

Wirus zapalenia wątroby typu A (HAV) – czynnik etiologiczny infekcji pokarmowych człowieka

EWELINA BIGORAJ, MARTA CHROBOCIŃSKA

Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Bigoraj E., Chrobocińska M.

Hepatitis A virus (HAV): an etiological agent of food borne human infection

Summary

Hepatitis A virus (HAV) is the most common cause of hepatitis in humans all over the world. Non-enveloped HAV is classified to the Picornaviridae family. The virus is highly resistant to physico-chemical factors. The genome contains the single-strand RNA encoding a long polyprotein. This polyprotein is used to form four structural and seven non-structural proteins in the post translating process. All polyprotein cleavage sites have not been identified, yet infection with HAV frequently occurs through the consumption of contaminated food or water. The disease is often asymptomatic in young children. In older children and adults different clinical symptoms may be observed, from mild (without jaundice) to severe liver failure. In many regions of the world the disease occurs endemically and in developed countries outbreaks and epidemics are noted. Inactivated vaccines are used in specific protection.

Keywords: HAV, genome organisation, epidemiology

Wirusowe zapalenie wątroby może być wywoływane przez szereg niespokrewnionych ze sobą wirusów. Należą do nich wirusy hepatotropowe, wśród których znamy co najmniej 5 typów: A (rodzina *Picornaviridae*, rodzaj *Hepatovirus*), B (rodzina *Hepadnaviridae*, rodzaj *Orthohepadnavirus*), C (*Flaviviridae*, rodzaj *Hepacivirus*), D (delta wirus – niesklasyfikowany), E (niesklasyfikowany), a także wirus cytomegalii (CMV), herpeswirus (HSV), wirus Epsteina-Barr (EBV). Aż do połowy XX w. termin „zapalenie wątroby” był synonimem żółtaczki, zewnętrznego objawu uszkodzenia wątroby. Na początku drugiej wojny światowej znane były już dwa typy zapalenia wątroby. Ich podział oparty był na sposobie rozprzestrzeniania: zakaźne (nagminne), przenoszone przez zanieczyszczoną żywność i wodę oraz surowicze (wszczepienne) przenoszone z zakażoną krwią. Dopiero w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych wyizolowano pierwsze wirusy A i B, pozostałe, których nie udało się zidentyfikować, nazwano nie-A nie-B (NANB). Następnym krokiem było wykrycie przez Włochów czynnika Delta i nazwanie go HDV. Dalsze badania spowodowały wykrycie typów C, E, F, G, a prawdopodobnie istnieją jeszcze inne. HAV został wyizolowany i zidentyfikowany w 1973 r., natomiast nazwy „hepatitis A” użyto po raz pierwszy już w 1942 r. (33). Cząstki wirusa zapalenia wątroby typu A zostały sfotografowane w mikroskopie elektronowym po agregacji kału z surowicą zawierają-

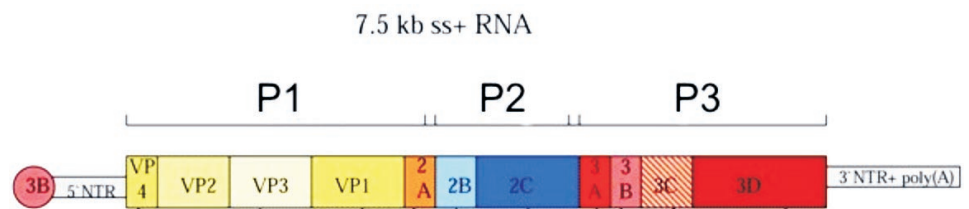
cą przeciwciała. Kał pobrano od ochotników (więźniów) i inokulowano wirusem żółtaczki MS-1 scharakteryzowanym przez Krugmana i wsp. (12). Kompletna sekwencja nukleotydowa genomu dzikiego szczepu HAV została poznana w 1987 r. (33). Do tej pory wśród szczepów wirusa zapalenia wątroby typu A zidentyfikowano trzy ludzkie (I, II, III) oraz trzy małpie (IV, V, VI) genotypy. Obecnie dostępnych jest 26 pełnych sekwencji nukleotydowych izolatów o genotypach: IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB oraz V (14).

