

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

Гар бичмэлийн эрхтэй ©

ГҮНРЭГЖАВЫН НЯМАА

**МОНГОЛ УЛСАД 2010-2013 ОНД ЯЛГАСАН АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН
СИНЦИТИАЛЬ ВИРУСИЙН ГЕНЕТИК ТӨРХ**

Е 723001. Микробиологи

Анагаах Ухааны магистрын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл

Улаанбаатар хот
2014 он

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

ГҮНРЭГЖАВЫН НЯМАА

**МОНГОЛ УЛСАД 2010-2013 ОНД ЯЛГАСАН АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН
СИНЦИТИАЛЬ ВИРҮСИЙН ГЕНЕТИК ТӨРХ**

Эрдэм шинжилгээний ажлын удирдагч:

Академич, АШУ-ны доктор, профессор П.Нямдаваа

Эрдэм шинжилгээний ажлын шүүмжлэгч:

АУ-ны доктор (Ph.D) Ч. Баттогтох

Улаанбаатар хот
2014 он

ТОВЧ ХУРААНГУЙ

Монгол улсад 2010-2013 онд ялгасан амьсгалын замын синцитиаль вирусийн генетик төрх

Судалгааны ажлын үндэслэл: Амьсгалын замын синцитиаль вирус (АЗСВ) нь ихэвчлэн бага насны хүүхдэд амьсгалын доод замын үрэвсэл болон уушгины хатгаа өвчний шалтгаан болдог ба дэлхий нийтэд жилд дунджаар 160.000 хүүхэд нас бардаг байна. 1999 онд Аргентин улсад амьсгалын замын синцитиаль В вирусийн гадаргуугын G уургийн хэсэгт 60 нуклеотидын хоёрчлол болсон Buenos Aires (BA) шинэ генотип тодорхойлогдож одоо өвчин үүсгэн эргэлтэнд байгаа ба 2011 онд Канад улсад А вирусийн гадаргуугын G уургийн хэсэгт 72 нуклеотидын хоёрчлол болсон Ontario (ON1) шинэ дэд генотип сүүлийн жилүүдэд дэлхий дахинаа эргэлтэнд орж байна.

Судалгааны ажлын зорилго: Монгол улсын хүн амын дунд амьсгалын замын өвчин үүсгэж байгаа АЗСВ-ийн хэв шинжийг илрүүлж генийн нуклеотидын дараалалыг тодорхойлж, бусад оронд хийгдсэн судалгааны дүнтэй харьцуулах.

Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй: 2010.10.01-2013.10.01-ыг хүртэлх хугацаанд ХӨСҮТ-ийн вирус судлалын лабораторид цуглуулсан сорьцноос санамсаргүй түүврийн аргаар сонгон авсан хамар залгиурын арчдасыг судалгааны материал болгон ашиглав. АЗСВ-ийн A/B хэвшинжийг ялган дүйж гадаргуугын G уургийг кодолсон генийг нуклеотидын дараалалыг ABI 3130 xl Genetic analyzer машины тусламжтайгаар тодорхойлсон ба филогенетик анализыг MEGA 5.2 програмыг ашиглан гүйцэтгэв.

Судалгааны ажлын үр дүн: Томуугийн вирус сөрөг 2485 сорьцонд амьсгалын замын бусад 19 төрлийн вирусийг илрүүлэх шинжилгээг мультиплекс бх ПГУ-ын аргаар хийхэд 1261(50.7%) сорьцонд 18 үүсгэгчийн аль нэг нь эерэг, 1214 сорьцонд сөрөг тодорхойлогдсон.

Нийт 224 сорьцны 54 (24.2%)-ийг амбулаторийн үйлчлүүлэгчээс, 170 (75.8%)-ийг эмнэлэгт хэвтэн эмчлүүлсэн эмчлүүлэгчээс авсан. Судалгаанд хамрагдагсадыг насны байдлаар авч үзвэл 34.8% нь 0-1 нас, 33.9% нь 1-2 нас, 32.3% нь 2-оос дээш насны хүүхэд байлаа.

