

HEPATİT E İNFEKSİYONUNUN ZONOTİK İNFEKSİYONLAR ARASINDAKİ YERİ VE MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

THE PLACE OF HEPATITIS E INFECTION AMONG THE ZONOTIC INFECTIONS AND IT'S MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

Sevgi ERGİN

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

İletişim / Correspondence:

Sevgi ERGİN

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aksaray, İstanbul
E-mail: sevgiergin@yahoo.com

ÖZET

Hepatit E virüsü (HEV) başlıca dışkı ile kirlenmiş sular aracılığı ile fekal- oral yoldan bulaşır. HEV; Asya, Afrika ve Meksika gibi birçok tropikal ve subtropikal bölge ülkesinde endemiktir. Gelişmiş ülkelerde ise etkenin endemik olarak bulunduğu ülkelere seyahat eden kişilerde veya seyahat öyküsü olmayanlarda hayvan kaynaklı olarak sporodik vakalar şeklinde bildirilmiştir. HEV enfeksiyonu aynı zamanda farklı hayvan kaynakları olan zoonotik bir hastalıktır. Domuz çiftliğinde çalışmak, fare yakalamış evcil kediler ile temas, pişmemiş domuz ciğeri veya deniz kabuklularının besin olarak tüketilmesi HEV enfeksiyonunun diğer risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Son seroepidemiolojik çalışmalarla, hem endüstriyel hem de gelişmekte olan ülkelerde domuz, kemirgen, kanath, köpek, koyun ve geyik gibi çeşitli hayvan türlerinde anti-HEV antikorlarının varlığı gösterilmiştir. Filogenetik olarak, HEV 4 büyük genotipe sahiptir. Bunlar genotip 1 (Asya ve Afrika), genotip 2 (Meksika, Nijerya, Çad), genotip 3 (ABD, İtalya, Yeni Zelanda, Yunanistan, İspanya, İngiltere, Arjantin, Avusturya) ve genotip 4 (Çin, Tayvan)dür.

Anahtar kelimeler: HEV, zoonoz, genotip

SUMMARY

Hepatitis E virus (HEV) is mainly transmitted by the fecal-oral route via contaminated water. HEV is considered as endemic in many countries of tropical and subtropical region such as Asia, Africa and Mexico. In developed countries, HEV has been documented in patients who traveled to areas in endemic region. HEV infection is also a zoonotic disease and there are animal reservoirs for hepatitis E infection. Other risk factors for hepatitis E infection are working in pig farms, contact with domestic cats slaying mice, consuming uncooked liver pig or raw shellfish. Recent seroepidemiological studies revealed that anti-HEV antibodies are present in various animal species, such as pigs, rodents, deer, chickens, dogs, sheep and goats, both developing and industrialized countries. Phylogenetically, HEV has 4 major genotypes. This genotypes are genotype 1 (Asia and Africa), genotype 2 (Mexico, Nigeria, Chad), genotype 3 (USA, Italy, New Zealand, Greece, Spain, UK, Argentina, Austria) and genotype 4 (China, Taiwan).

Key Words: HEV, zoonosis, genotype

Hepatit E virüsü (HEV), tüm dünyada yaygın olarak bulunan, çoğunlukla enteral yolla bulaşan non A, non B hepatitleri (ET-NANBH)'nin kanıtlanmış tek etkenidir ve Hepeviridae ailesinde, *Hepevirüs* cinsi içinde bir tür olarak sınıflandırılmaktadır (1). HEV; 27-34 nm çapında, küçük, yuvarlak, kılıfsız, ikosahedral simetrik, RNA'lı bir virüsdür (2). HEV genomu, pozitif

polariteli RNA'ya sahip, 7.5 kb uzunluğunda, tek iplikçikli, 3' ucundan poliadenillenmiş ve 3 adet open reading frame (ORF) içermektedir. ORF1 (1693 aa); viral replikasyonda rol oynayan yapısal olmayan proteinleri, ORF2 (660 aa); kapsid proteinlerini kodlar. ORF3 (123 aa)'ün ise immünoreaktif epitopların kodlanmasında rol oynadığı düşünülmektedir (3). Dondurulup,

çözölmeye duyarlı, +4°C ve -20°C'de yapısı bozulabilen bir virüsdür. Virüsler, çözücüler ve deterjanlar ile inaktive olmamaktadır (4).

