

## 新疆地区猪戊型肝炎血清流行病学调查

马 勋<sup>1</sup>, 陆承平<sup>1\*\*</sup>, 孟继鸿<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学农业部动物疫病诊断与免疫重点开放实验室, 江苏南京 210095; 2. 东南大学医学院微生物与免疫系, 江苏南京 210095)

## Epidemic Investigation of Swine Hepatitis E Virus Infection in Xinjiang Region

MA Xun<sup>1</sup>, LU Cheng-ping<sup>1\*\*</sup>, MENG Ji-hong<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Animal Disease Diagnostic &amp; Immunology, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Department of Microbiology and Immunology, Southeast University School of Medicine, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** The purpose of the present study was to determine the prevalence of swine *Hepatitis E virus* (HEV) infection in Xinjiang. 813 swine serum samples collected from 1 to 12 months of age at 9 swine farms in Xinjiang region were tested by ELISA for the presence of IgG antibodies against HEV. The recombinant protein pUS166 containing region 452-617aa of the ORF2 of HEV US strain was used as coating antigen. The result showed that anti-HEV IgG were detected in 265 of 405 pigs (65.43%) in one group and 238 of 408 pigs (58.33%) in another group, and that the seropositivity rate was not related to geographic district and breeds, but differed remarkably by age, being 40% among the 1- to 3-month-old piglets, but 77.33% among ones over 3-month-old. It suggested that swine HEV was widespread in different geographic regions of Xinjiang.

**Key Words:** *Hepatitis E virus*; Swine serum; ELISA

**关键词:** 戊型肝炎病毒; 猪血清; 酶联免疫吸附试验

**中图分类号:** S852.65

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1003-5152(2004)03-0285-03

戊型肝炎(HE)是一种经粪-口传播的疾病,在发展中国家造成非常严重的健康问题。近年来的研究证实发达国家也存在戊型肝炎问题。该病主要威胁青壮年,孕妇病死率可高达20%。我国自1982年起就有HE的报道,新疆是HE的高流行区。由于HEV的组织培养研究尚不成熟,因此其诊断手段主要是利用RT-PCR检测病毒RNA,或利用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测抗体。而用于血清学检测的抗原主要来自HEV ORF2和ORF3的产物,并且用ORF2产物建立的检测法有足够的敏感性和特异性。自Meng<sup>[1]</sup>1997年从美国猪体内克隆出戊型肝炎病毒(HEV)基因后,我国以及加拿大,西班牙,新西兰,澳大利亚,印度等国家也都克隆出本国猪HEV基因。虽然我国也进行了猪HEV的检测,但在1988

年爆发过人源戊型肝炎的新疆地区猪群感染HEV的情况还不清楚。本研究调查了HEV在猪群的感染状况,对新疆不同地区,猪场,年龄段及品种的猪进行HE的血清学检测。

## 1 材料与方 法

### 1.1 血清样品来源

猪血清样品分成两组,第一组为1998-1999年采自新疆北疆地区某师4个团场猪场的405份血清,均为集约化养殖,猪品种、日龄等资料不详。第二组为2002年采自新疆南北疆地区大小型5个猪场的408份种猪和商品猪血清,其中382份有日龄记录,133份有品种记录,养殖方式除东疆猪场为散养外,其余均为集约化养殖(表1)。

收稿日期: 2003-11-20, 修回日期: 2004-01-05

作者简介: 马 勋(1967-), 女, 新疆石河子籍, 在读博士生, 研究方向为病毒学。

\*\* 通讯作者: 陆承平(1945-), 男, 上海市籍, 教授, 博士, 研究方向为鱼虾病原微生物学、兽医微生物学与免疫学。

Correspondence author. Tel: 025-84395328, E-mail: lucp@njau.edu.cn.

## 1.2 包被抗原

HEV美国株编码主要核衣壳蛋白的ORF2 C 端含中和抗原表位的基因片段插入pGEX-4T-2载体转化大肠杆菌JM109菌株,表达后的GST-HEV融合蛋白经GST-Sepharose 4B亲和层析纯化得到的重组蛋白,简称p166Us。由孟继鸿教授惠赠。

## 1.3 酶联免疫吸附试验(ELISA)

将HEV重组蛋白p166Us包被酶标板(浙江海门),包被量约42ng/孔,4℃过夜,用含10%犊牛血清(江苏卫岗)的PBS-T封闭,37℃1h,加入用上述封闭液稀释的血清样品,37℃2h,洗涤3次,每次5min,再加入工作浓度的HRP-SPA(上海生物制品研究所),37℃1h,洗涤3次,每次5min,加入OPD底物液37℃显色15min,加终止液。在BIO-RAD酶标仪上测定OD492nm。结果判定:P/N大于2.1为阳性,反之为阴性。每块板设阳性血清、阴性血清、空白对照各两孔。对照用阳性血清系急性HE患者血清,由孟继鸿教授惠赠。阴性血清来自健康猪血清。

