblance fournit donc un estimateur de la matrice de variance-covariance des paramètres estimés. Pris marginalement, ses éléments fournissent une estimation de la variance des paramètres estimés.

## Problématique

Dans les modèles paramétriques la méthode standard pour estimer les paramètres est celle du maximum de vraisemblance. Dans le cas des modèles non-linéaires à effets mixtes, le calcul de cette vraisemblance est difficile, puisqu'il requiert le calcul numérique de  $n$  intégrales de dimension  $q$  sans expression analytique comme dans (2.3). Un moyen d'éviter ces calculs difficiles est de “remonter” des paramètres estimés patient par patient aux paramètres de population (voir section 1.3.3). Toutefois, cette approche, en plus de la sur-estimation de la variabilité inter-sujets qu'elle fournit, n'est applicable que si l'on dispose

d'une information importante pour chaque sujet. Dans le cas contraire, les paramètres de certains sujets ne peuvent être estimés, créant un biais de sélection.

Nous discuterons ici trois types d'approche pour l'inférence complètement populationnelle :

- Maximisation indirecte de la vraisemblance, c'est à dire ne nécessitant pas le calcul de la vraisemblance.
- Méthodes bayésiennes dont l'objectif n'est plus de maximiser un critère, mais de trouver la distribution de la loi *a posteriori* des paramètres sachant les données.
- Maximisation directe de la vraisemblance ou d'une approximation de celle-ci.

## 2.2 Inférence

### 2.2.1 Maximisation indirecte de la vraisemblance

#### Les algorithmes Expectation-Maximization (EM) et dérivés

Il est possible de maximiser (2.4) sans passer par son calcul explicite, afin d'éviter le maniement numérique d'intégrales. En particulier, si l'on pose :

$$Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k) = \mathbb{E} [\log(p(\mathbf{y}, \mathbf{u}|z; \boldsymbol{\theta})|\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}_k)] \quad (2.7)$$

on peut montrer assez facilement (en invoquant l'inégalité de Jensen) que si  $\boldsymbol{\theta}$  est tel que  $Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k) \geq Q(\boldsymbol{\theta}_k|\boldsymbol{\theta}_k)$  alors  $L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}_k) \geq L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})$ . Cette propriété de monotonie est la base de l'algorithme itératif suivant proposé par Dempster et al. (1977) :

- 1 On dispose à l'itération courante  $k$  d'une estimation  $\boldsymbol{\theta}_k$  des paramètres. On peut donc en déduire  $Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k)$  pour tout  $\boldsymbol{\theta}$  (phase E)
- 2 On maximise  $Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k)$  et on en déduit  $\boldsymbol{\theta}_{k+1}$  (phase M)

Dempster et al. (1977), Wu (1983) et enfin Delyon et al. (1999) ont démontré sous des hypothèses de plus en plus générales que la suite des paramètres  $\boldsymbol{\theta}_k$  convergeait vers un extremum de la vraisemblance. Historiquement, l'intérêt de l'approche EM vient du fait qu'on dispose souvent d'une expression de  $Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k)$  plus simple à maximiser que la fonction de vraisemblance. Toutefois, plusieurs critiques ont été faites à cet algorithme : de façon générale, les critères de convergence sont essentiellement empiriques, c'est à dire que

l'utilisateur s'arrête au bout d'un nombre d'itérations fixé à l'avance, ou alors lorsqu'on semble atteindre une certaine stabilité dans l'évolution des paramètres. Dans ce cas, un critère courant est de prendre  $|\boldsymbol{\theta}_k - \boldsymbol{\theta}| < \epsilon$  (Fletcher, 2000). Cela peut constituer un point faible de ces approches, car il existe une part d'arbitraire non nécessairement maîtrisée dans la valeur finale retenue pour les paramètres. Lié à ce problème, de nombreux auteurs font état d'un nombre d'itérations nécessaires très important pour arriver à convergence. En outre, la phase "M" n'est pas forcément explicite et le passage par un algorithme de maximisation allonge les temps de calcul. Enfin, dans le cas des modèles non-linéaires, on ne connaît qu'à une constante près la loi conditionnelle  $p(\mathbf{u}|\mathbf{y}, \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$  des effets aléatoires sachant les données. Ce problème peut être en partie surmonté grâce aux méthodes MCMC, en particulier *via* l'algorithme d'Hastings-Metropolis (Hastings, 1970), qui permet de simuler assez facilement la loi  $p(\mathbf{u}|\mathbf{y}, \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$  à partir de celles de  $p(\mathbf{y}, \mathbf{u}|\mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$  et  $p(\mathbf{u}; \boldsymbol{\theta}_k)$ . On tire ensuite un nombre  $T$  de réalisations  $\mathbf{u}^t$  de cette loi, et on obtient une approximation par Monte-Carlo de  $Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k)$  (Wei et Tanner, 1990) :

$$Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k) = \frac{1}{T} \sum_{t \leq T} \log(p(\mathbf{y}, \mathbf{u}^t | \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)) \quad (2.8)$$

Ce passage par les simulations MCMC pour la phase E constitue la classe générale des algorithmes MCEM. Toutefois, il va sans dire que sous sa forme de départ, cet algorithme est peu compétitif en temps de calcul, puisque chaque phase E est coûteuse et présente des risques d'instabilité si  $T$  est faible.

Les derniers développements autour des algorithmes EM n'ont plus pour objectif un calcul exact des phases E et M. La plupart des auteurs se focalisent en effet sur des méthodes astucieuses permettant d'obtenir des approximations raisonnables de chaque phase ; l'idée étant de proposer des itérations moins précises mais beaucoup plus rapides. L'utilisation de la théorie des approximations stochastiques (Robbins et Monroe, 1951) a permis d'améliorer considérablement la vitesse de l'EM : Delyon et al. (1999) proposent une approximation stochastique de  $Q(\boldsymbol{\theta}|\boldsymbol{\theta}_k)$  ne nécessitant la simulation que de  $m$  (avec  $m$  petit, pouvant être égal à un) réalisations de  $p(\mathbf{u}|\mathbf{y}, \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$  (vs  $T$  dans l'équation (2.8)), réduisant significativement le temps de calcul de la phase E. Toutefois, cette approche requiert de connaître  $p(\mathbf{u}|\mathbf{y}, \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$ . C'est pourquoi Kuhn et Lavielle (2005) couplent cette approche avec une étape MCMC (ne nécessitant que quelques itérations de la chaîne) pour simuler la loi  $p(\mathbf{u}|\mathbf{y}, \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$  lorsque celle-ci n'a pas d'écriture explicite. Enfin, ces mêmes auteurs,

complétés par la suite par les travaux de Samson et al. (2006) montrent que cette approche stochastique permet d'obtenir *in fine* une approximation robuste de  $L$ , ainsi que de  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta})$ , la matrice d'information de Fisher, donnant ainsi, à convergence, une estimation des variances des paramètres estimés.

### Les algorithmes Monte-Carlo Newton-Raphson (MCNR)

Les algorithmes MCNR proposent eux aussi de maximiser la vraisemblance sans recourir à un calcul explicite de cette dernière. En introduisant les formules de Louis (1982) (qu'on utilise aussi dans l'EM) :

$$\begin{aligned}\mathbf{U}(\boldsymbol{\theta}_k) &= \mathbb{E} \left[ \frac{\partial \log(p(\mathbf{y}, \mathbf{u} | \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}))}{\partial \boldsymbol{\theta}} | \mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}_k \right] \\ \mathbf{H}(\boldsymbol{\theta}_k) &= \mathbb{E} \left[ \frac{\partial^2 \log(p(\mathbf{y}, \mathbf{u} | \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}))}{\partial \boldsymbol{\theta} \partial \boldsymbol{\theta}'} | \mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}_k \right] + \mathbb{V} \left[ \frac{\partial \log(p(\mathbf{y}, \mathbf{u} | \mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}))}{\partial \boldsymbol{\theta}} | \mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}_k \right]\end{aligned}\tag{2.9}$$

McCulloch (1997) notamment propose d'estimer (2.9) par MCMC ; une fois  $\mathbf{U}$  et  $\mathbf{H}$  calculés, on peut appliquer l'algorithme de Newton-Raphson (voir (2.24)). Au final, le MCNR et le MCEM reposent sur les mêmes principes. Par exemple, Lange (1995) suggère de combiner le MCEM avec une itération de gradient lors de la phase M, et le MCEM devient dans ce cas équivalent au MCNR. Enfin, les approximations stochastiques ont aussi été appliquées dans les algorithmes NR. Gu et Kong (1998) présentent un algorithme SANR où  $\mathbf{U}$  et  $\mathbf{H}$  sont calculés par approximation stochastique de (2.9). Notons que d'autres méthodes basées sur des approches stochastiques existent (Concordet et Nunez, 2002 ; Bauer et Guzy, 2004)

Ces algorithmes ne nécessitent donc pas en théorie le calcul explicite de la vraisemblance pour converger vers  $\hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV}$ . De plus, comme dans le SAEM, ces approches stochastiques doivent permettre d'être plus robuste à l'existence d'extrema locaux de la vraisemblance. Toutefois, à notre connaissance, ces algorithmes ont été testés sur des modèles assez simples. Enfin, l'approximation quadratique requise dans le NR n'est pas toujours valable, et les incrémentés proposés peuvent donc ne pas être pertinents : ne pas disposer d'estimation de la vraisemblance pour corriger le cas échéant une progression non optimale de l'algorithme paraît donc être un point faible des approches SANR.

### 2.2.2 Paradigme Bayésien

Comme l'ont rappelé Davidian et Giltinan (1995), le principal obstacle au développement des approches Bayesiennes a longtemps été la dimension des intégrales qu'il est nécessaire de calculer. Cependant, le développement des méthodes MCMC ainsi que la puissance croissante des machines de calcul a permis de surmonter en partie cette difficulté et l'approche Bayésienne est devenue de plus en plus populaire dans les modèles non-linéaires à effets mixtes, d'autant plus qu'elle apparaît comme une extension naturelle de la modélisation hiérarchique des modèles non-linéaires à effets mixtes (Wakefield, 1996). Cette approche ne peut être directement comparée en termes algorithmiques avec les méthodes fréquentistes, car l'approche Bayésienne est régie par un autre paradigme : on postule qu'il existe une loi  $\pi(\boldsymbol{\theta})$  sur les paramètres d'intérêts  $\boldsymbol{\theta}$ , appelée loi *a priori*. L'objectif est d'estimer la loi *a posteriori*  $p(\boldsymbol{\theta}|\mathbf{y}, \mathbf{z})$  :

$$p(\boldsymbol{\theta}|\mathbf{y}, \mathbf{z}) \propto \pi(\boldsymbol{\theta})p(\mathbf{y}|\mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}) \quad (2.10)$$

La loi (2.10) n'est connue qu'à une constante de normalisation près mais peut être simulée par des méthodes MCMC (algorithmes de Hastings-Metropolis ou échantillonneur de Gibbs en particulier). L'approche bayésienne est jusqu'à maintenant la seul proposée dans les modèles de dynamique virale non-simplifiés (Putter et al., 2002 ; Han et Chaloner, 2004 ; Banks et al., 2005 ; Wu et al., 2005 ; Huang et Wu, 2006 ; Huang et al., 2006). Sa pertinence est d'autant plus grande que, comme nous l'avons dit, les paramètres des modèles non-linéaires représentent souvent des grandeurs physiques ou biologiques (voir section 2.1), pour lesquels la littérature peut fournir un ordre de grandeur, qui peut ainsi être intégré comme une information *a priori*. D'autre part, nous verrons dans la section 2.3 qu'il est fréquent dans les modèles non-linéaires de ne pas pouvoir identifier tous les paramètres, mais seulement un sous-ensemble. Dans ce cas, l'utilisation de méthodes Bayésiennes permet de conférer une meilleure souplesse au modèle : au lieu de fixer ces paramètres à une valeur arbitraire (approche fréquentiste), il est plus judicieux de les introduire avec un très fort *a priori*.

### 2.2.3 Maximisation directe de la vraisemblance

#### Approximation de la vraisemblance

Plusieurs méthodes ont été proposées pour approximer  $L(\mathbf{y}_i; \boldsymbol{\theta})$  et passer outre le calcul d'intégrales de dimension  $q$ .

La méthode “First Order” (Beal et Sheiner, 1982), qui est l'une des plus populaires, repose sur une linéarisation de  $g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))$  autour de l'espérance marginale de  $\mathbf{b}^{(i)}$  ( $=0$ ). Pour simplifier les écritures, supposons que  $M = 1$ . Notons  $\tilde{\xi}_{l,0}^{(i)} = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l$  et  $\mathbf{J}^{(i)}$  la jacobienne de  $g$  évaluée en  $\tilde{\xi}_{l,0}^{(i)}$ , d'élément courant  $j_{ll'}^{(i)} = \partial g(X(t_{il'}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_0^{(i)})) / \partial \tilde{\xi}_{l,0}^{(i)}$ . Enfin,  $\mathbf{W}^{(i)}$  est la matrice de taille  $q \times p$ , formée des  $p$  vecteurs colonnes  $\mathbf{w}_l^{(i)}$ . On a :

$$\mathbf{y}_i \simeq \mathbf{g}(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_0^{(i)}) + \mathbf{W}^{(i)} \mathbf{J}^{(i)} \mathbf{b}^{(i)} + \boldsymbol{\epsilon}_i \quad (2.11)$$

où  $\mathbf{y}_i$  est gaussienne avec  $\mathbb{E}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}) = g(X(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_0^{(i)}))$  et  $\mathbb{V}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}) = \mathbf{J}^{(i)'} \mathbf{W}^{(i)'} \Sigma \mathbf{W}^{(i)} \mathbf{J}^{(i)} + \sigma^2 I_{n_i}$ . Ainsi se ramène-t-on à un modèle linéaire mixte dans lequel la vraisemblance a une forme explicite :

$$-2 \log(p(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}; \boldsymbol{\theta})) = \log [\det(\mathbb{V}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}))] + (\mathbf{y}_i - \mathbb{E}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}))' \mathbb{V}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)})^{-1} (\mathbf{y}_i - \mathbb{E}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)})) \quad (2.12)$$

Les limites de cette approximation sont intuitives : en supposant que  $\mathbb{E}(\mathbf{y}_i | \mathbf{z}^{(i)}) = g(X(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_0^{(i)}))$ , FO fait “comme si” la trajectoire moyenne correspondait à la moyenne des trajectoires, ce qui par définition n'est pas vrai dans un modèle non-linéaire !

C'est pourquoi Lindstrom et Bates (1990) puis Beal et Sheiner (1992) ont proposé un raffinement de cette approche *via* l'algorithme “First Order Conditional-Estimate” (FOCE) : la linéarisation de  $g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))$  n'est plus autour de l'espérance des  $\mathbf{b}^{(i)}$ , mais autour du mode a posteriori (c'est à dire sachant les données et les paramètres), noté  $\hat{\mathbf{b}}^{(i)}(\boldsymbol{\theta})$  défini par :

$$\begin{cases} \hat{\mathbf{b}}^{(i)}(\boldsymbol{\theta}) = \hat{\mathbf{b}}^{(i)}(\boldsymbol{\phi}, \boldsymbol{\beta}, \mathbf{A}, \boldsymbol{\sigma}) = \underset{\mathbf{b} \in \mathbb{R}^q}{\operatorname{argmax}} \left\{ \sum_{j \leq n_i} \frac{1}{\sigma^2} \left[ (y_{ij} - g(X(t_{ij}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})(\mathbf{b})) \right]^2 + \mathbf{b}' \Sigma^{-1} \mathbf{b} \right\} \\ \tilde{\xi}_l^{(i)}(\mathbf{b}) = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l + \mathbf{w}_l^{(i)'} \mathbf{b} \end{cases} \quad (2.13)$$

En notant cette fois  $\tilde{\xi}_{l,0}^{(i)} = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l + \mathbf{w}_l^{(i)'} \hat{\mathbf{b}}^{(i)}$  et  $\mathbf{J}^{(i)}$  la jacobienne de  $g$  évaluée cette fois en  $\tilde{\xi}_{l,0}^{(i)}$ , on peut développer  $\mathbf{g}$  autour de  $\hat{\mathbf{b}}^{(i)}$  :

$$\mathbf{y}_i \simeq \mathbf{g}(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_0^{(i)}) + \mathbf{W}^{(i)} \mathbf{J}^{(i)} (\mathbf{b}^{(i)} - \hat{\mathbf{b}}^{(i)}) + \boldsymbol{\epsilon}_i \quad (2.14)$$

et  $\mathbf{y}_i$  est encore gaussienne avec  $\mathbb{E}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}) = \mathbf{g}(t_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_0^{(i)}) - \mathbf{W}^{(i)} \mathbf{J}^{(i)} \hat{\mathbf{b}}^{(i)}$  et  $\mathbb{V}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}) = \mathbf{J}^{(i)'} \mathbf{W}^{(i)'} \Sigma \mathbf{W}^{(i)} \mathbf{J}^{(i)} + \sigma^2 I_{n_i}$ . On en déduit l'expression de la vraisemblance approximée au point  $\boldsymbol{\theta} = (\boldsymbol{\phi}, \boldsymbol{\beta}, \mathbf{A}, \boldsymbol{\sigma})$  :

$$-2 \log(p(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}; \boldsymbol{\theta})) = \log [\det(\mathbb{V}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}))] + (\mathbf{y}_i - \mathbb{E}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}))' \mathbb{V}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)})^{-1} (\mathbf{y}_i - \mathbb{E}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)})) \quad (2.15)$$

Chaque itération lors de la maximisation de la vraisemblance se décompose donc en : i) à  $\boldsymbol{\theta}_k$  fixé, trouver le maximum  $\hat{\mathbf{b}}^{(i)}(\boldsymbol{\theta}_k)$  dans (2.13) ; ii) maximiser par Newton-Raphson (NR) la log-vraisemblance approchée (2.15). FO et FOCE sont implémentés dans les logiciels d'estimations classiques, à savoir SAS, NONMEM, S-PLUS, R, sous condition qu'on dispose d'une expression explicite de  $g_m$ , ce qui n'est pas le cas dans les modèles définis par un système ODE non-linéaire.

Wolfinger (1993) propose une approximation très proche de (2.14). Celle-ci est basée sur l'approximation de Laplace :

$$\int C * \exp [-l_i(\mathbf{b}^{(i)})] d\mathbf{b}^{(i)} \simeq C * (2\pi)^{q/2} \det [l_i''(\hat{\mathbf{b}}^{(i)})]^{-1/2} \exp [l_i(\hat{\mathbf{b}}^{(i)})] \quad (2.16)$$

où  $\hat{\mathbf{b}}^{(i)}$  est estimée dans (2.13) et

$$\left\{ \begin{array}{l} -2 * l_i(\mathbf{b}^{(i)}) = \frac{1}{\sigma^2} \left[ \mathbf{y}_i - g(X(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) \right]' \left[ \mathbf{y}_i - g(X(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) \right] + \mathbf{b}^{(i)'} \Sigma^{-1} \mathbf{b}^{(i)} \\ C = \frac{1}{\sigma^{n_i} (2\pi)^{n_i/2}} * \frac{1}{(2\pi)^{q/2} \sqrt{\det(\Sigma)}} \\ \det [l_i''(\hat{\mathbf{b}}^{(i)})] = \det (\mathbb{V}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)})) \end{array} \right. \quad (2.17)$$

On en déduit une approximation de la vraisemblance

$$\begin{aligned} -2 \log(p(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}; \boldsymbol{\theta})) &\simeq -2 \log(C) - q \log(2\pi) + \log [\det (\mathbb{V}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}))] - 2l_i(\hat{\mathbf{b}}^{(i)}) \\ &= n_i \log(2\pi) + n_i \log(\sigma) + \log [\det (\mathbb{V}(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}))] - 2l_i(\hat{\mathbf{b}}^{(i)}) \end{aligned} \quad (2.18)$$

(2.16)-(2.18) peuvent être reparamétrisés en fonction de  $\mathbf{u}^{(i)}$  et  $\hat{\mathbf{u}}^{(i)}$  (on rappelle que par construction  $\hat{\mathbf{b}}^{(i)} = \mathbf{A} \hat{\mathbf{u}}^{(i)}$  où  $\mathbf{A}$  est la décomposée de Cholesky de  $\Sigma$ ). Dans ce cas, on obtient :

$$\begin{aligned} -2 \log(p(\mathbf{y}_i|\mathbf{z}^{(i)}; \boldsymbol{\theta})) &\simeq n_i \log(2\pi) + n_i \log(\sigma) + \log [l_i''(\hat{\mathbf{u}}^{(i)})] - 2l_i(\hat{\mathbf{u}}^{(i)}) \\ -2 * l_i(\mathbf{u}^{(i)}) &= \frac{1}{\sigma^2} \left[ \mathbf{y}_i - g(X(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) \right]' \left[ \mathbf{y}_i - g(X(\mathbf{t}_i, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) \right] + \mathbf{u}^{(i)'} \mathbf{u}^{(i)} \end{aligned} \quad (2.19)$$

Notons que si la loi jointe du couple  $(\mathbf{y}_i, \mathbf{b}^{(i)})$  suit une loi (log)-normale en  $\mathbf{b}^{(i)}$  alors l'approximation de Laplace est exacte.

De façon plus générale, les méthodes d'approximation de la vraisemblance sont devenues populaires en raison de la facilité de leur implémentation et du faible coût en terme de temps de calcul. Cependant, comme ces approches reposent sur une approximation de la vraisemblance, rien n'assure que les estimateurs fournis aient les propriétés de l'estimateur du maximum de vraisemblance.

## Limite de ces approches

Tout d'abord, Mandema (1995) a montré que l'approche FO peut fournir des estimations biaisées des paramètres, d'autant plus larges que les variations inter-individus sont importantes (Ge et al., 2004). De même, les estimateurs fournis par FOCE et Laplace ne sont consistents que si le nombre total de sujets et le nombre d'observations par sujet augmentent (Vonesh, 1996) : l'asymptotique doit être réalisé à la fois sur  $n$  et sur  $\min(n_i)$ . En outre, Ding et Wu (2001), Panhard et Mentré (2005), Wählby et al. (2001), Wu et Wu (2002) et Comets et Mentré (2001) ont montré par simulation une inflation des erreurs de type I des tests de Wald et du rapport de vraisemblance dans les approches FO et FOCE. L'utilisation de ces approches pour la sélection de modèle notamment est donc discutable. L'approximation de Laplace est cependant un degré de complexité au-dessus de FOCE et est connue pour présenter de bons résultats puisqu'on se sert à la fois du mode *a posteriori* pour centrer l'intégrale et de la courbure de la vraisemblance en ce point pour redimensionner celle-ci. Notons qu'il existe des raffinements de cette approche, qui proposent notamment de poursuivre (2.16) à un ordre plus élevé. Si la vraisemblance est mieux approximée, les problèmes de biais subsistent (Raudenbush et al., 2000). Cette méthode illustre les nouveaux développements, permis notamment par l'accroissement de la puissance de calcul des ordinateurs, qui tendent à chercher une approximation de plus en plus précise de la vraisemblance. Dans ce cadre, la méthode des quadratures Gaussiennes est l'une des plus utilisées.

## Calcul “exact” de la vraisemblance

### Quadratures Gaussiennes

Supposons que l'on souhaite calculer l'intégrale univariée de la forme  $\int_u f(u)\omega(u)du$ . Le principe général d'une quadrature est de discréteriser l'intégrale :

$$\int f(u)\omega(u)du \simeq \sum_{j=1}^{N_{GQ}} f(x_j)w(x_j) \quad (2.20)$$

On définit ainsi une suite de taille  $N_{GQ}$  (l'*ordre* de la quadrature) de points  $x_j$  (appelés *noeuds*) associés à un *poids*  $w(x_j)$ . Cette suite  $\{x_j, w(x_j)\}$  dépend du noyau  $\omega$  et du domaine d'intégration. En particulier, la règle de quadrature de Gauss-Hermite (2.21) définit une suite optimale au sens de la précision obtenue en fonction de  $N_{GQ}$  pour le calcul sur  $\mathbb{R}$  avec  $\omega = \exp(-u^2)$  (noyau Gaussien). Les noeuds de la quadrature correspondent aux zéros des polynômes de Gauss-Hermite de degré  $N_{GQ}$ . Ces polynômes sont issus des dérivations successives de  $\exp(-u^2)$  :

$$P_{N_{GQ}}(u) = N_{GQ}! \sum_{j=0}^{\left[\frac{N_{GQ}}{2}\right]} \frac{(-1)^j (2u)^{N_{GQ}-2j}}{j!(N_{GQ}-2j)!} \quad (2.21)$$

Ainsi, si la fonction  $f$  est un polynôme de degré inférieur à  $2 * N_{GQ} - 1$ , l'approximation est exacte. De même, si  $f$  est la densité d'une loi normale standard, l'approximation est d'autant meilleure que  $N_{GQ}$  augmente. Les valeurs numériques de la suite  $\{x_j, w(x_j)\}$  en fonction de l'ordre de la quadrature sont référencées dans des tables (Abramowitz et Stegun, 1964). La table Table 2.1 donne les valeurs prises par la suite pour quatre premiers ordres. Pour exemple, l'approximation de l'espérance d'une loi normale centrée réduite avec  $N_{GQ} = 11$  donne  $3,4 \cdot 10^{-17}$  et la variance de cette même loi est exactement égale à 1.

Toutefois, le calcul de la vraisemblance par quadratures Gaussiennes produit de mauvaises estimations (Pinheiro et Bates, 1995). En effet, la répartition des poids et des points de discréétisation ne tiennent pas compte de la nature de l'intégrant, c'est à dire de l'intervalle où ce dernier prend l'essentiel de ses valeurs. Dans les calculs d'intégrales par MCMC, il est connu que l'échantillonnage préférentiel donne de biens meilleurs résultats que les algorithmes de Monte-Carlo déterministes (Evans et Swartz, 2000). Les quadratures Gaussiennes adaptatives ont donc été développées dans le même esprit, en se concentrant là où l'intégrant prend ses valeurs.

**Tab. 2.1 :** Noeuds et poids dans la quadrature de Gauss-Hermite

$N_{GQ}$	noeuds	poids
1	0	$\sqrt{\pi}$
2	$\pm 1/2\sqrt{2}$	$1/2\sqrt{\pi}$
3	0 $\pm 1/2\sqrt{6}$	$2/3\sqrt{\pi}$ $1/6\sqrt{\pi}$
4	$\pm \sqrt{(3 - \sqrt{6})/2}$ $\pm \sqrt{(3 + \sqrt{6})/2}$	$\sqrt{\pi}/[4(3 - \sqrt{6})]$ $\sqrt{\pi}/[4(3 + \sqrt{6})]$

### Quadratures Gaussiennes adaptatives

Comme noté par Pinheiro et Bates (2000), cette approche peut être vue comme une version déterministe de l'échantillonnage d'importance. Genz et Kass (1997) soulignent d'autre part que cette approche devrait être plus efficace que l'échantillonnage d'importance pour des intégrales de faible dimension (inférieure à 4 ou 5). Les formules de quadratures Gaussiennes adaptatives ont été développées par Liu et Pierce (1994) en dimension 1, et par Pinheiro et Bates (2000) en multi-dimensionnel. Nous y reviendrons plus en détails dans le chapitre suivant, contentons nous pour le moment de donner le type de transformation nécessaire dans le cas de la dimension 1. Si l'on souhaite calculer une intégrale de la forme :

$$I = \int_{\mathbb{R}} f(u) e^{-u^2} du \quad (2.22)$$

alors, avec les approximations ci-dessous, on a :

$$\begin{cases} \hat{u} = \underset{u}{\operatorname{Argmax}} \{f(u) \exp(-u^2)\} \\ D = \sqrt{-\frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial u^2} \{ \log [f(u) \exp(-u^2)] \}_{u=\hat{u}}} \\ I = \frac{\exp(-\hat{u}^2)}{D} \int f(\frac{u}{D} + \hat{u}) \exp\left(\frac{-u\hat{u}}{2D}\right) \exp[-u^2(1 - D^{-2})] \exp(-u^2) du \end{cases} \quad (2.23)$$

Ainsi, si  $I$  est approximée au premier ordre (donc en  $u = 0$ ), on obtient  $I = \frac{f(\hat{u}) \exp(-\hat{u}^2)}{D} \sqrt{\pi}$  et, en redimensionnant de façon adéquate, on retombe sur l'approximation (2.19) : l'approximation de Laplace correspond à une quadrature Gaussienne adaptative au premier ordre.

L'extension des quadratures Gaussiennes adaptatives au domaine multivarié est présenté au chapitre suivant. Pinheiro et Bates (2000) montrent que la structure particulière des

modèles non-linéaires à effets mixtes permet de se ramener à une suite d'intégrales de dimension un. Les quadratures Gaussiennes adaptatives permettent ainsi un calcul aussi précis que souhaité de la fonction de vraisemblance. Par contre, elles ont pour principal inconvénient leur lenteur, puisqu'à chaque itération il faut calculer  $\hat{u}$  et  $D$ , puis calculer  $N_{GQ}^q$  valeurs de l'intégrant. Notons toutefois que le temps de calcul nécessaire à l'adaptation est négligeable devant le gain de précision fourni (Lesaffre et Spiessens, 2001). D'autre part, les quadratures sont beaucoup plus robustes que les approximations de Laplace (Clarkson et Zhan, 2002) et plus stables que le calcul de la vraisemblance par échantillonnage préférentiel (Kuonen, 2003). Il est difficile de fournir une discussion sur le nombre de noeuds nécessaires à une bonne approximation, car cela est extrêmement dépendant du modèle, des données etc... En général, on considère que  $N_{GQ} = 5$  permet déjà une bonne approximation. Clarkson et Zhan (2002) montrent dans un modèle logistique à effets aléatoires, que les résultats fournis sont robustes avec  $N_{GQ} = 15$ . Toutefois, si  $N_{GQ} = 5$  et  $q = 5$ , le nombre d'évaluations de la fonction est déjà égal à  $5^5 = 3125$ , ce qui constitue une limite numérique de cette approche, appelée aussi "fléau de la dimension". Enfin, si les quadratures adaptatives semblent bien marcher dans de nombreuses applications, leur comportement numérique n'est pas bien connu lorsque la variabilité inter-sujets est importante.

## Algorithme de maximisation

Une fois choisie la méthode de calcul de la vraisemblance (approximation ou "exacte"), il reste à la coupler avec un algorithme de maximisation. Le choix naturel se porte sur l'algorithme de Newton-Raphson (NR) qui cherche un maximum (au moins local) de la log-vraisemblance  $L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta})$  via le schéma itératif suivant :

$$\boldsymbol{\theta}_{k+1} = \boldsymbol{\theta}_k - \mathbf{H}^{-1}(\boldsymbol{\theta}_k) \mathbf{U}(\boldsymbol{\theta}_k) \quad (2.24)$$

où  $\mathbf{U}$  et  $\mathbf{H}$  sont respectivement le score et la hessienne de  $L(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta}_k)$ . La force principale de NR est son efficacité : si  $\mathbf{H}$  est lipschitzienne, NR converge en vitesse quadratique vers l'extremum local quelle que soit la valeur initiale prise dans le domaine d'attraction. Ainsi, si  $\boldsymbol{\theta}_k$  n'est "pas trop loin" du maximum de vraisemblance, on a asymptotiquement

la propriété suivante :

$$\|\boldsymbol{\theta}_{k+1} - \hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV}\| = O\left(\|\boldsymbol{\theta}_k - \hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV}\|^2\right) \quad (2.25)$$

où  $\|\cdot\|$  désigne la norme euclidienne.

Le plus fréquemment  $\mathbf{U}$  et  $\mathbf{H}$  sont calculés par différences finies :

$$\begin{aligned} \mathbf{U}(\boldsymbol{\theta}) &\simeq \frac{\text{L}(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta} + d\boldsymbol{\theta}) - \text{L}(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta} - d\boldsymbol{\theta})}{2 * d\boldsymbol{\theta}} \\ \mathbf{H}(\boldsymbol{\theta}) &\simeq \frac{\text{L}(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta} + d\boldsymbol{\theta} + d\boldsymbol{\theta}') - \text{L}(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta} + d\boldsymbol{\theta}) - \text{L}(\mathbf{y}; \boldsymbol{\theta} + d\boldsymbol{\theta}' + d\boldsymbol{\theta})}{d\boldsymbol{\theta} d\boldsymbol{\theta}'} \end{aligned} \quad (2.26)$$

### Amélioration par des approches de type-Newton

Les itérations basées sur (2.24) requiert que  $\mathbf{H}$  soit inversible ce qui peut ne pas être le cas, en particulier quand on se situe loin du maximum. L'algorithme de Marquardt (Marquardt, 1963 ; Fletcher, 2000) modifie (2.24) en augmentant si nécessaire la diagonale de  $\mathbf{H}$  afin d'obtenir par construction une matrice systématiquement définie positive :

$$\mathbf{H}^* = \mathbf{H} + \nu * I_s \quad (2.27)$$

où  $\nu$  est une valeur qui s'adapte au cours des itérations. Si le modèle est identifiable,  $\nu$  tend vers 0 quand  $\boldsymbol{\theta}$  tend vers  $\hat{\boldsymbol{\theta}}_{EMV}$ . Afin d'augmenter la rapidité de Newton-Raphson, certains auteurs (Hedeker et Gibbons, 1994 ; Clarkson et Zhan, 2002 ; Bortz et Nelson, 2006) ont proposé de ne pas calculer la hessienne  $\mathbf{H}$  et de la remplacer par une expression ne dépendant que du score :

$$\mathbf{H} = \sum_{i=1}^n \mathbf{U}^{(i)} \mathbf{U}^{(i)'} \quad (2.28)$$

Bien calculer les scores  $\mathbf{U}$  et la Hessienne  $\mathbf{H}$  est difficile : si l'on choisit une approximation trop grossière de la vraisemblance type (2.12)-(2.15)-(2.18), ces derniers peuvent être mal calculés ou être très instables, puisque ce sont des approximations d'approximations. Ainsi est-on confronté à deux difficultés : i) maximiser une vraisemblance mal calculée à cause des approximations faites sur  $p(\mathbf{y}|\mathbf{z}; \boldsymbol{\theta}_k)$  et ne pas pouvoir utiliser les propriétés statistiques du maximum de vraisemblance (voir plus haut) ; ii) ne pas réussir à maximiser la vraisemblance, en raison d'extrema locaux ou de l'instabilité des calculs de dérivées. Ce dernier point rend la plupart des algorithmes implémentés peu maniables dans les problèmes compliqués, notamment lorsque le modèle biologique est défini par un système

d'équations différentielles ordinaires. Réciproquement, si l'on choisit un calcul précis de la vraisemblance, comme les quadratures gaussiennes adaptatives, les calculs de  $\mathbf{U}$  et  $\mathbf{H}$  rendent cette approche non compétitive en termes de temps de calcul et la question de l'instabilité de (2.26) n'est pas forcément résolue.