HEV başlıca sanitasyon eksikliğine bağılı olarak virüs ile kontamine sular aracılığı ile fekal-oral yoldan bulaşmaktadır. Bu nedenle de sanitasyonun yetersiz olduğıu geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağıık sorunu oluşturmaktadır (5). Bu tip ülkelerde özellikle şiddetli yağmurlar, seller ve daha sonra suların çekilmesi, nehirlerin yönünü değııştirmesi, kalabalık yaşam şartlarında yeterli derecede sağııklı su temin edilememesi, insan dışkısının yöntemine uygun olarak ortadan kaldırılmaması ve yeterli miktarda su temininde güçlüklerin bulunması ve kişisel temizlik eksikliği buna neden olmaktadır. Birçok alanda kontrol mekanizmasının işletilememesi, ekonomi ve toplumda yaşanan sıkıntılar, yetersiz eğitim ve kültür düzeyi diğere birçok infeksiyonda olduğıu gibi HEV'in yayılmasını da kolaylaştırmaktadır.

Bu nedenlerden dolayı, HEV birçok tropikal ve subtropikal bölge ülkesinde endemiktir. Özellikle %59-68'lik oranla Hindistan başta olmak üzere Güneydoğıu Asya (Burma, Nepal), Borneo (Endonezya), Orta Asya (Kırgızistan), Pakistan, Kuzeybatı Çin, Kuzey ve Batı Afrika (Cezayir, Fildişi sahili, Libya, Gana, Çad, Kenya, Katar, Dakar, Mısır), Meksika gibi ülkelerde endemik olarak bulunan etken zaman zaman epidemilere neden olmaktadır (6).

HEV ile ilgili olarak ilk salgın 1955'de şiddetli yağmur mevsimini takiben Hindistan, Delhi'de saptanmış, 29 000 kişi hastalanmıştır (7,8). 1986-1988 yılları arasında ise Çin'in kuzeybatı bölgesinde günümüze kadar bilinen salgınların en büyüğü meydana gelmiş ve yaklaşık 115 000 kişi hastalığa yakalanmıştır (9). Yine Hindistan'da 1991 yılında gelişen HEV salgınında da 79 000 olgu bildirilmiştir (10).

Sanitasyon şartları yeterli şekilde sağlanmış olmasından dolayı İtalya, ABD, İngiltere, Hollanda, Almanya, Japonya, İsviçre, İsrail gibi gelişmiş olan ülkelerde HEV infeksiyonu ancak, etkenin endemik olarak bulunduğıu ülkelere seyahat eden kişilerde ya da herhangi bir seyahat öyküsü olmayanlarda, hayvan kökenli olarak sporodik vakalar şeklinde görölmektedir (5).

Domuz, kemirgen, tavuk, köpek, deve, inek, koyun, keçi ve at gibi birçok hayvan türünün benzer bir virüsle infekte olduğıu ve dolayısıyla HEV'in aynı

zamanda zoonotik bir infeksiyon olduğıu kanıtları gün geçtikçe artmaktadır (11-17). Bu hayvanlardan inek, koyun, kuş ve sığırlar anti-HEV antikorları açısından pozitif olarak bulunmuşlardır, fakat virüs izolatları henüz belirlenmemiştir (18). HEV'in ilk hayvan kökeni ABD'de 1997 yılında infekte evcil bir domuzdan izole edilmiştir (Meng izolatu) (19). Daha sonraki yıllarda yapılan detaylı çalışmalar ile domuz HEV izolatları birçok ülkede izole edilmiştir (20-26). Yapılan çalışmalarda izolatların aynı bölgeden izole edilen insan izolatları ile de çok benzer olduğıu bulunmuştur (13,19,27,28). Örneğın Asya ülkeleri arasında en gelişmiş ülkelerden biri olan Japonya'da domuzlarda yapılan bir çalışmada domuzdan elde edilen HEV kökeni, aynı bölgedeki insanlardan elde edilen genotip IV içinde yer alan HEV kökeni ile %99 identik bulunmuştur (26). Avusturya ve Yeni Zelanda'da domuz çiftliklerinde de anti-HEV pozitifliği %90'ın üzerinde saptanmıştır (23,29). Hindistan'da ise domuzlar arasında genotip 4 dolaşırken, insanlarda genotip 1 izolatu saptanmıştır. Yapılan bu tip çalışmalarla HEV'in endemik olarak bulunduğıu bölgelerde infeksiyonun hayvan kaynaklı olmadığı düşünölmektedir (18,20). Tayvan'da yapılan bir çalışmada ise domuzdan elde edilen HEV kökeni ABD'deki domuz kökenlerinden farklı, fakat Tayvanlı emekli bir çiftçiden izole edilen köken ile %97.3 oranında benzer bulunmuştur (30). Güney Amerika'da yapılan bir başka çalışmada ise ilk kez domuz dışkı örneklerinde HEV saptanmıştır (27).

