

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 616.98:578.825.11/.12]-078/33

Никитина А.В.¹, Помелова В.Г.¹, Осин Н.С.², Марданлы С.Г.³

МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G К ВИРУСАМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 1-го И 2-го ТИПОВ И ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИИ ФОСФАН

¹ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения» Федеральное медико-биологическое агентство России, 125424, г. Москва;

²Закрытое акционерное общество «Иммюноскрин», 125424, г. Москва;

³Закрытое акционерное общество «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск

Разработан иммуночип для определения иммуноглобулинов G к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1, ВПГ-2) и цитомегаловирусу (ЦМВ) на основе технологии ФОСФАН™. В состав иммуночипа включены рекомбинантные вирусспецифические антигены gG1 (ВПГ-1), gG2 (ВПГ-2), лизатный антиген для определения общих IgG к ВПГ обоих типов (ВПГ-1/2) и мозаичный антиген ЦМВ, содержащий иммунодоминантные последовательности белков pp150, gB, pp28 и pp52. Чувствительность и специфичность одновременного выявления IgG на иммуночипе с рекомбинантными антигенами были сопоставимы с показателями коммерческих иммуноферментных тест-систем, в том числе при анализе сывороток контрольных панелей. Лизатный антиген при сопоставимой чувствительности продемонстрировал существенно более низкую специфичность, что не позволяет рекомендовать его использование в качестве компонента мультиплексного теста. Полученные результаты могут быть положены в основу создания коммерческих мультиплексных тестов для высокопроизводительного скрининга этих и других инфекций TORCH-комплекса в клинической лаборатории.

Ключевые слова: мультиплексный иммуноанализ на основе технологии ФОСФАН; вирус простого герпеса 1-го типа; вирус простого герпеса 2-го типа; цитомегаловирус; иммуноглобулин G; серологические исследования.

Для цитирования: Никитина А.В., Помелова В.Г., Осин Н.С., Марданлы С.Г. Мультиплексный иммуноанализ для выявления иммуноглобулинов G к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типов и цитомегаловирусу на основе технологии ФОСФАН. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62 (2): 87-90.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-87-90>

Nikitina A.V.¹, Pomelova V.G.¹, Osin N.S.², Mardarly S.G.³

MULTIPLEX IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF IMMUNOGLOBULIN G TO HERPES SIMPLEX VIRUS TYPES 1, 2 AND CYTOMEGALOVIRUS BASED ON PHOSPHAN TECHNOLOGY

¹ State Research Institute of Biological Engineering, Moscow, 125424, Russian Federation;

² Immunoscreen, Closed Joint Stock Company, Moscow, 125424, Russian Federation;

³ Ekolab, Closed Joint Stock Company, Elektrogorsk, 142530, Russian Federation

We have developed a multiplex immunoassay test (immunochip) based on PHOSPHAN technology for the detection of immunoglobulin G to herpes simplex virus (HSV) types 1, 2 and cytomegalovirus (CMV). The immunochip consists of HSV type specific gG1 (HSV-1) and gG2 (HSV-2) recombinant antigens, the lysate antigen for detection of total IgG to both HSV types (HSV 1/2), and CMV specific chimeric recombinant antigen containing the immunodominant sequences of pp150, gB, pp28 and pp52 proteins. The sensitivity and specificity of simultaneous IgGs detection with recombinant proteins were comparable to the commercial ELISA kits regardless of the kind of investigated serum specimens (patient sera, standard serum panels). The lysate HSV antigen was as sensitive but significantly less specific, so that it could not be recommended for use as a component of the multiplex test. These results can be used as a basis for creating commercial multiplex tests intended for high-productive screening of HSV, CMV and other TORCH-infections in a clinical laboratory.

Key words: PHOSPHAN-based multiplex immunoassay; HSV-1; HSV-2; CMV; immunoglobulin G; serologic investigations.

For citation: Nikitina A.V., Pomelova V.G., Osin N.S., Mardarly S.G. Multiplex immunoassay for detection of immunoglobulin G to herpes simplex virus types 1, 2 and cytomegalovirus based on PHOSPHAN technology. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(2): 87-90. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-87-90>

For correspondence: Anna V. Nikitina, Ph.D. student, Laboratory of molecular diagnostics, State Research Institute of Biological Engineering, Moscow, 125424, Russian Federation.

E-mail: an-na-nikitina@ya.ru

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 15 March 2016

Accepted 11 October 2016

Для корреспонденции: Никитина Анна Викторовна, аспирант лаборатории молекулярных методов диагностики инфекционных и соматических заболеваний ФГУП «ГосНИИ биологического приборостроения» ФМБА РФ, 125424, г. Москва. E-mail: an-na-nikitina@ya.ru

Герпесвирусные инфекции, вызываемые вирусами простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1, ВПГ-2), занимают значительное место в структуре заболеваний, передающихся половым путем, и особенно опасны во время беременности и в неонатальном периоде. Определение иммунного статуса у женщин, планирующих беременность, лежит в основе формирования групп риска для последующего наблюдения (при негативном результате обследования на IgG) или назначения своевременного этиотропного лечения в случае выявления активной инфекции [1, 2]. Типоспецифическое (раздельное) определение IgG к ВПГ-1 и ВПГ-2 позволяет прогнозировать вероятность рецидивов и атипичных проявлений генитального герпеса, которые при ВПГ-2 наблюдаются чаще, чем при ВПГ-1 [3, 4]. Кроме того, инфекция ВПГ-1 не предотвращает заражение ВПГ-2, что определяет риск заражения сексуальных партнеров [5–7] и повышает до 30–50% риск неонатального герпеса, если заражение ВПГ-1 или ВПГ-2 произошло к концу беременности [8, 9].

Сложность создания тестов для раздельного обнаружения антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 объясняется сходством структуры генома двух вирусов. Это выражается в близости их биологических свойств и высокой степени антигенной кросс-реактивности [10]. Гликопротеины оболочки вириона gG1 (ВПГ-1) и gG2 (ВПГ-2) – практически единственные белки, которые вследствие низкой степени гомологии аминокислотного состава (менее 30%) [11] и различной доступности распознающих антигена ключевых эпитопов [12] могут быть использованы для типоспецифического определения антител.

Для выполнения серологических исследований используются преимущественно монотесты на основе иммуноферментного анализа (ИФА). Совершенствование методов лабораторной диагностики связывают с разработкой мультиплексных технологий, позволяющих снизить трудоемкость и стоимость исследований за счет проведения анализа на несколько инфекций одновременно [13–15].

Цель наших исследований состояла в разработке иммуночипа, способного обеспечить решение трех диагностических задач одновременно: определить общие иммуноглобулины G к обоим типам ВПГ (ВПГ-1/2); провести типоспецифическую дифференциацию IgG к ВПГ-1 и ВПГ-2; определить IgG к цитомегаловирусу (ЦМВ), этот вирус наряду с ВПГ входит в комплекс так называемых TORCH-инфекций, играющих важную роль в патологии плода и новорожденного.

Для создания мультиплексного теста была применена биочип-технология ФОСФАН™ [16], эффективность которой для серологической диагностики ряда инфекций была продемонстрирована ранее [17]. Для решения поставленных задач в состав иммуночипа, помимо рекомбинантных белков gG1 и gG2, были включены лизатные антигены ВПГ и рекомбинантный мозаичный антиген ЦМВ. Оценка чувствительности и специфичности проводилась в сравнении с коммерческими иммуноферментными тест-системами.

Материал и методы

Клинический материал. В работе использованы сыворотки крови больных ($n = 250$), проходивших обследование в городской клинической инфекционной больнице № 1 г. Москвы, охарактеризованные по наличию IgG к ЦМВ, ВПГ 1-го и 2-го типов в коммерческих иммуно-

ферментных тест-системах. Из числа этих сывороток 64 (25,6%) содержали IgG только к одному из возбудителей, 106 (42,4%) – к двум и 56 (22,4%) – к трем возбудителям; в 24 (9,6%) пробах антитела не выявлены ни к одному из вирусов. Все пробы до исследования хранили в виде аликвот при -20°C . Проводили не более двух циклов замораживания и оттаивания.

