Wirus zapalenia wątroby typu E u ludzi, zwierząt gospodarskich i związanych ze środowiskiem sylwatyicznym^{*)}

EWELINA BIGORAJ, ARTUR RZEŻUTKA

Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 17.11.2017

Zaakceptowano 23.01.2017

Bigoraj E., Rzeżutka A.

Hepatitis E virus in humans, farm animals and animals from the sylvatic environment

Summary

Hepatitis E virus (HEV) is a hepatovirus causing infections in humans and in many animal species. According to the current knowledge, HEV strains have been classified in the genus *Orthohepevirus*, family *Hepeviridae*, which encompasses strains belonging to one of seven virus genotypes. Genotypes 1 and 2 have only been found in humans, while genotypes 3 and 4 have been detected in humans, pigs, deer, rabbits and mongoose. The other HEV genotypes infect wild animals. However, the full spectrum of animal species being the natural reservoir of HEV has not been fully recognized. The clinical course of hepatitis in animals is asymptomatic, and infections do not cause significant losses in animal farming. Unlike in animals, infections in humans, and especially in pregnant women, can cause serious health problems. The identification of new virus strains in the animal reservoir and the possibility of transmission of some animal HEV strains to humans make the issue of public health protection and food safety even more important. This article provides an overview of data on the prevalence of HEV infections in animals and their impact on human and animal health.

Keywords: Hepatitis E virus infections, humans, farm and wild animals

Wirus zapalenia wątroby typu E (HEV) należy do dużej grupy hepatowirusów obejmującej szereg czynników zakaźnych przenoszonych przez krew, wodę lub zanieczyszczoną żywność (52). Wirus wywołuje zapalenie wątroby u człowieka i jest obecnie jedynym znanym zoonotycznym czynnikiem wirusowym w tej grupie patogenów. Dotychczas zakażenia HEV wykrywano wyłącznie u człowieka, ale postęp, jaki dokonał się w obszarze badań molekularnych, umożliwił identyfikację wielu szczepów wirusa u zwierząt, a także w środowisku i żywności (14, 70). HEV stanowi istotny problem zdrowia publicznego, szczególnie w krajach rozwijających się, gdzie infekcje mają charakter endemiczny i charakteryzują się wysokim wskaźnikiem śmiertelności (70). Szacuje się, że rocznie na świecie pojawia się 20 milionów nowych zakażeń HEV, które u 3,3 miliona osób mogą skutkować ostrym zapaleniem wątroby (66).

Klasyfikacja szczepów

Szczepy HEV zostały sklasyfikowane do rodzaju *Hepevirus* w obrębie rodziny *Hepeviridae*. Biorąc

pod uwagę podobieństwa i różnice w budowie genu poszczególnych szczepów wirusa wyodrębniono cztery jego genotypy (gt 1-4) z 24 podtypami (42, 52). Zachorowania człowieka wywołują szczepy HEV należące do gt 1-4 (51, 59, 70), natomiast szczepy o gt 3 i 4 oprócz człowieka są również odpowiedzialne za infekcje u świń, królików, jeleni i mangusta (59). Ze względu na wykrycie u zwierząt szeregu nowych szczepów wirusa, których nie można było przypisać do żadnego z istniejących genotypów (50), zaproponowano nowy podział taksonomiczny hepevirusów. W obrębie rodziny *Hepeviridae* ssacze i ptasie szczepy HEV zaliczono do jednego z czterech gatunków (A-D) *Orthohepevirusa* (59). Biorąc pod uwagę stopień pokrewieństwa filogenetycznego szczepów, wyodrębniono 7 jego genotypów (49, 51) (ryc. 1).

Organizacja genomu wirusa

Genom HEV stanowi jednociowy (+) RNA o długości około 6,6 do 7,3 kbp (22, 70). Zawiera on trzy ramki odczytu (Open Reading Frame, ORF), których sekwencje kodują szereg białek strukturalnych i nie-strukturalnych powstających w procesie translacji i obróbki potranslacyjnej. Wyjątek stanowi genom HEV

^{*)} Sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”; decyzja MNSzW nr 05-1/KNOW2/2015.

Ryc. 1. Drzewo filogenetyczne obrazujące pokrewieństwo szczepów HEV ludzi i zwierząt. Drzewo przygotowane w oparciu o kompletne sekwencje nukleotydowe referencyjnych szczepów wirusa (60)

szczurów i fretek, który ma cztery ramki odczytu (22). Schemat budowy i organizacji genomu hepewirusów przedstawiono na ryc. 2.

W obrębie pORF1: M – metylotransferaza; Y i X – domeny poliproteiny; P – proteaza; HVR – region hiperzmienny; H – helikaza; RdRp – RNA zależna polimeraza RNA; w obrębie pORF2: Δ – miejsce

glikozylacji; w obrębie pORF3: D1, D2, P1, P2 – domeny fosfoproteiny.