Wirus zapalenia wątroby typu A (wirus żółtaczki pokarmowej, hepatitis A virus, HAV, oficjalna nazwa: enterowirus 72) należy do rodziny pikornawirusów, jest bezotoczkowy, o symetrii ikosaedralnej i wielkości 27-28 nm (ryc. 1) (12). Organizacja genomu HAV jest podobna do organizacji genomu innych pikornawirusów. Stanowi go jednoniciowa cząsteczka RNA (ssRNA) o długości 7,5 kb (33). Region kodujący stanowi od 2,225 do 2,227 nukleotydów, natomiast region nieko-



Ryc. 1. Wirus żółtaczki typu A (HAV) w mikroskopie elektronowym

dujący to kolejne 40-80 nukleotydów (9). Najbardziej konserwatywne miejsca w sekwencji nukleotydowej wirusa znajdują się właśnie na końcu 5' i obejmują następujące nukleotydy: 66-95, 227-267, 681-721 (7, 17). Na końcu 5' znajduje się region zawierający sześć drugorzędowych domen strukturalnych. Jest to region niekodujący, zwany NCR (noncoding region), który stanowi ponad 10% genomu i związany jest z wirusowym białkiem VPg o masie cząsteczkowej 2,5 kD (35). Domeny I i II zlokalizowane są od 1 do 95 nukleotydu od końca 5'. Domena I ma strukturę „spinki do włosów” domena II składa się z dwóch splecionych ze sobą (steam loop) struktur (25). Kolejne cztery domeny (III-VI) stanowią tzw. IRES (internal ribosome entry site), czyli sekwencję nukleotydową pozwalającą na inicjację translacji (33). Struktura sekwencji IRES oraz sam proces inicjacji translacji u wirusa żółtaczkowego typu A został dokładnie opisany przez Glassa i wsp. (1993) oraz Browna (1994) (6). Inicjacja procesu translacji odbywa się między 730 a 744 nukleotydem (18). Genom HAV zawiera dwa kodony AUG inicjujące translację. Jeden z nich obejmuje nukleotydy od 735 do 737, a drugi od 741 do 743. Koniec 3' zawiera ogon poli(A) o długości od 40 do 80 nukleotydów. Na końcu 3' znajduje się także domena zbudowana z dwóch splecionych ze sobą (steam loop) struktur oraz struktura pseudosupła przylegająca do regionu 3D kodującego polimerazę RNA (33). Struktury „steam loop” są charakterystyczne dla pikornawirusów. Mają one różne rozmiary i zawierają w swej sekwencji jako pierwsze dwa nukleotydy UU, których obecność warunkuje zakaźność wirusa zapalenia wątroby typu A (15). Otwarta ramka odczytu (ORF) koduje dużą poliproteinę (PO) zawierającą 2,227 aminokwasów. Podzielona jest ona na trzy regiony: P1, P2 oraz P3 (ryc. 2). Region P1 koduje białka kapsydu: 1A (VP4-21-23aa), 1B (VP2-222aa), 1C (VP3-246aa) i 1D (VP1). Kapsyd wirusa zawiera 60 kopii trzech białek strukturalnych: VP1 (30-33 kD), VP2 (24-30 kD) i VP3 (21-28 kD). Fragment białka VP1 (Ser 102 i Ser 114) oraz fragment białka VP3 (Asp 70) stanowią immunodomenę antygeny HAV (ryc. 2) (35). Białko VP4 jest 21-23 aminokwasowym białkiem. Niektóre źródła podają, że jest ono niezbędne przy formowaniu się kapsydu. Z kolei z innych źródeł wynika, że formowanie kapsydu wirusa nie wymaga obecności VP4, ale rola VP4 w morfogenezie wirionu jest nadal niewyjaśniona (22). VP4 jest transportowane do prowirionu jako prekursor białka w postaci VP4-VP2 (VP0). Wewnątrz prowirionu następuje cięcie VP0, ale jego mechanizm nie jest do końca poznany (9). Prawdopodobnie rolę proteazy odgrywa samo białko VP2. VP4 zlokalizowane jest w dalszej obróbce potranslacyjnej od wewnętrznej strony kapsydu. Z wykorzystaniem metod krystalografii nie jest ono wykrywalne w dojrzałych cząstkach



Ryc. 2. Organizacja genomu wirusa żółtaczkowego typu A (hepatitis A virus, HAV)

