

Rassegna

Review

Epatite E

Hepatitis E

Gaetano Scotto¹, Fabio Bulla¹, Francesca Campanale¹,
Alessandra Tartaglia¹, Vincenzina Fazio²

¹Clinica di Malattie Infettive, Università di Foggia, Foggia, Italy;

²Dipartimento di Patologia Clinica, Unità di virologia,
Azienda Ospedaliero-Universitaria di Foggia, Foggia, Italy

INTRODUZIONE

Il virus dell'epatite E (HEV) rappresenta il principale agente eziologico della epatite enterica non-A, ed è l'unico membro della classe di virus, *Hepevirus*, appartenente alla famiglia degli *Hepeviridae* [1, 2]. HEV è spesso responsabile di epatite acuta tra gli adulti in molti paesi in via di sviluppo, in particolare nel subcontinente Indiano e Sud-Est Asiatico, nel Medio Oriente e Nord Africa, dove rappresenta una comune causa di focolai sporadici ed epidemie da inquinamento idrico, determinando un elevato tasso di morbilità e mortalità, in particolare nelle donne in gravidanza [3-5]. In queste aree geografiche, dove la malattia è altamente endemica, la prevalenza di anticorpi HEV-IgG, indicativi di una infezione pregressa, è stata riscontrata tra il 5 ed il 60% della popolazione globale.

L'HEV, ritenuta in passato come una infezione limitata ai paesi in cui le condizioni igienico-sanitarie erano inadeguate, è ora riconosciuta come malattia con una distribuzione geografica molto più diffusa, colpendo anche aree geografiche altamente sviluppate. Nei paesi industrializzati la malattia si verifica in modo sporadico, la maggior parte delle infezioni viene diagnosticata in soggetti recatisi in paesi dove l'HEV è endemica, anche se un numero crescente di casi sono stati identificati in pazienti senza storia di recente viaggio nei paesi a rischio [6-8]. Infatti, negli ultimi anni, la distribuzione geografica, le modalità di trasmissione di HEV e le caratteristiche virologiche e cliniche di questa in-

fezione si sono mostrate molto più ampie di quanto precedentemente creduto.

IL VIRUS

Il virus dell'epatite E (HEV) appartiene al genere *Hepevirus* della famiglia *Hepeviridae* [1, 2]. Questa famiglia comprende virus che infettano esseri umani, suini domestici, cinghiali, cervi, e roditori ed HEV aviario che presenta una struttura genetica parzialmente differente rispetto agli altri [2, 9-11]. I virioni di HEV sono costituiti da piccole particelle sferiche di 27-34 nm, icosaedriche, prive di *envelope*, presentano una singola proteina capsidica ed un genoma ad RNA lineare, a senso positivo di circa 7,2 kb [11]. Il genoma di HEV contiene tre moduli a lettura aperta (*open reading frame*, ORFs). ORF1 è una poliproteina non strutturale, di notevole importanza per la replicazione virale [12-13]. La ORF2 codifica la proteina del capsido, ed è responsabile dell'assemblaggio del virione, dell'interazione con le cellule bersaglio, e dell'immunogenicità [14, 15]. ORF3 si sovrappone ad ORF2 ed è necessaria per la replicazione dell'HEV nell'ospite; inoltre, ORF3 gioca un ruolo nella fuoriuscita del virus dalle cellule infette [16, 17].

Utilizzando analisi di sequenza genomica, sono stati riconosciuti almeno quattro genotipi di HEV [18]. I ceppi a genotipo 1 e 2 sono esclusivamente umani e trasmessi prevalentemente attraverso l'acqua contaminata nei Paesi in via di sviluppo, HEV1 è presente principalmente in Asia, HEV2 in Africa e in Messico [19-22]. I genotipi 3 e 4 hanno una gamma più ampia di diffusione, sono virus zoonotici, in quanto infettano sia gli esseri umani che varie specie di mammiferi domestici e selvatici (suini, cinghiali, cer-

Corresponding author

Gaetano Scotto

E-mail: gaetano.scotto@unifg.it

vi ecc.) e sono responsabili dei casi sporadici di epatite E autoctona sia nei Paesi in via di sviluppo che sviluppati; per questi genotipi è stata dimostrata la trasmissione interspecie [2, 9]. HEV3 ha una distribuzione globale mentre HEV4 si localizza soprattutto nel sud-est Asiatico, anche se recentemente è stato isolato in suini europei [19, 20, 23, 24]. Sulla base di una completa analisi genomica di sequenza, genotipi di HEV4 sono stati recentemente identificati nei ratti in Germania, nei cinghiali in Giappone, e in conigli allevati in Cina [25-27].

HEV1 può essere classificato in cinque sotto-genotipi, HEV2 in due, HEV3 in tre, e HEV4 in sette. Le analisi filogenetiche indicano che i sotto-genotipi HEV di esseri umani e di animali circolanti nella stessa zona sono strettamente correlati, e ciò tende a supportare la trasmissione zoonotica in alcune aree ad elevata endemia animale [18].

La prima apparizione degli antigeni di HEV negli epatociti si verifica intorno al settimo giorno dopo l'avvenuta infezione, con una rapida diffusione nel 70%-90% degli epatociti [28].

Sembra che l'azione di HEV non sia direttamente citopatica, ma il danno epatico sarebbe immunomediato; la risposta immunitaria è caratterizzata dalla rapida comparsa iniziale di immunoglobuline specifiche di tipo IgM, seguita dopo poco da una risposta IgG mediata. Mentre le HEV-IgM scompaiono nel giro di 4-6 mesi, le IgG persistono, anche se a titolazioni diverse, per periodi molto più lunghi, da alcuni mesi a diversi anni dopo la malattia acuta senza tuttavia indicare quando questa sia avvenuta [23, 29].

La viremia è determinabile 1-2 settimane prima e scompare 2-4 settimane dopo l'insorgenza della sintomatologia clinica.

■ EPIDEMIOLOGIA

L'infezione da HEV rappresenta una delle principali cause sia di epatite epidemica che di epatite acuta sporadica in gran parte dei paesi in via di sviluppo; in caso di focolai epidemici, alcuni soggetti possono presentare una forma asintomatica o subclinica per cui solo un riscontro occasionale può indicare un'epatite acuta in corso o l'identificazione tardiva di anticorpi anti-HEV indice di una pregressa infezione [30, 31].

Il vero peso della malattia è sconosciuto, sia perché nella maggior parte dei casi è una epati-

te auto-limitante (con l'eccezione di alti tassi di letalità in donne in gravidanza) sia perché si verifica in aree del mondo dove i test sierologici non sempre sono immediatamente disponibili. È stato stimato, tuttavia, sulla base di studi di siero-prevalenza, che un terzo della popolazione mondiale sia stato infettato da HEV [32].

La principale via di trasmissione dell'infezione da HEV è rappresentata dall'inquinamento fecale delle acque potabili e del cibo, evento che, soprattutto nei paesi ad alta endemia, può determinare l'insorgenza di focolai epidemici. Tale dato è confermato dall'identificazione ripetuta di sequenze genomiche di HEV nelle acque di scarico provenienti da queste regioni [33]. L'andamento epidemico può presentarsi con modalità diverse, come singolo focolaio della durata di alcune settimane, oppure come epidemie multicentriche che possono protrarsi per molti mesi; i focolai estesi sono causati dalla continua contaminazione fecale del virus in fonti d'acqua comuni da parte di persone con infezione subclinica [25, 34].

Il serbatoio di HEV, responsabile del mantenimento dell'infezione in popolazioni iperendemiche, tuttavia, non è stato chiaramente stabilito; sono state ipotizzate come possibili cause la prolungata viremia e la lunga contaminazione fecale di HEV [19, 35].

Recentemente sono state individuate altre possibili vie di trasmissione: un'origine zoonotica, l'uso di emoderivati infetti, la condivisione di aghi e la trasmissione verticale (materno-fetale) [36, 37]. Il contagio interumano, secondario a contatti domestici, è raro (0,7%-2,2%), inferiore a quanto riscontrato per l'epatite A. Infatti, anche quando si sono verificate plurime infezioni familiari, l'intervallo di tempo tra i casi è stato solitamente breve, indicando più un'origine comune di tipo oro-fecale che un contagio interumano [38, 39]. Tuttavia, in un ristretto contesto epidemiologico caratterizzato da un'elevata circolazione del virus HEV, la trasmissione persona-persona, anche se normalmente poco efficiente, potrebbe giocare un ruolo importante nella diffusione dell'HEV. Un recente studio effettuato in Uganda ha rilevato un alto tasso di infezioni da HEV in ambito familiare; la mancanza di una fonte comune di infezione, la promiscuità e le condizioni igieniche precarie hanno suggerito, in famiglie con più di 2 casi, la possibilità di una trasmissione interumana di HEV [40].

