



Check for updates



Валидация разработанной иммуноферментной тест-системы для лабораторной диагностики острого вирусного гепатита Е

И. С. Задора^{1,2}, С. В. Жаворонок¹, А. И. Щербань², Г. И. Алаторцева³,
Л. Н. Притворова³, Л. Н. Нестеренко³, Л. А. Анисько^{1,4}, Т. А. Рогачева⁴,
Н. Г. Баюр^{1,4}, Н. В. Щука², В. В. Симирский², М. И. Михайлов^{3,5}, В. В. Зверев^{3,6}

¹Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь

²Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Беларусь

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

⁴Городская клиническая инфекционная больница, г. Минск, Беларусь

⁵Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

⁶Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Определить специфичность и чувствительность разработанного отечественного иммуноферментного набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» для выявления иммуноглобулинов классов M к вирусу гепатита Е (ВГЕ) в сыворотке крови людей в реальных клинических условиях.

Материалы и методы. Для определения чувствительности и специфичности использовались зарегистрированные промышленные образцы набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM», выпущенные УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларусь» (УП «ХОП ИБОХ НАН Беларусь») согласно ТУ BY 100185093.093-2023. На базе клинико-диагностической лаборатории УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» г. Минска исследовалась 214 сывороток крови пациентов с установленным наличием антител к вирусу гепатита А, вирусу гепатита С, антигеном вируса гепатита В, гиперлипидемией, антителами класса M к цитомегаловирусу и повышенным содержанием ревматоидного фактора (РФ). Для определения чувствительности и специфичности набора исследовалась 72 пробы сывороток в параллели с референсными наборами «Вектоген E-IgM» («Вектор-Бест», Россия).

Результаты. При использовании выпущенного в промышленных условиях набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» (ТУ BY 100185093.093-2023) установлено отсутствие неспецифического перекрестного взаимодействия между сорбированными рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа и белками в пробах пациентов с антителами к гепатиту С, гепатиту А, антигеном вируса гепатита В, пазме крови с гемолизом и хилезом, образцах с повышенным содержанием РФ и наличием антител класса M к цитомегаловирусу. При оценке показателей чувствительности и специфичности на сыворотках крови в реальных клинических условиях установлены высокие показатели чувствительности — не менее 99 % и специфичности — не менее 99 %, что свидетельствует о возможности применения набора в практической деятельности лабораторий учреждений здравоохранения.

Заключение. Зарегистрированная и выпускаемая первая отечественная тест-система «ИФА-анти-ВГЕ IgM» для определения иммуноглобулинов класса M к ВГЕ в сыворотке крови людей методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) обладает высокими показателями аналитической надежности: чувствительность — не менее 99 %, специфичность — не менее 99 %.

Ключевые слова: вирус гепатита Е, ВГЕ, ИФА, анти-ВГЕ IgM

Вклад авторов: Жаворонок С.В., Задора И.С.: дизайн исследования, сбор материала, постановка анализов, статистическая обработка, текущее и окончательное редактирование статьи; Давыдов В.В., Анисько Л.А., Рогачева Т.А., Баюр Н.Г.: сбор материала, текущее редактирование; Алаторцева Г.И., Притворова Л.Н., Нестеренко Л.Н., Михайлов М.И., Зверев В.В.: разработка и изготовление рекомбинантных полипептидов; Щербань А.И., Щука Н.В., Симирский В.В.: промышленное изготовление наборов; Жаворонок С.В.: окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

Благодарность. Авторы благодарят главного врача УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» Н. Н. Юровского, коллектив клинико-диагностической лаборатории УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» за помощь в организации и проведении исследований (О. Н. Долбуз, Е. А. Метлицкая, Н. В. Малиновская).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Данная научно-исследовательская работа была выполнена в рамках финансируемого мероприятия 13 «Разработать технологию промышленного изготовления тест-систем для выявления

© И. С. Задора, С. В. Жаворонок, А. И. Щербань, Г. И. Алаторцева, Л. Н. Притворова, Л. Н. Нестеренко, Л. А. Анисько, Т. А. Рогачева, Н. Г. Баюр, Н. В. Щука, В. В. Симирский, М. И. Михайлов, В. В. Зверев, 2025

антител IgG и IgM-классов к вирусу гепатита Е у человека и животных с использованием иммуноферментного метода анализа и организовать их производство» подпрограммы 5 «Химические продукты и молекулярные технологии» ГП «Наукомеханические технологии и техника» на 2021–2025 годы, № государственной регистрации 20213143.