Deneysel olarak insandan domuzla HEV geçişi de gerçekleştirilmiş ve virüsün 3-5 hafta boyunca domuz safra ve dışkısı ile yayıldığı saptanmıştır. Bu bulgunun domuzların insan HEV infeksiyonunun kaynağı olabileceğinin önemli kanıtlarından biri olduğıu ileri sürölmüştür. Bulaşın, HEV içeren domuz dışkısı ile kirlenmiş besin ve sular aracılığı ile olduğıu bildirilmiştir (19,31,32). Ayrıca yapılan bir başka çalışmada yabani domuz ve geyiklerde HEV prevalansı araştırılmış (33) ve bu hayvanlara ait etlerin besin olarak tüketilmesi ile de insana bulaşma olabileceğı gösterilmiştir (34). Aynı şekilde Japonya'da da yabani geyik ve yabani domuzların pişmemiş veya az pişmiş ürünlerinin tüketilmesi ile gelişen HEV olguları saptanmıştır (35). Özellikle Uzakdoğuda yeme alışkanlığından dolayı fazla miktarda çiğ domuz ciğeri tüketilmektedir. ABD ve Japonya'da marketlerde satılan pişmemiş domuz ciğereinden HEV sekansı izole

edilmiştir (15,35,36,37). Bu tip besin maddelerinin HEV enfeksiyonu açısından potansiyel bir risk faktörü olabileceği bildirilmiştir (36). Pişmemiş deniz kabuklularının yenmesi ile de bulaş olabileceğini düşündüren bir olgu Vietnam'dan bildirilmiştir (38). Hollanda'da domuz ciğerinde HEV RNA saptanmıştır (39).

İşaret edilen diğer risk faktörleri; domuz çiftliğinde çalışmak (36), çiğ etin işlenmesi aşamasında görev almak ve fare yakalayan evcil kediler ile yakın temasdır (40).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla HEV'in zoonotik bir enfeksiyon olduğu yönünde kanıtların artmasında moleküler araştırmalar önemli bir rol oynamıştır. Bu amaçla HEV'in filogenetik analizi; polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünlerine, restriksiyon endonükleaz analizi (REA) veya dizi analizi gibi detaylı ve hassas moleküler yöntemler uygulanarak saptanmaktadır. Yapılan çalışmalarda Avrupa, Asya, ABD gibi farklı bölge izolatlarının klon ve sekans özellikleri farklılıklar göstermiştir. Böylece, Kuzey Amerika ve Asya suşlarının evrimsel olarak uzak bir geçmişte ayrılmaya uğradığını ve kendi bölgelerinde dolaşım gösterdikleri ortaya konulmuştur (41).

HEV izolatlarının ORF1 lerinin küçük bir bölgesi arasındaki genetik çeşitlilik önemli rol oynamaktadır (41). Günümüzde HEV'in genotipik olarak sınıflandırılması adına tam bir fikir birliği olmamasına rağmen, büyük bir araştırma grubu tarafından ORF1, ORF2 ve ORF3 bölgelerinin nükleotid sekansları temel alınarak yapılan filogenetik analizler sonucunda HEV 9 genetik grupta sınıflandırılmış ve 4 önemli genotipe sahip olduğu saptanmıştır (42,43). Genotip 1; grup 1 [Asya ve Afrika(Tunus, Cezayir, Fas, Çad ve Sudan)], Genotip 2; grup 2 [Meksika, Nijerya, Çad] olarak sınıflandırılırken, Genotip 3; 5 genetik gruba ayrılmıştır. Bunlar grup 3 [ABD], grup 4 [İtalya ve swine Yeni Zelanda], grup 5 [Yunanistan(Gre1) ve İspanya], grup 6 [Yunanistan(Gre2) ve İngiltere] ve grup 7 [Arjantin ve Avusturya] olarak sınıflandırılmıştır. Genotip 4 ise; 2 grup içermektedir. Bunlar grup 8 [Çin] ve grup 9 [Tayvan] dur (3,23,30,41,44-54).

