

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАбельНОСТЬ ВИРУСА ГЕПАТИТА Е НА ПТИЦЕФАБРИКАХ В СТРАНАХ БЫВШЕГО СССР

А.В. СПРЫГИН, З.Б. НИКОНОВА, Ю.Ю. БАБИН, Н.П. ЕЛАТКИН,  
А.В. ПИСКУНОВ, В.Н. ИРЗА

Современное российское промышленное птицеводство имеет тесные торговые отношения со многими странами. В настоящее время гепатит Е зарегистрирован у кур в Австралии, США, Испании, Венгрии и др., представляя серьезную угрозу птицеводческим хозяйствам. Вирус вызывает у кур поражения печени, органов иммунной системы — селезенки и тимуса, глубокие нарушения гомеостаза (в частности, гематологических показателей). Первое сообщение о генетической идентификации ВГЕ у кур в Российской Федерации было сделано в 2009 году, однако эпизоотическая обстановка по вирусному гепатиту Е у кур оставалась малоизученной. В работе представлены результаты изучения 415 образцов печени от кур-несушек и бройлеров разного возраста в 68 птицеводческих хозяйствах из 36 регионов РФ и в 4 хозяйствах из Республики Беларусь, Казахстана и Украины на наличие вируса гепатита Е (ВГЕ) методом ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией). За период с 2009 по 2012 год от кур нами было получено 14 изолятов ВГЕ, обозначенных как российские (13 — в хозяйствах РФ, один — в Казахстане), и показана их высокая генетическая вариабельность. Вирус выделяли не только у птицы с признаками поражения печени, но также у клинически здоровых особей. Ассоциированные агенты, вызывающие сходные признаки (такие, как вирус лейкоза, вирус болезни Марека или аденовирус), нами выявлены не были. На территории РФ изоляты выявлены в хозяйствах Амурской, Вологодской, Ивановской, Калужской, Московской, Самарской, Саратовской областей, а также в Республике Марий Эл. Среди обследованной птицы чаще всего вирус детектировали у кур кросса Ross 308 (восемь изолятов из 14). При анализе нуклеотидной последовательности гена капсидного белка (ORF2) у 14 российских изолятов ВГЕ установлено, что к европейскому генотипу 3 можно отнести российские изоляты aHEV18198, aHEV19555, aHEV16211, aHEV18479 и aHEV18481. Из них aHEV16211, aHEV18479, aHEV18481 оказались генетически близки к вирусам из Китая (China-09-G57 и др.), США (NY449, CA697A) и Европы (06-4582 и др.). Изоляты aHEV18198 и aHEV19555 были родственны с изолятами из Австралии и США (Guelph01, CA518.3). Кроме того, семь изолятов формируют отдельную генетическую группу, к которой примыкает линия из еще двух изолятов (aHEV18381 и aHEV18505). Таким образом, на территории РФ циркулируют ВГЕ европейского генотипа 3 и изоляты из российской группы, которая пока не отнесена ни к одному из упоминавшихся ранее генотипов.

Ключевые слова: ПЦР, гепатит, куры.

В настоящее время гепатит Е зарегистрирован у кур во многих странах мира — в Австралии (1), США (2), Испании (3), Венгрии (4), России (5) и др. Возбудителем заболевания служит вирус гепатита Е (ВГЕ) рода *Hepevirus*, семейства *Hepeviridae*. Это безоболочечный вирус, геном которого представлен одноцепочечной РНК с положительной полярностью (6). Геном ВГЕ имеет длину около 6600 п.н. и содержит три открытые рамки считывания (open reading frame, ORF) (7). ORF1, расположенная на 5'-конце генома, кодирует неструктурный полипротеин с доменами, которые соответствуют вирусной метилтрансферазе, папаин-подобной протеазе, вирусной хеликазе и РНК-зависимой РНК-полимеразе (8), ORF2 и ORF3 — соответственно капсидный белок и фосфопротеин (9–11).