Для цитирования: Задора ИС, Жаворонок СВ, Щербань АИ, Алаторцева ГИ, Приморцова ЛН, Нестеренко ЛН, Анисько ЛА, Рогачева ТА, Баюр НГ, Щука НВ, Симирский ВВ, Михайлов МИ, Зверев ВВ. Валидация разработанной иммуноферментной тест-системы для лабораторной диагностики острого вирусного гепатита Е. Проблемы здоровья и экологии. 2025;22(4):60–67. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-4-08>

Validation of a developed immunoenzyme test system for laboratory diagnostics of acute viral hepatitis E

Ilona S. Zadora^{1,2}, Sergey V. Zhavoronok¹, Aleksandr I. Shcherban²,
Galina I. Alatortseva³, Lyudmila N. Pritvorova³, Lyubov N. Nesterenko³,
Lyudmila A. Anisko^{1,4}, Tamara A. Rogacheva^{1,4}, Nadzeya G. Bayur^{1,4},
Natalia V. Shchuka², Vladimir V. Simirsky², Michail I. Mikhailov⁵, Vitaly V. Zverev^{3,6}

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

²Unitary Enterprise «Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

³Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russian

⁴City Clinical Infectious Diseases Hospital, Minsk, Belarus

⁵Federal Budgetary Scientific Institution Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

⁶I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian

Abstract

Objective. To determine the specificity and sensitivity of the developed domestic enzyme-linked immunosorbent assay kit “ELISA-anti-HEV IgM” for detecting M class immunoglobulins to the hepatitis E virus (HEV) in human serum under real clinical conditions.

Materials and methods. To determine the sensitivity and specificity, we used registered industrial samples of the “ELISA-anti-HEV IgM” kit, produced by Unitary Enterprise “Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus” in accordance with TU BY 100185093.093-2023. 214 blood serum samples from patients with established presence of antibodies to hepatitis A virus, hepatitis C virus, hepatitis B virus antigen, hyperlipidemia, class M antibodies to cytomegalovirus and increased content of rheumatoid factor were examined on the basis of the clinical and diagnostic laboratory of the healthcare institution “City Clinical Infectious Diseases Hospital” of Minsk. To determine the sensitivity and specificity of the set, 72 serum samples were examined in parallel with reference sets “Vecto hep E-IgM”.

Results. When using the industrially released “ELISA-anti-HEV IgM” (TU BY 100185093.093-2023), the absence of non-specific cross-interaction between the sorbed recombinant polypeptides ORF2 and ORF3 of hepatitis E virus genotype 3 and proteins in samples of patients with antibodies to hepatitis C, hepatitis A, hepatitis B virus antigen, blood plasma with hemolysis and chylosis, samples with an increased content of rheumatoid factor and the presence of class M antibodies to cytomegalovirus. When evaluating sensitivity and specificity indicators on blood sera under real clinical conditions, high sensitivity indicators were established – at least 99% and specificity – at least 99%, which indicates the possibility of using the kit in the practical activities of laboratories of healthcare institutions.

Conclusion. The registered and manufactured first domestic test system for the determination of class M immunoglobulins against hepatitis E virus (HEV) in human blood serum “ELISA-anti-HEV IgM” by indirect enzyme immunoassay has high analytical reliability: sensitivity is at least 99%, specificity is at least 99%.

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

Author contributions. Zhavoronok S.V., Zadora I.S. – research design, collection of material, formulation of analyses, statistical processing, current and final editing of the article;; Davydov V.V., Anisko L.A., Rogacheva T.A., Bayur N.G. – collection of material, current editing; Alatortseva G.I., Pritvorova L.N., Nesterenko L.N., Mikhailov M.I., Zverev V.V. – development and manufacture of recombinant polypeptides; Shcherban A.I., Shchuka N.V., Simirskiy V.V. – industrial production of kits; Zhavoronok S.V. – final approval of the article version for publication.

