

## 過去に治療歴のない、あるいは最小限度の治療しか受けていない血友病 A 患者における血漿由来・有機溶媒 / 界面活性剤処理第 VIII 因子製剤投与後のインヒビター発現について

Occurrence of inhibitors in previously untreated or minimally treated patients with haemophilia A after exposure to a plasma-derived solvent-detergent factor VIII concentrate

A. Gringeri, M. Monzini, G. Tagariello, F. A. Scaraggi, P. M. Mannucci and the Emoclot 15 Study members<sup>1</sup>  
Angelo Bianchi Bonomi Haemophilia and Thrombosis Centre and Department of Internal Medicine and Dermatology, IRCCS Maggiore Policlinic, Regina Elena, Mangiagalli Hospital Foundation and Centre of Pharmacoeconomics, Department of Pharmacological Sciences, University of Milan, Milan, Italy; Haemophilia Centre, Ospedale Civile, Castelfranco Veneto (TV), Italy; and Haemophilia Centre, Policlinico II, Bari, Italy

**要約:** イタリアにおける血友病 A 患者の治療に血漿由来・有機溶媒 / 界面活性剤 (SD) 処理第 VIII 因子 (SD-pdFVIII) 製剤が導入されて以来、既に 15 年が経過した。本剤は、モノクローナル抗体を使用せずに精製され、多量の von Willebrand 因子 (VWF) を含有する高純度 FVIII 製剤である。今回我々は、過去に治療歴のない患者 (previously untreated patients; PUPs) および最小限度の治療しか受けていない患者 (minimally treated patients; MTPs) における本剤の免疫原性を評価する後方視的研究を行った。最小限度の治療しか受けていない患者とは、すなわち、過去における他の血漿由来凝固因子製剤の実投与日数 (EDs) が 5 日間以内の患者である。99 例 [6 ~ 64 歳 (中央値 21.3)] が登録された。うち 31 例が PUPs, 68 例が MTPs で、MTPs における EDs 中央値は 4 日 (1 ~ 5 日) であった。これらの患者における SD-pdFVIII 製剤の EDs 中央値は 83 日 (21 ~ 1,580 日) であった。これらの患者のうち 7

例 (PUPs 3 例, MTPs 4 例) でインヒビターの発現が認められ、全例が重症症例であった [7.1% (95% 信頼区間: 3 ~ 14%)]。これらのインヒビターは、SD-pdFVIII 製剤投与開始後、11 EDs 後 (中央値) (4 ~ 22 日後) に発現していた。この 7 例のうち 2 例はローレスポンド (≤ 5 BU/mL) で、残りの 5 例はハイレスポンドであった。ローレスポンド 2 例とハイレスポンド 1 例ではインヒビターが自然消失していた。免疫寛容導入療法はハイレスポンド 1 例に施行され、完全に持続性の効果が得られていた。これらの所見は、中等症 ~ 重症の PUPs および MTPs において SD-pdFVIII 製剤のインヒビター発現リスクは低く、他の血漿由来 VWF 含有 FVIII 製剤でこれまでに報告されている成績と同等であった。

**Key words:** 血友病, インヒビター, von Willebrand 因子, 有機溶媒 / 界面活性剤処理, 過去に治療歴のない患者

<sup>1</sup>Emoclot 15 Study members: C. Biasoli Cesena, G. Delios Ivrea, A. Iorio Perugia, G. Mancuso Palermo, R. Musso Catania, M. Perja Milano, L. Perugini Torino, A. Borchellini Torino, R. Santi Alessandria, F. A. Scaraggi Bari, M. Schiavoni Bari, A. Spigariol Castelfranco Veneto, R. Targhetta Cagliari, E. Zanon Padova.

