



PREVALENCE ET FACTEURS DE RISQUE DE PORTAGE DE L'AG HBS ET DES ANTICORPS ANTI VIRUS DE L'HEPATITE C CHEZ DES PATIENTS TRAITES POUR SIDA A COME. COINFECTION HEPATITES ET VIH A COME

SEHONOU J¹, ZANNOU DM¹, AZON KOUANOU A¹, ADÉ G¹, MIKPONHOUE R², BIGOT A², HOUNGBE F¹.

¹Service de Médecine Interne et d'Oncologie Médicale

²Service d'Immunologie

Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga de Cotonou.

Faculté des Sciences de la Santé. Cotonou. Bénin.

CORRESPONDANCE : Jean SEHONOU 01 BP 517 Cotonou BENIN jsehonou@yahoo.fr Tel + 229 90924508.

RESUME

La fréquence élevée de l'infection par les virus hépatotropes favorise l'hépatotoxicité des antirétroviraux et la survenue précoce de cirrhose et de carcinomes hépatocellulaires chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

BUT : Le but de la présente étude était de déterminer la prévalence et les facteurs de risque du portage de l'antigène HBs et des anticorps du VHC chez les patients vivant avec le VIH.

MATERIEL ET METHODES. Cette étude transversale était menée de Mars à Juillet 2008 à l'Hôpital de Zone de Comè (Sud Ouest du Bénin). Etaient inclus tous les 150 patients traités par antirétroviraux pour SIDA dans cet hôpital. La recherche de l'antigène HBs et des anticorps anti virus de l'hépatite C était faite par la méthode ELISA de 3^{ème} génération.

RESULTATS : Dix sept patients (11,3%) portaient l'antigène HBs. Les facteurs associés à ce portage étaient l'âge inférieur à 31 ans ($p=0,02$), et la profession d'agriculteur ou d'artisan ($p=0,03$). Les anticorps du VHC étaient présents chez 21/150 patients (14%). Les facteurs associés au portage étaient le sexe masculin (71,4% ; $p=0,007$), l'âge supérieur à 31 ans (100% ; $p=0,01$), le multi partenariat sexuel (71,4% $p=0,0001$), les transfusions sanguines (14,3% $p=0,002$) et les scarifications (23,8% ; $p=0,03$). Un seul patient avait l'antigène HBs et les anticorps anti VHC.

CONCLUSION. La prévalence du portage des anticorps anti VHC chez les patients infectés par le VIH à Comè (14%) est quatre fois plus élevée qu'à Cotonou (3%). Cela incite à réaliser une étude à plus grande échelle au niveau national.

Mots-clés : Co-infection, VIH, hépatites, Benin

ABSTRACT

Viral Hepatitis and HIV Coinfection is common. It promotes hepatotoxicity and early cirrhosis among these patients.

PURPOSE. The purpose of this study is to evaluate the prevalence of the portage of the HBs Antigen and HCV antibody among patients living with HIV.

MATERIAL AND METHODS. This cross-sectional study was conducted from March to July 2008 in the Hospital of Comè (South West of Benin). Were included all the 150 patients treated for AIDS in this hospital. The research of the HBs Antigen and antibodies anti hepatitis C virus was made with the 3rd Generation ELISA method.

RESULTS. Seventeen patients (11.3%) had Antigen HBs. Were associated to the portage of HBs antigen, male sex (64% ; $p = 0.07$), age less than 31 years ($p = 0.02$), the profession of farmers or craftsman ($p = 0.03$), history of blood transfusion (23.5%, $p = 0.06$), of scarification (41.2%; $p = 0.77$) and multisexual partnership (47,05% $p = 0.28$). HCV antibodies were positive in 21/150 patients (14%). Were associated with the porting of the antibodies to HCV, male sex (71.4% $p = 0.007$), age over than 31 years, multisexual partnership (71.4% ; $p = 0.0001$), blood transfusions (14.3% $p = 0.002$) and scarification (23.8% $p = 0.03$). A single patient had both the HBs Antigen and anti HCV antibodies. **FINDING.** The high incidence of antibodies to HCV holders requires complementary investigations; the role of the scarification and blood transfusions may be better clarified.