Бидний судалгаанд хамруулсан амьсгалын замын синцитиаль вирус эерэг тодорхойлогдсон 224 үйлчлүүлэгчийн 31(13.8%) тохиолдол нь хоёр вирусийн хавсарсан халдвартай байсан. Үүнээс: 3.6% нь рино вирус 3.1% нь бокавирус, коронавирус, 2.2% нь иж томуугийн вирус, 1.3% нь адено вирус, 0.4% нь энтеро вирүстэй тус тус хавсарсан халдвар үүсгэсэн байна.

ПГУ-ын аргаар амьсгалын замын синцитиаль вирус эерэг тодорхойлогдсон 224 сорьцноос 135 сорьцонд вирусийн гадаргуугын G уургийг кодолсон генийн нүклеотидийн дараалаллыг тогтоож ген банкинд бүртгүүлэв (AB851421-AB851449).

2010-2011 онд дэгдэлт үүсгэсэн амьсгалын замын синцитиаль А хэв шинжийн байж генотипийн хувьд 43/43 (100%) NA1, 2011-2012 онд эхний саруудад А хэв шинжийн вирус давамгайлан дэгдэлт үүсгэсэн 49/50 (98%) байлаа.

Харин 2012 - 2013 онд томуугийн улиралын дундуур эргэлтэнд орсон А хэв шинжийн вирус генотипийн хувьд ON1 дэд генотиптэй байлаа. Манай оронд 2012 онд дэгдэлт үүсгэсэн В хэв шинжийн вирус генотипийнхувьд BA9 бүлэгтхамаарчбайна.

Дүгнэлт

1. Монгол улсад 2010-2012 онд амьсгалын замын синцитиаль вирусийн А хэв шинжээр үүсгэгдсэн дараалалсан дэгдэлт байсан ба уг вирусийн орчил томуугийн вирус орчилд идэвхитэй орж эхлэхэд буурч байна.
2. Амьсгалын замын синцитиаль вирус А нь генотипийн хувьд NA1, G уургийг кодолсон генийн хэсэгт 72 нүклеотидын хоёрчлол болсон ON1 шинэ дэд генотип бүлэгт, В хэвшинж нь BA9 бүлэгт хамаарч байна.
3. 2012 оны сүүлийн сард амьсгалын замын синцитиаль А вирус нь амьсгалын замын синцитиаль вирусийн В шинжийн вирүсээр бүрэн солигдсон байна.

Түлхүүр үг:

Амьсгалын замын синцитиаль вирус, мультиплекс бх-ПГУ, Генотип

ABSTRACT

Genotyping of human respiratory syncytial viruses detected in Mongolia in 2010-2013

Background: Human respiratory syncytial virus (RSV) is a common cause of severe acute lower respiratory tract infection in young children accounting for ≈160,000 deaths/year worldwide. RSV strains have been divided into 2 major antigenic groups (A and B), which are further divided into several genotypes. The main genetic and antigenic differences between genotypes are found within the 2 hypervariable regions of the attachment (G) glycoprotein. In 1999, a novel RSV B genotype, which contained a 60-nt duplication in the second hypervariable region of the G protein, was discovered in Buenos Aires, Argentina, and named BA. A novel RSV A genotype with a 72-nt duplication in the second hypervariable region of G, thus representing the first RSV A genotype with nucleotide duplications in the G gene. Shortly thereafter, circulation of this genotype was reported in Ontario, Canada, in 2010–11 and 2011–12, and the genotype was named ON1. The objective of the current study is to determine the genetic diversity of RSV among Mongolian population.

Materials and methods: Reverse transcription-PCR (RT-PCR) was used to detect RSV G gene in nasopharyngeal swabs collected from children with acute lower respiratory tract infections from October 2010- October 2013. Further G protein was used to build phylogenetic tree.

Results: During the study period, subgroup A and B viruses detected 9.1% (224/2485) of the total samples screened for influenza virus. In 31(13.8%) of RSV positive samples there were identified the co-infection with other viruses. Among them 3.6% were co-infected with Human Rhinovirus, 3.1% - Human Bocavirus, 2.2% - Parainfluenza virus, 1.3% - Human Adenovirus and 0.4% were co-infected with Enter virus respectively. 34.8% of patients were 0-11 months old, 33.9% -1-2 years old, 32.3% -under 2 years old respectively. Phylogenetic analyses showed that all group A strains could be clustered into two genotypes, genotype NA1 and ON1 and B strain could be clustered into one genotype BA9. Subgroup A viruses were predominant while subgroup B strains.