Genom wirusa obejmujący fragment od 28 do 7127 nukleotydu (nt) jest regionem kodującym (Coding DNA Sequence, CDS), który na końcach 5' i 3' otoczony jest regionami niekodującymi (Non Coding Regions, NCRs) niepodlegającymi translacji (52, 70). Fragment genomu obejmowany przez ORF1 jest najdłuższy (5079 nt) i znajduje się na końcu 5' pomiędzy 28 a 5107 nt (51). Koduje on poliproteinę (pORF1) składającą się z 1693 aminokwasów (aa), z której powstają białka niestrukturalne, takie jak: metylotransferaza (M) (1aa – 240 aa), RNA zależna polimeraza RNA (RdRp) (1204 aa – 1693 aa), helikaza (H) (942 aa – 1204 aa) i proteaza (P) (711 aa – 778 aa) niezbędne do replikacji wirusa w komórce gospodarza (44, 52). Ponadto w obrębie ORF1 pomiędzy domenami X (778 aa – 942 aa) i Y (240 aa – 442 aa) znajduje się bogaty w prolinę region hiperzmienny (HVR) (592 aa – 711 aa). Charakteryzuje się on dużą zmiennością sekwencji nukleotydowej wśród szczepów HEV (44, 52). W przypadku króliczych szczepów wirusa dodatkowo w domenie X obecny jest 93 nt fragment RNA, który najprawdopodobniej bierze udział w replikacji i/lub transkrypcji wirusowego RNA (22, 31). ORF2 znajduje się na końcu 3' genomu, pomiędzy 5147 a 7127 nt i koduje białko kapsydu (pORF2) o wielkości 660 aa (22, 24, 31, 52). W obrębie pORF2 zidentyfikowano trzy miejsca glikozylacji, których funkcja nie jest do końca poznana (51). ORF3 stanowi najmniejszą, zachodzącą na ORF2 ramkę odczytu o wielkości zaledwie 369 nt. Koduje ona fosfoproteinę (pORF3), która zawiera hydrofobowe domeny D (D1 i D2) oraz bogate w prolinę domeny P (P1 i P2).

Replikacja wirusa w komórce

Proces replikacji HEV w komórce gospodarza nie jest jeszcze dobrze poznany (24). Namnażanie wirusa głównie ma miejsce w hepatocytach, chociaż u eksperymentalnie zakażonych zwierząt wirus wykrywany był w jelicie cienkim i okrężnicy, węzłach chłonnych krezki, tchawicy i wątroby (70). Uważa się, że po zakażeniu wirus wstępnie namnaża się w przewodzie pokarmowym, chociaż pierwotne miejsce replikacji nie zostało zidentyfikowane (47). Następnie HEV żyłą wrotną przedostaje się do wątroby. W cytoplazmie hepatocytów dochodzi kolejno do transkrypcji i translacji genomowego RNA wirusa, w wyniku czego powstaje poliproteina pORF1. Jednocześnie ma miejsce replikacja

Ryc. 2. Organizacja genomu HEV

RNA wirusów potomnych (24, 52). W tym samym czasie powstają białka kapsydu (pORF2) oraz fosfoproteina (pORF3). Kolejnym etapem jest formowanie cząstek wirusa. Proces ten zachodzi w retikulum endoplazmatycznym, gdzie nowo zsyntetyzowane RNA zostaje upakowane w kapsyd. W procesie tym istotną rolę odgrywa fosfoproteina (24, 52). Potomne wirusy uwalniane są zarówno do krwi, jak i do żółci, a następnie wydalone z kałem (16, 44).

HEV u ludzi

Infekcje HEV u ludzi notowane są na całym świecie, a szczególnie w krajach rozwijających się, gdzie mają charakter endemiczny (70). Pomimo że większość zakażeń przebiega bezobjawowo, opisywano też ciężkie przypadki infekcji, szczególnie u osób z obniżoną odpornością, współistniejącymi chorobami wątroby, jak również u kobiet ciężarnych (23, 70). Szereg badań wskazuje, że istnieją pewne zależności pomiędzy wiekiem i płcią pacjentów a częstością zakażeń HEV. Częściej chorują mężczyźni niż kobiety, a także osoby dorosłe w porównaniu do dzieci (51). Ponadto, u mężczyzn w średnim wieku lub starszych (zwykle około 65. roku życia) pochodzących z krajów dobrze rozwiniętych gospodarczo notowano większą liczbę zakażeń niż u pacjentów z tej samej grupy wiekowej z krajów rozwijających się (23, 52). W Europie zakażenia HEV u ludzi mają zwykle charakter zoonotyczny i wywoływane są głównie przez gt 3 wirusa. Niemniej jednak opisywano przypadki zakażenia gt 1 i 4, które najprawdopodobniej zostały zawleczone do Europy z obszarów endemicznych Chin (9, 21). Częstość występowania zakażeń u ludzi różni się w zależności od regionu świata. W Europie wynosi ona od 0,03% do 52% z najwyższym odsetkiem infekcji wśród osób pochodzących z terenów wiejskich, myśliwych lub mających kontakt ze zwierzętami uznanymi za rezerwuariuszy wirusa (39). Seroprevalencja wzrasta wraz z wiekiem badanych osób i jest najwyższa (70%) w grupie pacjentów powyżej 58. roku życia (39). W nielicznych do tej pory badaniach przeprowadzonych w Polsce, które m.in. obejmowały grupę osób z dysfunkcją wątroby lub hospitalizowanych z powodu współistniejących chorób zakaźnych, w tym nosicieli wirusa HIV, obecność swoistych przeciwciał anti-HEV odnotowano u 15,9% badanych (5). Infekcje HEV u kobiet ciężarnych na terenie Europy dotyczą 3,5-5,4% pacjentek i są one na ogół bezobjawowe (6, 36). Natomiast szczególnie wysoką śmiertelność ciężarnych (20-45%) obserwuje się w Afryce i Azji, gdzie infekcje utrzymują się endemicznie (3, 23). Uważa się, że tylko w tych regionach z powodu wirusowego zapalenia wątroby typu E, dochodzi do 70 000 zgonów i 3000 poronień (55). Dotychczas nie udało się wyjaśnić, dlaczego infekcje HEV u kobiet ciężarnych mogą prowadzić do rozwoju ciężkiej postaci choroby. Może to być związane z różną zjadliwością genotypów wirusa lub też obecnością zakażeń towarzyszących powodowanych przez inne

