

Жаворонок С.В., доктор медицинских наук, профессор¹

Арабей А.А., научный сотрудник¹

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук²

Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук²

Красочко П.А., доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор³

Михайлов М.М., доктор биологических наук, профессор⁴

Алаторцева Г.И., кандидат биологических наук⁴

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского», г. Минск

³УО «Витебская «ордена Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

⁴ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАН, г. Москва

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГЕПАТИТА E СРЕДИ ПОГОЛОВЬЯ СВИНЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Резюме

Проведены серологические исследования 987 сывороток крови от свиней, содержащихся на 87 свиноводческих комплексах Республики Беларусь на наличие антител к вирусу гепатита E (ВГЕ).

Установлено, что частота встречаемости антител к ВГЕ в отдельных хозяйствах у свиней варьировала от 0 до 100 %. При этом 100 % выявления антител к ВГЕ у свиней встречалась на 6 фермах (11,3 %), а 0 % – на 34 (39 %). На большей части свинокомплексов (44) частота обнаружения анти-ВГЕ иммуноглобулинов колеблется от 7 до 60 %.

Summary

Serological researches of 987 pig's blood sera samples from 87 pig breeding complexes of the Republic of Belarus for the presence of antibodies against hepatitis E virus (HEV) were conducted.

It was established that the frequency of the detection of antibodies against HEV on pig breeding farms is ranged from 0 to 100 %. At the same time, 100 % of the detection of antibodies against HEV in pigs was observed on 6 farms (11.3 %), and 0% – on 34 (39 %). The frequency of the detection of anti-HEV immunoglobulins varies from 7 to 60 % on the majority of pig complexes (44).

Поступила в редакцию 26.04.2017 г.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус гепатита E (ВГЕ) относится к роду *Hepevirus* семейства *Hepeviridae* и чаще всего передается через инфицированную воду и пищу благодаря алиментарному механизму. ВГЕ является безоболочечным икосаэдральным вирусом диаметром 27–34 нм, содержащим молекулу РНК 7,2 кб с тремя открытыми рамками считывания (ОРС 1–3) [1]. Относительно недавно учёные решили прояснить существующую классификацию семейства *Hepeviridae* после открытия сильно отличающихся друг от друга вирусов, имеющих аналогичную ге-

номную организацию с ВГЕ, но достаточно низкое сродство аминокислотных последовательностей нуклеотидов [2]. Было предложено классифицировать ВГЕ также, как и вирусы гепатита С, изменив при этом название рода *Hepevirus* на *Orthohepevirus A-D*. Данные корректировки по мнению авторов необходимы для группировки всех членов семейства *Hepeviridae* в один род. При этом новая классификация не затрагивает четыре ранее открытых генотипа ВГЕ, а объединяет их в *Orthohepevirus A* с добавлением ещё трёх генотипов.

ВГЕ 1 и 2 генотипов опасен исключи-

тельно для человека и является эндемичным заболеванием в ряде южных стран. 1 и 2 генотипы могут вызывать как спорадические случаи инфицирования, так и эпидемии из-за загрязнённой питьевой воды. Генотипы 3 и 4 являются причиной возникновения острого ВГЕ у людей в большинстве развитых, в том числе Европейских стран у лиц, которые никогда не путешествовали, при этом заболевание чаще всего протекает бессимптомно. Эти же генотипы были выявлены у домашних свиней, диких кабанов и оленей [3, 4]. Генотипы 5 и 6 обнаружены у диких кабанов в Японии, а генотип 7 – у одногорбых верблюдов в Дубае [2].

Основными симптомами ВГЕ являются холестатическая желтуха, лихорадка, озноб и боли в абдоминальной области. ВГЕ в период разгара активно реплицируется в клетках печени и поэтому в больших количествах содержится в желчи и фекалиях [5]. Согласно статистическим данным летальный исход при ВГЕ наблюдается в 1 % случаев. Тем не менее, у детей с иммуносупрессией может развиться хронический гепатит с циррозом печени, а уровень смертности среди беременных женщин, инфицированных ВГЕ 1 или 2 генотипа, колеблется в пределах 20–25 % [6].

