



HAL
open science

Estimation de l'incidence de l'infection par le VIH en France à l'aide d'un test biologique d'infection récente

Stéphane Le Vu

► **To cite this version:**

Stéphane Le Vu. Estimation de l'incidence de l'infection par le VIH en France à l'aide d'un test biologique d'infection récente. Santé publique et épidémiologie. Université Paris-Sud XI, 2010. Français. NNT: . tel-01892252

HAL Id: tel-01892252

<https://theses.hal.science/tel-01892252>

Submitted on 10 Oct 2018

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

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

Université Paris-Sud 11
École doctorale de Santé Publique - ED420

Champ disciplinaire : Épidémiologie et intervention en santé publique

Stéphane Le Vu

**Estimation de l'incidence de l'infection
par le VIH en France à l'aide d'un test
biologique d'infection récente**

Sous la direction de Laurence MEYER

Thèse pour le doctorat de l'université Paris-Sud 11

présentée et soutenue publiquement le

4 juin 2010

Membres du jury

Pr Ahmadou ALIOUM	Rapporteur
Pr Yazdan YAZDANPANA	Rapporteur
Dr Valérie DELPECH	Examinateur
Pr Fabrice CARRAT	Examinateur
Pr Laurence MEYER	Directrice de thèse
Dr Jean BOUYER	Président du jury

Remerciements

- Mes premiers remerciements vont bien entendu à Laurence MEYER qui m’a fait l’honneur de diriger ce travail. J’ai beaucoup profité de ta connaissance de l’épidémiologie du sida, de l’épidémiologie tout court et de ta clarté d’esprit. Merci Laurence pour ton aide et ton amitié. J’aurai un grand plaisir à continuer à collaborer avec toi.
- J’exprime toute ma reconnaissance aux rapporteurs de cette thèse, Ahmadou ALIOUM et Yazdan YAZDANPANAH pour avoir accepté d’évaluer et de commenter ce manuscrit. J’apprécie la qualité de vos travaux respectifs et je suis honoré de l’intérêt que vous avez porté au mien.
- Je tiens à remercier Valérie DELPECH, Fabrice CARRAT et Jean BOUYER, d’avoir accepté de prendre part à mon jury de thèse. Merci particulièrement à toi, Valérie, de venir de Londres et de bien vouloir examiner ce mémoire en français.
- Je suis très reconnaissant à Jean-Claude DESENCLOS de m’avoir accueilli au sein du département des maladies infectieuses de l’Institut de veille sanitaire en tant qu’interne puis chargé de projet scientifique. Je te remercie Jean-Claude pour ta confiance et ton soutien au cours de ce travail.
- Je remercie également très chaleureusement Caroline SEMAILLE pour m’avoir confié le projet passionnant à l’origine de cette thèse et de m’avoir permis de le mener dans la plus grande liberté. Merci Caroline pour ta disponibilité et ton dynamisme.
- Je tiens aussi à remercier mes collègues de l’Institut de veille sanitaire avec qui le projet a été discuté durant ces années. Merci à Pascale BERNILLON, Françoise CAZEIN, Yann LE STRAT et Josiane PILLONEL. Un grand merci à Françoise, Josiane, Caroline et Yann pour vos nombreuses relectures, vos précieux commentaires et pour m’avoir aidé à éclaircir les points les plus délicats de cette recherche. Merci également à Vanina BOUSQUET et à Abdelkader SEROUTOU pour leur contribution aux analyses.
- Je voudrais remercier Francis BARIN et son équipe au Centre national de référence du VIH pour son expertise et son immense aide apportée au projet. Merci Francis pour cette excellente collaboration.
- La qualité des données présentées ici doit beaucoup aux différentes équipes collaborant à ce projet. J’ai pleinement profité de l’efficacité de Sylvie BRUNET et Damien THIERRY au Centre national de référence du VIH. Je les en remercie vivement. Je remercie aussi chaleureusement Christiane DEVEAU, Laurent TRAN et Remonie SENG de l’Inserm U1018, pour leur aide quant aux données de cohortes. Je souhaite bien sûr remercier Annie VELTER et Alice BOUYSSOU-MICHEL pour leur remarquable travail sur l’enquête Prevagay. Je ne peux que souligner la qualité et la bonne humeur de mes collègues s’occupant de la déclaration obligatoire de séropositivité. Merci à Françoise, Josiane, Florence, Roselyne, Marlène, Lotfi, Hélène et Sophie.
- Je tiens aussi à remercier l’action coordonnée 23 de l’ANRS présidée par Joseph LELLOUCH. Le projet de recherche a bénéficié de son soutien financier et différentes étapes ont pu y être discutées, notamment au sein du sous-groupe comprenant Ahmadou

ALIOUM, Francis BARIN, Pascale BERNILLON, Daniel COMMENGES, Dominique COSTA-GLIOLA, Yann LE STRAT, Laurence MEYER, Josiane PILLONEL et Caroline SEMAILLE. Merci également à Nadine JOB-SPIRA et Véronique DORÉ.

- Indirectement, je n’aurais pas pu entreprendre ce travail sans l’intuition et la conviction d’Anne LAPORTE, qui eut le souci d’intégrer la détection de l’infection récente au nouveau système de surveillance des diagnostics de séropositivité. C’était un pari à un moment où les méthodes pour en interpréter les résultats n’étaient pas véritablement établies. Ceci a rendu possible le sujet de cette thèse.
- Je remercie Christine SAURA, Gilles BRUCKER, Françoise WEBER qui m’ont permis de mener cette thèse dans la cadre de mes missions à l’Institut de veille sanitaire.
- Je souhaite saluer l’accueil que j’ai reçu de la part de Joseph PREJEAN, Irene HALL et leur équipe à Atlanta.
- Je remercie Nanette BENBOW, Daniela DE ANGELIS, Andrea KIM, Gary MURPHY, Andre CHARLETT, John PARRY, Txema CALLEJA, Bharat PAREKH, Thomas REHLE, Alex WELTE, Michael BUSCH, Robert REMIS, Ping YAN, Christopher PILCHER, Agnès FIAMMA, Tim MASTRO, Gaby VERCAUTEREN pour l’intérêt des discussions autour de ce travail.
- Je n’oublie pas mes collègues de l’unité VIC. Je les remercie pour leur aide et leurs encouragements. Merci Anne, Marie, Christine, Betty, Mireille, Cécile, Corinne et Lila.
- Je remercie tout spécialement Christine ARANDA pour son aide précieuse.
- Je tiens enfin à remercier affectueusement ma famille.
- Merci à toi Marion d’être à mes côtés.

Table des matières

Glossaire	vii
Introduction	1
1 Contexte	4
1.1 Surveillance de l'infection par le VIH	4
1.2 Mesurer l'incidence de l'infection par le VIH	6
1.2.1 Définitions utiles de l'incidence d'une maladie	6
1.2.2 Méthodes d'estimation de l'incidence de l'infection par le VIH	8
2 Revue des méthodes d'estimation d'incidence basées sur la mise en évidence de l'infection récente	12
2.1 Les principes de la méthode	14
2.1.1 Genèse et principe de l'approche	14
2.1.2 Ajustements des calculs	19
2.1.3 Discussion sur la notion de test imparfait	23
2.2 Les tests et algorithmes d'infection récente	26
2.2.1 Inventaire des tests d'infection récente	26
2.2.2 Méthodes de calibration des tests d'infection récente	29
2.3 Applications de la méthode	36
2.3.1 Enquête de prévalence et surveillance sentinelle	36
2.3.2 Données de surveillance des diagnostics d'infection	37
2.3.3 Limites des estimations	38
2.4 Discussion	42
3 Evaluation et calibration du test EIA-RI	43

3.1	Contexte	43
3.2	Performance du test EIA-RI	46
3.2.1	Matériels et méthodes	46
3.2.2	Résultats	48
3.2.3	Discussion	51
3.3	Calibration des paramètres du test EIA-RI	56
3.3.1	Matériels et méthodes	56
3.3.2	Résultats	65
3.3.3	Discussion	68
4	Estimations d'incidence de l'infection par le VIH en France	69
4.1	Contexte	69
4.2	Matériel et méthodes des estimations d'incidence	71
4.2.1	Diagnostics d'infection par le VIH	71
4.2.2	Modèles d'estimation de l'incidence à partir des données de diagnostics	72
4.2.3	Effectifs des populations sources	77
4.2.4	Enquête PREVAGAY	79
4.3	Résultats	81
4.3.1	Estimations de l'incidence de l'infection par le VIH en population .	81
4.3.2	Estimation d'incidence parmi les HSH fréquentant les lieux gays . .	86
4.4	Discussion	87
5	Conclusion générale	95
	Bibliographie	98
A	Résultats des modèles mixtes	110
B	Liste des publications et communications scientifiques	114
C	Article 1	115
D	Article 2	122
E	Article 3	130

Table des figures

2.1	Périodes fenêtres basées sur la cinétique des différents biomarqueurs au début de l'infection à VIH	15
2.2	Exemples de cinétiques des marqueurs d'infection récente et de densité des périodes fenêtres	17
2.3	Représentation du principe de l'estimation d'incidence à partir d'une enquête transversale	20
2.4	Fonction de survie de la période fenêtre - Illustration de la présence de patients non-progresseurs	22
2.5	Fonction de survie $S(t)$ de la période fenêtre - Illustration d'un test « imparfait »	24
2.6	Représentation de la cinétique d'un biomarqueur anticorps et de la période fenêtre, fonction du seuil de coupure	32
3.1	Distributions de la mesure quantitative (\mathbb{P}) du test EIA-RI selon les informations fournies par les déclarants	51
3.2	Distributions de la mesure quantitative (\mathbb{P}) du test EIA-RI selon les informations fournies par les déclarants et l'origine géographique	52
3.3	Évolutions de la mesure de TM en fonction du temps, par patient	61
3.4	Ajustements de courbes de lissage	61
3.5	Moyenne et quantiles des périodes fenêtres et proportion de non-progresseurs, selon le seuil de coupure du test	66
4.1	Représentation schématique de l'approche par extrapolation stratifiée	73
4.2	Évolution du nombre de nouvelles infections en France, par groupe de transmission entre 2003 et 2008	83
A.1	Prédictions moyennes des modèles linéaire et non-linéaire finaux	110
A.2	Prédictions individuelles du modèle linéaire final	111
A.3	Résidus individuels du modèle linéaire final	112
A.4	Prédictions individuelles du modèle non-linéaire final	112
A.5	Résidus individuels du modèle non-linéaire final	113

Liste des tableaux

2.1	Tests sérologiques d'infection récente décrits dans la littérature	27
2.2	Tests d'infection récente standardisant la densité optique du marqueur	30
2.3	Échantillons utilisés par les études de calibration des tests d'infection récente	31
2.4	Répartition théorique de N individus positifs classés par un test d'infection récente « imparfait »	33
3.1	Caractéristiques des patients selon la possibilité de dater l'infection avec les informations fournies par les praticiens déclarants, France 2003-2007	49
3.2	Classification des diagnostics selon la durée d'infection estimée par les in- formations des déclarants et l'origine géographique, France 2003-2007	50
3.3	Nombre de patients et observations de la cohorte PRIMO testés pour l'in- fection récente entre 2002 et 2006	58
3.4	Nombre de patients et observations de la cohorte PRIMO testés pour l'in- fection récente, 2008-2009	58
3.5	Effectifs de patients et observations testés sur buvard des cohortes PRIMO et SEROCO	59
3.6	Effectifs des patients et observations de PRIMO selon le sous-type de virus	60
3.7	Sélection des patients non-progresseurs de PRIMO selon le seuil de coupure du test	67
4.1	Nombre d'hommes et de femmes étrangers par groupe de nationalité en France au 1er janvier 2005	79
4.2	Nombre et caractéristiques des nouveaux diagnostics d'infection par le VIH, France 2003-2008	81
4.3	Paramètres du modèle d'incidence en 2008	83
4.4	Nombre de nouvelles infections (IC 95%) par le VIH par groupe de trans- mission entre 2003 et 2008	84
4.5	Calculs des taux d'incidence du VIH par groupe de transmission, France 2008	85
4.6	Taux d'incidence du VIH pour les femmes et hommes hétérosexuels selon la nationalité étrangère, France 2008	85
A.1	Estimations du modèle linéaire mixte	110
A.2	Estimations des modèles non-linéaires mixtes	111

Glossaire

ANRS Agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales.

ARN Acide ribonucléique.

Calibration L'estimation de la durée de la période fenêtre et de la spécificité à long terme (ou son complément, la proportion de non-progresseurs) d'un test d'infection récente.

CNR Centre national de référence du VIH.

COPANA Cohorte ANRS CO9 COPANA coordonnée par l'Inserm, démarrée en 2004 et incluant des patients non traités par antirétroviraux pour l'étude du pronostic à court, moyen et long terme des patients infectés par le VIH récemment diagnostiqués.

CSF Enquête sur le contexte de la sexualité en France, réalisée en 2006 par l'Inserm et l'Ined.

ECDC European Center for Disease Prevention and Control, Centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies.

EIA-RI Enzyme Immuno Assay for Recent Infection : test d'infection récente développé par le centre national de référence du VIH à Tours (Pr Francis Barin). Il est aussi appelé IDE-V3 dans le contexte international.

ELISA Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, dosage de concentration sérique d'anticorps utilisé pour le dépistage du VIH.

HSH Hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes.

IDE Immunodominant Epitope. Voir TM.

IDE-V3 voir EIA-RI.

Incidence L'incidence d'une maladie est le taux de nouveaux cas survenant dans une population pendant une période de temps donnée.

Ined Institut national des études démographiques.

Infection récente L'infection récente est un état transitoire situé peu après la contamination. Cet état peut être détecté par un test ou un algorithme de tests biologiques. Le taux d'individus de la population d'intérêt qui entrent dans cet état transitoire est aussi l'incidence de l'infection.

Insee Institut national de la statistique et des études économiques.

Inserm Institut national de la santé et de la recherche médicale.

InVS Institut de veille sanitaire.

ISPED Institut de Santé Publique, d'Épidémiologie et de Développement.

Non-progressseur Avec les tests d'infection récente disponibles à ce jour, il apparaît que certains individus ne progressent pas (biologiquement) pour sortir de l'état d'infection récente, si bien qu'ils seront détectés comme étant en infection récente bien longtemps voire perpétuellement après le début de l'infection. Des corrections tenant compte de la proportion de non-progressseurs (P_{np}) dans la population d'intérêt ont été proposées pour le calcul de l'incidence.

OFDT Observatoire français des drogues et des toxicomanies.

OMS Organisation mondiale de la Santé, World Health Organisation (WHO).

P_{np} Proportion de non-progressseurs.

Population d'enquête Dans le contexte de l'utilisation des tests d'infection récente, population prévalente pour laquelle les marqueurs d'infection récente sont mesurés et l'incidence est à estimer.

Population de référence Dans le contexte de l'utilisation des tests d'infection récente, population à date d'infection connue sur laquelle seront calibrés la période fenêtre et la proportion de non-progressseurs.

PREVAGAY Enquête transversale menée en 2009 par l'Institut de veille sanitaire auprès d'hommes ayant des relations avec des hommes fréquentant des lieux communautaires à Paris.

PRIMO Cohorte ANRS CO6 PRIMO coordonnée par l'Inserm, démarrée en 1996 et incluant des patients diagnostiqués au moment de leur primo-infection par le VIH.

Prévalence La proportion de personnes malades au sein de la population à un instant donné.

Période fenêtre Selon le test utilisé, les personnes infectées entrent dans l'état d'infection récente et en sortent au bout d'un temps variable selon les individus. La période fenêtre d'un test est ce temps de transition dans l'état d'infection récente, déterminé par une mesure biologique et un seuil de coupure. Puisqu'il est variable selon les individus, il peut être exprimé sous forme d'une distribution de temps individuels ou résumé en une moyenne et un écart type. Il pourra être utile de restreindre le calcul de la moyenne à la population des individus qui progressent hors de l'état d'infection récente.

SEROCO Cohorte ANRS CO2 SEROCO-HEMOCO coordonnée par l'Inserm, démarrée en 1988 et incluant des patients à date de contamination connue pour l'étude de l'histoire naturelle de la maladie et de la réponse au traitement.

Seuil de coupure Les tests d'infection récente étant basés sur une mesure quantitative, un seuil de cette mesure est choisi pour définir les catégories positif et négatif vis-à-vis de l'état d'infection récente à détecter. La catégorie positif est communément définie par une mesure quantitative située en dessous du seuil de coupure du test d'infection récente.

STARHS Serologic Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion : algorithme composé d'un test de dépistage conventionnel ELISA et d'un test ELISA désensibilisé qui permet la détection de l'infection récente par le VIH.

Test d'infection récente Un test d'infection récente est un test biologique utilisé seul ou au sein d'un algorithme de tests, qui détecte comme positif les individus situés dans l'état d'infection récente, en vue d'estimer l'incidence de l'infection.

TM Marqueur anticorps principal du test EIA-RI dirigé contre le domaine immunodominant de la protéine gp41. Aussi appelé IDE.

UDI Usagers de drogues par voie intraveineuse.

V3 Autre marqueur anticorps (avec TM) du test EIA-RI, dirigé contre la portion V3 de la protéine gp120.

VIH Virus de l'immunodéficience humaine.

Résumé

La connaissance de l'incidence de l'infection par le VIH est cruciale pour appréhender la dynamique de l'épidémie de VIH/sida, afin de mesurer les besoins en termes de prévention ou l'impact des interventions pour contrôler cette maladie. Cependant, les méthodes classiques d'estimation sont difficiles à mettre en oeuvre pour estimer l'incidence de cette infection. Une nouvelle approche d'estimation, reposant sur la caractérisation, par un test biologique, d'individus récemment infectés parmi une population de personnes séropositives a été proposée au milieu des années 1990. Cette approche présente l'avantage de pouvoir fournir une estimation d'incidence à partir d'un échantillon constitué à un moment donné de personnes diagnostiquées, sans suivi longitudinal. En France, la surveillance des diagnostics d'infection par le VIH par l'institut de veille sanitaire a intégré, dès sa mise en place en 2003, l'utilisation d'un test d'infection récente. Cette thèse a pour objectif d'estimer, par cette nouvelle approche, l'incidence de l'infection par le VIH en France à partir des données de surveillance des diagnostics et de la caractérisation de l'infection récente. Une première partie consiste en une revue des méthodes d'estimation basées sur la mise en évidence de marqueurs biologiques de l'infection récente. La deuxième partie est consacrée à la calibration du test d'infection récente utilisé en France à partir d'un échantillon de référence de patients suivis dans le cadre de cohortes. La troisième partie fournit les estimations d'incidence en population en France. Le développement de cette méthode d'estimation contribue à mieux décrire la dynamique de transmission du virus en France dans les différents groupes de population, afin de mieux cibler la prévention.

Mots clés : VIH, surveillance, incidence, infection récente

Abstract

Knowledge of HIV incidence is essential to provide a timely picture of the HIV epidemic, in order to target and evaluate prevention efforts. However, current methods of HIV incidence estimation can hardly provide data on current transmission patterns. A new approach based on biological procedures that discriminate recent from long-standing HIV infection has been developed since the mid 1990s. Its major advantage is that it can provide incidence estimates from a single population sample without the need for a longitudinal follow-up. The French national HIV/AIDS case reporting system has included a routine testing for recent infection since its debut in 2003. The objective of this PhD thesis is to estimate population-based HIV incidence in France by using HIV case reporting data and results from recent infection testing. Its first part is a review of laboratory-based methods for HIV incidence estimation. The second part is dedicated to the calibration of the test for recent infection used in France using a reference sample of population. The third part is giving estimates of population-based HIV incidence in France. Based on this new method applied at a national scale, HIV incidence will be tracked over time in order to monitor the HIV transmission dynamics in the various risk groups of the population and to better target prevention.

Keywords: HIV, Surveillance, Incidence, Recent Infection

Introduction

L'incidence est un paramètre précieux pour la surveillance épidémiologique d'une maladie. Cette mesure d'occurrence permet d'apprécier l'ampleur et la dynamique de la maladie dans la population et de mesurer les besoins en termes de prévention ou l'impact des interventions pour contrôler cette maladie. Pour l'infection par le VIH, la contamination ne se traduit en symptômes caractéristiques qu'au bout de plusieurs années. Les conditions pour observer et quantifier l'apparition des nouveaux cas au niveau d'une population au cours du temps sont alors souvent difficiles à réunir. Une nouvelle approche d'estimation, reposant sur la détection de marqueurs biologiques caractéristiques du début de l'infection, a été proposée au milieu des années 1990. Elle présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes d'estimation existantes (méthode de cohorte, rétrocalcul ou par mesures de prévalence répétées). Notamment, elle permet de fournir une estimation de l'incidence de l'infection par le VIH à partir d'un échantillon de personnes diagnostiquées, sans suivi longitudinal. Pour ce faire, il est nécessaire de connaître le comportement de ces marqueurs biologiques au début de l'infection, de prendre en compte la variabilité de ce comportement dans différentes populations, et enfin de constituer un échantillon de personnes infectées pour lequel les marqueurs pourront être quantifiés.

En France, plusieurs équipes de recherche¹ ont promu en 2002 le développement et l'utilisation d'un test d'infection récente pour estimer l'incidence de l'infection par le VIH. Cette

1. Dont notamment le centre national de référence du VIH (CNR), l'Institut de veille sanitaire (InVS) et l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) réunis au travers de l'action coordonnée 23 de l'Agence nationale pour la recherche sur le sida et les hépatites virales (ANRS). Celle-ci est consacrée à la dynamique de l'infection par le VIH et les hépatites virales. Elle a pour président, Joseph Lellouch et parmi ces membres, Ahmadou Alioum, Francis Barin, Fabrice Carrat, Daniel Commenges, Dominique Costagliola, Elisabeth Delarocque-Astagneau, Jean-Claude Desenclos, Sylvie Deuffic-Burban, Véronique Doré, Sophie Grabar, Nadine Job-Spira, Anne Laporte, Catherine Marimoutou, Laurence Meyer, Josiane Pillonel, Caroline Semaille.

initiative a permis d'intégrer l'utilisation d'un nouveau test d'infection récente (EIA-RI) à la surveillance des nouveaux diagnostics d'infection qui a démarré en 2003. Ceci plaçait le système de surveillance français dans la position de conjuguer un recueil d'information très complet sur les personnes découvrant leur séropositivité au niveau national avec la possibilité de détecter parmi elles les infections récentes pour permettre un calcul de l'incidence en population. Cependant nous avons identifié, au début de notre travail, deux difficultés méthodologiques qui restaient à prendre en compte avant de pouvoir produire ce calcul d'incidence. Le premier était l'absence d'estimation de la période fenêtre pour le test EIA-RI, paramètre fondant la méthode d'estimation de l'incidence à partir des tests d'infection récente. Le deuxième était la nécessité de développer une méthodologie qui prenne en compte le fait qu'au niveau du système de surveillance, une infection devient visible avec un délai variable après la contamination selon le comportement de dépistage des personnes qui s'infectent.

Notre travail a donc principalement consisté à résoudre ces deux problématiques pour rendre possible le calcul d'incidence de l'infection par le VIH à partir des données de surveillance des diagnostics en France. Pour cela, nous avons effectué une revue de la littérature sur l'utilisation des tests d'infection récente, contribué à la réflexion méthodologique au niveau français dans le cadre de l'action coordonnée 23 de l'ANRS, et participé à des groupes de travail internationaux constitués par l'organisation mondiale de la Santé (OMS) ou le centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies (ECDC).

Cette thèse a pour objectif d'estimer l'incidence de l'infection par le VIH en France par cette nouvelle approche, nous avons mené un travail en trois parties. Après un chapitre situant le contexte de ce travail, la première partie (chapitre 2) est une revue des méthodes d'estimation basées sur la mise en évidence de marqueurs biologiques de l'infection récente. Nous y exposons le principe du calcul d'incidence puis les améliorations qui y ont été apportées depuis une quinzaine d'années. Nous consacrons une section aux différents tests d'infection récente et une autre aux types d'études où ces méthodes d'estimation peuvent s'appliquer. La deuxième partie (chapitre 3) concerne la calibration des paramètres du test d'infection récente utilisé en France. Nous avons cherché à établir, à partir d'un échantillon de référence, le comportement des marqueurs du test au cours de l'in-

fection et nous avons estimé la période fenêtre du test. Cette étape était nécessaire pour estimer l'incidence parmi les populations d'études testées pour lesquelles le test est appliqué. La troisième partie (chapitre 4) est dédiée aux estimations en population en France. Une première application fournit des données d'incidence de l'infection pour la France entière pour différents groupes de transmission, et leur évolution entre 2003 et 2008. La seconde concerne un échantillon particulier d'hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes.

Chapitre 1

Contexte

1.1 Surveillance de l'infection par le VIH

L'infection par le VIH demeure un problème de santé d'une ampleur dramatique. Depuis moins de 30 ans, elle est la cause de 25 millions de décès dans le monde. À mesure que le virus continue de se propager, il apparaît clairement que l'épidémie ne suit pas le même cours dans tous les groupes humains. Elle touche diversement et à des périodes différentes les sociétés, les pays et les groupes de populations au sein d'un même pays. Pour tous les pays touchés, une connaissance détaillée de l'évolution de l'épidémie est une nécessité pour orienter les efforts en vue de ralentir la propagation du virus. La surveillance épidémiologique de l'infection par le VIH combine les informations sur les nouveaux diagnostics de sida, les nouveaux diagnostics d'infections, les comportements et les caractéristiques des personnes à risque. Cette surveillance vise à fournir une information la plus à jour sur les évolutions de l'infection dans la population pour pouvoir adapter les politiques de santé publique et les actions de contrôles et de prévention.

Dans les premières années de l'épidémie, la seule observation du nombre de cas de sida permettait, avec un certain délai, d'évaluer la dynamique des infections par le VIH. Cette évaluation reposait sur la connaissance de la durée d'incubation, séparant la contamination du développement du sida, estimée et stable. Avec la diffusion des multithérapies à partir de 1996, le délai de progression de la maladie vers le sida est devenu moins prédictible,

avec la conséquence de ne plus pouvoir suivre l'infection par l'évolution des cas de sida [1]. Aujourd'hui, la surveillance des cas de sida reste informative à d'autres titres puisqu'elle reflète la capacité d'accès au dépistage et indique les besoins en soins et traitement qui seront nécessaires à pourvoir. Reconnaissant les limites des systèmes de surveillance existant au milieu des années 1990, une initiative internationale proposait de mettre en place une *surveillance de deuxième génération* en complétant les dispositifs nationaux par une surveillance des comportements à risque, une diversification des systèmes de surveillance sentinelle et la déclaration des nouveaux diagnostics d'infection par le VIH (non plus seulement au stade sida) [2; 3]. Plusieurs pays adoptèrent cette dernière recommandation, dont la France où la déclaration obligatoire des diagnostics d'infection fut mise en place à partir de 2003. Depuis lors, les évolutions des nombres de diagnostics d'infection selon les populations constituent la principale information sur l'évolution de la transmission du virus en France [4]. La surveillance des diagnostics d'infection à VIH est aujourd'hui très informative mais fournit des résultats complexes à interpréter. En effet, contrairement au stade sida de la maladie qui nécessite des soins donc un recours au système de santé, l'infection par le VIH peut rester silencieuse et indétectée pendant de nombreuses années. Ainsi, le délai séparant une contamination du moment où celle-ci sera diagnostiquée est très variable. La déclaration d'un cas d'infection au système de surveillance dépend donc directement de la fréquence à laquelle la personne infectée est dépistée. De fait, les différences d'un groupe à l'autre ou les évolutions au cours du temps des nombres de cas diagnostiqués ne peuvent s'interpréter directement comme une traduction de la dynamique de l'infection dans les différentes populations. Cette dynamique peut être approchée par l'incidence de l'infection dont nous allons passer en revue les différentes méthodes d'estimation.

1.2 Mesurer l'incidence de l'infection par le VIH

1.2.1 Définitions utiles de l'incidence d'une maladie

Risque et taux d'incidence

Nous commençons par introduire les différentes expressions de la notion d'incidence et les quantités qu'elles impliquent dans leur calcul. Il existe plusieurs mesures distinctes de l'incidence d'une maladie [5–8] dont le risque et le taux d'incidence¹.

Risque. Le risque est défini comme la probabilité, pour un individu sain, de développer une maladie donnée durant une période donnée, conditionnellement au fait que l'individu ne meure pas durant la période. Le risque est sans dimension, varie entre 0 et 1 et ne peut s'interpréter que si la période de temps est spécifiée. La *proportion d'incidence* ou *incidence cumulée* qui est le nombre de nouveaux cas sur une période donnée, divisé par la taille de la population au début de la période, est une estimation moyenne de ce risque [8]. Dans le cas d'un épisode épidémique, la période de temps est fixée comme la durée de l'épidémie ou la période d'apparition des cas primaires. Le risque est alors appelé taux d'attaque (même si ce n'est pas strictement un taux) [5].

Taux d'incidence. Le taux d'incidence d'une maladie est le changement instantané du statut de la maladie (c'est-à-dire l'occurrence de nouveaux cas) par unité de temps t , relativement à la taille de la population à risque (les non malades) au temps t [5]. Ce taux est aussi appelé *risque instantané* ou *force de morbidité*. Par contraste avec le concept de risque, le taux d'incidence, mesure instantanée, correspond à un temps ponctuel et n'a pas de période associée. Le taux d'incidence est exprimé en inverse du temps (par exemple année⁻¹) et sa valeur numérique peut être supérieure à 1 selon l'unité de temps employée. Parce que l'on ne peut généralement pas exprimer la taille de la population à risque comme une fonction mathématique du temps, on peut rarement obtenir des taux instantanés d'incidence. À la place, on estime le taux d'incidence moyen pour une période

1. Le taux est un changement instantané d'une quantité par unité de changement d'une autre quantité, généralement le temps. Contrairement à une proportion, le taux a une unité et n'a pas de limite supérieure. L'expression stricte d'un taux instantané requiert la notion de calcul différentiel, mais pour un aspect pratique pour la surveillance épidémiologique, les taux instantanés sont ramenés à des taux moyens.

donnée ou *densité d'incidence* [6], qui est estimé comme :

$$\hat{T}_{i(t_0,t)} = \frac{I}{\text{PT}} \quad (1.1)$$

où I est le nombre de nouveaux cas durant la période (t_0, t) de durée Δ_t , PT est la quantité de personnes-temps accumulée par la population à risque durant la période (en personnes-années, personnes-jours) et \hat{T}_i est exprimé en inverse du temps. Le nombre de personnes-années peut, lorsque l'on ne connaît pas les temps de suivi individuels, être calculé comme le produit du nombre N' de sujets sains, supposé stable, et une durée fixe de suivi Δ_t [5] :

$$\text{PT} = N' \cdot \Delta_t \quad (1.2)$$

ou comme le produit de la taille moyenne \bar{N} de la population durant la période et une durée fixe de la période Δ_t [8] :

$$\text{PT} = \bar{N} \cdot \Delta_t \quad (1.3)$$

Relation entre taux d'incidence et risque

Dans une population fermée, en l'absence de risque compétitif et si le nombre de nouveaux cas est faible en regard de la population à risque, on peut démontrer que le risque R est lié au taux d'incidence T_i par la relation [8] :

$$R = 1 - \exp(-T_i \Delta_t) \quad (1.4)$$

Relation entre taux d'incidence et prévalence

Une relation mathématique simple peut être établie si la population est en état d'équilibre - c'est-à-dire si la population est stable et les taux d'incidence et de prévalence restent constants. Dans ces conditions *stationnaires*, le nombre de nouveaux cas dans la période est égal au nombre de sorties de la maladie durant la même période. Cette dernière quantité inclut les cas décédés de la maladie, ceux décédés d'une autre maladie et les guérisons. On se place dans une situation où il n'y a pas de migration. Le taux de sortie est égal

à l'inverse de la durée *moyenne* de la maladie (\bar{D}) dans les conditions de stationnarité. Alors, on peut montrer que :

$$P = \frac{T_i \cdot \bar{D}}{T_i \cdot \bar{D} + 1} \approx T_i \cdot \bar{D} \quad (1.5)$$

Si la maladie est rare, alors la prévalence P est approximativement égale à $T_i \cdot \bar{D}$. Donc, P est directement proportionnelle au taux d'incidence T_i et \bar{D} dans des conditions de stationnarité. Ces conditions qui incluent une absence de migration peuvent être mises en défaut lorsque l'on considère des prévalences par âge, ce qui pour la plupart des maladies est nécessaire [9]. Il existe donc des formulations plus élaborées de la relation entre prévalence et incidence tenant compte de l'âge [8]. Néanmoins, nous verrons au chapitre 2 que cette relation simple est à la base du principe de calcul de l'incidence de l'infection par le VIH à partir de la prévalence de l'état « infection récente » et de la durée moyenne de cet état.

1.2.2 Méthodes d'estimation de l'incidence de l'infection par le VIH

Nous allons exposer les différentes méthodes pour estimer l'incidence de l'infection par le VIH au sein d'une population. Nous distinguerons plus particulièrement les méthodes pouvant contribuer à fournir une estimation au niveau d'un pays.

Études de cohorte

La méthode la plus directe d'estimation de l'incidence de l'infection par le VIH est l'étude de cohorte, dans laquelle un groupe bien défini de personnes non infectées est suivi au cours du temps et testé de manière répétée de façon à identifier les séroconversions [10]. Les deux quantités qui définissent le calcul d'incidence, le nombre de nouvelles infections et le nombre de personnes-temps à risque, sont alors directement observées. L'intérêt principal de cette méthode est de fournir une mesure non biaisée de l'incidence de l'infection au sein du groupe suivi. L'autre avantage majeur de cette approche est de pouvoir stratifier les résultats en fonction de nombreuses covariables explicatives recueillies de façon

individuelle.

Parmi les principales difficultés de cette approche figurent le coût, le temps et la complexité logistique nécessaires pour suivre un grand nombre d'individus pour obtenir une estimation suffisamment précise du taux d'incidence. Un désavantage majeur tient au fait que l'estimation obtenue est souvent difficile à généraliser au-delà de la population étudiée. Les personnes constituant une cohorte sont en effet caractérisées par leur propension à accepter l'inclusion puis la participation à l'étude. Si ces caractéristiques les différencient de la population cible de l'étude, les résultats seront affectés par un biais de sélection. De plus, les personnes suivies seront plus particulièrement exposées à des mesures de prévention et d'éducation répétées au cours du temps [11]. À moins de pouvoir prendre en compte ces facteurs, les études de cohorte auront ainsi généralement tendance à sous-estimer l'incidence de l'infection par le VIH de la population cible [12; 13].

Enfin, il faut noter que les cohortes trouvent une utilité pour estimer l'incidence au niveau de sous-groupes de population, particulièrement en vue de mener un essai vaccinal ou de prévention [14]. Mais, par la difficulté à constituer un échantillon représentatif de taille suffisante, cette approche n'est pas envisageable pour obtenir une estimation d'incidence de l'infection par le VIH à un niveau national.

Études de prévalence répétées

Une deuxième approche d'estimation de l'incidence du VIH en population repose sur la modélisation mathématique de données d'enquêtes de prévalence répétées. Cette approche a été particulièrement développée dans les pays où l'épidémie est généralisée et où la surveillance repose sur des enquêtes de prévalences du VIH [15]².

Le principe de l'approche est de déduire l'incidence à partir du différentiel de prévalence

2. À la fin des années 1980, une surveillance sentinelle auprès de femmes dans le cadre du suivi prénatal a été largement répandue [16]. Elle présentait l'avantage de s'appuyer sur un suivi déjà organisé, auprès d'une population définie, et collectant des échantillons sanguins. Les mesures de prévalence obtenues serviront à partir de la fin des années 1980 à modéliser l'évolution de l'épidémie dans des pays où l'absence de données suffisantes sur les cas de sida empêche une approche de type rétrocalcul (cf. section 1.2.2) [17]. Plus récemment, dans les années 2000, des enquêtes de prévalence en population générale ont été développées avec les enquêtes démographiques et de santé [2]. Celles-ci sont constituées par échantillonnage avec une méthodologie standardisée et fournissent une mesure de séroprévalence. Une vingtaine de pays disposent d'au moins une enquête de ce type et certains en ont déjà effectué plusieurs [18].

(en nombre absolu de personnes infectées) entre deux temps d'enquête. Ce différentiel est la résultante à la fois du nombre de nouvelles infections dans la population mais aussi du nombre de décès parmi les personnes infectées, du nombre de personnes infectées immigrantes et émigrantes, du nombre de personnes entrant et sortant de l'étendue des âges enquêtés entre les deux temps, ainsi que des niveaux de participation des personnes infectées aux enquêtes respectives. Une prévalence stable ou même en diminution entre les deux temps de mesure peut alors s'accompagner d'une incidence élevée [19; 20]. Hormis dans les situations où l'épidémie démarre et où la surmortalité due au VIH reste faible à cause de la longue période d'incubation, des mesures de prévalences constantes doivent plutôt être interprétées comme la résultante d'un équilibre entre le taux de mortalité due au VIH et le taux d'incidence.

De nombreux modèles ont été proposés pour isoler la contribution de l'incidence par rapport à celles de la mortalité, de la mobilité, de la fertilité et de la participation aux enquêtes des personnes infectées [21]. D'une manière générale, l'absence de suivi des mêmes sujets d'une mesure à l'autre empêche de naturellement « contrôler » de nombreux facteurs différentiels et impose des calculs complexes et de nombreuses étapes d'ajustement de modèles [21]³. En conséquence, et par contraste avec les études de cohorte et leur approche directe du calcul, l'utilisation de données répétées de prévalence aboutit souvent, par des modèles nécessairement complexes, à une cascade d'estimations à partir de paramètres estimés⁴.

Concernant la France, cette approche a été utilisée pour estimer le taux d'incidence chez les femmes enceintes jusqu'au milieu des années 1990 [23]. Mais depuis lors, ces grandes enquêtes répétées de prévalence du VIH n'ont plus cours en France [24]. Cette approche ne peut pas être appliquée aujourd'hui pour estimer l'incidence de l'infection au niveau national.

3. « Several methods have been proposed to estimate incidence from measures of prevalence. Some of these [...] involve complicated and computationally intensive model-fitting procedures »

4. À ce titre, au cours d'une présentation au congrès international sur le sida de Mexico en 2008, on put entendre de Basia Zaba « *Estimating numbers of sero-converters between survey rounds is a bit easier than looking for a needle in a haystack* » : Estimer le nombre de séroconvertisseurs entre deux vagues d'enquêtes est juste un peu plus facile que de trouver une aiguille dans une botte de foin [22].

Méthodes reposant sur la dynamique des diagnostics de sida

Proposée en 1988 par Gail et Brookmeyer, la méthode de rétrocalcul a été largement employée depuis pour estimer l'incidence et la prévalence de l'infection par le VIH [10]. Celle-ci permet d'approcher le taux d'infections passées à partir des données d'incidence du sida et de la distribution de la période d'incubation depuis l'infection jusqu'au développement du sida. Si cette méthode permet de construire des tendances historiques, elle est peu adaptée à l'estimation des taux d'incidence sur des périodes récentes. De plus, il est devenu nécessaire de tenir compte de l'effet des traitements antirétroviraux qui modifient la relation entre l'incidence du VIH et celle du sida. Dans ce contexte, plusieurs auteurs ont décrit des modèles qui incorporent des données sur les nouveaux diagnostics d'infection non sida et sur la date du premier test positif pour améliorer la précision de ces estimations [25–28]. Ces méthodes peuvent être appliquées dans les pays qui possèdent un système de surveillance des diagnostics de sida et des infections avant le stade sida. Récemment, des applications ont ainsi permis de reconstruire la dynamique de l'épidémie aux États-Unis [29] et en France [30].

Méthodes reposant sur la détection de l'infection récente

Une nouvelle approche consiste à utiliser l'évolution de marqueurs biologiques au début de l'infection. Cette approche permet, moyennant le respect de certaines conditions, de fournir une estimation de l'incidence en contournant l'absence de données longitudinales. Son principe et ses applications sont détaillés dans le chapitre 2.

Chapitre 2

Revue des méthodes d'estimation d'incidence basées sur la mise en évidence de l'infection récente

Pour répondre aux difficultés d'application des méthodes existantes, une nouvelle méthode pour l'estimation de l'incidence de l'infection par le VIH a été développée au cours des quinze dernières années. En utilisant un marqueur biologique identifiant les personnes séropositives comme récemment infectées, il devient possible d'approcher la dynamique de la transmission à partir d'une seule mesure dans le temps. Ce concept présente ainsi l'attrait de pouvoir utiliser un recueil d'échantillons biologiques destinés à une mesure de la prévalence pour obtenir une estimation de l'incidence sans la complexité logistique, le temps et le coût d'un suivi longitudinal. Ce concept est basé sur des méthodes de laboratoires nouvelles, qui ne sont pas techniquement révolutionnaires en soi, mais qui ont été développées pour le seul besoin de la connaissance épidémiologique.

Cependant, et nous le verrons, comme pour les méthodes basées sur les estimations de prévalence répétées, l'estimation d'incidence basée sur l'utilisation de biomarqueurs nécessite de vérifier un certain nombre d'hypothèses et de pouvoir définir convenablement la population à qui s'appliquera l'estimateur. Dans cette section, nous allons donner un aperçu du développement des méthodes permettant l'estimation de l'incidence du VIH à partir

de la détection d'un état récent de l'infection. Après avoir défini les principes, nous passerons en revue les applications notables et les limites particulières aux différents contextes d'application en population. Ce chapitre fait l'objet de l'article 1 en annexe C.

2.1 Les principes de la méthode

2.1.1 Genèse et principe de l'approche

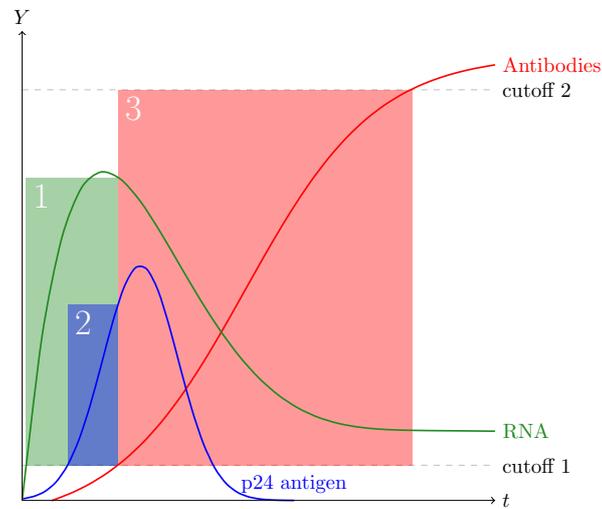
Dans deux articles publiés en 1995 dans l'*American Journal of Epidemiology*, Brookmeyer et Quinn introduisirent le principe, et son application en Inde, d'une estimation de l'incidence du VIH à partir d'une seule enquête transversale [31; 32]. Cette méthode fut également appliquée en Thaïlande [33]. L'approche de Brookmeyer et Quinn utilisait un algorithme combinant un test mettant en évidence l'antigène p24 avec un test de dépistage des anticorps anti-VIH, pour déterminer la prévalence de l'antigénémie p24¹ chez des sujets séronégatifs. Le taux d'incidence (de l'antigénémie p24 et, par définition, celui de l'infection) était ensuite calculé en utilisant la relation classique entre prévalence, incidence et durée de la période séparant le début de la détectabilité de l'antigène p24 et de celle des anticorps anti-VIH. Cette période est représentée par la zone bleue de la figure 2.1.

Malgré l'intérêt et la simplicité de cette première approche, un certain nombre d'inconvénients limite son utilisation. En premier lieu, l'intervalle de temps (ou période fenêtre) durant lequel l'antigène p24 est détectable avant la séroconversion, est court. Il était en moyenne de 22,5 jours en 1995 et s'est depuis raccourci avec le développement de nouvelles générations de tests diagnostiques ELISA, détectant les anticorps de plus en plus tôt après le contagement [34]. La conséquence de cette courte période est que son estimation moyenne s'accompagne d'une grande incertitude, ce qui rend à son tour l'estimation d'incidence imprécise. Il sera donc nécessaire de constituer un grand échantillon de population ou de se placer dans une population de forte incidence, pour identifier un nombre suffisant de personnes dont l'antigénémie p24 est détectable mais qui n'ont pas encore séroconverti.

Néanmoins, Brookmeyer et Quinn fournirent le cadre conceptuel des futures méthodes d'estimation d'incidence basées sur une seule enquête transversale et à partir de techniques de laboratoires. Parmi les approches pour mesurer l'infection précoce à partir des marqueurs virologiques (avant la séroconversion des anticorps) la mise en évidence de l'ARN viral semble aujourd'hui la plus appropriée. En effet, l'ARN peut être détecté plus tôt que l'antigène p24, ce qui permet de caractériser une plus longue période fenêtre (figure 2.1). De

1. L'antigène p24 peut être détecté au tout début de l'infection, avant la séroconversion des anticorps.

FIGURE 2.1 – Périodes fenêtres basées sur la cinétique des différents biomarqueurs au début de l’infection à VIH



L’axe Y correspond à la mesure quantitative du biomarqueur antigène p24, anticorps ou ARN viral. L’axe t correspond au temps en jours depuis la contamination. Le « cutoff 1 » est le seuil de détection du biomarqueur antigène p24, anticorps ou ARN. Le « cutoff 2 » est le seuil en dessous duquel la valeur du marqueur anticorps signe une infection récente. La période 1 (en vert) correspond à l’état transitoire entre la détection de l’ARN et celle de la séroconversion, tel que défini par Busch (2005). La période 2 (en bleu) correspond à l’état transitoire entre la détection de l’antigène p24 et celle de la séroconversion, tel que défini par Brookmeyer (1995). La période 3 (en rouge) correspond à la période fenêtrée entre la détection de la séroconversion et le franchissement par le niveau des anticorps du « cutoff 2 », telle que définie par Janssen (1998).

plus, le *pooling* des échantillons permet d’augmenter la valeur prédictive des tests d’amplification en réduisant significativement les coûts. Malgré tout, pour obtenir une estimation précise de l’incidence, la méthode requiert d’inclure de très grands échantillons de population, comme par exemple la population des donneurs de sang [34] ou celle rencontrée dans un très large programme de dépistage décrit par Pilcher et coll. aux Etats-Unis [35].