Tab. 1. Białka HAV oraz ich funkcja

Region RNA	Kodowane białko	Funkcja
P1	VP4	białko kapsydu
P1	VP2	białko kapsydu
P1	VP3	białko kapsydu
P1	VP1	białko kapsydu
P1	2A	odgrywa rolę w morfogenezie
P2	2B	funkcja nie jest znana
P2	2C	możliwa aktywność helikazy, synteza RNA
P3	3A	prekursor białka VPg
P3	3C	proteaza
P3	3D	polimeraza RNA

wirusa (9, 15). Region P2 i P3 koduje białka niestrukturalne: 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C oraz 3D (23, 33). Funkcje poszczególnych białek kodowanych przez RNA wirusa przedstawia tab. 1 (35). Białko niestrukturalne 2A składa się z około 45 aminokwasów jednakże dokładna wielkość oraz miejsce cięcia VP1/2A pozostają nadal nieznanymi. Pierwsze cięcie poliproteiny PO w obróbce potranslacyjnej ma miejsce pomiędzy białkiem 2A a 2B, tak więc w skład prekursora kapsydu wchodzi prawdopodobnie nie tylko białko VP1, ale też zasocjowane z nim białko 2A. Białko 2A znajduje się na powierzchni kapsydu, co potwierdziły doświadczenia z wykorzystaniem proteiny K. Pod wpływem jej działania białko 2A zostaje odłączone od powierzchni wirionu (33). Fragment RNA o długości 168 nukleotydów, znajdujący się pomiędzy 3023. a 3191. nukleotydem, kodujący segment VP1/2A został wykorzystany do klasyfikacji genotypowej różnych szczepów HAV. Wykazano, że region ten ma wysoką zmienność zarówno w sekwencji nukleotydowej, jak i potranslacyjnej sekwencji aminokwasowej (27, 28). Białka 2B oraz 2C odgrywają istotną rolę w replikacji wirusowego RNA podczas adaptacji wirusa do hodowli komórkowych (11). Białko 2C posiada charakterystyczną dla wszystkich enterowirusów trójfosforanową domenę wiążącą (A: Gly lub Ala-X-X-Gly-X-Gly-Lys-Ser lub Thr; B: Asp lub Asp-Asp lub Glu) (33). Białko 2C lub 2BC ma zdolność wiązania z wewnątrzkomórkowymi błonami i indukowania ich rearanżacji. Region P3 koduje białka 3A, 3B, 3C oraz 3D o wielkości, odpowiednio, 74, 23, 219 oraz 489 aminokwasów. Białko 3C posiada funkcję proteazy. Badania krystalograficzne wykazały

obecność charakterystycznej domeny (Cys 172, His 44, Asp 84, His 191), która rozpoznaje i wiąże substrat, i przeprowadza hydrolizę wiązań peptydowych (34). Białko 3C odgrywa kluczową rolę w cyklu życiowym wirusa poprzez generowanie dojrzałych białek z prekursorowych poliprotein. Ponadto wiąże się z RNA, regulując replikację genomu wirusa (17, 26). Białko 3D jest najlepiej poznanym białkiem wirusa zapalenia wątroby typu A. Jest to RNA-zależna polimeraza RNA, białko o długości 489 aa. Wszystkie białka 3D pikornawirusów mają wysoki stopień podobieństwa (33).

Do zakażenia HAV aż w 90% przypadków dochodzi drogą pokarmową poprzez spożycie żywności i wody zanieczyszczonej wirusem lub kąpiel w zanieczyszczonej wodzie. Rzadziej do zakażenia dochodzi przez bezpośredni kontakt z osobą chorą (16). Okres wylegania WZW A wynosi 15-50 dni, średnio 28-30 dni. Osoba zakażona jest zakaźna dla otoczenia od 14 do 21 dni przed do około siedmiu dni po wystąpieniu objawów klinicznych. Komórką docelową HAV jest hepatocyt. Namnażanie wirusa odbywa się w kilku etapach. Na początku cząstka wirusowa wiąże się do receptora znajdującego się na powierzchni hepatocytu. Rodzaj receptora komórkowego nie został jeszcze poznany, ale badania *in vitro* sugerują, że może to być glikoproteina klasy I (4, 16, 31, 32). Po wnikięciu wirusa do cytoplazmy komórki wątrobowej następuje uwolnienie RNA, a następnie transkrypcja, translacja i procesy proteolityczne. Po zakończeniu replikacji nowe cząstki wirusa są pakowane do prokapsydu. Część nowo powstałych wirionów jest uwalniana do kanalików żółciowych, następnie z żółcią do jelit i wydalana z kałem, a część zakaża sąsiednie hepatocyty. W niektórych przypadkach wirus może krążyć we krwi związany z fragmentami błon lipidowych (prawdopodobnie pozostałości po zniszczonych hepatocytach), które chronią wirus przed działaniem przeciwciał (20). Maksymalną ilość HAV w kale stwierdzono około 20.-25. dnia od momentu zakażenia. Obecnie uważa się, że do uszkodzenia hepatocytów dochodzi w wyniku reakcji immunologicznej, a nie bezpośredniego efektu cytotatycznego. Przypuszcza się też, że za uszkodzenie komórek