Key words: *Human respiratory syncytial virus (HRSV), multiplex PCR, Genotype*

ГАРЧИГ

ТОВЧИЛСОН ҮГСИЙН ЖАГСААЛТ	5
ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ	6
ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ	7
БҮЛЭГ 1. УДИРТГАЛ	8
БҮЛЭГ 2. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ	12
2.1. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн бүтэц	12
2.2. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн тархалт	13
2.3. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн халдварын механизм	13
2.4. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн молекул эпидемиологи	15
2.5. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн G-гликопротеины эсрэгтөрөгчийн бүтэц	18
2.6. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн эмнэл зүй	19
2.7. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн эмчилгээ	20
2.8. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн лабораторийн оношлогоо	21
2.8.1. Эсийн өсгөвөрт вирүс ялгах	21
2.8.2. Нуклейн хүчилд суурилсан арга	22
2.9. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн эсрэг вакцин, сэргийлэг	26
2.10. Амьсгалын замын синцитиаль вирүсийн монголд судлагдсан байдал	26
2.11. Томуу, томуу төст өвчин үүсгэгч вирүсүүд	27
БҮЛЭГ 3. СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ	32
3.1. Судалгааны ажлын загвар	32
3.2. Судалгааны ажлын хүрээ ба түүвэр	32
3.3. Судалгааны ажлын материал	32
3.4. Амьсгалын замын сорьцноос нуклейн хүчил ялгах	32
3.5. Мультиплекс бх-ПГУ-ын аргаар АЗСВирүсийг илрүүлэх	32
3.6. АЗСВ-ийн хэвшинж тодорхойлох	36
3.6.1. Хамар залгиурын арчдаснаас РНХ ялгах	36

3.6.2. ДНХ синтез хийх	36
3.6.3. АЗСВ-ийн А хэв шинжийн G генийг илрүүлэх	39
3.6.4. АЗСВ-ийн В хэв шинжийн G генийг илрүүлэх	38
3.6.4. Гель электрофорез	39
3.7. АЗСВ-ийн генотипийг тодоройлох	40
3.7.1. ПГУ-ын бүтээгдэхүүн цэвэрлэх	40
3.7.2. АЗСВ-ийн G генийн нүклеотидын дараалалыг тогтоох	40
3.7.3. АЗСВ-ийн ПГУ-ын бүтээгдэхүүн цэвэрлэх	41
3.7.4. ABI 3130 аппаратаар нүклеотидийн дараалал тогтоох	41
БҮЛЭГ 4. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН	42
4.1. Мультиплекс бх-ПГУ-ын аргаар илрүүлсэн дүн	42
4.2. АЗСВ-ийн А хэв шинжийг ПГУ-аар тодорхойлсон дүн	47
4.3. АЗСВ-ийн В хэв шинжийг ПГУ-аар тодорхойлсон дүн	47
4.4. Нүклеотидын дараалалыг тогтоосон шинжилгээний дүн	48
БҮЛЭГ 5. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ХЭЛЦЭМЖ	54
ДҮГНЭЛТ	62
ПРАКТИК ЗӨВЛӨМЖ	62
НОМ ЗҮЙ	63
ХАВСРАЛТ	68