## 2.2.4 Conclusion sur l'inférence

De nombreux auteurs rappellent les limites de l'approche bayésienne : malgré l'amélioration des méthodes MCMC, les calculs restent très lourds ce qui rend son utilisation dans des modèles compliqués délicate (Genz et Keister, 1996 ; Kuonen, 2003). De plus, les critères de convergence et de sélection de modèles/variables ne sont pas bien définis et restent essentiellement empiriques.

Le choix entre les différentes méthodes fréquentistes dépend de nombreux critères : biais, précision, efficacité, temps de calcul. Ceux-ci dépendent eux mêmes du contexte de l'application : degré de non-linéarité du modèle, nombre d'effets aléatoires, importance de la dispersion inter-individus. Mentré et Girard (2005) ont proposé un test de comparaison en aveugle des principales méthodes fréquentistes sur un modèle de pharmacocinétique avec trois effets aléatoires. Chaque participant recevait cent jeux de données de cent patients (avec des points de départ plausible pour les effets fixes) et les critères de comparaison étaient le biais et l'erreur de moindre carré (RMSE). Ce travail a confirmé que les méthodes basées sur une approximation de la vraisemblance étaient rapides en termes de temps de calcul mais fournissaient des estimations biaisées, peu précises en terme de RMSE et pouvaient connaître des difficultés de convergence. En outre, plusieurs articles ont montré que ces méthodes donnent de mauvaises estimations de la log-vraisemblance ainsi que des intervalles de confiance estimées, rendant difficiles l'utilisation des tests classiques (Wald, Rapport de Vraisemblance) de sélection de modèles et de covariables. Les méthodes basées sur des approximations stochastiques (comme le SAEM) ont fournit quant à elles de bons résultats. Ce résultat va dans le sens des études de Kuhn et Lavielle (2005) et Concordet et Nunez (2002) sur l'efficacité de leurs approches par rapport à l'EM et aux approches basées sur des approximations de la vraisemblance..

La méthode de quadrature Gaussienne adaptative utilisée dans Mentré et Girard (2005) était celle implémentée dans la PROC NL MIXED de SAS avec  $N_{GQ} = 3$ . Cette approche

a fourni des résultats comparables à celles des meilleures approches stochastiques : un peu moins bons que les approches stochastiques en termes de précision, mais assez bons en temps de calcul. Toutefois, si le problème des temps de calcul est crucial pour l'application de ces méthodes, il est difficile de comparer formellement les approches entre elles car les machines ne sont pas les mêmes (et leur puissance n'est pas directement proportionnelle à leurs fréquences) et certains programmes présentent l'avantage substantiel d'être des versions compilées.

L'étude des méthodes d'estimation suppose que soit acquise au préalable l'identifiabilité d'abord théorique mais aussi pratique du modèle étudié. Dans les modèles non-linéaires à effets mixtes, cette dernière est difficile à établir.

## 2.3 Etude de l'identifiabilité

La question de l'identifiabilité des paramètres d'un modèle est une question à deux niveaux : on distingue souvent l'identifiabilité *théorique*, qui est un problème mathématique, de l'identifiabilité *pratique*, qui est un problème statistique. Petersen et al. (2001) explique la différence entre les deux concepts : “*L'identifiabilité théorique est basée sur la structure du modèle et le type de données disponibles, et donne une indication de la quantité maximale d'information qu'on peut espérer obtenir d'une expérience théorique. L'identifiabilité pratique au contraire dépend non seulement de la structure du modèle, mais est aussi reliée aux conditions expérimentales*”. Ainsi l'identifiabilité théorique est elle notamment basée sur une hypothèse d'observation parfaite, sans erreur de mesure. Rothenberg (1971) a défini l'identifiabilité théorique dans un modèle statistique de manière plus formelle :

*Soit l'observation d'une variable aléatoire  $Y$  de densité  $p(y; \boldsymbol{\theta})$ ,  $\boldsymbol{\theta} \in A$ ,  $A = V(\boldsymbol{\theta})$  un voisinage de  $\boldsymbol{\theta}$ . Un point  $\boldsymbol{\theta}_0$  est identifiable si il n'existe pas d'autre point dans  $A$  qui soit observationnellement équivalent, c'est à dire pour lequel  $p(y; \boldsymbol{\theta}) = p(y; \boldsymbol{\theta}_0)$  pour tout  $y \in \mathbb{R}^n$ .* Rothenberg (1971) montre sous certaines hypothèses de régularité que l'identifiabilité théorique (locale) en  $\boldsymbol{\theta} = \boldsymbol{\theta}_0$  nécessite que  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta})$  soit inversible pour tout  $\boldsymbol{\theta}$  dans  $A$ . Cette propriété n'est pas évidente à établir théoriquement dans des modèles non-linéaires. Notamment,  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}_0)$  inversible n'établit pas que  $\boldsymbol{\theta}$  soit identifiable en  $\boldsymbol{\theta}_0$ .

Par ailleurs, l'identifiabilité théorique n'est pas suffisante pour l'usage pratique des modèles. L'objectif est souvent de savoir si les paramètres qu'on cherche à estimer peuvent être estimés avec suffisamment de précision : dans ce cas, l'identifiabilité *pratique* quantifie l'information disponible. Cette information dépend du nombre de patients inclus dans l'étude, du design  $\mathcal{D}$  des observations et de la valeur des paramètres  $\boldsymbol{\theta} = \boldsymbol{\theta}_0$ . Dans le cas des modèles dynamiques du VIH,  $\mathcal{D}$  recouvre non seulement la fréquence des données, mais aussi les données disponibles, car les biomarqueurs mesurés peuvent varier d'une étude et d'un patient à l'autre (voir section 1.1.3).

L'inégalité de Rao relie la Matrice d'Information de Fisher (FIM) à l'identifiabilité pratique puisqu'elle établit que la FIM fournit une borne inférieure de la matrice de variance de n'importe quel estimateur non biaisé des paramètres.  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}_0)^{-1}$  fournit donc marginalement la borne minimale de la variance des estimateurs des paramètres, sachant que la vraie valeur des paramètres est  $\boldsymbol{\theta} = \boldsymbol{\theta}_0$  (dans le cas du maximum de vraisemblance, il s'agit même d'une borne asymptotiquement atteinte). Notons en outre que l'information a une propriété d'additivité : le modèle (2.1) spécifie une indépendance entre les  $n$  individus qui lie l'information totale (apportée par tous les individus) à l'information élémentaire (apportée par un individu)  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}) = \mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\boldsymbol{\theta}) = \sum_{i=1}^n \mathcal{I}_{\mathcal{D},i}(\boldsymbol{\theta})$ . Si les patients sont indépendants et identiquement distribués (par exemple s'il n'y a pas de covariables  $\mathbf{z}^{(i)}$ ), on a même  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}) = n\mathcal{I}_i(\boldsymbol{\theta})$

### 2.3.1 Comparaison de designs

On ne peut pas directement utiliser les FIM pour discriminer entre les schémas d'étude puisqu'on ne dispose pas de relation d'ordre sur les matrices. Il faut donc passer par des fonctions de celles-ci à valeurs réelles. En particulier, les critères "alphabétiques" sont les plus courants, en raison de leur simplicité. Sans procéder à une revue exhaustive de ces critères qu'on trouvera dans Walter et Pronzato (1997), donnons les plus usités, qui correspondent à des exigences différentes : le *D*-critère, égal à  $\det[\mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\boldsymbol{\theta})^{-1}]$  mesure la précision globale atteinte par un schéma d'étude  $\mathcal{D}$  (volume de l'ellipsoïde de confiance asymptotique des paramètres estimés) ; le *A*-critère, quant à lui, égal à  $\text{tr}[\mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\boldsymbol{\theta})^{-1}]$  est une mesure des variances marginales asymptotiques alors que son homologue, le *C*-critère, est une mesure des coefficients de variations asymptotiques ; enfin, le *E*-critère, égal à la plus

petite valeur propre de  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta})$ , se focalise sur la précision de la combinaison (linéaire) de paramètres la moins bien estimée.

L'utilisation de ces critères conduit à la recherche de protocoles optimaux : on cherche dans une classe de design  $\mathcal{D}$  celui qui va maximiser le critère retenu : le plus souvent, on recherche un critère optimal au sens de la  $D$ -optimalité en raison de la simplicité du  $D$ -critère et de son invariance par toute transformation non dégénérée des paramètres (Fedorov, 1972). La recherche de protocoles optimaux est particulièrement compliquée car on dispose rarement d'une solution analytique à la maximisation du critère choisi ; toute une littérature existe donc autour de la construction d'algorithmes efficaces de maximisation de critères (Fedorov, 1972 ; Wynn, 1972). Ces algorithmes nécessitent néanmoins de connaître la valeur de  $\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta})$  pour tout  $\mathcal{D}$  envisagé, ce qui n'est pas le cas dans les modèles non-linéaires à effets mixtes.

### 2.3.2 Calcul de la matrice d'information

Simplifions le modèle pour les observations (2.1) ( $M=1$ ) :

$$\begin{cases} y_{ij} = g(X(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) + \epsilon_{ij} \\ \tilde{\xi}_l^{(i)} = \phi_l + \sqrt{a_l^2} u_l, \quad l \leq p \\ \boldsymbol{u} \sim \mathcal{N}(0; I_p) \end{cases} \quad (2.29)$$

Supposons en outre que le paramètre d'erreur de mesure  $\sigma$  est connu. Il y a donc  $p + p$  paramètres :  $p$  effets fixes (les  $\phi_l$ ) et  $p$  termes de variances des effets aléatoires (les  $a_l^2$ ). Comme il n'y a plus de variables explicatives, la matrice de l'échantillon se déduit directement des matrices élémentaires (pour chaque individu). Mentré et al. (1997) ont développé une approximation de la matrice d'information élémentaire  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},i}(\boldsymbol{\theta})$  à partir de l'approximation FO de la vraisemblance de l'équation (2.12) :

$$\mathcal{I}_{\mathcal{D},i}(\boldsymbol{\theta}) = \begin{pmatrix} \mathcal{I}_{\mathcal{D},i}^\phi(\boldsymbol{\theta}) & 0 \\ 0 & \mathcal{I}_{\mathcal{D},i}^{\mathbf{a}^2}(\boldsymbol{\theta}) \end{pmatrix} \quad (2.30)$$

où  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},i}^\phi(\boldsymbol{\theta}) = \mathbf{J}^{(i)'} \mathbb{V}(\mathbf{y}_i)^{-1} \mathbf{J}^{(i)}$  et  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},i}^{\mathbf{a}^2}(\boldsymbol{\theta})_{ll'} = (\mathbf{J}_l^{(i)'} \mathbb{V}(\mathbf{y}_i)^{-1} \mathbf{J}_{l'}^{(i)})^2 / 2$ . Cette approximation présente donc l'avantage de donner une expression analytique de la FIM, rendant ainsi utilisables les algorithmes usuels d'optimisation de designs dans le contexte des modèles non-linéaires à effets mixtes. Retout et al. (2002) ont dans un second temps étendu cette

approche à un modèle plus complexe comprenant l'estimation des paramètre d'erreurs de mesures  $\sigma^2$ .

Afin de valider la méthode, la FIM ainsi approximée a été comparée, sur des modèles de pharmacocinétique, avec les variances “effectivement” estimées des paramètres : la vraisemblance du modèle était calculée avec une approximation de type FOCE et les variances étaient déduites par approximation numérique de la Hessienne au maximum de vraisemblance (voir (2.26)). Les deux approches ont donné des résultats très proches, attestant donc la pertinence de l'approche de Retout et al. (2002). Néanmoins, nous avons discuté dans la section précédente la limite des estimations des variances fournies par les méthodes reposant sur des approximations de la vraisemblance. Cette limite se retrouve encore pour l'approximation proposée.

C'est pourquoi des approches soupçonnées plus robustes de la FIM ont été proposées ; Retout et Mentré (2003) ont proposé une approximation de la FIM par simulation, où celle-ci était issue d'une approximation FOCE de la log-vraisemblance mais les auteurs n'ont pas mis évidence de gain de précision, malgré le surcoût en temps de calcul. Les approches stochastiques présentées en section 2.2.1 permettent d'obtenir un calcul “exact” de la FIM et Samson et al. (2006) montrent notamment le gain d'une telle approche par rapport aux méthodes précédentes basées sur des approximations de la vraisemblance. Des approches plus intensives peuvent aussi être envisagées : Wang et Endrenyi (1992) proposent de simuler un nombre important de sujets, de calculer la vraisemblance (par approximation FO) et les scores de celle-ci sur chacun de ces sujets simulés, afin d'en déduire (par l'expression (2.28)) une estimation de la FIM sur l'échantillon simulé ; il ne reste plus qu'à ajuster sur le nombre de patients dans l'étude d'origine (proportionnalité dans le cas de patients i.i.d.) pour en déduire la FIM de l'échantillon.

De façon plus générale, le paradoxe des approches décrites est qu'on compare des designs en supposant  $\boldsymbol{\theta} = \boldsymbol{\theta}_0$  connu alors que l'objectif *in fine* de ce type d'étude est précisément d'estimer le “vrai” paramètre  $\boldsymbol{\theta}^*$ . Le risque est donc de trouver un design qui serait optimal pour les valeurs de paramètres fixées *a priori* mais qui ne le serait pas pour  $\boldsymbol{\theta}^*$ . C'est pourquoi des alternatives à ce paradoxe de la planification dite *locale* ont été développées : notamment, on peut assouplir l'hypothèse d'un  $\boldsymbol{\theta}$  connu en spécifiant dans une approche Bayésienne que  $\boldsymbol{\theta}$  suit une loi *a priori* connue. Dans ce cas, on peut définir de nouveaux

critères de comparaison entre designs, basés notamment sur l'espérance de la distribution d'un critère alphabétique donné. Notons que dans l'approche bayésienne il n'y a plus équivalence entre les maximisations de  $\det(\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}))$ ,  $\ln(\det(\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta})))$  ou encore la minimisation de  $1/\det(\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}))$  (Atkinson et Donev, 1992). D'Argenio (1990) proposent le critère de ELD-optimalité qui maximise  $\mathbb{E}_{\boldsymbol{\theta}} \{\ln [\det(\mathcal{I}(\boldsymbol{\theta}))]\}$ . Les auteurs justifient ce critère dans une approche de type théorie de l'information : un design ELD-optimale maximise la moyenne *a priori* de l'information fournie par le design sous l'hypothèse d'une information *a priori* négligeable devant celle retirée par l'expérience. On trouvera dans Pronzato et al. (1996) une présentation des différentes approches ainsi qu'une étude comparative sur un exemple de pharmacocinétique : notons que la ELD-optimalité est particulièrement adaptée pour prévoir la précision de paramètres sur lesquels une incertitude importante existe.

### 2.3.3 Problématique des modèles dynamiques du VIH

Basés sur des modèles dynamiques simplifiés (voir 1.3.3), Wu et Ding (2002) et Han et Chaloner (2004) ont proposé des approches classiques d'analyse de design, dans lesquels on compare un petit nombre de designs définis à l'avance (respectivement quatre et huit). Wu et Ding (2002) ont cherché à évaluer par simulation, dans le cadre d'un essai clinique, la capacité de chaque design à détecter une différence d'efficacité des traitement entre les deux bras (mesurées par les différences de pentes de déclin viral, voir section 1.3.3). Han et Chaloner (2004), quant à eux, ont comparé dans une approche Bayésienne les estimations des risques *a posteriori* sur  $c$  et  $\delta$  définis par le modèle (1.4).

Dans ces deux papiers, il y a étude du meilleur design dans une liste prédéfinie mais il n'y a pas de recherche de design optimal. Cette recherche s'avèreraient en outre particulièrement compliquée dans le cas des modèles dynamiques non simplifiés puisqu'on ne dispose pas de solution analytique au système ODE. Dans la mesure où la recherche d'un design optimal semble pour le moment hors d'atteinte, la question d'obtenir une bonne approximation de la FIM semble secondaire et les travaux pourraient s'orienter vers des calculs "exacts" de la FIM. Enfin, les biomarqueurs autres que la charge virale et les CD4 (voir section 1.1.3) restent peu utilisés comme critère de jugement. Pourtant, l'information qu'ils peuvent apportés dans les modèles dynamiques peut être importante et mériterait d'être quantifiée.

## 2.4 Objectif du travail de thèse

Nous avons montré au chapitre 1 la pertinence des modèles dynamiques non-simplifiés du VIH, étudiés dans un cadre populationnel, pour évaluer et mieux comprendre la dynamique de l'infection. Les méthodes les plus récentes pour l'inférence dans ces modèles sont difficiles à discriminer. Par ailleurs, les modèles définis par des systèmes d'équations différentielles non-linéaires sans solution définissent un cadre de recherche original dans lequel les méthodes d'inférence proposées dans la littérature ne peuvent pas toujours s'appliquer, ou s'appliquent difficilement.

C'est pourquoi il nous a semblé pertinent de développer et d'implémenter une méthode d'inférence originale, spécialement adaptée à la structure de ces modèles. Au vu de l'expérience de l'équipe dans les méthodes de maximisation directe de la vraisemblance, de la robustesse des approches par quadratures Gaussiennes adaptatives et de la puissance toujours croissante des machines de calcul (et des algorithmes basés sur les principes de quadrature), l'approche par maximisation directe et "exacte" de la vraisemblance nous a semblé une voie pertinente. Les problèmes liés à cette approche, en particulier son ratio temps de calcul/efficacité et les problèmes d'instabilité des calculs de score et de hessienne doivent cependant être surmontés.

En outre, il est crucial, afin de permettre une large utilisation des modèles dynamiques, de proposer des designs adaptés à ces modèles non standards en épidémiologie même si la recherche d'un design optimal semble particulièrement difficile au vu de la complexité des modèles. L'étude de l'identifiabilité pratique en fonction des designs habituellement à disposition permettra d'enrichir, à la suite de Wu et Ding (2002), la discussion sur l'équilibre entre nombre de patients, nombre de mesures par patients et biomarqueurs mesurés dans ce type de modèles. Réciproquement, pouvoir prédire *a priori*, pour une étude donnée, quels seront les paramètres qu'on pourra estimer est capital.

La description de nos travaux est donc la suivante : dans un premier temps (chapitre 3), nous proposons une méthode pour la prise en compte des données de charge virale censurées et nous étudions l'impact de celle-ci dans l'estimation des paramètres des modèles dynamiques. Dans le chapitre 4, nous introduisons un modèle biomathématique originale, et nous développons une méthodologie appliquée à l'estimation des paramètres des modèles définis par un système d'équations différentielles. Enfin, le chapitre 5 étend l'approche

proposée au chapitre précédent pour étudier l'identifiabilité pratique de ces modèles, et corollairement l'impact de nouvelles quantifications sur la précision des estimations.



# Chapitre 3

## Impact des données censurées dans l'estimation des paramètres des modèles dynamiques

La plupart des papiers portant sur l'étude de la dynamique virale n'intègrent pas les problèmes méthodologiques liés aux limites de détection de celle-ci (voir section 1.1.3). Souvent ce problème est même ignoré et la valeur des observations censurées est imputée à la valeur du seuil de détection, ou à la moitié de ce seuil (Wu et al., 2006). Pourtant ces approches, en particulier la première, sont connues pour fournir des estimations biaisées des paramètres (Beal, 2001). Nous appliquons ici une méthode introduite par Jacqmin-Gadda et al. (2000) dans le cadre de l'estimation par maximisation directe de la vraisemblance de données longitudinales gaussiennes censurées. Nous montrons par simulation que cette méthode fournit des estimations très peu biaisées également dans le cadre des modèles non-linéaires ; d'autre part, comme le présent Wu (2005), nous montrons que les approches basiques peuvent engendrer des biais très important sur certains paramètres, comme l'efficacité du traitement.

Le cadre biologique de ce travail est la dynamique virale de l'hépatite C (VHC) dont les modèles sont très comparables à ceux du VIH, les cellules cibles étant cette fois les hépatocytes et non les lymphocytes CD4 (Neumann et al., 1998).

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue BMC Medical Research Methodology.

## Research article

**Open Access**

## **Estimation of dynamical model parameters taking into account undetectable marker values**

Rodolphe Thiébaut<sup>\*1,2</sup>, Jérémie Guedj<sup>1</sup>, Hélène Jacqmin-Gadda<sup>1</sup>, Geneviève Chêne<sup>2</sup>, Pascale Trimoulet<sup>3</sup>, Didier Neau<sup>4</sup> and Daniel Commenges<sup>1</sup>

Address: <sup>1</sup>INSERM E0338 Biostatistics, Bordeaux 2 University, Bordeaux, France, <sup>2</sup>INSERM U593, Bordeaux 2 University, Bordeaux, France,

<sup>3</sup>Department of virology, Bordeaux University Hospital, Bordeaux, France and <sup>4</sup>Department of infectious disease, Bordeaux University Hospital, Bordeaux, France

Email: Rodolphe Thiébaut\* - rt@isped.u-bordeaux2.fr; Jérémie Guedj - jg1@isped.u-bordeaux2.fr; Hélène Jacqmin-Gadda - hig@isped.u-bordeaux2.fr; Geneviève Chêne - gc@isped.u-bordeaux2.fr; Pascale Trimoulet - pascale.trimoulet@chu-bordeaux.fr; Didier Neau - didier.neau@chu-bordeaux.fr; Daniel Commenges - dc@isped.u-bordeaux2.fr

\* Corresponding author

Published: 01 August 2006

Received: 14 February 2006

BMC Medical Research Methodology 2006, **6**:38 doi:10.1186/1471-2288-6-38

Accepted: 01 August 2006

This article is available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/6/38>

© 2006 Thiébaut et al; licensee BioMed Central Ltd.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### **Abstract**

**Background:** Mathematical models are widely used for studying the dynamic of infectious agents such as hepatitis C virus (HCV). Most often, model parameters are estimated using standard least-square procedures for each individual. Hierarchical models have been proposed in such applications. However, another issue is the left-censoring (undetectable values) of plasma viral load due to the lack of sensitivity of assays used for quantification. A method is proposed to take into account left-censored values for estimating parameters of non linear mixed models and its impact is demonstrated through a simulation study and an actual clinical trial of anti-HCV drugs.

**Methods:** The method consists in a full likelihood approach distinguishing the contribution of observed and left-censored measurements assuming a lognormal distribution of the outcome. Parameters of analytical solution of system of differential equations taking into account left-censoring are estimated using standard software.

**Results:** A simulation study with only 14% of measurements being left-censored showed that model parameters were largely biased (from -55% to +133% according to the parameter) with the exception of the estimate of initial outcome value when left-censored viral load values are replaced by the value of the threshold. When left-censoring was taken into account, the relative bias on fixed effects was equal or less than 2%. Then, parameters were estimated using the 100 measurements of HCV RNA available (with 12% of left-censored values) during the first 4 weeks following treatment initiation in the 17 patients included in the trial. Differences between estimates according to the method used were clinically significant, particularly on the death rate of infected cells. With the crude approach the estimate was  $0.13 \text{ day}^{-1}$  (95% confidence interval [CI]: 0.11; 0.17) compared to  $0.19 \text{ day}^{-1}$  (CI: 0.14; 0.26) when taking into account left-censoring. The relative differences between estimates of individual treatment efficacy according to the method used varied from 0.001% to 37%.

**Conclusion:** We proposed a method that gives unbiased estimates if the assumed distribution is correct (e.g. lognormal) and that is easy to use with standard software.

## Background

Dynamical models based on system of differential equations have been successfully used for a better understanding of the pathogenesis of infectious diseases [1,2]. Two landmark papers appeared in 1995 demonstrating the high turnover of the human immunodeficiency virus (HIV) and infected CD4+ T lymphocytes cells [3,4]. Using such dynamical models, Neumann et al. [5] gave some insight in the effect of interferon based therapy used to treat patients infected by hepatitis C virus (HCV). Moreover, the estimate of the percentage of virus production blocked by the therapy is now widely used in this field [6-10] to evaluate the efficacy of treatment regimens in various contexts such as patients co-infected with HIV and HCV.

Although dynamical models parameters such as virus clearance or treatment efficacy are very useful, their estimation is most often performed for individual subjects separately. The limitations of such statistical approach as well as the interest of hierarchical models have already been underlined [11,12]. The main advantage of hierarchical models (also called mixed/random effects models) is their ability to estimate all parameters at the same time, using all available data even in case of unbalanced data, i.e. the number of measurements can vary from one patient to another. Parameters can be estimated using a Bayesian approach [13-15] or other approaches [16]. Another advantage working with analytical solutions of the system of differential equations is that standard softwares for non linear mixed models can be used [17].

Nonetheless, a major problem arises when using viral load data. The assays used to quantify HIV or HCV RNA are limited by a detection threshold that may lead to undetectable values when the true viral load is below this threshold. From a clinical point of view, the aim of any treatment is to reduce the viral load as much as possible [18]. Therefore, the practical definition of virological response is the occurrence of sustained undetectable values. The threshold of undetectable values is changing with the improvement of the assays for quantifying the viral load. When analysing viral load as a continuous variable, the left-censored measures are most often analyzed by replacing their value by an arbitrary value (e.g. threshold or half of the threshold). Although the sensitivity of the assays is improving, this limitation still persists and has already been underlined in the context of dynamical models [12,15]. Methods to take into account left-censored repeated measures in linear mixed models [19-21] or in non linear mixed models [15] have already been proposed. In this paper, we show how such an approach can be implemented using standard software in the case of non linear mixed models. Furthermore, we evaluate the impact of not taking into account undetectable values

when studying HCV dynamics in the context of a phase II randomised clinical trial for the treatment of HCV infection in HIV co-infected patients.

## Methods

### Study example

The motivating study was a phase II randomised clinical trial evaluating the efficacy of pegylated-interferon (PEG-IFN)- $\alpha$ 2a and Ribavirin (RBV) for the treatment of HCV infection among 17 HIV co-infected patients who had already been treated for HCV [22]. HCV RNA quantification was performed at least three times within the first 4 weeks (W): W0 (treatment initiation), W2 and W4. In 8 patients, blood samples were collected more intensively with additional measures at 6 hours (H6), H12, day 1 (D1), D2, D4, W1 and W3. Patients were followed until W72 for final evaluation of the virological response but the study of viral dynamics was restricted to the first 4 weeks because of model assumptions (see below). The concentration of plasma HCV RNA was determined using a quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) assay (Cobas Amplicor HCV Monitor Test, version 2.0; Roche Molecular Systems). The lower detection limit of this assay was 600 IU/mL, i.e.  $2.78 \log_{10} \text{IU/mL}$ . Of note, one international unit (IU) equals approximately 2.2 copies/mL.

### Mathematical model

The model used to estimate HCV dynamics was first described by Neumann et al. [5] with the following differential equations:

$$\frac{dT}{dt} = s - \mu T - \beta VT \quad (1)$$

$$\frac{dI}{dt} = \beta VT - \delta I \quad (2)$$

$$\frac{dV}{dt} = (1 - \varepsilon) pI - cV \quad (3)$$

where T is the number of target cells (i.e. hepatocytes), I the number of productively infected cells and V the plasma HCV viral load. Target cells are produced at rate s (per day) and die at rate  $\mu$ . The number of cells which become infected per day is proportional to the number of circulating virions and available target cells with a proportionality constant  $\beta$  (infection rate). Infected cells die at rate  $\delta$  per day. HCV virions are produced at a rate  $p$  per infected cells per day and are cleared at a rate  $c$  per day. In the present model, the HCV treatment is supposed to reduce the production of virions from infected cells by a fraction  $(1-\varepsilon)$ . The possible effect of IFN as well as RBV on de novo rate of infection [5] or on infectivity by producing

a fraction of non-infectious virions [23] have been discussed. For the purpose of this paper, we assumed only a combined effect of both drugs on production rate of new virions because this measure was the most widely used by other investigators [6-9].

When working on a short period of 2-4 weeks, it sounds reasonable to consider that the number of uninfected hepatocytes ( $T$ ) remains constant (equal to the baseline value) because of the slow turnover of these cells [5]. Therefore, assuming a pre-treatment steady-state, the analytical solution of the equations (2) and (3) with  $T$  constant is:

$$V(t) = V_0 \left\{ A e^{-[\lambda_1(t-t_0)]} + (1-A) e^{-[\lambda_2(t-t_0)]} \right\} \quad (4)$$

for  $t > t_0$ , where

$$\lambda_1 = \{(c + \delta) + \sqrt{(c - \delta)^2 + 4(1 - \varepsilon)c\delta}\}, \lambda_2 = \{(c + \delta) - \sqrt{(c - \delta)^2 + 4(1 - \varepsilon)c\delta}\} \text{ and } A = \frac{(c - \delta)}{(\lambda_1 - \lambda_2)}$$

The viral decay is assumed to begin at  $t_0 = 0.25$  day (6 hours), corresponding to the drugs pharmacokinetics [5].

#### Hierarchical formulation

The previous notations do not account for patient/measurement level. Most often parameters of such models are estimated patient by patient assuming Gaussian, homoskedastic measurement error. A more valid and powerful approach is based on a hierarchical formulation of the model [11] that can distinguish at least two levels of variation. Hence, for the  $j^{th}$  measurement of a subject  $i$  performed at a time  $t_{ij}$ :

- Stage 1: intra-patient variation

$$\gamma_{ij} = \log_{10}(V(t_{ij}, \theta_i)) + e$$

$$\text{with } e_i \sim N(0, \sigma_e^2 I_{n_i})$$

The outcome is the logarithm (base 10) of the true viral load (function of  $t_{ij}$  and  $\theta_i$ , the p-vector of model parameters) plus a Gaussian measurement error  $e$ .  $I_{n_i}$  is a identity matrix of dimension  $n_i \times n_i$ ,  $n_i$  being the number of measurements available for the subject  $i$ .

- Stage 2: inter-patient variation

$$\theta_i = \theta + \gamma_i$$

$$\text{with } \gamma_i \sim MVN(0, D)$$

$\theta = [V_0, \varepsilon, \delta, c]$  is the p-vector of average (fixed) effect in the whole study population and  $\gamma_i$  is a q-vector ( $q \leq p$ ) of random effects for correcting  $\theta$  for each subject (random effect). Actually,  $\theta$  is a log-transformation of original parameters that have several advantages including a positivity constraint for original parameters. Random effects  $\gamma_i$  were assumed to be normally distributed with a variance-covariance matrix  $D$ .  $\theta_i$  are estimated through Empirical Bayes estimates.

#### Model likelihood

As presented in more details elsewhere [24], the method proposed to take into account left-censored values when estimating parameters is to maximise a full likelihood distinguishing the contribution of observed measures ( $Y_{ij}^0$  for  $j = 1, \dots, n_i^0$ ) and left-censored measures ( $Y_{ij}^c$  for  $j = 1, \dots, n_i^c$ ) of viral load. The likelihood can be written:

$$L(\theta) = \prod_{i=1}^N \left[ \int_{R^q} \left\{ \prod_{j=1}^{n_i^0} f_{Y_{ij}^0 | \gamma_i} (Y_{ij}^0 | \gamma_i = u) \right\} \left\{ \prod_{j=n_i^0+1}^{n_i} F_{Y_{ij}^c | \gamma_i} (Y_{ij}^c | \gamma_i = u) \right\} f_{\gamma_i}(u) du \right] \quad (5)$$

with  $f_{Y_{ij}^c | \gamma_i}$  being the univariate normal density of  $Y_{ij}^c$  given the random effects  $\gamma_i$  and  $F_{Y_{ij}^c | \gamma_i}$  is the cumulative distribution function of the normal distribution of  $Y_{ij}^c$  given the random effects. The calculation of this likelihood leads to the integration over  $u = u_1, u_2, \dots, u_q$ , that is a multiple integral of dimension  $q$ . Therefore, with this method, rather than imputing a fixed value of undetectable viral load, one assumes that left-censored values are completing the Gaussian distribution of  $Y_i$ . A crude approach assumes that left-censored values contribute like observed values, being equal to the value of the threshold or any other given value. In this case, the likelihood is simply:

$$L(\theta) = \prod_{i=1}^N \left[ \int_{R^q} \left\{ \prod_{j=1}^{n_i^0+n_i^c} f_{Y_{ij}^0 | \gamma_i} (Y_{ij}^0 | \gamma_i = u) \right\} f_{\gamma_i}(u) du \right] \quad (6)$$

#### Algorithm and implementation

The maximisation of the likelihood function can be performed with standard software such as NL MIXED in SAS® [24]. Using this procedure, the default algorithm is a quasi-newton algorithm and the calculation of the multiple integral is performed by adaptative quadrature. An example of code used for this paper is provided in appendix.

### Simulation study

Simulations were performed to compare the bias on parameter estimates when taking into account left-censoring or not. Using the analytical solution (4) and allowing a random individual variation for the initial viral load and treatment efficacy, parameters to estimate were:  $V_0$ ,  $\varepsilon$ ,  $\delta$ ,  $c$ ,

$$\sigma_{\gamma_0}^2, \sigma_{\gamma_1}^2, \sigma_e^2$$

with  $V_{0i} = V_0 + \gamma_{0i}$ ,  $\varepsilon_i = \varepsilon + \gamma_{1i}$  and

$$\begin{bmatrix} \gamma_{0i} \\ \gamma_{1i} \end{bmatrix} \sim N \left( \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \sigma_{\gamma_0}^2 & 0 \\ 0 & \sigma_{\gamma_1}^2 \end{bmatrix} \right)$$

To constraint parameters to be in the correct range, estimations were performed on transformed parameters (for the study on real data, as well) using a logarithm function for  $\delta$ ,  $c$  and logit function for  $\varepsilon$  (bounding  $\varepsilon$  between 0 and 1). In the simulation study, we fixed  $t_0 = 0$  but results were similar with  $t_0 = 0.25$ .

Values for model parameters were defined according to the results reported in the literature of HCV dynamics [6]. In our application where patients were previously treated and dually infected by HIV and HCV, the estimate of treatment efficacy is less than those usually reported in naïve patients mono-infected with HCV [5].

