فراوانی ژنوتایپ‌های هپاتیت C در مبتلایان به عفونت هپاتیت C در استان لرستان طی سال‌های 91 - 1388

محمدرضا ناظر[1]؛ بهروز بیرانوند[2]*؛ ضیاء عبیداوی[3]؛ امید بیکی[4]

چکیده

زمینه: تعیین ژنوتیپ هپاتیت C در تعیین جنبه‌های مختلف این عفونت از جمله اپیدمیولوژی، پاتوژنز و پاسخ به درمان‌های ضدویروسی اهمیت دارد. هدف از این مطالعه بررسی شیوع ژنوتایپ‌های هپاتیت C در بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک عفونی شهر خرم‌آباد است.

روش‌ها: در این مطالعه از میان تمامی بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک عفونی شهر خرم‌آباد طی یک بازه چهارساله، تعداد 120 نفر که دارای شرایط ورود به مطالعه بودند مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این بررسی سرم افراد مبتلا به هپاتیت C با روش PCR از نظر نوع ژنوتایپ هپاتیت C بررسی گردید.

یافته‌ها: از 120 بیمار مورد مطالعه 101 نفر (84/2٪) مرد و 19 نفر (15/8٪) زن بودند. بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتایپ 3a با 65 درصد موارد و پس از آن به‌ترتیب 1a با 24/2، 1a,1b با 5 و 2a با 1/7 درصد بود. از میان تمام نمونه‌های مورد بررسی در کل ژنوتایپ، 5 نفر (4/2٪) قابل تعیین نبود. در این مطالعه میان جنسیت و ژنوتیپ و نیز میان گروه سنی و ژنوتیپ رابطه معناداری مشاهده نشد. همچنین 18/3 درصد از بیماران مورد بررسی HIV مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: شایع‌ترین ژنوتایپ در این مطالعه ژنوتایپ 3a به‌دست آمد که با ژنوتایپ شایع در کشورهای عربی، اروپایی، آمریکایی و آفریقایی همخوانی ندارد. همچنین در این بررسی ژنوتایپ 1a دومین ژنوتایپ شایع بود درحالی‌که در بسیاری از مطالعات داخلی، ژنوتایپ 1a شایع‌ترین ژنوتایپ به‌دست آمده است.

کلیدواژه‌ها: هپاتیتC، ژنوتیپ، ویروس، HIV

«دریافت: 1392/9/10 پذیرش: 1393/2/9»

1.گروه بیماری‌های عفونی، مرکزتحقیقات هپاتیت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

2. گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

3. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

4. مرکز تحقیقات عوامل محیطی موثر بر سلامت کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

***عهده‌دار مکاتبات:**کرمانشاه، میدان ایثار، جنب بیمارستان فارابی ،دانشکده بهداشت، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، تلفن: 0831-8264447

Email: behroz.beiran@yahoo.com

مقدمه

ویروس هپاتیت C (HCV) با قطر تقریبی 50nm دارای ژنومی متشکل از یک مولکول RNA تک‌رشته‌ای به طول تقریبی 10 کیلو باز بوده و به خانواده فلاوی ویریده و جنس هپاسی ویروس (hepacivirus) تعلق دارد (1). ویروس‌های هپاتیت C متفاوتی از مناطق مختلف جهان ایزوله شده، که اساساً در توالی نوکلئوتیدی نواحی مختلف ژنوم، خود با یکدیگر تفاوت دارند. بر اساس هتروژنی (ناهمگونی) توالی نوکلئوتیدهای ایزوله‌های مزبور، انواع HCV را به 6 ژنوتایپ اصلی (1-6) و 11 ژنوتایپ فرعی (1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 5a, 6a) طبقه‌بندی کرده‌اند (2).