drobnoustroje (70). Również zmiany immunologiczne i hormonalne w przebiegu ciąży mogą przyczynić się do osłabienia działania układu odpornościowego. W ciąży dochodzi do hamowania odporności komórkowej z udziałem limfocytów, co przyczynia się do zapewnienia bezpiecznego środowiska dla płodu, ale sprawia, że ciężarne są bardziej podatne na zakażenia wirusowe (45). Ponadto wzrastające w przebiegu ciąży poziomy progesteronu, estrogenów i gonadotropiny kosmówkowej wpływają na procesy immunologiczne, stymulując replikację wirusa (45). Najwyższą koncentrację wirusa obserwuje się w wątrobie i łożysku. Przypuszcza się, że łożysko, podobnie jak wątroba, może być predylekcyjnym miejscem replikacji HEV (4).

Okres inkubacji choroby jest różny i może wynosić od 9 dni do 2 miesięcy, zwykle trwa około 4-6 tygodni (24). Objawy w przebiegu zakażenia HEV są bardzo podobne do tych obserwowanych podczas infekcji wywołanych przez wirus zapalenia wątroby typu A (51). Charakterystycznym objawem jest żółtaczką, której towarzyszą: złe samopoczucie, gorączka, bóle stawów, nudności, wymioty, ból brzucha i biegunka. Objawy na ogół ustępują samoistnie po 7-28 dniach, natomiast siewstwo wirusa w kale zwykle trwa do 4 miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów choroby (1, 62). Przeciwciała anti-HEV IgM pojawiają się wraz z wystąpieniem objawów klinicznych zakażenia i po około 4-5 miesiącach stopniowo zanikają wraz z pojawieniem się przeciwciał klasy IgG (1).

Obecnie prowadzi się szereg badań mających na celu stworzenie skutecznej szczepionki przeciwko zakażeniom powodowanym przez HEV. Jedyną dopuszczoną do stosowania szczepionką dla ludzi, ale tylko na terenie Chin, jest preparat pod nazwą Hecolin® (HEV 239, Xiamen Innovax Biotech). Jest to szczepionka rekombinowana przygotowana w oparciu o fragment genu kodującego kapsyd szczepu gt 1 wirusa. Po trzykrotnej immunizacji wykazywała ona 100% skuteczność przeciw zakażeniom HEV powodowanym przez szczepu wirusa o gt 1 (19, 48). Kolejnym preparatem będącym w trakcie badań klinicznych jest rekombinowana szczepionka zawierająca wektor bakulowirusowy z fragmentem białka kapsydu HEV człowieka również gt 1 (19, 44). Biorąc pod uwagę fakt, że szczepy HEV gt 3 i 4 posiadają potencjał zoonotyczny, a infekcje wywołane tymi szczepami występują zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, istnieje potrzeba opracowania skutecznej formuły szczepionki dającej krzyżową odporność w przypadku zakażeń powodowanych przez różne genotypy wirusa.

Drogi transmisji HEV na człowieka

Do zakażenia HEV dochodzi głównie drogą pokarmową poprzez spożycie zanieczyszczonej wody i żywności, jak również w wyniku bezpośredniego kontaktu z osobą chorą lub siewcą wirusa. W transmisji HEV szczególne znaczenie ma woda używana do nawadniania upraw zielonych lub stosowana w procesie

przetwórstwa żywności, ze względu na łatwość jej zanieczyszczenia ściekami lub obornikiem zwierzęcym powszechnie stosowanym w rolnictwie jako nawóz (38). Ponadto, ścieki, jak i nieodpowiednio kompostowany obornik mogą prowadzić do zanieczyszczenia gleby wirusem, a za jej pośrednictwem do zanieczyszczenia warzyw i owoców (52), niemniej jednak głównym źródłem wirusa dla człowieka jest żywność pochodzenia zwierzęcego, ze względu na obecność HEV w tkankach bezobjawowo zakażonych zwierząt (70), dlatego spożywanie dziczyzny (32, 63), wieprzowiny (68, 70), podrobów wieprzowych (14, 70), mięczaków (58) oraz innych produktów pochodzenia zwierzęcego, które nie były poddane dostatecznej obróbce termicznej prowadzącej do inaktywacji wirusa może nieść ryzyko zakażenia człowieka (10, 68). Ponadto, do zakażenia HEV może dojść w trakcie transfuzji krwi pobranej od zakażonych dawców (11), jak też drogą wertykalną od chorej matki do płodu (ryc. 3) (28).

