



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ: ΙΑΤΡΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

**Ο ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ IgG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΙΟΥ
ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Ε ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΠΟΥ ΖΟΥΝ ΜΕ ΤΟΝ ΙΟ
ΤΟΥ HIV**

ΓΚΟΥΜΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ (19678044)

Επιβλέπων: Απόστολος Μπελούκας

Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών

Αθήνα 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA

FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES

DIVISION: MEDICAL LABORATORIES

GRADUATE THESIS:

**HEPATITIS E IgG ANTIBODIES SEROPREVALENCE IN
PEOPLE LIVING WITH HIV (PLWH)**

Gkoumas Dimitrios (19678044)

Supervisor: Apostolos Beloukas

Associate Professor, Department of Biomedical Sciences

Athens 2024

Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

Απόστολος Μπελούκας

Χρυσάνθη Βογιατζάκη

Δημήτριος Χανιώτης

Δήλωση συγγραφέων πτυχιακής διπλωματικής εργασίας:

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Γκούμας Δημήτριος, με αριθμό μητρώου 19678044, φοιτητής του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστήμων της Σχολής Επιστήμων Υγείας και Προνοίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Υπογραφή

Ευχαριστίες

Η παρούσα ερευνητική πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Νοτίου Ελλάδος (ΕΚΑΑΝΕ) στη Σχολή Δημόσιας Υγείας σε συνεργασία και με το Εργαστήριο Μοριακής Μικροβιολογίας και Ανοσολογίας, του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, κ. Απόστολο Μπελούκα, επιβλέποντα της παρούσας εργασίας, για την εμπιστοσύνη του σε μένα, θέτοντάς μου μια θέση σημαντικής ευθύνης, αλλά και για την ευκαιρία που μου έδωσε μέσω αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Επιπλέον οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην Παναγιώτα Ρέστα (Μοριακή Βιολόγο-Γενετίστρια) για την άψογη συνεργασία μαζί της, την συνεχή υποστήριξη, βοήθεια και καθοδήγηση καθ' όλη την διάρκεια της εργασίας που χωρίς αυτή δεν θα μπορούσα να ολοκληρώσω την παρούσα εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την εμπύχωση και την πίστη σε εμένα σε όλη αυτή την διαδρομή.

Περίληψη

Ο ιός της Ηπατίτιδας Ε προκαλεί ανησυχία για την δημόσια υγεία παγκοσμίως, ιδιαίτερα σε ομάδες ανοσοκατεσταλμένων ανθρώπων, όπως οι άνθρωποι που ζουν με τον ιό του HIV. Η λοίμωξη από τον ιό της Ηπατίτιδας Ε αποτελεί μια νόσο με τροφιμογενή προέλευση, η οποία σχετίζεται με καταστάσεις πτωχής υγιεινής και κατανάλωση μολυσμένου νερού και τροφής. Στον γενικό πληθυσμό, η νόσος φαίνεται να είναι ασυμπτωματική ή να παρουσιάζει ήπια συμπτώματα αν και σπανίως μπορεί να εκδηλωθούν και σοβαρές κλινικές επιπλοκές. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας εκτιμάται πως ο ιός της Ηπατίτιδας Ε προκαλεί 20 εκατομμύρια νέες μολύνσεις, από τις οποίες οι 3.3 εκατομμύρια εξελίσσονται σε οξείες λοιμώξεις Ηπατίτιδας Ε, οδηγώντας σε 44.000 θανάτους ετησίως. Στον αντίποδα, εκτιμάται πως περισσότερα από 1.3 εκατομμύρια ανθρώπων διαγνώστηκαν με τον ιό HIV-1 μέσα στο 2022 και οι θάνατοι που σχετίζονται με την λοίμωξη ανήλθαν στους 630.000. Η λοίμωξη από τον HEV σε ανοσοκατεσταλμένους ανθρώπους φαίνεται να ευθύνεται για χρόνιες παθολογικές καταστάσεις και κιρρώσεις ήπατος, ωστόσο λίγα δεδομένα είναι διαθέσιμα σχετικά με την συνλοίμωξη HEV/HIV-1. Υπολογίζεται ωστόσο πως η HEV λοίμωξη είναι υπεύθυνη για ένα μεγάλο ποσοστό των χρόνιων λοιμώξεων ήπατος σε άτομα με ανοσοκαταστολή ενώ υπάρχει θνησιμότητα της τάξης του 8.7% σε ανθρώπους που ζουν με τον HIV. Η διερεύνηση της λοίμωξης με τον ιό της Ηπατίτιδας Ε και οι επιπτώσεις της στα άτομα που ζουν με τον ιό του HIV αποτελούν αντικείμενο έρευνας καθώς τα διαθέσιμα δεδομένα είναι περιορισμένα χωρίς να γίνεται ξεκάθαρο πως ο ένας ιός μπορεί να επηρεάσει τον κύκλο ζωής του άλλου. Στην παρούσα διπλωματική εργασία παρουσιάζονται δεδομένα που αφορούν τον επιπολασμό των antiHEV - IgG αντισωμάτων σε HIV θετικά άτομα. Συγκεκριμένα από τα 257 δείγματα που είχαν διαγνωστεί θετικά στον ιό του HIV-1 κατά τη διάρκεια του έτους 2022 στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Ν. Ελλάδος, στα 11 (4.3%) ανιχνεύτηκαν αντισώματα antiHEV - IgG. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με τα μέχρι τώρα δημοσιευμένα, ευρωπαϊκά και ελληνικά επιδημιολογικά δεδομένα που αφορούν στην HEV λοίμωξη σε άτομα που ζουν με τον ιό του HIV.

Λέξεις κλειδιά: HIV, HEV, επιπολασμός antiHEV-IgG, συνλοίμωξη

Abstract

The virus of hepatitis E poses a significant global health concern, particularly for the immunosuppressed groups of the population, such as people who live with HIV. Hepatitis E is a foodborne disease that is associated with poor hygiene and the consumption of infected water or food. In the general population, the infection shows no symptoms or mild symptoms, while rarely there can be serious clinical complications. According to the Global Health Organization, it is estimated that the Hepatitis E virus causes 20 million new infections, of which 3.3 million are acute hepatitis E infections. It is also estimated that approximately 44,000 deaths are caused by hepatitis E. On the other side, it is estimated that over 1.3 million individuals were diagnosed as HIV-1 positive in 2022, and the deaths associated with the infection came up to 640.000. HEV infection in HIV immunosuppressed individuals seems to be the case in chronic pathological situations and cirrhosis of the liver, but there are few available data on the coinfection of HEV/HIV-1. It is confirmed that HEV infection is responsible for chronic infections of the liver in individuals who are immunosuppressed, with the mortality rate of HEV infection in HIV-positive individuals being near to 8.7%. Hepatitis E infection and its consequences for individuals who live with HIV are an important subject of study, while the available data about the interaction of the two viruses is scarce. In this thesis, the data that are presented examine the seroprevalence of antiHEV-IgG antibodies in HIV-positive individuals. Specifically, of the total 257 samples that were diagnosed positive for HIV infection during 2022 in the National AIDS Reference Centre of Southern Greece, only 11 (4.3%) were tested positive for anti-HEV-IgG antibodies. The results of this thesis follow up with the latest released European and Greek epidemiological data on hepatitis E infection in HIV-positive individuals.

Keywords: HIV, HEV, seroprevalence of antiHEV-IgG antibodies, coinfection

Συντομογραφίες

Συντομογραφία	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
HIV	Human Immunodeficiency Virus	Ιός Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας
HEV	Hepatitis E Virus	Ιός Ηπατίτιδας Ε
MSM	Men having Sex with Men	Άνδρες που κάνουν σεξ με άνδρες (ΑΣΑ)
ΠΟΥ	World Health Organization,WHO	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	Ανοσοενζυμική Μέθοδος Προσδιορισμού
ORF	Open Reading Frame	Ανοικτό Πλαίσιο Ανάγνωσης
Met	Methyltransferase	Μεθυλοτρανσφέραση
HVR	Hypervariable region	Μεταβλητή περιοχή
Y	Y-domain	Περιοχή Y
X	Macrodomain	Μακροτομεας
Hel	RNA Helicase	RNA Ελικάση
RdRp	RNA-dependent RNA polymerase	RNA εξαρτωμένη RNA πολυμεράση
MFP	Multifunctional phosphoprotein	Πολυλειτουργική φωσφοπρωτεΐνη
ΚΝΣ	Central Nervous System	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
anti-HEV IgM	Hepatitis E IgM antibodies	IgM Αντισώματα έναντι της Ηπατίτιδας Ε
anti-HEV IgG	Hepatitis E IgG antibodies	IgG Αντισώματα έναντι της Ηπατίτιδας Ε

Περιεχόμενα

Περίληψη	VI
Abstract.....	VII
Συντομογραφίες.....	VIII
1.Εισαγωγή	1
1.1 Ο ιός της Ηπατίτιδας E (HEV)	1
1.2 Δομή & Ταξινόμηση του ιού HEV.....	2
1.3 Παθογένεια του ιού - Ηπατικές Εκδηλώσεις.....	4
1.4 Οδοί Μετάδοσης του ιού	6
1.4.1 Μετάδοση μέσω ύδατος.....	6
1.4.2 Ζωονοσογόνος και τροφιμογένης μετάδοση.....	6
1.4.3 Μετάδοση μέσω μετάγγισης.....	7
1.4.4 Κάθετη μετάδοση.....	7
1.5 Πρόληψη	8
1.6 Διαγνωστικοί δείκτες της HEV λοίμωξης	9
1.7 Διάγνωση της HEV λοίμωξης.....	11
1.7.1 Ανίχνευση αντισωμάτων anti-HEV	11
1.7.2 Ανίχνευση ιικού RNA.....	12
1.7.3 Ανίχνευση αντιγόνων καψιδίου	12
1.7.4 Διαγνωστικός αλγόριθμος.....	12
1.8 Επιδημιολογικά δεδομένα για την HEV λοίμωξη.....	14
1.8.1 Επιδημιολογικά δεδομένα Αναπτυσσομένων χωρών	14
1.8.2 Επιδημιολογικά δεδομένα Αναπτυγμένων χωρών.....	16
1.9 Επιδημιολογικά δεδομένα της συνλοίμωξης HEV-HIV	18
1.9.1 Επιδημιολογικά δεδομένα για την συνλοίμωξη σε Ευρώπη και Αμερική.....	18
1.9.2 Επιδημιολογικά δεδομένα για την συνλοίμωξη σε Κίνα και αναπτυσσόμενες χώρες.....	18
1.10 Παράγοντες κίνδυνου για το ανθρώπους που ζουν με τον HIV.....	20
1.11 Κλινικές επιπλοκές της λοίμωξης σε άτομα που ζουν με τον ιο HIV	21
2.Πειραματικό Μέρος.....	22
2.1 Σκοπός.....	22
2.2 Pre-Examination Process	22
2.2.1 Βιοασφάλεια	22
2.2.2 Περιορισμοί της Μεθόδου	22
2.3 Υλικά – Μέθοδοι.....	23
2.3.1 Συλλογή και Προετοιμασία Δειγμάτων	23
2.3.2 Εξοπλισμός και Αντιδραστήρια	23

2.3.3 Αρχή της Μεθόδου.....	24
2.4 Πειραματική Διαδικασία.....	24
2.5 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων	25
2.6 Περιορισμοί μεθόδου	26
3. Αποτελέσματα	27
4. Συμπεράσματα – Συζήτηση	30
Βιβλιογραφία	33
Παράρτημα	45
Κατάλογος Εικόνων.....	45
Κατάλογος Πινάκων	45
Κατάλογος Γραφημάτων.....	45

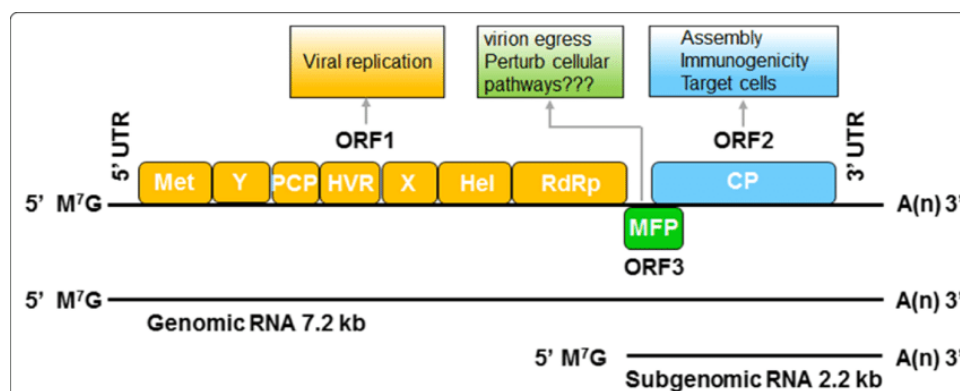
1.Εισαγωγή

1.1 Ο ιός της Ηπατίτιδας Ε (HEV)

Ο ιός της Ηπατίτιδας Ε (*Hepatitis E Virus, HEV*) ανακαλύφθηκε ως ο αιτιολογικός παράγοντας μιας επιδημίας ηπατίτιδας στις αρχές του 1980 (1) και είναι μια από τις πέντε γνωστές μορφές της οικογένειας των ηπατοϊών, στην οποία ανήκουν και οι ιοί της ηπατίτιδας Α, Β, Γ και Δ. Μοριακή ανάλυση του ιού αποκάλυψε πως υπάρχουν τέσσερις διάφοροι γονότυποι (2), οι HEV1, HEV2, HEV3 και HEV4 οι οποίοι έχουν χαρακτηριστεί ως υπεύθυνοι για τις περισσότερες μολύνσεις σε ανθρώπους. Οι γονότυποι HEV1 και HEV2 εντοπίζονται κυρίως σε αναπτυσσόμενες χώρες και ευθύνονται για μεγάλες ιολογικές εξάρσεις που προκαλούν οξεία ηπατίτιδα (3). Αντίθετα, οι γονότυποι HEV3 και HEV4 εντοπίζονται κυρίως σε αναπτυγμένες χώρες της Δύσης όπου ο ιός εντοπίζεται στους χοίρους, σαν κύρια δεξαμενή του. Ο ιός HEV συνήθως μολύνει τους ανθρώπους μέσω της κατανάλωσης κρέατος από μολυσμένα ζώα (ζωνόσος), της κατάποσης μολυσμένου νερού, μέσω κοπράνων ή σπανίως, μέσω μετάγγισης αίματος. Η λοίμωξη είναι συνήθως οξεία και παρουσιάζει μια αυτοπεριορισμένη μορφή φλεγμονής του ήπατος. Όμως η οξεία ηπατίτιδα μπορεί προοδευτικά να μετατραπεί σε χρόνια ηπατίτιδα, κίρρωση ή ακόμη και να οδηγήσει σε ηπατική ανεπάρκεια. Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον για τη λοίμωξη από τον ιό HEV έχει αυξηθεί μετά την παρατήρηση κρουσμάτων χρόνιας ηπατίτιδας σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα και την ανίχνευση HEV ικών σωματιδίων σε προϊόντα αίματος που χρησιμοποιούνται σε μεταγγίσεις (2,4).

1.2 Δομή & Ταξινόμηση του ιού HEV

Το γονιδίωμα του ιού HEV είναι ένα μονόκλωνο RNA (7.2 kb) που αποτελείται από μια μικρή 5' μη κωδική περιοχή, 3 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (open reading frames - ORFs) και μια μικρή 3' μη κωδική περιοχή που καταλήγει σε μια poly(A) ουρά. Το ORF1 κωδικοποιεί τις μη δομικές ιικές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένου και της μεθυλοτράνσφερασης (Methyltransferase, Met), περιοχής-Y (Y-domain, Y), μιας μεταβλητής περιοχής (Hypervariable region, HVR), ενός μακροτομέα (Macrodomain, X), μιας RNA ελικάσης (RNA Helicase, Hel) και της RNA πολυμεράσης (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp), που είναι απαραίτητες για την αντιγραφή. Οι ORF2 και ORF3 περιοχές τμηματικά αλληλεπικαλύπτονται και μεταφράζονται από ένα RNA που είναι 2.2 kb σε μήκος. Η ORF2 περιοχή κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του ιικού καψιδίου, που είναι απαραίτητη για την είσοδο, τη συναρμολόγηση και την ανοσογονικότητα του ιού. Η ORF3 περιοχή περιέχει μια μικρή πολυλειτουργική φωσφοπρωτεΐνη (Multifunctional phosphoprotein, MFP) που σχετίζεται με την έξοδο του ιού από τα κύτταρα και προτάθηκε ότι διαταράσσει πολυάριθμες κυτταρικές οδούς (5,6).



