



Генетична вариабилност на вируса на Хепатит Е (HEV) и значимост за молекулярната епидемиология на заболяването

проф. Георги Георгиев и

проф. Янко Иванов

Център за оценка на риска по хранителната верига,

Министерство на земеделието, храните и горите



Genetic variability of Hepatitis E virus (HEV) and its significance for molecular epidemiology of the disease

Prof. Georgi Georgiev and

Prof. Yanko Ivanov

Risk Assessment Center on Food Chain.

Ministry of Agriculture, Food and Forestry

Исторически бележки

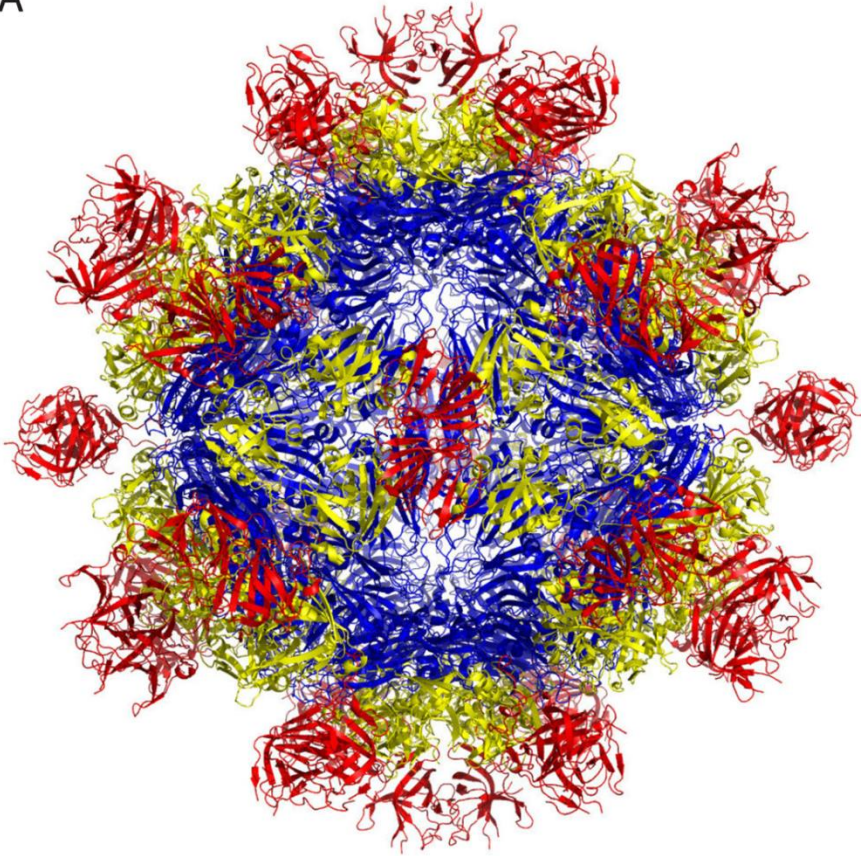
- HEV бе доказан за първи път по време на избухване на хепатит в Кашмир през 1978 г., наречен е по това време "нито-А и нито-В хепатит,,.
- Впоследствие HEV бе идентифициран при доброволец, експериментално заразен и развил остър хепатит чрез имунна електронна микроскопия (IEM), като във фецеса му бяха установени сферични вирусоподобни частици (VLPs) с големина 27 - 30nm.

Значимост на заболяването

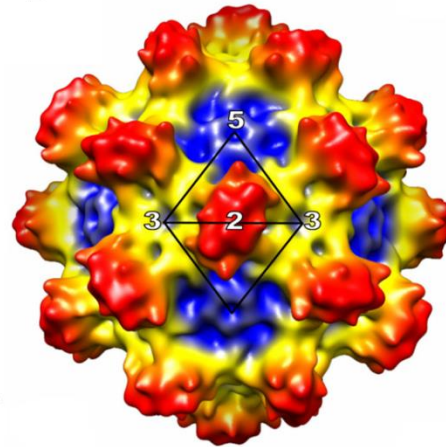
- В Света годишно се регистрират около 20 милиона инфекции с вируса на хепатит Е (HEV) и до 56 600 смъртни случаи при хора.
- Хроничната инфекция с HEV вече се е превърнала в значителен проблем при имунокомпрометирани или пациенти с трансплантирани на органи.
- В страните от т.н. «трети» Свят HEV е причина за над 50% от случаите на акутен чревно - предаван хепатитен вирус.

