

Seroprevalencia del virus de la hepatitis C en la población general

M.^a Montserrat Chimenó, Ángel Chocarro, Purificación Brezmes^a, Carlos Ochoa^b y José Pérez^a

Servicios de Medicina Interna, ^aAnálisis Clínicos y ^bUnidad de Investigación. Hospital Virgen de la Concha. Zamora.

INTRODUCCIÓN. Determinar la prevalencia de infección por el virus de la hepatitis C (VHC) en la población general de la provincia de Zamora y analizar los factores de riesgo asociados.

PACIENTES Y MÉTODO. Se diseñó un estudio transversal, observacional, descriptivo de ámbito poblacional. Se seleccionaron de forma aleatoria 1.973 individuos mayores de 14 años, estratificados por edad y sexo. El estudio comprendía la realización de una encuesta con datos sociodemográficos y factores de riesgo, y extracción de sangre para determinación de anticuerpos frente al VHC por técnica de ELISA de tercera generación. La confirmación se realizó con técnica de inmunoblot. Asimismo, se determinaron los genotipos de los anticuerpos frente al VHC.

RESULTADOS. Se obtuvieron 600 estudios completos (encuesta y extracción de sangre), 657 encuestas y 675 sueros. Un total de once fueron positivos para el VHC y cinco fueron confirmados por inmunoblot. Estos correspondían a 3 varones y 2 mujeres; cuatro tenían domicilio urbano y todos presentaban alguno/s de los factores de riesgo conocidos para la adquisición de la infección.

CONCLUSIONES. La prevalencia de infección por VHC obtenida en nuestro medio fue del 0,74% (IC del 95%, 0,27-1,82); los sujetos seropositivos detectados en nuestro cribado poblacional tenían antecedentes de prácticas de riesgo parenterales y residían predominantemente en áreas urbanas.

Palabras clave: virus de la hepatitis C, epidemiología, prevalencia.

Seroprevalence of hepatitis C virus in the general population

AIM. To determine the prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and to study associated risk factors in the general population of the province of Zamora.

PATIENTS AND METHODS. For this transversal, observational, descriptive, population study, we randomly selected 1973 individuals over 14 years old and grouped them

according to age and sex. The study included completion of a questionnaire containing socio-demographic information and data on risk factors. Serum samples were collected for analysis of antibodies to HCV by means of a third-generation ELISA, and were confirmed by an immunoblot technique. Viral load and genotype analyses were carried out in positive cases by polymerase chain reaction technique.

RESULTS. Among the total, 600 complete studies (questionnaires and serum samples) 657 questionnaires and 675 samples were obtained. Eleven serum samples tested positive for HCV and among these, 5 were confirmed by immunoblot. The positive samples corresponded to 3 men and 2 women; 4 lived in urban settings and all 5 had one or more known risk factors for acquiring the infection.

CONCLUSIONS. The prevalence of HCV infection in our geographical area was 0.74% (95% CI, 0.27-1.82). The seropositive individuals detected in this population screening study had a history of parenteral risk activities and most lived in urban areas.

Key words: hepatitis C virus, epidemiology, prevalence.

Introducción

En 1989 se consiguió, después de laboriosas investigaciones, la identificación del virus de la hepatitis C (VHC) y comenzaron a desarrollarse técnicas de determinación de anticuerpos frente a éste^{1,2}. Desde entonces se han realizado numerosos estudios que han contribuido a un mejor conocimiento del VHC.

Se sabe que este virus es el responsable de la mayoría de la hepatitis no A, no B, tanto postransfusionales como esporádicas^{3,4}, y que gran parte de las infecciones agudas evolucionan hacia la cronicidad⁵⁻⁷, pudiendo, incluso, desarrollar complicaciones graves, como cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular⁸⁻¹⁰.