The steps followed for the simulations were:

1) Sample  $V_{0i} = V_0 + \gamma_{0i}$  and  $\varepsilon_i = \varepsilon + \gamma_{1i}$  for a subject  $i$

**Table I: Relative bias of model parameters using non linear mixed models taking into account left-censored (undetectable) values (corrected) or not (crude) with simulated data. N = 20 patients, 1000 simulations, 14% left-censored measures in average.**

Parameter and true value	Crude estimate		Corrected estimate		
	Estimates	Relative bias (%)	Estimates	Relative bias (%)	
<b>Fixed effects</b>					
$V_0$	6.16 $\log_{10}$ IU/mL	6.09	-1.1	6.16	-0.021
$\delta$	0.40 day $^{-1}$	0.18	-55.2	0.40	+0.78
$c$	2.00 day $^{-1}$	1.10	-44.8	2.03	+1.5
$\varepsilon$	0.80	0.93	+15.8	0.79	-1.3
<b>Variances</b>					
$\sigma_{\gamma_0}^2$	0.49	0.59	+20.3	0.46	-6.4
$\sigma_{\gamma_1}^2$	2.69	2.18	-18.8	2.31	-13.9
$\sigma_e^2$	0.04	0.09	+133.2	0.039	-2.4

2) Simulate the differential equations (1)-(3) model and keep measures at the time points: keep measures at H0, H6, H12, D1, D2, D4, W1, W2, W3 and W4. Left-censor measures below 2.78 IU/mL.

3) Repeat N times (for N = 20 subjects) steps 1 and 2

4) Estimate parameters with (5) when taking into account left-censoring and with usual likelihood (6) replacing left-censored values by the value of the threshold, i.e. 2.78 IU/mL.

5) Calculate the relative bias for each parameter RB = 100\*(estimate-true value)/true value

6) Repeat 1000 times steps 1 to 5 and average the relative biases

### Results

#### Simulation study

Results of the simulations are shown in Table 1. On average, 14% of simulated measures of HIV RNA were left-censored when the treatment efficacy was  $\varepsilon = 80\%$ . Crude estimates provided by standard likelihood (6) maximisation, replacing left-censored values by the value of the threshold, were dramatically biased with the exception of  $V_0$ . In particular, with only 14% of left-censored measures, infected cells death rate  $\delta$  and clearance of virus  $c$  were underestimated by 55 and 45 percent, respectively. Treatment efficacy ( $\varepsilon$ ) was overestimated by 16%. Variances of random effects were also significantly biased: +20% and -19% for random effects on  $V_0$ , and  $\varepsilon$ , respectively. The residual variance was overestimated (+133%).

When taking into account left-censoring, the relative bias on estimates was  $\leq 2\%$  for all parameters but variance parameters. However, the biases on variance parameters significantly decreased (e.g. the bias on  $\sigma_{\gamma_i}^2$  changed from -14% to -0.4%) when increasing the number of subjects included in the sample (e.g.  $N = 200$ ).

#### Application

Model parameters were estimated using the HCV RNA data available during the first 4 weeks following treatment initiation in the 17 patients included in the ROCO2 trial. Among these 100 available measurements, 12 were undetectable, i.e. left-censored.

Estimates of parameters taking into account left-censoring or not are shown in Table 2. Differences between estimates according to the method used were large on the death rate infected cells,  $\delta$ .

Using the crude approach, the estimate was  $0.13 \text{ day}^{-1}$  (95% confidence interval [CI]: 0.11; 0.17) compared to  $0.19 \text{ day}^{-1}$  (CI: 0.14; 0.26) when taking into account left-censoring. These estimates correspond to half-life ( $t_{1/2}$ ) of infected cells of 5.3 days ( $t_{1/2} = \ln(2)/\delta$ ) and 3.6 days, respectively. Differences between estimates for the other fixed parameters were less important. Furthermore, the confidence intervals of the estimates were larger when taking into account left-censoring (Table 2).

The impact of the method used to estimate the parameters on individual viral load predictions is illustrated in Figure 1. For the first three patients (102, 108 and 201), the decrease of the second part of the viral load slope was

**Table 2: Estimates of model parameters using non linear mixed models taking into account left-censored (undetectable) values (corrected) or not (crude) with data from ROCO2 clinical trial. N = 17 patients, 100 measures, 12% left-censored.**

Parameter	Crude approach		Corrected approach	
	Estimate	95% CI	Estimate	95% CI
$V_0$	6.13	5.78; 6.48	6.12	5.77; 6.47
$\delta$	0.13	0.11; 0.17	0.19	0.14; 0.26
$c$	1.73	1.15; 2.61	1.66	0.88; 3.13
$\varepsilon$	0.89	0.74; 0.96	0.86	0.64; 0.95
$\sigma_{\gamma_0}^2$	0.42	0.082; 0.75	0.41	0.077; 0.74
$\sigma_{\gamma_1}^2$	3.23	0.38; 6.09	3.77	0.38; 7.16
$\sigma_e^2$	0.071	0.045; 0.097	0.073	0.044; 0.10

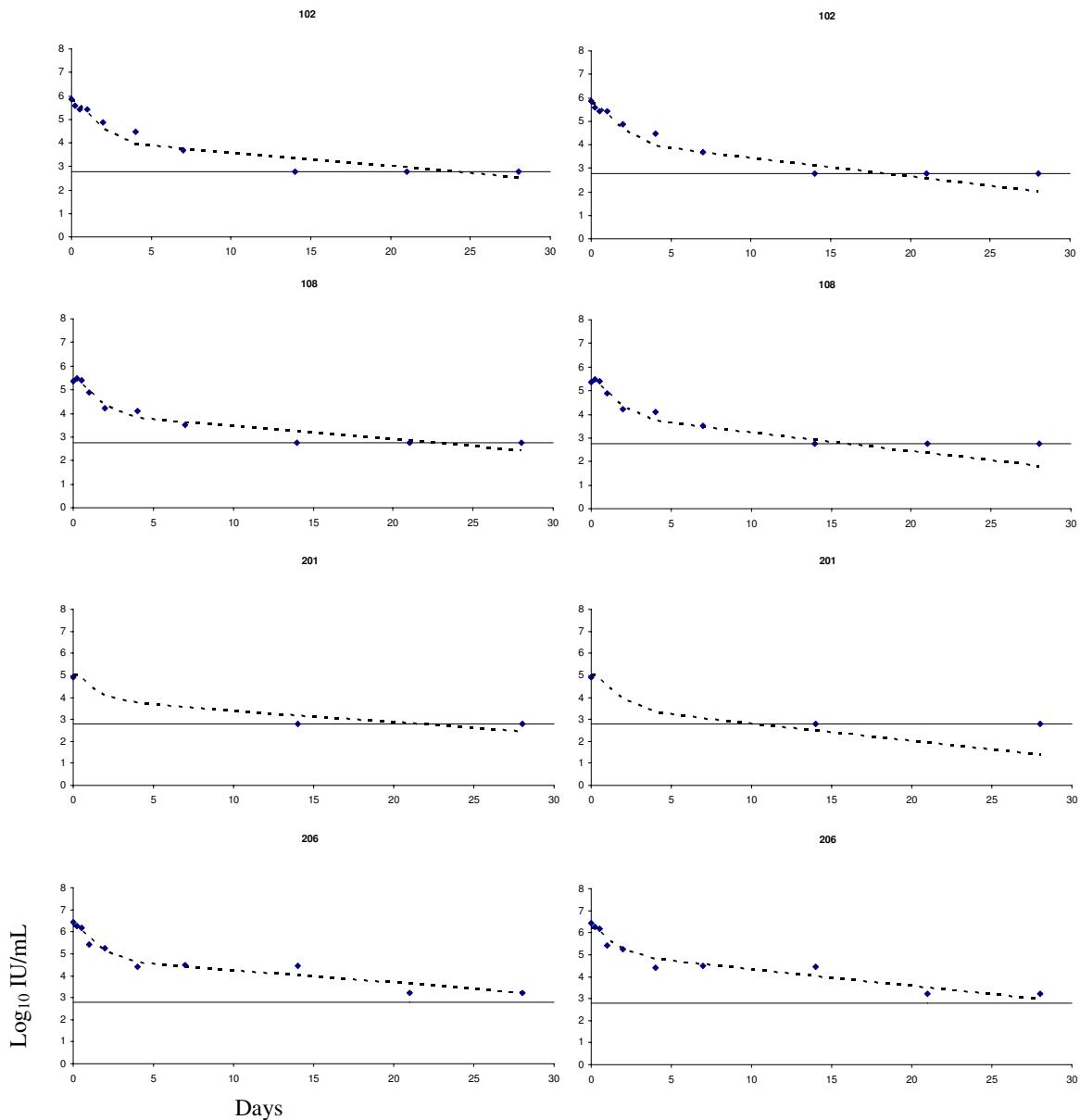
more pronounced when taking into account left-censoring. Actually, left-censoring tended to occur on the last measurements depending on the treatment efficacy and the baseline level of viral load. The apparent discrepancy with observed values is obviously due to the fact that undetectable values are plotted on the detection limit (2.78 IU/mL) although the true value is below this threshold. This result is expected as the slope after the shoulder is proportional to the infected cell death rate ( $\delta$ ). As expected for the last patient (206) who did not have any undetectable viral load within 4 weeks, both predictions were very close.

The relative differences between estimates of individual treatment efficacy ( $\varepsilon_i = \varepsilon + \gamma_{1i}$ ) according to the method used varied from 0.001% to 37%. As expected from simulation results where treatment efficacy tended to be overestimated with the crude approach and from the estimate of the average (fixed) effect  $\varepsilon$ , the estimated effect was most often higher with the crude approach compared to the corrected one. For instance, the estimate of treatment efficacy in patient 101, was 36% and 45% when taking into account left-censoring or not, respectively. On the contrary, for the patient 201, the estimates were 97% and 93%, respectively. Of note, the model was able to predict viral load changes for the patient 201 thanks to the information provided by the other patients with more numerous measurements available. This is an illustration of the advantage of hierarchical models.

#### Discussion

In this paper, the impact of taking into account left-censored (undetectable) HCV RNA values was illustrated on the estimation of dynamical models based on a system of differential equations. Although, the proportion of undetectable values was quite low (12%), there were clinically significant differences, particularly in estimate of mean half-life and individual treatment efficacy. Such a result is important because all these parameters are of interest. Treatment efficacy evaluation through dynamical model is broadly used in HCV infection for instance.

We observed smaller biases from the crude approach applied to the real dataset compared to simulation results. However, some parameters values were different to those used in the simulations such as  $\delta$  (0.13 vs. 0.40). Simulations using values estimated with real data led to smaller biases as observed in the present application (data not shown). The overestimation of the treatment efficacy by the crude approach may appear counter-intuitive because the imputation of the value of the threshold artificially limits the decrease of viral load. However, it is difficult to anticipate the impact of left-censoring in dynamical models because of the complex relationship between parameters, particularly between  $\varepsilon$  and  $\delta$  [23]. In the present

**Figure 1**

Observed and predicted HCV RNA values in four patients. Predictions came from non linear mixed effect models taking into account left-censored (undetectable) values (right side) or not (left side). Observed undetectable HCV RNA measures ( $<2.78 \log_{10} \text{IU/mL}$ ) are plotted at  $2.78 \log_{10} \text{IU/mL}$ .

study, the imputation of the value of threshold level to undetectable viral loads led to a higher level of HCV RNA than the truth, particularly in the second part of the dynamics. The death rate of infected cells ( $\delta$ ) is one of the

main parameters influencing viral load levels in this period [5,25]. This explains the underestimation of this parameter. On the other hand, an overestimation of treatment effect on viral production ( $\varepsilon$ ) is needed to obtain a

trajectory compatible with the first part of the viral dynamics (high viral load without left-censored measures), given a high infected cells death and virions clearance.

Half-life of infected cells helps in understanding how high is the turnover [3,26,27]. Previously published results [25] can be used to illustrate the size of the impact of left-censoring on HIV infected cells turnover. Differences in estimates of half-life of infected long-lived cells as large as those we reported in HCV would lead to halve the time needed to treat to achieve virus eradication (assuming no viral reservoir). Compared to results with piecewise linear mixed models commonly used with surveillance data (monthly to 6-months intervals between measurements) of HIV RNA [19,20], the estimates of the parameters are more sensitive to undetectable values in the context of dynamical models with highly repeated measurements. Moreover, confidence intervals of estimates were larger when taking into account left-censoring compared to simple imputation that tends to artificially decrease the variability, as previously reported with linear models [20].

The method presented in this paper is easy to implement in standard software. One limitation is that it is based on analytical solutions of the system of differential equations. However, looking at the applied papers on HCV infection, the authors used most often the same model with the same assumptions leading to the same analytical solution. Using hierarchical models taking into account left-censoring should improve the validity of estimation and may help in case of convergence difficulty when using individual data [9]. More complex mathematical models have been proposed to fit additional markers such as liver enzymes level [28] or pharmacokinetics data [29]. In this case, more general approaches based directly on numerical solution of the differential equations should be used [13,15]. Another limitation of the proposed methods is the assumption of log-normal distribution of viral load measures. In our experience, it is most often a reasonable assumption in the case of circulating HIV virus and this could be checked from residuals [20,30]. However, if this assumption is not tenable, extensions based on mixture distributions (log-normal and binary) can be used and are also easily implementable in software [21].

## Conclusion

Imputing a single value to left-censored measures of viral load is a wrong assumption and stronger than assuming a given distribution for the whole measurements. We proposed a method that gives unbiased estimates if the assumed distribution is correct (e.g. lognormal) and that is easy to use with standard software.

## Competing interests

The trial was supported by a grant from Roche Laboratories.

## Authors' contributions

RT carried out the simulations and drafted the manuscript. JG participated to the work of estimation (with RT). JG, HJG and DC participated in the statistical analysis and helped to draft the manuscript. GC, DN and PT performed the clinical trial and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## Appendix

Example of code using NLMIXED to fit the model presented in the methods section taking into account left censoring.

```
proc nlmixed data = roco2 OPTCHECK; /* option for
checking convergence at the optimum */
/* declare the model parameters to estimate */
parms beta0 = 10 beta1 = -1.0 beta2 = 1 beta3 = 0.8 s2b0
= 1 s2b3 = 0.1 s2 = 0.1;
/* declare constraints for variance parameters */
bounds s2,s2b0,s2b3 > 0;
pi = 2*arsin(1);
/* model definition */
V0 = exp(beta0+b0);
d = exp(beta1);
c = exp(beta2);
e = beta3+b3;
t0 = 0.25; /* 6 hours */
th = sqrt((c-d)*(c-d)+4*(1-e)*c*d);
l1 = 0.5*(c+d+th);
l2 = 0.5*(c+d-th);
if tps le t0 then pred = V0;
if tps gt t0 then
pred = 0.5*V0*((1-(c+d-2*e*c)/th) * exp(-l1*((tps-
t0)))+
```

```

(1+(c+d-2*e*c)/th) * exp(-l2*((tps-t0))));           CV = &CV0;
logpred = log10(pred);                                T = (c*d)/(p*b);
/* likelihood contribution according to the observed/cen-   I = (c*CV)/p;
sored status */                                         end;
* observed ;
if detec = 1 then ll = (1/(sqrt(2*pi*s2)))           if time ne 0 then do;
*exp(-(logCV-logpred)**2/(2*s2));
* censored ;
if detec = 0 then ll = probnorm((logCV-logpred)/
sqrt(s2));
L = log(ll);
model logCV ~ general(L);
/* definition of the random effects */
random b0 b3 ~ normal([0,0], [s2b0,0,s2b3]) subject
= id;
Example of code used for simulating data from dynamical
model
%do sim = 1 %to &S;
%do id = 1 %to &N;
Data_null_;
logCV0 = 6.16+0.70*rannor(-1);
CV0 = 10**logCV0;call symput('CV0',CV0);
kmax = 1.39+1.64*rannor(-1);
e = exp(kmax)/(1+exp(kmax));call symput('e',e);
run;
Data sim; do time = 0 to 672 by 1;output;end; run;
Proc model data = sim;
dependent T I CV ;
parm b 0.00000003 d 0.0167 e &e p 4.16 c 0.0833;
if time = 0 then do;
logCV = &CV0;
T = (c*d)/(p*b);
I = (c*CV)/p;
end;
else do;
dert.T = 0;
dert.I = b*CV*T-d*I;
dert.CV = (1-e)*p*I-c*CV;
end;
solve T I CV/dynamic out = simul;
run ; quit;
Data pat;set simul;tps = time/24;id = &id;CV0 = &CV0;e =
&e;
if round(time) in
(0,6,12,24,48,96,168,336,504,672);run;
%if &id = 1 %then %do;
Data file; set pat;error = 0.2*rannor(-1);if CV gt 0 then
logCV = log10(CV)+error;run;
%end;
%else %do;
Data file; set file pat;error = 0.2*rannor(-1);if CV gt 0 then
logCV = log10(CV)+error;run;
%end;
/* truncation */
Data file; set file;
if logCV lt 2.778 then do;
logCV = 2.778;detec = 0;end;
else detec = 1;
run;
ods exclude none;

```

%end; /\* end of patients \*/

## Acknowledgements

The authors thank the investigators and the patients of the ROCO2 clinical trials.

## References

1. Perelson AS: **Modelling viral and immune system dynamics.** *Nature Reviews Immunology* 2002, **2**:28-36.
2. Perelson AS, Herrmann E, Micol F, Zeuzem S: **New kinetic models for the hepatitis C virus.** *Hepatology* 2005, **42**:749-754.
3. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M: **Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection.** *Nature* 1995, **373**:123-126.
4. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emini EA, Deutsch P, Lifson JD, Bonhoeffer S, Nowak MA, Hahn BH, et al.: **Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection.** *Nature* 1995, **373**:117-122.
5. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, Perelson AS: **Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy.** *Science* 1998, **282**:103-107.
6. Torriani FJ, Ribeiro RM, Gilbert TL, Schrenk UM, Clauson M, Pacheco DM, Perelson AS: **Hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) dynamics during HCV treatment in HCV/HIV coinfection.** *The Journal of Infectious Diseases* 2003, **188**:1498-1507.
7. Layden-Almer JE, Ribeiro RM, Wiley T, Perelson AS, Layden TJ: **Viral dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin.** *Hepatology* 2003, **37**:1343-1350.
8. Talal AH, Shata MT, Markatou M, Dorante G, Chadburn A, Koch R, Neumann AU, Ribeiro RM, Perelson AS: **Virus dynamics and immune responses during treatment in patients coinfected with hepatitis C and HIV.** *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2004, **35**:103-113.
9. Sherman KE, Shire NJ, Rousher SD, Peters MG, Koziel MJ, Chung RT, Horn PS: **Viral kinetics in hepatitis C or hepatitis C/human immunodeficiency virus-infected patients.** *Gastroenterology* 2005, **128**:313-327.
10. Herrmann E, Zeuzem S, Sarrazin C, Hinrichsen H, Benhamou Y, Manni MP, Reiser M, Reesink H, Calleja JL, Forns X, Steinmann GG, Nehmiz G: **Viral kinetics in patients with chronic hepatitis C treated with the serine protease inhibitor BILN 2061.** *Antiviral Therapy* 2006, **11**:371-376.
11. Wu HL, Ding AA: **Population HIV-1 dynamics in vivo: Applicable models and inferential tools for virological data from AIDS clinical trials.** *Biometrics* 1999, **55**:410-418.
12. Wu HL: **Statistical methods for HIV dynamic studies in AIDS clinical trials.** *Statistical Methods in Medical Research* 2005, **14** (2):171-192.
13. Wu HL, Ding AA, DeGruttola V: **Estimation of HIV dynamic parameters.** *Statistics in Medicine* 1998, **17**:2463-2485.
14. Putter H, Heisterkamp SH, Lange JM, de Wolf F: **A Bayesian approach to parameter estimation in HIV dynamical models.** *Statistics in Medicine* 2002, **21**:2199-2214.
15. Banks HT, Grove S, Hu S, Ma Y: **A hierarchical Bayesian approach for parameter estimation in HIV models.** *Inverse Problems* 2005, **21**:1803-1822.
16. Kuhn E, Lavielle M: **Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models.** *Computational Statistics & Data Analysis* 2005, **49**:1020-1038.
17. SAS Institute Inc : **The NLIN MIXED Procedure.** In SAS/STAT User's Guide, Version 8 Carry, NC, SAS Institute Inc.; 2000:2419-2504.
18. Alberti A, Clumeck N, Collins S, Gerlich W, Lundgren J, Palu G, Reiss P, Thiébaut R, Weiland O, Yazdanpanah Y, Zeuzem S: **Short statement of the first European consensus conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV co-infected patients.** *Journal of Hepatology* 2005, **42**:615-624.
19. Hughes JP: **Mixed effects models with censored data with application to HIV RNA levels.** *Biometrics* 1999, **55**:625-629.
20. Jacqmin-Gadda H, Thiébaut R, Chêne G, Commenges D: **Analysis of left-censored longitudinal data with application to viral load in HIV infection.** *Biostatistics* 2000, **1**:355-368.
21. Berk KN, Lachenbruch PA: **Repeated measures with zeros.** *Statistical Methods in Medical Research* 2002, **11**:303-316.
22. Breilh D, Neau D, Djabarouti S, Trimoulet P, Pellegrin JL, Duprat C, Ragnaud JM, Dupon M, Saux MC: **Plasma Target Concentration of Ribavirin in HCV/HIV Co-infected Patients:** ; Boston, February 22-25, 2005. ; 2005.
23. Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson AS: **Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection.** *Nature* 2004, **432**:922-924.
24. Thiébaut R, Jacqmin-Gadda H: **Mixed models for longitudinal left-censored repeated measures.** *Comput Methods Programs Biomed* 2004, **74**:255-260.
25. Perelson AS, Essunger P, Cao Y, Vesanen M, Hurley A, Saksela K, Markowitz M, Ho DD: **Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy.** *Nature* 1997, **387**:188-191.
26. Emery VC, Cope AV, Bowen EF, Gor D, Griffiths PD: **The dynamics of human cytomegalovirus replication in vivo.** *Journal of Experimental Medicine* 1999, **190**:177-182.
27. Whalley SA, Murray JM, Brown D, Webster GJ, Emery VC, Dusheiko GM, Perelson AS: **Kinetics of acute hepatitis B virus infection in humans.** *Journal of Experimental Medicine* 2001, **193**:847-854.
28. Ribeiro RM, Layden-Almer J, Powers KA, Layden TJ, Perelson AS: **Dynamics of alanine aminotransferase during hepatitis C virus treatment.** *Hepatology* 2003, **38**:509-517.
29. Powers KA, Dixit NM, Ribeiro RM, Golia P, Talal AH, Perelson AS: **Modeling viral and drug kinetics: hepatitis C virus treatment with pegylated interferon alfa-2b.** *Seminars in Liver Disease* 2003, **23 Suppl 1**:13-18.
30. Lyles RH, Lyles CM, Taylor DJ: **Random regression models for human immunodeficiency virus ribonucleic acid data subject to left censoring and informative drop-outs.** *Journal of the Royal Statistical Society: Series C* 2000, **49**:485-497.

## Pre-publication history

The pre-publication history for this paper can be accessed here:

<http://www.biomedcentral.com/1471-2288/6/38/prepub>

Publish with **BioMed Central** and every scientist can read your work free of charge

"BioMed Central will be the most significant development for disseminating the results of biomedical research in our lifetime."

Sir Paul Nurse, Cancer Research UK

Your research papers will be:

- available free of charge to the entire biomedical community
- peer reviewed and published immediately upon acceptance
- cited in PubMed and archived on PubMed Central
- yours — you keep the copyright

Submit your manuscript here:  
[http://www.biomedcentral.com/info/publishing\\_adv.asp](http://www.biomedcentral.com/info/publishing_adv.asp)



# Chapitre 4

## Estimation dans les modèles dynamiques définis par un système ODE

### 4.1 Introduction d'un modèle biomathématique

Le chapitre 1 a introduit les premiers modèles dynamiques non simplifiés, du type (1.2)-(1.3). Nous avons développé par ailleurs les hypothèses autour du rôle joué par l'activation (section 1.3.1) . La possibilité de distinguer entre virus infectieux et non-infectieux, qui forme la majorité du virus (Chun et al., 1997) a été évoquée (section 1.1.3).

Il nous a donc semblé important de développer un modèle biomathématique qui, bien qu'appartenant à la famille des modèles déjà existants (Perelson et al., 1996 ; Stafford et al., 2000 ; Huang et al., 2006) permette de prendre en compte un mécanisme aujourd’hui reconnu comme majeur dans la physiopathologie du VIH : l’activation. En l’absence de traitements, nous proposons donc le modèle suivant :

$$\begin{cases} \frac{dQ}{dt} = \lambda + \rho T - \alpha Q - \mu_Q Q \\ \frac{dT}{dt} = \alpha Q - \gamma TV_I - \rho T - \mu_T T \\ \frac{dT^*}{dt} = \gamma TV_I - \mu_{T^*} T^* \\ \frac{dV_I}{dt} = \omega \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_V V_I \\ \frac{dV_{NI}}{dt} = (1 - \omega) \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_V V_{NI} \end{cases} \quad (4.1)$$

La prise en compte du traitement s'intègre aisément au modèle : des inhibiteurs de la protéase peuvent être pris en compte en écrivant  $\omega' = \omega * (1 - \eta_{IP})$  tandis qu'un inhibiteur de la transcriptase inverse nécessite de modifier  $\gamma$  en  $\gamma' = \gamma * (1 - \eta_{RT})$ .

Le système est supposé en équilibre à  $t = 0$ . En primo-infection,  $t = 0$  correspond à un sujet sain ayant reçu un inoculum de virus  $V_0$  :

$$Q(0) = \frac{\lambda}{\alpha + \mu_Q - \frac{ar}{r + \mu_T}} ; T(0) = \frac{a * Q(0)}{r + \mu_T} ; T^*(0) = 0 ; V_I(0) = \omega * V_0 ; V_{NI}(0) = (1 - \omega) * V_0$$

Un autre cadre d'étude est la mise en place d'un traitement ; dans ce cas les patients sont supposés avoir atteint à  $t = 0$  un état d'équilibre qui est le plus souvent l'état d'équilibre sans traitement. Comme nous l'avons discuté, cette hypothèse est souvent contredite par les données. Par ailleurs, c'est souvent le dégradation des marqueurs qui motive la décision d'initier un traitement. L'hypothèse d'équilibre pourrait être omise mais elle permet de rendre les paramètres de traitements  $\eta_{RT}$  et  $\eta_{PI}$  identifiables. Sous l'hypothèse d'équilibre sans traitement, le système est donc dans l'état suivant à  $t = 0$  :

$$\begin{cases} Q(0) = \frac{1}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) \\ T(0) = \frac{\mu_v}{\omega \gamma \pi} \\ T^*(0) = \frac{1}{\mu_{T^*}} (\frac{\alpha}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{(\rho + \mu_T) \mu_v}{\omega \gamma \pi}) \\ V_I(0) = \frac{\alpha \omega \pi}{\mu_v (\alpha + \mu_Q)} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{\rho + \mu_T}{\gamma} \\ V_{NI}(0) = \frac{(1 - \omega) \pi}{\mu_v} (\frac{\alpha}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{\mu_v (\rho + \mu_T)}{\omega \gamma \pi}) \end{cases}$$

## 4.2 Méthode proposée pour l'estimation des paramètres

Nous proposons dans cette partie une méthode originale d'estimation des paramètres d'un modèle défini par un système d'Équations Différentielles Ordinaires sans solution, en prenant en compte en outre les variations inter-sujets. Nous proposons une approche d'estimation des paramètres par maximisation directe de la vraisemblance. La maximisation est faite *via* un algorithme de type Newton en utilisant l'approximation (2.28) que nous avons tenté de justifier plus théoriquement (Commenges et al., 2006). Nous appliquons cette méthode sur un jeu de données réelles, l'essai clinique ANRS ALBI 070, et nous mon-

trons par simulation que la robustesse des estimateurs fournis. En outre, cette approche permet d'obtenir une estimation *in vivo* de l'efficacité des traitements. Ces résultats sont présentés dans un article en révision dans *Biometrics*.

## Maximum Likelihood Estimation in Dynamical Models of HIV

J. Guedj,<sup>1,2</sup> R. Thiébaut<sup>1,2,\*</sup> and D. Commenges<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>INSERM, EMI 0338 (Biostatistique), Bordeaux, F-33076, FRANCE

<sup>2</sup>Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, F-33076, FRANCE

**SUMMARY.** The study of dynamical models of HIV infection, based on a system of non-linear Ordinary Differential Equations (ODE), has considerably improved the knowledge of its pathogenesis. While the first models used simplified ODE systems and analyzed each patient separately, recent works dealt with inference in non-simplified models borrowing strength from the whole sample. The complexity of these models leads to great difficulties for inference and only the Bayesian approach has been attempted by now. We propose a full likelihood inference, adapting a Newton-like algorithm for these particular models. We consider a relatively complex ODE model for HIV infection and a model for the observations including the issue of detection limits. We apply this approach to the analysis of a clinical trial of antiretroviral therapy (ALBI ANRS 070) and we show that the whole algorithm works well in a simulation study.

**KEY WORDS:** Ordinary Differential Equations; HIV dynamics; Non-linear mixed effects models; Likelihood inference

---

\*email: rt@isped.u-bordeaux2.fr

## 1. Introduction

Studies of the human immunodeficiency virus (HIV) dynamics using biomathematical models have considerably improved the knowledge of the pathogenesis of this infection. For instance, such studies have demonstrated the high turnover of infected cells as well as that of free virions (Ho et al., 1995; Perelson et al., 1996). These pioneering works considered models based on a system of non-linear Ordinary Differential Equations (ODE) without closed-form solution, which were simplified and linearized. The estimation of the parameters was then performed for each subject using simple non-linear regression methods (Perelson et al., 1996). Population approaches that estimate parameters of simplified models using the data from all the subjects of a sample have been proposed (Wu and Ding, 1999): such models are in the framework of Non-Linear Mixed-Effect (NLME) models (Pinheiro and Bates, 2000). However, as noted by Huang et al. (2006), these linearized ODE models are not able to describe the course of the infection for a long-term period. Moreover, only the virus dynamics is taken into account, neglecting the evolution of the CD4+ T lymphocytes (CD4) count. Last, these models do not include parameters such as treatment efficacy, and thus do not help much to a better understanding of the mechanisms of the infection or an evaluation of treatment effect: this is why it is important to work with non-simplified models (that is, based on non-linear ODE systems) which are able to represent the complexity of the dynamics. Several authors (Putter et al., 2002; Huang et al., 2006) have attacked the ambitious program of treating these models in a population context, all using a Bayesian approach. The two above-mentioned difficulties are combined: non closed-form of the solution

of the ODE system and numerical integrals involved in the likelihood. In the Bayesian approach the direct numerical integrations are avoided and the approach relies on the MCMC algorithms to give the *a posteriori* distributions of the parameters (Gilks et al., 1996). Of course *a priori* distributions have to be given, and this is both an advantage (*a priori* knowledge can be put in the model) and a drawback (it is not always clear what quantity of *a priori* knowledge has been introduced) of the approach.

Although the Bayesian approach may be very attractive in such a complex problem, the maximum likelihood approach retains some advantages: there is no need to specify *a priori* distributions, and there is a very well established theory of inference, one can easily compare parametric models using the Akaike criterion. Moreover, Newton-like methods may be relatively fast compared to the heavy computation involved in Bayesian approach, convergence criteria are well defined and last, at convergence, the algorithm gives the maximum likelihood and an approximation of its second derivative, which is an estimate of the information matrix. To avoid numerical difficulties, mainly due to the need to compute numerically multiple integrals involved in the likelihood, several approximations of the likelihood have been proposed (Pinheiro and Bates, 2000) but they may lead to inconsistent estimations (Ding and Wu, 2001). The problem is even more important when no closed-form solution is available, making numerical derivatives of the likelihood unstable and classical softwares inadequate (Putter et al., 2002; Huang et al., 2006).

The aim of our work was to develop a maximum likelihood approach to this problem based on an adaptation of a Newton-like method. We propose

a method for calculating with a good precision the likelihood and its score in ODE models; we show that a Newton-like method using only the first derivatives is adequate. We illustrate this approach with data from a clinical trial of antiviral therapy using a rather complex non-linear ODE model with five components. We were able to take into account left-censored data coming from the detection limits in the assays used for quantifying plasma HIV RNA level (viral load). In fact, ignoring this censoring leads to important biases in the estimation (Thiébaut et al., 2006).

The paper is organized as follows. In section 2, we describe the general population ODE model together with the observations we get from this model; in section 3, we present our inference approach, that is the likelihood and our maximization algorithm. In section 4, we describe an HIV dynamics model. In section 5, we analyse the data of the ALBI ANRS 070 trial. We show in section 6 that the algorithm works well through a simulation study.

## 2. Statistical Model

### 2.1 Model for the system

Let us consider an ODE model for a population of subjects. For subject  $i$  with  $i = 1, \dots, n$ , this can be written:

$$\begin{cases} \frac{d\mathbf{X}^{(i)}(t)}{dt} = f(\mathbf{X}^{(i)}(t), \boldsymbol{\xi}^{(i)}) \\ \mathbf{X}^{(i)}(0) = h(\boldsymbol{\xi}^{(i)}) \end{cases} \quad (1)$$

where  $\mathbf{X}^{(i)}(t) = (X_1^{(i)}(t), \dots, X_K^{(i)}(t))'$  is the vector of the  $K$  state variables (or components). We write  $\mathbf{X}(t, \boldsymbol{\xi}^{(i)}) = \mathbf{X}^{(i)}(t)$  to underline that  $\boldsymbol{\xi}^{(i)}$  completely determines the trajectories  $\mathbf{X}^{(i)}(t)$ . We assume that  $f$  and  $h$  are twice differentiable with respect to  $\boldsymbol{\xi}^{(i)}$ ;  $\boldsymbol{\xi}^{(i)} = (\xi_1^{(i)}, \dots, \xi_p^{(i)})'$  (' for transpose) is a vector of  $p$  individual parameters which appear naturally in the ODE

system and have generally a biological interpretation. We introduce a parsimonious model for  $\xi^{(i)}$  to allow inter-individual variability: the variability may be explained, through explanatory variables, or unexplained, and this is accounted for by random effects. Similarly to generalized (mixed) linear models, we introduce a link function which relates  $\xi^{(i)}$  to a linear model involving explanatory variables and random effects. For sake of simplicity we restrict to component-wise transforms:

$$\begin{cases} \tilde{\xi}_l^{(i)} = \Psi_l(\xi_l^{(i)}), \\ \tilde{\xi}_l^{(i)} = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l + \mathbf{w}_l^{(i)'} \mathbf{b}^{(i)}, \end{cases} \quad l \leq p \quad (2)$$

where  $\phi_l$  is the intercept,  $\mathbf{z}_l^{(i)}$  and  $\mathbf{w}_l^{(i)}$  are the vectors of explanatory variables associated respectively to the fixed and to the random effects of the  $l$ th biological parameter. The  $\boldsymbol{\beta}_l$ 's are vectors of regression coefficients associated to the fixed effects. We assume  $\mathbf{b}^{(i)} \sim \mathcal{N}(0, \Sigma)$ , where  $\mathbf{b}^{(i)}$  is the individual vector of random effects of dimension  $q$ . Let  $\mathbf{A} = (a_{l''l'})_{l' \leq l'' \leq q}$  the lower triangular matrix with positive diagonal elements such that  $\mathbf{A}\mathbf{A}' = \Sigma$  (Cholesky decomposition). We can write  $\mathbf{b}^{(i)} = \mathbf{A}\mathbf{u}^{(i)}$  with  $\mathbf{u}^{(i)} \sim \mathcal{N}(0, I_q)$ .