Utilisation d’une période fenêtrée basée sur les anticorps

Janssen et coll. furent les premiers en 1998 à décrire une approche reposant sur un test anticorps (ou un algorithme de tests) créé spécifiquement pour l’estimation de l’incidence du VIH [36]. Cette approche dénommée « Serologic Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion (STARHS) », vise au moyen d’un algorithme de tests à détecter une période

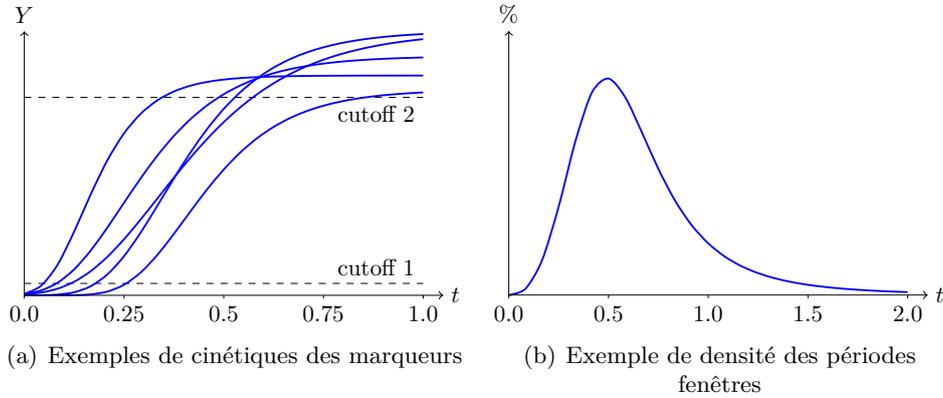
transitoire que traversent les sujets séropositifs après leur séroconversion. Elle présente l'avantage majeur de n'avoir à caractériser l'infection récente que chez les seuls sujets séropositifs. Ceci limite le nombre de tests à réaliser par rapport aux approches utilisant les marqueurs virologiques, antigène p24 ou ARN viral qui nécessitent de re-tester toutes les personnes séronégatives. De plus, la période fenêtre transitoire, de l'ordre de 5 mois, est suffisamment courte pour réunir les conditions de stationnarité de l'incidence durant la période d'étude. Elle est aussi assez longue pour qu'elle soit mesurée avec précision et surtout qu'en terme de puissance, un nombre suffisant de sujets (récemment infectés) puissent y être retrouvés dans une enquête transversale.

Suivant le principe introduit par Janssen et coll., de nombreuses estimations d'incidence à partir d'enquêtes transversales ont été décrites et un nombre croissant de tests ont été développés pour cet usage [37; 38]. Ces tests mesurent la réponse immunologique dirigée contre le virus, au travers de la concentration d'anticorps spécifiques [36; 39; 40], de leur proportion [41], de la présence de certains isotypes [42], ou du rapport d'avidité entre anticorps précoces et matures [43; 44]. Cette mesure doit définir un état transitoire depuis le début de la détectabilité des anticorps par un test de dépistage standard jusqu'à un seuil définissant l'état *ancien* de l'infection (figure 2.1). Cet état transitoire a une durée définie comme la période fenêtre du test. Par la variabilité individuelle de la réponse anticorps, les période fenêtres différent d'un individu à l'autre (comme dans la figure 2.2(a) où la fin des périodes est marquée par le franchissement du « cutoff 2 »). Leur moyenne est mesurée en testant des échantillons répétés d'individus à date de séroconversion connue ou raisonnablement estimée [45]. Le cadre conceptuel donné par Brookmeyer et Quinn puis Janssen et coll. a été généralisé par Kaplan et Brookmeyer (1999) [46] et plus récemment par Balasubramanian et Lagakos (2009) [47].

Validation des mesures d'incidence

Pour évaluer leur validité, ces méthodes d'estimation basées sur la détection de l'infection récente ont été comparées à des mesures d'incidence fournies par le suivi de cohortes de sujets à risque de contamination par le VIH [36; 48–50]. L'exercice est difficile dans la mesure où les populations ne sont presque jamais strictement identiques et où la puis-

FIGURE 2.2 – Exemples de cinétiques des marqueurs d’infection récente et de densité des périodes fenêtres



sance statistique pour établir une équivalence des deux types de mesures est rarement atteinte [51]. Surtout, quand bien même les résultats obtenus sont similaires [45; 48], la portée de la comparaison est limitée dans la mesure où la population représentée par le suivi d’une cohorte de personnes non infectées est tout à fait particulière. En effet, une telle cohorte ne comprend pas d’infections anciennes dans la même proportion qu’une enquête transversale menée dans une population où l’épidémie est installée (c’est-à-dire avec une grande majorité de cas anciens). Avec un même risque de classer à tort comme infection récente une infection en réalité ancienne, l’estimation d’incidence sera beaucoup moins affectée par le nombre de faux-positifs dans une cohorte que dans une enquête de prévalence en population. En définitive, alors que l’on peut penser que la mesure directe de l’incidence par le suivi d’une cohorte apparaît comme une référence pour la comparaison avec les estimations basées sur les tests d’infection récente, le cadre habituel de ces cohortes ne reflète pas une situation épidémiologique réaliste. Plus récemment, des expériences de validation ont confronté des estimations d’incidence par mesure de prévalences répétées avec des estimations basées sur la détection de l’infection récente [18; 52]. Il apparaît que le facteur crucial de validité de la mesure est la spécificité du test, c’est-à-dire sa propension à classer correctement les infections chroniques.

Principe du calcul d'incidence dans une enquête transversale

De manière générale, le calcul est réalisé au sein d'une population testée pour l'infection par le VIH, donc comprenant une grande partie d'individus négatifs. Parmi les individus positifs, certains sont détectés durant une période transitoire au début de l'infection, dite infection récente. L'estimateur de l'incidence est calculé comme la fréquence de l'état transitoire (c'est-à-dire la prévalence de l'infection récente) divisée par sa durée (la période fenêtre moyenne). Ce calcul est basé sur la relation $prévalence = incidence \times durée\ de\ la\ maladie$, où la maladie est représentée par l'état d'infection récente dont l'incidence est aussi l'incidence de l'infection par le virus [9; 46; 53]. Cette relation, comme on l'a vu à la section 1.2.1, requiert que la maladie - l'état d'infection récente - soit un événement rare pour que le rapport de prévalence puisse être approximé par la prévalence [54]. La relation est valable pour une population stationnaire, où les sortants sont compensés par les entrants de telle sorte que la population susceptible reste en nombre constant, et où le niveau d'incidence est constant durant la période d'étude [7; 31]. Il faut noter que la mortalité représente un autre moyen de sortir du réservoir des cas prévalents. Pour conserver la relation précédente, la mortalité ne doit pas être différente dans la population prévalente et dans la population non-prévalente (susceptibles). Pendant les quelques mois que dure l'état d'infection récente, cette hypothèse est raisonnablement vérifiée.

Par la figure 2.3, nous représentons le principe de calcul de l'incidence introduit par l'article de Janssen et al. (1998) avec une période fenêtre moyenne de 180 jours [36]. L'estimateur de l'incidence I est obtenu par l'équation suivante :

$$\hat{I} = \frac{N_R}{N_{neg} + N_R} \times \frac{365}{\bar{\omega}} \quad (2.1)$$

où N_R est le nombre d'infections récentes détectées, N_{neg} est le nombre de sujets testés négatifs et $\bar{\omega}$ est la durée moyenne de la période fenêtre exprimée en jours.

L'intervalle de confiance de l'estimateur tient compte de l'incertitude sur les deux quantités ω et N_R . En utilisant la méthode de Bonferroni, l'intervalle de confiance à $100(1 - \alpha)\%$ de \hat{I} est calculé en utilisant les intervalles de confiance à $100(1 - \alpha/2)\%$ de ω , dont la variance a été mesurée lors du développement du test d'infection récente, et de N_R , supposé suivre

une distribution de Poisson [53]. Ainsi, si les bornes des intervalles sont $(N_{R_{\alpha/2}}^-; N_{R_{\alpha/2}}^+)$ pour N_R , et $(\omega_{\alpha/2}^-; \omega_{\alpha/2}^+)$ pour ω , l'intervalle de confiance à $100(1 - \alpha)\%$ de \hat{I} est donnée par :

$$\left(\frac{N_{R_{\alpha/2}}^-}{N_{neg} \cdot \omega_{\alpha/2}^+}; \frac{N_{R_{\alpha/2}}^+}{N_{neg} \cdot \omega_{\alpha/2}^-} \right) \quad (2.2)$$

Selon Cole et coll. (2006), cette méthode de Bonferroni fournit un intervalle de confiance trop conservateur qui sous-estime la précision de l'estimateur. Ils proposent un calcul de l'intervalle par une méthode de Monte-Carlo. L'intervalle à 95% correspond aux 2,5ème et 97,5ème percentiles de la distribution des \hat{I} calculés 10^5 fois après tirages du nombre N_R suivant une loi de Poisson, et de ω suivant une loi normale après transformation [55; 56].

2.1.2 Ajustements des calculs

Par rapport à la formule de calcul de l'incidence de Janssen, plusieurs ajustements ont été proposés. Il s'agit d'une part d'exprimer différemment le nombre de personnes à risque et d'autre part, soit de tenir compte d'un défaut de classement du test ², soit plus récemment de plutôt tenir compte de la présence d'individus non progressseurs vis-à-vis des tests d'infection récente.

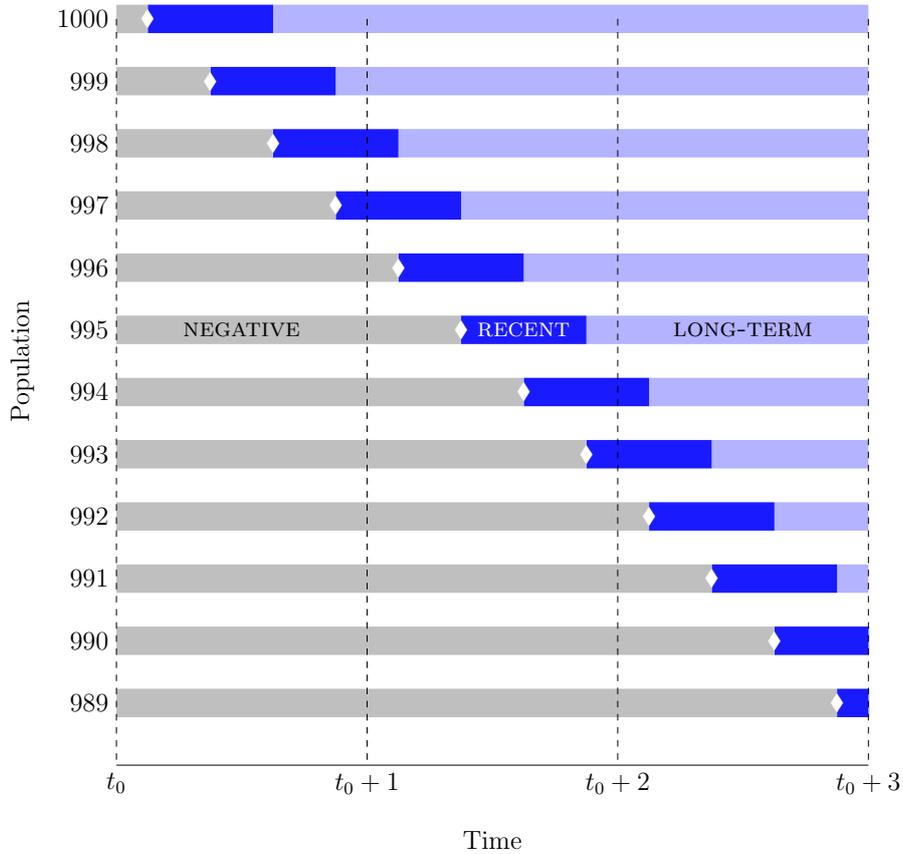
Personnes à risque. Le premier type d'ajustement consiste à comptabiliser différemment le nombre de personnes à risque d'être détectées durant l'infection récente au cours d'une année. Ainsi, comme pour l'estimation d'incidence au sein d'une cohorte, les individus négatifs sont considérés comme à risque d'infection durant toute la période de suivi, mais les individus infectés sont considérés comme ayant été à risque durant en moyenne la moitié de la période [58; 59] :

$$\hat{I} = \frac{N_R}{N_{neg} + \frac{365}{\bar{\omega}} \cdot \frac{N_R}{2}} \times \frac{365}{\bar{\omega}} \quad (2.3)$$

Compte-tenu de la prépondérance de N_{neg} par rapport à N_R , l'impact de cet ajustement sur \hat{I} est quantitativement minime par rapport à l'équation 2.1. On peut noter que l'ajus-

2. Après avoir exposé le principe de cet ajustement dans cette section, nous reviendrons sur son bien-fondé à la section 2.1.3.

FIGURE 2.3 – Représentation du principe de l’estimation d’incidence à partir d’une enquête transversale



Une population de $N = 1000$ sujets séronégatifs au temps t_0 est testée chaque année pendant 3 ans. Le nombre d'individus qui ont séroconverti (losange blanc) inclut ceux qui seront détectés durant la période fenêtrée (en bleu foncé) d'infection récente (N_R) qui sont désignés comme « RECENT », et ceux testés au delà (en bleu clair) de la période fenêtrée, désignés comme « LONG-TERM ». Les sujets séronégatifs (NEGATIVE) sont représentés en gris et sont en nombre N_{neg} . À chaque instant, $N_R = 2$ individus sont détectés durant l'infection récente alors que 4 individus ont séroconverti dans l'année. Avec une période fenêtrée $\bar{\omega}$ de 180 jours, l'incidence estimée d'après l'équation 2.1 est de 0,4% personnes/année. Cette représentation a été inspirée par la présentation de Ruigang Song (2004) [57] et par Bernard et Lapointe (1987, p.59) [6].

tement est sans effet si la période fenêtrée moyenne $\bar{\omega}$ est égale à la moitié de la période d'étude, c'est-à-dire égale à 6 mois pour une estimation d'incidence sur une année [58]. L'intervalle de confiance à 95% de \hat{I} proposé par Byers et coll. est : $\hat{I} \pm 1,96 \cdot \hat{I} / \sqrt{N_R}$.

Sensibilité et spécificité. Le deuxième type d'ajustement consiste à tenir compte de l'imprécision du test, exprimée par ses défauts de sensibilité (Se) et spécificité (Sp). En admettant que le test d'infection récente est *imparfait* et que l'on connaît Se et Sp , l'idée de cet ajustement est donc de corriger le nombre observé d'individus en infection récente O_R pour introduire le nombre réel N_R dans le calcul d'incidence de l'équation 2.3. En

introduisant $P_{obs} = O_R/N$ la proportion observée d'individus classés en infection récente parmi les N positifs, on peut aisément³ montrer que :

$$N_R = O_R \times \frac{P_{obs} + Sp - 1}{P_{obs} \cdot (Se + Sp - 1)}$$

C'est cette expression du nombre réel d'infections récentes en fonction du nombre observé et des sensibilité et spécificité du test qui est donc proposée par Parekh et coll. en 2002 dans une formule d'incidence « corrigée » [41] :

$$\hat{I} = \frac{F_1 F_2 O_R}{N_{neg} + F_1 F_2 O_R} \quad (2.4)$$

avec $F_1 = 365/\bar{\omega}$ et $F_2 = (P_{obs} + Sp - 1)/[P_{obs} \cdot (Se + Sp - 1)]$. F_2 est ainsi le rapport entre les nombres (ou les proportions) d'infections récentes réelles sur observées (N_R/O_R).

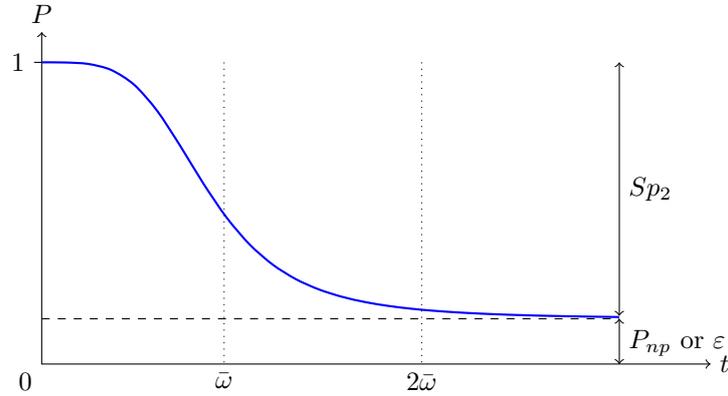
Non-progresseurs. Le troisième type d'ajustement concerne la prise en compte d'une population de non-progresseurs vis-à-vis des tests d'infection récente. Comme nous l'avons vu en page 16, la plupart des expériences de validation, comparant des estimations fournies par différentes méthodes, montrent l'importance de la spécificité des tests d'infection récente pour obtenir un estimateur convenable. C'est par l'évocation d'une fraction des séropositifs qui ne progresseraient pas hors de l'état d'infection récente, dits *non-progresseurs*, que le problème a été identifié et que des solutions ont été cherchées pour ajuster les estimateurs. Ce problème a été particulièrement cité dans la littérature pour le test BED-CEIA, le plus utilisé dans le monde [14; 60]. Mais il affecte probablement tous les tests d'infection récente basés sur les anticorps. En effet, ces tests ont été calibrés sur des échantillons de séroconvertisseurs comprenant une forte proportion d'infections récentes par rapport aux populations d'enquêtes⁴ [61]. De plus certains individus ayant une réponse atypique ont été exclus de la calibration de la période fenêtrée [62–64] .

McDougal et coll. sont les premiers en 2006 à prendre en compte l'existence de non-

3. Dans le tableau 2.4, page 33, le nombre O_E d'infections non-récents (*established*) est observé et le nombre réel correspondant est noté N_E . Alors $O_R = Se \cdot N_R + (1 - Sp) \cdot N_E$ et $O_E = (1 - Se) \cdot N_R + Sp \cdot N_E$. Comme $O_E = (N - O_R)$, $N_E = [(N - O_R) - (1 - Se) \cdot N_R]/Sp$ et ayant substitué, on peut écrire $O_R = Se \cdot N_R + (1 - Sp) \cdot [(N - O_R) - (1 - Se) \cdot N_R]/Sp$. Ce qui se simplifie en $(Se + Sp - 1) \cdot N_R = O_R - (1 - Sp) \cdot N$.

4. Nous faisons référence aux populations d'enquêtes où ces tests seront amenés à être utilisés pour estimer l'incidence de l'infection. Si l'épidémie est installée, on peut s'attendre, dans ces populations, à ce que les individus infectés de façon chronique soient en grand nombre.

FIGURE 2.4 – Fonction de survie de la période fenêtre - Illustration de la présence de patients non-progresseurs



progresseurs pour ajuster l'estimation de l'incidence [48]. Leur proposition est équivalente à celle de Parekh et coll. (voir équation 2.4) mais comprend une décomposition de la spécificité en une spécificité à court-terme (Sp_1), concernant la période $[\bar{w}; 2\bar{w}]$ et une spécificité à long-terme (Sp_2) qui concerne la période $]2\bar{w}; +\infty[$. Le calcul se fait selon :

$$\hat{I} = \frac{F_1 f O_R}{N_{neg} + F_1 f O_R} \quad (2.5)$$

avec $F_1 = 365/\bar{w}$ et $f = (P_{obs} + Sp_2 - 1)/[P_{obs} \cdot (Se - Sp_1 + 2Sp_2 - 1)]$

La figure 2.4 illustre le fait que la majorité des durées de période fenêtre est inférieure à $2\bar{w}$, mais que pour une proportion P_{np} de non-progresseurs dans la population infectée chroniquement, cette durée est plus longue (voire infinie). La spécificité à long-terme Sp_2 fournit un moyen de prendre en compte quantitativement le phénomène de non-progression vis-à-vis du test d'infection récente et vaut donc $(1 - P_{np})$.

Une autre formule très similaire a été proposée par Hargrove et coll. en 2008 [64]. La formule est simplifiée par rapport à celle de McDougal en considérant que la spécificité à court-terme (Sp_1) est égale à la sensibilité (Se)⁵ et que la période fenêtre moyenne \bar{w} vaut 0,5 année :

$$\hat{I} = \frac{O_R - \varepsilon N}{O_R + \bar{w} N_{neg} - \varepsilon(N_{neg} + N)} \quad (2.6)$$

Avec $\varepsilon = P_{np} = (1 - Sp_2)$ qui désigne la proportion de non-progresseurs chez les individus infectés chroniques.

5. Nous le démontrons dans la section 2.1.3, à la page 24.

Dernièrement, McWalter et Welte (2009) [65; 66] ont démontré que le seul terme d’ajustement nécessaire concerne cette proportion de non-progresseurs ε . Leur estimateur de l’incidence dans un enquête transversale est :

$$\hat{I} = \frac{O_R - \varepsilon N}{(1 - \varepsilon)\bar{\omega}N_{neg}} \quad (2.7)$$

L’intervalle de confiance associé est calculé en utilisant la *delta method* en incluant les erreurs (supposées distribuées normalement) des paramètres $\bar{\omega}$ et ε .

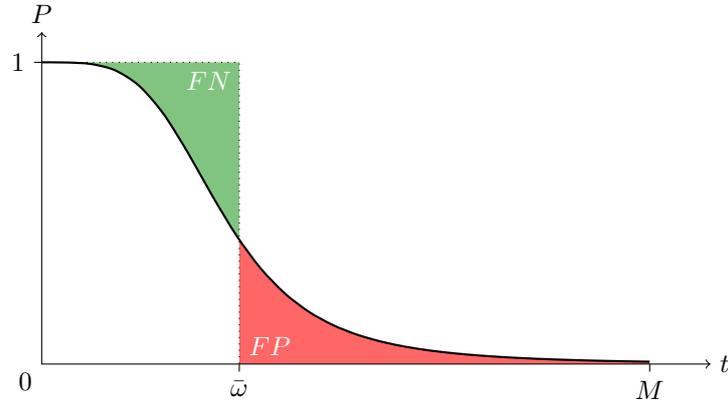
Algorithme à plusieurs tests d’infection récente. Enfin, on peut citer une autre catégorie d’ajustements qui reposent sur l’utilisation combinée de plusieurs tests afin de détecter avec une plus grande spécificité les infections récentes [67]. On note cependant que pour cette catégorie d’ajustement reposant sur un algorithme de plusieurs tests, aucune estimation de période fenêtrée n’a été proposée à ce jour et l’estimation d’incidence n’est donc pas réalisable.

2.1.3 Discussion sur la notion de test imparfait

Nous avons vu qu’une grande partie des ajustements visait à déterminer le nombre réel de personnes en état d’infection récente d’après le nombre observé pour compenser une imperfection du test prédictif. Une explicitation du terme *imparfait* est nécessaire pour comprendre comment ont évolué les propositions d’ajustement ces dix dernières années.

Dans une première acception du terme *imparfait*, on se place dans une logique de classement des individus infectés selon leur délai depuis la contamination. Par exemple, le test doit détecter les infections datant de moins de 6 mois comme infections récentes (un test positif). Si moins de 100% des infections datant effectivement *de moins de 6 mois* sont classées comme infections récentes, alors la sensibilité du test est imparfaite. Si moins de 100% des infections datant effectivement *de plus de 6 mois* sont classées comme infections non récentes (un test négatif), alors la spécificité du test est imparfaite. Cette acception est celle d’un test dont on voudrait maximiser les caractéristiques diagnostiques et la valeur prédictive individuelle. Mais elle n’a pas de sens dans le cadre introduit par Brookmeyer et Quinn. Dans les premiers travaux de Brookmeyer puis de Janssen, le test (ou l’algorithme

FIGURE 2.5 – Fonction de survie $S(t)$ de la période fenêtre - Illustration d'un test « imparfait »



de tests) met en évidence un nombre moyen de personnes se trouvant dans un état dont la durée est caractérisée par une moyenne et une variance. Leur cadre implique que tous les sujets rentrent dans l'état d'infection récente au début de leur infection et le quittent avec un délai variable appelé période fenêtre. Cette période fenêtre est variable parce que les réponses anticorps sont variables entre les individus comme on le représente par la figure 2.2(a). Elle est caractérisée par la variable aléatoire W (pour *window*) qui admet une distribution telle qu'en figure 2.2(b), de moyenne $\bar{\omega}$ et admettant un maximum M .

Si l'on représente la fonction de survie de la période fenêtre comme dans la figure 2.5, on fait apparaître qu'inévitablement, certains sujets ont une période fenêtre individuelle W plus courte que la moyenne des périodes $\bar{\omega}$. Ils seront susceptibles d'être classés comme *faux-négatifs* (i.e. faussement non-récents) s'ils sont testés à un temps compris entre W et $\bar{\omega}$. À l'inverse, d'autres sujets ayant une période fenêtre plus longue que la moyenne seront classés comme *faux-positifs* (faussement récents) s'ils sont testés à un temps compris entre $\bar{\omega}$ et W . Nous allons voir que ce cas de figure de test *imparfait* ne pose pas de problème dans le but d'estimer l'incidence de l'infection.

Soient les probabilités respectives de *faux-négatifs* (FN) et *faux-positifs* (FP) :

$$\begin{aligned} FN &= \int_0^{\bar{\omega}} [1 - S(t)dt] \\ &= \bar{\omega} - \int_0^{\bar{\omega}} S(t)dt \\ FP &= \int_{\bar{\omega}}^M S(t)dt \end{aligned}$$

Par définition, la fonction de survie a pour espérance $E(\omega) = \bar{\omega}$ qui vaut $\int_0^{+\infty} S(t)dt$. Puisqu'elle s'annule au maximum M , $\bar{\omega} = \int_0^M S(t)dt$, donc,

$$\begin{aligned} FN &= \int_0^M S(t)dt - \int_0^{\bar{\omega}} S(t)dt \\ &= \int_{\bar{\omega}}^M S(t)dt \\ &= FP \end{aligned}$$

Ainsi, si la période fenêtre admet un maximum M , les probabilités d'observer un *faux-négatif* et un *faux-positif* sont égales et l'utilisation d'un test *imparfait* permettra malgré tout de détecter le nombre réel d'infections récentes et d'estimer sans biais l'incidence [68]. En théorie, donc, les notions de sensibilité et spécificité ne sont pas nécessaires et la seule connaissance de la distribution de la période fenêtre suffit pour l'estimation d'incidence⁶ [58].

Cependant, pour s'accommoder de sensibilité et spécificité imparfaites, il faut effectivement que les périodes fenêtres admettent un maximum. Or, il s'avère que certains individus ne sortent jamais (ou très tard) de l'état d'infection récente, et qu'une prise en compte de cette proportion de *non-progresseurs* soit bien nécessaire [69; 70]. Au total, si l'on a écarté la notion de test imparfait, il demeure une source d'erreur quand cette proportion (P_{np} ou ε) n'est pas correctement prise en compte. C'est vraisemblablement cette erreur qui apparaît lorsque les estimations sont comparées avec des estimations de référence.

6. « For purposes of estimating incidence, all that is needed is knowledge of the distribution of the window period, which is determined by the optical density cut-off. The concepts of sensitivity and specificity are unnecessary in context of testing with the less-sensitive assay. » Byers (2005)

2.2 Les tests et algorithmes d'infection récente

2.2.1 Inventaire des tests d'infection récente

L'évolution schématique des cinétiques de marqueurs virologiques et sérologiques après la contamination par le VIH est représentée par la figure 2.1 en page 15. Après l'incubation, la réplication virale entraîne une augmentation de la virémie en deux ou trois semaines [71; 72]. L'ARN viral précède donc l'apparition des anticorps anti-VIH et ce potentiel de caractérisation de l'infection (très) récente a été utilisé par plusieurs équipes [35; 71; 73]. L'antigène p24 est détectable quelques jours après le début de la virémie. Mais contrairement à l'ARN viral qui se maintiendra dans l'immense majorité des cas, à un niveau détectable durant l'infection, l'antigène p24 redevient indétectable après que la réponse immunitaire a été initiée c'est-à-dire au bout d'environ deux semaines. Cette courte durée de détectabilité limite donc l'utilisation de l'antigène p24 pour caractériser l'infection récente par le VIH. La réponse immune intervient au bout d'environ trois semaines d'infection. Après un pic d'immunoglobulines M, une montée progressive des immunoglobulines G (IgG) va se produire sur plusieurs mois. Cette évolution est à la base des tests d'infection récente sérologiques développés après la première description de Janssen et coll. (1998) [36]. Le développement de l'algorithme STARHS, utilisant le test Abbott, par les laboratoires des *Centers for disease control and prevention* (CDC) aux États-unis a ouvert la voie à d'autres propositions de tests d'infection récente (tableau 2.1). Nous allons décrire brièvement ces tests en notant une distinction entre ceux qui disposent d'une estimation de la période fenêtre et ceux qui ont été développés, jusqu'à présent, pour classer les patients selon leur durée d'infection (voir tableau 2.1). Pour les premiers, une application du principe de Janssen et coll. (1998) pour l'estimation d'incidence est possible. Nous avons consacré une partie de notre travail (chapitre 3) à inscrire le test EIA-RI dans cette première catégorie.

Tests désensibilisés. En observant que les tests de dépistage de dernière génération détectaient la séroconversion⁷ plus tôt que les anciens, Janssen et coll. suggérèrent de créer

7. À la suite de la contamination, l'apparition d'anticorps en quantité détectable par un test ELISA classique marque la *séroconversion*.

TABLEAU 2.1 – Tests sérologiques d’infection récente décrits dans la littérature

Nom	Principe	Période fenêtre ^a	Référence
Abbott-3A11-LS ^b	Désensibilisation d’un test ELISA commercial	Oui	[36]
Avioq HIV-1 microelisa ^c	Désensibilisation d’un test ELISA commercial	Oui	[74]
BED-CEIA ^d	Proportion d’IgG spécifiques	Oui	[41]
AxSYM HIV-1/2 gO	Rapport d’avidité par modification d’un test commercial	Oui ^e	[43; 75]
Ortho Vitros anti-HIV 1+2	Rapport d’avidité par modification d’un test commercial	Non	[76]
EIA-RI ^f	Réactivité anticorps spécifiques	Oui ^g	[40]
Anti-p24 IgG3 ^h	Réactivité isotype IgG3	Non	[42]
Inno-LIA HIV-I/II Score	Score de réactivité aux antigènes du Western-blot	Non	[77]
SeroDIA-HIV	Agglutination	Non	[78]
OraQuick Advance HIV-1/2	Désensibilisation d’un test rapide commercial	Non	[79; 80]

a. Une calibration de la durée de la transition entre l’état récent et non-récent est décrite

b. Commercialisation arrêtée en 2003

c. Remplace le test Vironostika

d. Test commercial dédié à l’estimation d’incidence

e. Une étude de calibration a été décrite très récemment [81]

f. Test non commercial

g. La calibration de la période fenêtre est présentée au chapitre 3

h. Test non commercial

un test volontairement « désensibilisé » (*less-sensitive* ou *detuned assay*), pour obtenir un temps de séroconversion plus tardif que pour les tests conventionnels [58]. Le test est désensibilisé en augmentant la dilution à laquelle l’échantillon est dosé et en diminuant le temps d’incubation de la réaction. Il est appliqué à des échantillons d’individus confirmés positifs par un test ELISA dans les conditions classiques. Un résultat négatif pour le test désensibilisé indique une infection par le VIH récente. Cette approche a été utilisée pour deux tests diagnostiques commerciaux : Abbott-3A11 (laboratoire Abbott) [36] et Vironostika-HIV1-EIA (laboratoires Organon puis Biomérieux) [39; 74; 82]. Deux inconvénients ont limité cette approche. En premier lieu, ces tests ayant été mis au point à

partir d'un isolat de virus de sous-type B, il n'étaient pas applicables en l'état pour des sous-types non B [83; 84]. La nécessité de prendre en compte une période fenêtre différente selon le sous-type de virus a été évoquée [63] mais jamais clairement établie. Le deuxième inconvénient tient au fait qu'avec l'introduction de nouvelles générations de test diagnostiques, les commercialisations de ces tests ont été successivement arrêtées [38]⁸. Avec le même souci de répondre à ces inconvénients, trois tests ont été développés : le test BED, le test d'avidité et le test EIA-RI.

BED-CEIA. En 2002, Parekh et coll. proposent un nouveau test (BED-CEIA) permettant de détecter une infection récente par les différents sous-types de VIH-1 avec les mêmes critères (seuil de détection et période fenêtre) [41]. Ce test, spécifiquement destiné à la détection de l'infection récente, diffère du principe de test désensibilisé en se basant sur la proportion des IgG qui sont dirigés contre les antigènes introduits et non sur leur quantité. Le peptide utilisé dans la réaction immuno-enzymatique est décrit comme suffisamment discriminant et représentatif pour détecter tous les sous-types du groupe M du VIH-1. Néanmoins, il a été montré que les périodes fenêtres différaient tout de même selon les sous-types de virus [85]. Après que les contrôles et calibrateurs ont été mis au point, et que le test a pu être transféré à d'autres laboratoires, il a été mis à disposition sous forme d'un kit commercial (Calypte HIV-1 BED).

Tests d'avidité. En 2003, Suligoi et coll. développant les travaux de Le Guillou et coll. [86] ont présenté une autre technique de test d'infection récente basée sur l'augmentation avec le temps de l'avidité des anticorps anti-VIH totaux vis-à-vis de l'antigène [43; 75]. Le principe est de traiter un aliquot de l'échantillon par une solution dénaturante qui élue les anticorps présentant le moins d'avidité. Le fait de comparer les résultats des ELISA réalisés sur l'échantillon traité et l'échantillon non traité permet de quantifier la part d'anticorps à faible avidité et ainsi l'ancienneté de l'infection. Les tests d'avidité présentent les avantages d'être automatisables, peu coûteux et seraient moins sensibles aux différences de sous-type de virus que les tests quantitatifs [44; 76; 87].

EIA-RI. Barin et coll. ont développé un test d'infection récente qui consiste en la quantification des anticorps dirigés contre l'épitope immunodominant (IDE ou TM) de la glycopro-

8. Le test Vironostika est aujourd'hui de nouveau commercialisé par le laboratoire Avioq.

téine d'enveloppe gp41 et les peptides issus du domaine V3 de la glycoprotéine gp120 [40]. Ce test, non commercial, présente l'avantage d'être réalisable sur un prélèvement de sérum séché sur un support buvard, ce qui simplifie le recueil, le transport et la conservation des échantillons. Le test est également appelé IDE-V3 dans la littérature internationale.

Autres tests. D'autres approches ont été utilisées pour détecter l'infection récente, mais sans que les tests résultants n'aient été utilisés pour estimer l'incidence de l'infection par le VIH. On peut citer un test basé sur la quantification de l'isotype IgG3 [42], l'adaptation semi-quantitative d'un test de confirmation Western Blot [77], un test d'agglutination [78], et l'adaptation de tests de dépistage rapides [79; 80] (voir tableau 2.1).

Contrôles et standardisation de la mesure quantitative

Pour la plupart des tests d'infection récente, la mesure quantitative est une densité optique. Pour standardiser cette mesure, des contrôles et calibrateurs sont testés en même temps que les échantillons à évaluer. Nous avons rassemblé dans le tableau 2.2 les informations relatives à l'utilisation de contrôles définissant des limites d'acceptation d'une mesure de référence (basse, intermédiaire ou haute) et d'un calibrateur permettant de standardiser la valeur de marqueur. Le résultat de ces tests est alors une mesure standardisée de densité optique, qui tient compte de la variation des conditions opératoires exprimée dans les mesures des échantillons de contrôle ou des calibrateurs. De plus, pour augmenter la spécificité des tests, les échantillons positifs sont confirmés en les testant à nouveau en triple exemplaire.

2.2.2 Méthodes de calibration des tests d'infection récente

Le tableau 2.1 met en évidence que la calibration de la période fenêtre n'a été réalisée que pour une partie seulement des tests d'infection récente décrits jusqu'à présent. Comme nous l'avons montré jusqu'ici dans ce chapitre, c'est pourtant le critère essentiel du calcul d'incidence. Nous pouvons expliquer ce constat par le fait qu'aucun consensus sur la méthodologie permettant cette calibration n'a véritablement été établi. Seules quelques publications ont exposé les étapes de calibration au cours du développement du

TABLEAU 2.2 – Tests d’infection récente standardisant la densité optique du marqueur

Assay	Ref	Controls ^a	Calibrator ^b	Standardized OD ^c
Abbott 3A11-LS	[36]	Neg Pos	none	$\frac{OD-OD_{neg}}{OD_{pos}}$
Abbott 3A11-LS	[84]	Neg HighPos LowPos	LowPos	$\frac{OD-\text{median}(OD_{neg})}{\text{median}(OD_{cal})}$
Vironostika LS EIA	[63; 74]	Neg HighPos LowPos	LowPos	$\frac{OD-\text{median}(OD_{neg})}{\text{median}(OD_{cal})-\text{median}(OD_{neg})}$
BED Capture EIA	[41]	Neg HighPos LowPos	LowPos	$\frac{\text{median}(OD)}{\text{median}(OD_{Cal})}$

a. Neg : negative sample; Pos : positive sample; HighPos : positive in the higher range of values; LowPos : positive in the lower range of values. Controls must be within their respective range

b. Controls and calibrator are tested in triplicate

c. OD is for the specimen; OD_{neg} , OD_{pos} , OD_{cal} are for the controls or calibrator. Specimens screened as recent are confirmed in triplicate and the median value is used

test [41; 63; 64; 74]. Et dans ces exemples, beaucoup d’aspects de l’analyse qui nous paraissent essentiels (notamment l’exclusion de certains patients aux réponses atypiques et le choix du seuil de coupure du test) ne sont pas explicités.

Nous présentons ici les méthodes décrites dans la littérature pour paramétrer la période fenêtre transitoire propre à chaque test signalant l’infection récente. Ces méthodes ont l’objectif commun de déterminer cette période fenêtre dans une population de référence pour laquelle les quantités de biomarqueurs et les durées d’infection sont connues (ou raisonnablement estimées), de manière à pouvoir appliquer cette estimation à une population d’enquête pour laquelle seuls les biomarqueurs sont mesurés et l’incidence est à estimer. Les populations de référence utilisées pour les études de calibration décrites dans la littérature sont présentées dans le tableau 2.3.

Déterminer la durée de la période fenêtre

La figure 2.6 représente la période fenêtre d’un test d’infection récente basé sur la réponse anticorps. Cette période fenêtre débute après la séroconversion ⁹, c’est-à-dire au moment

9. ou la contamination si l’on considère que le délai entre les deux événements est négligeable [46; 47; 88]

TABLEAU 2.3 – Échantillons utilisés par les études de calibration des tests d’infection récente

Assay	Ref	Population	Patients	Specimens	Virus
3A11-LS	[36]	Plasma donors, US	38	314	B
		STD clinic, Trinidad	18	149	B
		SFMHS	48	227	B
		Total	104	690	
3A11-LS	[84]	IDU, Bangkok	18	105	B
		IDU, Bangkok	72	417	E
		Total	90	522	
Vironostika	[74]	STD clinic, Trinidad	16	112	B
		SFMHS	48	177	B
		Total	64	289	
Vironostika	[63]	IDU, Bangkok	20	130	B'
		IDU, Bangkok	71	462	E
		Total	91	592	
BED	[41]	C ^{al} panels, US	22	67	B
		IDU, Bangkok	18	104	B
		IDU, Bangkok	72	414	E
		Other, US	37	37	B
		Total	149	622	
BED	[64]	Pospartum, S. Africa	41	208	C

STD : Sexually transmitted disease

SFMHS : San Francisco Men’s Health Study

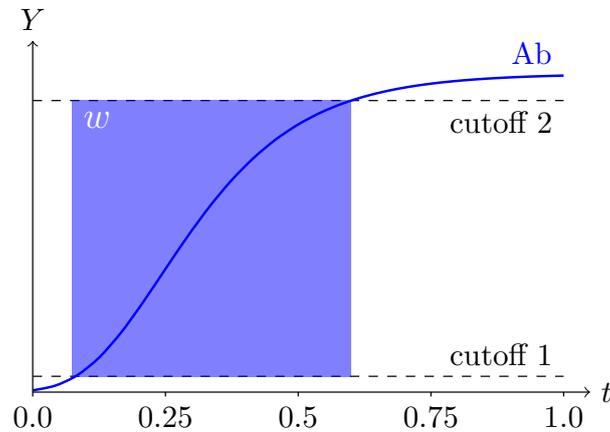
IDU : Injecting drug users

où un patient infecté devient détectable par les tests de dépistage ELISA. La fin de la période correspond au moment où un certain niveau de la réponse anticorps est atteint. Comme on l’a vu, la quantification de cette réponse est variable selon les tests. Elle peut reposer sur la quantité d’anticorps, la concentration des anticorps spécifiques ou le degré d’avidité de ceux-ci [38]. Un niveau seuil de la réponse anticorps permet de distinguer les infections récentes des infections anciennes.

Ainsi, les étapes nécessaires à la calibration d’un test d’infection récente sont les suivantes :

1. Déterminer le niveau seuil de la réponse anticorps
2. Déterminer la date de séroconversion des patients dans une population de référence

FIGURE 2.6 – Représentation de la cinétique d’un biomarqueur anticorps et de la période fenêtre, fonction du seuil de coupure



L’axe Y correspond à la mesure quantitative du biomarqueur anticorps. L’axe t correspond au temps en années depuis l’infection. Le « cutoff 1 » est le seuil de détection du biomarqueur anticorps. Le « cutoff 2 » est le seuil de coupure en dessous duquel la valeur du marqueur anticorps signe une infection récente. La période fenêtre correspond à la durée w entre la détection de la séroconversion et le franchissement du « cutoff 2 ».

3. Déterminer le temps séparant la séroconversion et le franchissement du seuil par un biomarqueur pour chaque individu
4. En déduire une période fenêtre moyenne et son écart-type applicable à la population d’enquête

Panel de séroconvertisseurs. La plupart des estimations publiées ont nécessité des panels de séroconvertisseurs, typiquement des échantillons recueillis chez des personnes suivies de façon prospective très peu de temps après leur contamination par le VIH [41; 63; 64; 74]. Ces mêmes estimations utilisent des méthodes de régression pour données corrélées. Ces régressions établissent une relation entre la mesure du marqueur et le temps estimé depuis la séroconversion.

Les expériences de calibration publiées ont utilisé les paramètres de sensibilité et spécificité pour définir leur test [51]. Il est nécessaire de préciser ce que signifie cette approche dans le contexte du test d’infection récente. On considère, dans cette approche, que l’infection du patient est *récente* (respectivement *ancienne*) quand sa durée d’infection est inférieure (supérieure) à un certain temps T (souvent assimilé à la moyenne de la période fenêtre du test, c’est la partie discutable de l’approche comme nous l’avons décrit pour les ajustements

du calcul d'incidence à la section 2.1.3). Et l'on considère que le résultat du test fournit une information *observée* prédictive de l'état récent/ancien. Ainsi l'on cherche à mettre au point et par la suite à utiliser un test qui fournit le nombre observé O_R de personnes en infection *récente* le plus proche du nombre réel N_R de personnes dont la durée d'infection t est inférieure à T . Un test de sensibilité (Se) et spécificité (Sp) imparfaites, appliqué à N personnes séropositives fournit la répartition d'effectifs du tableau 2.4.

TABLEAU 2.4 – Répartition théorique de N individus positifs classés par un test d'infection récente « imparfait »

	Recent	Established	Total
Test negative	$(1 - Se) \cdot N_R$	$Sp \cdot N_E$	O_E
Test positive	$Se \cdot N_R$	$(1 - Sp) \cdot N_E$	O_R
Total	N_R	N_E	N

Pour la calibration du test BED-CEIA décrite par Parekh et coll. (2002) [41], trois étapes ont été distinguées. La première étape consistait à faire varier conjointement le seuil de coupure de la mesure (c'est-à-dire le cutoff 2 de la figure 2.6) et le temps depuis la séroconversion (entre 100 et 200 jours par palier de 10 jours) de manière à optimiser le pouvoir diagnostique du test. Il s'agissait donc de calculer les valeurs de sensibilité et spécificité pour toutes les combinaisons de seuil de coupure et durée d'infection. Le couple (seuil de coupure, durée d'infection) optimal a été alors choisi comme celui qui maximise la demi somme $(Se + Sp)/2$. À titre d'exemple pour le test BED-CEIA, le seuil de coupure optimal était de 1 pour une durée depuis la séroconversion de 160 jours. La deuxième étape consistait à modéliser les évolutions individuelles de la mesure de marqueur en fonction du temps. Après avoir transformé les variables par des fonctions logarithmes (du temps) et racine carrée (de la mesure du marqueur), un modèle linéaire mixte a été ajusté à 622 mesures observées (tableau 2.3). La troisième étape consistait à calculer d'après la pente des trajectoires individuelles prédites (telles que dans la figure 2.2), la durée de l'intervalle entre le franchissement du cutoff 1 (séroconversion) et du cutoff 2 (fin de l'infection récente) fixé à l'étape 1. Cet intervalle correspond à la période fenêtre. Il restait à en estimer la moyenne et l'écart-type.

On peut s'étonner que, dans toutes les publications traitant de l'estimation de la période fenêtre à partir du suivi longitudinal de séroconvertisseurs, un certain nombre d'individus

aient été exclus de l'analyse, parce que le franchissement du seuil n'était pas observé chez eux [41; 63; 64; 74]. Cette exclusion concerne les individus dont le marqueur est d'emblée au-dessus du seuil (courte période fenêtre) et ceux qui restent en deçà du seuil durant le suivi (non-progresseurs). Ceci revient à choisir les progressions les plus typiques et à surestimer la précision de la moyenne de la période fenêtre.