Ważną rolę w transmisji wirusa odgrywa bezpośredni kontakt ze zwierzętami uznanymi za naturalny jego rezerwuuar (22, 71). Wyniki badań serologicznych prowadzonych wśród hodowców świń, lekarzy weterynarii oraz pracowników leśnych dowodzą częstszej obecności anty-HEV IgG u osób z tych grup zawodowych. Niemniej jednak nie obserwuje się gwałtownego wzrostu zachorowań osób zawodowo narażonych na kontakt ze zwierzętami (7, 27, 39, 42, 64).

HEV u trzody chlewnej

Szczepki HEV świń należą do gt 3 i 4. Wirus po raz pierwszy został zidentyfikowany u świń w 1997 r. w Stanach Zjednoczonych (43). Częstość zakażeń HEV u tego gatunku zwierząt jest różna i uzależniona od wieku zwierząt (53). Obecność swoistych przeciwciał anty-HEV głównie stwierdza się u zwierząt w wieku od 6 do 22 tygodni, przy czym najwyższy ich poziom obserwowano u tuczników powyżej 13. tygodnia życia (2). Rozpowszechnienie infekcji w stadach świń jest duże. Wysoką, tj. 90% seroprewalencję zakażeń obserwowano m.in. w stadach trzody chlewnej w Norwegii (29), USA (88,8%) (69), a także Belgii i Holandii (73%) (2). Niższą częstość infekcji stwierdzano u świń w Niemczech (46,9%), Wielkiej Brytanii (21,5%) i Czechach (5%) (2, 27). Zakażenie zwierząt przebiega bezobjawowo z okresowym wydalaniem wirusa w kale. Siewstwo wirusa może utrzymywać się nawet do 7 tygodni po zakażeniu (70). HEV u świń, podobnie jak u ludzi, głównie namnaża się w komórkach wątroby. Obecność wirusowego RNA wykazano również w jelicie cienkim, węzłach chłonnych krezki, śliniankach i nerkach (68). Wiremia zwykle trwa od

Ryc. 3. Źródła i drogi transmisji HEV na człowieka

1 do 2 tygodni (68). Serokonwersję obserwuje się pomiędzy 18. a 20. dniem po zakażeniu. Szczepem HEV izolowanym od świń eksperymentalnie zakażono szympansy i małpy z gatunku rebus, obserwując wiremię i serokonwersję (41).

HEV u królików, fretek i innych gatunków zwierząt

Króliczy HEV po raz pierwszy zidentyfikowano w Chinach w 2009 r. u królików rasy rex pochodzących z hodowli wielkotowarowych (72). Króliczy HEV jest genetycznie i antygenowo blisko spokrewniony z wirusami izolowanymi od innych ssaków (70). Wirus wykrywano był zarówno w fermach królików, u zwierząt dziko żyjących, jak i towarzyszących (8). Zakażenie u królików przebiega zwykle bezobjawowo. Jedyne zmiany towarzyszące infekcji to wzrost poziomu aminotransferazy alaninowej (ALT) oraz wieloogniskowe nacieki limfohistiocytarne i zmiany martwicze w wątrobie (26). Obecność HEV wykazano w stadach królików utrzymywanych m.in. w Chinach, Francji, Holandii i USA. Seroprewalencję określono na poziomie od 15,4% do 57% (12, 17, 18, 40), wskazując na wysoką częstość zakażeń wśród zwierząt z hodowli wielkotowarowych (12, 65). Obecność swoistych przeciwciał anty-HEV lub wirusowe RNA wykrywano u królików utrzymywanych jako zwierzęta towarzyszące, sugerując istnienie ryzyka związanego z transmisją wirusa na człowieka (8, 15).

Infekcje HEV u fretek, podobnie jak u innych gatunków zwierząt są bezobjawowe (35, 54). Analiza sekwencji nukleotydowych szczepów HEV fretek wskazała na ich pokrewieństwo filogenetyczne do szczepów HEV gryzoni (70). Jak dotąd nie dowiedziono możliwości międzygatunkowej transmisji HEV od fretek na człowieka (33). Przeciwciała anty-HEV wykrywano również u zwierząt przeżuujących

m.in. u bydła, owiec i kóz, a także u szczura i psa (40, 50, 70).

