



Жаворонок С.В.¹, Задора И.С.^{1,4} ✉, Давыдов В.В.¹, Анисько Л.А.^{1,2}, Рогачева Т.А.^{1,2},
Алаторцева Г.И.³, Лухверчик Л.Н.³, Нестеренко Л.Н.³, Зверев В.В.^{3,5}, Смирский В.В.⁴,
Щербань А.И.⁴, Щука Н.В.⁴, Мытько Ю.А.⁴

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Городская клиническая инфекционная больница, Минск, Беларусь

³ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова,
Москва, Россия

⁴ Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии
НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁵ Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Методы выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу гепатита E в сыворотке крови людей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Жаворонок С.В., Давыдов В.В., Алаторцева Г.И., Лухверчик Л.Н., Нестеренко Л.Н., Зверев В.В., Смирский В.В. – существенный вклад в замысел и дизайн исследования; Анисько Л.А., Рогачева Т.А. – подготовка, сбор материала, дизайн исследования, текущее и окончательное редактирование статьи; Задора И.С., Мытько Ю.А. – замысел, сбор данных, обобщение результатов, текущее редактирование; Лухверчик Л.Н., Нестеренко Л.Н., Щербань А.И., Щука Н.В., Жаворонок С.В., Давыдов В.В. – окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

Финансирование. Данная научно-исследовательская работа выполнена в рамках финансируемого проекта «Разработать медико-технические требования к иммуноферментным тест-системам для определения антител классов IgG и IgM к вирусу гепатита E у человека. Создать контрольные панели сывороток крови человека, содержащих антитела к вирусу гепатита E» в масштабах мероприятия 13 «Разработать технологию промышленного изготовления тест-систем для выявления антител IgG- и IgM-классов к вирусу гепатита E у человека и животных с использованием иммуноферментного метода анализа и организовать их производство» подпрограммы 5 «Химические продукты и молекулярные технологии» ГП «Научные технологии и техника» на 2021–2025 гг.

Благодарность. Авторы благодарят коллектив клинко-диагностической лаборатории УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» за помощь в организации и проведении исследований.

Подана: 30.11.2022

Принята: 12.12.2022

Контакты: zadora-ilona@mail.ru

Резюме

В статье приведены результаты определения иммуноглобулинов класса G к вирусу гепатита E (ВГЕ) в 91 образце сыворотки крови людей с помощью иммуноферментной референсной тест-системы ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (НПО «Диагностические системы», РФ) в параллели с разрабатываемой национальной тест-системой, проведен статистический анализ полученных данных, оценена аналитическая чувствительность и специфичность разрабатываемого набора. Также была проведена сравнительная оценка использования 3 разных тест-систем ИФА (ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G; «Вектоген E-IgG», АО «Вектор-Бест», РФ; экспериментальная тест-система) на панели из 43 образцов сыворотки крови. Разрабатываемая отечественная иммуноферментная тест-система по своим аналитическим характеристикам не уступает зарубежным аналогам, что позволяет в дальнейшем использовать ее в практике лабораторной медицины.

Ключевые слова: вирус гепатита E, ВГЕ, иммуноферментный анализ, иммуноглобулины класса G

Zhavoronok S.¹, Zadora I.^{1,4} ✉, Davydov V.¹, Anisko L.^{1,2}, Rogacheva T.^{1,2}, Alatorseva G.³, Lukhverchik L.³, Nesterenko L.³, Zverev V.^{3,5}, Simirsky V.⁴, Shcherban A.⁴, Shchuka N.⁴, Mytko Yu.⁴

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² City Clinical Infectious Diseases Hospital, Minsk, Belarus

³ I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

⁴ Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

⁵ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Methods for Detection of Class G Immunoglobulins to Hepatitis E Virus in Human Serum

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Zhavoronok S., Davydov V., Alatorseva G., Lukhverchik L., Nesterenko L., Zverev V., Simirsky V. – a significant contribution to the concept and design of the study; Anisko L., Rogacheva T. – preparation, collection of material, study design, necessity and final editing of the article; Zadora I., Mytko Yu. – design, data collection, summary of results, editing of results; Lukhverchik L., Nesterenko L., Shcherban A., Shchuka N., Zhavoronok S., Davydov V. – final approval of the version of the article for publication.