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση του HEV γονιδιώματος. Η εικόνα προέρχεται από Hassing RJ, van der Eijk AA, Lopes VB, Snijdewind IJ, de Man RA, Pas SD, van der Ende ME. Hepatitis E prevalence among HIV infected patients with elevated liver enzymes in the Netherlands. J Clin Virol. 2014 Aug;60(4):408-10. doi: 10.1016/j.jcv.2014.05.009. Epub 2014 May 28. PMID: 24929755.

Ο ιός HEV ανήκει στο γένος Orthohepevirus της Hepeviridae οικογένειας. Το Orthohepevirus A είδος συμπεριλαμβάνει 7 γονοτύπους HEV1-HEV7, αλλά έχει αναγνωριστεί

και τυποποιηθεί μόνο ένας ορότυπος. Τα υπόλοιπα Orthohepevirus είδη συμπεριλαμβάνουν τα Orthohepevirus B (σε πτηνά), Orthohepevirus C και D (σε θηλαστικά) στελέχη και δεν μπορούν να μεταδοθούν σε ανθρώπους. Ο ιός της Ηπατίτιδας E διαθέτει ένα εικοσάεδρο καψίδιο, από το οποίο έχουν περιγράψει 2 τύποι μολυσματικών σωματιδίων. Τα ισωμάτια που εντοπίζονται σε κόπρανα δεν είναι επικαλυμμένα με φάκελο σε αντίθεση με αυτά που εντοπίζονται στο αίμα και φέρουν μεμβράνη προερχόμενη από τα ηπατοκύτταρα του ξενιστή. Ο φάκελος αυτός μπορεί να προστατεύσει το ισωμάτιο από την εξουδετέρωση του ανοσολογικού συστήματος και ενδεχομένως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό τροπισμό του ιού (7).

1.3 Παθογένεια του ιού - Ηπατικές Εκδηλώσεις

Ο ιός της Ηπατίτιδας Ε είναι ένας μη κυτταροπαθητικός ιός, με αποτέλεσμα η πορεία της οξείας λοίμωξης να εξαρτάται από την ανοσολογική ικανότητα του φορέα (8,9). Η HEV λοίμωξη κατηγοριοποιείται σε 3 διαφορετικά στάδια: την περίοδο επώασης, της οξείας ηπατίτιδας Ε (με διαφορετικά κλινικά συμπτώματα) και την περίοδο ανάρρωσης, που χαρακτηρίζεται από την σταδιακή αποκατάσταση του οργανισμού. Αν και η HEV λοίμωξη χαρακτηρίζεται ως αυτοπεριοριζόμενη, είναι δυνατό να εμφανιστεί, σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, επίμονη και χρόνια λοίμωξη. Σε ανοσοκατεσταλμένους χοίρους που μολυνθήκαν με τον ιό HEV, παρατηρήθηκε πως η κυτταρική άμυνα του οργανισμού ήταν εξαιρετικά περιορισμένη με αποτέλεσμα τόσο την ανάπτυξη χρόνιας ηπατίτιδας, όσο και παρατεταμένης αιμίας (10). Ο ιός πολλαπλασιάζεται στο ήπαρ και φτάνει στο πεπτικό σύστημα μέσω της χολής. Η ιική αντιγραφή στο ήπαρ είναι ανιχνεύσιμη μετά από επτά ημέρες από την αρχική μόλυνση (11). Ο ιός HEV είναι ένας ηπατοτρόπος ιός, ενώ έχει παρατηρηθεί μέσω πειραμάτων ανοσοϊστοχημείας και ανίχνευση του HEV RNA και σε άλλους ιστούς, όπως ο γαστρικός σωλήνας (12), η σπλήνα (13) και στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), γεγονός που υποδηλώνει ότι η αντιγραφή του γονιδιώματός του μπορεί να γίνει και σε άλλα κύτταρα - ξενιστές (14). Τα μολυσματικά ισοσώματα απελευθερώνονται από τον ασθενή με οξεία ηπατίτιδα Ε στα κόπρανα και ούρα (13). Μετά την αρχική τους λοίμωξη οι ασθενείς εμφανίζουν ανοσία έναντι του ιού HEV. Η επαναμόλυνση των ασθενών είναι πιθανή αλλά η πιθανότητα ανάπτυξης συμπτωματικής λοίμωξης είναι πολύ χαμηλότερη (15,16).

Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η HEV λοίμωξη συνήθως περνάει απαρατήρητη (ασυμπτωματική) ή εκδηλώνονται ήπια συμπτώματα χωρίς να γίνεται συσχέτιση με φλεγμονή του ήπατος. Η κλασική κλινική εκδήλωση της ηπατίτιδας Ε, χαρακτηρίζεται από οξεία ικτερική ηπατίτιδα, που προκύπτει στο 5-30% των ασθενών με HEV λοίμωξη. Αυτή η εκδήλωση, διαρκεί 2-6 εβδομάδες, αποτελείται από μια πρόδρομη φάση που περιγράφεται από μη ειδικά συμπτώματα, όπως πυρετός, δυσφορία, ναυτία, εμετός και σωματικοί πόνοι. Η ικτερική φάση διακρίνεται από τα σκουρόχρωμα ούρα και τον ίκτερο αν και τα συμπτώματα αυτά φαίνεται πως επιλύονται κατά την περίοδο ανάρρωσης (17). Σημαντικότερα, οι ανοσοεπαρκείς ασθενείς με οξεία ηπατίτιδα Ε συνήθως αναρρώνουν χωρίς την ανάγκη για αντική θεραπεία ενώ ένα μικρό ποσοστό των ασθενών (0.5-4%) οδηγούνται σε ηπατική ανεπάρκεια (18). Η ύπαρξη παλαιότερων, χρόνιων ηπατικών παθήσεων αυξάνει τις πιθανότητες ανάπτυξης ηπατικής ανεπάρκειας, με τη θνησιμότητα να φτάνει έως 67% στον

πληθυσμό αυτό (19). Ιδιαίτερη παρατήρηση αποτελεί το γεγονός ότι οι ασθενείς με οξεία ηπατική ανεπάρκεια διάρκειας πολλών ετών προκαλούμενη από HEV λοίμωξη έχουν καλύτερη κλινική εικόνα σε σχέση με αυτούς που πάσχουν από χρόνια ηπατική ανεπάρκεια προκαλούμενη από άλλους παράγοντες όπως το αλκοόλ (20).

Στην πλειοψηφία των περιστατικών που διαθέτουν ένα λειτουργικό ανοσοποιητικό σύστημα, η αντιική θεραπεία με ριμπαβιρίνη δεν είναι απαραίτητη καθώς η λοίμωξη τείνει να καταστέλλεται από μόνη της. Ακόμα παραμένει αβέβαιο αν η πρόωρη χορήγηση της ριμπαβιρίνης επιταχύνει την ιική κάθαρση ή μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης ηπατικής ανεπάρκειας. Σε ορισμένες περιπτώσεις κεραυνοβόλου ηπατίτιδας E, η χορήγηση κορτικοστεροϊδών μπορεί να μειώσει την πιθανότητα εμφάνισης ηπατικής ανεπάρκειας (21).

1.4 Οδοί Μετάδοσης του ιού

1.4.1 Μετάδοση μέσω ύδατος

Οι γονότυποι HEV1 και HEV2 παρατηρούνται κυρίως στους ανθρώπους και έχουν προκαλέσει μεγάλες επιδημίες μετά την μόλυνση των πόσιμων υδάτων από ανθρώπινα κόπρανα (22). Δεν υπάρχουν στοιχεία που να υποστηρίζουν τον εντοπισμό των HEV1 και HEV2 στα ζώα. Έχει γίνει πειραματική μόλυνση χοίρων με τα στελέχη HEV1 ή HEV2 στελέχη χωρίς να είναι επιτυχής (23), αποδεικνύοντας πως οι γονότυποι αυτοί δεν μπορούν να διαπεράσουν το φράγμα των ειδών. Σε αντίθεση με τους γονότυπους που αναφέρθηκαν παραπάνω, μολύνσεις ανθρώπων με τους HEV3 και HEV4 γονοτύπους συμβαίνουν συχνά μέσω της ζωονοσογόνου οδού. Οι τελευταίοι αυτοί γονότυποι έχουν ανιχνευθεί και σε μολυσμένα νερά, εγκαταστάσεις σφαγείων χοίρων, καθώς και μολυσμένα ποταμιά (24).

1.4.2 Ζωονοσογόνος και τροφιμογένης μετάδοση

Η άμεση ή έμμεση επαφή με μολυσμένα ζώα και κατανάλωση μολυσμένων προϊόντων φαγητού είναι η κύρια οδός μετάδοσης των HEV3 και HEV4 γονοτύπων σε ανθρώπους καθώς βρίσκονται σε αφθονία σε πληθυσμούς οικόσιτων χοίρων σε όλο τον κόσμο (25). Επιπλέον γίνεται ανίχνευση anti-Hev αντισωμάτων ή HEV RNA σε διάφορα είδη ζώων, όπως άγριων χοίρων (26), άγριας πανίδας (ελαφιών, λαγών (27) ή ζαρκαδιών) και οικόσιτων ζώων (προβάτων, κατσικών, αλόγων, γατιών και σκυλιών)(26,28). Η λοίμωξη από HEV3 και HEV4 είναι ασυμπτωματική στα ζώα, με τον ιό να εντοπίζεται σε μεγάλα ποσοστά στα κόπρανα, με αποτέλεσμα την συντήρησή του στους πληθυσμούς των ζώων (29,30).

Ο ιός παραμένει μολυσματικός έως και τους 60°C, αποδεικνύοντας την πιθανότητα μετάδοσης μέσω της κατανάλωσης ωμού ή ελαφρώς μαγειρεμένου κρέατος, που προέρχεται από μολυσμένο ζώο (31). Επιπλέον η κατανάλωση οστρακοειδών αποτελεί μια πηγή μόλυνσης για τον άνθρωπο. Η ταυτοποίηση μολυσμένων οστρακοειδών αποτέλεσε την αποκλειστική αιτία μια έξαρσης του ιού σε ένα κρουαζιερόπλοιο που ήταν σε Ευρωπαϊκά νερά (32). Μετέπειτα ανάλυση, έφερε στο φως πολλαπλά HEV στελέχη που εντοπίστηκαν σε εμπορικά διαθέσιμα μύδια σε διαφορετικές Ευρωπαϊκές χώρες (33,34). Παράλληλα, η μετάδοση μπορεί να γίνει μέσω της άμεσης επαφής με τα μολυσμένα ζώα και με ανθρώπους που εργάζονται με ζώα όπως αγρότες, κτηνίατροι και κτηνοτρόφοι, οι οποίοι και αποτελούν ομάδα που βρίσκεται σε υψηλό επίπεδο κινδύνου για μόλυνση με τον ιό της Ηπατίτιδας E (35).

1.4.3 Μετάδοση μέσω μετάγγισης

Είναι δεδομένο πως ο ιός HEV μπορεί να μεταδοθεί μεταξύ ανθρώπων μέσω μολυσμένων παραγώγων αίματος αν και τα περιστατικά αυτά είναι πιο σπάνια σε σχέση με την ζωνοσογόνο μετάδοση ή την μετάδοση μέσω υδάτων. Η μετάδοση μέσω μετάγγισης έχει καταγραφεί για τον HEV3 γονότυπο σε διάφορες Ευρωπαϊκές χώρες (36), για τον HEV1 και HEV4 στην Κίνα (37) και για HEV3 και HEV4 γονοτύπους στην Ιαπωνία (38). Μόνο μια μειονότητα των ατόμων που έλαβαν το μολυσμένο αίμα ανέπτυξαν συμπτωματική λοίμωξη ηπατίτιδας E, ενώ οι υπόλοιποι παρέμειναν ασυμπτωματικοί. Βρέθηκε πως όταν ο λήπτης του μολυσμένου αίματος είναι ανοσοκατεσταλμένος υπάρχει ρίσκο για την ανάπτυξη χρόνιας HEV λοίμωξης (36). Η μεταδοτική αυτή οδός θεωρείται σπάνια καθώς οι μολυσμένοι λήπτες δεν εμφανίζουν συμπτώματα και έχουν ελάχιστες επιπτώσεις στην ηπατική τους λειτουργία μήνες μετά την πρώτη μόλυνση (38). Σημαντική παρατήρηση είναι ότι η παρουσία των HEV IgG αντισωμάτων στους λήπτες παραγώγων αίματος δεν εγγυάται προστασία από επαναμόλυνση, καθώς ο χαμηλός αριθμός αντισωμάτων δεν μπορεί να την αποτρέψει (39).

1.4.4 Κάθετη μετάδοση

Στις ενδημικές περιοχές, ο ιός HEV αποτελεί την κύρια αιτία ηπατίτιδας κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης (40) με τον γονότυπο 1 να έχει τον μεγαλύτερο δείκτη θνησιμότητας σε εγκύους (19,41). Η λοίμωξη συνηθώς μεταδίδεται από την μητέρα στο παιδί μέσω της ενδομήτριου και τη προγεννητικής οδού. Στα έμβρυα και τα νεογνά προκαλεί σοβαρή ηπατική νόσο με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας (19,41,42). Στα νεογνά που επιβιώνουν, η λοίμωξη είναι αυτό-περιοριζόμενη με ένα μικρό διάστημα ιαιμίας (42). Στις αναπτυσσόμενες χώρες, ο HEV είναι υπεύθυνος για περίπου 3.000 θανάτους νεογνών πριν τη γέννα κάθε χρόνο αλλά παραμένει ακαθόριστο αν ο θάνατος ήταν αποτέλεσμα μιας κάθετης μετάδοσης ή αποτέλεσμα επιπλοκών από την μητέρα (19). Επιπροσθέτως, δεν υπάρχουν δεδομένα που να υποστηρίζουν ότι ο ιός μπορεί να μεταδοθεί μέσω του θηλασμού ούτε αρκετές αναφορές σχετικά με την επίδραση μιας συμπτωματικής λοίμωξης στο έμβρυο.

