



Prevalencia de anticuerpos anti-hepatitis E de tipo IgG evaluados a través de tres ensayos comerciales

Prevalence of anti-Hepatitis E IgG analyzed in sera through three commercial kits

Leonardo Padilla-Sanabria^{1*} orcid.org/0000-0001-5811-2791

1. Universidad del Quindío, Facultad de Ciencias de salud, Programa de Medicina, Centro de Investigaciones Biomédicas, Grupo GYMOL. Quindío, Colombia

Fecha de recepción: Diciembre 13 - 2019

Fecha de revisión: Mayo 27 - 2020

Fecha de aceptación: Diciembre 29 - 2020

Padilla-Sanabria L. Prevalencia de anticuerpos anti-hepatitis E de tipo IgG evaluados a través de tres ensayos comerciales. *Univ. Salud.* 2021;23(1):76-82. DOI: <https://doi.org/10.22267/rus.212301.217>

Resumen

Introducción: El virus de la Hepatitis E (HVE) es de ácido ribonucleico desnudo, los genotipos 3 y 4 pueden presentarse como una zoonosis transmitida por agua o alimentos contaminados. En la zona del eje cafetero-Colombia, no se ha descrito la presencia de anticuerpos para este virus en la comunidad. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de anticuerpos anti-HVE de tipo Inmunoglobulinas G (IgG) en muestras de suero de un laboratorio clínico del Eje Cafetero. **Materiales y métodos:** En un periodo de dos meses se analizaron 90 sueros de pacientes atendidos en un laboratorio clínico de la ciudad de Armenia, se utilizaron tres técnicas diferentes para la caracterización de los anticuerpos y se compararon sus resultados. **Resultados:** De los 90 sueros evaluados, la técnica de ELISA de anticuerpos totales ELISA IgG anti HVE *Recom Well* marca Mikrogen identificó 2 sueros positivos (2,2%), la Prueba ELISA IgG HVE versión ULTRA® marca Diapro evidenció una muestra equívoca (1,1%). La prueba *western blot* *Recom line* HVE marca Mikrogen detectó 4 muestras positivas (4,4%). **Conclusiones:** Se encontró una prevalencia de anticuerpos HVE IgG que oscila entre 0 y 4,4% dependiendo de la prueba comercial utilizada, evidenciando circulación del virus y un posible ciclo infeccioso en la región.

Palabras clave: Inmunoglobulina G; ELISA; virus de la hepatitis E; *western blot*. (Fuente: DeCS, Bireme).

Abstract

Introduction: Hepatitis E virus (HEV) is a nonenveloped, RNA virus. HEV genotypes 3 and 4 are considered zoonosis transmitted by contaminated water and/or food. The presence of antibodies against this virus have not been described in communities inhabiting the "Coffee Axis" region of Colombia. **Objective:** To determine the prevalence of anti-Hepatitis E IgG in serum samples analyzed in a clinical laboratory from the Colombian Coffee Axis. **Materials and methods:** 90 serum samples from patients treated at a clinical laboratory in the city of Armenia (Quindio) were analyzed and compared through three different methods that characterize antibodies. **Results:** The Mikrogen recomWell ELISA kit (IgG anti-HEV) identified two positive sera (2.2%). The Diapro HEV IgG ELISA (version ULTRA®) test registered a false positive sample (1.1%). The Mikrogen recom Line HVE western blot assay detected 4 positive samples (4.4%). **Conclusions:** Depending on the commercial kit used, the prevalence of anti-HEV IgG antibodies fluctuated between 0% to 4.4%, which demonstrates that the virus is circulating and that a possible infectious cycle in this region exists.

Keywords: Immunoglobulin G; ELISA; hepatitis E virus; western blot. (Source: DeCS, Bireme).

***Autor de correspondencia**

Leonardo Padilla-Sanabria
e-mail: lpadilla@uniquindio.edu.co

Introducción

El virus de la hepatitis E (HVE), es un virus de ARN (Ácido Ribonucleico) desnudo que pertenece a la Familia *Hepeviridae*, género *Orthohepevirus* con cuatro especies (A-D) y *Piscihepevirus* con una especie. El género *Orthohepevirus* A incluye a todas las variantes que infecta mamíferos; dividido en 8 genotipos, de los cuales por lo menos 4 de estos, son de interés para la salud pública humana^(1,2). Los genotipos 1 y 2 (HVE1 y HVE2) infectan únicamente humanos y son responsables de casos esporádicos transmitidos por el agua. Los genotipos 3 y 4 (HVE3 y HVE4) son capaces de generar infección en animales y humanos, siendo el cerdo es el principal reservorio y trasmisor zoonótico de la infección^(1,2).