L'esistenza di un serbatoio animale in regioni iperendemiche, non solo in paesi in via di svi-

luppo, è stata suggerita da una elevata prevalenza di anticorpi anti-HEV in varie specie animali e dall'isolamento di sequenze genomiche di HEV in suini di queste regioni.

Ceppi di HEV isolati da animali e sporadici casi umani sono stati riscontrati in Cina e Vietnam, e tutti appartenevano allo stesso genotipo 4 [41, 42]. Tale concordanza non è presente in India e in altri paesi in via di sviluppo, dove il genotipo 1, che è responsabile della grande maggioranza dei casi, non è mai stato isolato da suini e da altri animali domestici o selvatici [43]. Pertanto, la trasmissione zoonotica sembra essere improbabile per le infezioni da HEV di genotipo 1, largamente prevalenti in queste zone.

Epidemiologia dell'epatite E nei paesi in via di sviluppo

La prima epidemia di epatite E, identificata retrospettivamente, ha causato circa 30.000 casi in India nel periodo 1955-56 [3]. Altre grandi epidemie sono state, in seguito, segnalate nel subcontinente Indiano, Cina, Asia sud-orientale e centrale, Medio Oriente, e nelle aree settentrionali ed occidentali dell'Africa (Somalia, Uganda) [5, 44-47].

Due focolai di piccole dimensioni si sono verificati in Messico negli anni 1986-1987 [22]. Epidemie di maggiore o minore entità si verificano periodicamente in tutto il mondo, e sono principalmente causate da HEV1 ed HEV4 in Asia, quest'ultimo genotipo è presente soprattutto in Cina probabilmente per trasmissione zoonotica, e da HEV2 in Africa e in Messico, sebbene anche HEV3 sia stato recentemente isolato in regioni altamente endemiche [18, 22, 47].

Negli ultimi anni, in Cina l'epatite E si è manifestata principalmente con casi sporadici (HEV4) e focolai occasionali di tossinfezione alimentare soprattutto negli uomini anziani probabilmente legati al tipo di alimentazione più tradizionale.

In vari paesi endemici la sieroprevalenza di HEV raramente supera il 40%, anche se in India, in Egitto, e in alcune parti della Cina, vi è un più elevato tasso di anticorpi anti-HEV [48]. Uno studio condotto nelle aree rurali del sud della Cina ha dimostrato una prevalenza di anti-HEV compresa tra il 25% e il 63%, particolarmente in giovani maschi (25-29 anni); gli uomini sono colpiti da due a cinque volte in più rispetto alle donne nella maggior parte dei focolai, forse per il maggior rischio di consumo di acqua contaminata [46]. Una più alta prevalen-

za di epidemie di epatite da HEV si verifica, in queste aree, nelle donne in gravidanza, ove è spesso associata a prematurità, basso peso alla nascita e ad un aumentato rischio di mortalità perinatale.

Un basso tasso di malattia è stato osservato nei bambini, probabilmente legato alla frequenza di infezioni asintomatiche. Infatti queste, in età infantile, eccedono il numero di quelle sintomatiche da due a quattro volte sia nei focolai epidemici che nei casi sporadici [48].

Epidemiologia dell'epatite E nei paesi sviluppati

Nei paesi industrializzati, casi sporadici di epatite autoctona da HEV, immigrazione, viaggi esotici ed infezione zoonotica hanno determinato un cambiamento sostanziale nel modello epidemiologico di questa infezione. Sono stati osservati tassi variabili di anticorpi anti-HEV nella popolazione libera: 2,5% negli Stati Uniti e 0,4-3% in Europa occidentale, più elevati nei paesi dell'Europa mediterranea (Italia, Spagna, Francia e Grecia) dove vi è una più alta presenza di immigrati [48-51].

Tuttavia in alcuni paesi (Giappone, Danimarca) è stata segnalata, in coorti di popolazioni, una prevalenza di anticorpi anti-HEV (al di sopra del 20%) nettamente superiore a quella attesa in rapporto al basso tasso di infezione da virus E in queste aree e, quasi certamente, legata a situazioni locali [52, 53]. Negli ultimi anni, casi isolati o una serie di piccoli focolai autoctoni di epatite E acuta sono stati descritti negli Stati Uniti, in Europa e in paesi sviluppati in Asia e in Oceania (Giappone, Taiwan, Hong Kong, Australia) determinati, quasi esclusivamente, da genotipi 3-4 [54].

In un recente studio italiano retrospettivo a lungo termine, è stata osservata una prevalenza di infezione acuta da HEV del 20,6% in una coorte di 651 pazienti con epatite virale non A-non C [55]. Uno studio prospettico è stato condotto dal nostro gruppo nel Sud Italia, nel 2010-2011, per valutare la sieroprevalenza di HEV in una coorte di 1217 soggetti, 412 (34%) dei quali erano immigrati da poco arrivati in Italia e 805 provenivano da quattro diverse popolazioni italiane (donatori di sangue, popolazione generale, pazienti coinfecti con HIV, pazienti in trattamento emodialitico) [56].

Un totale di 107 (8,8%) campioni di siero esaminati erano reattivi per anticorpi anti-HEV totali. La prevalenza di immigrati è stata del 19,7%, degli italiani è stata del 3,9% (donatori di sangue 1,3%, popolazione generale 2,7%, pazienti

sieropositivi 2,0%, pazienti emodializzati 9,6%). In 38/107 (35,5%) pazienti sono stati riscontrati anticorpi anti-HEV di tipo IgM; la maggior parte di questi (34 casi) erano immigrati. Queste infezioni sono state ricondotte, quasi esclusivamente, ad un viaggio in paesi ad alta endemia e/o immigrazione nuova o di ritorno, anche se alcuni casi sono stati osservati in individui autoctoni senza precedenti di situazioni a rischio. L'HEV autoctona, nei paesi industrializzati, sembra essere prevalentemente dovuta all'esposizione agli animali; le persone con contatti professionali (allevatori, macellai, veterinari) con suini o animali selvatici mostrano spesso una elevata siero-prevalenza di anticorpi anti-HEV. Anche il consumo di alimenti infetti poco cotti può trasmettere l'infezione; infatti è stato evidenziato come HEV 3-4 circoli ampiamente nella popolazione suina e in animali da cacciagione (cervi, cinghiali) sopravvivendo nelle carni crude o semicrude. È stato recentemente segnalato un *cluster* di casi in soggetti giapponesi che avevano consumato carne di cervo non adeguatamente cotta un paio di settimane prima della comparsa della malattia.

Le sequenze genomiche di HEV isolate nei pazienti infetti erano identiche a quelle riscontrate nei resti della carne congelata, avvalorando la tesi di un'origine alimentare della trasmissione [57]. Tutti questi dati suggeriscono che almeno alcuni casi autoctoni sono connessi al consumo di alimenti contaminati e, quindi, nei paesi sviluppati potrebbero riflettere una trasmissione zoonotica, ma l'estensione di tale trasmissione non è del tutto chiarita.

Sono state descritte altre vie di trasmissione nei paesi sviluppati:

1. Tassi notevolmente elevati di anticorpi anti-HEV sono stati evidenziati in tossicodipendenti in Danimarca e Svezia che non presentavano altre situazioni di rischio: questo potrebbe indicare anche una trasmissione parenterale legata alla condivisione di aghi infetti [58].
2. Il virus è stato identificato in campioni di acque reflue esaminate in alcuni paesi occidentali (Francia, Spagna, Stati Uniti). L'evidenza di infezione da HEV autoctona in queste aree è nota; nel sud-ovest della Francia essa si manifesta con le caratteristiche di iperendemia [59].
3. Diversi studi, inaspettatamente, hanno inoltre mostrato un'elevata prevalenza di anticorpi anti-HEV nei pazienti in trattamento emodialitico e, in parte, anche nei donatori

di sangue di paesi sviluppati; tuttavia la modalità di esposizione e il significato clinico di queste infezioni non sono ancora del tutto chiari [60, 61].