Известно, что 3 и 4 генотипы ВГЕ инфицируют свиней, при этом заболевание у них протекает бессимптомно [3]. Доказано, что ВГЕ 3 генотипа является зооантропонозной инфекцией, благодаря экспериментальным исследованиям по заражению макак штаммами свиного вируса. Выявление аналогичного генома ВГЕ у людей и свиней подтверждает опасность инфицирования человека при употреблении инфицированных мясных продуктов из свинины, а также при непосредственном контакте с животными [7]. Установлено, что у ветеринаров, контактирующих со свиньями, часто встречаются анти-ВГЕ иммуноглобулины [8]. Кроме того, РНК ВГЕ или специфические антитела были обнаружены у мясников и работников скотобоев в различных странах. Существует предположение, что передача ВГЕ от свиней к людям возможна во время забоя, а при прямом контакте со свиньями

возрастает риск инфицирования работников [9].

Многочисленные исследования показали наличие ВГЕ на фермерских хозяйствах, скотобойнях и мясных лавках, однако эпидемиологические данные весьма ограничены и до сих пор до конца не установлены возможные пути передачи вируса в поголовье свиней в пределах хозяйства, а также по всей цепи производства свиных мясopодуKтоB [10].

Ранее нами было проведено исследование на наличие антител к ВГЕ, а также вирусной РНК в поголовье кроликов на территории Республики Беларусь. Установлено, что штамм ВГЕ белорусской популяции кроликов близок к генотипу 3 [12].

По современным представлениям домашние свиньи и дикие кабаны являются основным резервуаром 3 и 4 генотипов ВГЕ, при этом заболевание имеет бессимптомное течение и вирус можно обнаружить в фекалиях на 3–7 неделе с момента инфицирования. Распространённость ВГЕ среди свиней варьируется в зависимости от страны и согласно опубликованным данным встречается во всём мире. В Великобритании ВГЕ встречается у свиней в 22,5 % случаев, в Китае – 26 % [10]. В Канаде при обследовании 998 свиней в возрасте до 6 месяцев у 60 % выявлены антитела к ВГЕ [13]. Другое исследование показало, что в Квебеке (Канада) распространённость ВГЕ на 70 различных свинофермах колебалась в пределах до 43 % в зависимости от исследуемого региона [14]. Кроме того, национальный канадский обзор сообщил о выявлении вирусной РНК в 9 % исследуемой свиной печени [11]. В Канаде в продуктах из свинины, у заражённых людей и на хозяйствах по выращиванию клубники выявлен лишь 3 генотип ВГЕ [6]. При обследовании домашних свиней в Нигерии на наличие анти-ВГЕ IgG у 159 из 286 выявлен положительный результат, что составило 55,6 %. Вирусная РНК была обнаружена в 76,7 % случаев (69 из 90), при этом полученный вирус относился к 3 генотипу [15]. В Мексике анти-ВГЕ иммуноглобулины обнаруживались у свиней в 30,75 % случа-

ев [16]. В Италии при исследовании фекалий домашних свиней вирусная РНК выявлена у 7,3 % [17]. На территории Российской Федерации при обследовании 17 свиноводческих ферм из 6 регионов страны ВГЕ не был выявлен лишь на трёх из них [18].

