

ARTÍCULO ORIGINAL

Genotipos circulantes del virus de la hepatitis C en Colombia

Óscar Santos¹, Alberto Gómez^{2,3}, Viviana Vizcaíno³, María Consuelo Casas³,
María del Pilar Ramírez⁴, Patricia Olaya⁴

¹ Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

² Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

³ Instituto de Referencia Andino, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Centro de Análisis Molecular, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La infección crónica por el virus de la hepatitis C es un problema de salud pública y se estima que hay más de 180 millones de personas infectadas en el mundo. En Colombia no se conoce la epidemiología de la infección ni los genotipos virales más frecuentes.

Objetivo. Describir los genotipos y subtipos del virus de la hepatitis C en pacientes colombianos infectados.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo y retrospectivo de pruebas realizadas en dos laboratorios de referencia nacional, entre el 2003 y el 2015, mediante electroforesis en geles de poli(acrilamida) (*Polyacrylamide Gel Electrophoresis*, PAGE) o reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (*quantitative PCR*, qPCR).

Resultados. Se estudiaron 1.538 aislamientos del virus de la hepatitis C de 1.527 pacientes con una edad promedio de 53 años, de los cuales 70 % tenía entre 40 y 70 años y 52 % eran mujeres. El 57 % de las pruebas se ordenaron en la ciudad de Bogotá, y el 80 % de los casos provenía de los departamentos de Cundinamarca, Valle y Atlántico. Se encontró el genotipo 1 en 88,6 % de los casos, distribuido así: subtipo 1b, 70 %, subtipo 1a, 13,5 %, y no determinado, 5,1 % de los casos; el genotipo 2 se encontró en el 5,4 % de los casos, el 3, en el 2 %, y el 4, en el 4 %. Se encontraron genotipos mixtos en 0,8 % de la muestra.

Conclusión. El genotipo 1 del virus de la hepatitis C es el que circula con mayor frecuencia en el país, con predominio del subtipo 1b.

Palabras clave: hepatitis C/genética; hepacivirus; genotipo; epidemiología; reacción en cadena de la polimerasa.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3173>

Hepatitis C virus genotypes circulating in Colombia

Introduction: Chronic hepatitis C virus infection is a worldwide public health problem; it has been estimated that over 180 million people are infected with this virus worldwide. Its precise incidence and prevalence (i.e., epidemiology) and the most frequent circulating genotypes in Colombia are unknown.

Objective: To describe the hepatitis C virus (HCV) genotypes and subtypes in infected Colombian patients.

Materials and methods: We recovered the data on 1,538 HCV isolates from 1,527 patients in two Colombian reference laboratories typed by PAGE or qPCR.

Results: Patients' mean age was 53 years; 70% of them were 40 to 70 years old, and 52%, females; 57% of all tests were ordered in Bogotá and 80% of cases were from Cundinamarca, Valle and Atlántico departments. Genotype 1 was detected in 88.6% of cases, distributed as follows: 70% subtype 1b, 13.5% subtype 1a and 5.1%, undetermined subtypes. Genotype 2 was found in 5.4% of the patients, genotype 3 in 2% and genotype 4 in 4%. Mixed genotypes were found in 0.8% of the samples.

Conclusion: Genotype 1 is the most common HCV genotype circulating in Colombia, and subtype 1b the most frequent.

Key words: Hepatitis C/genetics; hepacivirus; genotype; epidemiology; polymerase chain reaction.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3173>

Contribución de los autores:

Óscar Santos: diseño y análisis de datos

Alberto Gómez y Patricia Olaya: recolección y análisis de datos

María Consuelo Casas, María del Pilar Ramírez y Viviana Vizcaíno: recolección de datos

Todos los autores participaron en la redacción del artículo.

La hepatitis C crónica es una de las principales causas de enfermedad hepática crónica, cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular en el mundo (1). Se estima que 2,8 % de la población mundial está infectado, es decir, más de 180 millones de personas, y el virus se asocia con, aproximadamente 400.000 muertes cada año (2,3). En la actualidad, la infección por hepatitis C es la principal causa de trasplante hepático en el mundo. Aunque las tasas de incidencia de la infección por el virus de la hepatitis C (HCV) en algunos países industrializados han disminuido, se espera que las tasas de muerte asociadas con la enfermedad hepática se incrementen en los próximos 20 años (4).

