

综述

戊型肝炎病毒的食源性传播

张印法¹,李军²

(1. 河北省卫生和计划生育委员会综合监督执法局,河北 石家庄 050071;

2. 河北大学医学部,河北 保定 071000)

摘要:综述戊型肝炎病毒(HEV)在动物中的流行情况及肉类、水产品 HEV 的污染情况,分析 HEV 的食源性传播途径、通过食物感染 HEV 的危险性及预防措施。

关键词:戊型肝炎病毒;食品卫生;食源性传播

中图分类号:R155;R512.6;TS201.6 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)01-0089-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.01.023

Food-borne transmission of hepatitis E virus

ZHANG Yin-fa, LI Jun

(Public Health Supervision Agency of Hebei Province, Hebei Shijiazhuang 050071, China)

Abstract: This article reviews the current understanding of the prevalence of hepatitis E virus (HEV) in animal species and the contamination of HEV in meats and seafood. The possible food-borne transmissions of HEV and the strategies to ensure food safety are also discussed.

Key words: Hepatitis E virus; food hygiene; food-borne transmission

戊型肝炎是由戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)引起的一种病毒性肝炎,我国流行普遍,近年来发病率有逐渐增加趋势,是一个重要的公共卫生问题。目前我国戊型肝炎以散发病例为主,主要由基因4型HEV感染引起,少数由基因3型引起,而基因3型和4型HEV既感染人也感染猪等动物。HEV的自然传播途径为粪-口途径,由于戊型肝炎人兽共患病的特征,HEV在动物中的流行情况、动物HEV跨物种感染人的可能性以及肉类食品的安全问题日益受到关注。本文对HEV食源性传播的研究进展进行综述。

1 HEV的病原学特征

HEV属于戊型肝炎病毒科,戊型肝炎病毒属^[1]。电镜下,病毒体为小球型颗粒,直径约27~33 nm,无包膜。其基因组为单链正义RNA,长约7.2 kb,包含3个开放阅读框(ORF1-3):ORF1基因编码与病毒复制、转录有关的非结构蛋白,包括解旋酶、依赖RNA的RNA聚合酶等;ORF2基因编码主要结构蛋白,构成病毒衣壳,衣壳表面聚集了病

毒的中和表位,其中可能含有病毒吸附和穿入宿主细胞的决定基团;ORF3蛋白为一种小分子磷蛋白,研究显示该蛋白能够与宿主细胞的多种蛋白分子结合,可能与病毒复制和组装有关^[2]。

根据基因组核苷酸序列差异,HEV被分为不同基因型,已确认感染人的HEV主要有4个基因型(1~4型)。4种型别HEV的基因组核苷酸序列相似性在80%左右,ORF1-3蛋白中有特异性氨基酸位点存在,但血清型相同。不同基因型HEV宿主范围有一定差异:1型和2型HEV只感染人;3型和4型HEV既感染人也感染猪等动物,主要储存宿主是猪^[3]。4种基因型HEV均能感染人肝癌细胞株PLC/PRF/5细胞和人肺癌细胞株A549细胞,可进行体外病毒培养^[4]。

2 HEV感染的流行病学

不论发展中国家还是发达国家人群中抗-HEV抗体阳性率都很高,例如,我国广东30~60年龄段人群中抗-HEV IgG阳性率为32%~48%^[5],美国6岁以上人群中抗-HEV抗体平均阳性率为21%^[6]。HEV在全球不同地区均有分布,人类对HEV普遍易感。免疫功能正常的人感染HEV,大多数无临床症状。

一些经济欠发达、公共卫生较差的发展中国

收稿日期:2014-05-27

基金项目:河北省自然科学基金(H2013201066)

作者简介:张印法 主任医师 研究方向为食品安全标准

E-mail:zyinfa2010@qq.com

家,例如印度、巴基斯坦、墨西哥、乌干达等国家是戊型肝炎高流行区。这些流行区主要为基因1型或2型引起的水源性爆发,大流行通常发生在洪水季节或大暴雨过后,因生活用水被粪便污染而引起爆发,持续时间从几周到超过1年不等,主要影响青壮年,15~35岁年龄段发病率最高,男性发病数常是女性的2~5倍,累及人群可高达数万人,病死率一般为1%~3%,孕妇病死率可高达25%^[7]。发达国家的戊型肝炎病例主要由基因3型或4型引起,为散发或小型食源性爆发,全年均有发生,春季发病数略高,患者多为40~70岁的中老年人,男性是女性的3倍左右^[3]。

