

*Jerzy Jaroszewicz, Magdalena Rogalska, Alicja Kalinowska, Iwona Wierzbicka,  
Anna Parfieniuk, Robert Flisiak*

## CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA PRZECIWCIAŁ PRZECIWI WIRUSOWI ZAPALENIA WĄTROBY TYPU E WŚRÓD HINDUSÓW STUDIUJĄCYCH W BIAŁYMSTOKU

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Akademii Medycznej w Białymstoku  
Kierownik Kliniki: Robert Flisiak

*Celem pracy była analiza częstości występowania serologicznych wskaźników zakażenia HEV u osób pochodzących z Indii, studiujących w Polsce, oraz ocena ryzyka rozprzestrzeniania się zakażeń HEV na terenie naszego kraju. W grupie 45 studentów stwierdzono obecność anti-HEV u 7 (15,6%) osób, a anti-HEV-total u 5 (11,1% osób).*

*Słowa kluczowe: wirusowe zapalenie wątroby typu E, częstość występowania anti-HEV, transmisja zakażenia HEV*

*Key-words: viral hepatitis E, prevalence anti-HEV, person-to-person HEV transmission*

### WSTĘP

Czynnikiem etiologicznym wirusowego zapalenia wątroby typu E (wzw) jest wirus HEV z grupy ssRNA należący do rodzaju Hepeviridae. Do zakażenia HEV dochodzi drogą pokarmową (1,2). Wirusowe zapalenie wątroby typu E występuje endemicznie w Południowo-Wschodniej i Środkowej Azji. Liczne epidemie były także opisywane na Bliskim Wschodzie, w Północnej i Zachodniej Afryce oraz Ameryce Południowej i Meksyku (3). Na pozostałych obszarach kuli ziemskiej zakażenia HEV występują sporadycznie i są głównie związane z podróżami do stref endemicznych. W Indiach HEV jest głównym czynnikiem (50-70%) wirusowych zapaleń wątroby (4). Częstość występowania przeciwciał anti-HEV w klasie IgG, świadczących o przebyciu zakażenia, w niektórych krajach endemicznych przekracza 25% populacji (5). HEV jest również istotnym czynnikiem piorunujących zapaleń wątroby na tych obszarach, odpowiedzialnym za 20 - 40% wszystkich przypadków (6). W krajach rozwiniętych zakażenie HEV tylko sporadycznie jest przyczyną zapalenia wątroby, przy czym zazwyczaj są to przypadki zawleczone z rejonów endemicznych (7).

W ostatnich latach pojawiło się wiele doniesień sugerujących większą częstość występowania zakażeń HEV w krajach rozwiniętych, niż wskazywały na to wcześniejsze dane

epidemiologiczne. W piśmiennictwie dostępne są opisy zachorowań na wzv typu E osób, które nigdy nie podróżowały do rejonów endemicznego występowania zakażeń HEV (8-11). Badania doświadczalne i sekwencjonowanie genetyczne szczepów HEV sugerują że rezerwuarem HEV mogą być świnie. Z uwagi na możliwość przeniesienia zakażenia ze świni na człowieka, należałoby traktować ostre zapalenie wątroby typu E w krajach rozwiniętych jako zoonozę (12-14). Jednak w części przypadków ostrego wzv typu E transmisja odzwierzęca została wykluczona, dlatego rozważane jest przeniesienie zakażenia HEV, pierwotnie zawleczonego z terenów endemicznych, z człowieka na człowieka (10).

Podjęcie przez nas badań zostało spowodowane zachorowaniem na wzv typu E dwóch studentów pochodzenia hinduskiego, studiujących w Białymstoku. Obaj pacjenci byli hospitalizowani w Klinice Obserwacyjno-Zakaźnej w Białymstoku (15). U jednego chorego wystąpiło powikłanie zakażenia HEV ostrym zapaleniem trzustki. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można sądzić, że jest to pierwsze doniesienie o występowaniu zakażenia HEV w Polsce i pierwszy zarejestrowany przypadek ostrego zapalenia trzustki w przebiegu zakażenia HEV w Europie. Dotychczas nie przeprowadzono w Polsce badań epidemiologicznych, których celem było oszacowanie częstości występowania zakażeń HEV.