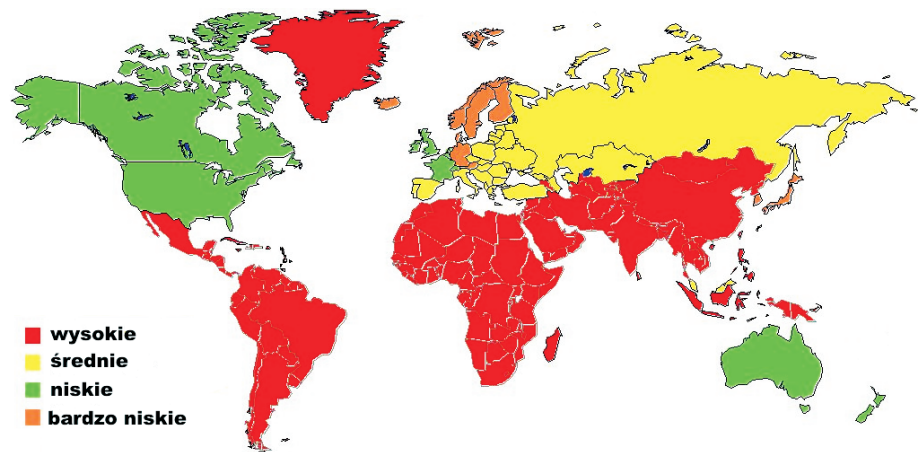
wątroby odpowiedzialne są limfocyty T cytotoksyczne. Najwyższa cytotoksyczność występuje w 2.-3. tygodniu choroby (30, 34).

Łatwość, z jaką zakażenia HAV szerzą się w środowisku, wynika z oporności wirusa na wiele czynników zewnętrznych np.: kwas octowy, fosforowy, związki fenolu i alkohole. W temperaturze od -20°C do $+4^{\circ}\text{C}$ HAV zachowuje stabilność przez wiele lat. Nie jest wrażliwy na chloroform i 20% eter. Wysuszony w temperaturze pokojowej lub znajdujący się w wodzie, owocach morza i ściekach jest zdolny wywołać zakażenie przez wiele tygodni (tab. 2) (3, 29). Inaktywacja wirusa znajdującego się np. w owocach morza następuje po ogrzaniu żywności w temperaturze 90°C przez 4 minuty (3). W procesie pasteryzacji mleka w temperaturze $60-63^{\circ}\text{C}$ ulega inaktywacji dopiero po 10 godzinach. Nie ulega całkowitej inaktywacji w procesie technologicznym wytwarzania czynnika VIII nawet po ogrzewaniu w temperaturze 60°C przez 10 godzin (10). Wirus zapalenia wątroby typu A (HAV) może przetrwać na powierzchni np. blatu przez około 2 miesiące. Przeżywa on dłużej w warunkach niższej wilgotności i niższej temperatury (19). U dzieci poniżej szóstego roku życia występują najczęściej zakażenia bezobjawowe lub skąpo objawowe. U dzieci starszych oraz u osób dorosłych w 70-80% choroba ma przebieg objawowy (3). Objawy kliniczne wirusowego zapalenia wątroby typu A to: nudności i wymioty, bóle brzucha, obniżenie łaknienia, biegunka, gorączka, osłabienie, ból gardła, bóle stawów, ciemny mocz, odbarwiony stolec, żółtaczką oraz świąd skóry. Pojawienie się ciemnego zabarwienia moczu i żółtaczki nasuwa podejrzenie wirusowego zapalenia wątroby. W badaniu przedmiotowym poza żółtaczką stwierdza się powiększenie wątroby (około 80%), rzadziej śledziony (15-20%). U niektórych dzieci obserwuje się nieżyt górnych dróg oddechowych z niewielkim powiększeniem węzłów chłonnych. W ostrym okresie choroby stwierdza się wzrost stężenia bilirubiny oraz aktywności aminotransferaz z wyraźną przewagą AIAT (ALT). Narastanie aktywności AIAT (ALT) obserwuje się od 2. do 14. dnia przed wystąpieniem żółtaczki, a jej poziom może być bardzo wysoki.