Correspondence: Alessandro Gringeri, Angelo Bianchi Bonomi Haemophilia and Thrombosis Centre, Department of Internal Medicine and Dermatology, IRCCS Maggiore Policlinic Hospital Foundation, Via Pace, 9 – 20122 Milan, Italy.  
Tel.: +39 02 5503 5290; fax: +39 02 54 57 074;  
e-mail: alessandro.gringeri@unimi.it

## 序 論

インヒビターの発現は、血友病治療における最も重篤な合併症であるとともに、他の慢性疾患の治療と比べて最も経済的インパクトの大きい合併症である<sup>(1)</sup>。したがって、過去に治療を受けたことのない患者 (PUPs) において血漿由来凝固因子製剤と遺伝子組換え型凝固因子製剤のインヒビター発現リスクが異なるか否かを決定することは重要なテーマである<sup>(2~4)</sup>。また、これに関するエビデンスを示した無作為化臨床研究は未だない。

異なる FVIII 製剤を使用することがインヒビターの発現リスクに与える影響については、血友病 A におけるインヒビターの疫学について最近検討した Wight & Paisley<sup>(5)</sup> のシステマティックレビューで評価されている。複数種の低～中間純度血漿由来 FVIII 製剤を投与された PUPs における累積発現頻度は、20.3%<sup>(6)</sup>～33.0%<sup>(7)</sup>と報告されている。一方、単一の血漿由来凝固因子製剤のみを投与された患者における累積発現頻度は、0<sup>(8)</sup>～12.4%<sup>(9)</sup>、単一の遺伝子組換え型凝固因子製剤のみを投与された患者では 36.0<sup>(10)</sup>～38.7%<sup>(11)</sup>と報告されている。これらのデータの解析は、次のようないくつかの因子によって複雑化される——研究施設間におけるインヒビター検査法の相違、対象患者群の異質性 (重症度; 人種や遺伝子変異のタイプ、凝固因子製剤初回投与時の年齢などのインヒビター発現リスクの有無により生じる差異<sup>(12)</sup>) および使用された FVIII 製剤の多様性。特に、血漿由来凝固因子製剤ではあっても、中間純度製剤が使用された場合と高純度製剤が使用された場合では異なった結果となり、これは主に両者の von Willebrand 因子 (VWF) 含有量が異なることによるものである。VWF 含有量は、FVIII 製剤の免疫原性に関係することが示唆されている<sup>(13, 14)</sup>。FVIII 製剤中において、含有される VWF がどのように FVIII 製剤の免疫原性を低下させるかについては未だ明らかではない。これまでの研究では、VWF が FVIII 分子のいくつかのエピトープあるいは三次構造全体に対して防御的に働くという説や<sup>(15)</sup>、血漿由来凝固因子製剤に含まれる FVIII は VWF に対してより高親和性であるという説<sup>(16)</sup>が提

示されている (VWF に対するこの高親和性は、FVIII が内因性の血漿中 VWF に速やかに、そして完全に結合することを可能とし、結果として抗原提示細胞への曝露時間を短縮する)。VWF 含有 FVIII 製剤の使用とインヒビターの発現について検討した同様の研究が他国 [フランス<sup>(17)</sup>、ノルウェー (A. Glomstein の私信)、ポーランド<sup>(18)</sup> および英国 (S. Brown の私信)] (一部は未発表) からも報告されているが、結果は既に報告されているコホートでの結果<sup>(19)</sup>と同様である。

有機溶媒/界面活性剤処理第 VIII 因子 (SD-pdF-VIII) 製剤がイタリアで導入されて以来、既に 15 年が経過した<sup>(20)</sup>。この凝固因子製剤はイオン交換クロマトグラフィーにより精製された高純度 FVIII 製剤で、多量の VWF を含有するが、最終製剤化工程ではアルブミンは全く使用されていない。本稿は、過去に治療歴のない、あるいは他の血漿由来凝固因子製剤による最小限度の治療しか受けていない中等症～重症のイタリア人血友病 A 患者における、SD-pdFVIII 製剤投与でのインヒビターの発現および血液伝播性ウイルスへの感染の頻度を後方視的に検討したものである。