Epidemiologia nei viaggiatori

L'incidenza di HEV nei viaggiatori non è ben definita, ma sembra essere molto bassa, dell'ordine di 1 caso per 1 milione di viaggiatori. Si ritiene, tuttavia, che il numero delle infezioni sia sotto-dimensionato, sia per la mancanza di consapevolezza di infezione da HEV tra i medici nei paesi industrializzati, per cui tale epatite potrebbe non essere abitualmente contemplata nella diagnosi differenziale, sia per la mancanza di kit laboratoristici commerciali in molti paesi a bassa endemia, che impediscono la conferma di un sospetto diagnostico [6].

Dati di sorveglianza Geo-Sentinel, su viaggiatori di rientro da paesi iperendemic, hanno segnalato, nel periodo 1999-2005, 33 casi di HEV acuta; in gran parte erano stati colpiti viaggiatori provenienti dal subcontinente Indiano [62]. Durante una crociera attorno al mondo nel 2008, sette cittadini britannici hanno contratto un'infezione acuta da HEV durante il loro viaggio di 12 settimane, che ha toccato diverse città portuali asiatiche [63]. In un recente studio prospettico a lungo termine condotto in Italia, 134 dei 651 pazienti esaminati erano affetti da epatite acuta E, e 109/134 (81,3%) di essi ha sviluppato la malattia durante un viaggio in zone endemiche [55].

Studi di siero-conversione potrebbero rivelarsi utili per la determinazione del rischio di contrarre l'infezione da HEV per chi viaggia da una regione a bassa endemia ad una ad alta endemia, tuttavia ad oggi sono disponibili solo pochi ed obsoleti dati sulla sieroconversione di anticorpi anti-HEV tra i viaggiatori. Uno studio prospettico è stato condotto nel 1993 su 356 americani, viaggiatori per un breve periodo di tempo, in paesi in via di sviluppo: 236 pazienti erano inizialmente siero-negativi (ma 120 erano siero-positivi!), 4 (1,7%) hanno presentato comparsa di IgG anti-HEV dopo circa 6 mesi; tutti erano asintomatici [64].

Nel 1995 uno studio retrospettivo su 328 missionari nord americani in servizio in varie sedi in Africa, Asia, Centro e Sud America tra il 1967 e il 1984 non ha dimostrato, invece, alcuna sieroconversione per HEV [65].

Un ulteriore studio è stato effettuato in Nepal dal giugno 1997 al dicembre 1998, per determinare la siero-prevalenza di Ig anti-HEV tra gli

stranieri residenti in Nepal e valutare i tassi di sieroconversione entro un periodo di 12 mesi dall'arrivo. Tra i 373 soggetti che erano risultati negativi per gli anticorpi anti-HEV, ci fu un solo caso di infezione da HEV acuta (0,3%), mentre non ci sono stati casi di sieroconversione asintomatica.

Tali dati confermano come il rischio infettivo da HEV sia tra i viaggiatori molto basso [66]. Caratteristiche dei casi di epatite da HEV acuta associata a viaggi sono l'età media di 30 anni (range 6-65) e il sesso maschile 48%. La maggior parte (77%) di questi individui aveva viaggiato per il subcontinente indiano (India, Nepal, Pakistan e Sri Lanka).

La durata media del viaggio è stata di circa 3 mesi, ma è stato segnalato un caso di acquisizione della malattia dopo solo 1 giorno di permanenza in una zona endemica (range 1 giorno-12 mesi) [66, 67].

■ DECORSO CLINICO

Dopo l'esposizione e il contagio, il periodo di incubazione varia da 15 a 60 giorni (media di 40 giorni), sono stati osservati due distinti modelli epidemiologici: uno a breve periodo di incubazione nelle aree in cui l'epatite E è altamente endemica e un altro con più prolungato periodo di incubazione in quelle aree dove la malattia si manifesta con bassa incidenza o in modo sporadico [4, 23].

Quindi, i pazienti sviluppano sintomi e segni clinici sovrapponibili a quelli osservati in altre forme di epatite virale acuta: ittero accompagnato da segni e sintomi aspecifici (malessere, anoressia, dolori addominali, nausea, vomito, febbre ed epatomegalia); sporadicamente sono presenti diarrea, prurito, artralgia ed eruzioni cutanee.

I livelli sierici degli enzimi epatici (AST, ALT) possono essere elevati ed è possibile riscontrare iperbilirubinemia; questi marcatori generalmente rientrano nei valori normali entro poche settimane dall'esordio. L'epatite E è tipicamente una malattia auto-limitante, della durata di 4-6 settimane, la maggior parte dei pazienti guarisce completamente nel giro di pochi mesi. In circa la metà dei soggetti, HEV può presentarsi con una forma più grave: coagulopatia protratta e colestasi, ma anche in questi casi il decorso è generalmente buono [68]. La gravità delle infezioni può variare da malattia sub-clinica ad epatite fulminante.

L'istologia epatica in uno studio di undici pazienti con epatite acuta sporadica E ha evidenziato lesioni in tutti i casi: nove campioni visualizzati mostravano attività necro-infiammatoria e in cinque era presente necrosi confluyente. Inoltre, siderosi e colestasi sono stati osservati rispettivamente in undici e in nove pazienti [69].

Le caratteristiche cliniche dei pazienti sono generalmente sovrapponibili indipendentemente dal pattern epidemiologico, fatta eccezione per quei pazienti di media età o anziani con comorbilità, in cui la prognosi sembra essere peggiore nei pazienti dei paesi industrializzati rispetto a quella di soggetti viventi in aree iperendemiche [24, 39].

Due studi hanno evidenziato che in soggetti che consumavano quantità eccessive di alcol, e, quindi, a maggior rischio di steatosi o fibrosi epatica, l'infezione da HEV si è manifestata più spesso in modo sintomatico e con forma più severa [70-71].

Nelle aree geografiche ad alta endemia, è frequente la super-infezione da HEV in pazienti con preesistente epatopatia cronica, ad eziologia virale o non, talora silente fino al momento dell'ulteriore infezione, con conseguente elevato rischio di esito sfavorevole della malattia [72].

I tassi di mortalità di infezione da HEV, studiati quasi esclusivamente nei paesi ad alta endemia, sono compresi tra lo 0,2% ed il 4,0%; questi dati, tuttavia, sono derivati da pazienti ospedalizzati con una malattia più grave; nelle indagini sulla popolazione comunitaria, durante le epidemie, sono stati osservati tassi di mortalità molto più bassi, compresi tra valori di 0,07% e 0,6% [47].

La letalità è più alta nei bambini sotto i 2 anni di età e nelle donne incinte, nelle aree ad alta endemia, che hanno la più alta probabilità di sviluppare insufficienza epatica fulminante (FHF) e, quindi, di avere un esito fatale (10-25% dei casi) [72, 74].

La mortalità si verifica soprattutto nel terzo trimestre, ed è causata da complicanze ostetriche, come eclampsia o emorragia [72]. Le cause patogenetiche di questa grave evoluzione non sono state del tutto chiarite; è stato ipotizzato l'intervento di fattori immunologici od ormonali, qualche ruolo potrebbero avere l'insulto endotossina-mediato degli epatociti o le elevate risposte T-helper di tipo 2 [73, 75].

FHF si è più frequentemente manifestata (22,2%) in gravidanza rispetto a quanto osservato in donne non gravide (0%) o negli uomini

(2,8%) [75]. Il tasso di FHF, nelle donne incinte, non può essere valutato nella popolazione viaggiatrice o nei paesi industrializzati perché le segnalazioni sono molto rare: sono stati osservati due casi di "epatite grave" in donne al terzo trimestre di gravidanza nel Regno Unito e un altro caso di trapianto di fegato a causa di epatite fulminante in una donna israeliana qualche giorno dopo un parto normale; l'anamnesi della paziente era del tutto silente per viaggi o contatti a rischio [6, 31].

I tassi di mortalità possono, tuttavia, essere anche molto più elevati; sia in pazienti con preesistente malattia epatica cronica di altra etiologia, sia in pazienti in cui l'infezione evolve in epatite fulminante, senza apparenti fattori precipitanti [76].

Nel 2004, a Dhaka, 23 pazienti, senza altre patologie concomitanti, hanno presentato un'epatite fulminante; più della metà (13/23) presentava positività per HEV IgM; il tasso di mortalità è stato dell'87% [31].

