

猪戊型肝炎病毒检测技术的研究进展

陈小金, 吴冬雪, 刘国红, 王乃福, 董志珍*

(天津出入境检验检疫局动植物与食品检测中心, 天津 300461)

摘要: 猪戊型肝炎是一种新的人畜共患病, 其病原戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)是无囊膜的 RNA 病毒, 主要通过消化道进行传播。研究发现, 世界上许多国家的猪群中普遍存在 HEV 抗体及猪戊型肝炎病毒 RNA 携带。与患病猪群密切接触、食用未煮熟的猪肉或猪肉制品、被污染的水源及水产品, 这些因素都可增加戊型肝炎的患病风险。猪作为戊型肝炎病毒的宿主, 不仅对公共卫生和食品安全构成威胁, 同时对人类戊型肝炎流行病学有很大的影响。本文简要介绍了 HEV 的病原学以及抗原抗体检测方法, 包括血清学、免疫学及分子生物学方法等, 并对国内外开展的戊型肝炎检测技术的研究进展进行综述。

关键词: 猪戊型肝炎病毒; 人畜共患病; 检测技术

Progress in the detection methodology of swine hepatitis E virus

CHEN Xiao-Jin, WU Dong-Xue, LIU Guo-Hong, WANG Nai-Fu, DONG Zhi-Zhen*

(Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300461, China)

ABSTRACT: Swine hepatitis E is a new kind of zoonosis, with the pathogen of hepatitis E virus (HEV). Non-enveloped hepatitis E virus has a single stranded positive-sense RNA genome. Fecal-oral transmission is the usual route of hepatitis E. The studies have shown that the existing of HEV antibodies and swine HEV RNA among pigs through the world. It will increase the risk of infecting hepatitis E when people come into contact with sick pigs, or eating undercooked pork and products, contaminated water and fishery products. Pigs as the host of HEV, not only pose a threat to public health and food safety, but also greatly influence the epidemiology of human hepatitis E. The etiology and detection methodology of HEV were introduced in this paper, including serology, immunology and molecular biology method. The progress in research of detection of HEV was reviewed in detail, including the detection of antigen and antibody.

KEY WORDS: swine hepatitis E virus; zoonosis; detection technology

1 引言

戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)可以引起以黄疸为主的急性病毒性肝炎^[1,2]。HEV 不仅感染人, 还感染猪、野猪、鸡、鸟、鼠、猫及鹿等动物, 是一种人畜共患病^[3-7]。

有研究表明与猪有密切接触的人群中, HEV 感染率高达 80%以上^[8]。戊型肝炎的病死率较甲型、乙型、丙型和丁型肝炎高, 孕妇的病死率可高达 21%。临床上超过 50%的急性肝炎为 HEV 所致, 人群感染后的病死率为 0.5%~3.0%, 并可引起新生儿较高的发病率和病死率^[9-11]。

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2014IK250)

Fund: Supported by the Scientific and Technological Project of the General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China (2014IK250)

*通讯作者: 董志珍, 研究员, 主要研究方向为动物疫病及动物性食品检测。E-mail: baobao152@126.com

*Corresponding author: DONG Zhi-Zhen, Researcher, Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau, No.158 Jingmen Road, Free Trade Zone, Tianjin Port, Tianjin 300461, China. E-mail: baobao152@126.com

戊型肝炎的传播途径主要是粪-口传播, 常见方式是通过污染水源和食物传播, 有流行和散发两种形式。戊型肝炎在世界范围内广泛流行, 亚洲、非洲、美洲等发展中国家流行更广, 散发则主要发生在发达国家^[12,13]。流行区域以印度恒河流域、非洲尼罗河流域为最大, 其次在中亚地区, 非洲中部也十分普遍, 发达国家也有较多报道^[14-20], 我国新疆、辽宁、吉林、内蒙古、山东等省均发生过戊型肝炎的流行^[21-23]。在我国发生的病毒性肝炎中, 戊型肝炎约占 10%, 严重危害人民身体健康。中国南方流行的戊型肝炎其病原主要是由猪 HEV 引起的, 猪是 HEV 的宿主^[24]。对猪戊型肝炎准确快速的检测对该病的防控具有重要意义, 可以及时有效地控制传染源、切断传播途径。

