

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРВОГО СЛУЧАЯ ОСТРОГО ГЕПАТИТА Е В ГРОДНЕНСКОМ РЕГИОНЕ



¹В. М. Цыркунов, ²В. В. Давыдов, ²С. В. Жаворонок, ³Л. К. Черняк,
²А. С. Бабенко, ²С. И. Марчук, ⁴Е. Л. Гасич, ²И. С. Задора

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

³Гродненская областная инфекционная клиническая больница, Гродно, Беларусь

⁴Республиканский научно-практический центр эпидемиологии, Минск, Беларусь

Введение. Появление вируса гепатита Е (ВГЕ) в развитых странах обусловлено усовершенствованными инструментами диагностики, повышением осведомленности клиницистов об аутохтонном характере передачи инфекции и вероятности развития опасного для жизни острого и хронического поражения печени.

Цель исследования. Представить первый подтвержденный случай острого гепатита Е (ОГЕ), вызванного вирусом Е первого генотипа (ВГЕ-1) в Гродненском регионе, зарегистрированного в 2022 г.

Материал и методы. Пациент – уроженец Пакистана, последние годы проживает и работает в г. Гродно, в течение полугода выезжал в Италию и Пакистан, вернулся в Гродно за 2 недели до начала клинических проявлений заболевания. Госпитализирован в областной инфекционный стационар. Методы лабораторной и этиологической диагностики гепатита включали: общеклинические, серологические и молекулярно-генетические (ИФА – IgM, IgG HEV; ПЦР – RNA HEV, генотипирование и секвенирование генома HEV).

Результаты. Эпидемиологические и клинико-лабораторные методы позволили исключить вирусные гепатиты А, В, С, D и установить диагноз ОГЕ, желтушной (билирубин в разгар болезни – 209,1 мкмоль/л, АлАТ – 1795 Ед/л), среднетяжелой формы с благоприятным исходом. В крови пациента выявлены IgM и IgG к ВГЕ. Из биологического материала пациента выделена РНК ВГЕ. Последовательность, выделенная из организма пациента в 100% репликаций бутстрепа, отнесена к 1 генотипу ВГЕ. Незначительная величина эволюционной дистанции между «гродненской» последовательностью и последовательностью, выделенной из организма пациента в Пакистане, свидетельствовала о высокой степени их гомологичности, это позволило заключить, что данный случай ОГЕ – завозной.

Выводы. Впервые в Гродненском регионе зарегистрирован завозной случай ОГЕ с гиперэндемичной по HEV территории. Установленная последовательность со 100% вероятностью отнесена к ВГЕ-1 генотипу и на 94,3% гомологична последовательности, полученной от пациента в Пакистане. При формировании условий ВГЕ-1, обладающий значительным эпидемическим потенциалом, может стать причиной развития вспышек ВГЕ.

Ключевые слова: вирус гепатита Е, 1 генотип, острый гепатит, Гродненский регион.

CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF THE FIRST CASE OF ACUTE HEPATITIS E IN THE GRODNO REGION

¹V. M. Tsyркunov, ²V. V. Davydov, ²S. V. Zhavoronok, ³L. K. Chernyak,
²A. S. Babenka, ²S. I. Marchuk, ⁴E. L. Gasich, ¹I. S. Zadora

¹Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

³Grodno Regional Infectious Clinical Hospital, Grodno, Belarus

⁴Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

Background. The emergence of hepatitis E virus (HEV) in developed countries is driven by improved diagnostic tools, increased clinician awareness of the autochthonous nature of transmission and the potential for life-threatening acute and chronic liver damage.

Objective. To present the first confirmed case of acute hepatitis E (AHE) caused by the E virus of the first genotype (HEV-1) in the Grodno region, registered in 2022.

Material and methods. The patient is a native of Pakistan, who has been living and working in Grodno for recent years. He visited Italy and Pakistan several times within last six months, returned to Grodno 2 weeks before the onset of clinical manifestations of the disease. The patient was hospitalized in the Regional infectious diseases hospital. The methods for laboratory and etiological diagnosis of hepatitis included: general clinical methods, serological and molecular genetic ones (ELISA - IgM, IgG HEV; PCR - RNA HEV, genotyping and sequencing of the HEV genome).

Results. Epidemiological, clinical and laboratory methods made it possible to exclude viral hepatitis A, B, C, D and establish the diagnosis of AHE of icteric (bilirubin at the height of the disease - 209.1 μ mol/l, ALT - 1795 U/l), moderate form with a favorable outcome. IgM and IgG to HEV were detected in the patient's blood. HEV RNA was isolated

from the patient's biological material. The isolated sequence in 100% bootstrap replications was assigned to HEV genotype 1. The insignificant value of the evolutionary distance between the "Grodno" sequence and the sequence isolated from a patient's body in Pakistan indicated a high degree of their homology, which made it possible to conclude that this case of AHE was imported.

Conclusions. For the first time in the Grodno region, there was registered an imported case of AHE acquired during travel to HEV hyperendemic territory. The identified sequence is 100% HEV-1 genotype and 94.3% homologous to the sequence obtained from a patient in Pakistan. Under favourable conditions, HEV-1, which has a significant epidemic potential, can cause the development of HEV outbreaks.

Keywords: hepatitis E virus, genotype 1, acute hepatitis, Grodno region.

Автор, ответственный за переписку

Цыркунов Владимир Максимович, д-р мед. наук, профессор, Гродненский государственный медицинский университет, e-mail: tvm111@mail.ru

Corresponding author:

Tsyrukunov Vladimir M., PhD, MD (Medicine), Professor, Grodno State Medical University, e-mail: tvm111@mail.ru

Для цитирования: Клинико-эпидемиологическая и молекулярно-генетическая характеристика первого случая острого гепатита е в Гродненском регионе / В. М. Цыркунов, В. В. Давыдов, С. В. Жаворонок, Л. К. Черняк, А. С. Бабенко, С. И. Марчук, Е. Л. Гасич, И. С. Задора // Гепатология и гастроэнтерология. 2022. Т. 6, № 2. С. 115-122. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2022-6-2-115-122>.