Aunque se han realizado gran cantidad de trabajos, siguen existiendo importantes lagunas en el conocimiento de este virus y de la enfermedad que origina. A esto contribuye la ausencia de un conocimiento epidemiológico más preciso, dado que la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en poblaciones restringidas y con evidentes sesgos de selección (donantes de sangre, usuarios de drogas por vía parenteral [UDVP], hemofílicos, etc.)¹¹⁻¹⁵. Son escasos los trabajos epidemiológicos realizados en la población general^{16,17} y muy pocos los llevados a cabo en nuestro país.

Correspondencia: Dra. M.M. Chimenó Viñas.
Santa Clara, 32, 1.º D. 49015 Zamora.

Manuscrito recibido el 8-05-2001; aceptado el 5-09-2001.

El objetivo del presente estudio es conocer la prevalencia, distribución y factores de riesgo asociados a la infección por VHC en la población general de nuestra área sanitaria. Asimismo, dadas las características de nuestra provincia, donde existe predominio de población rural, se llevó a cabo una comparación entre los datos obtenidos en los ámbitos urbano y rural.

Pacientes y método

Se diseñó un estudio transversal observacional descriptivo de ámbito poblacional.

Pacientes

Para la selección de la muestra se tomó como población de estudio a los sujetos mayores de 14 años atendidos por el INSALUD en el Área de Salud de Zamora (200.000 individuos) e incluidos en la base de datos de tarjetas sanitarias de la Dirección de Atención Primaria (182.000).

Se calculó un tamaño muestral de 1.600 individuos, considerando una prevalencia de seropositividad para el VHC en torno al 2%, un diseño de muestreo aleatorio estratificado por edad y sexo (8 estratos) y un intervalo de confianza de la estimación del 95% de $\pm 0,71\%$ ¹⁸. Los grupos de edad categorizados fueron: 15-29, 30-44, 45-60 y mayores de 60 años.

El tamaño muestral se incrementó hasta 1.973 estimando un porcentaje de pérdidas de 20%.

Métodos

El estudio comprendía la realización de una encuesta y la extracción de sangre para determinación de anticuerpos frente al VHC.

Cuestionario

Se diseñó un cuestionario de respuestas sencillas (sí, no, no especificado) que incluía datos sociodemográficos (edad, nivel de formación, domicilio rural/urbano, profesión) y factores de riesgo (acupuntura, extracciones dentales, ictericia/hepatopatía, transfusiones, intervenciones quirúrgicas menores, intervenciones quirúrgicas mayores, accidentes con heridas sangrantes, administración de fármacos por vía parenteral, administración de gammaglobulinas, ingresos hospitalarios, UDVP, contactos con personas afectadas de hepatopatías, contactos con UDVP, prácticas sexuales, existencia de pareja estable, contactos sexuales de riesgo, alcoholismo).

Se consideraron como población urbana los municipios con más de 5.000 habitantes (Zamora capital, con 64.000 censados, y los de los municipios de Benavente y de Toro, con unos 16.000 y 9.000 habitantes, respectivamente).

Respecto a las intervenciones quirúrgicas, se diferenció entre las realizadas antes y después de 1990 (año en el que se dispuso de pruebas serológicas para la determinación del VHC).

Para la realización del estudio se contactó con los médicos de atención primaria a los que se les remitió la documentación (encuesta, volante para extracción de muestra sanguínea y pegatinas identificativas para cada suero) de cada uno de los individuos seleccionados de su cupo. Asimismo, fue enviada una carta personalizada a cada sujeto seleccionado solicitando su colaboración y explicándole las características del trabajo.

Muestra de sangre

Aquellos pacientes seleccionados que querían colaborar eran citados en ayunas para la extracción de sangre (10 ml) en tubo seco. La determinación de anti-VHC se realizó con una técnica de enzoinmunoanálisis (AsSYM[®] HCV, versión 3.0, Abbott) y los casos reactivos se confirmaron mediante una técnica de inmunoblot

(MATRIX HCV 2.0 de Abbott). Los sueros indeterminados se estudiaron por técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para la detección de ARN-VHC (COBAS AMPLICOR[™] HCV Monitor, versión 2.0, Roche). La determinación de los genotipos de los sueros positivos se realizó mediante amplificación genética nested-PCR seguida de hibridación inversa.