Структура на Хепатит Е вирусни частици (Т - 1) икозаедър

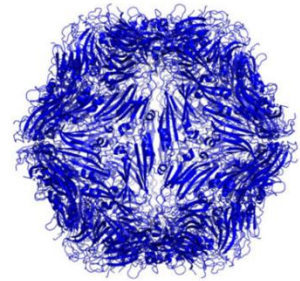
A



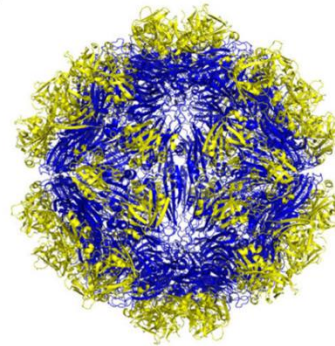
B



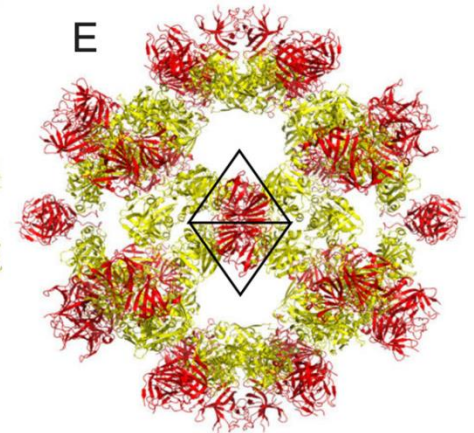
C



D



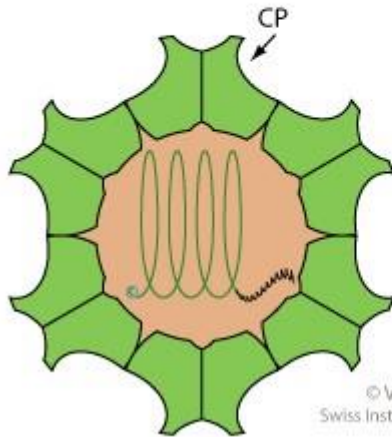
E



Прилики и разлики

Неревирidae

VIRION

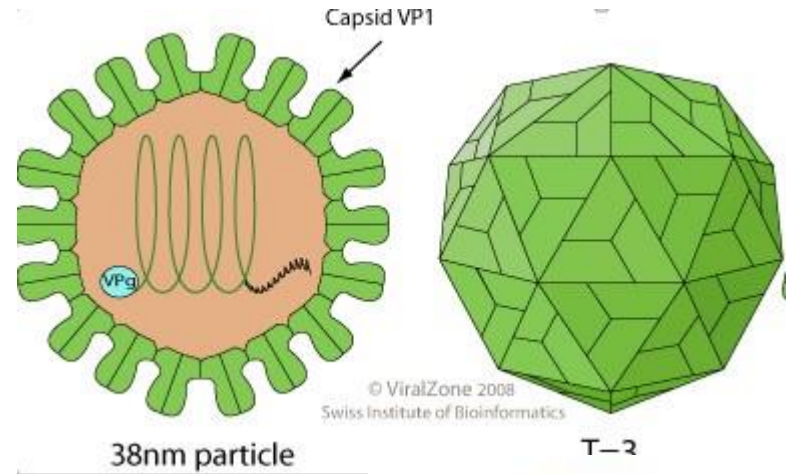


© ViralZone 2008
Swiss Institute of Bioinformatics



T=1

Caliciviridae

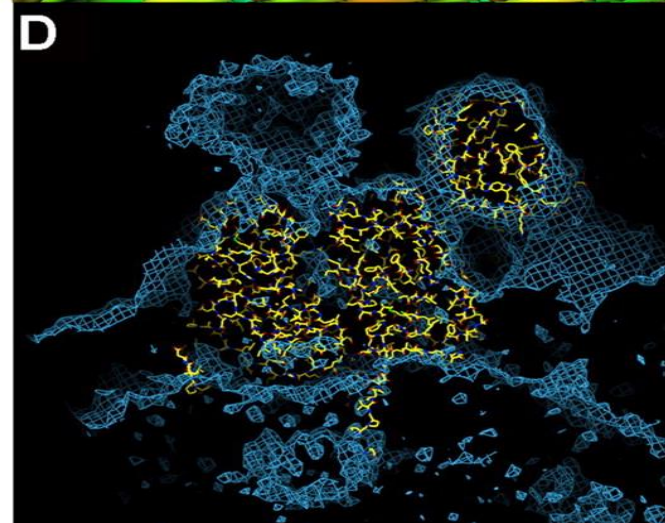
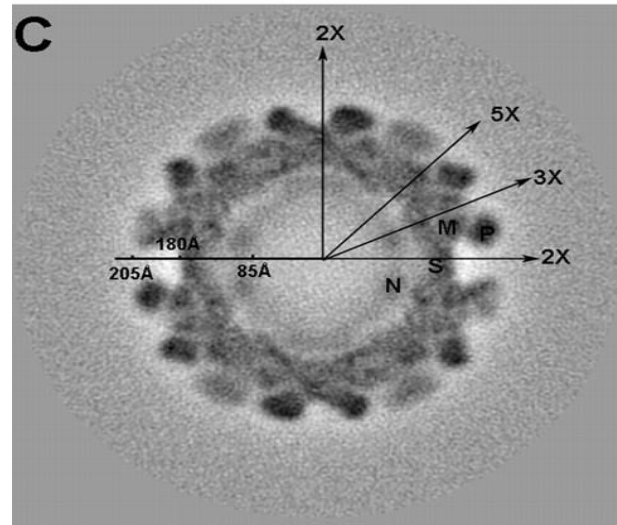
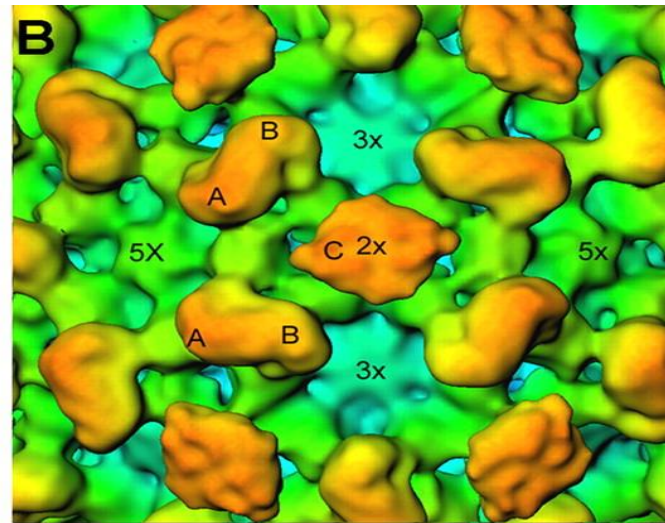
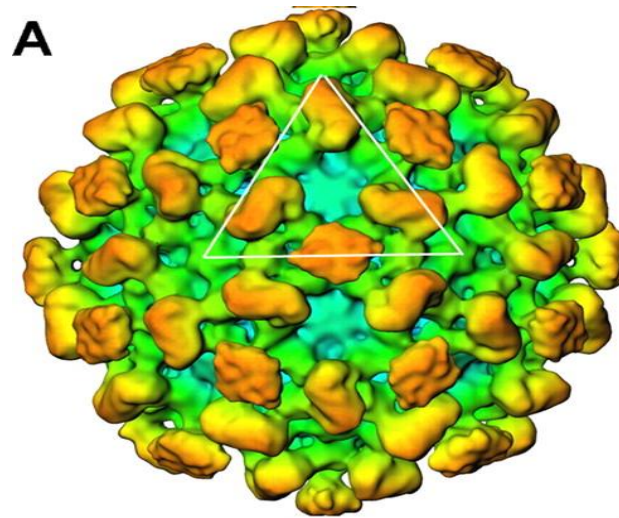