For citation: Tsyrukunov VM, Davydov VV, Zhavoronok SV, Chernyak LK, Babenka AS, Marchuk SI, Gasich EL, Zadora IS. Clinical-epidemiological and molecular-genetic characteristics of the first case of acute hepatitis E in the Grodno Region. *Hepatology and Gastroenterology*. 2022;6(2):115-122. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2022-6-2-115-122>.

Введение

Вирус гепатита Е (ВГЕ) относится к семейству *Неревиридае*, состоящему из двух родов. Род *Orthohepevirus* включает четыре разных вида (А, В, С и D), каждый из которых имеет разные генотипы [1]. ВГЕ (род *Orthohepevirus*) становится частой причиной гепатита во всем мире [2]. Штаммы ВГЕ, инфицирующие человека (ортогепевируса А), включают специфические только для человека и энзоотические генотипы. Вирусы вида *Orthohepevirus* А также инфицируют кроликов (ВГЕ-3ra), верблюдов и свиней. Используя метод, основанный на отборе, установлено происхождение рода *Orthohepevirus* не менее 21 млн лет назад, тогда как вид *Orthohepevirus* А произошел в Азии, скорее всего, от предка, заражающего человека, который существовал примерно от 4500 до 6800 лет назад. В этот период появление крупных населенных пунктов, вероятно, способствовало возникновению и распространению ВГЕ. Самые ранние события в эволюционной истории ортогепевируса А включали разделение энзоотических и человеческих генотипов, а также разделение генотипов, заражающих верблюдов [2, 3].

Появление ВГЕ в развитых странах, по-видимому, обусловлено усовершенствованными инструментами диагностики и повышением осведомленности клиницистов о том, что передача ВГЕ носит аутохтонный характер и является возможной причиной опасного для жизни острого и хронического поражения печени [4, 5].

Распространение штаммов ВГЕ эволюционирует. В Европе все чаще проводятся лонгитюдные исследования для определения тенденций распространности ВГЕ. Спектр млекопитающих, инфицированных ВГЕ и потенциально способных передать его человеку, расширился [6, 7].

Среди 8 разных генотипов, идентифицированных на сегодняшний день, генотипы ВГЕ-1,

ВГЕ-2, ВГЕ-3 и ВГЕ-4 – наиболее частые генотипы, вызывающие инфекции у людей [8, 9].

ВГЕ-1 и ВГЕ-2 реализуются фекально-оральным механизмом передачи, вызывая крупные вспышки заболеваний в развивающихся странах (рис. 1). Они также ответственны за тяжелый гепатит у беременных, новорожденных и грудных детей [10].

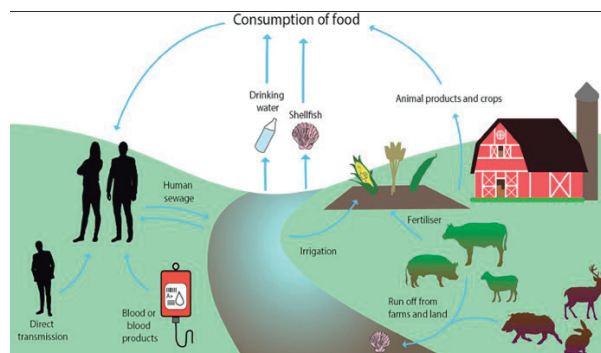


Рисунок 1. – Механизмы и факторы передачи ВГЕ [11]
Figure 1. – Mechanisms and factors of HEV transmission [11]

ВГЕ-3 и ВГЕ-4 вызывают зоонозную ВГЕ-инфекцию, передающуюся человеку при употреблении в пищу сырого или недостаточно термически обработанного мяса или печени зараженных животных (свиньи, олени и дикие кабаны) [12]. ВГЕ-5 и ВГЕ-6 до сих пор были обнаружены только у диких кабанов в Японии, ВГЕ-7 и ВГЕ-8 – у верблюдов на Ближнем Востоке и в Китае [13]. Из последних 4 генотипов описано только одно заражение человека ВГЕ-7, связанное с употреблением зараженного верблюжьего мяса и молока пациентом с ослабленным иммунитетом после трансплантации [14]. В странах Европы наиболее часто ВГЕ вызывается ВГЕ-3 [15]. Кроме того, имеются сообщения о единичных случаях заражения человека вирусом крысиного ВГЕ. Крысиный ВГЕ в значительной степени отличается от 8 известных патогенных

для человека генотипов, и до недавнего времени предполагалось, что он не способен заразить человека. Однако недавно крысиный ВГЕ был впервые диагностирован в Великобритании [16]. Этот особый вид ВГЕ, по-видимому, способен заражать людей и даже вызывать хронический гепатит E (ХГЕ) у пациентов с ослабленным иммунитетом, о чем недавно сообщалось из Гонконга и Канады [17, 18].

Клиническое течение ВГЕ-инфекции различается: инфекция генотипов 1 и 2 часто вызывает острое заболевание и может привести к острой печеночной недостаточности (ОПН) или ОПН, развившейся на фоне хронической (ОХПН) с высокой летальностью беременных – до 20%. Наоборот, большинство ВГЕ-инфекций ВГЕ-3 и ВГЕ-4 имеют клинически бессимптомное течение и лишь изредка приводят к ОПН и ОХПН у пожилых людей или у пациентов с сопутствующим заболеванием печени. У лиц с ослабленным иммунитетом, инфицированных ВГЕ-3 и ВГЕ-4, может развиться ХГЕ, который затем может привести к опасному для жизни циррозу печени [19, 20].

Впервые клиническое течение ВГЕ в Российской Федерации подробно описано у лиц, вовлеченных во вспышку ВГЕ-инфекции, вызванной ВГЕ-3 на эндемичной территории [20]. Автором показано, что аутохтонный для средней полосы России ВГЕ по клинической картине не отличается от ВГЕ, описанного на эндемичных территориях, характеризуется среднетяжелым течением с наличием желтушного синдрома. В отличие от ВГА, при ВГЕ чаще отмечались диспепсический синдром, артралгии и зуд кожи, а гриппоподобный синдром встречается реже.