Patients testés par intervalle. Très récemment, deux équipes ont décrit une autre approche d'estimation de la période fenêtre [89; 90]. Elle consiste à déduire sa durée des nombres observés de séroconversions et d'infections récente en population au cours d'un intervalle de temps. Pour Busch et coll. (2009), la période fenêtre est calculée dans une population de donneurs de sang infectés par différents sous-types de virus, en « inversant » la formule de l'équation 2.1 [89]. Pour Kassanjee et coll (2009), il s'agit de mesurer le nombre d'individus détectés en infection récente entre deux enquêtes transversales dans la même population négative à la première enquête [90]. La valeur de la période fenêtre moyenne est estimée en maximisant la vraisemblance de la fonction reliant ce nombre et l'intervalle de temps entre les enquêtes. Ces deux méthodes présentent l'avantage de ne pas nécessiter un suivi longitudinal de séroconvertisseurs et d'utiliser une population de référence moins restrictive que celle d'un panel de séroconvertisseurs. Ceci est probablement une voie d'avenir pour la calibration de nouveaux tests ou d'anciens tests sur de nouvelles populations, car les panels de séroconvertisseurs sont rares [91].

Déterminer la proportion de non-progresseurs

Il apparaît aujourd'hui que l'estimation d'incidence basée sur l'utilisation des tests d'infection récente doit tenir compte d'un taux de résultats faussement récents dû à la présence de sujets infectés non-progresseurs [92]¹⁰. De plus, le paramètre à prendre en compte, sous la forme d'un taux de faux récents souvent noté ε ou de la proportion de non-progresseurs P_{np} , doit être mesuré localement pour pouvoir s'appliquer au contexte de l'étude d'incidence [18; 92].

10. Le mécanisme de la non progression vis-à-vis de la réponse anticorps et la nature de ces sujets non progresseurs ne sont par contre pas encore bien établis. Notamment, comprennent-ils, exclusivement ou entre autres, les sujets dits *elite controllers* qui contrôlent la répllication virale durant de très nombreuses années? [67; 93]

La proportion de non-progresseurs est liée à un test ou un algorithme de test. Elle peut être déterminée en appliquant le test à une population de sujets séropositifs dont la durée d'infection peut être documentée comme étant supérieure à la plus grande période fenêtre admise pour ce test. On se place alors au-delà de la fenêtre de temps de progression entre l'état récent et non récent du test. McDougal [48] et Hargrove [64] ont proposé de placer cette limite à deux fois la durée moyenne de la période fenêtre ($2\bar{\omega}$) mais, à notre sens, rien ne permet d'établir que cela correspond bien au maximum de la distribution des périodes ω . Dans ces conditions, la proportion de non-progresseurs est estimée par le nombre de sujets détectés en infection récente (N_R) divisé par la taille de la population de positifs (P) :

$$P_{np} = \varepsilon = \frac{N_R}{P}$$

La variance de la proportion peut être estimée simplement sous l'hypothèse d'une distribution binomiale [18]. Comme pour l'estimation de la période fenêtre, la population de référence utilisée pour estimer la proportion de non-progresseurs doit être représentative de la population d'étude pour laquelle l'incidence sera déterminée.

Il n'y a pas de règle établie quant au maximum acceptable de cette proportion pour estimer l'incidence. Cependant plus cette proportion est importante, plus son estimation devra être précise (donc l'échantillon de personnes permettant son calcul devra être grand) pour que l'estimation d'incidence reste précise à son tour. On peut constater qu'avec un test dont la proportion de non-progresseurs serait de plus de 10%, il devient très difficile, en termes de taille d'échantillon, d'estimer précisément l'incidence de l'infection [66]. C'est pourquoi un des objectifs d'amélioration de l'utilisation des tests d'infection récente est de minimiser le taux de faux-récents en utilisant un algorithme combinant plusieurs tests (dont la mesure de la charge virale). L'utilisation de ces multiples tests est censée rendre l'algorithme plus spécifique [51; 94].

2.3 Applications de la méthode

2.3.1 Enquête de prévalence et surveillance sentinelle

Le contexte le plus courant d'application des tests d'infection récente est celui des études de prévalence. De nombreuses études transversales répétées ont été réalisées dans des centres de dépistage du VIH ou d'autres infections sexuellement transmissibles, notamment aux États-Unis [95–97], dans quelques pays européens [98; 99] et au Brésil [100]. Ces études ont permis de calculer des tendances dans l'évolution des taux d'incidence pour évaluer rétrospectivement la dynamique de l'infection dans des populations à risque élevé. Cependant des problèmes de représentativité et de biais de sélection sont susceptibles d'affecter ces estimations dans des sites de dépistage volontaire (comme nous le verrons à la section 2.3.3). De la même manière, des échantillons prélevés à l'inclusion dans des programmes d'échange de seringues ou des enquêtes de rue ont ainsi servi à estimer des tendances de l'incidence du VIH parmi des usagers de drogues par voie intraveineuse à New York [101] et à San Francisco [102] sur une longue période.

Au delà des sous-groupes de population à haut risque, il faut tester un grand nombre de sujets ou se placer dans un contexte de forte incidence pour pouvoir obtenir une estimation suffisamment précise en population. On peut citer ici les études estimant l'incidence à partir de la détection de l'infection récente au sein de programmes de dépistage prénatal au Cambodge [103], en Afrique du Sud [104], aux États-Unis [105], au Brésil [106]; dans le cadre du *screening* des donneurs de sang aux États-Unis [34; 36], en France [50] ou en Côte d'Ivoire [107]; ou dans des enquêtes nationales de prévalence en Afrique du Sud [108] ou en Ouganda [109].

Dans tous ces exemples, des échantillons de sang étaient prélevés en routine et ont pu être testés pour l'infection récente de manière prospective ou rétrospective. En règle générale, des informations démographiques et comportementales étaient disponibles en regard des résultats biologiques, pour les sujets séropositifs comme séronégatifs. L'utilisation d'enquêtes de prévalence a ainsi permis d'obtenir des données d'incidence pour un coût financier et logistique relativement faible. Dans certains contextes, cette approche basée sur les biomarqueurs est même le seul moyen d'estimer l'incidence de l'infection par le VIH.

C'est le cas quand les données de tests antérieurs ou de périodes d'exposition ne sont pas disponibles comme dans la population des donneurs de sang testés au moment de leur premier don [50].

2.3.2 Données de surveillance des diagnostics d'infection

Il semble particulièrement intéressant d'utiliser les diagnostics déclarés à un système de surveillance national ou régional, pour y caractériser les infections récentes. Mais les méthodes que nous avons exposées jusque là ne peuvent pas être utilisées pour en déduire une mesure de l'incidence. Contrairement au schéma d'une enquête transversale, les systèmes de surveillance des diagnostics collectent une information pour les seules personnes testées séropositives mais ne recueillent généralement pas d'information sur les personnes séronégatives. Si bien que le dénominateur des formules précédentes (cf. section 2.1.1), traduisant le nombre de personnes à risque, ne peut pas être calculé. Une autre approche est alors nécessaire pour obtenir un estimateur d'incidence qui soit applicable à la population concernée par le système de surveillance, et qui s'accommode du fait que les personnes testées négatives n'apparaissent pas dans le système de surveillance.

Une telle approche a été décrite [110; 111] et appliquée à l'estimation nationale de l'incidence de l'infection par le VIH aux États-Unis [29]. Le concept de ces travaux est analogue à la théorie des sondages. Ici, les cas déclarés détectés en infection récente sont considérés comme un échantillon aléatoire de l'ensemble des cas d'infections par an, avec une probabilité d'inclusion en rapport avec leur comportement de dépistage. Selon cette probabilité, un poids est attribué aux cas observés, et la somme de ces poids fournit le nombre de cas incidents. Cette approche fournit une opportunité de suivre la dynamique de l'infection en utilisant le cadre existant de la surveillance des diagnostics, à condition que cette surveillance recueille des informations sur le comportement de dépistage des cas.

Enfin, une autre approche permettant de contourner l'absence de données sur les sujets testés positifs a été décrite au Canada. Celle-ci consiste à adjoindre au système de surveillance des cas séropositifs une collecte d'information (nombre et facteurs de risque) par les laboratoires pour un échantillon aléatoire d'individus testés négatifs [112]. Ce système

de surveillance élargi permet alors d'utiliser la formule de Janssen pour calculer l'incidence dans les différents groupes à risque au plan national, ou en l'occurrence provincial.

2.3.3 Limites des estimations

Parmi les facteurs qui perturbent la validité des estimations d'incidence de l'infection par le VIH à l'aide des tests d'infection récente, nous allons distinguer deux catégories : les limites de la détermination de l'infection récente, liées au stade d'immunodépression, à la présence de patients traités et aux différents sous-types de virus circulant ; et les limites dans l'interprétation des estimateurs de l'incidence en termes de représentativité et en présence d'un biais de sélection.

Limites dans la détermination de l'infection récente

Au delà de la notion de test imparfait que nous avons déjà évoquée (section 2.1.2), la majorité des tests étant basés sur la quantification de la réponse immunologique au virus, les facteurs influençant cette réponse vont affecter les résultats de ces tests. Les tests basés sur la qualité de la réponse anticorps, comme les tests d'avidité, seraient moins influencés [38; 43; 44; 51; 87].

En premier lieu, les personnes diagnostiquées au stade sida¹¹ de l'infection peuvent être faussement détectées comme étant en infection récente à cause de leur faible quantité d'anticorps. Pour la même raison, les personnes à un stade avancé de déficit immunitaire mais pas encore au stade sida pourraient également être mal classées [38]. Pour éviter une surestimation du nombre d'infections récentes, il est nécessaire de recueillir une information sur le stade clinique ou le taux de CD4 pour pouvoir exclure ou reclasser ces cas d'infections comme très certainement non récentes.

Un deuxième facteur évoqué comme pouvant influencer le résultat des tests d'infection récente est le traitement antirétroviral. Dans le cas d'un traitement administré précocément au stade de la primo-infection, le traitement en agissant sur la réplication virale va affecter

11. Dont la définition varie selon la prise en compte du taux de lymphocytes CD4 (États-Unis) ou des seuls critères cliniques (Europe).

durablement la réponse anticorps [113]. En revanche, même si c'est très souvent évoqué pour l'ensemble des patients traités, il n'est pas évident qu'un traitement initié après la montée des anticorps modifie les résultats des tests d'infection récente. Il a été néanmoins proposé par certains d'identifier les patients traités (pour les exclure du calcul d'incidence), soit en collectant les informations nécessaires auprès du patient ou du clinicien, soit en détectant la présence d'antirétroviraux dans les échantillons sanguins par spectrométrie de masse [98; 114].

Enfin, la réponse immunologique et donc les résultats des tests sont affectés par le sous-type de virus ou le contexte génétique du patient. Il est montré que ces tests, qui ont été majoritairement développés sur des échantillons de patients infectés par un virus de sous-type B¹², donnaient des résultats divergents chez des patients infectés par virus non-B [64; 76; 107; 115; 116]. Il est donc nécessaire d'évaluer les caractéristiques (période fenêtre et taux de non-progresseurs) des tests dans différentes populations [117; 118].

Nous avons vu par l'évocation de ces limites que l'interprétation des résultats du test requiert de collecter des données caractérisant les individus testés [119]. Certaines informations (sous-type et présence d'antirétroviraux) peuvent être obtenues à partir de l'échantillon sanguin prélevé pour le test d'infection récente. C'est ce qui est organisé dans le système de surveillance des diagnostics en France où le sérotype viral et le statut d'infection récente sont analysés sur le même échantillon collecté sur papier buvard. Par ailleurs, pour interpréter les estimations d'incidence, il sera également nécessaire d'obtenir des données sur les caractéristiques des sujets comme le sexe, le mode de contamination, etc.

Représentativité et biais de sélection

Une problématique courante des estimations d'incidence découle du fait que les populations d'études ne sont pas sélectionnées aléatoirement et peuvent ne pas être représentatives des populations sous-jacentes à risque d'infection. C'est particulièrement le cas dans le contexte des sites de dépistage du VIH ou des cliniques de prise en charge des infections sexuellement transmissibles. Un biais peut être introduit dans deux directions. Les per-

12. Le sous-type B est le sous-type de VIH circulant le plus couramment dans les pays industrialisés.

sonnes à risque peuvent être amenées à recourir au dépistage plus fréquemment avec en conséquence une augmentation de l'incidence mesurée. D'un autre côté, les personnes dont la fréquentation des sites de dépistage est intégrée à une stratégie de prévention peuvent avoir un moindre risque d'infection que celles qui ne les fréquentent pas du tout, par un manque d'accès aux centres, par non-reconnaissance de leur risque ou par peur d'un résultat positif. Schoenbach et coll. (2001) ont soulevé ce problème et questionné le bien-fondé des estimations d'incidence à partir des sites de dépistage [120]. De plus, ils ont pointé la difficulté de généraliser ces estimations, obtenues dans la « clientèle » des centres, à une population plus large. Pour obtenir une incidence extrapolable à une population plus large, il semble préférable de collecter les données au niveau de systèmes de surveillance où les individus sont testés de manière systématique et où de grands échantillons peuvent être constitués. On peut citer comme exemple les cliniques de suivi prénatal. Néanmoins, les études consacrées aux personnes fréquentant les centres de dépistage peuvent tout de même apporter une information sur la dynamique de l'infection au cours du temps, particulièrement si elles sont associées à des données comportementales [95]. De plus, on peut rappeler que le défaut de représentativité peut concerner toute méthodologie d'estimation d'incidence, y compris les études longitudinales prospectives [10; 49].

Un autre problème provient du biais de sélection qui intervient lorsque les individus récemment infectés sont enclins à se faire dépister plus rapidement à cause de signes de primo-infection ou à la suite d'une prise de risque particulière. Ce cas de figure aura tendance à surestimer le nombre d'infections récentes détectées par rapport au niveau réel de l'incidence. C'est d'autant plus problématique que la fréquence de cette situation diffère selon les groupes de population. Remis et Palmer (2009) qualifient ce biais comme « effet de séroconversion » (*seroconversion effect*). Ils proposent une façon de l'évaluer en réalisant plusieurs estimations d'incidence basées sur des périodes fenêtres variables du test [121; 122]. Leur approche repose sur le fait qu'en l'absence d'effet séroconversion, toutes les estimations fourniront le même taux d'incidence, quelle que soit la durée de période fenêtre moyenne choisie. Dans le cas contraire, si la date d'infection tend à être proche du dépistage, les estimations utilisant les périodes fenêtres les plus courtes seront plus élevées. Avec la même idée, Song et coll. (2006) formalisent l'hypothèse d'indépen-

dance entre l'occurrence de l'infection et le moment du test et proposent une procédure pour la tester [123].

Ces biais potentiels peuvent être retrouvés dans les estimations faites à partir des données de la surveillance des nouveaux diagnostics d'infection par le VIH. En effet l'inclusion dans le système de surveillance dépend largement du recours au dépistage et aux soins des personnes infectées.

2.4 Discussion

Dans l'ensemble, les méthodes utilisant des techniques de laboratoires peuvent être d'une grande valeur pour estimer l'incidence de l'infection par le VIH. Elles présentent l'avantage de s'appuyer sur des recueils de données et d'échantillons sanguins déjà existants, enquêtes de prévalence ou systèmes de surveillance continus, pour apporter une information sur la dynamique de transmission. Elles permettent d'obtenir des estimations d'incidence pour des périodes récentes, sans besoin d'un suivi longitudinal. Nous avons vu que ces méthodes ont été appliquées largement dans le contexte d'enquêtes de prévalence et que les limites y sont bien décrites, notamment le défaut de représentativité.

En revanche, des développements sont nécessaires quant aux aspects spécifiques de la période fenêtre et des non-progresseurs vis-à-vis des tests. Pour la période fenêtre, des questions restent en suspens quant aux méthodes d'estimation (notamment comment fixer le seuil de coupure du test) et à la possibilité d'obtenir une estimation *universelle* pour les différents contextes de population. Pour les non-progresseurs, le débat est en cours pour savoir leur fréquence et leurs caractéristiques, et surtout comment les prendre en compte. De nombreux acteurs de la recherche épidémiologique sur le VIH attendent que ces questions soient réglées pour généraliser l'application de cette approche [14].

Chapitre 3

Evaluation et calibration du test EIA-RI

3.1 Contexte

Le test d'infection récente EIA-RI que nous avons utilisé en France depuis 2003 a été développé par le CNR à partir d'échantillons de cohortes de séroconvertisseurs récents (cohorte PRIMO) et anciens (cohortes SEROCO et HEMOCO) [40]. Ce développement avait alors permis d'identifier les deux biomarqueurs anticorps dont la cinétique est caractéristique du début de l'infection, TM et V3, ainsi qu'un algorithme permettant de classer les individus infectés depuis moins de 180 jours selon les valeurs de ces marqueurs. Pour autant, l'utilisation de cet algorithme est restreinte par deux facteurs qui limitent l'inférence des résultats en terme d'incidence. En premier lieu, si un état d'infection récente peut être détecté, la durée de cet état n'a pas été mesurée en tant que telle [38]. Deuxièmement, le test a été développé à partir d'un petit nombre d'échantillons, provenant de patients faiblement diversifiés. Particulièrement, les durées d'infection de ces patients étaient polarisées en deux groupes de très courtes et très longues durées. Ces deux facteurs ont pour conséquence que l'état d'infection récente détecté par le test n'est pas défini dans le temps de façon généralisable pour quantifier la dynamique des infections dans une population quelconque.

Le test EIA-RI comme tous les autres tests d'infection récente a été développé à partir d'échantillons sanguins de patients ayant récemment séroconverti et à date d'infection connue. Par la difficulté de réunir ce type d'échantillons, le nombre et la diversité des patients servant de référence sont naturellement limités. Compte-tenu des problèmes de détection de l'infection récente que nous avons exposés dans la section 2.3.3, concernant l'origine des patients ou les sous-type de virus, on peut craindre que les résultats du test soient différents pour les patients d'origine étrangère qui contribuent largement à l'épidémie en France [4; 124].

Le test EIA-RI a initialement été conçu pour classer les individus séropositifs selon que leur délai depuis la contamination est inférieur ou supérieur à 180 jours [40]. L'état d'infection récente est alors défini d'après la durée d'infection¹. La caractérisation de cet état a servi à mesurer le nombre et la proportion de diagnostics réalisés dans les 180 premiers jours de l'infection. C'est l'utilisation qui a été faite jusqu'à présent dans le système français de surveillance des nouveaux diagnostics qui emploie le test en routine [125; 126]. Et de même que d'autres équipes à travers le monde ont pu le faire [109; 127–131], une analyse des facteurs de risque associés à l'infection récente a été proposée en France [125; 132]. Cependant, l'interprétation de ces résultats est limitée puisque le nombre de diagnostics à moins de 180 jours d'infection est lié au taux d'incidence mais aussi à un dépistage plus ou moins précoce. La proportion des diagnostics dans les 180 premiers jours, quant à elle, est aussi liée à la prévalence des infections chroniques non diagnostiquées, qui est variable selon les populations et au cours du temps.

En contraste avec cette utilisation du test EIA-RI, plusieurs éléments sont à retenir de la revue des méthodes d'estimation d'incidence du VIH à partir des tests d'infection récente que nous avons exposée au chapitre 2. D'une part, dans le concept de Janssen, l'état d'infection récente est défini par un marqueur biologique en dessous d'un certain seuil. Le test ne prédit pas le délai depuis l'infection, il signale un état dont on a mesuré la durée au préalable, au sein d'une population de référence². D'autre part, dans l'objectif d'estimer

1. Alors que l'état d'infection récente est défini dans le concept de Janssen par un marqueur biologique en dessous du seuil.

2. Il se trouve que cet état d'infection récente démarre au tout début de l'infection mais il pourrait tout aussi bien, par exemple, démarrer à 3 mois de la contamination et s'achever à 6 mois. Une estimation valide de l'incidence basée sur cet état transitoire resterait possible.

l'incidence, le nombre d'individus détectés durant cet état d'infection récente n'est qu'une quantité intermédiaire du calcul, la mesure d'intérêt étant bien l'incidence de l'infection dans la population. Enfin, les critères essentiels de l'estimation sont la durée de la période fenêtre et la proportion d'individus non-progresseurs. Or, ces paramètres n'ont jusqu'alors pas été évalués pour le test EIA-RI [38] et ceci rend impossible l'utilisation de la méthode d'estimation de l'incidence décrite au chapitre 2.

De ces constats découlent les objectifs du travail que nous avons mené concernant le test EIA-RI utilisé en France. D'une part, nous avons évalué la performance du test à détecter l'infection récente au sein d'une population plus large et diversifiée que celle ayant servi à construire et valider le test [40], à la fois en termes d'origine des patients et de durée d'infection. D'autre part, nous avons estimé les paramètres de calibration du test EIA-RI pour estimer l'incidence de l'infection par le VIH. Les étapes de calibration comprennent la modélisation de la cinétique des marqueurs anticorps au cours du temps après la contamination, la détermination d'un seuil de coupure qui définira l'état d'infection récente et l'estimation de la durée de cet état dans la population de référence, estimation qui tiendra compte de la proportion de sujets non-progresseurs.

3.2 Performance du test EIA-RI

Nous avons évalué la performance du test EIA-RI à détecter l'infection récente au travers de son application aux nouveaux diagnostics d'infection par le VIH déclarés au système de surveillance des cas en France. Cette partie de notre travail fait l'objet de l'article 2 en annexe D.

3.2.1 Matériels et méthodes

Test EIA-RI

Le test EIA-RI a initialement été développé par le centre national de référence du VIH (CNR) pour indiquer comme résultat positif les infections datant de moins de 180 jours (6 mois) [40]. Ce résultat est obtenu au travers d'un algorithme qui combine les valeurs quantifiant la liaison des anticorps à deux domaines antigéniques caractéristiques du virus : l'épitope immunodominant (IDE ou TM) de la protéine gp41 et la région V3 de la protéine gp120. On parlera alors de marqueurs TM (ou IDE) et V3 comme les deux valeurs quantitatives de densité optique fournies par le résultat du test. L'algorithme de classement fournit quant à lui une probabilité \mathbb{P} issue d'une relation logistique avec les valeurs TM et V3, qui représente la probabilité, sachant les valeurs des marqueurs, que la durée d'infection (T) soit de plus de 180 jours. Cette probabilité augmente donc avec le délai depuis la contamination. Lors du développement décrit en 2005, un seuil de coupure de \mathbb{P} à 0,5 avait été défini comme discriminant de façon optimale les infections de moins de 180 jours des infections plus anciennes. L'algorithme s'écrit :

$$\mathbb{P} = P(T > 180 \text{ jours} | \text{TM}, \text{V3}) = \frac{e^{\alpha + \beta_{\text{TM}} \cdot \text{TM} + \beta_{\text{V3}} \cdot \text{V3}}}{1 + e^{\alpha + \beta_{\text{TM}} \cdot \text{TM} + \beta_{\text{V3}} \cdot \text{V3}}} \quad (3.1)$$

où TM et V3 sont les valeurs des marqueurs; α , β_{TM} et β_{V3} sont les estimations des paramètres issus de l'ajustement d'une régression logistique par GEE. Si $\mathbb{P} \leq 0,5$ alors le résultat est positif et l'infection date de moins de 180 jours, et si $\mathbb{P} > 0,5$, l'infection date de plus de 180 jours. Le test EIA-RI permet un dosage des marqueurs TM et V3 sur un prélèvement de sérum liquide ou de sérum séché après dépôt sur un papier buvard. Pour

les estimations d'incidence au cours de notre travail, les résultats du test ont été obtenus de prélèvements sur buvard.

Patients

La déclaration des diagnostics d'infection par le VIH aux autorités sanitaires est obligatoire en France depuis mars 2003. En pratique, chaque nouveau diagnostic confirmé au niveau d'un laboratoire d'analyse doit être déclaré à l'InVS [126]. En parallèle du formulaire de notification, le laboratoire doit envoyer un buvard de sérum séché, issu du prélèvement de confirmation, au CNR et un second volet du formulaire au médecin prescripteur du test diagnostique.

Pour ce travail, nous avons considéré les diagnostics réalisés entre le 1er janvier 2003 et le 30 juin 2007. Nous avons utilisé les informations cliniques et épidémiologiques fournies par les médecins cliniciens et les biologistes au travers des formulaires de déclaration des cas. Le délai entre l'infection et le diagnostic positif a été estimé en utilisant les informations éventuelles sur la date d'une sérologie VIH antérieure négative, sur la date d'une sérologie VIH antérieure positive, sur la présence d'un profil de séroconversion au test Western-blot³ au moment du diagnostic et sur le stade clinique au moment du diagnostic. Pour chaque diagnostic, un délai d'infection inférieur à 6 mois était défini si une sérologie négative datant de moins de 6 mois était rapportée. Une seconde définition, plus restrictive, considérait le délai comme inférieur à 6 mois si, en plus de la sérologie négative, un stade de primo-infection symptomatique ou la présence d'un profil de séroconversion du Western blot étaient déclarés au moment du diagnostic. À l'inverse, un délai d'infection supérieur à 6 mois était défini si le patient était diagnostiqué au stade sida ou si une sérologie positive datant de plus de 6 mois était retrouvée⁴. Nous avons considéré les infections diagnostiquées au stade sida comme non récentes et les avons traitées séparément. Le taux de CD4 a commencé à être collecté par le système de surveillance à la fin de 2007 et n'était donc pas disponible pour cette analyse.

3. Le Western-blot est incomplet et indique une séroconversion récente ou en cours.

4. Ce dernier cas était possible si la sérologie positive avait été réalisée antérieurement dans un autre laboratoire que celui qui avait initié la déclaration de ce qui, pour lui, était un *nouveau* diagnostic

Analyse

L'analyse statistique a consisté à considérer les informations fournies par les déclarants (médecins et biologistes) comme la *référence* et à comparer le délai d'infection déclaré avec le résultat fourni par le test EIA-RI. Nous avons calculé la sensibilité comme la probabilité d'un résultat du test positif pour les infections datant de moins de 6 mois et la spécificité comme la probabilité d'un résultat concordant pour les infections de plus de 6 mois. Les intervalles de confiance (IC95 %) ont été calculés par la méthode quadratique de Fleiss [133]. Nous avons étudié l'influence de l'origine géographique du patient ou du sous-type de virus en analysant séparément les patients nés dans un pays européen et les patients nés dans un pays d'Afrique subsaharienne. Toutes les analyses ont été réalisées avec le logiciel SAS v9.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

3.2.2 Résultats

Possibilité de dater l'infection

Un total de 20 048 diagnostics confirmés d'infection par le VIH ont été déclarés à l'InVS entre le 1er janvier 2003 et le 30 juin 2007. Après exclusion des échantillons de patients ayant refusé d'être testés pour l'infection récente (3,6 %), de patients pour lesquels le laboratoire n'avait pas envoyé d'échantillon sanguin (18,6 %), de patients infectés par le VIH-2 (1,3 %) ou d'échantillons sans une quantité suffisante de sérum pour réaliser le test (0,5 %), il restait 15 331 diagnostics avec un résultat disponible pour le test EIA-RI. Sur la base des informations des praticiens déclarants, 6 782 de ces 15 331 (44,2 %) cas ont pu être classés selon leur durée d'infection : 1 879 (12,3 %) avaient une durée de moins de 6 mois, 2 577 (16,8 %) une durée de plus de 6 mois sans être au stade sida et 2326 (15,2 %) était au stade sida de l'infection. La durée d'infection n'a pas pu être déterminée pour les 8 549 infections (55,8 %) restantes. Les caractéristiques des patients selon la disponibilité de l'information permettant de dater l'infection sont décrites dans le tableau 3.1. Cette information était plus fréquemment disponible pour les patients infectés par transmission homosexuelle (57,8 %) ou par usages de drogues intraveineux (66,9 %) que par transmission hétérosexuelle (39,8 %). Elle était également plus souvent disponible

chez les patients nés dans un pays européen (57,1 %) que chez ceux nés dans un pays d'Afrique subsaharienne (32,9 %).

TABLEAU 3.1 – Caractéristiques des patients selon la possibilité de dater l'infection avec les informations fournies par les praticiens déclarants, France 2003-2007

Characteristics of patients	Time since infection could be defined from surveillance data		No information on time since infection		Total n
	n	%	n	%	
Mode of contamination					
Heterosexual	3179	39.8	4806	60.2	7985
Homo/bisexual	2353	57.8	1720	42.2	4073
Injecting drug user	357	66.9	177	33.1	534
Others	47	61.8	29	38.2	76
Unknown	846	31.8	1817	68.2	2663
Country of birth					
Europe	3812	57.1	2862	42.9	6674
Sub-Saharan Africa	1725	32.9	3512	67.1	5237
Others	683	46.6	782	53.4	1465
Unknown	562	28.7	1393	71.3	1955
Virus subtype					
B subtype	3858	47.9	4195	52.1	8053
Non-B subtype	1953	33.6	3858	66.4	5811
Nontypable	971	66.2	496	33.8	1467
Total	6782	44.2	8549	55.8	15331

Niveau d'accord entre test EIA-RI et information déclarée

Le test EIA-RI a classé comme infection récente (au sens d'une infection datant de moins de 180 jours) 82,6 % des 1233 primo-infections symptomatiques et 84,1 % des 1211 diagnostics présentant un profil de séroconversion du Western-blot. La sensibilité et la spécificité du test EIA-RI ont été estimées par rapport aux informations déclarées par les praticiens déclarants (tableau 3.2). La sensibilité était de 73,8 % (IC95 % : 71,8-75,8). Quand au moins deux indicateurs étaient utilisés pour définir une infection de moins de 6 mois, la sensibilité était de 88,2 % (IC95 % : 86,2-90,0). Parmi les cas non sida, la spécificité était de 83,7 % (IC95 % : 82,2-85,1). La spécificité pour les cas au stade sida était de 85,3 % (IC95 % : 83,8-86,7).

Le niveau d'accord entre le test EIA-RI et les informations fournies par les déclarants est aussi représenté par la figure 3.1 dans laquelle les distributions de la mesure quantitative du test (\mathbb{P}) sont représentées selon la durée d'infection estimée d'après les informations des déclarants. La valeur moyenne de \mathbb{P} était située entre 0,21 et 0,33 chez les patients infectés depuis moins de 6 mois (figure 3.1, de (a) à (d)) et respectivement de 0,81 et 0,82 chez les patients infectés depuis plus de 6 mois non-sida (e) et ceux au stade sida (f).

TABLEAU 3.2 – Classification des diagnostics selon la durée d’infection estimée par les informations des déclarants et l’origine géographique, France 2003-2007

Classification of time since infection	Definition used	Country of birth	EIA-RI recent/total individuals	Assay sensitivity (95% CI)	
Less than 6 months prior to diagnosis	Negative test within previous 6 months	Europe	1097/1429	76.8 (74.5–78.9)	
		Sub-Saharan Africa	92/170	54.1 (46.3–61.7)	
		Others/unknown	198/280	70.7 (64.9–75.9)	
		All	1387/1879	73.8 (71.8–75.8)	
	Negative test within previous 6 months and (symptomatic PHI or seroconversion profile)	Europe	823/927	88.8 (86.5–90.7)	
		Sub-Saharan Africa	72/85	84.7 (74.9–91.3)	
		Others/unknown	138/159	86.8 (80.3–91.5)	
		All	1033/1171	88.2 (86.2–90.0)	
		Assay specificity (95% CI)			
		More than 6 months prior to diagnosis	Positive test more than 6 months prior to reported diagnosis	Europe	257/1280
Sub-Saharan Africa	74/807			90.8 (88.6–92.7)	
Others/unknown	89/490			81.8 (78.1–85.1)	
All	420/2577			83.7 (82.2–85.1)	
AIDS stage	Europe		204/1103	81.5 (79.1–83.7)	
	Sub-Saharan Africa		61/748	91.8 (89.6–93.7)	
	Others/unknown		76/475	84.0 (80.3–87.1)	
	All		341/2326	85.3 (83.8–86.7)	

CI, confidence interval; EIA-RI, enzyme immunoassay to detect recent HIV-1 infection; PHI, primary HIV infection.

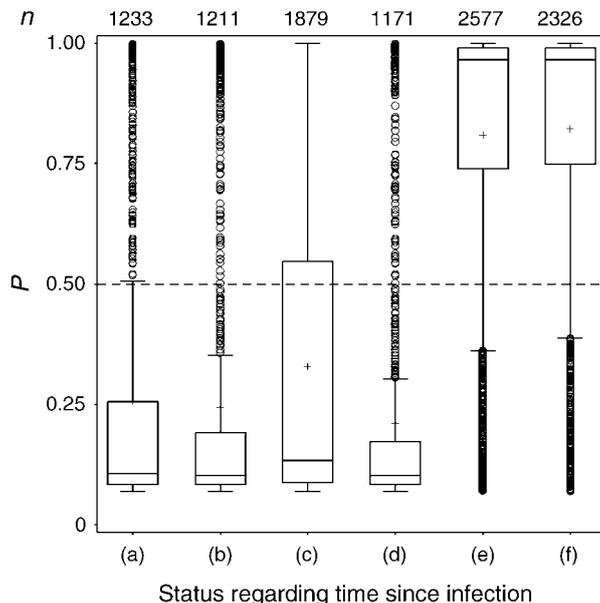
Influence du pays de naissance

La sensibilité du test EIA-RI chez les personnes originaires d’Europe était de 76,8 % (Tableau 3.2), significativement plus élevée que chez les personnes nées en Afrique subsaharienne, 54,1 % ($p < 10^{-4}$). En revanche, en utilisant au moins deux indicateurs pour caractériser les infections de moins de 6 mois, les estimations de sensibilité ne différaient plus significativement (88,8 % pour les individus nés en Europe contre 84,7 % pour ceux nés en Afrique subsaharienne). La spécificité était plus élevée chez les personnes nées en Afrique subsaharienne (90,8 % pour les patients non-sida et 91,8 % pour les patients au stade sida) que pour celles nées en Europe (79,9 et 81,5 %, respectivement).

Imprécision au voisinage du seuil de 6 mois

Pour la population dans son ensemble, la sensibilité baissait de 81,5 % quand l’infection datait de 0 à 3 mois à 50,1 % quand l’infection datait de 4 à 6 mois. La spécificité était la plus basse quand l’infection datait de 7 à 9 mois (61,4 %), puis augmentait à 67,9 % (10 à 12 mois) et 86,2 % (plus de 12 mois). Comme il est montré dans la figure 3.2, le résultat du test (\mathbb{P}) augmente graduellement avec la durée d’infection. De façon notable, la valeur moyenne de \mathbb{P} (marquée par le signe +) tend à augmenter plus tôt chez les patients originaires d’Afrique subsaharienne (figure 3.2b) que chez les patients nés en Europe (figure 3.2a). En

FIGURE 3.1 – Distributions de la mesure quantitative (\mathbb{P}) du test EIA-RI selon les informations fournies par les déclarants



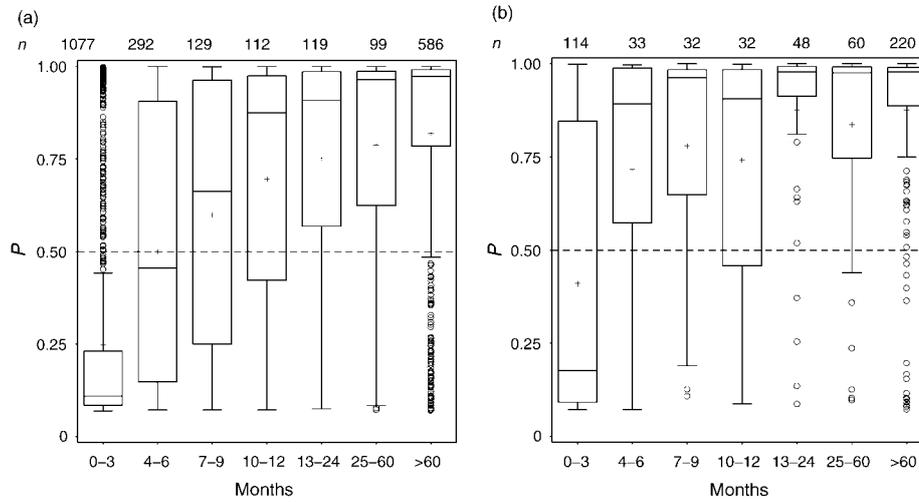
Diagnostiques non-sida, au stade de primo-infection symptomatique (a), avec un profil de séroconversion du Western-blot (b), avec un test négatif de moins de 6 mois (c), avec un test négatif de moins de 6 mois et (primo-infection symptomatique ou profil de séroconversion) (d), avec un test positif plus de 6 mois avant le diagnostic (e); et diagnostics au stade sida (f). La ligne pointillée indique le seuil de coupure de \mathbb{P} ; Le haut et bas de la boîte, les 75ème et 25ème percentiles; la barre dans la boîte, la médiane; le signe plus, la moyenne; les cercles, les valeurs extrêmes au delà de 1,5 fois l'intervalle interquartile au dessous du 25ème percentile et au dessus du 75ème percentile.

conséquence, pour les patients originaires d'Afrique subsaharienne, la sensibilité était de 64,9 % quand l'infection datait de 0 à 3 mois et de 24,2 % quand l'infection datait de 4 à 6 mois. Elle était respectivement de 83.6 et 53.8 % pour les patients nés en Europe.

3.2.3 Discussion

L'utilisation du test EIA-RI en routine dans le système français de surveillance des diagnostics d'infection par le VIH nous a permis d'évaluer sa performance sur une large population au plan national. Les individus pour lesquels la durée d'infection avait pu être estimée indépendamment du résultat du test représentaient 47 % des personnes diagnostiquées durant cette période de plus de quatre ans. Avec cet échantillon de 6 782 personnes infectées, nous

FIGURE 3.2 – Distributions de la mesure quantitative (\mathbb{P}) du test EIA-RI selon les informations fournies par les déclarants et l'origine géographique



(a) Patients nés dans un pays d'Europe et (b) patients nés dans un pays d'Afrique subsaharienne. La ligne pointillée indique le seuil de coupure de \mathbb{P} ; Le haut et bas de la boîte, les 75ème et 25ème percentiles; la barre dans la boîte, la médiane; le signe plus, la moyenne; les cercles, les valeurs extrêmes au delà de 1,5 fois l'intervalle interquartile au dessous du 25ème percentile et au dessus du 75ème percentile.

avons ainsi pu réaliser une évaluation d'un test d'infection récente à une échelle à notre connaissance sans précédent. Cette évaluation diffère de l'étude de validation menée au cours du développement du test EIA-RI, qui utilisait des patients à durées d'infection très contrastés, soit très proches de la séroconversion, soit avec une infection chronique établie [38; 40]. Nous avons ici pu étudier des échantillons correspondant à différentes durées d'infection et diversement répartis entre groupes de transmission, origines géographiques des patients et sous-type de virus infectant. Ceci nous a permis d'étudier l'influence des facteurs suspectés de modifier les propriétés des tests d'infection récente [118].

Pour les infections datant de moins de 6 mois, définis par un test antérieur négatif, nous avons retrouvé une moins bonne capacité de classement du test que ne l'indiquait son évaluation initiale [40]. Ce résultat s'explique par la plus grande hétérogénéité de notre échantillon. Cependant, nous avons révélé deux résultats importants : le niveau de désaccord quand les durées d'infection sont proches de 180 jours et la dépendance de la performance du test à l'origine géographique des patients. Nous avons mesuré, parmi les nouveaux diagnostics d'infection par le VIH en France, une sensibilité de 73,8 % et une spécificité pour les patients non sida de 83,7 % pour le test EIA-RI. L'évaluation initiale du test montrait

une meilleure précision diagnostique que dans notre étude (la sensibilité sur buvards était de 87,0 % et la spécificité de 98,0 % dans l'article de Barin et coll. (2005) [40]). Le nombre limité d'échantillons à durées d'infection proches de 180 jours, et le manque probable de diversité en terme d'origine géographique pourraient expliquer les résultats optimistes décrits en 2005. De la même façon que pour les différents tests d'avidité, la conception du test EIA-RI a été de fixer un seuil de durée d'infection à 180 jours pour ensuite déterminer le niveau du seuil des marqueurs prédisant cette durée. Mais comme nous l'avons vu, la durée de la période fenêtre, c'est-à-dire le temps durant lequel le test EIA-RI exprime un résultat au dessous d'un certain seuil n'avait pas été estimée. Nos résultats suggèrent que cette période fenêtre a une certaine variabilité qui se traduit par le fait que des individus infectés depuis moins (ou respectivement plus) de 6 mois ont déjà (encore) une valeur de marqueurs au dessus (en dessous) du seuil. Le but de l'étude de calibration dans ce chapitre était donc de modéliser cette période fenêtre à partir de données de la cohorte de séroconvertisseurs PRIMO.

Nos résultats suggèrent également que la période fenêtre est certainement différente pour les patients infectés par un sous-type non B, ou d'origine non européenne. En effet, la sensibilité était diminuée parmi les patients nés dans un pays d'Afrique subsaharienne. Un résultat opposé a été décrit pour le test BED-CEIA [85]. Des périodes fenêtre plus longues ont été retrouvées pour le test BED-CEIA dans les populations d'Afrique subsaharienne (parties orientale et australe) qu'en Europe ou en Amérique du Nord, alors que nos résultats indiquent une augmentation plus rapide des marqueurs pour les individus originaires d'Afrique.

Nous avons également défini une durée d'infection inférieure à 6 mois par l'utilisation d'au moins deux des trois indicateurs disponibles (clinique, biologique et basé sur l'historique de tests). Ce faisant, nous avons probablement caractérisé des infections très récentes puisque les symptômes de primo-infection et le profil de séroconversion du Western blot sont supposés survenir entre 1 et 4 semaines après la contamination et durer entre 1 et 12 semaines [72; 134; 135]. De fait, les valeurs du test EIA-RI sont très basses pour les patients correspondants, comme le montre la figure 3.1(d). Puisque le test détecte de façon équivalente les infections très récentes quelle que soit l'origine géographique, ceci nous

indique que l'influence de cette origine des patients n'est importante qu'après quelques semaines d'infection.

Cette évaluation du test « en population » a plusieurs limites qui peuvent affecter l'interprétation des résultats. Premièrement, l'échantillon de patients séropositifs pour lesquels la durée d'infection pouvait être déduite comprenait moins de patients originaires d'Afrique subsaharienne et de patients infectés par transmission hétérosexuelle. Cependant, les effectifs restaient suffisant pour mesurer les propriétés du test pour différentes strates de la population d'étude avec une puissance suffisante. La deuxième limite concerne l'incertitude des durées d'infection. Cette information reposait sur les déclarations du patient et l'examen clinique et biologique. À ce titre, la déclaration de symptômes de primo-infection par le VIH, qui sont non spécifiques [134], peuvent à tort indiquer une infection de moins de 6 mois. Cependant, l'ampleur de cette erreur reste limitée puisque 90 % (1107 sur 1233) des déclarations de primo-infection symptomatiques étaient associées à un test négatif dans les 6 mois ou à un profil biologique de séroconversion. Enfin, nous n'avons pas pu étudier directement la performance du test selon les sous-types de virus. Le sérotypage est réalisé dans le cadre du système de surveillance des diagnostics VIH [125; 136]. Mais puisqu'il faut plusieurs semaines ou mois après la séroconversion pour que les anticorps V3 soient détectables pour le test de sérotypage [83], une grande partie des infections de moins de 6 mois n'est pas typable par cette méthode (voir tableau 3.1). En conséquence, les résultats du sérotypage ne peuvent pas être obtenus indépendamment de la durée de l'infection. Nous avons donc utilisé le pays de naissance des patients comme « proxy » du sous-type : en France, 81 % des nouveaux diagnostics pour des patients nés en Europe sont infectés par un virus de sous-type B, et 76 % de ceux nés en Afrique subsaharienne sont infectés par un virus de sous-type non B [137]. Nos résultats confirment la différence de performance du test parmi les patients originaires d'Afrique subsaharienne retrouvée par Sakarovitch et coll. (2007) en Côte d'Ivoire [107].

Finalement, nous avons montré que le test EIA-RI, appliqué à une population générale, détecte les infections de moins de 6 mois avec de moins bonnes sensibilité et spécificité que décrit précédemment. Un résultat similaire a été retrouvé pour le test BED-CEIA utilisé en Allemagne, avec une sensibilité de 80 % et une spécificité de 86 % [138]. Ceci souligne

l'importance et la difficulté de développer des tests à partir d'un échantillon de référence (généralement de séroconvertisseurs) suffisamment varié et représentatif de la population pour laquelle le test sera appliqué. Nous retenons de ce travail la nécessité d'estimer la durée de la période fenêtre du test EIA-RI au sein d'un échantillon diversifié et d'examiner ces durées en fonction du sous-type et de l'origine géographique.

3.3 Calibration des paramètres du test EIA-RI

Dans ce travail, le calcul de l'incidence de l'infection à VIH va reposer sur la quantification, parmi une population diagnostiquée comme infectée par le virus, d'individus dont le statut biologique signale une infection récente. Sous l'hypothèse d'une population stationnaire, ce calcul prendra alors en compte le nombre de ces individus et la durée de ce statut biologique. Le statut et sa durée doivent être définis au préalable dans une population de référence, dont l'ensemble des caractéristiques est connu (à savoir la durée d'infection des sujets, leur stade clinique, leur origine géographique, le type de virus infectant). Cette population de référence doit être suffisamment variée pour que la méthode soit applicable à diverses populations. La calibration du test EIA-RI a consisté à estimer la durée de l'état d'infection récente (période fenêtre) et la proportion de patients non-progresseurs vis-à-vis du test, traduisant sa spécificité à long terme. Pour estimer ces paramètres, nous avons utilisé comme population de référence des données des cohortes d'individus séropositifs PRIMO et SEROCO.