## 方 法

PUPs および過去に最小限度の治療しか受けていない患者 (minimally treated patients; MTPs) で SD-pdFVIII 製剤のみで治療された患者について、イタリアの総合血友病センター 13 施設で調査した。MTPs は、過去における他の血漿由来凝固因子製剤の実投与日数 (EDs) が 5 日間以内の患者と定義した。この高純度 FVIII 製剤は、Kedrion 社 (イタリア) によってイオン交換クロマトグラフィーにより製造されており、安定剤としてアルブミンは添加されていない。ウイルス不活化工程として、凍結乾燥処理のなされていない精製産物に有機溶媒/界面活性剤 (SD) 処理 (0.3% TNBP + 1% Tween 80) がなされ、さらに、凍結乾燥後の最終産物に加熱処理 (100°C, 30 分) が施されている。後者の工程は 1994 年に導入された。FVIII の比活性は約 140 IU/mg 総蛋白質で、FVIII 濃度は約 100 IU/mL、FVIII 活性

と VWF:RC との比は約 3:1, FVIII:Ag と VWF:Ag との比は約 2.5:1 である。VWF マルチマー解析では高分子マルチマーの欠如が示されている。

本研究への登録基準は次の通りである — ① 中等症～重症の血友病 A (「重症」は血漿中 FVIII 活性レベルが 1% 未満, 「中等症」は 1～5% で定義), ② SD-pdFVIII 製剤の EDs が連続 20 日間以上, ③ 病歴および投薬歴に関する詳細な記録がある, ④ SD-pdFVIII 製剤投与開始前のインヒビター発現歴がない, および ⑤ インフォームドコンセントが得られている。一方, 除外基準は次の通りである — ① 軽症血友病, ② 輸注記録が入手できない, または信憑性に欠ける, ③ 遺伝子組換え型 FVIII (rFVIII) 製剤の投与歴がある, および ④ SD-pdFVIII 製剤投与開始前に血漿由来凝固因子製剤または血液成分製剤の EDs が 5 日を超えている。イタリアでのガイドラインに従って, 5～10 EDs ごとにインヒビター検査を実施した (3～6 か月間の Eds が 5～10 日未満である場合には 3～6 か月ごとに行った)。また, 少なくとも年 1 回の頻度で B 型肝炎ウイルス (HBV) および C 型肝炎ウイルス (HCV) に対する抗体検査を行い, セロコンバージョンの有無を確認した。これらの患者は, 1989 年以来 HBV ワクチン接種プログラムに, そして 1994 年以来 A 型肝炎ウイルス (HAV) ワクチン接種プログラムに参加している。電子版症例報告書 (e-CRF) を作成し, 次の情報を記録した — 年齢, 性別, FVIII 欠乏の重症度, 遺伝子変異, SD-pdFVIII 製剤投与開始前の EDs, SD-pdFVIII 製剤の EDs, インヒビター発現の有無, 重症有害事象 (特に血液伝播性病原体への感染), SD-pdFVIII 製剤を使用しての外科的処置の施行回数およびタイプ。インヒビターが発現した場合には, e-CRF は自動的に次の情報を入力しなければならないように設定した — インヒビター発現までの EDs, インヒビター力価ピーク値および免疫寛容導入療法施行の有無 (施行されている場合は用量, 期間および結果を含む)。評価項目は, インヒビターの発現, 血液伝播性ウイルスへの感染, そして他の重症有害事象の有無である。