Yapılan genotipik analizlerde; Burma, Hindistan (Madras ve Haydarabad salgınları) ve Çin gibi etkenin endemik olarak bulunduğu bölgelerde, genotip 1 yaygın olarak bildirilmiştir. Hindistan'da 1976-1993 yılları arasında görülen HEV'e bağlı salgınlar sırasında toplanan hasta örneklerinin, daha sonraki yıllar-

da geliştirilen moleküler yöntemlerle incelenmesi sonucunda HEV genomunun bölgede değişmediği ve genotip 1'in uzun yıllardan beri devam ettiği saptanmıştır.saptanmıştır (55).

Genotip 1; 5 alt tipe ayrılmaktadır. Bunlardan alt tip 1a; 20 yılı aşkın bir süredir, Hindistan'ın farklı bölgelerindeki epidemilerde dolaşan genotip 1 izolatıdır (55). Alt tip 1a: aynı zamanda Burma ve Pakistan'daki epidemilerde, Japonya, İspanya ve Vietnam'da da birkaç olgudan izole edilmiştir (3). Japonya ve İspanya'da saptanan az sayıdaki izolatın virüsün kısmen yansıması olabileceği düşünülmektedir. Alt tip 1b; Çin'de uzamış epidemilerde baskın köken olarak saptanmıştır (32). Alt tip 1c; birkaç sporodik vaka halinde Çin, Kırgızistan, Özbekistan da görülmüştür (46). Alt tip1d; sadece kuzey Afrika (Cezayir ve Fas)'da izole edilirken (45,56), alt tip 1e; Merkezi Afrika'dan (Sudan ve Çad) kuzeye (Mısır, Tunus ve Cezayir) (57) ve güneye (Nambiya), batı bölgesinden (Etopya) ise Avrupa'ya (İspanya) yayılmıştır (42).

Afrika (Fas ve Tunus) ve Asya'dan (Taşkent, Özbekistan) elde edilen HEV'in yapılan dizi analizlerinde, Afrika kökenleri bilinen tüm Asya kökenlerinden oldukça farklı, fakat yine de onlara Meksika kökenlerinden daha fazla benzer bulunmuştur. Bu nedenle Afrika kökenleri de genotip I içinde sınıflandırılmıştır.

Genotip 2 daha sınırlı bir bölgeden ayırt edilmiştir ve 2 alt tip içermektedir. Bunlar alt tip 2a (Meksika) ve alt tip 2b (Nijerya, Çad) olarak sınıflandırılmıştır. Asya ve Meksika kökenleri arasında yaklaşık %25'lik nükleotid farklılığı saptanmış ve bu nedenle Meksika kökenlerinin Asya kökenlerinden farklı olduğu görülmüş ve genotip 2 olarak bildirilmiştir (58).

Nijerya'da bulunan kökenin ise, Asya ve Afrika kökenlerinin bulunduğu genotip 1 (ORF1'de;%74, ORF2'de %77 homoloji) ve ABD kökeninin bulunduğu genotip 3 (ORF1'de;%75, ORF2'de %77 homoloji)'e göre Meksika prototipinin içinde yer aldığı genotip 2'e (ORF1'de;%87, ORF2'de %80 homoloji) daha da benzer olduğu saptanmıştır. Aminoasit düzeyinde ise Nijerya kökenlerinin genotip 2 (%96) ile, genotip 3 (%92)'den daha da özdeş olduğu gösterilmiştir. Nijerya kökeni, Meksika genotipiyle ORF2'sinde %15'e varan genetik çeşitliliğe bağlı olarak genotip 2 içinde farklı bir alttip olarak ayrılmıştır. Genotip 2'e dahil edilen bu Nijerya kökeninin genotip 1 ile az da olsa bazı özellikleri paylaşması, Afrika ve Latin Amerika

HEV kökenleri arasında kaybolan bağlardan biri olabileceği ve virüsün filogenetik analizinin tayininde yardımcı olabileceği ileri sürülmektedir (47). HEV'in endemik olmadığı bölgelerdeki bu genetik çeşitliliğinin farklı kaynaklar kadar, farklı coğrafik evrime de bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (49).

