

Chorobotwórczość dla człowieka wirusa zapalenia wątroby typu E izolowanego od świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Pathogenicity for humans of hepatitis virus type E isolated from swine

Summary

The taxonomy and properties of type E hepatitis virus (HEV) classified to genus *Hepevirus*, family *Hepeviridae*, have been described. Genotypes I, II, III and IV have been distinguished. The disease occurs in humans mainly in developing countries. However, during recent years it has been diagnosed in industrialized countries, such as Japan, USA and European countries, as well, even without earlier contact of people with a population living in the Third World areas. Contacts of people with pigs, resulting in type E hepatitis or specific seroconversion indicate that these animals are the reservoir of HEV. Particularly genotypes III and IV, which occur in swine, participate in such cases in the etiology of type E hepatitis in humans. This finding indicates that type E hepatitis in humans is, at least in several circumstances, a zoonotic disease. Beside swine, which are the main source of the virus, other species, such as ruminants, rodents, and poultry, are also carriers of the mentioned genotypes III and IV. The infection takes place by the oroenteral route, which is the only way of spreading the infection and disease. The virus excreted with the feces contaminates the environment. Independently from other pathogens, hepatitis in swine can be caused by the mentioned virus; however, the severity of pathological symptoms can be increased by coinfection with other viruses, particularly the porcine circovirus 2 (PCV2).

Keywords: type E hepatitis, zoonotic disease, reservoir in swine

Wirus zapalenia wątroby typu E (Hepatitis E Virus, HEV) wywołuje u człowieka schorzenie tego narządu różne etiologicznie od powodowanego przez inne wirusy. Został on opisany w 1984 r. (10). Jest przyczyną infekcji w wielu krajach rozwijających się, w których dodatnie odczyny serologiczne dochodzą do 25% badanej populacji, a zachorowania są znacznie rzadsze. Wywołana u człowieka choroba ma ostry przebieg przy niskiej śmiertelności (12). Wyjątkowo, u kobiet ciężarnych przebieg zapalenia wątroby jest na ogół ciężki, a śmiertelność może sięgać 25% osób chorujących. Zakażenie następuje drogą pokarmową za pośrednictwem kału siewców wirusa, zakażonej wody lub żywności. Kraje rozwinięte uważane były za wolne od infekcji wywołanej przez HEV, poza nielicznymi przypadkami, dotyczącymi osób, które wyjeżdżały do krajów rozwijających się, w których choroba ta była stwierdzana. W efekcie przy sporadycznym występowaniu postaci klinicznej u osób w krajach uprzemysłowionych odsetki dodatnio reagujących w badaniach serologicznych osobników były znacznie wyższe (12). Pojawiły się jednak publikacje wskazujące na powodowanie przez HEV infekcji u osób, które nie wyjeżdżały do krajów rozwijających się (3).

W 1997 r. zidentyfikowany został przez Menga i wsp. (15, 17, 18) wirus RNA, wyizolowany od świń w USA, który okazał się na podstawie sekwencjonowania jego nukleotydów bardzo podobny do HEV. Określony został jako SwHEV (swine hepatitis E virus). U świni oraz rzadziej u szeregu innych gatunków zwierząt, tak w krajach

rozwijających się, jak również rozwiniętych wykazano przeciwciała swoiste dla HEV, co sugerowało zakażenie ich przez ten wirus lub wirusy bardzo do niego podobne (16, 19).

Czynnik etiologiczny występującego u człowieka zapalenia wątroby typu E jest bezotoczkowym, jednoniciowym wirusem RNA (5, 6, 20). Wcześniej zaliczany był do rodziny *Caliciviridae*. Ostatnio zakwalifikowano go jako prototyp rodzaju *Hepevirus*, rodziny *Hepeviridae* (5, 6). Genom zawiera trzy otwarte ramki odczytu (ORF-1, ORF-2, ORF-3) (25). Sekwencjonowanie odnośnych nukleotydów umożliwiło sklasyfikowanie w obrębie HEV 4 głównych genotypów: I, II, III, IV (22).