記述統計によるデータ解析を行った。本研究を統括した血友病センター (ミラノ) の倫理審査委員会

に治験計画書および同意書の記載用紙を提出し, 承認を得た。

## 結 果

イタリア各地の 13 施設 (Bari, Cagliari, Castelfranco Veneto, Catania, Cesena, Genoa, Ivrea, Milan, Padua, Palermo, Perugia および Turin) から報告された 99 例 [6～64 歳 (平均値: 26.3 歳, 中央値: 21.3 歳)] が登録された。これらの症例の主な人口統計学的・臨床的特徴を Table 1 に示す。71 例が重症血友病 A, 残りの 28 例は中等症であった。また, 99 例中の 31 例が PUPs で, 68 例は MTPs であった。MTPs 68 例には赤血球濃厚液やクリオプレシピテート, モノクローナル抗体により精製された中間純度血漿由来 FVIII 製剤などが以前に投与されており, それらの EDs は 1～5 日であった。対象症例全体における SD-pdFVIII 製剤の累積総 EDs は, 21～1,580 日 (平均値 = 239 日, 中央値 = 83 日) であった。

Table 1. Clinical data of study population.

Variable	Value
Patients enrolled ( <i>n</i> )	99
Age (years)	
Mean ( $\pm$ SD)	26.3 (13.7)
Median (min-max)	21.3 (6-64)
With severe haemophilia [ <i>n</i> (%)]	71 (71.7)
With moderate haemophilia [ <i>n</i> (%)]	28 (28.3)
PUPs [ <i>n</i> (%)]	31 (31.3)
Age (years)	
Mean ( $\pm$ SD)	16.6 (7.1)
Median (min-max)	15.6 (6-49)
With severe haemophilia [ <i>n</i> (%)]	14 (45.2)
With moderate haemophilia [ <i>n</i> (%)]	17 (54.8)
With anti-HCV positivity ( <i>n</i> )	0
With anti-HBV positivity ( <i>n</i> )	0
MTPs [ <i>n</i> (%)]	68 (68.7)
Age (years)	
Mean ( $\pm$ SD)	30.8 (13.8)
Median (min-max)	29.5 (9-64)
With severe haemophilia [ <i>n</i> (%)]	57 (83.8)
With moderate haemophilia [ <i>n</i> (%)]	11 (16.2)
With anti-HCV positivity [ <i>n</i> (%)]	45 (66.2)
With anti-HBV positivity [ <i>n</i> (%)]	24 (35.3)*

PUPs, previously untreated patients; MTP, minimally treated patients.

\*All patients were anti-HBs positive since previously vaccinated.

99 例中 7 例 (PUPs 3 例, MTPs 4 例) で 4 ~ 22 EDs 後 (平均値 = 12.3 EDs, 中央値 = 11.5 EDs) にインヒビターの発現が認められた [7.1% (95%信頼区間 [CI]: 3 ~ 14%)]. これらの患者はすべて重症症例であった (重症患者 70 例中の 10% に相当, 95% CI: 4 ~ 20%). 2 例はローレスポonder (5 BU/mL 未満) で, 5 例はハイレスポonder であった (うち 1 例は, インヒビター力価のピーク値が 127 BU/mL であった). ローレスポonder 2 例とハイレスポonder 1 例ではインヒビターが自然消失していた. 免疫寛容導入療法はハイレスポonder 1 例に施行され, インヒビターは完全に消失し, 回収率と半減期が正常化していた. 残りのハイレスポonder 3 例には, 必要に応じてバイパス製剤が投与されていた.

FVIII 遺伝子解析は, わずか 53 例で行われていたにすぎず, うち 21 例 (40%) でイントロン 22 逆位が同定されていた. インヒビターが発現した 7 例の遺伝子変異を Table 2 に示す. 4 例はイントロン 22 逆位, 2 例はヌル突然変異, 残りの 1 例は遺伝子変異が同定されていなかった.

57 例 (57.6%) (PUPs 14 例, MTPs 43 例) に対し, SD-pdFVIII 製剤を使用した大手術 59 件と小手術 67 件が施行されていた (うち 29 例は 1 回, 9 例は 2 回, 7 例は 3 回, 12 例は 4 回施行されていた). インヒビターが発現した 7 例中の 3 例は, 大手術 (全股関節置換術, 膝関節滑膜切除術および全膝関節置換術) 後にインヒビターが発現していた. 興味深いことに, これらの患者は最年長の症例で (インヒビ

ター発現時の年齢は, それぞれ 77, 44, 45 歳), 手術前に投与された血液製剤は極めて少量であった (クリオプレシピテートまたは低純度血漿由来凝固因子製剤).