## 2.2 Model for the observations

It often happens that not all the components of the system can be observed. Functions  $g_m(\cdot)$ ,  $m = 1, \dots, M$  of  $\mathbb{R}^K$  to  $\mathbb{R}$  are introduced to link the potential observations to the original system; they are assumed to be twice differentiable. These functions allow to observe only some of the components of the original system, or observation of combinations of several components: for instance the model may distinguish between non-infected and infected CD4, but only the total number of CD4 is observed. The  $g_m(\cdot)$  will be called the *observable components*. Let  $Y_{ijm}$  denote the  $j$ th measurements of the

$m$ th observable component for subject  $i$  at time  $t_{ijm}$ ; we assume that:

$$Y_{ijm} = g_m(\mathbf{X}(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) + \epsilon_{ijm} \quad j = 1, \dots, n_{im}, \quad m = 1, \dots, M \quad (3)$$

where the  $\epsilon_{ijm}$  are independent Gaussian measurement errors with zero mean and variances  $\sigma_m^2$ . The model for the observation may be complicated by the detection limits of assays leading to left-censored observations  $Y_{ijm}$ . This is the case for HIV RNA concentration defined as the first observed component ( $m = 1$ ) in the following. We observe  $Y_{ij1}$  or the event  $\{Y_{ij1} < \zeta\}$ , where  $\zeta$  is the detection limit. The model can be easily generalized to upper detection limits or detection limits depending on time.

### 3. Inference

#### 3.1 Log-Likelihood

Denoting  $\delta_{ij} = I_{\{Y_{ij1} > \zeta\}}$ , the full individual likelihood given the random effects  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}$  is given by:

$$\begin{aligned} \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}} = \prod_{j \leq n_{i1}} & \left\{ \frac{1}{\sigma_1 \sqrt{2\pi}} \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{Y_{ij1} - g_1(\mathbf{X}(t_{ij1}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\sigma_1} \right)^2 \right] \right\}^{\delta_{ij}} \left\{ \Phi \left( \frac{\zeta - g_1(\mathbf{X}(t_{ij1}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\sigma_1} \right) \right\}^{1-\delta_{ij}} \\ & \prod_{m>1, j \leq n_{im}} \left\{ \frac{1}{\sigma_m \sqrt{2\pi}} \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{Y_{ijm} - g_m(\mathbf{X}(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\sigma_m} \right)^2 \right] \right\} \end{aligned}$$

where  $\Phi$  is the cumulative distribution function of the standard univariate normal distribution. The observed individual likelihood  $\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i}$  is obtained from

$\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}$  as:

$$\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i} = \int_{\mathbb{R}^q} \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u} \quad (4)$$

where  $\phi$  is the multivariate normal density of  $N(0, I_q)$ . We will denote  $L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}} = \log \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}$  and  $L_{\mathcal{O}_i} = \log \mathcal{L}_{\mathcal{O}_i}$  the full (given random effects) and observed individual log-likelihoods, respectively. The global observed

log-likelihood is  $L_{\mathcal{O}} = \sum_{i \leq n} L_{\mathcal{O}_i}$ . The integrand in (4) is centered and scaled as suggested for the adaptive Gaussian quadrature in Pinheiro and Bates (2000) and the integral is then computed with an efficient algorithm developed by Genz and Keister (1996) (see Web Appendix A & C for more details).

### 3.2 Algorithm of Likelihood Maximization

For likelihood inference, we propose a Newton-like method which uses only the first derivatives of the log-likelihood (the score).

#### Computation of the score

The computation of the score proceeds in two stages: first compute the score of the full likelihood given random effects; second compute the score of the observed likelihood by integration using the relationships given by Louis (1982) and generalized by Commenges and Rondeau (2006); this approach was used by Hedeker and Gibbons (1994) in another context. For simplicity, we assume in this section that there is no censored data. For subject  $i$  at the current point  $\boldsymbol{\theta} = ((\phi_l)_{l \leq p}, (\beta_l)_{l=1,p}, \mathbf{A} = (a_{ll'})_{l' \leq l \leq q}, \boldsymbol{\sigma} = (\sigma_l)_{l \leq M})$  the components of the full score can be written as follows:

$$\begin{aligned} U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}^{(\phi_l)}(\boldsymbol{\theta}) &= \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}}{\partial \tilde{\xi}_l^{(i)}} = \sum_{m \leq M, j \leq n_{im}} \frac{1}{\sigma_m^2} \frac{\partial g_m(\mathbf{X}(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial \tilde{\xi}_l^{(i)}} \left[ Y_{ijm} - g_m(\mathbf{X}(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) \right] \\ U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}^{(\beta_l)}(\boldsymbol{\theta}) &= \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}}{\partial \beta_l} = z_l^{(i)} U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}^{(\phi_l)}(\boldsymbol{\theta}) \\ U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}^{(a_{ll'})}(\boldsymbol{\theta}) &= \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}}{\partial a_{ll'}} = \sum_{m \leq M, j \leq n_{im}} \frac{1}{\sigma_m^2} \left( Y_{ijm} - g_m(\mathbf{X}(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) \right) \left( u_{l'}^{(i)} \sum_{l'' \leq p} w_{l'l''}^{(i)} \frac{\partial g_m(\mathbf{X}(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial \tilde{\xi}_{l''}^{(i)}} \right) \\ U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}^{(\sigma_l)}(\boldsymbol{\theta}) &= \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}}{\partial \sigma_l} = \sum_{j \leq n_{il}} \frac{(Y_{ijl} - g_l(\mathbf{X}(t_{ijl}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})))^2}{\sigma_l^3} - \frac{n_{il}}{\sigma_l} \end{aligned}$$

Using the fact that:

$$\frac{\partial g_m(\mathbf{X}(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial \tilde{\xi}_l^{(i)}} = \sum_{k \leq K} \frac{\partial g_m(\mathbf{X}(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial X^{(k)}} \frac{\partial X^{(k)}(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})}{\partial \tilde{\boldsymbol{\xi}}_l^{(i)}},$$

the computation of the full score requires to solve numerically the  $p$  systems of sensitivity equations  $\frac{\partial X^{(k)}(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})}{\partial \tilde{\xi}_l^{(i)}}$  (see example in the Web Appendix B).

Then the observed scores can be deduced by Louis' formula:

$$\mathbf{U}_{\mathcal{O}_i} = \frac{\partial L_{\mathcal{O}_i}}{\partial \boldsymbol{\theta}} = (\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i})^{-1} \int_{\mathbb{R}^q} \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i | \mathbf{u}^{(i)}}(\mathbf{u}) \mathbf{U}_{\mathcal{F}_i | \mathbf{u}^{(i)}}(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u}.$$

The integrals can be computed by adaptive Gaussian quadrature using the same transformation as for the computation of  $L_{\mathcal{O}_i}$ . Then, the global observed score is  $\mathbf{U} = \mathbf{U}_{\mathcal{O}} = \sum_{i \leq n} \mathbf{U}_{\mathcal{O}_i}$ .

#### *The maximization algorithm*

The Newton-Raphson method, or the more robust Marquardt algorithm (Marquardt, 1963), is the most efficient algorithm when the log-likelihood is not too far from a quadratic function. This approach requires to compute the score  $\mathbf{U}$  and the Hessian  $\mathbf{H}$  at each current point  $\theta_k$  of the maximization procedure. Although a semi-analytical expression for the Hessian could be obtained with the same two-stages approach as for the score, the computational burden would become unbearable and we propose to use an iterative method in which  $H(\theta_k)$  is replaced by  $G(\theta_k) = \sum_{i \leq n} \mathbf{U}_{\mathcal{O}_i}(\theta_k) \mathbf{U}'_{\mathcal{O}_i}(\theta_k) + \frac{\nu}{n} \mathbf{U}(\theta_k) \mathbf{U}'(\theta_k)$  (where  $\nu$  is a weighting coefficient). We have that  $n^{-1}G(\hat{\theta})$  converges toward  $n^{-1}I(\theta^*)$  where  $I(\theta^*)$  is the information matrix under the true probability,  $\theta^*$  being the true parameter value. Thus  $G(\theta_k)$  should be a good approximation of  $H(\theta_k)$  near the maximum since  $n^{-1}H(\hat{\theta})$  itself converges toward  $n^{-1}I(\theta^*)$ . As for convergence criterion we use  $C(\theta_k) = \mathbf{U}(\theta_k)' G^{-1}(\theta_k) \mathbf{U}(\theta_k)$ .  $C(\theta^*)$  has

asymptotically a  $\chi_p^2$  distribution; this gives an idea of which value should be considered as “small”. Once the convergence is obtained one may use  $G(\hat{\theta})$  as an estimator of  $I(\theta^*)$  to build confidence intervals and Wald tests. However since  $\hat{\theta}$  is the value for which  $\mathbf{U}(\hat{\theta}) = 0$ , we may expect that the variance of  $\mathbf{U}$  computed in  $\hat{\theta}$  is a negatively biased estimate of its variance at  $\theta^*$  (that is  $I(\theta^*)$ ). This bias is difficult to estimate in general. In the linear model with known error variance, it can be shown that  $E[\mathbf{U}(\hat{\beta})\mathbf{U}'(\hat{\beta})] = \frac{n-\dim(\beta)}{n}I(\beta^*)$ , where  $\beta$  is the vector of regression coefficients. By analogy we propose to estimate  $I(\theta^*)$  by  $\frac{n}{n-\dim(\theta)}G(\hat{\theta})$ . The whole algorithm (iteration and convergence criterion) has the property that it is invariant under any affine transformation of the parameters. Details about the implementation may be found in the Web Appendix C.

### 3.3 Expectations & Predictions

The expected trajectory can be obtained by simulating a sample of subjects and averaging, for each time and each marker, over their values.

Also, individual predicted trajectories can be computed as  $\hat{\mathbf{X}}^{(i)}(t) = \mathbf{X}(t, \hat{\xi}^{(i)})$  where  $\hat{\xi}_l^{(i)} = \hat{\phi}_l + z_l^{(i)'} \hat{\beta}_l + w_l^{(i)'} \hat{\mathbf{A}} \hat{\mathbf{u}}^{(i)}$  and  $\hat{\mathbf{u}}^{(i)}$  is the posterior mode (given the data) of  $\mathbf{u}^{(i)}$ . From this we can deduce individual predicted trajectories of observed components. Then, the fit can be checked by comparing the predicted values of the components  $\hat{Y}_{ijm} = g_m(\hat{\mathbf{X}}^{(i)}(t_{ijm}))$  with the observations  $Y_{ijm}$ .

## 4. Biological Model

### 4.1 Motivating application

As an application of the proposed method, we aimed at estimating the difference of treatment effects in a randomized clinical trial (Molina et al.,

1999). The ALBI ANRS 070 trial compared over 24 weeks the combination of zidovudine plus lamivudine (AZT+3TC) with that of stavudine plus didanosine (ddI+d4T)(a third arm alternating from one regimen to another was not considered in this paper). The inclusion criteria were  $CD4 \geq 200$  cells/ $\mu L$  and HIV RNA level between 4 and 5  $\log_{10}$  copies/mL within 15 days before entry into the study. Measurements were taken once a month up to six months. Spaghetti plots of the data are shown on Figure 1 .

[Figure 1 about here.]

The primary outcome measure defined in the study protocol was the antiretroviral effect as measured by the mean change in HIV RNA level between baseline and 24 weeks by use of the ultra-sensitive PCR assay with lower limit of quantification of 50 copies/mL ( $1.7 \log_{10}$ ). In the main analysis of Molina et al. (1999), HIV RNA values reported as < 50 copies/mL were considered equivalent to 50 copies/mL; 51 patients were included in each treatment group. Over the 24-week period, HIV RNA level declined in the two groups, with mean (SE) decreases at the end of the study of 1.26 (0.09)  $\log_{10}$  copies/mL in the AZT+3TC group and 2.26 (0.11)  $\log_{10}$  copies/mL in the ddI+d4T group. The mean increase in CD4 count was larger in ddI+d4T group than in AZT+3TC group (124 cells/ $\mu L$  vs. 62 cells/ $\mu L$ ,  $p=0.012$ ).

#### 4.2 A mathematical model for HIV dynamics

Conventional models for HIV dynamics have involved target cells (mainly uninfected CD4), infected cells producing viruses, and circulating viruses (Perelson et al., 1996). Because the activation of CD4 has been recognized as a central role in HIV pathogenesis (Grossman et al., 2000), the activated state is worth distinguishing. Actually, activated cells make a better target

than quiescent cells and viral replication is rapid and efficient in activated cells (Ribeiro et al., 2002). Also, it is useful to distinguish infectious and non-infectious virions because non-infectious virions are predominant (Chun et al., 1997). In the ALBI ANRS 070 trial, antiretroviral therapy included reverse transcriptase inhibitors only. This type of antiretroviral drugs limits cell infection by inhibiting reverse transcription of HIV RNA and thus was modeled by limiting the new production of  $T^*$  through the parameter  $\eta$ . The model can be written as:

$$\begin{cases} \frac{dQ}{dt} = \lambda + \rho T - \alpha Q - \mu_Q Q \\ \frac{dT}{dt} = \alpha Q - (1 - \eta) \gamma TV_I - \rho T - \mu_T T \\ \frac{dT^*}{dt} = (1 - \eta) \gamma TV_I - \mu_{T^*} T^* \\ \frac{dV_I}{dt} = \omega \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_v V_I \\ \frac{dV_{NI}}{dt} = (1 - \omega) \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_v V_{NI} \end{cases} \quad (5)$$

where  $Q$ ,  $T$ ,  $T^*$  are quiescent non-infected, activated non-infected, and activated infected CD4 and  $V_I$  and  $V_{NI}$  are infectious and non-infectious free virions, respectively. Figure 2 displays a graphical representation of the system.

[Figure 2 about here.]

The definition of each parameter of this system of non-linear differential equations is reported in Table 1. We make the assumption that before initiation of antiretroviral treatment the values of the state variables are that of steady state of the ODE system with  $\eta = 0$ . This assumption implies that the treatment is initiated far from initial infection. The steady state assumption leads to the following initial conditions (where  $t = 0$  refers to

treatment initiation):

$$\begin{cases} Q(0) = \frac{1}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) \\ T(0) = \frac{\mu_v}{\omega \gamma \pi} \\ T^*(0) = \frac{1}{\mu_{T^*}} (\frac{\alpha}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{(\rho + \mu_T) \mu_v}{\omega \gamma \pi}) \\ V_I(0) = \frac{\alpha \omega \pi}{\mu_v (\alpha + \mu_Q)} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{\rho + \mu_T}{\gamma} \\ V_{NI}(0) = \frac{(1-\omega)\pi}{\mu_v} (\frac{\alpha}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{\mu_v (\rho + \mu_T)}{\omega \gamma \pi}) \end{cases}$$

### 4.3 The statistical model

We used the structure defined in section 2 to estimate the parameters of the biological model (5). Because the study was not designed for dynamic modelling, it was not possible to estimate all the parameters. In the present study, the first measurement after therapy was performed four weeks later rather than several hours in some studies of virus dynamics (Ho et al., 1995). We consequently chose to fix the set  $(\mu_Q, \mu_v, \rho, \omega)$  whose estimates can be found in the literature (Table 1). The parameter  $\gamma$  was at the limit of non-identifiability: we determined it in a plausible range of values by profile likelihood.

The vector of natural parameters for subject  $i$  was then:  $\boldsymbol{\xi}^{(i)} = (\lambda^{(i)}, \alpha^{(i)}, \eta^{(i)}, \mu_T^{(i)}, \mu_{T^*}^{(i)}, \pi^{(i)})'$ . The link functions were the log transform for all parameters (because they must be positive) except for  $\eta^{(i)}$  for which we took the inverse logistic function (because  $0 < \eta^{(i)} < 1$ ):  $\tilde{\eta}^{(i)} = \log \frac{\eta^{(i)}}{1-\eta^{(i)}}$ . We introduced in the model only one explanatory variable  $z^{(i)}$ , which represented the treatment group:  $z^{(i)} = 0$  for the AZT+3TC group and  $z^{(i)} = 1$  for the ddI+d4T group.  $\tilde{\eta}_0$  represented the treatment effect for AZT+3TC in the logistic scale and  $\beta$  represented the differential effect of ddI+d4T relative to AZT+3TC in the logistic scale:  $\tilde{\eta}^{(i)} = \tilde{\eta}_0 + z^{(i)}\beta$

Concerning the selection of random effects, we favored a forward selection strategy because the number of random effects is limited by the amount of information available as well as by the curse of dimensionality (the dimension of the multiple integrals is equal to the number  $q$  of random effects). Starting with the model without random effect, we introduced one random effect successively on each parameter and selected the one which most increased the likelihood; then we proceeded to include a second random effect according to the same criterion, and so on until the model with  $q$  random effects was not rejected by a likelihood ratio test (the distribution of the likelihood ratio statistic being a mixture of chi-square distributions).

Observable components  $g_1$  and  $g_2$  were transforms of the HIV RNA concentration and the total CD4 count respectively with  $g_1 = \log_{10}(V_I + V_{NI})$  and  $g_2 = (Q + T + T^*)^{0.25}$ . These transformations of HIV markers values are commonly used for achieving normality and homoscedasticity of measurement error distributions (Thiébaut et al., 2003).

[Table 1 about here.]

## 5. Analysis of the ALBI ANRS 070 data

We estimated the parameters of the statistical model described above using repeated measurements of both the virus load and the total CD4 count from the ALBI ANRS 070 data. The model for the observations (3) can be given more explicitly:

$$\begin{cases} Y_{ij1} = \log_{10}(V_I(t_{ij1}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}) + V_{NI}(t_{ij1}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)})) + \epsilon_{ij1}, & j \leq n_{i1} \\ Y_{ij2} = (Q(t_{ij2}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}) + T(t_{ij2}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}) + T^*(t_{ij2}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))^{0.25} + \epsilon_{ij2}, & j \leq n_{i2} \end{cases}$$

The estimates of the model parameters are shown in Table 2.

[Table 2 about here.]

We tried different starting values (increasing the variance parameters values by 10 folds, intercept value from 10 % to 100 %) and we obtained the same convergence point up to small variations on the third significant digit. The value for  $\tilde{\gamma}$  obtained by profile likelihood was  $\tilde{\gamma} = -3$ . With the exception of the estimation of  $\alpha$  that was about ten fold higher compared to some values found in the literature (Ribeiro et al., 2002), the estimated values of the other parameters were in the same range as published values. For example, the confidence interval for  $\mu_T$  ([0.097; 0.14]) was close to that reported by Ribeiro et al. (2002) ([0.040; 0.13]) as well as the confidence interval for  $\mu_{T^*}$  ([0.5; 0.8]) to that reported by Markowitz et al. (2003) ([0.6; 1.4]).

The contrast  $\beta$  between the two antiretroviral regimen efficacies was tested by a Wald test. It was found significantly different from zero with a stable p-value over the plausible interval for  $\tilde{\gamma}$  ( $p < 10^{-6}$ ). The proportion of cells not infected because of the treatment per each unit of time was  $\eta_0=72.3\%$  ( $IC_{95} = [69.1; 75.5]$ ) in the AZT+3TC group and the difference between between the two groups was 2.0 % ( $IC_{95} = [1.4; 2.6]$  calculated by the Delta-method). Interestingly, patients in the AZT+3TC group experienced a similar first decline in HIV RNA level compared to d4T+ddI group. However, after a period of about one month, the HIV RNA level increased, leading to a rebound in the former group. The fit of the model predictions was good in average (as shown in Figure 3) and at individual level (Figure 4). In Figure 3, from the second month, mean predicted values of virus load are lower than the average of the observations; this is because the predictions take censoring into account while the observations below the level of

detection ( $1.7\log_{10}$ ) were fixed at this threshold. Concerning the meaning of retained random effects,  $\sigma_\lambda$  might represent the individual difference in thymic or hematopoietic function. Variation of activation rates between individuals that led to significant  $\sigma_\alpha$  might reflect differences in susceptibility of activation between individuals. The individual variation of  $\mu_{T*}$  might reflect the variation in the intensity of the immune response (e.g. cytotoxic lymphocytes that kill infected cells) according to subjects.

[Figure 3 about here.]

[Figure 4 about here.]

## 6. Simulation study

In this section, we aim at analyzing the efficiency of our algorithm in term of success of convergence, precision and validity of estimators. Data were simulated using values from the analysis of the ALBI ANRS 070 trial presented in the former section.  $\tilde{\gamma}$  was held fixed at the value  $\tilde{\gamma} = -3$ . We simulated trials of 100 patients, according to the typical schedule of the ANRS ALBI 070 trial. For each parameter, absolute bias, confidence interval coverage, empirical standard deviations and estimated standard deviations were calculated. Of note, the absolute bias of log transformed parameters can be interpreted as a relative bias of parameters on natural scale. The initial values were selected as follows:  $\phi_l = \phi_l^*, \beta = 0, \mathbf{A} = \sqrt{10}\mathbf{A}^*, \boldsymbol{\sigma} = 2\boldsymbol{\sigma}^*$  where \* refers to values in Table 2. The maximum number of iterations was fixed at 25 for restricting the duration of the simulation study. Convergence before 25 iterations was successfully reached in 93% of simulations, and the computation time was between two and three hours per simulation. In the

simulations where convergence was not achieved, convergence criteria value indicated that the algorithm might converge but with further iterations. Results from 100 successful convergences are summarized in Table 8. The biases were small in regard of the complexity of the model; the coverage rates of the confidence intervals were good and the variances were well estimated. Although the results of this simulation study show that the algorithm is efficient when the model is well specified, this does not warrant that it will be so for real data. Furthermore, more general conclusions on the robustness and efficiency of the algorithm would need an extension of the simulation study over a larger set of plausible values for  $\theta$ .

[Table 3 about here.]

## 7. Discussion

In this paper, we presented a robust method to fit non-linear mixed effects models based on differential equations for which no closed-form is available. This approach may be applied to any NLME models. Nevertheless, the method requires some computational skills whereas simpler methods are often sufficient for usual NLME models (with closed-form). The approach was applied to a clinical trial in HIV infection. The model fitted the HIV RNA and CD4 data quite well, providing an *in vivo* estimation of the treatment efficacy. Because of the non-linear interaction between CD4 and virus, the HIV RNA dynamics was very sensitive to a difference in treatment efficacy. Interestingly, the model predicted a viral rebound in the worst treatment group after an initial steep decline although occurrence of HIV resistance was not included in the model. In the present model, the viral rebound can be explained by the joint dynamics of the virus and the CD4. During

the first period, the reduction of the rate of infection led to a decrease of virus and an increase of the target cells. However, because the inhibition of the virus infectivity was not strong enough in the AZT+3TC group and because new target cells were available, this led to a rebound of viral load after about one month. Only biomathematical models based on system of differential equations can fit such complex interaction between virus and immune system. The present approach allows to estimate the treatment effect using all available information (including biological knowledge to construct the model) in a much more flexible way than classic multivariate longitudinal models (Thiébaut et al., 2003). Then, the treatment efficacy can be tested using only one statistical test compared to all potential comparisons according to each marker at each given time.

One of the limitations of the present application is the impossibility of estimating all parameters. In fact, the estimation of all parameters would need more intensive schedules and/or the measurements of more compartments such as activated CD4. However, a sensitivity analysis allowed us to conclude that the estimate of the difference in treatment effects between the two groups was robust.

We conclude that the use of such models to analyze clinical trial data could help in having a better understanding of the treatment effect; however, estimating all model parameters requires richer information than usual and this needs to be planned in the study protocol.

## 8. Supplementary Materials

Web Appendices referenced in Section 3 are available under the Paper Information link at the Biometrics website <http://www.tibs.org/biometrics>.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the investigators of the ALBI ANRS 070 trial, particularly J. M. Molina (principal investigator) and G. Chêne (methodologist). J. Guedj received a grant from the ANRS (French National Agency for AIDS research).

#### RÉSUMÉ

L'étude des systèmes dynamiques du VIH basée sur des systèmes d'équations différentielles ordinaires (EDO) sans solution analytique, a considérablement amélioré la connaissance de sa pathogénicité. Les premiers résultats dans la littérature ont été obtenus en faisant des estimations patient par patient sur des modèles simplifiés et linéarisés. Une approche plus récente consiste à estimer les paramètres du modèle EDO sans solution, dans un cadre populationnel ; cela rend les approches classiques d'inférence par maximum de vraisemblance difficile à mettre en oeuvre. C'est pourquoi seules des approches Bayesiennes ont été utilisées jusqu'ici. Dans cet article, nous développons un algorithme de maximisation de la vraisemblance spécialement adapté au cadre EDO du modèle, ce qui permet de surmonter en partie les difficultés numériques d'approximation et de temps de calcul. Nous considérons un modèle pour le VIH relativement complexe, et nous traitons le problème des limites de détection de charge virale. Nous appliquons notre méthode sur les données de l'essai clinique de thérapie antirétrovirale ALBI ANRS 070 et nous montrons par simulations les qualités de l'algorithme.

#### REFERENCES

- Chun, T. W., Carruth, L., Finzi, D., Shen, X., DiGiuseppe, J. A., Taylor, H., Hermankova, M., Chadwick, K., Margolick, J., Quinn, T. C., Kuo, Y. H., Brookmeyer, R., Zeiger, M. A., Barditch-Crovo, P. and Siliciano, R. F. (1997). Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* **387**, 183–188.
- Commenges, D. and Rondeau, V. (2006). Relationship between derivatives of the observed and full loglikelihoods and application to Newton-Raphson algorithm. *International Journal of Biostatistics* **2**, <http://www.bepress.com/ijb/vol2/iss1/4/>.
- Ding, A. and Wu, H. (2001). Assessing antiviral potency of anti-HIV therapies in vivo by comparing viral decay rates in viral dynamic models . *Biostatistics* **2**, 13–29.
- Genz, A. and Keister, B. D. (1996). Fully symmetric Interpolatory Rules for Multiple Integrals over Infinite Regions with Gaussian Weight. *Journal of Computational and Applied Mathematics* **71**, 299–311.
- Gilks, W., Richardson, S. and Spiegelhalter, D. (1996). *Markov Chain Monte Carlo in Practice*. Chapman and Hall, London.
- Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M., Sousa, A. E., Victorino, R. M. M. and Paul, W. E. (2000). CD4+ T-cell depletion in HIV infection: Are we closer to understanding the cause? *Nature Medicine* **8**, 319–323.
- Hedeker, D. and Gibbons, R. (1994). A random-effects ordinal regression model for multilevel analysis. *Biometrics* **50**, 933–944.
- Ho, D. D., Neumann, A. U., Perelson, A. S., Chen, W., Leonard, J. M. and Markowitz, M. (1995). Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**, 123–126.

- Huang, Y., Liu, D. and Wu, H. (2006). Hierarchical Bayesian methods for estimation of parameters in a longitudinal HIV dynamic system. *Biometrics* **63**, 413–423.
- Louis, T. (1982). Finding the observed Information matrix when using the *EM* algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B* **44**, 226–233.
- Markowitz, M., Louie, M., Hurley, A., Sun, E., Mascio, M. D., Perelson, A. S. and Ho, D. D. (2003). A novel antiviral intervention results in more accurate assessment of human immunodeficiency virus type 1 replication dynamics and T-cell decay in vivo. *Journal of Virology* **77**, 5037–5038.
- Marquardt, D. W. (1963). An algorithm for least-squares estimation of non-linear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics* **11**, 431–441.
- McLean, A. R. and Michie, C. A. (1995). *in vivo* estimates of division and death rates of human t lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**, 3707–3711.
- Molina, J., Chene, G., Ferchal, F., Journot, V., Pellegrin, I., Sombardier, M. N., Rancinan, C., Cotte, L., Madelaine, I., Debord, T. and Decazes, J. M. (1999). The ALBI trial: A randomized controlled trial comparing stavudine plus didanosine with zidovudine plus lamivudine and a regimen alternating both combinations in previously untreated patients infected with human immunodeficiency virus. *The Journal of Infectious Diseases* **180**, 351–358.
- Perelson, A. S., Neumann, A. U., Markowitz, M., Leonard, J. M. and Ho, D. (1996). Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection.

- Science* **271**, 1582–1586.
- Piatak, M., Saag, M., Yang, L. C., Clark, S. J., Kappes, J. C., Luk, K. C., Hahn, B. H., Shaw, G. M. and Lifson, J. D. (1993). High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**, 1749–1754.
- Pinheiro, J. C. and Bates, D. M. (2000). *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Springer, London.
- Putter, H., Heisterkamp, S. H., Lange, J. M. A. and deWolf, F. (2002). A Bayesian approach to parameter estimation in HIV dynamic models. *Statistics in Medicine* **21**, 2199–2214.
- Ramratnam, B., Bonhoeffer, S., Binley, J., Hurley, A., Zhang, L., Mittler, J. E., Markowitz, M., Moore, J. P., Perelson, A. S. and Ho, D. D. (1999). Rapid production and clearance of HIV-1 and hepatitis C virus assessed by large volume plasma apheresis. *The Lancet* **354**, 1782–1786.
- Ribeiro, R. M., Mohri, H., Ho, D. D. and Perelson, A. S. (2002). In vivo dynamics of T cell activation, proliferation, and death in HIV-1 infection: Why are CD4 but not CD8 T cells depleted? *Proceedings of the National Academy of Sciences* **24**, 15572–15577.
- Thiébaut, R., Guedj, J., Jacqmin-Gadda, H., Chêne, G., Trimoulet, P., Neau, D. and Commenges, D. (2006). Estimation of dynamical model parameters taking into account undetectable marker values. *BMC Medical Research Methodology* **6**, 1–10.
- Thiébaut, R., Jacqmin-Gadda, H., Leport, C., Katlama, C., D., C., Le Moing, V., Morlat, P., Chene, G. and the APROCO Study Group (2003). Bivariate longitudinal model for the analysis of the evolution of HIV RNA

- and CD4 cell count in HIV infection taking into account left censoring of HIV RNA measures. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* **13**, 271–282.
- Wu, H. and Ding, A. A. (1999). Population HIV-1 dynamics in vivo: applicable models and inferential tools for virological data from AIDS clinical trials. *Biometrics* **55**, 410–418.

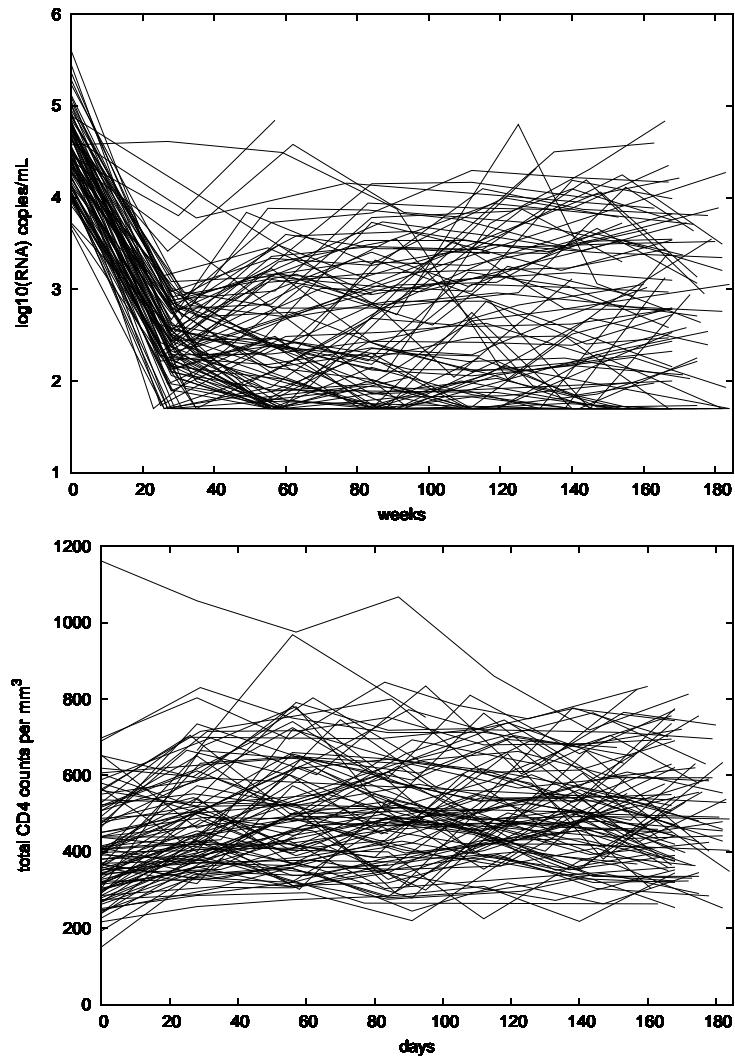
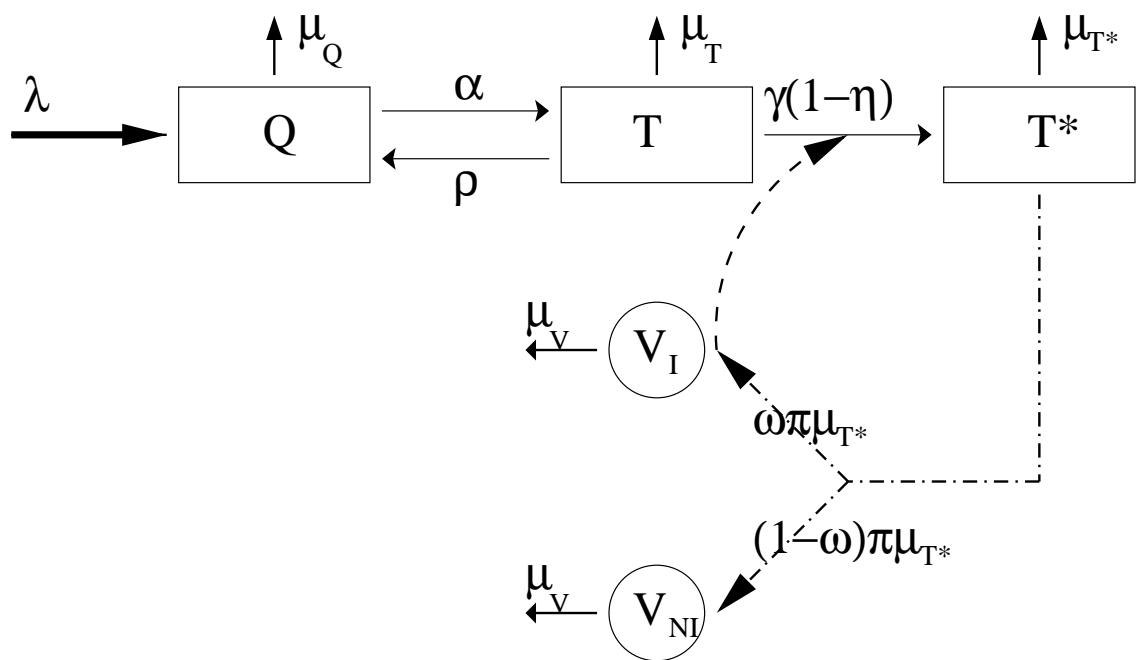


Figure 1. Spaghetti plots of the data from ALBI ANRS 070 clinical trial.



