

## ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Акиншина Ю.А.<sup>1</sup>, Марданлы С.Г.<sup>1,2</sup>, Ротанов С.В.<sup>1,3</sup>, Гашенко Т.Ю.<sup>1,2</sup>

### ОДНОЭТАПНОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup> АО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Россия;

<sup>2</sup> ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГГТУ»), 142611, г. Орехово-Зуево, Россия;

<sup>3</sup> ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), 142279, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Россия

*Представлены результаты разработки и апробации набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала «ИХА-ОКИ вирус-тест», разработанного АО «ЭКОлаб» для быстрого одноэтапного качественного определения в образцах кала человека антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов методом иммунохроматографического анализа (ИХА) с целью первичной дифференцированной диагностики острых кишечных инфекций человека. Показана высокая диагностическая информативность результатов разработанного набора.*

**Ключевые слова:** Rotavirus; Adenoviridae; Norovirus; Astrovirus; клиническая микробиология; иммунохроматография; образцы кала

**Для цитирования:** Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Гашенко Т.Ю. Одноэтапное выявление маркеров возбудителей острых кишечных вирусных инфекций у человека. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (2): 97-106. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106>

**Для корреспонденции:** Акиншина Юлия Александровна, к.б.н., руководитель научно-производственного отдела ИХТС АО «ЭКОлаб»; e-mail: [akinshina.opr@mail.ru](mailto:akinshina.opr@mail.ru)

**Финансирование.** Исследование финансировалось АО «ЭКОлаб».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.04.2024

Принята к печати 14.05.2024

Опубликовано 15.06.2024

*Akinshina Yu.A.<sup>1</sup>, Mardanly S.G.<sup>1,2</sup>, Rotanov S.V.<sup>1,3</sup>, Gashenko T.Yu.<sup>1,2</sup>*

### ONE-STAGE DETECTION OF MARKERS OF CAUSES OF ACUTE INTESTINAL VIRAL INFECTIONS IN HUMANS

<sup>1</sup> JSC «EKOlabor», 142530, Elektrogorsk, Russia;

<sup>2</sup> State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia;

<sup>3</sup> Federal budgetary institution of Science «State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор (FSBI "SSC PMB" of Rosпотребнадзор), 142279, Serpukhov, Obolensk, Russia

*The results of the development and testing of a set of reagents "Immunochromatographic test system for the qualitative determination of rota-, adeno-, noro- and astrovirus antigens in stool samples "IChA-OKI virus test", developed by JSC "EKOlabor" for rapid one-step qualitative determination in samples are presented. human stool antigens of rota-, adeno-, noro- and astroviruses using immunochromatographic analysis for the purpose of primary differentiated diagnosis of acute intestinal infections (AIE) caused by viruses. The results of the developed set have been shown to be highly diagnostic.*

**Key words:** Helicobacter pylori; Rotavirus; Adenoviridae; Norovirus; Astrovirus; clinical microbiology; immunochromatography; stool samples

**For citation:** Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Gashenko T.Yu. One-stage detection of markers of causes of acute intestinal viral infection in humans. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases)*. 2024; 29 (2): 97-106 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106>

**For correspondence:** Yuliya A. Akinshina, Cand. Sci. (Biol.), specialist of the Innovative Development Department CJSC «EKOlabor»; e-mail: [akinshina.opr@mail.ru](mailto:akinshina.opr@mail.ru)

**Acknowledgment.** The study was funded by EKOLab JSC.

**Conflict of interests.** The authors declare the absence of conflict of interests.

**Information about authors:**

Akinshina Yu.A., <https://orcid.org/0000-0002-9223-3455>;  
Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>;  
Rotanov S.V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>;  
Gashenko T.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-2287-2507>.

Received 25.04.2024

Accepted 14.05.2024

Published 15.06.2024

**Введение.** Острые нарушения функции кишечника у людей разного возраста и пола встречаются часто и имеют широкое распространение практически во всех регионах мира. Возникновение дисфункции в подавляющем большинстве случаев бывает обусловлено нарушением санитарии и гигиены, то есть присоединением и размножением инфекционных агентов. Заражение происходит алиментарным путем (распространение кишечных патогенов фекально-оральным или контактно-бытовым способом), редко через органы дыхания; факторами передачи служат обсемененные пищевые продукты и вода, пыль или аэрозоль воздуха. Природа возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ) человека весьма разнообразна, это: облигатно и условно патогенные бактерии, вирусы, грибы, простейшие, паразиты и варианты сочетанных поражений одновременно несколькими патогенами (микст-инфекции). Выбор метода лабораторного обследования пациента в каждом конкретном случае зависят от особенностей клинических проявлений заболевания, что обусловлено видом инфицирующего возбудителя.

Идентификацию бактериальных возбудителей ОКИ начинают с выделения чистой культуры на плотных питательных средах, нередко с использованием селективных сред. Определение инфекционных патогенов вирусной природы предполагает применение высокочувствительных и трудозатратных молекулярно-генетических технологий; в редких случаях применяется культивирование вирусов на куриных эмбрионах (при проведении научных исследований). Изыскания конца XX века позволили значительно глубже изучить структуру возбудителей ОКИ вирусной природы, выявить в них наиболее характерные генетические, белковые и мукополисахаридные структуры, а также разработать технологические подходы для лабораторного выявления диагностических маркеров таких патогенов с целью установления этиологического диагноза у конкретного пациента.

Среди вирусов, имеющих тропность к тканям пищеварительного тракта человека с последующим развитием острого инфекционного процесса, сопровождающегося умеренно выраженной интоксикацией и диареей, относят следующие: рота-, калици- (норо- и вирус Норфолк), астро-, адено- (типы 40 и 41), энтеровирусы и некоторые другие. Ряд вирусов человека имеет выраженную склонность к преимущественному поражению тканей печени и селезенки (вирусы гепатитов А, В, С, Д и Е) или системным

поражениям, с умеренно выраженным воспалительным компонентом со стороны кишечника (цитомегаловирусы, группа герпесвирусов и другие).

В эпидемиологических исследованиях было установлено, что в развитых странах около 90 % небактериальных гастроэнтеритов связано с ротавирусами и норовирусами [1-3].

