

## Применение линейного иммуноблоттинга для скрининга антител классов G и M к основным возбудителям TORCH-инфекций

С.С. Марданлы (ekolab-sarkhan@mail.ru), В.А. Арсеньева (ecolab.arsenyeva@gmail.com), М.В. Захаров (mzakharov82@yandex.ru), С.Г. Марданлы (ekolab-president@mail.ru), Е.А. Амелина (ekolab-ferment@mail.ru), С.В. Ротанов (svrotanov@mail.ru)

ЗАО «ЭКОлаб», Московская область, г. Электрогорск

### Резюме

Разработан российский набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» для определения в формате линейного иммуноблоттинга антител к основным возбудителям TORCH-инфекций (комплект № 1 – IgG и комплект № 2 – IgM). Исследование контрольных материалов ( $n = 141$ ), аттестованных в ИФА, показало 100%-ную чувствительность и специфичность нового набора.

Изучение сывороток крови ( $n = 1115$ ), полученных от беременных и лиц, проходивших плановое или диагностическое обследование в специализированных медицинских организациях, в ИФА и линейном иммуноблоттинге с новым набором реагентов и его аналогом зарубежного производства позволило рассчитать клиническую информативность изучавшихся методов и соответствующих им наборов реагентов по ГОСТ Р 53022.3-2008. Полученные данные позволяют рекомендовать новый набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» для скрининга моноспецифических антител к каждому из основных возбудителей TORCH-инфекций, установления активности инфекционного процесса и определения сроков инфицирования.

**Ключевые слова:** ИФА, линейный иммуноблоттинг, клиническая информативность, TORCH-инфекции

### The Linear Immunoblotting for Screening Antibodies of Class G and M to the Immunodominant Pathogens of TORCH

S.S. Mardarly (ekolab-sarkhan@mail.ru), V.A. Arsenyeva (ecolab.arsenyeva@gmail.com), M.V. Zaharov (mzakharov82@yandex.ru), S.G. Mardarly (ekolab-president@mail.ru), E.A. Amelina (ekolab-ferment@mail.ru), S.V. Rotanov (svrotanov@mail.ru)

Closed Joint Stock Company «EKOlab», Moscow region, Elektrogorsk

### Abstract

It was developed a new kit of reagents «Line-Blot TORCH-profile» to define in the format of linear immunoblotting antibodies to main agents TORCH group (kit N 1 – for IgG and kit N 2 – for IgM). In the study of 141 certified controls industrial production showed 100% sensitivity and specificity of studies with a new kit.

The study in ELISA and linear immunoblotting with developed set and its counterpart foreign production of clinical samples submitted from persons held diagnostic testing, made it possible to calculate the clinical informativity of both studied methods and corresponding sets of reagents according to GOST R 53022.3-2008. This has led to the recommendation set No.1 (IgG) as an alternative test to the use instead of several ELISA kits for determining monospecific antibodies to each of the major pathogens of TORCH group, and the set No.2 (IgM) - to determine active phase of infection or timing of infection.

**Key words:** ELISA, immunoblotting, clinical informativity, TORCH infection

### Введение

России в последние годы наблюдается устойчивое снижение показателей младенческой смертности. Так, по официальным данным Федеральной службы государственной статистики, в 2014 году показатель смертности детей в возрасте до 1 года составил 7,4 на 1000 новорожденных против 8,2 – в 2013 году (снижение на 9,8%) [1]. В структуре причин, обуславливающих перинатальную гибель плода и новорожденного, существенную роль играют внутриутробные, или врожденные, инфекции (ВУИ), развивающиеся при трансплацентарной передаче возбудителя от инфицированной матери [2 – 7].

Актуальность изучения ВУИ определяется не только существенными перинатальными потерями, но также и тем, что у плода, перенесшего ВУИ,

часто выявляется врожденная патология, которая приводит к серьезным нарушениям здоровья и инвалидности. Инфицирование плода на ранних этапах его развития приводит к развитию эмбрио- и фетопатий [3 – 4, 7 – 10].

Истинная частота распространенности ВУИ до настоящего времени не установлена: по данным отдельных научных исследований, она составляет 6 – 10% [2, 4, 6], в отдельных регионах достигает 22,6% [3, 5 – 8] или даже 53% [11].