Większość infekcji człowieka powoduje genotyp I w szeregu krajów rozwijających się w Azji i Afryce, a genotyp II w Meksyku i Nigerii. Izolaty genotypu III i IV stwierdzono w USA, krajach europejskich, Argentynie, Chinach i Tajwanie (22). W Japonii izolowano od pacjentów z ostrym zapaleniem wątroby szczepy genotypu I, III lub IV (24). Genotypy III i IV występują, oprócz człowieka, również u zwierząt, zwłaszcza u świń (16). Wszystkie izolaty z terenu Hiszpanii uzyskane od świń stanowiły genotyp III SwHEV, co dodatkowo potwierdza wyniki wcześniejszych prac z tego kraju (3). Jak wynika z ostatnio wykonanych przez Tolari i wsp. (26) badań, w których porównywano wyniki sekwencjonowania nukleotydów fragmentu ORF-2 z izolatów HEV od świń i od człowieka, mamy prawdopodobnie do czynienia z międzygatunkową transmisją RNA obu odmian wirusa.

Izolaty HEV od ludzi i od świń, z regionów o intensywnej produkcji zwierzęcej, okazały się genetycznie bardzo zbliżone (genetically clustered), będąc reprezentowane w obu przypadkach przez genotypy III lub IV. Stwierdzenie to dowodzi, że występujące u człowieka zapalenie wątroby typu E, przez nie wywołane, jest zoonozą, a rezerwuarem czynnika etiologicznego jest świnia (31).

Wyniki analogicznych badań przedstawił Hsieh i wsp. (8). Zgodnie z tą publikacją szczep świński podzielał 97,3% identyczności sekwencyjnej z ludzkim szczepem HEV, wyosobnionym od emerytowanego farmera z Tajwanu. Różnił się on jednak od szczepu świńskiego HEV z USA. Ostatnio Wang i wsp. (28) wykazali, że szczep HEV (T1) wyizolowany od pacjenta z Chin jest zbliżony we właściwościach ze szczepem HEV z Tajwanu i ze szczepami ludzkimi HEV, opisanymi przez Hsieha i wsp. (8), sugerując, że tworzą one odrębny genotyp. Dodatkowo Wu i wsp. (30) zidentyfikowali w Tajwanie jeszcze inny szczep typu HEV od świń, dzielający 84-95% identyczności sekwencji nukleotydów z poprzednimi tajwańskimi szczepami HEV (30), które okazały się również podobne do szczepów chińskich HEV (30). Zgodnie z danymi Balayana i wsp. (1), rosyjskie domowe świnię udało się zakażać eksperymentalnie szczepem HEV z środkowej Azji, izolowanym od naturalnie zainfekowanego pacjenta (1). U świń tych rozwinęła się żółtaczką. Zostało to potwierdzone na 11 świniach SPF, które okazały się wrażliwe na zakażenie dwoma szczepami HEV izolowanymi od ludzi. Dodatkowo, świnię udawało się doświadczać zakażać genotypem III ludzkiego HEV i HEV pochodzącym od świń. Zakażone tymi wirusami zwierzęta wydalają je z kałem przez kilka tygodni (7). Z drugiej strony, szczep US-2 ludzkiego HEV, patogenny dla człowieka (21), nie zakażał w cytowanych badaniach świń w sensie wywołania objawów klinicznych (7). Jednak był przyczyną serokonwersji, a jego RNA wykrywano w kale, żółci i wątrobie zainfekowanych świń. Zmiany histopatologiczne u świń zakażanych przy użyciu wymienionych szczepów HEV były słabo zaznaczone. Cytowane publikacje stanowią kolejne dowody, że zwierzęta te mogą stanowić rezerwuariat patogennych dla człowieka wirusów zapalenia wątroby typu E.

Przeglądy serologiczne dotychczas przeprowadzone sugerują, że świńskie szczepy HEV są szeroko rozpowszechnione w środkowo-zachodnich stanach USA wśród populacji świń, jak też w Kanadzie, Korei, Tajwanie i Australii oraz w Nepalu i Chinach (7). Wysoki stopień genetycznego podobieństwa między świńskimi i ludzkimi szczepami HEV, zidentyfikowanymi w tych samych regionach geograficznych sugeruje, że może dokonywać się między nimi wzajemna transmisja RNA (7).

Badania serologiczne ludzi, profesjonalnie związanych ze świniami, jak lekarze weterynarii, hodowcy i personel obsługujący transporty tych zwierząt oraz zatrudniony w zakładach uboju wykazały, w porównaniu do osób nie stykających się z tymi zwierzętami, większą częstość występowania przeciwciał swoistych dla HEV, co oprócz poprzednio cytowanych publikacji również dowodzi możliwego zakażenia szczepami SwHEV od świń ludzi i zoonotycznego charakteru tej infekcji (29). Bezpośredni dowód na odzwierzęcy charakter zapalenia wątroby typu E dostarczyły ostatnio opublikowane badania z Ja-

ponii, w których stwierdzono, że pacjenci zakażili się i zachorowali na tę chorobę w wyniku spożycia nie gotowanej wątroby świni (14). Izolat z wątroby okazał się genetycznie identyczny ze szczepem HEV, izolowanym od jednego z pacjentów.