Gratitude: The authors thank chief physician Yurovsky N.N., the staff of the clinical diagnostic laboratory of the City Clinical Infectious Diseases Hospital for assistance in organizing and conducting the research (Dolbuz O.N., Metlitskaya E.A., Malinovskaya N.V.).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This research work was carried out within the framework of the funded activity 13 “Develop a technology for the industrial production of test systems for the detection of IgG and IgM class antibodies to the hepatitis E virus in humans and animals using the enzyme immunoassay method and organize their production” subprogram 5 “Chemical

products and molecular technologies" of the State Program "High-tech and technology" for 2021-2025, state registration number 20213143.

For citation: Zadora IS, Zhavoronok SV, Shcherban AI, Alatortseva GI, Pritvorova LN, Nesterenko LN, Anisko LA, Ro-gacheva TA, Bayur NG, Shchuka NV, Simirsky VV, Mikhailov MI, Zverev VV. Validation of a developed immunoenzyme test system for laboratory diagnostics of acute viral hepatitis E. *Health and Ecology Issues*. 2025;22(4):60–67. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-4-08>

Введение

Предшественником ИФА считается радиоиммунный анализ, разработанный Розалином Ялоу и Соломоном Берсоном в 1950-х гг. [1]. Метод ИФА был впервые описан почти одновременно в 1971 г. двумя независимыми исследовательскими группами — П. Перлмана в Швеции и А. Шурса в Нидерландах. Группа П. Перлмана разработала метод ИФА на основании радиоиммунного анализа, путем конъюгации меченых радиоизотопов антигена и антитела не с радиоактивным йодом-125, а с ферментами для определения уровней IgG в сыворотке кроликов [2]. В том же году группе А. Шурса удалось количественно определить хорионический гонадотропин человека в моче с помощью фермента пероксидазы хрена (ЕС 1.11.17) [3].

После 1970-х гг. ИФА стал стремительно развиваться, появились разные варианты его классификаций и разновидностей. Выделяют гомогенные и гетерогенные методы ИФА.

Гомогенный метод относится к конкурентным, предназначен для определения низкомолекулярных соединений в однофазной системе и не требует разделения связанных с антителами и свободных антигенов. Удельная активность фермента измеряется при связывании антител с меченными антигенами. По мере увеличения концентрации антигена с ним связывается больше антител и сохраняется больше свободных конъюгатов, способных гидролизовать высокомолекулярный субстрат [4–6].

Гетерогенный вариант анализа осуществляется в двухфазной системе с участием носителя, с обязательным отделением иммунных комплексов на твердой фазе от компонентов, которые находятся в растворе в свободном состоянии. Гетерогенные методы называют твердофазными, если иммунные комплексы на первой стадии иммобилизируются на специальном сорбенте [7].

При прямом ИФА твердую фазу покрывают антигеном или антителом, а затем инкубируют конъюгированное с ферментом антитело или антиген соответственно с образованием комплекса «антigen – антитело». После инкубации и промывки добавляют субстрат, фермент пре-вращает субстрат в продукт, дающий измеримый сигнал (например, цвет). Метод быстр и требует

малых количеств реагентов, однако объективными минусами являются меньшая чувствительность, необходимость наличия ферментной метки на каждом антигене или антителе, возможность ложноположительных результатов за счет неспецифического связывания [8]. Эту проблему удалось преодолеть с помощью непрямого варианта ИФА. В данном случае антиген фиксируется на пластине. Затем добавляют первичные антитела (не меченные ферментом), специфичные к антигену. После промывки добавляют фермент-связанные вторичные антитела, которые связываются с первичными антителами. Далее добавляют субстрат и оценивают интенсивность сигнала. В случае непрямого варианта ИФА отмечают высокую чувствительность за счет усиления сигнала (множество вторичных антител могут связываться с одним первичным) и экономическую эффективность использования ферментных антител — универсальные вторичные антитела можно использовать для разных первичных. Постановка проходит в несколько этапов, более длительная, чем прямой вариант, также возможен риск неспецифического связывания вторичных антител [8–11].

В зависимости от субстрата конечный продукт можно зарегистрировать визуально (изменение цвета раствора) или с помощью спектрофотометра, либо посредством хемилюминесценции (с использованием люминометра), либо флуоресценции (с использованием флуорометра).

Иммуноферментный анализ применяется для диагностики инфекционных заболеваний (например, ВИЧ, вирусные гепатиты), определения гормонов, в контроле качества пищевых продуктов (определение аллергенов, токсинов), в других исследованиях в области иммунологии и биохимии.