Il significato clinico dei genotipi nel determinare la gravità e la letalità della malattia non è ancora noto, in quanto ci troviamo di fronte a risultati contrastanti.

Uno studio giapponese ha messo a confronto le caratteristiche cliniche dei pazienti infettati con genotipo 3 o 4, e ha mostrato che HEV4 tende ad avere manifestazioni cliniche più gravi rispetto ad HEV3 con livelli serici di ALT molto elevati ed un più basso tempo di protrombina [30].

Studi effettuati nel subcontinente indiano hanno mostrato una mortalità, entro i 12 mesi, superiore del 70% in pazienti con infezione da HEV genotipo 1 e pregressa malattia epatica cronica [77]. Due studi, in passato, hanno mostrato l'associazione tra l'ingestione di carne di maiale (HEV genotipo 3) e la mortalità per malattia epatica cronica [78-80].

L'alta mortalità correlata alla gravidanza è sempre stata legata ad HEV-1, non è stata mai associata ad HEV-3 o HEV-4 [8, 24].

Non si sono osservate differenze tra il periodo di incubazione ed il tipico decorso clinico nei viaggiatori e quanto evidenziato in abitanti di aree iperendemiche affetti da epatite acuta da HEV.

Uno studio effettuato su viaggiatori, in aree a rischio, con epatite acuta da HEV ha mostrato che il 96% (155/161) ha completamente recuperato senza sequele, solo il 2,5% (4/161) ha sviluppato un'epatite fulminante e due pazienti sono deceduti [6]. Uno di questi era un uomo di

65 anni con epatite cronica C e l'altra era una donna senza alcuna malattia epatica nota. La letalità in questo studio è stata di 1,2% (2/161), simile a quella relativa all'epatite autoctona.

Anche nel già citato studio italiano di Romanò et al., in tutti i 109 pazienti che hanno sviluppato l'epatite E viaggiando in aree endemiche, la malattia acuta ha avuto un decorso autolimitante con normalizzazione delle ALT nell'arco di 3-6 settimane.

Un'analisi filogenetica su 39/109 isolati da pazienti ha mostrato che tutti questi appartenevano al genotipo 1 [55].

La siero-epidemiologia dell'epatite E suggerisce una immunità post-infezione a lungo termine, ma non è stata confermata l'immunità per tutta la vita.

■ MANIFESTAZIONI CLINICHE EXTRA-EPATICHE

Negli ultimi anni sono state descritte sindromi neurologiche HEV-associate, la maggior parte provenienti dal subcontinente Indiano e correlate soprattutto ad HEV-1.

Queste complicanze, che sembrano essere carica virale-dipendenti, includono la sindrome di Guillain-Barré, la paralisi di Bell, l'amiotrofia nevralgica e la meningo-encefalite acuta [81-84].

Recentemente, complicanze neurologiche si sono manifestate in 7/126 (6%) pazienti con infezione acuta e cronica legata al genotipo HEV-3; HEV-RNA è stato rilevato nel LCR dei quattro pazienti con infezione cronica da HEV. Nei pazienti che hanno raggiunto la *clearance* virale, è stata osservata una completa risoluzione dei sintomi neurologici o comunque un miglioramento significativo [85].

Due casi di sindrome di Guillain-Barré HEV-associata (presenza di anticorpi anti-gangliosidi GM1) e un caso di meningoencefalite sono stati descritti in Belgio e in Francia [86, 87]. I pazienti con sindrome di Guillain-Barré hanno risposto bene al trattamento con immunoglobuline per via endovenosa. [86].

Altre manifestazioni extra-epatiche HEV-correlate possono essere rappresentate da glomerulonefrite membranosa-proliferativa e glomerulonefrite membranosa: alcuni casi sono stati segnalati in India, in pazienti con infezione acuta da HEV-1, e in Francia, in pazienti con infezione cronica da HEV-3 ed anche pancreatite acuta e trombocitemia grave [88-91].

■ INFEZIONE CRONICA DA HEV

L'epatite E è stata a lungo considerata una malattia auto-limitante. Tuttavia, recentemente, alcuni pazienti sottoposti a trapianto di organi e susseguente terapia immunosoppressiva hanno sviluppato un'infezione cronica da HEV, definita dalla rilevazione di persistente HEV-RNA nel siero e nelle feci per 6 o più mesi. Per la prima volta nel 2008, uno studio francese ha descritto una coorte di 14 soggetti sottoposti a trapianto d'organo solido (fegato, rene e pancreas) in trattamento immunosoppressivo, ai quali è stata diagnosticata un'infezione acuta da HEV di origine zoonotica.

Circa il 60% (n=8) dei pazienti ha sviluppato un'epatite cronica, tutti i pazienti presentavano HEV genotipo 3 [92]. Biopsie epatiche sequenziali hanno evidenziato un'epatite portale con denso infiltrato linfocitario e grado variabile di *piecemeal necrosis*, e rapida progressione della fibrosi, il 10% dei pazienti ha mostrato progressione verso la cirrosi. Non si è osservata alcuna correlazione tra la carica virale e la progressione della fibrosi epatica [93]. In alcuni di questi pazienti si è avuto decesso a causa di scompenso epatico. I soggetti con evoluzione cronica della malattia hanno presentato un tempo significativamente più breve dal trapianto d'organo allo sviluppo di infezione da HEV, e una conta linfocitaria totale, e di CD2, CD3, CD4 più bassa rispetto a quei pazienti con risoluzione dell'infezione da HEV [74].

Un altro studio ha riportato solo 2/274 (1%) casi di infezione da HEV cronica in pazienti trapiantati di fegato con evoluzione in cirrosi e fallimento del trapianto [94]. Epatite cronica da HEV è stata ulteriormente riscontrata anche in pazienti HIV positivi e in pazienti immunodepressi per chemioterapia o per malattie ematologiche [31].

La totalità delle epatiti croniche ha riguardato esclusivamente soggetti immunodepressi e con infezione da HEV-3.

■ DIAGNOSI

La diagnosi di epatite acuta E si basa sul rilevamento di anticorpi anti HEV o rilevazione di HEV-RNA nel siero o nelle feci.

Sierologia

Dopo il periodo di incubazione, la risposta immunitaria nei confronti di HEV segue il solito

schema: una prima risposta IgM specifica che permane positiva per mesi, seguita dalla comparsa di anticorpi IgG, rilevabili già nella seconda settimana di infezione [95]. Nella fase iniziale sono presenti anticorpi IgG a bassa avidità, e quando la risposta evolve, vengono sostituiti da anticorpi con più alta avidità [96]. I diversi genotipi di HEV suscitano risposte anticorpali molto simili e sembrano rappresentare un unico sierotipo [97].

La conferma sierologica di epatite acuta da HEV avviene o rilevando l'aumentata reattività in un saggio di IgG specifiche, oppure attraverso la positività in saggi di immunoblotting IgM [97].

La determinazione di immunità o di precedente esposizione ad infezioni da HEV sarebbe molto importante, ma è difficile perché i test immunoenzimatici disponibili utilizzano antigeni diversi e presentano una efficacia variabile. Quale titolo di anticorpi anti-HEV sia capace di prevenire efficacemente l'infezione non è stato definito: uno studio su vaccini suggerisce che le concentrazioni di anticorpi di 20 unità Walter Reed/mL (2,5 WHO unità/mL) sono protettive [95].

In Europa, Canada, e parte dell'Asia sono disponibili test ELISA per la diagnostica sierologica; negli Stati Uniti, tuttavia, questi test non sono disponibili in commercio. In istituti di ricerca si utilizzano metodiche per la rilevazione dell'antigene del virus dell'epatite E (HEVAg) nel siero.

Tecniche molecolari

L'identificazione di HEV-RNA con tecniche di amplificazione rappresenta un test chiave per la diagnosi, la conferma e il monitoraggio delle infezioni da HEV. Nelle forme croniche, in cui è possibile un trattamento antivirale, il dosaggio quantitativo di HEV-RNA è utile nel monitoraggio della risposta alla terapia [92].

In pazienti con infezione acuta da HEV, l'RNA virale si rileva durante il periodo di incubazione e durante la fase iniziale della malattia.

La finestra di rilevazione è quindi stretta e se il controllo viene attuato tardivamente, la non determinabilità di HEV-RNA non esclude un'infezione recente [98].