Funding. This research work was performed as part of the funded project "Development of medical and technical requirements for immunoenzyme test systems for the detection of IgG and IgM antibodies to hepatitis E virus in humans. To create control panels of human blood sera containing antibodies to hepatitis E virus" conducted under subprogramme 5 "Chemical products and molecular technologies" of State Program "Science-intensive technologies and engineering" for the period of 2021–2025.

Acknowledgements: The authors thank the staff of the clinical diagnostic laboratory of the HF "City Clinical Infectious Disease Hospital" for assistance in organizing and conducting the research.

Submitted: 30.11.2022

Accepted: 12.12.2022

Contacts: zadora-ilona@mail.ru

Abstract

The article presents the results of the determination of class G immunoglobulins for hepatitis E virus (HEV) in 91 samples of human blood sera using the «DS-ELISA-ANTI-HEV-G» immunoassay test system (NPO Diagnostic Systems, RF) in parallel with the national test system being developed. A statistical analysis of the obtained results was carried out, the analytical sensitivity and specificity of the developed set were evaluated. A comparative evaluation of the use of 3 different ELISA kits (DS-ELISA-ANTI-HEV-G; «Vectohep E-IgG»; experimental test system) was also carried out on the panel of 43 blood serums. The developed enzyme immunoassay system is not inferior in its analytical characteristics to foreign analogues, that makes it possible to use it in the practical activities of laboratories in the future. To avoid taking into account false positive and false negative results, it is advisable to introduce a gray zone

Keywords: hepatitis E virus, HEV, enzyme immunoassay, immunoglobulins class G

■ ВВЕДЕНИЕ

Вирус гепатита E (ВГЕ) (Pasmahepevirus balayani) человека является представителем семейства Невиривidae, куда также относятся ВГЕ животных, таких как свиньи, олени, кабаны, кролики и др. ВГЕ представляет собой небольшой РНК-содержащий

квазиоболочечный вирус [1]. В настоящее время известно 8 генотипов ВГЕ. При этом вирусы генотипов 1 и 2 циркулируют только среди людей, передаются в основном через воду. Штаммы ВГЕ 3-го и 4-го генотипов были обнаружены у людей, домашних свиней и диких кабанов, штамм ВГЕ 5-го генотипа – у диких кабанов, но также может инфицировать приматов.

В развитых странах аутохтонные случаи инфицирования ВГЕ носят спорадический характер, при этом преобладающее значение имеют животные резервуары инфекции. Гепатит E, вызываемый вирусом 3-го и 4-го генотипов, по источнику инфекции относится к зооантропонозам, путь передачи в большинстве случаев пищевой, передача от человека к человеку встречается редко. Данные генотипы обнаруживаются у свиней, диких кабанов, кроликов, оленей и мангустов, что повышает риск инфицирования людей при работе с данными животными, во время охоты, а также при потреблении недостаточно термически обработанного мяса и мясных продуктов от инфицированных ВГЕ животных [2–4, 7].

Известны случаи хронического гепатита E, вызванного 3-м генотипом, у пациентов с трансплантацией печени и почек, иммунокомпрометированных лиц, получающих химиотерапию гематологических пациентов и пациентов с ревматоидной патологией. Особенную опасность представляет наличие вирусной РНК и иммуноглобулинов класса M к ВГЕ в донорской крови, что является общественной проблемой здравоохранения во всем мире, а также в Республике Беларусь в частности, в связи с отсутствием тотального тестирования донорской крови на РНК ВГЕ [5, 6]. До настоящего времени штаммы ВГЕ 6-го генотипа были выделены только от диких кабанов, и их зооантропонозный потенциал неизвестен. Генотипы вируса 7 и 8 выделены от верблюдов и могут инфицировать приматов.

Для Республики Беларусь характерна интенсивная циркуляция возбудителя ВГЕ, популяционная частота встречаемости анти-ВГЕ IgG составляет 7,3%, а в группе пациентов с повышенным содержанием печеночных ферментов (трансаминаз) – 11,3%. В республике регистрируются как завозные, так и аутохтонные случаи [8]. При этом эпидемический процесс носит скрытый характер, инфекция часто протекает бессимптомно. Могут встречаться случаи коинфицирования с другими вирусными гепатитами (B, C), при этом гепатит E можно выявить только с помощью лабораторных тестов, что осложняется отсутствием эпидемиологической настороженности врачей к ВГЕ.