Tab. 2. Wrażliwość wirusa WZW typu A na czynniki fizykochemiczne

Oporność HAV	Metody inaktywacji
Denaturacja termiczna (przeżywa w 70°C do 10 minut)	ogrzewanie do 85°C przez 1 min.
Środowisko kwaśne (pH 1 do 2 w temperaturze pokojowej)	autoklawowanie (121°C przez 20 min.)
20% eter, chloroform	promieniowanie UV (1,1 W na głębokość 0,9 cm przez 1 min.)
Dichlorodifluorometan	formalina (8% przez 1 min. w temp. 25°C)
Trichlorotrifluoroetan	propiolakton (0,03 % roztwór przez 72 godz. w temp 42°C)
Inaktywacja detergentem – przeżywa w 37°C przez 30 min. w 1% SDS	nadmanganian potasu (30 mg/L przez 5 min.)
Zachowuje zjadliwość w -20°C przez kilka lat	jodyna (3 mg/L przez 5 min.)
	chlor (0,2 do 2,5 mg/L przez 15 min.)
	chlor z komponentami (3-10 mg/L w 20°C przez 5-15 min.)

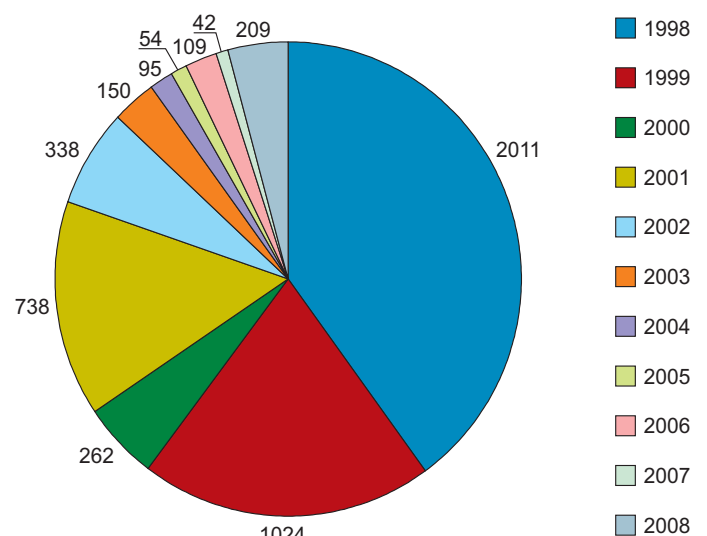
HAV nie jest poważnym zagrożeniem dla życia, śmiertelność wynosi ok. 1 na 1000 przypadków. Powikłania występują bardzo rzadko. Szacuje się, że WZW A (wirusowe zapalenie wątroby typu A) stanowi ponad 50% wszystkich wirusowych zapaleń wątroby (2). Bardzo wysoką endemiczność notuje się w krajach Afryki, Azji Południowo-Wschodniej, Ameryki Południowej. Największa na świecie epidemia wystąpiła w 1988 r. w Szanghaju. Zachorowało wówczas ponad 300 000 osób, natomiast 47 zmarło z powodu ostrej niewydolności wątroby. Na przestrzeni lat notowany jest wyraźny spadek zachorowań na WZW A, a jednak nadal, na całym świecie, w tym w USA, powszechnie występują epidemie lokalne (wyrównawcze) (szkoły, żłobki, przedszkola, miasta, regiony), przy których zapadalność jest bardzo wysoka i często sięga powyżej 700 przypadków na 100 tys. mieszkańców (1, 24). Szczególnie narażone na zakażenie HAV są osoby wyjeżdżające do krajów o zwiększonej zapadalności na WZW A (ryc. 3) (3). Do grupy tej należą turyści, wojskowi i osoby wyjeżdżające do pracy lub podejmujące naukę. Ryzyko zakażenia zależy od kraju oraz czasu pobytu (13). Do grupy zwiększonego ryzyka zachorowania na WZW A należą także narkomani, mężczyźni utrzymujący kontakty homoseksualne oraz osoby mające kontakt z małpami naczelnymi urodzonymi na wolności (zwierzęta te są wrażliwe na zakażenie HAV i mogą stanowić źródło zakażenia) (13). Poza tym do grupy podwyższonego ryzyka zachorowania na WZW A należą chorzy na hemofilię. W latach 1992-1993 wystąpiło w Europie kilka epidemii WZW A wśród chorych na hemofilię, którzy otrzymali koncentraty czynnika VIII przygotowane z osocza poddawanego w procesie produkcji działaniu rozpuszczalnych detergentów, a pobranego prawdopodobnie od dawców w okresie inkubacji WZW A. W latach 1995-1996 epidemie takie opisano także w USA wśród chorych leczonych koncentratami czynnika VIII lub IX (również poddanych tylko obróbce chemicznej). Kolejną grupą zwiększonego ryzyka zachorowań na WZW A są osoby pracujące przy produkcji i dystrybucji żywności. Raporty epidemiologiczne potwierdzają, że zachorowania wywodzące się z zakładów związanych z produkcją i obrotem żywnością szybko rozprzestrzeniają się i mogą mieć charakter epidemii. W 1997 r. w dwóch stanach USA odnotowano 213 przypadków zachorowań na WZW typu A na skutek spożycia zanieczyszczonych wirusem truskawek. Truskawki były zamrożone i pochodziły od jednego producenta. Dochodzenie epidemiczne wykazało, że zakażenie truskawek nastąpiło na etapie zbioru. W tym samym roku w Australii odnotowano 467 przypadków zachorowań, zaś źródłem zakażenia były ostrygi pochodzące od tego samego dostawcy. Decyzją władz sa-



