



Article original

Infections par des virus transmissibles par le sang chez des hémophiles en Tunisie

Blood-transmitted viral infections among haemophiliacs in Tunisia

H. Langar^a, H. Triki^{a,*}, E. Gouider^b, O. Bahri^a, A. Djebbi^a, A. Sadraoui^a,
A. Hafsia^c, R. Hafsia^b

^a Laboratoire de virologie clinique, institut Pasteur de Tunis, 13, place Pasteur, BP 74, 1002, Tunis, Tunisie

^b Laboratoire d'hématologie, hôpital Aziza-Othmana de Tunis, place du gouvernement, La Kasbah 1007 Tunis, Tunisie

^c Service d'hématologie clinique, hôpital Aziza-Othmana de Tunis, place du gouvernement, La Kasbah 1007 Tunis, Tunisie

Disponible sur internet le 11 août 2005

Résumé

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'évaluer les prévalences des infections par les virus des hépatites B et C et le parvovirus B19 chez 70 hémophiles tunisiens traités avec les facteurs de coagulation importés d'Europe et/ou le cryoprécipité fabriqué localement ; parmi eux six patients (8,6 %) sont connus VIH positifs. L'antigène HBs, les anticorps anti-HBc et les anticorps anti-Parvovirus B19 ont été retrouvés chez 7,1, 52,9 et 91,8 % des patients, respectivement. La prévalence de l'infection par le VHC, définie par un test Elisa positif avec Immunoblot et/ou PCR positifs, a été de 50,0 %. Les prévalences de ces infections virales sont plus élevées chez les hémophiles que dans la population générale et la population témoin admise dans ce travail. L'infection à VHC est plus faible chez les sujets hémophiles nés après 1985, date d'introduction des procédés d'inactivation virale dans la fabrication des concentrés de facteurs de coagulation. Elle est encore plus faible chez les patients nés après 1994, date d'introduction du dépistage systématique du VHC chez les donneurs de sang tunisiens. En revanche, malgré l'inactivation des concentrés de facteurs et le dépistage systématique des dons du sang vis-à-vis de l'AgHBs depuis 1973, un risque élevé de contamination par le VHB persiste chez les hémophiles tunisiens. L'introduction depuis 1995 de la vaccination anti-hépatite B dans le calendrier national de vaccination des nouveau-nés devrait prochainement résoudre le problème de l'infection à VHB aussi bien chez les hémophiles que chez d'autres catégories de la population tunisienne.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

In this work, we proposed to evaluate prevalences of hepatitis B and C viruses and Parvovirus B19 among 70 Tunisian haemophiliacs treated with clotting factors imported from Europe and/or locally produced cryoprecipitate; among them 6 (8.6%) are known HIV positive patients. HBs antigen, anti-HBc antibodies and anti-Parvovirus B19 antibodies were detected in 7.1%, 52.9% and 91.8%, respectively. HCV prevalence, defined as positive ELISA with positive Immunoblot and/or PCR was 50.0%. Prevalences of these viral infections in haemophiliacs are higher than prevalences detected among general population and in the control group of the study. HCV infection is less frequent in haemophiliacs born after 1985, the year of introduction of the inactivation procedures in the production of coagulation factors concentrates; it decreases more considerably after 1994, date of introduction of systematic screening of HCV among blood donors. In contrast, despite the inactivation of the factors concentrates and the systematic screening of the blood donations against HBs antigen, since 1973, the risk of HBV infection contamination remains high in the Tunisian haemophiliacs. The introduction in 1995 of hepatitis B vaccination in the national schedule of new-born vaccination may resolve in the future the problem of HBV infection in haemophiliacs and in the other categories of the Tunisian population.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : henda.triki@pasteur.rns.tn (H. Triki).

