



## PREVALENCE DE LA CO-INFECTION TUBERCULOSE ET VIH A BANGUI (REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE)

MOSSORO-KPINDE CD<sup>1\*</sup>, KOSH KOMBA J<sup>2</sup>, SALOU M<sup>3</sup>, MOSSORO-KPINDE H D<sup>4</sup>, KOBANGUE L<sup>5</sup>, KOSSI-MAZOUKA A<sup>6</sup>, TEKPA G<sup>7</sup>, IZAMO B<sup>8</sup>, ENAMRA D<sup>9</sup>, KOFFI B<sup>10</sup>, BOBOSSI SERENGBE G<sup>11</sup>.

1. Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique ; Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 2. Complexe Pédiatrique de Bangui. 3. Laboratoire de Biologie moléculaire et d'Immunologie / Faculté des sciences de la santé /université de Lomé-Togo 4. Département de Santé Publique à la Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 5. Centre National Hospitalier Universitaire de Bangui, Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 6. Hôpital Communautaire de Bangui, Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 7. Hôpital Communautaire de Bangui, Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 8. Hôpital Communautaire de Bangui, Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 9. Hôpital Communautaire de Bangui. 10. Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui. 11. Complexe Pédiatrique de Bangui ; Faculté des Sciences de la Santé, Université de Bangui.

**Site de l'étude** : Service de Cardiologie et de Médecine Interne de l'Hôpital Communautaire de Bangui.

**Correspondant** : Docteur MOSSORO-KPINDE Christian Diamant, Médecin Biologiste, Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique. Tél. : +236 75 05 36 16. ; Messagerie : [mossoro\\_kpinde@yahoo.fr](mailto:mossoro_kpinde@yahoo.fr)

### RESUME

La co-infection Tuberculose-VIH est très fréquente dans les pays très affectés par le VIH. En Centrafrique, le dépistage de l'infection à VIH n'est pas systématique chez les tuberculeux. L'objectif de cette étude était d'estimer la prévalence de la co-infection VIH-tuberculose en milieu hospitalier à Bangui. Il s'agit d'une étude cohorte prospective qui a inclus les patients adultes chez qui le diagnostic de la tuberculose a été posé et ayant consenti à participer à l'étude qui s'est déroulée sur 12 mois. Ils étaient hospitalisés dans le service de Médecine interne de l'Hôpital Communautaire de Bangui. Une sérologie VIH leur était proposée en plus des analyses réalisées pour le diagnostic de la tuberculose. La prévalence de la co-infection VIH-tuberculose était de IC 95% [73,9%+/-6,8%] 73,9% sur un total de 161 malades. L'âge moyen des 161 malades était de 39 ans. Le sex ratio (H/F) de 0,82. La tuberculose pulmonaire était la forme clinique dominante (62,7%). La proportion d'anciens tuberculeux était de 36,6% dont 25 cas (42,4%) n'avaient pas terminé leurs traitements antituberculeux antérieurs. La bacilloscopie était positive chez 36% des patients, toutes formes de tuberculose et chez 57,4% des cas de tuberculose pulmonaire. A l'issue du traitement, 46,6% des malades étaient guéris. Quarante vingt un TB/VIH+ (68,1%) étaient par la suite traités par les antirétroviraux de 1<sup>ère</sup> ligne (80,2%) et de 2<sup>ème</sup> ligne (19,8%). Cette étude a montré une prévalence de la co-infection TB/VIH très élevée et une proportion de guérison faible par rapport aux sujets mono-infectés TB. La surveillance du traitement antituberculeux doit être renforcée. La prise en charge de la tuberculose doit tenir compte du statut sérologique VIH du patient et inversement.