Ном зүй

1. Нямдаваа П. “Бүтээлийн товчоон” дөрөвдүгээр боть 2007:210-220, 300-305
2. Нямдаваа П. “Томуу 2006” хүн, мал эмнэлэгийхэнд зориулсан гарын авлага. 2006: 2-13, 183-190
3. Cane PA. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus. *Reviews in medical virology*. 2001;11:103-116
4. Collins P, Crowe, JF. Field's virology, 5th edition. 2012: pp.1601-1646;
5. Eshaghi A, Duvvuri VR, Lai R, Nadarajah JT, Li A, Patel SN, Low DE, Gubbay JB. Genetic variability of human respiratory syncytial virus a strains circulating in ontario: A novel genotype with a 72 nucleotide g gene duplication. *PloS one*. 2012;7:e32807
6. Prifert C, Streng A, Krempf CD, Liese J, Weissbrich B. Novel respiratory syncytial virus a genotype, germany, 2011-2012. *Emerging infectious diseases*. 2013;19:1029-1030
7. Дармаа.Б. Монгол улсад ялгасан 2003-2007 онд хүний томуугийн вирусийн зарим шинж төрх *Халдварт өвчин судлалын Монголын сэтгүүл*. 2010;7-12
8. С.Цацрал ЧМ, Б.Дармаа, П.Нямдаваа. Монгол улсад 2008-2009 онд орчилд байсан амьсгалын замын өвчин үүсгэгч вирусүүдийн хөдлөлзүйг судалсан дүн. *Халдварт өвчин судлалын Монголын сэтгүүл*, . 2010;1/32:7-12
9. Dickens LE, Collins PL, Wertz GW. Transcriptional mapping of human respiratory syncytial virus. *Journal of virology*. 1984;52:364-369
10. Empey KM, Peebles RS, Jr., Kolls JK. Pharmacologic advances in the treatment and prevention of respiratory syncytial virus. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2010;50:1258-1267
11. Sullender WM. Respiratory syncytial virus genetic and antigenic diversity. *Clinical microbiology reviews*. 2000;13:1-15, table of contents
12. Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, Auinger P, Griffin MR, Poehling KA, Erdman D, Grijalva CG, Zhu Y, Szilagyi P. The burden of respiratory syncytial virus infection in young children. *The New England journal of medicine*. 2009;360:588-598
13. Peret TC, Hall CB, Schnabel KC, Golub JA, Anderson LJ. Circulation patterns of genetically distinct group a and b strains of human respiratory syncytial virus in a community. *The Journal of general virology*. 1998;79 (Pt 9):2221-2229
14. Hazlett DT, Bell TM, Tukei PM, Ademba GR, Ochieng WO, Magana JM, Gathara GW, Wafula EM, Pamba A, Ndinya-Achola JO, et al. Viral etiology and epidemiology of acute respiratory infections in children in nairobi, kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1988;39:632-640
15. Othumpangat S, Gibson LF, Samsell L, Piedimonte G. Ngf is an essential survival factor for bronchial epithelial cells during respiratory syncytial virus infection. *PloS one*. 2009;4:e6444
16. Becker Y. Respiratory syncytial virus (rsv) evades the human adaptive immune system by skewing the th1/th2 cytokine balance toward increased levels of th2 cytokines and ige, markers of allergy--a review. *Virus genes*. 2006;33:235-252
17. Carballal G, Videla C, Sequeira MD, Mistchenko A, Requeijo PV, Arbiza J. Respiratory syncytial virus: Changes in prevalence of subgroups a and b among argentinian children, 1990-1996. *Journal of medical virology*. 2000;61:275-279

