

فراوانی ژنوتیپ های ویروس هپاتیت C و تعداد ویروس در مبتلایان به هپاتیت مزمن C در تهران. ۸۴-۱۳۸۲

امیرهوشنگ محمدعلیزاده^{۱*}، حسین کیوانی^۲، سید مؤید علویان^۳، میترا رنجبر^۴

۱. فوق تخصص بیماریهای گوارش و کبد، دانشیار مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. ویروس شناس، استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳. فوق تخصص بیماریهای گوارش و کبد، استاد دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...
۴. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

* نشانی برای مکاتبه: تهران- اوین- خیابان تابناک- بیمارستان آیت ... طالقانی- طبقه هفتم- مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، صندوق پستی ۱۷۸-۱۹۸۳۵، تلفن ۲۲۴۱۷۲۸۳، شماره ۲۲۴۰۲۶۳۹، ایمیل ahmaliver@yahoo.com
دریافت مقاله: آذر هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ: آذر هشتاد و شش

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات متعددی در خصوص اهمیت تعیین ژنوتیپ ویروس HCV و تعداد ویروس و ارتباط آن با پاسخ به درمان و یا علائم بالینی صورت گرفته است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژنوتیپ های ویروس هپاتیت C و تعداد ویروس (viral load) در ۳۸۴ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن C در تهران طی سال های ۸۲-۱۳۸۴ انجام گرفت.

روش کار: در این بررسی، ۳۸۴ نفر از بیماران مبتلا به هپاتیت C که در طی سالهای ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۴ به یکی از کلینیک های هپاتیت تهران مراجعه کرده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه سرم افراد مبتلا با روش PCR از نظر نوع ژنوتیپ HCV و تعداد ویروس (viral load) بررسی گردید.

یافته ها: از ۳۸۴ نفر مورد بررسی ۳۰۷ نفر (۷۹/۹٪) مرد و ۷۷ نفر (۲۰/۱٪) زن بودند. بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ 1a بود که ۱۵۴ نفر (۴۰/۱٪) را بخود اختصاص داد. پس از آن به ترتیب ژنوتیپ 3a (۱۰۵ نفر - ۲۷/۳٪) و 1b (۴۳ نفر - ۱۱/۲٪) بود. در کل نمونه های آزمایش شده ژنوتیپ ۷۶ نمونه (۱۹/۸٪) قابل تعیین کردن نبود (not typable). در نمونه های با تعداد ویروس بیشتر از ۱۰^۶ ویروس در میلی لیتر ۴۷ مورد (۴۹/۵٪) ژنوتیپ 1a داشتند و پس از آن ۲۵ مورد (۲۶/۳٪) ژنوتیپ 3a و ۱۶ مورد (۱۶/۸٪) نیز ژنوتیپ 1b داشتند.

نتیجه گیری: در مطالعه حاضر، تعداد ویروس و نوع ژنوتیپ کما بیش شبیه مطالعات سایر کشورها بوده است. اما رابطه این دو عامل با پاسخ به درمانهای ضد ویروسی بررسی نشد. با توجه به اینکه این مسئله در گام بعدی برای تعیین نوع و مدت درمان اهمیت بسزایی دارد، نیاز به مطالعات تکمیلی در این رابطه احساس می گردد.