Mots clés : VHB ; VHC ; Parvovirus B19

Keywords: HBV; HCV; Parvovirus B19

1. Introduction

L'hémophilie est une pathologie constitutionnelle de l'hémostase caractérisée par des hémorragies diverses, due à un déficit en facteur VIII pour l'hémophilie A et en facteur IX pour l'hémophilie B [1–3]. Selon le degré de déficit du facteur, l'hémophilie peut être sévère, modérée ou mineure. Le traitement des hémophiles est substitutif visant à corriger le déficit en facteur VIII ou IX. Les épisodes hémorragiques étaient auparavant traités par les transfusions de sang total. À partir des années 1970, les progrès technologiques permettant l'obtention de cryoprécipité plasmatique et de concentrés de facteurs ont considérablement changé l'approche de l'hémophilie offrant des traitements plus efficaces et moins réactogènes [4]. Toutefois, ces traitements substitutifs fondés sur des produits d'origine humaine ont toujours posé un problème de sécurité microbiologique, virale en particulier. Les virus à prendre particulièrement en considération sont le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus de l'hépatite B (VHB). D'autres virus nus comme le parvovirus B19 (ParvoB19), n'étant pas éliminés par les méthodes d'inactivation virale, car non enveloppés, sont également transmis par les facteurs de coagulation [5–8]. Ainsi, à partir de 1985, des procédés d'inactivation virale ont été introduits dans les protocoles de fabrication des concentrés en facteurs, ils sont jusqu'à l'heure actuelle en perpétuelle évolution. Cependant, un risque résiduel de transmission de virus par ces concentrés de facteurs persiste du fait, essentiellement, que le dépistage sérologique des donneurs de sang ne permet pas de détecter tous les produits potentiellement infectieux ; c'est ainsi qu'en Europe, un dépistage moléculaire pour les génomes du VHC et du VIH-1 a été introduit depuis juillet 1999 [9]. Par ailleurs, les patients atteints d'hémophilie restent toujours exposés au risque de contamination par des produits non inactivés tels que le cryoprécipité, ainsi qu'aux infections d'origine nosocomiale lors des consultations fréquentes.

En Tunisie, les moyens thérapeutiques ont varié au cours des années. Avant 1980, le traitement a été fondé sur l'utilisation du plasma frais congelé, puis ont été introduits les concentrés de facteurs VIII et IX importés d'Europe. Le traitement par le facteur VIII a été suspendu en 1986, suite à l'affaire du sang contaminé, et remplacé par le cryoprécipité jusqu'à 1995 date à laquelle le facteur VIII a été réutilisé. Le dépistage sérologique systématique des dons de sang vis-à-vis du VHB (recherche d'AgHBs) a été introduit depuis 1973, celui du VIH en 1987 et celui du VHC en 1994.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés d'étudier l'infection par les principaux virus transmissibles par le sang chez 70 hémophiles tunisiens, dont la plupart ont souvent reçu du cryoprécipité fabriqué localement en Tunisie et

des concentrés de facteurs importés, afin d'évaluer le risque de contamination de cette population de multitransfusés.

2. Patients et méthodes

Notre étude a porté sur 70 hémophiles de sexe masculin, suivis au service d'hématologie de l'hôpital Aziza-Othmana de Tunis, ayant une moyenne d'âge de 19 ans avec des extrêmes allant de 1 à 63 ans et un groupe témoin de 180 individus sains choisis dans les mêmes tranches d'âge. Sur les 70 malades étudiés, 61 (87,1 %) sont atteints d'hémophilie de type A et 9 (12,9 %) d'hémophilie de type B avec prédominance des formes sévères (61,5 %) et modérées (31,4 %) pour les deux types d'hémophilie. La plupart des patients (68/70) ont reçu des traitements substitutifs lors de la survenue d'accidents hémorragiques. Les neuf patients atteints d'hémophilie B ont reçu exclusivement du facteur IX et du complexe prothrombinique (PPSB) importés d'Europe occidentale. La plupart des patients atteints d'hémophilie A (47/61) ont reçu, en plus du facteur VIII importé d'Europe occidentale, du cryoprécipité et ou du plasma frais préparé à partir de dons de sang tunisien ; deux patients ont été traités exclusivement par du facteur VIII importé, 12 patients n'ont reçu que du cryoprécipité.