我国是戊型肝炎的主要流行区之一。1986—1988年新疆南部发生了水源性戊型肝炎大流行,由基因1型HEV引起,波及23个县(市);其他地区也曾有由1型HEV引起的爆发流行。随着社会发展,饮用水及环境卫生状况的改善,戊型肝炎的大流行得到了控制,近10年来我国没有水源性HEV流行的报告。目前临床戊型肝炎均为散发病例,在急性肝炎病例中所占比例约为20%~30%,主要由4型HEV引起,少量为基因3型,流行特征与发达国家相同^[8-9]。

HEV可能有4种传播途径:饮用HEV污染的水源(经水源传播);食用未煮熟的感染了HEV的肉,如猪肝、鹿肉等(经食物源性传播);输血或接受器官移植传播(血源传播);垂直传播(围产期传播)。基因1型和2型HEV的传染源为戊肝患者或隐性感染者,为人-人传播,主要为水源性传播;基因3型和4型HEV的传染源是人或动物,由于猪等动物感染率高,所以动物是主要传染源,与动物直接接触、食用HEV污染的肉类或水产品等均有感染HEV的危险,其中食源性传播可能是一条重要途径。

3 HEV在动物中的流行及肉类HEV污染情况

近年来,研究人员先后从猪、野猪、鹿、鸡、家兔、老鼠、雪貂、蝙蝠等动物体内分离到了HEV毒株。此外,羊、牛及鸭子等多种动物中也检测到了抗-HEV抗体,表明自然界中有很多动物都能被HEV或HEV类似的病毒感染。在这些动物中,猪的HEV感染率最高,在我国4个月龄以上的猪约70%~100%HEV抗体阳性^[10-11]。家兔仅次于猪,感染率也很高,甘肃、北京、武汉一些养兔场中家兔HEV抗体阳性率达50%以上^[12-14]。

动物感染HEV后,血清、肝脏、胆汁、肠道组织及肠腔均能检出病毒^[3]。由于猪的HEV感染率高,携带HEV的猪屠宰后的猪肉及猪肝、猪肠等脏器不

可避免的有HEV污染。美国零售店采集的猪肝11%(14/127)检测到HEV RNA,德国在市场采集的生猪肝也有约4%(8/200)为HEV RNA阳性,动物实验证实这些HEV阳性猪肝对猪具有感染性^[15-16]。荷兰、日本及印度进行的调查也显示零售猪肝中能检测到HEV。我国很多地区的猪肉制品中也检出了HEV抗原和HEV RNA,王娜等^[17]采集山东省内屠宰场即将上市销售的猪肝进行检测,HEV RNA阳性率为8.57%(3/35)。

4 食用污染的肉类感染HEV的危险性

迄今为止,从猪群中分离出的HEV均为基因3型或4型,通常与当地人群中流行病毒株的基因型一致。基因序列分析显示^[18-19],同一基因型猪HEV和人HEV全长核苷酸序列相同性最高达99%,而编码蛋白中没有特异性氨基酸位点的区别,这意味着猪HEV和人HEV具有同源性,可以跨物种感染。动物实验显示^[20],从猪群中分离的基因3型和4型HEV可以感染猴,并引起典型的临床感染;而从人群中分离的基因3型和4型HEV也能感染猪,表明猪是基因3型和4型HEV的一种自然宿主,猪HEV能够感染人引起戊型肝炎。从野猪、鹿等动物体内分离到的基因3型HEV与来源于猪和人的基因3型HEV序列一致,也具有感染人的潜在危险性^[21-23]。

已有直接证据显示人食用生肉或加热不彻底的肉类食品有可能感染HEV而患戊型肝炎。日本有4例急性戊型肝炎患者被证实是由于吃了鹿肉而引发疾病,因为从剩余的鹿肉中分离到的HEV与从这些患者中分离到的HEV基因同源性达99.7%~100%^[21]。生食野味有感染HEV的危险,调查发现生食鹿肉人群的抗-HEV IgG阳性率(18%)明显高于不曾生食鹿肉的对照组(2%)^[23]。