**Figure 2.** Graphical representation of the system for HIV dynamics.

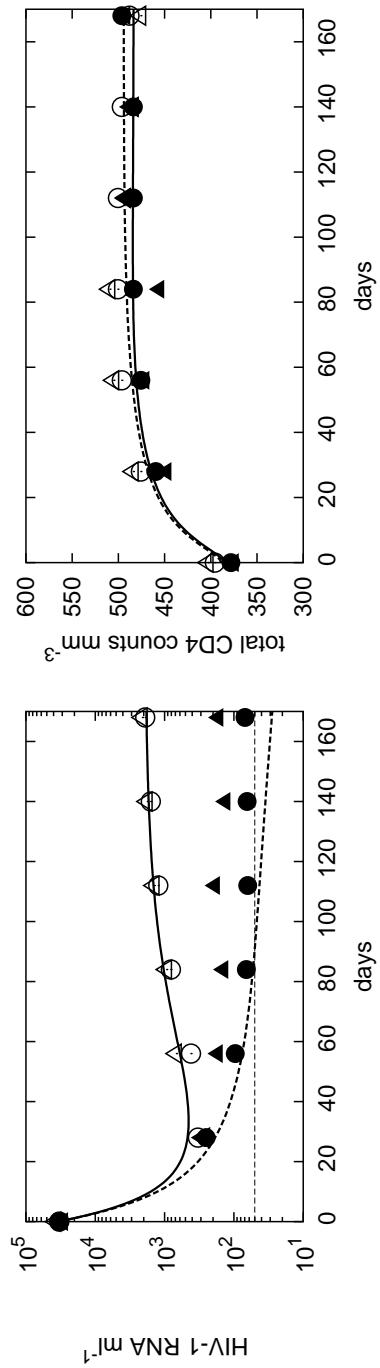
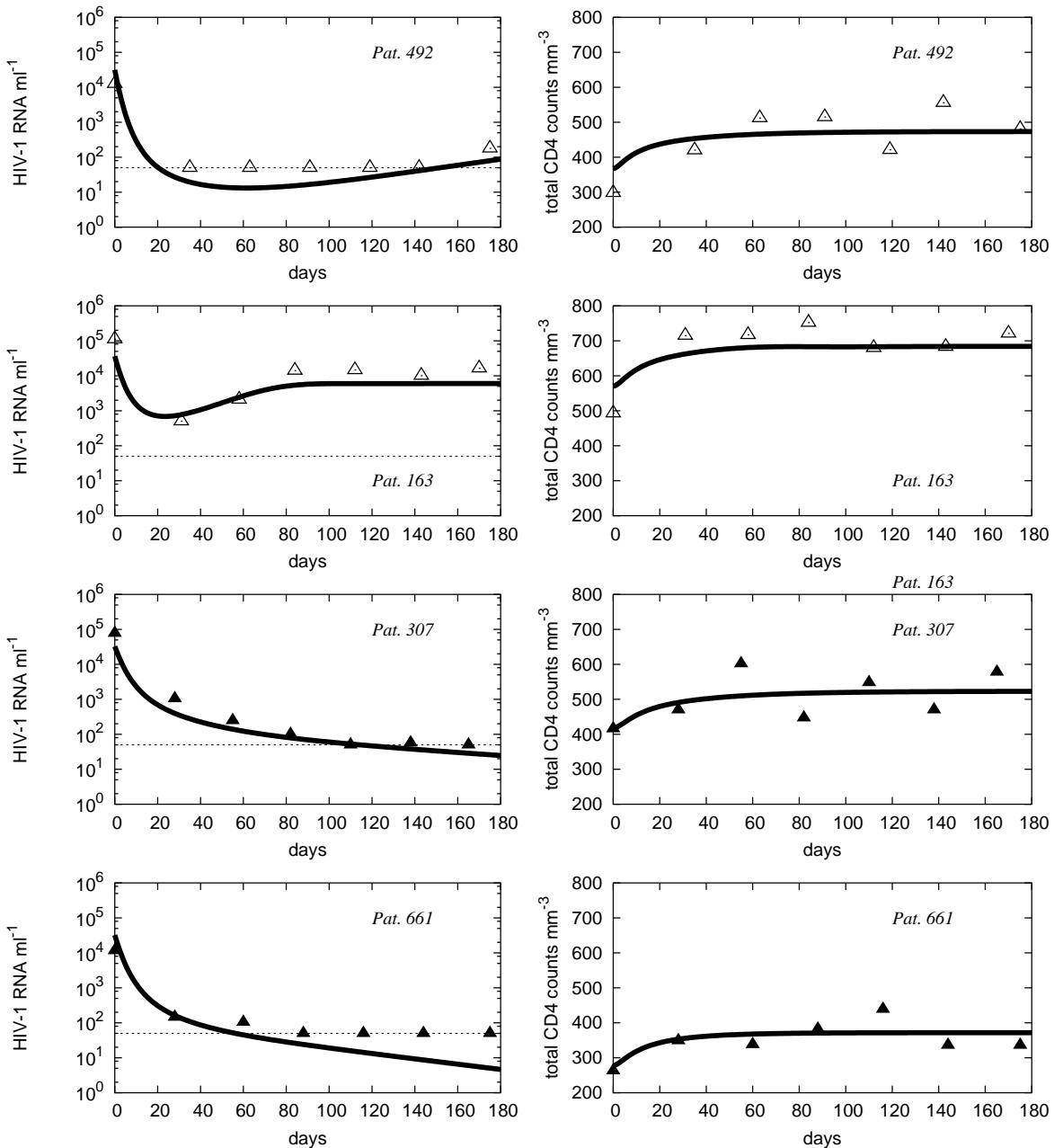


Figure 3: Mean observed values of HIV RNA level (left) and total CD4 count (right) according to the treatment group ( $\Delta$  and  $\blacktriangle$  for the group AZT+3TC and ddI+D4T respectively ) and mean predicted values ( $\circ$  and  $\bullet$  for the group AZT+3TC and ddI+D4T respectively) in ALBI ANRS 070 trial. The plain line represents the expected trajectory for the group ddI+D4T whereas the dashed line represents the expected trajectory for the group AZT+3TC.



**Figure 4.** Individual predicted fit and observed values of HIV RNA level (left) and total CD4 count (right) according to the treatment group ( $\Delta$  and  $\blacktriangle$  for the group AZT+3TC and ddI+D4T respectively) in four patients.

Table 1: Natural model parameters and values for which were fixed.

Parameter	Meaning	Value	Reference
$\alpha$	Activation rate of Q cells ( $day^{-1}$ )	0.00014	McLean and Michie, 1995
$\lambda$	Rate of Q cells production ( $\mu_L^{-1} day^{-1}$ )	30.0	Ramratnam et al., 1999
$\mu_{T^*}$	Death rate of $T^*$ cells ( $day^{-1}$ )	0.017	Ribeiro et al., 2002
$\pi$	Number of virions per $T^*$ cell	0.20	Piatak et al., 1993
$\mu_T$	Death rate of T cells ( $day^{-1}$ )		
$\eta$	Efficacy of treatment (proportion)		
$\sigma_{CD4}$	Standard deviation of the observation error of $(Q + T + T^*)^{0.25}$		
$\sigma_{CV}$	Standard deviation of the observation error of $\log_{10}(V_I + V_{NI})$		
$\gamma$	Infection rate of T cells per virion		
$\mu_Q$	Death rate of Q cells		
$\mu_v$	Clearance of free virions		
$\rho$	Rate of reversion to the quiescent state		
$\omega$	Proportion of non-infectious virions		

**Table 2**

*Estimates of the model parameters and their standard deviation. ALBI  
ANRS 070 clinical trial.*

Parameters	Estimated Value	STD
$\tilde{\alpha}$	-3.16	0.15
$\tilde{\lambda}$	2.62	0.12
$\mu_{T^*}$	-0.40	0.11
$\tilde{\pi}$	4.64	0.12
$\tilde{\mu}_T$	-2.14	0.087
$\tilde{\eta}$	0.96	0.079
$\beta$	0.096	0.018
$\sigma_\alpha$	0.31	0.025
$\sigma_\lambda$	0.043	0.0059
$\sigma_{\mu_{T^*}}$	0.25	0.028
$\sigma_{CV}$	0.42	0.012
$\sigma_{CD4}$	0.18	0.0050

**Table 3**

*Absolute bias, 95% confidence interval coverage, mean of estimated standard deviations (STD) and empirical STD (STD of parameter estimations) of the estimators of model parameters for 100 simulated data sets of 100 patients.*

Parameter	True Value	Absolute Bias	Coverage (%)	STD of Estimates	Mean of STD
$\tilde{\alpha}$	-3.16	0.0015	98	0.12	0.14
$\tilde{\lambda}$	2.62	-0.00070	99	0.098	0.11
$\mu_{T^*}$	-0.40	0.0078	94	0.10	0.095
$\tilde{\pi}$	4.64	0.014	99	0.11	0.12
$\tilde{\mu}_T$	-2.14	0.0062	93	0.082	0.081
$\tilde{\eta}$	0.96	0.0029	94	0.11	0.12
$\beta$	0.096	0.0098	92	0.019	0.016
$\sigma_\alpha$	0.31	-0.0036	93	0.025	0.026
$\sigma_\lambda$	0.043	0.0016	90	0.0067	0.0057
$\sigma_{\mu_{T^*}}$	0.25	0.0026	97	0.037	0.039
$\sigma_{CV}$	0.42	-0.0043	93	0.013	0.014
$\sigma_{CD4}$	0.18	-0.00014	92	0.0056	0.0053

## Web-based Supplementary Materials for Maximum Likelihood Estimation in Dynamical Models of HIV by Guedj et al.

**J. Guedj,<sup>1,2</sup> R. Thiébaut<sup>1,2,\*</sup> and D. Commenges<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>INSERM, EMI 0338 (Biostatistique), Bordeaux, F-33076, FRANCE

<sup>2</sup>Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, F-33076, FRANCE

### 1. Web Appendix A: Computation of $\int_{\mathbf{u} \in \mathbb{R}^q} \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u}$

We want to compute a function such as:  $I = \int_{\mathbf{u} \in \mathbb{R}^q} f_i(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u}$ . Some authors (Liu and Pierce, 1994; Pinheiro and Bates, 2000) underlined the impact of a transformation of the integrand leading to

$$I = \frac{\exp\left(-\frac{\hat{\mathbf{u}}'\hat{\mathbf{u}}}{2}\right)}{\det(K)} \int_{\mathbf{u} \in \mathbb{R}^q} f_i(K^{-1}\mathbf{u} + \hat{\mathbf{u}}) \exp[-(K^{-1}\mathbf{u})'\hat{\mathbf{u}}] \exp\left\{\frac{\mathbf{u}'[I - (KK')^{-1}]\mathbf{u}}{2}\right\} \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u}$$

where

$$\hat{\mathbf{u}} = \operatorname{argmax}_{\mathbf{u} \in \mathbb{R}^q} f_i(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}), \quad K'K = -\frac{\partial^2 \log(f_i(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}))}{\partial \mathbf{u} \partial \mathbf{u}'}|_{\mathbf{u}=\hat{\mathbf{u}}}$$

where  $K$  is an upper triangular matrix with positive diagonal elements. Using the notations of the manuscript, we rewrite  $\hat{\mathbf{u}}$  as:

$$\begin{cases} \hat{\mathbf{u}} = \operatorname{argmax}_{\mathbf{u} \in \mathbb{R}^q} \left\{ \sum_{m \leq M, j \leq n_{im}} \frac{1}{\sigma_m^2} \left[ (Y_{ijm} - g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}(\mathbf{u}))) \right]^2 + \mathbf{u}'\mathbf{u} \right\} \\ \tilde{\xi}_l^{(i)}(\mathbf{u}) = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l + \sum_{l' \leq q} \sum_{l'' \geq l'} u_{l'} w_{ll''}^{(i)} a_{l''l'} \end{cases}$$

Some problems can occur when looking for  $\hat{\mathbf{u}}$ . The maximization over the multidimensional and infinite region  $\mathbb{R}^q$  is potentially time consuming and

---

\* email: rt@isped.u-bordeaux2.fr

difficult to reach when the starting values of maximization algorithm are far from the modal value. So, it is necessary to determine a threshold  $d$  beyond which a maximum is considered as the global maximum (here we used  $d = 10^{-7}$ ). If  $f_i(\hat{\mathbf{u}}) < d$ , the maximization procedure should be restarted with different starting values. We propose a systematic procedure, which turns out to be efficient to find good starting points  $\mathbf{u}_0$ . We propose to maximize  $f_i(\mathbf{u})\phi(\mathbf{u}) = \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}(\mathbf{u})\phi(\mathbf{u})$  along each random effect separately, which enable to reduce a multidimensional optimization to an optimization of dimension 1, that is to find  $\hat{u}_i^{(r)}$  for  $r = 1, \dots, q$ :

$$\begin{cases} \hat{u}_r^{(i)} = \underset{u \in \mathbb{R}}{\operatorname{argmax}} \left\{ \sum_{m \leq M, j \leq n_{im}} \frac{1}{\sigma_m^2} \left[ (Y_{ijm} - g_m(X(t_{ijm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}_r^{(i)}(u))) \right]^2 + u^2 \right\} \\ \tilde{\xi}_{l,r}^{(i)}(u) = \phi_l + \mathbf{z}_l^{(i)'} \boldsymbol{\beta}_l + u \sum_{l'' \geq r} w_{ll''}^{(i)} a_{l''r} \end{cases} \quad (1)$$

$\mathbf{u}_0^{(i)} = (u_{10}^{(i)}, \dots, u_{q0}^{(i)})$  turns out to be a good starting point for maximization with:  $u_{r0}^{(i)} = \frac{\hat{u}_r^{(i)} * f(\hat{u}_r^{(i)}) * \phi(\hat{u}_r^{(i)})}{\sum_{l=1,..,q} [f(\hat{u}_l^{(i)}) * \phi(\hat{u}_l^{(i)})]^2}$ .

Maximization was then achieved by Marquardt algorithm (Marquardt, 1963) and  $K'K$  was computed by numerical derivative.

Note that if the values used for the set  $(\phi_l, \boldsymbol{\beta}_l, A, \boldsymbol{\sigma})$  in equation (1) are equal to the final estimated values (see Table 2), then  $\hat{\mathbf{u}}$  is also the posterior mode  $\hat{\mathbf{u}}^{(i)}$  as introduced in section 3.3 for computing the individual predictions.

## 2. Web Appendix B: Systems of sensitivity equations

In this appendix, we show an example for the semi-analytical computation of the  $\frac{\partial g_m(X(t, \boldsymbol{\xi}^{(i)}))}{\partial \boldsymbol{\xi}^{(i)}}$ ,  $m \leq M$  by using the systems of sensitivity equations.

The system of ODE used in section 4.2 is:

$$\begin{cases} \frac{dQ}{dt} = \lambda + \rho T - \alpha Q - \mu_Q Q \\ \frac{dT}{dt} = \alpha Q - (1 - \eta) \gamma TV_I - \rho T - \mu_T T \\ \frac{dT^*}{dt} = (1 - \eta) \gamma TV_I - \mu_{T^*} T^* \\ \frac{dV_I}{dt} = \omega \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_v V_I \\ \frac{dV_{NI}}{dt} = (1 - \omega) \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_v V_{NI} \end{cases}$$

We take as an example (for sake of clarity, we omit the index  $i$ ):

$$\begin{cases} \xi_1 = \eta \text{ (the effect of treatment)} \\ g_1(X(t, \boldsymbol{\xi})) = \log_{10}(V_I(t, \boldsymbol{\xi}) + V_{NI}(t, \boldsymbol{\xi})), \text{ (the total quantity of free virions)} \end{cases}$$

We have:

$$\frac{\partial g_1(X(t, \boldsymbol{\xi}))}{\partial \xi_1} = \frac{1}{\log(10)} \frac{V_{I,\xi_1}(t, \boldsymbol{\xi}) + V_{NI,\xi_1}(t, \boldsymbol{\xi})}{V_I(t, \boldsymbol{\xi}) + V_{NI}(t, \boldsymbol{\xi})},$$

where  $V_{I,\xi_1}(t, \boldsymbol{\xi})$  and  $V_{NI,\xi_1}(t, \boldsymbol{\xi})$  are obtained by simultaneously solving the original system and the system obtained by differentiating the original system with respect to  $\xi_1 = \eta$ . That it, we have to solve the following ODE system:

$$\begin{cases} \frac{dQ}{dt} = \lambda + \rho T - \alpha Q - \mu_Q Q \\ \frac{dT}{dt} = \alpha Q - (1 - \eta) \gamma TV_I - \rho T - \mu_T T \\ \frac{dT^*}{dt} = (1 - \eta) \gamma TV_I - \mu_{T^*} T^* \\ \frac{dV_I}{dt} = \omega \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_v V_I \\ \frac{dV_{NI}}{dt} = (1 - \omega) \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_v V_{NI} \\ \frac{dQ_{\xi_1}}{dt} = \rho T_{\xi_1} - \alpha Q_{\xi_1} - \mu_Q Q_{\xi_1} \\ \frac{dT_{\xi_1}}{dt} = \alpha Q_{\xi_1} + \gamma TV_I - (1 - \eta) \gamma T_{\xi_1} V_I - (1 - \eta) \gamma TV_{I,\xi_1} - \rho T_{\xi_1} - \mu_T T_{\xi_1} \\ \frac{dT_{\xi_1^*}}{dt} = -\gamma TV_I + (1 - \eta) \gamma T_{\xi_1} V_I + (1 - \eta) \gamma TV_{I,\xi_1} - \mu_{T^*} T_{\xi_1^*} \\ \frac{dV_{I,\xi_1}}{dt} = \omega \mu_{T^*} \pi T_{\xi_1}^* - \mu_v V_{I,\xi_1} \\ \frac{dV_{NI,\xi_1}}{dt} = (1 - \omega) \mu_{T^*} \pi T_{\xi_1}^* - \mu_v V_{NI,\xi_1} \end{cases}$$

The initial conditions of this system are given by deriving the initial conditions of the original system with respect to  $\xi_1$ ; here  $t = 0$  is the initiation of therapy, so all the components are equal to zero  $Q_{\xi_1}(0) = T_{\xi_1}(0) = T_{\xi_1}^*(0) =$

$$V_{I,\xi_1}(0) = V_{NI,\xi_1}(0) = 0.$$

The expressions for the corresponding  $\frac{\partial g_m(X(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}}$  are obtained by the relation:

$$\frac{\partial g_m(X(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}} = \frac{\partial g_m(X(t, \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}))}{\partial \boldsymbol{\xi}^{(i)}} \frac{\partial \boldsymbol{\xi}^{(i)}}{\partial \tilde{\boldsymbol{\xi}}^{(i)}}$$

### 3. Web Appendix C: Implementation

#### *Solver for ODE*

The computation of  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}$  and  $\mathbf{U}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}$  requires to solve numerically the original system of ODE (1) and its systems of sensitivity equations. Here we use a backward difference formula (BDF) method (Gear type method). We implemented the Livermore solver DLSODE, specially adapted for stiff systems (Radhakrishnan and Hindmarsh, 1993). Both relative and absolute precision were set at  $10^{-11}$ .

#### *Computation of the observed likelihood*

The “exact” computation of  $\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i}$  can be split into: i) finding the maximum of the integrand  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}^{(i)}}(\mathbf{u})\phi(\mathbf{u})$  and deducing the Hessian of the log of the integrand at the maximum (see Web Appendix A); ii) transforming the integrand and applying a program developed by Genz and Keister (1996); this routine enables to reach more precision than basic adaptive Gaussian quadrature based on Gauss-Hermite nodes. For  $q=3$  (the case encountered in the application), the transformations used here make it possible to compute the observed log-likelihood  $L_{\mathcal{O}_i}$  with an absolute precision of  $10^{-3}$  in less than 100 evaluations of the integrand. Moreover it can be noted that the time requested for adapting the integrals is completely negligible compared to the gain in the number of evaluations required.

### *Maximization*

Concerning starting points, we suggest to use (when feasible) order of magnitude provided by empirical means and variances of individual fits. However, when few data per patients are available, the individual estimation procedure may fail. In this case, we suggest to estimate an approximated population model, in which all the patients have the same parameters, avoiding in a first approximation the multidimensional integrals. This enables to provide a reasonable order of magnitude.

The speed of convergence is then dependent from these values. For three random effects, it can be up to four hours on a Bi-Xeon 3.06 GHz 1024 MB RAM (program written in FORTRAN). We encourage to try different starting values to avoid local maximum. Nevertheless, the use of population model increases the practical identifiability and in our case we did not encounter problems of local extrema. The stopping value (convergence criterion) used here was  $0.01 \cdot \text{dim}(\theta)$  for real data study analysis and  $0.05 \cdot \text{dim}(\theta)$  for simulations (see Commenges et al. (2006) for the statistical meaning of the choice value)

### REFERENCES

- Commenges, D., Jacqmin-Gadda, H., Proust, C. and Guedj, J. (2006). A Newton-like algorithm for likelihood maximization: the robust variance scoring algorithm. *arXiv:math.ST/0610402*.
- Genz, A. and Keister, B. D. (1996). Fully symmetric Interpolatory Rules for Multiple Integrals over Infinite Regions with Gaussian Weight. *Journal of Computational and Applied Mathematics* **71**, 299–311.

- Liu, Q. and Pierce, D. A. (1994). A note on Gauss-Hermite quadrature. *Biometrika* **81**, 624–629.
- Marquardt, D. W. (1963). An algorithm for least-squares estimation of non-linear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics* **11**, 431–441.
- Pinheiro, J. C. and Bates, D. M. (2000). *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Springer, London.
- Radhakrishnan, K. and Hindmarsh, A. C. (1993). Description and use of lsode, the livermore solver for ordinary differential equations. *LLNL Report UCR-ID-113855 Livermore, CA* **4**.

# Chapitre 5

## Etude de l'Identifiabilité

Le chapitre précédent a proposé une méthode robuste d'estimations des paramètres dans les modèles populationnels définis par des systèmes ODE non linéaires. Nous avons vu en outre que les données, qui n'étaient pas adaptés à une modélisation dynamique, ne permettaient pas d'estimer tous les paramètres. En particulier, l'efficacité *in vivo* du traitement  $\eta_{RT}$  était très difficilement distinguable de l'infectivité  $\gamma$  du virus et nous avons dû nous contenter d'une estimation par profil de vraisemblance de ce paramètre.

Dans la continuité de ce travail, nous analysons de manière plus formelle le lien entre l'information disponible et les paramètres du modèle 4.1 que l'on peut espérer estimer, au sens de l'identifiabilité pratique définie en section 2.3. L'information disponible recouvre la question de l'intensité des mesures et mais aussi celle du nombre de compartiments observés (voir section 1.3.2).

Ce travail fait l'objet d'un article soumis dans *Bulletin of Mathematical Biology*.

---

## Practical identifiability of HIV dynamics models

J. Guedj,<sup>1</sup> R. Thiébaut<sup>1,\*</sup> and D. Commenges<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSERM E0338 Biostatistics, Bordeaux 2 University, Bordeaux, France

*Abstract* We study the practical identifiability of parameters in a model of HIV dynamics based on a system of non-linear Ordinary Differential Equations (ODE). The practical identifiability, i.e. the accuracy of the estimation that can be hoped, depends on the available information: the schedule of the measurements, the observed components and the measurement precision. The impact of each improvement of the experimental condition is not known in advance but it can be evaluated *via* the Fisher Information Matrix (FIM). The non-linearity of the system of ODE makes computation of the FIM challenging. Nevertheless, it can be computed with a good precision by using the particular structure of these models. Therefore, we consider it according to the two paradigms: the patient-by-patient approach (introduced in most clinical studies of HIV dynamics) and the population approach, in which the biological parameters have a distribution in the population.

Thus our work yields a rational approach in these dynamical models to determine *a priori* the required information to estimate a given set of parameters.

*Key Words:* *HIV dynamics, Non-linear differential equations, Parameter estimation, Practical identifiability, Fisher information matrix, Design.*

---

\*email: rt@isped.u-bordeaux2.fr

## 1. Introduction: general

Since the early 1990s, biomathematicians and biostatisticians have widely investigated the field of the modelling of the interaction between the Human Immunodeficiency Virus (HIV) and the immune system (Wei et al., 1995; Ho et al., 1995; Perelson et al., 1996; Perelson, 2002). This modelling naturally leads to systems of non-linear Ordinary Differential Equations (ODE), which have most often been simplified to obtain linear systems. Although making these simplifications is sufficient to provide estimation of fundamental kinetic parameters (such as the turnover rate of the virus), it leads to focus only on restricted aspects of the infection such as the virus dynamics and it prevents from considering the virus and the immune system as a whole.

Non-linear systems of ODE are more suitable to capture the biological interactions but they raise major difficulties, due in a great part to the fact that there is no closed-form expression for the solution to these systems (Stafford et al., 2000; Verotta and Schaedeli, 2002). This makes identifiability of the involved parameters difficult to assess and parameter estimation challenging. The concept of identifiability encompasses two notions: the theoretical identifiability and the practical identifiability. A very clear explanation of the difference between these concepts is given in Petersen et al. (2001): “the theoretical identifiability is based on the model structure and the available measured outputs, and gives an indication of the maximum amount of information that can be obtained from a theoretical experiment. The practical identifiability on the contrary not only depends on the model structure, but is also related to the experimental conditions”. Consequently even if theoretical identifiability is assessed, the practical identifiability is not granted. It can

---

be noted that the theoretical identifiability in non-linear systems of ODE has been deeply studied (Pohjanpalo, 1978; Holmberg, 1982; Julien et al., 1997; Audoly et al., 2001; Xia and Moog, 2003) and this issue is out of the scope of this paper.

To improve the practical identifiability, one can increase the available information *via* the number of measurements, the number of observed components or the precision of the measurements instruments. One of the main interest is to quantify the supply of each type of information in the improvement of the accuracy of the parameter estimation.

Classically, once data are collected, they are analyzed using crude statistical methods, such as non-linear regression made separately patient-by-patient (Perelson et al., 1996; Stafford et al., 2000; Ribeiro et al., 2002). As noted in Wu (2005) in the framework of the HIV dynamics models and more generally in Davidian and Giltinan (1995) and Pinheiro and Bates (2000), a major improvement for the practical identifiability is to take advantage of the whole available information, in particular the between-subject variation: the parameters may vary from one subject to another while being considered as realisations from the same distribution (Putter et al., 2002, Banks et al., 2005; Huang et al., 2006; Bortz and Nelson, 2006). Such models are in the framework of Non-Linear Mixed Effect models (NLME). The number of patients included in the statistical analysis is consequently another potential way to increase information.

Whatever the approach (patient-by-patient or population), the use of the Fisher Information Matrix (FIM) to check and to measure the practical identifiability of parameters estimated by Maximum Likelihood Estimation

(MLE) is natural, since the MLE are asymptotically efficient with an asymptotic variance given by the inverse of the FIM. In a population framework, the FIM has no closed-form and its computation involves multidimensional integrals and becomes a challenging issue. That is why some authors have suggested in other contexts to make simplifications leading to an explicit expression for the FIM (Retout et al., 2001) or to compute it exactly using stochastic approximations (Kuhn and Lavielle, 2005). Here we use an original method based on simulations which takes advantage of the particular structure of these models to compute the FIM exactly. We use this method to check the practical identifiability of parameters of a proposed HIV model according to different observational designs.

The paper is organized as follows: in section 2, we develop the rationale of using the information matrix for studying practical identifiability. We show how it can be computed with good accuracy. In section 3, we describe an HIV dynamics model based on five equations. In section 4, we investigate the identifiability of the system for different existing observational designs varying according to the schedules of measurements, the components that can be measured and the population or the patient-by-patient approach.

## 2. Statistical matrix and Fisher Information Matrix

### 2.1 General model for the system

Let us consider a model of ODE for a population of  $n$  subjects. For subject  $i$  with  $i = 1, \dots, n$ , this can be written:

$$\begin{cases} \frac{dX_i(t)}{dt} = f(X_i(t), \xi_i) \\ X_i(0) = h(\xi_i) \end{cases} \quad (1)$$

where  $X_i(t) = (X_i^{(1)}(t), \dots, X_i^{(K)}(t))$  is the vector of the  $K$  state variables (or components). We let  $X(t, \xi_i) = X_i(t)$  to underline that  $\xi_i$  completely determines the trajectories  $X_i(t)$ . We assume that  $f$  and  $h$  are twice differentiable with respect to  $\xi_i$ ;  $\xi_i = (\xi_{1i}, \dots, \xi_{pi})$  is a vector of  $p$  individual parameters which appear naturally in the system of ODE and have a biological interpretation.

It is current to reparametrize the original system, to take into account the constraints that may exist for the parameters; namely the positivity of the biological parameters and that of an *in vivo* treatment effect comprised between 0 (total inefficacy) and 1 (perfect efficacy). For this purpose we introduce the  $\tilde{\xi}_{li}$ 's defined as  $\tilde{\xi}_{li} = \Psi_l(\xi_{li})$ ,  $l = 1, \dots, p$ , where  $\Psi_l(\cdot)$  are one-to-one transformations.

Moreover we take into account the between-subject variation and thus we consider the  $\tilde{\xi}_i$ 's as the realization of random effects. In this approach, called in the following the population approach, each patient has a different value for the biological parameters, but the variation from one subject to one other belong to a statistical framework:

$$\tilde{\xi}_{li} = \xi_l + a_{ll}u_{li}, \quad l = 1, \dots, p \quad (2)$$

where the  $\xi_l$ 's are fixed parameters. We assume that only a subset of  $q$  (with  $q \leq p$ ) parameters will have a non-null variance and thus we may restrict to consider a  $q$ -dimensional vector  $\mathbf{u}_i \sim \mathcal{N}(0, I_q)$ , where  $\mathbf{u}_i$  is the vector of random effects  $u_{li}, l = 1, \dots, q$ . This assumption could be relaxed without difficulty for introducing correlations between the random effects.

## 2.2 Model for the observations

The observations are not directly the components of the biological system of ODE (1), but functions  $g_m(\cdot)$ ,  $m = 1, \dots, M$  of  $\mathbb{R}^K$  to  $\mathbb{R}$  of the components. These functions are assumed to be twice differentiable and allow for instance to represent observation of only some of the components of the original system, or observation of the sum of several components as well as non-linear transformations such as logarithms: the  $g_m(\cdot)$  will be called *observable components*. For instance, we may observe only the total CD4 counts while the system of ODE distinguishes between quiescent, activated and infected CD4 lymphocytes.

Let  $Y_{ijm}$  denote the  $j$ th measurements of the  $m$ th observable component in subject  $i$  at time  $t_{jm}$ :

$$Y_{ijm} = g_m(X(t_{jm}, \tilde{\xi}_i)) + \epsilon_{ijm} \quad j = 1, \dots, n_m, \quad m = 1, \dots, M \quad (3)$$

where the  $\epsilon_{ijm}$  are independent Gaussian measurement errors with zero mean and variances  $\sigma_m^2$ . The sets of the measurement times (the schedule)  $S = \{t_{jm}\}$  and of the observable components  $G = \{g_m(\cdot)\}$  constitutes the design  $\mathcal{D}_{S,G}$ .

The model for the observation may be complicated by the detection limits of assays leading to left-censored observations of  $Y_{ijm}$ . This is the case for HIV RNA concentration defined as the first observed component ( $m = 1$ ) in the following.

It can be noted that the above population model defines a framework where the patients are independent and identically distributed (i.i.d). This assumption could be relaxed when introducing explanatory variables in the regression

model (2) or considering variable design between patients in the model for the observations (3).

### 2.3 Log-Likelihood and introduction of the FIM

The set of parameters of interest is  $\theta = ((\tilde{\xi}_l)_{l \leq p}, (au)_{l \leq q}, (\sigma_l)_{l \leq M})$ . Let  $\mathcal{F}_i$  denote the full information given by both the possibly censored observation of  $Y_i$  and  $\mathbf{u}_i$  (in probabilist terms, the sigma-field generated by the possibly censored observation of  $Y_i$  and  $\mathbf{u}_i$ ). We denote by  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}(\theta)$  (noted only  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$  in the following) the full individual likelihood given the random effects in a population model (Commenges et al., 2006). In the case where there are no left-censored data, the i.i.d gaussian terms for the error measurements lead to a straighforward expression for  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$ :

$$\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i} = \prod_{j,m} \frac{1}{\sigma_m \sqrt{2\pi}} \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{Y_{ijm} - g_m(X(t_{jm}, \tilde{\xi}_i))}{\sigma_m} \right)^2 \right]$$

We use a solver for stiff systems of ODE developped in Radhakrishnan and Hindmarsh (1993) for computing the  $X(t_{jm})$ 's. The code is writtent in Fortran. The likelihood for the case with left-censored observations due to detection limits is given explicitely in Thiebaut et al. (2006) and Guedj et al. (2007). Let us denote by  $\mathcal{O}_i$  the information brought by the observation of  $Y_i$  (possibly censored). We denote by  $\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i}(\theta)$  (noted only  $\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i}$ ) the observed individual likelihood. It is obtained from  $\mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$  as:

$$\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i} = \int_{\mathbb{R}^q} \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u}$$

where  $\phi$  is the multivariate normal density of  $N(0, I_q)$ . We will denote by  $L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i} = \log \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$  and  $L_{\mathcal{O}_i} = \log \mathcal{L}_{\mathcal{O}_i}$  the full (given random effects) and observed individual log-likelihoods, respectively. The global observed log-

likelihood is  $L_{\bar{\mathcal{O}}_n}(\theta) = \sum_{i=1,\dots,n} L_{\mathcal{O}_i}$  by independence between patients.

The elementary FIM for the patient  $i$  is given as  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},i}(\theta) = \mathbb{E}_\theta \left( -\frac{\partial^2 L_{\mathcal{O}_i}(\theta)}{\partial \theta \partial \theta^T} \right)$ .