Ryc. 3. Występowanie HAV na świecie

nitarnych hodowla, z której pochodziły ostrygi, została zamknięta na 10 tygodni. W maju 2002 r., w południowych Włoszech zarejestrowano 26 przypadków zachorowań. Źródłem wirusa były zakażone kanapki przygotowywane przez tego samego dostawcę. Pojedyncze źródło zakażenia zostało jednoznacznie potwierdzone na podstawie badania genotypu wirusa wyizolowanego z próbek pobranych od pacjentów. Wcześniej, na tym samym terenie Włoch wybuchła duża epidemia. Zachorowaniu uległo 5889 osób. W 2008 r. w Czechach odnotowano istotny wzrost zachorowań na wirusowe zapalenie wątroby typu A do 1616 przypadków (w 2007 r. odnotowano zaledwie 75 przypadków). Nie określono źródeł tak dużej liczby zachorowań, lecz nie była ona związana ze spożyciem zanieczyszczonej żywności (8).

Od 1978 r. obserwuje się w Polsce wyraźny okresowy wzrost zachorowalności co 8-10 lat, z epidemiami wyrównawczymi w poszczególnych województwach (21). Epidemia wyrównawcza występuje wówczas, gdy większa część populacji na danym terenie nie jest odporna na wirusowe zapalenie wątroby typu A. Epidemia taka „wyrównuje” brak odporności w populacji.



Ryc. 4. Zachorowalność na WZW A w Polsce w latach 1998-2008*

Objaśnienie: * meldunki PZH z lat 1998-2008 www.pzh.gov.pl

Epidemii wyrównawczych można spodziewać się nadal, z nasileniem w okresach jesienno-zimowych. Od 1978 r. WZW A zaczęło stopniowo przechodzić z okresu endemiczności wysokiej do okresu endemiczności pośredniej, który utrzymał się aż do 1997 r. W Polsce od 1997 r. wirusowe zapalenie wątroby typu A rejestruje się oddzielnie od innych wirusowych zapaleń wątroby (ryc. 4) (5). Do 1978 r. zgłoszone przypadki WZW rejestrowano w jednej grupie chorób, a od 1979 r. rejestrowano oddzielnie WZW B i „nie B”. W latach 1997-2001 występowała niska endemiczność WZW typu A w Polsce, a po 2002 r. nawet bardzo niska (21).