Table 1 に対象症例の血清学的データを示す. 研究期間中にヒト免疫不全ウイルス (HIV) や B 型・C 型肝炎ウイルスに対するセロコンバージョンが認められた症例はなかった. また, 抗 HBV 抗体陽性であった症例は, すべて過去にワクチン接種を受けていた. SD-pdFVIII 製剤投与開始以前に他の血液製剤を投与されていた患者の 66.2% は, SD-pdFVIII 製剤投与開始前から抗 HCV 抗体陽性であった. 2 例は, SD-pdFVIII 製剤投与開始前から血清抗 HAV 抗体陽性で, 他の 2 例は, SD-pdFVIII 製剤投与後に急性 A 型肝炎を発症していた (後者 2 例に SD-pdFVIII 製剤が投与されたのは, 第二ステップのウイルス不活性化工程が導入される以前であった)<sup>(21, 22)</sup>. これらの A 型肝炎症例の経過は良性であった. 有害事象としては, 1 例が発疹, 他の 1 例がふるえを訴えたが, いずれも治療を要するものではなく, 自然解消していた. SD-pdFVIII 製剤の忍容性は良好であった.

## 考 察

血漿由来 FVIII 製剤と rFVIII 製剤の免疫原性については, 長い間議論されてきた. 一部の研究者ら [S. Brown (私信), A. Glomstein (私信)]<sup>(5, 17~19)</sup> は, VWF 含有 FVIII 製剤で治療された患者ではイ

Table 2. Clinical features of the seven patients who developed inhibitors.

ID	Age at developing inhibitors	Severity of haemophilia	Genetic defect	Previous treatment [exposure days (ED)]	Exposure days to SD-pdFVIII at inhibitor development	Peak level (BU mL <sup>-1</sup> )	Immune tolerance induction
1	6	Severe	EX 24 Arg 2209 Stop*	Hemofil M (5 EDs)	4	3‡	No
2	2	Severe	Unknown gene defect	No	8	3‡	No
3	6	Severe	EX 18 Arg 1941 Stop†	No	15	99	No
4	17	Severe	Int22 Inv	Cryoprecipitate (5 EDs)	5	8‡	No
5	44	Severe	Int22 Inv	Koate (4 EDs)	20	74	No
6	45	Severe	Int22 Inv	Koate (4 EDs)	18	12	No
7	9	Severe	Int22 Inv	No	22	127	Yes§

\*Previously reported into the international HA mutation database; 19 times, 6 with inhibitors [24].

†Previously reported into the international HA mutation database; 15 times, 0 with inhibitors [24].

‡Inhibitors disappeared spontaneously.

§Complete resolution with undetectable inhibitor, normal FVIII recovery and half-life.

**Table 3.** Occurrence of inhibitors in PUPs with severe haemophilia treated with plasma-derived von-Willebrand factor containing FVIII concentrates.

Author (country)	Concentrate	Study period	No. of severe PUPs	PUPs with inhibitors [n (%)]	High responders
W. Kreuz [19] (Austria, Germany, Switzerland)	Various	1993–2003	57	13 (22.8)	n.a.
J. Goudemand [17] (France)	LFB	1988–2001	62	7 (11.3)	4
A. Glomstein, pers. commun. (Norway)	Octa	1989–1999	19	2 (10.5)	n.a.
R. Rokicka-Milewska [18] (Poland)	Grifols	1997–1999	19	1 (5.0)	n.a.
S. Brown, pers. commun. (UK)	BPL	1985–2004	74	3 (4.0)	2
Present study (Italy)	Kedrion	1987–2003	71	7 (9.8)	5
Overall			299	33 (11.0)	11/207 (5.3%)