La recherche des marqueurs sérologiques du VHB, VHC et ParvoB19 a été effectuée en utilisant des kits Elisa commerciaux :

- Hepanostika HBsAg Uni-Form II (Organon Teknika) ;
- Hepanostika anti-HBc Uni-Form (Organon Teknika) ;
- Murex anti-HCV version 4.0 (Murex Biotech, Abbott Murex) ;
- Parvovirus B19 IgG Enzyme Immunoassay (Biotrin).

La recherche des anticorps et/ou antigènes spécifiques des virus étudiés a été faite selon les instructions des fournisseurs. La recherche des anticorps spécifiques du VHC par immunoblot (Wellcozyme HCV Western blot VK68 Abbott Murex) a été entreprise pour la validation de tout résultat d'Elisa positif.

Pour tous les sérums positifs à l'Elisa anti-VHC et dont l'immunoblot était négatif ou douteux, une recherche de l'ARN viral par PCR a été faite et ce dans le but de confirmer l'infection par le VHC. Cette recherche a été réalisée par le test commercial Hepatitis C virus test, v2.0, Cobas Amplicor (Roche), amplifiant le génome dans la région 5' non codante.

Pour les analyses statistiques, les prévalences ont été comparées à l'aide du programme statistique Epi-Info6 en utilisant le test exact χ^2 de Fisher.

3. Résultats

3.1. L'infection par le VHB

L'antigène HBs (AgHBs) et les anticorps anti-HBc (AcHBc) ont été retrouvés chez 7,1 % (5/70) et 52,9 % (37/70) des malades contre 0,6 % (1/180) et 7,8 % (14/180) chez les contrôles sains, respectivement. L'infection à VHB est donc significativement plus fréquente chez les hémophiles que dans la population témoin ($p = 0,007$ et $p < 10^{-3}$ pour l'AgHBs et les AcHBc, respectivement). Parmi les 37 malades AcHBc positifs, cinq sont AgHBs(+) et 32 AgHBs(-). La prévalence des AcHBc, témoins d'une infection ancienne ou en cours par le VHB, est plus élevée chez les malades nés avant 1985, date d'introduction des procédés d'inactivation virale dans la fabrication des concentrés de facteurs de coagulation : 75,0 % (24/32) contre 34,2 % (13/38) chez les malades nés après 1985 (Tableau 1). Par ailleurs, sur les neuf patients nés après 1995 (âgés de moins de sept ans), date d'introduction de la vaccination anti-hépatite B dans le calendrier national de vaccination des nouveau-nés en Tunisie, huit sont négatifs aussi bien pour l'AgHBs que pour l'AcHBc et un seul malade a des anticorps anti-HBc et des anticorps anti-HBs, témoignant d'une infection ancienne guérie.

3.2. L'infection par le VHC

Sur les 70 malades inclus dans l'étude, 39 ont eu une réaction positive pour les anticorps anti-VHC (AcVHC) avec le test Elisa. Cette positivité a été confirmée en immunoblot pour 32 malades et par PCR pour trois autres malades pour lesquels l'immunoblot était indéterminé. Ainsi, l'infection à VHC a été retenue pour 35 malades (50 %), écartée pour 31 malades qui avaient un test Elisa négatifs et est restée douteuse pour quatre malades qui avaient un test Elisa positif avec un immunoblot douteux ($n = 3$) ou négatif ($n = 1$) et une PCR VHC négative. Par ailleurs, tous les 180 témoins ont eu une sérologie VHC négative dès le test ELISA de dépistage. La prévalence de l'infection à VHC est plus élevée chez les malades nés avant 1985 que chez les malades nés après cette date : 78,1 % (25/32) vs 37,0 % (10/38) (Tableau 1). Aucune infection à VHC n'a été retrouvée chez les malades nés après 1994 ($n = 11$), date d'introduction en Tunisie du dépistage systématique des AcVHC dans les dons de sang.