Активности АлАт и АсАт колебались от нормы до более 60 норм, билирубинемия – от 3 до 24 норм. Восстановление биохимических показателей происходило через 1,5-2 месяца. Анти-ВГЕ в крови сохранялись в течение 1,5 года от начала заболевания.

Факторами риска развития фульминантных форм ВГЕ были пожилой возраст, злоупотребление алкоголем, наличие сопутствующих заболеваний и вирусных гепатитов другой этиологии. Отмечен один случай неврологических проявлений при остром ВГЕ.

В Гродненском регионе случаи острого гепатита E (ОГЕ) ранее официально не регистрировались, несмотря на периодически фиксируемые диагнозы острых гепатитов неустановленной этиологии, которые по клинико-лабораторным данным и исходам наиболее близки к вирусной этиологии поражения печени.

Цель исследования – представить первый подтвержденный случай ОГЕ, вызванного вирусом первого генотипа (ВГЕ-1) в Гродненском регионе, зарегистрированного в 2022 г.

Материал и методы

Мужчина 28 лет, рост 172 см, вес 88 кг, поступил в инфекционный стационар 07.04.2022.

Жалобы при поступлении: желтушность склер, светлый кал, темная моча, общая слабость.

История заболевания. Считает себя больным с 04.04.22, когда впервые отмечено появление желтушности склер и кожи, темного цвета мочи, светлого кала. 07.04.2022 обратился самостоятельно в приемное отделение УЗ «Гродненская инфекционная клиническая больница» и после осмотра врачом госпитализирован.

Эпидемиологический анамнез. Уроженец Пакистана, последние 7 лет проживает и работает в Гродно. За последние 6 месяцев выезжал за пределы Республики Беларусь в Италию и Пакистан; вернулся из Пакистана за 2 недели до начала клинических проявлений заболевания. Привит по возрасту (в Пакистане), согласно календарю профилактических прививок. Прямые контакты с инфекционными пациентами отрицает, парентеральный анамнез отсутствует.

Анамнезы: жизни, аллергологический (лекарственный), половой, иные не отягощены. Женат, имеет детей, в семье все здоровы.

Данные объективного осмотра. Правильного телосложения. Кожные покровы и склеры умеренно желтушны, без сыпи и расчесов. Сознание не нарушено, неврологической симптоматики нет. Со стороны сердечно-сосудистой, дыхательной системы и других систем патологии не выявлено. АД 120/70 мм рт. ст., пульс 70 ударов в 1 минуту. Язык влажный, незначительно обложен белым налетом. Живот при пальпации умеренно болезненный в правом подреберье. Печень при пальпации выступает на 3-4 см ниже реберной дуги, с гладкой поверхностью, напряжена, болезненная при пальпации. Стул и мочеиспускание не нарушены.

Диагноз при поступлении: острый гепатит неуточненной этиологии, среднетяжелая желтушная форма.

В диагностический комплекс были включены инструментальные и лабораторные методы исследования, соответствующие клиническим протоколам диагностики и лечения вирусных гепатитов, а также специальные методики, позволяющие провести дифференциальную диагностику предполагаемых возбудителей острого вирусного гепатита, а при его этиологической идентификации провести молекулярно-генетический анализ, включающий ПЦР-диагностику и секвенирование последовательностей вируса, выделенных из организма пациента.

Полученные образцы биологического материала использовали для обнаружения IgM и IgG при помощи ИФА, РНК ВГЕ выявляли при помощи ПЦР анализа. Анти-ВГЕ классов IgM и IgG определяли с использованием наборов

реагентов НПО «Диагностические системы», РФ («ДС-ИФА-АНТИ-ВГЕ-Г» и «ДС-ИФА-АНТИ-ВГЕ-М») – согласно инструкциям производителя. Набор для выделения нуклеиновых кислот (Jena Bioscience, Германия) использовали в соответствии с протоколом производителя для выделения тотальной РНК. Для выявления РНК ВГЕ применяли адаптированный нами метод с вырожденными праймерами, ориентированными на участок ORC2 генома ВГЕ с 5905нт по 6635 нт. Условия проведения ОТ-ПЦР соответствовали описанным ранее [21]. Подтверждение положительных результатов осуществляли коммерческим набором HEV RT-PCR Kit 2.0 (RealStar®, Altona, Германия).

Набор QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN, Hilden, Германия) использовали для экстрагирования из агарозы продуктов амплификации, содержащихся в геле. Нуклеотидную последовательность фрагмента генома ВГЕ определяли в ходе прямого секвенирования ампликонов на автоматическом секвенаторе 3500 GeneticAnalyzer (ABI, Foster City, США) с использованием набора BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit.

Нуклеотидную последовательность фрагмента генома ВГЕ определяли в ходе прямого секвенирования ампликонов на автоматическом секвенаторе 3500 GeneticAnalyzer (ABI, Foster City, США) с использованием набора BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit. Анализ нуклеотидных последовательностей ВГЕ, их генотипирование и расчет эволюционных расстояний выполняли с помощью программного обеспечения MEGA X [22].

В анализ были включены 59 нуклеотидных последовательностей, являющихся фрагментами ORC2 ВГЕ величиной 273 нуклеотида (нуклеотидные позиции 6193 – 6466 относительно штамма *Burma*, номер в GenBank M73218). Ранее были выделены 11 последовательностей из биологического материала человека и животных в Республике Беларусь, 40 референсных последовательностей для 1-8 генотипов и субгенотипов ВГЕ, предложенных D. B. Smith и соавт., а также 8 наиболее близких последовательностей к выделенным в Беларуси, установленные в результате BLAST-анализа [23]. Последовательность птичьего ВГЕ была включена как внешняя группа для отрицательного контроля. Филогенетический анализ проведен методом максимального правдоподобия и модели Хасегава-Кишино-Яно [24].