Лабораторная верификация гепатита E основывается на обнаружении вирусной РНК в биологическом материале (кровь, кал и т. д.) методом полимеразной цепной реакции, а также иммуноглобулинов классов G и M в сыворотке (плазме) крови с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), линейного и хемилюминесцентного иммуноанализа [9, 11].

Основным методом первичного скрининга для выявления иммуноглобулинов класса G к ВГЕ является ИФА, характеризующийся относительной простотой и быстрым получением достоверных результатов. В Республике Беларусь отсутствует национальная тест-система для серологической диагностики анамнестических маркеров инфицирования, поэтому тестирование проб сывороток крови людей осуществляется с помощью зарубежных коммерческих тест-систем. Разработка и внедрение в производство отечественного аналога для качественного выявления IgG-антител к ВГЕ (анти-ВГЕ IgG) имеют как экономическую, так и практическую значимость для учреждений здравоохранения.

Использование рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 3-го генотипа (разработаны и предоставлены ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, РФ) для создания иммуноферментных тест-систем в целях качественной оценки наличия специфических антител G в сыворотке крови людей основано на преобладающей циркуляции ВГЕ данного генотипа в Республике Беларусь и на территории государств постсоветского пространства, тогда как зарубежные тест-системы ИФА используют преимущественно антигены 1-го генотипа [10]. При этом ни одна из существующих тест-систем не может гарантировать детекцию антител в 100% случаев.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ использования различных иммуноферментных тест-систем в сравнении с разрабатываемой национальной тест-системой для определения иммуноглобулинов класса G к ВГЕ в сыворотке крови людей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлся 91 образец сыворотки крови, поступивший в клиническую лабораторию УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» от работников мясокомбината, занятых в промышленном производстве свинины, а также 43 образца из контрольной панели сывороток крови человека, содержащих иммуноглобулины класса G к вирусу гепатита E, разработанной в рамках реализуемого научного проекта.

Для выявления наличия или отсутствия иммуноглобулинов G к ВГЕ образцы тестировались на коммерческих наборах реагентов ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (НПО «Диагностические системы», РФ), а также «Векторген E-IgG» (АО «Вектор-Бест», РФ). Референсной тест-системой являлся набор ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G. Также параллельно с данными тест-системами образцы тестировались с помощью разрабатываемой отечественной тест-системы для качественного определения анти-ВГЕ IgG к ВГЕ методом твердофазного ИФА.

При изготовлении иммуносорбента на твердую фазу (разборные 96-луночные полистирольные планшеты производства ООО «Хема», РФ) методом прямой адсорбции наносились рекомбинантные антигены – аналоги белков ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа (ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», РФ) в концентрации 2,5 и 0,25 мкг/мл соответственно. В последующем для стабилизации иммобилизованных рекомбинантных антигенов и предупреждения неспецифического связывания поверхность лунок полистироловых планшетов обрабатывалась постпокрывающим раствором, включающим инертный белок, дисахарид, ингибитор протеиназ, бактериостатик (УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»). Для избежания конденсации влаги в лунках планшета изготовленный иммуносорбент запаковывался в фольгированные закрытые пакеты и хранился при температуре от 2 до 8 °С. Непосредственно перед проведением анализа все необходимые реагенты выдерживались 30 мин при температуре от 18 до 24 °С, а необходимое количество стрипов иммуносорбента промывалось 2 раза раствором фосфатно-солевого буфера с помощью автоматизированного промывателя Intelispeed Washer IW-8 Biosan. В качестве положительных и отрицательных контролей использовались контрольные образцы из набора ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G.

Иммуноферментный анализ проводился по непрямому твердофазному варианту, при котором сорбированная смесь рекомбинантных антигенов к ВГЕ взаимодействует с антителами класса G в сыворотке крови людей, формируя комплекс «антиген-антитело».