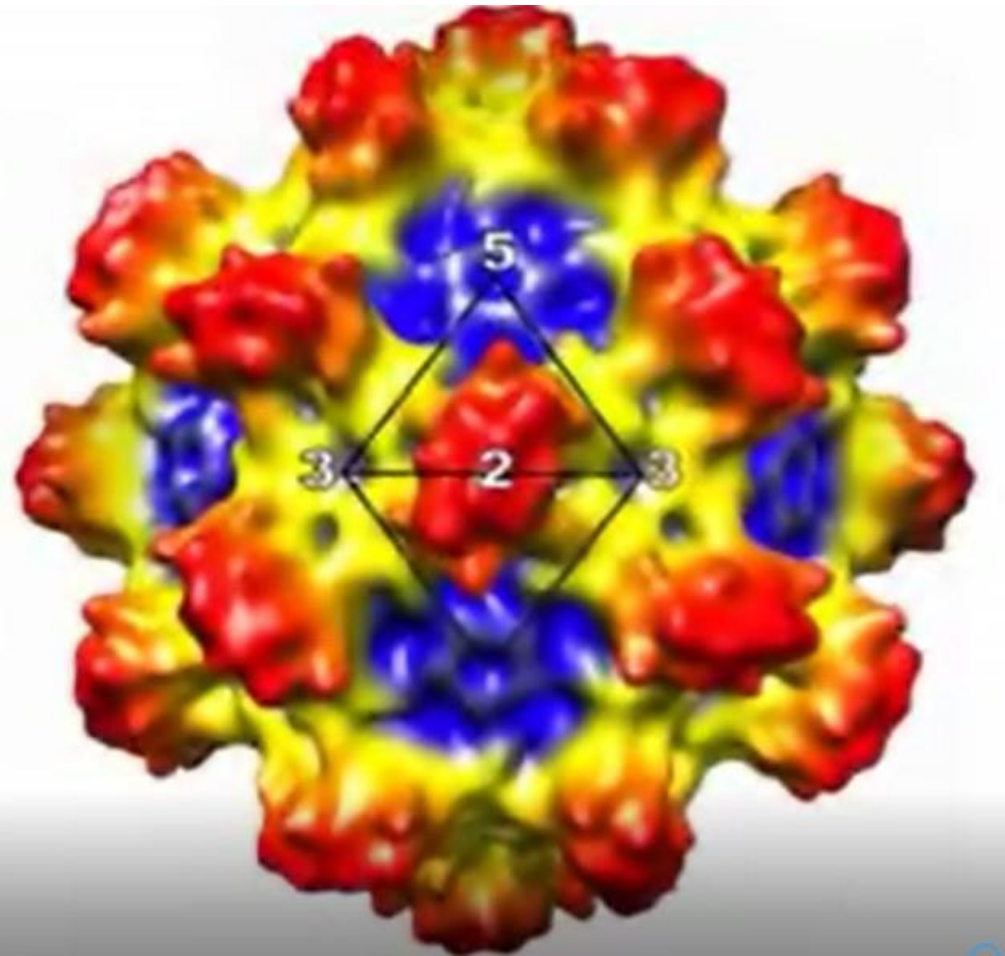
© ViralZone 2008
Swiss Institute of Bioinformatics