Najlepszym sposobem uniknięcia powikłań WZW A oraz epidemii wyrównawczych oprócz profilaktyki nieswoistej są szczepienia ochronne, zalecane zwłaszcza u osób z grup podwyższonego ryzyka. Wprawdzie w wyniku szczepienia uzyskuje się stężenie przeciwciał znacznie niższe niż w wyniku uodpornienia naturalnego, mimo to jest ono skuteczne epidemiologicznie (21). W większości krajów dostępne są wyłącznie inaktywowane szczepionki przeciwko WZW A, gdyż tylko takie preparaty poddano ocenie w badaniach klinicznych z grupą kontrolną. Zawierają one inaktywowane szczepy HAV zaadaptowane do hodowli fibroblastów ludzkich, a następnie oczyszczone na drodze ultrafiltracji i chromatografii oraz adiuwant (13, 24).

W diagnostyce zapaleń wątroby wyróżnia się testy swoiste i nieswoiste. Do testów nieswoistych należy badanie stężenia bilirubiny we krwi lub moczu oraz aminotransferaz: AIAT (ALT) i ASPAT, których podwyższone stężenie we krwi świadczy jedynie o możliwym uszkodzeniu wątroby. Zaletą testów nieswoistych jest to, że są stosunkowo łatwe i szybkie do przeprowadzenia. Przeciwciała wirusowe można wykryć za pomocą standardowych i ogólnie dostępnych testów RIA, EIA albo ELISA (3). Przeciwciała klasy IgM mogą pojawić się już w okresie wylegania, a ich najwyższe stężenie stwierdza się między 2.-3. tygodniem ostrego okresu choroby. W typowo przebiegających przypadkach mogą one utrzymywać się do 3-6 miesięcy. Przeciwciała anty-HAV klasy IgG mogą utrzymywać się do końca życia. W diagnostyce rutynowej nie stosuje się metod biologii molekularnej, pozwalającej na wykrycie RNA wirusowego we krwi lub kale, chociaż taka diagnostyka daje najbardziej pewne wyniki.

Dokładna znajomość budowy wirionu oraz struktury białek daje nadzieję na udoskonalenie metod diagnostycznych pozwalających na szybsze wykrywanie zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu A.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of hepatitis A through active or passive immunisation: recommendations of the Advisory Committee on Immunisation Practices (ACIP) MMWR 1999, 48 (Nr RR-12), 1-38.
2. Anon.: Consensus Statement Backgrounder I: VHPB Consensus Statement on the Control of Hepatitis A: Centre for the Evaluation of Vaccination WHO Collaborating Centre for Prevention and Control of Viral Hepatitis.
3. Anon.: World Health Organization Department of Communicable Disease Surveillance and Response WHO/CDS/CSR/EDC/2000.7.
4. Ashida M., Hamada C.: Molecular cloning of the hepatitis A virus receptor from a simian cell line. J. Gen. Virol. 1997, 78, 1565-1569.