3.3.1 Matériels et méthodes

Dans cette partie consacrée à la calibration du test, et pour deux raisons principales, nous avons décidé de ne nous intéresser qu'au seul marqueur TM. La première est que, lors du développement initial à fins de classement, il a été montré que le domaine antigénique le plus discriminant était TM (ou IDE) seul ou en combinaison avec V3⁵ [40]. Les résultats quantitatifs montrés dans l'article confirment que le modèle utilisant TM est équivalent à celui utilisant les deux marqueurs. Pour des raisons de parcimonie, nous avons choisi de n'utiliser que le marqueur TM pour déterminer le statut d'infection récente, afin d'estimer l'incidence de l'infection. La deuxième raison est liée à l'utilisation d'un algorithme logistique pour établir le paramètre prédictif \mathbb{P} . Il nous est apparu que le paramètre α (intercept) de l'équation 3.1 est influencé par la composition de l'échantillon de référence (comprenant 43 % d'infections datant de moins de 180 jours). Ce biais est bien décrit dans le cadre de l'utilisation d'un algorithme prédictif qui a été paramétré à partir d'un

5. « ... the most discriminatory antigen was IDE alone or in combination with V3. »

échantillon non aléatoire de la population [7; 139; 140]. L'algorithme pourrait comprendre un facteur de correction si l'on connaissait la fraction d'échantillonnage de chacun des événements, récent et non-récent. Mais il est impossible de savoir a priori comment sont répartis ces événements dans la population, puisque c'est l'objet de notre travail.

Échantillons de référence

Cohorte PRIMO. La cohorte ANRS CO6 PRIMO a inclus depuis novembre 1996 des patients diagnostiqués au sein de 66 hôpitaux français au moment de leur primo-infection par le VIH-1 [141; 142]. La primo-infection, symptomatique ou non, est confirmée par un Western Blot incomplet (absence des bandes anti-p68 et anti-p34), ou une antigénémie p24 positive accompagnée d'un test ELISA négatif ou faiblement réactif, ou à défaut par un intervalle de moins de six mois entre le dernier test VIH négatif et le premier positif. Ces patients, naïfs de traitement antirétroviral, sont suivis et prélevés 1 mois, 3 mois et 6 mois après leur inclusion, puis par la suite tous les 6 mois. La date d'infection est estimée à 15 jours avant le début des symptômes de primo-infection, ou 30 jours avant la date d'un test incomplet de confirmation par Western Blot, ou bien comme le milieu de l'intervalle entre le dernier test diagnostique négatif et le premier positif [40]. Hormis la chronologie de l'infection, on peut notamment décrire pour ces patients l'âge, le sexe, le mode de contamination, le pays de naissance et le sous-type du virus infectant.

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps à des patients inclus entre 1996 et 2005 et suivis, en l'absence de traitement antirétroviral, jusqu'à 12 mois (tableau 3.3). Cette limitation du suivi était cependant contraignante du fait que certains patients ne passaient pas le seuil de coupure déterminant l'infection récente au bout de cette période. Il était nécessaire de pouvoir observer ces patients au delà d'un an, afin de déterminer si leurs marqueurs restent « perpétuellement »⁶ en dessous de ce seuil ou bien juste si l'évolution du marqueur est retardée mais effective. Nous avons également observé des baisses dans l'évolution des marqueurs de certains patients. Comme la théorie sur l'estimation de l'incidence repose sur une hypothèse de croissance monotone des marqueurs, il était

6. Dans la limite raisonnable de la durée de suivi *sans traitement antirétroviral* des patients inclus dans la cohorte au début de leur infection.

important d'observer ces marqueurs sur une plus longue durée pour établir si ces baisses ne correspondent qu'à une fluctuation de mesure.

Dans un deuxième temps, nous avons donc analysé les résultats de patients suivis, sans traitement, jusqu'à 24 mois (tableau 3.4). Ces nouvelles données correspondent à des compléments de suivis de patients déjà présents dans le premier jeu de données. Ceci a fourni 176 observations supplémentaires à la nouvelle base de données. Nous avons également eu le souci d'inclure des patients nés dans un pays d'Afrique subsaharienne et des patients infectés par un sous-type non-B pour augmenter la diversité de la population de référence. Ainsi, il a été ajouté dans la nouvelle base de données 50 patients, soient 184 observations (tableaux 3.4 et 3.6).

TABLEAU 3.3 – Nombre de patients et observations de la cohorte PRIMO testés pour l'infection récente entre 2002 et 2006

Nombre de patients	Observations par patient	Total des Observations
134	1	134
10	2	20
19	3	57
44	4	176
41	5	205
248		592

TABLEAU 3.4 – Nombre de patients et observations de la cohorte PRIMO testés pour l'infection récente, 2008-2009

Nombre de patients	Observations par patient	Total des Observations
134	1	134
8	2	16
12	3	36
55	4	220
19	5	95
39	6	234
31	7	217
298		952

Cohorte SEROCO. Depuis 1988, la cohorte multicentrique ANRS SEROCO/HEMOCO (SEROCO) a inclus 1748 patients infectés par le VIH-1, dont la date d'infection était connue ou ayant eu un premier diagnostic de séropositivité datant de moins d'un an [143].

TABLEAU 3.5 – Effectifs de patients et observations testés sur buvard des cohortes PRIMO et SEROCO

Source de données	Type	Durée d'infection	Premier jeu	Retestés en 2009	Deuxième jeu
PRIMO	Patients		246	246	296
	Obs.	[0 ; 180]	377	377	474
	Obs.]180 ; 730]	206	206	391
	Obs.]730 ; +∞[0	0	73
SEROCO	Patients		238	145	145
	Obs.]730 ; +∞[238	145	145
Total	Patients		484	391	441
	Obs.		821	728	1083

Les patients ont été suivis avec des visites et des prélèvements biologiques tous les six mois, dont une partie a été congelée. Nous nous sommes intéressés aux patients chroniquement infectés ayant, au moment du prélèvement, une infection datant de plus de 24 mois. Nous avons distingué parmi ces patients ceux qui étaient au stade sida de l'infection.

La période fenêtre a été estimée à partir de 952 observations provenant du suivi jusqu'à 2 ans après l'infection et sans traitement, de 298 patients de PRIMO testés entre 1 et 7 fois. La spécificité à long terme du test et la proportion de patients restant classés récents indéfiniment ont été calculées sur 250 patients de SEROCO infectés depuis plus de 2 ans et n'ayant pas développé de sida et 143 patients au stade sida.

Modélisation de la cinétique du marqueur TM par modèles mixtes

Par la nature répétée des mesures et par le fait que la réponse immunologique au virus a une forte composante individuelle, nous avons modélisé l'évolution de la réponse immunologique en tenant compte de l'effet « individu ». L'objectif était donc de construire un modèle qui permette de décrire chaque trajectoire individuelle de la réponse anticorps par le même modèle paramétrique, en considérant que les paramètres individuels fluctuent autour d'un paramètre moyen de la population. Pour établir la relation entre le biomarqueur TM et le temps t depuis la contamination, nous avons modélisé l'évolution du biomarqueur TM à partir de la date de contamination par des modèles mixtes à effets aléatoires utilisant une fonction de lien linéaire (après transformation des variables TM et t) et non

TABLEAU 3.6 – Effectifs des patients et observations de PRIMO selon le sous-type de virus

Sous-type de virus	Nombre de patients	Nombre d'observations	Nombre total d'observations
Non renseigné	2	1	2
	1	4	4
Sous-total	3		6
	72	1	72
	1	2	2
	3	3	9
B	18	4	72
	11	5	55
	28	6	168
	23	7	161
Sous-total	156		539
	58	1	58
	8	2	16
	8	3	24
Non B	36	4	144
	8	5	40
	11	6	66
	8	7	56
Sous-total	137		404
Total	296		949

linéaire.

Exploration des données

La phase exploratoire des données a consisté à représenter graphiquement les valeurs des marqueurs en fonction du temps par individu [144]. La figure 3.3(a) montre que l'évolution est bien croissante pendant la période d'observation et variable selon les sujets. La réponse semble présenter un plateau. Pour assurer la linéarité de la relation, nous avons testé plusieurs transformations logarithme et racine carrée des deux quantités (figure 3.3(b et c)).

Nous avons également ajusté des courbes non paramétriques de type Lowess aux données transformées ou non (figure 3.4).

FIGURE 3.3 – Évolutions de la mesure de TM en fonction du temps, par patient

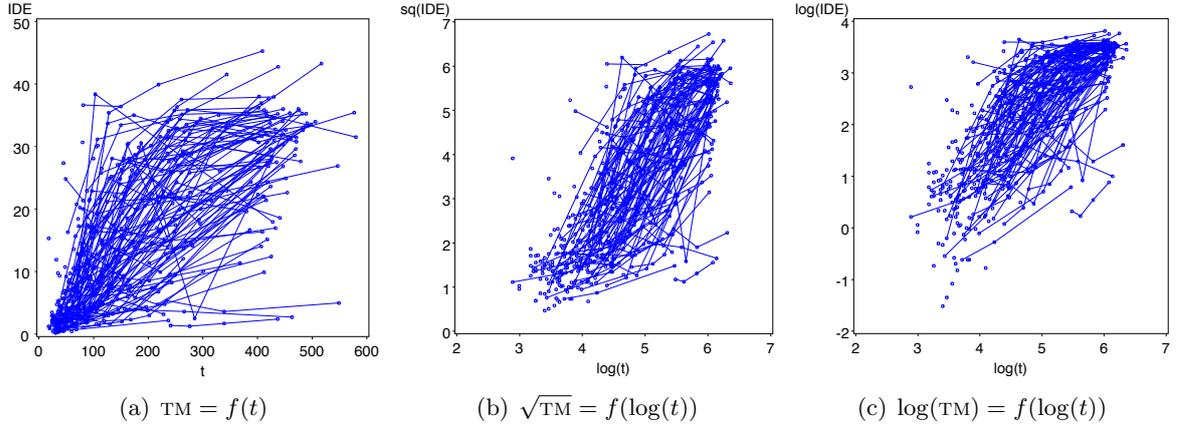
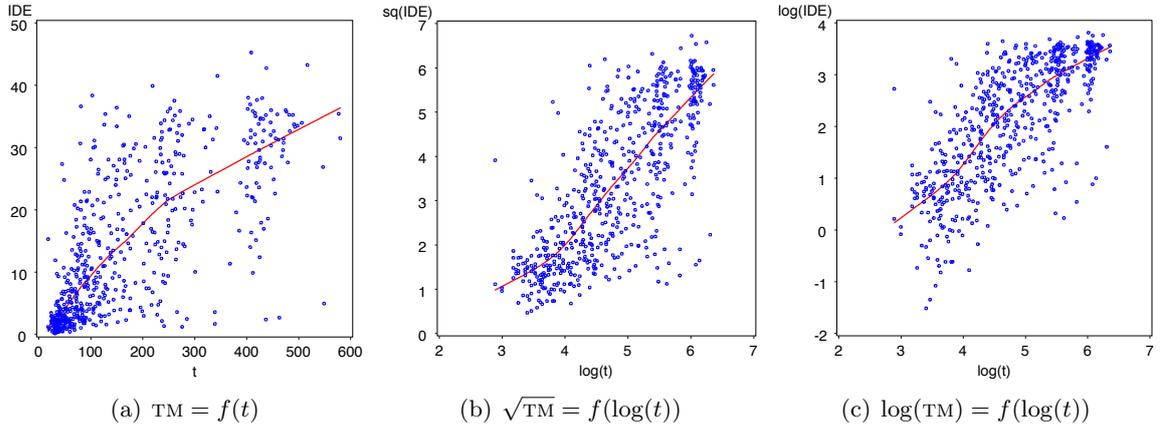


FIGURE 3.4 – Ajustements de courbes de lissage



Modèles mixtes linéaires

Le modèle consiste en l'ajustement d'une droite de régression propre à chaque individu. Si i désigne l'indice de l'individu ($i = 1, \dots, n$) et j l'indice de la période de mesure ($j = 1, \dots, n_i$) avec t_{ij} le temps correspondant en jour, le modèle s'écrit :

$$Y_{ij} = (\beta_0 + b_{0i}) + (\beta_1 + b_{1i}) \cdot t_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad (3.2)$$

où les erreurs ε_{ij} sont *iid* et suivent une loi normale $N(0, \sigma^2)$ et Y_{ij} est la valeur transformée de la réponse TM. $(\beta_0 + b_{0i})$ est l'intercept propre à l'individu i et $(\beta_1 + b_{1i})$ la pente de la droite de régression pour l'individu i . Le vecteur des effets aléatoires b_i est supposé suivre

une loi multinormale :

$$b_i = \begin{pmatrix} b_{0i} & b_{1i} \end{pmatrix}' \rightarrow iid, N_2(0, G)$$

avec G la matrice de variance-covariance des effets aléatoires :

$$G = \begin{pmatrix} \sigma_0^2 & \sigma_{01} \\ \sigma_{01} & \sigma_1^2 \end{pmatrix}$$

Avec σ_0^2 , la variance des intercepts traduisant la variabilité des écarts de la réponse quand $t = 0$; σ_1^2 est la variance des pentes traduisant la variabilité des évolutions individuelles et σ_{01} est la covariance entre intercepts et pentes individuels.

Au niveau d'un sujet, la trajectoire moyenne, conditionnellement à b_i est : $E(Y_{ij}|b_i) = (\beta_0 + b_{0i}) + (\beta_1 + b_{1i}) \cdot t_{ij}$ et la variance conditionnelle de Y_{ij} sachant b_i est : $Var(Y_{ij}|b_i) = Var(\varepsilon_{ij}) = \sigma^2$. C'est-à-dire que les résidus sont indépendants et de même variance sous l'hypothèse d'avoir pris en compte l'effet individu par b_i . Au niveau de la population, la moyenne marginale spécifiant une trajectoire linéaire « *population-averaged* » est : $E(Y_{ij}) = \beta_0 + \beta_1 \cdot t_{ij}$.

Pour établir la modélisation linéaire, nous avons étudié les mêmes transformations des variables que celles décrites par les équipes ayant déjà effectué ce type d'analyse [41; 63; 64; 74]. Mais nous n'avons pas trouvé de justification rigoureuse à ces choix de fonction et il se peut que d'autres transformations aboutiraient à une meilleure relation linéaire. Au vu de nos données (figure 3.3(a)), nous avons donc également choisi d'ajuster un modèle non linéaire afin de décrire la relation du marqueur TM en fonction du temps depuis la contamination.

Modèles mixtes non linéaires

Ce travail a été effectué avec l'aide d'Abdelkader SEROUTOU dans le cadre d'un stage de deuxième année de l'institut de statistiques de l'université de Paris (ISUP), université Pierre et Marie Curie, Paris VI. Nous en résumons ici les étapes :

Spécification du modèle. Avec i l'indice de l'individu ($i = 1, \dots, n$) et j l'indice de la mesure ($j = 1, \dots, n_i$), et t_{ij} le temps depuis la contamination et le j ème prélèvement du

patient i , le modèle non linéaire mixte s'écrit :

$$Y_{ij} = f(\phi_i, t_{ij}) + \varepsilon_{ij}$$

où ϕ_i sont les paramètres individuels du patient i . Les erreurs ε_{ij} sont indépendants et suivent une loi normale $N(0, \sigma^2)$. La réponse Y_i , conditionnellement à ϕ_i , suit une loi normale $N(f(\phi_i, t_{ij}), \sigma^2)$.

Choix de la fonction. Nous avons choisi une fonction de Gompertz, à trois paramètres a, b et c , couramment utilisée pour décrire les phénomènes de croissance. La fonction est de la forme :

$$f(\phi_i, t_{ij}) = a_i e^{b_i(1 - e^{-c_i t_{ij}})}$$

En notant $u_{a_i}, u_{b_i}, u_{c_i}$ les composantes aléatoires susceptibles d'être ajoutées respectivement aux paramètres a, b, c , le modèle s'écrit :

$$Y_{ij} = (a + u_{a_i}) \cdot e^{(b+u_{b_i}) \cdot (1 - e^{-(c+u_{c_i}) \cdot t_{ij}})} + \varepsilon_{ij} \quad (3.3)$$

Avec $\begin{pmatrix} u_{a_i} \\ u_{b_i} \\ u_{c_i} \end{pmatrix}$ qui sont *iid* et suivent une loi normale $N\left(\begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} \sigma_a^2 & \sigma_{ab} & \sigma_{ac} \\ \sigma_{ab} & \sigma_b^2 & \sigma_{bc} \\ \sigma_{ac} & \sigma_{bc} & \sigma_c^2 \end{pmatrix}\right)$.

Ajustement. Après une étape consacrée aux choix des valeurs initiales, nous avons utilisé la procédure NLMIXED du logiciel SAS v9.1 pour ajuster un modèle réduit sans effet aléatoire puis testé l'introduction d'effets aléatoires. Le critère d'Akaike (AIC) a été retenu pour comparer les modèles entre eux et la nécessité d'introduire un effet aléatoire supplémentaire a été justifiée par un test du rapport de vraisemblances. Le choix du modèle final a été conforté par les tracés de TM en fonction des prédictions en population $\hat{Y}_{ij}^{pop} = f(\hat{\phi}, t_{ij})$ et en fonction des prédictions individuelles $\hat{Y}_{ij}^{ind} = f(\hat{\phi}_i, t_{ij})$ données par chaque modèle. Nous avons également été guidés dans ce choix par les tracés des résidus en population $\varepsilon_{ij}^{pop} = Y_{ij} - \hat{Y}_{ij}^{pop}$ et des résidus individuels $\varepsilon_{ij}^{ind} = Y_{ij} - \hat{Y}_{ij}^{ind}$. La procédure NLMIXED estime les paramètres en population en approximant la vraisemblance du modèle puis en la maximisant par un algorithme numérique [145; 146]. La méthode

choisie pour l'approximation a été celle des quadratures de Gauss [147]. L'algorithme de Newton-Raphson a été utilisé pour la maximisation [148]. Les paramètres individuels ont été estimés a posteriori à partir des paramètres en population et des estimations empiriques de Bayes des effets aléatoires. Tous nos résultats ont été vérifiés avec le logiciel MONOLIX utilisant l'algorithme SAEM [149].

Choix du seuil de coupure

Une fois les cinétiques individuelles de TM paramétrées par un modèle linéaire ou non linéaire, il faut choisir un seuil de coupure qui va déterminer le statut récent et non récent des patients infectés. Nous avons effectué cette démarche par itération en estimant pour plusieurs seuils, la durée des périodes fenêtres et la proportion de non progressseurs obtenues selon les définitions suivantes :

Durée des périodes fenêtre. La période fenêtre représente le temps durant lequel la valeur du marqueur TM reste inférieure au seuil de coupure du test pour un patient « progressseur » donné. Nous avons calculé ces périodes W_i conditionnellement au seuil s , en extrapolant les trajectoires individuelles obtenues par l'ajustement des modèles mixtes. Pour le modèle linéaire, d'après l'équation 3.2, l'estimation est :

$$W_i(s) = e^{(\log(s) - (\hat{\beta}_0 + b_{0i})) / (\hat{\beta}_1 + b_{1i})}$$

Pour le modèle non linéaire, d'après l'équation 3.3, l'estimation est :

$$W_i(s) = -\frac{1}{\hat{c}_i} \ln \left(1 - \frac{1}{\hat{b}_i} \ln \left(\frac{s}{\hat{a}_i} \right) \right)$$

Nous avons testé plusieurs seuils de coupure (entre 0 et 50), pour estimer à chaque seuil, la moyenne et la distribution de la période fenêtre pour la population de référence de PRIMO. Dans la mesure où nous allons également caractériser la non-progression vis-à-vis du test parmi les patients de SEROCO, qui étaient infectés depuis plus de deux ans, nous nous sommes attachés à ce que la période fenêtre maximale soit inférieure à deux ans. Nous avons donc choisi le seuil de coupure de telle sorte que la durée de progression de l'état récent à l'état non-récent soit au maximum de 730 jours.

Estimation de la proportion de non-progresseurs. Nous avons deux façons d’apprécier la présence d’individus non-progresseurs (en proportion P_{np} ou ε). La première était de distinguer, d’après les cinétiques individuelles (estimées) du marqueur dans la population de PRIMO, une sous-population pour laquelle les temps de franchissement d’un seuil donné sont quasi infinis. Ces individus vont influencer la courbe de survie de telle sorte qu’elle n’atteigne pas zéro mais se prolonge avec une pente quasi nulle. La seconde est de directement comptabiliser la proportion de sujets de la cohorte SEROCO dont la valeur de TM demeure en dessous du seuil donné malgré leur durée d’infection d’au moins 2 ans. Les intervalles de confiance (IC95 %) de cette proportion ont été calculés par la méthode d’Agresti et Coull [133].

Ajustement de la fonction de survie de la période fenêtre

Pour chaque distribution de périodes fenêtres observées, nous avons ajusté une distribution de probabilité théorique. Après avoir testé plusieurs fonctions de survie paramétriques (Weibull, exponentielle, Gompertz, log-normale, Gamma et log-logistique) en comparant les critères d’Akaike, notre choix s’est porté sur une fonction log-logistique dont la densité et la fonction de survie sont de la forme :

$$f(t) = \frac{\alpha \gamma t^{\gamma-1}}{(1 + \alpha t^\gamma)^2} \quad (3.4)$$

$$S(t) = \frac{1}{1 + \alpha t^\gamma} \quad (3.5)$$

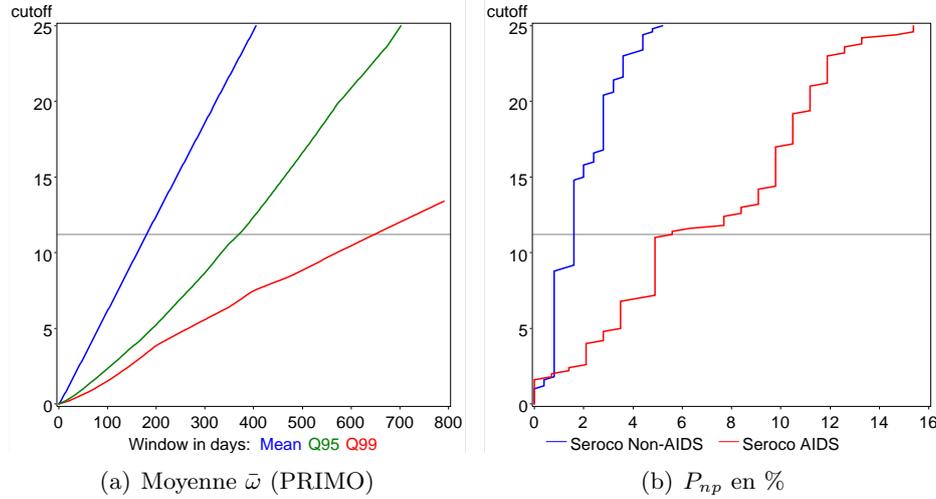
Avec, selon la notation du logiciel SAS [150], $\mu = \textit{intercept}$ et $\sigma = \textit{scale}$. Avec $\alpha = e^{-\mu/\sigma}$ et $\gamma = 1/\sigma$.

3.3.2 Résultats

Ajustement des modèles mixtes

Les principaux résultats des étapes de modélisation sont représentés dans l’annexe A.

FIGURE 3.5 – Moyenne et quantiles des périodes fenêtres et proportion de non-progresseurs, selon le seuil de coupure du test



Paramètres du test EIA-RI

Selon les différents seuils de coupure de TM, nous avons estimé les durées de périodes fenêtres (moyenne, 95^e et 99^e percentiles dans la figure 3.5(a)) et la proportion de non-progresseurs (figure 3.5(b)). Nous représentons cette dernière proportion également pour les patients au stade sida même si c'est celle estimée pour les patients hors stade sida qui va réellement nous servir. En effet, les renseignements des déclarants nous permettant d'emblée d'identifier les patients au stade sida.

Non-progresseurs dans l'échantillon PRIMO. Nous avons identifié pour chaque seuil de coupure de TM les patients pour lesquels la durée de période fenêtre étaient supérieure au temps t_{max} correspondant à une pente inférieure à 10^{-5} . C'est donc le temps qui vérifie, d'après l'équation 3.5, $\frac{dS(t)}{dt} = -\frac{\alpha\gamma t^{\gamma-1}}{(1+\alpha t^\gamma)^2} < 10^{-5}$. Les patients sélectionnés sont ceux n'étant pas encore passés à l'état non-récemment dans la portion plate de la fonction de survie. Le temps t_{max} , qui selon McDougal (2006) [48] devrait être égal à deux fois la moyenne des périodes fenêtres, correspond à la période fenêtre maximale observée pour les patients « progresseurs ». Nous observons dans le tableau 3.7 que 4 patients de la cohorte PRIMO se distinguent comme une sous-population de non-progresseurs, quel que soit le seuil de coupure choisi. Ces patients sont ceux qui influencent le plus le modèle mixte linéaire d'après le diagnostic d'influence sur la distance de vraisemblance restreinte

TABLEAU 3.7 – Sélection des patients non-progresseurs de PRIMO selon le seuil de coupure du test

Seuil de TM	t_{max}	Pat1	Pat2	Pat3	Pat4	Pat5	Pat6	Pat7
2	184	86	106	15	233	.	.	.
3	237	86	106	15	233	.	.	.
4	286	86	106	15	233	.	.	.
5	333	86	106	15	233	.	.	.
6	377	86	106	15	233	.	.	.
7	421	86	106	15	233	.	.	.
8	464	86	106	15	233	.	.	.
9	506	86	106	15	233	.	.	.
10	547	86	106	15	233	193	.	.
11	588	86	106	15	233	193	.	.
12	629	86	106	15	233	193	.	.
13	669	86	106	15	233	193	.	.
14	709	86	106	15	233	193	.	.
15	749	86	106	15	233	193	.	.
16	789	86	106	15	233	193	135	.
17	829	86	106	15	233	193	135	.
18	869	86	106	15	233	193	135	.
19	908	86	106	15	233	193	135	.
20	948	86	106	15	233	193	135	82

Pat1 à Pat7 désignent les 7 patients dont on retrouve le numéro d'identifiant dans le tableau et pour lesquels la valeur du marqueur TM n'a pas dépassé le seuil alors que la pente de la fonction de survie s'annule. Les cinétiques du marqueur TM pour ces patients montrent une pente quasi nulle.

et la distance de Cook (résultats non montrés) [148]. Par ailleurs, nous savons par d'autres travaux que 3 de ces patients ont été identifiés comme contrôleurs du VIH [141].

Non-progresseurs dans l'échantillon SEROCO. Sur 250 patients non sida, 4 soit 1,6 % (IC95 % :0,5-4,2) ont une valeur de TM inférieure au seuil définissant l'état récent.

Avec un seuil de TM choisi à 11,2, la moyenne de la période fenêtre est de 180 (IC95 % :167-193) jours et la proportion de non-progresseurs de 1,6 % (IC95 % :0,5-4,2). L'étendue des durées de périodes fenêtres observées est de 25 à 730 jours et respectivement, 95 % et 99 % des durées sont inférieures à 369 et 647 jours.

3.3.3 Discussion

Par ce travail mené sur le test EIA-RI, nous avons mis en évidence que la réponse quantitative du test est variable selon l'origine géographique des patients diagnostiqués en France. Ce résultat est en accord avec la variabilité des périodes fenêtrées moyennes retrouvées pour le test BED-CEIA calibré dans différents pays. Mais la prise en compte de cette variabilité reste une question en suspens. Il nous reste à mener un travail pour isoler le rôle du sous-type de virus et le contexte génétique du patient dans la réponse mesurée par le test utilisé en France. À l'issue de cette étape de calibration, nous avons défini un nouveau seuil de coupure qui détermine un état d'infection récente à partir de la valeur du marqueur TM. Ce seuil nous permet de quantifier le nombre d'individus en infection récente dans les populations où le test sera appliqué, tout en connaissant la distribution des durées de période fenêtrée et la proportion de non-progresseurs qui risquent d'apparaître comme de faux résultats d'infection récente. Nous avons également estimé les variances de ces paramètres estimés. Cette étape va nous permettre d'estimer l'incidence de l'infection dans les populations prévalentes où le test a pu être appliqué.

Chapitre 4

Estimations d'incidence de l'infection par le VIH en France

4.1 Contexte

Le test d'infection récente EIA-RI est appliqué aux nouveaux diagnostics déclarés au système de surveillance français depuis 2003. Il a également été utilisé pour caractériser l'infection récente par le VIH parmi les donneurs de sang séropositifs [50] et plus récemment au sein d'hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes (HSH) fréquentant des lieux gays parisiens dans l'enquête PREVAGAY.

En choisissant une population de référence, nous avons calibré les paramètres du test EIA-RI, à savoir la durée de l'état d'infection récente (période fenêtre) et la spécificité à long terme, conséquence de la présence de non-progresseurs. Ces paramètres sont requis pour estimer le taux d'incidence basé sur la prévalence et la durée de l'infection récente dans une enquête transversale [151].

L'application principale de nos estimations concerne l'incidence au niveau de la population française à partir des diagnostics d'infection par le VIH¹. À la différence d'une enquête

1. Nous ne parlerons que de l'infection par le VIH de type 1 (VIH-1) au cours de ce travail. D'une part les tests d'infection récente ne sont valables que pour ce type de virus. D'autre part, les infections par le VIH-2 ne représentent que 2,5 % des nouveaux diagnostics en France, et la plupart de ces infections ont été acquises à l'étranger.

transversale, le système de surveillance, en ne recueillant pas d'information sur la population testée négative, ne fournit pas de dénominateur de personnes à risque permettant d'établir une quelconque prévalence de l'infection récente. On ne peut donc pas appliquer le calcul proposé par Janssen et coll. (1998). De plus, la population des personnes diagnostiquées et récemment infectées au cours d'une année représente une sélection - déterminée par le recours au dépistage - des personnes infectées cette même année. Les modèles que nous allons appliquer consistent donc à déterminer les caractéristiques de ce recours au dépistage, individuellement ou par groupe homogène de personnes, afin de pondérer les diagnostics observés comme récemment infectés. Nous pouvons ainsi proposer les premières estimations d'incidence du VIH en France à partir de la détection de l'infection récente, par groupes de transmission et sur plusieurs années récentes. Cette partie de notre travail fait l'objet de l'article 3 en annexe E.

Nous avons également directement utilisé le principe d'estimation d'incidence à partir d'une mesure de prévalence transversale de l'infection à VIH par l'enquête PREVAGAY. Notre application repose ainsi sur une approche du calcul de l'incidence qui est largement décrite et qui a été utilisée dans différents contextes. Pour autant, cette méthode continue d'être questionnée et améliorée (*cf.* chapitre 2). En tenant compte des caractéristiques propres au test utilisé, nous avons donc pu proposer la première estimation en France de l'incidence du VIH au sein d'une population de HSH observée de manière transversale.

4.2 Matériel et méthodes des estimations d'incidence

4.2.1 Diagnostics d'infection par le VIH

Depuis mars 2003, les nouveaux diagnostics d'infection par le VIH sont déclarés à l'Institut de veille sanitaire [4]. Ils le sont dans un premier temps par les biologistes pour toute personne dont la sérologie est confirmée positive pour la première fois au niveau du laboratoire. Un questionnaire accompagnant cette déclaration permet aux cliniciens prescripteurs du test diagnostique de renseigner des informations cliniques et épidémiologiques, notamment le sexe, l'âge, la nationalité, le département de résidence, le stade clinique, le mode de transmission et l'historique de tests du patient. Que ce soit parce que le clinicien n'a pas adressé de questionnaire à la suite de la déclaration du biologiste ou parce qu'il n'a pas fourni de réponse à certaines questions, les données sont manquantes selon les variables citées plus haut, dans 20 à 30% des cas. D'autre part, un échantillon du sérum ayant conduit à la sérologie positive est adressé au centre national de référence pour le VIH (CNR) qui réalise le test d'infection récente EIA-RI et une analyse de sérotypage. De même, parce que le biologiste n'a pas transmis de prélèvement sur buvard, ou parce que le prélèvement ne contenait pas assez de matériel, 20 à 30% des nouveaux diagnostics ne bénéficient pas d'un résultat pour le test d'infection récente.

Imputation multiple

Les données manquantes ont été estimées par imputation multiple par équations chaînées en deux étapes [152; 153]. Une première étape a consisté à imputer de façon conjointe la présence de tests antérieurs positifs et négatifs, la nationalité, le mode de transmission, le stade clinique et les valeurs des deux biomarqueurs TM et V3 utilisés par le test EIA-RI. À cette étape, cinq bases ont été générées. La seconde étape a été consacrée à l'imputation des délais séparant le diagnostic des éventuels tests positifs ou négatifs antérieurs. Cette étape est nécessaire puisqu'un délai n'est renseigné que si la personne a été testée (effectivement ou tel que le détermine l'imputation). À cette étape, trois bases ont été générées pour chacune des cinq bases de la première étape, soient quinze bases à l'issue des deux étapes d'imputation. Pour prendre en compte la variabilité des résultats entre les bases imputées,

reflet de l'incertitude associée aux données manquantes, les règles de Rubin ont été utilisées pour calculer les variances [154; 155]. La stratégie d'imputation a été mise au point à l'aide du logiciel SAS 9.1 et de la procédure MI. L'attention a été portée sur les deux variables (quantitatives) cruciales pour le modèle d'estimation d'incidence, à savoir les valeurs des biomarqueurs TM et V3 déterminant l'état d'infection récente, et le délai depuis un test antérieur négatif, rendant compte de la fréquence du dépistage. L'analyse proprement dite a été réalisée par Vanina BOUSQUET dans le cadre de son doctorat, et a utilisé le package ICE du logiciel STATA 9.2.

Estimation de la sous-déclaration

L'ampleur de la sous-déclaration a été estimée en utilisant les données de la surveillance de l'activité des laboratoires d'analyse biomédicale (enquête LaboVIH), qui rapportent de façon agrégée le nombre de diagnostics confirmés d'infection par le VIH (selon la même définition que dans le cadre de la déclaration obligatoire et individuelle de séropositivité). L'exhaustivité du système de déclaration des diagnostics a pu être estimée à partir du ratio entre le nombre de diagnostics déclarés et le nombre de diagnostics confirmés estimés à partir de l'enquête LaboVIH. La méthode utilisée tient également compte des cas déclarés avec retard [156].

4.2.2 Modèles d'estimation de l'incidence à partir des données de diagnostics

Approche par extrapolation stratifiée

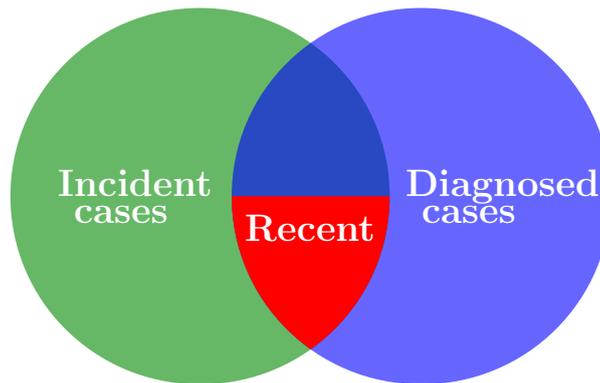
Nous avons appliqué l'approche par extrapolation stratifiée (*Stratified Extrapolation Approach*) pour estimer le nombre annuel d'infections par le VIH au sein de différents groupes de transmission en France. Le modèle est basé sur la méthodologie développée par Karon et coll. (2008) [111].

Schématiquement, cette approche va chercher à estimer le nombre de nouvelles infections se produisant en une année (cas incidents en nombre n_t) dans la population couverte² par

2. Dans notre cas, les personnes qui sont susceptibles d'être déclarées au système de surveillance natio-

le système de surveillance. Cette quantité n'est pas directement *observable* dans la mesure où tous les nouveaux cas d'une année ne sont pas diagnostiqués cette même année, et par le fait que l'on ne sait pas distinguer, comme des cas incidents, ceux qui sont effectivement diagnostiqués dans l'année qui suit leur infection. En effet, les cas diagnostiqués observables par le système de surveillance au cours d'une année, concernent à la fois des infections de l'année (mais pas toutes) et des infections acquises plusieurs années auparavant. On retient donc deux quantités (non observées) : n_I le nombre de cas incidents et n_{ID} le nombre de cas incidents et diagnostiqués dans l'année. C'est ce que l'on représente par l'ensemble des cas incidents et son intersection avec l'ensemble des cas diagnostiqués dans la figure 4.1. La seule quantité observable est le nombre de diagnostics détectés en infection récente n_R . Le principe du modèle sera alors de calculer n_I à partir de n_R .

FIGURE 4.1 – Représentation schématique de l'approche par extrapolation stratifiée



Seule une partie des cas incidents (en vert) d'une année est observable parmi les diagnostics (en bleu) de la même année. Cette partie est l'intersection des deux cercles et est de taille inconnue. La taille de la sous-partie des cas incidents et diagnostiqués la même année, et détectés durant l'infection récente, est par contre connue (en rouge).

Pratiquement, dans un premier temps, les nouveaux diagnostics sont stratifiés en groupes *homogènes* de population. L'homogénéité est requise à la fois en terme d'incidence puisque les estimateurs doivent être applicables au groupe entier mais également en terme de comportement de dépistage, puisque celui-ci sera résumé en un paramètre pour le groupe. Le modèle consiste à considérer les diagnostics observés en infection récente comme un échantillon aléatoire de la population nouvellement infectée au cours d'une année (population incidente). Pour chaque groupe de population, la probabilité d'inclusion correspondante

nal, dès lors qu'elles sont nouvellement diagnostiquées en France avec une infection à VIH.

est calculée comme le produit de la probabilité d'être diagnostiqué (et déclaré³) dans l'année suivant l'infection (p_1), la probabilité d'avoir un résultat de test vis-à-vis de l'infection récente (p_2), et la probabilité d'être détecté durant l'infection récente sachant le diagnostic dans l'année suivant l'infection (p_w). On peut ainsi écrire les relations suivantes :

$$\begin{aligned}n_{\text{ID}} &= p_1 \cdot n_{\text{I}} \\n_{\text{R}} &= p_2 \cdot p_w \cdot n_{\text{ID}}\end{aligned}$$

d'où,

$$n_{\text{I}} = \frac{n_{\text{R}}}{p_1 \cdot p_2 \cdot p_w} \quad (4.1)$$

La première probabilité p_1 est estimée séparément pour les cas ayant eu un test négatif antérieur au diagnostic (appelés *testeurs répétés*) et les cas diagnostiqués lors de leur premier test de dépistage du VIH (*primo-testeurs*). Pour ces derniers la probabilité est notée p_{10} , et pour les testeurs répétés, la probabilité est notée p_{11} . Ces probabilités conditionnelles sont principalement estimées d'après le délai depuis le test antérieur négatif (pour p_{11}), la proportion de diagnostics VIH au stade sida (pour p_{10}), et la durée moyenne de la période fenêtre (pour p_w). Le nombre de cas incidents, pour chaque groupe de population, est alors estimé par la taille de l'échantillon divisé par sa probabilité d'inclusion (équation 4.1).

Calculs des probabilités. Sachant qu'après l'imputation, un résultat du test d'infection récente est disponible pour chaque cas, la probabilité p_2 vaut 1. Si la date d'infection par le VIH et le moment du dépistage sont indépendants, la probabilité p_w de détecter durant l'infection récente, de durée moyenne $\bar{\omega}$, une personne infectée depuis τ années vaut $\bar{\omega}/\tau$. Ce qui correspond à la proportion de la période τ couverte par la période fenêtre. Dans notre cas, $\tau = 1$ an et p_w vaut 0,493. La variance de p_w est la variance de $\bar{\omega}$ estimée lors de la calibration du test. Pour les personnes ayant un test négatif antérieur au diagnostic (*testeurs répétés*), un délai T peut être calculé. En faisant l'hypothèse que la distribution de la date d'infection est uniforme dans ce délai, la probabilité p_{11} pour une

3. On suppose à ce stade que tous les diagnostics d'infection à VIH réalisés sont déclarés au système de surveillance. La sous-notification et le délai de déclaration seront pris en compte globalement dans une étape ultérieure du calcul.

personne est estimée par $\min(1, 1/T)$. Et la moyenne des valeurs observées ou imputées de $\min(1, 1/T)$ est un estimateur non biaisé de p_{11} pour une strate. La variance est estimée comme la variance d'une proportion qui suit une loi binomiale avec une taille d'échantillon correspondant au nombre de *testeurs répétés*. Pour les personnes sans test antérieur avant le diagnostic (*primo-testeurs*), il est supposé que ces personnes ont, depuis leur date de contamination, un risque constant $1/\beta_T$ d'être testé pour le VIH. On note T_T le délai entre l'infection et le premier test VIH. T_T suit alors une distribution exponentielle de paramètre $1/\beta_T$. On note T_A le délai entre l'infection et la survenue du sida. Ce délai est régi par la durée d'incubation du sida qui peut être approximée par une distribution gamma de paramètres de forme α_A et d'échelle β_A . L'estimation de p_{10} va reposer sur la proportion observée q de personnes diagnostiquées au stade sida avant d'avoir eu un test VIH antérieur, parmi les nouveaux diagnostics. Ce qui s'exprime par :

$$\begin{aligned} q &= P(T_T > T_A) = \int_0^\infty P(T_T > T_A \mid T_A = t) f_{T_A}(t) dt \\ &= \int_0^\infty S_T(t) f_{T_A}(t) dt = \int_0^\infty e^{-\frac{1}{\beta_T}t} f_{T_A}(t) dt \end{aligned}$$

où $e^{-\frac{1}{\beta_T}t}$ est la fonction de survie $S_T(t)$ du délai entre l'infection et un test VIH et $f_{T_A}(t)$ est la densité de la durée d'incubation du sida. Dans le cas où cette durée d'incubation est une fonction gamma, on peut dériver une estimation de β_T en fonction de q ⁴ :

$$\begin{aligned} q &= \int_0^\infty e^{-\frac{1}{\beta_T}t} f_{T_A}(t) dt \\ &= \int_0^\infty e^{-\frac{1}{\beta_T}t} \frac{\left(\frac{1}{\beta_A}\right)^{\alpha_A} t^{\alpha_A-1} e^{-\frac{1}{\beta_A}t}}{\Gamma(\alpha_A)} dt \\ &= \frac{\left(\frac{1}{\beta_A}\right)^{\alpha_A}}{\left(\frac{1}{\beta_A} + \frac{1}{\beta_T}\right)^{\alpha_A}} \int_0^\infty \left(\frac{1}{\beta_A} + \frac{1}{\beta_T}\right)^{\alpha_A} \frac{t^{\alpha_A-1} e^{-\left(\frac{1}{\beta_A} + \frac{1}{\beta_T}\right)t}}{\Gamma(\alpha_A)} dt \\ &= \left(\frac{\frac{1}{\beta_A}}{\frac{1}{\beta_A} + \frac{1}{\beta_T}}\right)^{\alpha_A} \end{aligned}$$

4. Cette étape de calcul n'est pas exposée dans l'article de Karon et coll. [111]. Elle nous a été fournie par Daniela DE ANGELIS, Medical Research Council, Cambridge.

d'où

$$\hat{\beta}_T = \frac{\beta_A}{q^{1/\alpha_A} - 1}$$

Puisque le délai entre l'infection et le premier test VIH suit une distribution exponentielle de paramètre $1/\beta_T$, p_{10} est estimé par $1 - \exp(-1/\hat{\beta}_T)$. Pour ce calcul, nous avons adapté la distribution de la durée d'incubation du sida à la définition de cas européenne, correspondant à une médiane de 10 ans.

Correction du nombre d'infections récentes. Nous avons corrigé le nombre de diagnostics observés en infection récente de la proportion de non-progresseurs P_{np} estimée par la calibration du test (*cf.* section 3.3.2). Les nombres observés de cas récents O_R et non-récents O_{NR} sont fonction des nombres réels respectifs N_R et N_{NR} par les relations suivantes : $O_R = (N_R + P_{np} \cdot N_{NR})$ et $O_{NR} = (N_{NR} - P_{np} \cdot N_{NR})$. D'où le calcul du nombre corrigé d'infection récentes :

$$N_R = O_R - \frac{P_{np}}{(1 - P_{np})} \cdot O_{NR}$$

Calcul de la variance de l'incidence corrigée de la sous-déclaration. Nous avons tenu compte de l'exhaustivité du système de surveillance, ratio du nombre de diagnostics estimés et observés. Pour chaque année, D est le nombre de diagnostics déclarés (nombre observé sans variance associée) et D^* est le nombre de diagnostics estimés après prise en compte de la sous-déclaration et des délais de déclaration (et sa variance associée $var(D^*)$). De telle sorte que l'exhaustivité est D/D^* . Avec I_i l'incidence pour la $i^{\text{ème}}$ strate, l'incidence globale corrigée de la sous-déclaration est :

$$I^* = \sum_{i=1}^k I_i \cdot D^*/D$$

En utilisant la *delta method*, la variance est :

$$var(I^*) \approx \sum_{i=1}^k (I_i \cdot D^*/D)^2 \left[\frac{var(I_i)}{I_i^2} + \frac{var(D^*/D)}{(D^*/D)^2} \right]$$

avec D considéré comme une constante, $var(D^*/D) = (1/D^2)var(D^*)$.

Calcul de la variance après imputation multiple. Pour chacune des $m = 15$ bases imputées, nous obtenons un estimateur d'incidence \hat{I}_i et sa variance \hat{V}_i pour la $i^{\text{ème}}$ base, avec $i = 1, \dots, m$. L'estimateur combiné est $\bar{I} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \hat{I}_i$. La variance intra-base est $\hat{W} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \hat{V}_i$ et la variance inter-base est $\hat{B} = \frac{1}{m-1} \sum_{i=1}^m (\hat{I}_i - \bar{I})^2$. Enfin la variance totale associée à \bar{I} est $\hat{V} = \hat{W} + (1 + \frac{1}{m})\hat{B}$.