T=2

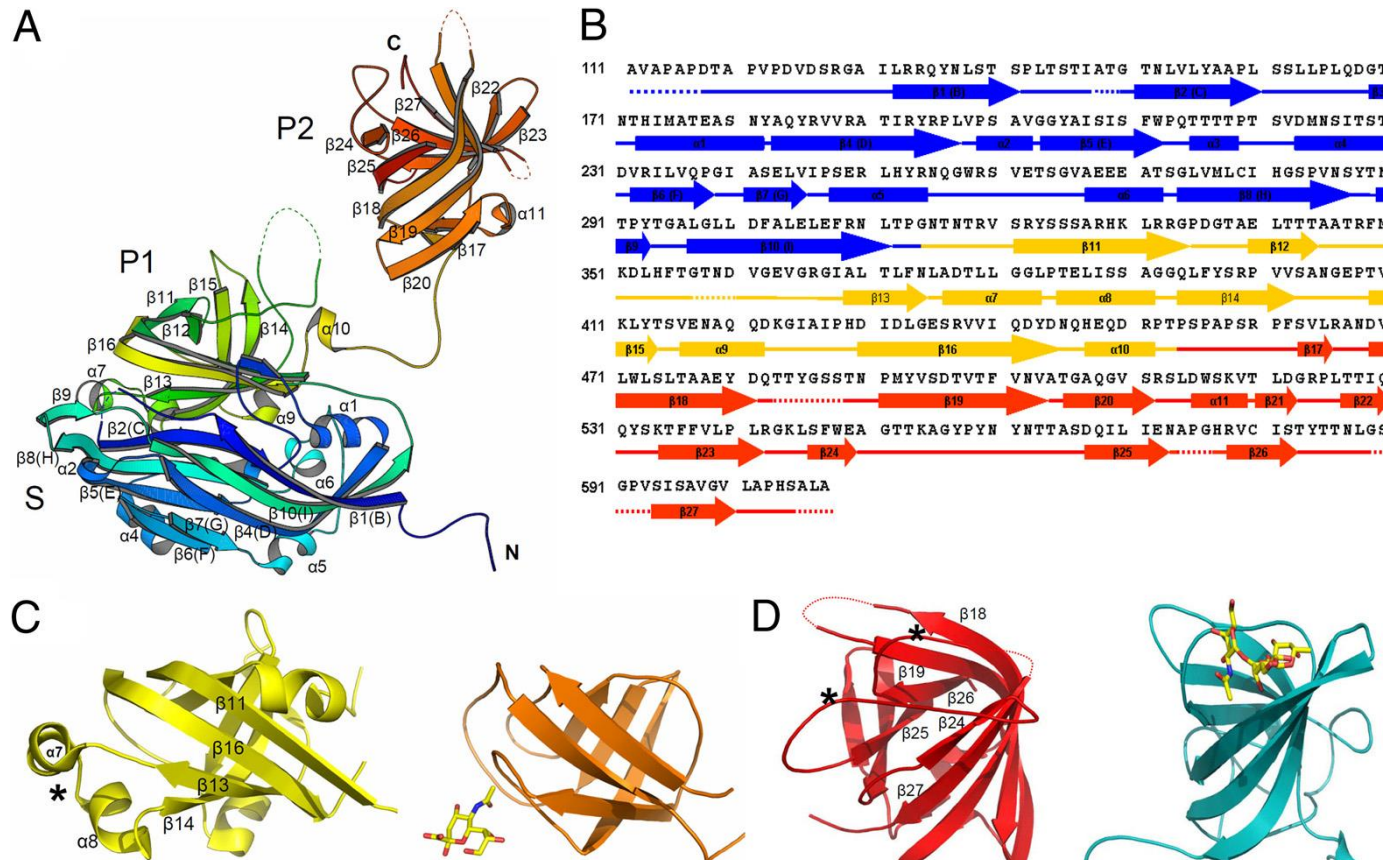


3 D структура на HEV T=3 VLP.
A/ цялостна структура на HEV-VLP
T = 3 икозахедрични ORF2 протеини



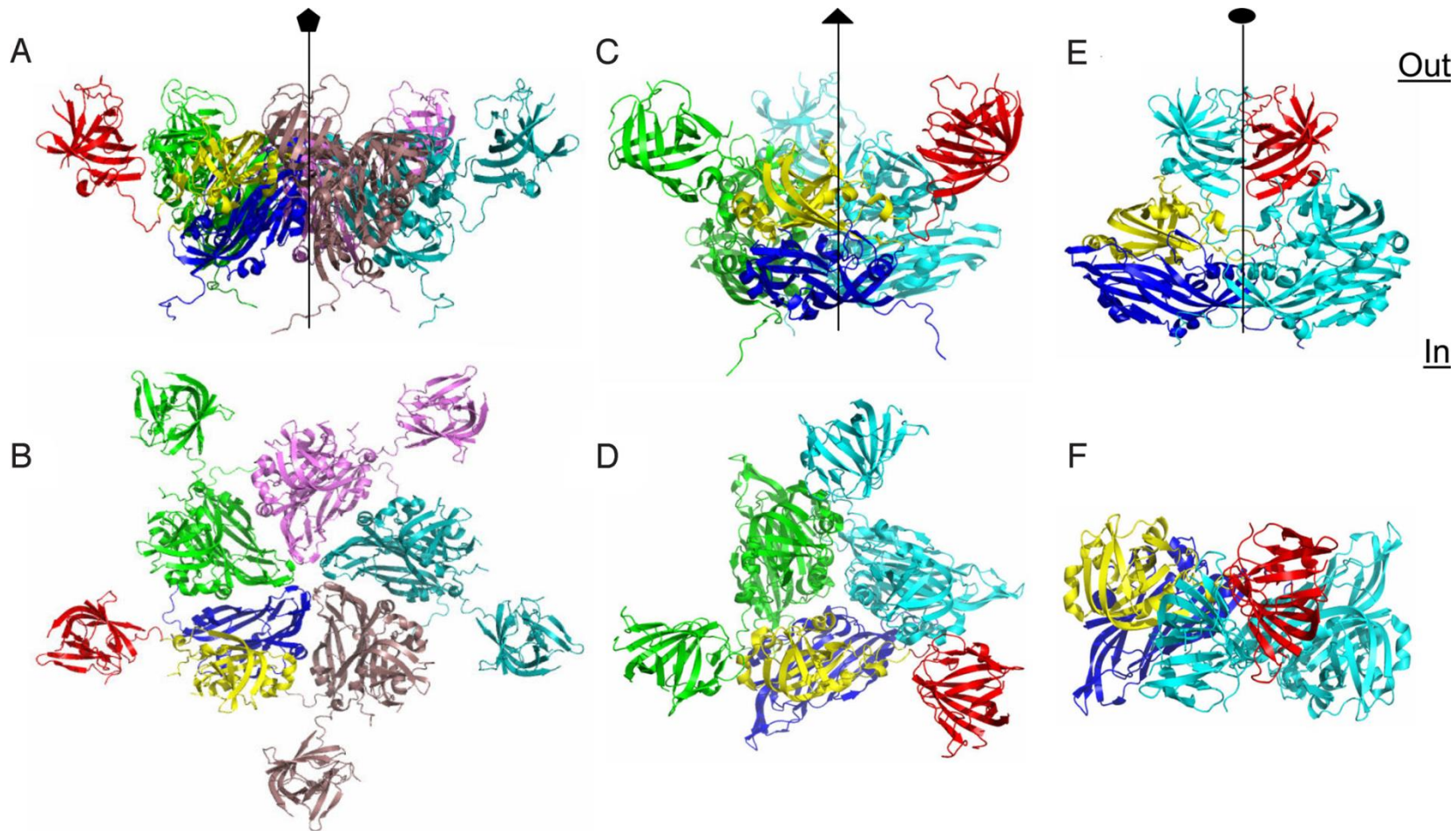


Структура на HEV – секвентен анализ на протеини от сърцевината на вируса (CP)



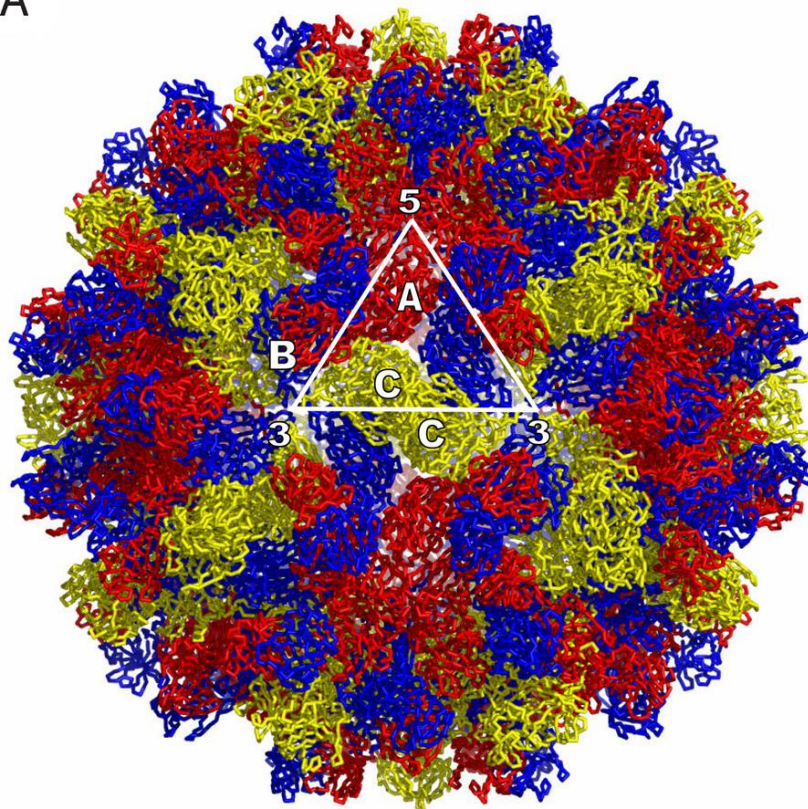
Молекулите са с цветовете на дъгата, като N края е в синьо, а C край е в червено