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva de todas las variables del estudio (frecuencias absolutas y relativas, medias, medianas y desviación típica). Los intervalos de confianza se calcularon con el método exacto binomial del módulo EPITABLE del programa EpiInfo (CDC OMS versión 6.04 a).

Resultados

De los 1.973 pacientes seleccionados se obtuvieron 657 cuestionarios (33,3%) y 675 muestras de sangre (34,3%). Completaron el estudio (respondieron a la encuesta y se realizaron la extracción de sangre) 600 individuos (30,4%): 265 varones (44%) y 335 mujeres (56%). Por grupos de edad se consiguió una participación de 101 sujetos de 435 seleccionados entre 15 y 29 años, 144 de los 515 del segundo grupo (entre 30 y 44 años), 171 de los 458 seleccionados de entre 45 y 59 años y 184 de los 559 mayores de 60 años ($p < 0,0001$) (tabla 1).

De los 675 sueros, 315 (47%) pertenecían a varones y 360 (53%) mujeres; 260 correspondían a sujetos que residían en áreas urbanas y 415 tenían domicilio rural. Se obtuvo resultado positivo por ELISA de tercera generación en 11 sueros (1,6%), y fueron confirmados por inmunoblot únicamente en 5 casos; de los restantes, dos

TABLA 1. Resumen de los resultados de los estudios completos (encuesta y muestra de suero)

Variables	Número	Porcentaje	Positivos	OR (IC del 95%)
Sexo				1,9 (0,31-11,49)
Varón	265	44	3	
Mujer	335	56	2	
Domicilio				5,90 (0,66-53,63)
Urbano	243	40	4	
Rural	357	60	1	
Cirugía				1,83 (0,30-11,02)
Sí	269	45	3	
No	326	55	2	
NE	5			
Transfusión				
Sí	48	8	—	
No	536	92	5	
NE	16			
Gammaglobulinas				4,61 (0,76-27,9)
Sí	125	25	3	
No	377	75	2	
NE	98			
Fármacos i.v.				1,68 (0,18-15,16)
Sí	408	70	4	
No	171	30	1	
NE	21			
UDVP				213,38 (27,73-1643,75)
Sí	7	1	3	
No	571	99	2	
NE	28			
Riesgo sexual				4,43 (0,44-43,76)
Sí	37	7	1	
No	482	93	3	
NE	81			

U: urbano; R: rural; NE: no especificado.

fueron negativos y en cuatro el resultado fue indeterminado. En estos últimos, el análisis del ARN-VHC por PCR fue negativo, por lo que estas muestras fueron consideradas negativas.

En el estudio realizado, la prevalencia de anticuerpos por VHC fue del 0,74% (IC del 95%, 0,27-1,82).

De los cinco positivos, tres eran varones y dos mujeres. La media de edad fue de 43,8 años (desviación típica: 21,2). Cuatro de los sujetos anti-VHC positivo tenían domicilio urbano, lo que supone una prevalencia en este ámbito de 1,54% (IC del 95%, 0,42-3,89) frente a 0,24% (IC del 95%, 0,00-1,33) obtenida en el área rural. Ninguno había cursado estudios universitarios ni tenía riesgo profesional de contacto con sangre o secreciones. Asimismo, ninguno se había sometido a sesiones de acupuntura ni había precisado transfusión de sangre o hemoderivados. Cuatro tenían antecedentes de extracciones dentales y sólo uno de ictericia/hepatitis. Dos sujetos habían precisado una intervención quirúrgica menor y tres una intervención quirúrgica mayor, las cuales se habían realizado todas antes de 1990. Existía en 3 casos el antecedente de administración de gammaglobulinas. Cuatro habían recibido fármacos por vía parenteral, refirieron accidentes con heridas sangrantes y precisaron ingresos hospitalarios. Tres individuos admitieron ser UDVP y mantener contactos con UDVP. Todos manifestaron mantener relaciones heterosexuales, y tres tenían pareja estable. Aunque no se configuró como variable, en un caso se observó un tatuaje en un hombro.