SwHEV szerzy się w populacji świń, jak wykazano eksperymentalnie, przez kontakt z osobnikami zakażonymi drogą doustną, za pośrednictwem kału (17). W warunkach naturalnych infekcja następuje w taki sam sposób dzięki kontaktowi z kałem zakażonych świń (5). Wiremia utrzymuje się u świni 1-2 tygodnie, podczas gdy siewstwo z kałem do 7 tygodni (7). Ostatnio przeprowadzone badania 99 świń wskazały na dużą różnicę między wynikami badań serologicznych i wirusologicznych opartych na wykazaniu swoistego RNA. W pierwszym przypadku serokonwersję wykazano u 72% osobników, a w drugim wynik dodatni wystąpił u 1% (29).

W Danii wysokiego odsetka ludzi z podwyższonym mianem anti-HEV nie można było łączyć z przeniesieniem infekcji od świń drogą krwi w czasie iniekcji parenteralnych leków lub szczepionek, mimo okresowego występowania wiremii (2). Również w USA grupy osób, które w czasie wykonywanych przez nie iniekcji lub sekcji zwłok stykały się z krwią świń zakażonych SwHEV, nie wykazywały większego odsetka serokonwersji niż te, które takiego kontaktu z krwią świń nie miały (4, 19). Przypuszcza się zatem, że krew świni zawierała zbyt małe ilości wirusa, by mogło rozwinąć się zakażenie u ludzi. Stwierdzono też, że warunkiem udanego zakażenia świni drogą doustną kałem było wysokie stężenie w nim wirusa i dopiero reinfekcja dużymi dawkami wywoływała zachorowanie. Kilkakrotne używanie bez sterylizacji tych samych igieł do szczepienia świń nie miało wpływu na szerzenie się tą drogą zakażenia wirusem HE u świń. Na tym tle ubikwitarne występowanie w kale wirusa w pomieszczeniach, w których bytują świnię, uważane jest za wyłączone źródło doustnej infekcji. Nie ustalono do końca, czy nie istnieją dodatkowe czynniki sprzyjające, wobec wymienionych trudności w doustnej transmisji infekcji, na co wskazywałoby dość powszechnie występujące w skali globalnej zakażenie populacji świń wirusem HE względnie jego odmianami.

Rola świń w transmisji HEV wśród ludzi pozostaje, mimo omówionych badań, nadal nie w pełni wyjaśniona. Okazało się bowiem, że przeciwciała anti-HEV wykrywane są również u mieszkańców dużych miast USA, gdzie kontakt ze świniami nie wchodzi w rachubę. Podejrzewa się zatem, oprócz człowieka, dodatkowe źródła zakażenia niż tylko świnię. Wskazują na to badania Karetnyiego i wsp. (11), którzy wykazali u 5,7% pracowników terenowych, czyli u większej liczby niż stwierdza się normalnie (2%) przeciwciała anti-HEV w stanie Iowa, USA, gdzie nie występuje zapalenie wątroby typu A, B lub C i gdzie nie było kontaktu ze świniami. Autorzy ci sugerują w związku z tym inne źródła i rezerwuary zakażenia ludzi niż tylko świnię. Mogą nimi być gryzonie, kury, psy, krowy i kozy (7). Na zwierzęta nieudomowione, jako rezerwuariat HEV wskazuje Kabrane-Lazizi i wsp. (9).

Ze względu na występowanie HEV w komórkach wątroby oraz innych narządów świni istnieje niebezpieczeństwo przeniesienia infekcji na człowieka w związku z ich

kšenotransplantacją (16). Niezbędne jest zatem badanie ich przed przeszczepami na obecność HEV.

SwHEV występować może w organizmie świni łącznie z innymi chorobotwórczymi wirusami, też mogącymi wywoływać zapalenie wątroby, jak: cirkowirus świń PCV2, arteriowirus zespołu rozrodczo-oddechowego (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS) lub herpeswirus wywołujący chorobę Aujeszky'ego (7).