5. Baumann A.: Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w latach 2006-2007. Przegl. Epidemiol. 2009, 63, 241-244.
6. Belsham G. J.: Divergent picornavirus IRES elements. Virus Res. 2009, 183-192.
7. Brown E. A., Day S. P., Jansen R. W., Lemon S. M.: The 5' nontranslated region of hepatitis A virus RNA: secondary structure and elements required for translation in vitro. J. Virol. 1991, 65, 5828-5838.
8. Částková J., Beneš C.: Increase in hepatitis A cases in the Czech Republic in 2008 – an update. Euro Surveill. 2009, 14, 1-3.
9. Cristina J., Costa-Mattioli M.: Genetic variability and molecular evolution of hepatitis A virus. Virus Res. 2007, 127, 151-157.
10. Duszczyk E.: Wirusowe zapalenie wątroby typu A – epidemiologia, klinika, leczenie, zapobieganie. Przew. Lek. 2001, 4, 64-67.
11. Emerson S. U., Huang Y. K., Purcell R. H.: 2B and 2C mutations are essential but mutations throughout the genome of HAV contribute to adaptation to cell culture. Virol. 1993, 194, 475-480.
12. Feinstone S. M., Kapikian A. Z., Purcell R. H.: Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus-like antigen associated with acute illness. Science 1973, 182, 1026-1028.
13. Fiore A. E., Wasley A., Bell B. P.: Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Recomm. Rep. 2006, 55, RR-7.
14. Garcia-Aguirre L., Cristina J.: Analysis of the full-length genome of hepatitis A virus isolated in South America: heterogeneity and evolutionary constraints. Arch. Vir. 2008, 153, 1473-1478.
15. Harmon S. A., Richards O. C., Summers D. F., Ehrenfeld E.: The 5'-terminal nucleotides of hepatitis A virus RNA, but not poliovirus RNA, are required for infectivity. J. Virol. 1991, 65, 2757-2760.
16. Kaplan G., Totsuka A., Thompson P., Akatsuka T., Moritsugu Y., Feinstone S. M.: Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus. EMBO J. 1996, 15, 4282-4296.
17. Knipe D. M., Howley P. M.: Fields Virology. T. 2, Philadelphia, USA 2007, 911-940.
18. Kozak M.: Regulation of translation in eucariotic systems. Annu. Rev. Cell Biol. 1992, 8, 197-225.
19. Kramer A., Schwelke I., Kampf G.: How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect. Dis. 2006, 6, 1-8.
20. Lemon S. M., Binn L. N.: Incomplete neutralization of hepatitis A virus in vitro due to lipid-associated virions. J. Gen. Virol. 1985, 66, 2501-2505.
21. Magdzik W.: Wirusowe zapalenie wątroby typu A (wzw A) w 2003 roku. Przegl. Epidemiol. 2005, 59, 289-295.
22. Martin A., Lemon S. M.: Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. Hepatology 2006, 43, 164-172.
23. Morace G., Kusov Y., Dzagurov G., Beneduce F., Gauss-Müller V.: The unique role of domain 2A of the hepatitis A virus precursor polypeptide P1-2A in viral morphogenesis. BMB, Rep. 2008, 41, 678-683.
24. Mrozińska M., Miksa G.: Wirusowe zapalenie wątroby typu A – nowoczesna, skuteczna, bezpieczna metoda zwalczania epidemii wzw A. Przew. Lek. 2002, 5, 18-20.
25. Paul A. V., Rieder E., Kim D. W., Van Boom J. H., Wimmer E.: Identification of an RNA hairpin in poliovirus RNA that serves as the primary template in the in vitro uridylylation of VPg. J. Virol. 2000, 74, 10359-10370.
26. Peters H., Kusov Y. Y., Meyer S., Benie A. J., Bäuml E., Wolff M., Rademacher C., Peters T., Gauss-Müller V.: Hepatitis A virus proteinase 3C binding to viral RNA: correlation with substrate binding and enzyme dimerization. Biochem. J. 2005, 385, 363-370.
27. Probst C., Jecht M., Gauss-Müller V.: Intrinsic signals for the assembly of hepatitis A virus particles. J. Biol. Chem. 1999, 274, 4527-4531.
28. Robertson B. H., Jansen R. W., Khanna B., Totsuka A., Nainan O. V., Siegl G., Widell A., Margolis H. S., Isomura S., Ito K., Ishizu T., Moritsugu Y., Lemon S. M.: Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. J. Gen. Virol. 1992, 73, 1365-1377.
29. Seymour I. J., Appleton H.: Foodborne viruses and fresh produce. J. Appl. Microbiol. 2001, 91, 759-773.
30. Siegl G., Weitz M.: Pathogenesis of hepatitis A: persistent viral infection as basis of an acute disease? Microb. Pathog. 1993, 14, 1-8.
31. Silberstein E., Dveksler G., Kaplan G. G.: Neutralization of hepatitis A virus (HAV) by an immunoadhesin containing the cysteine-rich region of HAV cellular receptor-1. J. Virol. 2001, 75, 717-725.
32. Tami C., Silberstein E., Manangeeswaran M., Freeman G. J., Umetsu S. E., DeKruyff R. H., Umetsu D. T., Kaplan G. G.: Immunoglobulin A (IgA) is a natural ligand of hepatitis A virus cellular receptor 1 (HAVCR1), and the association of IgA with HAVCR1 enhances virus-receptor interactions. J. Virol. 2007, 81, 3437-3446.
33. Totsuka A., Moritsugu Y.: Hepatitis A virus proteins. Intervirology. 1999, 42, 63-68.
34. Vallbracht A., Maier K., Stierhof Y. D., Wiedmann K. H., Flehmig B., Fleischer B.: Liver-derived cytotoxic T cells in hepatitis A virus infection. J. Infect. Dis. 1989, 160, 209-217.
35. Zhang H., Chao S. F., Ping L. H., Grace K., Clarke B., Lemon S. M.: An infectious cDNA clone of a cytopathic hepatitis A virus: Genomic regions associated with rapid replication and cytopathic effect. Virol. 1995, 212, 686-697.