1.5 Πρόληψη

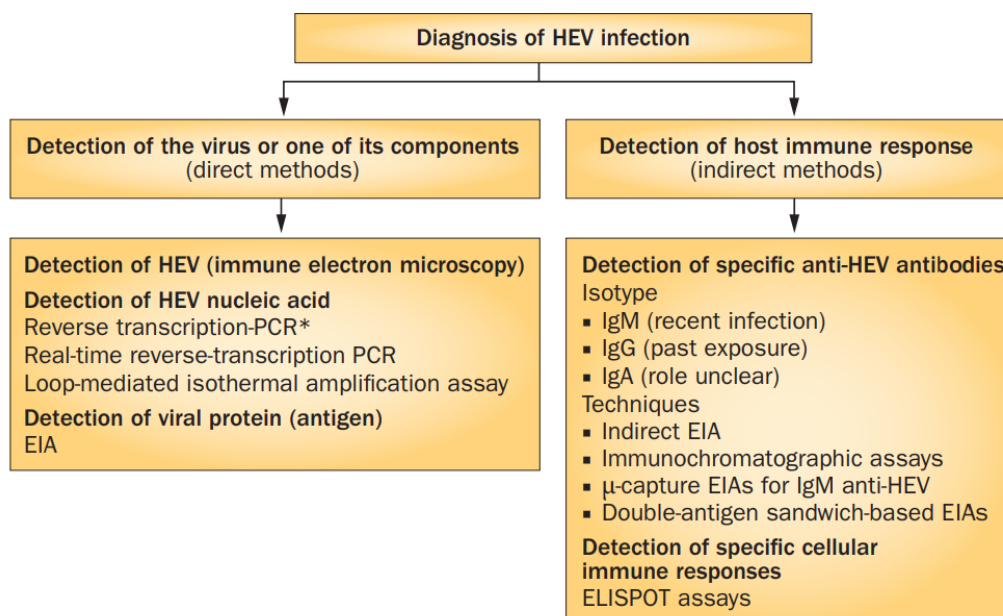
Προληπτικά μετρά έναντι των υδατομεταφερόμενων HEV γονοτύπων (HEV1, HEV2) στοχεύουν στην ενίσχυση του καθαρισμού του πόσιμου νερού και της υγιεινής σε ενδημικές περιοχές (43). Η αύξηση της ποιότητας του πόσιμου νερού, μέσω μεθόδων όπως ο βρασμός ή η χλωρίωση, οδηγούν σε ταχεία μείωση των κρουσμάτων σε εξάρσεις του ιού. Παράλληλα η μετάδοση των HEV1, HEV2 μέσω της τροφής είναι ελάχιστη αλλά η ασφαλής διαχείριση των τροφίμων σε κάθε περίπτωση, βοηθάει στην πρόληψη λοιμώξεων. Ο ΠΟΥ (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας) έχει δημοσιεύσει συγκεκριμένες οδηγίες για την πρόληψη υδατομεταφερόμενων HEV λοιμώξεων (44).

Η μετάδοση των HEV3 και HEV4 στελεχών γίνεται κυρίως μέσω της κατανάλωσης μολυσμένου κρέατος. Οι μολύνσεις μπορούν να αποτραπούν με την προσεκτική προετοιμασία και το καλό ψήσιμο αυτών των κρεάτων. Ενδεικτικά, τα κρέατα πρέπει να μαγειρεύονται σε υψηλές θερμοκρασίες (~70°C) (31), καθώς ο ιός εμφανίζει ανθεκτικότητα σε χαμηλότερες θερμοκρασίες μαγειρέματος (45). Παράλληλα στους κυνηγούς και γενικά τους ανθρώπους που έρχονται σε επαφή με χοίρους και αγρία πανίδα, συστήνεται η χρήση προστατευτικού εξοπλισμού ή αποφυγή της εκτεταμένης άμεσης επαφής με αυτά τα ζώα (46).

Η εμπορική διαθεσιμότητα ενός αποτελεσματικού εμβολίου αποτελεί σημαντικό μετρώ στην πρόληψη της λοίμωξης. Το εμβόλιο γίνεται σε τρεις δόσεις και έχει υψηλή αποτελεσματικότητα (>99%), και διατίθεται με την εμπορική ονομασία HEV 239 (Hecolin, Xiamen Innovax Biotech CO, China). Το εμβόλιο φαίνεται πως παρέχει προστασία έναντι κυρίως των HEV1 και HEV4 γονοτύπων, σχεδιάστηκε ωστόσο για προκαλεί ανοσία έναντι όλων των στελεχών (47). Το εμβόλιο διατίθεται για πώληση και χρήση στην Κίνα από το 2012 και δεν έχει χορηγηθεί σε ενδημικές περιοχές εκτός της Κίνας. Το 2014 ο ΠΟΥ αξιολόγησε το εμβόλιο, με τις κλινικές δοκιμές του στις φάσεις I, II και III να επιβεβαιώνουν την ασφάλειά του. Κρίθηκε ωστόσο αναγκαία η πραγματοποίηση μιας φάσης IV για την συλλογή παραπάνω δεδομένων για την ασφάλεια του σε παιδιά, ηλικιωμένους και άλλους ειδικούς πληθυσμούς (48).

1.6 Διαγνωστικοί δείκτες της HEV λοίμωξης

Η HEV λοίμωξη μπορεί να ταυτοποιηθεί μέσω έμμεσων μεθόδων, όπως η ανίχνευση anti-HEV αντισωμάτων στον ορό ή άμεσων μεθόδων που περιλαμβάνουν την ταυτοποίηση HEV RNA ή αντιγόνων καψιδίου (ORF2 - capsid protein) στο αίμα ή άλλα σωματικά υγρά (2,11,49). Το HEV RNA γίνεται ανιχνεύσιμο στο αίμα και τα κόπρανα κατά την περίοδο επώασης, που διαρκεί 4 εβδομάδες στο αίμα και 6 εβδομάδες στα κόπρανα. Αντιγόνα του ιικού καψιδίου παραμένουν ανιχνεύσιμα στο αίμα για παρόμοιο χρονικό διάστημα με το HEV RNA. Η περίοδος επώασης των 2-4 εβδομάδων προηγείται της μικρής, χρονικά, αντισωματικής απάντησης του οργανισμού (IgM antibodies), η οποία συμπίπτει με τα αυξημένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων (συγκεκριμένα της αμινοτρανσφεράσης αλανίνης) που επιδεικνύουν την φλεγμονή ή τραυματισμό στο ήπαρ (διαρκούν 6-9 εβδομάδες) (50). Η έναρξη της IgG - απάντησης του οργανισμού μπορεί να καθυστερήσει αλλά παραμένει ενεργή για αρκετά χρόνια.

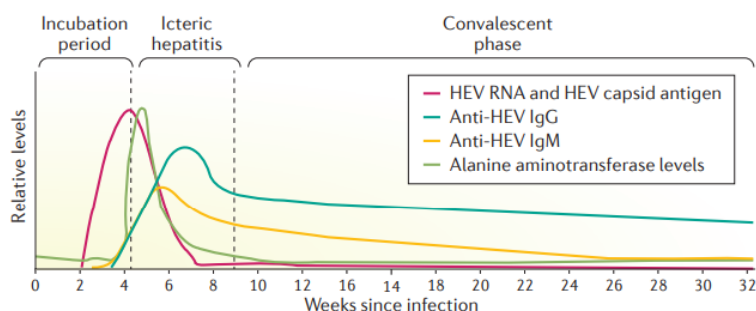


Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση των μεθόδων ανίχνευσης HEV λοίμωξης. Η εικόνα προέρχεται από Aggarwal R. Diagnosis of hepatitis E. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2013 Jan;10(1):24-33. doi: 10.1038/nrgastro.2012.187. Epub 2012 Oct 2. PMID: 23026902.

Διαγνωστικοί Δείκτες της HEV Λοίμωξης	
Κατάσταση Λοίμωξης	Θετικοί Δείκτες
Οξεία ηπατίτιδα	<ul style="list-style-type: none"> • HEV RNA • HEV RNA + anti-HEV IgM • HEV RNA + anti-HEV IgG • HEV RNA + anti-HEV IgM + anti-HEV IgG • Anti-HEV IgM + αυξημένα anti-HEV IgG • HEV αντιγόνα
Χρόνια Ηπατίτιδα	<ul style="list-style-type: none"> • HEV RNA (+ anti-HEV IgG) για πάνω από 3 μήνες • HEV αντιγόνα
Προηγούμενη Λοίμωξη	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-HEV IgG

Πίνακας 1: Σύνοψη των διαγνωστικών δεικτών. Ο πίνακας βασίστηκε σε δεδομένα από European Association for the Study of the Liver [EASL] (2018). EASL clinical practice guidelines on hepatitis E virus infection. *J. Hepatol.* 68, 1256–1271. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.005.

Τα αντισώματα έναντι του ιού μπορούν να αξιοποιηθούν ως δείκτες ανίχνευσης προηγούμενων ή καινούργιων λοιμώξεων. Η χρήση διαφορετικών μεθόδων ανίχνευσης με διαφορετικές ευαισθησίες κατά την διάγνωση, έχει προκαλέσει ποικιλία αποτελεσμάτων σε μελέτες που ανιχνεύουν ορολογικούς δείκτες, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολο να οριστεί ένα απόλυτο όριο για τον επιπολασμό αντισωμάτων στους ασθενείς (51). Όμως οι νέες και πιο ευαίσθητες δοκιμασίες σε σχέση με τις παλαιότερες εμπορικά διαθέσιμες τεχνικές, δίνουν καλύτερες εκτιμήσεις των IgG αντισωμάτων στο αίμα των ατόμων που εξετάζονται (52).



Εικόνα 3: Γραφική απεικόνιση των διαγνωστικών δεικτών κατά την πορεία της λοίμωξης. Η εικόνα προέρχεται από Kamar, N., Izopet, J., Pavio, N. *et al.* Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 3, 17086 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.86>

1.7 Διάγνωση της HEV λοίμωξης

1.7.1 Ανίχνευση αντισωμάτων anti-HEV

Οι ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες για την διάγνωση της λοίμωξης HEV χρησιμοποιούν ανασυνδυασμένες ORF2/ORF3 πρωτεΐνες από τον HEV1 γονότυπο ως αντιγόνα. Γενικά τα αντισώματα σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί από διαφορετικά στελέχη του ιού εμφανίζουν διασταυρούμενα αποτελέσματα με άλλες λοιμώξεις λόγω των κοινών επιτόπων ORF2 και ORF3. Η διαγνωστική αξία των IgM και IgG αντισωματικών δοκιμασιών διαφέρει σημαντικά και πρέπει να αξιολογηθεί προσεκτικά. Η παρουσία των anti-HEV IgM στον ορό, είναι δείκτης της οξείας λοίμωξης ενώ η παρουσία anti-HEV IgG υποδεικνύει την ύπαρξη παρελθούσας λοίμωξης (53). Η πορεία της ανοσολογικής απάντησης ξεκινάει με μια αρχική και ταχεία αύξηση στα IgM αντισώματα, που ακολουθείται από μια συνεχόμενη και σταθερή παραγωγή IgG αντισωμάτων, με τα IgG να παραμένουν ανιχνεύσιμα έως και 10 χρόνια (49). Επιπλέον ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των anti-HEV IgG αντισωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του ρίσκου επαναμόλυνσης μετά από μια λοίμωξη ή εμβολιασμό. Η μελέτη των Abravanel F, Lhomme S et. αποκαλύπτει ότι οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς με χαμηλή συγκέντρωση anti-HEV IgG αντισωμάτων, μπορεί να επαναμολυνθούν και πιθανότατα να αναπτύξουν χρόνια ηπατίτιδα (54).

Οι εμπορικά διαθέσιμες ανοσοδοκιμασίες που προορίζονται για την ανίχνευση των anti-HEV αντισωμάτων κατά την διάρκεια της οξείας μόλυνσης διαφέρουν πολύ μεταξύ τους ως προς την ευαισθησία και την ειδικότητά τους. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να μπορεί να εξηγήσει τις διάφορες αποκλείσεις στον επιπολασμό των αντισωμάτων που παρατηρούνται σε διαφορετικές μελέτες. Η γενετική ποικιλομορφία του HEV οδηγεί σε σημαντικές τροποποιήσεις των αντιγονικών επιτόπων, με αποτέλεσμα την δημιουργία σημαντικών εμποδίων στην ανάπτυξη αξιόπιστων ανοσοδοκιμασιών. Πάρα αυτή την ποικιλομορφία, οι τέσσερις HEV γονότυποι μοιράζονται κοινές περιοχές στην καψιδιακή πρωτεΐνη που προκύπτει από το δεύτερο πλαίσιο ανάγνωσης (ORF2) (55). Πρόσφατες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην κατασκευή και βελτίωση ανασυνδυασμένων ORF2 αντιγόνων που προέρχονται από το baculovirus ή *Escherichia coli*, και φέρουν την προαναφερθείσα περιοχή (56). Συγκεκριμένα, οι προσεγγίσεις που χρησιμοποιούν σωματίδια που μοιάζουν με ιούς σε ένα σύστημα έκφρασης ευκαρυωτικών κυττάρων, όπως ο baculovirus, φαίνεται να είναι καταλληλότερες για την κατασκευή HEV αντιγόνων για διαγνωστική χρήση (57).

1.7.2 Ανίχνευση ιικού RNA

Η ανίχνευση του ιικού RNA αποτελεί gold standard μέθοδο για την ταυτοποίηση μιας ενεργής λοίμωξης, είτε είναι οξεία είτε χρόνια. Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του HEV RNA στο αίμα, στα κόπρανα ή σε άλλα σωματικά υγρά απαιτεί εκκινητές σχεδιασμένους να στοχεύουν σε συγκεκριμένες περιοχές του ιικού γονιδιώματος, αν και συχνά επιλέγεται η ORF3 περιοχή (58,59). Το όριο ανίχνευσης στις τωρινές μεθόδους είναι 7–80 IU per ml πλάσματος (58,60) και αποτελεί ένα κρίσιμο στοιχείο για τη διάγνωση της λοίμωξης. Ο χαρακτηρισμός των HEV γονοτύπων περιλαμβάνει την αλληλούχιση διάφορων περιοχών του ιικού γονιδιώματος, όπως η ORF2 ή ORF1 περιοχή που κωδικοποιεί την RNA πολυμεράση. Τα δεδομένα της αλληλούχισης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μελέτη της μοριακής επιδημιολογίας της λοίμωξης, βοηθώντας στην ταυτοποίηση ή την ανίχνευση μεταλλάξεων σε ασθενείς που αντιμετωπίζουν προβλήματα στην θεραπεία με ριμπαβιρίνη (61,62). Σύγχρονες μελέτες εστιάζουν στην διαγνωστική αξία αυτών των μεταλλάξεων.

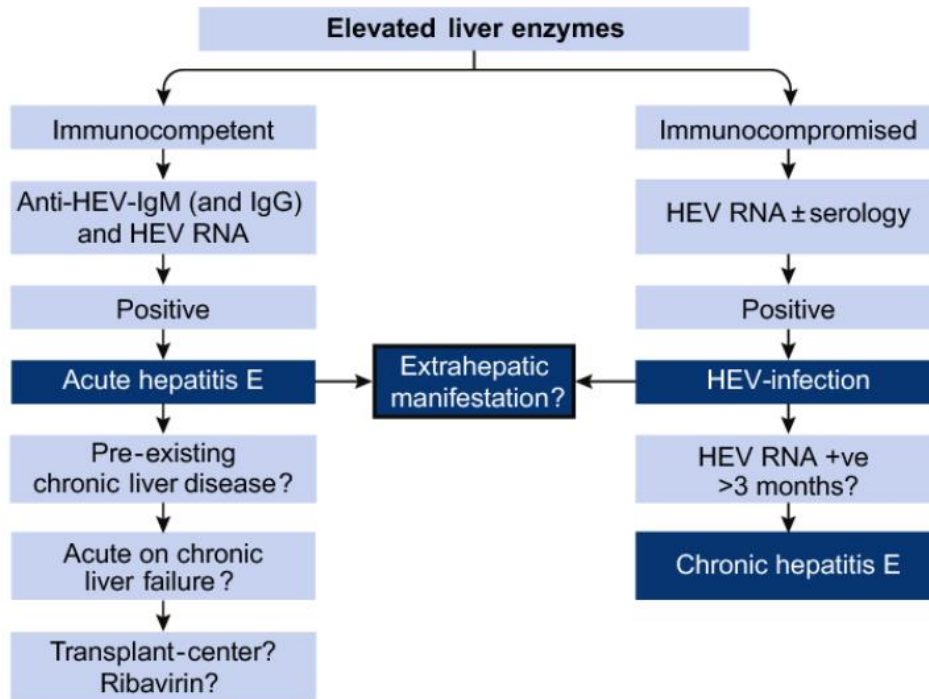
1.7.3 Ανίχνευση αντιγόνων καψιδίου

Η διάγνωση της οξείας λοίμωξης μπορεί να επιτευχθεί με την ταυτοποίηση αντιγόνων του HEV καψιδίου μέσω εμπορικά διαθέσιμων sandwich ενζυμικών ανοσοδοκιμασιών. Αυτή η μέθοδος επιδεικνύει μια ειδικότητα της τάξης του 100% και διαγνωστική ευαισθησία της τάξης 91% για την οξεία λοίμωξη, χωρίς να παρατηρείται κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ ανοσοκατεσταλμένων (94%) και ανοσοεπαρκών (88%) ασθενών (63). Λόγω της τεχνικής απλότητας, του χαμηλού κόστους και των γρήγορων αποτελεσμάτων που προσφέρει η μέθοδος σε σχέση με την ποσοτικοποίηση του HEV RNA, η εξέταση αυτή μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική μέθοδο για την διάγνωση HEV λοιμώξεων (63).