Stratification. Les estimations d'incidence annuelle ont été calculées pour 6 groupes de transmission : les hommes et les femmes hétérosexuelles de nationalité française, les hommes et femmes hétérosexuelles de nationalité étrangère, les hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes (HSH) et les usagers de drogues par voie intraveineuse (UDI). Les hommes et les femmes chez qui étaient rapporté un mode de transmission autre que sexuel ou par usage de drogues intraveineux représentaient moins de 1% des diagnostics et ont été comptabilisés dans les groupes hétérosexuels respectifs.

Calcul de la variance de l'incidence. La variance de l'estimateur et les intervalles de confiance à 95% ont été calculés en utilisant la *delta method*. Le détail du calcul de variance se trouve dans Karon (2008) [111]. La variance de nos estimateurs inclue la variabilité due à l'imputation multiple et la variance associée à l'estimation d'exhaustivité.

Test des tendances temporelles. Les incidences étant indépendamment calculées par année, les tendances (supposées linéaires) ont été évaluées par régression des moindres carrés pondérée par la variance (*variance-weighted least squares regression*) [157].

Hormis les analyses d'imputation multiple réalisées avec Stata 9.2 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA), toutes les autres analyses ont été menées avec SAS software v9.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

4.2.3 Effectifs des populations sources

Les taux d'incidence ont été calculés en rapportant les nombres estimés de nouvelles contaminations aux effectifs des groupes de population correspondants. Ces effectifs ont été calculés en utilisant les données nationales d'enquête comportementale et de recensement de population.

Population homosexuelle. La proportion d'hommes âgés de 18 à 69 ans et ayant eu des relations sexuelles avec des hommes dans les 12 derniers mois a été obtenue à partir de l'enquête CSF sur la sexualité en France réalisée par l'Inserm, et l'Ined en 2006 [158; 159]. Cette proportion (1,6%) a été appliquée à la population masculine de 18 à 69 ans obtenue d'après le recensement national (Insee). L'effectif de la population homosexuelle masculine active une année donnée est ainsi estimé à 330 000 personnes. Nous faisons l'hypothèse que cet effectif est resté stable ces 6 dernières années⁵.

Population usagère de drogues intraveineuse. La récente synthèse d'études sur l'usage problématique de drogues en France (OFDT, 2009) fournit une estimation, pour 2006, du nombre de personnes ayant consommé au moins une fois une drogue par voie intraveineuse dans le mois précédent à 81 000 (145 000 si le nombre s'applique à la vie entière)[160]. La population qui nous intéresse est celle ayant injecté une drogue au cours de l'année ; parmi les deux chiffres disponibles, nous avons choisi celui traduisant un risque (très) récent (81 000) plutôt que celui qui cumule l'expérimentation de l'usage à la pratique à risque actuelle (145 000).

Population hétérosexuelle de nationalité étrangère. En l'absence de données de comportement sexuel ou de pratiques à risque pour la population étrangère en France, nous avons fait l'approximation que la population étrangère était exclusivement hétérosexuelle⁶. Compte tenu de la faible proportion d'hommes français ayant des rapports homosexuels (1,6%) ou d'usagers de drogues, nous avons considéré que l'erreur faite était quantitativement négligeable au niveau de la population générale des étrangers. Les effectifs de population étrangère (en situation régulière) résidant en France nous ont été fournis par l'Insee. Ils sont résumés dans le tableau 4.1.

Population hétérosexuelle de nationalité française : L'effectif de la population hétérosexuelle française a été obtenu en multipliant, pour chaque sexe, la proportion de personnes déclarant au moins une relation sexuelle au cours des 12 mois précédent (enquête CSF) par le nombre de personnes de 18-69 ans de chaque sexe. Les 330 000 hommes ayant eu

5. L'enquête sur la sexualité des français réalisée en 1992 fournissait une proportion similaire (1,2%) d'hommes ayant eu dans les 12 mois au moins un rapport sexuel avec un partenaire du même sexe.

6. Cette approximation a été appliquée aux dénominateurs de population et non pas aux personnes infectées (numérateurs), pour lesquelles nous observons bien des personnes de nationalité étrangère contaminées par rapports homosexuels ou par usage de drogue par voie intraveineuse.

TABLEAU 4.1 – Nombre d’hommes et de femmes étrangers par groupe de nationalité en France au 1er janvier 2005

Nationalité	Métropole ^a	DOM ^b	Total	Hommes ^c	Femmes
Afrique subsaharienne	421 000	4500	425 500	218 400	207 100
Amérique	111 000	108 000	219 000	100 700	118 300
Europe	1 387 000	5500	1 392 500	704 000	688 500
Autres	1 582 000	5500	1 587 500	858 800	728 700
Total	3 501 000	123 500	3 624 500	1 884 700	1 739 800

a. Insee, recensement de population

b. Départements d’Outre-Mer - Insee, données transmises par Catherine Borrel

c. La répartition par sexe est fournie par l’Ined pour la France métropolitaine en 2006 et l’Insee (recensement de population 1999) pour les personnes de nationalité d’un pays d’Amérique

des relations sexuelles entre hommes ont été soustraits du nombre total d’hommes.

4.2.4 Enquête PREVAGAY

L’enquête PREVAGAY est une enquête transversale anonyme réalisée par l’Institut de veille sanitaire en partenariat avec le Syndicat national des entreprises gays. Elle avait notamment pour objectif de mesurer la séroprévalence et l’incidence de l’infection par le VIH dans une population d’HSH et fréquentant les lieux de convivialité gays de Paris. Durant 6 semaines en mai et juin 2009, des enquêteurs étaient présents à des jours et plages horaires variés dans 14 établissements commerciaux gays de Paris. Ces établissements comprenaient des bars et saunas où peuvent se dérouler des relations sexuelles, et des *backrooms*, qui sont des lieux de sexe. Sur la base du volontariat, les HSH présents dans ces lieux étaient invités à compléter un questionnaire comportemental et à fournir un échantillon de sang capillaire auto-prélevé au bout du doigt. Les échantillons de sang recueillis sur papier buvard ont été analysés par le CNR pour détecter la présence d’anticorps anti-VIH et pour les échantillons séropositifs confirmés par Western blot, les marqueurs d’infection récente du test EIA-RI. Parmi 1578 hommes invités à participer, 917 (58%) ont été inclus et 886 (56%) ont à la fois complété le questionnaire et fourni un échantillon sanguin. Parmi ces 886 HSH, dont la médiane d’âge était de 38 ans, 63% avaient été testés au moins une fois pour le VIH durant l’année écoulée et 51% déclaraient avoir eu plus de 10 partenaires sexuels dans l’année. Nous avons estimé dans cette population la prévalence

comme la proportion d'individus infectés par le VIH et l'incidence de l'infection par le VIH par la formule 2.7 exposée à la section 2.1.2. Cette dernière estimation reposait sur une période fenêtre du test EIA-RI de 180 jours (IC 95% :167-193) et une proportion de non-progresseurs de 1,6% (IC 95% :0,5-4,3).

4.3 Résultats

4.3.1 Estimations de l'incidence de l'infection par le VIH en population

Nouveaux diagnostics d'infection

Au 31 décembre 2008, 26 760 nouveaux diagnostics avaient été déclarés pour la période 2003 à 2008. Après prise en compte de l'exhaustivité du système de surveillance, on estime qu'un total de 42 330 (IC 95% :40 030-44 840) personnes ont été nouvellement diagnostiquées avec le VIH entre 2003 et 2008. Les informations déclarées comprenaient des valeurs non renseignées concernant le groupe de transmission pour 37,9% des diagnostics et concernant l'historique de test antérieurs pour 19,6% des diagnostics. Dans 24,2% des cas le résultat du test d'infection récente EIA-RI n'était pas disponible. Après l'imputation multiple, les nombres et principales caractéristiques des nouveaux diagnostics par année sont détaillés dans le tableau 4.2.

TABLEAU 4.2 – Nombre et caractéristiques des nouveaux diagnostics d'infection par le VIH, France 2003-2008

Variables ^a	Année de diagnostic						Total
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
Groupe de transmission (%)							
Femmes françaises hétérosexuelles	12,2	11,7	11,7	11,2	11,4	11,2	11,6
Hommes français hétérosexuels	13,1	13,3	13,9	14,2	14,2	15,5	14,0
Femmes étrangères hétérosexuelles	30,1	28,9	26,3	24,0	22,8	21,0	25,4
Hommes étrangers hétérosexuels	16,3	15,9	14,9	13,5	12,8	13,5	14,4
HSH ^b	25,2	27,2	30,6	34,5	36,4	37,0	32,1
UDI ^c	3,1	3,0	2,6	2,6	2,3	1,8	2,6
Résultat EIA-RI (%) ^d							
Récent	24,1	23,7	25,2	24,8	26,4	27,0	25,2
Non-récent et non-sida	56,3	58,7	58,2	59,8	58,6	59,8	58,7
Non-récent et sida	19,7	17,6	16,6	15,4	14,9	13,2	16,1
Test antérieur négatif (%)							
Patients ayant déjà eu un test antérieur négatif	32,4	37,4	43,8	48,7	53,1	58,9	46,2
Nombre de diagnostics	7 370	7 580	7 480	6 990	6 440	6 480	42 330
IC 95% borne inférieure	6 880	7 120	7 090	6 620	6 140	6 190	40 030
IC 95% borne supérieure	7 920	8 090	7 900	7 400	6 750	6 780	44840

a. Les données manquantes sont redistribuées par imputation multiple

b. Hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes

c. Usagers de drogues par voie intraveineuse

d. Avec prise en compte du stade clinique sida, qui est d'emblée classé en résultat non-récent

Le nombre total de nouveaux diagnostics a diminué d'en moyenne 3,7% par an entre 2003 et 2008 ($p < 10^{-4}$). Globalement, au cours de cette période de 6 ans, les hommes et les femmes infectés par rapports hétérosexuels représentent respectivement 28% et 37% des diagnostics ; les HSH représentent 32% et les usagers de drogues intraveineuse 3%. Les femmes de nationalité étrangère représentent 25% des diagnostics. Au cours des années, leur nombre a notablement diminué alors que celui des HSH nouvellement diagnostiqués a augmenté régulièrement.

La proportion des diagnostics classés comme infection récente était en moyenne de 25% et n'a pas varié significativement au cours des années. Les HSH représentent le groupe de transmission le plus fréquemment diagnostiqué durant l'infection récente (40%) devant les femmes et les hommes hétérosexuels français (respectivement 28 et 22%), les femmes et les hommes hétérosexuels étrangers (16 et 12%), et les usagers de drogues (15%).

La proportion de personnes ayant déjà été testées négativement pour le VIH avant leur diagnostic de séropositivité a augmenté significativement au cours des 6 années, de 32% en 2003 à 59% en 2008. Le niveau initial de cette proportion était différent selon les groupes de transmission mais cette même tendance a été observée pour tous les groupes.

Estimation d'incidence de l'infection par le VIH

Les paramètres du modèle d'incidence pour l'année 2008 sont résumés dans le tableau 4.3. La proportion de diagnostics classés en infection récente est plus importante chez les HSH (41,9%). La probabilité p_{11} d'être testé dans l'année suivant l'infection pour les *testeurs répétés* est la plus importante pour les HSH et la plus faible pour les UDI. La probabilité correspondante pour les *primo testeurs*, p_{10} , est la plus importante pour les femmes étrangères et les HSH.

Nous avons estimé à 6940 (IC 95% : 6200-7690) le nombre de personnes qui ont été contaminées par le VIH en France durant l'année 2008. La quasi totalité de ces contaminations est due à un contact sexuel. Avec 3320 (48%) nouvelles infections en 2008, les HSH représentent le groupe qui contribue le plus au nombre total de contaminations. Parmi les 3550 (51%) nouvelles contaminations attribuées à une transmission hétérosexuelle, 1800

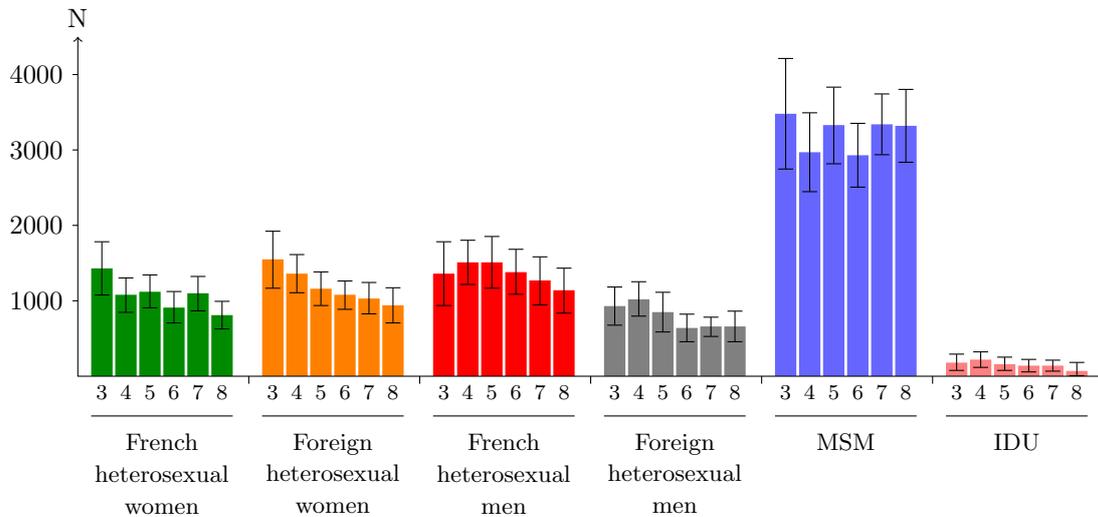
TABLEAU 4.3 – Paramètres du modèle d'incidence en 2008

Groupe de transmission	D^*	N_R (%)	p_{10}	p_{11}	p_w
Femmes françaises hétérosexuelles	729	187 (25,6)	0,2914	0,6506	0,4936
Hommes français hétérosexuels	1002	220 (22,0)	0,2214	0,6711	0,4936
Femmes étrangères hétérosexuelles	1362	216 (15,9)	0,3740	0,5767	0,4936
Hommes étrangers hétérosexuels	876	113 (12,9)	0,2206	0,6065	0,4936
HSH	2393	1003 (41,9)	0,3090	0,7309	0,4936
UDI	114	12 (10,5)	0,1443	0,5598	0,4936

D^* : Nombre de nouveaux diagnostics ; N_R : Nombre de diagnostics en infection récente. p_2 vaut 1 pour tous les groupes.

(51%) concernent des hommes et 1750 (49%) des femmes. Avec 70 cas estimés, les personnes infectées par usage de drogues par voie intraveineuse représentent 1% des nouvelles contaminations. Avec 1600 cas estimés, les personnes de nationalité étrangère représentent 23% des nouvelles contaminations et 45% des contaminations hétérosexuelles.

FIGURE 4.2 – Évolution du nombre de nouvelles infections en France, par groupe de transmission entre 2003 et 2008



Les années de 2003 à 2008 sont indiquées (3,4,...,8). Les groupes de transmission sont de gauche à droite : (a) Femmes hétérosexuelles françaises; (b) Femmes hétérosexuelles étrangères; (c) Hommes hétérosexuels français; (d) Hommes hétérosexuels étrangers; (e) Hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes; (f) Usagers de drogues par voie intraveineuse.

La figure 4.2 et le tableau 4.4 résument les tendances de l'incidence de l'infection pour les différents groupes au cours des 6 années. En termes de tendance, l'incidence globale baisse significativement entre 2003 (8930 nouvelles infections) et 2008 (6940) ($p < 10^{-4}$). Cette tendance à la baisse est retrouvée pour les contaminations par rapports hétérosexuels, quels que soient le sexe ou la nationalité. En revanche, l'incidence reste stable et élevée

sur la période 2003-2008 pour les HSH. Elle est également stable mais très faible chez les UDI.

TABLEAU 4.4 – Nombre de nouvelles infections (IC 95%) par le VIH par groupe de transmission entre 2003 et 2008

Année	Rapports hétérosexuels				Usage de drogues injectables	Rapports homo-sexuels	Total
	Femmes		Hommes				
	françaises	étrangères	français	étrangers			
2003	1430 1070;1790	1550 1160;1930	1360 930;1790	930 670;1190	180 70;300	3480 2740;4220	8930 7750;10110
2004	1080 840;1310	1360 1100;1620	1510 1210;1810	1020 790;1260	220 110;330	2970 2440;3500	8160 7280;9040
2005	1120 900;1350	1160 930;1390	1510 1160;1860	850 580;1120	160 70;260	3330 2810;3840	8140 7290;8990
2006	910 700;1130	1080 880;1270	1380 1080;1690	640 450;830	140 50;230	2930 2500;3360	7090 6360;7810
2007	1100 860;1330	1030 820;1250	1270 940;1590	660 520;790	140 60;220	3340 2930;3750	7530 6830;8230
2008	810 620;1000	940 700;1180	1140 830;1440	660 450;870	70 0;190	3320 2830;3810	6940 6200;7690

Taux d'incidence de l'infection par le VIH en 2008

Rapporté à l'effectif de la population de 18 à 69 ans, sexuellement active ou ayant consommé une drogue par voie intraveineuse, le taux d'incidence global est estimé à 17 cas annuels pour 100 000 personnes (IC 95% : 15-19) en 2008 (Tableau 4.5). Si l'on exclue la catégorie des UDI, qui ne représentent que 1% des cas et pour laquelle le détail par sexe n'est pas disponible, le taux d'incidence est de 24 pour 100 000 personnes-année pour les hommes et de 9 pour 100 000 personnes-année pour les femmes. Les HSH représentent la population la plus touchée avec un taux d'incidence estimé à 1006 contaminations par an pour 100 000 HSH - soit un taux d'incidence de 1% personnes-année. Ce taux chez les HSH est donc 42 fois supérieur au taux chez les hommes en général. Par rapport à la population hétérosexuelle française (taux de 5 pour 100 000 personnes-année), le taux d'incidence est 200 fois supérieur dans la population des HSH, 18 fois supérieur parmi les usagers de drogues par voie intraveineuse, et 9 fois supérieur chez les personnes hétérosexuelles de

nationalité étrangère.

TABLEAU 4.5 – Calculs des taux d’incidence du VIH par groupe de transmission, France 2008

Groupe de transmission	\hat{I} (IC 95%)	Effectif de population	\hat{T}_I (IC 95%)
Femmes françaises hétérosexuelles	810 (620;1000)	18 363 590	4 (3;5)
Hommes français hétérosexuels	1140 (830;1440)	18 848 440	6 (4;8)
Femmes étrangères hétérosexuelles	940 (700;1180)	1 739 760	54 (40;68)
Hommes étrangers hétérosexuels	660 (460;870)	1 884 740	35 (24;46)
HSH	3320 (2830;3810)	329 950	1006 (857;1155)
UDI	70 (0;190)	81 000	91 (0;237)
Total	6940 (6200;7690)	41 247 480	17 (15;19)

\hat{I} : Estimation du nombre de nouvelles contaminations; \hat{T}_I : Taux d’incidence pour 100 000 personnes-années

Parmi les personnes de nationalité étrangère, nous avons redistribué les nombres de cas incidents en fonction des proportions de diagnostics en infection récente par groupe de nationalité. Nous avons ainsi recalculé des taux d’incidence selon les groupe de nationalité, plus informatifs que si l’on agrège l’ensemble des personnes étrangères (Tableau 4.6). Ainsi, les taux d’incidence chez les hommes et les femmes de nationalités d’un pays d’Afrique subsaharienne sont particulièrement élevés (respectivement 145 et 354 cas par personnes-année), et sont 29 fois et 69 fois supérieurs à celui de la population hétérosexuelle française.

TABLEAU 4.6 – Taux d’incidence du VIH pour les femmes et hommes hétérosexuels selon la nationalité étrangère, France 2008

Groupe de transmission	T_I
Femmes étrangères hétérosexuelles	54
Sub Saharan Africa	354
Europe	5
America	44
Other	19
Hommes étrangers hétérosexuels	35
Sub Saharan Africa	145
Europe	15
America	92
Other	17

4.3.2 Estimation d'incidence parmi les HSH fréquentant les lieux gays

Dans l'enquête PREVAGAY, avec 157 hommes séropositifs sur 886, la séroprévalence de l'infection par le VIH était estimée à 17,7% [IC 95% : 15,3-20,4]. La prévalence augmentait avec l'âge, de 8,9% [IC 95% : 5,4-14,3] pour les moins de 30 ans, jusqu'à 22,0% [IC 95% : 15,5-30,4] pour les plus de 50 ans. Parmi les 157 hommes séropositifs, 20% ne connaissaient pas leur séropositivité, 69% déclaraient avoir eu plus de 10 partenaires sexuels dans l'année, 38% déclaraient avoir eu au moins un rapport anal non protégé avec un partenaire séronégatif ou de statut inconnu, et 33% avaient eu une autre infection sexuellement transmissible dans l'année.

Sur 886 participants, 729 étaient séronégatifs, 157 étaient séropositifs, et 28 de ces derniers étaient en infection récente⁷. Le taux d'incidence est estimé à 7,5% personnes-années [IC 95% : 4,2-10,3]. Le niveau le plus élevé d'incidence a été estimé pour la tranche d'âge de 40 à 49 ans (9,4% personnes-années [IC 95% : 1,7-17,8]).

7. Pour ces 28 personnes, la valeur de TM était inférieure au seuil de coupure.

4.4 Discussion

Ce travail fournit pour la première fois en France une estimation de l'incidence basée sur l'utilisation du test d'infection récente, dans la population française et pour les principaux groupes de transmission. Cette méthode présente l'avantage de fournir une estimation d'incidence pour une période récente. L'application du test depuis le début de la mise en œuvre de la déclaration obligatoire de séropositivité permet également de disposer d'une évaluation de la dynamique au cours du temps.

Population des hommes ayant des relations avec des hommes (HSH). Concernant les HSH, avec 48 % de l'ensemble des nouvelles contaminations en France, 64 % des nouvelles contaminations chez les hommes et un taux d'incidence stable de près de 1 % par an au niveau national, nos résultats confirment une situation d'épidémie non contrôlée. De même qu'en France, le nombre de nouveaux diagnostics chez les HSH est en augmentation ces dernières années dans les autres pays industrialisés - Europe, Etats-unis, Canada, Australie - et Asie du Sud Est [124; 161–163]. L'incidence de l'infection, quant à elle, a été évaluée au niveau d'échantillons sélectionnés d'HSH de plusieurs pays industrialisés entre 1995 et 2005 et est rapportée comme stable et élevée [164]. Dans la revue de Stall et coll. (2009), le niveau d'incidence moyen se situe entre 2 et 3 %. Ce résultat est supérieur au nôtre, mais les études d'incidence qui composent cette revue couvraient majoritairement la fin des années 1990 et étaient exclusivement situées dans des sites urbains sélectionnant les personnes les plus à risque (centre de dépistage, lieux communautaires). Les auteurs notent qu'il n'existe aucune estimation d'incidence pour cette catégorie de transmission à un niveau national dans la période 1995-2006 [164]. À notre connaissance, la seule estimation comparable à la nôtre est celle fournie pour l'année 2006 par Hall et coll. (2008) aux États-Unis [29]. La situation semble assez similaire entre les deux pays puisque les HSH représentent environ la moitié des nouvelles contaminations dans les deux cas et la proportion des HSH dans la population générale masculine n'est pas très éloignée (1,6 % en France et 2,8 % aux Etats-unis) [165].

Un certain nombre de facteurs peuvent expliquer le maintien d'un niveau de transmission particulièrement élevé dans la population des HSH : des comportements favorisant la trans-

mission, la synergie de la transmission du VIH avec celle des autres infections sexuellement transmissibles, et la forte prévalence de l'infection par le VIH dans cette population. Les études comportementales consacrées à la population HSH montrent un niveau important et en augmentation des pratiques sexuelles à risque (relations anales non protégées avec des partenaires stables ou occasionnels) que ce soit chez les personnes infectées ou non par le VIH [166]. De surcroît, le nombre de partenaires sexuels est plus important parmi les HSH (44 % des répondants de l'enquête Presse Gay déclaraient plus de 10 partenaires dans les 12 mois [166]) que dans la population générale masculine (en moyenne 12 partenaires au cours de la vie [159]). La combinaison de ces facteurs comportementaux et d'une probabilité de transmission accrue lors de rapports anaux augmente considérablement le risque d'infection chez les HSH [167]. L'augmentation des cas de syphilis et de lymphogranulomatose vénérienne rectale parmi les HSH est un indicateur supplémentaire de la fréquence des relations sexuelles non protégées [168; 169]. De plus les infections sexuellement transmissibles favorisent le risque de transmission du VIH [170–172]. Enfin, le niveau de prévalence est largement plus important dans la population des HSH. Il a été estimé à 13 % en 2004 parmi les lecteurs de la presse gay, à 14 % parmi les répondants de l'enquête Baromètre Gay en 2005 et mesuré biologiquement à 18 % dans l'enquête Prevagay [173]. Par une espérance de vie prolongée par les traitements, la taille de la population séropositive augmente [174–176]. La conséquence de cette prévalence élevée est que toute augmentation de comportements sexuels à risque aura un fort impact sur la transmission. La conjonction de ces facteurs peut expliquer, en France comme dans les autres pays industrialisés, la dynamique différente de l'épidémie au sein de la population HSH par rapport à la population hétérosexuelle. Le constat d'une réémergence de la transmission chez les HSH, qui se traduit par des niveaux de prévalence et d'incidence comparables au contexte de certains pays d'Afrique subsaharienne [164; 177] ou même comparables à la situation que les pays industrialisés ont connue avant l'accès aux traitements [164; 178], est particulièrement alarmant pour la population des HSH.

Par ailleurs, au travers de l'enquête PREVAGAY et son utilisation du test EIA-RI, nous avons pu estimer un taux d'incidence de l'infection par le VIH particulièrement élevé au sein d'une population d'HSH fréquentant des lieux gays parisiens. Cette enquête apporte

un éclairage différent sur cette population et vient compléter nos estimations au niveau national. En sélectionnant les participants dans des lieux de rencontres à Paris, l'enquête PREVAGAY a retrouvé un niveau alarmant de la prévalence (18 %), du nombre de partenaires et de la fréquence des relations non protégées, aussi bien chez les HSH séropositifs que séronégatifs. En ce sens, il semble logique que l'incidence y soit supérieure (7,5 %) par rapport au niveau national (1 %). Outre l'aspect spécifique des lieux ayant accueilli l'enquête PREVAGAY, le mode de recrutement de cette enquête transversale induit deux différences par rapport aux estimations nationales. Premièrement, le recrutement de type transversal et donc le moment où les personnes ont été testées ne dépend pas de la date d'infection. Ceci nous affranchit donc d'un biais de sélection potentiel qui aurait tendance à surestimer l'incidence, et que nous avons abordé au chapitre 2. En revanche, un deuxième facteur peut affecter nos estimations. La population des HSH séropositifs de l'enquête comprenait, on l'a vu, 80 % des personnes connaissant leur statut vis-à-vis du VIH et 20 % qui l'ignoraient. Si l'on peut exclure toute prise de traitement antirétroviral pour les personnes non dépistées jusqu'alors, il en est différemment pour les 80 % déjà diagnostiquées. Or, comme on l'a vu à la page 38 de la section 2.3.3, une surestimation de l'incidence peut résulter du mauvais classement en infection récente de patients chroniquement infectés et traités. Un travail est actuellement mené en collaboration avec le CNR pour quantifier cette potentielle surestimation de l'incidence en présence de patients traités.

Population des usagers de drogues par voie intraveineuse (UDI). Le nombre de nouvelles infections par le VIH liées à l'injection de drogues par voie intraveineuse est resté à un niveau relativement faible ces dernières années (entre 70 et 220 cas par an, représentant 1 à 2 % des nouvelles contaminations). Cette situation peut probablement être expliquée par la réduction du nombre de personnes consommant des drogues injectables, l'accès facilité aux seringues stériles et la baisse de la prévalence du VIH parmi les usagers injecteurs [179]. Comme au Canada [180] ou aux Etats-Unis [29; 101] où l'incidence a atteint un maximum au milieu des années 1990 et décroît depuis, des politiques de prévention efficaces et des pratiques changeantes de consommation de drogues ont considérablement diminué le niveau d'exposition au VIH parmi les usagers de drogues en France [181; 182]. Cependant le risque de transmission dans cette population demeure important en France

puisque le taux d'incidence est estimé à 91 cas pour 100 000 personnes-années en 2008. Nous avons pu surestimer ce taux en choisissant un dénominateur de 81 000 personnes ayant consommé une drogue par voie intraveineuse dans le mois qui précède. Même avec un dénominateur de 145 000 personnes, correspondant aux personnes rapportant au moins une injection au cours de la vie, le taux est de 48 cas pour 100 000 personnes-années, ce qui reste environ dix fois supérieur au taux d'incidence de la population hétérosexuelle française.

Population hétérosexuelle. Le niveau d'incidence parmi les personnes hétérosexuelles baisse entre 2003 et 2008. Ce sont les personnes de nationalité étrangère qui restent le plus touchées, et parmi elles, particulièrement les femmes. Les taux d'incidence sont les plus élevés parmi les personnes de nationalité d'Afrique subsaharienne. Concernant les personnes françaises, on peut s'étonner que les hommes soient significativement plus contaminés que les femmes. Il est possible qu'une partie des hommes classés comme hétérosexuels au moment du diagnostic aient également un risque (non déclaré) de contamination par rapport homosexuel, et que ceci contribue à cette différence.

La situation épidémique de l'infection par le VIH en France est celle d'une épidémie « concentrée », où la prévalence est la plus importante dans des groupes spécifiques à risque et l'infection faiblement présente en population générale [2]. En conséquence, la surveillance comportementale est plus focalisée sur ces groupes à risque (HSH et UDI, voire personnes migrantes). Il existe pourtant bien un intérêt à caractériser les personnes hétérosexuelles à risque, notamment en ce qui concerne leurs partenaires [183; 184]. Paradoxalement, le taux d'incidence étant relativement faible dans la population hétérosexuelle française, il est donc plus difficile d'identifier les déterminants de la dynamique de l'infection parmi les quelques 37 millions d'adultes hétérosexuels que parmi les HSH ou les UDI. Nous ne pouvons qu'émettre des hypothèses sur la baisse de la transmission du VIH par rapports hétérosexuels. Il est possible qu'un déclin naturel puisse se produire dans un environnement conjuguant une faible prévalence, une faible probabilité de transmission par acte sexuel et une bonne couverture du dépistage et du traitement des personnes positives [167]. Il est également envisageable que la promotion de la prévention des risques sexuels et celle du préservatif aient eu un impact favorable. Cette baisse de l'incidence

est compatible avec l'augmentation de l'âge moyen au diagnostic d'infection par le VIH, constatée entre 2003 et 2008 pour la population hétérosexuelle, alors que la moyenne est stable chez les HSH [4]. Ce vieillissement pourrait indiquer que le renouvellement de la population séropositive est moins important au cours du temps pour la population hétérosexuelle. Un effort de recherche et d'amélioration des dispositifs de surveillance est sans doute nécessaire pour mieux caractériser l'épidémie dans la population française hétérosexuelle [184; 185].

Concernant les personnes contaminées par rapports hétérosexuels de nationalités étrangères, majoritairement de nationalité d'Afrique subsaharienne, une même tendance à la baisse de l'incidence est observée. Cette évolution est comparable à celle des nouveaux diagnostics d'infection par le VIH [124]. Elle ne s'explique apparemment pas par une diminution des flux migratoires puisque ceux-ci, après une augmentation de 2000 à 2003, sont restés stables entre 2003 et 2007 [124]. En revanche, concernant la population africaine vivant en France, on peut envisager que l'effort de prévention spécifique démarré en France en 2002 a pu avoir un effet [186; 187]. Nous n'avons pas pour ce travail de données sur le lieu de contamination (France ou étranger) ou la date d'arrivée en France et les données sur les partenaires des personnes nouvellement diagnostiquées étaient trop parcellaires. Nous ne pouvons donc pas aborder l'influence croisée des épidémies dans les sous-populations des HSH, des UDI ou de personnes originaires des zones de forte endémie, sur la transmission hétérosexuelle en France. Toutefois, les résultats de la surveillance virologique laissent supposer que des contaminations de personnes d'Afrique subsaharienne ont bien lieu en France [125]. En effet, la proportion de nouveaux diagnostics d'infection par le sous-type B chez ces personnes est de l'ordre de 20 %, alors que ce sous-type est très peu présent en Afrique, et cette proportion n'a pas diminué entre 2003 et 2007 [4].

Limites des estimations. Il faut prendre en compte plusieurs limites liées au modèle et aux données disponibles. Le modèle d'estimation de l'incidence repose principalement sur trois paramètres estimés : le nombre de diagnostics classés en infection récente, la durée de l'infection récente, et enfin la probabilité d'être diagnostiqué dans l'année suivant la contamination. Les deux premiers paramètres ont été déterminés par une étape préalable de calibration du test d'infection récente sur un échantillon non-aléatoire de patients séro-

positifs suivis par les cohortes PRIMO et SEROCO, servant de population de référence. En appliquant ces deux estimations et leur variance à notre population d'étude, nous faisons l'hypothèse que la population de référence est généralisable à l'ensemble des personnes nouvellement infectées.

La probabilité d'être diagnostiqué dans l'année suivant la contamination est calculée sous les hypothèses d'une indépendance entre contamination et recours au dépistage, et d'une stabilité des comportements de dépistage au cours du temps. Il est probable que dans certains cas, la contamination motive un dépistage précoce, notamment si elle entraîne des symptômes. Afin d'améliorer les estimations, un travail futur devra déterminer l'impact d'un tel dépistage précoce. En particulier, par l'introduction d'une nouvelle question au système de surveillance, nous pourrions étudier séparément les personnes rapportés comme ayant été diagnostiquées à la suite d'une prise de risque de moins de six mois. Quant aux comportements de dépistage, rien n'indique qu'ils ont subi des changements importants au cours des six années d'étude.

Les données de surveillance utilisées n'étant pas toujours complètes, leurs valeurs manquantes ont été estimées par imputation multiple. La variable renseignant la réalisation d'une sérologie négative antérieure au diagnostic comprend un certain nombre de données manquantes entre 2003 et 2007. Nous y avons attaché une attention particulière puisque c'est une variable clé dans le modèle. La proportion de personnes déjà testées négative avant le diagnostic a augmentée entre 2003 et 2008. Cette tendance est retrouvée pour tous les groupes de contamination et n'est donc pas simplement due à l'augmentation des diagnostics des HSH, plus fréquemment testés que les autres populations. Nous avons confronté nos résultats après imputation avec les données recueillies par la cohorte COPANA. Cette cohorte inclut, depuis début 2004 et dans 40 centres hospitaliers, des personnes de 15 ans ou plus infectées par le VIH-1, dont la découverte de séropositivité date de moins d'un an (avec donc une définition semblable à la surveillance nationale des nouveaux diagnostics d'infection par le VIH). Ainsi, nous avons vérifié au travers de cette autre source de données (COPANA), que la proportion de personnes diagnostiquées qui avaient préalablement été testées négatives était similaire à nos données issues de la surveillance (après imputation) et montrait une même tendance à la hausse entre 2003 et

2008 (données non montrées).

Le calcul des taux d'incidence, qui permettent de comparer les situations des différents groupes, nécessite d'estimer les effectifs de ces groupes de population. De manière générale, les données d'enquêtes déclaratives de certaines pratiques stigmatisées ou socialement dévalorisées, comme les rapports homosexuels ou l'usage de drogue, fournissent des estimations minimales [165]. Les effectifs associés peuvent donc surestimer les taux d'incidence. Cependant, concernant les HSH, la proportion mesurée en population générale par l'enquête CSF à deux reprises nous semble fournir la meilleure estimation disponible du dénominateur. Concernant la population étrangère, les données existantes n'ont pas permis d'estimer les dénominateurs de cette population selon les facteurs de risque. Les effectifs utilisés reviennent donc à considérer que la population étrangère est exclusivement hétérosexuelle, ce qui tend à sous-estimer les taux d'incidence correspondant. Compte-tenu de la très faible part relative des hommes ayant des relations avec des partenaires de même sexe et du faible nombre d'usagers de drogues par voie injectable dans la population française, il est peu probable que l'erreur soit importante pour la population étrangère. Par ailleurs, comme nous l'avons vu, l'effectif des usagers de drogue par voie intraveineuse est une limite inférieure de la population exposée une année donnée puisqu'il est défini par un usage au cours du mois précédent. Le taux d'incidence chez les usagers de drogues est donc probablement surestimé.

Enfin, ces estimations d'incidence représentent des contaminations se produisant une année donnée dans la population pouvant être diagnostiquée en France. Elles incluent donc des personnes contaminées à l'étranger et qui pourront ultérieurement être diagnostiquées en France. Le système de surveillance ne permet pas de déterminer si les contaminations ont eu lieu en France ou à l'étranger⁸. La fiabilité des estimations d'incidence dans la population de nationalité étrangère est donc conditionnée par l'hypothèse que les migrations de personnes séropositives sont stationnaires durant la période d'étude. Sans pouvoir distinguer les personnes séropositives, on peut constater qu'après avoir augmenté entre 2000 et 2003, les flux migratoires en provenance d'Afrique subsaharienne sont restés stables entre 2003 et 2007 [188]. Enfin, les dénominateurs de populations étrangères ne tiennent

8. Une modification récente du système de surveillance permettra à cette information d'être recueillie mais nous n'en disposons pas pour ce travail.

pas compte des personnes en situation irrégulière d'immigration qui peuvent par contre être comptabilisées comme de nouvelles infections (au numérateur), le taux d'incidence peut en être surestimé.

Chapitre 5

Conclusion générale

La connaissance de l'incidence est un élément crucial pour interpréter la dynamique de l'infection par le VIH dans les différents groupes de la population française. Cependant les méthodes disponibles pour estimer l'incidence de l'infection par le VIH sont difficiles à mettre en oeuvre. Parce que les conditions d'applications ne sont pas réunies ou parce que les données nécessaires ne sont pas recueillies, très peu de pays peuvent obtenir une mesure fiable et récente de l'incidence au plan national. À ce titre, la méthode d'estimation de l'incidence du VIH reposant sur les tests d'infection récente est particulièrement prometteuse puisqu'elle peut fournir une estimation à partir d'un recueil unique dans le temps de données de prévalence. Néanmoins, comme nous l'avons exposé au chapitre 2, cette méthode proposée pour la première fois il y a une quinzaine d'années continue d'être améliorée. L'élément majeur qui reste en débat est la notion de période fenêtre et son applicabilité à différentes populations. Dans la deuxième partie de notre travail, consacrée à l'étude du test EIA-RI, nous avons évalué les résultats du test dans une population plus large et variée que celle de l'échantillon ayant servi à le mettre au point. Cette évaluation nous a révélé que la période fenêtre était bien variable selon les individus, que les caractéristiques initiales du test étaient optimistes et que ses résultats pouvaient être influencés par l'origine géographique des patients. Nous avons ensuite changé le principe d'interprétation du test en considérant l'état d'infection récente comme défini par la réponse biologique par rapport à un seuil et non par la durée depuis l'infection. Par l'étape de calibration, nous avons alors caractérisé les paramètres essentiels du test pour estimer

l'incidence de l'infection, à savoir la distribution de la période fenêtre et la spécificité à long terme résultant de la présence de non-progresseurs. Ces étapes ont rendu possibles les applications de la deuxième partie de notre travail mais devraient également permettre une utilisation du test EIA-RI dans d'autres contextes puisqu'il fait partie des tests considérés par les groupes de travail internationaux [189]. Dans la troisième partie, nous avons pu estimer l'incidence de l'infection par le VIH au niveau national, pour différents groupes de transmission et sur plusieurs années récentes en utilisant les données de la déclaration obligatoire de séropositivité. Nous avons également estimé l'incidence de l'infection parmi un échantillon d'HSH recrutés au travers d'une enquête dans des lieux communautaires parisiens. Ces résultats apportent un éclairage majeur au niveau du système de surveillance, et améliorent l'interprétation des données de nouveaux diagnostics. En effet, en France comme dans de nombreux autres pays, cette interprétation restait limitée par le rôle de facteur intermédiaire que joue le dépistage : les évolutions observées pour les diagnostics ne permettaient pas de conclure quant à la dynamique des transmissions [124; 161; 162; 190]. Les données d'incidence sont à ce titre le reflet le plus direct de la transmission actuelle dans les différentes populations. Dorénavant, ces données d'incidence pourront être produites chaque année et suivies au cours du temps pour mieux décrire la dynamique de la transmission du virus en France dans les différents groupes de population. Elles contribueront à élaborer et évaluer des programmes de lutte contre l'infection en direction des populations particulièrement exposées au risque d'infection par le VIH.

Cependant plusieurs aspects méthodologiques restent à approfondir. L'approche par extrapolation stratifiée que nous avons adaptée dans ce travail a été développée par Karon et coll. pour utiliser des données sur les nouveaux diagnostics qui étaient particulièrement parcellaires aux États-Unis¹. Ainsi, la constitution de groupes homogènes de population permet de considérer un paramètre moyen de la période fenêtre et un paramètre moyen de la probabilité de diagnostic dans l'année d'infection pour chaque groupe. Ces paramètres moyens peuvent être calculés à partir des données observées et appliqués aux données rendues complètes par l'imputation multiple. Cependant, en France, où les informations sont

1. Pour le système de surveillance de l'incidence américain et pour les diagnostics de l'année 2006, l'information concernant un test antérieur négatif manquait dans 64 % des cas et seuls 30 % des cas avaient été testés vis-à-vis de l'infection récente [111] (respectivement 20 % et 76 % pour les données françaises en 2008).

plus complètes, le modèle pourrait être affiné en calculant des probabilités individuelles. Nous menons actuellement ce travail consistant à utiliser d'une part, le délai depuis le dernier test négatif observé pour un individu au lieu du délai moyen de son groupe de transmission, et d'autre part, à utiliser la distribution de la période fenêtre au lieu de la moyenne de cette distribution.

Concernant la validité des résultats du test d'infection récente, l'évaluation des performances du test EIA-RI dans le cadre de la déclaration des diagnostics nous a montré le rôle de l'origine géographique des patients sur la réponse anticorps. Ceci a motivé l'ajout de patients de diverses origines et infectés par des virus de sous-type différents pour diversifier la population de référence utilisée pour la calibration. Nous envisageons d'affiner les estimations de périodes fenêtre en fonction de ces facteurs d'origine géographique et de sous-type viral. Enfin, un travail est en cours pour évaluer l'influence du traitement antirétroviral, initié au stade chronique de l'infection, sur les comportements des marqueurs du test. Si les performances s'avéraient modifiées chez les patients traités, les résultats de l'enquête PREVAGAY pourraient être affectés et cela impliquerait qu'il est nécessaire de recueillir des informations sur le traitement dans ce type d'enquête transversale.

Enfin et surtout, nos estimations devront être comparées aux résultats fournis par d'autres méthodes d'estimation de l'incidence de l'infection par le VIH. À ce titre, deux projets utilisant les mêmes données de surveillance collectées par l'InVS sont en cours en France. Le premier est mené par l'ISPED, sous la supervision d'Ahmadou Alioum, et consiste à estimer les temps d'infection à partir des mesures des marqueurs TM et V3 au moment du diagnostic. Le second est mené par l'unité U943 de l'Inserm, sous la supervision de Dominique Costagliola et est une adaptation de la méthode de rétrocalcul généralisé [191]. La confrontation de ces résultats permettra d'apprécier la validité des hypothèses des différents modèles et de conforter l'interprétation de la dynamique de l'infection par le VIH en France.

Bibliographie

- [1] Kaldor JM, Delpech V, Guy RJ. AIDS case reporting : do we still need it? *Lancet*. 2008 Dec ;373(9658) :181–3.
- [2] Directives pour la surveillance de deuxième génération du VIH. Genève : Organisation mondiale de la Santé et Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA ; 2000.
- [3] Report on the global AIDS epidemic. Geneva : Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) ; 2008.
- [4] Cazein F, Pillonel J, Le Strat Y, Lot F, Pinget R, David D, et al. Surveillance de l'infection à VIH-sida en France, 2007. *Bull Epidemiol Hebd*. 2008;(45-46) :434–443.
- [5] Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. *Epidemiologic research : principles and quantitative methods*. New York, NY : Van Nostrand Reinhold ; 1982.
- [6] Bernard P, Lapointe C. *Mesures statistiques en épidémiologie*. Presse de l'Université du Québec ; 1987.
- [7] Bouyer J, Hémon D, Cordier S, Derriennic F, Stücker I, Stengel B, et al. *Epidémiologie. Principes et méthodes quantitatives*. Les éditions Inserm ; 1995.
- [8] Rothman KJ, Greenland S, Lash TL. *Modern epidemiology*. 3rd ed. Philadelphia, PA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2008.
- [9] Freeman J, Hutchison GB. Prevalence, incidence and duration. *Am J Epidemiol*. 1980 ;112(5) :707–723.
- [10] Brookmeyer R, Gail MH. *AIDS Epidemiology : A Quantitative Approach*. Oxford University Press, New York ; 1994.
- [11] Cleghorn FR, Jack N, Murphy JR, Edwards J, Mahabir B, Paul R, et al. Direct and indirect estimates of HIV-1 incidence in a high-prevalence population. *Am J Epidemiol*. 1998 May ;147(9) :834–839.
- [12] Dixon DO, Rida WN, Fast PE, Hoth DF. HIV vaccine trials : some design issues including sample size calculation. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993 Apr ;6(5) :485–96.
- [13] Brookmeyer R. Accounting for follow-up bias in estimation of human immunodeficiency virus incidence rates. *J R Statist Soc A*. 1997 ;160 :127–140.
- [14] Lagakos SW, Gable AR. Estimating HIV incidence. In : *Methodological challenges in biomedical HIV prevention trials*. Chapter 8. Washington, D.C. : National Academies Press ; 2008. p. 175–185.
- [15] Walker N, Garcia-Calleja J, Heaton L, Asamoah-Odel E, Pomeroy G, Lazzari S, et al. Epidemiological analysis of the quality of HIV sero-surveillance in the world : how well do we track the epidemic? *AIDS*. 2001 Jan ;15(12) :1545–54.
- [16] Chin J. Public health surveillance of AIDS and HIV infections. *Bull World Health Organ*. 1990 Jan ;68(5) :529–36.