2 病原学

HEV 属于戊型肝炎病毒科(hepeviridae family)戊型肝炎病毒属(hepevirus genus), 无囊膜, 单股正链 RNA 病毒。HEV 基因组全长约 7.5 kb, 包含非结构区及 3 个开放阅读框 ORF1、ORF2 和 ORF3, 其中 ORF2 与 ORF3 重叠的区域最保守^[25]。HEV 不稳定, 对氯仿和反复冻融敏感, 对高温敏感, 煮沸可将其灭活。HEV 易发生变异, 产生出在遗传学和抗原性上相关的病毒群, 表现为 HEV 存在不同的基因型及基因亚型^[26]。不同 HEV 毒株基因序列有一定的差异, 但同一地区来源的 HEV 基因序列保持相对稳定。目前统一将 HEV 分为 5 个基因型(genotype), 其中前 4 种基因型 HEV 属于同一种血清型^[26]。I 型和 II 型仅发现于人; III型和 IV 型为人兽共患, 动物中的主要宿主是猪; V 型仅发现于禽类。但也有研究报道在柬埔寨猪粪便中检测到基因 I 型 HEV RNA^[27]。II 型 HEV 只在墨西哥和非洲少数地区人群中流行, 迄今为止, 还未在世界其他地区发现^[28]。III型和 IV 型被认为是人畜共患, 其中 III 型在世界范围内的人群和猪群中流行。2007 年, 我国首次在上海猪群中检测到基因 III 型 HEV^[29]。1993 年, 在中国人群中首次检测到基因 IV 型 HEV^[30]。此外, 日本、印度、印度尼西亚以及越南的猪群和人群中流行 HEV 为基因 IV 型^[31]。Meng 等^[31]首次从美国的猪血清中分离到 III 型野毒株。我国研究人员分离到的猪 HEV 多数为 IV 型^[32], 表明我国 HEV 感染占主导地位的是基因 IV 型^[33,34]。戊肝病毒可在肝脏和胆汁中蓄积, 同时也可以在小肠及大肠内增生^[35]。猪 HEV 经口侵入机体, 从肠道经门静脉感染肝细胞, 在肝细胞质内增生, 增生的子代病毒可进入血液出现短暂的病毒血症, 并可分泌进入胆汁中^[36]。病毒主要随胆汁一起经粪便排出体外, 带病毒的粪便可再次经口引发新的感染^[37]。

3 HEV 检测方法

3.1 免疫电镜(immunoelectron microscopy, IEM)

Balayan 等^[38]运用免疫电镜技术在急性肝炎患者及志

愿者的粪便中发现并证实了 HEV 的存在。HEV 感染潜伏期和急性期患者的粪便和胆汁中存在大量的 HEV 病毒颗粒, 可用 IEM 进行检测。但是该方法在实际应用中受到一定的限制, 原因是 HEV 通过粪便排毒持续时间短, 且检测需要特殊的设备。

3.2 免疫荧光试验(immunofluorescence assay, IFA)

免疫荧光试验可用于检测 HEV 抗原。在 HEV 感染期间, 用荧光标记的抗体可以检测到肝细胞组织中的 HEV 特异性抗原。Purdy 等^[39]应用荧光素标记 HEV 患者的血清 IgG 以及重组蛋白制备的血清, 上述标记的 IgG 和血清可用于检测 HEV 抗原。Zhu 等^[40]以 IV 型 HEV cDNA 克隆进行活体动物肝内接种, 运用 IFA 对肝脏组织中的 HEV 抗原进行检测。IFA 技术在急性期和急性期前肝活检 HEV 抗原检出率最高, 而当血清转氨酶达到峰值时, 其敏感度则下降。

3.3 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)