1.7.4 Διαγνωστικός αλγόριθμος

Όταν υπάρχει υποψία για HEV λοίμωξη με βάση τα κλινικά συμπτώματα ή την μονομερή αύξηση στα επίπεδα της αμινοτρανσφοράσης αλανίνης, αρχικά πραγματοποιείται μέτρηση των anti-HEV IgM λόγω της καλής επίδοσης και ευρείας διάθεσης της μεθόδου. Οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς πρέπει να εξεταστούν για την ύπαρξη του ιικού HEV RNA σε δύο περιπτώσεις: όταν δεν ανιχνευτούν anti-HEV IgM αντισώματα και τα επίπεδα της

αμινοτρανσφέρασης αλανίνης είναι ανεβασμένα και όταν παρατηρείται μια προσωρινή μειωμένη ανοσοεπάρκεια του οργανισμού και ο ασθενής έχει ξεκινήσει αντιική θεραπεία (παρακολούθηση λοίμωξης) με ριμπαβιρίνη. Για να θεωρηθεί ότι ο ασθενής ξεπέρασε την λοίμωξη, πρέπει να παρατηρηθεί απουσία του HEV RNA στα κόπρανα (64).



Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση του διαγνωστικού αλγορίθμου σε περίπτωση υποψίας HEV λοίμωξης με βάση τα αυξημένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων. Η εικόνα προέρχεται από European Association for the Study of the Liver [EASL] (2018). EASL clinical practice guidelines on hepatitis E virus infection. *J. Hepatol.* 68, 1256–1271. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.005.

1.8 Επιδημιολογικά δεδομένα για την HEV λοίμωξη

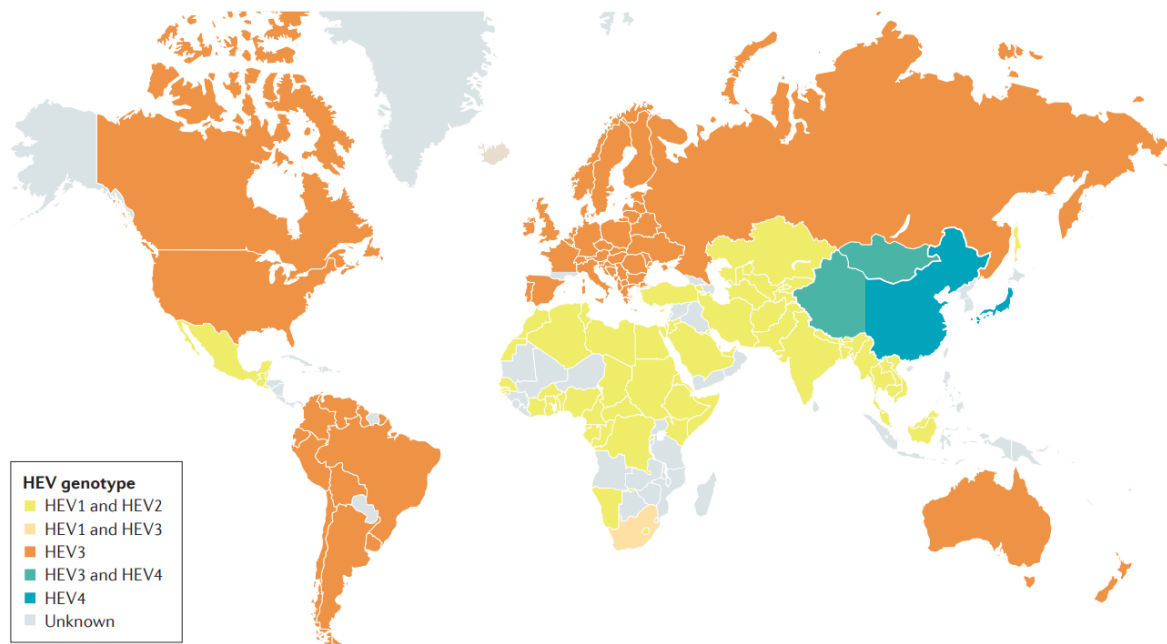
Ο ιός HEV θεωρείται υπερενδημικός σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες όπως η Ινδία και το Μπαγκλαντές αλλά και στην Κίνα, όπου η μετάδοση μέσω μολυσμένων υδάτων είναι η κύρια αιτία εξάρσεων από τους γονότυπους 1 και 2 (65,66). Στις περισσότερες ανεπτυγμένες και μη ενδημικές χώρες, η λοίμωξη αρχικά συσχετιζόταν με τους ταξιδιώτες που επέστρεφαν από ενδημικές περιοχές (67). Τα τελευταία χρόνια αυτή η παρατήρηση έχει αλλάξει έπειτα από δεδομένα που συλλέχτηκαν και έδειχναν σποραδικές εξάρσεις που προήρθαν από τοπική μόλυνση με τους γονότυπους 3 και 4 καθώς και την εμφάνιση κρουσμάτων που δεν είχαν κάποια συσχέτιση με ταξίδι σε ενδημικές περιοχές (68). Ο αυξανόμενος αριθμός κρουσμάτων που προήρθαν από μόλυνση με τους HEV3 και HEV4 σε ανεπτυγμένες χώρες, απέδειξε την ύπαρξη μεγάλων δεξαμενών των γονοτύπων σε πληθυσμούς ζώων και υπέδειξαν την ζωνόσο μετάδοση (27,69). Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει πρόοδος στην κατανόηση της παγκόσμιας επιδημιολογικής εικόνας της HEV λοίμωξης, που εμφανίζεται πιο πολύπλοκη από την αρχική εκτίμησή της. Υπάρχει ξεκάθαρος διαχωρισμός των επιδημιολογικών μοτίβων ανά γεωγραφική κατανομή μεταξύ ενδημικών και μη περιοχών.

1.8.1 Επιδημιολογικά δεδομένα Αναπτυσσομένων χωρών

Ο ιός θεωρείται ενδημικός σε αρκετές περιοχές της νότιας, κεντρικής και νοτιοανατολικής Ασίας, την Αφρική, τη Μέση Ανατολή και το Μεξικό (70). Σε αυτές τις περιοχές, οι γονότυποι HEV1 και HEV2 είναι οι επικρατέστεροι γονότυποι και οι λοιμώξεις συνήθως εξαπλώνονται μέσω μολυσμένων υδάτων από ανθρώπινα απόβλητα (2,71). Ο HEV1 είναι η πιο διαδεδομένη μορφή, ενώ ο HEV2 έχει παρατηρηθεί μόνο στην Αφρική και σε μια έξαρση στο Μεξικό το 1980. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization - WHO) υπολογίζεται ότι προκαλούνται 20.000.000 νέες λοιμώξεις σε Ασία και Αφρική (κύριες περιοχές καταγραφής κρουσμάτων), με 3.4 εκατ. κρούσματα οξείας ηπατίτιδας (συμπτωματικές λοιμώξεις) και 44.000 θανάτους (2015) (72). Ενήλικες και άτομα νεαρής ηλικίας είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στην ανάπτυξη συμπτωματικής ηπατίτιδας ενώ η λοίμωξη στα παιδιά συνήθως εμφανίζεται ως ασυμπτωματική (70). Η λοίμωξη καταγράφεται περισσότερο σε άντρες παρά σε γυναίκες και αυτό οφείλεται πιθανόν στην μεγαλύτερη έκθεση σε μολυσμένα ύδατα (70). Σε υψηλά ενδημικές περιοχές, η μόλυνση από τον HEV1 και HEV2 έχει παρατηρηθεί ύστερα από μόλυνση του πόσιμου νερού μετά από καταιγίδες ή πλημμύρες

(73,74). Κάποιες εξάρσεις του ιού έχουν καταγραφεί και τους καλοκαιρινούς μήνες όπου υπάρχει μειωμένη ροή του νερού στα ποτάμια με αυξημένη μόλυνση κοπράνων (73). Στην Αφρική κάποιες εστίες του ιού έχουν προκληθεί από την μειωμένη υγιεινή σε κατασκηνώσεις μεταναστών (75,76). Η τροφιμογένης μετάδοση του ιού είναι πιθανή αλλά δεν έχει καταγραφεί σε αυτές τις περιοχές καθώς είναι δύσκολο να δημιουργηθεί σύνδεση της ασθένειας με την τροφή που καταναλώθηκε εβδομάδες πριν (77,78). Η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο συνήθως προκύπτει σε περιοχές που είναι πυκνοκατοικημένες με μεγάλα ποσοστά περιβαλλοντικής μόλυνσης και έχουν αυξημένο δείκτη λοιμώξεων (79,80). Η περίοδος επώασης του ιού συνήθως κυμαίνεται από 2 έως 10 εβδομάδες σε περιοχές με μολυσμένα ύδατα (72). Η ανίχνευση των anti-HEV αντισωμάτων στο αίμα εξεταζόμενων ατόμων στην πλειοψηφία των περιοχών της Ασίας και της Αφρικής είναι 10-40%, με το μεγαλύτερο ποσοστό να καταγράφεται σε άτομα άνω των 50 ετών (44).

Παράλληλα έχει παρατηρηθεί ότι ο αριθμός των αντισωμάτων έναντι του HEV που ανιχνεύονται στον γενικό πληθυσμό είναι μικρότερος σε σχέση με άλλες ασθένειες όπως της ηπατίτιδας Α και του *Helicobacter pylori* (44). Αυτή η παρατήρηση ήταν απροσδόκητη, ιδιαίτερα σε περιοχές όπου η λοίμωξη HEV είναι συχνή (όπως η Ινδία). Η παρατήρηση αυτή συσχετίστηκε με την καταστροφή των αντισωμάτων μετά από κάποιο χρονικό διάστημα στο σώμα. Σε αντίθεση με όσα προαναφέρθηκαν, σε άλλες περιοχές όπως η Αίγυπτος παρατηρείται το ακριβώς αντίθετο φαινόμενο με τα συμπτωματικά κρούσματα να είναι λίγα αλλά ο αριθμός αντισωμάτων στον πληθυσμό να είναι αρκετά υψηλός (81,82). Ο λόγος για αυτή την αναντιστοιχία αποτελεσμάτων μπορεί να αιτιολογηθεί από την διασταυρούμενη αντίδραση αντισωμάτων (cross-reactivity), την εξάπλωση λιγότερο παθογόνων στελεχών HEV ή την αδυναμία παρακολούθησης των συμπτωματικών κρουσμάτων HEV.



Εικονά 5: Παγκόσμια κατανομή των HEV γονοτύπων. Η εικόνα προέρχεται απο Kamar, N., Izopet, J., Pavio, N. et al. Hepatitis E virus infection. Nat Rev Dis Primers 3, 17086 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.86>

1.8.2 Επιδημιολογικά δεδομένα Αναπτυγμένων χωρών

Στην Ευρώπη ο επιπολασμός της Ηπατίτιδας Ε διαφέρει από χώρα σε χώρα. Μια μελέτη που έγινε σε 30 χώρες-μέλη της Ευρωπαϊκής ζώνης έδειξε ότι ο αριθμός κρουσμάτων HEV3 έχει αυξηθεί από 514 τον χρόνο (2005) σε 5.617 τον χρόνο (2015), με τις περισσότερες λοιμώξεις να οφείλονται σε τοπικές μολύνσεις (83). Η ηπατίτιδα Ε (HEV3) θεωρείται υπερενδημική στην νοτιοδυτική Γαλλία και ενδημική στην Β. Γαλλία, Ηνωμένο Βασίλειο, Βέλγιο, Ολλανδία, Λουξεμβούργο και Γερμανία (4). Ο επιπολασμός αντισωμάτων του ιού φαίνεται να αυξάνεται με την ηλικία και η συμπτωματική λοίμωξη καταγράφεται κυρίως σε άνδρες άνω των 50 ετών (84).

Μία μελέτη από το Ηνωμένο Βασίλειο που περιλάμβανε 225.000 άτομα απέδειξε ότι το 0.035% των αιμοληπτών έφερε ιαιμία και σχεδόν στο 42% των αιμοληπτών που μεταγγιζόταν με HEV-θετικά παράγωγα αίματος παρατηρούνταν ιαιμία ή παραγωγή αντισωμάτων έναντι του HEV3 (36). Τα τελευταία χρόνια, το αίμα προς δωρεά εξετάζεται συστηματικά για HEV RNA στο Ηνωμένο Βασίλειο, Ιρλανδία και Ολλανδία (85). Επιλεκτικός έλεγχος ανίχνευσης (screening) γίνεται σε Γερμανία και Γαλλία για υψηλού κίνδυνου

ασθενείς, με τις αρμόδιες αρχές να εξετάζουν αν χρειάζεται να ξεκινήσει HEV3 screening στα προϊόντα αίματος σε Ελλάδα, Πορτογαλία, Ιταλία και Ισπανία (85).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες ανά τα χρόνια που κατέγραψαν αυξημένα ποσοστά (6%) anti-HEV αντισωμάτων σε δείγματα αίματος από δωρητές αίματος και τον γενικό πληθυσμό (86). Σε σχέση με την Ευρώπη και άλλες ανεπτυγμένες χώρες, η καταγραφή θετικών κρουσμάτων είναι χαμηλότερη και οφείλεται στο γεγονός ότι γίνεται κατανάλωση κρεάτων από όργανα ζώων (43). Παράλληλα, η ανεπαρκής ενημέρωση για τον HEV στο ιατρικό τομέα της Αμερικής και η έλλειψη μιας προτεινομένης μεθόδου ανίχνευσης από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων, πιστεύεται ότι ενισχύουν την χαμηλή ανιχνευσιμότητα του ιού.

1.9 Επιδημιολογικά δεδομένα της συνλοίμωξης HEV-HIV

1.9.1 Επιδημιολογικά δεδομένα για την συνλοίμωξη σε Ευρώπη και Αμερική

Σε μελέτη που έγινε στην Γαλλία σε 184 HIV θετικούς ανθρώπους που παρακολουθούνταν από το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Μασσαλίας, οι 119 ήταν άνδρες με μέση ηλικία τα 42 έτη. Ο επιπολασμός των anti-HEV IgG και IgM αντισωμάτων υπολογίστηκε στο 4,4% (8/184) και 1,6% (3/184) αντίστοιχα (87). Στην Ισπανία, επιλέχθηκαν 238 HIV θετικά άτομα, εκ των οποίων το 9% (22/238) ήταν anti-HEV IgG θετικοί και σε κανέναν δεν ανιχνεύθηκαν anti-HEV IgM αντισώματα (51). Σε άλλη, αντίστοιχη μελέτη, ο επιπολασμός των anti-HEV IgG αντισωμάτων υπολογίστηκε στο 9,6% (88). Στη Αγγλία, σε μελέτη που έγινε σε ασθενείς των HIV τμημάτων σε δυο νοσοκομεία (Royal Cornwall Hospital στο Truro και στο Southmead Hospital, Bristol, UK) ο επιπολασμός ανευρέθηκε στο 9,4% (13/184) (89) ενώ στην Ιταλία σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 509 HIV θετικά άτομα, ο επιπολασμός των anti-HEV IgG αντισωμάτων υπολογίστηκε στο 6,7% (34/509)(90). Τέλος, στην Ολλανδία εξετάστηκαν 231 δείγματα από HIV θετικά άτομα, από τα οποία 11,7% (27/231) ήταν θετικά για anti-HEV IgG αντισώματα (6).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής σε μια μελέτη που έγινε σε HIV θετικούς λήπτες μεταμοσχευμάτων ήπατος και νεφρών, ανιχνεύτηκε ένας επιπολασμός των anti-HEV IgG αντισωμάτων της τάξης του 19,5% και 18,9% αντίστοιχα, χωρίς να παρατηρείται κάποια συσχέτιση των ποσοστών anti-HEV IgG με δημογραφικούς παράγοντες. Σημαντικό είναι ότι τα δεδομένα για την συνλοίμωξη HEV/HIV στις Η.Π.Α. είναι ελάχιστα και χρίζουν ανάλυσης και διερεύνησης (91).