Результаты исследований

Данные инструментальных исследований:

ЭКГ от 9.04.2022: ритм синусовый, частота сокращений 61 в 1 минуту. Горизонтальное положение ЭОС. УЗИ ГБС 07.04.2022: печень визуализируется фрагментарно, контур ровный,

четкий; размеры: КВП правой доли – 139 мм, капсула дифференцируется, экзогенность в норме, эхоструктура однородная, сосудистый рисунок обычный. Диаметр воротной вены 9 мм, холедоха – 4 мм. Внутривеночные протоки не уплотнены, не расширены. Желчный пузырь сокращен. Селезенка не увеличена. ЭГДФС: эзофагит, недостаточность кардии 1 ст., эритематозная гастропатия, хронический дуоденит.

Данные общеклинических исследований:

Общий анализ крови 07.04.2022: лейкоциты $6,2 \times 10^9/\text{л}$; эритроциты $5,36 \times 10^{12}/\text{л}$; Hb 154 г/л; СОЭ 20 мм/час; Ht 43,2%; тромбоциты $199 \times 10^9/\text{л}$; нейтрофилы сегментоядерные 60%; лимфоциты 33%; моноциты 7%.

Общий анализ крови 13.04.2022: лейкоциты $5,9 \times 10^9/\text{л}$; эритроциты $5,35 \times 10^{12}/\text{л}$; Hb 142 г/л; СОЭ 12 мм/час; Ht 44,5%; тромбоциты $210 \times 10^9/\text{л}$; эозинофилы 4%; нейтрофилы палочкоядерные 1%, сегментоядерные 59%; лимфоциты 29%; моноциты 7%.

Общий анализ крови 18.04.2022: лейкоциты $5,5 \times 10^9/\text{л}$; эритроциты $5,01 \times 10^{12}/\text{л}$; Hb 132 г/л; СОЭ 6 мм/час; Ht 41,4 %; тромбоциты $276 \times 10^9/\text{л}$; эозинофилы 5%; нейтрофилы палочкоядерные 2%, сегментоядерные 37%; лимфоциты 50%; моноциты 6%.

Общий анализ мочи 08.04.2022: цвет насыщенно желтый; мутность слабо мутная; реакция pH 8; относительная плотность 1010; белок 0,03 г/л; глюкоза отр.; лейкоциты 5-4 п/з; соли фосфаты++; бактерии ++.

Общий анализ мочи 18.04.2022: цвет желтый; мутность – прозрачная; реакция 5 pH; относительная плотность 1010; белок 0,02 г/л; глюкоза – нет; эпителий плоский 1-2; лейкоциты ед.

Биохимическое исследование крови 07.04.2022: общий белок 80 г/л; альбумины 40 г/л; мочевины 5,9 ммоль/л; креатинин 49,1 мкмоль/л; С-реактивный белок 7,3 мг/л; билирубин общий 111,8 мкмоль/л; глюкоза 4,8 ммоль/л; щелочная фосфатаза (ЩФ) 275 Ед/л; гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП) 347,3 Ед/л; аспартатаминотрансфераза (АсАТ) 2223 Ед/л; аланинаминотрансфераза (АлАТ) 1532 Ед/л; амилаза 58 Ед/л; креатинфосфокиназа 34,7 Ед/л; лактатдегидрогеназа 1091 Ед/л; кальций 1,37 ммоль/л; натрий 139,2 ммоль/л; калий 4,74 ммоль/л; хлориды 99 ммоль/л.

Биохимическое исследование крови 13.04.2022: билирубин общий 209,1 (прямой 118,4) мкмоль/л; ЩФ 146 Ед/л; ГГТП 174,6 Ед/л; АсАТ 1860 Ед/л; АлАТ 1795 Ед/л.

Биохимическое исследование крови 18.04.2022: билирубин общий 107,1 (прямой 71,5) мкмоль/л; АсАТ 773,2 Ед/л; АлАТ 838,8 Ед/л; амилаза 53 Ед/л.

Биохимическое исследование крови 25.04.2022: билирубин общий 47,2 (прямой 32,3) мкмоль/л; АсАТ 216 Ед/л; АлАТ 389 Ед/л.

Гемостазиограмма 07.04.2022: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) 31,1 с.; протромбиновое время (ПВ) 13,5 с.; международное нормализованное отношение (МНО) 1,07; фибриноген (Ф) 3,08 г/л.

Гемостазиограмма 13.04.2022: АЧТВ 31,7 с.; ПВ 13,7 с.; МНО 1,09; Ф 3,52 г/л.

ПЦР (SARS-Cov-2) 08.04.2022: мазки из зева и носа – РНК SARS-COV-2 не обнаружена. ИФА от 08.04.2022: анти-HAV, анти-HCV, HBsAg – отрицательные. ИФА анализ 14.04.2022: анти HCV и HBsAg (повторно) – отрицательные.

Молекулярно-генетическое исследование. Анти-ВГЕ IgM – положит., анти-ВГЕ IgG – положительный. Из образцов биологического материала, полученных от пациента, была выделена РНК ВГЕ (рис. 2).