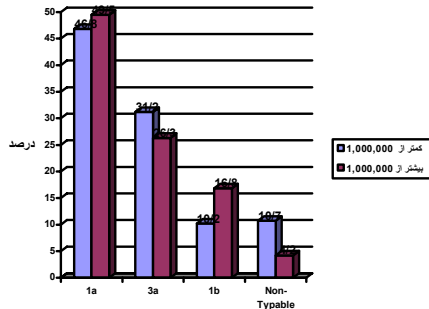
واژگان کلیدی: هپاتیت C، ژنوتیپ، ویروس

مقدمه

ایران مبرهن می سازد. بطور مثال در تحقیقی که در سال ۱۹۹۵ در بیماران ایتالیایی و فرانسوی انجام گرفت، ژنوتیپ 1b با ۶۱/۸٪ بیشترین فراوانی را نشان داد (۳) در حالی که در تحقیقی در کشور آمریکا بیشترین فراوانی ژنوتیپ به ترتیب مربوط به 1a (۵۸٪)، 1b (۲۱٪) و 2b (۱۳٪) بود (۴). در مطالعه ای دیگر که میزان پاسخ به درمان اینترفرون و ارتباط آن با ژنوتیپ HCV بررسی شده است نشان می دهد که پاسخ مداوم به اینترفرون در ۱۱٪ بیماران HCV با ژنوتیپ 1a یا 1b وجود داشته (۵) در حالی که در تحقیق دیگری در ژاپن این پاسخ درمانی در بیماران با ژنوتیپ 2a بیشتر بوده است (۶). مطالعه حاضر با هدف تعیین ژنوتیپ و مقدار ویروس هپاتیت C در مبتلایان مراجعه کننده به یک کلینیک در تهران طی سال های ۸۴-۱۳۸۲ انجام گرفت.

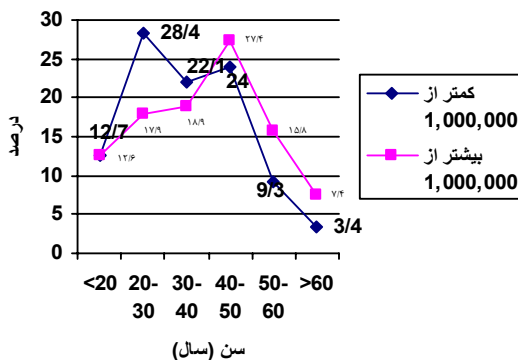
مطالعات نشان داده است که توزیع انواع ژنوتیپهای ویروس هپاتیت C در مناطق جغرافیایی متفاوت است و می تواند با تظاهرات بالینی نیز ارتباط داشته باشد (۱). این ویروس دارای ۶ ژنوتیپ اصلی (1-6) و ۱۱ ژنوتیپ فرعی (1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 5a, 6a) است (۲). مطالعات زیادی در خصوص توزیع انواع ژنوتیپهای این ویروس برحسب متغیرهای مختلف از جمله جنس، سن، تعداد ویروس در سرم (viral load)، پاسخ به درمان و پایداری وضعیت بهبود در بیماران درمان شده صورت گرفته است. در این راستا گاهی نتایج متناقضی در کشورهای مختلف و براساس مناطق جغرافیایی و نژادی گزارش شده است که این مسئله خود لزوم انجام این گونه مطالعات را در کشورهای دیگر از جمله

آن ۲۵ مورد (۲۶/۳٪) ژنوتیپ 3a و ۱۶ مورد (۱۶/۸٪) نیز ژنوتیپ 1b داشتند. از ژنوتیپ 2، 2a و 4 تنها یک مورد از هر کدام وجود داشت که در همگی تعداد ویروس موجود در نمونه بالاتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر بود.



نمودار ۱. توزیع مبتلایان به هپاتیت C بر اساس نوع ژنوتیپ و مقدار ویروس

۷۹ نفر (۸۳/۲٪) از موارد بالاتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر مرد بودند و در نمونه های کمتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر ۱۶۴ نفر (۸۰٪) مرد بودند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. بیشترین فراوانی سنی در نمونه های کمتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر در گروه سنی ۲۰-۳۰ سال (۲۸/۴٪) قرار داشت و بتدریج با افزایش سن این فراوانی کاسته می شد. در نمونه های با تعداد ویروس بالاتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر وضعیت کمی متفاوت بود. در این نمونه ها با افزایش سن تا گروه سنی ۵۰-۴۰ سال فراوانی بیشتر شده به طوری که این گروه سنی بیشترین فراوانی (۲۷/۴٪) را داشت. تفاوت در گروه سنی از نظر آماری معنی دار نبود. در بیماران با ژنوتیپ 1a، افراد با تعداد ویروس بالاتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر بیشتر در گروه سنی ۳۰-۴۰ سال بودند (۱۲ نفر- ۲۵/۵٪) ولی در بیماران با ژنوتیپ 3a بیشترین فراوانی در گروه سنی ۲۰-۳۰ سال (۵ نفر- ۲۰٪) بود (نمودار ۲).