1.9.2 Επιδημιολογικά δεδομένα για την συνλοίμωξη σε Κίνα και αναπτυσσόμενες χώρες.

Στην Κίνα, μια μελέτη που συμπεριέλαβε 770 HIV θετικούς ανθρώπους αποκάλυψε πως οι 342 (44,42%) ήταν θετικοί για anti-HEV IgG αντισώματα και μόλις οι 0,78% εντοπίστηκαν θετικοί για anti-HEV IgM αντισώματα (92).

Στην Αφρική και Ασία έχουν παρατηρηθεί μεγάλα ποσοστά επιπολασμού των αντιγόνων (άνω του 40% στις περισσότερες χώρες). Διάφορες μελέτες που αξιολογούσαν τον επιπολασμό της HEV λοίμωξης σε συγκεκριμένες HIV θετικές ομάδες, αποκάλυψαν ότι ο επιπολασμός των HEV IgG αντισωμάτων σε εγκύους με HIV έφτανε το 7,1% στη Γκαμπόν (93), 7.4% στο Μαλάουι (94) και 33.3% στην Αιθιοπία (95).

1.10 Παράγοντες κίνδυνου για το ανθρώπους που ζουν με τον HIV

Διάφοροι παράγοντες έχουν προταθεί ως παράγοντες κινδύνου για την έκθεση στον HEV όπως: φύλο, ηλικία, εθνικότητα, σεξουαλικές συμπεριφορές, χρήση ουσιών, επαφή με χοίρους κ.α. Οι παράγοντες αυτοί διαφέρουν σημαντικά ως προς τον βαθμό επιρροής τους. Η κατανάλωση χοιρινού κρέατος καταγράφεται ευρέως ως βασικός παράγοντας κίνδυνου στον ανοσοκατεσταλμένο πληθυσμό, με μια μελέτη να κάνει στατιστικό συσχετισμό μεταξύ της HEV λοίμωξης και της κατανάλωσης ελάχιστα μαγειρεμένου χοιρινού κρέατος από άτομα που ζουν με τον ιο HIV (89). Υψηλός επιπολασμός αντισωμάτων HEV παρατηρήθηκε σε άτομα που ζουν με τον ιό HIV με κίρρωση. Αυτή η παρατήρηση συμφωνεί και με δεδομένα από μελέτες σε HIV αρνητικούς ασθενείς και υποδεικνύει ότι τα άτομα με κίρρωση βρίσκονται σε υψηλό ρίσκο μόλυνσης από HEV ανεξαρτήτως της συνλοίμωξης με τον ιο HIV (96). Αυτό το εύρημα δικαιολογείται λόγω της δυσλειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος των ασθενών με κίρρωση, η οποία μπορεί να προκαλέσει την ανάπτυξη μιας μειωμένης έμφυτης ανοσοποιητικής απόκρισης μέσω βλάβης του δίκτυο-ενδοθηλιακού συστήματος και μειωμένης σύνθεσης πρωτεϊνών έμφυτης ανοσίας (97). Άλλος ένας κοινός παράγοντας κινδύνου αποτελεί η ηλικία. Χωρίς να αποτυπώνεται κάποιο όριο, παρουσιάζεται ένας αυξημένος ρυθμός κρουσμάτων σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας (91,98,99). Τέλος, η μείωση των CD4 T-λεμφοκυττάρων, σε περιπτώσεις σοβαρής ανοσοκατάστολης, παρατηρείται ως παράγοντας κίνδυνου καθώς σχετίζεται με επιμονή της λοίμωξη ή της ιαιμίας για μεγάλο διάστημα στους ασθενείς (100).

Σε διάφορες μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι οι άνδρες που έχουν σεξουαλικές επαφές με άνδρες, ΑΣΑ (Men who have Sex with Men, MSM) μπορεί να βρίσκονται σε μεγαλύτερο ρίσκο απόκτησης του ιού HEV. Χαρακτηριστικά μια μελέτη που έγινε στο Ηνωμένο Βασίλειο, σύγκρινε τον επιπολασμό HEV μεταξύ 146 HIV θετικών MSM, 135 HIV αρνητικών MSM και 141 HIV αρνητικών ετερόφυλων ανδρών. Παρατηρήθηκε ότι οι δυο MSM ομάδες (7.5% και 10.4%) είχαν υψηλότερα ποσοστά επιπολασμού σε σχέση με την ομάδα των ετερόφυλων (3.5%) (101). Παρομοίως, σε μια μελέτη στην Ιταλία που αξιολογήθηκαν 1116 δείγματα, παρατηρήθηκε πως ο ορο-επιπολασμός στους MSM ήταν υψηλότερος από ότι των μη MSM ατόμων (7.5% VS 4.7%)(102).

1.11 Κλινικές επιπλοκές της λοίμωξης σε άτομα που ζουν με τον ιό HIV

Τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου εμφανίζουν ένα μεγάλο εύρος συμπτωμάτων που κυμαίνονται από ασυμπτωματική ηπατίτιδα ως ηπατική ανεπάρκεια. Συνήθως η νόσος παρουσιάζεται ως μια ήπια μορφή της οξείας ηπατίτιδας. Σε αρκετές περιπτώσεις η παραμονή σε νοσοκομείο είναι απαραίτητη και η θνησιμότητα φτάνει το 8.7% (4,103). Έξω-ηπατικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν το Guillain-Barre σύνδρομο, βραχιόνια νευρίτιδα, περιφερική νευροπάθεια, εγκεφαλίτιδα, θρομβοπενία και παγκρεατίτιδα (104–106).

Στις περισσότερες περιπτώσεις, δεν χρειάζεται να εφαρμοστεί κάποια θεραπεία. Όμως, σε αρκετές κατηγορίες ασθενών, όπως ασθενείς με υποκείμενη χρόνια ηπατική νόσο ή οξεία ηπατική ανεπάρκεια, η οξεία λοίμωξη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση επιπλοκών (107). Η προτεινόμενη θεραπευτική προσέγγιση είναι ίδια με τον γενικό πληθυσμό, όπου γίνεται χορήγηση ριμπαβιρίνης για αντιμετώπιση των συμπτωμάτων. Η ανάπτυξη χρόνιας λοίμωξης HEV συσχετίζεται με την ανοσοκαταστολή, για αυτό οι θεραπευτικές οδοί στοχεύουν στην επαναφορά του ανοσοποιητικού συστήματος που θα επιφέρει την ιική κάθαρση (108). Σε δυο περιπτώσεις χρόνιας HEV λοίμωξης σε ασθενής με HIV, μετά την αρχική λήψη της αντιρετροϊκής θεραπείας και την καταστολή του ιικού φορτίου HIV, η λοίμωξη HEV άρχισε να αυτοπεριορίζεται (107,109,110,111). Η παραπάνω παρατήρηση εναρμονίζεται με την επιβεβαιωμένη σχέση “U=U, Undetectable equals Untransmittable” που ισχύει για τα άτομα που ζουν με τον ιό του HIV και λαμβάνοντας αντιρετροϊκή θεραπεία έχουν καταστείλει τον ικό πολλαπλασιασμό σε “Μη ανιχνεύσιμα, Undetectable” επίπεδα. Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν είναι δυνατή η μετάδοση του HIV (Untransmittable), ενώ έμμεσα αποδεικνύεται πως ο οργανισμός του ασθενούς είναι σε θέση να αποφύγει ιογενείς λοιμώξεις, όπως και αυτή του HEV, μέσω του περιορισμού του HIV (110,111) και της τακτικής επαφής με το σύστημα υγείας.

2. Πειραματικό Μέρος

2.1 Σκοπός

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει σκοπό την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση HEV IgG αντισωμάτων σε ορό ή πλάσμα ατόμων που διαγνώστηκαν θετικά στον ιό HIV-1 (νεοδιαγνωσθείσες HIV-λοιμώξεις) το 2022 στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Νοτίου Ελλάδος (ΕΚΑΑΝΕ). Χρησιμοποιήθηκε το εμπορικά διαθέσιμο kit της ELISA (recomWell HEV IgG kit) από την MIKROGEN DIAGNOSTIK. Είναι ένα τεστ ανίχνευσης (screening) που βασίζεται στην αρχή της μεθόδου της έμμεσης sandwich ELISA.

2.2 Pre-Examination Process

2.2.1 Βιοασφάλεια

Τα δείγματα που περιέχουν class 2 παθογόνους μικροοργανισμούς πρέπει να χειρίζονται προσεκτικά με τη χρήση κατάλληλου προστατευτικού εξοπλισμού. Γάντια νιτριλίου και η εργαστηριακή ποδιά πρέπει να χρησιμοποιούνται πάντα.

Στερεά μολυσματικά απόβλητα (όπως tips από πιπέτες, πιπέτες Pasteur) πρέπει να απορρίπτονται σε πλαστικούς κάδους με βιδωτό καπάκι. Υγρά μολυσματικά απόβλητα συλλέγονται σε ειδικά δοχεία που ασφαλίζουν αεροστεγώς.

2.2.2 Περιορισμοί της Μεθόδου

Όταν τα αποτελέσματα είναι ασαφή, η εξέταση πραγματοποιείται ξανά. Ένα θετικό αποτέλεσμα με το recomWell HEV IgG τεστ υποδεικνύει μια προηγούμενη ή μια ενεργή, κύρια λοίμωξη. Απαιτείται ένα IgM θετικό αποτέλεσμα και ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος ώστε να μπορεί να γίνει ολοκληρωμένη διάγνωση.

Διασταυρούμενες αντιδράσεις με αντισώματα, που παράγονται από λοίμωξη από άλλους ιούς, μπορούν να αποκλειστούν καθώς η μέθοδος έχει υψηλή ειδικότητα και χρησιμοποιεί επιλεγμένα ανασυνδυασμένα HEV αντίγονα.

2.3 Υλικά – Μέθοδοι

2.3.1 Συλλογή και Προετοιμασία Δειγμάτων

Όλα τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν σε μορφή ορού ή πλάσματος και είχαν αποθηκευτεί στους -20°C ή -80°C . Σε περίπτωση που το δείγμα ήταν σε μορφή ολικού αίματος έγινε φυγοκέντρηση στις 3200 rpm για 15 λεπτά και απομόνωση του ορού ή πλάσματος. Τα δείγματα παρέμειναν σε ελαφριά ψύξη ($+2,-8^{\circ}\text{C}$) μέχρι να εξεταστούν και έπειτα φυλάσσονται στην κατάψυξη.

2.3.2 Εξοπλισμός και Αντιδραστήρια

- Απιονισμένο νερό
- Eppendorf σωληνάρια
- Αναδευτήρας (Vortex)
- Αυτόματο πλυστικό μηχάνημα με αντλία (washer)
- Ογκομετρικά δοχεία, 50 ml και 1000 ml
- Πιπέτες με αναλώσιμα tips, 10 μl και 1000 μl
- 10 ml πολύ-επαναλυπτική πιπέτα
- Επωαστήρας 37°C
- Φωτόμετρο
- Χρονοδιακόπτης
- Προστατευτικά γάντια
- Κάδοι για μολυσματικά υλικά
- recomWell HEV IgG:
 - I) 100 ml διαλύματος έκπλυσης (Wash buffer) 10x
 - II) 125 ml ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης (Dilution buffer)
 - III) 12 ml Χρωμογόνο υπόστρωμα (Chromogenic substrate, TMB)
 - IV) 12 ml διάλυμα διακοπής αντίδρασης (Stop solution)
 - V) 2 κομμάτια επικαλυπτικής ταινίας
 - VI) 12x8 πηγάδια σε πλάκα μικροτιτλοδότησης (microplate)
 - VII) 450 μl θετικός μάρτυρας (Positive control, μοβ καπάκι)
 - VIII) 450 μl μάρτυρας – κατώφλι της αντίδρασης (Cut-off control) (κίτρινο καπάκι)
 - IX) 450 μl Αρνητικός μάρτυρας (Negative control, λευκό καπάκι)

X) 500 µl anti-human IgG conjugate 101x (κόκκινο καπάκι)

2.3.3 Αρχή της Μεθόδου

Ανασυνδυσασμένα HEV-ORF2 (γονότυπος 1 και γονότυπος 3) ιικά αντίγωνα είναι τοποθετημένα στον πυθμένα των πηγαδιών της πλάκας μικροτιτλοδότησης.

1. Ορός ή πλάσμα από δείγματα επωάζεται στα πηγάδια, στα οποία τα αντισώματα συγκολλούνται συγκεκριμένα στα αντιγόνα του παθογόνου που εντοπίζονται στην επιφάνεια του πυθμένα.
2. Τα ελεύθερα αντισώματα απομακρύνονται με τις πλύσεις.
3. Σε ένα δεύτερο βήμα, τα αντισώματα ανοσοσφαιρίνης (anti-human immunoglobulin IgG), σε συνδυασμό με την υπεροξειδάση χρένου (horseradish peroxidase), επωάζονται στα πηγάδια.
4. Τα ελεύθερα αντισώματα απομακρύνονται με τις πλύσεις.
5. Τα ειδικά συγκολλημένα αντισώματα ανιχνεύονται από χρωματική αντίδραση της υπεροξειδάσης. Όπου η αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος έχει πραγματοποιηθεί, το χρώμα που αναπτύσσεται από το χρωμογόνο υπόστρωμα είναι ανάλογο με τη ποσότητα των συγκολλημένων HEV IgG αντισωμάτων. Η συγκέντρωση του χρωμογόνου υποστρώματος μπορεί να μετρηθεί με φωτόμετρο ώστε να επιβεβαιωθεί η παρουσία των anti-human HEV IgG αντισωμάτων στο δείγμα.

2.4 Πειραματική Διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής:

1. Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) για 30 λεπτά πριν την έναρξη του τεστ.
2. Ρύθμιση του επωαστήρα στους 37 °C.
3. Προετοιμασία του διαλύματος έκπλυσης (Wash buffer) (αραίωση 1:10).
4. Τοποθέτηση στην βάση της πλάκας μικροτιτλοδότησης.
5. Προσθήκη 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος αραίωσης (dilution buffer) σε κάθε eppendorf σωληνάριο (ένα σωληνάριο για κάθε πηγάδι που θα χρησιμοποιηθεί).
6. Προσθήκη 10 µl από δείγμα και/ή control σε κάθε 1 ml dilution buffer και ανάδευση με vortex.