一些肉制品同样可能构成潜在的食品安全问题。为了保持传统特色风味,一些肉类、水产品的加工制作仍然沿用烟熏、盐腌、风干等古老方法,由于缺乏加热过程,肉类中的一些病原生物可能无法完全灭活。例如,法国猪肝肠的制作过程通常为熏制,Colson等^[24]从零售店购买的猪肝肠中检测到了HEV RNA,每片猪肝肠约有 $10^3 \sim 10^6$ 拷贝数。进一步的病例对照研究结果显示,3个家庭中食用过猪肝肠的13人中有7人曾感染过HEV,而来自同样条件的其他家庭没有食用过猪肝肠的5个人均没有HEV感染,表明这种猪肝肠有传播HEV的危险^[24]。在实验室内,将猪肝匀浆加热到56℃,持续1h,肝匀浆中的HEV不能灭活^[15,25]。假设餐馆中烤猪排,用这样的温度和时间能将猪

排烤成中度熟,这意味着五成熟的猪排中可能还有 HEV 存活。因此肉制品加热不彻底,同样具有传播 HEV 的危险。

5 戊型肝炎病毒对水体及水产品的污染情况

HEV 感染机体后主要在肝脏进行复制,病毒随胆汁排入肠道,通过粪便排出。HEV 感染的人和动物粪便中含有病毒,如果粪便处理不当,可能会对环境造成污染。垃圾倾倒、污水排放、施肥灌溉或雨水冲刷等将导致水体污染。日本学者在生活污水和海水都曾检测到 HEV RNA^[26]。

HEV 污染水体后,水中的一些水生动物很可能也会被污染。食用被污染的海鲜或水产品,则可能感染 HEV。为了确认日常食用的海产品是否有 HEV 污染,英国学者在苏格兰东、西海岸靠近屠宰场和肉联厂的潮水涨落处采集蚌类进行 PCR 检测,结果 HEV RNA 检出率分别为 92% (36/39) 和 55% (5/9),样品中 HEV RNA 浓度在 3.73 ~ 5.2 log₁₀ IU/ml 之间(平均为 4.25 log₁₀ IU/ml);基因序列分析显示,这些 HEV 均属于基因 3 型,与当地分离到的猪和人 HEV 序列相近,在基因进化树上为同一组^[27]。欧洲一些国家市场零售的贝类海产品中有 3% 检测到了 HEV RNA^[28]。韩国、日本等国家的学者也分别从当地河水中采集的贝类和蚌类水产品中检测到了 3 型 HEV^[29-30],显示一些区域的河水有 HEV 污染并且污染了水生动物。

6 食用污染的水产品感染 HEV 的危险性

多数情况下,海鲜的烹制时间比肉类食品的烹制时间短,而在许多地区还有生吃海鲜的习惯。由于 56 °C 加热 1 h 只有 50% 的 HEV 被灭活,60 °C 加热 1 h 也仍然不能使 HEV 完全灭活,并且 HEV 对酸和碱均具有一定的抵抗力^[15,25],这样通过水产品作媒介,有可能实现 HEV 从动物(或人)到人的传播。山东烟台采用病例对照研究的方式进行戊型肝炎发病危险因素研究,单因素分析显示病例组食用海产贝类的比例高于对照组,表明食用海产贝类是戊型肝炎发病的危险因素之一^[31]。

目前还没有因为食用水产品感染 HEV 的直接证据,不过有些急性戊型肝炎病例怀疑和食用贝类水产品或海鲜产品有关。2008 年在英国的一个国际邮轮上,4 位游客先后患急性肝炎,在其中 3 个患者体内分离到了基因 3 型 HEV,3 株病毒具有相同的核苷酸序列,因此,推测这几个患者可能因为食用了被 HEV 污染的另一食物而引发疾病,进一步的流行病学归因分析认为食用贝类海鲜可能

是这次 HEV 感染的主要因素^[32]。最近有报道从河北保定地区的一位急性戊型肝炎患者体内分离到一株基因 3 型 HEV,调查也认为患者发病与食用海产品有关^[8]。

目前从贝类和蚌类水产品中分离到的 HEV 均为基因 3 型和 4 型,引起水源性戊型肝炎爆发的基因 1 型和 2 型 HEV 是否能够以水产品作为媒介进行传播,尚不清楚。