Вирус гепатита Е представляет серьезную угрозу птицеводческим хозяйствам, вызывая у кур поражения печени, а также органов иммунной системы — селезенки и тимуса. Патология может проявляться в форме, получившей название болезни большой печени и селезенки (big liver and spleen disease, BLS) и как синдром гепатит-спленомегалии (hepatit-splenomegaly syndrome, HSS). Установлено, что при вирусном гепатите Е происходят глубокие нарушения гомеостаза, и в частности гематологических показателей (12).

В 2004 году при исследовании сывороток крови кур из Свердловской области антитела к ВГЕ были обнаружены у 18,3 % обследованной птицы, что свидетельствует о циркуляции вируса на указанной территории (13). Первое сообщение о генетической идентификации ВГЕ у кур в Российской Федерации было сделано в 2009 году (5). Однако до настоящего времени эпизоотическая обстановка по вирусному гепатиту Е у кур оставалась малоизученной.

Целью нашей работы было исследование на наличие вируса гепатита Е в птицеводческих хозяйствах, а также оценка генетической вариативности изолятов на основе фрагмента гена капсидного белка.

**Методика.** В работе использовали 415 образцов печени, которые были получены за период с 2009 по 2012 год от разновозрастных кур-несушек и бройлеров (кроссы Родонит 3, Ross 308, Hubbard ISA) из 68 птицеводческих хозяйств, представляющих 36 регионов России, и 4 хозяйств из стран бывшего СССР (Республика Беларусь, Казахстан и Украина).

Для получения РНК использовали набор для выделения нуклеиновых кислот РИБО-сорб (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия, г. Москва) в соответствии с инструкцией производителя. Набор включает в себя лизирующий, отмывочный и элюирующий буферы, а также силикатный сорбент. При постановке ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) применяли праймеры и условия проведения реакции, предложенные Z.F. Sun с соавт. (14), с некоторыми модификациями.

Нуклеотидные последовательности во фрагменте гена капсидного белка длиной 242 н. определяли с помощью автоматического секвенатора ABI Prism 3130 («Applied Biosystems», США). Анализ последовательностей выполняли с использованием алгоритма ClustalW (программа BioEdit v. 7.0.5.3). При построении дендрограмм применяли метод Neighbor-joining с бутстрэп-анализом ( $n = 1000$ ) (программа MEGA v. 3.1). Для сравнения служили последовательности ВГЕ кур из международной базы данных GenBank (номера последовательностей FM872312-FM872320, FM872322-FM872330, FN557166-FN557172, AM943646). Внешняя референтная группа при построении дендрограммы была представлена последовательностью капсидного белка ВГЕ свиней.

**Результаты.** Исследование биологического материала. С помощью ОТ-ПЦР (14) при анализе образцов, полученных как от кур с признаками поражения печени, так и от клинически здоровых особей (без снижения яйценоскости и повышенной смертности), выявили 14 изолятов ВГЕ (табл.).

**Характеристика изолятов вируса гепатита Е, выделенных при обследовании птицеводческих хозяйств из стран бывшего СССР (2009-2012 годы)**

Изолят	Страна и регион выявления	Год отбора пробы	Клинические признаки	Кросс	Возраст, сут	Номер последовательности в GenBank
aNEV16050	Казахстан, н.д.	2009	Увеличение печени	Родонит 3	ОП	JQ814691
aNEV16211	РФ, Вологодская область	2010	Увеличение печени и селезенки, геморрагические поражения печени	Ross 308	230	JQ814690
aNEV16279	РФ, Калужская область	2011	Увеличение печени	Ross 308	237	JQ814692
aNEV18196	РФ, Ивановская область	2012	Отсутствуют	Ross 308	117, 350	JQ814688
aNEV18198	РФ, Саратовская область	2012	Отсутствуют	Hubbard ISA	315	JQ814689
aNEV18381	РФ, Московская область	2012	Отсутствуют	н.д.	н.д.	—
aNEV18383	РФ, Амурская область	2012	Отсутствуют	Hubbard ISA	30-36	—
aNEV18479	РФ, Вологодская область	2012	Увеличение печени и селезенки	Ross 308	193	—
aNEV18481	РФ, Вологодская область	2012	Увеличение печени и селезенки	Ross 308	250	—

aHEV18505	РФ, н.д.	2012	Отсутствуют	н.д.	н.д.	—
aHEV19551	РФ, Республика Марий Эл	2012	Отсутствуют	Ross 308	241	—
aHEV19553	РФ, Республика Марий Эл	2012	Отсутствуют	Ross 308	394	—
aHEV19555	РФ, Саратовская область	2012	Отсутствуют	Hubbard ISA	306	—
aHEV20088	РФ, Саратовская область	2012	Отсутствуют	Ross 308	224	—