HEV капсомери (A и B) HEV - CP пентамери

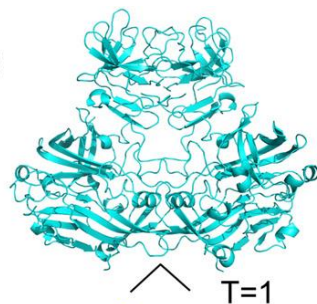


T 3 HEV капсиден модел- кристална структура с 3.5А резолюция

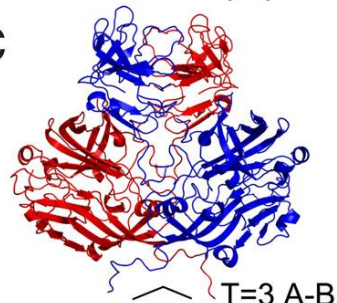
A



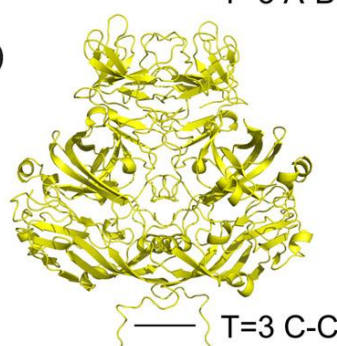
B



C



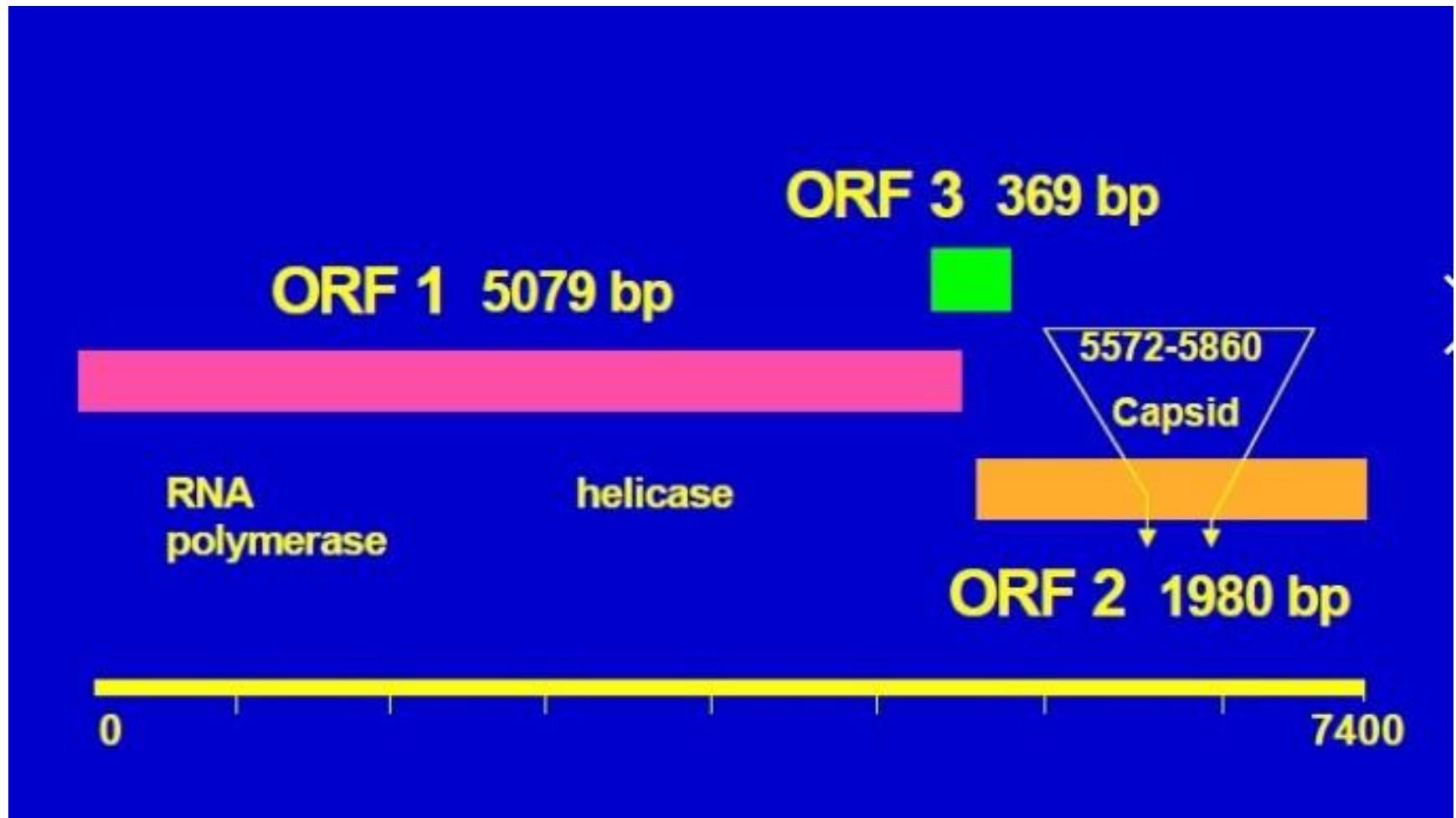
D



HEV – организация на генома

- HEV е вирус без обвивка с големина 27-34 nm, (T = 1) икозаедрален капсид, обхващащ вирусния геном.
- Едно-верижната РНК с положителен поляритет и спирална структура с големина 6,6 - 7,3 kВ.
- Геномната РНК е полиаденилирана и съдържа три кратки отворени рамки за четене (ORFs), които се наричат ORF1, ORF2 и ORF3.

Геномна организация на HEV



Класификация и номенклатура

- Първоначално HEV е бил включен като член на семейство *Caliciviridae*.
- През 2009 г. HEV е включен в новосъздаденото семейство ***Hepeviridae*** от Международния комитет по таксономия на вирусите (ICTV).
- Съгласно текущата версия на таксономията (2015г.), семейството *Hepeviridae* включва два рода: род *Ortohepevirus* (Ортохепевируси от А-Д) и род *Piscihepevirus*.

Класификация и номенклатура

- Род *Ortohepevirus* обхваща всички варианти на HEV за бозайници, прилепи и птици, докато род *Piscihepevirus* включва силно различаващ се вирус от **пъстърва**, поставен в един вид.
- Род *Ortohepevirus A* е най-добре характеризираният вид, който има 52,44% до 59,11% идентичност с другите ортохепевирусни видове – B, C и D.
- **Род *Ortohepevirus A* има 7 генотипа (Gen. 1 -7).**

Класификация и номенклатура

- **Gen. 1 и 2** инфектират само хора и са разпространени главно в Азия, Африка и Северна Америка. На тях се дължат главно епидемични взривове, свързани с лошата хигиена на водата.
- **Gen. 3 и 4** са зоонозни, техен главен резервоар са домашните и дивите свине, и предизвикват спорадични случаи на Хепатит Е при хора. Те са основната причина за автохтонни случаи на хепатит Е в развитите страни.
- **Gen. 3** е широко разпространен по света. Еволюционните изследвания показват, че общият предшественик на **Gen. 3** се е появил в началото на 19-ти век или дори в края на 18 век по описание на заболяването.

Класификация и номенклатура

- **Gen. 4** се открива главно в Азия, но е бил установен и при свине в Италия, Белгия и Дания. HEV-4 има дял от 71,79% до 77,38% от други генотипове. Геногрупата на **Gen. 4** е разделена на девет подтипа (a-i), главно изолирани от домашни, диви свине и човек.
- HEV-4 е открит и в други животни като овце, крави и кози в Китай. Независимо от това, са необходими повече изследвания, за да се определи дали тези видове са резервоари на HEV-4 или са случайни гостоприемници.

