

23. *Simmonds P., Bukh J., Combet C. et al.* Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005; 42: 962—973.
24. *Smith D. B., Simmonds P.* Review: molecular epidemiology of hepatitis C virus. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 1997; 12: 522—527.

25. *Tanaka Y., Kurbanov F., Mano S. et al.* Molecular tracing of the global hepatitis C virus epidemic predicts regional patterns of hepatocellular carcinoma mortality. *Gastroenterology*. 2006; 130: 703—714.

Поступила 25.04.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013
УДК 615.373:578.833.291.012.6

*Т. К. Дзагурова¹, О. Н. Солопова², П. Г. Свешников², Н. А. Коротина¹, М. В. Баловнева¹,
О. А. Леонович¹, Н. Е. Варламов², Г. А. Малкин¹, С. Е. Соцкова¹, Е. А. Ткаченко¹*

Разработка иммуноферментной тест-системы на основе моноклональных антител для определения специфической активности вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом

¹ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН, Москва;
²Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва

В результате проведенных исследований получена и охарактеризована панель моноклональных антител к вирусам Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул – возбудителям геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). На основе антител к гликопротеиновым белкам (G_N:G_C) вируса Пуумала создан вариант иммуноферментной тест-системы Ханта-ПУУ, позволяющей выявлять поверхностный антиген вируса Пуумала. Другой вариант иммуноферментной тест-системы Ханта-Н, созданный на основе моноклональных антител к нуклеокапсидному белку (N) вирусов Пуумала и Добрава, давал возможность выявлять антигены всех четырех хантавирусов (без дифференциации по видам). Обе разработанные нами иммуноферментные тест-системы Ханта-ПУУ и Ханта-Н с одинаковой чувствительностью выявляли антигены как живого, так и инактивированного формалином вируса, что важно с точки зрения их применения для оценки специфической активности инактивированных вакцинных препаратов на технологических этапах их производства.

Ключевые слова: хантавирус, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, моноклональные антитела

Development of ELISA on the Basis of Monoclonal Antibodies for Detecting Specific Activity of the Vaccine against Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome

*T. K. Dzagurova¹, O. N. Solopova², P. G. Sveshnikov², N. A. Korotina¹, M. V. Balovneva¹, O. A. Leonovich¹,
N. E. Varlamov², G. A. Malkin¹, S. E. Sotskova¹, E. A. Tkachenko¹*

¹ Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia;
² All-Russian Scientific Center for Molecular Diagnosis and Treatment, Moscow, Russia

The monoclonal antibodies to Puumala, Dobrava, Hantaan, and Seoul hantaviruses were obtained using mice. The viruses were known to cause HFRS, and two variants of ELISA were designed. First, Hanta-PUU variant, was constructed using monoclonal antibodies to Puumala virus envelope glycoprotein (G_N:G_C) for detecting only Puumala virus antigen. The second, Hanta-N variant, was constructed using monoclonal antibodies to Dobrava and Puumala nucleocapsid proteins for detecting four above mentioned hantaviruses. Both Hanta-PUU and Hanta-N assays were reliable in detecting specific hantavirus antigens and the immunogenicity of hantavirus vaccines.

Key words: hantavirus, HFRS, monoclonal antibodies

Отсутствие тенденции к снижению заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС), расширение ареала инфекции, участвовавшие вспышки ГЛПС, ассоциированные с новыми, ранее не известными в России хантавирусами, свидетельствуют о возрастающей значимости проблемы ГЛПС для здравоохранения России [1].

Из всего комплекса мер неспецифической профилактики ГЛПС наиболее распространенной остается дератизация. Дератизационные мероприятия обходятся довольно дорого и, кроме того, практически малоэффективны, так как их применение обеспечивает лишь кратковременное снижение численности грызунов — носителей хантавирусов, являющихся возбу-

дителями ГЛПС на обработанных территориях, и не решает проблему ликвидации природного резервуара хантавируса [2].