Выполнение ИФА. IgG к ЦМВ, ВПГ 1-го и 2-го типов выявляли в иммуноферментных тест-системах CMV-IgG-ELISA PKS («Medac», Германия), Anti-HSV-1 ELISA (IgG), Anti-HSV-2 ELISA (IgG) («EUROIMMUN», Германия) соответственно. Положительные результаты анализа на ВПГ-1/2 получали суммированием положительных результатов раздельного тестирования на каждый тип ВПГ в соответствующей тест-системе. Результаты учитывали и анализировали в соответствии с инструкцией производителя.

Антигены для ФОСФАН. В составе иммуночипа для одновременного определения IgG использовали рекомбинантный мозаичный антиген, содержащий иммунодоминантные последовательности белков pp150, pp52, pp28 и gB ЦМВ, смесь очищенных культуральных цельновирионных антигенов ВПГ-1 и ВПГ-2, штаммы MS и G (АТСС), а также рекомбинантные антигены gG1 и gG2 ВПГ 1-го или 2-го типа соответственно (все препараты производства ЗАО «ЭКОлаб»).

Эти антигены были напечатаны на дне лунки стандартного 96-луночного полистиролового микропланшета («Нунк», Дания) с помощью наноплоттера для контактной печати (ЗАО «Иммуноскрин») по 4 микрозоны (диаметром 0,5 мм) на каждый антиген (всего 16 микрозон). Концентрация антигенов для печати 100 мкг/мл. Буфер для сорбции – 0,1 М карбонатно-бикарбонатного буфера, pH 9,6, содержащий 5% глицерина («Sigma», США). После инкубации в течение суток при $2-8^{\circ}\text{C}$ и последующей трехкратной отмывки и блокировки (1 ч при 37°C) микропланшет высушивали, помещали в пластиковый пакет и хранили до исследования в холодильнике.

Выполнение мультиплексного теста. ФОСФАН проводили по методикам, аналогичным описанным ранее [17]. Исследуемые образцы сыворотки крови, предварительно разведенные 1:100 в 0,01 М фосфатно-солевого буфера, pH 7,4, вносили по 100 мкл в лунки микропланшета с напечатанными антигенами и инкубировали 2 ч на шейкере при комнатной температуре. Затем вносили биотинилированные моноклональные антитела к IgG человека и универсальный проявляющий реагент (конъюгат стрептавидина с Рт-копропорфирином). После промывания и высушивания микропланшета регистрировали результаты анализа с помощью фосфоресцентного биочип-анализатора ИФИ-04 (ФГУП «ГосНИИБп»). Результат исследования пробы считали положительным (IgG выявлены), если коэффициент позитивности (К поз.) сыворотки с данным антигеном был выше или равен 1. Значения К поз. рассчитывали относительно порогового уровня (ПУ) интенсивности фосфоресценции, определенного предварительно в оптимизационных экспериментах, как описано ранее [17]. Значения ПУ составили 50, 30, 150 или 400 импульсов для определения IgG к ЦМВ, ВПГ-1/2, ВПГ-1 и ВПГ-2 соответственно.

Контрольные материалы. Для оценки качества измерений методом ФОСФАН использовали 2 стандартные панели положительных контрольных сывороток из 20 проб каждая с известным содержанием IgG к ЦМВ (Стан-

Таблица 1

Частота выявления положительных проб, содержащих IgG к ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2, а также суммарных антител к ВПГ обоих типов, методами ИФА и ФОСФАН

Возбудитель	Количество положительных проб в ИФА		Количество положительных проб в ФОСФАН	
	абс.	%	абс.	%
ЦМВ	191	76,4 [71,1–81,7]	185	74,0 [68,5–79,5]
ВПГ-1 и ВПГ-2	193*	77,2 [72,0–82,4]	187**	74,8 [69,4–80,2]
ВПГ-1	191	76,8 [71,5–82,1]	185	74,0 [68,5–79,5]
ВПГ-2	61	24,4 [19,1–29,8]	59	23,6 [18,3–28,9]

Примечание. В скобках указан 95% доверительный интервал показателя частоты; * – число проб, полученное суммированием положительных результатов в двух иммуноферментных тест-системах для типоспецифического определения ВПГ-1 или ВПГ-2; ** – число положительных проб с лизатным антигеном ВПГ-1/2, выявляющим суммарные IgG в ФОСФАН.