- [17] Chin J, Sato PA, Mann JM. Projections of HIV infections and AIDS cases to the year 2000. *Bull World Health Organ.* 1990 Jan;68(1) :1–11.
- [18] Bärnighausen T, Wallrauch C, Welte A, McWalter TA, Mbizana N, Viljoen J, et al. HIV Incidence in Rural South Africa : Comparison of Estimates from Longitudinal Surveillance and Cross-Sectional cBED Assay Testing. *PLoS ONE.* 2008 Nov;3(11) :e3640.
- [19] Batter V, Matela B, Nsuami M, Manzila T, Kamenga M, Behets F, et al. High HIV-1 incidence in young women masked by stable overall seroprevalence among childbearing women in Kinshasa, Zaire : estimating incidence from serial seroprevalence data. *AIDS.* 1994;8(6) :811–817.
- [20] Wawer MJ, Serwadda D, Gray RH, Sewankambo NK, Li C, Nalugoda F, et al. Trends in HIV-1 prevalence may not reflect trends in incidence in mature epidemics : data from the Rakai population-based cohort, Uganda. *AIDS.* 1997 Jul;11(8) :1023–30.
- [21] Hallett TB, Zaba B, Todd J, Lopman B, Mwita W, Biraro S, et al. Estimating Incidence from Prevalence in Generalised HIV Epidemics : Methods and Validation. *PLoS Med.* 2008 ;5(4) :e80–e80.
- [22] Bärnighausen T, Biraro S, Bwanika J, Gregson S, Hallett T, Hosegood V, et al. Diverse age patterns of HIV incidence rates in Africa. In : XVII International AIDS conference, Mexico City. Session TUAC0201 ; 2008. .
- [23] Goubar A, Costagliola D. HIV incidence estimates among women of childbearing age in the area around Paris, France : no evidence for any effect of age or time. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001 Jul;27(5) :492–8.
- [24] Desenclos JC, Costagliola D, Commenges D, Lellouch J. La prévalence de la séropositivité VIH en France. *Bull Epidemiol Hebd.* 2005 Mar;(11) :41–44.
- [25] Aalen OO, Farewell VT, Angelis DD, Day NE, Gill ON. A Markov model for HIV disease progression including the effect of HIV diagnosis and treatment : application to AIDS prediction in England and Wales. *Stat Med.* 1997 Oct;16(19) :2191–2210.
- [26] Becker NG, Lewis JJ, Li Z, McDonald A. Age-specific back-projection of HIV diagnosis data. *Stat Med.* 2003 Jul;22(13) :2177–2190.
- [27] Posner SJ, Myers L, Hassig SE, Rice JC, Kissinger P, Farley TA. Estimating HIV incidence and detection rates from surveillance data. *Epidemiology (Cambridge, Mass).* 2004 Mar;15(2) :164–72.
- [28] Alioum A, Commenges D, Thiebaut R, Dabis F. A multistate approach for estimating the incidence of human immunodeficiency virus by using data from a prevalent cohort study. *Journal of the Royal Statistical Society-Series C Applied Statistics.* 2005;54(4) :739–752.
- [29] Hall HI, Song R, Rhodes PH, Prejean J, An Q, Lee LM, et al. Estimation of HIV incidence in the United States. *JAMA.* 2008 Aug;300(5) :520–9.
- [30] Sommen C, Alioum A, Commenges D. A multistate approach for estimating the incidence of human immunodeficiency virus by using HIV and AIDS French surveillance data. *Stat Med.* 2009;28(11) :1554–1568.
- [31] Brookmeyer R, Quinn TC. Estimation of current human immunodeficiency virus incidence rates from a cross-sectional survey using early diagnostic tests. *Am J Epidemiol.* 1995 Jan;141(2) :166–172.
- [32] Brookmeyer R, Quinn TC, Shepherd M, Mehendale S, Rodrigues J, Bollinger R. The AIDS epidemic in India : a new method for estimating current human immunodeficiency virus (HIV) incidence rates. *Am J Epidemiol.* 1995 Oct ;142(7) :709–713.

- [33] Beyrer C, Brookmeyer R, Natpratan C, Kunawararak P, Niraroot V, Palapunya P, et al. Measuring HIV-1 incidence in northern Thailand : prospective cohort results and estimates based on early diagnostic tests. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1996 Aug ;12(5) :495–9.
- [34] Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion*. 2005 Feb ;45(2) :254–64.
- [35] Pilcher CD, Fiscus SA, Nguyen TQ, Foust E, Wolf L, Williams D, et al. Detection of acute infections during HIV testing in North Carolina. *N Engl J Med*. 2005 May ;352(18) :1873–83.
- [36] Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, Rawal BD, O’Brien TR, Weiblen BJ, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA*. 1998 Jul ;280(1) :42–48.
- [37] Parekh BS, McDougal JS. New approaches for detecting recent HIV-1 infection. *AIDS Rev*. 2001 Jan ;(3) :183–193.
- [38] Murphy G, Parry JV. Assays for the detection of recent infections with human immunodeficiency virus type 1. *Euro Surveill*. 2008 Sep ;13(36) :4–10.
- [39] Rawal BD, Degula A, Lebedeva L, Janssen RS, Hecht FM, Sheppard HW, et al. Development of a new less-sensitive enzyme immunoassay for detection of early HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003 Jul ;33(3) :349–355.
- [40] Barin F, Meyer L, Lancar R, Deveau C, Gharib M, Laporte A, et al. Development and validation of an immunoassay for identification of recent human immunodeficiency virus type 1 infections and its use on dried serum spots. *J Clin Microbiol*. 2005 Sep ;43(9) :4441–7.
- [41] Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, Pau CP, Byers RH, Green TA, et al. Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion : a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2002 Mar ;18(4) :295–307.
- [42] Wilson KM, Johnson EI, Croom HA, Richards KM, Doughty L, Cunningham PH, et al. Incidence immunoassay for distinguishing recent from established HIV-1 infection in therapy-naive populations. *AIDS*. 2004 ;
- [43] Suligoi B, Massi M, Galli C, Sciandra M, Sora FD, Pezzotti P, et al. Identifying recent HIV infections using the avidity index and an automated enzyme immunoassay. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003 Apr ;32(4) :424–8.
- [44] Wei X, Liu X, Dobbs T, Kuehl D, Nkengasong JN, Hu DJ, et al. Development of two avidity-based assays to detect recent HIV type 1 seroconversion using a multisubtype gp41 recombinant protein. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010 Jan ;26(1) :61–71.
- [45] McDougal JS, Pilcher CD, Parekh BS, Gershy-Damet G, Branson BM, Marsh K, et al. Surveillance for HIV-1 incidence using tests for recent infection in resource-constrained countries. *AIDS*. 2005 May ;19 Suppl 2 :S25–30.
- [46] Kaplan EH, Brookmeyer R. Snapshot estimators of recent HIV incidence rates. *Operations Research*. 1999 ;47(1) :29–37.
- [47] Balasubramanian R, Lagakos SW. Estimating HIV Incidence Based on Combined Prevalence Testing. *Biometrics*. 2009 Apr ;66(1) :1–10.
- [48] McDougal JS, Parekh BS, Peterson ML, Branson BM, Dobbs T, Ackers M, et al. Comparison of HIV type 1 incidence observed during longitudinal follow-up with incidence estimated by cross-sectional analysis using the BED capture enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006 ;22(10) :945–952.
- [49] Hu DJ, Vanichseni S, Mock PA, Young NL, Dobbs T, Byers RH, et al. HIV type 1 incidence estimates by detection of recent infection from a cross-sectional sampling of injection drug

- users in Bangkok : use of the IgG capture BED enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2003 Sep ;19(9) :727–30.
- [50] Pillonel J, Barin F, Laperche S, Bernillon P, Le Vu S, Brunet S, et al. Human immunodeficiency virus type 1 incidence among blood donors in France, 1992 through 2006 : use of an immunoassay to identify recent infections. *Transfusion*. 2008 May ;48(8) :1567–1575.
- [51] Guy RJ, Gold J, Garcia-Calleja JM, Kim AA, Parekh BS, Busch MP, et al. Accuracy of serological assays for detection of recent infection with HIV and estimation of population incidence : a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2009 Nov ;9(12) :747–759.
- [52] Kim AA, Hallett TB, Stover J, Gouws E, Hargrove JW, Musinguzi J, et al. Measurement of HIV incidence among adults in Kenya and Uganda : a systematic comparison of multiple methods. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections - San Francisco. 2010 ;.
- [53] Satten GA, Janssen RS, Stramer S, Busch MP. Development and validation of a serologic testing algorithm for recent HIV seroconversion. In : Kaplan EH, Brookmeyer R, editors. *Quantitative evaluation of HIV prevention programs*. Chapter 14. Yale University Press ; 2002. p. 290–304.
- [54] Rothman KJ, Greenland S. *Modern epidemiology*. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins ; 1998.
- [55] Chu H, Cole SR. Estimating biomarker-based HIV incidence using prevalence data in high risk groups with missing outcomes. *Biometrical Journal*. 2006 Aug ;48(5) :772–9.
- [56] Cole SR, Chu H, Brookmeyer R. Confidence intervals for biomarker-based human immunodeficiency virus incidence estimates and differences using prevalent data. *Am J Epidemiol*. 2006 Jan ;165(1) :94–100.
- [57] Song R. Modeling HIV testing behavior and its impact on incidence estimation ; 2004. 15th International AIDS Conference, Bangkok, Thailand.
- [58] Byers RH, Hu DJ, Janssen RS. Estimating HIV incidence from a cross-sectional survey with the less sensitive assay. In : Tan W, Wu H, editors. *Deterministic and Stochastic Models for AIDS Epidemics*. 4. Hackensack, NJ : World Scientific Publishers ; 2005. p. 513–525.
- [59] Corporation CB. *Aware™ BED™ EIA HIV-1 Incidence Test*. Portland : Calypte Biomedical Corporation ; 2008.
- [60] CDC HIV/AIDS Information Sheet : Using the BED HIV-1 Capture EIA Assay to Estimate Incidence Using STARHS in the Context of Surveillance in the U.S. Centers for Disease Control and Prevention ; 2006.
- [61] Le Vu S, Pillonel J, Semaille C, Bernillon P, Strat YL, Meyer L, et al. Principles and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing—a review. *Euro Surveill*. 2008 Sep ;13(36) :1–6.
- [62] Yan P. Statistical problems in HIV incidence estimation using biomarkers ; 2009. Meeting of the WHO Working Group on Incidence Assays, Geneva.
- [63] Young CL, Hu DJ, Byers RH, Vanichseni S, Young NL, Nelson R, et al. Evaluation of a sensitive/less sensitive testing algorithm using the bioMerieux Vironostika-LS assay for detecting recent HIV-1 subtype B' or E infection in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2003 Jun ;19(6) :481–6.
- [64] Hargrove JW, Humphrey J, Mutasa K, Parekh BS, McDougal JS, Ntozini R, et al. Improved HIV-1 incidence estimates using the BED capture enzyme immunoassay. *AIDS*. 2008 Feb ;22(4) :511–8.
- [65] McWalter TA, Welte A. A comparison of biomarker based incidence estimators. *PLoS ONE*. 2009 Jan ;4(10) :e7368.

- [66] McWalter TA, Welte A. Relating recent infection prevalence to incidence with a sub-population of assay non-progressors. *J Math Biol.* 2009 Jul ;.
- [67] Laeyendecker O, Rothman RE, Henson C, Horne BJ, Ketlogetswe KS, Kraus CK, et al. The effect of viral suppression on cross-sectional incidence testing in the Johns Hopkins hospital emergency department. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008 Jun ;48(2) :211–5.
- [68] Brookmeyer R. Should biomarker estimates of HIV incidence be adjusted? *AIDS.* 2009 Feb ;23(4) :485–91.
- [69] McDougal JS. BED estimates of HIV incidence must be adjusted. *AIDS.* 2009 Sep ;23(15) :2064–5; author reply 2066–8.
- [70] Welte A, McWalter TA, Bärnighausen T. Reply to 'Should biomarker estimates of HIV incidence be adjusted?'. *AIDS.* 2009 Sep ;23(15) :2062–3; author reply 2066–8.
- [71] Busch MP, Lee LL, Satten GA, Henrard DR, Farzadegan H, Nelson KE, et al. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion : implications for screening of blood and tissue donors. *Transfusion.* 1995 Feb ;35(2) :91–7.
- [72] Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors : implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS.* 2003 Sep ;17(13) :1871–1879.
- [73] Quinn TC, Brookmeyer R, Kline R, Shepherd M, Paranjape R, Mehendale S, et al. Feasibility of pooling sera for HIV-1 viral RNA to diagnose acute primary HIV-1 infection and estimate HIV incidence. *AIDS.* 2000 Dec ;14(17) :2751–7.
- [74] Kothe D, Byers RH, Caudill SP, Satten GA, Janssen RS, Hannon WH, et al. Performance characteristics of a new less sensitive HIV-1 enzyme immunoassay for use in estimating HIV seroincidence. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003 Aug ;33(5) :625–34.
- [75] Suligoi B, Galli C, Massi M, Sora FD, Sciandra M, Pezzotti P, et al. Precision and accuracy of a procedure for detecting recent human immunodeficiency virus infections by calculating the antibody avidity index by an automated immunoassay-based method. *J Clin Microbiol.* 2002 Nov ;40(11) :4015–20.
- [76] Chawla A, Murphy G, Donnelly C, Booth CL, Johnson M, Parry JV, et al. Human immunodeficiency virus (HIV) antibody avidity testing to identify recent infection in newly diagnosed HIV type 1 (HIV-1)-seropositive persons infected with diverse HIV-1 subtypes. *J Clin Microbiol.* 2007 Feb ;45(2) :415–20.
- [77] Schüpbach J, Gebhardt MD, Tomasik Z, Niederhauser C, Yerly S, Bürgisser P, et al. Assessment of recent HIV-1 infection by a line immunoassay for HIV-1/2 confirmation. *PLoS Med.* 2007 Dec ;4(12) :e343.
- [78] Sill AM, Kreisel K, Deeds BG, Wilson CM, Constantine NT, Peralta L, et al. Calibration and validation of an oral fluid-based sensitive/less-sensitive assay to distinguish recent from established HIV-1 infections. *J Clin Lab Anal.* 2007 Jan ;21(1) :40–5.
- [79] Soroka SD, Granade TC, Candal D, Parekh BS. Modification of rapid human immunodeficiency virus (HIV) antibody assay protocols for detecting recent HIV seroconversion. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005 Aug ;12(8) :918–21.
- [80] Kshatriya R, Cachafeiro AA, Kerr RJS, Nelson JAE, Fiscus SA. Comparison of two rapid human immunodeficiency virus (HIV) assays, Determine HIV-1/2 and OraQuick Advance Rapid HIV-1/2, for detection of recent HIV seroconversion. *J Clin Microbiol.* 2008 Sep ;46(10) :3482–3.
- [81] Sweeting M, De Angelis D. Modelling the growth of an HIV incidence assay ; 2009. 30th

annual conference of the International Society for Clinical Biostatistics (ISCB). August 23-27, 2009, Prague.

- [82] Murphy G, Charlett A, Osner N, Gill ON, Parry JV. Reconciling HIV incidence results from two assays employed in the serological testing algorithm for recent HIV seroconversion (STARHS). *J Virol Methods*. 2003 ;113(2) :79–86.
- [83] Parekh BS, Pau CP, Kennedy MS, Dobbs T, McDougal JS. Assessment of antibody assays for identifying and distinguishing recent from long-term HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001 ;17(2) :137–146.
- [84] Parekh BS, Hu DJ, Vanichseni S, Satten GA, Candal D, Young NL, et al. Evaluation of a sensitive/less-sensitive testing algorithm using the 3A11-LS assay for detecting recent HIV seroconversion among individuals with HIV-1 subtype B or E infection in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001 ;17(5) :453–458.
- [85] Parekh BS. Calibration, Validation and Application of the BED Assay for Recent HIV-1 Infection in Multiple Subtypes ; 2005. *HIV Diagnostics : New Developments and Challenges*, 2005. Florida, USA.
- [86] Le Guillou H, Le Meur A, Bourdon S, Riou M, Loison J, Fialaire P, et al. Avidité des anticorps : application au diagnostic d'infection récente VIH1. *AnnBiolClin(Paris)*. 2001 ;59(1) :41–47.
- [87] Suligoi B, Buttò S, Galli C, Bernasconi D, Salata RA, Tamoschi L, et al. Detection of recent HIV infections in African individuals infected by HIV-1 non-B subtypes using HIV antibody avidity. *J Clin Virol*. 2008 Apr ;41(4) :288–92.
- [88] Wang R, Lagakos SW. On the Use of Adjusted Cross-Sectional Estimators of HIV Incidence. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Dec ;52(5) :538–47.
- [89] Busch MP, Stramer S, Vermeulen M, Goncales T, Keating S, Remis RS. Derivation of HIV Incidence Assay “Window Periods” from Seroconverting Blood Donors in Countries with Diverse HIV Clades ; 2009. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Montreal.
- [90] Kassanjee R, Welte A, McWalter TA, Viljoen J, Bärnighausen T, Newell ML, et al.. Calibration of BED assay for use in incidence estimation ; 2009. 5th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Cape Town.
- [91] Development Of Assays to Estimate HIV Incidence : Meeting Proceedings. Chapel Hill : Family Health International and World Health Organization ; 2009.
- [92] Hallett TB, Ghys PD, Bärnighausen T, Yan P, Garnett GP. Errors in 'BED'-derived estimates of HIV incidence will vary by place, time and age. *PLoS ONE*. 2009 Jan ;4(5) :e5720.
- [93] Lambotte O, Boufassa F, Madec Y, Nguyen A, Goujard C, Meyer L, et al. HIV controllers : a homogeneous group of HIV-1-infected patients with spontaneous control of viral replication. *Clin Infect Dis*. 2005 Oct ;41(7) :1053–6.
- [94] Novitsky V, Wang R, Kebaabetswe L, Greenwald J, Rossenkhan R, Moyo S, et al. Better control of early viral replication is associated with slower rate of elicited antiviral antibodies in the detuned enzyme immunoassay during primary HIV-1C infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Oct ;52(2) :265–72.
- [95] Kellogg TA, Loeb L, Dilley J, Adler B, Louie BT, McFarland W. Comparison of three methods to measure HIV incidence among persons seeking voluntary, anonymous counseling and testing. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005 May ;39(1) :112–20.
- [96] Schwarcz SK, Kellogg TA, McFarland W, Louie BT, Kohn RP, Busch MP, et al. Differences in the temporal trends of HIV seroincidence and seroprevalence among sexually transmitted

- disease clinic patients, 1989-1998 : application of the serologic testing algorithm for recent HIV seroconversion. *Am J Epidemiol.* 2001 May ;153(10) :925-934.
- [97] Weinstock H, Dale M, Gwinn M, Satten GA, Kothe D, Mei JV, et al. HIV seroincidence among patients at clinics for sexually transmitted diseases in nine cities in the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002 Apr ;29(5) :478-483.
- [98] Dukers NHTM, Spaargaren J, Geskus RB, Beijnen J, Coutinho RA, Fennema HSA. HIV incidence on the increase among homosexual men attending an Amsterdam sexually transmitted disease clinic : using a novel approach for detecting recent infections. *AIDS.* 2002 Jul ;16(10) :F19-24.
- [99] Murphy G, Charlett A, Jordan LF, Osner N, Gill ON, Parry JV. HIV incidence appears constant in men who have sex with men despite widespread use of effective antiretroviral therapy. *AIDS.* 2004 Jan ;18(2) :265-272.
- [100] Alves K, Shafer KP, Caseiro M, Rutherford GW, Falcao ME, Sucupira MCA, et al. Risk factors for incident HIV infection among anonymous HIV testing site clients in Santos, Brazil : 1996-1999. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003 Apr ;32(5) :551-559.
- [101] Des Jarlais DC, Perlis T, Arasteh K, Torian LV, Beatrice S, Milliken J, et al. HIV incidence among injection drug users in New York City, 1990 to 2002 : use of serologic test algorithm to assess expansion of HIV prevention services. *AJPH.* 2005 Aug ;95(8) :1439-44.
- [102] Kral AH, Lorvick J, Gee L, Bacchetti P, Rawal BD, Busch MP, et al. Trends in human immunodeficiency virus seroincidence among street-recruited injection drug users in San Francisco, 1987-1998. *Am J Epidemiol.* 2003 May ;157(10) :915-922.
- [103] Saphonn V, Parekh BS, Dobbs T, Mean C, Bun LH, Ly SP, et al. Trends of HIV-1 seroincidence among HIV-1 sentinel surveillance groups in Cambodia, 1999-2002. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005 Aug ;39(5) :587-92.
- [104] Gouws E, Williams BG, Sheppard HW, Enge B, Karim SA. High incidence of HIV-1 in South Africa using a standardized algorithm for recent HIV seroconversion. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002 Apr ;29(5) :531-5.
- [105] Nesheim S, Parekh BS, Sullivan K, Bulterys M, Dobbs T, Lindsay M, et al. Temporal trends in HIV Type 1 incidence among inner-city childbearing women in Atlanta : use of the IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2005 Jun ;21(6) :537-44.
- [106] de Freitas Oliveira CA, Ueda M, Yamashiro R, Rodrigues R, Sheppard HW, de Macedo Brígido LF. Rate and incidence estimates of recent human immunodeficiency virus type 1 infections among pregnant women in Sao Paulo, Brazil, from 1991 to 2002. *J Clin Microbiol.* 2005 Mar ;43(3) :1439-42.
- [107] Sakarovitch C, Rouet F, Murphy G, Minga AK, Alioum A, Dabis F, et al. Do tests devised to detect recent HIV-1 infection provide reliable estimates of incidence in Africa? *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007 May ;45(1) :115-22.
- [108] Rehle T, Shisana O, Pillay V, Zuma K, Puren A, Parker W. National HIV incidence measures – new insights into the South African epidemic. *South African medical journal.* 2007 Feb ;97 :194-199.
- [109] Mermin JH, Musinguzi J, Opio A, Kirungi W, Ekwaru JP, Hladik W, et al. Risk Factors for Recent HIV Infection in Uganda. *JAMA.* 2008 Aug ;300(5) :540-549.
- [110] Lee LM, McKenna MT. Monitoring the incidence of HIV infection in the United States. *Public Health Rep.* 2007 Jan ;122 Suppl 1 :72-9.
- [111] Karon JM, Song R, Brookmeyer R, Kaplan EH, Hall HI. Estimating HIV incidence in the United States from HIV/AIDS surveillance data and biomarker HIV test results. *Stat Med.* 2008 ;27(23) :4617-33.

- [112] Remis RS, Swantee C, Merid M, Palmer RWH, Fearon M, Fisher M, et al. Enhancing diagnostic data for HIV surveillance : The Laboratory Enhancement Study; 2004. 15th International AIDS Conference, Bangkok, Thailand.
- [113] Killian M, Norris PJ, Rawal BD, Lebedeva M, Hecht FM, Levy J, et al. The effects of early antiretroviral therapy and its discontinuation on the HIV-specific antibody response. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006;22(7) :640–7.
- [114] Rehle TM. HIV incidence estimation South Africa; 2009. Cape Town. WHO Working Group on HIV Incidence Assays, Cape Town, July 16-17, 2009.
- [115] Karita E, Price M, Hunter E, Chomba E, Allen S, Fei L, et al. Investigating the utility of the HIV-1 BED capture enzyme immunoassay using cross-sectional and longitudinal seroconverter specimens from Africa. *AIDS*. 2007 Feb;21(4) :403–8.
- [116] Westreich D, Pettifor A, Karita E, Price M, Fiamma A, Fiscus SA, et al. Overestimation of the South African HIV incidence using the BED IgG assay? *South African medical journal*. 2007;97(7) :476.
- [117] Le Vu S, Meyer L, Cazein F, Pillonel J, Semaille C, Barin F, et al. Performance of an immunoassay at detecting recent infection among reported HIV diagnoses. *AIDS*. 2009 Jul;23(13) :1773–9.
- [118] Parekh BS, McDougal JS. Application of laboratory methods for estimation of HIV-1 incidence. *Indian J Med Res*. 2005 Apr;121(4) :510–8.
- [119] Fisher M, Pao D, Murphy G, Dean G, McElborough D, Homer G, et al. Serological testing algorithm shows rising HIV incidence in a UK cohort of men who have sex with men : 10 years application. *AIDS*. 2007 Nov;21(17) :2309–14.
- [120] Schoenbach VJ, Poole C, Miller WC. Invited commentary : should we estimate incidence for undefined populations? *Am J Epidemiol*. 2001 May;153(10) :935–7; discussion 938.
- [121] Remis RS, Palmer RWH, Raboud J. Bias in estimates of HIV incidence based on the detuned assay : A proposed solution; 2004. 15th International AIDS Conference, Bangkok, Thailand.
- [122] Remis RS, Palmer RWH. Testing bias in calculating HIV incidence from the Serologic Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion. *AIDS*. 2009 Feb;23(4) :493–503.
- [123] Song R, Karon JM, White E, Gary Goldbaum. Estimating the Distribution of a Renewal Process from Times at which Events from an Independent Process Are Detected. *Biometrics*. 2006 Jul;(62) :838–846.
- [124] Cazein F, Pillonel J, Imounga L, Le Strat Y, Bousquet V, Spaccaferri G, et al. Surveillance du dépistage et du diagnostic de l'infection VIH et du sida, France, 2008. *BEHWeb*. 2009 Nov;(2) :1–15.
- [125] Semaille C, Barin F, Cazein F, Pillonel J, Lot F, Brand D, et al. Monitoring the dynamics of the HIV epidemic using assays for recent infection and serotyping among new HIV diagnoses : experience after 2 years in France. *J Infect Dis*. 2007 Aug;196(3) :377–83.
- [126] Semaille C, Cazein F, Pillonel J, Lot F, Le Vu S, Pinget R, et al. Four years of surveillance of recent HIV infections at country level, France, mid 2003 - 2006 : experience and perspectives. *Euro Surveill*. 2008 Sep;13(36) :17–22.
- [127] Gebhardt MD. Recent trends in new diagnoses of HIV infections in Switzerland : probable increase in MSM despite an overall decrease. *Euro Surveill*. 2005 Jan;10(12) :E051208.2.
- [128] Guy RJ, Breschkin AM, Keenan CM, Catton MG, Enriquez AM, Hintsche ME. Improving HIV surveillance in Victoria : the role of the "detuned" enzyme immunoassay. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005 Apr;38(4) :495–9.

- [129] Schwarcz SK, Weinstock H, Louie BT, Kellogg TA, Douglas J, LaLota M, et al. Characteristics of persons with recently acquired HIV infection : application of the serologic testing algorithm for recent HIV seroconversion in 10 US cities. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007 Jan ;44(1) :112–5.
- [130] Bassichetto KC, Bergamaschi DP, Oliveira SM, Deienno MCV, Bortoloto R, de Rezende HV, et al. Elevated Risk for HIV-1 Infection in Adolescents and Young Adults in São Paulo, Brazil. *PLoS ONE*. 2008 Jan ;3(1) :e1423.
- [131] Thiede H, Jenkins RA, Carey JW, Hutcheson R, Thomas KK, Stall RD, et al. Determinants of Recent HIV Infection Among Seattle-Area Men Who Have Sex with Men. *AJPH*. 2008 Jun ;99(S1) :S157–S164.
- [132] Semaille C, Cazein F, Lot F, Pillonel J, Le Vu S, Le Strat Y, et al. Recently acquired HIV infection in men who have sex with men (MSM) in France, 2003-2008. *Euro Surveill*. 2009 ;14(48).
- [133] Brown L, Cai T, DasGupta A. Interval estimation for a binomial proportion. *Statistical Science*. 2001 ;16(2) :101–117.
- [134] Kahn J, Walker B. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med*. 1998 ;339(1) :33–39.
- [135] Schacker T, Collier A, Hughes J, Shea T, Corey L. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann Intern Med*. 1996 ;125(4) :257–264.
- [136] Barin F, Plantier J, Brand D, Brunet S, Moreau A, Liandier B, et al. Human immunodeficiency virus serotyping on dried serum spots as a screening tool for the surveillance of the AIDS epidemic. *Journal of Medical Virology*. 2006 ;78(S1) :S13–S18.
- [137] Institut de veille sanitaire. Surveillance de l'infection à VIH-sida en France, 2005. *Bull Epidemiol Hebd*. 2006 ;(48) :371–378.
- [138] Loschen S, Bätzing-Feigenbaum J, Poggensee G, Cordes C, Hintsche ME, Rausch M, et al. Comparison of the Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 1-Specific Immunoglobulin G Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and the Avidity Index Method for Identification of Recent HIV Infections. *J Clin Microbiol*. 2008 Jan ;46(1) :341–5.
- [139] Agresti A. *Categorical data analysis*. Hoboken, NJ : John Wiley and Sons ; 2002.
- [140] Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. New York, NY : Johns Wiley & Sons ; 1989.
- [141] Goujard C, Chaix ML, Lambotte O, Deveau C, Sinet M, Guergnon J, et al. Spontaneous control of viral replication during primary HIV infection : when is "HIV controller" status established? *Clin Infect Dis*. 2009 Sep ;49(6) :982–6.
- [142] Desquilbet L, Deveau C, Goujard C, Hubert JB, Derouineau J, Meyer L. Increase in at-risk sexual behaviour among HIV-1-infected patients followed in the French PRIMO cohort. *AIDS*. 2002 Nov ;16(17) :2329–2333.
- [143] Madec Y, Boufassa F, Avettand-Fenoel V, Hendou S, Melard A, Boucherit S, et al. Early Control of HIV-1 Infection in Long-Term Nonprogressors Followed Since Diagnosis in the ANRS SEROCO/HEMOCO Cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 ;50(1) :19.
- [144] Diggle P. *Analysis of longitudinal data*. Oxford University Press ; 2002.
- [145] SAS Institute. *SAS/STAT User's Guide*. Version 8.2. Cary, NC : SAS Institute Inc. ; 1999.
- [146] Davidian M, Giltinan DM. Nonlinear models for repeated measurement data : an overview and update. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*. 2003 ;8(4) :387–419.

- [147] Pinheiro JC, Bates DM. Approximations to the log-likelihood function in the nonlinear mixed-effects model. *Journal of computational and Graphical Statistics*. 1995;4(1) :12–35.
- [148] SAS Institute. PROC NL MIXED, SAS OnlineDoc, Version 8. Cary, NC : SAS Institute Inc. ; 1999.
- [149] Delyon B, Lavielle M, Moulines E. Convergence of a stochastic approximation version of the EM algorithm. *Annals of Statistics*. 1999;27(1) :94–128.
- [150] SAS Institute. PROC LIFEREG, SAS OnlineDoc, Version 8. Cary, NC : SAS Institute Inc. ; 1999.
- [151] Welte A, McWalter TA, Bärnighausen T. A simplified formula for inferring HIV incidence from cross-sectional surveys using a test for recent infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25(1) :125–126.
- [152] Royston P. Multiple imputation of missing values : furter update of ice, with an emphasis on categorical variables. *Stata Journal*. 2009;9(3) :466–477.
- [153] Van Buuren S. Multiple imputation of discrete and continuous data by fully conditional specification. *Stat Methods Med Res*. 2007;16(3) :219–242.
- [154] Little RJA, Rubin DB. *Statistical analysis with missing data*. New York : Wiley ; 2002.
- [155] Sterne JAC, White IR, Carlin JB, Spratt M, Royston P, Kenward MG, et al. Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research : potential and pitfalls. *BMJ (Clinical Research Ed)*. 2009;338 :b2393.
- [156] Le Strat Y, Pillonel J, Le Vu S, Bousquet V, Lavallée P, Semaille C, et al. Assessing the completeness of reporting of a notifiable disease by a survey-based approach - Illustration for the Human Immunodeficiency Virus diagnoses in France. In preparation. 2010;.
- [157] Greene WH. *Econometric Analysis*. 2nd ed. New York : Macmillan Publishing Company ; 1993.
- [158] Bajos N, Bozon M, Beltzer N. *Enquête sur la sexualité en France : Pratiques, genre et santé*. Editions La Découverte ; 2008.
- [159] Bajos N, Bozon M, Beltzer N, Laborde C, Andro A. Changes in sexual behaviours : from secular trends to public health policies. *AIDS*. 2010 Jan;24.
- [160] Costes JM, Vaissade L, Colasante E, Palle C, Legleye S, Janssen E, et al. Prévalence de l'usage problématique de drogues en France - Estimations 2006. Saint-Denis : Observatoire français des drogues et des toxicomanies (OFDT) ; 2009.
- [161] Grulich AE, Kaldor JM. Trends in HIV incidence in homosexual men in developed countries. *Sexual health*. 2008 Jun;5(2) :113–8.
- [162] Sullivan PS, Hamouda O, Delpech V, Geduld JE, Prejean J, Semaille C, et al. Reemergence of the HIV Epidemic Among Men Who Have Sex With Men in North America, Western Europe, and Australia, 1996-2005. *Annals of Epidemiology*. 2009;19(6) :423–431.
- [163] van Griensven F. The global epidemic of HIV infection among men who have sex with men. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2009;4(4) :300–307.
- [164] Stall R, Duran L, Wisniewski SR, Friedman MS, Marshal MP, McFarland W, et al. Running in place : implications of HIV incidence estimates among urban men who have sex with men in the United States and other industrialized countries. *AIDS and behavior*. 2009 Aug;13(4) :615–29.
- [165] Purcell D, Johnson C, Lansky A, Prejean J, Stein R, Denning P, et al.. Calculating HIV and Syphilis Rates for Risk Groups : Estimating the National Population Size of Men Who Have Sex with Men ; 2010. 2010 National STD Prevention Conference, Atlanta, GA.

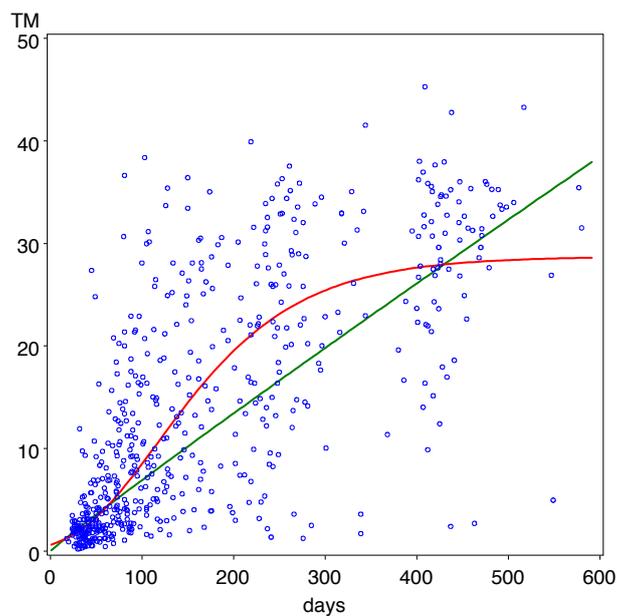
- [166] Bouyssou-Michel A, de Busscher PO, Jauffret-Roustide M, Semaille C, Velter A. Enquête Presse Gay 2004. Velter A, editor. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 2007.
- [167] Goodreau S, Golden MR. Biological and demographic causes of high HIV and sexually transmitted disease prevalence in men who have sex with men. *STI*. 2007;83(6) :458–62.
- [168] Bouyssou Michel A, Gallay A, Janier M, Dupin N, Halioua B, Alcaraz I, et al. Surveillance de la syphilis en France, 2000-2006 : recrudescence des diagnostics en 2006. *Bull Epidemiol Hebd*. 2008;(5-6) :39–42.
- [169] Herida M, de Barbeyrac B, Sednaoui P, Scieux C, Lemarchand N, Kreplak G, et al. Rectal lymphogranuloma venereum surveillance in France 2004-2005. *Euro Surveill*. 2006 Sep;11(9) :155–156.
- [170] Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice : the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sexually Transmitted Infections*. 1999 Feb;75(1) :3–17.
- [171] Cohen MS. HIV and sexually transmitted diseases : lethal synergy. *Topics in HIV Medicine : A Publication of the International AIDS Society, USA*. 2004 Nov;12(4) :104–107.
- [172] Fenton KA, Breban R, Vardavas R, Okano JT, Martin T, Aral S, et al. Infectious syphilis in high-income settings in the 21st century. *The Lancet Infectious Diseases*. 2008;8(4) :244–253.
- [173] Lutte contre le VIH/sida et les infections sexuellement transmissibles en France. 10 ans de surveillance, 1996-2005. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 2007.
- [174] Couzigou C, Semaille C, Strat YL, Pinget R, Pillonel J, Lot F, et al. Differential improvement in survival among patients with AIDS after the introduction of HAART. *AIDS Care*. 2007;19(4) :523–531.
- [175] Marcus U, Voss L, Kollan C, Hamouda O. HIV incidence increasing in MSM in Germany : factors influencing infection dynamics. *Euro Surveill*. 2006 Sep;11(9) :157–60.
- [176] Likatavicius G, Klavs I, Devaux I, Alix J, Nardone A. An increase in newly diagnosed HIV cases reported among men who have sex with men in Europe, 2000-6 : implications for a European public health strategy. *STI*. 2008 Nov;84(6) :499–505.
- [177] El-Sadr WM, Mayer KH, Hodder SL. AIDS in America—forgotten but not gone. *The New England Journal of Medicine*. 2010 Mar;362(11) :967–970.
- [178] Jin F, Jansson J, Law M, Prestage GP, Zablotska I, Imrie JCG, et al. Per-contact probability of HIV transmission in homosexual men in Sydney in the era of HAART. *AIDS*. 2010 Mar;24(6) :907–13.
- [179] Emmanuelli J, Desenclos JC. Harm reduction interventions, behaviours and associated health outcomes in France, 1996-2003. *Addiction*. 2005;100(11) :1690–1700.
- [180] Boulos D, Yan P, Schanzer D, Remis RS. Estimates of HIV prevalence and incidence in Canada, 2005. *Canadian Communicable Disease Report*. 2006 Jan;32(15) :165–174.
- [181] Carrieri MP, Spire B. Harm reduction and control of HIV in IDUs in France. *Lancet*. 2008 Aug;372(9637) :448.
- [182] Jauffret-Roustide M, Le Strat Y, Couturier E, Thierry D, Rondy M, Quaglia M, et al. A national cross-sectional study among drug-users in France : epidemiology of HCV and highlight on practical and statistical aspects of the design. *BMC Infectious Diseases*. 2009;9 :113.
- [183] Gallagher KM, Sullivan PS, Lansky A, Onorato IM. Behavioral surveillance among people at risk for HIV infection in the U.S. : the National HIV Behavioral Surveillance System. *Public Health Rep*. 2007 Jan;122 Suppl 1 :32–8.
- [184] Lansky A, Drake A, DiNenno E, won Lee C. HIV behavioral surveillance among the U.S. general population. *Public Health Rep*. 2007 Jan;122 Suppl 1 :24–31.

- [185] Gilbert VL, Mercer CH, Dougan S, Copas AJ, Fenton K, Johnson A, et al. Factors associated with heterosexual transmission of HIV to individuals without a major risk within England, Wales, and Northern Ireland : a comparison with national probability surveys. *STI*. 2006 ;82(1) :15–20.
- [186] Institut national de prévention et d'éducation pour la santé. Des outils et une étude pour mieux aborder la prévention du sida auprès des personnes d'origine étrangère vivant en France ; 2002. Communiqué de presse du 24 juin 2002, Saint-Denis.
- [187] Lydié N, Beltzer N, Féniès K, Halfen S, Lert F, Le Vu S. Les populations africaines d'Ile-de-France face au VIH/sida-Connaissances, attitudes, croyances et comportements. Saint-Denis : Institut national de prévention et d'éducation à la santé ; 2007.
- [188] Institut national d'études démographiques. Flux d'immigration par nationalité détaillée depuis 1994 ; 2010. disponible sur le site <http://www.ined.fr/fr>.
- [189] Assays to Estimate HIV Incidence and Detect Acute HIV Infection : Global Landscape and Market Assessments. Family Health International ; 2010.
- [190] Dougan S, Elford J, Chadborn TR, Brown AE, Roy K, Murphy G, et al. Does the recent increase in HIV diagnoses among men who have sex with men in the UK reflect a rise in HIV incidence or increased uptake of HIV testing? *STI*. 2007 Apr ;83(2) :120–5.
- [191] Cui J, Becker NG. Estimating HIV incidence using dates of both HIV and AIDS diagnoses. *Stat Med*. 2000 May ;19(9) :1165–1177.

Annexe A

Résultats des modèles mixtes

FIGURE A.1 – Prédictions moyennes des modèles linéaire et non-linéaire finaux



TABEAU A.1 – Estimations du modèle linéaire mixte

Modèle	Y	t	β_0	β_1	$\sigma_{\beta_0}^2$	$\sigma_{\beta_1}^2$
$E(Y) = \beta_0 + \beta_1 \cdot t$	$\log(TM_{ij})$	$\log(t_{ij})$	-2,4773	0,9579	0,1644	0,03193

TABLEAU A.2 – Estimations des modèles non-linéaires mixtes

Modèle	Paramètre aléatoire	Effets fixes			Variances des effets aléatoires et résidus				Statistiques d'ajustement	
		a	b	c	σ_a^2	σ_b^2	σ_c^2	σ_ε^2	AIC	-2 LV
1	a	2,455	2,273	0,012	0,2639			22,6847	3865,8	3855,8
2	b	1,908	2,456	0,015		0,0511		27,6947	3939,3	3929,3
3	c	2,103	2,761	0,009			0,7357	16,1636	3698,2	3688,2
4	a et b	2,214	2,352	0,011	0,6305	0,0539		18,8121	3850,5	3836,5
5	a et c	1,594	2,973	0,01	0,0262		0,6986	12,6379	3674,0	3662,0
6	b et c	1,688	2,956	0,01		0,0035	0,781	12,3222	3675,9	3661,9
7	a,b et c	1,642	2,945	0,01	0,0019	0,0027	0,728	12,5423	3670,9	3656,9

FIGURE A.2 – Prédictions individuelles du modèle linéaire final

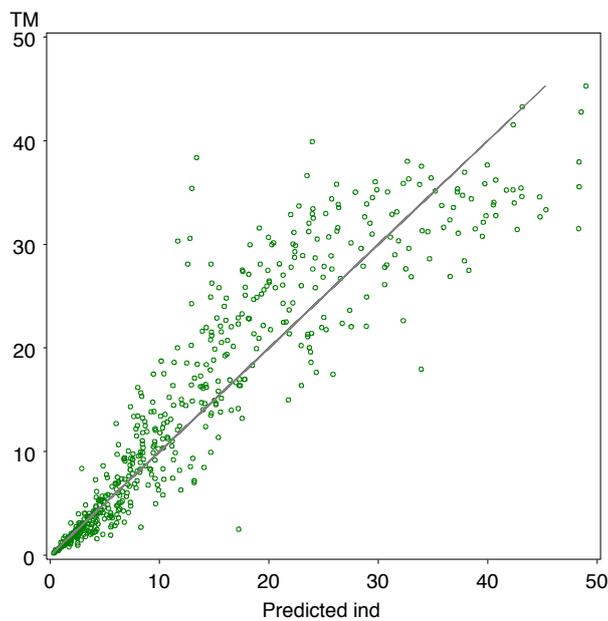


FIGURE A.3 – Résidus individuels du modèle linéaire final

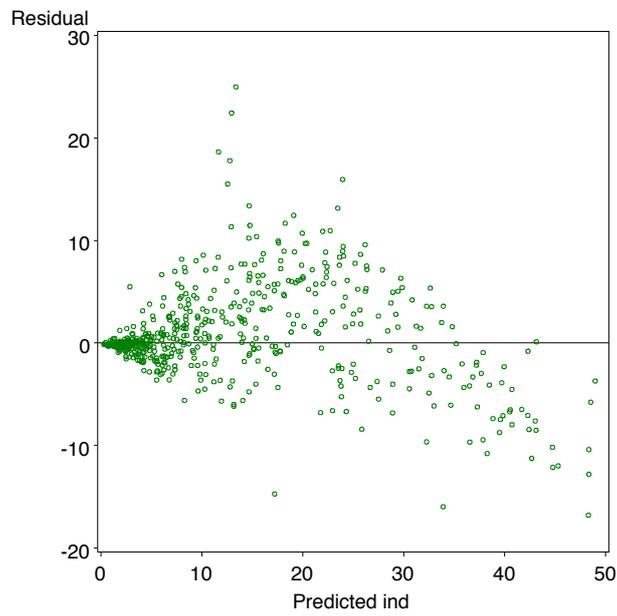


FIGURE A.4 – Prédictions individuelles du modèle non-linéaire final

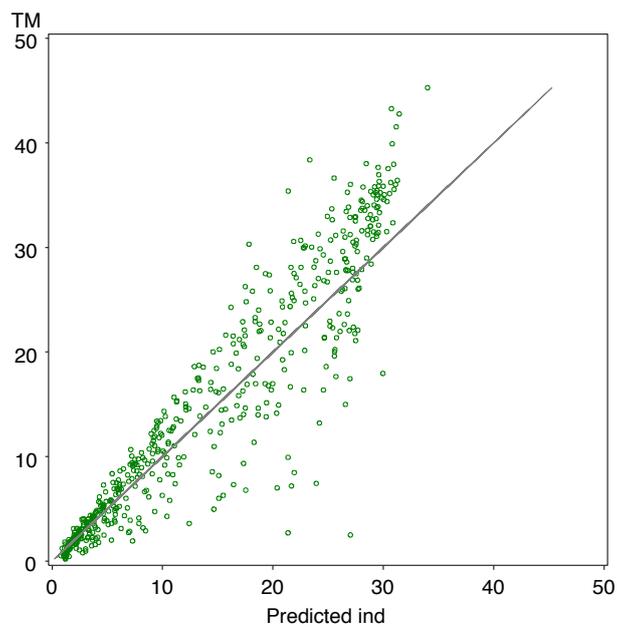
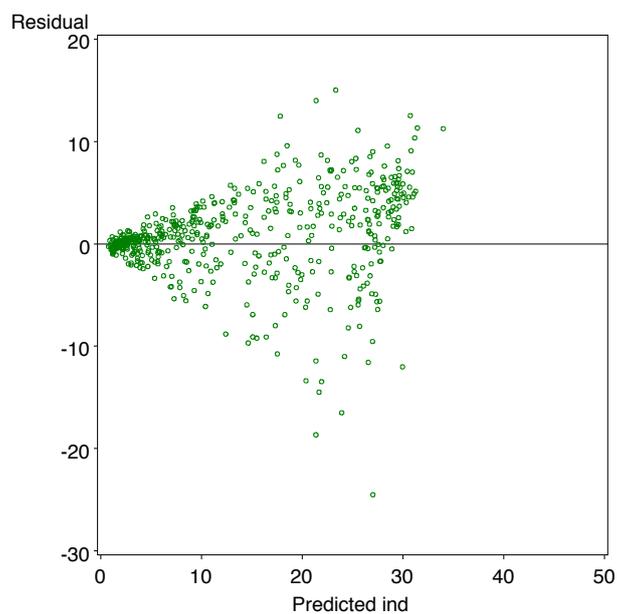


FIGURE A.5 – Résidus individuels du modèle non-linéaire final



Annexe B

Liste des publications et communications scientifiques

Articles

- **S. Le Vu**, Y. Le Strat, F. Barin, J. Pillonel, F. Cazein, V. Bousquet, S. Brunet, C. Semaille, L. Meyer, J.-C. Desenclos. Population-based HIV Incidence in France, 2003-2008. 2010. (*To be submitted*).
- S. Loschen, **S. Le Vu**, J. Batzing-Feigenbaum, R. Zimmermann, O. Hamouda, F. Barin and C. Kucherer. Identification of recent HIV-1 infections from plasma and filter dried plasma samples with the BED-CEIA and the EIA-RI. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010. (*submitted*).
- **S. Le Vu**, L. Meyer, F. Cazein, J. Pillonel, C. Semaille, F. Barin, and J.-C. Desenclos. Performance of an immunoassay at detecting recent infection among reported HIV diagnoses. *AIDS*, 23(13) :1773–9, Jul 2009.
- **S. Le Vu**, J. Pillonel, C. Semaille, P. Bernillon, Y. Le Strat, L. Meyer, and J.-C. Desenclos. Principles and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing—a review. *Euro Surveill*, 13(36), Sep 2008.