Инфекции с HEV, свързани с генотипа на вируса

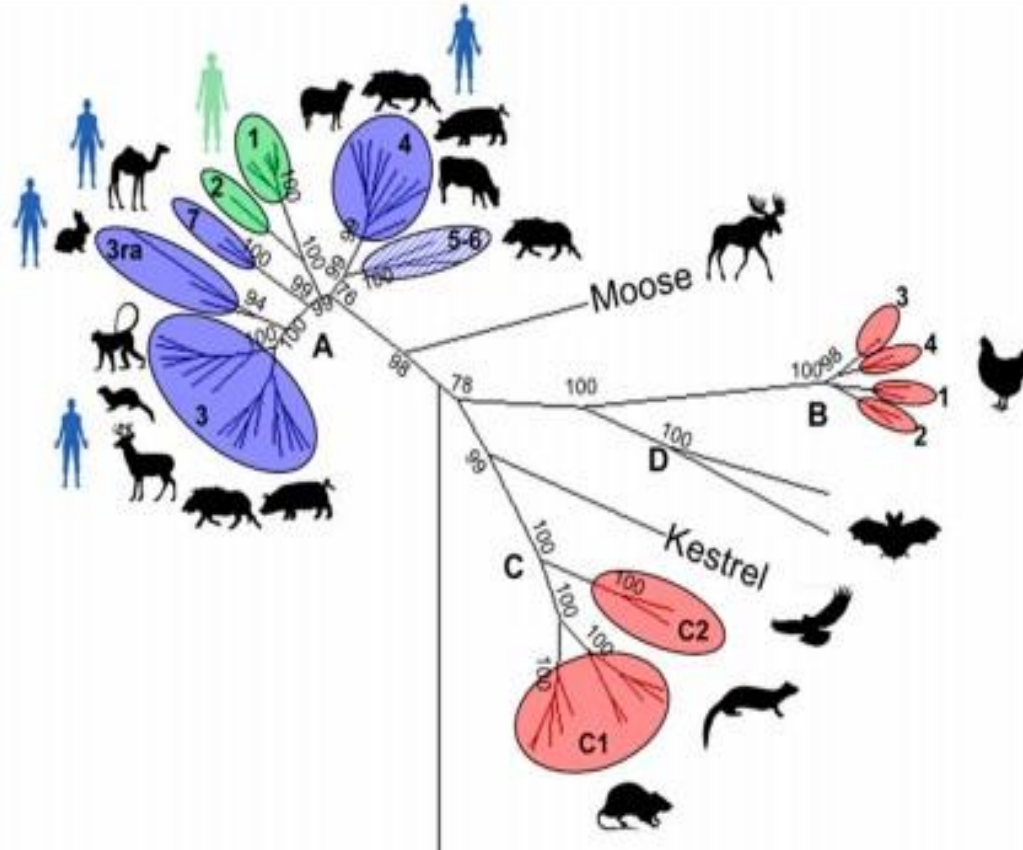
Characteristic	Genotypes 1 and 2 Epidemic	Genotypes 3 and 4 Autochthonous
Distribution	Developing countries	Developing & developed countries
Pattern of spread	Epidemic & sporadic	Sporadic
Species	Human	Swine, human
Mode of spread	Waterborne	Foodborne
Icteric illness	High	Low
Age	Adolescents & young	older
Sex	M = W	Higher in men
Mortality	High in pregnancy	High in older
Extra-hepatic features	Few	Neurologic
Chronic infection	None	In immunosuppressed patients
Therapy	None known	Ribavirin, PEG-IFN
Prevention	Vaccine	Vaccine

Класификация и номенклатура

- **Gen. 5 и 6** се амплифицират само от диви свине. Те се определят като подтипове 5a и 6a, споделящи повече от 78% идентичност между тях и 71.58% -77.38% идентичност с други генотипове.
- **Gen. 7.** Принадлежащите HEV от този генотип са изолирани от камили и от пациент с трансплантация.

Orthohepevirus

Orthohepevirus A



Orthohepeviruses B, C и D

Piscihepevirus

Pescihepevirus

Cutthroat Trout

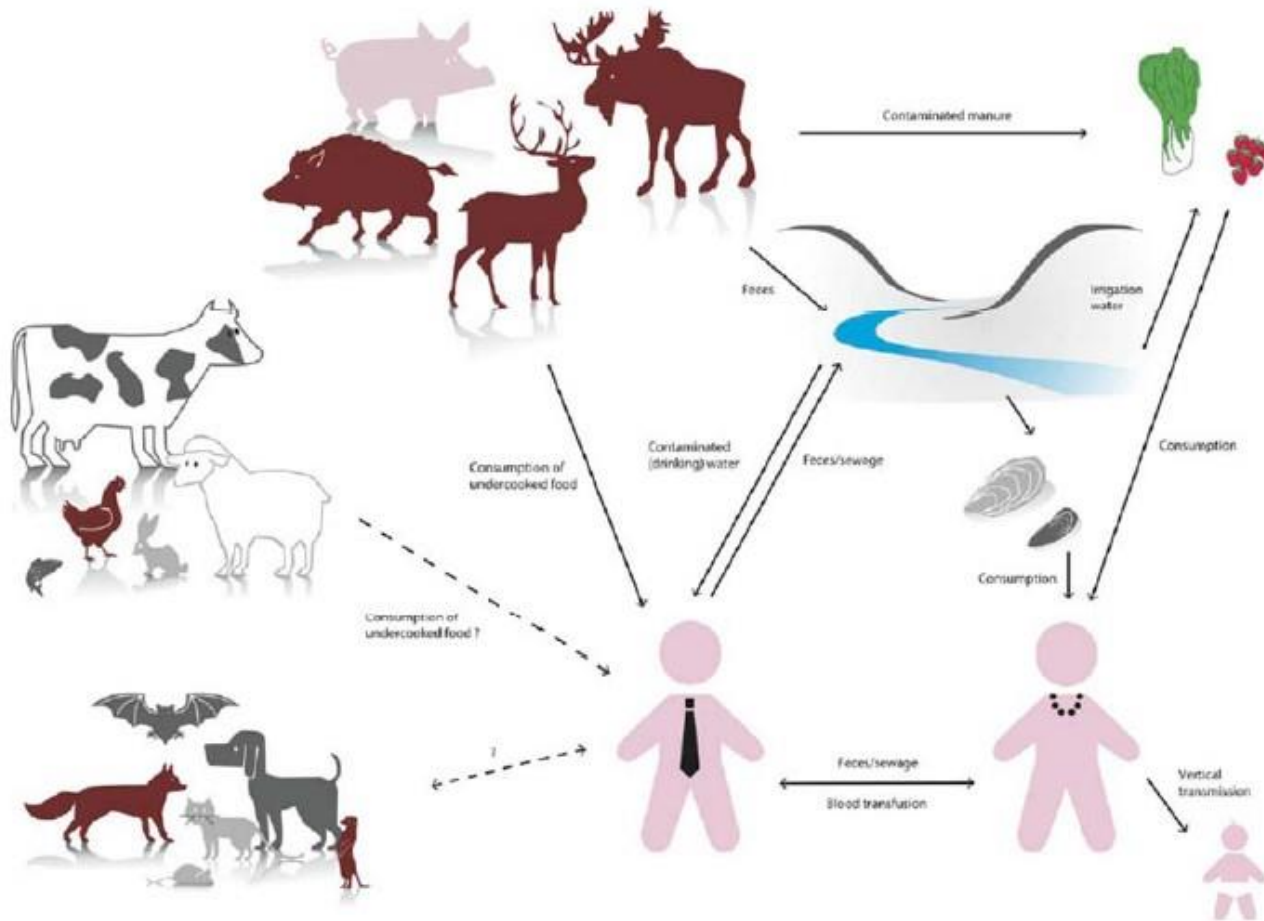
Генотипов плуралитет при HEV

- Род *Orthohepevirus A* включва два генотипа на HEV, срещащи се само при хората (HEV-1 и HEV-2), както и два генотипа общи за хора и различни животински видове (HEV-3 и HEV-4). Последните са свързани с хранителни инфекции с източник - месо от домашни и диви свине и от елени.
- Другите, наскоро описани генотипове са с по-малко значение за общественото здраве и са открити при редица животни, включително при диви свине (HEV-5 и HEV-6), зайци (HEV-3a) и камили (HEV-7 и HEV-8).

