



## ВОЗМОЖНОСТИ АВТОМАТИЗАЦИИ ПОИСКА ВИРУСОВ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

С.А. Шоларь<sup>1,2</sup>, О.А. Степанова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Морской гидрофизический институт РАН, РФ, г. Севастополь, ул. Капитанская, 2  
E-mail: sa.sholar@mail.ru

<sup>2</sup>Институт природно-технических систем, РФ, г. Севастополь, ул. Ленина, 28  
E-mail: solar-ua@ya.ru

В работе представлен краткий обзор существующих экспресс методов индикации и идентификации вирусов, в т.ч. черноморских альговирюсов, в лабораторном и полевом материале, включая воду гидросферы. Описываемые в литературе и среди патентов приборы и методы основаны на молекулярно-генетических, иммунных и иммунохимических, электрических, биосенсорных, фотоизобразительных и других свойствах и реакциях. Проанализированы преимущества и недостатки описанных методов и установок. Сформулированы предложения по автоматизации некоторых из этих способов – реакции коагуляции и полимеразной цепной реакции.

**Ключевые слова:** экспресс методы индикации и идентификации вирусов, морские вирусы, черноморские альговирюсы, реакция коагуляции (РКА), полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Поступила в редакцию: 31.05.2023. После доработки: 11.07.2023.

**Введение.** Поиск и изоляция, как мониторинг вирусов – широко распространенное слежение за циркуляцией различных вирусов, являющихся патогенными для флоры и фауны на нашей Планете, и выполняемое путем изучения полевых проб, отбираемых из природы, или материалов от здоровых и/или больных людей (пробы крови, ликвор, смывы, частицы тканей и пр.) [1].

В настоящее время с учетом бурного развития морской вирусологии появилась потребность в создании простых и доступных, в т.ч. и автоматизированных способов определения наличия некоторых альговирюсов и их концентрации непосредственно в изучаемых акваториях для получения экспресс оценки экологической ситуации [1].

Еще в прошлом веке Бреховских Л.М. задумывался о возможном создании подобных автоматизированных приборов, что отражено в его монографии: «В ближайшем будущем надо ожидать развития техники биологических исследований. Возникнут приборы, которые позволят определять количество хлорофилла, первичную и вторичную продукцию на любом горизонте при помощи такого же зондирования, как теперь происходит зондирование температуры и солености» [2].

Целью представляемой работы являются краткий обзор и анализ имеющейся в публикации литературы по применению автоматизации при биологических исследованиях и созданных для этого приборов, установок и устройств.

**Способы мониторинга с использованием автоматизированных подходов.** Среди публикаций и описанных приборов, методик и патентов на основе автоматизированных подходов встречаются сведения о некоторых автоматизированных установках и устройствах для биологических исследований, как на клеточном (организменном), так и на геномном уровне. Часто для этих целей создаются системы и устройства для обнаружения аналитов (мишеней) на основе амплификации (используется при проведении полимеразной цепной реакции – ПЦР), прямого счета бактериальных и вирусных частиц определенных размеров (цитометрия), их распознавания на фотографиях, учет ответных поведенческих реакций, использование антиген-антительных связей (иммунология, иммунохимия) в визуально наблюдаемых конгломератах и пр.

*Системы и устройства для обнаружения аналитов на основе амплификации (используется при проведении ПЦР).* Так создано устройство [3] для распо-

знания и/или идентификации патогенных и геномных материалов, белков и/или других макро- и молекул или биомаркеров. Такое устройство может задействовать микрофлюидику, биохимию и электронику для обнаружения одной или более мишеней одновременно в полевых условиях. Система содержит аналитический картридж, включающий тестовую ячейку, содержащую возбуждающий электрод и сенсорный электрод. Тестовая ячейка выполнена с возможностью вмещать образец, включающий целевой агент, подвергающийся процессу амплификации. Целевой агент содержит нуклеиновую кислоту и считывающее устройство с областью, выполненной с возможностью принимать аналитический картридж, а также нагреватель, располагающийся таким образом, чтобы нагревать используемый аналитический картридж внутри полости. Во время протекания амплификации на возбуждающий электрод подается ток возбуждения. После этого принимаемый сигнал от сенсорного электрода раскладывается на составляющую активного сопротивления и составляющую реактивного сопротивления. В ответ на определение возникновения перепада сигнала выводится положительный результат теста или в ответ на определение отсутствия перепада сигнала выводится отрицательный результат теста.