Tableau 1

Prévalences des marqueurs des infections à VHB, VHC, VIH et ParvoB19 chez les hémophiles tunisiens en fonction de la date de naissance

		Prévalences		
		Nombre positifs/Nombre sérums testés (%)		
		Globales	Chez les sujets nés avant 1985	chez les sujets nés après 1985
VHB	AgHBs (+)/AcHBc (+)	5/70 (7,1 %)	5/32 (15,6 %)	0/38 (0 %)
	AgHBs (-)/AcHBc (+)	32/70 (45,7 %)	18/32 (56,2 %)	14/38 (36,8 %)
	Total VHB (+)	37/70 (52,9 %)	24/32 (75 %)	13/38 (34,2 %)
VHC		35/70 (50,0 %)	25/32 (78,1 %)	10/38 (37,0 %)
VIH		6/70 (8,6 %)	6/32 (18,7 %)	0/38 (0 %)
ParvoB19		64/70 (91,8 %)	30/32 (93,7 %)	34/38 (89,5 %)

Tableau 2

Prévalences des co-infections à VHB, VHC et VIH chez les hémophiles

	Nombre	%
VHB+/VHC+/VIH+	3	4,3
VHB+/VHC+/VIH-	17	24,3
VHB+/VHC-/VIH+	0	-
VHB-/VHC+/VIH+	4	5,7
VHB+/VHC-/VIH-	17	24,3
VHB-/VHC+/VIH-	11	15,7
VHB-/VHC-/VIH+	0	-
VHB-/VHC-/VIH-	18	25,7
TOTAL	70	100

3.3. L'infection par le VIH et le ParvoB19

Six sur les 70 malades (8,6 %) étaient déjà connus VIH positifs avant le démarrage de cette étude, ils, avaient 23 à 35 ans et ont été infectés durant les années 1980 où le traitement était fondé sur les concentrés de facteur VIII importés d'Europe. L'infection à VIH n'a été retrouvée chez aucun des autres malades et chez aucun des témoins sains. La recherche des anticorps anti-ParvoB19 a été positive chez 91,4 % des hémophiles (64/70) et chez 42,8 % (77/180) des contrôles sains, la différence étant statistiquement significative entre ces deux groupes ($p < 10^{-3}$). L'infection est un peu plus fréquente chez les malades nés avant 1985 mais la différence n'est pas statistiquement significative (Tableau 1).

3.4. Les co-infections

VHB/VHC, VHC/VIH et VHB/VHC/VIH ont été retrouvées chez 24,3, 5,7 et 4,3 % des hémophiles, respectivement (Tableau 2). Tous ces malades co-infectés, à l'exception d'un seul VHB+/VHC+, sont également séropositifs pour le parvoB19.

4. Discussion

Les données de la littérature tunisienne, dans la population générale et/ou chez les donneurs de sang, rapportent des prévalences de 5 à 7 % pour l'AgHBs, 37,5 % pour les AcHBc, 0,4 à 0,7 % pour les AcVHC et 65 % pour les anticorps anti-ParvoB19 [10–16]. Le nombre de sujets atteints de VIH/sida est de 1125 en 2003 (Données de la direction des soins de