7 HEV 食源性传播的预防

食源性病毒性疾病预防的关键是控制病毒对食品和水源的污染,即在食品生产、加工、销售、储存各个环节中防止病毒污染^[33-34]。最近欧洲食品安全局生物安全小组的专家提议对从动物饲养场到餐桌的肉类生产整个链条中各个环节 HEV 污染的危险性进行综合评估^[32]。英国、捷克、意大利和西班牙对猪肉生产过程中 HEV 污染情况进行调查,结果显示猪肉 HEV 污染主要来源于感染 HEV 的生猪,屠宰过程中通过工人的手、刀具、砧板等为媒介有可能使猪肉交叉污染^[35-36]。由于肉类 HEV 的污染与饲养动物 HEV 感染情况有关,一些学者认为通过提高动物饲养场的卫生条件、研制兽用 HEV 疫苗等措施,控制 HEV 在动物中的传播、降低感染率,对于减少食源性 HEV 的传播具有一定作用^[3,20]。另外,加强动物粪便管理、净化污水,避免海岸及地表水污染,能相应控制 HEV 对水中贝类的污染,从而减少因食用水产品引起 HEV 感染^[27-28]。在法国,由于证实了 3 起戊型肝炎的爆发与生食猪肝肠有关,促使法国公共卫生机构要求食品加工厂在猪肝肠等猪肉制品标签上必须标明“食用前需彻底加热”字样^[24]。将食品彻底加热后再食用也是消费者个人预防 HEV 感染所能采取的最有效预防措施,尤其免疫缺陷的人群应该避免食用未煮熟的肉类、肉制品及水产品^[20]。

2009 年我国颁布的《中华人民共和国食品安全法实施条例》第二十三条明确规定^[37],食品从业人员体检时须检测戊型肝炎。然而,目前各国卫生机构尚未建立针对肉类、水产品等食品中 HEV 污染情况的卫生检测、监督制度。

对于一些 HEV 感染的高风险人群,例如育龄期妇女、畜牧养殖户、疫区旅行者等,可通过疫苗接种预防感染。我国已经研制了基于 HEV ORF2 抗原的重组戊型肝炎疫苗,最近获得国家食品药品监督管理局(SFDA)批准,成为国际上首个被批准的戊型肝炎疫苗^[38]。

参考文献

- [1] MENG X J, Anderson D A, Arankalle V A, et al. Hepeviridae [M]. 1st Version. London: Elsevier/Academic Press London,