18. Cane PA, Matthews DA, Pringle CR. Identification of variable domains of the attachment (g) protein of subgroup a respiratory syncytial viruses. *The Journal of general virology*. 1991;72 (Pt 9):2091-2096
19. Sullender WM, Mufson MA, Anderson LJ, Wertz GW. Genetic diversity of the attachment protein of subgroup b respiratory syncytial viruses. *Journal of virology*. 1991;65:5425-5434
20. Cherian T, Simoes EA, Steinhoff MC, Chitra K, John M, Raghupathy P, John TJ. Bronchiolitis in tropical south india. *American journal of diseases of children (1960)*. 1990;144:1026-1030
21. Waris M. Pattern of respiratory syncytial virus epidemics in finland: Two-year cycles with alternating prevalence of groups a and b. *The Journal of infectious diseases*. 1991;163:464-469
22. Hall CB, Walsh EE, Schnabel KC, Long CE, McConnochie KM, Hildreth SW, Anderson LJ. Occurrence of groups a and b of respiratory syncytial virus over 15 years: Associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *The Journal of infectious diseases*. 1990;162:1283-1290
23. Cane PA, Matthews DA, Pringle CR. Analysis of respiratory syncytial virus strain variation in successive epidemics in one city. *Journal of clinical microbiology*. 1994;32:1-4
24. Choi EH, Lee HJ. Genetic diversity and molecular epidemiology of the g protein of subgroups a and b of respiratory syncytial viruses isolated over 9 consecutive epidemics in korea. *The Journal of infectious diseases*. 2000;181:1547-1556
25. Coggins WB, Lefkowitz EJ, Sullender WM. Genetic variability among group a and group b respiratory syncytial viruses in a children's hospital. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36:3552-3557
26. Cane PA, Weber M, Sanneh M, Dackour R, Pringle CR, Whittle H. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus in the gambia. *Epidemiology and infection*. 1999;122:155-160
27. Peret TC, Hall CB, Hammond GW, Piedra PA, Storch GA, Sullender WM, Tsou C, Anderson LJ. Circulation patterns of group a and b human respiratory syncytial virus genotypes in 5 communities in north america. *The Journal of infectious diseases*. 2000;181:1891-1896
28. Trento A, Casas I, Calderon A, Garcia-Garcia ML, Calvo C, Perez-Brena P, Melero JA. Ten years of global evolution of the human respiratory syncytial virus ba genotype with a 60-nucleotide duplication in the g protein gene. *Journal of virology*. 2010;84:7500-7512
29. Zlateva KT, Vijgen L, Dekeersmaecker N, Naranjo C, Van Ranst M. Subgroup prevalence and genotype circulation patterns of human respiratory syncytial virus in belgium during ten successive epidemic seasons. *Journal of clinical microbiology*. 2007;45:3022-3030
30. Wertz GW, Collins PL, Huang Y, Gruber C, Levine S, Ball LA. Nucleotide sequence of the g protein gene of human respiratory syncytial virus reveals an unusual type of viral membrane protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1985;82:4075-4079
31. Cherrie AH, Anderson K, Wertz GW, Openshaw PJ. Human cytotoxic t cells stimulated by antigen on dendritic cells recognize the n, sh, f, m, 22k, and 1b proteins of respiratory syncytial virus. *Journal of virology*. 1992;66:2102-2110
32. Smith EC, Popa A, Chang A, Masante C, Dutch RE. Viral entry mechanisms: The increasing diversity of paramyxovirus entry. *The FEBS journal*. 2009;276:7217-7227