**Ротавирусы (Rotavirus)** - род вирусов семейства *Reoviridae*, имеют двунитевую фрагментированную РНК. Они наиболее изучены из возбудителей ОКИ. При электронной микроскопии внешний вид частиц ротавируса напоминает колесо (лат. *rota* - «колесо»), что определило из название. Ротавирусы устойчивы в окружающей среде. В геноме ротавируса имеется 11 фрагментов, которые кодируют синтез белков: шести структурных (VP1-VP7) и пяти неструктурных (NSP1-NSP5). Сердцевина (core) ротавируса окружена трехслойной белковой оболочкой (капсидом). Наружный капсид состоит из двух структурных белков: VP7 (G-протеин) и VP4 (P-протеин), основное назначение которых заключается в первичной адсорбции и обеспечении проникновения вируса в эпителиоциты стенки тонкого кишечника человека; по их наличию ротавирусы подразделяют G и P серотипы. Основным структурным белком внутреннего капсида является белок VP6, особенности его строения позволяют подразделять ротавирусы на 9 серологических групп; у людей встречаются типы 1-4 и 8-9, другие типы характерны для вирусов, поражающих животных [1, 4, 5].

Ротавирус является наиболее частой причиной развития гастроэнтерита у детей, у взрослых ротавирусная инфекция встречается реже, благодаря приобретённому иммунитету. Ротавирус высоко контагиозен, вызывает острое инфекционное заболевание с умеренно выраженными симптомами гастроэнтерита, иногда в сочетании с респираторным синдромом в начальном периоде болезни; характерна сезонность: ротавирусами чаще заражаются в холодное время года. Инкубационный период длится от 15 часов до нескольких суток, начало заболевания острое, с тошнотой, рвотой, диареей, иногда лихорадкой. При отсутствии лечения к этим проявлениям могут добавиться обезвоживание (I-II степени), нарушение электролитного и кислотно-щелочного баланса. Иногда ротавирусная инфекция протекает бессимптомно. После перенесенного заболевания иммунитет нестойкий (вырабатываются антитела к структурным белкам VP7 и VP4), возможны рецидивы. К пятилетнему возрасту практически все дети переносят ротавирусную инфекцию. С каждым заражением вырабатывается иммунитет к данному типу вируса, и последующие заражения этим серотипом протекают легче [6, 7].

**Норовирус (*Norovirus*)** - РНК-содержащий вирус семейства *Caliciviridae* (от латинского *calix* - чашечка), приводящий к возникновению желудочно-кишечной инфекции в форме острого гастроэнтерита. По данными зарубежной литературы норовирус – наиболее частый возбудитель вспышек ОКИ небактериальной этиологии, что объясняется его низкой инфицирующей дозой (достаточно 10 вирионов) и высокой устойчивостью в окружающей среде.

Инкубационный период при норовирусной инфекции составляет 24-48 часов. Ведущим симптомом при норовирусной инфекции является рвота, диарейный синдром менее выражен; нередко протекает в форме острого гастрита; характерно острое начало заболевания: повышение температуры, озноб, миалгия, головокружение, головная боль.

Норовирусы классифицируются на шесть генотипов: для человека наиболее патогенными являются вирусы GI (род *Norwalk*), GII, GIV; с преобладанием распространенности GII (выделено до 19 генотипов, среди них GII.3, GII.6, GII.12 ассоциированы с передачей через продукты питания). По современным литературным данным, эта высоко контагиозная инфекция способна проявляться в виде единичных и групповых случаев или вспышек [4-6, 8, 9].

К поражению норовирусами восприимчивы люди всех возрастных групп, но чаще - дети школьного возраста и взрослые. Инфицирование норовирусами вызывает появление специфических сывороточных антител (IgM и IgG), а также повышение синтеза IgA в тонком кишечнике, которые блокируют контакт вирусной частицы с эпителиоцитами и препятствуют повторному инфицированию клеток слизистой оболочки кишечника. Формируется краткосрочный (6-14 недель) и долгосрочный (9-15 месяцев) специфический иммунитет, на более длительное время (27-42 месяца) иммунитет не сохраняется. Существует генетически обусловленная невосприимчивость (до 15% в популяции) к норовирусной инфекции (люди с I группой крови заболевают чаще, в то время как - с III и IV группами крови - менее восприимчивы к возбудителю).

Размножение и накопление как ротавирусов, так и норовирусов происходит в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, вызывая их гибель и замещение незрелыми клетками, не способными полноценно абсорбировать питательные вещества, что приводит к клинике осмотической диареи. Вирусы накапливаются в слизистой оболочке кишечника, затем попадают в просвет кишки и выводятся с фекалиями. Патогенетически важны значительные потери жидкости и электролитов (дегидратация II-III степени). В небольших количествах вирусы поражают и клетки слизистой оболочки толстой кишки.

Несмотря на несколько меньшую в сравнении с ротавирусами и норовирусами распространенность, астровирусы (*Astrovirus*, РНК-содержащие звездчатой формы) занимают значительную долю среди кишечных инфекций человека; они чаще встречаются у детей (особенно в возрасте 2-4 лет), но способны поражать и взрослых. Семейство *Astroviridae* включает 2 рода: *Avastrovirus* (вирус птиц) и *Mamastrovirus* (вирус млекопитающих). К настоящему времени идентифицировано 8 серотипов мамастровирусов: детей чаще поражают 1 и 2 серотипы (генотипы), лиц старшего возраста – 4-й

серотип вируса [1, 8, 9].

Инфекция проявляется симптомами острого гастроэнтерита (общее недомогание, головная боль, тошнота, диарея, небольшое повышение температуры, иногда рвота), у трети больных - с явлениями колита. Заболевание длится не более 5 дней, специфического лечения не требует и заканчивается выздоровлением. Сезонность для астровирусных гастроэнтеритов не характерна, хотя пик заболеваемости отмечается в холодное время года.