مطالعات متعددی بر روی اهمیت کلینیکی و آزمایشگاهی تعیین ژنوتایپ HCV صورت گرفته است

که اهمیت تعیین ژنوتایپ ویروس آلوده‌کننده فرد بیمار را در بررسی بسیاری از جنبه‌های عفونت HCV شامل اپیدمیولوژی، پاتوژنز و پاسخ به درمان‌های ضد ویروسی و همچنین ارزیابی کارایی و انتخاب روش مناسب برای تشخیص و غربالگری نمونه‌های آلوده به HCV (3) به اثبات می‌رساند. گرچه به‌نظر می‌رسد ژنوتایپ ویروس تأثیر چندانی در انتقال، میزان تکثیر و یا میزان و سرعت پیشرفت به سمت فیبروز کبدی و سیروز و همچنین در سرنوشت نهایی عفونت ندارد، اما نوع ژنوتایپ ویروس بیانگر احتمال پاسخ به درمان‌های فعلی با انواع اینترفرون است (4).

سوزن آلوده و سایر پارافرنالیاهای (parafernalia) همراه با تزریق مواد مخدر در حال حاضر شایع‌ترین راه انتقال عفونت هپاتیت C در اکثر کشورهای توسعه‌یافته است. انتقال جنسی HCV نیز امکان‌پذیر اما غیرشایع است (4). سایر راه‌های انتقال شامل تماس مکرر با خون آلوده در بین پرسنل بهداشتی درمانی و انتقال پری‌ناتال از مادر به نوزاد می‌باشد. از سویی دیگر انتقال از طریق خالکوبی، حجامت و مراسم خاص قربانی کردن نیز امکان‌پذیر اما بسیار نادر است (4). مطالعات صورت‌گرفته در ارتباط با شیوع HCV در کشورهای مختلف حاکی از آن است که حدود 3 درصد از کل جمعیت جهان (170 میلیون نفر) به ویروس هپاتیت C آلوده بوده و در حال حاضر این عفونت شایع‌ترین عامل بیماری پیشرفته و بدخیم کبد در بسیاری از کشورها است (5). شیوع عفونت HCV نیز در ایران بر اساس مطالعات محدود انجام‌شده 12-5 درصد تخمین زده می‌شود، به‌عبارتی دیگر حدود 300-200 هزار نفر آلوده به HCV در ایران وجود دارد (6).

بررسی‌های صورت‌گرفته در خصوص توزیع انواع ژنوتایپ‌های این ویروس بر حسب متغیرهای مختلف از جمله جنس، سن، تعداد ویروس در سرم (Viral load)، پاسخ به درمان و پایداری وضعیت بهبود در بیماران درمان‌شده حاکی از متناقض بودن نتایج در کشورهای مختلف و بر اساس مناطق مختلف جغرافیایی و نژادی بوده است، که این مسأله خود لزوم انجام این‌گونه مطالعات را در کشورهای دیگر از جمله ایران روشن می‌سازد. در این راستا مطالعه حاضر به‌منظور بررسی شیوع ژنوتایپ‌هایHCV در بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک عفونی شهر خرم‌آباد انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه مقطعی است که بر روی تمامی بیماران مبتلا به HCV مراجعه‌کننده به کلینیک عفونی شهرستان خرم‌آباد از سال 91-1388 انجام گرفت. بیمارانی که HCV Ab آن‌ها توسط روش الیزا مثبت و توسط روش وسترن بلات تأیید شده بودند وارد مطالعه شدند. پس از جمع‌آوری اطلاعات اپیدمیولوژیک (سن، جنس، تعیین راه‌های احتمالی انتقال بیماری و غیره) برای هر کدام از بیماران آزمایش PCR انجام پذیرفت. بدین‌منظور 5 سی‌سی خون از هر فرد اخذ و دو قطره از محلول EDTA 7/5٪ به آن اضافه گردید. پس از سانتریفوز پلاسما جدا و به میکروتیوب 1/5سی‌سی انتقال داده شد و سپس جهت PCR و تعیین ژنوتایپ با روش amplify و اطلاعات سکانس‌های توالی 5UTR و NB5B آماده گردید. تمامی آزمایش‌های تعیین ژنوتیپ با استفاده از کیت‌های ساخته‌شده توسط شرکت Roch و در آزمایشگاه قلهک تهران صورت پذیرفت. پس از تعیین ژنوتایپ پاسخ به‌صورت کد ارجاع گردید. یافته‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $P<0/05$ سطح معناداری اختلاف‌ها قرار داده شد.

یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش 120 بیمار مبتلا به هپاتیت C بود که از این تعداد 101 نفر (84/2٪) مرد و 19 نفر (15/8%) زن بودند. میانگین سنی بیماران مبتلا به هپاتیت C مورد مطالعه در این پژوهش 36/54±10/29

سال با حداکثر سن **70** و حداقل سن **18** سال بود. رفتارهای پرخطر (تزریق، سرنگ مشترک، رابطه جنسی، زندان و...) در **67** نفر **(55/83٪)** وجود داشت و حدود **58** نفر **(48/33%)** از بیماران سابقه مصرف مواد مخدر به‌صورت تزریق داخل وریدی را گزارش کردند. در تقسیم‌بندی گروه‌های سنی، بیشترین فراوانی در گروه سنی **25-40** سال **(60/8%)** و کم‌ترین فراوانی مربوط به گروه سنی بالای **55** سال بود که تنها تعداد **9** نفر **(7/5%)** از افراد در آن گروه قرار داشتند (جدول**1**).

بیشترین ژنوتایپ جداشده در این مطالعه 3a **(65%)** و 1a **(24/2%)** بود و ژنوتایپ‌های 1a,1b **(5%)** و 2a **(1/7%)** در رده‌های بعدی قرار داشتند. ژنوتایپ **5** نفر از نمونه‌ها **(4/2%)** قابل تعیین (not typable) نبود.

بررسی توزیع فراوانی نتیجه آزمایش تعیین ژنوتایپ HCV بر اساس گروه‌های سنی مورد مطالعه (جدول **2**) نشان داد که در همه گروه‌های سنی ژنوتایپ غالب 3a است به‌طوری‌که در گروه‌های سنی زیر **25** سال، گروه **25-40** سال، گروه **40-55** سال و گروه سنی بالاتر از **55** سال، ژنوتایپ 3a به‌ترتیب **50 (7/14)**، **65/75(48/73)**، **66/67 (16/24)** و **77/78 (7/9)** درصد بود. همچنین بیشترین میزان فراوانی ژنوتایپ‌های 1a و 3a در گروه سنی **25-40** سال به‌ترتیب با **68/96** و **61/54** درصد و بیشترین میزان فراوانی ژنوتایپ 2a در گروه سنی زیر **25** سال **(100%)** قرار داشت. با وجود تفاوت‌های موجود، از نظر آماری ارتباط معناداری میان نوع ژنوتایپ و گروه-های سنی مشاهده نگردید **(P=0/11)** (جدول **2**).

جدول 1- توزیع فراوانی گروه‌های سنی به تفکیک جنسیت

گروه سنی	جنسیت				کل	
	مذکر		مؤنث			
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
<25	9	8/9	5	26/3	14	11/7
25-40	68	67/3	5	26/3	73	60/8
40-55	17	16/8	7	36/8	24	20
≥55	7	6/9	2	10/5	9	7/5
کل	101	100	19	100	120	100

جدول2- توزیع فراوانی نتیجه آزمایش تعیین ژنوتایپ HCV بر اساس گروه‌های سنی

گروه سنی	ژنوتایپ (فراوانی (درصد))					تعداد کل	Pvalue
	1a	1a/1b	2a	3a	غیرقابل تشخیص		
≤25	4(28/6)	0(0)	2(14/3)	7(50)	1(7/1)	14(100)	
25-40	20(27/4)	1(1/4)	0(0)	48(65/8)	4(5/5)	73(100)	
40-55	3(12/5)	5(20/8)	0(0)	16(66/7)	0(0)	24(100)	0/11
≥55	2(22/2)	0(0)	0(0)	7(77/8)	0(0)	9(100)	
تعداد کل	29(24/2)	6(5)	2(1/7)	78(65)	5(4/2)	120(100)	