目前, ELISA 是用于检测血清 HEV 抗体最常用的方法, 常用的有间接 ELISA 和双抗体夹心 ELISA。双抗体夹心 ELISA 适合多种动物的检测, 解决了间接 ELISA 需要根据不同动物分别制备二抗的问题, 所以更适用于对不同动物进行检测。ELISA 包被抗原包括全病毒抗原、合成肽抗原和表达抗原, 表达抗原以及重组蛋白抗原。刘涛等^[41]以重组 GST-ORF3 作为包被抗原建立间接 ELISA, 检测 190 份猪血清样品, 阳性率为 84.7%, 与某公司商品试剂盒检测结果相比, 阳性符合率为 91.5%。张可心等^[42]采用巢式 RT-PCR 技术扩增猪戊型肝炎病毒(swine hepatitis E virus, SHEV)结构蛋白基因 ORF2 部分片段 AG02 并进行重组表达, 以分子量为 33 kDa 重组蛋白建立了初步的间接 ELISA 方法。赵宇军等^[43]对 SHEV DQ1 结构蛋白片段进行了表达并建立了 ELISA 诊断方法。曲娟娟等^[44]采用大肠杆菌表达的 HEV ORF2 主要抗原决定区的部分蛋白作为包被抗原, 建立了 HEV 间接 ELISA 诊断方法, 对黑龙江省、吉林省某些猪场共计 480 份猪血清样品的检测, 戊型肝炎阳性率分别为 62%、75%, 与商品化试剂盒符合率为 98.6%。刘启文等^[45]通过猪 HEV ORF3 筛选出来的一段序列合成肽建立了检测 HEV 血清抗体的间接 ELISA 诊断方法, 用于检测 IgG。王永霞等^[46]克隆表达了猪 HEV ORF2 上 187 bp 片段表达重组蛋白用于检测感染戊型肝炎病毒后急性期抗体水平。闻晓波等^[47]应用原核表达系统表达猪戊型肝炎病毒 ORF2 蛋白 C 端和 N 端的主要抗原表位区, 建立 ELISA 检测方法。Pezzoni 等^[48]对两种间接 ELISA 和一种阻断 ELISA 方法进行比较研究, 结果表明 3 种方法的敏感性差异无统计学意义, 但是间接 ELISA 方法的敏感性优于阻断 ELISA。Ponterio 等^[49]以基因 III 型 HEV 的重组衣壳蛋白为包被抗原建立了 ELISA 方法, 并用该方法对对意大利的猪群进行检测。Krumbholz 等^[50]用建立的 ELISA 方法证实实际

了使用未煮熟的猪肉直接与患病猪群接触,人感染 HEV 的风险也会增加。

3.4 血清中和试验(serum neutralization test, SNT)

中和试验是以测定病毒的感染力为基础,以比较病毒受免疫血清中和后的残存感染力为依据,来判定免疫血清中和病毒的能力。血清中和试验不仅可以对病毒的种型鉴定还可以测定血清抗体效价。Meng 等^[51]用不同毒株的阳性血清对不同地域的 HEV 毒株进行中和试验发现只有一个血清型。之后将感染 HEV 和待检血清混合 37℃ 水浴 1 h 后,接种到单层 PLC/PRE-5 细胞上,37℃ 下作用 2 h,反复洗涤细胞板,然后提取培养细胞中的 HEV-RNA,进行 RT-PCR,建立了快速血清中和试验(rSNA)方法^[52]。

3.5 蛋白质印迹法(Western blotting, WB)

蛋白质印迹法又称免疫印迹法,是根据抗原抗体的特异性结合检测复杂样品中的某种蛋白的方法。应用重组表达抗原可用于检测患者和病畜血清中的抗戊型肝炎病毒 IgM 和 IgG 抗体。Li 等^[53]用 GST 融合表达系统分别对 ORF2 和 ORF3 基因进行融合表达,检测结果表明 GST-ORF2 检出率高于 GST-ORF3。Thiry 等^[54]应用抗原建立蛋白吸引试验(Western blot, WB),可用于检测血清抗 HEV 抗体,并用 WB 法对 ELISA 方法进行评价。WB 法检测虽然特异性高,但操作过程相对复杂,耗时较长。

3.6 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)

PCR 可较灵敏地检出戊型肝炎病毒 RNA,是最常用的分子生物学检测方法。Huang 等^[55]用 RT-PCR 方法对美国 96 份猪粪进行 HEV RNA 检测,结果显示阳性率为 35%。邱蜜蜜等^[56]针对 HEV 基因序列中 ORF2 设计了 2 对简并引物,用于检测猪戊型肝炎病毒,并对其进行了基因分型。张序等^[57]建立了猪戊型肝炎病毒 RT-nPCR 检测方法,对江西省部分猪场采集的胆汁及肠内容物进行检测,结果胆汁中的阳性率为 10%,肠内容物的阳性率为 4%。郝宝成^[58]应用建立的 RT-PCR 方法对在甘肃省部分地区采集的 255 份猪粪便或猪胆汁血清样品,进行了检测诊断,在甘肃省的养殖场猪群中存在猪戊型肝炎的感染。之后研究者^[59,60]又分别建立了 SYBR Green I 和 Taqman 荧光定量 PCR 方法用于检测猪源戊型肝炎病毒。张晓峰等^[61]利用所建立的荧光定量 PCR 对浙江及其周边的上海、江苏等地区的猪场环境进行了核酸检测,发现几乎所调查的猪场均存在 HEV,感染阳性率高达 20.5%,且很多猪场在不同时期能持续检出阳性。Qiu 等^[62]建立了一步法多重 RT-PCR 用于同时检测甲型肝炎病毒和戊型肝炎病毒。