Il rilevamento di HEV-RNA è molto importante per la diagnosi di pazienti con infezione cronica HEV perché, in individui immunodepressi, una specifica risposta sierologica (IgM-IgG) può essere assente e quindi non ci sarebbero marcatori di infezione da HEV [68].

■ PREVENZIONE DELL'HEV

Al momento ci sono due strategie per prevenire le infezioni da HEV, in popolazioni sane: riducendo l'esposizione al virus e inducendo l'immunità attraverso la vaccinazione.

La riduzione dell'esposizione all'HEV, nei paesi in via di sviluppo, si ottiene attraverso un'attenta potabilizzazione dell'acqua, attraverso il miglioramento delle infrastrutture sanitarie, e con un'adeguata educazione all'igiene personale. Nei paesi sviluppati, la prevenzione è più complessa in quanto esistono diverse possibili vie di trasmissione dell'infezione.

Una corretta gestione sanitaria, la cottura adeguata di carne di maiale e la garanzia del corretto smaltimento delle feci di suino è raccomandato in aree con trasmissione zoonotiche.

L'immunità naturale o artificiale rappresenta, indubbiamente, la principale risorsa protettiva nei confronti dell'infezione da HEV: gli individui che presentano anticorpi anti-HEV per precedente esposizione sembrano essere protetti nel caso di un nuovo contatto col virus [99].

L'uso di immunoglobuline specifiche in regioni del mondo dove l'HEV è endemica non sembra fornire una protezione significativa, probabilmente per la bassa concentrazione di anticorpi anti-HEV nella popolazione generale. Tuttavia alcuni studi hanno evidenziato una maggiore efficacia protettiva di anticorpi anti-HEV allorché siano state utilizzate immunoglobuline provenienti da pazienti nella fase di convalescenza dell'infezione naturale [100].

La vaccinazione costituisce, allo stato attuale, il modo più importante per prevenire l'infezione da HEV; due vaccini per l'epatite E sono stati sottoposti a test clinici.

Il primo, un vaccino ricombinante HEV, è stato sviluppato e in uno studio di fase 2/3 è stato testato su militari sieronegativi dell'esercito nepalese.

I soggetti sono stati randomizzati in due coorti: un gruppo riceveva tre dosi di vaccino (898 partecipanti), l'altro gruppo riceveva placebo (896 partecipanti) a 0, 1 e 6 mesi; il *follow-up* è stato mediamente di 804 giorni. Il vaccino è stato ben tollerato e ha presentato un'efficacia molto elevata, con tassi di protezione del 95,5% nei soggetti che avevano completato il ciclo profilattico; la somministrazione di solo due dosi è risultata associata ad un tasso di efficacia leggermente inferiore (86%).

La sicurezza del vaccino e l'efficacia nelle donne

non è stata stabilita. Il periodo di copertura vaccinale non è noto, ma sembra che l'ombrello protettivo duri per almeno due anni dopo la vaccinazione [101].

Il secondo vaccino consisteva in un proteina ORF2 troncata, P239, che è espressa da *Escherichia coli* e si presenta come particella simil-virale di 23 nm di diametro.

In uno studio clinico randomizzato di fase 3, effettuato in 11 province nel sud-est della Cina, sono stati arruolati soggetti di età compresa tra 16 e 65 anni di entrambi i sessi, a prescindere dal loro stato anticorpale anti-HEV.

I soggetti reclutati hanno ricevuto tre dosi di vaccino a 0, 1 e 6 mesi (56.302 partecipanti) o un vaccino per l'epatite B come placebo (56.302 partecipanti), e sono stati monitorati per un periodo di 13 mesi.

Il vaccino è stato ben tollerato e ha dimostrato una efficacia protettiva del 100% durante l'anno successivo alla somministrazione; anche dopo solo due dosi di vaccino, è stata osservata una copertura del 100%, pur se questi ultimi dati sono riferiti ad un numero più limitato di soggetti [102].

Questo vaccino è attualmente concesso in licenza in Cina, ma non è chiaro se e quando sarà pronto per la commercializzazione in altri paesi in via di sviluppo e sviluppati, probabilmente perché l'industria farmaceutica non ha la garanzia di un mercato sufficiente.

Non sono disponibili dati comparativi sulla sicurezza e sull'immunogenicità dei due vaccini. I risultati delle vaccinazioni sono molto promettenti, ma molte domande sui vaccini sono ancora senza risposta:

- 1) se sono in grado di ridurre la trasmissione di infezioni in comunità;
- 2) la durata della protezione;
- 3) l'efficacia protettiva quando vengono somministrati nella fase post-esposizione;
- 4) se possono prevenire l'infezione asintomatica da HEV (importante serbatoio di HEV);
- 5) se possono essere utili per le persone che sono ad alto rischio di gravi complicazioni a seguito di infezione da HEV;
- 6) se possono ridurre l'incidenza di focolai epidemici di epatite E nelle alte zone endemiche.

Solo quando otterremo le risposte a queste domande ci sarà una completa conoscenza di questi vaccini e quindi l'esatto ruolo che essi possono svolgere nella prevenzione dell'infezione da HEV. Come detto sopra, al momento nessun vaccino è presente in commercio.

■ TRATTAMENTO DELL'INFEZIONE DA HEV

HEV acuta

Al momento non è disponibile un trattamento specifico per l'epatite acuta E e, nella maggior parte dei casi, essendo la malattia autolimitante senza sequele croniche, è richiesto solo un attento monitoraggio clinico.

Tuttavia alcuni pazienti con infezione acuta grave da HEV-3 sono stati trattati con ribavirina in monoterapia, ottenendo risultati lusinghieri [103, 104]. Nei paesi in via di sviluppo, per le donne in gravidanza con infezione da HEV-1, considerato l'alto tasso di letalità, sarebbe consigliabile il trattamento con ribavirina. Tuttavia la sua teratogenicità può costituire un problema per il feto.

Comunque, valutando il rapido sfavorevole decorso in queste pazienti e l'elevato rischio di mortalità in un'infezione da HEV non trattata, in alcuni casi, sarebbe necessario iniziare il trattamento con ribavirina, perché la finestra temporale di opportunità per il farmaco di agire e modificare l'esito della malattia in tali pazienti può essere anche limitata.

HEV cronica

In pazienti riceventi un trapianto di organo sottoposti a trattamento immunosoppressivo, che sono affetti da epatite cronica da HEV, è necessario ottenere la *clearance* virale per evitare il rischio di un progressivo e rapido danno epatico. Prima di considerare il trattamento antivirale dovrebbe essere valutata, se possibile, la sospensione o la riduzione della dose della terapia immunosoppressiva (in particolare di farmaci che agiscono su cellule T); infatti, alla riduzione dell'immunosoppressione consegue la *clearance* virale nel 30% dei pazienti [105]. La terapia antivirale è, quindi, necessaria nei soggetti per i quali è impossibile ridurre il trattamento immunosoppressivo e per quelli in cui non si raggiunge la *clearance* di HEV-RNA dopo la riduzione dell'immunosoppressione.

È stato sperimentato in soggetti sottoposti a trapianto di organo solido, con infezione da HEV cronica, l'uso di interferone pegilato e ribavirina in monoterapia o in combinazione per 3-12 mesi, con SVR nel 60% dei pazienti ad un *follow-up* di 3-6 mesi [106 107].

Nei trapiantati di rene non è utilizzato l'interferone- α , in quanto questo aumenta il rischio di rigetto acuto. L'infezione da HEV sembra, in questi pazienti, rispondere bene alla monoterapia

con ribavirina, raggiungendo la *clearance* virale nel giro di poche settimane. Questo trattamento (durata di 3 mesi) costituisce attualmente il *gold standard* antivirale nei pazienti trapiantati di rene.

In altri soggetti immunodepressi (HIV+, reumatologici, dermatologici, ecc.), le opzioni di trattamento sono meno ben definite: ribavirina e interferone- α sono stati utilizzati con successo in monoterapia e in combinazione solo in una serie di casi e in studi clinici controllati che hanno richiesto un lungo *follow-up* [108, 109].