33. Varga SM, Braciale TJ. The adaptive immune response to respiratory syncytial virus. *Current topics in microbiology and immunology*. 2013;372:155-171
34. Н.Хоролсүрэн ЯД. Халдварт өвчин 2010:107-109
35. Simon A, Prusseit J, Muller A. Respiratory syncytial virus infection in children with neuromuscular impairment. *The open microbiology journal*. 2011;5:155-158
36. Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, Dina J, Gouarin S, Petitjean-Lecherbonnier J, Pozzetto B, Ginevra C, Freymuth F. Development of three multiplex rt-pcr assays for the detection of 12 respiratory rna viruses. *Journal of virological methods*. 2005;126:53-63
37. Tamura K PD, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. . Molecular evolutionary genetics analysis Mol Biol Evol 2011
38. Jothikumar P, Hill V, Narayanan J. Design of fret-taqman probes for multiplex real-time pcr using an internal positive control. *BioTechniques*. 2009;46:519-524
39. Kuypers J, Campbell AP, Cent A, Corey L, Boeckh M. Comparison of conventional and molecular detection of respiratory viruses in hematopoietic cell transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2009;11:298-303
40. Lassauniere R, Kresfelder T, Venter M. A novel multiplex real-time rt-pcr assay with fret hybridization probes for the detection and quantitation of 13 respiratory viruses. *Journal of virological methods*. 2010;165:254-260
41. Kim SR, Ki CS, Lee NY. Rapid detection and identification of 12 respiratory viruses using a dual priming oligonucleotide system-based multiplex pcr assay. *Journal of virological methods*. 2009;156:111-116
42. Lee WJ, Kim YJ, Kim DW, Lee HS, Lee HY, Kim K. Complete genome sequence of human respiratory syncytial virus genotype a with a 72-nucleotide duplication in the attachment protein g gene. *Journal of virology*. 2012;86:13810-13811
43. Morrison TB, Weis JJ, Wittwer CT. Quantification of low-copy transcripts by continuous sybr green i monitoring during amplification. *BioTechniques*. 1998;24:954-958, 960, 962
44. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21:716-747
45. Shobugawa Y, Saito R, Sano Y, Zaraket H, Suzuki Y, Kumaki A, Daput I, Oguma T, Yamaguchi M, Suzuki H. Emerging genotypes of human respiratory syncytial virus subgroup a among patients in japan. *Journal of clinical microbiology*. 2009;47:2475-2482
46. Hansen JE, Lund O, Engelbrecht J, Bohr H, Nielsen JO, Hansen JE. Prediction of o-glycosylation of mammalian proteins: Specificity patterns of udp-galnac:Polypeptide n-acetylgalactosaminyltransferase. *The Biochemical journal*. 1995;308 (Pt 3):801-813
47. Domachowske JB, Rosenberg HF. Respiratory syncytial virus infection: Immune response, immunopathogenesis, and treatment. *Clinical microbiology reviews*. 1999;12:298-309
48. Галбадрах.Д АР. Томуу томуу төст өвчнийг дархан туяаралт бачилхаруурын аргаар оношлосон дүн *Монголын анагаах ухаан* 1979;№2(32):20-23
49. Нямдаваа.П АС, Тунгалагуяа,П Улаанбаатар хотод 1980-1986 онд бүртгэгдсэн амьсгалайн замын цочмог халдварт өвчний халдвар судлалын төрх, үүсгэгчийн бүрэлдэхүүн *Монголын анагаах ухаан*. 1988;№3(67):19-34
50. Цацрал.С. Хибрид эсийн өсгөвөр болон пгу-ын аргыг ашиглан амьсгалайн замын зарим вирүсийг эмнэлзүйн сорьцонд илрүүлэх *Эрүүл мэндийн*

шинжлэх ухааны их сургууль 2009;АУ-ны магистрийн зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл 60х

51. Ч.Майцэцэг НБ, С.Цацрал, Дармаа.Б, Нямдаваа.П Мультиплекс бх-пгу болон r-mix хибрид эсийн өсгөвөрийн аргаар амьсгалын замын вирусүүдийг илрүүлсэн дүн *Халдварт өвчин судлалын Монголын сэтгүүл*, 4(41). 2011:50-55
52. Weinberg GA, Hall CB, Iwane MK, Poehling KA, Edwards KM, Griffin MR, Staat MA, Curns AT, Erdman DD, Szilagyi PG. Parainfluenza virus infection of young children: Estimates of the population-based burden of hospitalization. *The Journal of pediatrics*. 2009;154:694-699
53. Hendry RM, Talis AL, Godfrey E, Anderson LJ, Fernie BF, McIntosh K. Concurrent circulation of antigenically distinct strains of respiratory syncytial virus during community outbreaks. *The Journal of infectious diseases*. 1986;153:291-297
54. Prill MM, Iwane MK, Edwards KM, Williams JV, Weinberg GA, Staat MA, Willby MJ, Talbot HK, Hall CB, Szilagyi PG, Griffin MR, Curns AT, Erdman DD. Human coronavirus in young children hospitalized for acute respiratory illness and asymptomatic controls. *The Pediatric infectious disease journal*. 2012;31:235-240
55. Zhang RF, Jin Y, Xie ZP, Liu N, Yan KL, Gao HC, Song JR, Yuan XH, Xiao NG, Guo MW, Zhou QH, Hou YD, Duan Z. Human respiratory syncytial virus in children with acute respiratory tract infections in china. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48:4193-4199
56. Bioneer. *Exiprep viral DNA/rna kit handbook*. 2008.
57. С.Цацрал. Хибрид эсийн өсгөвөр болон пгу-ын аргыг ашиглан амьсгалын замын зарим вирусийг эмнэлзүйн сорьцонд илрүүлэх харьцуулсан судалгаа *Халдварт өвчин судлалын Монголын сэтгүүл*. 2009;4(29):53-57
58. Chan KH, Peiris JS, Lim W, Nicholls JM, Chiu SS. Comparison of nasopharyngeal flocced swabs and aspirates for rapid diagnosis of respiratory viruses in children. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2008;42:65-69
59. Morozumi M, Shimizu H, Matsushima Y, Mitamura K, Tajima T, Iwata S, Ubukata K. Evaluation of new immunochromatographic assay kit for adenovirus detection in throat swab: Comparison with culture and real-time pcr results. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. 2014;20:303-306
60. Welliver RC. Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses. *The Pediatric infectious disease journal*. 2003;22:S6-10; discussion S10-12
61. Ohno A, Suzuki A, Lupisan S, Galang H, Sombrero L, Aniceto R, Okamoto M, Saito M, Fuji N, Otomaru H, Roy CN, Yamamoto D, Tamaki R, Olveda R, Oshitani H. Genetic characterization of human respiratory syncytial virus detected in hospitalized children in the philippines from 2008 to 2012. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2013;57:59-65
62. Biswas D, Yadav K, Borkakoty B, Mahanta J. Molecular characterization of human respiratory syncytial virus na1 and ga5 genotypes detected in assam in northeast india, 2009-2012. *Journal of medical virology*. 2013;85:1639-1644
63. Khor CS, Sam IC, Hooi PS, Chan YF. Displacement of predominant respiratory syncytial virus genotypes in malaysia between 1989 and 2011. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2013;14:357-360