Наиболее эффективным методом борьбы с ГЛПС является вакцинопрофилактика, что было продемонстрировано в Китае и Южной Корее [7, 15]. Однако вакцины против ГЛПС, производимые в этих странах на основе вирусов Хантаан и Сеул, не обладают защитными свойствами против вирусов Пуумала и Добрава — возбудителей ГЛПС у жителей европейской части России, на которых приходится около 98% всей заболеваемости, регистрируемой в России [2].

В России только в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН ве-

Контактная информация:

Дзагурова Тамара Казбековна, канд. мед. наук, зав. лаб.; e-mail: evgeniytkach@mtu-net.ru

дуются исследования, посвященные разработке отечественных вакцинных препаратов против ГЛПС. Еще в середине 90-х годов прошлого века совместно с южно-корейскими исследователями была разработана технология изготовления вакцины против вируса Пуумала на основе субстрата мозговой ткани сирийских хомячков [16]. Однако мозговые вакцины не могут в полной мере удовлетворять современным национальным и международным требованиям, предъявляемым к медицинским иммунобиологическим препаратам, вводимым людям.

Трудности с разработкой культуральной вакцины против вируса Пуумала довольно долго оставались нерешенными в основном из-за ограниченного выбора чувствительных к размножению этого вируса клеточных культур, длительного цикла репродукции вируса в клетках, низкого содержания вируса в культуральной среде.

Проведенная нами адаптация вирусов Пуумала и Добрава к условиям их культивирования в перевиваемых культурах клеток VERO-E6 и VERO [3], позволила создать стабильную и хорошо воспроизводимую систему их размножения в количествах, достаточных для изготовления вакцинных препаратов. Однако, поскольку вакцина готовится на основе предварительно инактивированной вирусосодержащей культуральной жидкости, методы определения содержания в ней живого вируса не могли быть использованы.

В связи с этим была поставлена задача разработать метод определения в культуральной жидкости (КЖ) хантавирусного антигена, ответственного за индукцию иммунного ответа. В качестве основы такого метода было решено использовать мышинные моноклональные антитела, которые, как известно, активно применяются как для иммунологической дифференциации хантавирусных штаммов, так и в качестве основы диагностических тест-систем [5, 8, 10, 14, 17].

Материалы и методы

Вирусы. В работе использовали следующие хантавирусы: Пуумала (ПУУ) штамм К-27/Уфа-85; Добрава (ДОБ) штамм Аа1854/Липецк-06; Хантаан (ХТН) штамм Р-88/Хабаровск—89; Сеул (СЕУ) штамм SR-11. Вирусы культивировали в клетках перевиваемой линии VERO-E6 (ATCC c11008, CRL 1586), выращиваемых в роллерных флаконах. В качестве ростовой использовали среду Игла 2MEM с 5% сыворотки новорожденного теленка и 200 мкг/мл канамицина; в качестве среды поддержки после заражения вирусом — среду Игла 2MEM с канамицином. Сбор вирусосодержащей КЖ осуществляли ежедневно с 6-х по 10-е сутки с последующим добавлением поддерживающей рост клеток среды. Содержание (титр) вируса определяли методом индикации фокусобразующих единиц (ФОЕ), описанным ранее [9]. Титр вируса выражали в Ig числа ФОЕ в 1 мл внесенного для заражения клеток образца.

Очищенный вирус получали методом хроматографии. Предварительно вирусосодержащую КЖ с титром вируса $\geq 5,5$ Ig ФОЕ/мл концентрировали в 80—100 раз методом ультрафильтрации в тангенциальном потоке с пределом отсечения 100 кД и площадью фильтрации от 0,1 до 0,5 м². Далее первичный концентрат подвергали гель-фильтрации на Sepharose 6 FF ("GE Healthcare"), используя хроматограф

АКТА purifier ("GE Healthcare"). Пиковую по вирусу фракцию с содержанием общего белка от 40 до 100 мкг/мл, инактивированную 0,25% формалином (3 нед при 4° С), использовали для иммунизации мышей, а также в качестве антигена при выявлении антител к хантавирусам методом иммуноферментного анализа (ИФА). В качестве контроля использовали КЖ незагрязненной культуры клеток VERO-E6, предварительно прошедшей аналогичную с вирусосодержащей КЖ обработку.