Цель данного исследования – установление частоты выявления анти-ВГЕ иммуноглобулинов для оценки распространения вирусного гепатита Е среди поголовья домашних свиней в свиноводческих хозяйствах и частных подворьях различных областей Республики Беларусь, а также у диких кабанов охотничьих угодий страны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего исследовано 987 сывороток крови свиней, содержащихся на 87 свиноводческих комплексах Минской, Могилёвской и Витебской областей. Качественное определение антител к ВГЕ осуществляли с помощью набора реагентов для иммуноферментного выявления антител к вирусу гепатита Е ЗАО «Вектор-Бест», РФ. Вместо специфического конъюгата к человеческим иммуноглобулинам использовали рекомби-

нантный белок А, меченый пероксидазой хрена фирмы «Имтек», РФ в разведении 1:5000. Анализ проводили по следующей схеме: в первую лунку планшета с иммобилизованными рекомбинантными антигенами ВГЕ вносили 100 мкл положительного контроля, во 2 и 3 – по 100 мкл отрицательного контроля, в остальные лунки вносили исследуемые образцы сывороток и плазмы, разведённые в 10 раз; планшет инкубировали 30 минут при температуре 37°C, затем промывали 5 раз промывочным раствором; вносили по 100 мкл рабочего раствора конъюгата; инкубировали 30 минут при 37°C, затем промывали 5 раз, после чего вносили во все лунки по 100 мкл ТМБ и инкубировали 10 минут в темноте; вносили по 100 мкл стоп-реагента и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре (Stat Fax 3200, США) при 450 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В данном исследовании проанализировано 987 образцов сывороток крови, полученных от свиней из трёх областей Беларуси. Положительные результаты выявлены у 264 голов, что составило 26,7% (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты исследования поголовья свиней трёх областей Беларуси на наличие антител к ВГЕ

Область	Количество свиней (n)	Количество положительных (n/%)	Количество хозяйств	«Чистые» хозяйства
Минская	245	60 (24,5 %)	23	9 (39,1 %)
Могилёвская	264	69 (26,14 %)	21	8 (38 %)
Витебская	478	135 (28,4 %)	43	18 (41,9 %)
Всего	987	264 (26,7 %)	87	34 (39 %)

Из общего числа обследованных – «чистыми», без выявленных случаев наличия анти-ВГЕ иммуноглобулинов, были лишь 34 (39 %) свиноводческих хозяйства (таблица 1), соответственно случаи выявления антител к ВГЕ среди свиней обнаружены в 53 из 87 (61 %).

Для исследования распространённости ВГЕ среди поголовья свиней Минской области было охвачено 23 хозяйства, количество обследованных животных составило

245 (таблица 2). Из 23 хозяйств лишь в 9 не было обнаружено антител к ВГЕ. Количество положительных результатов составило 24,5 % (60 из 245).

При исследовании 21 свиноводческого хозяйства Могилёвской области обследовано 264 головы свиней (таблица 3). Анти-ВГЕ иммуноглобулины выявлены у 26,14 % свиней (69 из 264). В 8 хозяйствах из 21 антитела к ВГЕ не были выявлены.

Таблица 2 – Частота выявления анти-ВГЕ иммуноглобулинов в свиноводческих хозяйствах Минской области

№ хозяйства	Количество свиней (n)	Количество положительных результатов (n/%)
1	18	2 (11 %)
2	10	2 (20 %)
3	10	0
4	10	0
5	20	9 (45 %)
6	10	1 (10 %)
7	10	1 (10 %)
8	10	4 (40 %)
9	10	0
10	10	1 (10 %)
11	10	0
12	10	0
13	10	3 (30 %)
14	10	1 (10 %)
15	10	0
16	10	10 (100 %)
17	10	5 (50 %)
18	10	10 (100 %)
19	10	0
20	8	0
21	10	9 (90 %)
22	10	2 (20 %)
23	9	0

Таблица 3 – Частота выявления антител к ВГЕ в свиноводческих хозяйствах Могилёвской области

№ хозяйства	Количество свиней (n)	Количество положительных результатов(n/%)
1	2	3
1	13	3 (23 %)
2	15	0
3	15	3 (20 %)
4	20	5 (25 %)
5	25	11 (44 %)
6	10	3 (30 %)
7	10	4 (40 %)
8	9	1 (11 %)
9	9	0
10	9	0
11	23	0

Продолжение таблицы 3

1	2	3
12	9	0
13	5	5 (100 %)
14	44	19 (43 %)
15	4	0
16	9	5 (56 %)
17	7	0
18	9	3 (33 %)
19	4	2 (50 %)
20	6	5 (83 %)
21	9	0

В Витебской области обследованию подверглось 478 свиней из 43 хозяйств (таблица 4). Положительные результаты выявлены у 135 голов, что составило 28,24 %. В 17 хозяйствах антитела к ВГЕ у обследованных свиней обнаружены не были.

