

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ МАРКЕРОВ ЭНТЕРАЛЬНЫХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ СРЕДИ ТРУДОВЫХ МИГРАНТОВ, ПРИБЫВАЮЩИХ В РОССИЙСКУЮ ФЕДЕРАЦИЮ

¹Российский университет дружбы народов, Москва; ²Центр гигиены и эпидемиологии в Московской области, Мытищи; ³НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, ⁴Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

Цель. Определение распространенности маркеров гепатитов А и Е среди трудовых мигрантов, недавно прибывших в РФ из стран с разной степенью эндемичности в отношении этих инфекций. *Материалы и методы.* Были исследованы образцы сыворотки крови от 1333 трудовых мигрантов, недавно прибывших в РФ из Узбекистана (n=464), Таджикистана (n=415), Украины (n=308) и Молдовы (n=146). Анти-ВГА IgG, анти-ВГЕ IgM и IgG определяли с помощью коммерческих ИФА-тестов. РНК ВГЕ определяли в образцах, положительных по анти-ВГЕ IgM, методом ОТ-ПЦР с вырожденными праймерами к участку генома ВГЕ, кодирующему капсидный белок. *Результаты.* Анти-ВГЕ IgG достоверно чаще выявлялись среди мигрантов из Узбекистана и Таджикистана по сравнению с мигрантами из Украины и Молдовы (25,4 и 43,1% против 7,8 и 12,3% соответственно, p<0,05), что отражает степень эндемичности в отношении гепатита Е регионов происхождения обследованных лиц. Частота выявления анти-ВГА IgG также зависела от страны происхождения — серопозитивные лица достоверно реже встречались среди мигрантов из Украины по сравнению с лицами, прибывшими из Молдовы, Узбекистана и Таджикистана (70,1% против 91,8; 98,7; 99,8% соответственно, p<0,05). Анти-ВГЕ IgM, свидетельствующие о текущей или недавно перенесенной инфекции, выявляли среди мигрантов из Узбекистана, Таджикистана, Украины и Молдовы с примерно одинаковой частотой — 3,9; 7,8; 5,8 и 6,8% соответственно. Ни в одном из образцов, положительных по анти-ВГЕ IgM, не была выявлена вирусная РНК, что, по-видимому, связано с коротким периодом вiremии при гепатите Е. *Заключение.* Значительная доля трудовых мигрантов, прибывающих в РФ, имеют анamnестические антитела к ВГА и ВГЕ, величина этого показателя отражает степень эндемичности страны происхождения мигрантов. Высокая частота выявления анти-ВГЕ IgM у трудовых мигрантов, свидетельствующая о текущей или недавно перенесенной инфекции, позволяет предполагать высокую вероятность завоза ВГЕ в РФ, что делает необходимым включение в алгоритм обследования маркеров острой ВГЕ-инфекции.

Журн. микробиол., 2017, № 3, С. 59—64

Ключевые слова: гепатит А, гепатит Е, трудовые мигранты, маркеры вирусных гепатитов

N.D.Alsalikh¹, D.A.Sychev², I.A.Potemkin^{3,4}, K.K.Kyuregyan^{3,4}, M.I.Mikhaylov^{1,3,4}

PREVALENCE OF MARKERS OF ENTERAL VIRAL HEPATITIS AMONG MIGRANT WORKERS ARRIVING IN RUSSIAN FEDERATION

¹Russian University of Peoples' Friendship, Moscow; ²Centre of Hygiene and Epidemiology in Moscow Region, Mytishi; ³Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, ⁴Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Aim. Determination of prevalence of markers of hepatitis A and E among migrant workers, who had recently arrived in Russian Federation from countries with various degree of endemicity regarding this infection. *Materials and methods.* Sera samples from 1333 migrant workers, who had recently arrived in Russian Federation from Uzbekistan (n=464), Tadjhikistan (n=415), Ukraine (n=308) and Moldova (n=146) were studied. Anti-HAV IgG, anti-HEV IgM and IgG were de-