Mimo że PCV2 jest nieodzownym czynnikiem etiologicznym poodsadzeniowego wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń (Porcine Multisystemic Wasting Syndrome, PMWS), to tak w przypadku naturalnych zakażeń, jak też eksperymentalnych infekcji oczywiście okazało się, że inne współdziałające w rozwoju choroby wirusy (co-factors) są konieczne do jej pełnego rozwoju, względnie też sprzyjają jej rozwinięciu się (27). Około 45% świń z PMWS wykazuje zapalenie wątroby o łagodnym lub ciężkim przebiegu (23). Zmiany histopatologiczne wątroby odpowiadają tym, które występują u świń zakażonych naturalnie lub doświadczalnie przez SwHEV (7, 18).

Mimo wyrażanych przez szereg autorów poglądów, że SwHEV tylko wtedy wywołuje zapalenie wątroby u świń, kiedy występuje wspólnie z PCV2, z badań Martina i wsp. (13) wynika, że oba wymienione wirusy – SwHEV i PCV2 – mogą prawdopodobnie niezależnie od siebie wywoływać u świń zapalenie wątroby. Fakt, że obecność swoistych przeciwciał dla SwHEV była w cytowanych badaniach istotnie wyższa przy występowaniu zapalenia wątroby u świń badanych może, mimo wyżej cytowanych stwierdzeń (23, 27), przemawiać za poglądem, że SwHEV może być wyłącznym czynnikiem etiologicznym zapalenia wątroby u świń. Również wyższe wartości OD ELISA anty-SwHEV występowały w surowicach świń z zapaleniem wątroby niż u świń, u których tego schorzenia nie stwierdzano. Reasumując wyniki badań przedstawione przez Martina i wsp. (13) można przyjąć, że SwHEV należy uznać za pierwotny czynnik etiologiczny podklinicznego zapalenia wątroby u świń, co nie wyklucza, że również PCV2 może u nich wywoływać zapalenie wątroby.

Z terenu Polski brak danych na temat występowania u świń zapalenia wątroby wywołanego przez SwHEV oraz wpływu tego ewentualnego zwierzęcego rezerwuaru na występowanie u człowieka zapalenia wątroby typu E. Prezentowany w niniejszej publikacji przegląd piśmiennictwa uzasadnia podjęcie tego rodzaju prac badawczych.

Piśmiennictwo

- Balayan M. S., Usmanov R. K., Zamyatina D. I., Karas F. R.: Brief report: experimental hepatitis E infection in domestic pigs. *J. Med. Virol.* 1990, 32, 58-59.
- Banks M., Heath G. S., Grierson S. S., King D. P., Gresham A., Girones R., Widen F., Harrison T. J.: Evidence for the presence of hepatitis E virus in pigs in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 2004, 154, 223-227.
- Clemente-Casares P., Pina S., Buti M., Jardi R., Martin M., Bofill-Mas S., Girones R.: Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerging Infect. Dis.* 2003, 9, 448-454.
- Drobeniuc J., Favorov M. O., Shapiro C. N., Bell B. P., Mast E. E., Dadu A., Culver D., Iarovoi P., Robertson B. H., Margolis H. S.: Hepatitis E virus antibody prevalence among persons who work with swine. *J. Infect. Dis.* 2001, 184, 1594-1597.
- Emerson S. U., Anderson D., Arankalle A., Meng X. J., Purdy M., Schlauder G. G., Tsarev S. A.: Herpesvirus, [w:] Fauquet C. M., Mayo M. A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L. A. (ed.): *Virus Taxonomy. VIIth Report of the ICTV.* Elsevier/Academic Press, London, United Kingdom 2004, 851-855.
- Emerson S. U., Purcell R. H.: Hepatitis E virus. *Rev. Med. Virol.* 2003, 13, 145-154.