Key Words: HIV/ HVB/ HCV co infection, Hepatitis, scarification, Republic of Benin

INTRODUCTION

Les co-infections Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) et Virus des Hépatites B (VHB) et C (VHC) sont fréquentes, ces trois virus partageant des modes de transmission communs [1]. L'infection à VIH aggrave le pronostic de la maladie hépatique liée au VHC et au VHB[2,3]. Depuis

l'utilisation d'associations antirétrovirales puissantes dans le traitement l'infection à VIH, la durée de vie des patients s'est allongée. La morbidité et la mortalité liées au VHB et VHC deviennent dès lors des facteurs essentiels à prendre en compte dans la prise en charge des personnes infectées par le VIH[4]. Au Bénin deux études sur les coinfections ont été réalisées. La première portait sur la séro-prévalence des anticorps anti VHC ; cette séroprévalence s'élevait à 3% (3 cas parmi 101 patients chez des patients suivis à l'Hôpital d'Instruction des Armées de Cotonou [5]. La seconde recherchait l'Antigène HBs chez 250 patients suivis au Centre de Traitement Ambulatoire du Centre National Hospitalier et Universitaire de Cotonou : elle avait trouvé une séroprévalence de l'antigène HBs de 11,21% (23 cas chez 205 patients)[6]. Ces deux études étaient faites à Cotonou. Dans le but d'apprécier si la prévalence du portage des marqueurs d'hépatite virale est la même dans d'autres régions du Bénin, la présente étude était conduite. Ses objectifs étaient de déterminer la prévalence et les facteurs de risque du portage de l'antigène HBs et des anticorps du VHC chez les patients vivant avec le VIH à Comè, au Sud Ouest du Bénin.

PATIENTS ET METHODES

Cadre. L'étude s'était déroulée du 15 Mars au 15 Juillet 2008 à l'Hôpital de Zone de la ville de Comè. Cette ville carrefour du département du Mono est située sur un axe routier à haut risque d'infection par le VIH (Corridor Abidjan - Lagos.)

La prévalence de l'infection par le VIH dans le Mono était passée de 0,5% en 2007 (contre 1,8% au niveau national) , à 3,2%(contre 2% au niveau national) en 2009. Cette augmentation de fréquence est plus marquée dans les zones rurales que dans les zones urbaines de ce département (0% en 2007 contre 3% en 2009). Les raisons de ces changements épidémiologiques ne sont pas encore élucidées[9].

Patients. La population d'étude était constituée de patients infectés par le VIH ; suivis sur le site de l'hôpital de zone de Comè ; Etaient inclus dans l'étude, ceux qui répondaient aux critères définis ci-après : être âgé de plus de 18 ans , être sous traitement antirétroviral depuis au moins 6 mois et avoir donné son consentement pour participer à l'étude.

Méthodes. Il s'agissait d'une étude transversale descriptive et analytique. Pour chaque

patient, il était fait un examen clinique et des examens complémentaires; les données de l'interrogatoire, de l'examen physique, des examens para cliniques étaient recueillies sur une fiche d'enquête.

L'exploration biologique comportait pour chaque patient :

- le dosage de l'activité des aminotransférases (ALAT et ASAT) par la méthode cinétique
- la recherche de l'antigène HBs et des anticorps antiVHC par l'AxSYM Abbott® selon méthode immuno enzymatique micro-particulaire.

Variables étudiées. Les variables dépendantes étaient la présence de l'antigène HBs, la présence des anticorps anti VHC. Les variables indépendantes étaient l'âge, le sexe, les antécédents de transfusion sanguine, de scarification, et la pratique du multi partenariat sexuel.

Méthode de traitement de texte et d'analyse de données. Les données collectées ont été codifiées, saisies et analysées dans le logiciel Epi info 3.4.3. Le test statistique utilisé est le khi carré de Pearson pour les comparaisons (avec un risque $p < 0,05$).