terminated using commercial ELISA tests. HEV RNA was determined in samples positive for anti-HEV IgM by RT-PCR with degenerate primers to HEV genome sequence coding capsid protein. Anti-HEV IgG were detected significantly more frequently among migrants from Uzbekistan and Tajikistan compared with migrants from the Ukraine and Moldova (25,4 and 43,1% versus 7,8 and 12,3%, respectively, $p < 0,05$), that reflects the degree of endemicity regarding hepatitis E from regions of origin of the examined individuals. Frequency of detection of anti-HAV IgG also depended on the country of origin — seropositive individuals were present significantly less frequently among migrants from the Ukraine compared with individuals who had arrived from Moldova, Uzbekistan and Tajikistan (70,1% versus 91,8; 98,7; 99,8%, respectively, $p < 0,05$). Anti-HEV IgM that give evidence on the current or recent infection were detected among migrants from Uzbekistan, Tajikistan, Ukraine and Moldova with approximately the same frequency — 3,9; 7,8; 5,8 и 6,8%, respectively. Viral RNA was detected in none of the samples positive for anti-HEV IgM that could be related to the short period of viremia during hepatitis E. *Conclusion.* A significant portion of migrant workers arriving in Russian Federation have anamnestic antibodies against HAV and HEV, and this parameter reflects the degree of endemicity of the country of origin for migrants. High frequency of detection of anti-HEV IgM in migrant workers, that gives evidence on the current and recent infection, allows to assume high possibility of import of HEV into Russian Federation, and this necessitates introduction of acute HEV infection markers into algorithm of examination.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 3, P. 59—64

Key words: hepatitis A, hepatitis E, trade migrants, viral hepatitis markers

ВВЕДЕНИЕ

Миграция населения является одним из важных факторов, определяющих распространение многих инфекций. В настоящее время Россия занимает одно из ведущих мест в мире по притоку трудовых мигрантов. По данным Федеральной миграционной службы в настоящее время в России находятся свыше 10 миллионов иностранных граждан, из них граждан стран СНГ — около 8,7 миллиона человек. Большинство прибывших в Россию трудовых мигрантов составляют граждане Узбекистана, Таджикистана и Украины (42, 16 и 11% соответственно). Страны Средней Азии являются эндемичными в отношении гепатитов А и Е, при этом эпидемиология этих инфекций в регионе имеет свои особенности — если с вирусом гепатита А (ВГА) большинство населения встречается в раннем детстве, переносит бессимптомно и приобретает пожизненный иммунитет, то вирусом гепатита Е (ВГЕ), как правило, инфицируются молодые взрослые лица [13]. ВГЕ широко распространен в странах Средней Азии, где с ним связывают крупные вспышки с высокой летальностью среди беременных женщин [9]. Украина, как и Российская Федерация, относится к странам с переходной стадией эндемичности в отношении гепатита А (ГА), для которой характерно снижение циркуляции ВГА и увеличение неиммунных подростков и молодых взрослых при сохранении достаточно высокого риска инфицирования [2]. О распространенности ВГЕ на территории Украины данные отсутствуют.

В странах умеренного климата, в том числе в Российской Федерации, незавозные (автохтонные) случаи гепатита Е (ГЕ) регистрируется редко, и связаны они, как правило, с зоонозной передачей ВГЕ генотипа 3, способного инфицировать как людей, так и животных (свиней, оленей) [Wedemeyer H. et al., 2012]. В отличие от РФ, в эндемичных регионах, в том числе на территории стран Средней Азии, большинство случаев ГЕ связаны с 1 генотипом вируса, являющимся строгим антропонозом с фекально-оральным механизмом передачи [15]. Завозные случаи ГА и ГЕ в РФ описаны [1,4], однако потенциальный

вклад трудовой миграции в распространение этих инфекций остается неизученным. Целью данного исследования являлось определение распространенности маркеров ГА и GE среди трудовых мигрантов, недавно прибывших в РФ из стран с разной степенью эндемичности в отношении этих инфекций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были исследованы образцы сыворотки крови от 1333 трудовых мигрантов, недавно прибывших в РФ из Узбекистана ($n=464$), Таджикистана ($n=415$), Украины ($n=308$) и Молдовы ($n=146$) и проходивших обследование в Центре гигиены и эпидемиологии в Московской области. Образцы были собраны с августа 2015 г. по август 2016 г. и хранились в аликвотах при -70°C до последующего тестирования в ИФА на анти-ВГА IgG, анти-ВGE IgM и IgG и РНК ВGE методом обратной транскрипции — полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

Анти-ВГА IgG определили с помощью коммерческой тест-системы ДС-ИФА-АНТИ-НАV-G производства НПО «Диагностические системы». Анти-ВGE IgM и IgG определяли с помощью коммерческих ИФА-тестов ДС-ИФА-АНТИ-НЕV-M и ДС-ИФА-АНТИ-НЕV-G соответственно производства НПО «Диагностические системы». Все постановки ИФА проводили по протоколам производителя соответствующих тест-систем. РНК ВGE определяли в образцах, положительных по анти-ВGE IgM, методом ОТ-ПЦР с вырожденными праймерами к участку генома ВGE, кодирующему капсидный белок.