نمودار ۲- توزیع مبتلایان به هپاتیت C بر اساس مقدار ویروس هپاتیت و گروه های سنی

روش کار

در این تحقیق توصیفی ۳۸۴ نفر از بیماران مبتلا به هپاتیت C که در طی سالهای ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۴ به یکی از کلینیک های هپاتیت تهران مراجعه کرده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند و طی آن سرم بیماران از نظر نوع ژنوتیپ HCV و تعداد ویروس (viral load) بررسی گردید.

یک صد میکرولیتر از سرم بیماران مبتلا به هپاتیت C که از نظر سرمی مثبت و دارای آنتی بادی بر علیه هپاتیت C بودند در مقدار $400 \mu\text{l}$ محلول لیز حاوی پنج مولار گوانیدین تیوسیانات حل شده و پس از ورتکس کردن مقدار 500 میکرولیتر ایزوپروپانل به آن اضافه شد. این محلول بخوبی مخلوط و سپس در 16000 دور سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ محلول روئی بدقت خارج شده و RNA باقیمانده با محلول 70% اتانل شستشو داده شد. سپس RNA که بصورت رسوب در ته لوله مشهود بود در مقدار 1000 cc بافر تریس با $\text{PH}=8$ حل شده و مقدار 5 میکرولیتر از این محلول جهت تهیه cDNA استفاده شد.

بمنظور تهیه cDNA پنج میکرولیتر از محلول RNA به لوله مربوط به واکنش ترانسکریپسیون معکوس حاوی 20 پیکومول راندوم هگزامر، 200 واحد آنزیم ترانسکریپسیون معکوس، 8 واحد مهار کننده آنزیم RNAse، ده نانومول از هر کدام از بازهای الی دزاکسی نوکلئوتید تری فسفات و 2 میکرولیتر از بافر PCR با غلظت 10 برابر اضافه شده و حجم واکنش به 20 میکرولیتر افزایش یافت. سطح واکنش با 20 میکرو لیتر روغن معدنی پوشانده و برای مدت 60 دقیقه در حرارت 42 درجه قرار داده شد. از این واکنش مقدار 5 میکرولیتر برای انجام PCR مرحله اول استفاده شد. کلیه مراحل واکنش PCR مرحله اول و واکنش PCR مرحله دوم مشابه با آنچه اوهنو و همکاران (۱۹۹۷) توصیف نموده اند انجام پذیرفت. پس از انجام PCR، محصول PCR بر روی ژل آگارز 3 درصد الکتروفورز و با اتیدیوم برآمید رنگ امیری و ژنوتیپ بر اساس وزن ملکولی هر محصول PCR تعیین شد.

یافته ها

از ۳۸۴ نفر مورد بررسی 307 نفر (۷۹/۹٪) مرد و 77 نفر (۲۰/۱٪) زن بودند. میانگین سنی ایشان $13 \pm 36/5$ سال بود. کوچکترین فرد مورد بررسی یک پسر 8 ساله و مسن ترین فرد، یک مرد 76 ساله بود. در تقسیم بندی گروه های سنی، بیشترین فراوانی در گروه سنی $20-30$ سال (۹۵ نفر- $24/7\%$) و پس از آن در گروه سنی $40-50$ سال (۹۴ نفر- $24/5\%$) بود. همچنین تنها تعداد 17 نفر (۴/۴٪) از افراد در گروه سنی بالای 60 سال قرار داشتند.