We can define the FIM for the whole sample of  $n$  patients:

$$\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta) = \mathbb{E}_\theta \left( -\frac{\partial^2 L_{\bar{\mathcal{O}}_n}(\theta)}{\partial \theta \partial \theta^T} \right)$$

#### 2.4 Information matrix and theoretical local identifiability

Let us consider the problem of (local) identifiability for the parameters as defined notably in Rothenberg (1971). Let  $\mathbf{Y}$  be a random vector with a probability density function (p.d.f.)  $\varphi(y, \theta_0)$ , and let  $A = V(\theta_0)$  be an open neighbourhood of  $\theta_0$ . A parameter point  $\theta_0$  is said to be locally identifiable if there is no other point  $\theta \in A$  which is observationally equivalent, that is for which  $\varphi(y, \theta) = \varphi(y, \theta_0)$  for all  $y$ . Under weak assumptions, Rothenberg (1971) shown that a necessary and sufficient condition for local identifiability in  $\theta_0$  is that  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta)$  is invertible for all  $\theta \in A$ . This property is not straightforward to assess in non-linear systems. It can be noted however that  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta_0)$  invertible is a necessary but not a sufficient condition for local identifiability. If  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta)$  is not invertible, one may analyze the lowest eigenvalues of  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta_0)$ . The elements of the associated eigenvectors may suggest simplifications or reparametrizations of the initial statistical model as explained in details in Vajda et al. (1989); the other possibility, that we apply in the following, is to fix one of the concerned parameters according to values found in the litterature.

#### 2.5 Information matrix and practical identifiability

Theoretical identifiability is not sufficient for the practical use of these models. We wish to know whether we can estimate the set  $\theta$  of parame-

---

ters of interest of the model with sufficient accuracy with a given design at a point value  $\theta = \theta_0$ . For this aim, the information matrix is of crucial importance. From the Cramer-Rao bound (see for instance Knight (2001)) we know that the inverse of the FIM is the lower bound of the variance-covariance matrix of any unbiased estimator. Moreover, the study of the asymptotic distribution of the maximum likelihood estimator (MLE)  $\hat{\theta}$  allows considering that, if there is sufficient information ( $n$  large enough), the variance of  $\hat{\theta}$  is approximately  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}^{-1}(\theta)$ . So the accuracy attainable with design  $\mathcal{D}$  can be measured by  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}^{-1}(\theta)$  and for a given parameter  $\theta_j$ , we can contemplate the standard deviation of its estimator  $se_{\mathcal{D},n,j}(\hat{\theta}) = \sqrt{\mathcal{I}_{\mathcal{D},n,jj}^{-1}(\theta)}$  (where "se" stands for standard error) or, for strictly positive parameters, the relative error  $re_{\mathcal{D},j}(\hat{\theta}) = \sqrt{\mathcal{I}_{\mathcal{D},n,jj}^{-1}(\theta)} / \theta_j$ . This relative error is sometimes called the coefficient of variation.

As discussed in section 2.1., it is advantageous to reparametrize the biological parameters, often in term of  $\tilde{\xi}_{il} = \log(\xi_{il})$ . First it enables to take the constraint of positivity into account; moreover the log-transform allows to obtain a model which has an intrinsic information matrix, in the sense that it does not depend on the measurements units. Moreover, by use of the  $\delta$ -method, the relative error of  $\hat{\xi}_l$  is asymptotically equal to the standard error of the estimator of the log-transformed parameter.

Thus, when computing  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta)$  at a point value  $\theta = \theta_0$ , one can directly interpret the standard errors of the estimators of the log-transformed biological parameters: for instance a standard error of 0.1 means that we know only one significant number and the parameter is poorly identifiable; a standard error larger than 1 for one biological parameter tells us that we only know

the order of magnitude of the original parameter and we consider that  $\theta$  is not practically identifiable for the value  $\theta = \theta_0$ . In this case, one can still study the eigenvalues and the eigenvectors of the FIM as discussed above to determine the origin of the practical non-identifiability. Let us note that the log-transformation is particularly adapted in these models where difficulties often come from combinations such as  $\frac{\xi_i}{\xi_j}$  and  $\xi_i \xi_j$ .

## 2.6 Criteria for comparing different designs

Several real-valued criteria have been introduced to facilitate comparison of designs. A general class of criteria is defined in Kiefer (1974). One of the most widely used is the  $D$ -criteria defined as  $\det(\mathcal{I}_{D,n}(\theta))$  or equivalently as its logarithm  $\phi_n(\mathcal{D}) = \ln(\det(\mathcal{I}_{D,n}(\theta)))$ . The bigger  $\phi_n(\mathcal{D})$  (noted only  $\phi(\mathcal{D})$  in the following) is, the better it is since it means that we reduce the volume of the confidence ellipsoid to obtain more global accurate coefficients (Box and Draper, 1959). This criterion has many advantages like its simplicity and its invariance by non degenerated transformations on the parameters (Fedorov, 1972).

A traditionnal measure for comparing the D-efficiency of two designs  $\mathcal{D}$  and  $\mathcal{D}'$  with  $\phi(\mathcal{D}) \leq \phi(\mathcal{D}')$  is the standardized ratio:

$$\mathcal{E}_{\mathcal{D}, \mathcal{D}', n}(\theta) = \exp \left\{ \frac{1}{2 * \dim(\theta)} [\phi(\mathcal{D}') - \phi(\mathcal{D})] \right\} \quad (4)$$

$\mathcal{E}_{\mathcal{D}, \mathcal{D}', n}(\theta)$  (noted only  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}, \mathcal{D}'}$  in the following) measures the expected (geometric) mean factor diminution of the standard deviation when using  $\mathcal{D}'$  compared to  $\mathcal{D}$ . Then  $100 * (1 - \mathcal{E}_{\mathcal{D}, \mathcal{D}'})$  expresses the variation as a percentage. In the same idea, one can introduce  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}} = \exp \left\{ \frac{1}{2 * \dim(\theta)} [-\phi(\mathcal{D})] \right\}$ :  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}}$  would be equal to the geometric mean value of the expected standard devi-

ations of the estimators of  $\theta$  according to a design  $\mathcal{D}$  if the estimator were independent.

To compare two nested structures or to focus on a particular subset of parameters, one can use the  $D_s$ -efficiency. Let us partition  $\theta$  into  $(\theta_1, \theta_2)$  with  $\dim(\theta_1) = s$  and the FIM into

$$\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta) = \begin{pmatrix} \mathcal{I}_{11} & \mathcal{I}_{12} \\ \mathcal{I}_{12} & \mathcal{I}_{22} \end{pmatrix} \text{ with } \mathcal{I}_{11} \text{ a matrix of dimension } (s, s)$$

One can study as upper  $\phi_s(\mathcal{D}) = \ln(\det(\mathcal{I}_{11}))$  with  $\mathcal{I}_{11} = (\mathcal{I}_{11} - \mathcal{I}_{12}\mathcal{I}_{22}^{-1}\mathcal{I}_{12}^T)$ .

Note that it is necessary that  $\mathcal{I}_{22}$  is invertible.

## 2.7 Computation of the information matrix in systems of ODE

Let us define the individual score  $U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}(\theta) = \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}(\theta)}{\partial \theta}$  and  $U_{\mathcal{O}_i}(\theta) = \frac{\partial L_{\mathcal{O}_i}(\theta)}{\partial \theta}$  the score given the random effects and the observed score respectively. We have shown in Guedj et al. (2007) that a semi-analytic expression for  $U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$  could be obtained when using the particular structure of these models. The reader can refer to the Appendix to obtain more details about the methodology. Using the Louis' formula (Louis, 1982), one can link the score conditional to the random effects and the observed score :

$$U_{\mathcal{O}_i} = \frac{\partial L_{\mathcal{O}_i}}{\partial \theta} = (\mathcal{L}_{\mathcal{O}_i})^{-1} \int_{\mathbb{R}^q} \mathcal{L}_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}(\mathbf{u}) U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}(\mathbf{u}) \phi(\mathbf{u}) d\mathbf{u}. \quad (5)$$

The integrals can be computed by adaptive Gaussian quadrature and  $U_{\mathcal{O}_i}$  can be computed as precise as wanted. The elementary FIM for the patient  $i$  can be then deduced from its individual score:

$$\mathcal{I}_{\mathcal{D},i}(\theta) = \mathbb{E}_\theta [U_{\mathcal{O}_i}(\theta) U_{\mathcal{O}_i}(\theta)^T]$$

Here, we have considered a model in which the  $n$  patients are independent and identically distributed (see section 2.2.); the elementary FIM is the same

for all the patients and we can define the generic elementary FIM:

$$\mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\theta) = \mathbb{E}_{\theta} [U_{\mathcal{O}_i}(\theta)U_{\mathcal{O}_i}(\theta)^T] \quad (6)$$

The FIM for the whole sample is deduced from the generic individual FIM and  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta) = n\mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\theta)$ . However,  $\mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\theta)$  defined by (6) has no analytical expression. Nevertheless it can be evaluated by simulation. First it requires to generate data under the probability  $P_{\theta}$ , i.e. to replicate  $N$  patients (with  $N$  large) having the same distribution law than that for the elementary patient. One can get thus an approximation as accurate as wanted of expression (6) using the law of large numbers:

$$G(\theta) = \frac{1}{N} \sum_{j=1,\dots,N} U_{\mathcal{O}_j}(\theta)U_{\mathcal{O}_j}^T(\theta) \simeq \mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\theta) \quad (7)$$

and the FIM for the whole sample is consequently:

$$\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta) = \mathbb{E}_{\theta} [U_{\bar{\mathcal{O}}_n}(\theta)U_{\bar{\mathcal{O}}_n}(\theta)^T] \approx G_n(\theta) = nG(\theta) \quad (8)$$

One can verify that  $N$  is large enough by computing  $C = N^{-1}U_{\bar{\mathcal{O}}_N}^T(\theta)G^{-1}(\theta)U_{\bar{\mathcal{O}}_N}(\theta)$  where  $U_{\bar{\mathcal{O}}_N} = \sum_{j=1,\dots,N} U_{\mathcal{O}_j}(\theta)$ . If  $N$  is large enough, then  $C$  follows a  $\chi^2_{\dim(\theta)}$  distribution. So if  $C$  takes a value compatible with a  $\chi^2_{\dim(\theta)}$ , it is an indication that  $N$  has been chosen sufficiently large to do the approximation (7).

In our study we found that  $N = 1000$  was sufficient.

It can be noted that the expression (8) could be easily extended to include variable designs between patients and explanatory variables.

## 2.8 The FIM in the patient-by-patient approach

An other paradigm for analyzing data is to consider that each patient  $i$ , and thus each vector of individual parameter  $\tilde{\xi}_i$  as a separated entity: this

approach is named in the following the patient-by-patient approach. More formally, the model for the system is defined only by expression (1), there are no random effects ( $\mathbf{u}_i = 0$ ), and the statistical model is defined for only one patient. The set of parameters can be reduced to  $\theta = ((\tilde{\xi}_l)_{l \leq p}, (\sigma_l)_{l \leq M})$ ; since there are no random effects and only one patient, the full log-likelihood and the full score are  $L_O = L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$  and  $U_O = U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}$  respectively. Concerning the FIM, we can write  $\mathcal{I}_{D,n}(\theta) = \mathcal{I}_{D,i}(\theta) = \mathcal{I}_D(\theta)$ ; moreover, by independence of the measurements errors, we have an analytical expression for the FIM, diagonal per block:

$$\mathcal{I}_D(\theta) = \begin{pmatrix} \mathcal{I}_{\tilde{\xi}\tilde{\xi}} & 0 \\ 0 & \mathcal{I}_{\sigma\sigma} \end{pmatrix},$$

with

$$\begin{cases} \mathcal{I}_{\tilde{\xi}\tilde{\xi}}(l, l') = \sum_{j,m} \frac{1}{\sigma_m^2} \frac{\partial g_m(X(t_{jm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}))}{\partial \tilde{\xi}_l} \frac{\partial g_m(X(t_{jm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}))}{\partial \tilde{\xi}_{l'}}^T \\ \mathcal{I}_{\sigma\sigma}(l, l) = \frac{2n_l}{\sigma_l^2} \text{ and } \mathcal{I}_{\sigma\sigma}(l, l') = 0, l' \neq l \end{cases}$$

where the  $\frac{\partial g_m(X(t_{jm}, \tilde{\boldsymbol{\xi}}))}{\partial \tilde{\xi}_l}$ 's are computed using the systems of sensitivity equations (see Appendix). The link between the FIM and the identifiability as defined in section 2.3. and 2.4. supposes to be in an asymptotic framework and  $\sum_{m=1, \dots, M} n_m$  needs to be sufficiently large.

In our work, we consider that the patient-by-patient approach is the study of patients, independently one from each other, considering that there is no link from one patient to each other. When data for several patients are available, results are often summarized by providing empirical mean, median, or variance of the  $n$  estimations, implying a common framework between the patients. These intuitive empiric estimators “summarize” the individual estimates (Davidian and Giltinan, 1995) are an other way to take the between-subject variability. However the asymptotic properties of these es-

---

timators, not issued from a maximum likelihood inference (since the “true” model is the population model as defined in the precedent sections) is not known and would require a simulation study. Moreover, this approach requires a practical identifiability for each patient, which is more difficult to get than that required in the population approach where the sample is considered as a whole. That is why it is current in such analyzes to exclude several patients (where estimation was not feasible), leading to potential biases in the parameter estimation. Consequently this approach, which is between the patient-by-patient and the population approach, is not studied here and in the following we consider that the patient-by-patient approach implies no link between the patients: it is the study of only one patient.

### 3. Presentation of the HIV dynamic model

#### 3.1 A mathematical model for HIV dynamics

Usual models for HIV dynamics involve uninfected T cells ( $T$ ), infected T cells ( $T^*$ ) and virions ( $V$ ). This last compartment can be split in two parts: infectious ( $V_I$ ) and non infectious ( $V_{NI}$ ) virus. A proportion  $\omega$  of non-infectious virions is generated during the natural history (Chun et al., 1997); the use of a class of antiretroviral, namely the protease inhibitors (Perelson et al., 1996), leads to an increase of  $\omega$ . One may also include the effect of reverse transcriptase inhibitors which limits cell infection by inhibiting reverse transcription of HIV RNA (through  $\eta$ ). Because we are interested in using T cells data for fitting dynamical model, we distinguish between activated and quiescent cells. Furthermore, there is a strong rationale for incorporating such information in the model as the activation process is probably one of

the major cause of T cell depletion during HIV infection (Grossman et al., 2000). Therefore, we propose the following system of non-linear differential equations:

$$\begin{cases} \frac{dQ}{dt} = \lambda + \rho T - \alpha Q - \mu_Q Q \\ \frac{dT}{dt} = \alpha Q - (1 - \eta) \gamma TV_I - \rho T - \mu_T T \\ \frac{dT^*}{dt} = (1 - \eta) \gamma TV_I - \mu_{T^*} T^* \\ \frac{dV_I}{dt} = \omega \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_V V_I \\ \frac{dV_{NI}}{dt} = (1 - \omega) \mu_{T^*} \pi T^* - \mu_V V_{NI} \end{cases} \quad (9)$$

where parameters are detailed in Table 1. We make the assumption that before initiation of antiretroviral treatment the values of the state variables are that of steady state of the system of ODE with  $\eta = 0$ . This assumption implies that the treatment is initiated far from primo-infection. The steady state assumption leads to the following initial conditions (where  $t = 0$  refers to treatment initiation):

$$\begin{cases} Q(0) = \frac{1}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) \\ T(0) = \frac{\mu_v}{\omega \gamma \pi} \\ T^*(0) = \frac{1}{\mu_{T^*}} (\frac{\alpha}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{(\rho + \mu_T) \mu_v}{\omega \gamma \pi}) \\ V_I(0) = \frac{\alpha \omega \pi}{\mu_v (\alpha + \mu_Q)} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{\rho + \mu_T}{\gamma} \\ V_{NI}(0) = \frac{(1 - \omega) \pi}{\mu_v} (\frac{\alpha}{\alpha + \mu_Q} (\lambda + \frac{\rho \mu_v}{\omega \gamma \pi}) - \frac{\mu_v (\rho + \mu_T)}{\omega \gamma \pi}) \end{cases}$$

This model belongs to the typical class of non-linear systems of ODE introduced in the litterature (Wei et al., 1995; Ribeiro et al., 2002).

### 3.2 Values for the parameters

Parameters were estimated in a previous work (Guedj et al., 2007) using data from an HIV clinical trial (ALBI ANRS 070) comparing different regimen of nucleosides reverse transcriptase inhibitors. Three random effects were retained; the design of this study, not adapted to dynamics models, did not make possible to estimate the  $p$  biological parameters and some of them

---

were fixed according to values found in the litterature. The value  $\theta_0$  for the parameters are summarized in Table 1.

[Table 1 about here.]

The resulting trajectory for the observed components with no random effects and no measurements errors is presented on Figure 1. Figure 2 displays a simulation of a whole sample with  $n = 100$ , taking into account variability due to the random effects and to the measurements errors. Moreover, data under 50 copies. $ml^{-1}$  were censored and represented as equal to 50 in the figures.

[Figure 1 about here.]

[Figure 2 about here.]

#### **4. Study of practical identifiability according to observational designs and parameters of interest**

The practical identifiability of different set of parameters is studied according to different observational designs. Our primarily interest is on the practical identifiability of biological parameters, that is why the expected standard deviations on  $(\sigma_l)_{l=1,\dots,M}$  are not shown. The information brought by a population model is illustrated for  $n = 100$  patients. The results are presented with constant values for the error measurements given in Table 1.  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta)$  is directly linked to the value for the vector  $\sigma$ : if only one component is oberved ( $M = 1$ ),  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta)$  is proportionnal to  $\sigma_1^2$ .

To compare the practical identifiability between the patient-by-patient and the population approach, we compute for the population model the restricted

---

efficiency  $\phi_s(\mathcal{D})$  on the restricted set  $\theta_s = \{\theta - \{a_{ll}\}_{l=1,\dots,q}\}$ , since there are no random effects in the patient-by-patient approach.

Last it can be noted that all the results depend on the value  $\theta = \theta_0$  chosen for the parameters. We explore to what extent the presented results are robust in a plausible neighborhood of  $\theta_0$ .

#### 4.1 Potential designs

We analyze five patterns of observable components in increasing availability order ( $M = 1$  to  $M = 5$ ). To make observable components of comparable order of magnitude and to ensure a gaussian framework of the error measurements, we work on transformed observations, namely a log-transformation for HIV-RNA concentration, and the fourth root for CD4+ T-cell count.

When  $M = 1$ , the only observable component is the HIV RNA virus load, noted ' $V$ ' and  $g_1 = \log_{10}(V_I + V_{NI})$ ; for  $M = 2$ , the observed components are the HIV RNA virus load and the total CD4 count, noted ' $V| Q + T + T^*$ ' for  $g_1 = \log_{10}(V_I + V_{NI})$ ,  $g_2 = (Q + T + T^*)^{0.25}$ . If  $M = 3$ , we add the observation of total activated cells and the observed components are  $g_1 = \log_{10}(V_I + V_{NI})$ ,  $g_2 = Q^{0.25}$ ,  $g_3 = (T + T^*)^{0.25}$  noted ' $V| Q| T + T^*$ '.  $M = 4$  adds the quantification of the infected cells and available observations are  $g_1 = \log_{10}(V_I + V_{NI})$ ,  $g_2 = Q^{0.25}$ ,  $g_3 = T^{0.25}$ ,  $g_4 = T^{*0.25}$ , noted ' $V| Q| T| T^*$ '. Last we add the distinction between infectious and non-infectious virus noted ' $V_I | Q| T| T^*| V_{NI}$ ' for which  $g_1 = \log_{10}(V_I)$ ,  $g_2 = Q^{0.25}$ ,  $g_3 = T^{0.25}$ ,  $g_4 = T^{*0.25}$ ,  $g_5 = \log_{10}(V_{NI})$ .

For  $M \geq 3$  the error measurements have been fixed and do not come from the estimation made in Guedj et al. (2007), as it is the case for the error measurements made on observation of ' $V$ ' and ' $Q + T + T^*$ ' (noted  $\sigma_{CV}$  and  $\sigma_{CD4}$ ).

We consider that  $\sigma_{CD4act}$  (error measurement made on  $T^{0.25}$  or  $(T + T^*)^{0.25}$ ) has the same value as for the total number of CD4 cells (*i.e.*  $\sigma_{CD4act} = 0.18$ ). For infected CD4 ( $T^{*0.25}$ ), we take into account their low number comparing to other CD4. We consider that the relative error measurements for a  $T^*$ -cells concentration of  $1mm^{-3}$  should be equivalent to that for a total CD4 count at a median value of  $400mm^{-3}$ . This leads to  $\sigma_{CD4inf} = 0.04$ . When distinguishing between infectious Virus  $V_I$  and non-infectious Virus  $V_{NI}$ , we take the same error measurements than when total virus load  $V$  is observed. We compare two different schedules: the schedule **S0** is similar to what was used for parameter estimation: measurements are done every 4 weeks until 24 weeks. The second schedule **S1** is particularly adapted to HIV dynamics analyses. As noted in Perelson (2002), those studies require more intensive prelevements at the initiation of the therapy, when there is a maximum amount of information on the involved dynamics, particularly the virus load: for **S1** measurements are done every 2 hours until the sixth hour, every 6 hours until day 2 and every day until day 7 like studies focusing on life-span of virions and/or infected cells (Wei et al. (1995); Ho et al. (1995), Perelson et al. (1996), Perelson (2002)). After the first week, the schedule of measurements is the same as in **S0**.

#### 4.2 Identifiability of $\theta = (\tilde{\alpha}, \tilde{\lambda}, \tilde{\mu}_{T*}, \tilde{\pi}, \tilde{\mu}_T, \tilde{\eta}, a_{\tilde{\alpha}}, a_{\tilde{\lambda}}, a_{\tilde{\mu}_{T*}})$

For  $M = 1$  (only total virus load is observed), the lowest eigenvalue was less than  $10^{-10}$  in the two approaches, leading to very large expected standard deviations, in particular for  $\tilde{\pi}$  and  $\tilde{\lambda}$ . This case is a limit case of theoretical identifiability and the analysis of the corresponding eigenvector suggests to introduce the macroparameter  $\tilde{\pi} + \tilde{\lambda}$  (or  $\pi\lambda$  equivalently).

For  $M > 1$ , the results are displayed on Table 2. Using the patient-by-patient approach with  $\mathcal{D}_{G,S} = (\mathbf{S0}, V|Q|T + T^*)$  and more intensive schedule  $\mathcal{D}'_{G,S} = (\mathbf{S1}, V|Q|T + T^*)$ , the global accuracy on the 8 parameters is improved as expected ( $\phi(\mathcal{D}') = 36.6$  vs  $\phi(\mathcal{D}) = 27.5$ ) and the gain of precision is  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}, \mathcal{D}'} = 77\%$  (see expression (4)).

Whatever the chosen approach (patient-by-patient or population), the number of observed components strongly increases the accuracy of the estimation. The improvement is less important when increasing the number of measurements, that is using the intensive schedule **S1** rather than **S0**. For instance let us focus on the population model with  $\mathcal{D}_{G,S} = (\mathbf{S0}, V|Q|T + T^*)$ . If the schedule of measurements were more intensive (**S1**), the global accuracy is increased ( $\phi(\mathcal{D}') = 110.0$  vs  $\phi(\mathcal{D}) = 99.7$ ). If we keep schedule **S0** but if we add the observation of infected cells ( $\mathbf{S0}, V|Q|T|T^*$ ) the global accuracy is still better ( $\phi(\mathcal{D}'') = 125.7$ ). Standard deviation for  $\sigma_{CD4inf}$  was equal to 0.0014. The analysis of the correlation matrix shows that the estimator of  $\sigma_{CD4inf}$  has a very low correlation with other parameters estimators. Consequently, if we note  $\theta_s = \{\theta - \{\sigma_{CD4inf}\}\}$ , then  $\phi_s(\mathcal{D}'') \simeq \phi(\mathcal{D}'') - \ln(0.0014^{-2}) = 112.5$ . The global increase of precision on the 12 remaining parameters is consequently  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}', \mathcal{D}''} = \exp[(112.5 - 110.0)/2 * 12] = 1.11$ , *i.e.* an accuracy improvement of about 11%.

The comparison between the patient-by-patient and the population approach leads to very clear results. For the baseline model and  $\mathcal{D}_{G,S} = (\mathbf{S0}, V|Q|T + T^*)$  and when focusing on the fixed effect, the global standard errors are reduced by approximately 7.3 fold ( $\exp[(59.3 - 27.5)/2 * 8] = 7.3$ ). This explains why we only focus in the following on the population approach.

---

[Table 2 about here.]

### 4.3 Practical identifiability of all parameters

A further step is to look at the designs that allow the estimation of all biological parameters included in the model (9). We add progressively parameters to the initial model according to the increase of the information. Results are presented in Table 3, omitting the expected standard deviations of the random effects and of the measurement errors.

The focus on  $\tilde{\xi} = (\tilde{\alpha}, \tilde{\lambda}, \tilde{\mu}_{T*}, \tilde{\pi}, \tilde{\eta}, \tilde{\mu}_T, \tilde{r}, \tilde{\gamma})$  with  $M = 2$  illustrates the difference between practical and theoretical identifiability. Expected standard deviation for  $\tilde{\gamma}$  and  $\tilde{\eta}$  are very close to one for **S0**, meaning that even if there is theoretical identifiability (due to the steady state assumption at  $t = 0$ ), these two parameters cannot be in practice simultaneously estimated. An analysis of the eigenvalues confirms that only the product  $\tilde{\gamma}(1 - \tilde{\eta})$  could be identifiable. To make these two parameters simultaneously identifiable, one has to use **S1** instead of **S0**. It can be noted that the steady state condition before initiation of therapy is necessary to have a theoretical identifiability between the two parameters. Moreover, the dramatic drop of the virus load in the first days is highly correlated with  $\eta$  and that is why only intensive measurements can measure the specific effect of treatment. However, it can be noted that a classic schedule **S0** becomes sufficient if  $M = 3$ . No other parameter can be added to the estimation if  $M = 2$ .

For making other parameters practically identifiable, other components should be observed. To simultaneously estimate  $\pi$  and  $\mu_V$ , four or more ( $M \geq 4$ ) components should be observed through an intensive scedule **S1**.

With an adequate design, all the parameters are identifiable except  $\tilde{\mu}_Q$ , the

transformed death rate of the CD4 quiescent cells ( $\sigma(\tilde{\mu}_Q) > 3$  for all tested designs). This dynamic is low, compared to other involved mechanisms, and a follow-up longer than 24 weeks would be necessary to estimate this parameter.

[Table 3 about here.]

#### 4.4 Practical identifiability around values chosen for the parameters

The computation of  $\mathcal{I}_{\mathcal{D}}(\theta)$  for  $\theta = \theta_0$  implies that  $\theta_0$  is known, whereas the study aims precisely *in fine* at determining if the estimation of  $\theta_0$  is feasible. This paradox can be overcomen in part when studying the variation of  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}(\theta)$  in a plausible region around  $\theta_0$ . A natural way is to study the distribution of  $\phi(\mathcal{D})$  for  $\theta \sim \mathcal{N}(\theta_0; \mathcal{I}_{\mathcal{D}}^{-1}(\theta_0))$ . A similar approach is used when looking for optimal sequential designs as an alternative to the local planification (Walter and Pronzato, 1997): one can consider an *a priori* distribution in a bayesian standing for  $\theta$  and looking for  $\mathcal{D}^*$  maximizing  $\mathbb{E}(\phi(\mathcal{D}))$ .

Instead of  $\phi(\mathcal{D})$ , Figure A displays the empirical distribution of  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}}$  obtained with 500 simulations, giving a better idea in term of marginal expected standard deviations. The set of parameters of interest is  $\theta = (\tilde{\alpha}, \tilde{\lambda}, \tilde{\mu}_{T*}, \tilde{\pi}, \tilde{\mu}_T, \tilde{\eta}, a_{\tilde{\alpha}}, a_{\tilde{\lambda}}, a_{\tilde{\mu}_{T*}})$  and  $\mathcal{D}=(\mathbf{S0}, V| Q + T + T^*)$  (see Table 2 for results with central values  $\theta_0$ ). As it could be hoped, the distribution of  $\mathcal{E}_{\mathcal{D}}$  is centered around the value found in  $\theta_0$  ( $\mathcal{E}_{\mathcal{D}}(\theta_0) = 0.0233$ ). Moreover, the standard deviation is not large and the values remain of the same order of magnitude than in  $\theta_0$ , meaning that the results given in Table 2 and Table 3 are robust in the domain of the plausible values for  $\theta$ . Moreover, this could constitue asymptotically a way for assessing the local identifiability as defined in section 2.4.

[Figure 3 about here.]

## 5. Conclusions

We have proposed a method to compute the FIM giving the opportunity to evaluate the practical identifiability and to compare it through different observational designs. Although the conclusion might depend partly on the biological model, the application of the method has provided interesting results, such as outlining the benefit of increasing the number of components measured. Therefore, the availability of assays able to distinguish infected and non infected cells (Patterson et al., 1998) as well as infectious and non infectious viruses (Rusert et al., 2004) may substantially improve the identifiability of model parameters and thus the usefulness of HIV dynamics model to analyze real data. Of note, the impact of increasing the measurements schedule intensity depends also on the parameters of interest. For instance, if we wish to estimate simultaneously the free virion clearance and the number of virus produced by an infected cell, the design should be adapted to the rapid dynamics of these components, i.e. schedules with more frequent measurements should be favored. All the same, an intensive schedule is necessary to distinguish the infectivity of the virus and the *in vivo* treatment efficacy.

Besides, we have quantified the great improvement of the population approach compared to the patient-by-patient approach. Although this approach remains a relevant compromise between the explicative ability of the dynamical models and the computational skills required in the population approach, intensive schedule measurements are necessary. If not, because of ethics and cost considerations make rich individual data difficult to get, the population approach is the only way to provide estimation on a large number of

---

parameters. The improvement brought by the use of the *a priori* information available on the parameters in a bayesian standing (Wu, 2005) should be studied in the context of non linear ODE system. In this approach, the study of the practical identifiability requires to evaluate by simulations the expectation of the posterior variance-covariance matrix of the parameters of interest (Han and Chaloner, 2004). Another extension of the present work would be to find optimal designs (Atkinson and Donev (1992); Mentré et al. (1997)) taking into account or not the cost issue due to the increase of the number of measurements or due to the use of new type of quantification.

Our methodology is introduced by defining an i.i.d framework for the patients. For sake of clarity, we did not take into account the possibility to include explanatory variables like treatment group (Guedj et al., 2007) or pharmacokinetics data (Huang and Wu, 2006) but the computation of the FIM would remain very close to what was presented here.

In conclusion, our primary interest is to propose a methodology to check the practical identifiability when designing a study aiming at estimating parameters of a dynamical model. In addition, we provide in this work an order of magnitude for the relative errors that can be hoped in typical HIV dynamics models according to usual designs.

## REFERENCES

- Atkinson, A. and Donev, A., 1992. *Optimum Experimental Designs*. Oxford University Press.
- Audoly, S., Bellu, G., D'Angio, L., Saccomani, M. and Cobelli, C., 2001.

- Global Identifiability of Nonlinear Models of Biological Systems. *IEEE Transactions on biomedical engineering* **48**, 55–65.
- Banks, H., Grove, S., Hu, S. and Ma, Y., 2005. A hierarchical Bayesian approach for parameter estimation in HIV models. *Inverse Problems* **21**, 1803–1822.
- Bortz, D. and Nelson, P., 2006. Model Selection and Mixed-Effects Modeling of HIV Infection Dynamics. *Bulletin of Mathematical Biology, to appear*.
- Box, G. E. P. and Draper, N. R., 1959. A basis for the selection of a response surface design. *Journal of the American Statistical Association* **54**, 622–654.
- Chun, T. W., Carruth, L., Finzi, D., Shen, X., DiGiuseppe, J. A., Taylor, H., Hermankova, M., Chadwick, K., Margolick, J., Quinn, T. C., Kuo, Y. H., Brookmeyer, R., Zeiger, M. A., Barditch-Crovo, P. and Siliciano, R. F., 1997. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in hiv-1 infection. *Nature* **387**, 183–188.
- Commenges, D., Jacqmin-Gadda, H., Guedj, J. and Proust, C., 2006. A Newton-like algorithm for likelihood maximization: the robust variance scoring algorithm. *Statistics in Medicine* **21**, 1803–1822.
- Davidian, M. and Giltinan, D. M., 1995. *Nonlinear Models for Repeated Measurements Data*. Chapman and Hall, London.
- Fedorov, V. V., 1972. *Theory of Optimal Experiments*. Academic Press.
- Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M., Sousa, A. E., Victorino, R. M. M. and Paul, W. E., 2000. CD4+ T-cell depletion in HIV infection: Are we closer to understanding the cause? *Nature Medicine* **8**, 319–323.
- Guay, M. and McLean, D. D., 1995. Optimization and sensitivity analysis

- for multiresponse parameter estimation in systems of ordinary differential equations. *Computers and Chemical Engineering* **19**, 1271–1286.
- Guedj, J., Thiébaut, R. and Commenges, D., 2007. Maximum Likelihood Estimation of HIV dynamics models, submitted.
- Han, C. and Chaloner, K., 2004. Bayesian experimental design for nonlinear mixed-effects models with application to HIV dynamic. *Biometrics* **60**, 25–33.
- Ho, D. D., Neumann, A. U., Perelson, A. S., Chen, W., Leonard, J. M. and Markowitz, M., 1995. Rapid turnover of plasma virions and cd4 lymphocytes in hiv-1 infection. *Nature* **373**, 123–126.
- Holmberg, A., 1982. On the practical identifiability of microbial growth models incorporating Michaelis-Menten type nonlinearities. *Mathematical Biosciences* **62**, 23–43.
- Huang, Y., Liu, D. and Wu, H., 2006. Hierarchical Bayesian methods for estimation of parameters in a longitudinal HIV dynamic system. *Biometrics* .
- Huang, Y. and Wu, H., 2006. A bayesian approach for estimating antiviral efficacy in HIV dynamic models. *Journal of Applied Statistics* **33**, 155–174.
- Julien, S., Barbary, J. and Lessard, P., 1997. Theoretical and practical identifiability of a reduced order model in an activated sludge process doing nitrification and denitrification. *Water Science & Technology* **37**, 309–316.
- Kiefer, J., 1974. General equivalence theory for optimum designs (approximate theory). *Annals of Statistics* **2**, 849–879.
- Knight, K., 2001. *Mathematical Statistics*. Chapman & Hall/CRC.