Реакция нейтрализации (РН). Образцы моноклональных антител, а также контрольных сывороток в 2-кратных разведениях смешивали в равных объемах с КЖ, содержащей 50—100 ФОЕ каждого из взятых для идентификации хантавирусов. После инкубирования при $6 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18—20 ч вируссывороточные смеси по 0,2 мл вносили на монослой клеток VERO-E6, выращенных в 24-луночных планшетах (Costar, 3524), и оставляли на контакт при 37°С в течение 1 ч, после чего инокулят удаляли и вносили метилцеллюлозное покрытие. Выживший вирус определяли по методу индикации ФОЕ. Титр вируснейтрализующих антител в образце определяли как величину, обратную его разведению, подавляющему 80% ФОЕ.

Получение гибридомы. Мышей линии BALB/c иммунизировали очищенным инактивированным препаратом вируса в дозе 100 мкг/мышь, иммунизацию проводили в подушечки задних лап дважды с интервалом 2 нед. Для первого раунда иммунизации использовали полный адъювант Фрейнда в объемном соотношении 1:1, для второго раунда иммунизации использовали неполный адъювант Фрейнда в таком же объемном соотношении. Клетки подколенных лимфоузлов иммунных мышей гибридизировали с клетками мышинной миеломы линии sp2/0 по стандартной методике [13], применяя полиэтиленгликоль 4000. Гибридомные клетки, продуцирующие специфические антитела, подвергали 2—4-кратному клонированию методом предельных разведений. Клоны с устойчивой антителопродукцией нарабатывали в культуре в среде DMEM (HyClone) с добавлением 5% фетальной телячьей сыворотки. Для наработки антител гибридомные клетки вводили в перитонеальную полость мышей, через 7—14 дней регистрировали развитие асцитных опухолей.

Очистка моноклональных антител. Асцитные жидкости проверяли на содержание специфических антител методом ИФА, антитела выделяли из асцитных жидкостей аффинной хроматографией на сефарозе (Sepharose G), как описано в работе А. Jungbauer и соавт. [11]. Субизотип определяли при помощи антисывороток, специфичных к определенным субизотипам мышинных иммуноглобулинов по методике, рекомендованной производителем (Sigma, ISO2-1КТ).

Непрямой метод флюоресцирующих антител (МФА). Использовали ранее описанную методику [8]. Очищенные моноклональные антитела стандартизовали по белку (до 1 мг/мл) и далее титровали начиная с разведения 1:64. Выявление специфических антител осуществляли с помощью "Диагностикума ГЛПС культурального, поливалентного для непрямого метода иммунофлюоресценции" производства ФГУП ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН. Типирование антител осуществляли с использованием моновалентных

культуральных антигенов хантавирусов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул.

Метод ИФА для индикации моноклональных антител (МАТ). Применяли вариант непрямого метода: образцы, содержащие очищенные антигены хантавирусов в концентрации 100 нг/мл, вносили в лунки планшета (Costar, 3018) с последующей инкубацией при 4—6° С в течение 18 ч. Затем в лунки вносили 3% бычий сывороточный альбумин (БСА) (Sigma, 8159) и оставляли в течение 1 ч при комнатной температуре (22 ± 3° С). После отмывания планшета (здесь и далее: 5 раз по 5 мин раствором 0,01 М фосфатного буфера (ФБ) + 0,05% твин-20) в лунки вносили КЖ гибридомы или образцы очищенных МАТ в 2-кратных разведениях. После 1-часового контакта при 37° С лунки отмывали и вносили меченные пероксидазой хрена IgG против иммуноглобулинов мыши (Sigma, A4416). В качестве индикаторной системы использовали субстрат-индикаторную смесь (ТМБ, Sigma, T8665).

Метод ИФА на основе поликлональной сыворотки против вируса Пуумала для определения хантавирусных антигенов. Использовали коммерческий диагностический "Имуноферментная тест-система для определения антигенов хантавирусов «Хантагност»" производства ФГУП ИПВЭ им. М. П. Чумакова в соответствии с инструкцией производителя.