- Halbur P. G., Kasorndorkbua C., Gilbert C., Guenette D., Potters M. B., Purcell R. H., Emerson S. U., Toth T. E., Meng X. J.: Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *J. Clin. Microbiol.* 2001, 39, 918-923.
- Hsieh S. Y., Meng X. J., Wu Y. H., Liu S. T., Tam A. W., Lin D. Y., Liaw Y. F.: Identify of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with Taiwan isolates of human hepatitis E virus. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37, 3828-3834.
- Kabrane-Lazizi Y., Fine J. B., Elm J., Glass G. E., Higa H., Diwan A., Gibbs Jr. C. J., Meng X. J., Emerson S. U., Purcell R. H.: Evidence for wide-spread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999, 61, 331-335.
- Kane M. A., Bradley D. W., Shrestha S. M., Maynard J. E., Cook E. H., Mishra R. P., Joshi D. D.: Epidemic non-A, non-B hepatitis in Nepal. Recovery of a possible etiologic agent and transmission studies in marmosets. *J. Am. Med. Assoc.* 1984, 252, 3140-3145.
- Karenyi Y. V., Gilchrist M. J., Naides S. J.: Hepatitis E virus infection prevalence among selected populations in Iowa. *J. Clin. Virol.* 1999, 14, 51-55.
- Krawczynski K., McCaustland K., Mast E., Yarbough P. O., Purdy M., Favorov M. O., Spellbring J.: Elements of pathogenesis of HEV infection in man and experimentally infected primates, [w:] Buisson Y., Coursagel P., Kane M.: Enterically-transmitted Hepatitis Viruses. La Simaare, Tours, France 1996, 317-328.
- Martin M., Segalés J., Huang F. F., Guenette D. K., Mateu E., de Deus N., Meng X. J.: Association of hepatitis E virus (HEV) and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) with lesions of hepatitis in pigs. *Vet. Microbiol.* 2007, 122, 16-24.
- Matsuda H., Okada K., Takahashi K., Mishiho S.: Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J. Infect. Dis.* 2003, 188, 944.
- Meng X. J.: Novel strains of hepatitis E virus identified from humans and other animal species: is hepatitis E a zoonosis? *Journal of Hepatology* 2000, 33, 842-845.
- Meng X. J.: Zoonotic and xenozoonotic risks of hepatitis E virus. *Infect. Dis. Rev.* 2000, 2, 35-41.
- Meng X. J., Halbur P. G., Haynes J. S., Tsareva T. S., Bruna J. D., Royer R. L., Purcell R. H., Emerson S. U.: Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis E virus (swine HEV), but not with human strains of HEV. *Arch. Virol.* 1998, 143, 1405-1415.
- 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.
- Meng X. J., Wiseman B., Elvinger F., Guenette D. K., Toth T. E., Engle R. E., Emerson S. U., Purcell R. H.: Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 117-122.
- Purcell R. H., Emerson S. U.: Hepatitis E virus, [w:] Knipe D. M., Howley P. M.: *Fields Virology. T. 2.* Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, Pa 2001, 3051-3061.
- Schlauder G. G., Dawson G. J., Erker J. C., Kwo P. Y., Knigge M. F., Smalley D. L., Rosenblatt J. E., Desai S. M., Mushahwar I. K.: The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States. *J. Gen. Virol.* 1998, 79, 447-456.
- Schlauder G. G., Mushahwar I. K.: Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J. Med. Virol.* 2001, 65, 282-292.
- Segalés J., Rosell C., Domingo M.: Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet. Microbiol.* 2004, 98, 137-149.
- Suzuki K., Aikawa T., Okamoto H.: Fulminant hepatitis E in Japan. *N. Engl. J. Med.* 2002, 347, 1456.
- Tam A. W., Smith M. M., Guerra M. E., Huang C. C., Bradley D. W., Fry K. E., Reyes G. R.: Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology* 1991, 185, 120-131.
- Tolari F., Del Chiaro L., Card R., Mazzei M., Bandecchi P., Banks M.: Phylogenetic study of viral isolates of swine and human hepatitis E virus. *Vet. Res. Comm.* 2006, 30 (Suppl. 1), 273-276.
- Truszczyński M., Pejsak Z.: Chorobotwórczość cirkowirusów ze szczególnym uwzględnieniem poodsadzeniowego, wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń. *Medycyna Wet.* (w druku).
- Wang Y., Zhang H., Ling R., Li H., Harrison T. J.: The complete sequence of hepatitis E virus genotype 4 reveals an alternative strategy for translation of open reading frames 2 and 3. *J. Gen. Virol.* 2000, 81, 1675-1686.
- Withers M. R., Correa M. T., Morrow M., Stebbins M. E., Seriwatana J., Webster W. D., Bopak M. B., Vaughn D. W.: Antibody levels to hepatitis E virus in North Carolina swine workers, non-swine workers, swine and murids. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002, 66, 384-388.
- Wu J. C., Chen C. M., Chiang T. Y., Sheen I. J., Chen J. Y., Tsai W. H., Huang Y. H., Lee S. D.: Clinical and epidemiological implications of swine hepatitis E virus infection. *J. Med. Virol.* 2000, 60, 166-171.
- 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.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl