

«АмплиСенс® ТБЕV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophillum*, *E. chaffeensis*/*E. muris* – FL»; ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора) сделали следующие выводы:

- эффективность детекции ВКЭ обоими методами не зависит от пола, вида и степени насыщенности зараженного клеща;

- метод ИФА менее чувствительный, чем ПЦР-РВ;
- отмечена зависимость чувствительности ИФА от субтипа ВКЭ;

- выявлены увеличение чувствительности, но снижение специфичности ИФА при переходе от протокола «Инкубация 3 ч» к режиму «Инкубация ночь».

Исследования, представленные в работе, поддерживаются грантом РФФИ № 14-04-31716-мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Available at: http://rospotrebnadzor.ru/press_center.
2. Kozlovskaya L.I., Osolodkin D.I., Shevtsova A.S., Romanova L.Iu., Rogova Y.V., Dzhivianian T.I. et al. GAG-binding variants of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 2010; 398: 262–72.
3. Romanova L.Iu., Gmyl A.P., Dzhivianian T.I., Bakhtmutov D.V., Lukashov A.N., Gmyl L.V. et al. Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation. *Virology*. 2007; 362: 75–84.
4. Belova O.A., Burenkova L.A., Karganova G.G. Different tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalences in unfed versus partially en-

gorged ixodid ticks – Evidence of virus replication and changes in tick behavior. *Ticks Tick Borne Dis*. 2012; 3(4): 240–6.

5. Белова О.А., Козловская Л.И., Романова Л.Ю., Шевцова А.С., Буренкова Л.А. Сравнительный анализ эффективности различных методов заражения иксодовых клещей вирусом клещевого энцефалита. В кн.: *Медицинская вирусология. Труды ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН*. М., 2008; т. 25: 47–52.

Поступила 22.10.13

REFERENCES

1. Available at: http://rospotrebnadzor.ru/press_center.
2. Kozlovskaya L.I., Osolodkin D.I., Shevtsova A.S., Romanova L.Iu., Rogova Y.V., Dzhivianian T.I. et al. GAG-binding variants of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 2010; 398: 262–72.
3. Romanova L.Iu., Gmyl A.P., Dzhivianian T.I., Bakhtmutov D.V., Lukashov A.N., Gmyl L.V. et al. Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation. *Virology*. 2007; 362: 75–84.
4. Belova O.A., Burenkova L.A., Karganova G.G. Different tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalences in unfed versus partially engorged ixodid ticks – Evidence of virus replication and changes in tick behavior. *Ticks Tick Borne Dis*. 2012; 3: 240–6.
5. Belova O.A., Kozlovskaya L.I., Romanova L.Yu., Shevtsova A.S., Burenkova L.A. Comparative analysis of the effectiveness of different ixodid ticks' infection methods with TBEV. In: *Meditsinskaya virusologiya: Trudy IPVE imeni M.P. Chumakova*. Moscow, 2008; vol. 25: 47–52. (in Russian)

Received 22.10.13

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.98:578.826.11-078.33-073.537

Амосова И.В., Соминина А.А., Смирнова Т.Д., Суховецкая В.Ф., Бузицкая Ж.В., Войцеховская Е.М., Сироткин А.К.

Новые моноклональные тест-системы для диагностики аденовирусной инфекции

ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» Минздрава России, 197376, г. Санкт-Петербург, Россия

Изучены диагностические свойства новых моноклональных антител (МКА) к гексонному антигену аденовируса и моноклональной иммуноферментной тест-системы (ИФТС) «Аденовир», предназначенной для ранней диагностики аденовирусной инфекции. Полученные ИФТС и коньюгаты новых моноклональных антител для иммунофлюоресцентной диагностики использованы для детекции различных типов аденовирусов в клинических материалах. Обоснована перспективность использования новых тест-систем в клинико-эпидемиологической практике.

Ключевые слова: аденовирус; моноклональные антитела; диагностические тест-системы.

New monoclonal kits for the diagnosis of the adenoviral infection

Amosova I. V., Sominina A. A., Smirnova T. D., Sukhovetskaya V. F., Buzitskaya Zh. V., Voitsehovskaya E. M., Sirotkin A. K.

Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, 197376, St. Petersburg, Russia

Diagnostic properties of new monoclonal antibodies (MAbs) to hexon adenovirus antigen (AB) monoclonal ELISA kit for early diagnosis of adenoviral infection were tested. Developed ELISA kit and FITC-conjugate of new monoclonal antibodies for immunofluorescent analysis were used for detection of different types of adenoviruses in clinical materials. The availability of their use in clinical and epidemiological practice was validated.

Key words: adenovirus; monoclonal antibodies; diagnostic kits.

Для корреспонденции: Амосова Ирина Викторовна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.; e-mail: amosova.23@mail.ru
Correspondence to: Irina Amosova, PhD in Biology; e-mail: amosova.23@mail.ru

Аденовирусы (АВ) представляют собой обширное семейство вирусов (*Adenoviridae*), патогенных для человека, млекопитающих и птиц. По своей распространенности они занимают третье место после гриппа и респираторно-синцициальной инфекции. В отличие от эпидемий гриппа, имеющих выраженную сезонность, АВ-инфекции регистрируются на протяжении всего года, вызывая подъем уровня заболеваемости в основном среди детских групп населения [1, 2]. АВ провоцируют тяжелые поражения не только верхних, но и нижних отделов дыхательного тракта в виде пневмоний, бронхитов и бронхолитов, являются причиной вспышек кератоконъюнктивитов и нозокомиальных заболеваний. Они являются также причиной лимфоаденопатий, острых и хронических тонзиллитов, отитов, фарингитов, протекающих с явлениями интоксикации и гипертермии, поражения печени и миокарда. Отдельные серотипы (31, 40, 41) АВ вызывают вспышки гастроэнтеритов [3]. Тяжелое генерализованное течение АВ-инфекций нередко развивается у пациентов с иммуносупрессией, которым осуществляется трансплантация органов или костного мозга [4]. Создание современных средств химиотерапии определяет необходимость разработки эффективных средств ранней диагностики АВ-инфекции. При создании высокоспецифичных иммунологических тестов, как правило, используют антивирусные моноклональные антитела (МКА), способные обеспечить необходимый уровень стандартизации полученных препаратов [5].

Материалы и методы

Клеточные культуры и вирусы. В работе использовали АВ серотипов 3, 4, 6, 7, 14, 19 и 21. Для контроля специфичности реагирования полученных МКА использовали вирусы гриппа А и В, парагриппа и респираторно-синцициальный вирус (РСВ), а также лизаты клеток HeLa. Накопление биомассы вирусов, очистку и концентрацию вирусов проводили ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы согласно [6].

Гексонный антиген (ГА) АВ. АВ 6-го типа осаждали из осветленной вирусосодержащей жидкости одновременным добавлением 10% раствора сернокислой меди и 10% раствора бикарбоната натрия. Очистку от солей производили с помощью гель-фильтрации с использованием сефадекса G-25 (Sigma, США). Полученный раствор антигена диализовали против 0,5 моль/л ацетатного буфера (рН 4,6), после чего переносили в колбу и оставляли при температуре 4°C на 2 нед до образования кристаллов ГА в форме тетраэдров, отчетливо видимых при малом увеличении микроскопа (x100).

Моноклональные антитела. Для получения иммунных спленоцитов гибридных мышей линии SJL/J иммунизировали ГА АВ 6-го типа (штамм Tonsill), смешанным с полным адьювантом Фрейнда из расчета 40 мкг на 1 мышь. Через 6 нед проводили бустер-иммунизацию мышей ГА. Далее МКА получали согласно [7]. МКА 7F1 получены из ОАО «Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения» (Москва). Свойства МКА 7F1 описаны ранее [6]. Очистку и концентрацию МКА производили на сефарозе Protein-G. Конъюгацию МКА с пероксидазой хрена (Sigma, США) осуществляли по методу [8], конъюгацию МКА с флюоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ) (Sigma, США) согласно [9].

Выделение аденовирусов в культуре клеток. Для изоляции АВ использовали культуры клеток Hep2 и Vero, которые на 1–2-е сутки роста в среде Игла с добавлением 5% фетальной сыворотки инфицировали материалами от больных ОРВИ, взятыми не позднее 4 сут от начала заболевания. Зараженные клеточные культуры инкубировали при 36±1°C. Образцы ежедневно просматривали в течение 2 нед для выявления цитопатического эффекта с еженедельной заменой поддерживающей среды. Серотип изолята определяли в реакции нейтрализации с использованием типоспецифических сывороток к АВ.

Имуноферментный анализ (ИФА). Для определения специфической активности МКА и их пероксидазных конъюгатов (МКА-ПХ) планшеты сенсibilizировали очищенными вирусными концентратами АВ 3, 6 и 21-го типов, а также ГА в концентрации 2,5–5 мкг/мл. Для контроля специфичности взаимодействия использовали лизат нормальных,

не инфицированных клеток HeLa и гетерологичные вирусы (грипп, парагрипп, РСВ). Исследуемые МКА (или МКА-ПХ) разводили в 0,01 М ФСБ-Т (рН 7,2) с 10⁻¹ до 10⁻⁷ и вносили по 100 мкл в планшеты, трижды отмывые от несвязавшегося антигена с помощью ФСБ-Т, содержащего 5% желатина. По завершении инкубации (2 ч для МКА и 45 мин для МКА-ПХ при 37°C) и отмывания ФСБ-Т в лунки вносили по 100 мкл 3,3',5,5'-тетраметилбензидина в концентрации 0,1 мг/мл на ацетат-цитратном буфере (рН 5,5), содержащем 0,005 % H₂O₂. Реакцию останавливали через 10–15 мин добавлением 50 мкл 1М H₂SO₄. Результаты ИФА учитывали на иммуноферментном анализаторе фирмы Anthos (Австрия) при длине волны 450 нм. Титром антител считали последнее разведение, при котором сигнал ОП 450 МКА в 2,5 раза превышал ОП 450 контрольных образцов (ФСБ-Т).

Для индикации вирусных антигенов и определения лимита чувствительности иммуноферментных тест-систем (ИФТС) планшеты сенсibilizировали МКА, разведенными на 0,01 М карбонатно-бикарбонатном буфере (рН 9,5) до концентрации (2,5–5 мкг/мл). После инкубации 18 ч при 4°C в отмывые планшеты вносили разведения исследуемых вирусов, контрольные образцы или материалы от больных. После инкубации в течение ночи при 4°C и 4-кратного отмывания ФСБ-Т связанные вирусные антигены выявляли с помощью МКА-ПХ.

Метод иммунофлюоресценции (МИФ). Окрашивание препаратов и оценку яркости флюоресценции проводили согласно [10]. В качестве референс-препарата использовали поликлональный препарат «Имуноглобулин диагностический флюоресцирующий аденовирусный антигексоновый» (ИДФАГ) производства ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (ООО ППДП) (г. Санкт-Петербург). Тестирование полученных МКА проводили по непрямому методу с использованием антимишинных ФИТЦ-конъюгатов (Sigma, США).

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для выявления специфических последовательностей ДНК АВ в клинических материалах использовали ПЦР-тест-систему «АмплиСенс Adenovirus-462» производства ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (Москва). Контроль специфичности результатов ПЦР осуществляли с помощью праймеров на гетерологичные вирусы (ротавирус, торовирус, Норвалка).

Электронно-микроскопический (ЭМ) анализ. В работе использовали метод просвечивающей электронной микроскопии (микроскоп JEM-10-11, Япония).

Подготовка клинических образцов. Взятие носоглоточных мазков и подготовку препаратов для МИФ проводили согласно [10], образцы фекалий подготавливали, как описано [11].