Метод ИФА Ханта/ПУУ для определения антигена, ассоциированного с поверхностным ($G_N:G_C$) белком вируса Пуумала. В лунки планшета вносили по 100 мкл образцов МАТ ПУУ/G10 (2 мкг/мл в карбонатно-бикарбонатном буфере с pH 9,6), а также в качестве контроля образцы мышинных IgG, не имеющих специфической связи с хантавирусами. После контакта в течение 18 ч при 4°С в лунки добавляли по 100 мкл 2% БСА и оставляли на 1 ч при комнатной температуре. Затем лунки отмывали и вносили по 50 мкл исследуемого образца в 2-кратных разведениях, приготовленных на ИФА-буфере (ФБ + 0,1% БСА + 0,01% твин-20), и оставляли на 2 ч при 37°С. После отмывки в лунки вносили по 50 мкл IgG против вируса Пуумала (полученного из сыворотки крови реконвалесцента после ГЛПС), конъюгированного с пероксидазой хрена. После 1-часового контакта при 37°С лунки промывали и вносили субстрат-индикаторную смесь (ТМБ, Sigma № T8665). Положительной считали про-

бу, для которой отношение оптической плотности со специфическим иммуноглобулином превышало показатель оптической плотности с нормальным иммуноглобулином в 2,1 раза (индекс Р/Н).

Метод ИФА Ханта/Н для определения N белка вирусов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул в лунки планшета вносили для сенсibilизирования МАТ к вирусу Пуумала. В качестве конъюгата использовали МАТ к вирусу Добрава (ДОБ/А4), конъюгированные с пероксидазой хрена согласно описанному ранее методу [18]. Готовый конъюгат смешивали с равным по объему количеством глицерина и хранили при -20°С. Все этапы анализа выполняли аналогично таковым для определения антигена, ассоциированного с поверхностным ($G_N:G_C$) белком вируса Пуумала.

Результаты

По результатам предварительного скрининга МАТ методом ИФА с использованием культуральных очищенных антигенов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул были отобраны 57 гибридом.

При исследовании в МФА были отобраны клоны, секретирующие МАТ к антигенам гомологичного вируса в титре не менее 1:256 и не реагирующие перекрестно с клетками VERO-E6. Такими характеристиками обладали 11 клонов МАТ, включая 4 клон МАТ к вирусу Добрава, 3 — к вирусу Пуумала и по 2 — к вирусам Хантаан и Сеул (табл. 1).

Вируснейтрализующие свойства определяли для всех 57 клонов МАТ, используя их для скрининга в концентрации 100 мкг/мл. Вируснейтрализующая активность определена при исследовании образцов МАТ ПУУ/G10. Титр вируснейтрализующих антител по отношению к гомологичному вирусу составлял 1:1024, что соответствовало содержанию около 0,5—1 мкг белка в 1 мл. Образцы клон МАТ ПУУ/G10, как и контрольные анти-Пуумала сыворотки крови, включая гипериммунные сыворотки крови животных и сыворотки крови реконвалесцентов после ГЛПС, нейтрализовали из четырех исследованных хантавирусов только вирус Пуумала. Таким образом, из 11 анти-хантавирусных клонов МАТ 1 клон (ПУУ/G10) обладал вируснейтрализующими свойствами, которые у хантавирусов ассоциированы с поверхностным белком вириона. Остальные клоны МАТ, если при-

Таблица 1

Титры моноклональных антител, определенные методом иммунофлюоресценции

МАТ	Субзотип	Антигены				
		ПУУ	ХТН	СЕУЛ	ДОБ	VERO-E6
PUU/G10	IgG2a	2048*	< 64	< 64	< 64	< 64
PUU/D21	IgG1	4096	1024	4096	4096	< 64
PUU/H6	IgG1	4096	4096	4096	4096	< 64
DOB/A4	IgG2a	1024	512	256	4096	< 64
DOB/F1	IgG2b	128	256	256	1024	< 64
DOB/D41	IgG1	256	128	1024	1024	< 64
DOB/G3	IgG1	256	128	2048	4096	< 64
HTN/B5	IgG1	< 64	1024	1024	< 64	< 64
HTN/E9	IgG1	< 64	8192	8192	64	< 64
SEO/B9	IgG1	512	64	1024	128	< 64
SEO/D1	IgG1	<64	8192	8192	2048	< 64

Примечание. * — титры антител, выраженные в величинах, обратных разведению образца.