santé de base). Ces prévalences seraient plus faibles chez les sujets jeunes appartenant aux mêmes tranches d'âges que nos malades, ce qui explique les chiffres plus bas obtenus dans notre groupe témoin. Les prévalences retrouvées chez les hémophiles tunisiens sont largement plus élevées que celles retrouvées chez les témoins sains et celles rapportées dans la population générale. Cela dénote d'un risque accru de contamination évident. La proportion des malades infectés par le VHB et le VHC augmente avec l'âge. Elle est beaucoup plus importante chez les hémophiles nés avant 1985 (Tableau 1), date d'introduction des procédés d'inactivation des concentrés de facteurs de coagulation. Un effet de cumul est également possible : le risque d'infection par des produits de substitution non-inactivés tels que le cryoprécipité et/ou d'origine nosocomiale augmente avec l'âge. L'infection par le VHC est encore plus faible chez les hémophiles nés après 1994, date d'introduction du dépistage systématique du VHC dans le don du sang en Tunisie. Ainsi, le risque résiduel d'infection est devenu très faible aussi bien à travers les concentrés de facteurs importés d'Europe que par les cryoprécipités préparés localement et non viro-inactivés. En revanche, la prévalence des marqueurs du VHB reste encore élevée chez les sujets nés après 1985 en comparaison avec la population témoin (34,2 %) en dépit du dépistage systématique de l'AgHBs chez les donneurs de sang et de la viro-inactivation des concentrés de facteurs. Le dépistage de l'infection à VHB chez les donneurs de sang en Tunisie ne repose que sur la recherche de l'AgHBs et n'inclut pas la recherche des AchBc et le dosage des transaminases ; cela pourrait expliquer, du moins en partie, la persistance de ce risque résiduel d'infection. La vaccination anti-hépatite B, introduite depuis juillet 1995 dans le calendrier vaccinal des nouveau-nés en Tunisie, devrait prochainement résoudre le problème de l'infection à VHB aussi bien chez les hémophiles que chez d'autres catégories de la population tunisienne. D'ailleurs, sur les neuf patients de notre série nés après l'introduction de la vaccination anti-VHB, un seul a des marqueurs d'une infection ancienne à VHB (AgHBs-/AchBc+/AchBs+), ce malade aurait été soit non vacciné, soit vacciné sans développer une réponse immunitaire protectrice, une transmission verticale mère-enfant ne peut également être exclue.

Concernant l'infection par le VIH, six patients (8,6 %) sont séropositifs et ont tous reçu, dans les années 1980, des concentrés de facteurs de coagulation non viro-inactivés. La littérature internationale a déjà rapporté des fréquences élevées (15 à 45 %) de l'infection par le VIH des hémophiles avant l'introduction presque concomitante, en 1985, des procédés d'inactivation et du dépistage des anticorps anti-VIH chez les donneurs du sang [17–19]. Il a été toutefois démontré que ces procédés laissent persister un risque résiduel de contamination ce qui a justifié l'introduction, en Europe occidentale depuis juillet 1999, du dépistage du génome viral du VIH-1 dans les pools de sang destinés à la fabrication des dérivés sanguins [9]. Contrairement au VHB et au VHC, la prévalence beaucoup plus faible de l'infection à VIH en Tunisie explique le fait que l'infection à VIH des hémophiles tuni-

siens soit restreinte à quelques patients qui ont reçu des concentrés de facteurs importés avant l'introduction des procédés d'inactivation.

Pour le Parvovirus B19, les données de la littérature chez les donneurs de sang suggèrent que la séroprévalence augmente avec l'âge ; elle serait de 10 % chez les enfants dans la tranche d'âge comprise entre un et cinq ans, autour de 40 % chez l'adulte âgé de 20 à 30 ans et de 60 à 65 % chez les sujets de plus de 30 ans [15,20]. Ainsi, la prévalence que nous avons retrouvée dans notre population témoin, plus jeune que les donneurs de sang, est de 42,8 %, mais assez élevée par rapport à ce qui a été rapporté en Europe dans des tranches d'âge analogues. Ces résultats confirment encore la forte prévalence de l'infection dans la population générale tunisienne et suggèrent une transmission précoce au courant de la vie. La prévalence retrouvée chez les hémophiles (91,8 %) est significativement plus élevée que chez les témoins quel que soit l'âge ce qui indique un risque augmenté pour cette infection d'autant plus qu'aucun dépistage spécifique n'est fait pour les dons de sang et que les procédés d'inactivation sont peu efficaces vis-à-vis des virus nus [21]. Nos résultats ne montrent d'ailleurs aucune différence statistiquement significative entre les malades nés avant 1985 et ceux nés après cette date (93,7 et 89,5 %, respectivement).