3.7 限制性片段长度多态性分析

用 2 对相应引物对 HEV 基因组中编码解旋酶、聚合酶和部分病毒衣壳蛋白的基因进行 RT-PCR 扩增,再用不

同的内切酶对 PCR 产物进行酶切分析,既可检测有无 HEV 感染,也可对戊型肝炎病毒 RNA 进行基因分型。Gouvea 等^[63]应用限制性长度多态性分析可以区分墨西哥和亚洲 HEV 毒株,并将亚洲毒株分成几个亚型。

3.8 其他方法

Liang 等用构建的 pcDNA3.1-ORF3 转染真核细胞系 HepG2,建立了一种检测 HEV 的新方法—免疫过氧化物酶单层细胞试验(immunoperoxidase monolayer assay, IPMA),用于检测 HEV 抗体^[64]。Owolodun 等^[65]建立了荧光微珠免疫分析方法用于检测抗猪 HEV 的 IgG。Wutz 等^[66]以固定化的基因 I 和 III 型 HEV 重组抗原建立了化学发光免疫芯片。Seo 等^[67]以 RT-PCR 和 ELISA 为基础建立敏感性高、特异性好 RT-PCR-ELISA 方法用于 HEV 的检测。

4 结 语

戊型肝炎的主要传播途径是消化道,患病猪群以及猪肉制品是主要传染源,被污染的水源以及水产品也可能引起该病的流行。研究证明我国猪与人源 HEV 的同源性很高,达 89%~100%,且都为基因 4 型^[68]。曹海俊等^[69]的研究表明浙江省生猪屠宰销售人员的感染 HEV 的比率高于当地人群,和猪密切接触是戊型肝炎感染的危险因素之一,同时与猪接触的工作年限也是戊肝感染的危险因素。英国媒体《每日邮报》2014 年 11 月 11 日发布新闻简报称,在香肠中检测到 HEV,猪肉成为英国发生戊型肝炎病毒感染的主要传染源,该报道引起各国对进口猪肉产品安全性的极大关注。猪戊型肝炎的准确快速检测对戊型肝炎的防控有重要意义。从首次发现戊型肝炎病毒到现在,各国的研究者建立了多种 HEV 的检测方法,为 HEV 的相关研究奠定了技术基础。目前,关于 HEV 检测方法基本上是针对血清、粪便及肝脏样本,缺乏针对肉制品的快速准确敏感的检测方法。戊型肝炎病毒疫苗尚未研制成功,因此该病的防控具有一定的难度。现阶段最有效的办法就是严格控制传染源切断传播途径,建立完善的监测体系,同时,对猪肉产品应该进行实时严格监控,制定猪戊型肝炎检测的标准。

参考文献

- [1] Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, *et al.* Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis [J]. *Science*, 1990, 247: 1335-1339.
- [2] 庄辉,毕胜利,王佑春,等.我国戊型肝炎研究[J].*北京大学学报:医学版*, 2002, 5(34): 434-439.
Zhuang H, Bi SL, Wang YC, *et al.* Studies on hepatitis E in China [J]. *J Beijing Med Univ: Med Ed*, 2002, 5(34): 434-439.
- [3] Sun ZF, Larsen CT, Dunlop A, *et al.* Genetic identification of from healthy chicken flocks and characterization of the capsid from chickens with hepatitis splenomegaly syndrome in different United States [J]. *J Gert*