HEV като зоонозно заболяване

- Доказателство за зоонозния характер на инфекция с HEV е, че **хора, които са били в контакт с резервоарни животни, показват по-високо ниво на заразеност.**
- Неотдавна при чернодробно трансплантиран пациент от Близкия Изток, който редовно е консумирал камилско месо и мляко бе доказана инфекция с „камилския“ HEV-7.

Епидемиологична и епизоотологична циркулация на HEV



Вирусоносителство и вирусоизлъчителство при HEV

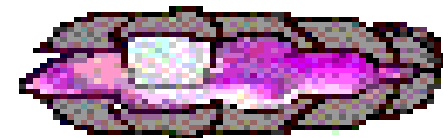
- Заразените животни с HEV са носители на вируса, който може да се отдели във високи нива чрез изпражненията и жлъчката и в по-ниски - в месото.
- Това би могло да доведе до кросконтаминация и обсеменяване по време на клане и изкормване на животните в месопреработвателните предприятия.

Вирусоносителство при HEV

- Кръвта от виремични животни може да бъде потенциален източник на инфекция с HEV, ако се използва в хранителни продукти (напр. кръвни колбаси, сурово-сушени колбаси и др.), които са недостатъчно термично обработени.
- Част от свинете, вероятно по-малко от 10% с виремия по време на клането е най-вероятната причина за вторичното контаминиране на месото с вируса на хепатит E.

HEV като контаминант в околната среда

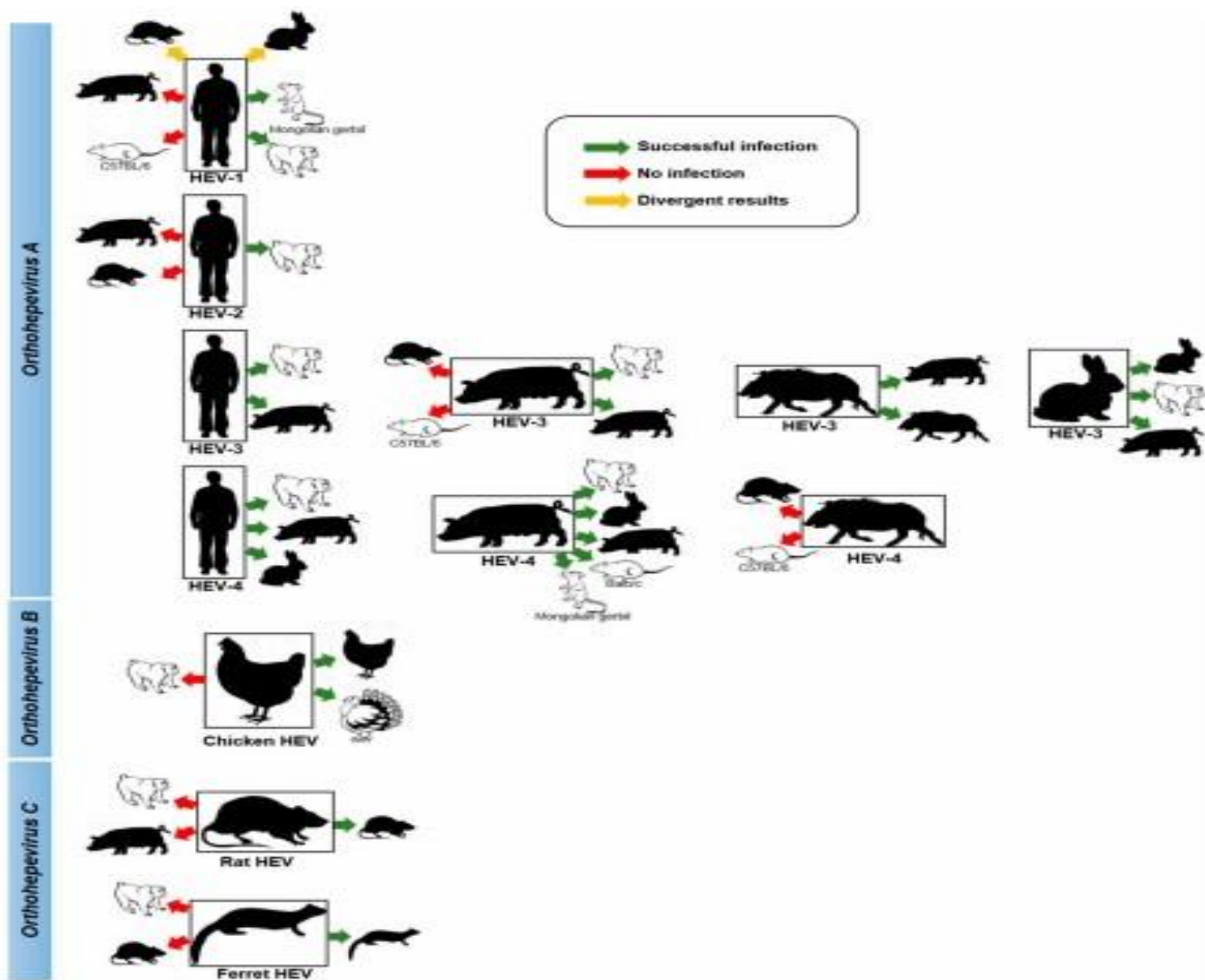
- Заразяване чрез консумация на:
 - Морски дарове
 - Салати
 - Контаминирани питейни
води



Директно предаване HEV сред пациенти

- Имуносупресираните пациенти са изложени на риск от развитие на **хронични HEV инфекции** и тежка прогресия на заболяването с фатален изход.
- Доказани са случаи на предаване от човек на човек на HEV и те са свързани с кръвопреливане или трансплантации на органи.

Експериментално междувидово предаване на HEV



Експериментално междувидово предаване на HEV

- В последно време се полагат много усилия за разработването на модели с малки или лабораторни животни за изучаване патогенезата на HEV и предаването на вируса между видовете.
- Сега се използват порове и шимпанзета, които представляват добра алтернатива на култивирането на вируса в клетъчни култури.
- Тяхната чувствителност към "човешки" и други HEV щамове от видовете *Ortohepevirus A* следва да бъде определена, което ще подпомогне и за експериментирането с "човешки" HEV.