Данная система обладает высокой чувствительностью, однако устройство является дорогостоящим, а эксплуатация и оценка результатов требует специально обученного персонала. Такая сложность в доступности не позволит широко использовать данное устройство в полевых регулярных исследованиях.

Тем не менее, среди отечественных исследователей имеются работы по мониторингу вирусов водоемов (виروпланктона) с использованием молекулярных методик на уровне генетических (геномных) изменений, проводимые в Иркутском Лимнологическом институте СО РАН [4–6]. Также работы в этом направлении (на уровне геномов) выполняются и учеными из стран СНГ – Казахстана [7].

*Цитометрия.* Одним из методов ав-

томатизации может быть количественная оценка численности виروпланктона (вирусной составляющей) с помощью широко используемой проточной (или поточной) цитометрии и флуорохрома (к примеру, SYBR Gold [5, 8]). Однако цитометрия (счет клеток), а при подсчете вирусов – вирометрия, позволяет проводить счет всех вирусов (всех представителей виропланктона) определенного размера без их идентификации (определения принадлежности к хозяину). Этот метод – «проточная вирометрия» (flow virometry) – широко используется в практике определения количественных характеристик вирусов водоемов, в т.ч. и в экомониторинге вирусов гидросферы [9–12].

Для идентификации в данном случае [5] используют длинный алгоритм действий, который можно применять и в любом другом случае изучения проб воды из гидросферы с целью индикации и идентификации искомым морских вирусов. При этом необходимо выделить вирусную фракцию путем центрифужной концентрации. Затем провести фильтрацию проб воды (объем 50 мл) последовательно через поликарбонатные фильтры (Millipore) с диаметром пор 1.2, 0.45 и 0.22 мкм для сепарации микроводорослей, бактерий и других одноклеточных микроорганизмов. И уже потом образцы используют в полимеразной цепной реакции (ПЦР) без предварительного выделения ДНК в присутствии имеющихся праймеров к гену искомого вируса.

Как можно справедливо отметить, цитометрия, а вернее вирометрия, не является методом для индикации и идентификации водных вирусов в пробах воды. Эта методика вполне приемлема для сезонных и экологических сравнительных исследований численности различных размерных представителей вирусной составляющей.

*Распознавание по фотографии.* Автоматическое обнаружение и классификация микрообъектов в морской среде на изображениях (помимо тривиальной обработки вручную с использованием эксперта) применяет подходы, осуществляющие свертку изображений по заранее заданным массивам шаблонов с последующей кластеризацией и устранением коллизий.

Недостатком такого подхода является высокая вероятность ложных срабатываний детектора и вычислительная сложность, не позволяющая использовать его в реальном масштабе времени [13].

Даже с развитием нейронных сетей [14] по внешнему виду однозначно идентифицировать вирус без ДНК анализа (анализа генома) не представляется возможным. Многие вирусы имеют морфологическое сходство (внешне похожи по размерам и форме), но принадлежат к разным таксономическим группам, инфицируя разных хозяев.

*Поведенческие, ответные, сенсорные реакции вирусов.* Теоретически возможно для выявления и идентификации некоторых вирусов использование их биосенсорных свойств. Например, зная сенсорную ответную реакцию на магнитное и/или электромагнитное поле альговирuсов разных видов микроводорослей [15, 16], можно было бы использовать это свойство для их идентификации. Однако исследований в данном направлении пока крайне мало. И при этом необходимо длительное время (не менее суток) воздействия данных физических нагрузок (магнитное и электромагнитное воздействие) на изучаемые нано объекты.