نتایج مربوط به آزمایش تعیین ژنوتیپ ویروس هپاتیت C برحسب تعداد ویروس (viral load)، در نمودار شماره ۱ ارائه شده است. بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ 1a می باشد که 154 نفر (۴۰/۱٪) را بخود اختصاص می دهد. پس از آن به ترتیب ژنوتیپ 3a (۱۰۵ نفر - $27/3\%$) و 1b (۴۳ نفر - $11/2\%$) بود. ژنوتیپ 7a نمونه (۱۹/۸٪) قابل تعیین کردن (not typable) نبود. هم چنین ژنوتیپ mixed در تنها ۳ مورد از نمونه ها (۰/۸٪) مشاهده شد که شامل 3 & 1a و 2 & 3a بود. تعداد ویروس در 205 نمونه (۵۳/۴٪) کمتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر بود و در 95 نمونه (۲۴/۷٪) بالاتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر بود. در 79 بیمار (۲۰/۶٪) تعداد ویروس قابل اندازه گیری نبود. در نمونه های بالاتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر ۴۷ مورد (۴۹/۵٪) ژنوتیپ 1a داشتند و پس از

درصد بیماران با تعداد ویروس بیش از 10^6 در ژنوتیپ 1b دیده شده است، مطابقت دارد. تحقیقی در اسپانیا (سال ۲۰۰۳) ۲۸۱ بیمار مبتلا به هپاتیت C را از نظر ژنوتیپ و تعداد ویروس مورد بررسی قرار داد. در این مطالعه گزارش شده است که بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ 1b (۳۸/۴٪) و 3a (۲۳/۱٪) بود. همچنین بیماران با ژنوتیپ 3 دارای تعداد ویروس بالاتری بودند که با مطالعه فعلی ما تفاوت دارد (۱۶). در تحقیق دیگری نیز در این کشور بیشترین تعداد ویروس به ترتیب در ژنوتیپهای 1a، 1b و 3a گزارش شده است (۱۷).

در مطالعه فعلی همان طور که ذکر شد، با وجود اینکه درصد مردان در بیماران با تعداد ویروس بالاتر از 10^6 بیشتر از زنان بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین در خصوص ارتباط سن و تعداد ویروس، نتایج نشان داد که با افزایش سن تا گروه سنی ۵۰-۴۰ سال فراوانی افراد با تعداد ویروس بالاتر از 10^6 افزایش می یابد و پس از آن کاهش نشان می دهد ولی ارتباط سن با تعداد ویروس از نظر آماری معنی دار نبود. مطالعات متعددی در مورد ارتباط پاسخ به درمانهای هپاتیت C با نوع ژنوتیپ و تعداد ویروس انجام گرفته است (۶ و ۱۹ و ۲۰). در تحقیقی در ژاپن (سال ۲۰۰۴) گزارش شده است که میزان پاسخ درازمدت به اینترفرون در بیماران با ژنوتیپ 1b و تعداد ویروس زیاد بیشتر بوده است (۲۰). در مطالعه دیگری در ژاپن نیز پاسخ مناسب درمانی را در بیماران با تعداد ویروس زیاد و ژنوتیپ 2a گزارش کرده اند (۶). در تحقیقی در کشور نروژ که بر روی ۷۱ بیمار هپاتیت C انجام شد، بیان شد که بیماران با ژنوتیپ 2b و 3a و با تعداد ویروس کم بدون سیروز کبدی، پاسخ اولیه مناسبتری به درمان با اینترفرون نشان می دهند (۲۱).

نتیجه گیری

در مجموع، در مطالعه حاضر، ارتباط تعداد ویروس و نوع ژنوتیپ کمابیش شبیه مطالعات سایر کشورها بوده است اما رابطه این دو عامل با پاسخ به درمانهای ضدویروسی بررسی نشد. با توجه به اینکه این مسئله در گام بعدی برای تعیین نوع و مدت درمان اهمیت بسزایی دارد، نیاز به مطالعات تکمیلی در این رابطه احساس می گردد.

تعداد کل بیماران در طی سالهای ۸۲، ۸۳ و ۸۴ به ترتیب ۱۴۲ نفر (۳۷٪)، ۲۲۲ نفر (۵۷/۸٪) و ۲۰ نفر (۵/۲٪) بود. درصد بیمارانی که تعداد ویروس نمونه های آنها بیشتر از 10^6 ویروس در میلی لیتر بود از به ترتیب ۳۴/۵٪، ۱۸/۹٪ و ۲۵٪ بود ($P=0/007$).

بحث

از ۳۸۴ بیمار مورد بررسی اکثریت را مردان تشکیل داده و از نظر سنی نیز بطور متوسط در حدود میانسالی قرار داشتند و کمتر از ۵ درصد آنها سن بیشتر از ۶۰ سال داشتند.