■ CONCLUSIONI

Negli ultimi 30 anni lo scenario epidemiologico dell'epatite E è notevolmente mutato. Un tempo si riteneva che fosse un'infezione auto-limitante, a trasmissione oro-fecale, presente solo in paesi del sud del mondo; oggi è riconosciuta come una malattia ad ampia distribuzione geografica, con differenti vie di trasmissione, che può causare un'epatite acuta e/o cronica.

Queste nuove conoscenze hanno condotto ad una crescente attività di ricerca per meglio comprendere la virologia e gli aspetti clinici dell'infezione da HEV.

Gli studi più recenti riguardano la cronicizzazione dell'infezione, il trattamento e la prevenzione.

La terapia di elezione per le forme croniche è rappresentata, al momento, dalla ribavirina. L'unica prevenzione possibile è rappresentata dall'utilizzo di vaccini, soprattutto in alcuni gruppi a rischio o in determinate situazioni (individui viventi in condizioni igieniche inadeguate, il contatto con animali potenzialmente infetti, ecc.).

Al momento, l'infezione da HEV non costituisce un grosso problema per i paesi dell'Europa occidentale, ma il crescente numero di viaggiatori in aree geografiche ad alta endemia, l'elevato numero di immigrati che continuano ad arrivare in Italia e il nuovo aspetto di malattia zoonotica potrebbe modificare l'aspetto epidemiologico in un futuro anche prossimo.

È necessario, quindi, una migliore conoscenza di questa infezione ed una costante sorveglianza per una prevenzione ottimale di questa, per noi nuova, patologia.

Keywords: Hepatitis E, virus, epidemiology, treatment, prevention.

RIASSUNTO

Il virus dell'epatite E (HEV) è l'unico membro di una nuova classe di virus, *Hepevirus* (famiglia *Hepeviridae*). HEV rappresenta la principale causa di epatite acuta tra gli adulti in molte aree del sud del mondo, in particolare nel subcontinente Indiano e Sud-Est Asiatico, nel Medio Oriente e Nord Africa, dove è comune causa di focolai sporadici ed epidemie legate ad inquinamento microbiologico delle acque, con decorso clinico autolimitante, causando tuttavia un alto tasso di mortalità nelle donne in gravidanza. L'infezione da HEV era ritenuta essere limitata ai paesi in via di sviluppo, attualmente è riconosciuta come una malattia con distribuzione geografica molto diffusa. Nei paesi occidentali, sono riportati solo ca-

si sporadici di infezione autoctona, probabilmente acquisiti attraverso trasmissione zoonotica. Negli ultimi anni, in alcuni paesi europei, è stata segnalata nei soggetti immunodepressi una cronicizzazione dell'infezione da HEV, talora con evoluzione in cirrosi epatica. Il trattamento delle forme acute è, quasi esclusivamente, sintomatico; nelle forme croniche si può utilizzare una terapia antivirale con peg-IFN e ribavirina. La prevenzione, oltre ad un accurato controllo delle condizioni igienico-sanitarie, particolarmente nei paesi in via di sviluppo, è legata all'immunoprofilassi attiva. Due vaccini, attualmente testati, hanno dimostrato di essere altamente efficaci nel prevenire la malattia.

SUMMARY

Hepatitis E virus (HEV) represents the main aetiological agent of enteric non-A hepatitis and is the only member of a new virus, Hepevirus, belonging to the family of Hepeviridae. HEV is the single most important cause of acute clinical hepatitis among adults in many areas of the developing world, specifically the Indian subcontinent and Southeast Asia, the Middle East and North Africa, where it is a common cause of sporadic and epidemic waterborne outbreaks and results in a high rate of morbidity and death, especially in pregnant women. Once thought of as an infection confined to developing countries, it is now recognized as a geo-

graphically widely distributed disease. In low-endemic regions (Western countries), sporadic cases of locally-acquired HEV infection are reported, acquired possibly through zoonotic transmission from pigs, wild boars or deer. In persons with pre-existing chronic liver disease, HEV superinfection can present as acute-on-chronic liver disease. In European countries, chronic infection, which may progress to liver cirrhosis, has been reported among immunosuppressed persons. Two testing vaccines proved to be highly effective in preventing the disease; these vaccines should be of particular use in groups that are at high risk of HEV infection.

■ BIBLIOGRAFIA

- [1] Meng X.J., Anderson D.A., Arankalle V.A., et al. *Hepeviridae*. In: *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., Eds. Elsevier, San Diego, CA. 115-127, 2011.
- [2] Meng X.J., Purcell R.H., Halbur P.G., et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 94, 9860-9865, 1997.
- [3] Wong D.C., Purcell R.H., Sreenivasan M.A., Prasad S.R., Pavri K.M. Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for a non-A, non-B hepatitis etiology. *Lancet*. 2, 876-879, 1980.
- [4] Zhuang H., Cao X.Y., Liu C.B., Wang G.M.. Epidemiology of hepatitis E in China. *Gastroenterol. Jpn*. 26 (Suppl. 3), 135-138, 1991.
- [5] Belabbes E.H., Bouguerrouh A., Benatallah A., Illoul G. Epidemic non-A, non-B viral hepatitis in Algeria: strong evidence for it spreading by water. *J. Med. Virol.* 16, 257-263, 1985.
- [6] Piper Jenks N., Horowitz H., Schwartz E. The risk of hepatitis E infection to travelers. *J. Travel Med.* 7, 194-199, 2000.
- [7] Kwo P.Y., Schlauder G.G., Carpenter H.A., et al. Acute hepatitis E by a new isolate acquired in the United States. *Mayo Clin. Proc.* 72, 1133-1136, 1997.
- [8] Dalton H.R., Stableforth W., Thuraiajah P., et al. Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 20, 784-790, 2008.
- [9] Meng X.J. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet. Microbiol.* 140, 256-265, 2010.
- [10] Payne C.J., Ellis T.M., Plant S.L., Gregory A.R., Wilcox G.E. Sequence data suggests big liver and