**Mots-clés** : Tuberculose, VIH, SIDA, Co-infection.

### ABSTRACT

Tuberculosis and HIV co-infection prevalence in Bangui (Central African Republic)  
The HIV-Tuberculosis coinfection is very frequent in countries very affected by the HIV. The treatment of the tuberculosis is decentralized in the Central African Republic and does not consider the HIV serostatus of the patients. The aim of this study was to estimate the incidence of the HIV-Tuberculosis co-infection in hospitalized patients in Bangui. It was the prospective study which took place during 12 months in the service of internal Medicine of Hôpital Communautaire de Bangui. The participants were adults hospitalized for tuberculosis and willing. A HIV serology was proposed to them besides analyses realized for the diagnosis of the tuberculosis. The incidence of the HIV-Tuberculosis coinfection was 73.9% on a total of 161 patients. The average age was of 39 years. The sex ratio (H/F) of 0.82. The pulmonary tuberculosis was dominant (62.7%). The proportion of previous tubercular was 36.6% among which 25 cases (42.4%) had not ended their previous treatments. The bacilloscopy was positive at 36% of the patients and 57.4% of the cases of pulmonary tuberculosis. At the end of the treatment, 46.6% of the patients were cured. Eighty one TBVIH + (68.1%) was afterward treated by antiretroviral therapy. The treatments of 1st and 2nd lines were administered to respectively 80.2% and 19.8% of them. The incidence of the coinfection TBVIH was high. This high association is certainly related to the high prevalency of HIV infection in Centrafrique. But the proportion of cure remained low and the monitoring of the antituberculous treatment must be strengthened. The care of the tuberculosis has to take considering the HIV serostatus of the patient and conversely.

**Keywords**: tuberculosis, HIV, AIDS, Co-infection.

## INTRODUCTION

La tuberculose est une endémie mondiale dont l'incidence chaque année est environ 10 millions de nouveaux cas et 1 à 3 millions de décès [1-4]. Elle touche les populations pauvres et marginalisées des pays en voie de développement qui constituent 95% des cas et 98% des décès [1-4]. Ceci est lié à l'épidémie du VIH/SIDA [3]. Une personne à la fois porteuse du VIH et de *Mycobacterium tuberculosis* présente un risque annuel de 5 à 15% de faire la tuberculose maladie, alors que ce risque n'est que 10% sur toute la durée de vie d'un sujet immunocompétent [5]. La fréquence de la tuberculose parmi les patients atteints du SIDA oscille entre 20 à 40% [1 ; 5 -7]. Elle peut atteindre 80% dans les pays à forte séroprévalence pour le VIH [2]. Parmi les approches nécessaires pour évaluer l'interférence des deux endémies, infection à VIH et tuberculose, l'incidence et la prévalence constituent les paramètres les plus importants [5 ; 6].

En Centrafrique, l'ampleur de la co-infection VIH-tuberculose n'est pas connue. Le dépistage de l'infection à VIH n'est pas systématique chez les tuberculeux. La prise en charge du tuberculeux ne prenait pas en compte systématiquement l'immunodépression sous-jacente. C'est dans ce contexte que nous avons mené cette étude dont l'objectif était d'estimer la prévalence de la co-infection VIH-tuberculose en milieu hospitalier à Bangui afin d'optimiser la prise en charge des tuberculeux co-infectés par le VIH.

## MATERIEL ET METHODES

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective qui s'est déroulée à Bangui en 12 mois (1<sup>er</sup> août 2008 au 31 juillet 2009). La population d'étude était constituée d'adultes, hospitalisés dans le service de Médecine Interne de l'Hôpital Communautaire de Bangui. Les patients dont le diagnostic de la tuberculose a été retenu sur la base des arguments biologiques, cliniques et ou radiologiques ont été inclus. Les patients tuberculeux ayant débuté le traitement antituberculeux dans un autre centre de diagnostic et de traitement et qui ont été admis en hospitalisation pour une complication quelconque ont été exclus de l'étude. Les patients qui n'ont pas signé la fiche de consentement n'ont pas été inclus. Les examens de laboratoire disponibles et nécessaires au diagnostic étaient réalisés au Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique de Bangui. Les Bacilles Acido-Alcoolo-Résistants (BAAR) étaient systématiquement recherchés après la

coloration de Ziehl-Neelsen à chaud dans tous les échantillons indiqués (3 échantillons successifs d'expectorations). Le malade était déclaré tuberculeux lorsqu'au moins 2 crachats sur 3 étaient positifs. Les tuberculeux mis sous traitement subissaient un contrôle de la bacilloscopie aux 2<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> mois de traitement.