Los costos de la atención de los pacientes con hepatitis C y de sus complicaciones representan una gran carga para el sistema de seguridad social en salud, así que los esfuerzos deben concentrarse en la prevención de la transmisión de la infección, con agresivas campañas de educación del público en general, así como mediante la detección temprana de los pacientes infectados, aspecto este que es uno de los principales desafíos epidemiológicos, ya que más del 75 % de los pacientes son asintomáticos.

En los últimos años se han logrado grandes avances en el tratamiento de la hepatitis C y varios medicamentos han sido aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos y la *European Medical Agency* (EMA). Con tratamientos libres de interferón se ha logrado curar a más del 90 % de los pacientes (5). Sin embargo, el costo de los medicamentos es elevado y el acceso a ellos es difícil. En la elección del tratamiento se deben tener en cuenta varios aspectos, pero el genotipo y el subtipo del virus son fundamentales, ya que el desarrollo de nuevos medicamentos se ha enfocado en el genotipo 1 y se ha demostrado que la respuesta terapéutica es mejor en el subtipo 1b que en el 1a.

En el mundo predomina el genotipo 1 del HCV, pero la distribución cambia de una región a otra (6). En Latinoamérica, cada vez se conoce mejor la hepatitis C y aparecen múltiples publicaciones sobre los nuevos esquemas de tratamiento cada año, incluso, en ensayos clínicos multicéntricos.

Correspondencia:

Óscar Santos, Calle 61 sur N° 42-55, casa 117, Sabaneta, Colombia

Teléfono: (300) 391 0525
osmausa@yahoo.com

Recibido: 11/12/15; aceptado: 17/05/16

En nuestro país, no obstante, la información específica es escasa en todos los aspectos de la enfermedad: incidencia, prevalencia, genotipos, subtipos, morbilidad y mortalidad. El conocimiento de los genotipos circulantes del HCV en Colombia permitirá establecer los tratamientos idóneos, y facilitará el diseño de estrategias nacionales para el tratamiento y el control de la propagación de la infección.

Materiales y métodos

La información recopilada correspondió a 1.527 muestras de sangre analizadas entre marzo de 2003 y agosto de 2015: 1.194 de ellas se procesaron en el Centro de Análisis Molecular y, 333, en el Instituto de Referencia Andino, laboratorios de referencia nacional ubicados en Bogotá.

Durante el período mencionado, en el Centro de Análisis Molecular se emplearon dos métodos para la genotipificación del HCV. Entre el 2003 y el 2010, se hizo la secuenciación bidireccional de la región 5' no codificante del HCV mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con el sistema Trugene® HCV 5'NC – Open Gene® DNA sequencing system de Visible Genetics®. Con este sistema se establecen el genotipo, el subgenotipo y el aislamiento viral. En el 2011, el Centro introdujo el paquete m2000 Real Time HCV Genotype II® de Abbott y comenzó a emplear indistintamente los dos métodos.

En el Instituto de Referencia Andino se utilizó la prueba Real Time HCV Genotype II® de Abbott, la cual consiste en un ensayo *in vitro* de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real previa transcripción inversa del ARN, para la determinación de los genotipos del HCV en suero y plasma de individuos infectados. Este ensayo detecta los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y los subtipos 1a y 1b, con la ayuda de sondas de oligonucleótidos marcadas por fluorescencia específica para el genotipo.

Análisis estadístico

Se hizo un estudio descriptivo de las variables sociodemográficas y de los genotipos y subtipos mediante el cálculo de proporciones, medidas descriptivas (promedio y desviación estándar, DE) y distribución de frecuencias. Para el análisis estadístico de los datos y la generación de cuadros de salida, se utilizó el paquete estadístico SPSS 18®.

Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Pablo Tobón Uribe y por los comités de los laboratorios participantes.