Présentations orales lors de conférences

- **S. Le Vu**, Y. Le Strat, F. Cazein, J. Pillonel, S. Brunet, V. Bousquet, C. Semaille, L. Meyer, F. Barin, and J.-C. Desenclos. Population-based HIV Incidence in France, 2003 to 2008. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco USA. Feb 2010.
- **S. Le Vu**, F. Cazein, J. Pillonel, L. Meyer, F. Barin, C. Semaille. Evaluating the EIA-RI assay performance at detecting recent infection among HIV diagnoses in France. XVII International AIDS Conference. Mexico City. Aug 2008.
- **S. Le Vu**, J. Pillonel, C. Semaille. Principle and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing. WHO Technical HIV Incidence Assay Working Group. Mexico City. Aug 2008

Annexe C

Article 1

PRINCIPLES AND USES OF HIV INCIDENCE ESTIMATION FROM RECENT INFECTION TESTING - A REVIEW

S Le Vu (s.levu@invs.sante.fr)¹, J Pillonel¹, Caroline Semaille¹, P Bernillon¹, Y Le Strat¹, L Meyer², J C Desenclos¹

1. Department of Infectious Diseases, HIV/AIDS-STI-HCV Unit, Institut de veille sanitaire (French Institute for Public Health Surveillance, InVS), Saint-Maurice, France

2. Department of Epidemiology, Institut national de la santé et de la recherche médicale/Institut national d'études démographiques (National Institute of Health and Medical Research/National Institute for Demographic Studies, INSERM/INED/Paris XI U569), Le Kremlin-Bicêtre, France

Since the 1990s, the development of laboratory-based methods has allowed to estimate incidence of human immunodeficiency virus (HIV) infections on single samples. The tests aim to differentiate recent from established HIV infection. Incidence estimates are obtained by using the relationship between prevalence, incidence and duration of recent infection. We describe the principle of the methods and typical uses of these tests to characterise recent infection and derive incidence. We discuss the challenges in interpreting estimates and we consider the implications for surveillance systems.

Overall, these methods can add remarkable value to surveillance systems based on prevalence surveys as well as HIV case reporting. The assumptions that must be fulfilled to correctly interpret the estimates are mostly similar to those required in prevalence measurement. However, further research on the specific aspect of window period estimation is needed in order to generalise these methods in various population settings.

Introduction

Estimating HIV incidence, the number of new infections during a time period, is critically important for assessing the dynamics of human immunodeficiency virus (HIV) transmission and evaluating the impact of prevention policies. A conceptual improvement in surveillance methods has been made in the past ten years to make incidence estimation more feasible. By using a biomarker measurement to identify seropositive individuals who have recently been infected, incidence estimates can be obtained from a single specimen. This laboratory-based method can take advantage of the collection of specimen intended to assess prevalence (the proportion or number of persons cumulatively infected at a given time) and to obtain valid incidence data without the expensive and logistically complex requirement of following a cohort of uninfected individuals over time. However, as for other methods based on repeated prevalence data and mathematical modelling, the use of biomarkers to estimate incidence requires a substantial number of assumptions, some being difficult to assess, and an appropriate definition of the population the incidence is estimated for.

In this article based on the literature, we attempt to give an overview of the methods that allow estimating HIV incidence based on biomarker detection at the early stage of infection. After defining the principles, we review some typical uses of serological incidence assays and the challenges for each type of application.

Principles

Incidence based on detection of virological markers before seroconversion

In 1995, Brookmeyer and Quinn introduced a simple approach for estimating HIV incidence from a cross-sectional survey [1]. They used a two-step algorithm combining diagnostic tests for the p24 antigen and HIV-1 antibodies to determine the prevalence of p24 antigenaemia among antibody-negative individuals (Figure 1). The HIV incidence rate was then calculated by using the classical epidemiologic relation between prevalence, incidence, and duration of the period between the onset of detectability of p24 and the first HIV antibodies.

The disadvantage of this approach was that the time during which p24 antigen is detectable prior to seroconversion is short (the mean duration of this period was 22.5 days in 1995 and has become shorter since then due to the development of new diagnostic assays that allow to detect antibodies earlier [2]). The first consequence of this is that the estimation of this period comes with a considerable uncertainty which can have a large impact on the incidence estimate. The second consequence is that large samples and/or high HIV incidence are required to identify a sufficient number of individuals with detectable p24 antigen who have not seroconverted. Nevertheless, Brookmeyer and Quinn provided the conceptual framework for subsequent laboratory-based methods to estimate incidence from single cross-sectional surveys.

Within the range of methods to identify early infection through virological markers before seroconversion, testing of pooled HIV RNA now seems to be the most appropriate approach because RNA can be detected earlier than p24 antigen, which allows characterisation of a longer time period (Figure 1). Moreover, pooling of specimens improves the predictive value of the amplification assays and substantially lowers the costs. However, in order to obtain accurate incidence estimates, this method requires the inclusion of very large sample populations, such as those provided by blood donations [2] or by the large testing programme in the United States (US) described by Pilcher *et al.* [3].

Serologic incidence assays

Janssen *et al.* were the first to describe in 1998 an approach based on a test specifically developed for the purpose of estimating incidence [4]. This approach named "Serologic testing algorithm

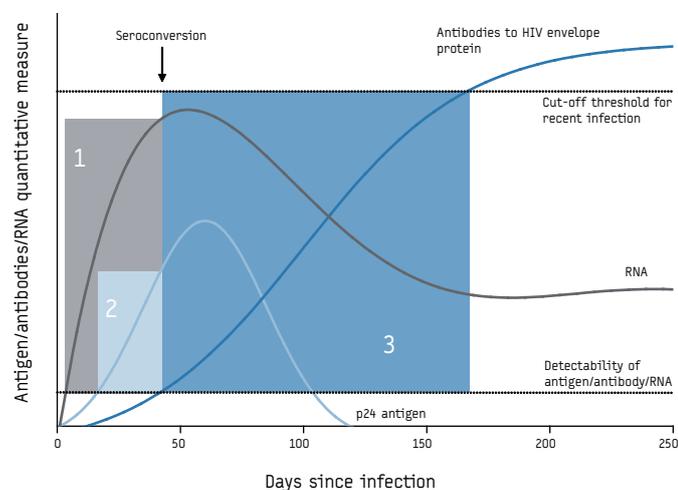
for recent HIV seroconversion (STARHS)” aimed at detecting a transient state reached after the antibody conversion. It thus offered the advantage of testing only positive individuals and defining a period sufficiently short to fulfil the requirements of stationarity of the incidence over the study period, while sufficiently long to minimise the inaccuracy in its estimation. The work of Janssen *et al.* can be considered as a milestone for the concept of serological methods for the estimation of HIV incidence.

Following the same principle, various applications of laboratory-based incidence estimation from cross-sectional population surveys have been described and a growing number of assays have been developed (see the article of Parry *et al.* in this issue). These assays measure the immunological response against the virus, based on specific HIV antibody concentration [4-6], proportion [7], isotype [8] or avidity [9]. This measure should define a transient state from the onset of detectability by a standard HIV screening test to the cut-off value defining the “established” infection status of the test for recent infection (Figure 1). This period is called the window period. Because of the individual variability in antibody response, window periods may differ widely from person to person. Their mean duration is measured in advance by testing serial specimens from infected individuals with known dates of seroconversion [10]. The STARHS methods have been compared to classical incidence measurements obtained in cohorts to assess their validity [4,11,12]. Provided that the compared estimates are not affected by population sampling bias, the estimates are reported to be similar [10,12].

Incidence estimation

The incidence estimation is calculated as the frequency of the transient state (i.e. the prevalence of recent infection) divided by its duration (the mean window period). As stated above, this calculation is based on the relation “prevalence = incidence * mean duration”. This relation assumes that the condition, in our context “recent HIV infection”, is a rare event so that the prevalence odds

FIGURE 1
Kinetics of virological markers and host immune response used to define transient states in the early phase of HIV infection



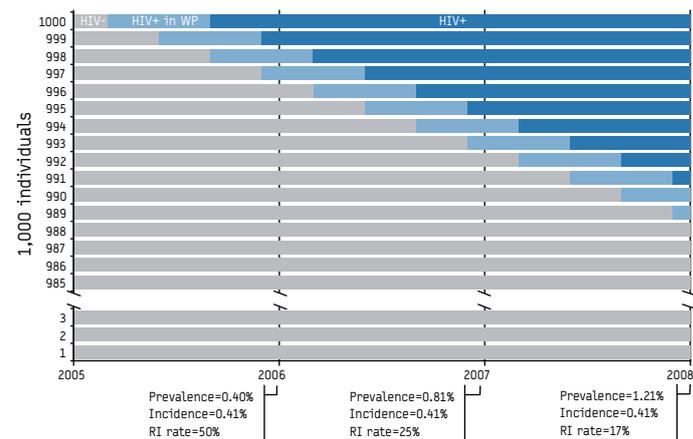
1: RNA-to-seroconversion transient state as defined by Busch *et al.*, 2005 [2]
2: p24-to-seroconversion transient state as defined by Brookmeyer *et al.*, 1995 [1]
3: Antibody-based mean window period as defined by Janssen *et al.*, 1998 [4]

can be approximated by the prevalence [13]. And the relation is valid for a stationary population with a constant level of incidence during the study period [1]. In Figure 2, we present an example of an incidence calculation using the formula developed by Janssen *et al.* with a window period of 180 days [4].

Various adjustments have been made to Janssen’s formula in order to correctly express the number of people at risk and to account for misclassification of long-term infections. The first adjustment consisted in varying the assumed number of people at risk of having had a recent HIV infection during one year. As in the estimation of incidence in a cohort, HIV-negative individuals are considered at risk during the whole period, while infected individuals can be considered at risk during half a year on average [14].

In addition, concerns have been expressed that the mean window period for the BED capture enzyme immunoassay (BED-CEIA) does not properly take into account people who have a very long individual window period and can be falsely classified as

FIGURE 2
Relation between HIV prevalence, recent infection rate, and the incidence estimation in a cross-sectional survey



A constant incidence rate of 0.4% persons/year is observed in a population of 1,000 individuals seronegative from the beginning of year 2005. Prevalence, incidence and rate of recent infection are estimated cross-sectionally at the end of 2005, 2006 and 2007. The number of HIV-positive individuals includes those with recent infection, tested within window period (NR), and those with established infection, tested after the window period (NE), represented respectively in light blue and dark blue in the figure. HIV-negative individuals (Nneg) are represented in grey. While incidence estimates are nearly constant over the years, the recent infection rate, being influenced by the prevalence of established infection, is decreasing.

Estimates are calculated as follows [4]:

$$\text{Prevalence} = \frac{N_R + N_E}{N_{\text{neg}} + N_R + N_E}$$

$$\text{Incidence} = \frac{N_R}{N_{\text{neg}} + N_R} \times \frac{365}{\text{mean WP}}$$

$$\text{Recent infection rate} = \frac{N_R}{N_R + N_E}$$

This illustration was inspired by the presentation of Ruigang Song “Modeling HIV Testing Behavior and Its Impact on Incidence Estimation” at the 15th International AIDS Conference, July 15, 2004, Bangkok, Thailand.

WP = Window period; RI = Recent infection.

recent. This issue is probably a general one, affecting all the tests that have been calibrated using a disproportionate number of short term infections (for less than one year). It should have an impact on incidence estimation since the cross-sectional populations on which the method is to be applied are expected to contain a larger number of long-term infections. Two adjustments have been proposed to correct this issue about the specificity [15]. They share the principle of applying a corrective factor in the incidence formula to compensate for the false recent cases due to very long window period. Other algorithms have been proposed that, rather than correcting the formula, combine two incidence assays in order to avoid misclassification [12,16].

Applications

While a comprehensive review of applications for serological incidence assays is beyond the scope of this paper, the purpose of this chapter is to point out typical settings in which they may be used.

Typical applications

The most common context in which incidence assays are used are prevalence sero-surveys. Some were dedicated to incidence estimation, but the majority were set up to observe the recent infection status of stored HIV-positive serum specimens.

Numerous serial cross-sectional surveys have been applied in the setting of testing for HIV or other sexually transmitted diseases in countries such as the US [17-19], some European countries [20;21] or Brazil [22]. In these studies, temporal trends in incidence rate could be derived and helped to assess retrospectively epidemic phenomena among high-risk subgroups. But concerns about representativeness and selection bias can be raised about such voluntary testing sites (as reviewed below in the section 'Issues').

Similarly, already existing sentinel surveillance systems have provided insight into underlying trends in transmission in particular risk groups. Specimens gathered at enrolment in syringe exchange programmes or serial street surveys allowed the estimation of trends in HIV incidence among intravenous drug users in New York City, US [23] and San Francisco, US [24] over a long period.

For purposes of precision and as done for prevalence estimation, targeting a more general population than particular high-risk groups requires testing a very large number of people or setting the study in a country with a high incidence level.

At least one of these conditions was met in studies that estimated the HIV incidence by means of recent infection testing in antenatal screening programmes in Cambodia [25], South Africa [26], the US [27] and Brazil [28], in screening programmes for blood donation in the US [2;4], France [29] and the Ivory Coast [30], and a national household survey in South Africa [31].

In all these settings, specimens are collected routinely and can be tested for recent infection retrospectively or prospectively. Some demographic and behavioural data on the targeted population are usually collected along with the specimens, both for positive and negative individuals. Taking advantage of specimens from prevalence serosurveys allows to derive incidence data for these populations with only minor expenses in terms of cost and logistics.

In certain contexts, the most obvious added value of the incidence assays approach is that the incidence could not have been estimated by any other means. This is what happens when no accurate data on prior testing or exposure period can be obtained such as for the population of blood donors screened during their first donation [29].

Identifying recent infection

A particular use of incidence assays is identifying recent infection status per se, for individual patient management such as contact tracing or assessment of primary resistance. It is helpful to bear in mind that characterisation of recent infection was initially a by-product in the method described by Janssen *et al.* which considered incidence derivation as the main outcome. In particular, the use of the mean value of an incidence assay window period assumes that individual window periods are variable and that a certain number of individuals in a given population will have a window period shorter or longer than the mean. Consequently, some misclassifications of established infection (false positives) and of recent infection (false negatives) are to be expected. For the purpose of incidence estimation, the respective misclassifications are supposed to cancel each other out, so that the number of recent infection at a population level is correctly estimated. At the level of individual patients, however, this could lead to serious misinterpretation.

On the other hand, some assays have been developed for the specific purpose of classifying infections in individual patients as recent or established with given predictive criteria. This is the case for the enzyme immunoassay for recent HIV-1 infections (EIA-RI) developed by Barin *et al.* [6]. This assay uses a logistic regression classification algorithm in which the cut-off was chosen to detect individuals infected for less than 180 days with an enhanced focus on the level of specificity of detection. It is to be noted that a lack of specificity, because it affects the population of established infections that is generally larger, should have a wider impact on misclassification than a lack of sensitivity, considering the low prevalence of recent infection status [30]. On-going development of the EIA-RI test aims to re-calibrate it for the purpose of incidence derivation.

Expressing the proportion of recent infection

Some applications define the proportion of recent infection in a population of positive individuals as an outcome. This is the way Puchhammer *et al.* analysed the results of the avidity assay among new diagnoses from case-reporting in Austria [32]. This is also the way that correlates of recent infection among new diagnoses are interpreted in France [33] (see also the article by Semaille *et al.* in this issue). However, this quantity that is somehow related to incidence depends also on the prevalence of non-recent infection and thus can not be considered as a good proxy for incidence. In fact, in the context of diagnostic testing, the proportion of recent infection has a lot to do with the testing framework capacity as well as the incidence rate in the population. Since the prevalence of undiagnosed infection affects the proportion of recent infection independently of any change in incidence (Figure 2), such results are difficult to interpret.

Incidence estimation from HIV case-reporting data

While it seems especially promising to take advantage of recent infection testing among reported HIV diagnoses at province or country level, there are several specific difficulties with regards to deriving a valid incidence measurement. Unlike cross-sectional surveys, a case-reporting system collects information only for individuals with positive test results and generally can not provide information on those who were negative. Therefore, the denominator of the formula, i. e. the number of people at risk, is not available. Another approach is needed to derive an incidence that can be generalised for the population targeted by the surveillance, and to take account of the fact that negative test results are not reported.

Such an approach has been described by Lee *et al.* for the estimation of the national HIV incidence in the US [34]. The statistical framework considers the reported cases identified as recently infected as a sample selected from all annual new cases, with a probability of inclusion related to their testing pattern. According to this probability, each case identified as recently infected is assigned a weight, and the sum of weights provides the incidence count. This approach represents a good opportunity to improve large scale surveillance of HIV dynamics, especially where a framework of HIV case reporting already exists and can provide data on testing patterns.

Finally, another approach has been described to bypass the issue that only positive individuals are reported to the surveillance system. In Ontario, Canada, an enhanced surveillance system has been established that requires diagnostic laboratories to collect information (number and risk factor) on a random subset of individuals with a negative test result in parallel to the information on those that were positive [35]. This system then allows the use of the Janssen's formula to derive the incidence in different risk groups.

Issues

There are issues that pertain to the estimation HIV incidence by characterising recent infections. We can distinguish issues that are related to the determination of recent HIV infection from those that affect the validity of incidence estimation.

Limitations in determining recent infection

The first issues are due to the limitations of the assays in detecting recent HIV infection. As the majority of assays are based on quantitative measurement of the antibody response, factors that affect the patient's immune response lead to some misclassification. Qualitative assays such as the avidity assay may be affected to a lesser extent [36].

Firstly, people with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) may falsely be identified as recently infected due to declining antibody levels. The same appears to be true in some individuals in the late stage of non-AIDS HIV infection. As for the AIDS stage, clinical data or CD4+ T-cell counts would need to be collected in order to exclude these patients from the calculation and avoid overestimation. A correction for misclassification due to late-stage non-responsive patients, has been proposed by Mc Dougal *et al.* and Hargrove *et al.* [15].

Secondly, antiretroviral drugs affect the antibody level by decreasing the viral load [37]. Again, to correctly assess recent infection, patients with ongoing treatment need to be identified and excluded by gathering declarative information (from clinician or patient) or alternatively by detecting drugs in serum specimens by, for example, mass-spectrometry.

Thirdly, test results are affected by the virus subtype and/or the patient's genetic background. It has been shown that all tests that have been developed mainly on specimens from patients infected with subtype B viruses give inconsistent results when used for infections with non-B subtypes. Therefore, an assessment of the test properties (cut-off and window period) in different population settings is needed before applying any method [30].

We have seen how the correct interpretation of test results relies on the availability of clinical data that characterise the population [38]. In order to further interpret incidence estimates, data on

sex, mode of contamination, testing patterns, and possibly virus subtypes must be gathered along with tests results.

Representativeness and selection bias

A general issue of incidence estimation arises from the fact that the populations tested are not randomly selected and may not be representative of the populations at risk of infection. This is particularly the case in the context of HIV testing or sexually transmitted diseases clinics. The bias may go in either direction. People at high risk may seek testing more frequently with the consequence of raising the incidence estimation. On the other hand, people attending HIV testing settings as part of a prevention strategy might be at lower risk than people who do not do a test because they do not recognise the risk or are afraid of a positive result.

Schoenbach *et al.* raised this issue in 2001 and questioned the rationale of inferring HIV incidence in testing settings and in particular, whether it is possible to extrapolate these incidence estimates to a larger population [39]. With regard to generalising incidence, it may be preferable to collect specimens from surveillance settings such as blood donation facilities or antenatal clinics where people are not self-selected but tested in a systematic manner, and where large sample size can be obtained.

Nevertheless, it can be argued that every design of an incidence study suffers from some kind of selection bias, even longitudinal studies [11]. Moreover, studying the level of the infection among the attendees of testing sites can still provide insights over time, especially in conjunction with behavioural data.

Even more problematic seems to be the issue of a selection bias occurring if recently infected people tended to seek testing sooner than expected because of seroconversion illness or identified recent exposure. This leads to an increase in the number of detected recent infections and an overestimation of the incidence. Remis *et al.* refer to this bias as the "seroconversion effect" and proposed a way to measuring it by making different incidence estimates based on varying window periods [40]. Song *et al.* formulated the hypothesis of independence between testing and the occurrence of infection and proposed a procedure to test this hypothesis [41]. All these biases can be found when inferring HIV incidence from case-reporting of new diagnoses which also include individuals seeking testing or health care.

Finally, as it is not always possible to test the whole positive study population for recent infection, the proportion of recent infection obtained among those tested is classically assigned to those for whom a test result is not available. This extrapolation assumes that the availability of specimens for recent infection testing is randomly determined in the population.

Conclusion

Overall, the use of laboratory-based methods to estimate HIV incidence can add remarkable value to surveillance systems based on prevalence surveys or on HIV case reporting. The estimation of HIV incidence provides a clear public health benefit in that it allows better monitoring of HIV transmission and targeting of preventive initiatives. We have seen that the application of those methods in cross-sectional settings have been well described in terms of incidence estimation and limitations, one of the most important limitations being the lack of representativeness. The assumptions that must be fulfilled to correctly interpret the estimates are to a

large extent similar to those required in prevalence measurement. However, further research on the more specific aspect of window period estimation may be needed in order to generalise these methods. In particular, efforts are needed to correctly define the mean window periods for different virus subtypes and stages of infection so that the essential relation between prevalence and incidence holds true in various population settings.

Acknowledgements

We thank Dr Michael P. Busch for his helpful suggestions on the literature review, Dr Robert S. Remis for his valuable comments on the draft version.

References

- Brookmeyer R, Quinn TC. Estimation of current human immunodeficiency virus incidence rates from a cross-sectional survey using early diagnostic tests. *Am J Epidemiol.* 1995;141(2):166-72.
- Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion.* 2005;45(2):254-64.
- Pilcher CD, Fiscus SA, Nguyen TQ, Foust E, Wolf L, Williams D, et al. Detection of acute infections during HIV testing in North Carolina. *N Engl J Med.* 2005;352(18):1873-83.
- Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, Rawal BD, O'Brien TR, Weiblen BJ, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA.* 1998;280(1):42-8.
- Rawal BD, Degula A, Lebedeva L, Janssen RS, Hecht FM, Sheppard HW, et al. Development of a new less-sensitive enzyme immunoassay for detection of early HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;33(3):349-55.
- Barin F, Meyer L, Lancar R, Deveau C, Gharib M, Laporte A, et al. Development and validation of an immunoassay for identification of recent human immunodeficiency virus type 1 infections and its use on dried serum spots. *J Clin Microbiol.* 2005;43(9):4441-7.
- Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, Pau CP, Byers R, Green T, et al. Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2002;18(4):295-307.
- Wilson KM, Johnson EI, Croom HA, Richards KM, Doughty L, Cunningham PH, et al. Incidence immunoassay for distinguishing recent from established HIV-1 infection in therapy-naïve populations. *AIDS.* 2004;18(17):2253-9.
- Suligoi B, Galli C, Massi M, Di Sora F, Sciandra M, Pezzotti P, et al. Precision and accuracy of a procedure for detecting recent human immunodeficiency virus infections by calculating the antibody avidity index by an automated immunoassay-based method. *J Clin Microbiol.* 2002;40(11):4015-20.
- McDougal JS, Pilcher CD, Parekh BS, Gersh-Damet G, Branson BM, Marsh K, et al. Surveillance for HIV-1 incidence using tests for recent infection in resource-constrained countries. *AIDS.* 2005;19 Suppl 2:S25-30.
- Hu DJ, Vanichseni S, Mock PA, Young NL, Dobbs T, Byers RH Jr, et al. HIV type 1 incidence estimates by detection of recent infection from a cross-sectional sampling of injection drug users in Bangkok: use of the IgG capture BED enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2003;19(9):727-30.
- McDougal JS, Parekh BS, Peterson ML, Branson BM, Dobbs T, Ackers M, et al. Comparison of HIV type 1 incidence observed during longitudinal follow-up with incidence estimated by cross-sectional analysis using the BED capture enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006;22(10):945-52.
- Rothman KJ, Greenland S. *Modern Epidemiology.* Second ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998.
- Calypte Biomedical Corporation. Calypte® HIV-1 BED Incidence EIA (IgG-Capture HIV-EIA) Package Insert. Available from: <http://www.calypte.com/pdf/bed-insert.pdf> [Accessed 2 Aug 2008]
- Centers for Disease Control and Prevention. BED-CEIA Incidence and Adjustment Formula. Available from: <http://www.cdc.gov/nchstp/od/gap/docs/surveillance/BED-CEIA%20Incidence%20and%20Adjustment%20Formula.pdf> [Accessed 22 Dec 2007]
- Constantine NT, Sill AM, Jack N, Kreisel K, Edwards J, Cafarella T, et al. Improved classification of recent HIV-1 infection by employing a two-stage sensitive/less-sensitive test strategy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32(1):94-103.
- Schwarzc S, Kellogg T, McFarland W, Louie B, Kohn R, Busch M, et al. Differences in the temporal trends of HIV seroincidence and seroprevalence among sexually transmitted disease clinic patients, 1989-1998: application of the serologic testing algorithm for recent HIV seroconversion. *Am J Epidemiol.* 2001;153(10):925-34.
- Kellogg TA, Loeb L, Dilley J, Adler B, Louie BT, McFarland W. Comparison of Three Methods to Measure HIV Incidence Among Persons Seeking Voluntary, Anonymous Counseling and Testing. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;39(1):112-20.
- Weinstock H, Dale M, Gwinn M, Satten GA, Kothe D, Mei J, et al. HIV seroincidence among patients at clinics for sexually transmitted diseases in nine cities in the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;29(5):478-83.
- Murphy G, Charlett A, Jordan LF, Osner N, Gill ON, Parry JV. HIV incidence appears constant in men who have sex with men despite widespread use of effective antiretroviral therapy. *AIDS.* 2004;18(2):265-72.
- Dukers NH, Spaargaren J, Geskus RB, Beijnen J, Coutinho RA, Fennema HS. HIV incidence on the increase among homosexual men attending an Amsterdam sexually transmitted disease clinic: using a novel approach for detecting recent infections. *AIDS.* 2002;16(10):F19-24.
- Alves K, Shafer KP, Caseiro M, Rutherford G, Falcao ME, Sucupira MC, et al. Risk factors for incident HIV infection among anonymous HIV testing site clients in Santos, Brazil: 1996-1999. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32(5):551-9.
- Des Jarlais DC, Perlis T, Arasteh K, Torian LV, Beatrice S, Milliken J, et al. HIV Incidence Among Injection Drug Users in New York City, 1990 to 2002: Use of Serologic Test Algorithm to Assess Expansion of HIV Prevention Services. *Am J Public Health.* 2005;95(8):1439-44.
- Kral AH, Lorvick J, Gee L, Bacchetti P, Rawal B, Busch M, et al. Trends in human immunodeficiency virus seroincidence among street-recruited injection drug users in San Francisco, 1987-1998. *Am J Epidemiol.* 2003;157(10):915-22.
- Saphonn V, Parekh BS, Dobbs T, Mean C, Bun LH, Ly SP, et al. Trends of HIV-1 seroincidence among HIV-1 sentinel surveillance groups in Cambodia, 1999-2002. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;39(5):587-92.
- Gouws E, Williams BG, Sheppard HW, Enge B, Karim SA. High incidence of HIV-1 in South Africa using a standardized algorithm for recent HIV seroconversion. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;29(5):531-5.
- Nesheim S, Parekh B, Sullivan K, Bulters M, Dobbs T, Lindsay M, et al. Temporal trends in HIV type 1 incidence among inner-city childbearing women in Atlanta: use of the IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2005;21(6):537-44.
- de Freitas Oliveira CA, Ueda M, Yamashiro R, Rodrigues R, Sheppard HW, Macedo Brígido LF. Rate and incidence estimates of recent human immunodeficiency virus type 1 infections among pregnant women in Sao Paulo, Brazil, from 1991 to 2002. *J Clin Microbiol.* 2005;43(3):1439-42.
- Pillonel J, Barin F, Laperche S, Bernillon P, Le Vu S, Brunet S, et al. HIV-1 Incidence among Blood Donors in France, 1992 to 2006: Use of an Immunoassay to Identify Recent Infections. *Transfusion* 2008;48(8):1567-75.
- Sakarovitch C, Rouet F, Murphy G, Minga AK, Alioum A, Dabis F, et al. Do tests devised to detect recent HIV-1 infection provide reliable estimates of incidence in Africa? *JAIDS.* 2007;45(1):115-22.
- Rehle T, Shisana O, Pillay V, Zuma K, Puren A, Parker W. National HIV incidence measures--new insights into the South African epidemic. *S Afr Med J.* 2007;97(3):194-9.
- Puchhammer-Stockl E, Schmie B, Rieger A, Sarcletti M, Geit M, Zangerle R, et al. Low proportion of recent human immunodeficiency virus (HIV) infections among newly diagnosed cases of HIV infection as shown by the presence of HIV-specific antibodies of low avidity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(1):497-8.
- Semaiile C, Barin F, Cazein F, Pillonel J, Lot F, Brand D, et al. Monitoring the dynamics of the HIV epidemic using assays for recent infection and serotyping among new HIV diagnoses: experience after 2 years in France. *J Infect Dis.* 2007;196(3):377-83.
- Lee LM, McKenna MT. Monitoring the incidence of HIV infection in the United States. *Public health reports.* 2007;122 Suppl 1:72-9.
- Remis RS, Swantee C, Fikre-Merid M, Palmer RWH, Fearon M, Fisher M, et al. Enhancing diagnostic data for HIV surveillance: The Laboratory Enhancement Study. 15th International Conference on AIDS, Bangkok, Thailand, July 11-16, 2004. Available from: <http://www.phs.utoronto.ca/ohemu/doc/intaids04LES.pdf> [Accessed 22 Dec 2007]
- Suligoi B, Massi M, Galli C, Sciandra M, Di Sora F, Pezzotti P, et al. Identifying recent HIV infections using the avidity index and an automated enzyme immunoassay. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32(4):424-8.
- Killian MS, Norris PJ, Rawal BD, Lebedeva M, Hecht FM, Levy JA, et al. The effects of early antiretroviral therapy and its discontinuation on the HIV-specific antibody response. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006;22(7):640-7.
- Fisher M, Pao D, Murphy G, Dean G, McElborough D, Homer G, et al. Serological testing algorithm shows rising HIV incidence in a UK cohort of men who have sex with men: 10 years application. *AIDS.* 2007;21(17):2309-14.

39. Schoenbach VJ, Poole C, Miller WC. Invited commentary: should we estimate incidence for undefined populations ? *Am J Epidemiol*. 2001;153(10):935-7.
40. Remis RS, Palmer RWH, Raboud JM. Bias in estimates of HIV incidence based on the detuned assay : A proposed solution. 15th International Conference on AIDS, STARHS Satellite Meeting, Bangkok, Thailand. July 11, 2004. Available from: http://www.phs.utoronto.ca/ohemu/doc/Bias_Thailand.ppt [Accessed 22 Jul 2007]
41. Song R, Karon JM, White E, Goldbaum G. Estimating the distribution of a renewal process from times at which events from an independent process are detected. *Biometrics*. 2006;62(3):838-46.

This article was published on 4 September 2008.

Citation style for this article: Le Vu S, Pillonel J, Semaille C, Bernillon P, Le Strat Y, Meyer L, Desenclos JC. Principles and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing - a review. *Euro Surveill*. 2008;13(36):pii=18969. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18969>

Annexe D

Article 2

Performance of an immunoassay at detecting recent infection among reported HIV diagnoses

Stéphane Le Vu^a, Laurence Meyer^{b,c,d}, Françoise Cazein^a,
Josiane Pillonel^a, Caroline Semaille^a, Francis Barin^e and
Jean-Claude Desenclos^a

Introduction: An enzyme immunoassay to detect recent HIV-1 infection (EIA-RI) of less than 6 months is routinely performed on diagnoses reported to the National HIV case surveillance in France. We assessed the performance of the EIA-RI infection on this country population scale by measuring its agreement with other indicators of time since infection that were obtained through clinical, biological or testing history recorded on the surveillance reporting form.

Methods: We used data from the National HIV case surveillance from its debut in March 2003 to June 2007. Infection within 6 months was defined as a negative test reported within 6 months prior to diagnosis. We further ascertained this definition by adding information about of a symptomatic primary infection or biological evidence of recent seroconversion. Infection established for more than 6 months was defined when a positive test had occurred more than 6 months prior to the reported diagnosis.

Results: Time since infection could be ascertained in 6782 of 15 331 (44.2%) HIV diagnoses. Assay sensitivity and specificity were 73.8 and 83.7%, respectively. Among the 1940 cases originating from Sub-Saharan Africa, sensitivity and specificity were 54.1 and 90.8%, respectively.

Discussion: Assessment of the performance of the EIA-RI on a large and heterogeneous population revealed two major findings—significant discrepancies in timing from infection near the 180-day cutoff, and a performance that depends on the geographic origin of patients. This has implications for estimating the assay window period and in the perspective of incidence estimation from HIV case surveillance.

© 2009 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2009, **23**:1773–1779

Keywords: HIV surveillance, immunoassay for recent infection, incidence, recent HIV infection

Introduction

In the past 10 years, a major improvement in surveillance methods has been made in detecting recent HIV infection through serological assays. Using a biomarker

to identify HIV-seropositive individuals that were recently infected allows monitoring of the dynamics of HIV transmission and subsequent evaluation of the future healthcare needs as well as the impact of prevention policies [1].

^aDepartment of Infectious Diseases, HIV/AIDS-STI-HCV Unit, Institut de veille sanitaire (French Institute for Public Health Surveillance, InVS), Saint-Maurice, ^bInserm, U822, ^cUniv Paris-Sud, Faculté de Médecine Paris-Sud, ^dAP-HP, Hôpital Bicêtre, Epidemiology and Public Health Service, Le Kremlin-Bicêtre, and ^eUniversité François Rabelais, Inserm U966 and Centre national de référence du VIH (National Reference Center Laboratory for HIV), Centre hospitalier universitaire de Tours, Tours, France. Correspondence to Stéphane Le Vu, Institut de veille sanitaire, Département des maladies infectieuses, 12 rue du Val d'Osne, 94415 Saint-Maurice Cedex, France.

Tel: +33 1 41 79 68 30; fax: +33 1 41 79 67 66; e-mail: s.levu@invs.sante.fr

Received: 4 December 2008; revised: 20 April 2009; accepted: 29 April 2009.

DOI:10.1097/QAD.0b013e32832d8754

As part of Serological Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion (STARHS), various assays have been developed, the most commonly used to date being the BED Capture Enzyme Immunoassay (BED-CEIA) [2]. As specimens with a known date of seroconversion are difficult to obtain, most assays used to characterize recent infection have been calibrated on a limited number of individuals with a limited range of time since seroconversion [3–7].

A formal validation study of the enzyme immunoassay to detect recent HIV-1 infection (EIA-RI) assay has already been done by Barin *et al.* [8]. Here, our objective was to assess the performance of the test in detecting recent infection in a large and diverse HIV-infected population. We used data from HIV diagnoses reported to the French National HIV Surveillance system over more than 4 years. France is the only country to have routinely implemented a test for recent infection on a national scale, the EIA-RI assay, since its debut in 2003 [9]. We compared the EIA-RI results with several indicators of the date of infection, which were obtained through clinical, biological or personal history information from the surveillance reporting form.

Methods

HIV notification

Notification of HIV infection has been a mandatory requirement in France since March 2003, implying that each new HIV diagnosis is to be notified to the Institut de veille sanitaire (InVS) by the laboratory that has confirmed it [10]. Along with the notification form, the laboratory sends a dried spot of serum drawn from the diagnostic sample to the National Reference Laboratory (CNR). As long as patients do not opt-out, the EIA-RI test for recent infection is applied to each HIV-1-positive specimen sent to the CNR. For this analysis, the notification records corresponding to HIV diagnoses made from 1 January 2003 to 30 June 2007 were considered.

Surveillance information and classification

Epidemiological and clinical information were supplied by the clinician and the biologist through the notification form. All variables were routinely checked at the InVS and clinicians were requested to complete missing variables. Time from infection to diagnosis in HIV cases was estimated using the following information: date of previous negative or positive HIV test, presence of an incomplete western blot at diagnosis and clinical stage.

Infection was defined to have occurred within 6 months prior to the diagnosis if a previous negative HIV antibody test less than 6 months prior to the diagnosis was

reported. A second definition ascertained the time since infection by at least two indicators: a previous negative test within 6 months combined with a symptomatic primary infection, an incomplete western blot profile indicative of a recent/ongoing seroconversion at diagnosis or both.

Infection was defined to have occurred more than 6 months prior to the reported diagnosis either if the case was diagnosed at AIDS stage or if a previous positive HIV antibody test more than 6 months prior to the diagnosis was reported. In that last case, the previous positive test had been performed in another laboratory than the one that reported the diagnosis to the National surveillance. Because most tests for recent HIV infection, including the EIA-RI, perform differently on AIDS cases [2], we considered non-AIDS long-standing infection separately from cases diagnosed at the clinical AIDS stage. CD4 cell count data were collected from the end of 2007 and were thus not available for this analysis.

Enzyme immunoassay to detect recent HIV-1 infection

As previously described, the EIA-RI assay was developed to detect recent HIV infection (within 180 days from infection to diagnosis) on dried serum spots samples [8]. Results are obtained through an algorithm that combines standardized measures of antibody binding to the immunodominant epitope of gp41 and the V3 region of gp120 regions (this is why the assay is often referred to as the IDE-V3 assay). The quantitative outcome is the *P* value of the algorithm, which increases with time since infection and for which a cutoff value of 0.5 was defined to optimally discriminate recent from long-standing infections. Specimens that register less or equal to 0.5 are considered to be recent infections, whereas those that register over the 0.5 threshold are considered to be long-standing infections.

Statistical analysis

We considered the surveillance data as the reference and compared the number of infections characterized to have occurred within 6 months prior to diagnosis, more than 6 months prior to diagnosis or at the AIDS stage with the biological results provided by the EIA-RI assay. Sensitivity was the probability of detecting infections that had occurred within 6 months as recent by the EIA-RI, and specificity was the probability of detecting infections that had occurred more than 6 months prior to diagnosis as long-standing by the EIA-RI. We used Fleiss quadratic 95% confidence intervals (CIs). Influence of either geographic origin or virus subtype on the accuracy of the test was explored by performing separate analysis in patients born in European countries and Sub-Saharan African countries. All analyses were conducted using SAS software (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

Results

Samples available

A total of 20 048 confirmed HIV diagnoses (by both a western blot and a second blood sample) from 1 January 2003 to 30 June 2007 were reported to the InVS. After excluding samples from patients refusing to be tested for recent infection (3.6%), those with blood sample not provided by the laboratory (18.6%), HIV-2-infected patients (1.3%) or without enough material to process the assay (0.5%), 15 331 reported diagnoses were available for EIA-RI testing.

On the basis of surveillance information, 6782 out of 15 331 (44.2%) infections could be classified according to time since infection: 1879 (12.3%) were classified to have occurred within 6 months before diagnosis, 2577 (16.8%) more than 6 months prior to diagnosis and 2326 (15.2%) at clinical AIDS stage. The duration of infection could not be determined for the remaining 8549 infections (55.8%). The characteristics of patients according to the availability of surveillance information to date the infection are described in Table 1. Information on the duration of infection was more frequently available among patients infected through homosexual transmission (57.8%) or injecting drug use (66.9%) than through heterosexual transmission (39.8%), and was more frequent in patients born in a European country (57.1%) than in a Sub-Saharan African country (32.9%) (Table 1).

Agreement between EIA-RI test results and surveillance information

The EIA-RI assay detected as recent infections 82.6% of 1233 symptomatic primary infections and 84.1% of 1211 infections that had a seroconversion profile. As detailed in Table 2, assay sensitivity and specificity were estimated according to the surveillance data reported in the notification form. The sensitivity of the EIA-RI, the

probability of detecting cases reporting a previous negative test within the past 6 months as recent, was 73.8% (95% CI 71.8–75.8). When recent infection was ascertained by at least two indicators, assay sensitivity was 88.2% (95% CI 86.2–90.0). Among non-AIDS cases, the specificity was 83.7% (95% CI: 82.2–85.1). The specificity in AIDS cases was 85.3% (95% CI 83.8–86.7).

Agreement between EIA-RI test results and surveillance information is also represented in Fig. 1 in which the distributions of quantitative measure (P value) of the EIA-RI assay are drawn according to the time since infection provided by surveillance information. Mean P values were between 0.21 and 0.33 in patients infected within the previous 6 months (a–d) and were higher and similar in non-AIDS patients infected more than 6 months ago (e) and in clinical AIDS cases (f)—0.81 and 0.82, respectively.

Influence of geographic origin

The sensitivity of the EIA-RI among persons originating from Europe was 76.8% (Table 2), significantly higher than among those born in Sub-Saharan Africa, 54.1% ($P < 10^{-4}$). However, when using at least two indicators to classify infections having occurred within previous 6 months, estimates of sensitivity were no longer significantly different (88.8% for individuals born in Europe and 84.7% for those born in Sub-Saharan Africa).

Specificity was higher for individuals born in Sub-Saharan Africa (90.8% for non-AIDS patients and 91.8% for AIDS patients) than Europe (79.9 and 81.5%, respectively).

Discrepancy around the time cutoff

In the entire population, sensitivity fell from 81.5% when infection lasted from 0 to 3 months to 50.1% when infection lasted from 4 to 6 months. Specificity was the

Table 1. Characteristics of study patients according to the availability of time since infection derived from surveillance data, France 2003–2007.

Characteristics of patients	Time since infection could be defined from surveillance data		No information on time since infection		Total n
	n	%	n	%	
Mode of contamination					
Heterosexual	3179	39.8	4806	60.2	7985
Homo/bisexual	2353	57.8	1720	42.2	4073
Injecting drug user	357	66.9	177	33.1	534
Others	47	61.8	29	38.2	76
Unknown	846	31.8	1817	68.2	2663
Country of birth					
Europe	3812	57.1	2862	42.9	6674
Sub-Saharan Africa	1725	32.9	3512	67.1	5237
Others	683	46.6	782	53.4	1465
Unknown	562	28.7	1393	71.3	1955
Virus subtype					
B subtype	3858	47.9	4195	52.1	8053
Non-B subtype	1953	33.6	3858	66.4	5811
Nontypable	971	66.2	496	33.8	1467
Total	6782	44.2	8549	55.8	15 331

Table 2. Classification of HIV diagnoses according to their estimated time since infection and geographic origin derived from surveillance data, France 2003–2007.