- spleen disease virus (BLSV) is genetically related to hepatitis E virus. *Vet. Microbiol.* 68, 119-125, 1999.
- [11] Tam A.W., Smith M.M., Guerra M.E., et al. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*. 185, 120-131, 1991.
- [12] Chandra V., Kar-Roy A., Kumari S., Mayor S., Jameel S. The hepatitis E virus ORF3 protein modulates epidermal growth factor receptor trafficking, STAT3 translocation, and the acute-phase response. *J. Virol.* 82, 7100-7110, 2008.
- [13] Koonin E.V., Gorbalenya A.E., Purdy M.A., Rozanov M.N., Reyes G.R., Bradley D.W. Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 89, 8259-8263, 1992.
- [14] Li T.C., Yamakawa Y., Suzuki K., et al. Expression and self-assembly of empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J. Virol.* 71, 7207-7213, 1997.
- [15] Xing L., Wang J.C., Li T.C., et al. Spatial configuration of hepatitis E virus antigenic domain. *J. Virol.* 85, 1117-1124, 2011.
- [16] Yamada K., Takahashi M., Hoshino Y., et al. ORF3 protein of hepatitis E virus is essential for virion release from infected cells. *J. Gen. Virol.* 90, 1880-1891, 2009.
- [17] Emerson S.U., Nguyen H.T., Torian U., Burke D., Engle R., Purcell R.H. Release of genotype 1 hepatitis E virus from cultured hepatoma and polarized intestinal cells depends on open reading frame 3 protein and requires an intact PXXP motif. *J. Virol.* 84, 9059-9069, 2010.
- [18] Lu L., Li C., Hagedorn C.H. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev. Med. Virol.* 16, 5-36, 2006.
- [19] Ippagunta S.K., Naik S., Sharma B., Aggarwal R. Presence of hepatitis E virus in sewage in northern India. Frequency and seasonal pattern. *J. Med. Virol.* 79, 1827-1831, 2007.
- [20] Labrique A.B., Zaman K., Hossain Z. Epidemiology and risk factors of incident hepatitis E virus infection in rural Bangladesh. *Am. J. Epidemiol.* 172(8), 952-961, 2010.
- [21] Goumba A.I., Konamna X., Komas N.P. Clinical and epidemiological aspects of a hepatitis E outbreak in Bangui, Central African Republic. *BMC Infect. Dis.* 11, 93-99, 2011.
- [22] Huang C.C., Nguyen D., Fernandez J., et al. Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). *Virology*. 191, 550-558, 1992.
- [23] Aggarwal R., Naiks S. Epidemiology of hepatitis E: current status. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 24, 1484-1493, 2009.
- [24] Dalton H.R., Bendal L., Ijaz S., Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect. Dis.* 8, 698-709, 2008.
- [25] John R., Plenge-Bonig A., Hess M., Ulrich R.G., Reetz J., Schielke A. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. *J. Gen. Virol.* 91, 750-758, 2010.
- [26] Takahashi M., Nishizawa T., Sato H., et al. Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *J. Gen. Virol.* 92, 902-908, 2011.
- [27] Zhao C., Ma Z., Harrison T.J., et al. A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China. *J. Med. Virol.* 81, 1371-1379, 2009.
- [28] Purcell R.H., Emerson S.U., Prevention, In *Viral Hepatitis* (Thomas H.C., Lemon S., Zuckerman A.J., Eds) 2005, 635-645. Blackwell Publishing, Malden, MA.
- [29] Khuroo M.S., Kamili S., Dar M.Y., Moeckli R., Jameel S. Hepatitis E and long-term antibody status. *Lancet*. 341 (8856), 1355, 1993.
- [30] Peron J.M., Danjoux M., Kamar N., et al. Liver histology in patients with sporadic acute hepatitis E: a study of 11 patients from South-West France. *Virchows Arch.* 450 (4), 405-410, 2007.
- [31] Mantab M.A., Rahman S., Khan M., Marmum A.A., Afroz S. Etiology of fulminant hepatic failure: experience from a tertiary hospital in Bangladesh. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 7 (2), 161-162, 2008.
- [32] Yamashita T., Mori Y., Miyazaki N., et al. Biological and immunological characteristics of hepatitis E virus-like particles based on the crystal structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106, 12986-12991, 2009.
- [33] Naik S.R., Aggarwal R., Salunke P.N., Mehrotra N.N. A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur, India. *Bull. World Health Organ.* 70, 597-604, 1992.
- [34] Aggarwal R., Naik S.R. Hepatitis E: does person-to-person spread occur? *Indian J. Gastroenterol.* 11, 109-112, 1992.
- [35] Shukla P., Chauhan U.K., Naik S., Anderson D., Aggarwal R. Hepatitis E virus infection among animals in northern India: an unlikely source of human disease. *J. Viral Hepat.* 14, 310-317, 2007.
- [36] Vishwanathan R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-1956): a critical study: epidemiology. *Indian J. Med. Res.* 45 (Suppl. 1), 1-29, 1957.
- [37] Dane D.S., Cameron C.H., Briggs N.M. Virus-like particles in serum of patients with Australia antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1, 695-698, 1970.
- [38] Somani S.K., Aggarwal R., Naik S.R., et al. A serological study of intra-familial spread from patients with sporadic hepatitis E virus infection. *J. Viral Hepatol.* 10, 446-449, 2003.
- [39] Teshale E.H., Grytdal S.P., Howard C., et al. Evidence of person-to-person transmission of hepatitis E virus during a large outbreak in Northern Uganda. *Clin. Infect. Dis.* 50, 1006-1010, 2010.
- [40] Aggarwal R., Kini D., Sofat S., Naik S.R., Krawczynski K. Duration of viraemia and faecal viral ex-

- cretion in acute hepatitis E. *Lancet*. 356, 1081-1082, 2000.
- [41] Arankalle V.A., Chobe L.P., Joshi M.V., Chadha M.S., Kundu B., Walimbe A.M. Human and swine hepatitis E viruses from Western India belong to different genotypes. *J. Hepatol*. 36, 417-425, 2002.
- [42] Meng X.J., Halbur P.G., Haynes J.S., et al. Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis E virus (swine HEV), but not with human strains of HEV. *Arch. Virol*. 143, 1405-1415, 1998.
- [43] Fix A.D., Abdel-Hamid M., Purcell R.H., et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E in two rural Egyptian communities. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 62, 519-523, 2000.
- [44] Khuroo M.S. Study of an epidemic of non-A, non-B hepatitis: possibility of another human hepatitis virus distinct from post-transfusion non-A, non-B type. *Am. J. Med*. 68, 818-823, 1980.
- [45] Labrique A.B., Zaman K., Hossain Z. Epidemiology and risk factors of incident hepatitis E virus infection in rural Bangladesh. *Am. J. Epid*. 172(8), 952-961, 2010.
- [46] Bile K., Isse A., Mohamud O., et al. Contrasting roles of rivers and wells as sources of drinking water on attack and fatality rates in a hepatitis E epidemic in Somalia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 51, 466-474, 1994.
- [47] Teshale E.H., Howard C.M., Grytdal S.P., et al. Hepatitis E epidemic, Uganda. *Emerg. Infect. Dis*. 16, 126-129, 2010.
- [48] Tsang T.H., Denison E.K., Williams H.V., Venczel L.V., Ginsberg M.M., Vugia D.J. Acute hepatitis E infection acquired in California. *Clin. Infect. Dis*. 30, 618-619, 2000.
- [49] Mansuy J.M., Peron J.M., Abravanel F., et al. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J. Med. Virol*. 74, 419-424, 2004.
- [50] Scotto G., Saracino A., Pempinello R., et al. Italian Study Group for Infectious Diseases in Immigrants. SIMIT epidemiological multicentric study on hospitalized immigrants in Italy during 2002. *J. Immigr. Health* 7, 55-60, 2005.
- [51] Clemente-Casares P., Pina S., Buti M., et al. Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg. Infect. Dis*. 9, 448-454, 2003.
- [52] Mitsui T., Tsukamoto Y., Hirose A., et al. Distinct changing profiles of hepatitis A and E virus infection among patients with acute hepatitis, patients on maintenance hemodialysis and healthy individuals in Japan. *J. Med. Virol*. 78, 1015-1024, 2006.
- [53] Christensen P.B., Engle R.E., Jacobsen S.E., Krarup H.B., Georgsen J., Purcell R.H. High prevalence of hepatitis E antibodies among Danish prisoners and drug users. *J. Med. Virol*. 66, 49-55, 2002.
- [54] Reuter G., Fofor D., Forgach P., Katai A., Szucs G. Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary. *J. Clin. Virol*. 44, 277-281, 2009.
- [55] Romanò L., Paladini S., Tagliacarne C., Canuti M., Bianchi S., Zanetti AR. Hepatitis E in Italy. A long-term prospective study. *J. Hepatol*. 54, 34-40, 2011.
- [56] Scotto G., Martinelli D., Centra M., et al. Epidemiological and clinical features of HEV infection: a survey in the district of Foggia (Apulia, Southern Italy). *Epidemiol. Infect*. 15, 1-8, 2013.
- [57] Christensen P.B., Engle R.E., Hjort C., et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clin. Infect. Dis*. 47, 1026-1031, 2008.
- [58] Sylvan S.P. The high rate of antibodies to hepatitis E virus in young, intravenous drug-abusers with acute hepatitis B-virus infection in a Swedish community: a study of hepatitis markers in individuals with intravenously or sexually acquired hepatitis B-virus infection. *Scand. J. Infect. Dis*. 30, 429-430, 1998.
- [59] Mansuy J.M., Bendall R., Legrand-Abravanel F., et al. Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerg. Infect. Dis*. 17, 2309-2312, 2011.
- [60] Stefanidis I., Zervou E.K., Rizos C., et al. Hepatitis E virus antibodies in hemodialysis patients: an epidemiological survey in central Greece. *Int. J. Artif. Organs*. 27, 842-847, 2004.
- [61] Boutrouille A., Bakkali-Kassimi L., Crucière C., Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J. Clin. Microbiol*. 45, 2009-2010, 2007.
- [62] Reed C., Freedman D.O., Castelli F., et al. Increase in hepatitis E among travelers reported to the GeoSentinel surveillance system. Abstract of 43rd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. San Francisco; October 2005.
- [63] Potasman I., Koren L., Peterman M., Srugo I. Lack of hepatitis E infection among backpackers to tropical countries. *J. Travel Med*. 7, 208-210, 2000.
- [64] Ooi W., Gawoki J., Yarbough P., Pankey G. Hepatitis E Seroconversion in United States travelers abroad. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 61 (5), 822-824, 1999.
- [65] Smalligan R., Lange W., Frame J., et al. The risk of viral hepatitis A, B, C and E among North American missionaries. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 53, 233-236, 1995.
- [66] Shlim D.R., Pandey P., Scott R., Vaughn D.W. Risk of Hepatitis E infection among foreigners living in Nepal. Abstract of the 6th Conference of the International Society of Travel Medicine, Montreal 1999. Abstract FC 1, 4.
- [67] Cowie B., Adamopoulos J., Carter K., Kelly H. Hepatitis E infections, Victoria Australia. *Emerg. Infect. Dis*. 11(3), 482-484, 2005.
- [68] Aggarwal R., Jameel S. Hepatitis E. *Hepatology* 54(6), 2218-2226, 2012.
- [69] Pal R., Aggarwal R., Naik SR., Das V., Das S., Naik S. Immunological alterations in pregnant women with acute hepatitis E. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 20, 1094-1101, 2005.
- [70] Said B., Ijaz S., Kafatos G., et al. Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerg. Infect. Dis*. 15, 1738-1744, 2009.