Se realizó la determinación de genotipos en cuatro sueros. En tres de ellos el genotipo era 1b y en uno el 3a.

En la tabla 2 se resumen los resultados de cada paciente.

Discusión

Aunque han sido numerosos los estudios de prevalencia de infección por VHC realizados en grupos restringidos de población¹¹⁻¹⁵, son más bien escasos los llevados a cabo en la población general. Este hecho motivó la realización del presente trabajo.

La participación global fue, aproximadamente, de un 30%, cifra algo baja, lo que es posible que sea debido a la muy escasa tradición de este tipo de estudios en nuestro medio y que podría implicar limitaciones en la interpretación de los resultados obtenidos. Previsiblemente, los casos sin factores de riesgo no

deberían influir en el porcentaje de respuesta. Sin embargo, no podemos descartar que entre sujetos con factores de riesgo exista algún tipo de sesgo. La participación fue discretamente superior en el sexo femenino y entre los grupos de mayor edad.

La prevalencia obtenida fue del 0,74%, con claras diferencias entre el área urbana: 1,53 (IC del 95%, 0,42-3,89) y el área rural: 0,24 (IC del 95%, 0,00-1,33). Esta cifra es similar a las obtenidas en otros trabajos realizados en la población general urbana en nuestro país (2% en La Rioja¹⁶, 1,76% en Gijón¹⁹). La existencia de una mayor prevalencia de infección por VHC en ámbitos urbanos no ha sido mencionada con anterioridad. Creemos que este hecho debiera ser valorado cuando se analizan los hallazgos epidemiológicos del VHC.

Se han encontrado distintas prevalencias en otros países europeos: un 3,2% en el norte de Italia²⁰, un 0,87% en Bélgica^{21,22}, un 0,4% en Alemania^{21,22} y un 0,46% en Portugal²³. En los EE.UU., las cifras han variado mucho según los distintos trabajos, desde un 3,6% a un 1,4%, obteniéndose en un reciente trabajo de Alter et al una prevalencia en la población general del 1,8%¹⁷.

En algunos estudios se señala que la prevalencia de infección por VHC es más elevada en varones jóvenes¹⁶. Dado que el número de positivos fue escaso, únicamente podemos constatar que tres de nuestros pacientes eran varones y que, con respecto a la edad, dos pertenecían al estrato de edad entre 30 y 44 años y uno a cada uno de los otros estratos (14-29, 45-59 y mayores de 60 años). Los tres menores de 45 tenían antecedentes de UDVP.

Aunque el riesgo profesional, la acupuntura y las transfusiones de sangre o hemoderivados son considerados importantes factores de riesgo para la adquisición del VHC^{13,24-26}, en ninguno de nuestros positivos existía este antecedente. Respecto las intervenciones quirúrgicas mayores, tres se habían sometido a alguna. Éste es un antecedente controvertido, dado que algunos trabajos no encuentran asociación entre ambos^{16,27}. No obstante, entendemos que pueden haber diferencias entre los diversos estudios, dado que los hábitos quirúrgicos han sufrido importantes modificaciones a lo largo del tiempo (técnicas, asepsia, tipos de materiales, etc.). Los resultados de nuestro estudio sugieren que las intervenciones quirúrgicas realizadas en décadas anteriores pueden haber transmitido la infección por VHC.

La mayoría de los individuos seropositivos había recibido inyectables en algún momento. Por tanto, no puede descartarse que la administración de fármacos por vía parenteral con material contaminado pueda ser responsable de la diseminación del VHC²⁸.

Tres de nuestros casos admitieron ser UDVP, lo que confirma la importancia de este antecedente para la adquisición de esta infección, señalándolo incluso como el factor de riesgo más importante de forma aislada^{17,28,29}.