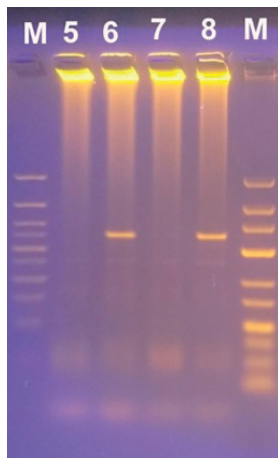
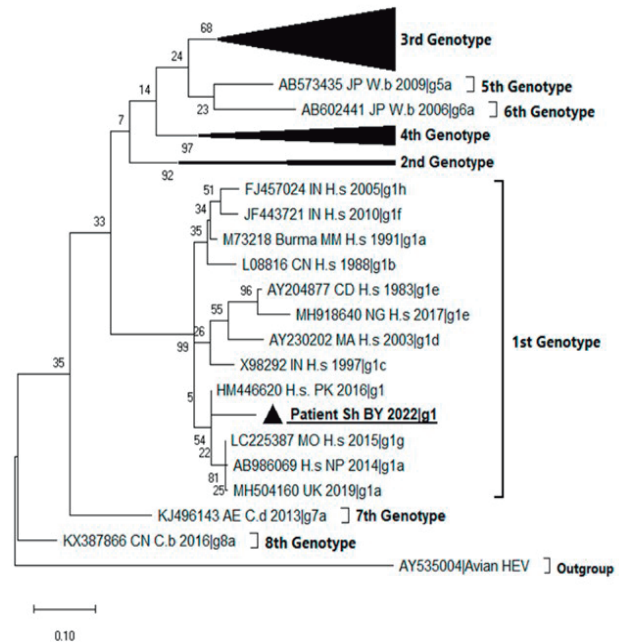


Рисунок 2. – Электрофореграмма результатов гнездовой ОТ-ПЦР «Patient_Sh_BY_2022/g1»: 5-8 – номера образцов, М – дорожка маркера молекулярного веса; 6 – сыворотка крови, 8 – кал
Figure 2. – Electrophoregram of the results of nested RT-PCR "Patient_Sh_BY_2022/g1": 5-8 sample numbers, M – lane of the molecular weight marker; 6 – blood serum, 8 – feces

На основе филогенетического анализа последовательностей, кодирующих фрагмент белка капсида вируса, построено филогенетическое дерево, которое позволило оценить степень генетического родства последовательности ВГЕ, выделенной из биологического материала, полученного из организма пациента, с референсными последовательностями ВГЕ, установленными для генотипов и субгенотипов ВГЕ, и гомологичными последовательностями, полученными из базы данных GenBank (рис. 3) [23].

Последовательность, выделенная из организма пациента «Patient_Sh_BY_2022|g1», в 100% репликаций бутстрапа относится к 1 генотипу ВГЕ. Генотипирование данной последовательности проводили на on-line платформе «Automated genotyping and interpretation HEV»,



Условные обозначения: ▲ – последовательность, выделенная в Беларуси. Расшифровка кода последовательности: AAAAAAAA_BB_C.c_DDDD|EEF: A – код доступа в базе GenCode NCBI, B – код страны происхождения последовательности, C – сокращенное название вида хозяина, D – год выделения последовательности, E – генотип вируса, F – субгенотип

Рисунок 3. – Филогенетическое дерево для частичной последовательности ORF2

Symbols: ▲ – the sequence allocated in Belarus. Sequence code deciphering: AAAAAAAA_BB_C.c_DDDD|EEF: A – access code in the GenCode NCBI database, B – code of the country of origin of the sequence, C – abbreviated name of the host species, D – year of isolation of the sequence, E – virus genotype, F – subgenotype
Figure 3. – Phylogenetic tree for a partial ORF2 sequence

размещенной в сети Интернет по адресу <http://hev.glue.cvr.ac.uk/#/analysisTool> [25]. С вероятностью 32,8% ее можно отнести к субгенотипу 1a, и с вероятностью 25,23% – к субгенотипу 1f.

Эта последовательность в 54% репликаций образует общую филогенетическую ветвь с рядом последовательностей, выделенных из организма человека в странах Юго-Восточной Азии (рис. 3, табл.).

Таблица – Значения попарных эволюционных дистанций между нуклеотидной последовательностью ВГЕ, выделенной из организма пациента в Республике Беларусь, а также последовательностями ВГЕ, выбранными для сравнения из базы GenBank

Table – Values of pairwise evolutionary distances between the HEV nucleotide sequence isolated from a patient in the Republic of Belarus, as well as HEV sequences selected for comparison from the GenBank database

Код	p-distance	Код
Patient_Pf_BY_2019 3	0,000±0,000	MT518198_H.s_BY_2021 g3
Patient_Sh_BY_2022 g1	0,073±0,017	HM446620_H.s_PK_2016 g1
Patient_Sh_BY_2022 g1	0,094±0,019	AB986069_H.s_NP_2014 g1a
Patient_Sh_BY_2022 g1	0,098±0,020	LC225387_MO_H.s_2015 g1g

Наименьшее значение р-эволюционной дистанции, составляющее $0,073 \pm 0,017$, разделяет «гродненскую» последовательность «Patient_Sh_BY_2022|g1» и последовательность «NM446620_H.s._PK_2016|g1», выделенную из организма пациента в Пакистане. Незначительная величина эволюционной дистанции между этими двумя последовательностями, свидетельствует о высокой степени их гомологичности. Наличие в эпидемиологическом анамнезе пациента эпизода выезда за пределы Республики Беларусь в Пакистан позволяет утверждать, что данный случай ГЕ – завозной.

Окончательный диагноз: острый гепатит E (РНК ВГЕ+, 1 генотип), желтушная форма, средней тяжести; хронический гастродуоденит; недостаточность кардии 1 степени.

Выписан по настоянию 26.04.2022. Состояние при выписке удовлетворительное. Спустя 1

месяц после выписки биохимические показатели были в пределах нормы. Жалоб нет. Никто из родственников не заболел.

Обсуждение. Как отмечалось ранее, частота встречаемости анamnестических антител к ВГЕ в общей популяции условно здорового населения Республики Беларусь составляет 7,3%, что эквивалентно примерно 10 000 ежегодных ВГЕ-инфекций [26]. Это явно не согласуется с показателями заболеваемости ВГЕ в республике, составляющими 0,02-0,04 на 100 000 населения и означает, что 99,9% первичных инфекций ВГЕ остаются недиагностированными.

Возможность завоза на территорию Республики Беларусь штаммов ВГЕ, имеющих высокий эпидемиологический потенциал, обсуждалась нами в предыдущих публикациях [27].