Celem pracy było określenie częstości występowania przeciwciał anti-HEV w grupie osób pochodzenia hinduskiego studiujących w Polsce oraz ocena ryzyka rozprzestrzeniania się wirusa zapalenia wątroby typu E na terenie naszego kraju.

## MATERIAL I METODY

W badaniu wzięło udział 45 mężczyzn, obywateli Indii, w wieku od 18 do 48 lat (średni wiek  $24,4 \pm 0,56$  roku), którzy przybyli do Polski 30 dni wcześniej przed rozpoczęciem badania. Studenci ci pochodzili z prowincji Gandhinagar, Andhrea Pradesh i Maharashtra. Wszystkie osoby po wyrażeniu pisemnej, świadomej zgody na udział w badaniu otrzymały do wypełnienia kwestionariusz, mający na celu oszacowanie głównych czynników ryzyka zakażenia HEV oraz uwzględniający podstawowe zagadnienia demograficzne. W ankiecie zawarto pytania dotyczące warunków bytowych, przyzwyczajajeń żywieniowych, możliwości dostępu do bieżącej wody, liczby osób zamieszkujących razem w gospodarstwie domowym, dochodu w przeliczeniu na osobę, wykonywanej wcześniej pracy oraz styczności ze zwierzętami. Ponadto wywiad obejmował dane przebytych szczepień, występowania w przeszłości żółtaczki, hospitalizacji, zabiegów chirurgicznych, transfuzji krwi oraz stosowania dożylnych środków odurzających, a także odbytych podróży.

Od każdego uczestnika badania pobrano próbkę krwi i wykonano testy oceniające obecność w surowicy przeciwciał anti-HEV klasy IgM (anty-HEV-IgM) oraz całkowitej puli przeciwciał anti-HEV (anty-HEV-total). Testy te wykonywano metodą immunoenzymatyczną (EIA) (DIA.PRO, Diagnostic Bioprobes Sri., Milano, Italy). W teście EIA, wykrywającym przeciwciała klasy M, zastosowano syntetyczne antygeny uzyskane ze szczepów Mexiacan i Burma, zawierające konserwatywne determinanty. Drugi test EIA, wykrywający przeciwciała klasy M i G, zawierał syntetyczne antygeny zawierające konserwatywne oraz najbardziej immunogenne determinanty wymienionych szczepów HEV.

W uzyskanych próbkach krwi zbadano ponadto stężenie bilirubiny całkowitej oraz aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT). W każdym przypadku podwyższonej ak-

tywności ALT wykonano badania w kierunku zakażenia innymi wirusami hepatotropowymi - HBV (HBsAg, anti-HBc-IgM), HCV (anti-HCV) oraz HAV (anti-HAV-IgM).

Badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Białymstoku. Informacja o badaniu została przekazana każdemu uczestnikowi bezpośrednio przed wyrażeniem pisemnej, świadomej zgody na udział w badaniu.

Wyniki badań zostały przedstawione za pomocą średniej i błędu standardowego ( $\pm$ SE). Analizę ilościową przeprowadzono za pomocą testu U Mann'a-Whitney'a, zaś jakościową, za pomocą testu chi z korekcją Yeats'a.

Wartości  $P < 0,05$  zostały uznane za statystycznie istotne. Analizy statystycznej dokonano za pomocą programu Statistica 5.0 dla Windows (Statsoft Inc., Tulsa, USA).

## WYNIKI

Serologiczne markery przebytego lub aktualnego zakażenia HEV wykryto u 12 osób (26,7%). Obecność przeciwciał anti-HEV-total potwierdzono u 5 (11,1%) uczestników badania. Występowanie anti-HEV-IgM wykazano u 3 (6,6%) studentów, zaś występowanie anti-HEV-IgM łącznie z anti-HEV-total potwierdzono u 4 (8,9%) osób. (tab. I)

Tabela I. Częstość występowania przeciwciał anti-HEV-IgM i anti-HEV-total w badanej grupie  
Table. I. The prevalence of anti-HEV-IgM and anti-HEV-total antibodies in studied population