Aunque algunos trabajos han dado relevancia a la transmisión sexual, no podemos confirmarla, dado que cuatro de nuestros casos tenían pareja estable y el único que admitió contactos sexuales de riesgo refería, además, otros antecedentes importantes para la adquisición de la infección (UDVP, administración de fármacos parenterales, cirugía previa).

TABLA 2. Frecuencias absolutas de los indicadores de riesgo de los sujetos con sueros positivos

Variables	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5
Edad (años)	63	58	33	27	30
Sexo	Varón	Varón	Mujer	Mujer	Varón
Domicilio	Urbano	Urbano	Urbano	Rural	Urbano
Cirugía	Sí	Sí	Sí	No	No
Transfusión	No	No	No	No	No
Gammaglobulinas	Sí	Sí	No	Sí	No
Fármacos i.v.	Sí	Sí	Sí	Sí	No
UDVP	No	No	Sí	Sí	Sí
Riesgo sexual	No	No	Sí	No	NE
Genotipo	1b	1b	1b	3a	NR

UDVP: usuario de drogas por vía parenteral; R: rural; NE: no especificado; NR: no realizado.

No se encontraron sujetos con infección por VHC que no tuvieran alguno de los factores de riesgo conocidos. De hecho, todos nuestros casos positivos presentaban más de un factor de riesgo para la adquisición de la infección.

En tres de nuestros casos, el genotipo determinado fue el 1b. Éste es el más frecuente en España y en Europa^{30,31}, mientras que en los EE.UU. predomina el 1a¹⁷. En un caso el genotipo encontrado fue el 3a. Éste aparece en los EE.UU., Europa y Sudáfrica y se ha relacionado con individuos jóvenes y con el uso de drogas por vía intravenosa^{32,33}. En nuestro estudio, este genotipo fue determinado, precisamente, en una paciente con antecedentes de UDVP.

De nuestro estudio podemos concluir que la prevalencia de infección por el VHC en nuestro medio es del 0,74%, que hay una mayor prevalencia en áreas urbanas (1,53%), y que parece estar asociada a prácticas de riesgo parenterales, predominantemente a UDVP y a intervenciones quirúrgicas previas.

Agradecimiento

Este trabajo ha sido realizado con ayuda del Fondo de Investigación Sanitaria (proyecto FIS 97/0750).

Los autores de este estudio expresan su agradecimiento a todos los facultativos de atención primaria del área sanitaria de Zamora que han colaborado.