Выделение нуклеиновых кислот из сыворотки крови объемом 50 мкл проводили с помощью набора компании «Sileks» на магнитных частичках Sileks MagNa согласно инструкции производителя. Для детекции РНК ВGE в ОТ-ПЦР использовали следующие олигонуклеотиды: внешняя пара праймеров — $5'$ -aa y atgcmcag t accgggtg- $3'$ (прямой) и $5'$ -ccctatcctgctgagcattctc- $3'$ (обратный), внутренняя пара праймеров — $5'$ -gtyatgytgcatacatggct- $3'$ (прямой) и $5'$ -agccgacgaa t yaattctgtc- $3'$ (обратный). Первый раунд ПЦР проводили совместно с ОТ, условия реакции были следующими: 42°C — 1 час, затем 5 мин. — 94°C (денатурация и инактивация фермента обратной транскриптазы), затем 35 циклов: 94°C — 30 сек., 45°C — 30 сек., 72°C — 45 сек., финальная элонгация — 72°C — 7 мин. Условия для второго раунда ПЦР — 35 циклов: 94°C — 30 сек., 45°C — 30 сек., 72°C — 45 сек., финальная элонгация — 72°C — 7 мин. Полученные продукты ПЦР, соответствующие ВGE, определяли в 1,5% агарозном геле в TBE. Величина продукта амплификации для ВGE составляла 350 пар оснований.

Выявление достоверности различий значений показателей в сравниваемых группах оценивали с использованием критерия Фишера, различия оценивались как достоверные при вероятности 95% ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Частота выявления анти-ВГА IgG среди трудовых мигрантов составила в среднем 91,7% (1222/1333), при этом мужчины были анти-ВГА позитивными достоверно чаще по сравнению с женщинами (92,6% против 87,1%, $p<0,01$). Также отмечали различия по частоте выявления анти-ВГА IgG в зависимости от страны происхождения — серопозитивные лица достоверно реже встречались среди мигрантов из Украины (70,1%) по сравнению с лицами, прибывшими из Молдовы, Узбекистана и Таджикистана (91,8; 98,7 и 99,8% соответственно).

Образцы сыворотки от 1333 мигрантов подвергли скринингу на присутствие анти-ВГЕ IgM и IgG. В среднем, 5,93% (79/1333) мигрантов были серопозитивными по анти-ВГЕ IgM, 25,36% (338/1333) были положительными по анти-ВГЕ IgG, и 3% (40/1333) имели одновременно анти-ВГЕ IgM и IgG.

Анти-ВГЕ IgG достоверно чаще выявляли среди мигрантов из Узбекистана и Таджикистана, по сравнению с мигрантами из Украины и Молдовы (25,4 и 43,1% по сравнению с 7,8 и 12,3%, соответственно, $p < 0,01$). Наличие анти-ВГЕ IgM, указывающее на текущую или недавнюю инфекцию, было установлено среди мигрантов из Узбекистана, Таджикистана, Украины и Молдовы (3,9; 7,8; 5,8 и 6,8% соответственно. РНК ВГЕ не была обнаружена ни в одном из 79 образцов сыворотки крови, содержащем IgM или IgM и IgG.

При анализе распространенности анти-ВГЕ IgG, но не IgM, была отмечена связь серопозитивности с полом, возрастом и этническим происхождением. Случаи выявления анти-ВГЕ IgM были равномерно распределены среди мужчин и женщин, в разных возрастных группах и среди мигрантов из разных стран. В то же время, анти-ВГЕ IgG значительно чаще выявляли среди мужчин по сравнению с женщинами (26,7% против 18,8%, $p < 0,01$). Было отмечено постепенное возрастание доли лиц с анти-ВГЕ IgG с увеличением возраста (от 18,8% в возрастной группе 18 — 30 лет до 37,8% среди лиц в возрасте 41 — 50 лет). Однако в самой старшей возрастной группе, среди лиц старше 50 лет, число позитивных по анти-ВГЕ IgG несколько снижалось (до 19,8%).

Проведенное сероэпидемиологическое исследование энтеральных вирусных гепатитов А и Е среди трудовых мигрантов было направлено на решение двух вопросов. Во-первых, какая доля трудовых мигрантов, прибывающих в РФ, имеет анamnестические антитела к ВГА и соответственно является защищенной от инфицирования. Во-вторых, какая доля лиц, прибывающих в РФ из регионов с разной степенью в отношении ГЕ, имеет маркеры перенесенной и текущей ВГЕ-инфекции, и соответственно какова вероятность завоза ВГЕ в РФ.