Нередко астровирусная инфекция протекает бессимптомно. Выделение вируса с калом происходит в течение 3-х недель с момента заражения, поэтому выявление возбудителя рекомендуется проводить именно в эти сроки. Возрастает значение астровирусов в развитии диарей у лиц с иммунодефицитами (включая ВИЧ-инфекцию), а также при нозокомиальных инфекциях. При изучении распространенности астровирусной инфекции у детей установлено, что до 71% детей в возрасте 3-4-х лет имеют в сыворотке крови антитела к астровирусам, хотя в анамнезе у них признаки перенесения заболевания отсутствовали.

Кишечные аденовирусы относятся к семейству *Adenoviridae* (род *Mastadenovirus*); это ДНК-содержащие (двухцепочечная, линейная) вирусы, капсид которых имеет икосаэдрическую симметрию и антенноподобные выступы (фибры) на каждом из 12 углов. Связь с развитием ОКИ в настоящее время доказана в отношении только аденовирусов группы F (40 и 41 типы). Репликация вирусов осуществляется в ядре клеток.

Аденовирусная кишечная инфекция не обладает клиническими особенностями, позволяющими дифференцировать ее от других ОКИ. В России аденовирусы группы F занимают 4-5 место по распространенности среди вирусных ОКИ патогенов (2-22% случаев диарейных инфекций у детей). Отмечается более длительное течение в сравнении с ротавирусной инфекцией, меньшая лихорадка и дегидратация. Диарея продолжается 6-9 дней (но может варьировать от 4 до 23 дней). Аденовирусы могут передаваться при контакте с инфицированным человеком или через вирусные частицы, оставленные на предметах, полотенце и ручках кранов. Вирус передается через воду в недостаточно хлорированных бассейнах. Реконвалесцент выделяет вирус до 50 дней и более. Не характерен сезонный подъем заболеваемости; чаще болеют дети от 6 месяцев до 2 лет (особенно высока заболеваемость во вновь сформированных детских коллективах) [6, 8, 9].

По Международной классификации болезней X пересмотра [10] клинический статистический учет ОКИ вирусной природы осуществляется в рубриках:

A08.0 - Ротавирусный энтерит;

A08.1 - Острая гастроэнтеропатия, вызванная Норовирусом;

A08.2 - Аденовирусный энтерит;

A08.3 - Другие вирусные энтериты;

A08.4 - Вирусная кишечная инфекция неуточненная;

A08.5 - Другие уточненные кишечные инфекции.

Этиологическая верификация клинического диагноза при вирусных ОКИ возможна с использованием современных лабораторных технологий (уровень убедительности рекомендаций – С и уровень доказатель-



ности – 5):

- электронной микроскопии (высокозатратные исследования при относительно невысокой чувствительности, в настоящее время имеют в основном научно-прикладное применение);

- молекулярно-генетических исследований (определение РНК или ДНК в полимеразной цепной реакции – ПЦР - наиболее перспективном методе определения возбудителей вирусных ОКИ; аттестуемом высокой чувствительностью и специфичностью: выявляет до  $10^2$  частиц на 1 мл материала);

- иммунохроматографических исследованиях кала на антигены соответствующих вирусов;

- серологические (иммунохимические) методы определения специфических иммуноглобулинов в крови к специфическим структурам вируса - более чувствительны, чем электронная микроскопия, но значительно уступают чувствительности ПЦР [7-8, 11].

Согласно официальной статистике, в России до 65-67 % воспалительных заболеваний желудка и кишечника составляют ОКИ неуточненной этиологии. Если возбудитель инфекции неизвестен, эффективность противоэпидемических мероприятий ограничивается. Соотношение частоты выявления вирусных и бактериальных патогенов варьирует в разных возрастных группах: у детей до 3-х лет на долю вирусных агентов приходится 80-90 % заболеваний, на долю бактериальных – 10-20 %; среди взрослых пациентов доля вирусных возбудителей снижается до 30% [8].

Таким образом необходимо признать, что в настоящее время в практическом здравоохранении имеются проблемы с верификацией патогенов у больных с вирусными ОКИ.

**Цель** работы - разработка набора реагентов для качественного определения антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала пациентов в формате иммунохроматографического экспресс-исследования для первичной дифференциальной диагностики этиологического фактора.

**Материал и методы.** В основу разрабатываемого набора реагентов была взята технология иммунохроматографического качественного определения в биологических образцах человека специфических компонентов исследуемых патогенов [11-16]. Принципиальной новацией при разработке дизайна новой тест-кассеты была попытка применения формата мультипараметрического одноэтапного определения сразу нескольких вирусных маркеров в рамках одного лабораторного исследования. Как следует из цели работы, в качестве биологических образцов для выявления в них вирусных маркеров ОКИ служили водные разведения образцы кала, получаемые от больного человека.

Для получения рабочих конъюгатов использовали золотохлористоводородную кислоту, Gold (III) chloride hydrate (фирма «Aldrich», кат. № 254169-500MG), цитрат натрия трехзамещенный, Sodium citrate tribasic dehydrate (фирма «Sigma», кат. № S4641-25G) и моноклональные антитела к ротавирусу, норовирусам 1 и 2 геногрупп, астровирусу, аденовирусу и мышинные иммуноглобулины класса G. Размеры и однородность получаемых наночастиц коллоидного золота (НЧ-КЗ) контролировали спектрофотометрически и с помощью просвечивающей электронной микроскопии.

При создании реакционных тест-полосок, на которых происходят иммунохимические реакции, использовали:

- подложку из полилита (синтетической бумаги на полипропиленовой основе, не содержащей целлюлозы и древесных волокон, что придает ей большую стойкость к воздействию водных солевых растворов, жировых включений, химикатов и температуры);

- нитроцеллюлозные мелкопористые материалы:
  - впитывающая мембрана для нанесения образца (фирма «MDI», Индия, Type GFB-R7L), толщиной 0,6-0,8 мм, плотностью  $270 \pm 20$  г/м<sup>2</sup>;

- мембрана для нанесения конъюгата (фирма «MDI», Индия, Type PT-R1);

- иммуносорбент - нитроцеллюлозная мембрана с большой пропускной способностью (фирма «MDI», Индия, Type CNPC-SS12, 15 мкм) толщиной 185 мкм  $\pm 20$  %;

- мембрана для адсорбции (фирма «MDI», Индия, Type AP110) толщиной 0,2-0,5 мм и плотностью  $179 \pm 5$  г/м<sup>2</sup>.