Genotip 3 ve 4 ise; sırasıyla 9 ve 7 alt tipe ayrılmaktadır. Genotip 3 içindeki Alt tip 3a; ABD ve Japonya'da ve daha az oranda Kore'de saptanmıştır (19,52,59). Bu alt tipin ABD'den diğer ülkelere yayıldığına inanılmaktadır. Alt tip 3b; Japonya'da, alt tip 3c; Hollanda'da (60), alt tip 3d; Tayvan'da, alt tip 3e; Japonya, Yunanistan, Fransa, İspanya, İngiltere'de, alt tip 3f; İspanya ve Hollanda'da, alt tip 3g; Kırgızistan'da, alt tip 3h; İtalya ve Yeni Zelanda'da (23,51), alt tip 3i; Arjantin (27) ve Avusturya'dan saptanmıştır (19,23). Alt tip 3j; Kanada, Avusturya, Meksika'da saptanmıştır. Macaristan'da yapılan bir çalışmada ise elde edilen HEV'in nükleotid benzerliği Avrupa domuz ve insan (Gre2) kökeni ile %95 ve %90 identik olarak saptanmış ve genotip 3 içinde yeni bir varyant olarak (Hungary1) dahil edilmiştir (61). Genotip 3'ün Asya ülkelerinden Japonya'da görülmesi, Japonya'nın batı ülkeleri ile sıkı ticaretine bağlı olması yanı sıra, bir batı ülkesi yapısında olmasına bağlanmaktadır. Son zamanlarda Kore ve Tayvan'da da aynı şekilde ABD ile olan ticari bağlarından dolayı genotip 3'ün sık görüldüğü düşünülmektedir. Japonya'da genotip 3 insanlardan izole edilmiş, fakat evcil domuzlardan hiç saptanmamış, buna karşın yabani geyik ve yabani domuzlardan ayırt edilmiştir (15).

Genotip4 içindeki, alt tip 4a; Çin ve Tayvan'da, alt tip 4b; Çin, Tayvan, Vietnam ve Endonezya'da, alt tip 4c; Japonya'da, alt tip 4d; Çin'de, alt tip 4e; Batı ve Güney Hindistan'da, alt tip 4f; Japonya ve Vietnam'da, alt tip 4g; Çin'de saptanmıştır. Yunanistan'da saptanan Gre 1 ve Gre2'nin nükleotid dizilim özdeşlikleri incelendiğinde, ORF1'lerinin %84.4, ORF2'lerinin ise %87.2 homoloji gösterdiği saptanmış ve bu ikisinin genotip 3 içinde farklı iki genetik gruba dahil olduğuna karar verilmiştir. Genotip 3 içinde yer alan Gre 1; grup 5 ve Gre 2 ise grup 6 olarak sınıflandırılmıştır. Genotip 3 ve 4' de görülen genetik çeşitlilik, farklı hayvanlardan kaynaklanarak zoonotik olmasına bağlanmaktadır (42).

Özetlenecek olursa, başlıca insanlarda dolaşan ve daha az sıklıkta hayvanlardan izole edilen, nispe-

ten korunmuş olan genotip 1 ve 2 tropikal ve subtropikal bölgelerde dışkı ile kirlenmiş sular aracılığı ile epidemilere neden olurken, genotip 3 ve 4 tropikal olmayan bölgelerde (ABD, Avrupa, Çin, Japonya) sporodik olgular şeklinde ve sıklıkla zoonotik olarak görülmektedir (2, 62-65). Hatta gelişmekte olan ülkelerde bile zoonotik olarak HEV infeksiyonunun meydana gelebileceği belirtilmektedir (65).