## 1.4 统计学处理

用 $\chi^2$ 检验比较不同时间,不同地区或养殖场、不同品种、不同年龄段猪血清HEVIgG阳性率的差异。

## 2 结果

### 2.1 不同年份、不同地区猪血清样品HEV IgG情况

ELISA检测结果显示813份猪血清中有443份为阳性,阳性率达52.55%。第一组和第二组的阳性率分别为50.62%和58.33%。不同养殖场的阳性率不同。第一组以2猪场最高,达76.47%,4猪场最低,但也接近第一组总体水平,达48.89%,各猪场之间差异不显著。第二组东疆猪场阳性率高达89.47%,但各猪场阳性率之间差异不显著,表明阳性率与地理位置无关(表1)。

### 2.2 不同品种、不同年龄段猪血清样品HEV IgG情况

检测的各个品种猪对HEV均易感,从100%~60.46%不等(表2)。约克夏阳性率为100%,可能与样品数太少有关。 $\chi^2$ 检验显示四个品种猪之间差异不显著( $P>0.05$ )。但是不同年龄段表现出不同的HEV IgG阳性率,3月龄以上猪血清阳性率要高于3月龄以下猪的阳性率,差异极显著( $P<0.01$ )(表3)。其中小于1月龄和1月龄-3月龄两个年龄段阳性率较低,分别为33.33%和41.11%,并且P/N比值在2.1-3.5之间(数据未列出),为弱阳性。但成年猪阳性率很高,6月龄以上甚至高达81.82%,而且部分P/N比值大于10(数据未列出),为强阳性。

表1 猪血清样品来源及HEVIgG情况

Table 1 Prevalence of antibody to *Hepatitis E virus* in pigs from different regions of Xinjiang

Sera group	Herd	Total no. of Samples tested	No. of Samples positive for IgG anti-HEV(%)
Group 1	1	289	197 (66.12)
	2	45	22 (48.89)
	3	54	33 (61.11)
	4	17	13 (76.47)
	Sum	405	265 (65.43)
Group 2	Suburbia of Urumqi city	162	106 (65.43)
	乌鲁木齐市郊		
	Northern part of Xinjiang A	33	14 (42.42)
	北疆 A		
	Northern part of Xinjiang B	77	33 (42.86)
	北疆 B		
	Southern part 南疆	117	68 (58.12)
	Eastern part 东疆	19	17 (89.47)
	Sum	408	238 (58.33)
Total		813	503 (61.87)

表2 不同品种猪血清样品HEV IgG的比较

Table 2 Comparison of HEV-specific antibody prevalence in swine by breed

Breed	Total no. of samples tested	No. of samples positive for IgG anti-HEV(%)
Large Yorkshire(大约克夏)	18	12 (66.67)
Landrace(长白)	70	49 (70)
Duroc(杜洛克)	43	26 (60.46)
Yorkshire(约克夏)	2	2 (100)
Total	133	89(66.92)

表3 不同年龄段猪血清样品HEV IgG

Table 3 Comparison of HEV-specific antibody prevalence in swine by age

Age(months)	Total no. of samples tested	No. of samples positive for IgG anti-HEV(%)
<1	30	10 (33.33)
1-3	180	74 (41.11)
<3 Sum	210	84(40)
3-6	102	80(78.43)
>6	44	36(81.82)
>12 ♀	26	17(65.38)
>3 Sum	172	133(77.33)
Total	382	217(66.16)

### 3 讨论

新疆是人HE的疫区,关于人感染HEV的研究不胜枚举,但对猪HEV的感染研究至今还是空白,本试验检测了381份新疆地区的猪血清,结果阳性率达52.55%,提示新疆猪普遍存在HEV的感染。1988年新疆南部人群HE大爆发,时隔十几年,仍能从商品猪和种猪的血清中检测到HEV的抗体,推测猪群感染HE的情况由来已久,且持续存在。新疆地区猪HEV IgG阳性率如此之高,但人群并未出现HE的爆发流行,中原因有待探讨。

统计学分析表明,猪的年龄与HEV IgG阳性率极显著相关,3月龄以上阳性率要高于3月龄以下,这与Meng、Wu和Masaharu<sup>[1-3]</sup>报道在美国、台湾地区和日本大多数猪在2-3月龄感染HEV结果一致。由于母源抗体在1-3月龄后滴度下降,因此3月龄以上的抗体阳性应该是自然感染的结果。

不同地区猪HEV IgG阳性率差异不显著。所检测的东疆猪场阳性率高的原因,除了考虑猪龄均为

1年以上的种猪外,同时该场是唯一的小规模的散养猪场,此种养殖方式是否与HEV高阳性率有关,还有待于进一步的证明。

猪HEV的研究涉及到公共卫生问题。如果HE确实存在猪与人的种间传播,那么对HE的动物宿主、传播途径等的深入研究,将对制定防制人类HE策略具有重要价值。

### 参考文献

- [1] Meng X J, Purcell R H, Harbur P G, *et al.* A novel virus in swine is closely related to the hepatitis E virus [J]. *Proc Natl Ac Sci USA*, 1997, 94(18): 9860-9865.
- [2] Wu J C, Chen C M, Chiang T Y, *et al.* Spread of hepatitis E virus among different-aged pigs: two-year survey in Taiwan [J]. *J Med Virol*, 2002, 66(4): 488-492.
- [3] Masaharu Takahashi, Tsutomu Nishizawa, Haruko Miyajima, *et al.* Swine hepatitis E virus strains in Japan from phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolate of human hepatitis E virus [J]. *J Gen Virol*, 2003, 84: 851-862.