جدول 3 - توزیع فراوانی نتیجه آزمایش تعیین ژنوتایپ HCV بر اساس جنس

جنس	ژنوتایپ												تعدادکل		Pvalue
	1a		1a/1b		2a		3a		غیرقابل تشخیص						
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	
مذکر	28	27/7	6	5/9	2	2	60	59/4	5	5	101	100			
مونث	1	5/3	0	0	0	0	18	94/7	0	0	19	100			0/42
تعداد کل	29	24/2	6	5	2	1/7	78	65	5	4/2	120	100			

همچنین بررسی توزیع فراوانی نتیجه آزمایش تعیین ژنوتایپ HCV در هر جنس در جمعیت مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان فراوانی ژنوتایپ HCV در هر دو جنس مذکر و مؤنث مربوط به ژنوتایپ 3a به‌ترتیب با **59/4 (60/101)** و **94/7 (18/19)** درصد می‌باشد. در این مطالعه ارتباط آماری معناداری بین نوع ژنوتایپ و جنس مشاهده نگردید **(P=0/42)** (جدول**3**).

از سوی دیگر **22** نفر از کل بیماران مورد مطالعه علاوه بر HCV، دارای عفونت همزمان HIV نیز بودند. در این بررسی ارتباط آماری معناداری میان ابتلا به HIV و ژنوتایپ، جنس و گروه سنی مشاهده نشد **(P>0/05)**.

بحث

این مطالعه اولین گزارش از وضعیت اپیدمیولوژی مولکولی ویروس هپاتیت C در استان لرستان است. طبق نتایج به‌دست‌آمده، تعداد بیماران مرد به‌طور قابل‌توجهی از زنان بیشتر است و شاید بتوان دلیل آن را بیشتر بودن رفتارهای پرخطری همچون تزریق مواد مخدر در میان مردان دانست. در مطالعات دیگری که در کشورهای اروپایی و آمریکا صورت گرفته نیز تعداد مردان مبتلا نسبت به زنان به همین دلیل بیشتر بوده است **(7)**. ژنوتایپ‌های غالب در این مطالعه، ژنوتایپ‌های 3a و 1a می‌باشد و ژنوتایپ **4/3** درصد از بیماران غیرقابل تشخیص بودند که دلیل آن می‌تواند محدودیت روش استفاده‌شده جهت جداسازی ژنوتایپ باشد.

ژنوتایپ غالب در مطالعه حاضر با ژنوتایپ‌های غالب در کشورهای عربی همسایه ایران از جمله عربستان سعودی، کویت، عمان، یمن، عراق، مصر و آفریقا متفاوت است. شایع‌ترین ژنوتایپ در این کشورها IV است **(8، 9 و 10)**. همچنین ژنوتایپ غالب مطالعه حاضر با کشورهای همسایه ایران از جمله ترکیه و روسیه **(11و 12)**، بسیاری از کشورهای اروپایی همچون فرانسه **(13)** و اسپانیا **(14)** و کشورهای آمریکای شمالی **(15)** که ژنوتایپ I در آن‌ها شایع گزارش شده متفاوت است. علت تفاوت موجود را می‌توان به بالا بودن آمار معتادان تزریقی در مطالعه حاضر **(48/33%)** نسبت داد چراکه مطالعات اپیدمیولوژیک مولکولی بسیاری حاکی از ارتباط بین انتقال ژنوتیپ 3a و سابقه اعتیاد تزریقی مواد مخدر بوده‌اند **(7 و 20-18)**، به‌عبارتی دیگر variantهای ژنوتایپ 3a را می‌توان به‌صورت یک اپیدمی جهانی در گروه‌های تزریقی به حساب آورد. نتایج این پژوهش با نتایج مطالعات صورت‌گرفته در کشورهای شرقی ایران مثل پاکستان، هند و نپال که در آن‌ها ژنوتایپ III به‌عنوان شایع‌ترین ژنوتایپ معرفی شده است، مشابه است.