*Мониторинг альговирuсов по авторской методике их изоляции.* Данная методика, описанная и в монографии авторов [1], заключается в пассаже исследуемой пробы (например, пробы морской воды) в жидкую культуру микроводоросли (хозяин искомого альговирuса) в логарифмической стадии ее роста в стабилизирующей среде Гольдберга – опыт. В контроль культуры микроводоросли добавляют пастеризованную или стерильную морскую воду. Используют объемы по 2,0 мл каждого ингредиента.

При фиксировании наблюдаемых визуально различий (вирусный лизис в опыте и его отсутствие в контроле), предполагают наличие вируса к используемой микроводоросли. Наблюдения за опытом и контролем проводят до 20 дней, однако обычно уже на 4–5 сутки можно получить положительный ответ о присутствии искомого альговирuса в пробе анализируемой морской воды.

Определение концентрации альговирuса в изучаемых пробах морской воды выполняют путем титрования с использованием десятикратного разведения.

Данный метод отличается простотой, высокой чувствительностью и специфичностью, а также и результативностью, однако требует много времени (от 2–3 дней до 20 суток).

*Реакция коаггутинации (РКА).* РКА относится к числу ускоренных, регулярно воспроизводимых, простых и высокочувствительных методов, обеспеченных доступными реагентами, и позволяющих оперативно исследовать большое число проб. Принцип этой реакции основан на способности белка А золотистого стафилококка штамма Cowan-1 соединиться с Fc-фрагментом IgG человека и некоторых животных. При этом Fab-фрагменты антитела остаются свободными для связывания с гомологичным антигеном, в присутствии которого наблюдается невооруженным глазом коаггутинация (появление конгломератов на фоне просветления ранее мутной среды) [17, 18].

Еще с конца прошлого XX века РКА и ее модификации применяются в вирусологии для идентификации вирусов гриппа [19], герпеса и ветряной оспы [20], ротавирусов [21], энтеровирусов [22], вирусов птиц [23], рыб [24], растений [25] и др.

С 1985 г. РКА успешно используется для ускоренной диагностики арбо- и аренавирусных инфекций, индикации и идентификации этих вирусов, а также вируса осповакцины как в лабораторном, так в полевом и клиническом материалах [18]. Эмпирическим путем были определены оптимальные условия приготовления и хранения антительных стафилококковых диагностикумов (АТСД). Было установлено, что для устранения спонтанной коаггутинации и для повышения специфичности РКА необходима предварительная обработка сывороток, используемых для сенсibilизации стафилококкового реагента, содержащего белок А, 25%-ным раствором каолина на физиологическом растворе в соотношении 1:1 в течении 30 мин. Обработка сывороток каолином обеспечивает получение высокоспецифичных и высокоактивных диагностических препаратов для

ускоренной индикации и идентификации вирусов [17, 18].

Успешное использование метода коаггутинации предполагает более широкое его применение не только в рамках названных вирусных инфекций, а также и более широкого круга вирусов, в т.ч. и для альговирусов. Метод можно применять не только в стационарных лабораторных, но и в полевых условиях, что обусловлено следующими его характеристиками [17, 18]:

- экономическая целесообразность (РКА дешевле других иммунологических методов);
- высокая чувствительность (не уступает ряду современных иммунологических и иммунохимических методов);
- высокая специфичность (не более 1-2% ложноположительных результатов);
- свойства экспресс метода, быстрота получения ответа (через несколько минут от начала постановки реакции);
- а также простота постановки и проведения (на предметное стекло наносят по одной капле АТСД и исследуемого материала).

Однако в каждом конкретном случае режим сенсibilизации стафилококкового реагента имеет свои особенности, определяющиеся рядом факторов, в частности свойствами сенсibilизирующего материала (источника антител – иммунной сыворотки), таксономической принадлежностью вируса (как антигена) и некоторыми другими моментами, обусловленными биологией вируса и хозяина. Поэтому для создания АТСД к различным вирусам необходимо разрабатывать специфические для их семейств и таксонов оптимальные параметры. Особый интерес для приготовления АТСД представляют моноклональные антитела, использование которых может повышать чувствительность и специфичность положительных реакций, а также позволяет выявлять родственные антигенные связи между вирусами [18].