Определение чувствительности и специфичности разработанных тест-систем. Оценка показателей качества разработанных препаратов проводили в сравнении с методами выделения вируса в культуре клеток, МИФ, ПЦР, а также определяли природу специфических антител в сыворотках переболевших с помощью ИФА. Расчет показателей чувствительности и специфичности проводили, как описано [12].

Результаты

Характеристика МКА к гексонному антигену АВ. С учетом имеющихся литературных данных о высоком консерватизме ГА АВ, общего для разных подвидов АВ [13], этот антиген избрали в качестве иммуногена при получении МКА. В работе использовали гибридных мышей линии SJL/J, у которых отмечают ослабленный контроль экспансии В-лимфоцитов, что предполагает синтез более широкого репертуара антител, чем у животных других инбредных линий [14].

Для иммунизации мышей в целях получения гибридом использовали кристаллический ГА АВ 6-го типа, который содержал антигенные детерминанты, общие для разных серотипов аденовирусов. В результате слияния клеток миеломы мышей P_x8Ag.653 с иммунными спленоцитами и их последующего клонирования отобрали семь стабильных клонов гибридом (№ 2, 3, 6, 9, 10, 11, 14), секретирующих антитела к ГА. По показателям специфической активности, оцененной в ИФА и МИФ, из панели МКА для последующих работ по

Результаты диагностики АВ-инфекции с применением иммуноферментной тест-системы «Аденовир» в сравнении с совокупными результатами других методов)

Группа обследованных с симптомами ОРВИ	Кол-во обследованных больных	Частота выявления, %		Диагностические параметры ИФТС "Аденовир" в сравнении с результатами комплекса методов, %*	
		ИФТС "Аденовир"	МИФ	чувствительность	специфичность
Госпитализированные взрослые	71	45	20	89	81
Госпитализированные дети	88	35	30	92,6	90
Вспышка ОРВИ	22	64	27	100	73

Примечание. * – МИФ, выделение вирусов в культуре клеток, ИФТС-IgG-Ад.

конструированию диагностических тест-систем выбрали МКА 6, которые выгодно отличались от других МКА более широким спектром реагирования в отношении различных серотипов АВ (типы 3, 6, 14, 19, 21), а также высоким уровнем специфической активности в ИФА (титр 10^{-6}) и МИФ (титр в непрямом МИФ 10^{-3}).

Специфическую направленность МКА 6 и МКА 7F1 оценивали в конкурентном ИФА. При исследовании систем МКА 6 – конъюгат ПХ-МКА 7F1 и МКА 7F1 – конъюгат ПХ-МКА 6 показано, что немеченые МКА 6 не влияли на связывание с антигеном конъюгатов ПХ-МКА 7F1, а реакцию конъюгатов ПХ-МКА 6 не подавляли МКА 7F1, т.е. они имели разную эпитопную направленность. Показано, что МКА 6 не обладали перекрестной реактивностью с другими возбудителями ОРВИ (вирусами гриппа А и В, РС-вирусом, парагриппа) и антигенами клеток хозяина, хорошо выдерживали процедуры конъюгации с пероксидазой хрена и ФИТЦ, а также лиофилизации.

Характеристика спектра реагирования препарата ФИТЦ-МКА 6. Опытные серии ФИТЦ-конъюгатов МКА 6 исследовали на модели клеточных культур, зараженных АВ 6, 3 и 21-го серотипов, а также клеточных культур, инфицированных материалами от больных, среди которых выявлены современные штаммы АВ 2 типа и эпидемически значимых 3, 4 и 7-го типов, принадлежащих, как известно, к различным группам АВ (В, С, Е). Все перечисленные серотипы АВ выявляли при окраске ФИТЦ-МКА 6 в виде яркой флуоресценции в ядрах и цитоплазме инфицированных клеток. Клинико-лабораторную апробацию ФИТЦ-МКА 6 провели в сравнении с поликлональным препаратом ИДФАГ (ООО ППДП, Санкт-Петербург) с использованием клинических материалов от 120 детей, госпитализированных по поводу ОРВИ. Чувствительность и специфичность МИФ при использовании ФИТЦ-МКА 6 в сравнении с препаратом ИДФАГ составили 96,7 и 90% соответственно, общее совпадение результатов 95%.

Конструирование ИФТС для детекции антигенов аденовирусов. Изготовлены очищенные препараты МКА и пероксидазные конъюгаты МКА 6 и 7F1, сформированы четыре варианта тест-систем в различных комбинациях МКА и их конъюгатов. Оказалось, что наилучшие результаты достигаются при использовании в ИФТС МКА 6 на стадии захвата (5 мкг/мл) и ПХ-МКА 7F1 (1:800) на стадии детекции. Чувствительность разработанной ИФТС составила 2 нг/мл. Специфичность ИФТС доказана по отсутствию взаимодействия с вышеуказанными гетерологичными вирусами, а также с хозяйскими антигенами. Разработанной тест-системе присвоено название «Аденовир». При оценке чувствительности и специфичности ИФТС «Аденовир» проводили исследование клинических материалов от 181 больного ОРВИ, а также от 35 детей с симптомами острых гастроэнтеритов с параллельным использованием методов выделения вируса в культуре клеток, МИФ или ПЦР, а кроме того, определяли прирост специфических антител в сыворотках переболевших с помощью «Имуноферментной тест-системы для определения антител класса IgG к аденовирусам» (ИФТС-IgG-Ад) (ООО ППДП, Санкт-Петербург) (см. таблицу).

При обследовании детей, госпитализированных с острыми гастроэнтеритами, с помощью ЭМ, ПЦР и ИФТС «Аденовир» совпадение результатов ИФТС «Аденовир» и ЭМ показано в 86% случаев, в том числе по положительным результатам в 76,5% и по отрицательным результатам в 94,5%. Показатели

чувствительности и специфичности ИФТС «Аденовир», рассчитанные по отношению к совокупным данным ЭМ и ПЦР, составили 93 и 81% соответственно.

Обсуждение

Актуальность простых и быстрых тестов лабораторной диагностики АВ-заболеваний определяется необходимостью назначения ранней этиотропной противовирусной терапии и профилактики АВ-инфекций. Разработка современных диагностических подходов осуществляется по двум основным направлениям, первое из которых связано с совершенствованием иммунологических тестов детекции вирусных антигенов или антител, а другое – с выявлением специфических последовательностей вирусного генома в материале от больных. К перспективным иммунологическим тестам относятся ИФА и МИФ, базирующиеся на использовании высокоспецифичной и стандартизированной реактики моноклонального типа [3].

Применение МКА, направленных к различным сайтам в составе ГА АВ, обеспечивало достижение высокого специфического сигнала и чувствительности при формировании тест-системы «Аденовир». Важной особенностью тест-системы стала ее способность выявлять различные серотипы (3, 4, 6, 7, 14, 19 и 21) АВ, что подтверждено при тестировании музейных культур вируса и результатами типирования вновь выделенных АВ.

Чувствительность разработанной ИФТС составила 2 нг/мл и сопоставима с зарубежными аналогами. Например, чувствительность иммунохроматографических тестов «Influenza A Test», «Influenza B Test», «Adenovirus Test» (VEDA-LAB, Франция) составляет 25–100 нг/мл. При сравнении «Adenovirus Test», предназначенного для качественного определения антигена АВ в фекалиях, с ИФА наблюдали 100% корреляцию по чувствительности и специфичности. Экспресс-тест «Адено Стик» (Novamed, Израиль) позволяет выявлять антигены АВ в мазках и смывах с конъюнктивы глаз, носоглотки, мазках из зева, носоглоточных аспиратах и назальных смывах с показателями чувствительности 99% и специфичности 99% по сравнению с таковыми МИФ.