Moleküler yöntemlerle 4 farklı genotipe sahip olduğu saptanan HEV'in henüz serolojik bir heterojenite kanıtı bulunamamıştır. Dolayısıyla HEV'in tek bir serotipe sahip olduğu düşünülmektedir (32,66). Oysaki Avrupa ve Amerika'nın HEV açısından farklı kaynaklar içerdiği ve birden çok serotip için potansiyel olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca hayvanlarda yapılan detaylı çalışmalar sonucunda HEV infeksiyonu sorgulanırken bilinen risk faktörleri dışındaki olası faktörleri de göz önünde bulundurmak ve HEV açısından araştırmak gerekmektedir.

HEV tanısında mevcut olan enzim immunoassay (EIA) kitleri Burma, Burma ve Meksika prototip sekanslarında ORF2 ve tüm ORF3 üzerinden derive edilmiş rekombinant proteinler kullanılarak hazırlanmaktadır (67). İleri klinik ve virolojik çalışmalar yapılarak yeni genotiplerin tayini ile dünyanın farklı bölgelerinde HEV infeksiyonunun epidemiyolojisinin araştırılması için moleküler destekli çalışmalarla spesifik EIA'lerin düzenlenmesine gerek olabilir.

KAYNAKLAR

1. ICTVdB Index of viruses, 2008 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/index.htm] .
2. Emerson SV, Purcell RH. Hepatitis E virus. Rev Med Virol 2003; 13:145-154.
3. Tam AW, Smith MM, Guerra ME et al. Hepatitis E virus (HEV): Molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. Virology 1991; 185:120-131.
4. Zukermann AJ. Hepatitis E virus. Lancet 1990; 300:1475-1476.
5. Panda SK, Jamel S. Hepatitis E virus: from epidemiology to molecular biology. Vir Hep Rev 1997; 3:227-251.
6. Yarbough PO. Hepatitis E virus. Intervirology 1999; 42:179-184.
7. Viswanathan R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-56): A critical study: Epidemiology. Ind J Med Res 1957; 45 (Suppl):1-29.
8. Wong DC, Purcell RH, Scenivasan MA et al. Epidemic and endemic hepatitis in India: Evidence for a non A, non B hepatitis virus etiology. Lancet 1980; 2:876-879.
9. Zhuang H. Hepatitis E and strategies for its control. In:Basel Ked. Viral hepatitis in China: problems and control strategies, 19th.edn. Monogr Virol 1992; 19:126-139.