**Возможности для автоматизации некоторых методов и способов индикации и идентификации вирусов непосредственно в воде водоемов.** По нашему мнению, для создания зонда

(для автоматизации процесса индикации и идентификации отдельных представителей вирусной составляющей в воде) для определения количественного состава виروпланктона на данный момент можно использовать реакцию коаггутинации (РКА) или ПЦР.

В случае применения автоматизации РКА это будет оптическая система, которая выявит положительную реакцию (наличие искомого вируса) по изменению мутности (повышения прозрачности) с появлением фиксируемых конгломератов. По нашему мнению, автоматизация этого процесса наиболее оптимальна, т.к. РКА проста, дешева и легко воспроизводима. Изменение прозрачности водной среды под воздействием вирусного лизиса описано как зарубежными исследователями [26–28], так и в нашей обзорной работе [29]. Однако в случае РКА возможно принципиально другое устройство по выявлению изменения прозрачности и появлению конгломератов (соединений антител, расположенных в АТСД, с антигенами). Вероятно, это будет устройство типа фотореле. А для контакта антигена (исследуемый образец пробы) с АТСД (антителом) также будет выбрано оптимальное устройство, например, стеклянный капилляр.

В случае автоматизации на основе ПЦР, будет задействована электрическая система, которая по перепаду сигналов между сенсорным и возбуждаемым электродом, возникающем при положительном результате, определит протекание ответной реакции на наличие искомого вируса. Однако этот метод (ПЦР) – сложен по постановке, требует дорогостоящих препаратов и специальной подготовки персонала. Одним из недостатков ПЦР является и требование к определенному температурному режиму, который может быть энергозатратным и ограничивает автономность зонда.

**Заключение.** Таким образом, несмотря на большое количество исследований в автоматизации процессов мониторинга биообъектов, универсального решения для однозначной индикации и идентификации вирусов непосредственно в воде гидросферы в автоматическом

режиме пока нет, хотя некоторый задел, как и идеи, в данном направлении уже существуют.

По мнению авторов одним из оптимальных способов автоматизации экспресс метода индикации и идентификации вирусов непосредственно в воде гидросферы может быть использование реакции коаглютинции в специально разработанном для этих целей зонде. И при этом такой зонд в дальнейшем может быть использован для индикации и идентификации других вирусов, в т.ч. и особо опасных, что потребует лишь создания разных АТСД. Под этим углом зрения подобный зонд может быть применен в качестве арсенала для борьбы с биологическим оружием, т.к. позволит своевременно быстро и качественно определять в пробах воды из гидросферы, а особенно из мест водозабора, представителей особо опасных вирусных объектов. А это в свою очередь путем карантинных и иных профилактических мероприятий предотвратит развитие быстро разрастающихся эпидемических процессов.

Авторы предполагают, что создание зонда для автоматизированной индикации и идентификации разных вирусов непосредственно в воде гидросферы будет востребовано как со стороны медицины (эпидемиологами), так и в области предотвращения применения и распространения биологического оружия (военными).

