

Егорова Н. И., Порватова В. В.

**РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНА
ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА Е МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО
АНАЛИЗА**

Научные руководители: д-р мед. наук, проф. Жаворонок С. В.,

н. с. ЛБМИ НИЧ БГМУ Арабей А. А.

Кафедра инфекционных болезней

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Многочисленные серологические и молекулярно-генетические исследования доказали повсеместную распространенность вирусного гепатита Е (ГЕ) и его преобладание в качестве этиологического фактора случаев вирусных гепатитов с фекально-оральным механизмом передачи. Несмотря на аутохтонный характер эпидемиологического процесса в РБ, высокий процент инаппарантных форм ГЕ, в том числе среди доноров, случаи передачи вируса гепатита Е (ВГЕ) при трансфузии компонентов крови и наличие контингентов с тяжелым течением ГЕ (в том числе беременные женщины и иммунокомпрометированные пациенты), делают лабораторную диагностику ВГЕ весьма актуальной, в том числе и для Республики Беларусь. Выявление антигена ВГЕ по сравнению с определением иммуноглобулинов классов М и G является более ранним показателем наличия инфекционного процесса, а также имеет преимущества у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию.

Цель: разработка и изготовление лабораторного образца тест-системы для выявления антигена ВГЕ методом иммуноферментного анализа.

Материалы и методы. Для получения гипериммунных сывороток осуществляли иммунизацию кроликов (3 кролика – 2 самки и 1 самец) с помощью рекомбинантных белков ОРС2 и ОРС3 ВГЕ, предоставленных ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова». Гамма-глобулиновую фракцию получали из сыворотки венозной крови кроликов риванол-сульфатным методом с последующим выделением Ig G-фракции методом ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А50. Определение концентрации белка проводилось спектрофотометрически. Полученные иммуноглобулины к антигенам ВГЕ использовали для син-теза конъюгата с пероксидазой хрена по методу Nakane, его рабочее разведение определяли в ИФА на полистирольных планшетах с сорбированными полипептидами ОРС2 и ОРС3. Иммунизацию антител к ВГЕ проводилась путем адсорбции на полистирольных планшетах с предварительным определением оптимальной концентрации антител для сорбции. В ходе постановки ИФА на антиген ВГЕ с использованием положительных и отрицательных контролей была подобрана оптимальная концентрации конъюгата и установлен критерий положительности пробы. Все положительные результаты были подтверждены реакцией нейтрализации.

Результаты и их обсуждение. Получены специфические компоненты для создания иммуноферментной тест-системы «сэндвич»-методом. Изготовлен опытный образец полистирольного планшета с сорбированными антителами к ВГЕ и определены оптимальные условия постановки твердофазного ИФА для обнаружения специфического антигена ВГЕ.

Выводы. Разработан лабораторный образец тест-системы для выявления антигена ВГЕ методом иммуноферментного анализа.