Исследуемые сыворотки разводились 1:10 в натрий-фосфатном буфере (рН = 7,2–7,4), содержащем натрия хлорид, бычий сывороточный альбумин (БСА), бактериостатик, ингибитор протеиназ, детергент (УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»). Для выявления иммунного комплекса после отмывки использовались моноклональные антитела мыши против иммуноглобулинов G человека, меченные пероксидазой хрена (ООО «Хема», РФ) в разведении 1:320 000. Для разведения конъюгата применялся стабилизирующий раствор, содержащий многоатомный спирт, инертный белок (БСА), ингибитор протеиназ, ингибитор окислительных реакций и бактериостатик (УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»). Субстратная смесь, содержащая 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, готовилась непосредственно перед использованием в необходимом объеме. Для остановки реакции применялся 0,2М раствор серной кислоты. Учет результатов проводился спектрофотометрически при длине волны 450 нм и референс-светофильтре 620 нм на универсальном спектрофотометре «Витязь» Ф300 через 5 мин после внесения стоп-реагента.

Для определения положительных и отрицательных результатов проводился расчет критического значения оптической плотности ($ОП_{крит}$), для чего к среднему значению оптической плотности (ОП) отрицательных контролей добавляли константу 0,2:

$$ОП_{крит} = ОП (К-) + 0,2.$$

Коэффициент позитивности (КП) рассчитывался отношением ОП в лунке с образцом пациента относительно критической ОП:

$$КП = \frac{ОП_{обр}}{ОП_{крит}}.$$

Для определения относительной чувствительности и специфичности строилась таблица по матрице сопряженности. Относительная чувствительность (Se) и относительная специфичность (Sp) рассчитывались по формулам:

$$Se = \frac{ИП}{ИП+ЛО}; Se = \frac{ИП}{ИО+ЛП},$$

где ИП – истинно положительные результаты, ЛО – ложноотрицательные результаты, ИО – истинно отрицательные результаты, ЛП – ложноположительные результаты.

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием программы анализа данных Microsoft Excel пакета Microsoft Office операционной системы Windows 10.0. Количественные признаки оценивались с помощью методов описательной статистики, включая расчет медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q25–Q75), для качественных переменных определяли абсолютную частоту (n), долю (%) от общего числа случаев в исследуемой группе и 95 % доверительный интервал (% ДИ). Сравнение показателей контрольной и экспериментальной выборок проводилось с помощью t-критерия Стьюдента при нормальном распределении признака и равных дисперсиях, различия считали достоверными при $p < 0,05$.



При законе распределения, отличного от нормального, сравнение показателей контрольной и экспериментальной выборок проводилось с помощью U-критерия Уилкоксона – Манна – Уитни, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований на референсной тест-системе ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G установлено, что в 6 из 91 сыворотки крови, полученной от лиц, задействованных в разделке свиных туш, обнаружены антитела класса G к ВГЕ, что составило 7,6% (95% ДИ 4,54–10,66).

Сравнительный анализ показателей ОП совокупности протестированных проб крови на экспериментальной отечественной тест-системе и наборе ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G с применением методов описательной статистики представлен в табл. 1, при этом обращают на себя внимание схожие данные 2 независимых тест-систем по всем изучаемым признакам.

Статистически значимых различий между значениями ОП исследуемых образцов при использовании разных наборов (контрольный и экспериментальный) для определения IgG выявлено не было ($t = 0,78$, $p = 0,4365$).

При детальном анализе (табл. 2) показателей ОП исследуемых сывороток в разрабатываемой тест-системе установлено, что ряд образцов (№ 4, 8) превышают или находятся рядом с ОП_{крит'} в то время как в контрольной тест-системе данные пробы являются отрицательными. КП при этом не превышал 1,2 во всех случаях. ОП образца № 3, являющегося положительным в наборе ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G, не превышала ОП_{крит} в экспериментальной тест-системе, поэтому образец перепроверен в иммуноферментной тест-системе «Вектоген E-IgG», где также показал отрицательный результат (ОП = 0,096).