HEV u ptaków

Wirus został wykryty u różnych gatunków ptaków, obejmujących m.in. drób domowy (kura, indyk) oraz ptaki dzikie (pustułka, kobczyk zwyczajny) (56). Przypadki HEV u kur łączone są z syndromem powiększonej wątroby (big liver syndrome, BLS), a także z zespołem zapalenia wątroby i śledziony (hepatitis splenomegaly syndrome, HSS), pomimo że wirus wykrywany był również i u zdrowych kurcząt (61). Seroprewalencja u kur wzrasta wraz z wiekiem (70). U osobników poniżej 18. tygodnia życia wynosi ona 17%, podczas gdy u dorosłych ptaków jest już dwukrotnie wyższa (36%) (20). Objawy, jakie towarzyszą zakażeniu HEV, to spadek nieśności sięgający nawet 20% i 4% wzrost śmiertelności ptaków (25). Najwięcej upadków odnotowuje się u kur będących w wieku 7,5-18 miesięcy (69). W badaniu sekcyjnym stwierdzano zmiany zanikowe jajników, powiększenie oraz martwicę wątroby i śledziony, a także obecność krwistego płynu w jamie brzusznej (22, 25, 37, 42, 70). Przypadki zachorowań u kur notowano w Ameryce Północnej, Europie i Azji (37). W Polsce również identyfikowano HEV u kur w stadach reprodukcyjnych (61).

Sylwatyyczny rezerwuuar wirusa

HEV lub przeciwciała świadczące o obecności wirusa wykrywano u wielu gatunków zwierząt dziko żyjących. Wirusa stwierdzano m.in. u jeleni i dzików, które po świni domowej stanowią największy jego rezerwuuar (70). Zakażenie HEV u dzików najprawdopodobniej ma przebieg bezobjawowy, podobny jak u świń (70). W Europie seroprewalencja wynosi od 12% w populacji tych zwierząt w Holandii do 42,7% w Hiszpanii (13, 57). W Polsce badania przeprowadzane na populacji dzików pochodzących z obszaru środkowej i zachodniej części kraju wskazały na obecność przeciwciał u 44,4% badanych zwierząt (30). Przeciwciała anti-HEV wykazano również u jeleni i saren, jednak seroprewalencja w europejskiej populacji dzików przeżuwczy nie przekraczała 6,8% (46, 70). Nowym sylwatyycznym rezerwuwarem wirusa jest łось. Szczepy HEV identyfikowane u tych zwierząt posiadały zaledwie 35-60% podobieństwo sekwencji nukleotydowych do szczepów HEV człowieka i innych gatunków zwierząt wrażliwych na zakażenie (35). Pomimo że zakażenia u zwierząt wykazują gatunkowo specyficzne szczepy HEV, to niektóre gatunki, jak np. świnia i dzik są również rezerwuwarem zoonotycznych szczepów wirusa.

Patogeneza zakażeń i biologia HEV jest jeszcze słabo poznana, a bezobjawowy przebieg infekcji utrudnia rozpoznanie choroby, jak też nie jest wskazaniem do przeprowadzenia ukierunkowanych badań diagnostycznych. Obecnie dysponujemy dość skromnym panelem przesiewowych testów diagnostycznych,

które są jedynie dedykowane dla wąskiej grupy zwierząt. Biorąc pod uwagę potencjał zoonotyczny wirusa, a także ryzyko jego transmisji na człowieka w wyniku bezpośredniego kontaktu z zakażonym zwierzęciem lub za pośrednictwem zanieczyszczonej żywności, aspekt ochrony zdrowia publicznego w kontekście występowania zakażeń HEV u zwierząt nabiera większego znaczenia.