RESULTATS

Caractéristiques sociodémographiques de la population étudiée

Cent cinquante patients répondaient aux critères d'inclusion. Des 150 patients, 82 (55%) étaient des femmes ; le sex ratio H/F était de 0,80. L'âge moyen de la population d'étude était de 38,12±8ans [extrêmes 19-62ans]

Prévalence de l'antigène HBs

L'antigène HBs était positif chez 17 patients soit 11,3%. Chez les porteurs de l'Ag HBs, le sex ratio H/F était de 11/6 soit 1,83 ; l'âge moyen était de 37±8ans (extrêmes 25-62 ans). Les facteurs associés au portage de l'antigène HBs sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Statut Ag HBs des patients selon caractéristiques sociodémographiques et les facteurs de risque.

	HIV	Ag HBs Positif = 17	Ag HBs Négatif=133	P
Sexe				
F	83	6	77	0,07
M	67	11	56	
Age (ans)				
≤30	13	4	9	0,02
31-49	124	12	112	
≥50	13	1	12	
Statut matrimonial				0,07
Vivant seul	56	3	53	
Vivant maritalement	94	14	80	
Résidence				
Urbaine	91	11	80	0,71
Rurale	59	6	53	
Profession				0,03
Ménagères	18	0	18	
Artisans/Agriculteurs	70	12	58	
Commerçants/Profession libérale	48	2	46	
Fonctionnaires	14	3	11	
Facteurs de risque				
Transfusion sanguine	16	4	12	0,08
	134	13	121	
Scarification	67	7	60	0,75
	83	10	73	
	4			
Endoscopie digestive	146	0	4	0,46
		17	129	
	1			
Acupuncture	149	0	1	0,71
		17	132	
	53			
Multipartenariat sexuel	97	8	47	0,28
		9	86	
	0			
Vaccination	150	0	0	
		17	133	

Prévalence des anticorps anti VHC dans la population étudiée.

Les anticorps anti VHC étaient présents chez 21 patients soit 14%. Le sex ratio était de 2,5 (15/6). L'âge moyen était de 39,2±5 (extrêmes 32-49ans).

Les facteurs associés au portage des anticorps anti VHC sont rapportés dans le tableau II.

Tableau II : Statut anticorps anti VHC des patients selon les caractéristiques sociodémographiques et les facteurs de risque.

	Anticorps anti HVC Positifs N=21	Anticorps anti HVC Négatifs N=129	P
Sexe			
Féminin	6	77	0,007
Masculin	15	52	
Tranches d'âge (ans)			0,01
≤30	0	27	
31-40	15	62	
≥41	6	40	
Situation matrimoniale			0,37
Vivant seul	15	79	
Vivant maritalement	6	50	
Résidence			
Urbaine	12	79	0,72
Rurale	9	50	
Profession			0,83
Ménagère	2	16	
Artisans/Agriculteurs Com- merçants/Profession libérale	12	58	
Fonctionnaires	6	42	
	3	11	
Facteurs de risques			
Transfusion sanguine	3	13	1,49
	147	8	
Scarification	5	62	0,03
	16	67	
Endoscopie digestive	0	4	
	21	12	0,41
Acupuncture	0	5	
	21	1	0,68
		128	
Multi partenariat sexuel	15	38	0,0001
	6	91	

Prévalence de la triple co infection VIH VHB VHC

Un patient (0,07%) portait à la fois l'antigène HBs et les anticorps anti VHC. Il s'agissait d'un homme de 37 ans, commerçant, marié, pratiquant le multi partenariat sexuel qui avait des antécédents de transfusion sanguine.

DISCUSSION

Cette étude avait pour buts d'évaluer la prévalence du portage de l'antigène HBs et des anticorps anti VHC chez des patients infectés par le VIH dans une ville du Sud Ouest du Bénin. La prévalence était de 11,3% pour l'AgHBs, 14% pour les anticorps anti VHC et de 0,07% pour le triple portage VHB, VHC VIH.

La co infection par le VIH/VHB.