Примечание. ОП — общая проба от кур различных возрастных групп, н.д. — нет данных; прочерки означают, что последовательности не зарегистрированы в GenBank.

На карте (рис. 1) отмечены регионы, в которых выявили вирус гепатита Е у кур.



**Рис. 1. Распространение вируса гепатита Е у кур в птицеводческих хозяйствах на территории Российской Федерации:** 1 — Амурская область, 2 — Вологодская область, 3 — Ивановская область, 4 — Калужская область, 5 — Республика Марий Эл, 6 — Московская область, 7 — Самарская область, 8 — Саратовская область; темно-серым цветом отмечены регионы, где вирус не выявлен, светло-

серым — регионы, в которых обследования не проводили (2009–2012 годы).

**Филогенетический анализ.** В результате молекулярно-биологических исследований были определены нуклеотидные последовательности фрагмента гена капсидного белка у 14 полученных изолятов ВГЕ и проведен их филогенетический анализ (рис. 2).

По данным литературы, известные штаммы и изоляты ВГЕ разделяют на три основных генотипа: австралийский (генотип 1), американский (генотип 2) и европейский (генотип 3) (15, 16). Кроме того, выделяют потенциальный самостоятельный генотип, представленный на дендрограмме изолятом HU-16773 из Венгрии.

Российские изоляты aHEV18198, aHEV19555, aHEV16211, aHEV18479 и aHEV18481 можно отнести к европейскому генотипу 3 (см. рис. 2). Три из них (aHEV16211, aHEV18479, aHEV18481) оказались генетически близки к вирусам из Китая (China-09-G57 и др.), США (NY449, CA697A) и Европы (06-4582 и др.) этого генотипа. Изоляты aHEV18198 и aHEV19555, как следует из полученной дендрограммы, были родственны с образцами из Австралии и Канады (05-6745-2, Guelph01). Сходство между указанными российскими изолятами и другими представителями генотипа 3 достигало 84,0–97,6 %.

Семь из 14 выявленных в результате нашего обследования изолятов (aHEV16050, aHEV19553, aHEV19551, aHEV18196, aHEV16279, aHEV20088, aHEV18383) значительно отличались от других известных штаммов и изолятов вируса и формировали отдельную генетическую линию (см. рис. 2). Степень сходства этих изолятов между собой составляла 89,6–99,2 %, тогда как с остальными штаммами и изолятами ВГЕ кур — 76,0–87,2 %.

Изоляты aHEV18505 и aHEV18381 не входили ни в одну из описанных генетических групп. Их сходство между собой и с остальными штаммами и изолятами ВГЕ кур характеризовалось значениями соответственно 83,2 и 76,8–84,8 %.