64. Arnott A, Vong S, Mardy S, Chu S, Naughtin M, Sovann L, Buecher C, Beaute J, Rith S, Borand L, Asgari N, Frutos R, Guillard B, Touch S, Deubel V, Buchy P. A study of the genetic variability of human respiratory syncytial virus (hrsv) in cambodia reveals the existence of a new hrsv group b genotype. *Journal of clinical microbiology*. 2011;49:3504-3513
65. WHO. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus 2009
66. Sato M, Saito R, Sakai T, Sano Y, Nishikawa M, Sasaki A, Shobugawa Y, Gejyo F, Suzuki H. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus infections among children with acute respiratory symptoms in a community over three seasons. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43:36-40
67. Verhoeven D, Xu Q, Pichichero ME. Differential impact of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus on the frequency of acute otitis media is explained by lower adaptive and innate immune responses in otitis-prone children. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014
68. Garcia O, Martin M, Dopazo J, Arbiza J, Frabasile S, Russi J, Hortal M, Perez-Brena P, Martinez I, Garcia-Barreno B, et al. Evolutionary pattern of human respiratory syncytial virus (subgroup a): Cocirculating lineages and correlation of genetic and antigenic changes in the g glycoprotein. *Journal of virology*. 1994;68:5448-5459
69. Johansen J, Christensen LS, Hornsleth A, Klug B, Hansen KS, Nir M. Restriction pattern variability of respiratory syncytial virus during three consecutive epidemics in denmark. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 1997;105:303-308
70. Grijalva CG, Zhu Y, Simonsen L, Griffin MR. Establishing the baseline burden of influenza in preparation for the evaluation of a countywide school-based influenza vaccination campaign. *Vaccine*. 2010;29:123-129
71. Zheng H, Storch GA, Zang C, Peret TC, Park CS, Anderson LJ. Genetic variability in envelope-associated protein genes of closely related group a strains of respiratory syncytial virus. *Virus research*. 1999;59:89-99
72. Revised indications for the use of palivizumab and respiratory syncytial virus immune globulin intravenous for the prevention of respiratory syncytial virus infections. *Pediatrics*. 2003;112:1442-1446
73. Valley-Omar Z, Muloiwa R, Hu NC, Eley B, Hsiao NY. Novel respiratory syncytial virus subtype on1 among children, cape town, south africa, 2012. *Emerging infectious diseases*. 2013;19:668-670
74. Zeschnigk M, Bohringer S, Price EA, Onadim Z, Masshofer L, Lohmann DR. A novel real-time pcr assay for quantitative analysis of methylated alleles (qama): Analysis of the retinoblastoma locus. *Nucleic acids research*. 2004;32:e125