Resultados

Se analizaron 1.538 resultados de la genotipificación de muestras tomadas de 1.527 pacientes. Se registró la información sobre el sexo y la procedencia geográfica de todos los pacientes; en cuanto a la edad, se encontró la información de 1.431 pacientes (93,5 %). Del total de las muestras, el 52 % correspondía a mujeres. El promedio de edad fue de 53 años, con una desviación estándar de 14 años, siendo el grupo de 50 a 59 años de edad el más numeroso, en tanto que casi 70 % de los pacientes tenía entre 40 y 70 años de edad. Hubo pacientes desde los nueve hasta los 91 años de edad (cuadro 1).

En cuanto a la procedencia de las muestras, se encontró que 80 % de ellas procedía, en orden de frecuencia, de los departamentos de Cundinamarca, Valle y Atlántico. En cuanto a las ciudades, el 57 % de las muestras provenía de Bogotá, seguida de Cali, con 8,6 %, y Barranquilla, con 6,7 %. Las muestras provenientes de Antioquia correspondieron a 6,4 % y, las de Medellín, a 5,9 % (cuadro 2).

Se revisaron 1.538 aislamientos y el genotipo 1 se registró en 88,6 % de los casos, de los cuales el 70 % correspondía al subtipo 1b, el 13,5 % al subtipo 1a, en tanto que en 5,1 % de los casos no fue posible establecer el subtipo. El genotipo 2 se encontró en 5,4 % de las muestras, el genotipo 3 en el 2 % y el genotipo 4 en el 4 %. La distribución de todos los genotipos y subtipos se presenta en el cuadro 3. En 11 (0,7 %) pacientes se encontraron dos genotipos concomitantes o mixtos, así: en todos se encontró el genotipo 1, y en 60 %, el subtipo 1b, en tanto que ocho muestras presentaban, además, el genotipo 4, dos, el genotipo 2 y una, el genotipo 3. Antes del 2012 fueron muy pocos los pacientes con genotipo 4, pero desde entonces se encontraron con mayor frecuencia en la ciudad de Bogotá (90 % de los casos), especialmente en 2014 y 2015.

Discusión

La infección crónica por el HCV es un problema de salud pública y se estima que más de 180 millones de personas están infectadas en el mundo (2). Infortunadamente, Colombia carece de estadísticas exactas con respecto a la incidencia, la prevalencia, los genotipos virales y el impacto de la enfermedad en la morbilidad y la mortalidad, así que en este estudio se reporta una información importante que vale la pena analizar con detenimiento.

Cuadro 1. Distribución de las muestras por grupos de edad (n=1.527)

Grupo de edad (años)	n	%
0-9	2	0,1
10-19	16	1,0
20-29	97	6,4
30-39	146	9,6
40-49	194	12,7
50-59	471	30,8
60-69	387	25,3
70-79	106	6,9
80 y más	12	0,8
Sin dato	96	6,3
Total	1.527	100

Cuadro 2. Distribución de las muestras según localización geográfica (n=1.527)

Departamento	n	%
Cundinamarca	874	57,2
Valle del Cauca	235	15,4
Atlántico	111	7,3
Antioquia	98	6,4
Risaralda	30	2,0
Bolívar	26	1,7
Quindío	25	1,6
Santander	23	1,5
Norte de Santander	21	1,4
Magdalena	18	1,2
Cauca	16	1,0
Cesar	10	0,7
Nariño	8	0,5
Caldas	7	0,5
Huila	5	0,3
La Guajira	4	0,3
Meta	4	0,3
Sucre	3	0,2
Tolima	3	0,2
Córdoba	3	0,2
Boyacá	2	0,1
Arauca	1	0,1
Total	1.527	100

Aunque este no es el primer estudio que se hace en Colombia sobre los genotipos del HCV (7-9), sin lugar a dudas es el más grande reportado hasta el momento, ya que incluyó más de 1.500 muestras recolectadas durante más de 10 años.