Prévalence globale : Elle est comparable aux 11,21% trouvés chez les mêmes types de patients à Cotonou[6]. La co infection VIH/VHB est plus importante que la mono infection par le VHB au Bénin (5,2-8,3%) dans la population générale au Bénin[8]

Cette prévalence est plus faible que celles rapportées au Sénégal (16,8%) en 2008 par

Diop-Ndiaye et al.[9], au Mali en 2009 (25,3%) par Tounkara et al [10]. Elle est cependant plus élevée que les 9% décrits par Rouet et al. en Cote d'Ivoire en 2004 [11]. Elle est comparable à celle rapportée par Simporé et al (2005) au Burkina Faso (11,6%)[12], et se situe dans la moyenne africaine qui est de 12,1% (3,9-70,3%) [13].

Facteurs associés à la coinfection VIH/VHB.

Parmi les facteurs étudiés, l'âge inférieur à 31ans, et le statut de fonctionnaire étaient liés à un risque plus accru de co infection (p=0,02 et 0,03 respectivement).

Ce n'était pas le cas pour le sexe, les antécédents de transfusion sanguine, les scarifications et le multipartenariat sexuel trouvé dans d'autres études.

Nos résultats confortent les données déjà rapportées dans la littérature : En Afrique, l'infection par le virus de l'hépatite B survient généralement au cours des cinq premières années de vie à travers les contacts étroits de la vie quotidienne, les scarifications traditionnelles, les soins médicaux invasifs, et par des méthodes non encore élucidées [14].

L'âge à l'infection, s'il n'est pas le seul facteur influant sur le passage à la chronicité, joue toutefois un rôle majeur. Ainsi, il est couramment admis que lors d'une infection périnatale, le taux de passage est d'environ 90 %, (restant très élevé jusqu'à 25-30 % lorsque l'infection survient dans les premières années de vie) pour, après l'âge de 5 ans diminuer et devenir inférieur à 5% à l'âge adulte[18].

Tout se passe comme si l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine venait surinfecter une infection préexistante par le virus de l'hépatite B.

Par ailleurs, le risque de coinfection est plus grand chez les agriculteurs et les artisans ; ils vivent préférentiellement dans les zones rurales. C'est dans ces zones rurales que sont décrites les récentes augmentations de la prévalence de l'infection par le VIH entre 2007 et 2009. Les raisons de ces changements épidémiologiques sont pour le moment méconnues [7].

Prévalence des anticorps anti VHC chez les patients infectés par le VIH.

Prévalence globale

Elle est comparable aux 12,1% rapportés par Simporé et al en 2005 au Burkina Faso[12] , et aux 15,8% décrits par Rodrigues au Mozambique en 2008 [16]. Cette prévalence est plus basse que celle rapportée au Nigéria (18,3%) en 2007 par Forbi et al[17], plus élevée que celle rapportée par Diop et al au Sénégal (8%) en 2008[9].

Elle est plus élevée que la moyenne africaine 7%[13] et les 3% trouvés à Cotonou au Bénin en 2003[5]. Les raisons pour lesquelles la prévalence du portage des anticorps anti VHC est élevée dans cette étude ne sont pas encore connues.

Facteurs associés

Parmi les facteurs associés au portage des anticorps anti VHC figuraient le sexe masculin, l'âge supérieur à 31 ans, les antécédents de scarification et le multipartenariat sexuel. La fréquence élevée des anticorps anti VHC chez les sujets de sexe masculin est conforme aux

données de la littérature. Elle est en partie liée à des facteurs hormonaux : Selon White[18] , un taux élevé de testostérone serait associé à un risque élevé de maladies hépatiques liées au virus de l'hépatite C. Un rôle protecteur des hormones féminines est aussi évoqué[19]. Les scarifications ont été considérées comme mode de transmission nosocomiale non transfusionnelle dans l'infection par le VHC aussi bien aux Etats-Unis d'Amérique (Murphy et al., 2000), en Asie[20] qu'en Afrique [21]

Toutefois le mécanisme intime de cette transmission est non élucidé. Avec les campagnes de prévention sur l'infection par le VIH/SIDA, les guérisseurs traditionnels et les patients utilisent de moins en moins les mêmes lames et couteaux pour faire leurs scarifications. Par ailleurs, les séances ne se font pas en groupe.