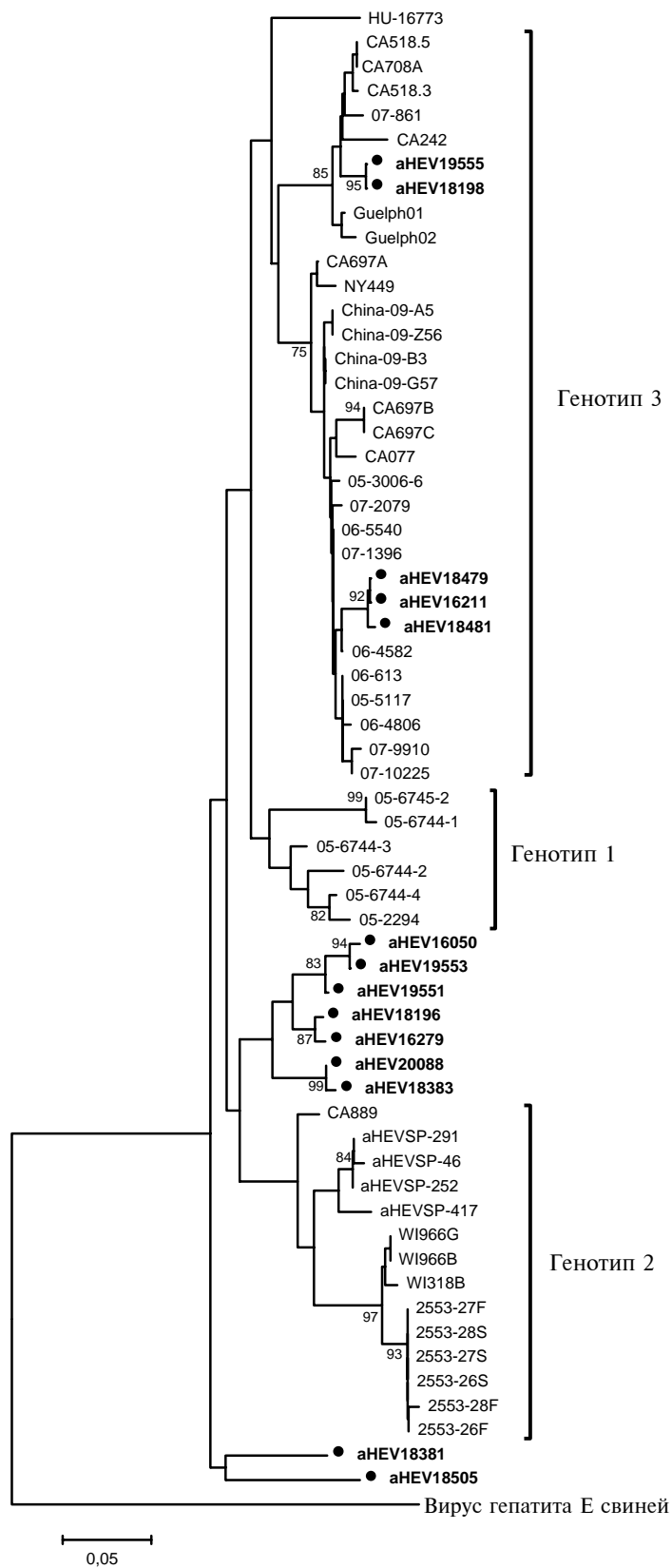


Рис. 2. Дендрограмма сходства нуклеотидных последовательностей во фрагменте гена капсидного белка у изолятов вируса куриного гепатита Е (аHEV) разного происхождения (бутстрэп-

значения  $\geq 75$  %; изоляты aHEV, выявленные при обследовании птицеводческих хозяйств из Российской Федерации, Республики Беларусь, Казахстана и Украины в 2009–2012 годах, отмечены черными кружками; подробное описание см. в тексте).

Следует отметить, что современное российское промышленное птицеводство имеет тесные торговые отношения со многими странами по импорту инкубационных яиц и суточного молодняка для комплектования поголовья родительских стад бройлеров и цыплят яичного направления. В связи с широким распространением вируса гепатита Е кур в Австралии (1), США (2), Испании (3), Венгрии (4), Корее, Чехии, Англии, Украине, Польше, Израиле (16) и Китае существует объективная необходимость оценки эпизоотической ситуации и в России. Увеличение печени и селезенки, подкапсульные гематомы, разрыв печени и кровоизлияния в брюшную полость, снижение яичной продуктивности и повышение смертности встречаются в птицеводческих хозяйствах России, однако этиологическая роль вируса гепатита Е кур была идентифицирована только недавно (5).