При изучении ВГЕ установлено, что распространение штаммов ВГЕ эволюционирует. Генетически ВГЕ неоднороден, из 8 идентифицированных генотипов первые четыре (ВГЕ-1 — преимущественно бирманоподобные азиатские штаммы; ВГЕ-2 — мексиканский штамм; зооантропонозы — ВГЕ-3 и ВГЕ-4) чаще всего вызывают инфекции у людей [12, 13]. В развитых странах случаи инфицирования ВГЕ носят спорадический характер, при этом превалирующее

значение имеют животные резервуары инфекции. Гепатит Е чаще всего вызывается генотипом 3-го и 4-го вируса, 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, других млекопитающих, что повышает риск инфицирования людей при работе с данными животными, охоте, а также потреблении недостаточно термически обработанного мяса и субпродуктов, инфицированных ВГЕ животных. ВГЕ-3 преимущественно распространен в западных странах, тогда как ВГЕ-4 встречается в основном в азиатском регионе [14–16]. Могут встречаться случаи ко-инфицирования с другими вирусными гепатитами (В, С), при этом гепатит Е можно выявить только с помощью лабораторных тестов, что осложняется отсутствием эпидемиологической настороженности врачей на гепатит Е, так как ВГЕ часто протекает в скрытой субклинической форме.

Особую опасность представляет наличие вирусной РНК и иммуноглобулинов класса M к ВГЕ в донорской крови, что является общественной проблемой здравоохранения во всем мире. В Республике Беларусь также отсутствует тотальный скрининг донорской крови на РНК ВГЕ, антитела классов M и G [19].

Согласно Санитарным нормам, правилам и гигиеническим нормативам «Требования к проведению эпидемиологического надзора за вирусными гепатитами в Республике Беларусь», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 14.11.2011 № 112, диагноз «Вирусный гепатит Е» устанавливается на основании клинических, лабораторных и эпидемиологических данных. При этом окончательная верификация проводится на основании выявления анти-ВГЕ IgM. Определение маркеров острого инфекционного процесса, вызванного гепатитом Е (B17.2), иммуноглобулинов класса M к ВГЕ [19] также внесено в перечень исследований клинических протоколов «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с инфекционными и паразитарными заболеваниями», утвержденных приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13.12.2018 № 94.

Цель исследования

Определить специфичность и чувствительность разработанного отечественного иммуноферментного набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» для выявления иммуноглобулинов классов M к ВГЕ в сыворотке крови людей в реальных клинических условиях.

Материалы и методы

В работе использованы образцы сывороток крови пациентов УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» г. Минска. Для определения наличия антител класса M к ВГЕ применялись коммерческие наборы реагентов «ИФА-АНТИ-HEV-IgM» (НПО «Диагностические системы», Россия) и «Вектоген Е-IgM» («Вектор-Бест», Россия) в параллели с набором «ИФА-анти-ВГЕ-IgM человек» (ТУ BY 100185093.093-2023), выпущенным и предоставленным УП «ХОП ИБОХ НАН Беларусь».

При производстве данного набора использовались рекомбинантные полипептиды ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа, составляющие 2 мг/л и 1 мг/л соответственно. Рекомбинантные антигены — аналоги белка ORF2 145,1 кДа, участок с 404 по 660 а. о. [17] и ORF3 128,4 кДа — полноразмерный белковый продукт ORF3, С-концевой фрагмент [18] ВГЕ 3-го генотипа (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Россия).

Схема приготовления иммunoсорбента «ИФА-анти-ВГЕ IgM» для детекции маркеров острого ВГЕ у человека схожа с технологией изготовления сенсибилизированного планшета для определения иммуноглобулинов класса G [20] и включает следующие этапы:

1. Разведение рекомбинантных белков ORF2 и ORF3 в карбонатно-бикарбонатном буфере и их нанесение на полистирольные планшеты (производство ООО «ХЕМА», Россия) в объеме 110 мкл/лунка.

2. Инкубация в течение 16–18 ч при температуре +2...+8 °C.

3. Промывка и обработка постпокрывающим раствором в объеме 160 мкл/лунка в течение 16–18 ч при температуре +2...+8 °C.

4. Удаление раствора из всех лунок автоматической аспирацией, сушка в течение 16–18 ч при температуре +20...+25 °C [19].