نتایج تعیین ژنوتیپ بیماران نشان داد که در کل بیماران بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به ژنوتیپ 1a، 3a و 1b بود و در حدود ۲۰ درصد از نمونه ها قابل اندازه گیری از نظر ژنوتیپ نبود. مطالعاتی که در آمریکا در خصوص فراوانی ژنوتیپ بیماران صورت گرفته است، نتایج مشابهی با مطالعه فعلی داشته اند (۲ و ۹-۷). بطور مثال در مطالعه ای در سال ۱۹۹۹، ۴۹ بیمار مبتلا به هپاتیت C بررسی شدند که در آنها فراوانی انواع ژنوتیپ شامل ژنوتیپ 1a (۴۷٪)، 1b (۳۵٪)، 2a (۴٪)، 2b (۶٪)، 3a (۴٪) و mixed (۴٪) بود (۷).

در مطالعات مشابهی که در اروپا در این زمینه انجام شده است، نتایج کمی متفاوت است به طوری که در غالب این مطالعات ژنوتیپ 1b از بیشترین فراوانی برخوردار است (۱۴-۱۰). بطور نمونه در تحقیقی در کشور فرانسه که ۱۸۷۲ بیمار مبتلا به هپاتیت C از سال ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۷ مورد ارزیابی قرار گرفتند، بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به ژنوتیپ 1b (۴۱٪)، 3 (۲۲٪)، 1a (۱۶٪)، ۴ (۴٪) و mixed (۴٪) بود (۵). البته در مطالعه مشابهی که در سال ۱۹۹۸ در اسپانیا بر روی ۱۲۸ بیمار هپاتیت C انجام شد بیشترین فراوانی ژنوتیپ به ترتیب 1b (۴۶/۱٪)، 1a (۲۳/۴٪) و 3a (۱۳/۳٪) بود (۱۵).

در خصوص ارتباط نوع ژنوتیپ و تعداد ویروس سرم، تحقیقات اندکی در دنیا انجام گرفته است. در مطالعه ای در کشور آلمان که بر روی ۳۷۹ بیمار مبتلا به هپاتیت C صورت گرفت، گزارش شده است که بیماران با ژنوتیپ 3 بطور معنی داری تعداد ویروس سرم آنها از تعداد ویروس بیماران با ژنوتیپ 1 و 2 کمتر است (۱). این مسئله با نتایج مطالعه فعلی که بیشترین

REFERENCES

1. Berg T, Hopf U, Stark K, Baumgarten R, Lobeck H, Schreier E. Distribution of hepatitis C virus genotypes in German patients with chronic hepatitis C: correlation with clinical and virological parameters. *J Hepatol.* 1997;26:484-91.
2. Lau JY, Davis GL, Prescott LE, Maertens G, Lindsay KL, Qian K, et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen at tertiary referral centers in the United States. Hepatitis Interventional Therapy Group. *Ann Intern Med.* 1996;124:868-76.
3. Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B, Landais P, Berthelot P, Brechot C. Hepatitis C virus type 1b (II) infection in France and Italy. Collaborative Study Group. *Ann Intern Med.* 1995;122:161-8.