*Работа выполнена в рамках государственной темы ФИЦ МГИ РАН № FNNN-2021-0003 «Оперативная океанология» и государственного задания ИПТС по теме "Разработка новых средств и измерительных информационных технологий исследований природных вод" (№ госрегистрации 121122300070-9).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Степанова О.А., Шоларь С.А. Мониторинг черноморских альговирусов. Севастополь: Изд-во ИПТС. 2022. 115 с.
2. Бреховских Л.М. Океан и человек: Настоящее и будущее. М.: Наука. 1987. 304 с.
3. Патент RU 2772116. Оpubл. 17.05.2022, Бюл. № 14. Способы, системы и устройства для обнаружения аналитов. Авторы Пирсон Ш., Михан Т.Д., Монтгомери К.У. и др.
4. Дрюккер В.В., Потапов С.А., Горшкова А.С., Белых О.И. Бактериофаги озера Байкал. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2020. 110 с.
5. Butina T.V., Potapov S.A., Belykh O.I., Mukhanov V.S., Rylkova O.A., Damdinsuren N., Chojdash B. Molecular genetic diversity of the Myoviridae family cyanophages in Lake Khövsgöl (Mongolia) // *Molecular Biology*. 2014. Vol. 48. No. 6. P. 906–910.
6. Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krasnoperov A.Yu., Kabilov M.R., Tupikin, A.E., Chebunina N.S., Belykh O.I. Metagenomic analysis of virioplankton from the pelagic zone of Lake Baikal // *Viruses*. 2019. Vol. 11. No. 11. P. 991–1005.
7. Алексюк М.С., Богоявленский А.П., Алексюк П.Г., Молдаханов, Е.С., Омиртаева Э.С., Березин В.Е. Разнообразие альговирусов в заливе Бутакова Малого Аральского моря // *Современные вызовы для биотехнологии, ветеринарии и медицины: Материалы Международной научно-практической конференции*. Пгт. Гвардейский, НИИ проблем биологической безопасности, 3 июня 2020 г. С. 157–160.
8. <https://ibssequipment.at.ua/index/virioplankton/0-18> (дата обращения: 01.05.2023).
9. Lebaron P., Nicolas J.C., Baudoux A.C. Can we use Flow cytometry to analyse the dynamic of virus-host system? // *Ecology of marine viruses: CIESM Workshop Monographs*. Banyuls-sur-mer, 19–22 March 2003. P. 57–60.
10. Lippé R. Flow Virometry: A Powerful Tool to Functionally Characterize Viruses // *J. Virol*. 2018. Vol. 92. No. 3. P. E 01765–17.
11. Marie D., Brussard C.P., Thyraug R., Bratbak G., Vaulot D. Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry // *Appl. Environ. Microb*. 1999. Vol. 65. No. 1. P. 45–52.