Обработка полученных данных проводилась с использованием статистических пакетов Excel for Windows, 10.0 и пакета статистического анализа данных Statistica for Windows, 10.0 («StatSoft Inc.», Талса, США). Количественные переменные представляли в виде медианы (Me), средних значений верхнего и нижнего квартилей (р 25 % — р 75 %). Количественные данные проверяли на соответствие закону нормального распределения (критерий Колмогорова — Смирнова). При ненормальном распределении признака и при малом объеме выборки ($p < 30$) для обработки данных использовали методы непараметрической статистики — U-критерий Манна — Уитни для 2 независимых групп. В качестве критерия статистической достоверной значимости результатов рассматривается уровень $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для изучения неспецифического взаимодействия сорбированных на полистироловые планшеты рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа для отечественного набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» (ТУ BY 100185093.093-2023) с белками крови людей были отобраны сыворотки крови пациентов с установленным наличием антител к вирусу гепатита А (32 пробы), вирусу гепатита С (32 пробы), антигеном вириуса гепатита В (HBsAg, 33 пробы), гемолизом (35 проб) и гиперлипидемией (хилезом, 34 пробы), антителами класса M к цитомегаловирусу

(20 проб). Традиционно считается, что использование мутных хилезных сывороток и гемолизированных образцов может привести к искаложению результатов. Это связано с тем, что при гемолизе целый ряд компонентов могут высвобождаться из клеток крови, изменения ее состав и снижая достоверность результатов анализа. Также для тест-системы оценивалось влияние повышенного РФ, так как при повышенном содержании РФ в сыворотках крови содержатся аутоантитела преимущественно IgM, которые могут перекрестно давать ложноположительные результаты (таблица 1).

Таблица 1. Результаты определения оптической плотности проб сывороток крови с помощью разработанной «ИФА-анти-ВГЕ IgM» и контрольной тест-систем

Table 1. Median OD values of human blood serum while using developed «ELISA-anti-HEV IgM» and control test systems

| Признак | Количество проб | Медианное значение оптической плотности образцов сывороток крови людей (25–75 %) | |
|---|-----------------|--|---|
| | | «ИФА-анти-ВГЕ IgM» (УП «ХОП ИБОХ НАН Беларусь») | «ДС-ИФА-АНТИ-НЕВ-М» (НПО «Диагностические системы», Россия) |
| Образцы сывороток крови с антителами к вирусу гепатита С | 32 | 0,021 (0,008–0,036) | 0,005 (0,003–0,009) |
| Образцы сывороток крови с установленным наличием HBsAg | 33 | 0,012 (0,009–0,030) | 0,005 (0,004–0,007) |
| Образцы сывороток крови с антителами класса M к вирусу гепатита А | 32 | 0,022 (0,009–0,035) | 0,012 (0,007–0,037) |
| Образцы сывороток крови с гемолизом | 35 | 0,014 (0,007–0,027) | 0,005 (0,003–0,008) |
| Образцы сывороток крови с гиперлипидемией | 34 | 0,014 (0,006–0,028) | 0,005 (0,003–0,007) |
| Образцы сывороток крови с повышенным РФ | 20 | 0,031 (0,025–0,038) | 0,006 (0,004–0,009) |
| Образцы сывороток крови с установленным наличием анти-ЦМВ IgM | 28 | 0,070 (0,063–0,085) | 0,077 (0,064–0,090) |

Источник: составлено авторами.

Source: compiled by the authors.

При оценке показателей специфичности в отношении проб от пациентов с антителами к гепатиту С, гепатиту А, антигеном вириуса гепатита В, для образцов плазмы крови с гемолизом и хилезом, образцах с повышенным РФ и наличием анти-ЦМВ IgM ложноположительных и ложно-отрицательных результатов не зафиксировано, что свидетельствует о высокой специфичности рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 3-го генотипа и оптимальном соотношении всех компонентов, используемых для разработанного отечественного набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» для определения иммуноглобулинов класса M к ВГЕ.

Для определения чувствительности и специфичности набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» на базе клинико-диагностической лаборатории УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» г. Минска в параллели с референсными наборами «Вектогеп Е-IgM» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) исследовались образцы сывороток крови, не задействованных в разработке отечественной тест-системы ранее. Сводные данные по определению иммуноглобулинов класса M с применением таблицы сопряженности «2 × 2» представлены в таблице 2.