- [71] Dalton H.R., Bendall R.P., Rashid M., et al. Host risk factors and autochthonous hepatitis E infection. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 23, 1200-1205, 2011.
- [72] Khuroo M.S., Teli M.R., Skidmore S., Sofi M.A., Khuroo M.I. Incidence and severity of viral hepatitis in pregnancy. *Am. J. Med.* 70, 252-255, 1981.
- [73] Bhatia V., Singhal A., Panda S.K., Acharya S.K. A 20-year single-center experience with acute liver failure during pregnancy: is the prognosis really worse? *Hepatology* 48, 1577-1585, 2008.
- [74] Sharapov M.B., Favorov M.O., Yashina T.L., et al. Acute viral hepatitis morbidity and mortality associated with hepatitis E virus infection: Uzbekistan surveillance data. *BMC Infect. Dis.* 9, 35-42, 2009.
- [75] Ohnishi S., Kang J.H., Maekubo H., et al. Comparison of clinical features of acute hepatitis caused by hepatitis E virus (HEV) genotypes 3 and 4 in Sapporo, *Japan Hepatol. Res.* 36 (4), 301-307, 2006.
- [76] Aggarwal R. Hepatitis E. Historical, contemporary and future perspectives. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 26 (Suppl. 1), 72-82, 2011.
- [77] Kumar Acharya S., Kumar Sharma P., Singh R., et al. Hepatitis E virus (HEV) infection in patients with cirrhosis is associated with rapid decompensation and death. *J. Hepatol.* 46, 387-394, 2007.
- [78] Bouwknegt M., Engel B., Herremans M.M., et al. Bayesian estimation of hepatitis E virus seroprevalence for populations with different exposure levels to swine in The Netherlands. *Epidemiol. Infect.* 136, 567-576, 2008.
- [79] Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 362, 371-373, 2003.
- [80] Takahashi K., Kitajima N., Abe N., Mishiro S. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology* 330, 501-505, 2004.
- [81] Sood A., Midha V., Sood N. Guillain-Barré syndrome with acute hepatitis E. *Am. J. Gastroenterol.* 95, 3667-3668, 2000.
- [82] Dixit V.K., Abhilash V.B., Kate M.P., Jain A.K. Hepatitis E infection with Bell's palsy. *J. Assoc. Physicians India* Abs 54, 418, 2006.
- [83] Fong F., Illahi M. Neuralgic amyotrophy associated with hepatitis E virus. *Clin. Neurol. Neurosurg* 111, 193-195, 2009.
- [84] Kejariwal D., Roy S., Sarkar N. Seizure associated with acute hepatitis E. *Neurology.* 57, 1935, 2001.
- [85] Kamar N., Bendall R.P., Peron J.M., et al. Hepatitis E virus and neurologic disorders. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 173-179, 2011.
- [86] Maurissen I., Jeurissen A., Strauven T., Sprengers D., De Schepper B. First case of anti-ganglioside GM1-positive Guillain-Barré syndrome due to hepatitis E virus infection. *Infection* 7, 341-349, 2011.
- [87] Despierres L.A., Kaphan E., Attarian S., et al. Neurologic disorders and hepatitis E, France, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1510-1512, 2011.
- [88] Ali G., Kumar M., Bali S., Wadhwa W. Hepatitis E associated immune thrombocytopenia and membranous glomerulonephritis. *Indian J. Nephrol.* 11, 70-72, 2001.
- [89] Kamar N., Weclawiack H., Guilbeaud-Frugier C., et al. Hepatitis E virus and the kidney in solid organ transplant patients. *Transplantation.* 93 (6), 617-623, 2012.
- [90] Deniel C., Coton T., Brardjanian S., Guisset M., Nicand E., Simon F. Acute pancreatitis: a rare complication of acute hepatitis E. *J. Clin. Virol.* 51, 202-204, 2011.
- [91] Fourquet E., Mansuy J.M., Bureau C., et al. Severe thrombocytopenia associated with acute autochthonous hepatitis E. *J. Clin. Virol.* 48, 73-74, 2010.
- [92] Kamar N., Selves J., Mansuy J.M., et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N. Engl. J. Med.* 358, 811-817, 2008.
- [93] Gerolami R., Moal V., Colson P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *N. Engl. J. Med.* 358, 859-860, 2008.
- [94] Haagsma E.B., van den Berg A.P., Porte R.J., et al. Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 14 (4), 547-553, 2008.
- [95] Huang S., Zhang X., Jiang H., et al. Profile of acute infectious markers in sporadic hepatitis E. *PLoS One* 5, e13560, 2010.
- [96] Bendall R., Ellis V., Ijaz S., Thurairajah P., Dalton H.R. Serological response to hepatitis E virus genotype 3 infection: IgG quantitation, avidity, and IgM response. *J. Med. Virol.* 80, 95-101, 2008.
- [97] Engle R.E., Yu C., Emerson S.U., Meng X.J., Purcell R.H. Hepatitis E virus (HEV) capsid antigens derived from viruses of human and swine origin are equally efficient for detecting anti-HEV by enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* 40, 4576-4580, 2002.
- [98] Herremans M., Bakker J., Duizer E., Vennema H., Koopmans M.P. Use of serological assays for diagnosis of hepatitis E virus genotype 1 and 3 infections in a setting of low endemicity. *Clin. Vaccine Immunol.* 14, 562-568, 2007.
- [99] Bryan J.P., Tsarev S.A., Iqbal M., et al. Epidemic hepatitis E in Pakistan: patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. *J. Infect. Dis.* 170, 517-521, 1994.
- [100] Pillot J., Turkoglu S., Dubreuil P., et al. Cross-reactive immunity against different strains of the hepatitis E virus transferable by simian and human sera. *C.R. Acad. Sci. III* 318, 1059-1064, 1995.
- [101] Shresta M.P., Scott R.M., Joshi D.M., et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N. Engl. J. Med.* 365, 895-903, 2007.
- [102] Zhu F.C., Zhang J., Zhang X.F., et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 376, 895-902, 2010.
- [103] Peron J.M., Dalton H., Izopet J., Kamar N. Acute autochthonous hepatitis E in western patients with underlying chronic liver disease: a role for rib-

- avirin? *J. Hepatol.* 54, 1323-1324, author reply 1324-1325, 2011.
- [104] Gerolami R., Borentain P., Raissouni F., Motte A., Solas C., Colson P. Treatment of severe acute hepatitis E by ribavirin. *J. Clin. Virol.* 52, 60-62, 2011.
- [105] Mallet V., Nicand E., Sultanik P., et al. Brief communication: case reports of ribavirin treatment for chronic hepatitis E. *Ann. Intern. Med.* 153, 85-89, 2010.
- [106] Kamar N., Rostaing L., Abravanel F., et al. Pegylated interferon-alpha for treating chronic hepatitis E virus infection after liver transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 50, e30-e33, 2010.
- [107] Kamar N., Rostaing L., Abravanel F., et al. Ribavirin therapy inhibits viral replication on patients with chronic hepatitis E virus infection. *Gastroenterology.* 139, 1612-1618, 2010.
- [109] Alric L., Bonnet D., Laurent G., Kamar N., Izopet J. Chronic hepatitis E virus infection: successful virologic response to pegylated interferon-alpha therapy. *Ann. Intern. Med.* 153, 135-136, 2010.
- [109] Alric L., Bonnet D., Beynes-Rauzy O., Izopet J., Kamar N. Definitive clearance of a chronic hepatitis E virus infection with ribavirin treatment. *Am. J. Gastroenterol.* 106, 1562-1563, 2011.