7. Μεταφορά 100 μl αραιωμένου δείγματος και/ή control στο αντίστοιχο πηγάδι, επικάλυψη των πηγαδιών με επικαλυπτική ταινία και επώαση για 1 ώρα στους 37°C βαθμούς.
8. Αφαίρεση της επικαλυπτικής ταινίας και τοποθέτηση της πλάκας στο μηχάνημα έκπλυσης, όπου κάθε πηγάδι ξεπλένεται με 300 μl διαλύματος έκπλυσης (επανάληψη 4 φορές).
9. Η προετοιμασία του conjugate solution, απαιτεί αραιώση ως εξής: 1ml buffer + 10 μl conjugate.
10. Προσθήκη 100 μl αραιωμένου conjugate solution.
11. Επώαση για 30 λεπτά στους 37 °C.
12. Αφαίρεση της επικαλυπτικής ταινίας και τοποθέτηση της πλάκας στο μηχάνημα έκπλυσης, όπου κάθε πηγάδι ξεπλένεται με 300 μl διαλύματος έκπλυσης (επανάληψη 4 φορές)
13. Προσθήκη 100 μl χρωμογόνου υπόστρωματος (TMB) σε κάθε πηγάδι.
14. Επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (η πλάκα μικροτιτλοδότησης τοποθετείται σε σκοτεινό κουτί)
15. Προσθήκη 100 μl διαλύματος διακοπής αντίδρασης σε κάθε πηγάδι (το substrate solution δεν αφαιρείται πριν τη προσθήκη του stop solution)
16. Φωτομέτρηση στα 450/650 nm.
17. Υπολογισμός του κατωφλιού (cut-off – CO) με τον εξής τρόπο: $CO = CO + 1.2xCO$

2.5 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων γίνεται βάσει της τιμής του κατωφλιού (cut-off). Λόγω της χρήσης 2 θέσεων στο plate ως cut-off αναλύεται η μέση τιμή των δύο τιμών που προκύπτουν. Με βάση τις αναφορές του kit, τα όρια ανίχνευσης είναι τα εξής:

Κατώτατο όριο (Low limit) = cut-off

Ανώτατο όριο (Upper limit) = cut-off + 0.2 x cut-off

Ως γκριζα ζώνη (grey zone) ορίζεται το διάστημα μεταξύ του κατώτατου και ανώτατου ορίου.

- **Αρνητικά** θα χαρακτηριστούν τα δείγματα με τιμές κάτω του grey zone.
- **Οριακά** θα χαρακτηριστούν τα δείγματα με τιμές μέσα στο grey zone.
- **Θετικά** θα χαρακτηριστούν τα δείγματα με τιμές άνω του grey zone.

2.6 Περιορισμοί μεθόδου

Τα αποτελέσματα μπορούν να αξιολογηθούν υπό τις παρακάτω προϋποθέσεις:

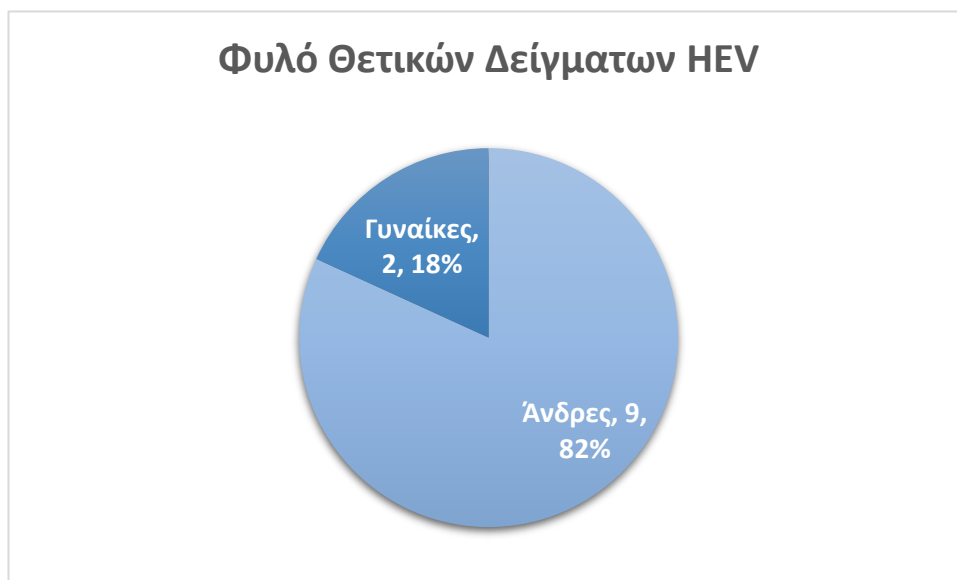
- Όταν οι τιμές των δύο cut-off μαρτύρων δεν διαφέρουν μεταξύ τους για πάνω από το 20% της μέσης τιμής τους.
- Όταν η τιμή του αρνητικού μάρτυρα ≤ 0.150
- Όταν η τιμή του cut-off μάρτυρα – αρνητικού μάρτυρα ≥ 0.050
- Όταν η τιμή του θετικού μάρτυρα – cut-off μάρτυρα ≥ 0.300

3. Αποτελέσματα

Συνολικά αναλυθήκαν 257 δείγματα νεοδιαγνωσθέντων ατόμων που μολύνθηκαν με τον ιό HIV-1, τα οποία αφορούσαν διαγνώσεις του 2022 (112). Τα 200 δείγματα (77,8%) αφορούσαν άνδρες και τα 57 (22,2%) γυναίκες, με διάμεση ηλικία τα 39 έτη (IQR: 30-48).

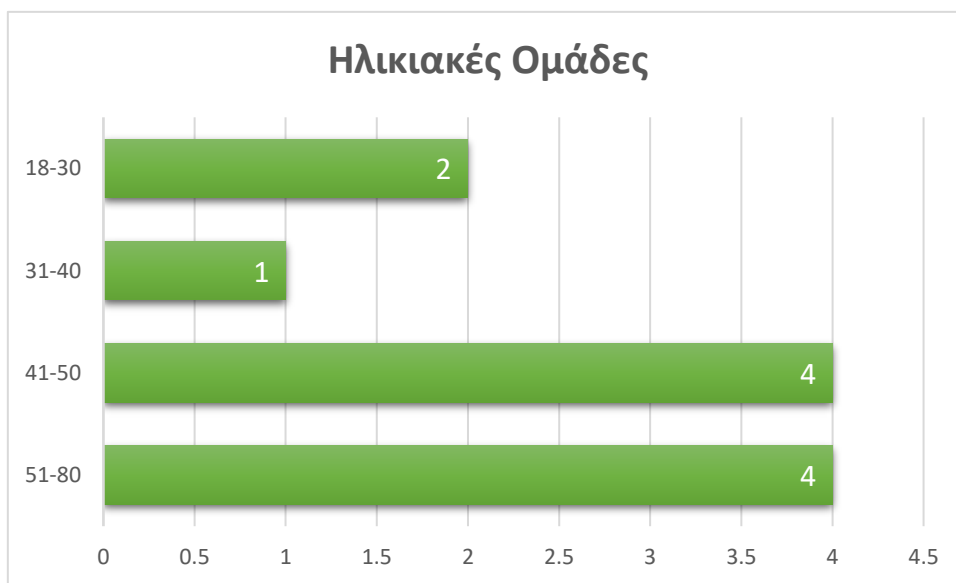


Γράφημα 1: Αποτελέσματα της εργαστηριακής ανίχνευσης antiHEV-IgG αντισωμάτων σε νεοδιαγνωσθέντα άτομα που ζουν με τον ιό HIV-1 (ΕΚΑΑΝΕ 2023).

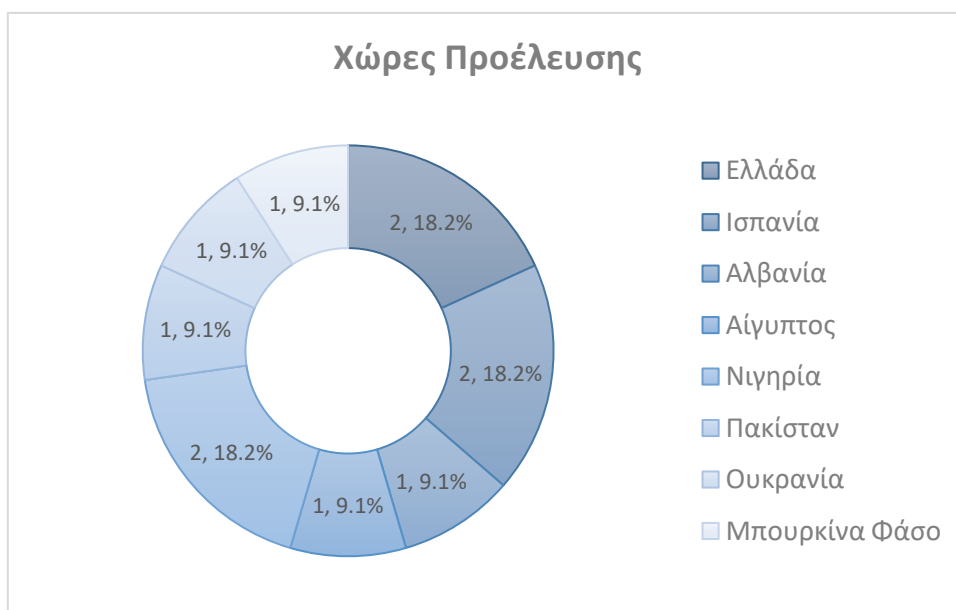


Γράφημα 2: Κατανόμη των φύλων στα θετικά δείγματα για τον HEV.

Σε **11** δείγματα (11/257, **4,3%**) ανιχνεύτηκαν αντισώματα τάξης IgG έναντι του ιού της Ηπατίτιδας Ε και για αυτά βρέθηκε πως η διάμεση ηλικία ήταν τα **46,5** έτη (IQR: 37,5-58). Το φύλο κατά πλειοψηφία ήταν άνδρες (9/11, 81,8%) και προήλθαν από 8 διαφορετικές χώρες της Αφρικής και Μεσογείου. Η διάμεση τιμή του τίτλου των αντισωμάτων τάξης IgG έναντι του ιού HEV για τα 11 θετικά δείγματα υπολογίστηκε στα 42,22 U/ml (IQR: 24,1-50,3). Τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και στην 11^η Πανελλήνια Συνάντηση AIDS, Ηπατίτιδες & Αναδυόμενα Νοσήματα με τη μορφή poster (113).



Γράφημα 3: Κατανομή των ηλικιακών ομάδων στα θετικά δείγματα HEV.



Γράφημα 4: Κατανομή των θετικών δειγμάτων HEV ως προς την χώρα προέλευσης των ατόμων.

Δείγμα	Φύλο	Εθνικότητα	Ηλικία (έτη)	U/ml
1	Ανδρας	Ελληνική	56	23.1
2	Ανδρας	Ισπανική	34	31.4
3	Γυναικά	Αλβανική	81	51.4
4	Ανδρας	Αιγυπτιακή	45	49.2
5	Ανδρας	Νιγηρία	41	22.4
6	Ανδρας	Πακιστανική	24	54
7	Ανδρας	Ισπανική	28	56
8	Ανδρας	Ελληνική	60	21.5
9	Γυναικά	Ουκρανική	63	25.2
10	Ανδρας	Νιγηρία	48	42.2
11	Ανδρας	Μπουρκίνα Φάσο	46	44.7

Πίνακας 2: Δεδομένα θετικών δειγμάτων HEV

4. Συμπεράσματα – Συζήτηση

Τα τελευταία χρόνια, έχει αποκαλυφθεί ότι η λοίμωξη με τον ιό HEV σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, ιδιαίτερα σε λήπτες μεταμοσχευόμενων οργάνων ή μυελού των οστών, οδηγεί σε χρόνια ηπατίτιδα. Σε άτομα που η ανοσοκαταστολή προκαλείται από τον ιό του HIV, τα επιδημιολογικά δεδομένα, οι παράγοντες κινδύνου και οι μακροχρόνιες επιπτώσεις δεν έχουν μελετηθεί αρκετά (107). Η ανοσοκαταστολή από τον ιό HIV φαίνεται πως προκαλεί μια καθυστέρηση στην ανοσολογική απόκριση έναντι της HEV λοίμωξης με αποτέλεσμα ο διαγνωστικός αλγόριθμος να μην μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε αυτό τον πληθυσμό (100,114).

Λόγω της ποικίλας των μεθόδων ανίχνευσης (διαφορετικές ευαισθησίες), τα δεδομένα για τον επιπολασμό της HEV λοίμωξης πρέπει να προσεγγίζονται προσεκτικά. Ο επιπολασμός των anti-HEV IgG αντισωμάτων σε HIV-θετικά άτομα κυμαίνεται από 1.5% έως 11.2%. Η συχνότητα ανίχνευσης του HEV RNA στο πλάσμα των ατόμων που ζουν με τον ιό HIV (People living with HIV, PLWH) κυμαίνεται από 0 έως 1.3% (87,89,96,115). Η πιθανότητα μιας σεξουαλικής μετάδοσης παραμένει θέμα συζήτησης, με μελέτες να προτείνουν ότι πληθυσμός των MSM βρίσκεται σε μεγαλύτερο ρίσκο απόκτησης HEV λοίμωξης (101).

Στην Ελλάδα οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την συνλοίμωξη με τους ιούς HIV-1 και HEV αφορούν κυρίως μεμονωμένα γεωγραφικά διαμερίσματα της χώρας. Χαρακτηριστικά σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην μονάδα HIV του Παθολογικού Τμήματος του Λαϊκού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών, εξετάστηκαν 243 άτομα που ζουν με τον ιό HIV (People living with HIV, PLWH), 214 άνδρες (88%) και 29 γυναίκες (12%) με μέση ηλικία τα 45 έτη (από 19 έως 83 ετών). Τα αποτελέσματα αναφέρουν πως βρέθηκαν θετικοί σε HEV IgG αντισώματα οι 18 συμμετέχοντες (7,3%). Από τους 18 θετικούς ασθενείς οι 16 ήταν αλλοδαπής εθνικότητας αλλά ζούσαν στην Ελλάδα για περισσότερα από 10 χρόνια (99). Επιπλέον, παρόμοια ευρήματα είχε μια μελέτη από τη Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική κλινική του Π.Γ.Ν. Αλεξανδρούπολης, όπου εξετάστηκαν 60 ασθενείς που ζουν με HIV. Θετικά HEV IgG αντισώματα παρουσίασαν 4 ασθενείς (6.7%) με διάμεση ηλικία τα 52 έτη και με τους 3/4 να είναι άνδρες (116). Τα ευρήματα της παρούσας διπλωματικής συμφωνούν με τα όσα αναφέρονται στην βιβλιογραφία και αφορούν τόσο τα ελληνικά δεδομένα όσο και τα ευρωπαϊκά. Το ποσοστό ανίχνευσης αντισωμάτων HEV-IgG

της παρούσας εργασίας προσδιορίστηκε στο 4.3%, που αναμενόταν με βάση τα αποτελέσματα και της προαναφερθείσας μελέτης.

Τα δεδομένα για τον επιπολασμό της ηπατίτιδας Ε σε HIV ατόμων που ζουν με τον ιό HIV (People living with HIV, PLWH) στην Ελλάδα είναι εξαιρετικά περιορισμένα και δεν σχηματίζουν μια ολοκληρωμένη εικόνα για τις κλινικές επιπλοκές ή επιπτώσεις που μπορεί να εμφανίσει η λοίμωξη στην συγκεκριμένη ομάδα ανθρώπων. Σιγουρά ο αυτοπεριορισμός που εμφανίζει η λοίμωξη της ηπατίτιδας Ε σε υγιείς ανθρώπους περιορίζει την ερευνά και πρόληψη αφού δεν χρειάζεται κάποια ιατρική παρέμβαση στην πλειοψηφία των περιστατικών. Φαίνεται ωστόσο πως ο ιός της Ηπατίτιδας Ε έχει μεγάλο εύρος εξάπλωσης στην κοινωνία και πιθανότατα τα νούμερα να είναι μεγαλύτερα από την εκτίμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Αυτό αποτελεί ένα ζήτημα εξέχουσας σημασίας ιδιαίτερα για τις ευπαθείς ομάδες όπως εγκύους και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (μεταμοσχευμένοι, ασθενείς υπό χημειοθεραπεία, HIV θετικά άτομα, λήπτες στεροειδών), καθώς μπορεί να παρουσιάσουν επιπλοκές όπως εξωηπατικές εκδηλώσεις, κεραυνοβόλο ηπατίτιδα ή την πρόοδο της νόσου σε χρόνια ηπατίτιδα Ε. Η χρόνια ηπατίτιδα Ε συχνά προκαλεί κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια στους ανοσοκατέσταλμενους. Σε πρόσφατες μελέτες δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στις εξωηπατικές εκδηλώσεις της νόσου, με ιδιαίτερη προσοχή να δίνεται στις οξείες νευρολογικές εκδηλώσεις χωρίς να υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τον πληθυσμό των HIV θετικών ατόμων (105).