Приготовление необходимых растворов осуществляли на деионизованной воде с удельным сопротивлением 18,2 Ом·м при 25 °С («Simplicity System», фирмы «Millipore», США). Для стерилизующей фильтрации деионизованную воду пропускали через набор фильтров с калиброванным размером пор 0,45 и 0,22 мкм (фирмы «Millipore», США).

Для оценки работоспособности и качества компонентов разработанного теста в качестве рабочих контрольных материалов разрабатывали панель стандартных образцов предприятия (СОП), содержащих и не содержащих антигены изучаемых вирусов (ротавирусов, норовирусов, аденовирусов, астровирусов).

Для проведения клинических испытаний по оценке показателей диагностической информативности разработанного набора реагентов были использованы биологические образцы (пробы кала), потенциально содержащие ( $n=200$ ) и не содержащие ( $n=100$ ) вирусы ОКИ человека (см. таблицу), полученные от больных и здоровых лиц, обращавшихся за обследованием и получением медицинской помощи в Диагностический референт-центр «El Clinic» АО «ЭКОлаб» (лицензия № ЛО-50-01-006551 от 08.04.2015 г.).

Все полученные образцы маркировали, идентифицировали, аликвотировали в пробирки-эппендорфы, подвергали заморозке и хранению в морозильной камере при температуре минус 20 °С. Перед проведением испытаний образцы кала полностью размораживали и доводили до комнатной температуры.

В качестве наборов реагентов сравнения при разработке нового набора реагентов и панели СОП были использованы:

- наборы реагентов «ЭТА Ротавирус и Аденовирус» для качественного обнаружения антигенов ротавирусов и/или аденовирусов в образцах кала человека методом иммунохроматографии» (ООО "Эталон Продакшн"; РУ РЗН 2022/16954 от 18.04.2022; серия 220811-09);

- наборы реагентов «ЭТА Норовирус GI и GII» для качественного обнаружения антигенов Норовируса 1-й и/или 2-й геногруппы в кале человека методом иммунохроматографии» по ТУ 21.20.23-003-18023326-2020 (ООО "Эталон Продакшн", Россия; РУ № РЗН

2022/18476 от 07.10.2022; серия 220507-14);

- тест-системы для лабораторной экспресс-диагностики инфекционных заболеваний «Диагностический экспресс-тест для качественного определения антигена астровируса “Astrovirus One Step Assay” (“Новамед Лтд.”, Израиль; РУ № ФСЗ 2011/09636 от 18.05.2021; серия 6040-0921;

- наборы реагентов для выявления возбудителей

вирусных кишечных инфекций методом ПЦР «Амплиценс® ОКИ виро-скрин-FL» по ТУ 21.20.23-276-01897593-2017 (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; РУ № РЗН 2021/13776 от 23.01.2023 серия 020123).

Все исследования образцов проводили в строгом соответствии с Инструкциями по применению наборов реагентов сравнения и набора «ИХА-ОКИ-вирус-тест».

Характеристика образцов биологического материала

№ п/п	Характеристика панели образцов кала человека	Количество образцов
1	Образцы, содержащие антигены ротавируса	50
2	Образцы, содержащие антигены аденовируса	30
3	Образцы, содержащие антигены астровируса	8
4	Образцы, содержащие антигены норовируса I геногруппы	6
5	Образцы, содержавшие антигены норовируса II геногруппы	6
6	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норовируса II) и витамин С в концентрации до 0,3 мг/мл	24
7	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норовируса II) и витамин В <sub>5</sub> в концентрации до 0,3 мг/мл	24
8	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норовируса II) и витамин В <sub>6</sub> в концентрации до 0,3 мг/мл	24
9	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норовируса II) и ибупрофен в концентрации до 3 мг/мл	24
10	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норо-вируса II) и азитромицин в концентрации до 3 мг/мл	24
11	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норо-вируса II) и гемоглобин в концентрации до 5 мкг/мл	24
12	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовируса I или норовируса II) и билирубин в концентрации до 0,5 мкг/мл	24
13	Образцы, содержащие антигены только одного из вирусных патогенов ОКИ (рота- или адено- или астро- или норовирус I или норовирус II) и лактоферрин в концентрации до 5,0 мкг/мл	24
14	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов	100
15	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие витамин С в концентрации до 0,3 мг/мл	20
16	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие витамин В <sub>5</sub> в концентрации до 0,3 мг/мл	20
17	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие витамин В <sub>6</sub> в концентрации до 0,3 мг/мл	20
18	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие ибупрофен в концентрации до 3,0 мкг/мл	20
19	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие азитромицин в концентрации до 3,0 мкг/мл	20
20	Образцы, не содержавшие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие гемоглобин в концентрации до 5,0 мкг/мл	20
21	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие билирубин в концентрации до 0,5 мкг/мл	20
22	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие лактоферрин в концентрации до 5,0 мкг/мл	20
23	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Corynebacterium diphtheriae</i> (бацилла Леффлера) в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	3
24	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Shigella sonnei</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	5
25	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> кл / мл	2
26	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Clostridium difficile</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	5
27	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Shigella dysenteriae</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	5
28	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Shigella flexneri</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	2
29	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Helicobacter pylori</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	2
30	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Proteus mirabilis</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	2
31	Образцы, не содержащие антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов и содержавшие <i>Escherichia coli</i> в концентрации 1,0 x 10 <sup>7</sup> клеток /мл	5

**Результаты и обсуждение.** В соответствии с существующей технологией разработки новых иммунохроматографических наборов реагентов и имеющимся у авторов опытом в рамках настоящего исследования были проведены следующие необходимые подготовительные работы [9-12].

**Получение НЧ-КЗ.** Из золотохлористоводородной кислоты по методу Френса получали наночастицы коллоидного золота (НЧ-КЗ) со средним размером 30–80 нм; (фирма АО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 268.2); полученный продукт НЧ-КЗ имел максимальный показатель поглощения проходящего света с при длине волны 524-525 нм.