Enfin nous avons retrouvé des prévalences de co-infection VHB/VHC, VHC/VIH et VHB/VHC/VIH de 5,7, 24,3 et 4,3 %, respectivement. Ces co-infections sont surtout observées dans le cas d'hémophilie sévère. Il a été suggéré que la co-infection VHB/VHC aurait un effet protecteur contre l'hépatite chronique suite à un effet d'interférence entre les deux virus [22]. En revanche, la co-infection VHC/VIH aggraverait le pronostic des deux infections dans les deux sens. L'infection par le VHC des sujets VIH positifs diminuerait le taux de survie de ces malades [23–25] ; le VIH contribuerait à une réactivation de la réplication du VHC, à l'aggravation de l'hépatite avec diversification des génotypes [24,25].

En conclusion, nos résultats montrent que l'infection par le VHB, le VHC, le VIH et le ParvoB19 est nettement plus élevée chez les hémophiles que dans la population générale. Le risque d'infection par le VHC et le VIH à travers les cryoprécipités fabriqués localement et/ou les facteurs de coagulation importés aurait été significativement réduit avec l'introduction du dépistage de ces infections chez les donneurs de sang en Tunisie et les procédés d'inactivation virale des facteurs de coagulation. En revanche, pour le VHB et le ParvoB19, la prévalence de l'infection reste encore importante. Cela est attendu pour le ParvoB19 vu la fréquence de l'infection en Tunisie, l'absence de dépistage chez les donneurs de sang et l'efficacité limitée des procédés d'inactivation virale sur les virus nus. En revanche, pour le VHB, la persistance d'un risque élevé de contamination est inquiétante. Il est probable que la plupart des malades infectés après 1985 l'aient été à partir des cryoprécipités préparés à partir de donneurs tunisiens lesquels ne subissent pas d'inactivation virale et que le dépistage de l'AgHBs uniquement ne permet pas d'écartier tous les dons de sang potentiellement infectieux. La vaccina-

tion systématique des nouveau-nés contre le VHB, introduite en Tunisie depuis 1995, devrait à terme protéger les hémophiles contre la transmission de l'infection.

Remerciements

Ce travail a été financé par le Ministère de la recherche scientifique de la technologie et de développement des compétences en Tunisie (projet UR/03/02).