дарт AT-G (+/-) ЦМВ, ОСО42-28-360-01, ЗАО «МБС», Новосибирск и Anti-CMV Mixed Titer Performance Panel, «SeraCare Life Sciences Inc.», США) и панель из 20 сывороток, содержащих IgG к ВПГ-1, в том числе в 2 пробах, сочетавшихся с IgG к ВПГ-2 (Стандарт AT-G (+/-) ВПГ, ОСО42-28-373-04, ЗАО «МБС», Новосибирск). Эти панели включали также отрицательные контрольные сыворотки, в которых не выявлены IgG к ЦМВ ($n = 17$) или ВПГ обоих типов ($n = 16$).

Статистическая обработка результатов. Выявление статистически значимых различий выборок по качественным показателям (сравнение долей) проводили с помощью точного двустороннего критерия Фишера для уровня статистической значимости $p \leq 0,05$.

Результаты

При анализе методом ФОСФАН частота положительных проб с IgG, выявляемых с рекомбинантными антигенами ЦМВ, ВПГ-1 или ВПГ-2, составила 74% (68,5–79,5%), 74% (68,5–79,5%) и 23,6% (18,3–28,9%) соответственно (в скобках приведено значение 95% доверительного интервала показателя частоты). Близкие показатели чувствительности получены в коммерческих

Таблица 2

Результаты ФОСФАН при детекции IgG к ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2 и суммарных антител к ВПГ-1/2 в сыворотках крови пациентов ($n = 250$)

Характеристика сывороток пациентов в ИФА	Число проб	Количество положительных проб в ФОСФАН, содержащих IgG к вирусу (в %):			
		ЦМВ	ВПГ-1/2	ВПГ-1	ВПГ-2
Выявлены IgG к вирусу:					
ЦМВ	33	29	2	0	0
ВПГ-1	31	3	29	30	0
ЦМВ и ВПГ-1	101	99	99	98	0
ВПГ-1 и ВПГ-2	4	1	4	4	4
ЦМВ и ВПГ-2	1	1	0	0	1
ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2	56	56	55	53	54
Не выявлены IgG	24	0	1	0	0

Таблица 3

Результаты выявления IgG к ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2 в сыворотках контрольных панелей методом ФОСФАН

Характеристика контрольных сывороток в ИФА	Число проб	Количество положительных проб в ФОСФАН, содержащих IgG к вирусу (в %):			
		ЦМВ	ВПГ-1/2	ВПГ-1	ВПГ-2
Выявлены IgG к вирусу:					
ЦМВ	40	39	29	29	3
ВПГ-1 и ВПГ-2	20*	5	20	20	2
Не выявлены IgG к вирусу:					
ЦМВ	17	0	9	9	1
ВПГ-1 и ВПГ-2	16	15	3	0	0

Примечание. * – в том числе 18 проб, содержащих IgG только к ВПГ-1, и 2 пробы с IgG к ВПГ обоих типов.

иммуноферментных тест-системах, в том числе при определении суммарных антител к ВПГ обоих типов (табл. 1). Эти данные свидетельствуют о сопоставимой чувствительности мультиплексного теста, выявляющего антитела класса G к трем вирусам одновременно, и метода ИФА для отдельного определения IgG.