10. Ray R, Aggarwal R, Salunke PN et al. Hepatitis E virus genome in stools of hepatitis patients during large epidemic in north India. *Lancet* 1991; 338:783-784.
11. Kazuhiko N, Khin Maung W, San San Oo et al. Molecular characteristic- Based Epidemiology of hepatitis B, C and E viruses and GB virus C/ hepatitis G in Myanmar. *J Clin Microbiol* 2001; 39(4):1536-1539.
12. Favarov MO, Kosay MY, Tsarev SA et al. Prevalence of antibody to hepatitis E virus among rodents in the United States. *J Infect Dis* 2000; 181:449-455.
13. Huang FF, Haqshenas G, Shivaprasad HL et al. Heterogeneity and seroprevalence of a newly identified Avian hepatitis E virus from chickens in the United States. *J Clin Microbiol* 2002; 40(11): 4197-4202
14. Favarov MO, Nazarova O, Margolis HS. Is hepatitis E an emerging zoonotic disease? *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59:242.
15. Tei S, Kitajima N, Takashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003; 362:371-373.
16. Saad MD, Hussein HA, Bashandy MM et al. Hepatitis E virus infection in work horses in Egypt. *Infection, Genetics and Evolution* 2007; 7:368-373.
17. Seminati C, Mateu E, Peralta B, de Deus N, Martin M. Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *Vet J* 2008; 175:130-132.
18. Shukla P, Chauhan UK, Naik S et al. Hepatitis E virus infection among animals in northern India: an unlikely source of human disease. *J Virol Hepatitis* 2007; 14:310-317.
19. Meng XJ, Halbur PG, Lehman JR et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus *Proc Natl Acad Sci. USA* 1997; 94:9860-9865.
20. Arankelle VA, Chobe LP, Joshi MV et al. Human and swine hepatitis E viruses from Western India belong to different genotypes. *J Hepatol* 2002; 36(3):417-425.
21. Wibawa ID, Muljono DH, Mulyanto et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among apparently healthy humans and pigs in Bali, Indonesia: Identification of a pig infected with a genotype 4 hepatitis E virus. *J Med Virol* 2004; 73(1):38-44.
22. Inoue J, Takahashi M, Ito K, Shimosegawa T, Okamoto H. Analysis of human and swine hepatitis E virus (HEV) isolates of genotype 3 in Japan that are only 81-83 % similar to reported HEV isolates of the same genotype over the entire genome. *J Gen Virol* 2006; 87: 2363-2369.
23. Garkavenko O, Obriadina A, Meng J et al. Detection and characterisation of swine hepatitis E virus in New Zealand. *J Med Virol* 2001; 65:525-529.
24. Cooper K, Huang FF, Batista L et al. Identification of genotype 3 hepatitis E virus(HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human population. *J Clin Microbiol* 2005; 43(4):1684-1688.
25. Coron M, Enouf V, Thans C et al. Identification of genotype 1 hepatitis E virus in samples from swine in Cambodia. *J Clin Microbiol* 2006; 44(9):3440-3442.
26. Nishizawa T, Takahashi M, Mizumo H et al. Characterization of Japanese swine and human hepatitis E virus isolates of genotype IV with 99% identity over the entire genome. *J Gen Virol* 2003; 84:1245-1251.
27. Munné MS, Vladimirov S, Otegui L et al. Identification of the first strain of swine hepatitis E virus in South America and prevalence of anti-HEV antibodies in swine in Argentina. *J Med Virol* 2006; 78:1579-1583.
28. Berke T, Matso DO. Reclassification of the calciviridae into distinct genera and exclusion of hepatitis E virus from the family on the basis of comparative phylogenetic analysis. *Arch Virol* 2000; 145:1421-1436.
29. Chandler JD, Riddell MA, Li F et al. Serological evidence for swine hepatitis E virus infection in Australian pig herds. *Vet Microbiol* 1999; 68:95-105.
30. Hsieh SY, Meng XJ, Wu YH et al. Identity of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with Taiwan isolates of human hepatitis E virus. *J Clin Microbiol* 1999; 37(12):3828-3834.
31. Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS et al. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol* 1998; 72:9714-9721.
32. Schlauder GG, Mushahwar IK. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J Med Virol* 2001; 65:282-292.
33. Sonoda H, Abe M, Sugimoto T et al. Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan. *J Clin Microbiol* 2004; 42(11):5371-5374.
34. Goens SD, Perdue ML. Hepatitis E virus in humans and animals. *Anim Health Res Rev* 2004; 5(2):145-156.
35. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. Severe Hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *JID* 2003; 188:944.
36. Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M et al. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan may be food-borne as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol* 2003; 84:2351-2357.
37. Feagins AR, Opriessing T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Detection and characterization of infectious hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *Gen Virol* 2008; 88:912-917.
38. Koizumi Y, Isoda N, Sato Y et al. Infection of a Japanese patient by genotype 4 hepatitis E virus while traveling in Vietnam. *J Clin Microbiol* 2004; 42(8):3883-3885
39. Bouwknegt M, Lodder-Verschoor F, van der Poel WH et al. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in the Netherlands. *J Food Prot* 2007; 70(12):2889-2895.
40. Kuno A, Ido K, Isoda N et al. Sporadic acute hepatitis E of a 47 year-old man whose pet was positive for antibody to hepatitis E virus. *Hepatol Res* 2003; 26:237-242.
41. Huang CC, Guyen D, Fernandez J et al. Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). *Virology* 1992; 191:550-58.
42. Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global Hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol* 2006; 16:5-36.
43. Zhai L, Dai X, Meng XJ. Hepatitis E virus genotyping based on full-length genome and partial genomic regions. *Virus Res* 2006; 120:57-69.
44. Zanetti AR, Schlauder GG, Romano L et al. Identification of a novel variant of hepatitis E virus Italy. *J Med Virol* 1999; 57:356-360.
45. Cuyk-Gandra H, Zhang HY, Tsarev SA, et al. Characterization of Hepatitis E virus (HEV) from Algeria and Chad by partial