Piśmiennictwo

1. Aggarwal R., Krawczynski K.: Hepatitis E: an overview and recent advances in clinical and laboratory research. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2000, 15, 9-20.
2. Berto A., Backer J. A., Mesquita J. R., Nascimento M. S., Banks M., Martelli F., Ostanello F., Angeloni G., Di Bartolo I., Ruggeri F. M., Vaskicova P., Diez-Valcarce M., Hernandez M., Rodriguez-Lazaro D., van der Poel W. H.: Prevalence and transmission of hepatitis E virus in domestic swine populations in different European countries. *BMC Res. Notes* 2012, 5, 190.
3. Bonney J. H., Kwame-Aryee R. A., Obed S., Tamatey A. A., Barnor J. S., Armah N. B., Oppong S. A., Osei-Kwesi M.: Fatal hepatitis E viral infection in pregnant women in Ghana: a case series. *BMC Res. Notes* 2012, 5, 478.
4. Bose P. D., Das B. C., Hazam R. K., Kumar A., Medhi S., Kar P.: Evidence of extrahepatic replication of hepatitis E virus in human placenta. *J. Gen. Virol.* 2014, 95, 1266-1271.
5. Bura M., Michalak M., Chojnicki M., Czajka A., Kowala-Piaskowska A., Mozer-Lisewska I.: Seroprevalence of anti-HEV IgG in 182 Polish patients. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2015, 69, 320-326.
6. Buti M., Dominguez A., Plans P., Jardi R., Rodriguez-Frias F., Gironés R., Esteban R., Salleras L., Plasencia A.: Infrequent detection of hepatitis E virus RNA in pregnant women with hepatitis E virus antibodies in Spain. *Liver Int.* 2010, 10, 1549-1551.
7. Carpentier A., Chaussade H., Rigaud E., Rodriguez J., Berthault C., Boué F., Tognon M., Touzé A., Garcia-Bonnet N., Choutet P., Coursaget P.: High hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France. *J. Clin. Microbiol.* 2012, 50, 2888-2893.
8. Caruso C., Modesto P., Prato R., Scaglione F. E., De Marco L., Bollo E., Acutis P. L., Masoero L., Peletto S.: Hepatitis E virus: First description in a pet house rabbit. A new transmission route for human? *Transbound. Emerg. Dis.* 2015, 62, 229-232.
9. Cleland A., Smith L., Crossan C., Blatchford O., Dalton H. R., Scobie L., Petrik J.: Hepatitis E virus in Scottish blood donors. *Vox Sang.* 2013, 4, 283-289.
10. Colson P., Borentain P., Queyriaux B., Kaba M., Moal V., Gallian P., Heyries L., Raoult D., Gerolami R.: Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J. Infect. Dis.* 2010, 202, 825-834.
11. Colson P., Coze C., Gallian P., Henry M., De Micco P., Tamalet C.: Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2007, 13, 648-649.
12. Cossaboom C. M., Córdoba L., Dryman B., Meng X. J.: Hepatitis E virus in rabbits, Virginia, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, 17, 2047-2049.
13. De Deus N., Casas M., Peralta B., Nofrarias M., Pina S., Martín M., Segalés J.: Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. *Vet. Microbiol.* 2008, 132, 19-28.
14. Di Bartolo I., Angeloni G., Ponterio E., Ostanello F., Ruggeri F. M.: Detection of hepatitis E virus in pork liver sausages. *Int. J. Food. Microbiol.* 2015, 16, 29-33.
15. Di Bartolo I., De Sabato L., Marata A., Martinelli N., Magistrali C. F., Monini M., Ponterio E., Ostanello F., Ruggeri F. M.: Serological survey of hepatitis E virus infection in farmed and pet rabbits in Italy. *Arch. Virol.* 2016, 161, 1343-1346.
16. Emerson S. U., Purcell R. H.: Hepatitis E virus. *Rev. Med. Virol.* 2003, 13, 145-154.
17. Geng J., Wang L., Wang X., Fu H., Bu Q., Zhu Y., Zhuang H.: Study on prevalence and genotype of hepatitis E virus isolated from Rex Rabbits in Beijing, China. *J. Viral. Hepat.* 2011, 18, 661-667.
18. Geng Y., Wang C., Zhao C., Yu X., Harrison T. J., Tian K., Wang Y.: Serological prevalence of hepatitis E virus in domestic animals and diversity of genotype 4 hepatitis E virus in China. *Vector Borne Zoonotic. Dis.* 2010, 10, 765-770.
19. Haffar S., Bazerbachi F., Lake J. R.: Making the case for the development of a vaccination against hepatitis E virus. *Liver Int.* 2015, 35, 311-316.
20. Huang F. F., Haqshenas G., Guenette D. K., Halbur P. G., Schommer S. K., Pierson F. W., Toth T. E., Meng X. J.: Detection by reverse transcription-PCR and genetic characterization of field isolates of swine hepatitis E virus from pigs in different geographic regions of the United States. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 1326-1332.