Une des hypothèses, par analogie aux modes de transmission en hémodialyse de l'hépatite C est la transmission croisée : portage de l'ARN du VHC sur les mains du guérisseur, dispersion de sang contaminé dans l'environnement direct du patient [22] et surtout partage du dispositif contenant les poudres : on sait que le partage de dispositifs comme les flacons multi doses est un facteur de risque de transmission de l'infection par le VHC[23]. Des investigations complémentaires sont nécessaires pour vérifier ces notions. Le multi partenariat sexuel constitue un important facteur de risque.

Par rapport aux sujets ayant un seul partenaire sexuel, les patients ayant plus de 4 partenaires sexuels ont 14 fois plus de risque de contacter le VHC ; ce risque tombe à 3 fois si le nombre de partenaires sexuels est de 2 ou 3. [24]

Au delà de la transmission sexuelle, sont déterminants le fait de vivre sous le même toit, de partager les effets de toilette comme les lames de rasoir, les brosses à dents les coupe ongles. [25] . Ici non plus les mécanismes intimes de la transmission ne sont pas clarifiés . Le risque de transmission intrafamiliale augmente avec le nombre de partenaires sexuels.

Prévalence de l'antigène HBs et des anticorps anti VHC .

Un patient (0,07%) porte à la fois l'antigène HBs et les anticorps anti VHC. Cette faible prévalence de la triple infection VIH VHB VHC a été aussi rapportée au Kenya (1/378 patients) [26], au Nigéria (1/721 femmes enceintes) par Adesina O[27] à Ibadan et 13/180 au Centre Nord du Nigéria par Forbi et al en 2007[17]

CONCLUSION

La fréquence élevée des porteurs d'anticorps anti VHC nécessite que des études ultérieures à visée épidémiologique, diagnostique et thérapeutiques soient réalisées pour mieux comprendre les mécanismes et mieux traiter ces patients à haut risque d'hépatotoxicité de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire.

REMERCIEMENTS. Les auteurs remercient le personnel de l'Hôpital de Zone de Comè et les patients ayant participé à l'étude pour leur collaboration.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Larsen C., Pialoux G., Salmon D., Antona D., Piroth L., Le Strat et col.Y., « Prévalence des co-infections par les virus des hépatites B et C dans la population VIH+, France, juin 2004 », *BEH* 2005, 23/2005
- 2- Couzigou C, Semaille C, Le Strat Y, Pinget R, Pillonel J, Lot F, Cazein F, Vittecoq D, Desenclos JC; Aids Survival Study Group. Differential improvement in survival among patients with AIDS after the introduction of HAART. *AIDS Care*. 2007 ;19(4):523-31.
- 3- Fordyce EJ, Singh TP, Nash D, Gallagher B, Forlenza S. Survival rates in NYC in the era of combination ART. *J.Acquir.Immune.Defic.Syindr* 2002.; 30:111-8.
- 4- Semaille C, Lot F. Epidémiologie de l'infection à VIH dans le monde et en France. *Rev Prat*. 2006 May 15;56(9):944-52.
- 5- -Sehonou J, Kodjoh N, I. S. Sama I S, et Atadokpédé F. Prévalence des anticorps antiviral de l'hépatite C chez des patients porteurs de sida sous traitement à Cotonou. *Journal Africain d'Hépatito-Gastroentérologie* 2007 ; 2(4) : 163-6.
- 6- Sehonou J, Fiogbe AA, Zannou DM, Bashi J, Houngré F, Kodjoh N.(2010). *Rev. CAMES - Série A* ;10 : 85-9.
- 7- Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique République du Benin. Ministère de la Prospective , du Développement de l'évaluation des Politiques et de la Coordination de l'Action Gouvernementale.. *Tableau de Bord Social 2009.(2010) . Profils socio-économiques et indicateurs de développement Cotonou, page 116.*
- 8- Ade G, Bigot A, Sehonou J, Lafia E, Laguide R, Anani L, Latoundji S, Kodjoh N. Prévalence des marqueurs sérologiques des virus des hépatites B et C chez les donneurs de sang à Cotonou. *Le Bénin Médical* 2005; (29) 74-6.
- 9- Diop-Ndiaye H, Toure-Kane C, Etard JF, Lo G, Diaw P, Ngom-Gueye NF, et al. Hepatitis B, C seroprevalence and delta viruses in HIV-1 Senegalese patients at HAART initiation (retrospective study). *J Med Virol* 2008;80:1332-6.
- 10- Tounkara A, Sarro YS, Kristensen S, Dao S, Diallo H, Diarra B, et al. Seroprevalence of HIV/HBV coinfection in Malian blood donors. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)* 2009;8:47-51.
- 11- Rouet F , Chaix ML, Inwoley A, Msellati P, Viho I, Combe P, et al. HBV and HCV prevalence and viraemia in HIV-positive and HIV-negative pregnant women in Abidjan, Cote d'Ivoire: the ANRS 1236 study. *J Med Virol* 2004;74:34-40.
- 12- Simpore J, Ilboudo D, Samandoulougou A, Guardo P, Castronovo P, Musumeci S. HCV and HIV co-infection in pregnant women attending St. Camille Medical Centre in Ouagadougou (Burkina Faso). *J Med Virol* 2005;75:209-12.
- 13- Barth RE, Huijgen Q, Taljaard J, Hoepelman AI. Hepatitis B/C and HIV in sub-Saharan Africa: an association between highly prevalent infectious diseases. A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2010.;14(12): 1024-31.
- 14- Alter MJ. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol*; 2003; 39: S64-S69.
- 15- Hyams KC. 1995. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection : a review. *Clin Infect Dis*. 1995; 20:992- 1000.
- 16- Rodrigues Mda, C Viotti JB, Braga RF, Lourenco LF, Antunes CM, Lambertucci JR. . HIV/HCV coinfection in infectious disease units in Mozambique and Brazil: a comparative study. *Rev Soc Bras Med Trop*2008;41:518.
- 17- Forbi JC, Gabadi S, Alabi R, Iperepolu HO, Pam CR, Entonu PE, et al.The role of triple infection with hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus (HIV) type-1 on CD4+ lymphocyte levels in the highly HIV infected population of North-Central Nigeria. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007;102:535-7.,
- 18- Whittle H, Inskip H, Bradley AK et al. The pattern of childhood hepatitis B infection in two Gambian villages . *J infect Dis*. 1990; 161: 1112-15.