- Virology, 2004, 8(Pt3): 693–700.
- [4] Hirano M, Ding X, Li TC, *et al.* Evidence for widespread among wider rats in Japan [J]. *Hepatol Res*, 2003, 27(1): 1–5.
- [5] Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, *et al.* Presence of an Japanese pet cats [J]. *Infection*, 2004, 32(1): 57–58.
- [6] Choi C, Ha SK, Chae C. Development of nested RT-PCR hepatitis E virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues hybridization [J]. *J Virol Meth*, 2004, 115(1): 67–71.
- [7] Tei S, Kitajima N, Takahashi K, *et al.* Zoonotic transmission to human beings [J]. *Lancet*, 2003, 362(9381): 371–373.
- [8] Zheng Y, Ge S, Zhang J, *et al.* Swine as a principal reservoir of hepatitis E virus that infects humans in eastern China [J]. *J Infect Dis*, 2006, 193(12): 1643–1649.
- [9] Das K, Agarwa LA, Andre WR, *et al.* Role of hepatitis E and other hepatotropic virus in aetiology of sporadic acute viral hepatitis: a hospital based study from urban Delhi [J]. *Eur J Epidemiol*, 2000, 16(10): 937–940.
- [10] Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya S, *et al.* Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route [J]. *Int Virol*, 1983, 20(1): 23–31.
- [11] Hadlers C, Margoli HS. *Viral hepatitis [C]*. New York: Plenum, 1989: 351–356.
- [12] Bradley DW, Balayan MS. Virus of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis [J]. *Lancet*, 1988, 9 (8589): 819.
- [13] Bradley D, Andjaparidze A, Cook EH Jr, *et al.* Aetiological agent of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis [J]. *J Gen Virol*, 1988, 9 (3): 731–738.
- [14] Adriana A, Lucian G, Dragoş A, *et al.* Evidence of hepatitis E infection in swine and humans in the East Region of Romania [J]. *Int J Infect Dis*, 2014, 29: 223–232.
- [15] Krumbholz AL, Joel S, Dremsek P, *et al.* Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) in humans living in high pig density areas of Germany [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2014, 203(4): 273–82.
- [16] Burri C, Vial F, Ryser-Degiorgis MP. Seroprevalence of hepatitis E virus in domestic pigs and wild boars in Switzerland [J]. *Zoonoses Public Health*, 2014, 61(8): 537–44.
- [17] Lee JT, Shao PL, Chang LY. Seroprevalence of hepatitis E virus infection among swine farmers and the general population in rural Taiwan [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67180.
- [18] Thiry D, Mauroy A, Saegerman C, *et al.* Estimation of hepatitis E virus (HEV) pig seroprevalence using ELISA and Western blot and comparison between human and pig HEV sequences in Belgium [J]. *Vet Microbiol*, 2014, 172(3–4): 407–414.
- [19] Ponterio E, Di Bartolo I, Orrù G. Detection of serum antibodies to hepatitis E virus in domestic pigs in Italy using a recombinant swine HEV capsid protein [J]. *BMC Vet Res*, 2014, 10: 133.
- [20] Rayis DA, Jumaa AM, Gasim GI. An outbreak of hepatitis E and high maternal mortality at port Sudan, Eastern Sudan [J]. *Pathog Glob Health*, 2013, 107(2): 66–68.
- [21] 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.
- [22] Jia Z, Yi Y, Liu J, *et al.* Epidemiology of hepatitis E virus in China: results from the third national viral hepatitis prevalence survey, 2005–2006 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110837.
- [23] Cong W, Meng QF, Li B, *et al.* Seroprevalence of hepatitis E virus infection in psychiatric patients and control subjects in Shandong Province, eastern China [J]. *Int J Infect Dis*, 2014, 28: 70–73.
- [24] Li RC, Ge SX, Li YP, *et al.* Seroprevalence of hepatitis E virus infection, rural southern People's Republic of China [J]. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(11): 1682–1688.
- [25] Panda SK, Thakral D, Rehman S. Hepatitis E virus [J]. *Rev Med*, 2007, 17: 151–180.
- [26] Purcell RH, Emerson SU. *Fields virology [M]*. 4th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- [27] Caron M, Enouf V, Than SC, *et al.* Identification of genotype 1 hepatitis E virus in samples from swine in Cambodia [J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44: 3440–3442.
- [28] Cooper K, Huang FF, Batista L, *et al.* Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human populations [J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 3(4): 1684–1688.
- [29] Huang R, Nakazono N, Ishii K, *et al.* Existing variations on the gene structure of hepatitis E virus strains from some regions of China [J]. *J Med Virol*, 1995, 47: 303–308.
- [30] Huang R, Nakazono N, Ishii K, *et al.* Existing variations on the gene structure of hepatitis E virus strains from some regions of China [J]. *J Med Virol*, 1995, 47: 303–308.
- [31] Meng XJ, Robert HP, Patrick GH, *et al.* A novel virus swine is closely related to the human hepatitis E virus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 9860–9865.
- [32] 王佑春. 中国戊型肝炎病毒 4 型的流行病学、分子生物学和家畜感染研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2003, 24(7): 618–622.
Wang YC. The epidemiology, molecular biology and animal infection of type 4 hepatitis E virus in China [J]. *Chin J Epidemiol*, 2003, 24(7): 618–622.
- [33] 艾星, 张雪峰, 黄守杰, 等. 江苏省农村散发性戊型肝炎流行病学特征分析 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2009, 25(3): 253–256.
Ai X, Zhang XF, Huang SJ, *et al.* Analysis on the epidemiological characteristics of the sporadic cases with hepatitis E infection in the rural area in Jiangsu province [J]. *Chin J Zoonoses*, 2009, 25(3): 253–256.
- [34] Tai AL, Cheng PK, Ip SM, *et al.* Molecular epidemiology of hepatitis E virus in Hong Kong [J]. *J Med Virol*, 2009, 81(6): 1062–1068.
- [35] Williams TP, Kasorndorkbua C, Halbur PG, *et al.* Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model [J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39: 3040–3046.
- [36] Mushahwar IK. Hepatitis E virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology and prevention [J]. *J Med Virol*, 2008, 80(4): 646–658.
- [37] Abro AH, Abdou AM, Saleh AA, *et al.* Hepatitis E: a common cause of acute viral hepatitis [J]. *J Pak Med Assoc*, 2009, 59(2): 92–94.
- [38] Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, *et al.* Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route [J]. *Int Virol*, 1983, 20(1): 23–31.
- [39] Purdy MA, Cajrson D, McCaustland KA, *et al.* Viral specificity of