нять во внимание их перекрестные реакции в МФА и отсутствие вируснейтрализующих свойств, имели специфическую направленность к эпитопам нуклеокапсидного белка.

Известно, что у хантавирусов гомология по сиквенсу аминокислот N-белка достаточно велика [20], что и обуславливает их иммунологические перекрестные взаимодействия. По результатам исследования 11 клонов МАТ в МФА 2 клон антител к вирусу Пуумала практически одинаково реагировали с антигенами вирусов Добрава, Хантаан и Сеул; 4 клон МАТ к вирусу Добрава реагировали в 2—32 раза слабее с антигенами трех гетерологичных хантавирусов; клоны МАТ к вирусу Хантаан реагировали перекрестно только с вирусом Сеул; один из клонов МАТ к вирусу Сеул не реагировал с вирусом Пуумала, в то время как второй клон МАТ к вирусу Сеул реагировал с 2—16-кратной разницей в титрах с антигенами всех четырех хантавирусов (см. табл. 1).

На основе МАТ были сконструированы две иммуноферментные тест-системы: для определения поверхностного белка вируса Пуумала (Ханта-ПУУ) и универсальная тест-система для определения нуклеокапсидного белка вирусов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул (Ханта-N). Как видно из табл. 2, с помощью

тест-системы Ханта-ПУУ, основу которой составляют МАТ ПУУ/G10 к одному из эпитопов оболочечного белка вируса Пуумала, антигены этого вируса определяли в одинаковых титрах как в инфекционных, так и в инактивированных формалином фракциях очищенного вирусного материала. Для сравнения были взяты концентраты КЖ вирусов Добрава, Хантаан, Сеул, а также КЖ незараженной культуры VERO-E6. Титры нейтрализующих антител в сыворотках крови мышей, иммунизированных очищенным инактивированным вирусом Пуумала, коррелировали с титром антигена, выявляемого тест-системой ИФА-ПУУ.

В табл. 3 представлены результаты оценки чувствительности и специфичности тест-системы Ханта-N, когда для сенсibilизации иммунопанели использовали МАТ ПУУ/H6. Контролями служили концентраты КЖ клеток VERO-E6, не подвергавшиеся инфицированию хантавирусами. Антигены вирусов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул как в неочищенных (I), так и в очищенных (II) концентратах вирусосодержащих КЖ регистрировались в титрах, коррелирующих с показателями, полученными при определении содержания живого вируса. В параллельных опытах титрования хантавирусных антигенов с использованием тест-систем "Хантагност" и Ханта-N было показано,

Таблица 2

Определение поверхностного (G_s;G_c) антигена вируса Пуумала с помощью иммуноферментной тест-системы Ханта-ПУУ

Вирус	Общий белок по Лоури, мкг/мл	Титр вируса, lg ФОЕ/мл	Титр антигена	
			до добавления формалина	инактивированного формалином
ПУУ-концентрат	10 800	7,2	8192	8192
ПУУ F-1	45	5,6	1024	1024
ПУУ F-2	63	6,2	4096	4096
ПУУ F-3	94	5,4	1024	1024
ПУУ F-4	111	3,8	128	128
ДОБ F-2	89	6,8	< 64	< 64
ХТН F-2	92	7,2	< 64	< 64
СЕУЛ F-2	69	6,1	< 64	< 64
Vero F-2	120	0,0	< 64	< 64

Примечание. F-1, F-2, F-3, F-4 — различные фракции, полученные при гель-фильтрации концентрата культуральной жидкости.