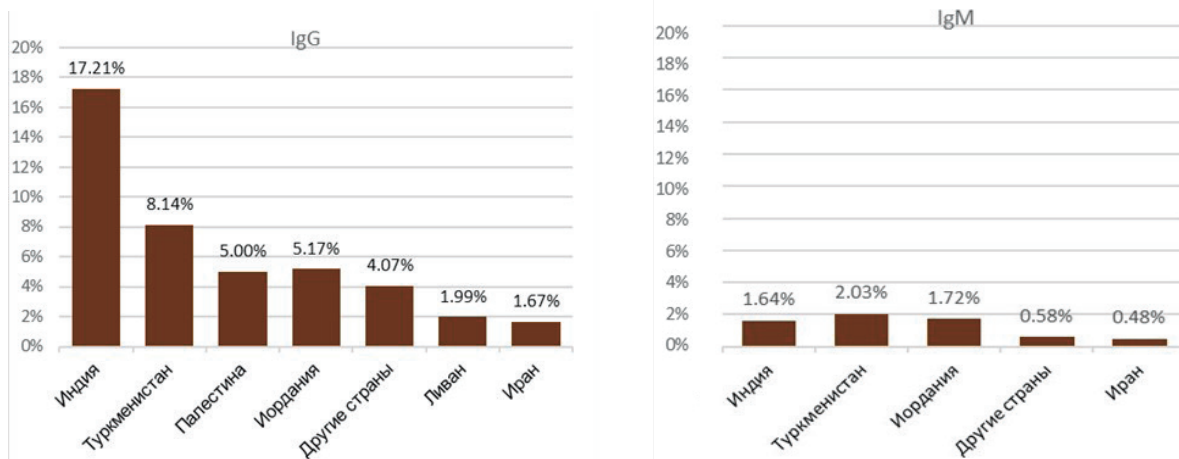
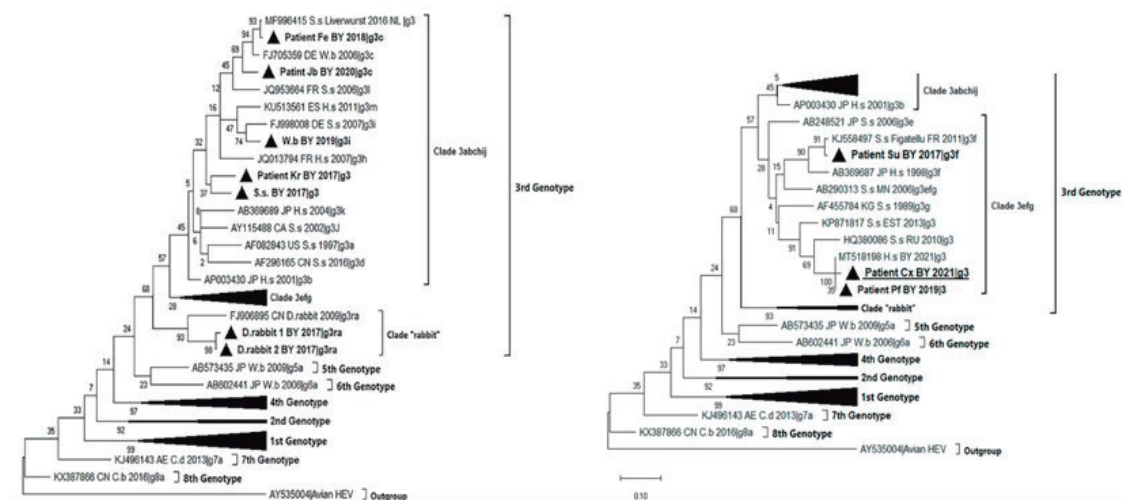


Рисунок 4. – Распространенность иммунологических маркеров ВГЕ в крови иностранных граждан, временно пребывающих на территории Республики Беларусь

Figure 4. – The prevalence of HEV immunological markers in the blood of foreign citizens temporarily staying on the territory of the Republic of Belarus



Условные обозначения: ▲ – последовательность, выделенная в Беларуси. Расшифровка кода последовательности: AAAAAAAA_BB_C.c_DDDD|EEF: A – код доступа в базе GenCode NCBI, B – код страны происхождения последовательности, C – сокращенное название вида хозяина, D – год выделения последовательности, E – генотип вируса, F – субгенотип

Рисунок 5. – Филогенетическое дерево для частичной последовательности ORF2
 Symbols: ▲ – the sequence allocated in Belarus. Sequence code deciphering: AAAAAAAA_BB_C.c_DDDD|EEF: A – access code in the GenCode NCBI database, B – code of the country of origin of the sequence, C – abbreviated name of the host species, D – year of isolation of the sequence, E – virus genotype, F – subgenotype.
Figure 5. – Phylogenetic tree for partial ORF2 sequence

При изучении распространенности иммунологических маркеров ВГЕ в крови иностранных граждан, временно пребывающих на территории Республики Беларусь, установлено, что наибольшая распространенность анти-ВГЕ IgG обнаружена у граждан Индии. Анти-ВГЕ IgM наиболее часто выявлялись в организме иностранцев из Туркменистана (рис. 4). Отмечено, что иностранные граждане из этих стран, наиболее вероятно, представляют группу риска, обуславливающую завоз ВГЕ 1 генотипа из эндемичных по ГЕ территорий.

В предыдущих публикациях, посвященных генетическому полиморфизму ВГЕ, нами установлена циркуляция на территории Республики Беларусь возбудителей ВГЕ, относящихся к разным субгенотипам 3 генотипа вируса, выделенным из организма разных хозяев [28]. Из 10 последовательностей, ранее выделенных в Беларуси, 6 были получены из организма человека. Три из шести ВГЕ-3 отнесены к кладе «Zefg», 3 – к кладе «Zabchij».

Из 4 последовательностей ВГЕ-3, полученных от животных, 2 от кроликов генотипированы как ВГЕ-3 «rabbit», 2 от свиней – отнесены к кладе «Zabchij» (рис. 5).