El HVE es transmitido principalmente por vía fecal oral, consumo de agua contaminada con heces humanas o de cerdo, carne de cerdo mal cocida y transfusiones de sangre o sus derivados^(1,2). Se han reportado dos patrones epidemiológicos en el mundo: hiper-endémicos e hipo-endémicos, los cuales difieren en los patrones de infección, la prevalencia del virus y genotipos infectantes; por ejemplo, el genotipo 1 se presenta en el sudeste de Asia, Asia central y norte del África, por su parte, el genotipo 2 se ha reportado en México y África occidental, el genotipo 3 se ha identificado en América, Europa y Japón y el genotipo 4 en China y sudeste asiático⁽³⁾. En Colombia se han reportado la presencia de genotipo 3 y anticuerpos en donantes de sangre, en trabajadores de granjas porcinas y en personas con diagnóstico de hepatitis con prevalencias que oscilan entre 7,5 a 45,3% dependiendo del estudio⁽⁴⁻⁷⁾.

Las muestras de suero en fase de viremia son utilizadas para el diagnóstico molecular, para ello se amplifica la región *ORF3/ORF2* del marco abierto lectura *ORF* (*Open Reading Frame*) del genoma, la detección de anticuerpos IgM en suero, se utiliza para identificar una infección aguda y la detección de anticuerpos IgG evidencia un contacto previo con el virus o una infección aguda si se encuentran en conjunto con la IgM. El periodo de incubación va entre 2 a 8 semanas, el ARN viral puede ser detectado en sangre hasta 3 semanas después de inicio de síntomas y perdura 3 semanas más en heces. La IgM se detecta en sangre a partir del primer mes de la infección coincidiendo con el inicio de síntomas y perdura aproximadamente durante 32 meses⁽⁸⁻¹¹⁾.

El departamento del Quindío, es una región principalmente agrícola donde se cuenta con un alto número de granjas porcinas con y sin certificación, por lo tanto está presente la posibilidad de la contaminación del agua o alimentos, generando un posible ciclo de infección por este virus^(12,13). Previamente se ha reportado la presencia de anticuerpos IgG e IgM en donantes de sangre y en sueros de pacientes con Hepatitis^(4,5), pero no se ha encontrado en la bibliografía consultada reportes de estudios que identifiquen anticuerpos en personas de la comunidad en el eje cafetero, por lo tanto este trabajo tuvo como objetivo determinar la prevalencia de anticuerpos anti-HVE de tipo Inmunoglobulinas G (IgG) en muestras de suero de un laboratorio clínico del Eje Cafetero.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Se realizó un Estudio descriptivo retrospectivo de corte transversal en sueros que reposaban en la seroteca del Laboratorio Clínico del Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM) de la Universidad del Quindío, de personas que acudieron al servicio de laboratorio y que previamente habían firmado consentimiento para el uso de estos sueros en investigación. Como periodo de evaluación se consideró los meses de agosto y septiembre de 2018.

Criterios de inclusión y exclusión

Se utilizaron todos los sueros obtenidos en los meses de estudio en el laboratorio clínico del CIBM de la ciudad de Armenia. Con el fin de eliminar posibles sesgos por infecciones agudas en el hígado, incluido Hepatitis víricas, se excluyeron del estudio los sueros a los que se había realizado pruebas de función hepática, teniendo en cuenta que se estaba analizando prevalencia de anticuerpos IgG.

Muestreo

La muestra fue tomada a conveniencia, teniendo en cuenta que se realizó un estudio con tres pruebas comerciales diferentes. Teniendo en cuenta que esta investigación se realizó con muestras previamente tomadas, los únicos datos con los que se contaban de los pacientes eran: dirección de residencia, edad y el sexo. No fue posible obtener otros datos relevantes para el estudio.