- hepatitis E virus antigens identified by fluorescent antibody assay using recombinant HEV proteins [J]. *J Med Virol*, 1994, 44(2): 212–214.
- [40] Zhu YM, Yu XM, Zhang YS, *et al.* Infectivity of a genotype 4 hepatitis E virus cDNA clone by intrahepatic inoculation of laboratory rats [J]. *Vet Microbiol*, 2013, 3–4: 405–411.
- [41] 刘涛, 杜丽, 王凤阳, 等. 基因IV型猪戊型肝炎病毒重组 ORF3 蛋白抗原间接 ELISA 诊断方法的建立[J]. *中国兽医科学*, 2009, 39(4): 310–315.
- Liu T, Du L, Wang FY, *et al.* Development of an indirect ELISA method for detection of antibody against recombinant ORF3 protein of swine hepatitis E virus genotype IV [J]. *Chin Vet Sci*, 2009, 39(4): 310–315.
- [42] 张可心, 赵敏, 郭巍, 等. 猪戊型肝炎病毒基因 ORF2 片段 AG02 的融合表达及间接 ELISA 方法的初步建立[J]. *中国生物工程杂志*, 2006, 26(8): 37–41.
- Zhang KX, Zhao M, Guo W, *et al.* Cloning and expression of a fragment of swine HEV ORF2 AG02 in *E. coli* and the development of indirect ELISA with recombinant protein [J]. *China Biotechnol*, 2006, 26(8): 37–41.
- [43] 赵宇军, 许冬梅, 朱远茂, 等. 猪戊型肝炎病毒结构蛋白片段的表达及其在 ELISA 中的初步应用[J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(11): 1198–1201.
- Zhao YJ, Xu DM, Zhu YM, *et al.* Expression of swine hepatitis E virus ORF2 and development of ELISA based on the expressed protein [J]. *Acta Vet Zootechnica Sin*, 2006, 37(11): 1198–1201.
- [44] 曲娟娟, 于婧, 于敏, 等. 猪戊型肝炎病毒抗体间接 ELISA 诊断方法的建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2007, 29(10): 802–805.
- Qu JJ, Yu J, Yu M, *et al.* Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of swine hepatitis E virus antibodies [J]. *Chin J Prev Vet Med*, 2007, 29(10): 802–805.
- [45] 刘启文, 李震, 赵凯, 等. 猪戊型肝炎 ELISA 诊断试剂盒的研制及应用[J]. *畜牧兽医学报*, 2010, 41(11): 1435–1441.
- Liu QW, Li Z, Zhao K, *et al.* Preparation and Application of Swine Hepatitis E virus diagnostic ELISA kit [J]. *Chin J Anim Vet Sci*, 2010, 41(11): 1435–1441.
- [46] 王永霞, 郝成武, 马勋, 等. 猪戊型肝炎病毒 ORF2-62 的克隆、表达及间接 ELISA 方法的初步建立[J]. *中国兽医学报*, 2012, 32(2): 238–241.
- Wang YX, Hao CW, Ma X, *et al.* Clone, express and development of an indirect ELISA assay for detection of swine HEV ORF2-62 antibodies [J]. *Chin J Vet Sci*, 2012, 32(2): 238–241.
- [47] 闻晓波, 王密, 冉旭华, 等. 猪戊型肝炎病毒 ORF2 主要抗原表位区间接 ELISA 方法的初步建立[J]. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(5): 99–102.
- Wen XB, Wang M, Ran XH, *et al.* Development of Indirect ELISA with Major Epitope Domain of ORF2 of SHEV [J]. *China Anim Husband Vet Med* 2010, 37(5): 99–102.
- [48] Pezzoni G, Caminiti A, Stercoli L, *et al.* Comparison of three in-house ELISAs for the detection of hepatitis E virus infection in pigs under field conditions [J]. *J Virol Meth*, 2014, 207: 95–103.
- [49] Ponterio E, Di Bartolo I, Orrù G. Detection of serum antibodies to hepatitis E virus in domestic pigs in Italy using a recombinant swine HEV capsid protein [J]. *BMC Vet Res*, 2014, 10: 133.
- [50] Krumbholz A, Joel S, Dremsek P, *et al.* Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) in humans living in high pig density areas of Germany [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2014, 203(4): 273–82.
- [51] Meng J, Pillot J, Dai X, *et al.* Neutralization of different geographic strains of the hepatitis E virus with anti-hepatitis E virus-positive serum samples obtained from different sources [J]. *Virology*, 1998, 249(2): 316–324.