Según los resultados del estudio, el genotipo 1 y el subtipo 1b predominan en el país. En un estudio previo sobre genotipos, Alvarado, *et al.*, reportaron los resultados de las muestras de 184 donantes altruistas de bancos de sangre con anticuerpos positivos, recolectadas entre el 2003 y el 2007, con PCR positiva en 53 individuos, aunque solo en 35 muestras se logró la genotipificación y el análisis filogenético correspondientes (8). Los autores

Cuadro 3. Distribución de genotipos y subtipos del virus de la hepatitis C (N=1.538)

Genotipo	Subtipo	n	%
1	1b	1.073	70
	1a	209	13,5
	1	79	5,1
	Subtotal	1.361	88,6
2	2	62	4,0
	2a o 2c	7	0,5
	2a	8	0,5
	2b	6	0,4
	Subtotal	83	5,4
3	3	24	1,5
	3a	7	0,5
	Subtotal	31	2,0
4	4	62	4,0
Total		1.538	100

informaron que el 88 % de los casos se asoció con el genotipo 1 (subtipo 1b: 83 % y subtipo 1a: 5 %), el 9 %, con el genotipo 2 (subtipo 2a: 6 % y subtipo 2b: 3 %), y el 3 %, con el genotipo 3; además, hicieron un interesante análisis filogenético del virus que sugería la aparición de este subtipo 1b hace más de 50 años en Bogotá, asociado casi exclusivamente con transfusiones de hemoderivados.

Asimismo, en un estudio posterior, Di Filippo, *et al.*, describieron los genotipos de 12 pacientes con infección crónica por el HCV adquirida después de una transfusión en casos documentados en Bogotá y Medellín, de los cuales el 83 % correspondía al genotipo 1 y, el 67 %, al subtipo 1b (9). Los resultados de estos estudios preliminares son muy similares a los hallazgos del presente estudio.

El genotipo 1 del HCV es el más frecuente en el mundo (46 %), sin embargo, el porcentaje y la distribución de los subtipos varía en cada región y país (10). En el estudio de Kershenobich, *et al.*, se describió la epidemiología del virus en Latinoamérica y se encontró que la prevalencia en los países participantes variaba entre 1 y 2,3 %, con predominio del genotipo 1 en porcentajes mayores de 80 % en Perú, México y Puerto Rico, y cercanos a 60 % en Argentina y Brasil; en cuanto al subtipo, el 1b fue más frecuente en México, Venezuela y Brasil, y el 1a, en Puerto Rico y Perú (10), siendo este último el que predomina también en Estados Unidos (11).

La confirmación en el presente trabajo del predominio del genotipo 1 y el subtipo 1b en Colombia es importante por varios factores: primero, este genotipo y el subtipo se han relacionado especialmente con las transfusiones sanguíneas, y la

exposición parenteral en procedimientos médicos, paramédicos y dentales, en los cuales ha habido una inadecuada reutilización y disposición de elementos como agujas, jeringas y otros, lo que sugiere que estas vías son los principales modos de transmisión de la infección en Colombia; segundo, tiene un impacto relevante en cuanto a los nuevos tratamientos, los cuales se han concentrado en el manejo del genotipo 1, con tasas de éxito contra el subtipo 1b mayores que contra el 1a (12). El genotipo menos frecuente fue el 3, lo cual es un hecho afortunado, ya que la efectividad de los medicamentos existentes es inferior en este subgrupo de pacientes. Según los datos del presente estudio, el 70 % de los pacientes en Colombia podría tratarse fácil y exitosamente con los actuales tratamientos libres de interferón aprobados en el país; además, el 90 % podría beneficiarse de los nuevos esquemas de tratamiento.

Entre los datos epidemiológicos importantes puede resaltarse la baja prevalencia de otros genotipos diferentes al 1, con tasas que han permanecido bajas en el tiempo. En Colombia no se ha documentado hasta el momento ninguna infección por los genotipos 5 o 6, los cuales se han reportado especialmente en el sur de África y en el sureste de Asia, respectivamente (1,6). Por el contrario, llama la atención el incremento de casos del genotipo 4 en los últimos dos años en Bogotá, la mayoría relacionados con la infección concomitante de HIV y HVC. El genotipo 4 tiene mayor prevalencia en el área comprendida entre África central y Oriente Medio, pero, al igual que en otros países del mundo, se ha observado un incremento de este genotipo relacionado con la migración de pacientes o de contactos de usuarios de drogas intravenosas o de personas infectadas por el HIV en esas regiones (13).