**Получение конъюгатов для ИХА.** На основе частиц НЧ-КЗ готовили конъюгаты НЧ-КЗ с моноклональными антителами к предполагаемым для определения возбудителям вирусных ОКИ (ротавирусу человека, аденовирусу человека, норовирусу 1-й геногруппы, норовирусу 2-й геногруппы, астровирусу) и конъюгаты НЧ-КЗ с мышинными иммуноглобулинами класса G. При этом опытно-экспериментальным путем осуществляли подбор количественных соотношений используемых реагентов для оптимальной их конъюгации. Смесь реагентов инкубировали при постоянном перемешивании в течение 30 мин при температуре 20-22 °С; процесс конъюгации останавливали путем добавления 10 % стерильного водного раствора бычьего сывороточного альбумина до конечной его концентрации 0,25 %. Контроль эффективности конъюгации проводили при построении и последующем анализе флоккуляционных кривых, отражающих агрегацию конечного продукта реакции в растворе высокой ионной силы [12].

Конъюгаты НЧ-КЗ с иммобилизованными на них антителами путем центрифугирования в течение 30 минут при 10 000 g отделяли от солиобилизованных антител; супернатант удаляли, а осадок конъюгатов ресуспендировали в 10 мМ трис-НСl буфера, содержащего бычий сывороточный альбумин, сахарозу и азид натрия. Полученные конъюгаты антител и НЧ-КЗ хранили при 4–6 °С до момента нанесения на мембраны.

**Подготовка мембран с конъюгатами.** В соответствии с целью разработки мультипараметрического набора, позволяющего в результате одного одноэтапного лабораторного исследования дифференцированно определять сразу несколько маркеров возбудителей вирусных ОКИ, нами были разработаны 3 варианта мембран с конъюгатами:

- мембрана с конъюгатами НЧ-КЗ с моноклональными антителами к ротавирусу и аденовирусу и НЧ-КЗ с мышинными иммуноглобулинами класса G;
- мембрана с конъюгатами НЧ-КЗ с моноклональными антителами к астровирусу и НЧ-КЗ с мышинными иммуноглобулинами класса G;
- мембрана с конъюгатами НЧ-КЗ с моноклональными антителами к норовирусу 1-й геногруппы и норовирусу 2-й геногруппы и НЧ-КЗ с мышинными иммуноглобулинами класса G.

Рабочее разведение каждого конъюгата объемом по 20 мл (навеска конъюгата в буферном растворе: натрий гидрофосфат безводный 1,5 %, поливинило-вый спирт 0,5 %, альбумин бычий сывороточный 1 %, тритон-X-100 0,1 %, азид натрия 0,2%, при pH = 7,4) вносили в неглубокую ванночку, в нее погружали ли-

сты мембраны для конъюгата размерами 20,4 x 25,4 см и качали по 15 минут с каждой стороны на орбитальном шейкере при комнатной температуре. Сушку мембран проводили в течение 24 часов при комнатной температуре (18-25 °С) и относительной влажности не более 30 %; сухие мембраны нарезали на полоски по 0,9 см на автоматическом резаке.

**Подготовка впитывающей мембраны для нанесения образца.** Листы мембраны для образца 20,4 x 25,4 см погружали в ванночки, содержащие по 50 мл буферного раствора (трис-оксиметил аминометан 1 %, трис оксиметил аминометан гидрохлорид 0,1 %, казеинат натрия соль 1 %, поливинилпирролидон 0,1%, азид натрия 0,02 % и твин-20 0,01 %; при pH = 8,0) и обеспечивали полное пропитывание по 15 минут с каждой стороны при инкубации на орбитальном шейкере. После чего мембраны для образца высушивали в течение 24 часов при комнатной температуре (18-25 °С) и относительной влажности не более 30 %; подготовленные мембраны нарезали на полоски длиной по 1,9 см на автоматическом резаке.

**Подготовка иммуносорбента.** На листы нитроцеллюлозной мембраны с большой пропускной способностью (фирма «MDI», Индия, Туре CNPC-SS12, 15 мкм), толщиной 185 мкм ± 20 % и размером 30 x 4 мм с помощью диспенсера марка HGS510 (фирма «AUTOKUN», Китай) наносили тестовые и контрольные линии (из расчета 2 мкл на 1 см), соответственно содержащие:

- для тест-полоски с определением ротавируса и аденовируса: тестовая линия Т-1 - моноклональные антитела (клон 3С10сс) к ротавирусу человека (ООО «Хайтест», Москва, кат. № 3R10), тестовая линия Т-2 – моноклональные антитела (клон 1Е11, 8С4) к гексону аденовируса человека (ООО «Хайтест», Москва, кат. № 3AV13); контрольная линия С - козы антитела к IgG мыши (АО «ЭКОлаб», Россия, кат. №268.4);

- для тест-полоски с определением норовирусов: тестовая линия Т-1 - моноклональные антитела (клон М59880) к норовирусу 1-й геногруппы (фирма «MyBioSource», США, кат. № MBS833983), тестовая линия Т-2 - моноклональные антитела (клон М59881) к норовирусу 2-й геногруппы (фирма «MyBioSource», США, MBS834532); контрольная линия С - козы антитела к IgG мыши (АО «ЭКОлаб», Россия, кат. №268.4);

- для тест-полоски с определением астровируса: тестовая линия - моноклональные антитела (клон 8Е7) к астровирусу (фирма «MyBioSource», США, кат. № MBS214478); контрольная линия С - козы антитела к IgG мыши (АО «ЭКОлаб», Россия, кат. №268.4).

Сушку мембран с нанесенными антителами осуществляли в течение 24 часов при комнатной температуре (18-25 °С) и относительной влажности не более 30 %.

**Подготовка мембраны для адсорбции.** Мембраны для адсорбции не требовали обработки, их нарезали на полоски по 1,5 см на автоматическом резаке.

**Сборку и нарезку тест-полосок (мастершита)** проводили при комнатной температуре (18-25 °С) и относительной влажности не более 30 % (рис. 1). Собранный мастершит нарезали в поперечном направлении на тест-полоски шириной по 4 мм на высокоскоростном резаке марки HGS210 (фирма «AUTOKUN», Китай).