ンヒビター発現頻度がより低いと報告している (Table 3)。今回の我々の研究でも、VWF 含有 SD-pdFVIII 製剤を投与した中等症～重症の血友病患者におけるインヒビター発現頻度は低いことが確認された — 治療歴のない、または最小限度の治療しか受けていない 99 例のうち、7 例 (7%) でインヒビターの発現が認められ、重症血友病症例のみを考慮した場合の頻度は 10% であった。本研究ではすべての患者に対してインヒビター検査が高頻度に行われているため、他の後方視的研究とは異なり、低力価あるいは一過性のインヒビターが見逃された可能性はほぼ皆無である。一方、本研究は、初回投与時の年齢や治療の強度といった、インヒビターの発現を抑制するうえで何らかの役割を果たした可能性のある要素に関する詳細な情報が提示できていない。FVIII 遺伝子解析は、約半数で実施されていたにすぎなかったが、イントロン 22 逆位の頻度 (40%) は他の大規模コホートで報告されている頻度と差はなく、症例選択に偏りはなさそうである<sup>(23)</sup>。また、本研究の結果は、SD-pdFVIII 製剤の忍容性が良好であること、そして HBV や HCV, HIV のような脂質エンベロップをもつウイルスの感染に対しても安全であることを示している。HAV のような脂質エンベロップをもたないウイルスに対しては、超乾燥加熱処理が追加されたことにより安全性はさらに高められている。

結論として、15 年間にわたりイタリアで使用されている SD-pdFVIII 製剤を使用した治療におけるインヒビター発現頻度は、他の VWF 含有血漿由来 FVIII 製剤で報告されている頻度と同等である [Table 3 (S. Brown の私信, A. Glomstein の私信)]<sup>(17~19)</sup>。

無作為化臨床試験を実施しない限り、VWF 含有血漿由来 FVIII 製剤の免疫原性が低いことを完全に証明することは不可能であるが、これらの治療薬の免疫原性が低いことの実証はある程度可能である。今回の観察所見は、前方視的コホート研究を実施すること、さらに、rFVIII 製剤で治療された過去のコホートで約 30% というインヒビター発現頻度が一貫して認められているデータと比較することによって、より確かなものになると考えられる。しかし、多数の国において rFVIII 製剤で PUPs の治療を開始する傾向が強まっているため、これに関する無作為化臨床研究が今後実施される可能性はなさそうである<sup>(24)</sup>。

## 謝 辞

本研究は Kedrion 社 (イタリア) からの無制限の教育補助金により支援された。多数の症例に関するデータを提供していただいた A. Glomstein 博士そして S. Brown 博士に謝意を表す。

## References

- 1 Gringeri A, Mantovani LG, Scalone L, Mannucci PM. Cost of care and quality of life for patients with hemophilia complicated by inhibitors: the COCIS Study Group. *Blood* 2003; 102: 2358–63.
- 2 Scharrer I, Bray GL, Neutzling O. Incidence of inhibitors in haemophilia A patients – a review of recent studies of recombinant and plasma-derived factor VIII concentrates. *Haemophilia* 1999; 5: 145–54.
- 3 Aledort LM. Is the incidence and prevalence of inhibitors greater with recombinant products? Yes. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 861–2.
- 4 Lusher JM. Is the incidence and prevalence of inhibi-