Клинична симптоматика на Хепатит Е

- Хепатит Е обикновено се проявява с коремна болка, анорексия, тъмна урина, бледи изпражнения, повишена телесна температура, умора, хепатомегалия, жълтеница, неразположение, гадене и повръщане.
- По-рядко срещаните симптоми включват болки в ставите, диария, пруритус и уртикария.
- Съотношението на симптоматичната към асимптоматичната инфекция е от 1:2 до 1:13.

Клинична симптоматика на Хепатит Е

- **Фулминантната болест** - мълниеносното (свръх остро) развитие на Хепатит Е е рядко срещано, освен при бременни жени.
- **Хроничният хепатит Е** е рядко срещан и то главно при пациенти с трансплантация на органи и пациенти с тежка имунна недостатъчност.
- **Усложнения** с екстра-чернодробни прояви на хепатит Е, остър панкреатит, бъбречна недостатъчност и неврологични синдроми, включително Синдром на Guillain-Barré, невралгична амиотрофия или енцефалит също могат съпътстват основната диагноза за Хепатит Е.
- **Смъртността** като цяло е ниска - от 1% -3% с изключение при бременните жени, където може да достигне 10% -25% сред заразените през третия триместер на бременността.

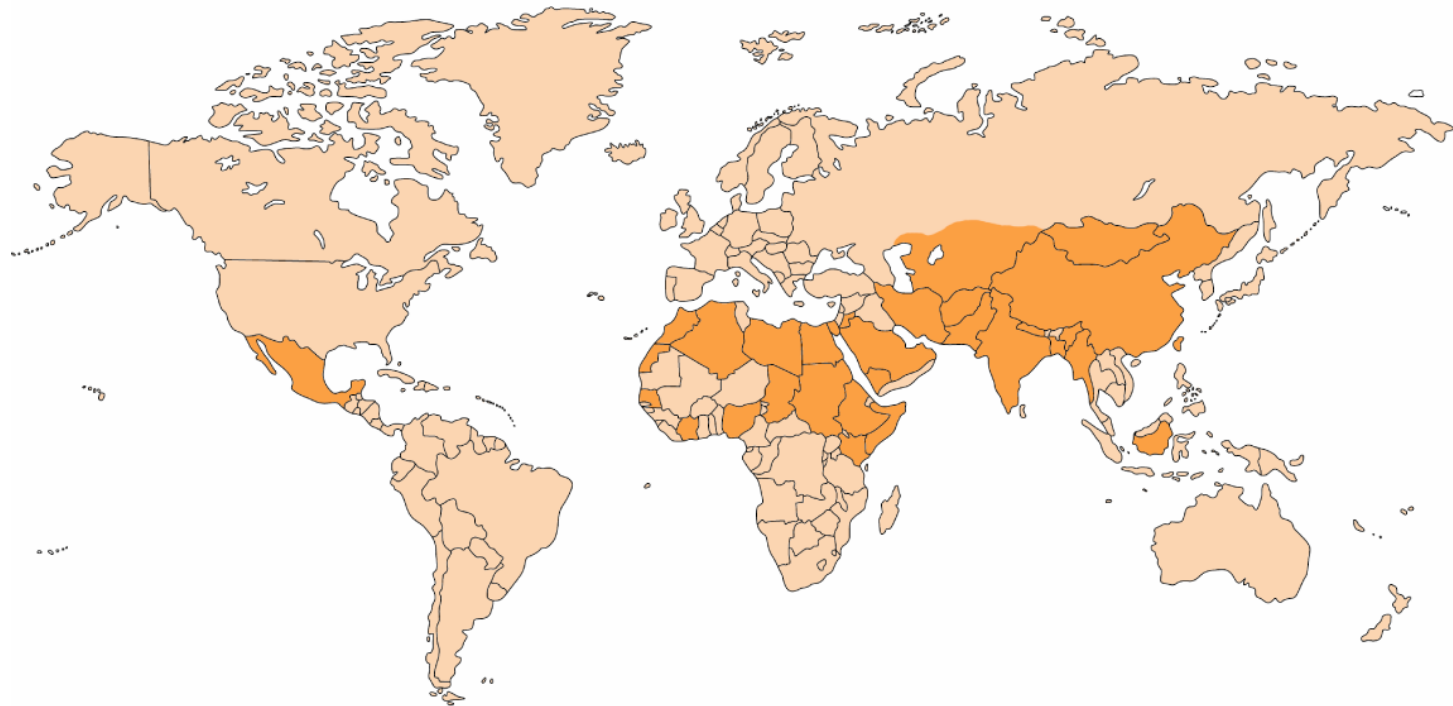
Диагностика на Хепатит Е

- **Диагнозата Хепатит Е дълго време бе диагноза на изключването.**
- **Диагнозата** зависи от клиничните и епидемиологичните особености, както и от изключването на другите етиологични причинители на хепатита, особено хепатит А, чрез лабораторни изследвания. Хепатит Е клинично и параклинично се характеризира със всички симптоми и показатели за възпаление на черния дроб.
- **Диагностични тестове:** Ензимни имуноанализи (EIAs), Western blot, откриване на IgM и IgG анти-HEV антитела в серума, тестове за RT-PCR за откриване на HEV РНК в серум и фецес, имунофлуоресцентни тестове с блокиращи антитела за антиген в серума и в хистологични препарати от черен дроб, IEM за визуализиране на вирусни частици във фецеса.

Световно разпространение на HEV

Geographic Distribution of Hepatitis E

Outbreaks or Confirmed Infection in >25% of Sporadic Non-ABC Hepatitis



Adapted by CTLT from CDC.

Изводи:

- През последните десетилетия в много и различни животински видове бяха открити щамове на HEV. Тези открития доведоха до преразглеждане на класификацията на тези вируси от ICTV и определяне на нова таксономична структура на сем. *Herpesviridae* за HEV.
- Наличните диагностични методи в момента все още не са в състояние да открият всички съществуващи щамове на HEV. По-широкото използване на методите на метагеномен анализ и пълният секвентен геномен анализ (FSA) могат да доведат до идентификация на нови генотипове и варианти на HEV.

Изводи:

- Свинете са основен резервоар за HEV. Заразените животни са носители на вируса, който може да се отдели във високи нива чрез изпражненията и жлъчката и се установява в по-ниски нива в месото.
- Този факт може да бъде предпоставка за кръстосано замърсяване на месото и месните продукти по време на клането и в месопреработвателните предприятия.
- Възможно е обаче и други резервоарни животни от различни животински видове, включително заек, прилепи, камили и много други да представляват значителен риск за предаване на HEV (при тях е **доказано** наличието на HEV РНК и инфекциозен вирус).

Благодаря за вниманието!