También, es importante resaltar los casos con genotipos mixtos en el presente estudio (0,8 %), todos ellos correspondientes al genotipo 1, y en el 70 % con presencia simultánea del genotipo 4. En el mundo hay reportes de infecciones mixtas con diferentes genotipos o subtipos del virus y prevalencias de 5 a 25 % de los casos (14), pero casi exclusivamente confinadas a poblaciones de alto riesgo como usuarios de drogas intravenosas, en los cuales deben tratar de diferenciarse las infecciones consecutivas y las reinfecciones (15). En estos raros casos se recomienda que el tratamiento se centre en combatir el genotipo más difícil de tratar.

Uno de los grandes retos en la infección por el HCV es el diagnóstico de la mayor cantidad de pacientes para poder clasificarlos y decidir su tratamiento. En un país de grandes recursos económicos como Estados Unidos, solo el 50 % de los pacientes sabe que está infectado, el 30 % de ellos es remitido a consulta especializada y apenas el 10 % recibe tratamiento (12). En Colombia, la situación no es mejor. Además, se ha documentado que hasta 50 % de los pacientes en Estados Unidos no tiene un factor de riesgo evidente para la infección (16-18). En ese país, una estrategia efectiva para incrementar el diagnóstico es la tamización universal de los nacidos entre 1945 y 1965, los llamados *baby boomers*, una población asociada con una prevalencia cinco veces mayor de hepatitis C que la población general (19). Según los datos de este estudio, el 70 % de los pacientes tenía entre 40 y 70 años de edad, así que sería muy interesante hacer estudios para explorar la hipótesis de que este subgrupo de pacientes tendría una mayor probabilidad de estar infectado, lo cual permitiría concluir, eventualmente, que requieren de una tamización universal, independientemente de la presencia de factores de riesgo.

La distribución geográfica de los casos en este estudio no coincidió con la distribución de la densidad poblacional en el país, lo cual podría responder a las áreas de influencia de los laboratorios participantes en el estudio. Hay que aceptar que existen diferencias regionales en la prevalencia de la infección y que sería importante hacer estudios para confirmar tales diferencias. Sin embargo, es muy preocupante que en la mitad de los departamentos del país se hayan hecho menos de diez pruebas durante el periodo del estudio, lo cual confirma la baja tasa de búsqueda y de detección de casos de hepatitis C en gran parte del país.

La principal limitación de este estudio reside en que la muestra de pacientes se diseñó por conveniencia e incluyó a individuos en quienes se hizo la genotipificación del HCV con el fin de decidir su esquema de tratamiento, por lo cual no representa un universo real de la población infectada por el virus, así que los resultados pueden tener sesgo. Por otra parte, su principal fortaleza es que se trata del estudio sobre hepatitis C con mayor número de pacientes reportado hasta el momento en el país, por lo cual la información debe tenerse en cuenta y servir de ayuda en la planeación de un adecuado estudio epidemiológico de la infección crónica por el virus de la hepatitis C en Colombia.

En conclusión, según los resultados de este estudio, el genotipo circulante del virus de hepatitis C que predomina en Colombia es el genotipo 1 (89 %) y, en el 70 % de estas muestras, el subtipo 1b. Los grandes avances en el tratamiento del virus de la hepatitis C deben complementarse con la detección masiva de los pacientes y con el tratamiento, pues, de otra forma, el impacto en la salud pública será mínimo. Para ello se requiere el compromiso del gobierno, de la comunidad médica e, incluso, de la industria farmacéutica, de manera que sea posible tener tratamientos accesibles para los pacientes.

Agradecimientos

Los autores agradecen especialmente al personal de apoyo en el Centro de Análisis Molecular y en el Instituto de Referencia Andino, por su colaboración durante este trabajo.

Conflicto de intereses

Todos los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Financiación

No se recibió ninguna financiación específica para el estudio.