В целях оценки относительной специфичности и относительной чувствительности разработанной тест-системы для качественной оценки антител IgG к ВГЕ в сравнении с коммерческим референсным набором ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (НПО «Диагностические системы», РФ) была составлена таблица сопряженности, в которой наглядно представлены результаты исследования 91 пробы сыворотки крови (табл. 3).

При тестировании данной выборки был получен 1 ложноотрицательный результат, а также 2 ложноположительных по сравнению с референсной

Таблица 1
Сравнительный анализ значений ОП проб сывороток крови, исследованных на экспериментальной тест-системе и наборе ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G

Table 1
Comparative analysis of the optical densities values of blood serum samples studied by experimental test system and by a kit "DS-ELISA-ANTI-HEV-G"

Статистический признак	Разрабатываемая тест-система	ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G
Минимальное значение ОП	0,000	0,000
Максимальное значение ОП	0,906	0,945
Среднее значение	0,062	0,046
Стандартная ошибка	0,014	0,015
Стандартное отклонение	0,139	0,147
Дисперсия выборки	0,019	0,022

Таблица 2
Сравнительный анализ значений ОП положительных проб крови на экспериментальной тест-системе и наборе ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G
Table 2
Comparative analysis of the optical densities values of positive blood samples on an experimental test system and on a set of "DS-ELISA-ANTI-HEV-G"

Номер исследуемого образца	ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (ОП _{крит} = 0,206)		Разрабатываемая тест-система (ОП _{крит} = 0,207)	
	ОП	КП	ОП	КП
1	0,202	0,98	0,414	2,0
2	0,698	3,39	0,478	2,3
3	0,3	1,46	0,142	–
4	0,005	–	0,239	1,15
5	0,335	1,62	0,189	0,91
6	0,384	1,86	0,703	3,39
7	0,615	2,98	0,266	1,28
8	0,006	–	0,230	1,11
9	0,945	4,59	0,906	4,37

тест-системой. Таким образом, рассчитанная с помощью матрицы сопряженности относительная чувствительность разработанной тест-системы составила 85,7%, относительная специфичность разработанной тест-системы – 97,6%. При этом ложноотрицательный результат находился близко к пороговому значению (ОП_{крит}) со значением КП = 0,91, что позволило отнести данную пробу к пограничным по содержанию анти-ВГЕ IgG.

Соответственно, для исключения учета ложноположительных и ложноотрицательных результатов был рассчитан интервал значений ОП, входящих в «серую зону». Положительными считались образцы, значения ОП которых были равными или превышали ОП_{крит} + 10%, отрицательными – образцы сыворотки крови человека, если значение ОП исследуемого образца было меньше значения ОП_{крит} – 20%.

При тестировании сывороток из контрольной панели, содержащих иммуноглобулины класса G к вирусу гепатита E, 43 образца сыворотки крови, в которых было показано наличие анти-ВГЕ IgG в разных диапазонах концентраций при тестировании на ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G, были протестированы в экспериментальной разработанной тест-системе, а также с помощью набора «Вектоген E-IgG».

Таблица 3
Оценка относительной чувствительности и специфичности разработанной иммуноферментной тест-системы
Table 3
Evaluation of the relative sensitivity and specificity of the developed enzyme immunoassay system

ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G	Экспериментальная тест-система для качественного определения анти-ВГЕ IgG		
	Положительные пробы	Отрицательные пробы	Всего
Положительные пробы	6/a	1/c	7 (a + c)
Отрицательные пробы	2/d	82/b	84 (d + b)
Итого	8 (a + d)	83 (c + b)	N = 91

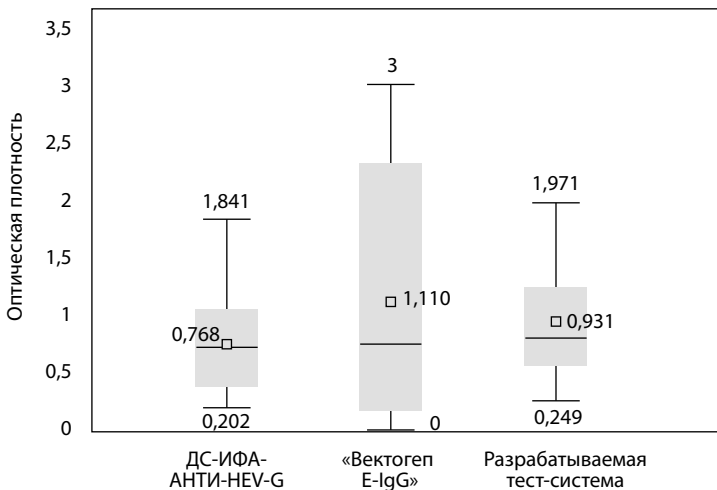
Примечание: а – истинно положительные результаты, с – ложноотрицательные результаты, b – истинно отрицательные результаты, d – ложноположительные результаты.