Таблица 4 – Частота выявления анти-ВГЕ иммуноглобулинов на свиноводческих хозяйствах Витебской области

№ хозяйства	Количество свиней (n)	Количество положительных результатов (n/%)
1	2	3
1	20	3 (15 %)
2	14	6 (43 %)
3	25	0
4	10	2 (20 %)
5	5	0
6	15	0
7	5	0
8	15	9 (60 %)
9	5	1 (20 %)
10	15	0
11	15	4 (27 %)
12	15	5 (33 %)
13	15	4 (27 %)
14	15	0
15	15	2 (13 %)
16	14	8 (57 %)
17	15	0
18	13	3 (23 %)
19	15	2 (13 %)
20	15	12 (80 %)
21	5	0
22	15	15 (100 %)

Продолжение таблицы 4

1	2	3
23	15	8 (53 %)
24	15	9 (60 %)
25	15	1 (7 %)
26	15	7 (47 %)
27	15	4 (27 %)
28	15	0
29	5	0
30	2	0
31	15	15 (100 %)
32	15	2 (13 %)
33	5	1 (20 %)
34	5	0
35	5	0
36	5	0
37	5	5 (100 %)
38	5	0
39	5	2 (40 %)
40	5	0
41	5	3 (60 %)
42	5	0
43	5	2 (40 %)

Согласно полученным данным, частота встречаемости анти-ВГЕ иммуноглобулинов в отдельных хозяйствах у свиней варьировала от 0 до 100 %. При этом 100 % выявления антител к ВГЕ у свиней встречалась на 6 фермах (11,3 %), а 0% – на 34 (39 %). На большей части свинокомплексов (44) частота обнаружения анти-ВГЕ иммуноглобулинов колеблется от 7 до 60 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом полученные данные свидетельствуют о том, что среди поголовья свиней, находящихся на территории Республики Беларусь, имеет место эпизоотический процесс ВГЕ. Распространённость ВГЕ среди домашних свиней Беларуси достаточно широкая, однако не превышает данный показатель в соседних странах, где были проведены подобные исследования, в частности – в России и прибалтийских странах. При проведении масштабных ис-

следований (обследовано 1566 образцов фекалий) установлена циркуляция ВГЕ среди поголовья свиней на территории Архангельской, Владимирской, Калининградской, Саратовской, Свердловской областях и Хабаровского края. Продемонстрировано широкое распространение ВГЕ в данных регионах: из 17 обследованных свиноводческих ферм лишь на 3 не выявлена ВГЕ-инфекция [24].