Références

- [1] Leroy J, Guérois C. In: Albert N, Veroly E, Poltron G, Isnard F, editors. *L'hémophilie*. Hématologie Tome II. Editions: Ellipses; 1994.
- [2] Sultan Y, Négrier C. In: Sampol J, Arnoux D, Boutière B, editors. *Hémophilie*. Manuel d'hémostase. Edition: Collection Option Bio Diagnostica Stago; 1995.
- [3] Zitoun R, Samama MM, Marie JP. *Maladies de la coagulation*. Manuel d'hématologie. Edition: Doin; 1992.
- [4] Négrier C. Le traitement de l'hémophilie: des dérivés du plasma à la thérapie génique. *Hématologie* 1996;2:17–27.
- [5] Mauser-Burschoten EP, Zaaijer HL, van Drimmelen AA, de Vries S, Roosendaal G, van den Berg HM, et al. High prevalence of parvovirus B19 IgG antibodies among Dutch hemophilia patients. *Vox Sang* 1999;77(2):225–7.
- [6] Mortimer PP, Luban NL, Kelleher JF, Cohen B. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting factor concentrates. *Lancet* 1983;2:482–4.
- [7] Siegl G, Cassinotti P. Presence and significance of parvovirus B19 in blood and blood products. *Biologicals* 1998;26:89–94.
- [8] Yee TT, Cohen BJ, Pasi K, Lee CA. Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by clotting factor concentrate. *British journal of Haematology* 1996;93:457–9.
- [9] Yang Y, Lamendola MH, Mendoza M, Xu D, Nguyen M, Yeh S, et al. Performance characteristics of the Cobas AmpliScreen HIV-1 test, version 1.5, an assay designed for screening plasma mini-pools. *Transfusion* 2001;41:643–51.
- [10] Gorgi Y, Ahed K, Jenhani F, Pichoud C, Trepo C. Prévalence des marqueurs du virus de l'hépatite B dans la région de Tataouine (Sud Tunisien). *Archs Inst Pasteur Tunis* 1989;66(3-4):251–61.
- [11] Gorgi Y, Yalaoui S, Ben Nejma HL, Azzouz MM, Hsairi M, Ben Khalifa H, et al. 51. Dépistage de l'hépatite virale C dans la population générale en Tunisie. *Bull Soc Path Ex* 1998;91(2):177.
- [12] Houissa R, Gharbi Y, Coursaget P, El Goulli N. Epidémiologie de l'hépatite B en Tunisie. *Archs. Inst. Pasteur de Tunis* 1988;65(1-2): 53–8.
- [13] Triki H. Épidémiologie des virus des hépatites B, C et delta dans la population générale et les cirrhoses hépatiques en Tunisie. *Archs Inst Pasteur Tunis* 1994;71(3-4):403–6.
- [14] Triki H, Said N, Ben Salah A, Arrouji A, Ben Ahmed F, Bouguerra A, et al. Seroepidemiology of hepatitis B, C and delta viruses in Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997;91:11–4.
- [15] Letaief M, Vanham G, Boukef K, Yacoub S, Muylle L, Mertens G. Higher prevalence of Parvovirus B19 in Belgian as compared to Tunisians Blood Donors: Differential Implications for Prevention of Transfusional Transmission. *Transfus Sci* 1997;18(4):523–30.
- [16] Abdelkefi B, Hatira S, Yacoub-Jemni S, Houissa B, Kaabi H, Zaier M, Kortas M, et al. Les anti-VHC chez 34130 donneurs de sang du Sahel Tunisien. *La Tunisie Médicale* 2000;78(2):101–5.
- [17] Carneiro-Proietti AB, Lima-Martins MV, Passos VM, Carmo RA, Pinheiro SR, Rocha PR, et al. Presence of human immunodeficiency virus (HIV) and T-lymphotropic virus type I and II (HTLV-I/II) in a haemophilic population in Belo Horizonte, Brazil, and correlation with additional serological results. *Haemophilia* 1998;4(1):47–50.
- [18] Ghirardini A, Schninaia N, Chiarotti F, De Biaisi R, Rodeghiero F, Binkin N. Epidemiology of hemophilia and of HIV infection in Italy. *J Clin Epidemiol* 1994;47(11):1297–306.
- [19] Ragni MV, Winkelstein A, Kingsley L, Spero JA, Lewis JH. 1986 update of HIV seroprevalence, seroconversion, AIDS incidence, and immunologic correlates of HIV infection in patients with hemophilia A and B. *Blood* 1987;70(3):786–90.
- [20] Leruez M, Morinet F. Parvovirus B19. Editions: *Techniques-Encycl Méd Chir (Paris-France), Maladies infectieuses* : 8-0501-I-10; 1994.
- [21] Lefrère JJ, Mariotti M, Thauvin M. B19 parvovirus DNA in solvent/detergent-treated anti-haemophilia concentrates. *Lancet* 1994;343(8900):211–2.
- [22] Darby SC, Ewart DW, Giangrande PL, Spooner RJ, Rizza CR, Dush-eiko GM. Mortality from liver cancer and liver disease in hemophilic men and boys in UK given blood products contaminated with hepatitis C. *Lancet* 1997;350:1425–31.
- [23] Daar ES, Lynn H, Donfield S, Gomperts E, Hilgartner MW, Hoots WK, et al. Relation between HIV-1 and hepatitis C viral load in patients with hemophilia. *J Acqui Immune Defic Syndr* 2001;26(5): 466–72.
- [24] Hisada M, O'Brien TR, Rosenberg PS, Goedert JJ. Virus load and risk of heterosexual transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus by men with hemophilia. *J Infect Dis* 2000;181(4): 1475–8.
- [25] Sabin AC, Telfer P, Philips AN, Bhagani S, Lee CA. The association between hepatitis C virus genotype and human immunodeficiency virus disease progression in a cohort of hemophilic men. *J Infect Dis* 1997;175:164–8.