- tors greater with recombinant products? No. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 863–5.
- 5 Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia* 2003; 9: 418–35.
  - 6 Lorenzo JL, Lopez A, Altisent C, Aznar JA. Incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia: the importance of patient age. *Br J Haematol* 2001; 113: 600–3.
  - 7 Addiego J, Kasper C, Abildgaard C *et al.* Frequency of inhibitor development in haemophiliacs treated with low-purity factor VIII. *Lancet* 1993; 342: 462–4.
  - 8 Schimpf K, Schwarz P, Kunschak M. Zero incidence of inhibitors in previously untreated patients who received intermediate purity factor VIII concentrate or factor IX complex. *Thromb Haemost* 1995; 73: 553–5.
  - 9 Guerois C, Laurian Y, Rothschild C *et al.* Incidence of factor VIII inhibitor development in severe hemophilia A patients treated only with one brand of highly purified plasma-derived concentrate. *Thromb Haemost* 1995; 73: 215–8.
  - 10 Lusher JM, Arkin S, Abildgaard CF, Schwartz RS. Recombinant factor VIII for the treatment of previously untreated patients with hemophilia A. Safety, efficacy, and development of inhibitors. Kogenate Previously Untreated Patient Study Group. *N Engl J Med* 1993; 328: 453–9.
  - 11 Rothschild C, Laurian Y, Satre EP *et al.* French previously untreated patients with severe hemophilia A after exposure to recombinant factor VIII: incidence of inhibitor and evaluation of immune tolerance. *Thromb Haemost* 1998; 80: 779–83.
  - 12 Scharrer I, Ehrlich HJ. Reported inhibitor incidence in FVIII PUP studies: comparing apples with oranges? *Haemophilia* 2004; 10: 197–8.
  - 13 Suzuki T, Arai M, Miyasaka S *et al.* Factor VIII inhibitor developed in a 60-year-old patient with mild hemophilia A after surgery for colon cancer. *Int J Hematol* 1995; 62: 127–32.
  - 14 Auerswald G, Spranger T, Brackmann HH. The role of plasma-derived factor VIII/von Willebrand factor concentrates in the treatment of hemophilia A patients. *Haematologica* 2003; 88: EREP05.
  - 15 Behrmann M, Pasi J, Saint-Remy JM, Kotitschke R, Kloft M. Von Willebrand factor modulates factor VIII immunogenicity: comparative study of different factor VIII concentrates in a hemophilia A mouse model. *Thromb Haemost* 2002; 88: 221–9.
  - 16 Lin Y, Yang X, Chevrier MC *et al.* Relationships between factor VIII: Ag and factor VIII in recombinant and plasma-derived factor VIII concentrates. *Haemophilia* 2004; 10: 459–69.
  - 17 Goudemand J, Rothschild C, Demiguel V *et al.* Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A. *Blood* 2005; DOI 10.1182/blood-2005-04-1371.
  - 18 Rokicka-Milewska R, Klukowska A, Dreger B, Beer H-J. Incidence of factor VIII inhibitor development in previously untreated hemophilia A patients after exposure to a double viral inactivated Factor VIII concentrate. *Ann Hematol* 1999; 78(Suppl. 1): 1–7.
  - 19 Kreuz W, Eттingshausen CE, Auerswald G *et al.* Epidemiology of inhibitors and current treatment strategies. *Haematologica* 2003; 88: EREP04.
  - 20 Di Paolantonio T, Mariani G, Ghirardini A *et al.* Low risk of transmission of the human immunodeficiency virus by a solvent-detergent-treated commercial factor VIII concentrate. *J Med Virol* 1992; 36: 71–4.
  - 21 Mannucci PM, Gdovin S, Gringeri A *et al.* Transmission of hepatitis A to patients with hemophilia by factor VIII concentrates treated with organic solvent and detergent to inactivate viruses. The Italian Collaborative Group. *Ann Intern Med* 1994; 120: 1–7.
  - 22 Purcell RH, Mannucci PM, Gdovin S *et al.* Virology of the hepatitis A epidemic in Italy. *Vox Sang* 1994; 67(Suppl. 4): 2–7.
  - 23 Oldenburg J, El-Maarri O, Schwaab R. Inhibitor development in correlation to factor VIII genotypes. *Haemophilia* 2002; 8(Suppl. 2): 23–9.
  - 24 <http://europium.csc.mrc.ac.uk>