Evaluación de la presencia de HVE IgG

Se utilizaron tres técnicas para la identificación de los anticuerpos: ELISA *IgG anti HVE Recom Well*

marca Mikrogen, ELISA para anticuerpos totales HVE Ab versión ULTRA® marca Diapro y prueba de *western blot*, *Recom-line* HVE marca Mikrogen. Todas las pruebas se realizaron siguiendo las recomendaciones del fabricante. Adicionalmente a las pruebas positivas para anticuerpos IgG se realizó la identificación de IgM por la técnica *Recom-line HVE* marca Mikrogen.

Análisis estadístico

Se realizó una estadística descriptiva, para identificar los porcentajes de positividad de las diferentes pruebas comerciales, al igual que en la comparación de los resultados obtenidos en las tres pruebas utilizadas en este estudio. No se realizó Análisis estadísticos teniendo en cuenta que el objetivo del proyecto fue evidenciar la prevalencia de anticuerpos IgG en población general que acudía a un laboratorio clínico de la ciudad de Armenia.

Consideraciones éticas

Esta investigación considera Sin Riesgo según la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de salud de

Colombia. Adicionalmente, se contó con el aval de la seroteca del Laboratorio Clínico CIBM de la Universidad del Quindío para trabajar con las muestras de pacientes que habían firmado previamente consentimiento informado para usar el material con fines de investigación.

Resultados

Se identificaron 2 sueros positivos para anticuerpos totales anti HVE mediante la técnica de ELISA de anticuerpos totales marca Diapro (2,2%), la Prueba ELISA IgG HVE *Recom well* marca Mikrogen no identificó ninguna muestra positiva, pero evidenció una muestra equivocada (1,1%), finalmente se detectó 4 muestras positivas con la prueba *Recom-line* IgG HVE (4,4%) (Figura 1).

Del porcentaje total de pruebas positivas la prueba *Recom-line* IgG HVE representó el 67% de positividad, y la prueba HVE Ab el 33% de positividad (Figura 2).

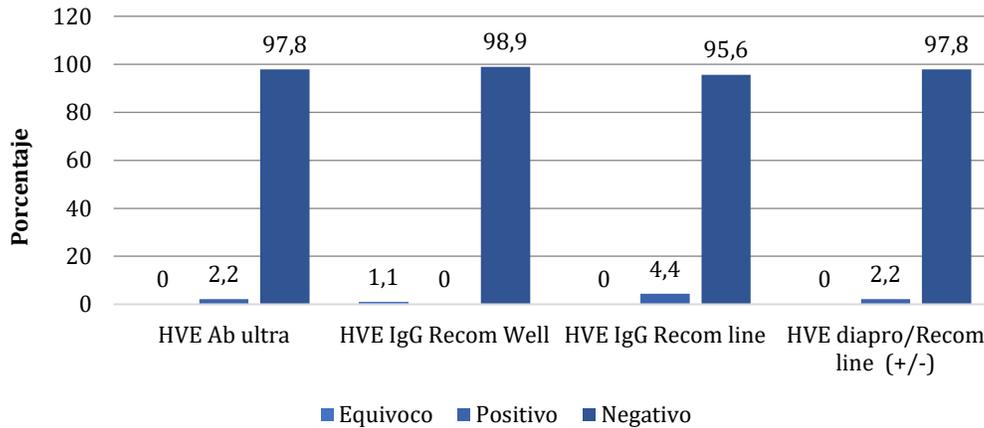


Figura 1. Porcentaje de resultados obtenidos por diferentes técnicas de diagnostica para IgG HVE.

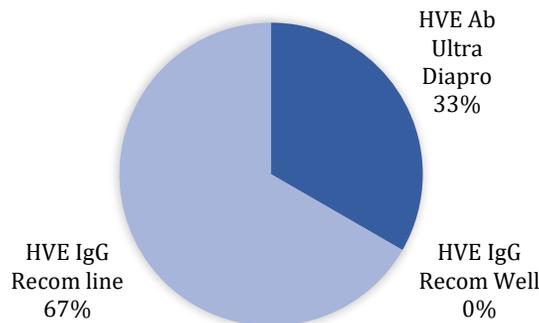


Figura 2. Porcentaje de positividad de anticuerpos IgG HVE obtenido por diferentes marcas comerciales.