- Kuhn, E. and Lavielle, M., 2005. Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models. *Computational Statistic & Data Analysis* **49**, 1020–1038.
- Louis, T., 1982. Finding the observed Information matrix when using the *EM* algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B* **44**, 226–233.
- Mclean, A. R. and Michie, C. A., 1995. *in vivo* estimates of division and death rates of human t lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**, 3707–3711.
- Mentré, F., Mallet, A. and Baccar, D., 1997. Optimal design in random-effects regression models. *Biometrika* **84**, 429–442.
- Patterson, B. K., Mosiman, V. L., Cantarero, L., Furtado, M., Bhattacharya, M. and Goolsby, C., 1998. Detection of HIV-RNA-positive monocytes in peripheral blood of HIV-positive patients by simultaneous flow cytometric analysis of intracellular HIV RNA and cellular immunophenotype. *Cytometry* **31**, 265–274.
- Perelson, A. S., 2002. Modelling viral and immune system dynamics. *Nature Reviews Immunology* **2**, 28–36.
- Perelson, A. S., Neumann, A. U., Markowitz, M., Leonard, J. M. and Ho, D., 1996. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Science* **271**, 1582–1586.
- Petersen, B., Gernaey, K. and Vanrolleghem, P. A., 2001. Practical identifiability of model parameters by combined respirometric-titrimetric measurements. *Water Science and Technology* **43**, 347–355.
- Piatak, M., Saag, M., Yang, L. C., Clark, S. J., Kappes, J. C., Luk, K. C.,

- Hahn, B. H., Shaw, G. M. and Lifson, J. D., 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**, 1749–1754.
- Pinheiro, J. C. and Bates, D. M., 2000. *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Springer, London.
- Pohjanpalo, H., 1978. System identifiability based on the power series expansion of the solution. *Mathematical Biosciences* **41**.
- Putter, H., Heisterkamp, S. H., Lange, J. M. A. and deWolf, F., 2002. A bayesian approach to parameter estimation in HIV dynamic models. *Statistics in Medicine* **21**, 2199–2214.
- Radhakrishnan, K. and Hindmarsh, A. C., 1993. Description and use of lsode, the livermore solver for ordinary differential equations. *LLNL Report UCR-ID-113855 Livermore, CA* **4**.
- Ramratnam, B., Bonhoeffer, S., Binley, J., Hurley, A., Zhang, L., Mittler, J. E., Markowitz, M., Moore, J. P., Perelson, A. S. and Ho, D. D., 1999. Rapid production and clearance of HIV-1 and hepatitis C virus assessed by large volume plasma apheresis. *The Lancet* **354**, 1782–1786.
- Retout, S., Dufull, S. and Mentre, F., 2001. Development and implementation of the population Fisher information matrix for the evaluation of population pharmacokinetic designs. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* **65**, 141–151.
- Ribeiro, R. M., Mohri, H., Ho, D. D. and Perelson, A. S., 2002. In vivo dynamics of T cell activation, proliferation, and death in HIV-1 infection: Why are CD4 but not CD8 T cells depleted? *Proceedings of the National Academy of Sciences* **24**, 15572–15577.

- Rothenberg, T. J., 1971. Identification in parametric models. *Econometrica* **39**, 577–591.
- Rusert, P., Fischer, M., Joos, B., Leemann, C., Kuster, H., Flepp, M., Bonhoeffer, S., Gunthard, H. F. and Trkola, A., 2004. Quantification of infectious HIV-1 plasma viral load using a boosted in vitro infection protocol. *Virology* **326**, 113–129.
- Stafford, M. A., Corey, L., Cao, Y., Daar, E. S., Ho, D. D. and Perelson, A. S., 2000. Modeling plasma virus concentration during primary HIV infection. *Journal of Theoretical Biology* **203**, 285–301.
- Thiebaut, R., Guedj, J., Jacqmin-Gadda, H., Chene, G., Trimoulet, P., Neau, D. and Commenges, D., 2006. BMC Medical Research Methodology. *BMC Medical Research Methodology* **6**, 1–10.
- Vajda, S., Rabitz, H., Walter, E. and Lecourtier, Y., 1989. Qualitative and quantitative identifiability analysis of nonlinear chemical kinetic models. *Chemical Engineering Communication* **83**, 191–219.
- Verotta, D. and Schaedeli, F., 2002. Non-linear dynamics models characterizing long-term virological data from AIDS clinical trials. *Mathematical Biosciences* **176**, 163–183.
- Walter, E. and Pronzato, L., 1997. *Identification of Parametric Models from Experimental Data*. Springer-Verlag.
- Wei, X., Ghosh, S. K., E., T. M., Johnson, V. A., Emini, E. A., Deutsch, P., Lifson, J. D., Bonhoeffer, S., Nowak, N. A., Hahn, B. H., Saag, M. S. and Shaw, G. M., 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**, 117–122.
- Wu, H., 2005. Statistical methods for HIV dynamic studies in AIDS clinical

- trials. *Statistical Methods in Medical Research* **14**, 1–22.
- Xia, X. and Moog, C. H., 2003. Identifiability of nonlinear systems with applications to HIV/AIDS models. *IEEE transactions on automatic control* **48**, 330–336.

## APPENDIX A

### *Computation of the individual score in a system of ODE*

Let us define the individual score  $U_{\mathcal{O}_i}(\theta) = \frac{\partial L_{\mathcal{O}_i}(\theta)}{\partial \theta}$ . For simplicity we assume in this section that there is no censored data. Three types of parameters can be distinguished: biological parameters  $\tilde{\xi}_l$ , terms  $a_{ll'}$  (see equation (2)) and standard deviation of the measurement errors  $\sigma_l$  as defined in (3). Consequently, there are three different expressions for the full score itself. For subject  $i$  at the current point  $\theta = ((\tilde{\xi}_l)_{l \leq p}, (a_{ll})_{l \leq q}, (\sigma_l)_{l \leq M})$  the components of the full score can be written as follows:

- $U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}^{(\tilde{\xi}_l)}(\theta) = \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}}{\partial \tilde{\xi}_l} = \sum_{j,m} \frac{1}{\sigma_m^2} \frac{\partial g_m(X(t_{jm}, \tilde{\xi}_i))}{\partial \tilde{\xi}_l} (Y_{ijm} - g_m(X(t_{jm}, \tilde{\xi}_i))), \quad l \leq p$
- $U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}^{(a_{ll})}(\theta) = \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}}{\partial a_{ll}} = u_{li} \sum_{j,m} \frac{1}{\sigma_m^2} \frac{\partial g_m(X(t_{jm}, \tilde{\xi}_i))}{\partial \tilde{\xi}_l} (Y_{ijm} - g_m(X(t_{jm}, \tilde{\xi}_i))), \quad l \leq q$
- $U_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}^{(\sigma_l)}(\theta) = \frac{\partial L_{\mathcal{F}_i|\mathbf{u}_i}}{\partial \sigma_l} = \sum_j \frac{(Y_{ijl} - g_l(X(t_{jl}, \tilde{\xi}_i)))^2}{\sigma_l^3} - \frac{n_{il}}{\sigma_l}, \quad l \leq M$

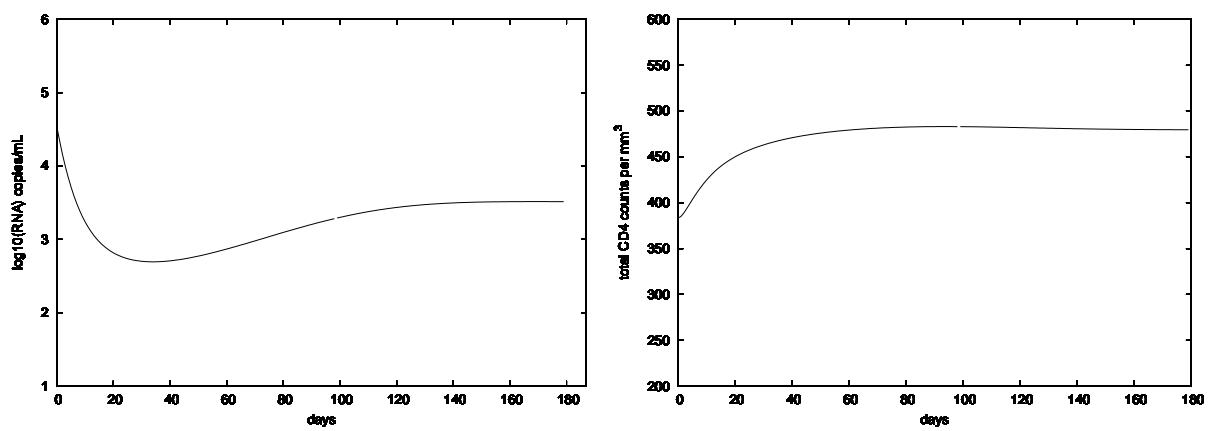
For computing the scores we thus have to compute the  $\frac{\partial g_m(X(t, \tilde{\xi}_i))}{\partial \tilde{\xi}_l}$ . Using the fact that  $\frac{\partial g_m(X(t, \tilde{\xi}_i))}{\partial \tilde{\xi}_l} = \sum_{k=1, \dots, K} \frac{\partial g_m(X(t, \tilde{\xi}_i))}{\partial X^{(k)}} \frac{\partial X^{(k)}(t, \tilde{\xi}_i)}{\partial \tilde{\xi}_l}$ , the problem reduces to computing the derivatives  $\frac{\partial X^{(k)}(t, \tilde{\xi}_i)}{\partial \tilde{\xi}_l}$ . These functions are obtained by solving

---

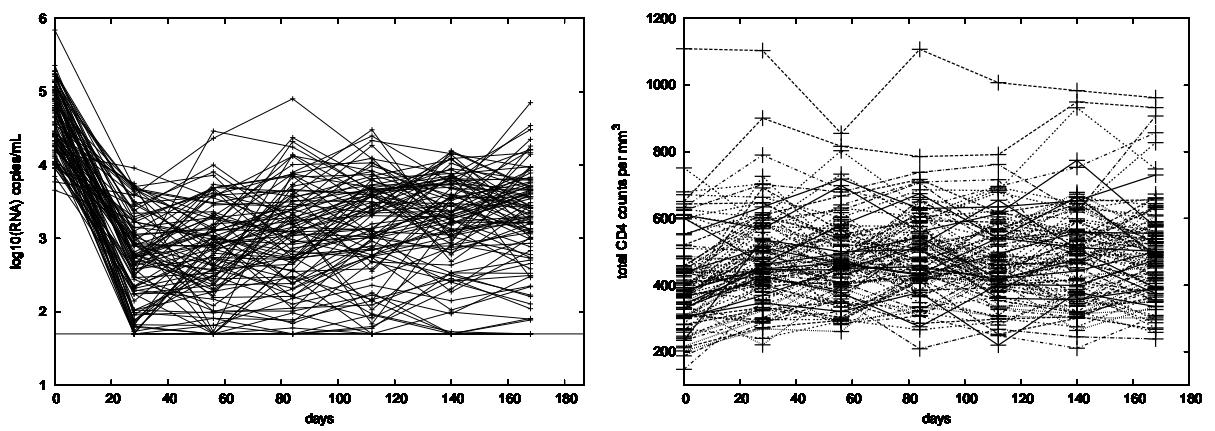
the system of sensitivity equations (Guay and McLean, 1995):

$$\begin{cases} \frac{d}{dt} \frac{\partial X}{\partial \tilde{\xi}_l} = \frac{\partial f}{\partial X} \frac{\partial X}{\partial \tilde{\xi}_l} + \frac{\partial f}{\partial \tilde{\xi}_l} \\ \frac{\partial X(0)}{\partial \tilde{\xi}_l} = \frac{\partial h(\tilde{\xi})}{\partial \tilde{\xi}_l} \end{cases}$$

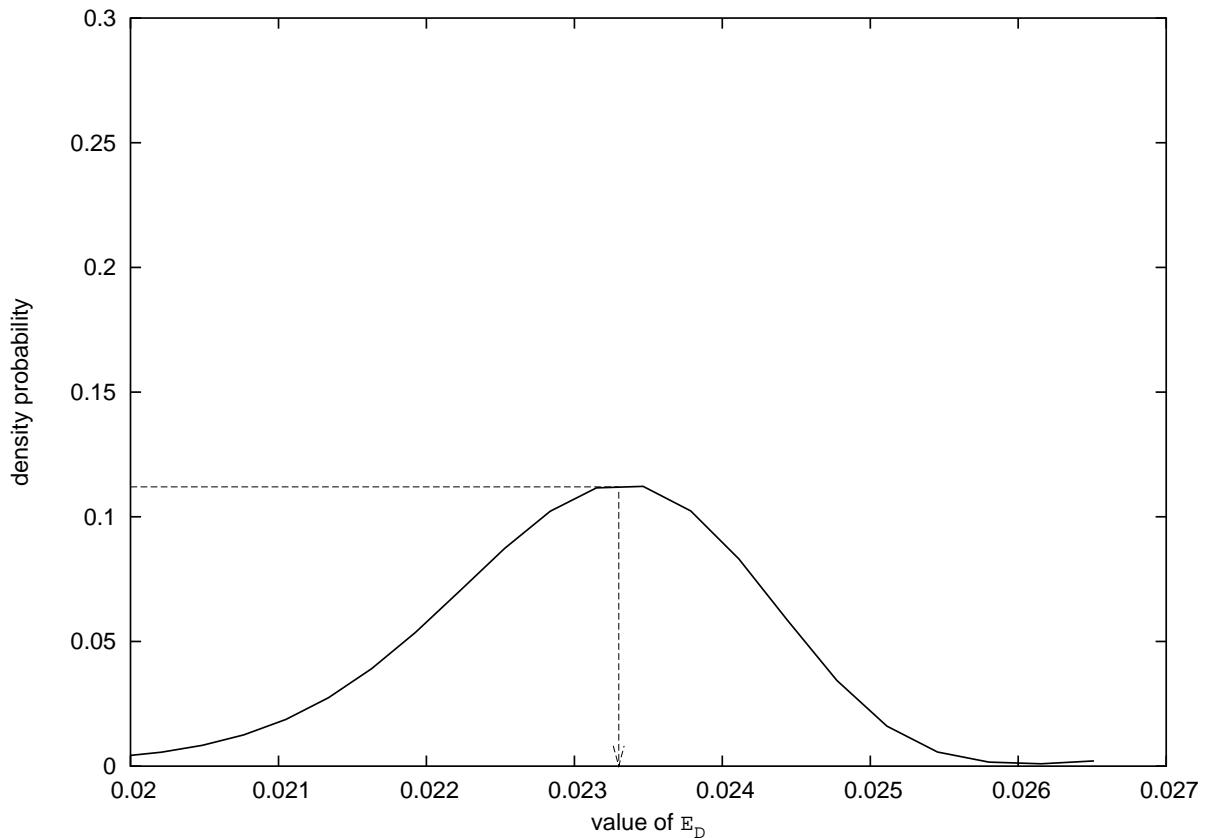
The systems of sentitivity equations are solved with the same routine (Rad-hakrishnan and Hindmarsh, 1993) than what was used for the original system (see upper).



**Figure 1.** Simulated trajectories for the virus load (left) and the total CD4 counts (right) after antiretroviral treatment initiation when the random effects and the error measurements are set to be null. Values for the parameters are those given in Table 1.



**Figure 2.** 100 simulated trajectories for the virus load (left) and the total CD4 counts (right) when taking between-subjects variations, error measurements and censure of virus load into account. Design of the observation is that of our parameter estimation Guedj et al. (2007).



**Figure 3.** Empirical distribution of  $\mathcal{E}_D(\theta)$ . The dot line corresponds to the result obtained for the central parameter value  $\theta_0$  given in Table 2

Table 1: Diagonal elements of  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}^{-1}(\theta)$  according to the approach and the design

Parameter	Meaning	Value
$\alpha$	Activation rate of Q cells ( $day^{-1}$ )	0.042
$\lambda$	Rate of Q cells production ( $\mu_L^{-1} day^{-1}$ )	13.73
$\mu_{T^*}$	Death rate of $T^*$ cells ( $day^{-1}$ )	0.67
$\pi$	Number of virions per $T^*$ cell	104.00
$\mu_T$	Death rate of T cells ( $day^{-1}$ )	0.12
$\eta$	Efficiency of treatment (proportion)	0.96
$a_{\tilde{\alpha}}$	Standard deviation (STD) of the random effect associated to $\tilde{\alpha} = \log(\alpha)$	0.31
$a_{\tilde{\lambda}}$	STD of the random effect associated to $\tilde{\lambda} = \log(\lambda)$	0.043
$a_{\tilde{\mu}_{T^*}}$	STD of the random effect associated to $\tilde{\mu}_{T^*} = \log(\mu_{T^*})$	0.25
$\sigma_{CV}$	STD of $\log_{10}(V_I + V_{NI})$ of virus load	0.42
$\mathcal{GCD}_4$	STD of $(Q + T + T^*)^{0.25}$ cell	0.18
<b>Reference</b>		
$\gamma$	Infection rate of T cells per virion ( $mm^3 \cdot day^{-1}$ )	0.050
$\mu_Q$	Death rate of Q cells ( $day^{-1}$ )	0.00014
$\mu_V$	Clearance of free virions ( $day^{-1}$ )	30.00
$\rho$	Rate of reversion to the quiescent state ( $day^{-1}$ )	0.017
$\omega$	Proportion of non-infectious virions (proportion)	0.20

Table 2: Diagonal elements of  $\mathcal{I}_{\mathcal{D},n}^{-1}(\theta)$  according to the approach and the design

Design $\mathcal{D}_{S,G}$	$\tilde{\alpha}$	$\tilde{\lambda}$	$\tilde{\mu}_{T^*}$	Expected standard deviation			$\phi_s(\mathcal{D})$	$\phi(\mathcal{D})$	$\mathcal{E}_{\mathcal{D}}$
Patient-by-patient approach									
<b>S0,’V Q + T + T*,</b>	1.25	1.04	0.85	1.04	0.74	0.76	—	—	27.5
<b>S1,’V Q + T + T*,</b>	0.76	0.67	0.35	0.62	0.38	0.33	—	—	36.6
<b>S0,’V Q T + T*,</b>	0.58	0.63	0.79	0.41	0.69	0.59	—	—	0.10
<b>S1,’V Q T + T*,</b>	0.20	0.21	0.27	0.11	0.27	0.18	—	—	39.4
<b>S0,’V Q T T*,</b>	0.070	0.063	0.040	0.084	0.065	0.088	—	—	0.06
Population approach									
<b>S0,’V Q + T + T*,</b>	0.13	0.11	0.094	0.11	0.080	0.083	0.0052	0.036	82.7
<b>S1,’V Q + T + T*,</b>	0.079	0.064	0.042	0.059	0.038	0.038	0.0047	0.025	0.023
<b>S0,’V Q T + T*,</b>	0.068	0.067	0.085	0.042	0.059	0.073	0.024	0.054	92.2
<b>S1,’V Q T + T*,</b>	0.038	0.024	0.036	0.012	0.028	0.021	0.0043	0.024	0.015
<b>S0,’V Q T T*,</b>	0.024	0.014	0.027	0.017	0.012	0.019	0.014	0.0028	0.018
							97.1	97.1	0.0079

Table 3: Practical identifiability when including the maximum number of parameters

Design $\mathcal{D}_{S,G}$	Expected standard deviation						$\phi(\mathcal{D})$	$\mathcal{E}_D$
	$\tilde{\alpha}$	$\tilde{\lambda}$	$\tilde{\mu}_{T^*}$	$\tilde{\pi}$	$\tilde{\eta}$	$\tilde{\mu}_T$		
<b>S0,’V  Q + T + T*,</b>	0.34	0.23	0.23	0.14	0.96	0.22	0.55	0.99
<b>S1,’V  Q + T + T*,</b>	0.29	0.20	0.19	0.066	0.74	0.099	0.38	0.71
<b>S0,’V  Q  T + T*,</b>	0.13	0.11	0.098	0.12	0.099	0.12	0.25	0.17
<b>S1,’V  Q  T + T*,</b>	0.035	0.035	0.039	0.043	0.044	0.038	0.11	0.068
<b>S1,’V  Q  T  T*,</b>	0.031	0.012	0.020	0.82	0.016	0.015	0.061	0.027
<b>S1,’V<sub>I</sub>  Q  T  T*  V<sub>NI</sub>,</b>	0.025	0.0066	0.0091	0.48	0.011	0.0081	0.032	0.024



# Discussion & Perspectives

Nous avons développé dans cette thèse une méthodologie générale pour l'inférence et l'étude de l'identifiabilité dans les modèles non-linéaires à effets mixtes. Regroupant différentes approches comme les quadratures adaptatives, les équations de sensibilité et la résolution semi-analytique des scores de la vraisemblance, cette approche trouve sa pertinence dans des modèles définis par des systèmes d'équations différentielles non-linéaires, pour lesquels les méthodes déjà implémentées sont difficilement applicables.

Appliquée aux modèles d'interaction virus/système immunitaire du VIH, nous avons estimé la plupart des paramètres d'un modèle complexe à cinq compartiments. L'approche par maximum de vraisemblance permet d'utiliser sans difficultés supplémentaires toute l'information disponible (en particulier les CD4) et de prendre en compte de manière rigoureuse les limites de détection de la charge virale, sources potentielles de biais pour l'estimation des paramètres. En utilisant les données de l'essai ANRS ALBI 070, nous avons pu ainsi comparer l'effet différentiel de la stratégie de traitement par inhibiteurs nucléosidiques sur le degré de blocage de l'infection de nouveaux CD4 par le VIH. La différence constatée suffisait à expliquer les différences de trajectoires constatées, en particulier le rebond de la charge virale constatée chez certains patients. L'utilisation de cette méthodologie, en fournissant un algorithme efficace d'estimation des paramètres, contribue donc à faire de l'approche dynamique un outil alternatif d'analyse des suivis longitudinaux des patients infectés par le VIH, en particulier dans le cadre des essais cliniques. Enfin cette approche fournit aussi une méthode de calcul intensive de la matrice d'information, et permet donc d'intervenir dans la constitution de designs adéquats.

Néanmoins, la méthode développée au cours de cette thèse nécessiterait d'être comparée aux méthodes déjà proposées dans la littérature. En particulier l'approche Bayésienne, qui permet de s'affranchir en partie du problème des paramètres fixés (en mettant plutôt un *a*

*a priori* très fort sur ces paramètres) a la faveur des modélisateurs. Pourtant, l'inconvénient majeur de cette approche pourrait être les temps de calculs très importants qu'elle nécessite. Enfin, les experts des modèles non-linéaires à effets mixtes soulignent la pertinence des approches par maximum de vraisemblance basées sur des méthodes stochastiques et MCMC (Gu et Kong, 1998 ; Delyon et al., 1999), qu'il serait donc pertinent de comparer à notre approche, en particulier en terme de précision des estimations et de temps de calcul. De façon plus générale, l'utilisation des modèles explicatifs de l'interaction virus/système immunitaire pose néanmoins un certain nombre de questions.

En premier lieu, les données disponibles ne sont pas adaptées la plupart du temps à une modélisation dynamique, que ce soit en terme d'intensité des mesures ou de richesse des compartiments observés. En conséquence, tous les paramètres ne peuvent pas être estimés, et certains d'entre eux doivent être fixés (ou alors estimés avec un *a priori* très fort dans les approches Bayésiennes) à des valeurs données par la littérature : la transposition de ces valeurs elles-mêmes obtenues grâce à d'autres modèles sur le modèle d'intérêt est donc sujet à caution. En retour, les estimations données pour les paramètres d'intérêt deviennent elles-mêmes discutables, puisqu'elles dépendent directement de la valeur des paramètres qui ont été fixés. Par exemple, les estimations fournies dans le chapitre 4, comme l'efficacité *in vivo* des traitements (72% et 74% selon les bras de traitements), doivent être pris avec précaution. Nous ne saurions donc assez insister sur la nécessité de disposer de données plus riches pour augmenter la robustesse de ces approches, comme nous l'avons illustré au chapitre 5. Toutefois, même si tous les paramètres d'un modèle donné pouvaient être estimés grâce à des données adéquates (ou en travaillant sur un modèle plus simple que celui introduit), la question fondamentale sous-jacente du lien entre les paramètres du modèle et les mécanismes biologiques qu'ils sont censés représenter resterait posée.

Par définition, un modèle est une représentation imparfaite de la réalité. Cependant, les conclusions tirées de l'analyse des valeurs des paramètres d'un modèle explicatif se veulent bien plus puissantes que celles issues d'un modèle descriptif. Par exemple, l'estimation de la remontée des CD4 (après une mise sous traitements par exemple) dans un modèle linéaire mixte fournit un ordre de grandeur de l'augmentation constatée des CD4. Les approximations linéaires ou quadratiques (en fonction du temps) qui sont faites pour

modéliser cette remontée importent donc peu car les conclusions restent essentiellement descriptives. Dans le cas des modèles dynamiques, les conséquences d'une modélisation imparfaite sont plus difficiles à appréhender. Plus concrètement, prenons l'exemple de l'estimation du paramètre  $\lambda$  (voir chapitre 4) qui représente la production thymique, c'est à dire la quantité de nouveaux CD4 (par unité de volume) arrivant quotidiennement dans le compartiment sanguin. Comme nous l'avons expliqué, une première source de confusion peut provenir d'une estimation faussée de ce paramètre due à des valeurs inexactes des paramètres qui sont fixés. Une seconde source d'erreur peut provenir d'une erreur de modélisation : rien n'assure que l'augmentation constatée provienne réellement d'une production *de novo* de lymphocytes par le thymus plutôt que, par exemple, d'une redistribution des lymphocytes mémoires, comme le suggèrent certains auteurs (Autran et al., 1997 ; Bucy et al., 1999). Dans ce cas, comment savoir si les valeurs données (et même les ordres de grandeur) ont encore un lien avec la réalité biologique ? Des comparaisons de modèles explicatifs entre eux pourraient permettre de répondre en partie à cette question, mais les données disponibles risquent de ne pas être assez riches pour discriminer avec suffisamment de puissance entre différentes modélisations de l'interaction virus/système immunitaire (Bortz et Nelson, 2004 ; Bortz et Nelson, 2006). De plus, il n'a pas été étudié, à notre connaissance, à quel point ces modèles sont réellement plus performants que d'autres approches. En particulier, ont-ils une capacité explicative (en termes de critères de fit notamment) supérieure à des modèles purement paramétriques qui n'intégreraient aucune connaissance biologique ? La qualité des fits moyens et individuels illustrée dans le chapitre 4 est-elle le reflet d'une compréhension intrinsèque des dynamiques sous-jacentes, ou n'est-elle qu'une conséquence du grand nombre de paramètres de ces modèles et de la souplesse apportée par les effets aléatoires ? Pourtant, si un modèle purement descriptif, c'est à dire n'utilisant aucune hypothèse biologique, devait faire "aussi bien" qu'un modèle explicatif, cela poserait la question du lien entre les paramètres explicatifs et la biologie qu'ils sont censés représenter. A notre connaissance, aucun article ne s'est penché rigoureusement sur ce problème ; en conséquence, les estimations des paramètres des modèles explicatifs demeurent discutables.

Si l'on suppose, comme cela semble raisonnablement être le cas, que les modèles explicatifs apportent malgré tout une connaissance importante sur l'interaction virus/système

immunitaire, les améliorations qu'on peut apporter à la modélisation ainsi que les applications potentielles sont nombreuses.

En particulier, la plupart des études cliniques se concentrent sur l'analyse de l'évolution de la charge virale et des CD4, alors que les données potentielles ou même à disposition sont beaucoup plus riches : CD8, ADN proviral, activation notamment. En effet, l'utilisation d'approches descriptives ne permet pas de faire une analyse globale de l'information disponible ; au mieux peut-on espérer déceler des corrélations entre certaines évolutions mais les possibilités d'interprétation de ces liens sont assez limitées. En revanche, les modèles explicatifs ont, en raison de l'interprétation biologique des paramètres, une capacité de synthèse globale de l'information très prometteuse qui pourrait permettre de mieux comprendre à court terme le rôle de certains mécanismes comme la réponse immunitaire (Stafford et al., 2000) ou l'activation (Levy et al., 2005).

Les améliorations de ces modèles sont nombreuses. En premier lieu, les modèles présentés considèrent implicitement que le compartiment sanguin est un reflet de l'infection alors que l'essentiel de cette interaction a lieu dans les organes lymphoïdes. Ces conclusions ont amené plusieurs auteurs à proposer une prise en compte de l'aspect spatial et compartmental de l'infection (Funk et al., 2005). Cependant, la modélisation utilisée est très complexe et ces travaux se situent pour le moment dans le champ des biomathématiques, et non dans celui de la biostatistique et de l'inférence.

Par ailleurs, de plus en plus de travaux ont démontré l'importance de la prise en compte des données de pharmacocinétique/pharmacodynamie dans la modélisation de la dynamique virale, en particulier pour traiter les données sur de plus longues périodes (Huang et al., 2006 ; Wu et al., 2006 ; Labbé et Verotta, 2006). En effet, l'utilisation de ces données permet de prendre en compte l'adhérence aux traitements et les mutations du virus. En particulier, la prise en compte des mesures d'IC50<sup>1</sup> constitue un bon marqueur pour étudier l'impact des mutations, cause majeure de l'échappement du virus, sur la dynamique virale. Dans le cas de l'hépatite C, certains travaux ont intégré les données de pharmacocinétique sur des modèles simplifiés (Talal et al., 2006) : une extension intéressante serait donc de proposer d'étendre cette analyse à des modèles non-simplifiés prenant en compte

---

<sup>1</sup>L'IC50 représente la concentration de médicament nécessaire pour réduire la réPLICATION virale de 50 %

les variations inter-sujets.

Les nombreuses perspectives de développement de ces méthodes illustrent la richesse et l'intérêt de ce domaine d'étude. Se situant aux confluents des Biostatistiques, des Biomathématiques, de l'Immunologie et de la Virologie, la modélisation et l'estimation des dynamiques virales est un sujet de recherche particulièrement stimulant. Si le risque de surinterpréter les résultats peut exister, son apport dans la compréhension des mécanismes biologiques en jeu a été et est encore majeur.