Выводы

Впервые с начала официальной регистрации заболеваемости гепатитом Е в Республике Беларусь доказан эпизод завоза ВГЕ с гиперэндемичной по ГЕ территории. Последователь-

ность, выделенная из организма пациента с клиническими проявлениями ОГЕ, с вероятностью 100% отнесена к ВГЕ-1. Данная последовательность на 94,3% гомологична последовательности, полученной от пациента в Пакистане. При формировании соответствующих условий ВГЕ-1, обладающий значительным эпидемическим потенциалом, может стать причиной развития вспышек ВГЕ.

Географическое расположение Беларуси в центре европейского континента, развитие миграционных процессов, вызванных в том числе приездом граждан иностранных государств на учебу в Республику Беларусь обуславливает высокую актуальность изучения эпидемиологии ВГЕ на территории, не являющейся эндемичной по данному заболеванию. Приведенный пример свидетельствует о существовании значительного риска завоза ВГЕ на территорию РБ и обуславливает необходимость включения в протокол исследования при проведении обязательных медицинских осмотров иностранных граждан, прибывших в Республику Беларусь из стран, являющихся гиперэндемичными по ГЕ, выявление в их организме маркеров ОГЕ (в крови – анти-ВГЕ IgM, в фекалиях – РНК ВГЕ).

Клиническое течение ОГЕ практически не отличалось от классических проявлений ОГА, что в значительной степени диктует необходимость проведения этиологической расшифровки всех случаев острого гепатита, независимо от предполагаемой этиологии.

References

- Syed SF, Zhao Q, Umer M, Alagawany M, Ujjan IA, Soomro F, Bangulzai N, Baloch AH, Abd El-Hack M, Zhou EM, Arain MA. Past, present and future of hepatitis E virus infection: Zoonotic perspectives. *Microb Pathog.* 2018;119:103-108. doi: 10.1016/j.micpath.2018.03.051.
- Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Origin and dispersal of Hepatitis E virus. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):11. doi: 10.1038/s41426-017-0009-6.
- Khuroo MS, Khuroo MS. Hepatitis E: an emerging global disease – from discovery towards control and cure. *J Viral Hepat.* 2016;23(2):68-79. doi: 10.1111/jvh.12445.
- Kubánková M, Němeček V, Chalupa P, Mihalčín M, Vašíčková P. Hepatitis E virus. *Epidemiol Mikrobiol Immunol.* 2016;65(1):4-14.
- Barreiro P. Chronic hepatitis E: knowing what to look for, so it can always be found. *AIDS Rev.* 2013;15(3):191.
- Pischke S, Potthoff A, Hauröder B, Schlué J, Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H. Hepatitis E virus infection: a paradigm shift? *Dtsch Med Wochenschr.* 2010;135(22):1129-1133. doi: 10.1055/s-0030-1255136. (German).
- Aggarwal R, Naik S. Epidemiology of hepatitis E: current status. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24(9):1484-1493. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.05933.x.
- Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012;55(4):988-997. doi: 10.1002/hep.25505.
- Li B, Wu H, Miao Z, Hu L, Zhou L, Lu Y. Codon Usage of Hepatitis E Viruses: A Comprehensive Analysis. *Front Microbiol.* 2022;21(13):938651. doi: 10.3389/fmicb.2022.938651.
- Aslan AT, Balaban HY. Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. *World J Gastroenterol.* 2020;26(37):5543-5560. doi: 10.3748/wjg.v26.i37.5543.
- Treagus S, Wright C, Baker-Austin C, Longdon B, Lowther J. The Foodborne Transmission of Hepatitis E Virus to Humans. *Food Environ Virol.* 2021;13(2):127-145. doi: 10.1007/s12560-021-09461-5.
- Vina-Rodriguez A, Schlosser J, Becher D, Kaden V, Groschup MH, Eiden M. Hepatitis E virus genotype 3 diversity: phylogenetic analysis and presence of subtype 3b in wild boar in Europe. *Viruses.* 2015;7(5):2704-2726. doi: 10.3390/v7052704.
- Sridhar S, Teng JLL, Chiu TH, Lau SKP, Woo PCY. Hepatitis E Virus Genotypes and Evolution: Emergence of Camel Hepatitis E Variants. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):869. doi: 10.3390/ijms18040869.
- Lee GH, Tan BH, Teo EC, Lim SG, Dan YY, Wee A, Aw PP, Zhu Y, Hibberd ML, Tan CK, Purdy MA, Teo CG. Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Liver Transplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk. *Gastroenterology.* 2016;50(2):355-357.e3.
- Spancerniene U, Grigas J, Buitkuvienė J, Zymantiene J, Juozaitiene V, Stankeviciute M, Razukevicius D, Zienius D. Prevalence and phylogenetic analysis of hepatitis E virus in pigs, wild boars, roe deer, red deer and moose in Lithuania. *Acta Vet Scand.* 2019;61(1):9. doi: 10.1186/s13028-019-0443-7.
- Murphy EG, Williams NJ, Jennings D, Chantrey J, Verin R, Grierson S, McElhinney LM, Bennett M. First detection of Hepatitis E virus (Orthohepevirus C) in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from Great Britain. *Zoonoses Public Health.* 2019;66(6):686-694. doi: 10.1111/zph.12581.
- Sridhar S, Yip CCY, Wu S, Cai J, Zhang AJ, Leung KH, Chung TWH, Chan JFW, Chan WM, Teng JLL, Au-Yeung