ژنوتایپ بعدی شایع در این بررسی، 1a بود که در بسیاری از مطالعات نیز جزء ژنوتایپ‌های شایع اول یا دوم بوده است **(6، 15 و 21)**. به‌طور مثال مطالعه‌ای که بر روی **125** نمونه جمع‌آوری‌شده از جنوب، شمال و غرب ایران و تهران صورت گرفته، نشان داد که ژنوتایپ 1a شایع‌ترین ژنوتایپ **(47%)** می‌باشد **(22)**.

این بررسی نشان داد که ژنوتایپ 3a در هر دو جنس شایع‌ترین ژنوتایپ است درحالی‌که در مطالعه مرادی و همکاران در استان گلستان (23) شایع‌ترین ژنوتایپ در بین مردان 3b و در بین زنان 1b بود. علت این تفاوت را می‌توان به ریسک‌فاکتورهای مختلفی نسبت داد که به‌دلیل اختلاف فرهنگی و عادات اجتماعی و بهداشتی از جامعه‌ای به جامعه دیگر متفاوت است.

بر اساس نتایج این مطالعه، ژنوتایپ 3a در تمامی گروه‌های سنی شایع‌ترین ژنوتایپ بود. ولی در مطالعه‌ای در کشور ایتالیا که بر روی 50 نمونه صورت گرفته، ژنوتایپ 1b در تمام سنین، ژنوتایپ 2a بیشتر در بزرگسالان و ژنوتایپ 3a فقط در بزگسالان دیده شد (24).

در این بررسی 18/33 درصد از بیماران عفونت همزمان HCV و HIV داشتند درحالی‌که در مطالعه افشاریان و همکاران در کرمانشاه 42/62 درصد از بیماران به عفونت همزمان HCV و HIV مبتلا بودند که علت این تفاوت موجود را نیز می‌توان به اختلاف فرهنگی و عادات اجتماعی و بهداشتی نسبت داد (25).

بنابراین پیشنهاد می‌شود این‌گونه مطالعات در مقیاس وسیع‌تری انجام شوند، تا بتوان نتیجه‌گیری دقیق‌تری از آن‌ها به‌دست آورد و نتایج حاصل را در مدیریت درمان این بیماری مورد استفاده قرار داد.

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بالاتر ژنوتایپ 3 در لرستان و نظر به هزینه و عوارض بالای درمان داروهای هپاتیت C و این‌که طول درمان ژنوتایپ‌های 3 و 2 نسبت به دیگر ژنوتایپ‌ها، حداقل شش ماه کم‌تر بوده و پاسخ درمانی بهتر و SVR طولانی‌تری می‌دهند، عاقلانه به‌نظر می‌رسد قبل از شروع درمان هپاتیت C، بیماران از نظر ژنوتایپ نیز بررسی گردند.