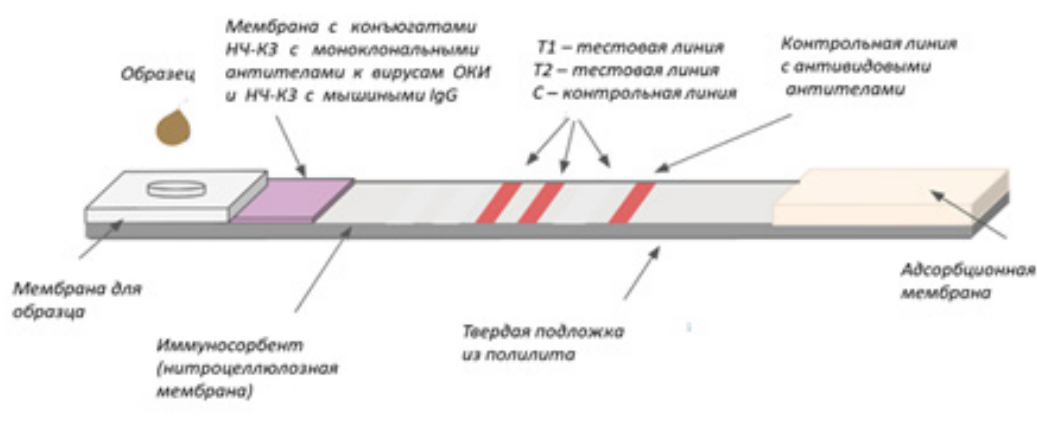


Рис. 1. Схема сборки мастершита и схема исследования.

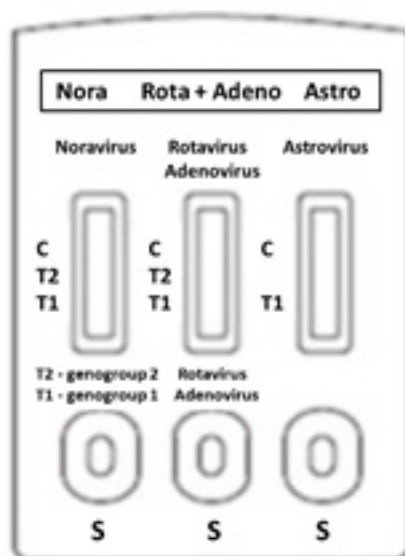


Рис. 2. Схема размещения тест-полосок на кассете для тест-системы иммунохроматографической, позволяющей качественно определять антигены рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала.

Таким образом, на предприятии АО «ЭКОлаб» была разработана конструкция 3 вариантов специфически сенсibilизированных иммунохроматографических тест-полосок для определения маркеров вирусов ОКИ, которые для удобства и стандартизации условий последующего применения заключали в одну пластиковую кассету (рис. 2).

Набор необходимых компонентов для проведения лабораторных иммунохроматографических исследований по выявлению антигенов вирусных ОКИ получил название «ИХА-ОКИ-вирус-тест». Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала).

Маркетологи и экономисты учреждения обосновали решение о вариантах комплектации набора: № 1 – для 20 исследований и комплектации № 2 – для 25 исследований. Наборы включают индивидуальные флаконы-капельницы (для разведения исследуемого образца ка-

ла), пипетки Пастера (для отбора жидкого кала) и индивидуальные иммунохроматографические тест-кассеты.

**Подготовка контрольных материалов для оценки качества набора реагентов.** Для контроля валидности и соответствия компонентов разработанного набора реагентов «ИХА-ОКИ-вирус-тест» требованиям нормативной документации (ТУ 21.20.23-268-70423725-2023) и изучения показателей диагностической эффективности результатов исследования с набором были разработаны контрольные материалы, содержащие и не содержащие антигены изучаемых вирусов ОКИ человека (ротавирусов, норовирусов, аденовирусов, астровирусов), панель стандартных образцов предприятия (СОП-268), включавшую 4 контрольных образца:

- образец № 1 - не содержал антигены рота-, норо-, адено- и астровирусов;
- образец № 2 - характеризовался содержанием антигенов вирусов ОКИ ниже аналитической способности

новой тест-системы: ротавируса в концентрации менее 3,12 нг/мл, антигены аденовируса в концентрации менее 0,78 нг/мл, антигены норовируса 1-й геногруппы в концентрации менее 91,4 нг/мл, антигены норовируса 2-й геногруппы в концентрации менее 10 нг/мл;

- образец № 3 - содержал антигены вирусов ОКИ на уровне аналитической возможности разработанного набора реагентов: ротавируса в концентрации 3,12 нг/мл, антигены аденовируса в концентрации 0,78 нг/мл, антигены астровируса норовируса 1-й геногруппы в концентрации 91,4 нг/мл, антигены норовируса 2-й геногруппы в концентрации 10 нг/мл;

- образец № 4 - содержал антигены ротавируса в концентрации, превышающей 3,12 нг/мл, антигены аденовируса в концентрации, превышающей 0,78 нг/мл, антигены астровируса норовируса 1-й геногруппы в концентрации, превышающей 91,4 нг/мл, антигены норовируса 2-й геногруппы в концентрации, превышающей 10 нг/мл).

**Принцип работы.** В основе разработанного набора реагентов «ИХА-ОКИ-вирус-тест» реализована технология качественного одноэтапного иммунохроматографического определения специфических маркеров вирусов ОКИ человека (рота-, адено-, норо- и астровирусов) в солиобилизованных образцах, приготовленных из проб кала, полученных от пациента.