- RKH, Cheng VCC, Chen H, Lau SKP, Woo PCY, Xia NS, Lo CM, Yuen KY. Rat Hepatitis E Virus as Cause of Persistent Hepatitis after Liver Transplant. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(12):2241-2250. doi: 10.3201/eid2412.180937.
18. Andonov A, Robbins M, Borlang J, Cao J, Hatchette T, Stueck A, Deschambault Y, Murnaghan K, Varga J, Johnston L. Rat Hepatitis E Virus Linked to Severe Acute Hepatitis in an Immunocompetent Patient. *J Infect Dis.* 2019;220(6):951-955. doi: 10.1093/infdis/jiz025.
 19. Horvatits T, Schulze Zur Wiesch J, Lütgehetmann M, Lohse AW, Pischke S. The Clinical Perspective on Hepatitis E. *Viruses.* 2019;11(7):617. doi: 10.3390/v11070617.
 20. Malinnikova EJu. Kliniko-jepidemiologicheskaja harakteristika gepatita E v Rossijskoj Federacii [masters thesis]. Moskva; 2014. 48 p. (Russian).
 21. Arabej AA, Marchuk SI, Zhavoronok SV, Davydov VV, Kjuregian KK, Mihajlov MI. Adaptirovannyj metod polimeraznoj cepnoj reakcii dlja vyjavlenija virusa gepatita E u cheloveka i zhivotnyh [Adapted method of polymerase chain reaction for detecting hepatitis E virus for people and animal]. *Voennaja medicina [Military medicine]*. 2018;3:86-92. edn: XYKMFV. (Russian).
 22. Kumar S, Stecher G, Li M, Nkay C, Tamura K. Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol.* 2018;35(6):1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096.
 23. Smith DB, Izopet J, Nicot F, Simmonds P, Jameel S, Meng XJ, Norder H, Okamoto H, van der Poel WHM, Reuter G, Purdy MA. Update: proposed reference sequences for subtypes of hepatitis E virus (species Orthohepevirus A). *J Gen Virol.* 2020;101(7):692-698.
 24. Hasegawa M, Kishino H, Yano T. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol.* 1985;22(2):160-174. doi: 10.1007/BF02101694.
 25. Automated genotyping and interpretation [Internet]. Available from: <http://hev.glue.cvr.ac.uk/#/analysisTool>
 26. Davydov VV, Zhavoronok SV, Rogacheva TA, Novik TP, Alatorceva GI, Nesterenko LN, Sidorov AV, Luhverchik LN, Mihajlov MI, Zverev VV. Rasprostranjonost' antitel k virusu gepatita E u naselenija regionov Respubliki Belarus [Prevalence of antibodies to the hepatitis e virus in the population of the Republic of Belarus]. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2022;99(2):160-171. doi: 10.36233/0372-9311-236. edn: WPZHLF. (Russian).
 27. Davydov VV, Zhavoronok SV, Anis'ko LA, Gasich EL, Marchuk SI, Semizhon PA, Karlsen AA, Kjuregian KK, Mihajlov MI, Alatorceva GI. Izuchenie riskov zavoza gepatita E v Respubliku Belarus. In: Rubnikovich SP, Hryshhanovich VJa, editors. *BGMU v avangarde medicinskoj nauki i praktiki*. Sbornik nauchnyh trudov. Minsk: BGMU; 2020. Pt. 10; p. 297-305. (Russian).
 28. Davydov VV, Zhavoronok SV, Anis'ko LA, Gasich EL, Marchuk SI, Semizhon PA, Potemkin IV, Karlsen AA, Kjuregian KK, Mihajlov MI, Alatorceva GI, Krasochko PA, Borisovet DS, Prokopenkova TM. Geneticheskij polimorfizm virusa gepatita E v Respublike Belarus [Genetic diversity of hepatitis e virus in the Republic of Belarus]. *Klinicheskaja infektologija i parazitologija* [Clinical Infectology and Parasitology]. 2020;9(3):297-305. doi: 10.34883/PI.2020.9.3.029. edn: OXYYYW. (Russian).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Сведения об авторах:

Цыркунов Владимир Максимович, д-р мед. наук, проф., Гродненский государственный медицинский университет, e-mail: tvm111@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9366-6789

Давыдов Владимир Витольдович, канд. биол. наук, доц., учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: davidovvv@bsmu.by, ORCID 0000-0002-5672-9509

Жаворонок Сергей Владимирович, д-р мед. наук, проф., учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: zhavoronoksv@bsmu.by, ORCID 0000-0001-9727-1103

Черняк Лариса Константиновна, Гродненская областная инфекционная клиническая больница, e-mail: goikb@mail.grodno.by

Бабенко Андрей Сергеевич, канд. хим. наук, учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: labmbdt@gmail.com, ORCID 0000-0002-5513-970X

Марчук Светлана Ивановна, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: marchuk_s@mail.ru, ORCID 0000-0002-2291-4538

Гасич Елена Леонидовна, д-р. биол. наук, доц., Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, e-mail: elena.gasich@gmail.com, ORCID 0000-0002-3662-3045

Задора Илона Сергеевна, учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: zadora-ilona@mail.ru, ORCID 0000-0003-2231-1785

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was performed without external funding.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Information about authors:

Tsykunov Vladimir M., PhD, MD (Medicine), Professor, Grodno State Medical University, e-mail: tvm111@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9366-6789

Davydov Vladimir V., PhD. biol. Sci., Associate Professor, Belarusian State Medical University, e-mail: davidovvv@bsmu.by, ORCID 0000-0002-5672-9509

Zhavoronok Sergey V., PhD, MD (Medicine), Professor, Belarusian State Medical University, e-mail: zhavoronoksv@bsmu.by, ORCID 0000-0001-9727-1103

Chernyak Larisa K., Grodno Regional Infectious Clinical Hospital, e-mail: goikb@mail.grodno.by

Babenka Andrei S., PhD. chem. Sci., Belarusian State Medical University, e-mail: labmbdt@gmail.com, ORCID 0000-0002-5513-970X

Marchuk Svetlana I., Belarusian State Medical University, e-mail: marchuk_s@mail.ru, ORCID 0000-0002-2291-4538

Gasich Elena L., PhD, MD (Biology), Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, e-mail: elena.gasich@gmail.com, ORCID 0000-0002-3662-3045

Zadora Ilona S., Belarusian State Medical University, e-mail: zadora-ilona@mail.ru, ORCID 0000-0003-2231-1785

Поступила: 28.10.2022

Принята к печати: 01.11.2022

Received: 28.10.2022

Accepted: 01.11.2022