Таблица 2. Оценка чувствительности и специфичности разработанной иммуноферментной тест-системы «ИФА-анти-ВГЕ IgM»**Table 2. Evaluation of the sensitivity and specificity of the developed enzyme-linked immunosorbent assay system “ELISA-anti-HEV IgM”**

| «Вектоген Е-IgM» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) | Разработанная отечественная тест- система для качественного определения анти-ВГЕ IgM | | |
|---|--|---------------------|------------|
| | Положительные пробы | Отрицательные пробы | Всего |
| Положительные пробы | 7/a | 0/c | 7 (a + c) |
| Отрицательные пробы | 0/d | 65/b | 65 (d + b) |
| Всего | 7 (a + d) | 65 (c + b) | n = 72 |

Примечание. а — истинно положительные результаты, б — истинно отрицательные результаты, с — ложноотрицательные результаты, д — ложноположительные результаты.

Источник: составлено авторами.
Source: compiled by the authors.

Ложноположительные и ложноотрицательные результаты отсутствовали. Специфичность, представляющая отношение истинно отрицательных к числу фактически отрицательных случаев, составила не менее 99 %, чувствительность, соответствующая отношению истинно положительных к числу фактически положительных случаев, также была не менее 99 %, что характеризует диагностическую надежность и эффективность промышленного варианта набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM».

Заключение

На основании полученных данных об использовании выпущенного в промышленных условиях набора «ИФА-анти-ВГЕ IgM» согласно тех-

ническим условиям ТУ BY 100185093.093-2023 можно сделать вывод об отсутствии неспецифического перекрестного взаимодействия между сорбированными рекомбинантными полипептидами и белками проб пациентов с антителами к гепатиту С, гепатиту А, антигеном вируса гепатита В, плазмы крови с гемолизом и хилезом, образцах с повышенным РФ и наличием анти-ЦМВ IgM. При оценке показателей чувствительности и специфичности на сыворотках крови пациентов в реальных клинических условиях установлены высокие показатели чувствительности — не менее 99 % и специфичности — не менее 99 %, что свидетельствует о возможности применения набора в практической деятельности лабораторий учреждений здравоохранения.

Список литературы / References

- Yallow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest.* 1960;39(7):1157-1175. DOI: <https://doi.org/10.1172/JC104130>
- Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry.* 1971;8(9):871-874. DOI: [https://doi.org/10.1016/0019-2791\(71\)90454-X](https://doi.org/10.1016/0019-2791(71)90454-X)
- Van Weemen BK, Schuurs AHW. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *FEBS Lett.* 1971;15(3):232-236. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(71\)80319-8](https://doi.org/10.1016/0014-5793(71)80319-8)
- Ngo T, Lenhoff G. Иммуноферментный анализ. Пер. с англ. М.: Мир; 1988.
- Ngo T, Lenhoff G. Immunoenzyme analysis. Translated from English. Moscow: Mir; 1988. (In Russ.).
- Egorov A.M. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. школа; 1991.
- Egorov AM. Theory and practice of enzyme immunoassay. M.: Higher. School; 1991. (In Russ.).
- Жебентяев А.И., Каткова Е.Н. Иммуноферментный метод анализа. *Вестник фармации.* 2013;60(2):90-97. [дата обращения 2025 июнь 30]. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunofermentnyy-metod-analiza>
- Zhebentyayev AI, Katkova EN. Enzyme-linked immunosorbent assay. *Pharmacy Bulletin.* 2013;60(2):90-97. [date of access 2025 June 30]. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunofermentnyy-metod-analiza>
- Lequin RM. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clinical Chemistry.* 2005;51(12):2415-2418. DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.051532>
- Wild D. The Immunoassay Handbook: Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques. 4th Edition. Chapter on competitive assays. 2013.
- Rein DB, Stevens GA, Theaker J, et al. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012;55(4):988-997. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.25505>

13. Li B, Wu H, Miao Z, et al. Codon Usage of Hepatitis E Viruses: A Comprehensive Analysis. *Front Microbiol.* 2022;13:938651.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.938651>

14. Meng XJ. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet Microbiol.* 2010;140:256–265.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.017>

15. Pavio N, Meng XJ, Renou C. Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Vet Res.* 2010;41:46.

DOI: <https://doi.org/10.1051/vetres/2010018>

16. Vina-Rodriguez A, Schlosser J, Becher D, et al. Hepatitis E virus genotype 3 diversity: phylogenetic analysis and presence of subtype 3b in wild boar in Europe. *Viruses.* 2015;7(5):2704–2726.