تشکر و قدردانی

در پایان نویسندگان از اساتید و کارکنان گرامی دانشکده بهداشت و گروه بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و پرسنل محترم کلینیک و بخش بیماری‌های عفونی بیمارستان شهدای عشایر خرم‌آباد لرستان که در این تحقیق ما را یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Theodore D, Lemon SM. GB virus C, Hepatitis C virus, or human orphan flavi virus. Hepatology. 1997;25:1285-6.
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(1):868-76.
3. Zein NN, Rakela J, Persing DH. Genotype-dependent serologic reactivities in patients infected with hepatitis C virus in United States. Mayo Clin Proc. 1995;70(5):449-52.
4. Svirtlih N, Delic D, Simonovic J, Jevtovic D, Dokic L, Gvozdenovic E, et al. Hepatitis C virus genotypes in Serbia and Montenegro: The prevalence and clinical signifi cance. World J Gastroenterol. 2007;13(3):355-60.
5. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. J Hepatol. 2008;48:148-62.
6. Keyvani H, Alizadeh H, Alavian SM. Distribution frequency of hepatitis C virus genotype in 2231 patients Iran. Hepato Res. 2007;37:101-3.
7. MatheI C. Molecular epidemiology of hepatitis C among drug users, correlation with clinical parameters, sexual behavior and drug-related behavior. ESCMID. 2004;14:1575.
8. Osoba A , Ibrahim M. Hepatitis C virus genotyping by polymerase chine Reaction and Enzyme immunoassay Among Saudi patients in the western province, Saudi Arabia. Ann Saudi med. 2000;20(5-6):394-7.
9. TanakaY, Salah A, Fuat N. Exponential spread of hepatitis C virus Genotype 4a in Egept. J Mol Evol. 2004;58(2):191-5.

10. Lz Xu, Larzul D, Delapporte E, Brechot C, Kremsdorf. HCV genotype 4 is highly prevalent in central Africa. J Gen Virol. 1994;45: 2393-8.
11. L.vov Dk, Mishiro S, Selivanov NA, Samokhvalov EI, Shakhgildian IV, Stakhanova YM, et al. Prevalence of genotypes of HCV, circulating in northwestern and central parts of Russia. Vopr Virusol. 1995;40(6):251-3.
12. Esra y, Asli O, Funda S, Ergun P, Rengul C, Hikmet A. Molecular characterization of a full Genome Turkish HCV 1b Isolate (HCV–TR1): A predominant viral from in Turkey. Virus Genes. 2002;25(2):169-77.
13. 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.
14. Alonso 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. 1998;110:681-6.
15. 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.
16. Shah HA, Jafri W, Malik I, Prescott L, Simmond P. HCV genotypes and chronic liver disease in Pakistan. J Gastroenterol Hepatol. 1997;12(11):758-61.
17. Amara purkar D, Dhorda M, Kirpalan A. prevalence of HCV genotypes In Indian patients and their clinical significance. J Assoc physicians India. 2001;49:983-5.
18. Fakeeh M, Zaki AM. Hepatitis C: prevalence and common genotypes among ethnic groups in Jeddah, Saudi Arabia. Am J Trop Med Hyg. 1999;61:889-92.
19. Pacsa AS, Al-Mufti S, Chugh TD. Genotypes of hepatitis C virus in Kuwait. Med Princ Pract. 2001;10:55-7.
20. Moreno Planas JM, Fernández Ruiz M, Portero Azorin F. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in a Spanish liver transplant unit. Transplant Proc. 2005;37:1486-7.
21. Assaezadegan MA, Shakerinejad Gh, Norouzirad R, Amini A. Distribution of hepatitis C virus genotypes among patients with hepatitis C infection in Khuzestan province. Medical Science Journal. 2008;7:471-9.
22. Samimi-Rad K, Nategh R, Malekzadeh R. Molecular epidemiology of hepatitis C virus in Iran as reflected by phylogenic analysis of the NS5B region. J Med Virol. 2004;74:246-52.
23. Moradi A, Semnani SH, Keshtkar AA, Khodabakhshi B, Kazeminejad V, Molana AA, et al. Distribution of hepatitis C virus genotype among HCV infected patients in Golestan province, Iran. Journal of Gstroenterology. 2010;15:7-13.
24. Margraf RL, Erali M, Liew M, Wittwer CT. Genotyping hepatitis C virus by heteroduplex mobility analysis using temperature gradient capillary electrophoresis. J Clin Microbiol. 2004;42:4545-51.
25. Afsharian M, Raoufi R, Vaziri S, Janbakhsh AR, Mansouri F, Ghadiri K, et al. HCV genotypes in patients referred to Sina hospital in Kermanshah during 2005 to 2006. Journal of infectious and tropical disease. 2007;39:19-23.