- 2011;991-998.
- [2] Ahmad I, Holla R P, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus[J]. *Virus Res*, 2011, 161(1):47-58.
- [3] MENG X J. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk [J]. *Vet Microbiol*, 2010, 140(3-4):256-265.
- [4] Okamoto H. Culture systems for hepatitis E virus [J]. *J Gastroenterol*, 2013, 48(2):147-158.
- [5] LIANG H, SU S, DENG S, et al. The prevalence of hepatitis E virus infections among swine, swine farmers and the general population in Guangdong Province, China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e88106.
- [6] Kuniholm M H, Purcell R H, McQuillan G M, et al. Epidemiology of hepatitis E virus in the United States; results from the third national health and nutrition examination survey, 1988-1994 [J]. *J. Infect. Dis.*, 2009, 200(1):48-56.
- [7] Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E [J]. *Lancet*, 2012, 379(9835):2477-2488.
- [8] GENG Y, ZHAO C, FAN J, et al. Genotype analysis of hepatitis E virus from sporadic hepatitis E cases in northern China[J]. *Infect Genet Evol*, 2013, 20:413-417.
- [9] ZHANG S, WANG J, YUAN Q, et al. Clinical characteristics and risk factors of sporadic hepatitis E in central China[J]. *Viol J*, 2001, 8(1):152-157.
- [10] LI W, SHE R, WEI H, et al. Prevalence of hepatitis E virus in swine under different breeding environment and abattoir in Beijing, China[J]. *Vet Microbiol*, 2009, 133(1/2):75-83.
- [11] GENG Y, WANG C, ZHAO C, et al. Serological prevalence of hepatitis E virus in domestic animals and diversity of genotype 4 hepatitis E virus in China [J]. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2010, 10(8):765-770.
- [12] ZHAO C, MA Z, Harrison T J, et al. A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China [J]. *J Med Virol*, 2009, 81(8):1371-1379.
- [13] GENG Y, ZHAO C, SONG A, et al. The serological prevalence and genetic diversity of hepatitis E virus in farmed rabbits in China[J]. *Infect Genet Evol*, 2011, 11(2):476-482.
- [14] GENG J, WANG L, WANG X, et al. Study on prevalence and genotype of hepatitis E virus isolated from Rex rabbits in Beijing, China[J]. *J Viral Hepat*, 2011, 18(9):661-667.
- [15] Feagins A R, Opriessnig T, Guenette D K, et al. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States [J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 123(1/2):32-37.
- [16] Wenzel J J, Preiss J, Schemmerer M, et al. Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates [J]. *J Clin Virol*, 2011, 52(1):50-54.
- [17] 王娜, 陆一涵, 郑英杰, 等. 山东省某地屠宰场猪肝内戊型肝炎病毒感染状况研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(10):1013-1015.
- [18] LIU P, LI L, WANG L, et al. Phylogenetic analysis of 626 hepatitis E virus (HEV) isolates from humans and animals in China (1986-2011) showing genotype diversity and zoonotic transmission [J]. *Infect Genet Evol*, 2012, 12(2):428-434.
- [19] MA H, GENG Y, LI Z, et al. Analysis of the complete genome sequences of one swine and two human hepatitis E virus genotype 4 strains isolated in Beijing, China [J]. *Infect Genet Evol*, 2013(18):42-47.
- [20] MENG X J. Zoonotic and foodborne transmission of hepatitis E virus [J]. *Semin Liver Dis*, 2013, 33(1):41-49.
- [21] Schielke A, Sachs K, Lierz M, et al. Detection of hepatitis E virus in wild boars of rural and urban regions in Germany and whole genome characterization of an endemic strain [J]. *Viol J*, 2009, 6(1):58.
- [22] Tei S, Kitajima N, Takahashi K, et al. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings [J]. *Lancet*, 2003, 362(9381):371-373.
- [23] Tei S, Kitajima N, Ohara S, et al. Consumption of uncooked deer meat as a risk factor for hepatitis E virus infection: an age- and sex-matched case-control study [J]. *J Med Virol*, 2004, 74(1):67-70.
- [24] Colson P, Borentain P, Queyriaux B, et al. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans [J]. *J Infect Dis*, 2010, 202(6):825-834.
- [25] Emerson S U, Arankalle V A, Purcell R H. Thermal stability of hepatitis E virus [J]. *J Infect Dis*, 2005, 192(5):930-933.
- [26] Ishida S, Yoshizumi S, Ikeda T, et al. Detection and molecular characterization of hepatitis E virus in clinical, environmental and putative animal sources [J]. *Arch Virol*, 2012, 157(12):2363-2368.
- [27] Crossan C, Baker P J, Craft J, et al. Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(12):2085-2087.
- [28] Diez-Valcarce M, Kokkinos P, Söderberg K, et al. Occurrence of human enteric viruses in commercial mussels at retail level in three European countries [J]. *Food Environ Virol*, 2012, 4(2):73-80.
- [29] LI T C, Miyamura T, Takeda N. Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2007, 76(1):170-172.
- [30] SONG Y J, Jeong H J, Kim Y J, et al. Analysis of complete genome sequences of swine hepatitis E virus and possible risk factors for transmission of HEV to humans in Korea [J]. *J Med Virol*, 2010, 82(4):583-591.
- [31] 江梅, 崔伟红, 李波, 等. 烟台市戊型肝炎及流行特征分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2010, 31(12):1417-1420.
- [32] Said B, Ijaz S, Kafatos G, et al. Hepatitis E outbreak on cruise ship [J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15(11):1738-1744.
- [33] European Food Safety Authority Panel on biological hazard scientific opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses [J]. *EFSA Journal*, 2011, 9(2190):1-96.
- [34] Yugo D M, MENG X J. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2013, 10(10):4507-4533.
- [35] Di Bartolo I, Diez-Valcarce M, Vasickova P, et al. Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain, 2010 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(8):1282-1289.
- [36] Berto A, Martelli F, Grierson S, et al. Hepatitis E virus in pork food chain, United Kingdom, 2009-2010 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(8):1358-1360.
- [37] 中华人民共和国国务院. 中华人民共和国食品安全法实施条例 (国务院令 第 557 号) [S]. 北京: 法律出版社, 2009.
- [38] ZHANG J, Shih J W, WU T, et al. Development of the hepatitis E vaccine: from bench to field [J]. *Semin Liver Dis*, 2013, 33(1):79-88.