Bibliografía

- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley AX, Houghton M. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne nonA, nonB viral hepatitis genome. *Science* 1989;224:359-62.
- Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human nonA, nonB hepatitis. *Science* 1989;224:362-4.
- Tremolada F, Casarin C, Tagger A, Ribero ML, Realdi G, Alberti A, et al. Antibody to hepatitis C virus in posttransfusion hepatitis. *Ann Intern Med* 1991;114:277-81.
- Esteban JI, González A, Hernández JM, Viladomiu L, Sánchez C, López Talavera JC, et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med* 1990;323:1107-12.
- Sánchez Tapias JM, Barrera JM, Costa J, Ercilla MG, Parés A, Comalrrena L, et al. Hepatitis C virus infection in patients with nonalcoholic chronic liver disease. *Ann Intern Med* 1990;112:921-4.
- Seef LB. Natural history of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):21S-8S.
- Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis. *Hepatology* 1991;14:969-74.
- Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K, Shimamatsu K, Inoue O, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;23:1334-40.
- Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, Nakao M, Yabuuchi T, Kitamura T, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 1993;328:1797-801.
- Castells L, Vargas V, González A, Esteban J, Esteban R, Guardias J. Long interval between HCV infection and development of hepatocellular carcinoma. *Liver* 1995;15:159-63.
- Abdelal M, Rowbottom D, Zawawi T, Scott T, Gilpin C. Epidemiology of hepatitis C virus: a study of male blood donors in Saudi Arabia. *Transfusion* 1994;34:135-7.
- Llibre JM, Bartolí M, Berrocal M, González M. Seroprevalencia del virus de la hepatitis C en adictos a drogas por vía parenteral. *Med Clin (Barc)* 1992;99:675-6.
- Rumi MG, Colombo M, Gringeri A, Mannucci PM. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in multitransfused hemophiliacs with normal transaminase levels. *Ann Intern Med* 1990;112:379-80.
- Ghany MG, Leisinger C, Lagier R, Sánchez-Pescador R, Lok AS. Effect of human immunodeficiency virus infection on hepatitis C virus infection in hemophiliacs. *Dig Dis Sci* 1996;41:1265-72.
- Kjoro K, Frolano SS, Yun Z, Samdal HH, Haaland T. Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after treatment with contaminated immune globuline. *N Engl J Med* 1994;331:1607-11.
- Sacristán B, Gastañares MI, Elena A, Sacristán M, Barcenilla J, García JC, et al. Infección por el virus de la hepatitis C. Estudio seroepidemiológico en población general de La Rioja. *Med Clin (Barc)* 1996;107:331-5.
- Alter MJ, Krusson-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-62.
- Lemeshow S, Hosmer DW, Klar J, Lwanga SK. Adequacy of sample size in health studies. World Health Organization. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1990.
- Suárez A, Viejo G, Navascues CA, García R, Díaz G, Saro C, et al. Prevalencia de marcadores frente a los virus A, B y C de la hepatitis en la población de Gijón entre 26 y 65 años de edad. *Gastroenterol Hepatol* 1997;20:347-52.
- Bellentani S, Tiribelli G, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, et al. Prevalence of chronic liver disease in the general population of Northern Italy: the Dionysos study. *Hepatology* 1994;2:1442-9.
- Viral Hepatitis Prevention Board. Consensus Statement. *Viral Hepatitis* 1995;4:5-10.
- Van Damme P, Vellinga A. Epidemiology of hepatitis B and C in Europe. *Acta Gastroenterol Belg* 1998;61:175-82.
- Santos A, Carvalho A, Bento D, Sá R, Tomaz J, Rodríguez V, et al. Epidemiologia da hepatite C na região centro de Portugal. Prevalencia do Anti-VHC na população do distrito de Coimbra. *Acta Med Port* 1993;6:567-72.
- Davis GL. Hepatitis C virus infection among health care workers. *JAMA* 1996;275:1474.
- Germanaud J, Barthez JP, Causse X. The occupational risk of hepatitis C infection among hospital employees. *Am J Public Health* 1994;84:122.
- Sodeyama T, Kiyosawa K, Urushihara A, Matsumoto A, Tanaka E, Furuta S, et al. Detection of hepatitis C virus markers and hepatitis C virus genomic-RNA after needlestick accidents. *Arch Intern Med* 1993;153:1565-72.
- García-Bengoechea M, Emparanza J, Sarriugarte A, Cortés A, Vega JL, González F, et al. Antibodies to hepatitis C virus: a cross-sectional study in patients attending a trauma unit or admitted to hospital for elective surgery. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995;7:237-41.
- Bruguera M. La hepatitis C, otra plaga. *Med Clin (Barc)* 1994;103:615-6.
- Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):62S-5S.
- Schneeberger PM, Keur I, van der Vliet W, van Hoek K, Boswijk H, van Loon AM, et al. Hepatitis C virus infections in Dialysis Centers in The Netherlands: a National Survey by serological and molecular methods. *J Clin Microbiol* 1998;36:1711-5.
- Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B, Laudais 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.
- Alonso P, Orduña A, San Miguel A, Gutiérrez MP, Lorenzo B, Eiros JM, et al. Variantes del virus de la hepatitis C en diferentes grupos de riesgo. Estudio comparativo de un método de genotipificación y otro de serotipificación. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1998;16:111-7.
- Powlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, Pellet C, Stuyver L, Duval J, et al. Relationship between hepatitis C virus genotyping and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis* 1995;171:1607-10.