DOI: <https://doi.org/10.3390/v7052704>

17. Алатортцева Г.И., Сидоров А.В., Нестеренко Л.Н., Лухверчик Л.Н., Доценко В.Б., Амиантова И.И., и др. Разработка рекомбинантного белка капсида вируса гепатита Е третьего генотипа: клонирование, экспрессия, очистка, оценка антигенных свойств. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2019;96(1):10-17.

DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-10-17>

Алатортцева Г.И., Сидоров А.В., Нестеренко Л.Н., Дотсенко В.В., Амiantova II, et al. Development of hepatitis E 3 genotype recombinant protein capsid of: cloning, expression, purification, evaluation of the antigenic properties. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2019;96(1):10-17.

DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-10-17> (in Russ.).

18. Алатортцева Г.И., Сидоров А.В., Нестеренко Л.Н., Лухверчик Л.Н., Милованова А.В., Аммур Ю.И. и др. Получение рекомбинантного белка ORF3 вируса гепатита Е 3 генотипа и оценка его антигенных свойств. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018;95(5):46-53.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-5-46-53>

Alatortseva GI, Sidorov AV, Nesterenko LN, Luhverchik LN, Milovanova AV, Ammur YI, et al. Obtaining the recombinant ORF3 protein of hepatitis E genotype 3 and evaluation of its antigenic properties. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2018;95(5):46-53.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-5-46-53> (in Russ.).

19. Задора И.С., Жаворонок С.В., Алатортцева Г.И., Щербань А.И., Притворова Л.Н., Нестеренко Л.Н., Давыдов В.В. и др. Разработка и оценка иммуноферментной тест-системы для диагностики острого вирусного гепатита Е. *Проблемы здоровья и экологии.* 2025;22(2):35-45. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-2-04>

Zadora IS, Zhavoronok SV, Alatortseva GI, Shcherban AI, Pritvorova LN, Nesterenko LN, Davyдов VV, et al. Development and evaluation of an enzyme immunoassay for diagnosis of acute viral hepatitis E. *Health and Ecology Issues.* 2025;22(2):35-45. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-2-04>

20. Задора И.С., Жаворонок С.В., Алатортцева Г.И., Щербань А.И., Давыдов В.В., Лухверчик Л.Н. и др. Разработка иммуноферментной тест-системы «ИФА-анти-ВГЕ IgG» для определения иммуноглобулинов класса G к вирусу гепатита Е в сыворотке крови людей. *Лабораторная диагностика Восточной Европы.* 2025;14(3):455-467.

DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2025.14.3.024>

Zadora IS, Zhavoronok SV, Alatortseva GI, Shcherban AI, Davyдов VV, Lukhverchik LN, et al. Developing an Immunoenzymatic Test System “ELISA-anti- HEV IgG” to Determine Class G Immunoglobulins against Hepatitis E Virus in Human Blood Serum. *Laboratory Diagnostics Eastern Europe.* 2025;14(3):455-467. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2025.14.3.024>

Информация об авторах / Information about the authors

Задора Илона Сергеевна, старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, УО «Белорусский государственный медицинский университет»; младший научный сотрудник научно-технического отдела, УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларусь», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2231-1785>

е-mail: zadora-ilona@mail.ru

Жаворонок Сергей Владимирович, д.м.н., профессор, профессор кафедры инфекционных болезней, УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9727-1103>

е-mail: zhavoronok.s@mail.ru

Щербань Александр Иванович, к.б.н., начальник научно-технического отдела, УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларусь», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1929-0901>

е-mail: a.scherban53@mail.ru

Алатортцева Галина Ивановна, к.б.н., заведующая лабораторией клонирования вирусных геномов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

е-mail: alatortseva@gmail.com

Притворова Людмила Николаевна, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клонирования вирусных геномов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2997-8892>

е-mail: mech.inst@mail.ru

Ilona S. Zadora, senior lecturer of microbiology, virology, immunology department in Belarusian State Medical University, junior scientific researcher Unitary Enterprise «Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2231-1785>