Referencias

1. **Cooke GS, Lemoine M, Thursz M, Gore C, Swan T, Kamarulzaman A, et al.** Viral hepatitis and the global burden of disease: A need to regroup. *J Viral Hepat.* 2013;20:600-1. <http://dx.doi.org/10.1111/jvh.12123>
2. **Mohd-Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST.** Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology.* 2013;57:1333-42. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.26141>
3. **Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP.** The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol.* 2006;45:529-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2006.05.013>
4. **Razavi H, ElKhoury AC, Elbasha E, Estes C, Pasini K, Poynard T, et al.** Chronic hepatitis C virus (HCV) disease burden and cost in the United States. *Hepatology.* 2013;57:2164-70. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.26218>
5. **American Association for the Study of Liver Diseases and Infectious Diseases Society of America.** Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C, 2015. Fecha de consulta: 30 de noviembre de 2015. Disponible en: <http://www.hcvguidelines.org>
6. **Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, et al.** Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2015;61:77-87. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.27259>

7. **Guevara LG, Idrovo V, Martínez JD, Hurtado M, Fassler S, Serrano C, et al.** Serotipificación para el virus de la hepatitis C en pacientes con diagnóstico de hepatitis C crónica. *Rev Col Gastroenterol.* 1997;12:21-4.
8. **Alvarado M, Malta C, Soares M, Gutiérrez M, Carrilho F, Rebello J.** Molecular characterization, distribution, and dynamics of hepatitis C virus genotypes in blood donors in Colombia. *J Med Virol.* 2010;82:1889-98. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.21908>
9. **Di Filippo D, Cortés-Mancera F, Beltrán M, Arbeláez M, Jaramillo S, Restrepo JC, et al.** Molecular characterization of hepatitis C virus in multi-transfused Colombian patients. *Virol J.* 2012;9:242-9. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-9-242>
10. **Kershenobich D, Razavi H, Sánchez-Ávila J, Bessone F, Coelho H, Dagher L, et al.** Trends and projections of hepatitis C virus epidemiology in Latin America. *Liver Int.* 2011;31(Suppl.2):18-29. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02538.x>
11. **Cheung RC.** Epidemiology of hepatitis C virus infection in American veterans. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:740-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.01854.x>
12. **European Association for the Study of the Liver.** EASL recommendations on treatment of hepatitis C, 2015. *J Hepatol.* 2015;63:199-236. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.03.025>
13. **Payan C, Roudot-Thoraval F, Marcellin P, Bled N, Duverlie G, Fouchard-Hubert I, et al.** Changing of hepatitis C virus genotype patterns in France at the beginning of the third millennium: The GEMHEP Geno CII Study. *J Viral Hepat.* 2005;12:405-13. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2893.2005.00605.x>
14. **Pham S, Bull R, Bennett J, Rawlinson W, Dore G, Lloyd A, et al.** Frequent multiple hepatitis C virus infections among injection drug users in a prison setting. *Hepatology.* 2010;52:1564-72. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.23885>
15. **Blackard JT, Sherman KE.** Hepatitis C virus coinfection and superinfection. *J Infect Dis.* 2007;195:519-24. <http://dx.doi.org/10.1086/510858>
16. **Holmberg SD, Spradling PR, Moorman AC, Denniston MM.** Hepatitis C in the United States. *N Engl J Med.* 2013;368:1859-61. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMp1302973>
17. **Ghany M, Strader D, Thomas D, Seeff L.** Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: An update. *Hepatology.* 2009;49:1335-74. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.22759>
18. **Denniston MM, Jiles RB, Drobeniuc J, Klevens RM, Ward JW, McQuillan GM, et al.** Chronic hepatitis C virus infection in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey 2003 to 2010. *Ann Intern Med.* 2014;160:293-300. <http://dx.doi.org/10.7326/M13-1133>
19. **Smith BD, Morgan RL, Beckett GA, Falck-Ytter Y, Holtzman D, Ward JW.** Hepatitis C virus testing of persons born during 1945–1965: Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention. *Ann Intern Med.* 2012;157:817-22. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-157-9-201211060-00529>