Важно подчеркнуть, что при обследовании вирус был выявлен как у кур с признаками поражения печени, так и у клинически здоровых особей (см. табл.), и это согласуется с данными других исследователей (3, 14, 16, 17). Так, X.J. Meng с соавт. (17) показали, что в большинстве случаев инфекции, вызванные ВГЕ, протекают субклинически. В нашем исследовании основную часть изолятов (9 шт.) выявили у клинически здоровых особей. Имеются данные, которые свидетельствуют о том, что проявление клинических признаков у кур при инфицировании ВГЕ может зависеть от дозы вируса, присутствия ассоциированных патогенов, возраста инфицирования, породы кур и штамма вируса, а также вакцинации (3, 7, 16). Можно предположить, что куры с признаками поражения печени могли быть инфицированы высокой дозой вируса при действии неизвестных стресс-факторов. Однако ассоциированные агенты, вызывающие сходные проявления (вирус лейкоза, вирус болезни Марека, аденовирусы), нами выявлены не были (данные не представлены). Все исследованные пробы получены от кур старше 200 сут. Необходимо также отметить, что среди обследованной птицы наиболее часто вирус детектировали у кур кросса Ross 308 (8 изолятов из 14).

По сходству нуклеотидной последовательности гена капсидного белка (ORF2) 7 из 14 российских изолятов ВГЕ сформировали генетическую группу с примыкающей к ней линией из еще двух изолятов (см. рис. 2). Подчеркнем, что полученные ранее другими учеными данные по филогенетическому анализу вируса гепатита Е кур свидетельствовали о существовании трех генотипов вируса в соответствии с географическим регионом выделения (Австралия, США и Европа) (15, 16) и возможном новом генотипе из Венгрии. Не исключено, что группа из российских изолятов (см. рис. 1) также будет представлять новый генотип, однако для подтверждения или опровержения такого вывода необходимо провести полное секвенирование вирусного генома.

Z.F. Sun с соавт. (14) сообщили о 76–100 % подобия изолятов вируса куриного гепатита Е, выявленных на территории США, при этом степень их сходства с вирусами свиньи и человека составляла 48–54 %. В результате исследований I. Bilic с соавт. (15) было установлено сходство для фрагмента гена капсидного белка у изолятов вируса из разных стран Европы (84–100 %), а также из Австралии (85,1–99,4 %). Для вирусов из Европы и Австралии степень сходства изолятов варьировала в пределах 80,6–85,7 %, из Европы и США — в пределах 76,6–82,9 %, из Австралии и США — в пределах 76,0–80,6 %.

Для трех изолятов (aHEV16211, aHEV18479 и aHEV18481) из группы, представляющей европейский генотип 3, наиболее близким был изолят 06-4582 из Австрии (см. рис. 2). Два других изолята, aHEV18198 и aHEV19555, относящиеся также к европейскому генотипу 3, располагались ближе к изолятам из Австралии и США (Guelph01, CA518.3). Степень гомологии между перечисленными пятью российскими изолятами и другими представителями генотипа 3 достигала 85,6-96,8 % (см. рис. 2) (напомним, что остальные девять российских изолятов с известными в настоящее время генотипами не группировались). Таким образом, на территории РФ циркулируют изоляты вируса гепатита Е, относящиеся к европейскому генотипу 3, и ВГЕ из российской группы, которая пока не отнесена ни к одному из генотипов. Полученные нами результаты подтверждают имеющиеся данные о высокой генетической гетерогенности вируса гепатита Е у кур, штаммы которого циркулируют во всем мире (14, 15).

Анализ вариабельности изолятов ВГЕ из разных стран показывает, что историческое разделение на генотипы по географическому признаку сейчас необходимо пересмотреть (15, 16). Например, Корея расположена далеко от Австралии, однако корейские изоляты входят в группу австралийского генотипа (18). Аналогичная ситуация наблюдается и для изолятов ВГЕ из Европы и Китая. Для объяснения возможных причин такой генетической близости в географически разделенных регионах мира необходим анализ большего числа вирусных образцов.