Установлено, что среднее значение ОП положительных сывороток Me (Q25–Q75) при тестировании на тест-системе ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G составило 0,768 (0,384–1,058), наборе «Вектоген E-IgG» – 1,110 (0,182–2,333), а на разработанной тест-системе – 0,930 (0,573–1,260) (см. рисунок). При этом продемонстрирован широкий разброс показателей ОП исследуемых образцов во всех используемых тест-системах, но наиболее близкими к показателям экспериментальной отечественной тест-системы являются результаты, полученные с помощью референсного набора ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (табл. 4). При сравнении показателей ОП исследуемой выборки образцов в экспериментальной и референсной тест-системах достоверного отличия выявлено не было ($U_{\text{эмп}} = 762$, $p < 0,05$). Значения ОП для незначительного числа образцов при исследовании в тест-системе «Вектоген E-IgG» существенно превышали Me, но это не сказывалось на полученных результатах при сравнении с разработанной тест-системой ($U_{\text{эмп}} = 826$, $p < 0,05$).

При тестировании 43 сывороток из контрольной панели, содержащих иммуноглобулины класса G к вирусу гепатита E, на иммуноферментной тест-системе фирмы «Вектор-Бест» было установлено, что 9 образцов из 43 являются отрицательными, а 3 образца по показателям своих ОП находятся рядом с ОП_{крит}, но не превосходят ее (табл. 5).

Поскольку в инструкциях к данным тест-системам отсутствует вариант «серой зоны» при качественном учете результатов, а наличие либо отсутствие анти-ВГЕ IgG несет в себе высокую анамнестическую значимость, особенно в группах рисках (работники свиноводческих ферм, лица с иммунодефицитом, беременные, охотники и т. д.), нами было принято решение ввести диапазон с сомнительным результатом, который находился в пределах между ОП_{крит} – 20% (отрицательный результат) и ОП_{крит} + 10% (нижнее значение положительного результата), и для данных тест-систем при их сравнительной оценке.



Разброс значений ОП при тестировании положительных по анти-ВГЕ IgG проб сывороток на различных тест-системах
The spread of optical densities values when testing anti-HEI IgG positive sera samples by various test systems

Таблица 4
Сравнительный анализ показателей описательной статистики при тестировании положительных проб сыворотки крови на коммерческих наборах ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G, «Векторен E-IgG» и экспериментальной тест-системе
Table 4

Comparative analysis of indicators of descriptive statistics when testing positive blood serum samples by commercial kits "DS-ELISA-ANTI-HEV-G", "Vectohep E-IgG" and experimental test system

Статистический признак	ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (НПО ДС, РФ)	«Векторен E-IgG» («Вектор-Бест», РФ)	Разработанная тест-система
Минимальное значение ОП	0,202	0,000	0,249
Максимальное значение ОП	1,841	3	1,971
Стандартное отклонение	0,429	1,086	0,475
Дисперсия выборки	0,184	1,180	0,225
Стандартная ошибка	0,065	0,166	0,072

Таблица 5
Результаты тестирования положительных по анти-ВГЕ IgG сывороток крови на 3 иммуноферментных тест-системах
Table 5

The results of testing positive for anti-HEV IgG blood serums by three ELISA test systems

Результат тестирования сывороток	ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G (НПО ДС, РФ)	«Векторен E-IgG» («Вектор-Бест»)	Разрабатываемая тест-система
Положительные	42	31	43
Сомнительные	1	3	0
Отрицательные	0	9	0
Итого	43		

Данные различия в чувствительности и специфичности разных тест-систем при проведении параллельных исследований сыворотки крови людей для качественного определения анти-ВГЕ IgG могут быть объяснимы различными по составу и специфичности рекомбинантными полипептидами, сорбированными на твердой фазе, вариабельной кинетикой синтеза иммуноглобулинов к вирусным белкам [11], а также различиями в технологиях производства коммерческих тест-систем сравнения. При этом экспериментальная отечественная иммуноферментная тест-система демонстрирует практически полную идентичность с контрольной тест-системой в получаемых качественных показателях при тестировании положительных по анти-ВГЕ IgG сывороток, что подтверждает высокий уровень ее диагностической эффективности.