Kombinacja występujących przeciwciał anti-HEV	Liczba (%)
anti-HEV-IgM (-), anti-HEV-total (+)	5(11,1)
anti-HEV-IgM (+), anti-HEV-total (-)	3 (6,6)
anti-HEV-IgM (+), anti-HEV-total (+)	4(16,0)
anti-HEV-IgM (-), anti-HEV-total (-)	33 (73,3)

U dwóch osób wykryto podwyższoną aktywność ALT (82 i 88 U/L) przy braku serologicznych markerów zakażenia wirusami hepatotropowymi, w tym HEV. Aktywność ALT pozostawała w granicach normy u wszystkich osób, u których stwierdzono obecność serologicznych wskaźników zakażenia HEV. Średnia aktywność ALT w tej grupie osób

Tabela II. Porównanie grupy osób z obecnymi serologicznymi wskaźnikami zakażenia HEV z grupą osób, bez przeciwciał anti-HEV w surowicy

Table. II. The comparison between subjects with and without any serological markers of HEV infection

	anti-HEV (+) N = 12	anti-HEV (-) N = 33	P
Wiek (lata, $\bar{x} \pm$ SE)	23,2 $\pm$ 2,5	24,7 $\pm$ 4,1	0,29
ALT (U/L, $\bar{x} \pm$ SE)	29,5 $\pm$ 6,5	23,3 $\pm$ 7,1	0,66
Bilirubina (mg/dL, $\bar{x} \pm$ SE)	0,90 $\pm$ 0,5	1,06 $\pm$ 0,3	0,09
Hospitalizacje w wywiadzie, n (%)	4(33,3)	1 (3,0)	<0,01
Zabiegi chirurgiczne wywiadzie, n (%)	2(16,7)	4(12,1)	0,71
Żółtaczka w wywiadzie, n (%)	3 (25,0)	3 (9,1)	0,16
Dochód > \$ 450 na osobę, n (%)	5(41,7)	9 (27,3)	0,39
> 4 osób w gospodarstwie domowym, n (%)	3 (25,0)	14(42,4)	0,28
Środowisko miejskie/wiejskie, n	5/7	16/17	0,68
Styczność ze zwierzętami, n (%)	2(16,7)	2(6,1)	0,26

wynosiła  $29,5 \pm 6,5$  U/L. Również stężenie bilirubiny u osób z serologicznymi markerami zakażenia HEV pozostawało w granicach normy (średnie stężenie  $0,9 \pm 0,5$  mg/dL).

Analiza czynników ryzyka zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu E wskazała, że osoby z serologicznymi markerami zakażenia HEV istotnie częściej były hospitalizowane w przeszłości niż osoby, u których nie stwierdzono przeciwciał anti-HEV (33,3% vs. 3,0%,  $P < 0,01$ ). Występowanie innych medycznych, ekonomicznych i demograficznych czynników ryzyka było porównywalne w obu grupach (tab. II).

## DYSKUSJA

Na terenach endemicznych, m.in. w Środkowej Azji, Indiach i Północnej Afryce, zakażenia HEV są główną przyczyną ostrego zapalenia wątroby. W Indiach częstość występowania przeciwciał anti-HEV-IgM u pacjentów z ostrym zapaleniem wątroby sięga 20% (14), zaś do 16% dzieci posiada przeciwciała anti-HEV klasy G (17). Dotychczas panowało przekonanie, że w Europie i Stanach Zjednoczonych, zakażenie HEV tylko sporadycznie jest przyczyną ostrego zapalenia wątroby i wiąże się wyłącznie z podróżami na tereny endemiczne (18). Jednak publikacje z ostatnich lat rzucają nowe światło na epidemiologię zakażeń HEV w krajach rozwiniętych.