Очевидно, что чем выше уровень заболеваемости ВГЕ у животных, тем больше риск передачи инфекции человеку. С этой точки зрения, данные по распространенности ВГЕ у животных, описанные выше, являются поводом для беспокойства за здоровье населения, расширения диагностических и противоэпидемических мероприятий как среди животных, так и среди населения, в особенности контактирующего с животными профессионально (ветеринаров, работников ферм и мясокомбинатов).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Panda, S.K., Thakral, D., & Rehman, S. Hepatitis E virus. *Reviews in Medical Virology*, 2007, 17 (3). – P.151–180.
- 2 Smith, D. B., Simmonds, P., International Committee on Taxonomy of Viruses Hepeviridae Study Group, Jameel, S., Emerson, S. U., & Harrison, T. J. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *Journal of General Virology*, 2014, 95(Pt 10). – P.2223–2232.
- 3 Miyashita, K., Kang, J. H., Saga, A., Takahashi, K., Shimamura, T., Yasumoto, A. [et al.] Three cases of acute or fulminant hepatitis E caused by ingestion of pork meat and entrails in Hokkaido, Japan: Zoonotic food-borne transmission of hepatitis E virus and public health concerns. *Hepatology Research*, 2012, 42 (9). – P.870–878.
- 4 Yan, Y., Zhang, W., Shen, Q., Cui, L., & Hua, X. Prevalence of four different subgenotypes of genotype 4 hepatitis E virus among swine in the Shanghai area of China. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2008, 50, 12.
- 5 Williams, T.P., Kasorndorkbua, C., Halbur, P.G., Haqshenas, G., Guenette, D.K., Toth, T.E. [et al.] Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39(9). – P.3040–3046.
- 6 Halac, U., Beland, K., Lapierre, P., Patey, N., Ward, P., Brassard, J. [et al.] Chronic hepatitis E infection in children with liver transplantation. *Gut*, 2012, 61(4). – P.597–603.
- 7 Meng, X. J. From barnyard to food table: the omnipresence of hepatitis E virus and risk for zoonotic infection and food safety. *Virus Research*, 2011, 161(1). – P.23–30.
- 8 Meng, X.J., Wiseman, B., Elvinger, F., Guenette, D.K., Toth, T.E., Engle, R.E., et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(1), P.117–122.
- 9 Galiana C, Fernandez-Barredo S, Perez-Gracia MT. Prevalence of hepatitis E virus (HEV) and risk factors in pig workers and blood donors. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiologia Clinica*, 2010, 28:602–607.
- 10 Nantel-Fortier N, Letellier A, Lachapelle V, Fravallo P, L'Homme Y, Brassard J. Detection and Phylogenetic Analysis of the Hepatitis E Virus in a Canadian Swine Production Network. *Food Environ Virol.* 2016 Dec; 8(4):296–304.
- 11 Wilhelm, B., Leblanc, D., Houde, A., Brassard, J., Gagne, M. J., Plante, D. [et al.] Survey of Canadian retail pork chops and pork livers for detection of hepatitis E virus, norovirus, and rotavirus using real time RT-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, –185, P.33–40.
- 12 Арабей, А.А., Мохаммед, А.М.Е., Жаворонок С.В., Кюрегян К.К., Бутько Л.В., Давыдов В.В., Михайлов М.И. / Обнаружение вируса гепатита Е среди кроликов в Республике Беларусь // *Военная медицина*. – 2015. – №2. – С.51–54.
- 13 Yoo, D., Willson, P., Pei, Y., Hayes, M. A., Deckert, A., Dewey, C. E., et al. Prevalence of hepatitis E virus antibodies in Canadian swineherds and identification of a novel variant of swine hepatitis E virus. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2001. – 8(6), 1213–1219.
- 14 Ward, P., Muller, P., Letellier, A., Quessy, S., Simard, C., Trottier, Y.L., [et al.] Molecular characterization of hepatitis E virus detected in swine farms in the province of Quebec. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2008 –72(1), P.27–31.
- 15 Owolodun, O.A., Gerber, P.F., Giménez-Lirola, L.G., Kwaga, J.K., Opriessnig, T. First report of hepatitis E virus circulation in domestic pigs in Nigeria. *Am J Trop Med Hyg.* – 2014 Oct; 91(4):699–704.
- 16 Merino-Ramos, T., Martín-Acebes, M.A., Casal, J., Saiz, J.C., Loza-Rubio, E. Prevalence of Hepatitis E Virus (HEV) Antibodies in Mexican Pigs. *Food Environ Virol.* 2016 Jun; 8(2):156–9.
17. Di Martino, B., Di Profio, F., Martella, V., Di Felice, E., Di Francesco, C.E., Ceci, C., Marsilio, F. Detection of hepatitis E virus in slaughtered pigs in Italy. *Arch Virol.* 2010; 155(1):103–6.
18. Солонин, С.А. Циркуляция вируса гепатита Е среди свиней на территории Российской Федерации. Автореферат дисс., 2010.