Наличие в сыворотках IgG к двум или трем возбудителям одновременно не влияло на чувствительность и специфичность определения IgG с гомологичным антигеном. Из общего числа проб, не содержащих IgG к ЦМВ ($n = 59$), ВПГ-1 ($n = 58$) или ВПГ-2 ($n = 189$), правильно определены 56 (94,9%), 58 (100%) и 189 (100%) проб соответственно, что свидетельствует о высокой специфичности метода ФОСФАН, предусматривающего использование рекомбинантных вирусспецифических белков. Пробы, в которых по данным ИФА антитела не выявлены ни к одному из 3 вирусов, в ФОСФАН также определены как отрицательные. Специфичность выявления суммарных антител к ВПГ с лизатным антигеном была ниже, чем с рекомбинантными белками gG1 и gG2: 94,7% против 100% (табл. 2).

Разработанный иммуночип обеспечивал правильное определение IgG к ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2 в 39 (97,5%) из 40 и в 20 (100%) из 20 положительных проб из состава контрольных панелей, содержащих антитела класса G к ЦМВ или ВПГ-1-го и 2-го типов соответственно. При анализе отрицательных проб, не содержащих IgG к ЦМВ ($n = 17$), ВПГ-1 и ВПГ-2 ($n = 16$), с рекомбинантными антигенами трех вирусов антитела не выявлены ни в одной из проб; в аналогичном исследовании с лизатным антигеном ВПГ-1/2 получено 3 ложноположительных результата (табл. 3).

Обсуждение

Иммуночип, разработанный нами на основе технологии ФОСФАН, продемонстрировал возможность правильного определения IgG одновременно к трем герпесвирусам – ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2, при этом достигнутые значения чувствительности и специфичности были сопоставимы с показателями коммерческих иммуноферментных тест-систем.

Полученные результаты подтвердили целесообразность включения в состав иммуночипа рекомбинантных антигенов gG1 и gG2 для типоспецифического определения

IgG к ВПГ 1-го и 2-го типов [11, 12], а также рекомбинантного мозаичного антигена, содержащего иммунодоминантные последовательности белков pp150, pp52, pp28 и gB, для эффективного выявления антител к ЦМВ [18].

Вопрос о целесообразности включения лизатных антигенов ВПГ-1/2 в состав иммуночипов остается дискуссионным. Скрининговые тест-системы для выявления суммарных IgG к ВПГ-1/2 по-прежнему выпускаются рядом компаний («Euroimmun», «Medac», ООО «Диагностические системы» и др.). В наших исследованиях лизатные антигены при сопоставимой чувствительности (см. табл. 1 и 3) были существенно менее специфичными (см. табл. 2 и 3). В настоящее время такие тесты не рекомендуют использовать из-за неспособности выявлять антитела к ВПГ-2 у анти- ВПГ-1-серопозитивных пациентов, ошибочной идентификации антител у пациентов, инфицированных только одним типом ВПГ, и низкой точности по сравнению с системами на основе gG1 и gG2 гликопротеинов [19, 20].

Представленные результаты могут рассматриваться как основа для создания коммерческих мультиплексных тестов для высокопроизводительного скрининга герпесвирусных и других инфекций TORCH-комплекса в клинической лаборатории.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1–17, 19, 20 см. REFERENCES)

18. Никитина А.В., Помелова В.Г., Соколова М.В., Осин Н.С., Мardanly С.Г. Выбор антигенов для определения иммуноглобулина G к цитомегаловирусу на основе технологии ФОСФАН™. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60 (10): 36–9.

REFERENCES

1. Brown Z.A. HSV-2 specific serology should be offered routinely to antenatal patients. *Rev. Med. Virol.* 2000; 10 (3): 141–4.
2. Newton E.R. Diagnosis of perinatal TORCH infections. *Clin. Obstet. Gynecol.* 1999; 42 (1): 59–70.
3. Benedetti J.K., Corey L., Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann. Intern. Med.* 1994; 121 (11): 847–54.
4. Koutsky L.A., Ashley R.I., Holmes K.K., Stevens C.E., Wolner-Hanssen P., Critchlow C.W. et al. The frequency of unrecognized type 2 herpes simplex virus infection among women: implications for the control of genital herpes. *Sex. Transm. Dis.* 1990; 17 (2): 90–4.
5. Sucato G., Wald A., Wakabayashi E., Vieira J., Corey L. Evidence of latency and reactivation of both herpes simplex virus (HSV-1) and HSV-2 in the genital region. *J. Infect. Dis.* 1998; 177 (4): 1069–72.
6. Kit S., Trkula D., Qavi H., Dreesman G., Kennedy R.S., Adler-Storthz