■ **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В настоящее время серодиагностика гепатита E в Республике Беларусь может быть выполнена с помощью нескольких коммерческих наборов, при этом разработанная отечественная иммуноферментная тест-система по своим аналитическим характеристикам им не уступает, что позволяет использовать ее в дальнейшем в практике лабораторной диагностики.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Holla RP, Ahmad I, Ahmad Z, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Semin Liver Dis.* 2013;33(1):3–14. DOI: 10.1055/s-0033-1338110.
- Lee GY, Poovorawan K, Intharasongkroh D, Sa-Nguanmoo P, Vongpunsawad S, Chirathaworn C, Poovorawan Y. Hepatitis E virus infection: Epidemiology and treatment implications. *World J Virol.* 2015;Nov 12;4(4):343–55. DOI: 10.5501/wjv.v4.i4.343.
- Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses.* 2016;Oct 3;8(10):270. DOI: 10.3390/v8100270.
- Meng X.J. Recent advances in Hepatitis E Virus. *J Viral Hepat.* 2010;17(3):153–161. DOI:10.1111/j.1365-2893.2009.01257.x.
- Davydov V.V., Zhavoronok S.V., Zadora I.S., Novak L.V., Karpenko F.N., Levandovskaya O.V., Kudryavceva A. M. Prevalence of antibodies to the hepatitis E virus in the blood of belarusian donors. *Medical Journal.* 2022;4:53–59. DOI: <https://doi.org/10.51922/1818-426X.2022.4.53>.
- Murali AR, Kotwal V, Chawla S. Chronic hepatitis E: A brief review. *World J Hepatol.* 2015;Sep 8;7(19):2194–201. DOI: 10.4254/wjh.v7.i19.2194.
- Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol.* 2003;Sep;84(Pt 9):2351–2357. DOI: 10.1099/vir.0.19242-0.
- Davydov V.V., Zhavoronok S.V., Babenka A.S., Borisovets D.S., Rogacheva T.A., Zadora I.S., Novak L.V., Gasich E. L., Bayur N.V., Marchuk S. I. Epidemiological characteristics of hepatitis E in the Republic of Belarus. *J Hepatology and Gastroenterology.* 2022;6(1):11–19. DOI:10.25298/2616-5546-2022-6-1-11-19.
- Dichtl K, Zimmermann J, Koeppel MB, Böhm S, Osterman A. Evaluation of a Novel CLIA Monotest Assay for the Detection of Anti-Hepatitis E Virus-IgG and IgM: A Retrospective Comparison with a Line Blot and an ELISA. *Pathogens.* 2021;Jun 1;10(6):689. DOI: 10.3390/pathogens10060689.
- Pas SD, Streefkerk RH, Pronk M, de Man RA, Beersma MF, Osterhaus AD, van der Eijk AA. Diagnostic performance of selected commercial HEV IgM and IgG ELISAs for immunocompromised and immunocompetent patients. *J Clin Virol.* 2013;Dec;58(4):629–34. DOI: 10.1016/j.jcv.2013.10.010.
- Alatortseva G. I., Dotsenko V. V., Nesterenko L. N., Luhverchik L. N., Kabargina V. Yu., Amiantova I. I., Zhukina M. V., Zhavoronok S. V., Nurmatov Z. S., Nurmatov A. Z., Zverev V. V. Line immunoassay for detection of IgG antibodies to hepatitis E virus (Hepeviridae, Orthohepevirus, Orthohepevirus A). *Vopr Virusol.* 2020;Jul 21;65(3):132–142. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-3-132-142.