Таблица 3

Определение хантавирусных антигенов в первичных и очищенных концентратах культуральной жидкости с помощью иммуноферментной тест-системы Ханта-N

Материал	Общий белок по Лоури, мкг/мл	Титр вируса, lg ФОЕ/мл	Титр антигена	
			Ханта-N	"Хантагност"
ПУУ-I*	6800	6,6	8192	8192
ПУУ-II*	0,086	6,4	4096	4096
ДОБ-I	9400	7,2	8192	256
ДОБ-II	0,056	6,8	4096	256
ХТН-I	10120	7,1	4096	256
ХТН-II	0,072	6,6	2048	128
СЕУЛ-I	9800	6,2	2048	128
СЕУЛ-II	0,048	5,8	512	64
Vero-I	12800	0,0	< 64	< 8
Vero-II	0,101	0,0	< 8	< 8

Примечание. I* — неочищенный концентрат культуральной жидкости; II* — очищенный гель-фильтрацией концентрат культуральной жидкости.

что последняя позволяет выявить антигены вирусов Добрава, Хантаан и Сеул в 16—64 раза более высоких титрах. Инактивирование вирусов формалином (0,25%) не влияло на эффективность (чувствительность и специфичность) определения хантавирусных антигенов.

Обсуждение

В результате проведенных исследований получена и охарактеризована панель моноклональных антител к хантавирусам Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул. Один из 11 клонов МАТ (ПУУ/G10) обладал выраженной вируснейтрализующей активностью, специфичной только по отношению к вирусу Пуумала. Как известно, составляющий наружную оболочку хантавируса полигликопротеин $G_N:G_C$ вызывает выработку вируснейтрализующих антител, которые при исследовании в РН слабо реагируют или вовсе не реагируют с гетерологичными хантавирусами [4]. На основе этого клона, создана иммуноферментная тест-система Ханта-ПУУ, характеризующаяся видовой специфичностью (см. табл. 2). Следует отметить, что полученные нами данные о соотношении количественного содержания хантавирусного антигена в вакцинном препарате, выявляемого с помощью тест-системы Ханта-ПУУ, и уровня гуморального иммунного ответа после иммунизации этим антигенным препаратом (титры вируснейтрализующих антител в сыворотках крови животных) могут быть использованы как один из критериев для определения иммунизирующей дозы вакцины.

На основе МАТ к N белку хантавирусов Пуумала и Добрава, перекрестно реагирующих с антигенами вирусов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул, была сконструирована универсальная тест-система Ханта-N, в которой в качестве сенсибилизирующего покрытия использованы МАТ ПУУ/Н6, а в качестве выявляющих антител — МАТ ДОБ/А4, конъюгированные с пероксидазой хрена. Наряду с простотой исполнения эта тест-система характеризуется универсальностью с точки зрения определения антигенов всех четырех хантавирусов — возбудителей ГЛПС и позволяет унифицировать методы контроля специфической активности поливалентных вакцинных препаратов против ГЛПС. Известно, что N-белок хантавирусов обладает протективной активностью, связанной с индукцией Т-клеточного иммунитета [12]. Было показано, что после иммунизации структурными белками N, G_N , G_C хантавируса Андес сирийские хомячки были защищены от летальной дозы этого вируса даже при неопределяемом уровне вируснейтрализующих антител [19]. Более того, при заражении живым вирусом Пуумала рыжих полевок, предварительно иммунизированных рекомбинантным N белком вируса Пуумала и других хантавирусов, был отмечен защитный эффект как к гомологичному, так и к гетерологичному вирусу [6].

Таким образом, были получены моноклональные антитела к эпитопам поверхностного белка вируса Пуумала и нуклеокапсидных белков вирусов Пуумала, Добрава, Хантаан и Сеул. На основе МАТ сконструированы иммуноферментные тест-системы Ханта-ПУУ и Ханта-N, позволяющие контролировать специфическую и протективную активность инак-