Lorsque la bacilloscopie ne permettait pas de diagnostiquer la tuberculose, les données anamnestiques et celles des autres analyses para cliniques étaient requises pour établir le diagnostic. Il s'agissait de l'hémogramme complet (ABX Pentra 60, HORIBA), de la radiographie pulmonaire de face, de l'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine, de l'échographie abdominale, des analyses cyto et anatomopathologiques. Les colorations de Giemsa et de Ziehl-Neelsen étaient utilisées pour la cytologie (cytoponction et liquide de ponction) ; pour l'étude histologique à partir de biopsie, la coloration à l'hématéine éosine ou au besoin, une coloration spécifique était réalisée.

La prise en charge des patients inclus dans l'étude était gratuite dans le cadre du Programme National de Lutte contre la Tuberculose. Le dépistage de l'infection à VIH était réalisé selon la stratégie alternative retenue en Centrafrique. C'est un algorithme séquentiel qui associe Determine HIV (Abbott) et Unigold (Trinity Biotech) respectivement comme 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> tests. Le malade était déclaré séronégatif au VIH, lorsque Determine était négatif. En cas de positivité de Determine, Unigold était effectué. Le patient était déclaré séropositif quand les 2 tests étaient positifs. Lorsqu'Unigold était négatif, le sérum était analysé selon la stratégie de référence qui requiert 2 tests ELISA. Pour les tuberculeux séropositifs pour le VIH, une numération lymphocytaire par cytométrie en flux (Facscount, Becton Dickinson) était réalisée pour apprécier le degré de l'immunodépression. Les variables étudiées comprenaient les données sociodémographiques, cliniques, para-cliniques et évolutives. Les données étaient consignées sur une fiche d'enquête standardisée, saisies et analysées sous Epi-Info (version 3.5.3).

## RESULTATS

Durant la période d'étude, 171 patients atteints de tuberculose étaient hospitalisés. Parmi eux, 10 (5,8%) n'avaient pas donné leur consentement et ils n'ont été pas inclus de l'étude. Ainsi, ont été retenus pour l'étude, 161 tuber-

culeux dont 89 femmes (55,3%) et 72 hommes (44,7%), le sex ratio H/F était de 0,82. La moyenne d'âge des patients était de 39 ans avec des extrêmes de 17 et 78 ans. Les prévalences des tuberculeux séropositifs et séronégatifs pour le VIH étaient respectivement de IC95% [73,9%± 6,8%] (TBVIH+, n=119) et [26,1%± 4,9%] (TB/VIH-, n=42).

La tuberculose pulmonaire était de loin la forme clinique dominante (62,7%) dont 71,3% étaient TBVIH+. Un cas de tuberculose cutanée était diagnostiqué avec le concours du Dermatologue qui avait pris en charge le malade en dermatologie. Les TB/VIH+ prédominaient aussi dans les autres formes cliniques (78,3%). Cinquante huit patients sur les 161 (36%) présentaient des adénopathies ; 72,4% de ceux-ci étaient VIH+. Sur 26 patients (16,1%) qui avaient une ascite, 20 (76,9%) étaient TBVIH+ (tableau 1).

**Tableau I.** Répartition des cas de tuberculose selon les formes cliniques et la sérologie VIH.

Forme clinique	Sérologie VIH		Total	%
	Posi-tive	Néga-tive		
Tuberculose pulmonaire	72	29	101	62,7
Tuberculose extra pulmonaire	25	10	35	21,7
<i>Tuberculose pleurale</i>	10	2	12	7,5
<i>Polysérite tuberculeuse</i>	7	0	7	4,3
<i>Tuberculose ganglionnaire</i>	4	2	6	3,7
<i>Tuberculose péritonéale</i>	3	2	5	3,1
<i>Péricardite tuberculeuse</i>	0	2	2	1,2
<i>Méningite tuberculeuse</i>	1	1	2	1,2
<i>Tuberculose cutanée</i>	0	1	1	0,6
Forme associée*	17	3	20	12,4
Miliaire tuberculeuse	5	0	5	3,1
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>42</b>	<b>161</b>	<b>100,0</b>