- K. et al. Sequential genital infections by herpes simplex viruses types 1 and 2: restriction nuclease analyses of viruses from recurrent infections. *Sex. Transm. Dis.* 1983; 10 (2): 67–71.
7. al Samarai A.M., Shareef A.A., Kinghorn G.R., Potter C.W. Sequential genital infections with herpes simplex virus types 1 and 2. *Genitourin Med.* 1989; 65 (1): 39–41.
8. Brown Z.A., Benedetti J., Ashley R., Burchett S., Selke S., Berry S. et al. Neonatal herpes simplex virus infection in relation to asymptomatic maternal infection at the time of labor. *N. Engl. J. Med.* 1991; 324 (18): 1247–52.
9. Brown Z.A., Selke S., Zeh J., Kopelman J., Maslow A., Ashley R.L. et al. Acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337 (8): 509–15.
10. Whitley R.J., Roizman B. Herpes simplex virus infections. *Lancet.* 2001; 357 (9267): 1513–8.
11. McGeoch D.J., Moss H.W., McNab D., Frame M.C. DNA sequence and genetic content of the HindIII I region in the short unique component of the herpes simplex virus type 2 genome: identification of the gene encoding glycoprotein G, and evolutionary comparisons. *J. Gen. Virol.* 1987; 68 (Pt.1): 19–38.
12. Tunbäck P., Bergström T., Löwhagen G.B., Hoebeke J., Liljeqvist J.A. Type-specific reactivity of anti-glycoprotein G antibodies from the herpes simplex virus infected individuals is maintained by single or dual type-specific residues. *J. Gen. Virol.* 2005; 86 (Pt.2): 247–51.
13. Jiang L., Yu Z., Tang Z., Jiang T., Zhang C., Lu Z. Protein arrays based on biotin-streptavidin system for the simultaneous detection of TORCH infections. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2008; 8 (5): 2286–92.
14. Mezzasoma L., Bacarese-Hamilton T., Di Cristina M., Rossi R., Bistoni F., Crisanti A. Antigen microarrays for serodiagnosis of infectious diseases. *Clin. Chem.* 2002; 48 (1): 121–30.
15. Wu D., Wu Y., Wang L., Xu W., Zhong Q. Evaluation of a novel array-based toxoplasma, rubella, cytomegalovirus, and herpes simplex virus IgG enzyme linked immunosorbent assay and its comparison with Virion/Serion enzyme linked immunosorbent assays. *Ann. Lab. Med.* 2014; 34 (1): 38–42.
16. Osin N.S., Pomelova V.G. Multi-array immunophosphorescence technology for the detection of pathogens. In: Georgiev V.S., Western K.A., McGowan J.J., eds. *Frontiers in Research. National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH*. Totowa, NJ: Humana Press; 2008.
17. Pomelova V.G., Korenberg E.I., Kuznetsova T.I., Bychenkova T.A., Bekman N.I., Osin N.S. C6 peptide-based multiplex Phosphorescence Analysis (PHOSPHAN) for serologic confirmation of Lyme Borreliosis. *PLoS One.* 2015; 10 (7): e0130048.
18. Nikitina A.V., Pomelova V.G., Sokolova M.V., Osin N.S., Mardanly S.G. The choice of antigens for the determination of immunoglobulin G to the cytomegalovirus based PHOSPHAN™ technology. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 60 (10): 36–9. (in Russian)
19. Wald A., Ashley-Morrow R. Serological testing for herpes simplex virus (HSV)-1 and HSV-2 infection. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 35 (Suppl. 2): 173–82.
20. LeGoff J., Péré H., Bélec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. *Virol. J.* 2014; 11: 83–99.

Поступила 15.03.16

Принята в печать 11.10.16