При наличии в исследуемой пробе антигенов вирусов ОКИ человека они захватываются на мембране с конъюгатами, соответствующими специфическим конъюгатам (моноклональные антитела к антигенам соответствующего вируса, меченные НЧ-К3). Результатом такого взаимодействия являются иммунные комплексы «вирусный антиген исследуемой пробы + антитело конъюгата + НЧ-К3», которые мигрируют с током смачивающей жидкости вдоль мембран. В тестовых зонах (Т) мембран происходит «заякоривание» этих комплексов благодаря взаимодействию с иммобилизованными на указанном участке моноклональными антителами к антигенам соответствующего вируса ОКИ с образованием окрашенного комплекса «антитело подложки + вирусный антиген исследуемой пробы + антитело конъюгата + НЧ-К3». Появление цветной линии в соответствующей Т-зоне указывает на положительный результат (качественное выявление в исследуемой пробе антигенов вирусов ОКИ), а отсутствие образования окрашенной линии - на отрицательный (отсутствие в пробе антигенов вирусов ОКИ или их наличие, но в количественных ниже уровня аналитической чувствительности теста). Не вступившие в реакцию в Т-зоне конъюгаты продвигаются далее вдоль мембраны, взаимодействуют с антивидами антителами в С-зоне с образованием окрашенной полосы. Цветная контрольная линия должна проявляться по окончании любого исследования, независимо от наличия антигенов вирусов ОКИ в образцах, что являлось внутренним контролем валидации рабочей мембраны. Отсутствие окрашенной полосы в конце исследования свидетельствует о нарушении качества использованной мембраны, результат определения считается недействительным, и требуется повторное исследование пробы с другой валидной мембраной.

Исследования проводили при комнатной температуре. Для каждого образца использовали отдельную тест-кассету из набора реагентов.

**I. Оценка соответствия двух последовательных серий набора «ИХА-ОКИ-вирус-тест» требованиям нормативной документации с контрольными материалами СОП-268 двух разных серий** (образцы № 1 и № 2 – не содержащие антигены вирусов ОКИ в количествах, соответствующих аналитическим возможностям набора и образцы № 3 и № 4 - содержащие все антигены вирусов ОКИ в разной концентрации).

Результаты испытаний установили развитие выраженной окраски в С-зонах через 10-12 минут наблюдения для образцов № 1 и № 2 СОП-268 и в Т- и С-зонах для образцов № 3 и № 4 СОП-268, что позволило оценить полное соответствие качества обеих рабочих серий набора «ИХА-ОКИ-вирус-тест» требованиям по ТУ 21.20.23-268-70423725-202) по показателям аналитической чувствительности и специфичности, а также воспроизводимости и времени достижения устойчивых результатов.

**II. Изучение влияния на результаты определений с набором «ИХА-ОКИ-вирус-тест» возможных интерферирующих эндогенных и экзогенных факторов химической и микробной природы.**

Исследование проведено с двумя последовательными опытно-экспериментальными сериями набора «ИХА-ОКИ-вирус-тест» и 383 образцами кала, исследованными с целью выявления возможной интерференции или влияния на результат потенциально перекрестно-реагирующих веществ эндогенной и экзогенной природы (витамины С, В<sub>3</sub> и В<sub>6</sub>, ибупрофен, азитромицин, гемоглобин, билирубин, лактоферрин в повышенных концентрациях) или 9 бактериальных агентов (*Corynebacterium diphtheriae* - бацилла Леффлера, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Clostridium difficile*, *Shigella dysenteriae*, *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*); из них - 192 образца содержали антигены вирусов ОКИ (рота-, адено-, норо- или астровируса) и 191 образец не содержал указанные антигены ОКИ.

Результаты исследования 192 образцов, содержащих антигены вирусов ОКИ (рота-, адено-, норо- или астровируса) и потенциально интерферирующие факторы по времени появления и интенсивности развития окраски, характеру специфического ответа не отличались от аналогичных параметров в контроле (с образцами, не содержащими интерферирующие факторы). Результаты исследования 191 образца, не содержащего антигены вирусов ОКИ и содержащие потенциально интерферирующие факторы по времени появления и интенсивности развития окраски в С-зонах, отсутствию специфического ответа в Т-зонах, не отличались от соответствующих параметров в контроле (с образцами, не содержащими антигены вирусов ОКИ и интерферирующие факторы).

Таким образом, было установлено отсутствие перекрестного влияния изученных биохимических, лекарственных и микробных факторов на специфический ответ и время достижения устойчивого результата исследования с иммунохроматографическими тест-кассетами набора «ИХА-ОКИ-вирус-тест».

Результаты проведенных исследований позволили завершить процесс подготовки нормативной сопроводительной документации (Инструкция по применению и ТУ 21.20.23-268-70433725-2023) на разработанный



в АО «ЭКОлаб» иммунохроматографический набор реагентов «ИХА-ОКИ-вирус-тест» Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала» и представить указанные материалы вместе с опытно-экспериментальными сериями набора

реагентов для официальной регистрации в Российской Федерации в установленном порядке.

Получено разрешение на использование набора реагентов в лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации при оказании населению медицинской помощи (РУ № РЗН 2024/21948 от 30.01.24) (рис. 3).



Рис. 3. Регистрационное удостоверение на медицинское изделие «ИХА-ОКИ-вирус-тест» Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала».

### Выводы:

1. Проведенные исследования позволили разработать и организовать производственный выпуск набора реагентов «ИХА-ОКИ-вирус-тест» Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигенов рота-, адено-, норо- и астровирусов в образцах кала»; набор создан в формате одноэтапного экспресс-теста, позволяющего оперативно получить информацию об инфицировании и качественном определении сразу пяти основных вирусов ОКИ человека. Получено разрешение на использование набора в медицинских организациях Российской Федерации.

2. Испытания опытно-производственных серий разработанного набора реагентов показали его достаточно высокое качество по показателям аналитической чувствительности и специфичности, воспроизводимости результатов и времени достижения устойчивых результатов (по ТУ 21.20.23-268-70423725-2023).