е-mail: zadora-ilona@mail.ru

Sergey V. Zhavoronok, D. Sci. (Med.), Professor, Professor department of infectious diseases, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9727-1103>

е-mail: zhavoronok.s@mail.ru

Aleksandr I. Shcherban, Candidate of Biological Sciences, Head of the Scientific and Technical Department, Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1929-0901>

е-mail: a.scherban53@mail.ru

Galina I. Alatortseva, Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory for cloning viral genomes, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

е-mail: alatortseva@gmail.com

Lyudmila N. Pritvorova, Cand. Sci. (Med.), leading researcher of the laboratory of cloning of viral genomes, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2997-8892>

е-mail: mech.inst@mail.ru

Нестеренко Любовь Николаевна, к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клонирования вирусных геномов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3825-3906>

e-mail: mech.inst@mail.ru

Анисько Людмила Александровна, к.м.н., доцент, доцент кафедры инфекционных болезней, УО «Белорусский государственный медицинский университет»; врач высшей категории, заведующий лабораторией, УЗ «Городская клиническая инфекционная больница», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5466-2590>

e-mail: luidok@mail.ru

Рогачева Тамара Альбертовна, к.м.н., доцент, врач лабораторной диагностики высшей квалификации клинико-диагностической лаборатории, УЗ «Городская клиническая инфекционная больница», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3729-5730>

e-mail: kdlinfec@mail.ru

Баюр Надежда Геннадьевна, внешний совместитель кафедры инфекционных болезней, УО «Белорусский государственный медицинский университет»; биолог клинико-диагностической лаборатории, УЗ «Городская клиническая инфекционная больница», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1752-5440>

e-mail: dan12.10@mail.ru

Шука Наталья Владимировна, начальник производственного отдела, УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларусь», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1179-3958>

e-mail: hopiboh.bel@gmail.com

Симирский Владимир Викторович, к.х.н., директор УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларусь», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8653-5437>

e-mail: hopiboh.bel@gmail.com

Михайлов Михаил Иванович, д.м.н., профессор, член-корр. Российской академии наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией вирусных гепатитов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6636-6801>

Зверев Виталий Васильевич, д.б.н., профессор, академик Российской академии наук, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0017-1892>

Lyubov N. Nesterenko, Cand. Sci. (Chem.), Leading Researcher of the Laboratory of Cloning of Viral Genomes of the I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums, Moscow, Russia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3825-3906>

e-mail: mech.inst@mail.ru

Lyudmila A. Anisko, Candidate of Medical Sciences, Associate professor, Associate professor at the Departments of Infectious Diseases, Belarusian State Medical University; Board Certified Physician, Head of the Laboratory, City Clinical Hospital of Infectious Diseases, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5466-2590>

e-mail: luidok@mail.ru

Tamara A. Rogacheva, Cand. Sci. (Med.), associate professor, highly qualified laboratory diagnostics doctor, City Clinical Infectious Diseases Hospital, Minsk, Republic of Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3729-5730>

e-mail: kdlinfec@mail.ru

Nadzeya G. Bayur, External Part-timer of the Department of Infectious Diseases, Belarusian State Medical University; Biologists at the Clinical Diagnostic Laboratory, City Clinical Hospital of Infectious Diseases, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1752-5440>

e-mail: dan12.10@mail.ru

Natalia V. Shchuka, researcher in Unitary Enterprise «Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1179-3958>

e-mail: hopiboh.bel@gmail.com

Vladimir V. Simirsky, Cand. Sci. (Chem.), Director Unitary Enterprise «Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8653-5437>

e-mail: hopiboh.bel@gmail.com

Mikhail I. Mikhailov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis of the Federal State Budgetary Scientific Institution «I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera»; Chief Researcher Federal Budgetary Scientific Institution «Central Research Institute of Epidemiology» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6636-6801>

Vitaly V. Zverev, Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov» of the Ministry of Health of the Russian Federation; Scientific Director of the Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Vaccines and Serum Syndrome named after I.I. Mechnikov, Moscow, Russia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0017-1892>

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Задора Илона Сергеевна

e-mail: zadora-ilona@mail.ru

Ilona S. Zadora

e-mail: zadora-ilona@mail.ru

Поступила в редакцию / Received 03.11.2025

Поступила после рецензирования / Accepted 06.11.2025

Принята к публикации / Revised 11.11.2025