- 19- Poynard T, Bedossa P, Opollon For The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C infection. *Lancet*. 1997;349: 825-32.
- 20- Chandra M, Khaja MN, Farees N, Poduri CD, Hussain MM, Aejaz Habeeb M, et al Prevalence, risk factors and genotype distribution of HCV and HBV infection in the tribal population: a community based study in south India. *Trop Gastroenterol*. 2003 ; 24(4):193-5.
- 21- Adewole OO, Anteyi E, Ajuwon Z, Wada I, Elegba F, Ahmed P, et al. Hepatitis B and C virus co-infection in Nigerian patients with HIV infection. *J Infect Dev Ctries*. 2009;1;3(5):369-75.
- 22- Jayasekera H (2001) Hepatitis C virus : overview of clinical and technical perspectives. *Edtna Erca J*. 2001; 27 : 125-8.
- 23- Kobuko S, Horii T, Yonekawa O, Ozawa N, Mukaide M.(2002)A phylogenetic-tree analysis elucidating nosocomial transmission of hepatitis C virus in a haemodialysis unit. *J Viral Hepat* 2002; 9 : 450-4.
- 24- Salleras L, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Domínguez A, Salleras M, Navas E, Galí N. Importance of sexual transmission of hepatitis C virus in seropositive pregnant women: a case-control study. *J Med Virol*. 1997 ;52(2):164-7.
- 25- Cavalheiro NP. Sexual transmission of Hepatitis C . *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2007; 49(5):271-7.
- 26- Harania RS, Karuru J, Nelson M, Stebbing J. HIV, hepatitis B and hepatitis C coinfection in Kenya. *AIDS*.2008;22(10):1221-2.,
- 27- Adesina O, Oladokun A, Akinyemi O, Adedokun B, Awolude O, Odaibo G, Olaleye D, Adewole I. Human immuno-deficiency virus and hepatitis B virus coinfection in pregnancy at the University College Hospital, Ibadan. *Afr J Med Med Sci*. 2010 ;39(4):305-10.