12. Sandaa R., Larsen A. Seasonal Variations in Virus-Host Populations in Norwegian Coastal Waters: Focusing on the Cyanophage Community Infecting Marine *Synechococcus* spp // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006. Vol. 72. No. 7. P. 4610–4618.
13. Шишкин Ю.Е., Греков А.Н. Статистические методы кластеризации изображений гидробионтов // *Системы контроля окружающей среды*. 2020. № 1 (39). С. 153–159.
14. Шишкин Ю.Е., Пелюшенко С.С., Маврин А.С. Применение модели Yolov5 для обнаружения микрообъектов в морской среде // *Системы контроля окружающей среды – 2022: Тезисы докладов Международной научно-практической конференции*. Севастополь, ИПТС, 08–11 ноября 2022 г. С. 57.
15. Stepanova O.A., Gaisky P.V., Sholar S.A. Influence of a constant magnetic field on the infectious titer of the Black Sea algal viruses // *Biophysics*. 2022. Vol. 67. No. 2. P. 183–187.
16. Степанова О.А., Шоларь С.А., Пеньков М.Н. Результаты изучения влияния электромагнитного поля на морскую микробиоту // *Системы контроля окружающей среды*. 2023. № 2 (52). С. 32–39.
17. А.С. SU 1531661. Оpubл. 22.08.1989, Бюл. № 4. Способ приготовления антительного стафилококкового диагностикума для экспресс-идентификации вирусов. Авторы Скоферца П.Г., Степанова О.А., Спыну К.И.
18. Степанова О.А. Реакция коаггутинации для диагностики арбо- и аренавирусных инфекций и идентификации вирусов: Дисс. ... канд. мед. наук (спец. 03.02.02) М.: Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского. 1989. 155 с.
19. Pandya B.V., Thomson K.D., Linna T.J. Staphylococcal protein-A agglutination assay for avian-viruses // *Acta. Path. Micro. Im C*. 1981. Vol. 89. No. 4. P. 275–280.
20. Chan J.C., Teoh S.H., Aw S.E. Staphylococcal agglutination-inhibition reaction: a rapid and simple test for dengue antibodies // *Singap. Med. J*. 1975. Vol. 16. No. 3. P. 194–195.
21. Belaia I.A., Shekoian L.A., Drozdov S.G., Prozorovskii S.V., Belaia O.F. Diagnosis of rotavirus infection using coagglutination reactions // *Voprosy Virusologii*. 1985. Vol. 30. No. 2. P. 233–236.
22. Спыну К.И., Бuzдуган Г.И. Employment of protein A-containing staphylococcal reagent in the coagglutination test for identification of enteroviruses // *Voprosy Virusologii*. 1987. Vol. 32. No. 5. P. 595–597.
23. Mogensen S.C., Dichon T. Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus in clinical specimens by the use of staphylococcus aureus rich in protein A // *Acta path. micro. im. b*. 1983. Vol. 91. No. 1–6. P. 83–88.
24. Bootland L.M., Leong J.A. Staphylococcal coagglutination, a rapid method of identifying infectious hematopoietic necrosis virus // *Applied and Environmental Microbiology*. 1992. Vol. 58. No. 1. P. 6–13.
25. Козлов Л.П., Хазенсон С.Л., Обручков В.С., Шостань В.П. АБВ-тест – высокочувствительная реакция для быстрой диагностики вирусов картофеля и овощных культур // *Биолог. науки*. 1983. № 5. С. 109–111.
26. Simis S.G., Tijdens M., Hoogveld H.L., Gons H.J. Optical changes associated with cyanobacterial bloom termination by viral lysis // *Journal of Plankton Research*. 2005. Vol. 27. No. 9. P. 937–949.
27. Simis S.G., Tijdens M., Hoogveld H.L., Gons H.J. Optical signatures of the filamentous cyanobacterium *Leptolyngbya boryana* during mass viral lysis // *Limnology and oceanography*. 2007. Vol. 52. No. 1. P. 184–197.
28. Uitz J., Stramski D., Baudoux A.C., Reynolds R.A., Wright V.M., Dubranna J., Azam F. Variations in the optical properties of a particle suspension associated with viral infection of marine bacteria // *Limnology and oceanography*. 2010. Vol. 55. No. 6. P. 2317–2330.
29. Sholar S.A., Stepanova O.A. The Role of Viruses and Viral Lysis in Changing the Optical Properties of the Water Environment of their Habitat // *Biophysics*. 2021. Vol. 66. No. 2. P. 182–191.

### AUTOMATION POSSIBILITIES OF SEARCH FOR VIRUSES IN AQUATIC ENVIRONMENT

S.A. Sholar<sup>1,2</sup>, O.A. Stepanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FRC Marine Hydrophysical Institute of RAS, RF, Sevastopol, Kapitanskaya St., 2

<sup>2</sup>Institute of Natural and Technical Systems, RF, Sevastopol, Lenin St., 28

The paper presents a brief review of express methods for detection (indication) and identification of viruses, including Black Sea algal viruses, in laboratory and field material, including aquatic hydro spheres. Devices and methods described in papers and patents are based on genetic, immune and immunochemical, electrical, biosensor, photographic and other properties and observations. The advantages and disadvantages of the described methods and installations are analyzed. Proposals for the automation of some of these methods - coagglutination reaction and polymerase chain reaction are formulated.