\*Forme associée : pulmonaire et extra pulmonaire

Dans les antécédents, une notion de contagement tuberculeux était notée chez 88 malades (54,7%) et une cicatrice de BCG chez 75,4% des 161 patients. Les anciens tuberculeux constituaient 36,6% des patients dont 25 d'entre eux (42,4%) n'avaient pas terminé leurs traitements antituberculeux antérieurs. Parmi les malades TB/VIH+ (119), 50 (41,9%) étaient déjà sous traitement antirétroviral

(ARV) et 54 cas (45,4%) sous cotrimoxazole. L'anergie tuberculinique était significativement associée à l'infection à VIH ( $p < 0,001$ , voir tableau II).

**Tableau II.** Répartition des malades selon les résultats de l'IDR et la sérologie VIH, définition des cas et issue du traitement antituberculeux

		Sérologie VIH		Total	
		Néga-tive	Posi-tive	n	%
Intrademo-réaction (IDR)	Anergique	22	72	99	61,5
	Réactive	40	27	67	41,6
<b>Total</b>		<b>62</b>	<b>99</b>	<b>161</b>	<b>100,0</b>

	Sérologie VIH		Total	
	Posi-tive	Néga-tive	n	%
Nouveau cas	94	30	124	77,0
Rechute	15	7	22	13,7
Reprise de traitement	10	5	15	9,3
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>42</b>	<b>161</b>	<b>100,0</b>

	Sérologie VIH		Total	
	Posi-tive	Néga-tive	n	%
Guérison*	60	15	75	46,6
Transférés	30	11	41	25,5
Décédés	19	7	26	16,1
Perdus de vue	4	6	10	6,2
Echec	6	3	9	5,6
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>42</b>	<b>161</b>	<b>100,0</b>

\* en écartant les perdus de vue, la guérison atteint 62,5%

L'anergie était significativement associée à l'infection à VIH (Chi-2 = 21,76 ;  $p < 0,001$ ).

La bacilloscopie était positive chez 58 patients soit 36% de toutes les formes cliniques et 57,4% de la forme pulmonaire.

Les nouveaux cas (124) étaient majoritairement représentés (77%) parmi les 161 malades (tableau II). Ils étaient traités par quadrithérapie antituberculeuse (Rifampicine, Isoniazide, Ethambutol et Pyrazinamide) ; les autres cas par pentathérapie associant la streptomycine aux 4 premiers antituberculeux. A l'issue du traitement antituberculeux, 46,6% des malades étaient guéris. Outre les malades transférés (25,5%) vers d'autres centres pour y poursuivre leur traitement, le taux de guérison atteignait de 62,5% (tableau II).

Les patients co-infectés TB/VIH+ qui avaient un taux lymphocytes TCD4 inférieur à  $350/\text{mm}^3$  (81 ; 68,1%), étaient par la suite traités par les antirétroviraux selon les directives nationales. Parmi eux, 65(80,2%), avaient reçu un traitement de 1<sup>ère</sup> ligne, avec respectivement 59,7% de (Stavudine + lamivudine + Efavirenz), 32,2% de (Zidovudine + lamivudine + Efavirenz) et 8,1% de (Zidovudine + lamivudine + Névirapine). Les 16 autres malades (19,8%) avaient bénéficié d'un schéma de 2<sup>ème</sup> ligne fait de l'association (Abacavir + Didanosine + Kalétra).

## DISCUSSION

Les résultats de cette étude portant sur les patients tuberculeux étaient valides et exploitables du fait que la proportion des malades non consentants était faible (5,8%). Aussi, les tests utilisés pour la sérologie VIH étaient sélectionnés pour leurs bonnes performances diagnostiques. La sensibilité de tous les tests était proche de 100% et la spécificité supérieure à 95% [8;9]. Ces examens avaient permis de déterminer le statut sérologique VIH de nos patients. Les résultats de cette étude avaient montré que la prévalence de la co-infection TB/VIH+ était élevée (73,9%). Cette prévalence dépasse les 40% rapportés par certains auteurs [1 ; 5-7] mais reste inférieure à 80% retrouvé par d'autres [2]. Cette forte association était certainement liée à la prévalence élevée de l'infection à VIH à Bangui. Elle fait de la tuberculose la première infection opportuniste au cours du SIDA [10].