тивированных вакцинных препаратов на технологических этапах их производства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования, науки и технологии, ГК № 11.519.11.2025 от 23 октября 2011 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дзагурова Т. К., Ткаченко Е. А., Юничева Ю. В. и др. Обнаружение и клинико-этиологическая характеристика ГЛПС в субтропической зоне Краснодарского края. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008; 1: 12—16.
2. Ткаченко Е. А., Бернштейн А. Д., Дзагурова Т. К. и др. Актуальные проблемы современного этапа изучения ГЛПС в России. Дезинфекционное дело. 2007; 4: 26—33.
3. Ткаченко Е. А., Дзагурова Т. К., Набатников П. А. и др. Разработка вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. В кн.: "Вакцинология 2010. Совершенствование иммунологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней". Тезисы Всероссийской научно-практической конференции. М.; 2010. 111.
4. Ткаченко Е. А., Дзагурова Т. К., Ткаченко П. Е. Хантавирусы: экология, молекулярная биология, морфология, патогенез и диагностика хантавирусных инфекций. Молекулярная медицина. 2009; 5: 36—41.
5. Arikawa J., Schmaljohn A., Dalrymple J. et al. Characterization of Hantaan virus envelope glycoprotein antigenic determinants defined by monoclonal antibodies. J. Gen. Virol. 1989; 70: 615—624.
6. De Carvalho N. C., Gonzalez D., Padula P. V. et al. Cross-protection against challenge with Puumala virus after immunization with nucleocapsid proteins from different hantaviruses. J. Virol. 2002; 76: 69—77.
7. Deng G. M., Han L., An Q. et al. Immunization effect of purified bivalent vaccine to HFRS manufactured from primary cultured hamster kidney cells. Chin. Med. J. (Engl.). 2005; 118: 766—768.
8. Dzagurova T., Tkachenko E., Slonova R. et al. Antigenic relationships of hantavirus strains analysed by monoclonal antibodies. Arch. Virol. 1995; 140 (10): 1763—1773.
9. Dzagurova T. K., Klempa B., Tkachenko E. A. et al. Molecular diagnostics of hemorrhagic fever with renal syndrome during a Dobrava virus outbreak in the European part of Russia. J. Clin. Microbiol. 2009; 47 (12): 4029—4036.
10. Ivanov A., Vapalahti O., Lankinen H. et al. Biotin-labeled antigen: a novel approach for detection of Puumala virus-specific IgM. J. Virol. Meth. 1996; 62: 87—92.
11. Jungbauer A., Tauer C., Reiter M. et al. Comparison of protein A, protein G and copolymerized hydroxyapatite for the purification of human monoclonal antibodies. J. Chromatogr. 1989; 476: 257—268.
12. Kaukinen P., Vaeheri A., Plyusnin A. Hantavirus nucleocapsid protein: a multifunctional molecule with both housekeeping and ambassadorial duties. Arch. Virol. 2005; 150: 1693—1713.
13. Kohler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 1975; 256: 495—497.
14. Kucinskaite-Kodze I., Petraityte-Burneikiene R., Zvirbliene A. et al. Characterization of monoclonal antibodies against hantavirus nucleocapsid protein and their use for immunohistochemistry on rodent and human samples. Arch. Virol. 2011; 156 (3): 443—456.
15. Lee H., Ahn C., Song J. et al. Field trial of an inactivated vaccine against HFRS in humans. Arch. Virol. 1990; suppl. 1: 35—47.
16. Lee H., Chu Y. K., Tkachenko E. et al. Vaccine against HFRS. Factors in the emergence and control of rodent-borne viral diseases (Hantaviral and arenaviral diseases). Elsevier; 1999; 147—156.
17. Lundkvist A., Meisel H., Koletzki D. et al. Mapping of B-cell epitopes in the nucleocapsid protein of Puumala hantavirus. Viral Immunol. 2002; 15 (1): 177—192.
18. Mathiesen L. R., Feinstone S. M., Wong D. C. et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hepatitis A antigen in stool and antibody to hepatitis A antigen in sera: comparison with solid-phase radioimmunoassay, immune electron microscopy, and immune adherence hemagglutination assay. J. Clin. Microbiol. 1978; 7 (2): 184—193.
19. Safronetz D., Hegde N. R., Ebihara H. et al. Adenovirus vectors expressing hantavirus proteins protect hamsters against lethal challenge with Andes virus. J. Virol. 2009; 83: 7285—7295.
20. Tischler N. D., Roseblatt M., Valenzuela P. D. Characterization of cross-reactive and serotype-specific epitopes on the nucleocapsid proteins of hantaviruses. Virus Res. 2008; 135 (1): 1—9.