**Ключевые слова:** express methods for indication and identification of viruses, marine viruses, Black Sea algal viruses, coagglutination reaction, polymerase chain reaction (PCR)

### REFERENCES

1. Stepanova O.A. and Sholar S.A. Monitoring chernomorskih al'govirusov (Monitoring of Black Sea algoviruses), Sevastopol: izd-vo IPTS, 2022, 115 p.
2. Brehovskih L.M. Okean i chelovek: Nastojashhee i budushhee (Ocean and man: Present and future), Moscow: Nauka, 1987, 304 p.
3. Pirson Sh., Mihan T.D., Montgomeri K.U., Ujejd D., Sastjerich D.M., Lord B.H. and Chiarello R.F. Sposoby, sistemy i ustrojstva dlja obnaruzhenija analitov (Methods, systems and devices for detecting analytes); Pat. 2772116. RU, opubl. 17.05.2022, byul. № 14.
4. Drjukker V.V., Potapov S.A., Gorshkova A.S., and Belyh O.I. Bakteriofagi ozera Bajkal (Bacteriophages of Lake Baikal), Novosibirsk: izd-vo SO RAN, 2020, 110 p.
5. Butina T.V., Potapov S.A., Belykh O.I., Mukhanov V.S., Rylkova O.A., Damdinsuren N., and Chojdash B. Molecular genetic diversity of the Myoviridae family cyanophages in Lake Khövsgöl (Mongolia), *Molecular Biology*, 2014, Vol. 48, No. 6, pp. 906–910.
6. Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krasnopeev A.Yu., Kabilov M.R., Tupikin, A.E., Chebunina N.S., and Belykh O.I. Metagenomic analysis of viroplankton from the pelagic zone of Lake Baikal, *Viruses*, 2019, Vol. 11, No. 11, pp. 991–1005.
7. Alexyuk M.S., Bogoyavlenskiy A.P., Alexyuk P.G, Moldakhanov Y.S., Omirtaeva E.S., and Berezin V.E. Raznoobrazie al'govirusov v zalive Butakova Malogo Aral'skogo morja (Diversity of algal viruses in Butakov Bay of the Small Aral Sea), *Sovremennye vyzovy dlja biotekhnologii, veterinarii i mediciny (Modern challenges for biotechnology, veterinary science and medicine)*, Mater. of the Intern. Scien. and Pract.Conf., Gvardeiskiy, 2020, pp. 157–160.
8. <https://ibsequipment.at.ua/index/virioplankton/0-18> (May 1, 2023).
9. Lebaron P., Nicolas J.C., and Baudoux A.C. Can we use Flow cytometry to analyse the dynamic of virus-host system? // *Ecology of marine viruses: CIESM Workshop Monographs. Banyuls-sur-mer*, 19–22 March 2003. P. 57–60.
10. Lippé R. Flow Virometry: A Powerful Tool to Functionally Characterize Viruses, *J. Virol*, 2018, Vol. 92, No. 3, pp. E 01765–17.
11. Marie D., Brussard C.P., Thyrrhaug R., Bratbak G., and Vaulot D. Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry, *Appl. Environ. Microb.*, 1999, Vol. 65, No. 1, pp. 45–52.
12. Sandaa R. and Larsen A. Seasonal Variations in Virus-Host Populations in Norwegian Coastal Waters: Focusing on the Cyanophage Community Infecting Marine *Synechococcus* spp, *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, Vol. 72, No. 7, pp. 4610–4618.
13. Shishkin J.E. and Grekov A.N. Statisticheskie metody klasterizacii izobrazhenij gidrobiontov (Statistical methods for hydrobiont images clustering), *Sistemy kontrolya okruzhayushchej sredy*, 2020, No. 1 (39), pp. 153–159.
14. Shishkin J.E., Peljushenko S.S., and Mavrin A.S. Primenenie modeli Yolov5 dlja obnaruzhenija mikroobektov v morskoy srede (Application of the Yolov5 model for the detection of micro-objects in the marine environment), *Sistemy kontrolya okruzhayushchej sredy – 2022 (Environmental Control Systems – 2022)*, International Scientific and Practical Conf., Sevastopol, 8–11 November 2022, Book of Abstracts, P. 57.