- [52] Meng J, Dubreuil P, Pillot J, *et al.* A new PCR-based serum neutralization assay in cell culture for diagnosis of hepatitis E virus [J]. *J Clin Microbiol*, 1997, 5(6): 1373–1377.
- [53] Li F, Zhuang H, Kolivas S, *et al.* Persistent and transient antibody responses to hepatitis E virus detected by western immunoblot using open reading frame 2 and 3 and glutathione S-transferase fusion proteins [J]. *J Clin Microbiol*, 1994, 32(9): 2060–2066.
- [54] Thiry D, Mauroy A, Saegerman C, *et al.* Estimation of hepatitis E virus (HEV) pig seroprevalence using ELISA and Western blot and parison between human and pig HEV sequences in Belgium [J]. *Vet Microbiol*, 2014, 172(3–4):407–14.
- [55] Huang FF, Haqshenas G, Guenette DK, *et al.* Detection by reverse transcription-PCR and genetic characterization of field isolates of swine hepatitis E virus from pigs in different geographic regions of the United States [J]. *Clin Microbiol*, 2002, 40: 1326–1332.
- [56] 邱蜜蜜, 丛彦龙, 丁壮, 等. 应用巢式 PCR 检测猪戊型肝炎病毒核酸及其序列分析[J]. *中国兽医学报*, 2009, 29(3): 296–307.
- Qiu MM, Cong YL, Ding Z, *et al.* Nested PCR to detect nucleic acid of swine hepatitis E virus and sequence analysis [J]. *Chin J Vet Sci*, 2009, 29(3): 296–307.
- [57] 张序, 罗火亮, 张文波, 等. 猪戊型肝炎病毒 RT-nPCR 检测方法的建立及应用[J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(1): 107–111.
- Zhang X, Luo HL, Zhang WB, *et al.* Establishment and application of RT-nPCR detection of Swine Hepatitis E Virus [J]. *Acta Agric Univ Jiangxiensis*, 2011, 33(1): 107–111.
- [58] 郝宝成, 兰晔, 胡永浩, 等. 猪戊型肝炎病毒双重 RT-PCR 检测诊断方法的建立及其应用[J]. *中国兽医杂志*, 2011, 47(5): 35–36.
- Hao BC, Lan X, Hu YH, *et al.* Establishment and Application of RT-PCR Swine hepatitis E virus detection of the establishment of the diagnosis method and its application [J]. *Chin J Vet Sci*, 2011, 47(5): 35–36.
- [59] 邱蜜蜜, 孟轲音, 丁壮, 等. 猪戊型肝炎病毒实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及初步应用[J]. *中国兽医学报*, 2010, 30(4): 449–452.
- Qiu MM, Meng KY, Ding Z, *et al.* Establishment and application of a real-time fluorescence PCR assay for detecting swine hepatitis E virus [J]. *Chin J Vet Sci*, 2010, 30(4): 449–452.
- [60] 张亮权, 欧阳昀, 刘志刚, 等. 检测猪戊型肝炎病毒的荧光定量 PCR 方法的建立[J]. *中国兽医杂志*, 2011, 47(10): 16–18.
- Zhang LQ, Ouyang J, Liu ZG, *et al.* Establishment of a real-time fluorescent quantitative PCR assay for the detection of swine hepatitis E virus [J]. *Chin J Vet Med*, 2011, 47(10): 16–18.
- [61] 张晓峰, 帅江冰, 李爱云, 等. 猪戊型肝炎病毒荧光定量检测方法的建立及其分子流行病学[J]. *中国兽医学报*, 2011, 31(6): 822–827.
- Zhang XF, Shuai JS, Li AY, *et al.* Establishment of real time PCR assay for hepatitis E virus from swine and its molecular epidemiology [J]. *Chin J Vet Sci*, 2011, 31(6): 822–827.
- [62] Qiu F, Cao J, Su Q, *et al.* Multiplex hydrolysis probe real-time PCR for simultaneous detection of hepatitis A virus and hepatitis E virus [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(6): 9780–9788.
- [63] Gouvea V, Hoke CH Jr, Innis BL, *et al.* Genotyping of hepatitis E virus in clinical specimens by restriction endonuclease analysis [J]. *J Virol Meth*, 1998, 70(1):71–78.