В целях определения диагностических параметров ИФТС «Аденовир» провели ее клинико-лабораторные испытания при сопоставлении с результатами, полученными при использовании других диагностических методов (МИФ, выделение вирусов в культуре клеток, ИФА). Частота диагностирования АВ-инфекции по выявлению АВ-антигенов у детей с ОРВИ с использованием ИФТС «Аденовир» и МИФ оказалась примерно одинаковой. В то же время у взрослых АВ-инфекция лучше диагностировалась при использовании ИФТС «Аденовир», чем при МИФ. Подключение ПЦР к ранее используемым методам показало, что не подтвержденные другими методами результаты тестов МИФ и ИФТС-IgG-Ад находят подтверждение при использовании более чувствительных тестов. В части случаев АВ-антигены выявляли только при применении ИФТС «Аденовир», однако подключение ПЦР к ранее используемым методам svelo количество ложноположительных результатов к минимуму – до 4,5%.

Известно, что АВ подгруппы F вызывают вспышки гастроэнтеритов и являются причиной длительных диарей у детей младшего возраста. ИФТС «Аденовир» оказалась весьма полезной при расшифровке природы острых гастроэнтеритов у детей в сравнении с менее доступными для практики методами ЭМ и ПЦР. Уровень специфического сигнала при ис-

следовании копрофильтратов в ИФА был значительно выше, чем при исследовании носоглоточных смывов. ИФТС «Аденовирус» оказалась высокоспецифичной и не давала реакций с другими вирусами – возбудителями кишечных инфекций (ротавирус, норовирус, торовирус, коронавирусы), которые были выявлены при ЭМ-исследованиях.

Заключение

Разработаны моноклональные тест-системы для диагностики АВ-инфекций, базирующиеся на использовании иммунофлюоресцентного анализа и ИФА, которые обладали достаточно высокой чувствительностью и специфичностью, сопоставимой с зарубежными аналогами.

Достоинством разработанных МКА и тест-систем на их основе оказалась возможность выявления АВ, принадлежащих к различным подгруппам семейства *Adenoviridae*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амосова И.В. *Разработка и усовершенствование средств и методов иммунодиагностики аденовирусной инфекции*. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. СПб; 2009.
2. Соминина А.А., Киселев О.И., Маринич И.Г., Карпова Л.С., Смородинцева Е.А., Коновалова Н.И. и др. Этиологический мониторинг за гриппом и другими ОРЗ в России в сезон 2003–2004 годов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2004; 6: 5–11.
3. Киселев О.И., Жилинская И.Н., ред. *Вопросы общей вирусологии: учебное пособие*. СПб: СПбГМА им. И.И. Мечникова; 2007.
4. Zheng X. Identification of adenoviruses in specimens from high-risk pediatric stem cell transplant recipients and controls. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46: 317–20.
5. Çiçek C., Gulen F. Comparison of the assay with the combination of shell vial cell culture and immunofluorescence antibody test for the detection of respiratory viruses. *J. Virol. Methods*. 2007; 143: 161–8.
6. Монаенков А.О., Сологуб В.К., Соминина А.А., Амосова И.В., Липина Н.В., Милькинт К.К. и др. Получение и характеристика моноклональных антител к аденовирусу в иммуноферментных и иммунофлуоресцентных реакциях. *Вопросы вирусологии*. 2000; 5: 30–3.
7. Фридляндская И.И. Получение моноклональных антител (гибридомная клеточная технология): сборник научных трудов. Л.; 1988.
8. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase labeled antibody. A new method of conjugation. *J. Histochem. Cytochem.* 1974; 22: 1084–91.
9. Mc Kinney P.M. Fluorecein diacetate as a reference color standard fluorescent antibody studies. *Anal. Biochem.* 1964; 9 (4): 474–6.
10. Соминина А.А., Милькинт К.К., Амосова И.В. *Быстрая диагностика гриппа и других ОРВИ иммунофлуоресцентным методом: методические рекомендации*. СПб: ГУ НИИ гриппа РАМН; 2006.
11. Doane F.W. Electron microscopy for the detection of gastroenteritis viruses. In: *Kapikian A.Z., ed. Viral infections of the gastrointestinal tract*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1994: 101–30.
12. Chomel J.J., Remilleux M.F., Marchand P., Aymard M. Rapid diagnosis of influenza A. Comparison with ELISA immunocapture and culture. *J. Virol. Methods*. 1992; 37: 337–44.

13. Echavarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin. Microbiol.* 2008; 21: 704–15.
14. Климович В.Б. *Моноклональные антитела против иммуноглобулинов человека: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук*. СПб; 1996.

Поступила 06.06.13

REFERENCES

1. Amosova I.V. *Development and improvement of means and methods of immunoassay adenovirus infection [Razrabotka i usovershenstvovanie sredstv i metodov immunodiagnostiki adenovirusnoy infektsii]*. Diss. boil. sci. St Petersburg; 2009. (in Russian)
2. Sominina A.A., Kiselev O.I., Marinich I.G., Karpova L.S., Smorodintseva E.A., Konovalova N.I. et al. Etiological monitoring of influenza and other acute respiratory infections in Russia in 2003–2004 season. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2004; 6: 5–11. (in Russian)
3. Kiselev O.I., Zhilinskaya I.N., ed. *Questions of general virology: a training manual (Voprosy obshchey virusologii: uchebnoe posobie)*. St Petersburg: SPbGMA im. I.I. Mechnikova; 2007. (in Russian)
4. Zheng X. Identification of adenoviruses in specimens from high-risk pediatric stem cell transplant recipients and controls. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46: 317–20.
5. Çiçek C., Gulen F. Comparison of the assay with the combination of shell vial cell culture and immunofluorescence antibody test for the detection of respiratory viruses. *J. Virol. Methods*. 2007; 143: 161–8.
6. Monaenkov A.O., Sologub V.K., Sominina A.A., Amosova I.V., Lipina N.V., Mil'kint K.K. et al. Preparation and characterization of monoclonal antibodies to adenovirus in immunoassays and immunofluorescence reactions. *Voprosy virusologii*. 2000; 5: 30–3. (in Russian)
7. Fridlyandskaya I.I. *Preparation of monoclonal antibody (hybridoma cell technology) [Polychenie monoklonal'nykh antitel (gibridomnaya kletochnaya tekhnologiya)]*. Leningrad; 1988. (in Russian)
8. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase labeled antibody. A new method of conjugation. *J. Histochem. Cytochem.* 1974; 22: 1084–91.
9. Mc Kinney P.M. Fluorecein diacetate as a reference color standard fluorescent antibody studies. *Anal. Biochem.* 1964; 9 (4): 474–6.
10. Sominina A.A., Mil'kint K.K., Amosova I.V. *Rapid diagnosis of influenza and other acute respiratory viral infection by immunofluorescence: methodological recommendations [Bystraya diagnostika grippa i drugikh ORVI immynofluoretsentnym metodom: metodicheskie rekomendatsii]*. St Petersburg: GU NII grippa RAMN; 2006. (in Russian)
11. Doane F.W. Electron microscopy for the detection of gastroenteritis viruses. In: *Kapikian A.Z., ed. Viral infections of the gastrointestinal tract*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1994: 101–30.
12. Chomel J.J., Remilleux M.F., Marchand P., Aymard M. Rapid diagnosis of influenza A. Comparison with ELISA immunocapture and culture. *J. Virol. Methods*. 1992; 37: 337–44.
13. Echavarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin. Microbiol.* 2008; 21: 704–15.
14. Klimovich V.B. *Monoclonal antibodies against human immunoglobulins [Monoklonal'nye antitela protiv immunoglobulinov]*. Diss. St Petersburg; 1996. (in Russian)

Received 06.06.13

Подписные индексы на журнал “Вопросы вирусологии”

в каталоге «Роспечать»:

Индекс 71416

для индивидуальных подписчиков,
предприятий и организаций

в каталоге «Пресса России»:

Индекс 27875

для индивидуальных подписчиков,
предприятий и организаций

Подписка через Интернет: www.akc.ru, www.pressa-rf.ru

Подписка на электронную версию журнала: elibrary.ru