Впервые о случаях сероконверсии к вирусу гепатита Е в России сообщил Ибрахим Ел-Морси в 2004 году (13) на основании обследования поголовья кур в Екатеринбурге, в результате которого у 18,3 % особей были обнаружены антитела к ВГЕ. Однако эти данные лишь косвенно указывали на циркуляцию вируса среди птицы, а выполненные исследования не могут считаться системными. В других странах анализ серопревалентности по ВГЕ свидетельствует о достаточно широком распространении вируса (1, 19). Так, в Корее она регистрируется у 57 % поголовья кур (18). В США при исследовании 1276 сывороток крови в 76 стадах кур у 71 % особей отмечали сероконверсию (7). Та же группа ученых показала, что у кур старше 18 нед серопревалентность выше, чем у молодняка (7). В нашем исследовании все куры, у которых ПЦР-пробы были положительными по ВГЕ, оказались серопозитивными (данные не представлены). Более того, анализ сыворотки крови кур с отрицательными ОТ-ПЦР-пробами также выявил наличие антител. Иными словами, даже в отсутствие системных исследований можно предположить, что вирус гепатита Е очень широко распространен среди поголовья птицы.

Согласно наблюдениям Р. Billam с соавт. (20), при естественном заражении куры инфицируются примерно на 12-й нед жизни, а вiremия регистрируется с 14-й до 17-й нед. В их исследовании у кур старше 20 нед отмечали незначительное число ПЦР-положительных результатов (семь ПЦР-позитивных проб) на фоне тем не менее высокой серопревалентности (возможно, из-за клиренса вируса на момент отбора материала). В нашем исследовании вирус выявляли у кур в возрасте примерно от 4 до 56 нед (см. табл.).

Итак, методом ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией) нами выявлены 14 изолятов вируса гепатита Е (ВГЕ), обозначенных как российские (13 — у кур на птицефабриках Российской Федерации и один — в Казахстане). Большую часть изолятов (9 шт.) регистрировали у кур без признаков патологии печени и селезенки, а также без снижения яйценоскости и повышенной смертности. Анализ показал, что семь российских изолятов образуют самостоятельную генетическую линию, к которой