4. Zein NN, Rakela J, Krawitt EL, Reddy KR, Tominaga T, Persing DH. Hepatitis C virus genotypes in the United States: epidemiology, pathogenicity, and response to interferon therapy. Collaborative Study Group. *Ann Intern Med.* 1996;125:634-9.
5. Martinot-Peignoux M, Roudot-Thoraval F, Mendel I, Coste J, Izopet J, Duverlie G, et al. Hepatitis C virus genotypes in France: relationship with epidemiology, pathogenicity and response to interferon therapy. *The GEMHEP. J Viral Hepat.* 1999;6:435-43.
6. Nakamura H, Ogawa H, Kuroda T, Yamamoto M, Enomoto H, Kishima Y, et al. Interferon treatment for patients with chronic hepatitis C infected with high viral load of genotype 2 virus. *Hepatogastroenterology.* 2002;49:1373-6.
7. Rosen HR, Chou S, Sasaki AW, Gretch DR. Molecular epidemiology of hepatitis C infection in U.S. veteran liver transplant recipients: evidence for decreasing relative prevalence of genotype 1B. *Am J Gastroenterol.* 1999;94:3015-9.
8. Picchio GR, Nakatsuno M, Boggiano C, Sabbe R, Corti M, Daruich J, et al. Hepatitis C (HCV) genotype and viral titer distribution among Argentinean hemophilic patients in the presence or absence of human immunodeficiency virus (HIV) co-infection. *J Med Virol.* 1997;52:219-25.
9. Samimi-Rad K, Nategh R, Malekzadeh R, Norder H, Magnus L. Molecular epidemiology of hepatitis C virus in Iran as reflected by phylogenetic analysis of the NS5B region. *J Med Virol.* 2004;74:246-52.
10. Bortolotti F, Vajro P, Balli F, Giacchino R, Crivellaro C, Barbera C, Hepatitis C virus genotypes in chronic hepatitis C of children. *J Viral Hepat.* 1996;3:323-7.
11. Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Rosario P, Mormone G, Ragone E, Pasquale G, Ruggiero G. Relationship between genotypes of hepatitis C virus and histopathological manifestations in chronic hepatitis C patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12:299-304.
12. Saracco G, Sostegni R, Ghisetti V, Rocca G, Cariti G, Andreoni M, et al. Hepatitis C virus genotypes in a non-cirrhotic Italian population with chronic hepatitis C: correlation with clinical, virological and histological parameters. Results of a prospective multicentre study. *J Viral Hepat.* 2000;7:124-9.
13. Di Tommaso L, Macchia S, Morandi L, Leoncini S, Pession A, Dal Monte PR, Foschini MP. Correlation between histologic staging, hepatitis C virus genotypes and clinical features in HCV chronic hepatitis: evidence of a new pattern. *Int J Surg Pathol.* 2003;11:197-204.
14. Bosmans JL, Nouwen EJ, Behets G, Gorteman K, Huraib SO, Shaheen FA, et al. Prevalence and clinical expression of HCV-genotypes in haemodialysis-patients of two geographically remote countries: Belgium and Saudi-Arabia. *Clin Nephrol.* 1997;47:256-62.
15. Alonso P, Orduna A, San Miguel A, Dominguez E, Gutierrez P, Lorenzo B, et al. Genotypes of hepatitis C virus: their relationship with risk factors, the severity of liver disease, and the serologic response. *Med Clin (Barc).* 1998;110:681-6.
16. Rodriguez JC, Garcia J, Moya I, Ayelo A, Vazquez N, Sillero C, Royo G. Genetic variability of hepatitis C virus in the health area of Elche (Spain). Correlation between core antigen and viral load. *Gastroenterol Hepatol.* 2003;26:407-10.
17. Garcia F, Roldan C, Hernandez-Quero J, Bernal MC, Martinez MA, Lopez MA, Piedrola G, Maroto MC. Relationship between viral genotype and viral load in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15:884-7.

18. Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, et al. Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology*. 2005;48:372-80.
19. Watanabe K, Yoshioka K, Yano M, Ishigami M, Ukai K, Ito H, Miyata F, Mizutani T, Goto H. Mutations in the nonstructural region 5B of hepatitis C virus genotype 1b: their relation to viral load, response to interferon, and the nonstructural region 5A. *J Med Virol*. 2005;75:504-12.
20. Arase Y, Suzuki F, Tsubota A, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, et al. Sustained negativity for HCV-RNA over 24 or more months by long-term interferon therapy correlates with eradication of HCV in patients with hepatitis C virus genotype 1b and high viral load. *Intervirology*. 2004;47:19-25.
21. Bjoro K, Bell H, Myrvang B, Skaug K, Raknerud N, Sandvei P, Storseth S, Ritland S, Lund-Tonnesen S, Bucher A, Hellum KB. Effect of interferon-alpha induction therapy on genotype 2b/3a and low viral load hepatitis C virus infection. A randomized multicentre study. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37:344-9.