Η λοίμωξη HEV ευθύνεται για το 4% των οξέων ηπατικών δυσλειτουργιών στον HIV θετικό πληθυσμό, αλλά εφόσον ο ασθενής λαμβάνει την αντιρετροϊκή θεραπεία του οι πιθανότητες να εμφανίσει κάποια ηπατική δυσλειτουργία φαίνεται να είναι ίδια με τον γενικό πληθυσμό (114). Γενικότερα ο ιός HEV ανιχνεύεται σε ποσοστό 1-12% των ατόμων που ζουν με τον ιό HIV (People living with HIV, PLWH) και που εμφανίζουν ανεβασμένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων. Ορολογικές εξετάσεις μπορεί να παρουσιάσουν αρνητικά αποτελέσματα σε μια ενεργή λοίμωξη HEV, αφού οι άνθρωποι που ζουν με τον ιό HIV (People living with HIV, PLWH) ενδέχεται να έχουν καθυστερημένη ανοσοποιητική απόκριση ιδιαίτερα όσοι φέρουν χαμηλά ποσοστά CD4 λεμφοκυττάρων. Η μοριακή εξέταση με PCR για την ανίχνευση του HEV RNA προτείνεται έναντι των ορολογικών σε αυτές τις περιπτώσεις. Στην περίπτωση της παρουσίας μιας υποκείμενης ηπατικής πάθησης, η λοίμωξη από HEV μπορεί να εξελιχθεί σε κεραυνοβόλο ηπατίτιδα που με την σειρά της οδηγεί σε μια χρόνια λοίμωξη στους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς.

Επιπλέον οι παρούσες διαθέσιμες επιλογές θεραπείας για την οξεία και χρόνια λοίμωξη HEV δεν είναι επαρκείς, με ελάχιστα δεδομένα να αφορούν την δοσολογία και τον συνδυασμό φαρμάκων στον πληθυσμό των ατόμων που ζουν με τον ιό HIV (People living with HIV, PLWH) (117). Η αξιολόγηση εναλλακτικών θεραπευτικών σχημάτων θα πρέπει να αποτελεί προτεραιότητα. Το εμβόλιο έναντι του ιού HEV που έχει αδειοδοτηθεί για χρήση εντός της Κίνας δεν φαίνεται να διαθέτει δεδομένα για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλειά του σε ευπαθείς ομάδες (48).

Η εμφάνιση της λοίμωξης της ηπατίτιδας E σε άτομα που ζουν με τον HIV παρουσιάζει σημαντικές επιπτώσεις στην κλινική διαχείριση αυτών των ασθενών. Η συνύπαρξη αυτών των λοιμώξεων όχι μόνο περιπλέκει την κλινική πορεία των ασθενών αλλά επιδεικνύει την ανάγκη για καλύτερες και πιο ολοκληρωμένες στρατηγικές ενημέρωσης, ανίχνευσης και διαχείρισης της λοίμωξης με HEV. Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας για την συνλοίμωξη ηπατίτιδας E σε άτομα που ζουν με τον ιό HIV, υποδεικνύουν μια αυξανόμενη ευπάθεια σε θέματα υγείας που αφορούν το ήπαρ και την πιθανή επίδραση στην πρόοδο της HIV λοίμωξης. Περισσότερες μελέτες θα πρέπει να επικεντρωθούν σε μια προσαρμοσμένη ιατρική φροντίδα που συνδυάζει την αντιρετροϊκή θεραπεία με ειδικές παρεμβάσεις για την ηπατίτιδα E. Παράλληλα πρέπει υπάρξουν πρωτοβουλίες από τον τομέα της δημοσίας υγείας για την ενημέρωση και πρόληψη της λοίμωξης HEV. Η κατανόηση των επιπλοκών της συνλοίμωξης HEV-HIV είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών πολιτικών και παρεμβάσεων.

Συμπερασματικά, η αντιμετώπιση της πολύπλοκης ιολογικής αλληλεπίδρασης μεταξύ της ηπατίτιδας E και του ιού HIV σε ασθενείς απαιτεί μια συγκεντρωμένη προσπάθεια από την ιατρική κοινότητα, τους οργανισμούς δημοσίας υγείας και της πολιτείας. Η ενημέρωση, ο έλεγχος του γενικού πληθυσμού και η συνεχής έρευνα για την καλύτερη θεραπευτική προσέγγιση, θα συνδράμουν στην παροχή μιας καλύτερης ποιότητας ζωής στα άτομα που ζουν με τον ιό του HIV.

Βιβλιογραφία

1. Balayart MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, et al. Evidence for a Virus in Non-A, Non-B Hepatitis Transmitted via the Fecal-Oral Route. *Intervirology*. 1983;20(1):23–31.
2. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E Virus Infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014 Jan;27(1):116–38.
3. Maila HT, Bowyer SM, Swanepoel R. Identification of a new strain of hepatitis E virus from an outbreak in Namibia in 1995. *Journal of General Virology*. 2004 Jan 1;85(1):89–95.
4. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Xia NS, Ijaz S, Izopet J, et al. Hepatitis E. *The Lancet*. 2012 Jun;379(9835):2477–88.
5. Guu TSY, Liu Z, Ye Q, Mata DA, Li K, Yin C, et al. Structure of the hepatitis E virus-like particle suggests mechanisms for virus assembly and receptor binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Aug 4;106(31):12992–7.
6. Hassing RJ, van der Eijk AA, Lopes VB, Snijdewind IJ, de Man RA, Pas SD, et al. Hepatitis E prevalence among HIV infected patients with elevated liver enzymes in the Netherlands. *Journal of Clinical Virology*. 2014 Aug 1;60(4):408–10.
7. Chapuy-Regaud S, Dubois M, Plisson-Chastang C, Bonnefois T, Lhomme S, Bertrand-Michel J, et al. Characterization of the lipid envelope of exosome encapsulated HEV particles protected from the immune response. *Biochimie*. 2017 Oct;141:70–9.
8. Suneetha PV, Pischke S, Schlaphoff V, Grabowski J, Fytali P, Gronert A, et al. Hepatitis E virus (HEV)-specific T-cell responses are associated with control of HEV infection. *Hepatology*. 2012 Mar;55(3):695–708.
9. Abravanel F, Barragué H, Dörr G, Sauné K, Péron JM, Alric L, et al. Conventional and innate lymphocytes response at the acute phase of HEV infection in transplanted patients. *Journal of Infection*. 2016 Jun;72(6):723–30.
10. Cao D, Cao QM, Subramaniam S, Yugo DM, Heffron CL, Rogers AJ, et al. Pig model mimicking chronic hepatitis E virus infection in immunocompromised patients to assess

- immune correlates during chronicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017 Jul 3;114(27):6914–23.
11. Aggarwal R, Kini D, Sofat S, Naik SR, Krawczynski K. Duration of viraemia and faecal viral excretion in acute hepatitis E. *The Lancet*. 2000 Sep;356(9235):1081–2.
 12. Williams TPE, Kasorndorkbua C, Halbur PG, Haqshenas G, Guenette DK, Toth TE, et al. Evidence of Extrahepatic Sites of Replication of the Hepatitis E Virus in a Swine Model. *J Clin Microbiol*. 2001 Sep;39(9):3040–6.
 13. Geng Y, Zhao C, Huang W, Harrison TJ, Zhang H, Geng K, et al. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J Hepatol*. 2016 Jan;64(1):37–43.
 14. Drave SA, Debing Y, Walter S, Todt D, Engelmann M, Friesland M, et al. Extra-hepatic replication and infection of hepatitis E virus in neuronal-derived cells. *J Viral Hepat*. 2016 Jul 19;23(7):512–21.
 15. Pischke S, Hiller J, Lütgehetmann M, Polywka S, Rybczynski M, Ayuk F, et al. Blood-borne Hepatitis E Virus Transmission: A Relevant Risk for Immunosuppressed Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2016 Aug 15;63(4):569–70.
 16. Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ, Yao X, et al. Protection against hepatitis E virus infection by naturally acquired and vaccine-induced immunity. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014 Jun;20(6):O397–405.
 17. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis*. 2008 Nov;8(11):698–709.
 18. Blasco-Perrin H, Madden RG, Stanley A, Crossan C, Hunter JG, Vine L, et al. Hepatitis E virus in patients with decompensated chronic liver disease: a prospective <sc>UK</sc> /French study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015 Sep 14;42(5):574–81.
 19. Labrique AB, Krain LJ, Atwell JE, Nelson KE. Fetal and Neonatal Health Consequences of Vertically Transmitted Hepatitis E Virus Infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2014 Feb 5;90(2):365–70.
 20. Shalimar, Kedia S, Mahapatra SJ, Nayak B, Gunjan D, Thakur B, et al. Severity and Outcome of Acute-on-Chronic Liver Failure is Dependent on the Etiology of Acute Hepatic Insults. *J Clin Gastroenterol*. 2017 Sep;51(8):734–41.

21. Manka P, Bechmann LP, Coombes JD, Thodou V, Schlattjan M, Kahraman A, et al. Hepatitis E Virus Infection as a Possible Cause of Acute Liver Failure in Europe. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015 Oct;13(10):1836-1842.e2.
22. Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E: An emerging awareness of an old disease. *J Hepatol*. 2008 Mar;48(3):494–503.
23. Meng XJ, Halbur PG, Haynes JS, Tsareva TS, Bruna JD, Royer RL, 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*. 1998 Jul 7;143(7):1405–15.
24. La Rosa G, Pourshaban M, Iaconelli M, Spuri Vennarucci V, Muscillo M. Molecular Detection of Hepatitis E Virus in Sewage Samples. *Appl Environ Microbiol*. 2010 Sep;76(17):5870–3.
25. Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses*. 2016 Oct 3;8(10):270.
26. Schlosser J, Eiden M, Vina-Rodriguez A, Fast C, Dremsek P, Lange E, et al. Natural and experimental hepatitis E virus genotype 3 - infection in European wild boar is transmissible to domestic pigs. *Vet Res*. 2014 Dec 26;45(1):121.
27. Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, Lhomme S, Marchandeu S, Boucher S, et al. Hepatitis E Virus Strains in Rabbits and Evidence of a Closely Related Strain in Humans, France. *Emerg Infect Dis*. 2012 Aug;18(8):1274–81.
28. Yan B, Zhang L, Gong L, Lv J, Feng Y, Liu J, et al. Hepatitis E Virus in Yellow Cattle, Shandong, Eastern China. *Emerg Infect Dis*. 2016 Dec;22(12):2211–2.
29. Casas M, Cortés R, Pina S, Peralta B, Allepuz A, Cortey M, et al. Longitudinal study of hepatitis E virus infection in Spanish farrow-to-finish swine herds. *Vet Microbiol*. 2011 Feb;148(1):27–34.
30. Salines M, Andraud M, Rose N. From the epidemiology of hepatitis E virus (HEV) within the swine reservoir to public health risk mitigation strategies: a comprehensive review. *Vet Res*. 2017 Dec 25;48(1):31.

31. Barnaud E, Rogée S, Garry P, Rose N, Pavio N. Thermal Inactivation of Infectious Hepatitis E Virus in Experimentally Contaminated Food. *Appl Environ Microbiol.* 2012 Aug;78(15):5153–9.
32. Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A, et al. Hepatitis E Outbreak on Cruise Ship. *Emerg Infect Dis.* 2009 Nov;15(11):1738–44.
33. Crossan C, Baker PJ, Craft J, Takeuchi Y, Dalton HR, Scobie L. Hepatitis E Virus Genotype 3 in Shellfish, United Kingdom. *Emerg Infect Dis.* 2012 Dec;18(12):2085–7.
34. Diez-Valcarce M, Kokkinos P, Söderberg K, Bouwknecht M, Willems K, de Roda-Husman AM, et al. Occurrence of Human Enteric Viruses in Commercial Mussels at Retail Level in Three European Countries. *Food Environ Virol.* 2012 Jun 12;4(2):73–80.
35. Christensen PB, Engle RE, Hjort C, Homburg KM, Vach W, Georgsen J, et al. Time Trend of the Prevalence of Hepatitis E Antibodies among Farmers and Blood Donors: A Potential Zoonosis in Denmark. *Clinical Infectious Diseases.* 2008 Oct 15;47(8):1026–31.
36. Hewitt PE, Ijaz S, Brailsford SR, Brett R, Dicks S, Haywood B, et al. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *The Lancet.* 2014 Nov;384(9956):1766–73.
37. Zhang L, Jiao S, Yang Z, Xu L, Liu L, Feng Q, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among blood donors in mainland China: a meta-analysis. *Transfusion (Paris).* 2017 Feb 30;57(2):248–57.
38. Satake M, Matsubayashi K, Hoshi Y, Taira R, Furui Y, Kokudo N, et al. Unique clinical courses of transfusion-transmitted hepatitis E in patients with immunosuppression. *Transfusion (Paris).* 2017 Feb 31;57(2):280–8.
39. Baylis SA, Crossan C, Corman VM, Blümel J, Scobie L, Dalton HR. Unusual serological response to hepatitis E virus in plasma donors consistent with re-infection. *Vox Sang.* 2015 Nov 29;109(4):406–9.
40. Kumar S, Subhadra S, Singh B, Panda BK. Hepatitis E virus: the current scenario. *International Journal of Infectious Diseases.* 2013 Apr;17(4):e228–33.

41. Ruggeri FM, Di Bartolo I, Ponterio E, Angeloni G, Trevisani M, Ostanello F. Zoonotic transmission of hepatitis E virus in industrialized countries. *New Microbiol.* 2013 Oct;36(4):331–44.
42. Khuroo MS, Kamili S, Khuroo MS. Clinical course and duration of viremia in vertically transmitted hepatitis E virus (HEV) infection in babies born to HEV-infected mothers. *J Viral Hepat.* 2009 Jul 10;16(7):519–23.
43. Nelson KE, Kmush B, Labrique AB. The epidemiology of hepatitis E virus infections in developed countries and among immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 Dec 10;9(12):1133–48.
44. WATERBORNE OUTBREAKS OF HEPATITIS E: RECOGNITION, INVESTIGATION AND CONTROL.
45. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol.* 2008 Mar;123(1–2):32–7.
46. Schielke A, Ibrahim V, Czogiel I, Faber M, Schrader C, Dremsek P, et al. Hepatitis E virus antibody prevalence in hunters from a district in Central Germany, 2013: a cross-sectional study providing evidence for the benefit of protective gloves during disembowelling of wild boars. *BMC Infect Dis.* 2015 Dec 22;15(1):440.
47. Zhang J, Zhang XF, Huang SJ, Wu T, Hu YM, Wang ZZ, et al. Long-Term Efficacy of a Hepatitis E Vaccine. *New England Journal of Medicine.* 2015 Mar 5;372(10):914–22.
48. Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 11-12 June 2014. *Wkly Epidemiol Rec.* 2014 Jul 18;89(29):325–35.
49. Aggarwal R. Diagnosis of hepatitis E. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013 Jan 2;10(1):24–33.
50. Huang S, Zhang X, Jiang H, Yan Q, Ai X, Wang Y, et al. Profile of Acute Infectious Markers in Sporadic Hepatitis E. *PLoS One.* 2010 Oct 21;5(10):e13560.
51. Hartl J, Otto B, Madden R, Webb G, Woolson K, Kriston L, et al. Hepatitis E Seroprevalence in Europe: A Meta-Analysis. *Viruses.* 2016 Aug 6;8(8):211.