примыкает линия из еще двух изолятов. Остальные пять изолятов вошли в одну филогенетическую группу с вирусам европейского генотипа 3. Полученные нами результаты подтверждают имеющиеся данные о высокой генетической гетерогенности вируса гепатита E у кур, штаммы которого циркулируют во всем мире. Анализ варибельности образцов ВГЕ из разных стран показывает, что историческое разделение на генотипы по географическому признаку в настоящее время необходимо пересмотреть.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Payne C.J. Big liver and spleen disease. In: Diseases of poultry /Y.M. Saif, H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald, D.E. Swayne (eds.). Ames, Iowa State Press, 2003: 1184-1186 (doi: 10.1016/S0378-1135(99)00067-X).
2. Shivaprasad H.L. Hepatitis splenomegaly syndrome. In: Diseases of poultry /Y.M. Saif, H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald, D.E. Swayne (eds.). Ames, Iowa State Press, 2003: 1186-1188.
3. Peralta B., Biarnes M., Ordonez G., Porta R., Martin M., Mateu E., Pina S., Meng X.J. Evidence of widespread infection of avian hepatitis E virus (avian HEV) in chickens from Spain. *Vet. Microbiol.*, 2009, 137: 31-36 (doi: 10.1016/j.vetmic.2008.12.010).
4. Morrow C.J., Samu G., Mátraai E., Klausz A., Wood A.M., Richter S., Jaskulska B., Hess M. Avian hepatitis E virus infection and possible associated clinical disease in broiler breeder flocks in Hungary. *Avian Pathol.*, 2008, 37: 527-535 (doi: 10.1080/03079450802356946).
5. Irza V., Sprygin A. Big liver and spleen syndrome is a new viral disease in Russian chicken flocks. *Agricultural Biology*, 2012, 4: 73-77 (<http://www.agrobiology.ru/4-2012irza-eng.html>).
6. Emerson S.U., Anderson D., Arankalle A., Meng X.J., Purdy M., Schläuder G.G., Tsarev S.A. Hepatitis E virus. In: Virus taxonomy. VIII<sup>th</sup> Report of the ICTV /C.M. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L.A. Ball (eds.). London, Elsevier/Academic Press, 2004: 851-855.
7. Huang F.F., Sun Z.F., Emerson S.U., Purcell R.H., Shivaprasad H.L., Pierson F.W., Toth T.E., Meng X.J. Determination and analysis of the complete genomic sequence of avian hepatitis E virus (avian HEV) and attempts to infect rhesus monkeys with avian HEV. *J. Gen. Virol.*, 2004, 85: 1609-1618 (doi: 10.1099/vir.0.79841-0).
8. Koonin E.V., Gorbalenya A.E., Purdy M.A., Rozanov M.N., Reyes G.R., Bradley D.W. Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *PNAS USA*, 1992, 89: 8259-8263.
9. Tam A.W., Smith M.M., Guerra M.E., Huang C.C., Bradley D.W., Fry K.E., Reyes G.R. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*, 1991, 185: 120-131 (doi: 10.1016/0042-6822(91)90760-9).
10. Tyagi S., Korkaya H., Zafrullah M., Jameel S., Lal S.K. The phosphorylated form of the ORF3 protein of hepatitis E virus interacts with its non-glycosylated form of the major capsid protein, ORF2. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277: 22759-22767 (doi: 10.1074/jbc.M200185200).
11. Zafrullah M., Ozdener M.H., Panda S.K., Jameel S. The ORF3 protein of hepatitis E virus is a phosphoprotein that associates with the cytoskeleton. *J. Virol.*, 1997, 71: 9045-9053.
12. Токарев О.И. Патоморфологическая характеристика тимуса и селезенки кур при вирусном гепатите E. Автореф. канд. дис. Воронеж, 2012.
13. Ел Морси Ибрахим. Распространение гепатита E среди населения эндемичных и неэндемичных регионов мира. Автореф. канд. дис. М., 2004.
14. Sun Z.F., Larsen C.T., Dunlop A., Huang F.F., Pierson F.W., Toth T.E., Meng X.-J. Genetic identification of avian hepatitis E virus (HEV) from healthy chicken flocks and characterization of the capsid gene of 14 avian HEV isolates from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in different geographical regions of the United States. *J. Virol.*, 2004, 85: 693-700 (doi: 10.1099/vir.0.19582-0).
15. Bilic I., Jaskulska B., Basic A., Morrow C.J., Hess M. Sequence analysis and comparison of avian hepatitis E viruses from Australia and Europe indicate the existence of different genotypes. *J. Gen. Virol.*, 2009, 90: 863-873 (doi: 10.1099/vir.0.007179-0).
16. Marek A., Bilic I., Prokofieva I., Hess M. Phylogenetic analysis of avian hepatitis E virus samples from European and Australian chicken flocks supports the existence of a different genus within the *Hepeviridae* comprising at least three different genotypes. *Vet. Microbiol.*, 2010, 145: 54-61 (doi: 10.1016/j.vetmic.2010.03.014).
17. Meng X.J., Shivaprasad H.L., Payne C.J. Avian hepatitis E virus infections. In: Diseases of poultry /Y.M. Saif, J.R. Fadly, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.E. Swayne (eds.). Blackwell Publishing Press, 2008: 443-452.

18. Kwon H.W., Sung H.W., Meng X.J. Serological prevalence genetic identification and characterization of the first strains of avian hepatitis E virus from chickens in Korea. *Virus Genes*, 2012, 45(2): 237-245 (doi: 10.1007/s11262-012-0761-6).
19. Todd D., Mawhinney K.A., McAlinden V.A., Douglas A.J. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of big liver and spleen disease. *Avian Dis.*, 1993, 37: 811-816 (doi: 10.2307/1592034).
20. Billam P., Sun Z.F., Meng X.J. Analysis of the complete genomic sequence of an apparently avirulent strain of avian hepatitis E virus (avian HEV) identified major genetic differences compared with the prototype pathogenic strain of avian HEV. *J. Gen Virol.*, 2007, 88(Pt 5): 1538-1544 (doi: 10.1099/vir.0.82754-0).

