

*Шебеко Ю. К.*

**РАЗРАБОТКА ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ  
К ВИРУСУ ГЕПАТИТА Е**

*Научные руководители д-р мед. наук, проф. Жаворонок С. В.,  
канд. мед. наук, доц. Анисько Л. А.  
Кафедра инфекционных болезней*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

**Актуальность.** Гепатит Е представляет важную проблему здравоохранения на глобальном уровне, в том числе и в Республике Беларусь. На сегодняшний день вирусный гепатит Е представляет собой зооантропонозную инфекцию, помимо людей заражаются кролики, свиньи, верблюды. Инфекция HEV обычно вызывает острый самоограничивающийся гепатит, однако молниеносная печеночная недостаточность может возникать у беременных женщин, пожилых пациентов или лиц, страдающих хроническим заболеванием печени.

**Цель:** разработать ИФА для определения антител к вирусу гепатита Е.

**Материалы и методы.** Плоскодонные 96-луночные полистироловые планшеты производства фирмы «Nunc» (Дания); рекомбинантные полипептиды, с иммунодоминантными аминокислотными последовательностями (белки ORC2 и ORC3 ВГЕ 3-го генотипа (получены в ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», РФ); конъюгированные с пероксидазой хрена козы антитела к IgG кроликов или человеческие антитела к IgG человека («Novus», США); фосфатно-солевой буферный раствор (ThermoFisher, США); соли для приготовления карбонатно-бикарбонатного буферного раствора, детергент Твин-20; 1% раствор казеина; субстратный раствор с ТМБ (Sigma, США); 5% раствор серной кислоты; встряхиватель («Biosan», Латвия); термостат; спектрофотометр («AwarenessTechnology», США). В качестве отрицательного контрольного образца использовали пул негативных сывороток крови здоровых кроликов или людей, верифицированных методом ОТ-ПЦР на наличие РНК ВГЕ и адаптированным методом ИФА для выявления анти-ВГЕ-IgG у кроликов или людей.

**Результаты и их обсуждение.** При разработке тест-системы для выявления иммуноглобулинов класса G к ВГЕ в сыворотке крови кроликов, а затем человека применялся формат «непрямого» иммуноферментного анализа. Основными этапами конструирования и оптимизации прототипа иммуноферментной тест-системы для качественного определения анти-ВГЕ IgG у кроликов или людей являлись: отбор и верификация тестируемых сывороток крови; подбор оптимальных концентраций и условий сорбции рекомбинантных антигенов, получение сенсibilизированного планшета; подбор рабочего разведения конъюгата; подбор оптимального времени инкубации с ТМБ и отработка метода учета реакции; определение основных функциональных показателей прототипа разработанной тест-системы; проведение предварительных лабораторных испытаний на выборках положительных и отрицательных сывороток.

**Выводы.** Разработан и оптимизирован лабораторный вариант иммуноферментной тест-системы для качественного определения иммуноглобулинов класса G к ВГЕ в сыворотке и плазме крови кроликов с использованием рекомбинантных белков, включающих иммунодоминантные аминокислотные последовательности, соответствующие белкам ORC2 и ORC3 ВГЕ 3-го генотипа. На его основе разработан лабораторный вариант иммуноферментной тест-системы для качественного определения иммуноглобулинов класса G к ВГЕ в сыворотке и плазме крови человека. Определены оптимальные концентрации для сорбции белков ORC2 и ORC3, составляющие 2мкг/мл и 1мкг/мл. Установлены высокие показатели аналитической надежности разработанной тест-системы. Диагностическая чувствительность тест-системы составила 94,8%, а диагностическая специфичность – 100%.