Данные, полученные по распространенности анти-ВГА среди трудовых мигрантов, показали, что более 90% лиц, прибывающих из Узбекистана, Таджикистана и Молдовы, то есть эндемичных в отношении ГА стран, имеют анamnестические антитела. Столь широкая распространенность анти-ВГА IgG, с одной стороны, свидетельствует о минимальном риске завоза ВГА трудовыми мигрантами из этих стран, поскольку большинство из них уже невосприимчиво к заражению, а с другой стороны, указывает на отсутствие целесообразности вакцинопрофилактики ГА среди мигрантов из этих стран. Среди трудовых мигрантов из Украины того же возраста распространенность анти-ВГА достоверно ниже, в результате около 30% лиц в этой когорте остаются восприимчивыми к ВГА.

ВГЕ-инфекция человека имеет две различные эпидемиологические модели [5], [Pavio N. et al., 2010]. В развивающихся странах, в том числе странах Средней Азии, ГЕ вызывается вирусом 1 генотипа, проявляется в виде крупных вспышек со значительными показателями заболеваемости и смертности, а также sporadических случаев и представляет собой серьезную проблему общественному здравоохранению. При этом, в отличие от ГА, ГЕ болеют чаще молодые взрослые и соответственно ВГЕ-инфекция 1 генотипа может импортироваться из этих стран трудовыми мигрантами. В промышленно развитых странах, с другой стороны, ГЕ не является эндемическим заболеванием, как правило, ограничен среди путешественников, возвращающихся из эндемичных регионов, а также встречается в виде sporadической заболеваемости,

чаще пищевого зоонозного происхождения, чем водного, и ассоциирован преимущественно с генотипом 3 ВГЕ, реже — с генотипом 4 [16].

Полученные в данном исследовании результаты выявления анamnестических анти-ВГЕ IgG отражают степень эндемичности по ГЕ территорий происхождения обследованных лиц — стран Средней Азии и Восточной Европы. В России частота выявления анти-ВГЕ IgG в общей популяции составляет в среднем 5 — 10% [3], что сходно с показателями, выявленными среди мигрантов из Украины и Молдовы. Сероэпидемиологические исследования продемонстрировали также довольно широкую распространенность анти-ВГЕ IgG в развитых странах, от 5% в Японии до 15 — 22% во Франции, Германии и Дании, а также в Соединенных Штатах [10, 12, 14, 17, 18]. Несмотря на одинаковый механизм передачи и широкою распространенность ВГА и ВГЕ в странах Средней Азии частота выявления анти-ВГЕ IgG была значительно ниже по сравнению с распространенностью анти-ВГА IgG среди мигрантов из Узбекистана и Таджикистана. Такое различие совпадает с данными по сероэпидемиологии этих инфекций в других эндемичных по ГЕ странах, таких как Индия и Иран [6, 7]. Данное наблюдение подтверждает представление о том, что даже в гиперэндемичных регионах встреча с этими двумя вирусами происходит в разном возрасте, с ВГА — в детстве, с ВГЕ — гораздо позднее. На это же указывает и увеличение доли позитивных анти-ВГЕ IgG лиц с возрастом в обследованных когортах мигрантов, равно как и присутствие анти-ВГЕ IgM.

Заслуживает особого интереса относительно высокая частота выявления анти-ВГЕ IgM, свидетельствующая о текущей или недавней инфекции, среди обследованных лиц. В среднем около 5% мигрантов имели анти-ВГЕ IgM, независимо от степени эндемичности страны происхождения и возраста. Полученные данные подтверждают оценочные показатели для стран Восточной Европы и бывшего СССР, превышающие 2%, и сходны с частотой выявления анти-ВГЕ IgM среди первичных доноров в РФ, составляющей 2,8 — 4,5% [3]. Все обследованные нами лица не имели клинических проявлений острого гепатита и не имели вирусемии ВГЕ по результатам тестирования в ОТ-ПЦР.

Остается открытым вопрос о подтверждении диагноза ВГЕ-инфекция при отсутствии РНК в крови обследуемых и специфичности выявления IgM у значительной доли людей, не имеющих клинических проявлений заболевания. Тем не менее, тест-система, применявшаяся для выявления анти-ВГЕ IgM, является одной из наиболее чувствительных и специфичных в мире, что было подтверждено испытаниями [11]. Отсутствие РНК ВГЕ в анти-ВГЕ IgM-позитивных образцах, возможно, связано с кратким периодом вирусемии, закончившейся до взятия образцов крови для исследования. РНК ВГЕ, как правило, обнаруживается в течение 2 — 4 недель после появления симптомов, тогда как анти-ВГЕ IgM могут сохраняться от 2 до 6 месяцев после завершения инфекции [8].