- [64] Liang H, Wang H, Zhang L, *et al.* Development of a novel immunoperoxidase monolayer assay for detection of swine hepatitis E virus antibodies based on stable cell lines expressing the ORF3 protein [J]. *Acta Vet Hung*, 2014, 62(2):243–256.
- [65] Owolodun OA, Giménez-Lirola LG, Gerber PF, *et al.* Development of a fluorescent microbead-based immunoassay for the detection of hepatitis E virus IgG antibodies in pigs and comparison to an enzyme-linked immunoassay [J]. *J Virol Meth*, 2013, 193(2):278–283.
- [66] Wutz K, Meyer VK, Wacheck S, *et al.* New route for fast detection of antibodies against zoonotic pathogens in sera of slaughtered pigs by means of flow-through chemiluminescence immunochips [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(10): 5279–5285.
- [67] Seo DJ, Tahk H, Lee KB, *et al.* Detecting hepatitis E virus with a reverse transcription polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Food Environ Virol*, 2012, 4(1): 14–20.
- [68] 张潇, 郑英杰, 王法弟, 等. 中国南方某农村地区人与猪戊型肝炎病毒的检测和部分序列分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(12): 984–986.
- Zhang X, Zheng YJ, Wang FD, *et al.* Detection and analysis of partial sequences isolated from human and swine in rural area of southern China [J]. *Chin J Epidemiol*, 2005, 26(12): 984–986.
- [69] 曹海俊, 王法弟, 高眉扬, 等. 生猪屠宰销售职业人群戊型肝炎病毒感染的危险因素研究[J]. *中国人兽共患病杂志*, 2004, 20(7): 607–609.
- Cao HJ, Wang FD, Gao MY, *et al.* Risk of contract with hepatitis E virus in occupational populations [J]. *Chin J Zoonoses*, 2004, 20(7): 607–609.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



陈小金, 兽医师, 主要研究方向为动物传染病诊断与防治新技术。

E-mail: chenxj0@tjciq.gov.cn



董志珍, 研究员, 主要研究方向为动物疫病检测技术。

E-mail: baobao152@126.com

“油脂加工与质量安全”专题征稿函

随着生活水平的日益提高, 消费者对油脂及油脂食品的品质与安全性有了更高的要求。需要更加完善、先进、快捷、准确的检测方法来控制油脂的安全。

鉴于此, 本刊特别策划了“油脂加工与质量安全”专题, 由武汉轻工大学的何东平教授担任专题主编。何教授兼任中国粮油学会常务理事, 中国粮油学会油脂分会常务副会长。全国粮油标准化技术委员会油料及油脂工作组组长, 国家粮食局粮油资源综合开发工程技术研究中心主任, 湖北省(武汉市)微生物学会常务理事。本专题主要围绕油脂加工工艺, 加工过程中的品质、有害物质、外来物质的检测方法和研究现状, 油脂掺伪鉴别, 油脂检测的新技术等方面或者您认为在油脂加工与质量安全方面有意义的内容进行论述, 计划在 2015 年 3 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及专题主编何东平教授特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsqa@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部