Classification of time since infection	Definition used	Country of birth	EIA-RI recent/total individuals	Assay sensitivity (95% CI)
Less than 6 months prior to diagnosis	Negative test within previous 6 months	Europe	1097/1429	76.8 (74.5–78.9)
		Sub-Saharan Africa	92/170	54.1 (46.3–61.7)
		Others/unknown	198/280	70.7 (64.9–75.9)
	Negative test within previous 6 months and (symptomatic PHI or seroconversion profile)	Europe	1387/1879	73.8 (71.8–75.8)
		Sub-Saharan Africa	823/927	88.8 (86.5–90.7)
		Others/unknown	72/85	84.7 (74.9–91.3)
		All	138/159	86.8 (80.3–91.5)
More than 6 months prior to diagnosis	Positive test more than 6 months prior to reported diagnosis	Europe	1033/1171	88.2 (86.2–90.0)
		Sub-Saharan Africa	257/1280	79.9 (77.6–82.1)
		Others/unknown	74/807	90.8 (88.6–92.7)
		All	89/490	81.8 (78.1–85.1)
	AIDS stage	Europe	420/2577	83.7 (82.2–85.1)
		Sub-Saharan Africa	204/1103	81.5 (79.1–83.7)
		Others/unknown	61/748	91.8 (89.6–93.7)
All	76/475	84.0 (80.3–87.1)		
		All	341/2326	85.3 (83.8–86.7)

CI, confidence interval; EIA-RI, enzyme immunoassay to detect recent HIV-1 infection; PHI, primary HIV infection.

lowest when infection lasted from 7 to 9 months (61.4%), and then increased to 67.9% (10–12 months) and 86.2% (more than 12 months). As shown in Fig. 2 (a and b), the quantitative measure of the assay (logistic algorithm

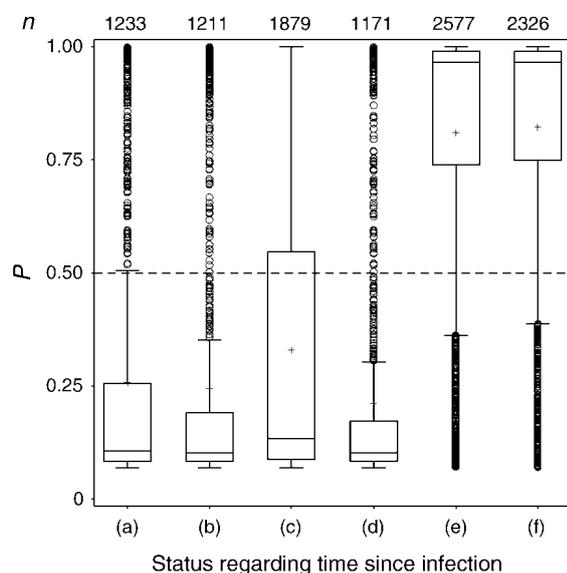


Fig. 1. EIA-RI quantitative measure for non-AIDS patients identified. During symptomatic primary infection (a), with a seroconversion profile (b), with a negative test within 6 months (c), with a negative test within 6 months and (primary HIV infection or seroconversion profile) (d), more than 6 months prior to diagnosis (e), and for AIDS cases (f). Dotted line, *P* value cutoff threshold; upper and lower edge of box, 75th and 25th percentile; bar inside the box, median; plus sign, mean; circles, outliers outside the fences at 1.5 interquartile range below the 25th percentile and above the 75th percentile.

P value) followed an increasing trend with time since infection.

Interestingly, the mean *P* value tended to increase earlier in patients originating from Sub-Saharan Africa (Fig. 2b) than in patients from Europe (Fig. 2a). Therefore, for patients originating from Sub-Saharan Africa, sensitivity was 64.9 and 24.2% when infection lasted from 0 to 3 months and from 4 to 6 months, respectively; corresponding figures among those from Europe were 83.6 and 53.8%

Discussion

The implementation of the EIA-RI assay as part of the national surveillance of HIV infection over more than 4 years made it possible to assess its performance on a large population at a country scale. Individuals for whom time from infection to diagnosis could be estimated independently of the test results represented 47% of the population tested by the EIA-RI assay. To our knowledge, this study sample of 6782 HIV infections represents the largest evaluation experience of this nature for a test of recent HIV infection.

Our study design offers a different perspective than the previous EIA-RI validation study [8]. We could indeed gather specimens at different stages of HIV infection and from various transmission groups, patients' geographical origin and virus subtypes (Table 1). We could therefore assess the influence of several factors suspected to modify the properties of tests for recent infection [11].

When considering as recent infections those defined by a reported negative test within the previous 6 months, we

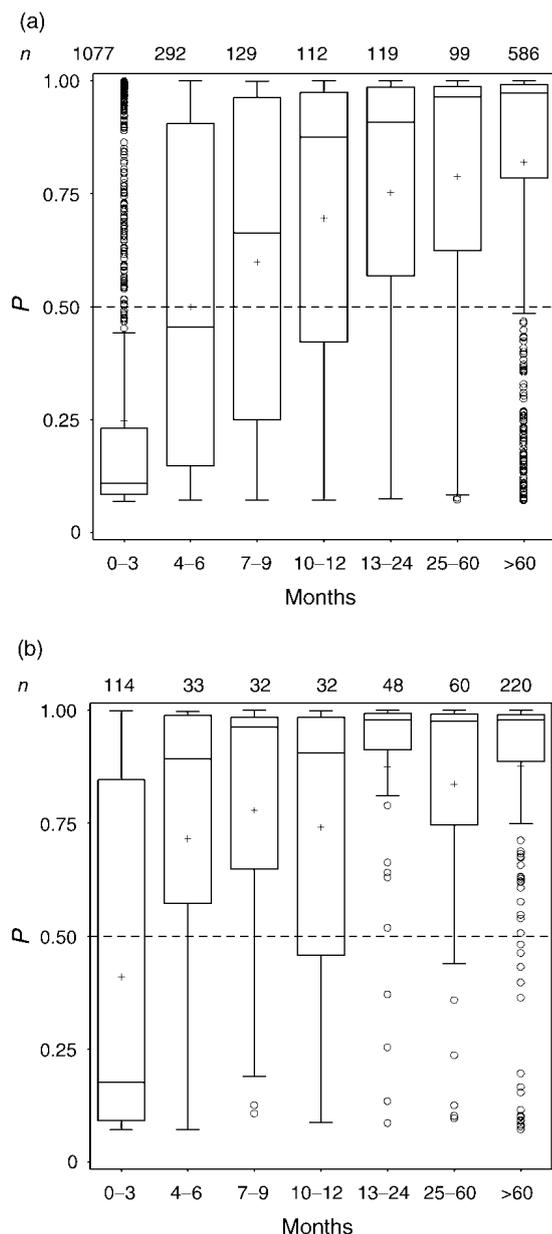


Fig. 2. EIA-RI quantitative measure according to reported time since infection and grouped by country of birth, France 2003–2007. (a) Europe and (b) Sub-Saharan Africa. Dotted line, *P* value cutoff threshold; upper and lower edge of box, 75th and 25th percentile; bar inside the box, median; plus sign, mean; circles: outliers outside the fences at 1.5 interquartile range below the 25th percentile and above the 75th percentile.

found an overall lower performance of the EIA-RI in comparison with its initial evaluation [8]. This result could be expected because of the great heterogeneity of our study sample. On the contrary, this ‘real-life’ sample allowed us to reveal two major findings, the significant discrepancies when considering timing from infection

near to the 180-day cutoff and a performance that depends on geographic origin of the patients. We showed that, among new HIV diagnoses in France, the EIA-RI assay detected recent HIV infections with a sensitivity of 73.8% and a specificity among non-AIDS patients of 83.7%. The development of the EIA-RI initially provided greater diagnosis accuracy than that found by us in this study (sensitivity on dried serum spots was 87.0% and specificity was 98.0% in the article by Barin *et al.* [8]). The limited number of samples with time since infection close to the 180-day cutoff, and the probable lack of diversity regarding geographic origin in the original validation panel, may explain the optimistic results described in 2005 [2]. Similar to the various avidity assays, in the initial design of the EIA-RI, the cutoff for recency was first set at 180 days and the biomarkers’ threshold was estimated retrospectively. But unlike STARHS assays, the window period estimation has not yet been performed to model the time during which the EIA-RI assay detects an infection as recent at a given threshold. Our results suggest that the mean window period may be different in population infected by non-B subtype viruses or of non-European origin. A recalibration study is ongoing to model the window period according to various subtypes in data from a cohort of seroconverters.

The sensitivity was lower among patients born in Sub-Saharan Africa and was particularly altered around the 6 months time cutoff. It is worth noting that the difference in pattern of evolution of the quantitative measure of EIA-RI according to patients’ origin is not consistent with the different window periods described for the BED-CEIA assay [12]. Longer BED-CEIA window periods were found in Sub-Saharan African settings than in European or North American populations, whereas our study results suggest a faster increase of assay value among individuals originating from Africa.

To better ascertain recent infection status, we used a combination of at least two of the three indicators for an infection lasting for less than 6 months (clinical, biological or patient testing history). In doing so, we probably characterized earlier infections as symptomatic illness, and incomplete western blot patterns are assumed to occur 1–4 weeks after infection [13] and to last from 1 to 12 weeks [14,15]. Accordingly, corresponding specimens had a low value for the EIA-RI, as shown in Fig. 1(d). We thus revealed that the EIA-RI performance at detecting very early infections was no longer affected by geographic origin, which indicates that the influence of geographic origin on test results is only important after the first few weeks since infection.

Our study has potential limitations that may affect the interpretation of our results. First, the subset of HIV-positive patients for whom infection date could be derived comprised fewer patients originating from

Sub-Saharan Africa, infected through heterosexual intercourse or both. However, numbers remained sufficient to estimate the test properties in different strata of the study population with a reasonable statistical power.

A second limitation of this study concerns the uncertainty about time since infection. This information was based on the patients' history and medical examination. Likewise, the report of symptoms of primary HIV infection (PHI), which are nonspecific [14], could falsely lead us to consider infections in the first 6 months. However, the magnitude of this error is very low as 90% (1107 out of 1233) of reported symptomatic PHIs were associated with either a negative test within the previous 6 months or laboratory evidence of seroconversion.

Third, no information on antiretroviral therapy (ART) is collected in the national HIV notification. However, as samples are obtained from newly diagnosed patients, they are very unlikely to have received any ART. One exception to this assumption would be the case of patients who, despite administration of a postexposure prophylaxis (PEP), become infected. Such cases of PEP failure are very rare in France, with an estimate of 4.3 cases over a 4-year period [16]. Finally, even if the clinician concludes a new HIV diagnosis after they have seen the patient, there may still be some unrecognized circumstances in which patients would have previously received therapy, which might contribute to the decreased specificity measured in our study.

Finally, we could not assess test performances directly according to virus subtypes. Identification of HIV subtype through serotyping is part of the National HIV Surveillance system [9]. As it takes a few weeks or months after seroconversion for V3 antibodies to be detectable in the serotyping assay [17], a substantial number of recent infections are not typable (Table 1). Therefore, serotyping results cannot be obtained independently of the duration of infection. We therefore used patient's country of birth, which has been shown to be correlated to viral subtype in France, where 81% of new HIV diagnoses among patients born in Europe were infected by B subtype viruses, and 76% of those born in Sub-Saharan Africa were infected by non-B subtype viruses [18]. Our study results indicate that the performance is different among Sub-saharan African patients and similar to that found by Sakarovitch *et al.* [19] in Côte d'Ivoire, but we could not disentangle the influence of viral subtype and host ethnicity on the assay results. Close examination of EIA-RI recent infection determination of non-B subtype infections is underway by using cohort data. Considering these remaining uncertainties about sensitivity and specificity in some subgroups, it must be emphasized that the EIA-RI, as other tests for recent infection, should be used solely at a population level and not for individual diagnostic purposes [20].

The EAI-RI has been used among blood donors and yielded incidence estimates close to those from the reference method [21]. However, when applied to the general population, we showed that the assay detected recency with lower sensitivity and specificity than previously described [8]. A similar result was found for the BED-CEIA used in Germany, with sensitivity of 80% and specificity of 86% [22]. The critical aspect of the STARHS method is the requirement that the population of seroconverters used to calibrate the window period and the cutoff, is representative of the population to which the test will be applied to estimate incidence. As stated before, the difficulty of obtaining specimens with a known date of seroconversion is a limitation to designing a test with characteristics that can be generalized to any population. However, for future national HIV incidence estimation, a recalibration study of the test is considered to particularly enhance its specificity.

The detection of recently infected patients through our surveillance system provides important information on the dynamics of infection and on HIV testing efforts to be made on different population groups [9]. Other countries have started to use a test for recent infection in their HIV national surveillance [23–26]. The advantage of this setting is that a large set of variables can be collected, which typically includes AIDS status, dates of previous tests and antiviral therapy. This information makes it possible to control the factors of misclassification in the determination of recency. But the main drawback is that, unlike cross-sectional surveys, case-reporting systems collect information only for individuals diagnosed positive and generally do not provide information on individuals tested negative. Therefore, the number of persons at risk that would be part of any cross-sectional incidence formula cannot be measured. Obtaining an incidence estimation from the surveillance of new HIV diagnosis and recent infection testing is not straightforward, but the framework exists in France and the modeling initiative described in the USA is currently being adapted in our country [20,27].

Acknowledgements

We thank all participants of the National HIV Case Surveillance. We also thank Sylvie Brunet, Damien Thierry, Danielle David and Marlène Leclerc for their technical support, and Farida Mihoub for the English editing. We are grateful to the members of the ANRS AC23 working group for their valuable comments on the first results.

Parts of the data were presented at the XVII International AIDS Conference; 3–8 August 2008; Mexico City.

References

- McDougal J, Pilcher C, Parekh B, Gersh-Damet G, Branson B, Marsh K, *et al.* Surveillance for HIV-1 incidence using tests for recent infection in resource-constrained countries. *AIDS* 2005; **19** (Suppl 2):S25–S30.
- Murphy G, Parry JV. Assays for the detection of recent infections with human immunodeficiency virus type 1. *Euro Surveill* 2008; **13**:5–12.
- Kothe D, Byers R, Caudill S, Satten G, Janssen R, Hannon W, *et al.* Performance characteristics of a new less sensitive HIV-1 enzyme immunoassay for use in estimating HIV seroincidence. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; **33**:625–634.
- Young C, Hu D, Byers R, Vanichseni S, Young N, Nelson R, *et al.* Evaluation of a sensitive/less sensitive testing algorithm using the bioMerieux Vironostika-LS assay for detecting recent HIV-1 subtype B' or E infection in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; **19**:481–486.
- Parekh B, Kennedy M, Dobbs T, Pau C, Byers R, Green T, *et al.* Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002; **18**:295–307.
- Wilson K, Johnson E, Croom H, Richards K, Doughty L, Cunningham P, *et al.* Incidence immunoassay for distinguishing recent from established HIV-1 infection in therapy-naïve populations. *AIDS* 2004; **18**:2253–2259.
- Janssen R, Satten G, Stramer S, Rawal B, O'Brien T, Weiblen B, *et al.* New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA* 1998; **280**:42–48.
- Barin F, Meyer L, Lancar R, Deveau C, Gharib M, Laporte A, *et al.* Development and validation of an immunoassay for identification of recent human immunodeficiency virus type 1 infections and its use on dried serum spots. *J Clin Microbiol* 2005; **43**:4441–4447.
- Semaille C, Barin F, Cazein F, Pillonel J, Lot F, Brand D, *et al.* Monitoring the dynamics of the HIV epidemic using assays for recent infection and serotyping among new HIV diagnoses: experience after 2 years in France. *J Infect Dis* 2007; **196**:377–383.
- Semaille C, Cazein F, Pillonel J, Lot F, Le Vu S, Pinget R, *et al.* Four years of surveillance of recent HIV infections at country level, France, mid 2003–2006: experience and perspectives. *Euro Surveill* 2008; **13**:19–24.
- Parekh B, McDougal J. Application of laboratory methods for estimation of HIV-1 incidence. *Indian J Med Res* 2005; **121**:510–518.
- Parekh B. Calibration, validation and application of the HIV-1 BED incidence assay. 2005. www.hivtestingconference.org/hiv-testing2005/Session6B/Parekh2.ppt. [Accessed 25 March 2009].
- Schacker T, Collier A, Hughes J, Shea T, Corey L. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann Intern Med* 1996; **125**:257–264.
- Kahn J, Walker B. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1998; **339**:33–39.
- Fiebig E, Wright D, Rawal B, Garrett P, Schumacher R, Peddada L, *et al.* Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 2003; **17**:1871–1879.
- Herida M, Larsen C, Lot F, Laporte A, Desenclos J, Hamers FF. Cost-effectiveness of HIV postexposure prophylaxis in France. *AIDS* 2006; **20**:1753–1761.
- Parekh B, Pau C, Kennedy M, Dobbs T, McDougal J. Assessment of antibody assays for identifying and distinguishing recent from long-term HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001; **17**:137–146.
- Institut de veille sanitaire. Surveillance of HIV/AIDS infection in France, 2005. *BEH* 2006; **48**:371–378.
- Sakarovitch C, Rouet F, Murphy G, Minga A, Alioum A, Dabis F, *et al.* Do tests devised to detect recent HIV-1 infection provide reliable estimates of incidence in Africa? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; **45**:115–122.
- Le Vu S, Pillonel J, Semaille C, Bernillon P, Le Strat Y, Meyer L, *et al.* Principles and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing: a review. *Euro Surveill* 2008; **13**:13–18.
- Pillonel J, Barin F, Laperche S, Bernillon P, Le Vu S, Brunet S, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 incidence among blood donors in France, 1992 through 2006: use of an immunoassay to identify recent infections. *Transfusion* 2008; **48**:1567–1575.
- Loschen S, Bätzing-Feigenbaum J, Poggensee G, Cordes C, Hintsche B, Rausch M, *et al.* Comparison of the human immunodeficiency virus (HIV) type 1-specific immunoglobulin G capture enzyme-linked immunosorbent assay and the avidity index method for identification of recent HIV infections. *J Clin Microbiol* 2008; **46**:341–345.
- Bätzing-Feigenbaum J, Loschen S, Gohlke-Micknis S, Zimmermann R, Herrmann A, Kamga Wambo O, *et al.* Country-wide HIV incidence study complementing HIV surveillance in Germany. *Euro Surveill* 2008; **13**:31–34.
- Romero A, González V, Granell M, Matas L, Esteve A, Martró E, *et al.* Recently acquired HIV infection in Spain (2003–2005): introduction of the serological testing algorithm for recent HIV seroconversion. *Sex Transm Infect* 2009; **85**:106–110.
- Schüpbach J, Gebhardt MD, Tomasik Z, Niederhauser C, Yerly S, Bürgisser P, *et al.* Assessment of recent HIV-1 infection by a line immunoassay for HIV-1/2 confirmation. *PLoS Med* 2007; **4**:e343.
- Lee L, McKenna M. Monitoring the incidence of HIV infection in the United States. *Public Health Rep* 2007; **122** (Suppl 1):72–79.
- Hall HI, Song R, Rhodes P, Prejean J, An Q, Lee LM, *et al.* Estimation of HIV incidence in the United States. *JAMA* 2008; **300**:520–529.

Annexe E

Article 3

Population-based HIV Incidence in France, 2003-2008

S. Le Vu^{*,a,b}, Y. Le Strat^a, F. Barin^c, J. Pillonel^a, F. Cazein^a, V. Bousquet^a,
S. Brunet^c, C. Semaille^a, L. Meyer^b, J.-C. Desenclos^a

^a*Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France*

^b*Inserm U1018, Service d'Épidémiologie et de Santé Publique, Bicêtre Hospital,
Université Paris-Sud 11, Le Kremlin-Bicêtre, France*

^c*Université François Rabelais, Inserm U966, Centre National de Référence du VIH, Tours, France*

Abstract

Background: To monitor the dynamic of HIV infection in France, a routine incidence testing (EIA-RI) has been implemented as part of the national HIV case surveillance as early as 2003. This analysis presents the first direct estimates of HIV incidence at the country level over recent years. **Methods:** We first performed a calibration analysis for the EIA-RI using follow-up measurements from 246 seroconverters. We then adapted the stratified extrapolation approach developed by Karon et al. (2008) to calculate the annual number of new infections in various transmission groups in the French population, based on reported HIV diagnoses and adjusted for reporting delays and under-reporting. Missing data for key variables were imputed by multiple imputation. To calculate incidence rates, subpopulation sizes were obtained from the national census and national behavioral studies. Temporal trends in incidence of HIV infection based upon 42,330 diagnoses were assessed using weighted least-square regressions. **Results:** An estimated 6940 (95%CI:6200-7690) persons got newly infected in France in 2008. This led to an overall incidence rate of 17 per 100,000 persons-year. With 3320 (48%) new infections in 2008, men who have sex with men (MSM) contributed dramatically to the overall number of cases. Incidence rate among MSM was 1006 per 100,000 persons-year. Among the 3550 (51%) new infections attributed to heterosexual transmission, foreigners living in France represented 45% (1600) whereas French nationals represented 55% (1950). Intravenous drug users accounted for 1% of new infections. The overall HIV incidence decreased from 2003 (8930 new infections) to 2008 while it remained stable among MSM. **Conclusions:** Over the 2003-2008 period, our results confirm the disproportionately high contribution of MSM on current HIV transmission. Migration and infections acquired abroad should be accounted to interpret the number of new HIV infections among foreigners in France. Based on this new method applied at a national scale, HIV incidence will be tracked over time in order to monitor the HIV transmission dynamics in the various risk groups of the population and to better target prevention.

Key words: HIV, Surveillance, Incidence, Recent infection

*Corresponding author

Email address: s.levu@invs.sante.fr (S. Le Vu)

1. Introduction

Historically, the human immunodeficiency virus (HIV) epidemic in France has primarily been monitored by new diagnoses of AIDS and since 2003 of HIV infection, reported through national case surveillance. However, because of the long and variable period of time from the onset of HIV infection to its diagnosis, case surveillance of new HIV diagnoses does not reflect the current patterns of the virus transmission.

During the past fifteen years, laboratory-based methods have been developed to derive HIV incidence estimates with a cross-sectional approach [1, 2]. And such a method have proven to be applicable on case-based surveillance data [3]. HIV incidence data can greatly improve surveillance with more timely data about the epidemic, in order to tailor prevention planning and evaluation to the key risk groups. To monitor the dynamic of HIV infection in France, a routine incidence testing (EIA-RI) has been implemented as part of the national HIV case surveillance as early as 2003. This article presents the first estimates of HIV incidence at the country level over recent years and by use of a test for recent infection.

2. Methods

2.1. Calibration of the EIA-RI

The objective of the calibration study was to define an assay threshold that discriminate recent from long-standing infection and to estimate the distribution of waiting time in recent infection state (now termed Recent Infection Testing Algorithm (RITA) duration by the World Health Organization ad-hoc working group) for a reference population sample. The EIA-RI test was developed to detect recent HIV infection through an algorithm that combines standardized measures of antibody binding to the immunodominant epitope of gp41 and the V3 region of gp120 regions [4]. In this initial design of the EIA-RI, recency was defined as being within 180 days of the onset of infection and the biomarkers threshold that optimally detects recency was estimated retrospectively. For this study, we estimated the time during which the EIA-RI assay biomarker stay under a given threshold from the beginning of the infection. Therefore, the recency status is actually referring to a transient biological state rather than the time since infection. Furthermore, since the original development of the test showed that "... the most discriminatory antigen was IDE alone or in combination with V3" [4], we performed a calibration of the assay using IDE alone to enhance model parsimony. For that purpose, the reference population sample comprised 952 follow-up measurements from 298 seroconverters included in the ANRS PRIMO cohort [5]. These untreated patients were tested on dried serum spot from 1 to 7 times during a follow-up that last up to two years. Their date of infection was estimated as the date of symptom onset minus 15 days, the date of incomplete Western blotting minus 1 month, or the midpoint between a negative and a positive ELISA test (median of delays from negative test to inclusion was 92 days) [4]. Both linear and non-linear random-effects mixed models were tested to model the growth of IDE response (as a standardised optical density [OD] value) against time since infection. For linear model, the natural logarithm of both OD values and time were chosen. Non-linear models used a Gompertz link function and untransformed values. The calibration process also comprised the estimation of the proportion of long-term HIV infected patients that would appear as recent in the population. This proportion,

designated as false recent rate (FRR), was estimated among 250 patients HIV infected for more than two years, but not at AIDS stage, and 143 patients at AIDS stage (ANRS SEROCO/HEMOCO cohort [6]).

2.2. Data from case-based surveillance

Since 2003, newly diagnosed HIV infections in France are mandatorily reported to the National Institute for Public Health Surveillance (InVS). The notification form includes demographic data (sex, age, nationality and residence), clinical stage, transmission category and history of previous HIV testing. Remnant serum from the diagnosis sample is sent as a dried serum spot to the National Reference Laboratory (CNR) where the EIA-RI test is performed. We considered reports from patients newly diagnosed between July 2003 to December 2008. Missing data for the above mentioned variables were estimated using multiple imputation [7, 8]. Imputation by chained equations was carried out with procedure `ice` and Stata 9.2 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA). We generated 15 datasets and calculated estimates and standard errors following Rubin's rules [9]. Using a distinct survey on testing activity of all laboratories confirming HIV diagnoses throughout the country, we estimated the completeness of the surveillance system, accounting for reporting delays.

2.3. Incidence model overview

We applied a stratified extrapolation approach to estimate the annual number of new HIV infections in various transmission groups of the population in France. The model was based on the methodology developed by Karon and colleagues [10]. Briefly, HIV diagnoses are first stratified into subpopulation groups. The model considers the diagnoses observed as recent infection as a random sample drawn from the population of HIV infections occurring within one year (incident cases). Assuming that after imputation, recent infection test result is available for every diagnosed, the corresponding sampling probability is calculated as the probability of being tested within a year after infection (p_1) times that of being detected as recent infection while diagnosed within a year after infection (p_w). The first probability p_1 is estimated separately for individuals having had a negative test before diagnosis (termed repeat testers) and those assumed to be diagnosed at their first test (new testers). These conditional probabilities are primarily determined by testing history (p_1 for repeat testers), the proportion of HIV infection diagnosed at AIDS stage (p_1 for new testers) and the mean RITA duration (p_w). The number of incident cases within a subpopulation is then derived from the size of the sample divided by its sampling probability. We corrected the number of diagnoses detected as recent by the false recent rate estimated during the assay calibration process. The distribution of AIDS incubation period was chosen according to the European AIDS case definition based on clinical symptoms. We took into account the completeness of the reporting system and provided yearly incidence estimates for six groups of population: heterosexual men and women of French nationality, heterosexual men and women of foreign nationality, men who have sex with men (MSM) and intravenous drug users (IDU). Men and women reported to have been infected through a mode of transmission different from sex or drug use accounted for less than 1% of diagnoses and were thus grouped into the heterosexual category. Variance and confidence intervals were calculated using the delta method and include the variability due to multiple imputation and

variance associated with the estimation of completeness of case reporting. Temporal trends were evaluated by variance weighted least-square regressions. To calculate incidence rates, subpopulation sizes were obtained from the national census and national behavioral studies. The proportion of men aged 18-69 having sex with men within 12 months [11] was applied to the overall male population as of 2008. The estimated number of intravenous drug users is from the French Monitoring Centre for Drugs and Drug Addictions [12]. The number of adults aged 18-69 engaged in heterosexual activity was derived from the proportion found in a representative behavioral survey [11] applied to the non-IDU and non-MSM population. Sizes of overall and non-nationals population in France were obtained from the National Institute of Statistics and Economic Studies. Except for multiple imputation, all other analyses were conducted using SAS software v9.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

3. Results

3.1. Assay Calibration

The chosen OD threshold led to a mean RITA duration of 180 [95%CI:167-193] days and a false recent rate of 0.8% [95%CI: 0-3.1] among non-AIDS patients and 5.6% [95%CI: 2.7-10.8] among AIDS patients. The range of possible RITA duration was 25 to 731 days and respectively, 95% and 99% of durations were below 358 days and 480 days.

3.2. Surveillance data

Between 2003 and 2008, an estimated total of 42,330 (95%CI:40,030-44,840) persons have been newly diagnosed with HIV. As reported, information was missing for 37.9% of diagnoses regarding transmission group categories, 24.2% for EIA-RI testing results and 19.6% for the history of a previous negative test. Table 1 shows number and detailed characteristics of new diagnoses per year, after the multiple imputation process. The overall number of diagnoses decreased by an average 3.7% per year from 2003 to 2008 (p<10⁻⁴). On average during the six years period, heterosexual men and women represented 28% and 37% of diagnoses. MSM represented 32% and IDU 3%. Particularly, women originating from a foreign country accounted for 25% of diagnoses. Over the years their number noticeably tended to decrease while the number of newly diagnosed MSM rose steadily. The proportion of diagnoses classified as recent infection was 25% on average and did not vary significantly over the years. MSM were the most frequently (40%) diagnosed during recent infection, compared to French heterosexual women (28%) and men (22%), foreign heterosexual women (16%) and men (12%), and IDU (15%). The proportion of persons already tested HIV negative at the time of diagnosis showed a significant upward trend over the six years, from 32% in 2003 to 59% in 2008. While the baseline level of this proportion varied in the different groups of transmission, the same trend was observed for every group.

3.3. HIV incidence estimates

An estimated 6,940 (95%CI:6200-7690) persons got infected with HIV in France in 2008. With 3,320 (48%) new infections in 2008, men who have sex with men (MSM) contributed dramatically to the overall number of cases. Among the 3,550 (51%) new infections attributed to heterosexual transmission, half (1750 [49%]) occurred among

women. Intravenous drug users accounted for 1% of new infections. With 1,600 estimated infections, foreigners living in France represented 23% of all new infections and 45% of the infections due to heterosexual transmission. Figure 1 summarises temporal trends in HIV incidence during the study period with transmission groups shown separately. The overall HIV incidence significantly decreased from year 2003 (8,930 new infections) to 2008 (6,940) ($p < 10^{-4}$). This temporal trend was observed for all infections acquired heterosexually, whereas incidence remained stable among MSM and IDU. Among the population aged 18-69 years, sexually active or having ever used intravenous drugs, the overall incidence rate was estimated at 17 per 100,000 persons-year (95%CI: 15-19) in 2008. Table 2 shows detailed number of infections and incidence rate by subpopulation groups. Incidence rate among MSM was 1006 per 100,000 persons-year. Compared to the French heterosexual population (rate of 5 per 100,000 persons-year), the incidence rate was 200 times higher among MSM, 18 times higher among IDUs, and 9 times higher among persons of foreign nationalities. Among the later, the rates among men and women having a nationality from a Sub-Saharan African country were respectively 29 and 69 as high as among the French heterosexual population.

4. Discussion

In this study, we provide the first estimation of population-based HIV incidence using a test for recent infection in Europe, at a national level and over recent years. Moreover, as the test for recent infection has been routinely applied since the beginning of the case surveillance in 2003, we can compute temporal trends over several years of HIV incidence in the relevant groups of population in France. Over the period 2003-2008, our results reveal a downward trend in overall incidence and confirm the disproportionately high contribution of MSM on current HIV transmission.

With 48% of all new infections and a stable incidence rate of nearly 1%, the HIV epidemic seems out of control in the MSM population. In France and in other industrialized countries, the number of new HIV diagnoses among MSM has increased in recent years [13–16]. As for HIV incidence among MSM, an upward trend was observed in Europe [17–19] whereas it is reported to have been stable and high from 1995 to 2005 over all industrialized countries [20]. Incidence measurements found in the review from Stall et al. (2009) were obtained in selected samples of MSM in urban community settings and not at a national level. That certainly explains why the mean incidence of 2 to 3% reported for the period is higher than our estimates (1%) in France [20]. Our results can be compared to those reported by Hall et al. (2008) for the USA in 2006. We found a similar overall incidence rate in 2008 in France (17 per 100,000 persons-year) compared to the USA (23 per 100,000 persons-year in 2006) [3]. In both countries, MSM accounted for half of all yearly new infections. Several factors could explain the high level of HIV transmission occurring among MSM in France. Behavioral studies are showing a growing level of unprotected anal intercourse, both among negative and positive MSM, and a high number of sexual partners [21]. An increase in primary and secondary syphilis, as well as rectal lymphogranuloma venereum is also reported among MSM [22, 23]. These factors combined with a high HIV prevalence are probably interacting to maintain such an alarming incidence rate among MSM.

Conversely, the number of new infections related to drug injection has remained low in these recent years (between 70 to 220 new infections per year, accounting for 1 to 2%

of all new infections). This situation could partially be attributed to the harm-reduction policy established in France in the mid 1990s, that promoted access to clean needle and syringes and opioid substitution treatments [24]. Though it could also be attributed to a large number of deaths among a whole generation of drug users and a secular change in the pattern of drug use, it is clearly stated that the number of injecting drug users as decreased since then. Regarding heterosexual transmission, non-national individuals are the most affected, and particularly women from subsaharan Africa. On the other hand, an increase of the mean age at diagnosis was reported among heterosexual and it can corroborate the decreasing trend of heterosexual transmission that we observe [25].

There are some potential limitations regarding the model and the data. Firstly, the incidence estimation model is based on an assumption of independence between infection and testing [10]. Under certain circumstances, this assumption cannot hold. Particularly, testing could be motivated by seroconversion illness or an identified recent exposure, resulting in overestimated number of recent infection and incidence estimates [26]. We plan to evaluate the impact of this bias by using the information about motivation for seeking test (including a recent exposure), that has recently been introduced in the questionnaire. Second, the calculation of incidence rates requires, as a denominator, an estimated size of the subpopulations. It is reported that socially stigmatized behaviours such as sex between men (and drug use) are prone to be underreported in questionnaire survey. Therefore, extrapolating these behaviours to the overall population might have led to overestimate the corresponding incidence rates. Third, we could not distinguish whether diagnoses could be due to an infection in France or acquired abroad. Our estimates of incidence for the foreigners are concerning the population that can potentially be diagnosed in France, once infected. The reliability of our estimates is thus depending of the stability of migration of positive individuals. We do not have such specific data but the (legal) immigration has remained steady in the study period, at least for individuals from subsaharan Africa which, among foreigners, account the most in the epidemic in France.

5. Conclusion

Based on this new method applied at a national scale, HIV incidence will be tracked over time in order to monitor the HIV transmission dynamics in the various risk groups of the population and to better target prevention.

References

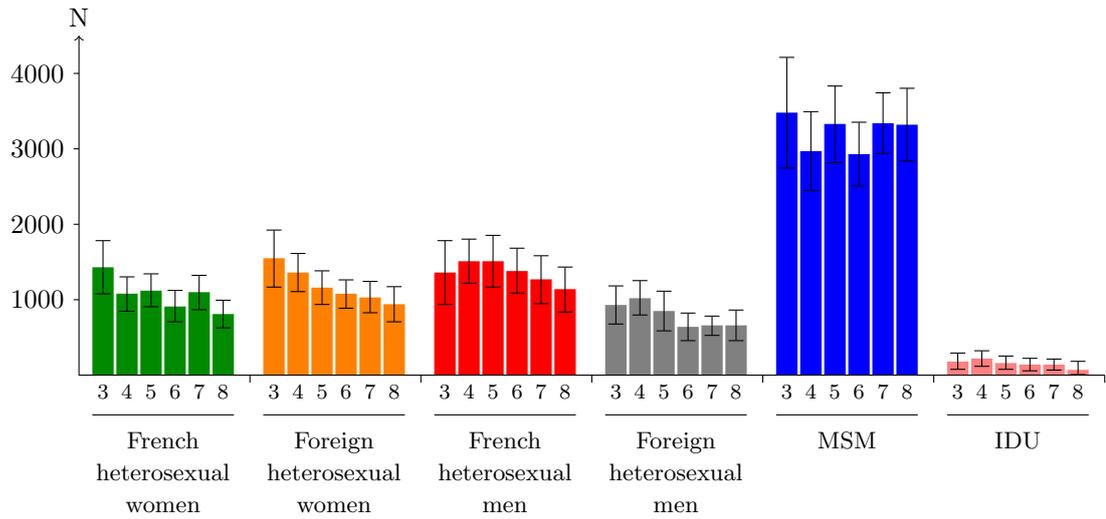
- [1] R. S. Janssen, G. A. Satten, S. L. Stramer, B. D. Rawal, T. R. O'Brien, B. Weiblen, F. M. Hecht, N. Jack, F. R. Cleghorn, J. Kahn, M. Chesney, M. P. Busch, New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes, *JAMA* 280 (1) (1998) 42–48.
- [2] S. Le Vu, J. Pillonel, C. Semaille, P. Bernillon, Y. L. Strat, L. Meyer, J.-C. Desenclos, Principles and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing—a review, *Euro Surveill* 13 (36) (2008) 1–6.
- [3] H. I. Hall, R. Song, P. H. Rhodes, J. Prejean, Q. An, L. M. Lee, J. M. Karon, R. Brookmeyer, E. H. Kaplan, M. T. McKenna, R. S. Janssen, H. I. S. Group, Estimation of HIV incidence in the United States, *JAMA* 300 (5) (2008) 520–9.

- [4] F. Barin, L. Meyer, R. Lancar, C. Deveau, M. Gharib, A. Laporte, J.-C. Desenclos, D. Costagliola, Development and validation of an immunoassay for identification of recent human immunodeficiency virus type 1 infections and its use on dried serum spots, *J Clin Microbiol* 43 (9) (2005) 4441–7.
- [5] C. Goujard, M.-L. Chaix, O. Lambotte, C. Deveau, M. Sinet, J. Guergnon, V. Courgnaud, C. Rouzioux, J.-F. Delfraissy, A. Venet, L. Meyer, A. N. de Recherche sur le Sida PRIMO Study Group, Spontaneous control of viral replication during primary HIV infection: when is "HIV controller" status established?, *Clin Infect Dis* 49 (6) (2009) 982–6.
- [6] Y. Madec, F. Boufassa, V. Avettand-Fenoel, S. Hendou, A. Melard, S. Boucherit, J. Surzyn, L. Meyer, C. Rouzioux, Early Control of HIV-1 Infection in Long-Term Nonprogressors Followed Since Diagnosis in the ANRS SEROCO/HEMOCO Cohort., *J Acquir Immune Defic Syndr* 50 (1) (2009) 19.
- [7] P. Royston, Multiple imputation of missing values: furter update of ice, with an emphasis on categorical variables., *Stata Journal* 9 (3) (2009) 466–477.
- [8] S. Van Buuren, Multiple imputation of discrete and continuous data by fully conditional specification, *Stat Methods Med Res* 16 (3) (2007) 219–242.
- [9] R. J. A. Little, D. B. Rubin, *Statistical analysis with missing data.*, Wiley, New York, 2002.
- [10] J. M. Karon, R. Song, R. Brookmeyer, E. H. Kaplan, H. I. Hall, Estimating HIV incidence in the United States from HIV/AIDS surveillance data and biomarker HIV test results, *Stat Med* 27 (23) (2008) 4617–33.
- [11] N. Bajos, M. Bozon, N. Beltzer, *Enquête sur la sexualité en France : Pratiques, genre et santé*, Editions La Découverte, ISBN 2707154296, 2008.
- [12] J.-M. Costes, L. Vaissade, E. Colasante, C. Palle, S. Legleye, E. Janssen, A. Toufik, A. Cadet-Tairou, *Prévalence de l'usage problématique de drogues en France - Estimations 2006*, Observatoire français des drogues et des toxicomanies (OFDT), Saint-Denis, 2009.
- [13] F. Cazein, J. Pillonel, L. Imounga, Y. Le Strat, V. Bousquet, G. Spaccaferri, F. Lot, M. Leclerc, S. Couturier, L. Benyelles, H. Haguy, C. Semaille, *Surveillance du dépistage et du diagnostic de l'infection VIH et du sida, France, 2008*, BEHWeb (2) (2009) 1–15.
- [14] A. E. Grulich, J. M. Kaldor, Trends in HIV incidence in homosexual men in developed countries, *Sexual health* 5 (2) (2008) 113–8.
- [15] P. S. Sullivan, O. Hamouda, V. Delpech, J. E. Guld, J. Prejean, C. Semaille, J. Kaldor, C. Folch, E. O. de Coul, U. Marcus, G. Hughes, C. P. Archibald, F. Cazein, A. McDonald, J. Casabona, A. van Sighem, K. A. Fenton, Reemergence of the HIV Epidemic Among Men Who Have Sex With Men in North America, Western Europe, and Australia, 1996-2005, *Annals of Epidemiology* 19 (6) (2009) 423–431.
- [16] F. van Griensven, The global epidemic of HIV infection among men who have sex with men, *Current Opinion in HIV and AIDS* 4 (4) (2009) 300–307.
- [17] N. H. T. M. Dukers, H. S. A. Fennema, E. M. van der Snoek, A. Krol, R. B. Geskus, M. Pospiech, S. Jurriaans, W. I. van der Meijden, R. A. Coutinho, M. Prins, HIV incidence and HIV testing behavior in men who have sex with men: using three incidence sources, The Netherlands, 1984-2005, *AIDS* 21 (4) (2007) 491–9.
- [18] M. Giuliani, A. D. Carlo, G. Palamara, M. Dorrucchi, A. Latini, G. Prignano, F. Stivali, G. Rezza, Increased HIV incidence among men who have sex with men in Rome, *AIDS* 19 (13) (2005) 1429–31.
- [19] I. Hurtado, I. Alastrue, I. Ferreros, J. del Amo, C. Santos, T. Tasa, I. Hernández-Aguado, S. Pérez-Hoyos, Trends in HIV testing, serial HIV prevalence and HIV incidence among people attending a Center for AIDS Prevention from 1988 to 2003, *STI* 83 (1) (2007) 23–8.
- [20] R. Stall, L. Duran, S. R. Wisniewski, M. S. Friedman, M. P. Marshal, W. McFarland, T. E. Guadamuz, T. C. Mills, Running in place: implications of HIV incidence estimates among urban men who have sex with men in the United States and other industrialized countries, *AIDS and behavior* 13 (4) (2009) 615–29.
- [21] A. Bouyssou-Michel, P. O. de Busscher, M. Jauffret-Roustide, C. Semaille, A. Velter, *Enquête Presse Gay 2004*, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, 2007.
- [22] A. Bouyssou Michel, A. Gallay, M. Janier, N. Dupin, B. Halioua, I. Alcaraz, É. Picot, B. Milpied, C. De Baudouin, C. Semaille, *Surveillance de la syphilis en France, 2000-2006 : recrudescence des diagnostics en 2006*, *Bull Epidemiol Hebd* (5-6) (2008) 39–42.
- [23] M. Herida, B. de Barbeyrac, P. Sednaoui, C. Scieux, N. Lemarchand, G. Kreplak, M. Clerc, J. Timsit, V. Goulet, J. C. Desenclos, C. Semaille, Rectal lymphogranuloma venereum surveillance in France 2004-2005, *Euro Surveill* 11 (9) (2006) 155–156.
- [24] J. Emmanuelli, J.-C. Desenclos, Harm reduction interventions, behaviours and associated health outcomes in France, 1996-2003, *Addiction* 100 (11) (2005) 1690–1700.

- [25] F. Cazein, J. Pillonel, Y. L. Strat, F. Lot, R. Pinget, D. David, M. Leclerc, S. Couturier, L. Benyelles, S. Brunet, D. Thierry, F. Barin, C. Semaille, Surveillance de l'infection à VIH-sida en France, 2007, *Bull Epidemiol Hebd* (45-46) (2008) 434–443.
- [26] R. S. Remis, R. W. H. Palmer, Testing bias in calculating HIV incidence from the Serologic Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion, *AIDS* 23 (4) (2009) 493–503.

Figure

Figure 1: Estimated new HIV infections by transmission group in France, 2003 to 2008



Years from 2003 to 2008 are indicated by (3,4,...,8). MSM: men who have sex with men; IDU: intravenous drug users

Tables

Table 1: Number and characteristics of new HIV diagnoses in France, 2003 to 2008

Variables ^a	Year of diagnosis						Total
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
Transmission group (%)							
Heterosexual French women	12.2	11.7	11.7	11.2	11.4	11.2	11.6
Heterosexual French men	13.1	13.3	13.9	14.2	14.2	15.5	14.0
Heterosexual foreign women	30.1	28.9	26.3	24.0	22.8	21.0	25.4
Heterosexual foreign men	16.3	15.9	14.9	13.5	12.8	13.5	14.4
MSM ^b	25.2	27.2	30.6	34.5	36.4	37.0	32.1
IDU ^c	3.1	3.0	2.6	2.6	2.3	1.8	2.6
EIA-RI results (%)							
Recent	24.1	23.7	25.2	24.8	26.4	27.0	25.2
Non recent and non AIDS	56.3	58.7	58.2	59.8	58.6	59.8	58.7
Non recent at AIDS stage ^d	19.7	17.6	16.6	15.4	14.9	13.2	16.1
Previous negative test (%)							
Having ever been tested HIV-negative	32.4	37.4	43.8	48.7	53.1	58.9	46.2
Number of diagnoses^e							
Lower bound 95%CI	6,880	7,120	7,090	6,620	6,140	6,190	40,030
Upper bound 95%CI	7,920	8,090	7,900	7,400	6,750	6,780	44,840

^aMissing data are redistributed by multiple imputation

^bMen who have sex with men, all nationalities

^cIntravenous drug users, all nationalities, both sex

^dDiagnoses at AIDS stage were classified as non-recent regardless of the actual EIA-RI result.

^eCorrected for under-reporting

Table 2: Estimated number of new HIV infections and incidence rates by transmission group in France, 2008

Transmission group	New infections (95%CI)	Population sizes ^a	Incidence rates ^b (95%CI)
Heterosexual French women	810 (620;1000)	18,363,590	4 (3;5)
Heterosexual French men	1140 (830;1440)	18,848,440	6 (4;8)
Heterosexual foreign women	940 (700;1180)	1,739,760	54 (40;68)
Heterosexual foreign men	660 (460;870)	1,884,740	35 (24;46)
MSM ^c	3320 (2830;3810)	329,950	1006 (857;1155)
IDU ^d	70 (0;190)	81,000	91 (0;237)
Total	6940 (6200;7690)	41,247,480	17 (15;19)

^aSources for 18-69 years population sizes: Population estimates as of 1st january 2008 (National census). National Institute of Statistics and Economic Studies; *Contexte de la sexualité des français*. French National Institute for Health and Medical Research, National institute for demographic studies; *Prévalence de l'usage problématique de drogues en France - Estimations 2006*. French Monitoring Centre for Drugs and Drug Addictions

^bPer 100,000 persons per year

^cMen who have sex with men, all nationalities

^dIntravenous drug users, all nationalities, both sex