52. Mansuy JM, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Sauné K, Miédouge M, Ellis V, et al. Hepatitis E Virus Antibodies in Blood Donors, France. *Emerg Infect Dis*. 2011 Dec;17(12):2309–12.
53. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Miedougé M, Peron JM, Alric L, et al. Performance of anti-HEV assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. *Journal of Clinical Virology*. 2013 Dec;58(4):624–8.
54. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Muscari F, Sallusto F, et al. Hepatitis E Virus Reinfections in Solid-Organ-Transplant Recipients Can Evolve Into Chronic Infections. *Journal of Infectious Diseases*. 2014 Jun 15;209(12):1900–6.
55. Mushahwar IK. Hepatitis E virus: Molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol*. 2008 Apr 22;80(4):646–58.
56. Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2011 Oct;161(1):47–58.
57. Wu W, Su C, Yang J, Lin S, Chen J, Wu J. Application of serologic assays for diagnosing acute hepatitis E in national surveillance of a nonendemic area. *J Med Virol*. 2014 Apr 7;86(4):720–8.
58. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Dubois M, Peron JM, Alric L, et al. Performance of Two Commercial Assays for Detecting Hepatitis E Virus RNA in Acute or Chronic Infections. *J Clin Microbiol*. 2013 Jun;51(6):1913–6.
59. Abravanel F, Sandres-Saune K, Lhomme S, Dubois M, Mansuy JM, Izopet J. Genotype 3 Diversity and Quantification of Hepatitis E Virus RNA. *J Clin Microbiol*. 2012 Mar;50(3):897–902.
60. Sauleda S, Ong E, Bes M, Janssen A, Cory R, Babizki M, et al. Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) and detection of HEV RNA with a transcription-mediated amplification assay in blood donors from Catalonia (Spain). *Transfusion (Paris)*. 2015 May 18;55(5):972–9.
61. Debing Y, Ramière C, Dallmeier K, Piorkowski G, Traub MA, Lebossé F, et al. Hepatitis E virus mutations associated with ribavirin treatment failure result in altered viral fitness and ribavirin sensitivity. *J Hepatol*. 2016 Sep;65(3):499–508.

62. Lhomme S, Kamar N, Nicot F, Ducos J, Bismuth M, Garrigue V, et al. Mutation in the Hepatitis E Virus Polymerase and Outcome of Ribavirin Therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Mar;60(3):1608–14.
63. Trémeaux P, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Peron JM, Alric L, Kamar N, et al. Performance of an antigen assay for diagnosing acute hepatitis E virus genotype 3 infection. *Journal of Clinical Virology.* 2016 Jun;79:1–5.
64. Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Protracted Fecal Shedding of HEV During Ribavirin Therapy Predicts Treatment Relapse. *Clinical Infectious Diseases.* 2015 Jan 1;60(1):96–9.
65. Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol.* 2006 Jan 21;16(1):5–36.
66. Teo CG. Much meat, much malady: changing perceptions of the epidemiology of hepatitis E. *Clinical Microbiology and Infection.* 2010 Jan;16(1):24–32.
67. Bader TF, Krawczynski K, Polish LB, Favorov MO. Hepatitis E in a U.S. traveler to Mexico. *N Engl J Med.* 1991 Dec 5;325(23):1659.
68. Meng XJ. Zoonotic and Foodborne Transmission of Hepatitis E Virus. *Semin Liver Dis.* 2013 Apr 5;33(01):041–9.
69. Lack JB, Volk K, Van Den Bussche RA. Hepatitis E Virus Genotype 3 in Wild Rats, United States. *Emerg Infect Dis.* 2012 Aug;18(8).
70. Aggarwal R. Hepatitis E: Historical, contemporary and future perspectives. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Jan 4;26(s1):72–82.
71. Primadharsini PP, Nagashima S, Okamoto H. Genetic Variability and Evolution of Hepatitis E Virus. *Viruses.* 2019 May 18;11(5):456.
72. WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>. 2023. Hepatitis E fact sheet. In: World Health Organization.
73. Naik SR, Aggarwal R, Salunke PN, Mehrotra NN. A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur, India. *Bull World Health Organ.* 1992;70(5):597–604.
74. Khuroo MS. Chronic liver disease after non-A, non-B hepatitis. *Lancet.* 1980 Oct 18;2(8199):860–1.

75. Teshale EH, Grytdal SP, Howard C, Barry V, Kamili S, Drobeniuc J, et al. Evidence of Person-to-Person Transmission of Hepatitis E Virus during a Large Outbreak in Northern Uganda. *Clinical Infectious Diseases*. 2010 Apr;50(7):1006–10.
76. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Investigation of hepatitis E outbreak among refugees - Upper Nile, South Sudan, 2012-2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013 Jul 26;62(29):581–6.
77. Aggarwal R, Naik SR. Hepatitis E: intrafamilial transmission versus waterborne spread. *J Hepatol*. 1994 Jan;21(5):718–23.
78. Somani SK, Aggarwal R, Naik SR, Srivastava S, Naik S. A serological study of intrafamilial spread from patients with sporadic hepatitis E virus infection. *J Viral Hepat*. 2003 Nov 17;10(6):446–9.
79. Aggarwal R. Hepatitis E Virus and Person-to-Person Transmission. *Clinical Infectious Diseases*. 2010 Aug 15;51(4):477–8.
80. Nishiura H. Household Data from the Ugandan Hepatitis E Virus Outbreak Indicate the Dominance of Community Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2010 Jul;51(1):117–8.
81. Shehata MH, Purcell RH, Strickland GT, Habib M, Emerson SU, Abdel-Hamid M, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E in two rural Egyptian communities. *Am J Trop Med Hyg*. 2000 Apr 1;62(4):519–23.
82. Stoszek SK, Abdel-Hamid M, Saleh DA, Kafrawy S El, Narooz S, Hawash Y, et al. High prevalence of hepatitis E antibodies in pregnant Egyptian women. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006 Feb;100(2):95–101.
83. Aspinall EJ, Couturier E, Faber M, Said B, Ijaz S, Tavošchi L, et al. Hepatitis E virus infection in Europe: surveillance and descriptive epidemiology of confirmed cases, 2005 to 2015. *Eurosurveillance*. 2017 Jun 29;22(26).
84. Wenzel JJ, Sichler M, Schemmerer M, Behrens G, Leitzmann MF, Jilg W. Decline in hepatitis E virus antibody prevalence in southeastern Germany, 1996-2011. *Hepatology*. 2014 Oct;60(4):1180–6.

85. Denner J, Pischke S, Steinmann E, Blümel J, Glebe D. Why all blood donations should be tested for hepatitis e virus (HEV). Vol. 19, BMC Infectious Diseases. BioMed Central Ltd.; 2019.
86. Kuniholm MH, Purcell RH, McQuillan GM, Engle RE, Wasley A, Nelson KE. Epidemiology of Hepatitis E Virus in the United States: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *J Infect Dis.* 2009 Jul;200(1):48–56.
87. Kaba M, Richet H, Ravaux I, Moreau J, Poizot-Martin I, Motte A, et al. Hepatitis E virus infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. *J Med Virol.* 2011 Oct 11;83(10):1704–16.
88. Rivero-Juarez A, Martinez-Dueñas L, Martinez-Peinado A, Camacho A, Cifuentes C, Gordon A, et al. High hepatitis E virus seroprevalence with absence of chronic infection in HIV-infected patients. *Journal of Infection.* 2015 Jun 1;70(6):624–30.
89. Keane F, Gompels M, Bendall R, Drayton R, Jennings L, Black J, et al. Hepatitis E virus coinfection in patients with HIV infection. *HIV Med.* 2012 Jan 7;13(1):83–8.
90. Scotto G, Grisorio B, Filippini P, Ferrara S, Massa S, Bulla F, et al. Hepatitis E virus coinfection in HIV-infected patients in Foggia and Naples in southern Italy. *Infect Dis.* 2015 Oct 3;47(10):707–13.
91. Sherman KE, Terrault N, Barin B, Rouster SD, Shata MT. Hepatitis E infection in <scp>HIV</scp> -infected liver and kidney transplant candidates. *J Viral Hepat.* 2014 Aug 28;21(8).
92. Zhou S, Ren L, Xia X, Miao Z, Huang F, Li Y, et al. Hepatitis E virus infection in HIV-infected patients: A large cohort study in Yunnan province, China. *J Med Virol.* 2018 Jun 12;90(6):1121–7.
93. Caron M, Bouscaillou J, Kazanji M. Acute risk for hepatitis e virus infection among HIV-1-positive pregnant women in central Africa. *Virol J.* 2012;9.
94. Mancinelli S, Pirillo MF, Liotta G, Andreotti M, Jere H, Sagnò JB, et al. Hepatitis E virus infection in HIV-infected pregnant women and their children in Malawi. *Infect Dis.* 2017 Sep 2;49(9):708–11.

95. Abebe M, Ali I, Ayele S, Overbo J, Aseffa A, Mihret A. Seroprevalence and risk factors of Hepatitis E Virus infection among pregnant women in Addis Ababa, Ethiopia. *PLoS One*. 2017 Jun 26;12(6):e0180078.
96. Jardi R, Crespo M, Homs M, van den Eynde E, Girones R, Rodriguez-Manzano J, et al. <scp>HIV</scp> , <scp>HEV</scp> and cirrhosis: evidence of a possible link from eastern Spain. *HIV Med*. 2012 Jul 18;13(6):379–83.
97. Jenne CN, Kubes P. Immune surveillance by the liver. *Nat Immunol*. 2013 Oct 18;14(10):996–1006.
98. Rapicetta M, Monarca R, Kondili LA, Chionne P, Madonna E, Madeddu G, et al. Hepatitis E virus and hepatitis A virus exposures in an apparently healthy high-risk population in Italy. *Infection*. 2013 Feb 22;41(1):69–76.
99. Politou M, Boti S, Androutsakos T, Valsami S, Pittaras T, Kapsimali V. Seroprevalence of hepatitis E in HIV infected patients in Greece. *J Med Virol*. 2015 Sep;87(9):1517–20.
100. Kuniholm MH, Ong E, Hogema BM, Koppelman M, Anastos K, Peters MG, et al. Acute and Chronic Hepatitis E Virus Infection in Human Immunodeficiency Virus-Infected U.S. Women. *Hepatology*. 2016 Mar 16;63(3):712–20.
101. Payne BAI, Medhi M, Ijaz S, Valappil M, Savage EJ, Gill ON, et al. Hepatitis E Virus Seroprevalence among Men Who Have Sex with Men, United Kingdom. *Emerg Infect Dis*. 2013 Feb;19(2):333–6.
102. Lanini S, Garbuglia AR, Lapa D, Puro V, Navarra A, Pergola C, et al. Epidemiology of HEV in the Mediterranean basin: 10-year prevalence in Italy. *BMJ Open*. 2015 Jul 14;5(7):e007110.
103. PÉron JM, Mansuy JM, Poirson H, Bureau C, Dupuis E, Alric L, et al. Hepatitis E is an autochthonous disease in industrialized countries. *Gastroenterol Clin Biol*. 2006 May;30(5):757–62.
104. Kamar N, Bendall RP, Peron JM, Cintas P, Prudhomme L, Mansuy JM, et al. Hepatitis E Virus and Neurologic Disorders. *Emerg Infect Dis*. 2011 Feb;17(2):173–9.
105. Woolson KL, Forbes A, Vine L, Beynon L, McElhinney L, Panayi V, et al. Extra-hepatic manifestations of autochthonous hepatitis E infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014 Dec 10;40(11–12):1282–91.

106. Haffar S, Bazerbachi F, Garg S, Lake JR, Freeman ML. Frequency and prognosis of acute pancreatitis associated with acute hepatitis E: A systematic review. *Pancreatology*. 2015 Jul;15(4):321–6.
107. Kenfak-Foguena A, Schöni-Affolter F, Bürgisser P, Witteck A, Darling KEA, Kovari H, et al. Hepatitis E Virus Seroprevalence and Chronic Infections in Patients with HIV, Switzerland. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jun;17(6):1074–8.
108. Dalton HR, Kamar N, Baylis SA, Moradpour D, Wedemeyer H, Negro F. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol*. 2018 Jun;68(6):1256–71.
109. Andersson MI, Preiser W, Maponga TG, Heys I, Taljaard JJ, van Rensburg C, et al. Immune reconstitution hepatitis E. *AIDS*. 2013 Jan 28;27(3):487–9.
110. Rodger, A. J., Cambiano, V., Bruun, T., Vernazza, P., Collins, et al. “Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study,” *The Lancet*, vol. 393, no. 10189, pp. 2428–2438, Jun. 2019, doi: 10.1016/S0140-6736(19)30418-0.
111. Cohen, M. S. Successful treatment of HIV eliminates sexual transmission. *The Lancet*, 393(10189), 2366–2367. Jun 2019, doi: 10.1016/S0140-6736(19)30701-9.
112. Ανδρουτσοπούλου Μαρία, Μιλάι Κλαούντια. Ανίχνευση & Εργαστηριακή Παρακολούθηση της HIV-1 Λοίμωξης. Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, 2023
113. Ρέστα Παναγιώτα, Γκούμας Δημήτριος, Πρόκτερ Κασσάνδρα, Παπαβασιλόπουλος Βασίλειος, Τζανακάκη Τζωρτζίνα, Μπελούκας Απόστολος. (2023) ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Ε ΣΕ ΝΕΟΔΙΑΓΝΩΣΘΕΝΤΑ ΑΤΟΜΑ ΠΟΥ ΖΟΥΝ ΜΕ ΤΟΝ ΙΟ HIV-1. Αθήνα: 11η Πανελλήνια Συνάντηση (AIDS, Ηπατίτιδες & Αναδυόμενα Νοσήματα).
114. Pineda JA, Cifuentes C, Parra M, Merchante N, Pérez-Navarro E, Rivero-Juárez A, et al. Incidence and natural history of hepatitis E virus coinfection among HIV-infected patients. *AIDS*. 2014 Aug 24;28(13):1931–7.
115. Crum-Cianflone NF, Curry J, Drobeniuc J, Weintrob A, Landrum M, Ganesan A, et al. Hepatitis E Virus Infection in HIV-infected Persons. *Emerg Infect Dis*. 2012 Mar;18(3):502–6.

116. Σταματίου Ηλιάννα, Πετράκης Βασίλειος, Πανοπούλου Μαρία, Μιμίδης Κων/νος, Παπάζογλου Δημήτριος, Παναγόπουλος Περικλής. ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Ε ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΖΟΥΝ ΜΕ HIV ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΑΚΗΣ. In: ΒΙΒΛΙΟ ΠΕΡΙΛΗΨΕΩΝ (34ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ AIDS). ΑΘΗΝΑ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΟΥ AIDS; 2022.
117. Rivero-Juarez A, Lopez-Lopez P, Frias M, Rivero A. Hepatitis E Infection in HIV-1 Infected Patients. *Front Microbiol.* 2019 Jun 26;10.

Παράρτημα

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1	Σχηματική αναπαράσταση του HEV γονιδιώματος
Εικόνα 2	Σχηματική απεικόνιση των κατηγοριών μεθόδων ανίχνευσης HEV λοίμωξης.
Εικόνα 3	Γραφική απεικόνιση των διαγνωστικών δεικτών κατά την πορεία της λοίμωξης.
Εικόνα 4	Σχηματική απεικόνιση του διαγνωστικού αλγορίθμου σε περίπτωση υποψίας HEV λοίμωξης με βάση τα αυξημένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων.
Εικόνα 5	Παγκόσμια κατανομή των HEV γονοτύπων.

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1	Σύνοψη των διαγνωστικών δεικτών.
Πίνακας 2	Δεδομένα θετικών δειγμάτων HEV.

Κατάλογος Γραφημάτων

Γράφημα 1	Αποτελέσματα της εργαστηριακής ανίχνευσης antiHEV-IgG αντισωμάτων σε νεοδιαγνωσθέντα άτομα που ζουν με τον ιό HIV-1
Γράφημα 2	Κατανόμη των φύλων στα θετικά δείγματα για τον HEV
Γράφημα 3	Κατανομή των ηλικιακών ομάδων στα θετικά δείγματα HEV.
Γράφημα 4	Κατανομή των θετικών δειγμάτων HEV ως προς την χώρα προέλευσης των ατόμων.