21. Jebblaoui A., Haim-Boukobza S., Marchadier E., Mokhtari C., Roque-Afonso A. M.: Genotype 4 hepatitis E virus in France: an autochthonous infection with a more severe presentation. *Clin. Infect. Dis.* 2013, 4, 122-126.
22. John R., Dremsek P., Reetz J., Heckel G., Hess M., Ulrich R. G.: Hepeviridae: An expanding family of vertebrate viruses. *Infect. Genet. Evol.* 2014, 27, 212-229.
23. Kamar N., Dalton H. R., Abravanel F., Izopet J.: Hepatitis E virus infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014, 27, 116-138.
24. Khuroo M. S., Khuroo M. S.: Hepatitis E: an emerging global disease – from discovery towards control and cure. *J. Viral. Hepat.* 2016, 23, 68-79.
25. Kozdrun W., Czekaj H.: Zapalenie wątroby u drobiu. *Polskie Drobiarstwo* 2016, 10, 62-64.
26. Krawczynski K., Meng X. J., Rybczynska J.: Pathogenetic elements of hepatitis E and animal models of HEV infection. *Virus Res.* 2011, 161, 78-83.
27. Krumbholz A., Joel S., Dremsek P., Neubert A., John R., Dürrwald R., Walther M., Müller T. H., Kühnel D., Lange J., Wutzler P., Sauerbrei A., Ulrich R. G., Zell R.: Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) in humans living in high pig density areas of Germany. *Med. Microbiol. Immunol.* 2014, 203, 273-282.
28. Kumar A., Beniwal M., Kar P., Sharma J. B., Murthy N. S.: Hepatitis E in pregnancy. *Int. J. Gynaecol.* 2004, 85, 240-244.
29. Lange H., Overbø J., Borgen K., Dudman S., Hoddevik G., Urdahl A. M., Vold L., Sjurseth S. K.: Hepatitis E in Norway: seroprevalence in humans and swine. *Epidemiol. Infect.* 2016, 27, 1-6.
30. Larska M., Krzysiak M. K., Jabłoński A., Kęsik J., Bednarski M., Rola J.: Hepatitis E virus antibody prevalence in wildlife in Poland. *Zoonoses Public Health* 2015, 62, 105-110.
31. Lhomme S., Dubois M., Abravanel F., Top S., Bertagnoli S., Guerin J. L., Izopet J.: Risk of zoonotic transmission of HEV from rabbits. *J. Clin. Virol.* 2013, 58, 357-362.
32. Li T. C., Chijiwa K., Sera N., Ishibashi T., Etoh Y., Shinohara Y., Kurata Y., Ishida M., Sakamoto S., Takeda N., Miyamura T.: Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg. Infect. Dis.* 2005, 11, 1958-1960.
33. Li T. C., Yang T., Ami Y., Suzuki Y., Shirakura M., Kishida N., Asanuma H., Takeda N., Takaji W.: Complete genome of hepatitis E virus from laboratory ferrets. *Emerg. Infect. Dis.* 2014, 20, 709-712.
34. Li T. C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzuki Y., Ishii K., Kishida N., Shirakura M., Asanuma H., Takeda N., Wakita T.: Ferret hepatitis E virus infection induces acute hepatitis and persistent infection in ferrets. *Vet. Microbiol.* 2016, 1, 30-36.
35. Lin J., Karlsson M., Olofson A. S., Belák S., Malmsten J., Dalin A. M., Widén F., Norder H.: High prevalence of hepatitis E virus in Swedish moose: a phylogenetic characterization and comparison of the virus from different regions. *PLoS One* 2015, 23, 10.
36. Lindemann M. L., Gabilondo G., Romero B., de la Maza O. M., Pérez-Gracia M. T.: Low prevalence of hepatitis E infection among pregnant women in Madrid, Spain. *J. Med. Virol.* 2010, 10, 1666-1668.
37. Liu B., Zhao Q., Sun Y., Wang X., Zhao J., Du T., Wang C., Xiao S., Mu Y., Zhang G., Luo J., Hsu W. H., Zhou E. M.: Development of a blocking ELISA for detection of antibodies against avian hepatitis E virus. *J. Virol. Methods* 2014, 204, 1-5.
38. Majumdar M., Singh M. P., Pujhari S. K., Bhatia D., Chawla Y., Ratho R. K.: Hepatitis E virus antigen detection as an early diagnostic marker: report from India. *J. Med. Virol.* 2013, 5, 823-827.
39. Mansuy J. M., Bendall R., Legrand-Abravanel F., Sauné K., Miédouge M., Ellis V., Rech H., Destruel F., Kamar N., Dalton H. R., Izopet J.: Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, 17, 2309-2312.
40. Mazzei M., Forzan M., Pizzurro F., Piccioli F., Bandecchi P., Poli A.: Detection of hepatitis E virus antibodies in domestic and wild animal species in central Italy. *Clin. Microbiol.* 2015, 4, 227.
41. Meng X. J., Halbur P. G., Shapiro M. S., Govindarajan S., Bruna J. D., Mushahwar I. K., Purcell R. H., Emerson S. U.: Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J. Virol.* 1998, 72, 9714-9721.
42. Meng X. J.: Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet. Microbiol.* 2010, 140, 256-265.
43. Meng X. J., Purcell R. H., Halbur P. G., Lehman J. R., Webb D. M., Tsareva T. S., Haynes J. S., Thacker B. J., Emerson S. U.: A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 9860-9865.
44. Nan Y., Zhang Y. J.: Molecular biology and infection of hepatitis E virus. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 1419.
45. Navaneethan U., Al Mohajer M., Shata M. T.: Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008, 28, 1190-1199.
46. Neumann S., Hackl S. S., Piepenschneider M., Vina-Rodriguez A., Dremsek P., Ulrich R. G., Groschup M. H., Eiden M.: Serologic and molecular survey of hepatitis E virus in German deer populations. *J. Wildl. Dis.* 2016, 52, 106-113.
47. Panda S. K., Thakral D., Rehman S.: Hepatitis E virus. *Rev. Med. Virol.* 2007, 17, 151-180.