Se presentó una proporción igual en ambos sexos de resultados positivos para IgG HVE. No se presentó ninguna muestra positiva en pacientes menores de 20 años (datos no mostrados), hubo dos muestras positivas para el grupo etario entre 21 y 30 años que correspondientes a un hombre y una mujer; se presentó una muestra positiva en el género femenino en el grupo etario de 31 y 40 años, y en

mayores de 50 años se presentó una muestra positiva en un hombre. (Tabla 1). La prueba que detectó mayor número de personas positivas para IgG HVE fue *Recom line* Mikrogen (4 pacientes), seguida por la prueba HVE Ab ultra Diaporo con 2 muestras positivas, por último, la prueba *Recom well* marca Mikrogen no presentó resultados positivos.

Tabla 1. Descripción de muestras para la identificación de anticuerpos IgG/IgM HVE

Edad (años)	Genero	HEV Ab Ultra	IgG <i>Recom well</i> Mikrogen	IgG <i>Recom Line</i> Mikrogen	IgM <i>Recom Line</i> Mikrogen
21-30	Femenino	Positivo	Equivoco	Positivo	Negativo
31-40	Femenino	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
41-50	Masculino	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
> 51	Masculino	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Sensibilidad reportada por la prueba	N/A	100%	98,9 %	96,6%	93,3%
Especificidad reportada por la prueba	N/A	> 99,5%	98,6 %	97,1%	96,9%

Discusión

El departamento del Quindío, es un departamento principalmente agrícola. En la página del Instituto colombiano agropecuario en el censo porcino de 2018, se encuentran reportadas 302 granjas porcinas tecnificadas y 1430 sin tecnificar, con un total de cerdos de 70158 animales, los municipios con mayor concentración de cerdos son Circacia, Filandia, Calarcá, Quimbaya y Armenia^(12,13).

Teniendo en cuenta la alta cantidad de porcinos que existe en el departamento del Quindío y que por escorrentía de las aguas lluvias parte de estos desechos pueden terminar en los afluentes⁽¹⁴⁾. Es probable que personas hayan estado en contacto con el virus, por lo tanto, de los 90 sueros analizados y de acuerdo con la técnica utilizada, se encontraron 4 muestras positivas; pero no fue posible determinar a través de los datos que poseía el laboratorio, hace cuánto tiempo las personas residían en el Quindío, si habían estado en contacto previo con cerdos o si habían presentado hepatitis.

Se encontró una prevalencia para anticuerpos IgG que oscilan entre 0 a 4,4% de acuerdo con la técnica utilizada, este porcentaje es relativamente bajo comparado con los trabajos realizados por Peláez *et al.* en 2014, quienes reportaron un porcentaje HVE IgG del 7,5% y para IgM del 1,74% en sueros

remitidos al Instituto Nacional de Salud (INS) de diferentes departamentos de Colombia⁽⁶⁾. De igual manera, esta misma autora, reporta en el 2016 un porcentaje para HVE IgG de 25,3% y 33,6% de coinfección HVA/HVE⁽⁵⁾, por su parte Duque *et al.*, en el año 2016, reportaron una positividad para anticuerpos IgG de HVE del 45,2% en sueros de donantes de sangre de Yarumal Antioquia⁽⁴⁾ y Betancur *et al.*⁽⁷⁾, en el 2013 evaluaron la presencia de IgG HVE en 98 personas que laboraban en granjas porcinas en el departamento de Antioquia, encontrando un 11,5% de anticuerpo HVE IgG en esta población.

Este menor porcentaje de positividad para los anticuerpos HVE IgG, puede estar relacionado con el hecho de que en los trabajos de Peláez se utilizaron sueros que fueron remitidos al INS asociados a vigilancia epidemiológica de pacientes en el país y en uno de los trabajos se analizaron sueros con ictericia lo cual selecciona un tipo específico de muestra. Respecto al trabajo de Betancur *et al.*⁽⁷⁾ el mayor porcentaje encontrado puede explicarse porque la población objeto de estudio está directamente en contacto con el principal reservorio de Hepatitis E que es el cerdo, por lo tanto, la posibilidad de infección es mayor y consecuentemente la presencia de anticuerpos. Duque *et al.*⁽⁴⁾, afirman que el 45,2% de HVE IgG encontrado en los donantes de banco de

sangre, estaría explicado probablemente por un contacto con cerdos infectados o exposición a agua contaminada, esta hipótesis puede ser válida teniendo en cuenta que Yamural es doceavo municipio con mayor número de porcinos en el departamento de Antioquia de sus 125 municipios⁽¹³⁾.