Des études antérieures ont montré que les patients VIH+ ont un risque accru pour la tuberculose [11 ; 12]. L'immunodépression cellulaire induite par l'infection à VIH prépare le lit de la tuberculose dont le SIDA est considéré comme un facteur de recrudescence [13]. Ceci se traduit par la perturbation de la réaction aux tests tuberculiques comme cela a été constaté chez nos malades. L'anergie était significativement ( $\text{Chi-2} = 21,76$  ;  $p < 0,001$ ) associée à l'infection à VIH. La positivité de l>IDR était faible (33%) lorsque la tuberculose est postérieure ou concomitante du SIDA [6]. Mais dans notre série, 40,3% seulement des TB/VIH+ étaient au stade de SIDA (taux de lymphocytes TCD4  $< 200/\text{mm}^3$ ). Ceci montre que la tuberculose ne touche pas que les sidéens. C'est cela qui a fait dire à certains auteurs que « la tuberculose peut survenir à n'importe quel stade de l'infection à VIH [14] et ce dans 30 à 50 % des cas avant le stade SIDA [6 ; 13].

Concernant la clinique, elles étaient très variées, voire associées (pulmonaire et extra-pulmonaire) dans 12,4% des cas (tableau I). Une notion de contagé était notée chez 54,7% des malades. Ceci montre que l'exposition à la tuberculose est grande à Bangui. Cette exposition serait le fait d'anciens tuberculeux (59 dans notre série) qui avaient interrompu leur traitement (42,4% des 59. De plus, la pratique du BCG n'était pas généralisée ; 24,6% des malades ne présentaient pas de cicatrice de BCG. Dans les différentes formes cliniques, d'une manière générale, les TB/VIH+ étaient plus nombreux. Nous avons eu un cas de tuberculose cutanée de diagnostic difficile, ayant requis l'avis du dermatologue et qui a été confirmé par l'examen histologique avec mise en évidence d'un granulome géantocellulaire épithélioïde contenant des mycobactéries.

Le fait que la bacilloscopie ait été positive chez seulement 57,4% des malades atteints de tuberculose pulmonaire était une limite de l'examen direct. L'examen d'expectorations, après la coloration de Ziehl-Neelsen, bien que considéré comme la technique de référence parmi les examens directs, est moins sensible que la culture. Les taux de positivité de notre série qui étaient de 36% pour toutes les formes cliniques et de 57,4% pour la forme pulmonaire étaient proches des 40 à 50% retrouvés par d'autres auteurs [6]. L'échantillon doit en effet contenir au moins  $10^4$  bacilles/mL pour que les BAAR soient observables à l'examen direct [6]. La culture, qui aurait permis de mettre en évidence les bacilles chez certains malades à bacilloscopie négative n'est pas systématiquement réalisée en Centrafrique. Dans ce pays à faibles ressources, la culture des mycobactéries est confiée au seul Laboratoire National de Référence et n'est réalisée que pour les malades en échec thérapeutique dans la recherche des cas de résistance.

Outre les malades transférés vers les centres de proximité, dont on ne connaît pas l'issue du traitement, la proportion des malades déclarés guéris passerait de 46,6% à 62,5% (tableau II). Ces 2 proportions, 46,6% et 62,5%, restent faibles car l'objectif d'un programme de lutte antituberculeuse est de guérir au moins 85% des malades et particulièrement les bacillifères pour rompre la chaîne de transmission. Des mesures doivent être prises pour renforcer le suivi du traitement antituberculeux. Le taux de décès global est de 16,1%, pratiquement 3 fois plus chez les TB/VIH+ (19 contre 7) que chez

les TBVIH- (tableau II). Ces résultats confirment que la co-infection TB/VIH accroît le risque de décès (15). Etant donné que la co-infection TB/VIH est une relation symbiotique [16], le contrôle de la tuberculose doit être une urgence dans les pays à forte prévalence de l'infection à VIH [17].