- genome sequence. *J Med Virol* 1997; 53:340-347.
46. Wang Y, Huayuan Z, Li Z, et al. Detection of sporadic cases of hepatitis E virus (HEV) infection in China using immunoassay based on recombinant open reading frame 2 and 3 polypeptides from HEV genotype 4. *J Clin Microbiol* 2001; 39:4370-4379.
 47. Buisson Y, Grandadam M, Nicand E. et al. Identification of novel hepatitis E virus in Nigeria. *J General Virol* 2000; 81:903-909.
 48. Schlauder GG, Frider B, Sookoian S et al. Identification of 2 novel isolates of hepatitis E virus in Argentina. *J Infect Dis* 2000; 182:294-297.
 49. Worm HC, Schlauder GG, Wurzer H, Mushahwar IK. Identification of novel variant of hepatitis E virus in Austria: sequence, pylogenetic and serological analysis. *J General Virol* 2000; 81:2885-2890.
 50. Morocco;Chen GB, Meng JH. Identification of 5'capped structure and 3' terminal sequence of hepatitis E virus isolated from Marocco. *World J Gastroenterol* 2004; 10(14):2045-2049.
 51. Schlauder GG, Desai SM, Zanetti AR et al. Novel hepatitis E virus (HEV) isolates from Europe: Evidence for additional genotypes of HEV. *J Med Virol* 1999; 57:243-251.
 52. Schlauder GG, Dawson GJ, Erker JC et al. The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States. *J Gen Virol* 1998; 79:447-456.
 53. Wang Y, Levine DF, Bendall RP. Partial sequence analysis of Indigenous hepatitis E virus isolated in the United Kingdom. *J Med Virol* 2001; 65:706-709.
 54. Nicand E, Armstrong GL, Enouf V et al. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus in Darfur, Sudan and neighboring Chad. *J Med Virol* 2005; 77(4):519-521.
 55. Arankalle VA, Paranjape S, Emerson SU et al. Phylogenetic analysis of hepatitis E virus isolates from India (1976-1993). *J General Virol* 1999; 80:1691-1700.
 56. Benjelloun S, Bahbouhi B, Bouchrit N et al. Seroepidemiological study of an acute hepatitis E outbreak in Morocco. *Res Virol* 1997; 148:279-287.
 57. Tsarev SA, Binn LN, Gomatos PJ et al. Phylogenetic analysis hepatitis E virus isolates from Egypt. *J Med Virol* 1999; 57:68-74.
 58. Huang R, Nakazono N, Ishii K et al. Existing variations on the gene structure of hepatitis E virus strains from some regions of China. *J Med Virol* 1995; 47:303-308.
 59. Choi IS, Know HJ, Shin NR, Yoo HS. Identification of swine hepatitis E virus (HEV) and prevalence of anti-HEV antibodies in swine and human population in Korea. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3602-3608.
 60. van der Poel WH, Verschoor F, van der Heide R et al. Hepatitis E virus sequences in swine related to sequences in humans, The Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:970-976.
 61. Reuter G, Fodor D, Katai A, Szucs G. Identification of novel variant of human hepatitis E virus in Hungary. *J Clin Virol* 2006; 36(2):100-102.
 62. He J, Innis BL, Sherestha MP et al. Evidence that rodents are a reservoir of hepatitis E virus for humans in Nepal. *J Clin Microbiol*;2002; 40:4493-4498.
 63. Ward PM, Müller P, Letellier A et al. Molecular characterization of hepatitis E virus detected in swine farms in the province of Quebec. *Can J Vet Res* 2008; 72(1):27-31.
 64. Ning H, Yu S, Zhu Y et al. Genotype 3 hepatitis E has been widespread in pig farms of Shanghai suburbs. *Vet Microbiol* 2008; 126:257-263.
 65. Wibawa IDN, Suryadarma IGA, Mulyanto et al. Identification of genotype 4 hepatitis E virus strains from patient with acute hepatitis E and farm pigs in Bali, Indonesia. *J Med Virol* 2007; 79:1138-1146.
 66. Serotip; Gouvea V, Hoke CH, Innis BL. Genotyping of hepatitis E virus in clinical specimens by restriction endonuclease analysis. *J Virol Method* 1998; 70:71-78.
 67. Irshad M. Hepatitis E virus: An update on its molecular clinical and epidemiological characteristics. *Intervirol* 1999; 42:252-262.