Otro aspecto importante a resaltar en este trabajo, es el hecho de la variabilidad de los resultados de acuerdo con las pruebas utilizadas, para el caso particular de este estudio se observó un resultado equivoco en una de las pruebas de ELISA, 2 pruebas positivas para anticuerpos totales por ELISA, que coincidieron con el resultado positivo por *western blot*; y dos muestras más, positivas, por esta técnica que fueron negativas por ELISA. (Tabla 1 y Figura 2), esta variabilidad puede explicarse por el tipo de antígeno utilizado y el tipo de prueba a realizar, en las dos pruebas de ELISA (HVE Ab ultra Diapro; *Recom Well* Mikrogen), se utilizan antígeno recombinante purificado de virus de HVE, en la prueba HVE Ab ultra Diapro no se puede determinar el tipo de proteína utilizada ni los genotipos que identifica, la única información que se encuentra en el inserto del kit, se relaciona con proteínas recombinantes derivadas de virus aislados en

México y de Birmania⁽¹⁵⁾. Respecto a la prueba ELISA *Recom well* Mikrogen, se especifica que se utilizan proteínas recombinantes purificadas de la región ORF2/3 de los genotipos 1 y 3, llama la atención que antígenos similares se encuentran en la prueba *Recom line* de esta misma casa comercial, la cual dio 4 muestras positivas para HVE IgG, asociadas a anticuerpos que reconocen los antígenos recombinantes de la región terminal del ORF2 de los genotipos 1 y 3⁽¹⁶⁾ (Figura 3), mientras que el ELISA presentó un único resultado equivoco. Un trabajo realizado por Wenzel *et al.*⁽¹⁷⁾ en el 2013, reportaron una gran variabilidad en los resultados obtenidos en las pruebas que identifican anticuerpos HVE IgG, la capacidad de la prueba de identificar verdaderos positivos, oscila de acuerdo con la prueba, entre el 83 al 100%; pero la capacidad de identificar los verdaderos negativos es más baja, ya que reportan porcentajes de falsos positivos en las pruebas del 4,5 hasta el 29%. Wu *et al.*, en el 2014⁽¹⁸⁾, reportaron un rango de sensibilidad entre 66,7-93,3% y especificidad de 62,9-95,6%, de acuerdo con la prueba evaluada; señalan que el uso combinado de las pruebas puede aumentar los valores de sensibilidad y especificidad para la identificación de anticuerpos.