## CONCLUSION

Cette étude avait montré que la prévalence de la co-infection TB-VIH était élevée. Cette forte association est certainement liée à la forte

prévalence de l'infection à VIH en Centrafrique. Les analyses biologiques notamment la bacilloscopie sont indispensables à la prise en charge de la coinfection TB-VIH. En l'absence de la culture des mycobactéries, l'apport de l'anatomopathologie est déterminant. La prise en charge de la tuberculose doit tenir compte du statut sérologique VIH du patient et inversement.

REMERCIEMENTS : Les auteurs remercient le Professeur Abdoulaye SEPOU qui a contribué à l'amélioration du manuscrit

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **OMS 2004.** Changer le cours de l'histoire. Rapport sur la santé dans le monde, 2004 ; 129p
2. **OMS, 2004.** Rapport de situation décembre 2004 : Traiter 3 millions d'ici 2005, .2004 ; 50 : 30-1
3. **Peter R., Donald M.B., Ch. B., M.D., and Paul D. van Helden .** The global burden of tuberculosis combating drug resistance in difficult Times. *N Engl J Med.* 2009; 360:2393-2395
4. **World Health Organization 2012.** Global tuberculosis report. 2012; chapter 7: pp 74-81
5. **Verma S., Mahajan V.** HIV-Tuberculosis Co-Infection. *The Internet Journal of Pulmonary Medicine.* 2008; 10:5580-569
6. **Michon C., Mortier E.** La Tuberculose. In Girard P. M., Katlama C., Pialoux G. VIH. Doin, Paris, 6<sup>ème</sup> édition 2004 ; 510p, 229-38.
7. **ONUSIDA 2007.** Connaitre son épidémie. 2007 ; Rapport annuel. 48p.
8. **Dagnra A. Y., Prince David M., Gaba J., Ouro-Akpo M.T., Segbena A. Y., Ali-Edje K., Ehlan K., Bougoudogo F.,** Evaluation de la performance de huit tests de diagnostic de l'infection à VIH à Lomé (Togo), *Méd. Trop.* 2002;62 : 507-10
9. **Ménard D., Maïro A., Mandeng M. J., Doyemet P., Koyazegbe T., Rochigneux C., Talarmin A.** Evaluation of rapid HIV testing strategies in under equipped laboratories in the Central African Republic. *J Virol Methods* .2005; 126: 75-80.
10. **Decludt B., Campese C.,** Institut de Veille Sanitaire. Les cas de tuberculose déclarés en France en 2000. *Bull Epidémiol Hebd.* 2002; 16-17: 68-70
11. **Havlir D. V., Barnes P. F.** Tuberculosis in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med.* 1999; 340: 367-73.
12. **Colebunders R., Lambert M. L.** Management of co-infection with HIV and TB. *BMJ.* 2002; 342:802-3
13. **Gollub E. L., Trino R., Salmon M., Moore L., Dean J. L., Davidson B.L.,** Co-occurrence of AIDS and tuberculosis: results of a database "match" and investigation. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*, 1997; 16: 44 - 49.
14. **Grinsztejn B., Fandinho F. C., Veloso V. G., João E. C., Lourenço M. C., Nogueira S. A., Fonseca L. S., Werneck-Barroso E.,** Mycobacteremia in patients with acquired immunodeficiency syndrom. *Arch Intern Med.*1997; 157:2359-63.
15. **Badri M., Ehrlich R., Wood R., Pulerwitz T., Maartens G.** Association between tuberculosis and HIV disease progression in a high tuberculosis prevalence area. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2001; 5: 225-32.
16. **Aliyu M. H., Salihu H. M.** Tuberculosis and HIV coinfection : A symbiotic relationship. *International journal of fertility and Women's medicine.*2004 ; 49: 176-90
17. **Corbett E. L., Watt C. J., Walker N., Maher D., Williams B. G., Raviglione M. C., Dye C.** The Growing Burden of Tuberculosis: Global Trends and Interactions with the HIV Epidemic. *Arch Intern Med.* 2003; 163: 1009-21.