3. Результаты испытаний набора реагентов «ИХА-

ОКИ вирус-тест» на образцах, содержащих интерферирующие и потенциально перекрестно реагирующие экзогенные и эндогенные вещества химической или микробной природы; показали, что данные факторы в испытанных концентрациях не влияют на положительные и отрицательные результаты определения в образцах кала человека антигенов вирусов ОКИ (рота-, адено-, норо- и астровирусов).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Литусов Н.В. Частная вирусология: Иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: Уральский государственный медицинский университет; 2018.
2. Никонорова М.А., Карбышева Н.В., Шевцова Е.А., Бесхлебова О.В. Этиология острых кишечных инфекций вирусной природы в Алтайском крае. Этиология острых кишечных инфекций вирусной природы в Алтайском крае. *Эпидемиология и инфекционные*

- болезни. 2020; 25(5): 200-9.
- Бурдова Е.Ю., Минаева П.В., Кожевникова Г.М. О роли и перспективах совершенствования диагностики инфекционных заболеваний в судебно-медицинской экспертной практике. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2023; 28(6): 363-72.
  - Манкевич Р.Н., Галькевич Н.В., Матуш Л.И. Вирусные диареи у детей: Учебно-методическое пособие. Минск: Белорусский государственный медицинский университет; 2021.
  - Новокшонов А.А., Мазанкова Л.Н., Учайкин В.Ф. Клинические рекомендации по диагностике и лечению ОКИ у детей в зависимости от типа диареи. *В помощь практическому врачу*. 2013; 4 (8): 62–73.
  - Кишечные инфекции (2024). Источник: <https://ivgmu.ru/attachments/48300?ysclid=lue2ecnaht867715939> (Доступен с 29.03.2024).
  - Ротавирусный гастроэнтерит у детей: *Клинические рекомендации*. ID: 755. М.: Минздрав РФ; 2023.
  - Малов В.А., Горобченко А.Н., Городнова Е.А. Вирусные гастроэнтериты. *Лечащий врач*. 2002; 11. Источник: <https://www.lvrach.ru/2002/11/4529817> (Доступен с 22.11.2002)
  - Лукиянова А.М., Бехтерева М.К., Птичникова Н.Н. Клинико-эпидемиологическая характеристика вирусных диарей у детей. *Журнал инфектологии*. 2014; 6(1): 60–6.
  - Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Источник: <https://mkb-10.com/index.php?pid=481> (Доступен с 30.03.2024).
  - Акиншина Ю.А., Марданлы С.С., Киселева В.А. Иммунохроматографический тест для дифференцированного выявления антител классов М и G к коронавирусу SARS-CoV-2. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(11): 688-92. DOI: 10.51620/0869-2084-2020-65-11-688-692.
  - Мальшев В.В., Змеева Т.А., Гумилевский Б.Ю. Прорывные технологии в пробоподготовке и детекции кишечных вирусов и их маркеров в полевых условиях. *Известия ГГТУ*. 2022; 2: 9-13.
  - Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Помазанов В.В., Киселева В.А. О количественном определении D-димера в крови иммунохроматографическим методом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(2): 91-6. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-02-91-96.
  - Серякова П.В., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для качественного определения миоглобина. *Известия ГГТУ*. 2022; 1: 53-4.
  - Акиншина Ю.А., Гумилевский Б.Ю., Змеева Т.А., Мальшев В.В., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. и др. Разработка иммунохроматографического набора реагентов для выявления ротавирусов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (11): 672-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679.
  - Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Об иммунохроматографическом выявлении *Helicobacter pylori* у человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (2): 14-8.
  - Nikonorova M.A., Karbysheva N.V., Shevtsova E.A., Beskhebova O.V. Etiology of acute intestinal infections of viral character in the Altai territory. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2020; 25(5): 200-9. DOI: 10.17816/EID58736. (in Russian)
  - Burdova E.Yu., Minaeva P.V., Kozhevnikova G.M. On the role and prospects for improving the diagnosis of infectious diseases in forensic medical expert practice. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2023; 28(6): 363-72. DOI: 10.17816/EID623160. (in Russian)
  - Mankevich R.N., Galkevich N.V., Matush L.I. Viral diarrhea in children. Minsk: Belorusskiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet; 2021. (in Russian)
  - Novokshonov A.A., Mazankova L.N., Uchaikin V.F. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of acute intestinal infections in children depending on the type of diarrhea. *Vpomoshch' prakticheskomu vrachu*. 2013; 4 (8): 62–73. (in Russian)
  - Intestinal infections: Lecture. (In Russ.). Available: <https://ivgmu.ru/attachments/48300?ysclid=lue2ecnaht867715939> (accessed 29 March 2024).
  - Rotavirus gastroenteritis in children: *Klinicheskie rekomendatsii*. ID:755. Ministry Moscow: Minzdrav RF; 2023. (in Russian)
  - Malov V.A., Gorobchenko A.N., Gorodnova E.A. Viral gastroenteritis. *Lechashchiy vrach*. 2002; 11: Available: <https://www.lvrach.ru/2002/11/4529817> (accessed 11 November 2002). (in Russian)
  - Luk'yanova A.M., Bekhtereva M.K., Ptichnikova N.N. Clinical and epidemiological characteristics of viral diarrhea in children. *Zhurnal infektologii*. 2014; 6(1): 60–6. (in Russian)
  - International classification of diseases, 10<sup>th</sup> revision (ICD-10).] Available: <https://mkb-10.com/index.php?pid=481> (accessed 28 March 2024).
  - Akinshina Yu.A., Mardanly S.S., Kiseleva V.A. Immunochromatographic test for the differentiated detection of antibodies of classes M and G to the SARS-CoV-2 coronavirus. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(11): 688-92. DOI: 10.51620/0869-2084-2020-65-11-688-692. (in Russian)
  - Malyshev V.V., Zmeeva T.A., Gumilevsky B.Yu. Breakthrough technologies in sample preparation and detection of intestinal viruses and their markers in field conditions. *Izvestiya GGTU*. 2022; 2: 9-13. (in Russian)
  - Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Pomazanov V.V., Kiseleva V.A. On the quantitative determination of D-dimer in blood by immunochromatographic method. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(2): 91-96. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-02-91-96. (in Russian)
  - Seryakova P.V., Mardanly S.G. Development of an immunochromatographic test system for the qualitative determination of myoglobin. *Izvestiya GGTU*. 2022; 1: 53-4. (in Russian)
  - Akinshina Yu.A., Gumilevskij B.Ju., Zmeeva T.A., Malyshev V.V., Mardanly S.G., Rotanov S.V. et al. Development of an immunochromatographic set of reagents for the detection of rotaviruses *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (11): 672-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679. (in Russian)
  - Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V. On the immunochromatographic detection of *Helicobacter pylori* in humans. *Klinicheskaya laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69 (2): 14-8. DOI: 10.18821/0869-2084-2024-69-2-14-18. (in Russian)

## REFERENCES

- Litusov N.V. Private virology: Illustrated textbook. Ekaterinburg: Ural'skiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet; 2018. (in Russian)