48. Park W. J., Park B. J., Ahn H. S., Lee J. B., Park S. Y., Song C. S., Lee S. W., Yoo H. S., Choi I. S.: Hepatitis E virus as an emerging zoonotic pathogen. *J. Vet. Sci.* 2016, 17, 1-11.
49. Pavo N., Meng X. J., Doceul V.: Zoonotic origin of hepatitis E. *Curr. Opin. Virol.* 2015, 10, 34-41.
50. Pavo N., Meng X. J., Renou C.: Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Vet. Res.* 2010, 41, 46.
51. Pérez-Gracia M. T., García M., Suay B., Mateos-Lindemann M. L.: Current knowledge on hepatitis E. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2015, 3, 117-126.
52. Pérez-Gracia M. T., Suay B., Mateos-Lindemann M. L.: Hepatitis E: An emerging disease. *Infect. Genet. Evol.* 2014, 22, 40-59.
53. Pezzoni G., Caminiti A., Stercoli L., Grazioli S., Galletti G., Santi A., Tamba M., Brocchi E.: Comparison of three in-house ELISAs for the detection of hepatitis E virus infection in pigs under field conditions. *J. Virol. Methods* 2014, 207, 95-103.
54. Raj V. S., Smits S. L., Pas S. D., Provacia L. B., Moorman-Roest H., Osterhaus A. D., Haagmans B. L.: Novel hepatitis E virus in ferrets, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2012, 18, 1369-1370.
55. Rein D. B., Stevens G. A., Theaker J., Wittenborn J. S., Wiersma S. T.: The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology* 2012, 4, 988-997.
56. Reuter G., Boros Á., Mátics R., Kapusinszky B., Delwart E., Pankovics P.: Divergent hepatitis E virus in birds of prey, common kestrel (*Falco tinnunculus*) and red-footed falcon (*F. vespertinus*), Hungary. *Infect. Genet. Evol.* 2016, 43, 343-346.
57. Rutjes S. A., Lodder-Verschoor F., Lodder W. J., van der Giessen J., Reesink H., Bouwknegt M., de Roda Husman A. M.: Seroprevalence and molecular detection of hepatitis E virus in wild boar and red deer in The Netherlands. *J. Virol. Methods* 2010, 168, 197-206.
58. Said B., Ijaz S., Kafatos G., Booth L., Thomas H. L., Walsh A., Ramsay M., Morgan D.: Hepatitis E incident investigation team: Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerg. Infect. Dis.* 2009, 15, 1738-1744.
59. Smith D. B., Simmonds P., International Committee on Taxonomy of Viruses Hepeviridae Study Group, Jameel S., Emerson S. U., Harrison T. J., Meng X. J., Okamoto H., van der Poel W. H., Purdy M. A.: Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J. Gen. Virol.* 2014, 95, 2223-2232.
60. Smith D. B., Simmonds P., Izopet J., Oliveira-Filho E. F., Ulrich R. G., John R., Koenig M., Jameel S., Harrison T. J., Meng X. J., Okamoto H., van der Poel W. H., Purdy M. A.: Proposed reference sequences for hepatitis E virus subtypes. *J. Gen. Virol.* 2016, 97, 537-542.
61. Sun Z. F., Larsen C. T., Huang F. F., Billam P., Pierson F. W., Toth T. E., Meng X. J.: Generation and infectivity titration of an infectious stock of avian hepatitis E virus (HEV) in chickens and cross-species infection of turkeys with avian HEV. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 2658-2662.
62. Takahashi M., Tanaka T., Azuma M., Kusano E., Aikawa T., Shibayama T., Yazaki Y., Mizuo H., Inoue J., Okamoto H.: Prolonged fecal shedding of hepatitis E virus (HEV) during sporadic acute hepatitis E: evaluation of infectivity of HEV in fecal specimens in a cell culture system. *J. Clin. Microbiol.* 2007, 45, 3671-3679.
63. Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S.: Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003, 362, 371-373.
64. Toyoda K., Furusyo N., Takeoka H., Murata M., Sawayama Y., Hayashi J.: Epidemiological study of hepatitis E virus infection in the general population of Okinawa, Kyushu, Japan. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008, 23, 1885-1890.
65. Wang S., Dong Ch., Dai X., Cheng X., Liang J., Dong M., Purdy M. A., Meng J.: Hepatitis E virus isolated from rabbits is genetically heterogeneous but with very similar antigenicity to human HEV. *J. Med. Virol.* 2013, 85, 627-635.
66. WHO, 2015; www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en/
67. Williams T. P., Kasornrakbua C., Halbur P. G., Haqshenas G., Guenette D. K., Toth T. E., Meng X. J.: Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *J. Clin. Microbiol.* 2001, 39, 3040-3046.
68. Yazaki Y., Mizuo H., Takahashi M., Nishizawa T., Sasaki N., Gotanda Y., Okamoto H.: Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J. Gen. Virol.* 2003, 84, 2351-2357.
69. Yugo D. M., Cossaboom C. M., Meng X. J.: Naturally occurring animal models of human hepatitis E virus infection. *ILAR J.* 2014, 55, 187-199.
70. Yugo D. M., Meng X. J.: Hepatitis E virus: Foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10, 4507-4533.
71. Zhang Y., Zeng H., Liu P., Liu L., Xia J., Wang L., Zou Q., Wang L., Zhuang H.: Hepatitis E vaccine immunization for rabbits to prevent animal HEV infection and zoonotic transmission. *Vaccine* 2015, 38, 4922-4928.
72. Zhao C., Ma Z., Harrison T. J., Feng R., Zhang C., Qiao Z., Fan J., Ma H., Li M., Song A., Wang Y.: A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China. *J. Med. Virol.* 2009, 81, 1371-1379.