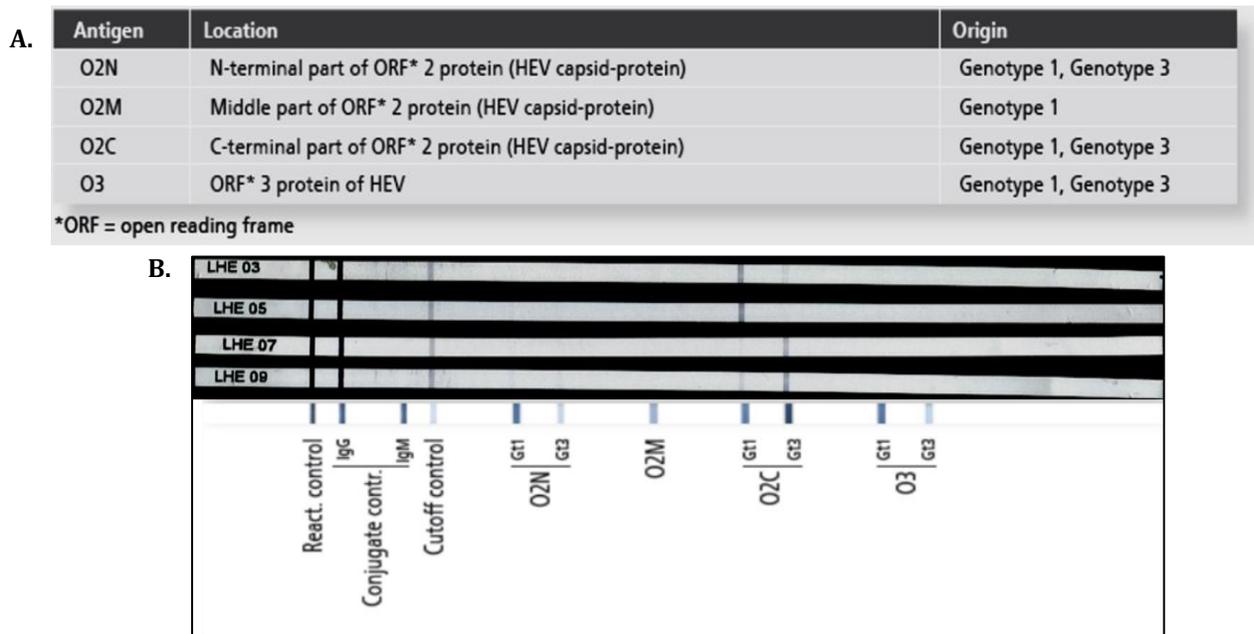


Figura 3. A. Tipo de antígeno y genotipo que identifica la prueba *Recom line* marca Mikrogen. **B.** Resultados Positivos para HVE IgG obtenidos por la prueba *Recom line* Marca Mikrogen.

Al-absi *et al.*, en el 2018⁽¹⁹⁾ reportan una seroprevalencia para anticuerpos HVE IgG que oscila entre 10,1 y 18% de acuerdo con la prueba utilizada, además encuentran una sensibilidad y especificidad para IgG entre 96,5 y 100% en todas las pruebas analizadas, excepto Euroimmun ELISA que presentó sensibilidad de 61,5%. En la revisión sobre diagnóstico de HVE de Al-Sadeq *et al.*⁽²⁰⁾ en 2018, reportan que la sensibilidad para pruebas diagnósticas que identifican anticuerpos IgM oscila entre el 24 al 97% y la especificidad entre 84 al 100%; la sensibilidad para IgG fue entre 42% y 99,5% y especificidad entre 62,9% y 99,6%. Es importante resaltar que la variabilidad de los resultados obtenidos de acuerdo con los kits comerciales, afectan los resultados de estudios epidemiológicos y probablemente afectan el diagnóstico de los pacientes; por lo tanto, es necesario seguir realizando este tipo de trabajos con el fin de evidenciar estas diferencias en las pruebas y poder tomar decisiones en la elección del estuche comercial a utilizar.

Conclusiones

Se identificó una prevalencia de anticuerpos en sueros de pacientes que viven en un área de eje cafetero que oscila entre 0 y 4,4% de acuerdo con la prueba comercial utilizada, lo que demuestra una circulación del virus y un posible ciclo infecciosos en la región.

Existe una variabilidad en los resultados de los estuches comerciales para identificar anticuerpos IgG. La prueba *Recom Line* Mikrogen IgG fue la que presentó mayor positividad para este tipo de anticuerpos.

Limitaciones del estudio

Este trabajo tuvo como principal limitación el hecho de no poder determinar la procedencia exacta de las personas, si había un contacto previo con cerdos o si habían presentado casos de hepatitis, esta limitación sucede debido a que se tomaron muestras que ya reposaban en una seroteca del laboratorio clínico y no era posible contactar las personas para realizar encuestas sobre estos datos.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biomédicas de la universidad del Quindío.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado por el autor.