15. Stepanova O.A., Gaisky P.V., and Sholar S.A. Influence of a constant magnetic field on the infectious titer of the Black Sea algal viruses, *Biophysics*, 2022, Vol. 67, No. 2, pp. 183–187.
16. Stepanova O.A., Sholar S.A., and Penkov M.N. Rezul'taty izuchenija vlijanija jelektronnogo polja na morskuyu mikrobiotu (Results of studying the influence of variable electromagnetic field on marine microbiota), *Sistemy kontrolya okruzhayushchej sredy*, 2023, No. 2 (52), pp. 32–39.
17. Skofertsya P.G., Stepanova O.A., and Spynu K.I. Sposob prigotovleniya antitel'nogo stafilokokkovogo diagnostikuma dlja jekspress-identifikacii virusov (A method for preparing an antigenic staphylococcal diagnosis for the rapid identification of viruses); Pat. 1531661 SU. Opubl. 22.08. 1989, Byul. № 4.
18. Stepanova O.A. Reakcija koaggljutinacii dlja diagnostiki arbo- i arenavirusnyh infekcij i identifikacii virusov: Diss. kand. med. nauk (Coagglutination test for the diagnosis of arbo- and arenavirus infections and the identification of viruses. Cand. med. sci. thesis), Moscow: D.I. Ivanovskiy Institute of Virology, 1989, 155p.
19. Pandya B.V., Thomson K.D., and Linna T.J. Staphylococcal protein-A agglutination assay for avian-viruses, *Acta. Path. Micro. Im C.*, 1981, Vol. 89, No. 4, pp. 275–280.
20. Chan J.C., Teoh S.H., and Aw S.E. Staphylococcal agglutination-inhibition reaction: a rapid and simple test for dengue antibodies, *Singap. Med. J.*, 1975, Vol. 16, No. 3, pp. 194–195.
21. Belaia I.A., Shekoian L.A., Drozdov S.G., Prozorovskii S.V., and Belaia O.F. Diagnosis of rotavirus infection using coagglutination reactions, *Voprosy Virusologii*, 1985, Vol. 30, No. 2, pp. 233–236.
22. Spynu K.I. and Buzdugan G.I. Employment of protein A-containing staphylococcal reagent in the coagglutination test for identification of enteroviruses, *Voprosy Virusologii*, 1987, Vol. 32, No. 5, pp. 595–597.
23. Mogensen S.C. and Dichon T. Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus in clinical specimens by the use of staphylococcus aureus rich in protein A. *Acta path. micro. im. b.*, 1983, Vol. 91, No. 1–6, pp. 83–88.
24. Bootland L.M. and Leong J.A. Staphylococcal coagglutination, a rapid method of identifying infectious hematopoietic necrosis virus, *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, Vol. 58, No. 1, pp. 6–13.
25. Kozlov L.P., Hazenson S.L., Obruchkov V.S. and Shostan V.P. ABV-test – vysokochuvstvitel'naja reakcija dlja bystroj diagnostiki virusov kartofelja i ovoshnyh kul'tur (ABV-test – a highly sensitive reaction for the rapid diagnosis of potato and vegetable viruses), *Biologicheskie nauki*, 1983, No. 5, pp. 109–111.
26. Simis S.G., Tijdens M., Hoogveld H.L., and Gons H.J. Optical changes associated with cyanobacterial bloom termination by viral lysis, *Journal of Plankton Research*, 2005, Vol. 27, No. 9, pp. 937–949.
27. Simis S.G., Tijdens M., Hoogveld H.L., and Gons H.J. Optical signatures of the filamentous cyanobacterium *Leptolyngbya boryana* during mass viral lysis, *Limnology and oceanography*, 2007, Vol. 52, No. 1, pp. 184–197.
28. Uitz J., Stramski D., Baudoux A.C., Reynolds R.A., Wright V.M., Dubranna J., and Azam F. Variations in the optical properties of a particle suspension associated with viral infection of marine bacteria, *Limnology and oceanography*, 2010, Vol. 55, No. 6, pp. 2317–2330.
29. Sholar S.A. and Stepanova O.A. The Role of Viruses and Viral Lysis in Changing the Optical Properties of the Water Environment of their Habitat, *Biophysics*, 2021, Vol. 66, No. 2, pp. 182–191.