W badaniach przeprowadzonych w grupie 218 pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrego zapalenia wątroby „nonA-nonC” we Włoszech, *Zanetti* i wsp. udowodnili etiologię HEV u 10%, a 18,2% osób z tej grupy nie podróżowało do terenów endemicznych (19). Autorzy opisali ponadto nowy wariant HEV pochodzący od pacjenta, który nigdy nie podróżował w rejony endemiczne, nie miał również styczności z osobami powracającymi z tych terenów. Pozwala to sądzić, że opisany wirus może występować naturalnie na terenie Włoch. Badania *Mansuy’ego* i wsp. w południowo-zachodniej Francji (8) wykazały obecność HEV RNA u 25,4% z 431 pacjentów z ostrym zapaleniem wątroby o nieznannej etiologii. Dziewięciu pacjentów nie podało w wywiadzie żadnych podróży w ciągu 6 miesięcy poprzedzających zachorowanie. Ponadto zróżnicowanie genetyczne szczepów HEV na terenach Środkowych Pirenejów sugeruje, że szczepy te występują endemicznie na tych terenach. Inne doniesienia opisują przypadki zakażenia HEV osób w Holandii, Anglii, Walii i Hiszpanii, niezwiązane z podróżami w rejony endemiczne (9, 11, 20). Prawdopodobną przyczyną endemicznego występowania HEV na tych terenach jest krążenie wirusa pomiędzy rezerwuarem zwierzęcym a ludzkim.

Szczepy HEV, zakaźne dla ludzi, zidentyfikowano również w Holandii i Hiszpanii (21, 7). Jednocześnie badania doświadczalne wykazały podatność świń na zakażenie ludzkim szczepem HEV (14).

W badaniach *Sadler’a* i wsp. (10) zarejestrowano wyraźny wzrost częstości zakażeń HEV, nabytych na terenie Wielkiej Brytanii. Wśród opisanych 8 pacjentów żaden nie podróżował w rejony endemiczne, nie miał kontaktu ze świnią lub nie spożywał mięsa niepoddanego właściwej obróbce termicznej. U jednej osoby zidentyfikowano zakażenie genotypem 1 HEV, występującym typowo w Azji i Afryce. Autorzy sugerują, że zakażenia HEV importowane z rejonów endemicznego występowania mogą w dalszej kolejności ulec przeniesieniu z człowieka na człowieka.

Bezpośrednim powodem podjęcia badania w Klinice Obserwacyjno-Zakaźnej Akademii Medycznej w Białymstoku było rozpoznanie i hospitalizacja z powodu wzw typu E

dwóch pacjentów pochodzących z Indii, w tym jednego przypadku powikłanego ostrym zapaleniem trzustki (15). W celu oceny ryzyka przeniesienia zakażenia HEV od osób pochodzących z terenów endemicznych, przeanalizowano obecność markerów serologicznych w surowicy 45 obywateli Indii studiujących w Polsce. Przeciwciała anti-HEV-IgM wykazano u 7 (15,6%) osób, a anti-HEV-total u 5 (11,1%). U żadnego z uczestników badania nie wykazano klinicznych lub biochemicznych cech ostrego zapalenia wątroby. Jednak wysoka częstość występowania przeciwciał anti-HEV-IgM oraz wspomniane 2 przypadki objawowego zakażenia HEV wskazują na wysokie ryzyko przeniesienia importowanych zakażeń HEV do Polski.

### WNIOSKI

Zakażenie HEV, z uwagi na możliwość transmisji międzyludzkiej zakażenia zawlezione z rejonów endemicznych, powinno być rozważane jako czynnik etiologiczny w każdym przypadku ostrego zapalenia wątroby, niezależnie od braku w wywiadzie podróży do krajów endemicznych. W związku z powyższym niezbędne są dalsze badania mające na celu ocenę częstości występowania serologicznych markerów zakażenia HEV w ogólnej populacji w Polsce. Analiza piśmiennictwa wskazuje również na potrzebę podjęcia badań medyczno-weterynaryjnych zakażeń HEV świń, jak również potencjalnej transmisji odzwierzęcej HEV u ludzi.

*J Jaroszewicz, M Rogalska, A Kalinowska, I Wierzbicka, A Parfieniuk, R Flisiak*

### PREVALENCE OF ANTIBODIES AGAINST HEPATITIS E VIRUS AMONG STUDENTS FROM INDIA LIVING IN BIALYSTOK, POLAND

#### SUMMARY

Many evidences suggest hepatitis E virus (HEV) infections may be more prevalent than previously described and viral hepatitis E cases can be observed in patients who have never visited endemic areas. The aim of this study was to assess the prevalence of serological markers of HEV infection among students from India living in Poland. Methodology. Presence of anti-HEV immunoglobulin M-class (anti-HEV-IgM) and total anti-HEV antibodies (anti-HEV-total) was tested using enzyme immunoassays in sera of 45 India citizens studying in Poland.