ФГБУ Федеральный центр охраны здоровья животных,  
600901 Россия, г. Владимир, мкр. Юрьево, ФГБУ «ВНИИЗЖ»,  
e-mail: sprygin@arriah.ru, piskunov@arriah.ru, irza@arriah.ru

Поступила в редакцию  
20 августа 2013 года

## DISTRIBUTION AND GENETIC VARIABILITY OF AVIAN HEPATITIS E VIRUS ON POULTRY FARMS IN ex-USSR

*A.V. Sprygin, Z.B. Nikonova, Yu.Yu. Babin, N.P. Elatkin, A.V. Piskunov, V.N. Irza*

Federal Centre for Animal Health, FGBU «VNIIZZh», mkr. Yur'evets, Vadimir, 600901 Russia, e-mail sprygin@arriah.ru, piskunov@arriah.ru, irza@arriah.ru

Received August 20, 2013

doi: 10.15389/agrobiol.2014.6.59eng

### Abstract

Russian commercial poultry industry is tightly tied to international trade. To date, avian hepatitis E virus (aHEV) has been isolated in Australia, US, Spain, Hungary, etc., being a serious threat to commercial poultry. In hens, aHEV affects liver and immune system, namely spleen and thymus, disrupting homeostasis and hematological parameters. In Russia, aHEV genetic identification was first reported in 2009, but the current epizootic situation in poultry remains to be unknown. In this paper we report the results of genetic analysis of 415 liver samples from hens and broiler chicks aged 4-56 weeks. The samples were obtained from 68 commercial farms in 36 regions of the Russian Federation and 4 commercial farms from Belarus, Kazakhstan and Ukraine during 2009 to 2012. A total of 14 isolates were detected and sequenced. Isolates of aHEV were detected in both clinically healthy and affected chickens. No agents causing similar clinical signs, i.e. leucosis virus, Marek's disease virus and adenovirus, were identified. In Russia, aHEV was isolated in Amurskaya, Vologodskaya, Ivanovskaya, Kaluzhskaya, Moskovskaya, Samarskaya, Saratovskaya provinces, and also in the Republic of Mari El. Ross 308 hens showed highest PCR-positive rates (8 of 14 isolates). According to RT-PCR analysis of capsid protein gene (ORF2), aHEV18198, aHEV19555, aHEV16211, aHEV18479 and aHEV18481 of 14 Russian isolates fall within European genotype 3. The aHEV16211, aHEV18479, aHEV18481 isolates are related to Chinese (China-09-G57), US (NY449, CA697A) and European (06-4582) isolates, and aHEV18198 and aHEV19555 are related to those from Australia and USA (Guelph01, CA518.3). Of 14 aHEV isolates studied, 7 samples formed a distinct genetic group. Two more isolates, aHEV18381 and aHEV18505, groups outside the three genotypes described. Overall, the pool of HEV isolates identified in Russian chicken flocks consists of isolates belonging to European genotype 3 and isolates not yet assigned to a specific genotype. The analysis of genetic variability of aHEVs isolates from different countries strongly suggests that the current classification into genotypes by geographical origin should be revised.

Keywords: PCR, hepatitis E, hens.

### Новые книги

Глубоков Ю.М., Головачева В.А., Дворкин В.И. **Аналитическая химия и физико-химические методы анализа** (в 2 т.). М.: изд-во «Академия», 2014, 352 с.

В двух томах учебника представлены важнейшие разделы современной аналитической химии. В первом изложены теоретические основы аналитической химии, рассмотрены химические методы анализа, включая гравиметрические и титриметрические, методы разделения и концентрирования, а также хроматографические и электрохимические методы анализа. Особое внимание уделено вопросам статической обработки ре-

зультатов анализа, метрологическим характеристикам методов. Во втором рассмотрены теоретические основы физико-химических методов анализа: атомной и молекулярной спектроскопии, рентгеновских, ядерно-физических и кинетических методов. Охарактеризованы особенности технического производственного контроля. Особое внимание уделено новым направлениям в аналитической химии: портативным аналитическим системам, спектральному анализу без использования стандартных образцов состава, методам локального анализа и анализа поверхности. Подробно описано применение статических методов при обработке аналитического сигнала.