# Bibliographie

- Aboulker, J., Babiker, A., Flandre, P., Gazzard, B., Loveday, C. et Nunn, A. (1999). An evaluation of HIV RNA and CD4 cell count as surrogates for clinical outcome. *AIDS* **13**, 565–573.
- Abramowitz, M. et Stegun, I. (1964). *Handbook of mathematical functions*. Dover Publications.
- Atkinson, A. et Donev, A. (1992). *Optimum Experimental Designs*. Oxford University Press.
- Autran, B., Carcelain, G., Li, T., Blanc, C., Mathez, D., Tubiana, R., Katlama, C., Debre, P. et Leibowitch, J. (1997). Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* **277**, 112–6.
- Bajaria, S. H., Webb, G., Cloyd, M. et Kirschner, D. (2002). Dynamics of naive and memory CD4+ T lymphocytes in HIV-1 disease progression. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **30**, 41–58.
- Banks, H., Grove, S., Hu, S. et Ma, Y. (2005). A hierarchical Bayesian approach for parameter estimation in HIV models. *Inverse Problems* **21**, 1803–1822.
- Bartlett, J. A. (2002). Adressing the challenges of adherence. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **29**, 2–10.
- Bauer, R. et Guzy, S. (2004). Monte Carlo Parametric Expectation Maximization (MC-PEM) method for analyzing population pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) data. *Advanced Methods of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic System Analysis* **3**.
- Beal, S. (2001). Ways to Fit a PK Model with Some Data Below the Quantification Limit. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* **28**, 481–504.
- Beal, S. et Sheiner, L. (1982). Estimating population kinetics. *Critical Reviews in Bio-*

- medical Engineering* **8**, 195–222.
- Beal, S. et Sheiner, L. (1992). NONMEM User Guides. *NONMEM Project Group, University of California, San Francisco*.
- Bortz, D. et Nelson, P. (2004). Information Theory-Based Selection of Mathematical Models of HIV Infection Dynamics. *Bulletin of Mathematical Biology (soumis)*.
- Bortz, D. et Nelson, P. (2006). Model Selection and Mixed-Effects Modeling of HIV Infection Dynamics. *Bulletin of Mathematical Biology, à paraître*.
- Boscardin, W., Taylor, J. et Law, N. (1998). Longitudinal models for AIDS marker data. *Statistical Methods in Medical Research* **7**, 13–27.
- Brown, E., MaWhinney, S., Jones, R., Kafadar, K. et Young, B. (2001). Improving the fit of bivariate smoothing splines when estimating longitudinal immunological and virological markers in HIV patients with individual antiretroviral treatment strategies. *Statistics in Medicine* **20**, 2489–2504.
- Bucy, R., Hockett, R., Derdeyn, C., Saag, M., Squires, K., Sillers, M., Mitsuyasu, R. et Kilby, J. (1999). Initial increase in blood CD4+ lymphocytes after HIV antiretroviral therapy reflects redistribution from lymphoid tissues. *Journal of Clinical Investigation* **103**, 1391–1398.
- Carpenter, C., Fischl, M., Hammer, S., Hirsch, M., Jacobsen, D., Katzenstein, D., Montaner, J., Richman, D., Saag, M., Schooley, R. et al. (1998). Antiretroviral infection for HIV infection in 1998 : Updated recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *Journal of the American Medical Association* **280**, 78–86.
- Chun, T. W., Carruth, L., Finzi, D., Shen, X., DiGiuseppe, J. A., Taylor, H., Hermankova, M., Chadwick, K., Margolick, J., Quinn, T. C., Kuo, Y. H., Brookmeyer, R., Zeiger, M. A., Barditch-Crovo, P. et Siliciano, R. F. (1997). Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* **387**, 183–188.
- Chun, T. W., Davey, R. T. J., Engel, D., Lane, H. C. et Fauci, A. S. (1999). Re-emergence of HIV after stopping therapy. *Nature* **401**, 874–875.
- Chun, T. W. et Fauci, A. S. (1999). Latent reservoirs of HIV : obstacles to the eradication of virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**, 10958–10961.
- Ciupe, M. S., Bivort, B. L., Bortz, D. M. et Nelson, P. W. (2006). Estimating kine-

- tic parameters from HIV primary infection data through the eyes of three different mathematical models. *Mathematical Biosciences* **200**, 1–27.
- Clarkson, D. et Zhan, Y. (2002). Using Spherical–Radial Quadrature to Fit Generalized Linear Mixed Effects Models. *Journal of Computational and Graphical Statistics* **11**, 639–659.
- Comets, E. et Mentré, F. (2001). Evaluation of tests based on individual versus population modeling to compare dissolution curves. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* **11**, 107–123.
- Commenges, D., Jacqmin-Gadda, H., Proust, C. et Guedj, J. (2006). A Newton-like algorithm for likelihood maximization : the robust variance scoring algorithm. *arXiv :math.ST/0610402*.
- Concordet, D. et Nunez, O. (2002). A simulated pseudo-maximum likelihood estimator for nonlinear mixed models. *Computational Statistics and Data Analysis* **39**, 187–201.
- Curran, J. W., Jaffe, H. W., Hardy, A. M., Morgan, W. M., Selik, R. M. et Dondero, T. J. (1988). Epidemiology of HIV infection and AIDS. *Science* **239**, 610–616.
- D'Argenio, D. (1990). Incorporating prior parameter uncertainty in the design of sampling schedules for pharmacokinetic parameter estimation experiments. *Mathematical Biosciences* **99**, 105–18.
- Davenport, M., Ribeiro, R. et Perelson, A. (2003). Kinetics of Virus-Specific CD8+ T Cells and the Control of Human Immunodeficiency Virus Infection. *Journal of Virology* **78**, 10096–10103.
- Davidian, M. et Giltinan, D. (2003). Nonlinear Models for Repeated Measurement Data : An Overview and Update. *Journal of Agricultural, Biological & Environmental Statistics* **8**, 387–419.
- Davidian, M. et Giltinan, D. M. (1995). *Nonlinear Models for Repeated Measurements Data*. Chapman and Hall, London.
- DeGruttola, V., Wulfsohn, M., Fischl, M. et Tsiatis, A. (1993). Modeling the relationship between survival and CD4 lymphocytes in patients with AIDS and AIDS-related complex. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **6**, 359–365.
- Delfraissy, J. F. (2002). Prise en charge des personnes infectées par le VIH.
- Delyon, B., Lavielle, M. et Moulines, E. (1999). Convergence of a Stochastic Approximation

- tion Version of the EM Algorithm. *The Annals of Statistics* **27**, 94–128.
- Dempster, A., Laird, N. et Rubin, D. (1977). Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* **39**, 1–38.
- Diggle, P., Zeger, S., Heagerty, P. et Liang, K. (2002). *Analysis of Longitudinal Data*. Oxford University Press.
- Ding, A. et Wu, H. (1999). Relationships between antiviral treatment effects and biphasic viral decay rates in modeling HIV dynamics. *Mathematical Biosciences* **160**, 63–82.
- Ding, A. et Wu, H. (2001). Assessing antiviral potency of anti-HIV therapies in vivo by comparing viral decay rates in viral dynamic models . *Biostatistics* **2**, 13–29.
- Dixit, N., Layden-Almer, J. et Layden, T. (2005). Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature* **432**, 922–924.
- Evans, M. et Swartz, T. (2000). *Approximating Integrals Via Monte Carlo and Deterministic Methods*. Oxford University Press, USA.
- Fedorov, V. V. (1972). *Theory of Optimal Experiments*. Academic Press.
- Finzi, D., Blankson, J., Siliciano, J., Margolick, J., Chadwick, K., Pierson, T., Smith, K., Lisziewicz, J., Lori, F., Flexner, C. et al. (1999). Latent infection of CD4 T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nature Medicine* **5**, 512–517.
- Fletcher, R. (2000). *Practical Methods of Optimization*. Wiley-Interscience, London.
- Funk, G., Jansen, V., Bonhoeffer, S. et Killingback, T. (2005). Spatial models of virus-immune dynamics. *Journal of Theoretical Biology* **233**, 221–236.
- Ge, Z., Bickel, P. J. et Rice, J. (2004). An approximate likelihood approach to nonlinear mixed effects models via spline approximation. *Computational Statistics and Data Analysis* **46**, 747–776.
- Genz, A. et Kass, R. (1997). Subregion-adaptive integration of functions having a dominant peak. *Journal of Computational and Graphical Statistics* **6**, 92–111.
- Genz, A. et Keister, B. D. (1996). Fully symmetric Interpolatory Rules for Multiple Integrals over Infinite Regions with Gaussian Weight. *Journal of Computational and Applied Mathematics* **71**, 299–311.
- Ghani, A., de Wolf, F., Ferguson, N., Donnelly, C., Coutinho, R., Miedema, F., Goudsmit,

- J. et Anderson, R. (2001). Surrogate Markers for Disease Progression in Treated HIV Infection. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **28**, 226–231.
- Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M. et Sousa, A. (2002). CD4 T-cell depletion in HIV infection : are we closer to understanding the cause. *Nature Medicine* **8**, 319–323.
- Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M., Sousa, A., Victorino, R. et Paul, W. (2002). The impact of HIV on naïve T-cell homeostasis. *Nature Medicine* **8**, 319–323.
- Gruttola, V. et Tu, X. (1994). Modelling Progression of CD4-Lymphocyte Count and Its Relationship to Survival Time. *Biometrics* **50**, 1003–1014.
- Gu, M. et Kong, F. (1998). A stochastic approximation algorithm with markov chain monte-carlo method for incomplete data estimation problems. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **95**, 7270–7274.
- Han, C. et Chaloner, K. (2004). Bayesian experimental design for nonlinear mixed-effects models with application to HIV dynamic. *Biometrics* **60**, 25–33.
- Hastings, W. (1970). Monte carlo sampling methods using markov chains and their applications. *Biometrika* **57**, 97–109.
- Hedeker, D. et Gibbons, R. (1994). A random-effects ordinal regression model for multi-level analysis. *Biometrics* **50**, 933–944.
- Ho, D. (1996). Viral counts count in HIV infection. *Science* **272**, 1167–70.
- Ho, D. D., Neumann, A. U., Perelson, A. S., Chen, W., Leonard, J. M. et Markowitz, M. (1995). Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**, 123–126.
- Huang, Y., Liu, D. et Wu, H. (2006). Hierarchical Bayesian methods for estimation of parameters in a longitudinal HIV dynamic system. *Biometrics* **63**, 413–423.
- Huang, Y. et Wu, H. (2006). A bayesian approach for estimating antiviral efficacy in HIV dynamic models. *Journal of Applied Statistics* **33**, 155–174.
- Jacqmin-Gadda, H., Thiébaut, R., Chêne, G. et Commenges, D. (2000). Analysis of left-censored longitudinal data with application to viral load in HIV infection. *Biostatistics* **1**, 355–368.
- Kamina, A., Makuch, R. et Zhao, H. (2001). A stochastic modeling of early HIV-1 population dynamics. *Mathematical Biosciences* **170**, 187–198.
- Kim, S., Hughes, M., Hammer, S., Jackson, J., DeGruttola, V. et Katzenstein, D. (2000).

- Both serum HIV type 1 RNA levels and CD4+ lymphocyte counts predict clinical outcome in HIV type 1-infected subjects with 200 to 500 CD4+ cells per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Virology Study Team. *AIDS Research Human Retroviruses* **16**, 645–53.
- Kuhn, E. et Lavielle, M. (2005). Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models. *Computational Statistic & Data Analysis* **49**, 1020–1038.
- Kuonen, D. (2003). Numerical integration in S-PLUS or R : A survey. *Journal of Statistical Software* **8**, 1–14.
- Labbé, L. et Verotta, D. (2006). A Non-linear Mixed Effect Dynamic Model Incorporating Prior Exposure and Adherence to Treatment to Describe Long-term Therapy Outcome in HIV-patients. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* **33**, 519–542.
- Laird, N. (1988). Missing data in longitudinal studies. *Statistics in Medicine* **7**, 305–15.
- Laird, N. et Ware, J. (1982). Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics* **38**, 963–74.
- Lange, K. (1995). A Gradient Algorithm Locally Equivalent to the EM Algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* **57**, 425–437.
- Le Corfec, E., Rouzioux, C. et Costagliola, D. (2000). Dynamique quantitative du VIH-1 in vivo : revue des modèles mathématiques. *Revue d'épidémiologie et de santé publique* **48**, 168–181.
- Ledergerber, B., Egger, M., Erard, V., Weber, R., Hirscher, B., Furrer, H., Battegay, M., Vernazza, P., Bernasconi, E., Opravil, M., Kaufmann, D., Sudre, P., Francioli, P. et Telenti, A. (1999). AIDS-related opportunistic illnesses occurring after initiation of potent antiretroviral therapy : The Swiss HIV Cohort Study. *Journal of the American Medical Association* **282**, 2220–2226.
- Lesaffre, E. et Spiessens, B. (2001). On the effect of the number of quadrature points in a logistic random-effects model : an example. *Applied Statistics* **50**, 325–335.
- Levy, Y., Gahery-Segard, H., Durier, C., Lascaux, A.-S., Goujard, C., Meiffredy, V., Rouzioux, C., Habib, R. E., Beumont-Mauviel, M., Guillet, J.-G., Delfraissy, J.-F. et Aboulker, J.-P. (2005). Immunological and virological efficacy of a therapeutic immunization combined with interleukin-2 in chronically HIV-1 infected patients. *AIDS* **19**, 279–286.
- Lindstrom, M. et Bates, D. (1990). Nonlinear random effects models for repeated measures

- data. *Biometrics* **46**, 673–687.
- Little, R. (1995). Modeling the Drop-Out Mechanism in Repeated-Measures Studies. *Journal of the American Statistical Association* **90**.
- Liu, Q. et Pierce, D. A. (1994). A note on Gauss-Hermite quadrature. *Biometrika* **81**, 624–629.
- Louis, T. (1982). Finding the observed Information matrix when using the *EM* algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B* **44**, 226–233.
- Lynn, H. (2001). Maximum likelihood inference for left-censored HIV RNA data. *Statistics in medicine* **20**, 33–45.
- Mallet, A. (1986). A maximum likelihood estimation method for random coefficient regression models. *Biometrika* **73**, 645.
- Malone, J. L., Simms, T. E., Gray, G. C., Wagner, K. F., Burge, J. R. et Burke, D. S. (1990). Sources of variability in repeated T-helper lymphocyte counts from human immunodeficiency virus type 1-infected patients : total lymphocyte count fluctuations and diurnal cycle are important. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **3**, 144–151.
- Mandema, J. (1995). Population pharmacokinetics and pharmacodynamics, Pharmacokinetics, Edited by Welling PG, Tse FLS.
- Markowitz, M., Saag, M., Powderly, W., Hurley, A., Hsu, A., Valdes, J., Henry, D., Sattler, F., LaMarca, A., Leonard, J. et al. (1995). A preliminary study of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease, to treat HIV-1 infection. *The New England journal of medicine* **333**, 1534–1539.
- Marquardt, D. W. (1963). An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics* **11**, 431–441.
- McCulloch, C. E. (1997). Maximum likelihood algorithms for generalized mixed models. *Journal of the American Statistical Association* **92**, 162–169.
- Mellors, J. W., Munoz, A., Giorgi, J. V., Margolick, J. B., Tassoni, C. J., Gupta, P., Kingsley, L. A., Todd, J. A., Saah, A. J., Detels, R., Phair, J. P. et Rinaldo, C. R. (1997b). Plasma viral load and CD4(+) lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Annals of Internal Medicine* **126**, 946–954.
- Mellors, J. W., Munoz, A., Giorgi, J. V., Margolick, J. B., Tassoni, C. J., Gupta, P.,

- Kingsley, L. A., Todd, J. A., Saah, A. J., Detels, R., Phair, J. P. et Rinaldo, C. R. J. (1997a). Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Annals of Internal Medicine* **126**, 946–954.
- Mellors, J. W., Rinaldo, C. R. J., Gupta, P., White, R. M., Todd, J. A. et Kingsley, L. A. (1996). Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* **272**, 1167–1170. Comment.
- Mentré, F. et Girard, P. (2005). A comparison of estimation methods in nonlinear mixed effects models using a blind analysis. [www.page-meeting.org/page/page2005/PAGE2005O08.pdf](http://www.page-meeting.org/page/page2005/PAGE2005O08.pdf).
- Mentré, F., Mallet, A. et Baccar, D. (1997). Optimal design in nonlinear random effect models. *Biometrika* **84**, 429–442.
- Mohri, H., Bonhoeffer, S., Monard, S., Perelson, A. et Ho, D. (1998). Rapid Turnover of T Lymphocytes in SIV-Infected Rhesus Macaques. *Science* **279**, 1223–1227.
- Mueller, B., Zeichner, S., Kuznetsov, V., Heath-Chiozzi, M., Pizzo, P. et Dimitrov, D. (1998). Individual prognoses of long-term responses to antiretroviral treatment based on virological, immunological and pharmacological parameters measured during the first week under therapy. *AIDS* **12**, 191–196.
- Neumann, A. U., Lam, N. P., Dahari, H., Gretch, D. R., Wiley, T. E., Layden, T. J. et Perelson, A. S. (1998). Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science* **282**, 103–107.
- ONUSIDA (2006). Rapport sur l'épidémie mondiale de SIDA 2006 Edition spéciale 10e anniversaire de l'ONUSIDA Résumé d'orientation .
- Panhard, X. et Mentré, F. (2005). Evaluation by simulation of tests based on non-linear mixed-effects models in pharmacokinetic interaction and bioequivalence cross-over trials. *Statistics in Medicine* **24**, 1509–1524.
- Pantaleo, G. et Fauci, A. S. (1996). Immunopathogenesis of HIV infection. *Annu Rev Microbiol* **50**, 825–854.
- Paul, W. E. (1995). Can the immune response control HIV infection. *Cell* **82**, 177–182.
- Pedersen, C., Katzenstein, T., Nielsen, C., Lundgren, J. et Gerstoft, J. (1997). Prognostic value of serum HIV-RNA levels at virologic steady state after seroconversion : relation to CD4 cell count and clinical course of primary infection. *The Journal of Acquired*

- Immune Deficiency Syndrome Human Retrovirology* **16**, 93–99.
- Perelson, A., Essunger, P., Cao, Y., Vesanen, M., Hurley, A., Saksela, K., Markowitz, M. et Ho, D. (1997). Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature* **387**, 188–191.
- Perelson, A. S. (2002). Modelling viral and immune system dynamics. *Nature Reviews Immunology* **2**, 28–36.
- Perelson, A. S., Kirschner, D. E. et deBoer, R. J. (1993). Dynamics of HIV infection of CD4+ T cells. *Mathematical Biosciences* **114**, 81–125.
- Perelson, A. S., Neumann, A. U., Markowitz, M., Leonard, J. M. et Ho, D. (1996). Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Science* **271**, 1582–1586.
- Petersen, B., Gernaey, K. et Vanrolleghem, P. A. (2001). Practical identifiability of model parameters by combined respirometric-titrimetric measurements. *Water Science and Technology* **43**, 347–355.
- Phillips, A. N. (1996). Reduction of HIV Concentration during Acute Infection : Independence from a Specific Immune Response. *Science* **271**, 497–501.
- Pillai, G., Mentré, F. et Steimer, J. (2005). Non-Linear Mixed Effects Modeling—From Methodology and Software Development to Driving Implementation in Drug Development Science. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* **32**, 161–183.
- Pinheiro, J. et Bates, D. (1995). Approximations to the log-likelihood function in the nonlinear mixed-effects model. *Journal of Computational and Graphical Statistics* **4**, 12–35.
- Pinheiro, J. C. et Bates, D. M. (2000). *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Springer, London.
- Porter, K. (2003). Babiker A. Bhaskaran K, Darbyshire J, Pezzotti P, Porter K, et al. CASCADE Collaboration. Determinants of survival following HIV-1 seroconversion after introduction of HAART. *Lancet* **362**, 1267–74.
- Prentice, R. L. (1989). Surrogate endpoints in clinical trials : definition and operational criteria. *Stat Med* **8**, 431–440.
- Pronzato, L., Huang, C., Walter, E., LeRoux, Y. et Frydman, A. (1996). *Planification d'expériences pour l'estimation de paramètres pharmacocinétiques*. Actes du colloque informatique et médicaments, Hôpital Cochin, Paris, Springer Verlag, 3-13.

- Putter, H., Heisterkamp, S. H., Lange, J. M. A. et deWolf, F. (2002). A Bayesian approach to parameter estimation in HIV dynamic models. *Statistics in Medicine* **21**, 2199–2214.
- Raudenbush, S., Yang, M. et Yosef, M. (2000). Maximum likelihood for generalized linear models with nested random effects via high-order, multivariate Laplace approximation. *Journal of Computational and Graphical Statistics* **9**, 141–157.
- Retout, S., Mentré, F. et Bruno, R. (2002). Fisher information matrix for non-linear mixed-effects models : evaluation and application for optimal design of enoxaparin population pharmacokinetics. *Statistics in Medicine* **21**, 2623–2639.
- Retout, S. et Mentré, F. (2003). Further Developments of the Fisher Information Matrix in Nonlinear Mixed Effects Models with Evaluation in Population Pharmacokinetics. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* **13**, 209–227.
- Ribeiro, R. M., Mohri, H., Ho, D. D. et Perelson, A. S. (2002). In vivo dynamics of T cell activation, proliferation, and death in HIV-1 infection : Why are CD4 but not CD8 T cells depleted ? *Proceedings of the National Academy of Sciences* **24**, 15572–15577.
- Robbins, H. et Monroe, S. (1951). A stochastic approximation method. *Ann. Math. Statist.* **22**, 400–407.
- Rodriguez, W. R., Christodoulides, N., Floriano, P. N., Graham, S., Mohanty, S., Dixon, M., Hsiang, M., Peter, T., Zavahir, S., Thior, I., Romanovicz, D., Bernard, B., Goodey, A. P., Walker, B. D. et McDevitt, J. T. (2005). A microchip CD4 counting method for HIV monitoring in resource-poor settings. *PLoS Med* **2**, e182.
- Rosenberg, Y. J. et Janossy, G. (1999). The importance of lymphocyte trafficking in regulating blood lymphocyte levels during HIV and SIV infections. *Semin Immunol* **11**, 139–154.
- Rothenberg, T. J. (1971). Identification in parametric models. *Econometrica* **39**, 577–591.
- Samson, A., Lavielle, M. et Mentré, F. (2006). The SAEM algorithm for group comparison tests in longitudinal data analysis based on non-linear mixed-effects model. *Statistics in Medicine* .
- Schmitz, J., Kuroda, M., Santra, S., Saserville, V., Simon, M., Lifton, M., Racz, P., Tenner-Racz, K., Dalesandro, M., Scallan, B. et al. (1999). Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science* **283**, 857–60.
- Sheiner, L. B., Rosenberg, B. et Melmon, K. L. (1972). Modelling of individual pharma-

- cokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res* **5**, 411–459.
- Stafford, M. A., Corey, L., Cao, Y., Daar, E. S., Ho, D. D. et Perelson, A. S. (2000). Modeling plasma virus concentration during primary HIV infection. *Journal of Theoretical Biology* **203**, 285–301.
- Steimer, J., Mallet, A., Golmard, J. et Boisvieux, J. (1984). Alternative approaches to estimation of population pharmacokinetic parameters : comparison with the nonlinear mixed-effect model. *Drug Metab Rev* **15**, 265–92.
- Talal, A., Ribeiro, R., Powers, K., Grace, M., Cullen, C., Hussain, M., Markatou, M. et Perelson, A. (2006). Pharmacodynamics of PEG-IFN Differentiate HIV/HCV Coinfected Sustained Virological Responders From Nonresponders. *Hepatology* **43**, 943–953.
- Tan, W. et Wu, H. (1998). Stochastic modeling of the dynamics of CD4+ T-cell infection by HIV and some Monte Carlo studies. *Math Biosci* **147**, 173–205.
- Tassie, J. et al. (2002). Time to AIDS from 1992 to 1999 in HIV-1 infected subjects with known date of infection. *Infectious Diseases in Clinical Practice* **11**, 179.
- Taylor, J. M., Cumberland, W. G. et Sy, J. P. (1994). A stochastic model for the analysis of longitudinal AIDS data. *Journal of the American Statistical Association* **89**, 727–736.
- Thiébaut, R., Jacqmin-Gadda, H., Babiker, A. et Commenges, D. (2005). Joint modeling of bivariate longitudinal data with informative dropout and left-censoring, with application to the evolution of CD4+cell count and HIV RNA viral load in response to treatment of HIV infection. *Statistics in Medicine* **24**, 65–82.
- Thiébaut, R., Jacqmin-Gadda, H., Leport, C., Katlama, C., D., C., Le Moing, V., Morlat, P., Chene, G. et the APROCO Study Group (2003). Bivariate longitudinal model for the analysis of the evolution of HIV RNA and CD4 cell count in HIV infection taking into account left censoring of HIV RNA measures. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* **13**, 271–282.
- Touloumi, G., Pocock, S., Babiker, A. et Darbyshire, J. (1999). Estimation and comparison of rates of change in longitudinal studies with informative drop-outs. *Statistics in Medicine* **18**, 1215–1233.
- Tuckwell, H. et Le Corfec, E. (1998). A stochastic model for early HIV-1 population dynamics. *J. Theor. Biol* **195**, 450.
- Vonesh, E. (1996). A note on the use of Laplace's approximation for nonlinear mixed-

- effects models. *Biometrika* **83**, 447–452.
- Wählby, U., Jonsson, E. et Karlsson, M. (2001). Assessment of Actual Significance Levels for Covariate Effects in NONMEM. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* **28**, 231–252.
- Wakefield, J. (1996). The Bayesian Analysis of Population Pharmacokinetic Models. *Journal of the American Statistical Association* **91**.
- Walter, E. et Pronzato, L. (1997). *Identification of Parametric Models from Experimental Data*. Springer-Verlag.
- Wang, J. et Endrenyi, L. (1992). A computationally efficient approach for the design of population pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* **20**, 279–294.
- Wei, G. et Tanner, M. (1990). A Monte Carlo Implementation of the EM Algorithm and the Poor Man's Data Augmentation Algorithms. *Journal of the American Statistical Association* **85**, 699–704.
- Wei, X., Ghosh, S. K., E., T. M., Johnson, V. A., Emini, E. A., Deutsch, P., Lifson, J. D., Bonhoeffer, S., Nowak, N. A., Hahn, B. H., Saag, M. S. et Shaw, G. M. (1995). Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**, 117–122.
- Wolfinger, R. (1993). Laplace's approximation for nonlinear mixed models. *Biometrika* **80**, 791.
- Wu, C. (1983). On the Convergence Properties of the EM Algorithm. *The Annals of Statistics* **11**, 95–103.
- Wu, H. (2005). Statistical methods for HIV dynamic studies in AIDS clinical trials. *Statistical Methods in Medical Research* **14**, 1–22.
- Wu, H. et Ding, A. (2002). Design of Viral Dynamic Studies for Efficiently Assessing Potency of Anti-HIV Therapies in AIDS Clinical Trials. *Biometrical Journal* **44**, 175.
- Wu, H., Ding, A. et De Gruttola, V. (1998). Estimation of HIV dynamic parameters. *Statistics in Medicine* **17**, 2463–2485.
- Wu, H. et Ding, A. A. (1999). Population HIV-1 dynamics in vivo : applicable models and inferential tools for virological data from AIDS clinical trials. *Biometrics* **55**, 410–418.
- Wu, H., Huang, Y., Acosta, E., Park, J., Yu, S., Rosenkranz, S., Kuritzkes, D., Eron, J., Perelson, A. et Gerber, J. (2006). Pharmacodynamics of Antiretroviral Agents in HIV-

- 1 Infected Patients : Using Viral Dynamic Models that Incorporate Drug Susceptibility and Adherence. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* **33**, 399–419.
- Wu, H., Huang, Y., Acosta, E., Rosenkranz, S., Kuritzkes, D., Eron, J., Perelson, A. et Gerber, J. (2005). Modeling Long-Term HIV Dynamics and Antiretroviral Response : Effects of Drug Potency, Pharmacokinetics, Adherence, and Drug Resistance. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **39**, 272–283.
- Wu, H. et Wu, L. (2002). Identification of significant host factors for HIV dynamics modelled by non-linear mixed-effects models. *Statistics in Medicine* **21**, 753–771.
- Wynn, H. (1972). Results in the Theory and Construction of D-Optimum Experimental Designs. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* **34**, 133–147.



## **Annexes**



## Background

Primary infection (defined as the first 100 days after infection) is of crucial importance because of its great impact on the subsequent evolution of the infection.

- It is of interest to find models fitting well the Virus / Immune System dynamic
- System of differential equations are well adapted for the modelling of interaction
- One of the reference model is due to Phillips (Science 96):

$$\begin{cases} dT = (\lambda - \mu T - kTV) dt \\ dL = (kpTV - \mu L - \alpha L) dt \\ dI = (k(1-p)TV + \alpha L - \alpha I) dt \\ dV = (cI - pV - kTV) dt \end{cases}$$

Variables	Description of variables	Variables	Description of variables
T	Activated uninfected CD4 <sup>+</sup> T-cell	p	Infection per virion
L	Latently infected CD4 <sup>+</sup> T-cell	k	Infection rate per uninfected CD4 <sup>+</sup> T-cells and Virions
I	Virus	P	Proportion of infected cells which are latent
V	Appearance of uninfected CD4 <sup>+</sup> T-cells	a	Activation rate of latently infected cells
$\lambda$	Net death rate of T and L	c	Rate of infectious virus
$\mu$	Death rate of V	w	Independent brownian motion

More sophisticated models have been presented, including immune response for example (Wodarz Proc. R. Soc. Lon. 2000)

Later stochastic differential equations have been introduced

Such models have a double interest :

- 1/ To model the intrinsic variability of the infection mechanisms
- 2/ To take into account model and/or measurement errors

Tuckwell & Le Corfec (J.Theor Biol 98), Tan & Wu (Math.Bio 98) have discussed interest of these types of model compared to Phillips' deterministic Model

Tan & Wu's model (Math.Biosci 98)

Stochastic processes used are point processes (Poisson law, Multinomial law). This enables to follow the cell by cell interactions. So it is of great interest in the study of the primo-infection, where virus and infected cells are at very low levels

Tuckwell's model (J.Theor.Biol 98)

Diffusion processes are Gaussian approximations of point processes and the following model can be interpreted as a continuous approximation of the previous model ( $w_1, w_2, w_3, w_4$  independent brownian motion)

$$\begin{cases} dT = (\lambda - \mu T - kTV) dt - \sqrt{kTV} W_1 \\ dL = (kpTV - \mu L - \alpha L) dt + \sqrt{kpTV} W_2 \\ dI = (k(1-p)TV + \alpha L - \alpha I) dt + \sqrt{k(1-p)TV} W_3 \\ dV = (cI - pV - kTV) dt - \sqrt{kTV} W_4 \end{cases}$$

## Objectives

- To propose an original stochastic model based on diffusion processes

- To study by simulations its behaviour in the primo-infection focusing on the extinction occurrence and date of viral load peak

## Viremia peak date as a function of initial viral load

Vi(0) (in the whole blood)	Deterministic viral peak date (days)	Mean of the viral peak date in the stochastic model (days, $\sigma$ )	Percentage of predicted infection extinction (%)
<i>Tan &amp; Wu's stochastic model (typical patients)</i>			
2	22.5	19.9 (0.8)	94.6
10	21.1	20.1 (0.8)	80.9
50	19.7	19.8 (1)	29.9
300	18.2	18.4 (0.6)	0.2
<i>Tuckwell's stochastic model (simulations with N=1000 replicates)</i>			
2	22.5	21.5 (1.4)	0
10	21.1	20.89 (1.73)	0
50	19.7	19.82 (1)	0
300	18.2	18.28 (0.5)	0

(\*) Kamina (Math.Bio 2000)

Kamina et al (Math.Bio 2000) compared these two models and concluded that point process modelling was more appropriate than continuous modelling with diffusion processes :

- extinction occurred only with point process modelling in their simulations
- diffusion processes are not adequate when modelling little quantities

## Proposed model

• There may be a spatial heterogeneity for the dynamics of infection in the cells compartments which may generate a more important variance. To model this, we introduce a over-dispersion parameter  $p$

• On the other hand, we suppose that there is an identical variance in the different cellular compartments (T, L, I, V)

$$\begin{cases} dT = (\lambda - \mu T - kTV) dt - \rho\sqrt{kTV} W_1 \\ dL = (kpTV - \mu L - \alpha L) dt + \rho\sqrt{kpTV} W_2 \\ dI = (k(1-p)TV + \alpha L - \alpha I) dt + \rho\sqrt{k(1-p)TV} W_3 \\ dV = (cI - pV - kTV) dt - \rho\sqrt{kTV} W_4 \end{cases}$$

• Phillips' deterministic model is obtained with  $p=0$

•  $p=1$  recovers Tuckwell's model (J.Theor.Biol 98). The whole blood is considered as the only place where the infection occurs and this place is perfectly homogenous

## Results

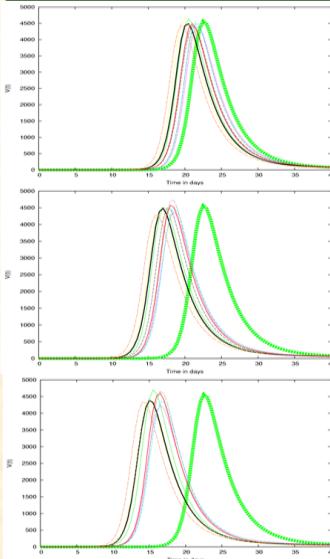


Fig 1 :  
• We simulated 10 sample paths of the viral load predicted by the model for 3 different values of  $p$  (resp  $p=1, 10$ , and  $30$ )  
• The green path corresponds to the deterministic model

In average the date of the viral load peak occurs sooner with a stochastic model compared to the deterministic model

## Discussion

### Date of peak

- Varying  $p$  enables to modelize the range of viral load date of peak
- The higher is  $p$ , the sooner the viremia peak occurs

### Extinction probability

- $p > 30 \Rightarrow$  there are infection extinctions in spite of a modelling with diffusion processes

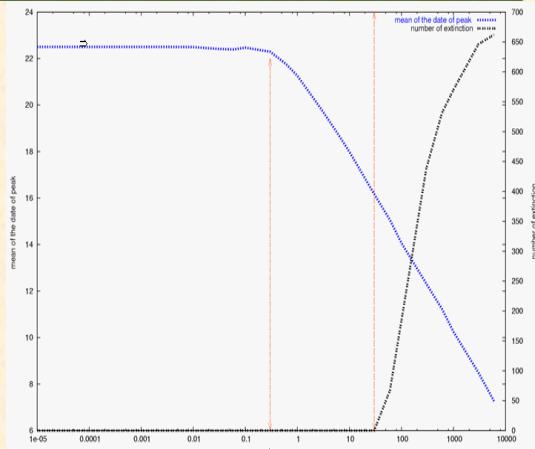


Fig 2 :  
• 1000 independent replications of the model are presented ; mean of viral load date of peak and number of predicted extinctions are shown as a function of the over-dispersion parameter  $p$   
• Parameters values are those of Phillips (Science 96). The initial number of virions was 2 for the whole blood

## Conclusion & Limits

- The add of a stochastic term leads to an advance in the viral load date of peak, even when no viral extinction is predicted ( $p<0$ )

- A diffusion process can predict extinctions ( $p>30$ )

- However, the modelling of extinctions should be taken with caution because the use of diffusion processes in such conditions is not adapted (diffusion processes are not good approximations of point processes for low concentrations)

## Acknowledgements & References

This work was supported by the French Agence Nationale de Recherche sur le SIDA

### References :

- Phillips A.N., Reduction of HIV concentration during acute infection : independence from a specific immune response, Science 271 (1996) 497
- Wodarz D., Amenta R., Nowak M.A., A new theory of cytotoxic T-lymphocyte memory : implications for HIV treatment, Proc.R.Soc.Lond.B Biol Sci 365 (2000), 1347
- Tuckwell H.C., Le Corfec E., A stochastic model for early HIV-1 population dynamics, J.Theor.Biol.195 (1998) 459
- Tan W.Y., Wu H., Stochastic modeling of the dynamics of CD4<sup>+</sup> T-cells infection by HIV and some Monte-Carlo studies, Math.Biosci.147 (1998) 173
- Kamina A., Makoch R.W., Zhao H., A stochastic modeling of early HIV-1 population dynamics, Math.Biosci.170 (2001) 187

## Résumé

Les modèles dynamiques de l’interaction virus/système immunitaire basés sur des systèmes d’équations différentielles ordinaires sans solution ont considérablement amélioré la connaissance de certains virus comme le VIH et le VHC.

En raison des difficultés statistiques et numériques d’estimation des paramètres de ces modèles, les premiers résultats dans la littérature ont été obtenus en faisant des estimations patient par patient sur des modèles simplifiés et linéarisés. Toutefois, ceux-ci ne permettent pas de considérer la dynamique de l’infection dans son ensemble. C’est pourquoi certains auteurs ont proposé récemment des approches Bayésiennes d’estimation des paramètres sur des modèles non-simplifiés. En outre, celles-ci sont proposées dans un cadre de population, où l’information issue des variabilité inter-patients est prise en compte.

Dans cette thèse, nous proposons une voie alternative à ces travaux, en développant une approche fréquentiste pour l’estimation des paramètres. La complexité de ces modèles rendant les logiciels existants non-adéquats, nous développons une méthode originale d’estimation des paramètres, qui utilise la structure particulière de ces modèles. Nous montrons la robustesse de cette approche et l’appliquons aux données de l’essai ANRS ALBI 070, en intégrant le problème méthodologique des données virologiques censurées. Nous fournissons notamment une estimation *in vivo* de l’effet différentiel d’efficacité de deux stratégies de traitements et illustrons de ce fait l’intérêt de cette approche pour définir un critère alternatif d’analyse des essais cliniques. Enfin, nous proposons une méthode d’étude de l’identifiabilité des modèles dynamiques du VIH. Nous montrons ainsi l’impact qu’auraient de nouvelles quantifications pour améliorer l’identifiabilité de ces modèles et, corolairement, nous discutons les limites de l’utilisation de ces modèles au vu des données habituellement disponibles.

## Modelling & Estimation of HIV dynamics models

The study of the dynamical models of the HIV, based on non-linear systems of ordinary differential equations (ODE) has considerably improved the knowledge on its pathogenicity.

This modelling leads to complex issues for identifiability and parameter estimation. To overcome these difficulties, the first models used simplified ODE systems and analyzed each patient separately. Nevertheless, these simplified models prevent from considering the course of the infection as a whole. Recent works deal with inference in non-simplified models, using a Bayesian approach for the parameter estimation. Moreover, these approaches borrow strength from the whole sample, by using a population approach. We propose here an alternative way based on a full likelihood inference. The complexity of these models make classical software unusable or unstable, and we develop an original approach, using the particular structure of these models. We show the robustness of this approach and we apply it to the ANRS ALBI 070 clinical trial data, taking into account left-censored data of virus load. We provide an *in vivo* estimation of the differential treatment efficacy and illustrate thus the interest of this approach to provide an alternative tool for analyzing clinical trials. Last, we propose a method for studying the practical identifiability of HIV dynamics models. We study the impact of new quantifications in the handling of these models. By contrast, we discuss the limits of the results based on data usually available.

**MOTS CLES :** Infection par le VIH, données répétées, censure, modèles non-linéaires à effets mixtes, identifiabilité, censure.

**DISCIPLINE :** Doctorat de l’Université Bordeaux 2, Mention : Sciences Biologiques et Médicales

Option : Epidémiologie et Intervention en Santé Publique

**LABORATOIRE :** Unité INSERM E0338 - Université Victor Segalen Bordeaux 2  
146, rue Léo Saignat 33076 BORDEAUX