Referencias

- Melgaço JG, Gardinali NR, de Mello VDM, Leal M, Lewis-Ximenez LL, Pinto MA. Hepatitis E: Update on Prevention and Control. *Biomed Res Int.* 2018;2018:5769201. doi: 10.1155/2018/5769201
- Lhomme S, Legrand-Abrevanel F, Kamar N, Izopet J. Screening, diagnosis and risks associated with Hepatitis E virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2019;17(6):403-418. doi: 10.1080/14787210.2019.1613889
- Amit Goel and Rakesh Aggarwal. Advances in hepatitis E – II: Epidemiology, clinical manifestations, treatment and prevention. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology.* 2016;10(9):1065-1074, doi: 10.1080/17474124.2016.1185365
- Duque A, Restrepo L, Mantilla-Rojas C, Toro M, Olarte JC, Mantilla-Rojas A, Cortés-Mancera F, Navas MC. Frecuencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis E en donantes de sangre del municipio de Yarumal, Antioquia. *Revista Colombiana De Gastroenterología.* 2017;31(3):229-234. <https://doi.org/10.22516/25007440.95>
- Peláez Dioselina, Martínez-Vargas Daniel, Escalante-Mora Martha, Palacios-Vivero Mariel, Contreras-Gómez Lady. Infección simultánea por el virus de la hepatitis E y de otras hepatitis virales en Colombia y su caracterización genotípica. *Biomédica [Internet].* 2016; 36(Suppl 2): 69-78. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572016000600008&lng=en.
- Peláez D, Hoyos MC, Rendón JC, Mantilla C, Ospina MC, Cortés-Mancera F, *et al.* Infección por el virus de la hepatitis E en pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis viral en Colombia. *Biomédica.* 2014;34(3):354-365 <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i3.2236>
- Betancur C, Mejía M, Portillo S. Seroprevalencia de hepatitis E en trabajadores de fincas porcícolas del Valle de Aburrá 2011-2012. *Acta Médica Colombiana.* 2013;38:68-70 Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482013000200006&lng=en
- Webb GW, Dalton HR. Hepatitis E: an underestimated emerging threat. *Ther Adv Infect Dis.* 2019;6:1-18. <https://doi.org/10.1177/2049936119837162>
- Gupta E, Agarwala P. Hepatitis E virus infection: An old virus with a new story!. *Indian J Med Microbiol.* 2018;36(3):317-323. doi:10.4103/ijmm.IJMM_18_149
- Aggarwal R. Diagnosis of hepatitis E. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013;10(1):24-33. doi:10.1038/nrgastro.2012.187
- Blasco-Perrin H, Abrevanel F, Blasco-Baque V, Péron JM. Hepatitis E, the neglected one. *Liver Int.* 2016;36(Suppl 1):130-4. doi: 10.1111/liv.13014
- Instituto Colombiano agropecuario (sede web). <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>. Consultado 11 de octubre de 2019
- Toda Colombia. Municipios de Antioquia división política. <https://www.todacolombia.com/departamentos-de-colombia/antioquia/municipios-division-politica.html>. Consultado 10 de octubre de 2019.

14. Méndez Novelo R, Castillo Borges E, Vázquez Borges E, Briceño Pérez O, Coronado Peraza V, Pat Canul R, Garrido Vivas P. Estimación del potencial contaminante de las granjas porcinas y avícolas del estado de Yucatán. *Ingeniería*. 2009;13(2):13-21. ISSN: 1665-529X. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46713053002>. Consultado 19 de agosto de 2020
15. HEV Ab. Version ULTRA, Enzyme Immunoassay for the determination of total antibodies to Hepatitis E Virus in serum and plasma. Brochure. Consultado 10 de enero de 2020
16. Mikrogen Diagnostic. Página de internet <https://www.mikrogen.de/english/deutschland/products/product-overview/testsystem/hev-iggigm.html>. Consultado 10 de enero de 2020
17. Wenzel JJ, Preiss J, Schemmerer M, Huber B, Jilg W. Test performance characteristics of Anti-HEV IgG assays strongly influence hepatitis E seroprevalence estimates. *J Infect Dis*. 2013;207(3):497-500. doi: 10.1093/infdis/jis688.
18. Wu WC, Su CW, Yang JY, Lin SF, Chen JY, Wu JC. Application of serologic assays for diagnosing acute hepatitis E in national surveillance of a nonendemic area. *J Med Virol*. 2014;86(4):720-8. doi: 10.1002/jmv.23785.
19. Al-Absi ES, Al-Sadeq DW, Younis MH, Yassine HM, Abdalla OM, Mesleh AG, *et al*. Performance evaluation of five commercial assays in assessing seroprevalence of HEV antibodies among blood donors. *J Med Microbiol*. 2018;67(9):1302-1309. doi: 10.1099/jmm.0.000807. Epub 2018 Jul 27.
20. Al-Sadeq DW, Majdalawieh AF, Mesleh AG, Abdalla OM, Nasrallah GK. Laboratory challenges in the diagnosis of hepatitis E virus. *J Med Microbiol*. 2018;67(4):466-480. doi: 10.1099/jmm.0.000706