Таким образом, результаты проведенного исследования продемонстрировали, что значительное число трудовых мигрантов, прибывающих в РФ, имеет анamnестические антитела к ВГА и ВГЕ, и величина этих показателей отражает степень эндемичности страны происхождения мигрантов. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии целесообразности вакцинопрофилактики ГА среди трудовых мигрантов, прибывающих в РФ, поскольку их подавляющее большинство уже имеет иммунитет к данной инфекции. Высокая частота выявления анти-ВГЕ IgM у трудовых мигрантов, свидетельствующая о текущей или недавно перенесенной инфекции, позволяет предполагать вы-

сокую вероятность завоза в РФ ВГЕ-инфекции, что делает необходимым включение в алгоритм обследования маркеров острой ВГЕ-инфекции.

Проект осуществлен при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60414X0064.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михайлов М.И., Малинникова Е.Ю., Кюрегян К.К., Исаева О.В. Случай завоза вируса гепатита E 4 генотипа в Россию. Журн. микробиол. 2016, 3: 64-69.
2. Мукомолов С.Л., Михайлов М.И., Семенов Т.А. и др. Бремя гепатита A в Российской Федерации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014, 6 (79): 24-32.
3. Потемкин И.А., Кюрегян К.К., Исаева О.В., Белякова В.В., Майорова О.А., Щибрик Е.В., Поляков А.Д., Малиникова Е.Ю., Михайлов М.И. Распространенность маркеров гепатита E среди доноров крови в регионах российской федерации. Гематол. трансфуз. 2013, 8: 26-28.
4. Эсауленко Е.В., Малинникова Е.Ю., Перадзе Х.Д., Яковлев А.А., Михайлов М.И. Спорадические и групповые завозные случаи гепатита E в Санкт-Петербурге. Журн. микробиол. 2013, 1: 38-41.
5. Aggarwal R. Hepatitis E: historical, contemporary and future perspectives. J. Gastroenterol. Hepatol. 2011, 26 (Suppl. 1): 72-82.
6. Arankalle V.A., Chadha M.S., Chitambar S.D. et al. Changing epidemiology of hepatitis A and hepatitis E in urban and rural India (1982-98). J. Viral. Hepat. 2001, 8: 293-303.
7. Asaei S., Ziyaeyan M., Moeini M. et al. Seroprevalence of hepatitis A and E virus infections among healthy population in Shiraz, Southern Iran. Jundishapur. J. Microbiol. 2015, 8: e19311.
8. Aggarwal R., Kini D., Sofat S. et al. Duration of viraemia and faecal viral excretion in acute hepatitis E. Lancet. 2000, 356:1081-1082.
9. Balayan M.S., Zamyatina N.A., Mikhailov M.I. Serological survey on hepatitis E virus infection in an endemic area: diagnosis potential of enzyme immunoassay for detection of IgG antibody. Clin. Diagn. Virol. 1994, 2 (4-5): 297-304.
10. Christensen P.B., Engle R.E., Hjort C. et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. Clin. Infect. Dis. 2008, 47: 1026-1031.
11. Drobeniuc J., Meng J., Reuter G. et al. Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. Clin. Infect. Dis. 2010, 1; 51 (3): e24-27.
12. Faber M.S., Wenzel J.J., Jilg W. et al. Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany. Emerg. Infect. Dis. 2012, 18: 1654-1657.
13. Jacobsen K.H., Wiersma S.T. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. Vaccine. 2010, 28: 6653-6665.
14. Mansuy J.M., Legrand-Abravanel F., Calot J.P. et al. High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. J. Med. Virol. 2008, 80: 289-293.
15. Pischke S., Wedemeyer H. Hepatitis E virus infection: multiple faces of an underestimated problem. J. Hepatol. 2013, 58: 1045-1046.
16. Teo C. G. The two clinico-epidemiological forms of hepatitis E. J. Viral. Hepat. 2007, 14:295-297.
17. Takahashi M., Tamura K., Hoshino Y. et al. A nationwide survey of hepatitis E virus infection in the general population of Japan. J. Med. Virol. 2010, 82: 271-281.
18. Xu C., Wang R.Y., Schechterly C.A. et al. An assessment of hepatitis E virus (HEV) in US blood donors and recipients: no detectable HEV RNA in 1939 donors tested and no evidence for HEV transmission to 362 prospectively followed recipients. Transfusion. 2013, 53: 2505-2511.

Поступила 18.12.16

Контактная информация: Потемкин Илья Александрович.
125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, р.т. (495)946-70-82