Results. Serological markers of past or present HEV infection were detected in 12 (26.7%) subjects. Anti-HEV-total were found in 5 students (11.1%), anti-HEV-IgM alone were detected in 3 persons and in combination with total anti-HEV in further 4. Conclusions. There is a possible risk of person-to-person transmission of imported HEV from endemic areas, therefore HEV infection should be considered in all acute hepatitis patients regardless of travel history.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Emerson SU, Purcell RH. Running like water - the omnipresence of hepatitis E. *N Eng J Med* 2004; 351.2367-8.
2. Goens SD, Perdue ML. Hepatitis E viruses in humans and animals. *Anim Health Res Rev* 2004; 5.145-56.

3. Aggarwal R, Krawczynski K. Hepatitis E: an overview and recent advances in clinical and laboratory research. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15:9-20.
4. Arankalle VA, Chobe LP, Jha J, i in. Aetiology of acute sporadic non-A, non-B viral hepatitis in India. *J Med Virol* 1993; 40:121-5.
5. Worm HC, van der Poel WH, Brandstatter G. Hepatitis E. an overview. *Microbes Infect* 2002; 4:657-666.
6. Khuroo MS. Viral hepatitis in international travelers, risks and prevention. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21:143-152.
7. Clemente-Casares P, Pina S, Buti M. Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:448-454.
8. Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol* 2004; 74:419-24.
9. Waar K, Herremans MM, Vennema H, i in. Hepatitis E is a cause of unexplained hepatitis in The Netherlands. *J Clin Virol* 2005; 33:145-9.
10. Sadler GJ, Mells GF, Shah NH, i in. UK acquired hepatitis E-An emerging problem? *J Med Virol* 2006; 78:473-475.
11. Perez-Gracia MT, Garcia-Valdivia MS, Galan F, i in. Detection of hepatitis E virus in patients sera in southern Spain. *Acta Virol* 2004; 48:197-200.
12. Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H . Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *J Gen Virol* 2003; 84:851-62.
13. Banks M, Heath GS, Grierson SS. Evidence for the presence of hepatitis E virus in pigs in the United Kingdom. *Vet Rec* 2004; 154:223-7.
14. Halbur PG, Kasorndorkbua C, Gilbert C. Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *J Clin Microbiol* 2001; 39:918-23.
15. Jaroszewicz J, Flisiak R, Kalinowska A, i in. Acute hepatitis E complicated by acute pancreatitis, a case report and literature review. *Pancreas* 2005; 30:382-4.
16. Kaur R, Gur R, Berry N, i in. Etiology of endemic viral hepatitis in urban North India. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002; 33:845-8.
17. Mohanavalli B, Dnevahi E, Menon T, i in. Prevalence of antibodies to hepatitis A and hepatitis E virus in urban school children in Chennai. *Indian Pediatr* 2003; 40:328-31.
18. Khuroo MS. Viral hepatitis in international travelers, risks and prevention. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21:143-152.
19. Zanetti AR, Schlauder GG, Romano L. Identification of a novel variant of hepatitis E virus in Italy. *J Med Virol* 1999; 57:356-60.
20. Ijaz S, Arnold E, Banks M. Non-travel-associated hepatitis e in England and wales, demographic, clinical, and molecular epidemiological characteristics. *J Infect Dis* 2005; 192:1166-72.
21. van der Poel WH, Verschoor F, van der Heide R. Hepatitis E virus sequences in swine related to sequences in humans, The Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:970-6.

Otrzymano: 10.12.2007 r.

**Adres do korespondencji:**

Dr Jerzy Jaroszewicz,  
Klinika Obserwacyjno-Zakaźna, Akademia Medyczna w Białymstoku,  
ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok,  
Tel. (48) 85 7409490, fax: (48) 85 7434 613,  
e-mail: jerzy.jr@gmail.com