У новорожденных клинические проявления ВУИ не имеют специфических признаков, и это затрудняет их этиологическую диагностику. Указанное обстоятельство привело к тому, что наиболее значимые с позиций тяжести поражения плода и новорожденного ВУИ были объединены в общую группу – TORCH (по первым буквам основных за-

болеваний: *Toxoplasmosis*, *Other infections* (другие инфекции), *Rubella*, *Cytomegalia*, *Herpes*), при этом в разряд «другие» специалисты включают широкий круг инфекций, увеличивающийся с развитием знаний о них (сифилис, листериоз, вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция, хламидиоз, микоплазмоз и др.) [4, 9 – 11].

Скудность клинической симптоматики и отсутствие специфических признаков у TORCH-инфекций способствовали привлечению лабораторных методов для выявления возбудителей и их верификации. Приоритет получили непрямые методы обследования беременных и новорожденных, направленные на обнаружение в крови маркеров гуморального иммунного ответа и оценку динамики их количественного содержания [12 – 18]. К числу подобных методов следует отнести иммуноферментный анализ (ИФА) и линейный иммуноблоттинг (ЛИБ). Преимуществом технологии ЛИБ является возможность оценки состояния гуморального иммунитета обследуемого в отношении отдельных иммунокомпетентных антигенов одного или даже нескольких возбудителей инфекций в формате одного лабораторного теста [13 – 14, 18].

**Цель настоящего исследования** – разработка медицинского изделия (набора реагентов), позволяющего в рамках одного диагностического исследования определять в крови пациента наличие антител дифференцированно к каждому из возбудителей инфекций TORCH.

### Материалы и методы

В отделе перспективных разработок ЗАО «ЭКО-лаб» был разработан набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» для обследования пациентов с целью дифференцированного скрининга антител одновременно к нескольким антигенам возбудителей TORCH-инфекций методом линейного иммуноблоттинга (комплект № 1 – IgG, комплект № 2 – IgM).

**Состав набора реагентов** «Лайн-Блот TORCH-профиль» включает: иммуносорбент (24 пронумерованных стрипа), конъюгат (козьи антитела к IgG человека в комплекте № 1 или к IgM человека в комплекте № 2, конъюгированные со щелочной фосфатазой), РФ-сорбент (только в комплекте № 2), раствор для разведения образцов, 10-кратный концентрат промывочного раствора и субстратный раствор.

В основу разработки была положена медицинская технология иммунохимического исследования в формате ЛИБ, при котором в качестве твердой фазы используются узкие полоски мелкопористой мембраны (стрипы) с дискретно размещенными на них антигенами (иммуносорбент). Были отобраны очищенные нативные и рекомбинантные антигены основных возбудителей TORCH-инфекций для их последующего размещения на иммуносорбенте: нативный антиген *Toxoplasma gondii* и рекомби-

нантный аналог токсоплазменного антигена p30; нативный антиген вируса краснухи; рекомбинантный аналог мозаичного антигена цитомегаловируса (ЦМВ), содержащий иммунодоминантные последовательности белков pp150, pp52, pp28 и gB; рекомбинантные аналоги антигена G1 вируса простого герпеса 1-го типа и антигена G2 вируса простого герпеса 2-го типа (ВПГ-1 и ВПГ-2).

Кроме этого, на иммуносорбенте были размещены: международный стандарт ВОЗ Anti-Rubella Immunoglobulin, Human NIBSC code: RUBI-1-94, представляющий собой IgG человека к вирусу краснухи в концентрации 15 – 20 МЕ/мл (линия «Rub. Cut off») и 3 контрольные линии, 2 из которых («0,5+» и «2,0+») содержали человеческие IgG или IgM в разных концентрациях для калибровки результатов исследования, и одна линия («КВО») содержала антивидовые антитела к IgG/IgM человека для контроля внесения образца.

При изучении клинической информативности разработанного набора реагентов были использованы аттестованные в ИФА образцы сыворотки крови (n = 141) из состава стандартизованных охарактеризованных панелей (СОП) различного производства, содержавшие и не содержавшие антитела к антигенам возбудителей TORCH-инфекций (ЗАО «МБС»: кат. № TGC-8, TGS-24 и SGS-36; ЗАО «Вектор-Бест»: кат. № D-2558, D-1540 и D-2141; фирмы «Sera Care Life Sciences», USA: cat № PT C203-1,2) и 1115 клинических образцов сывороток крови беременных и лиц, проходивших лабораторное обследование в диагностическом центре «El Clinic» (г. Электрогорск) и на Московской областной станции переливания крови (Москва).

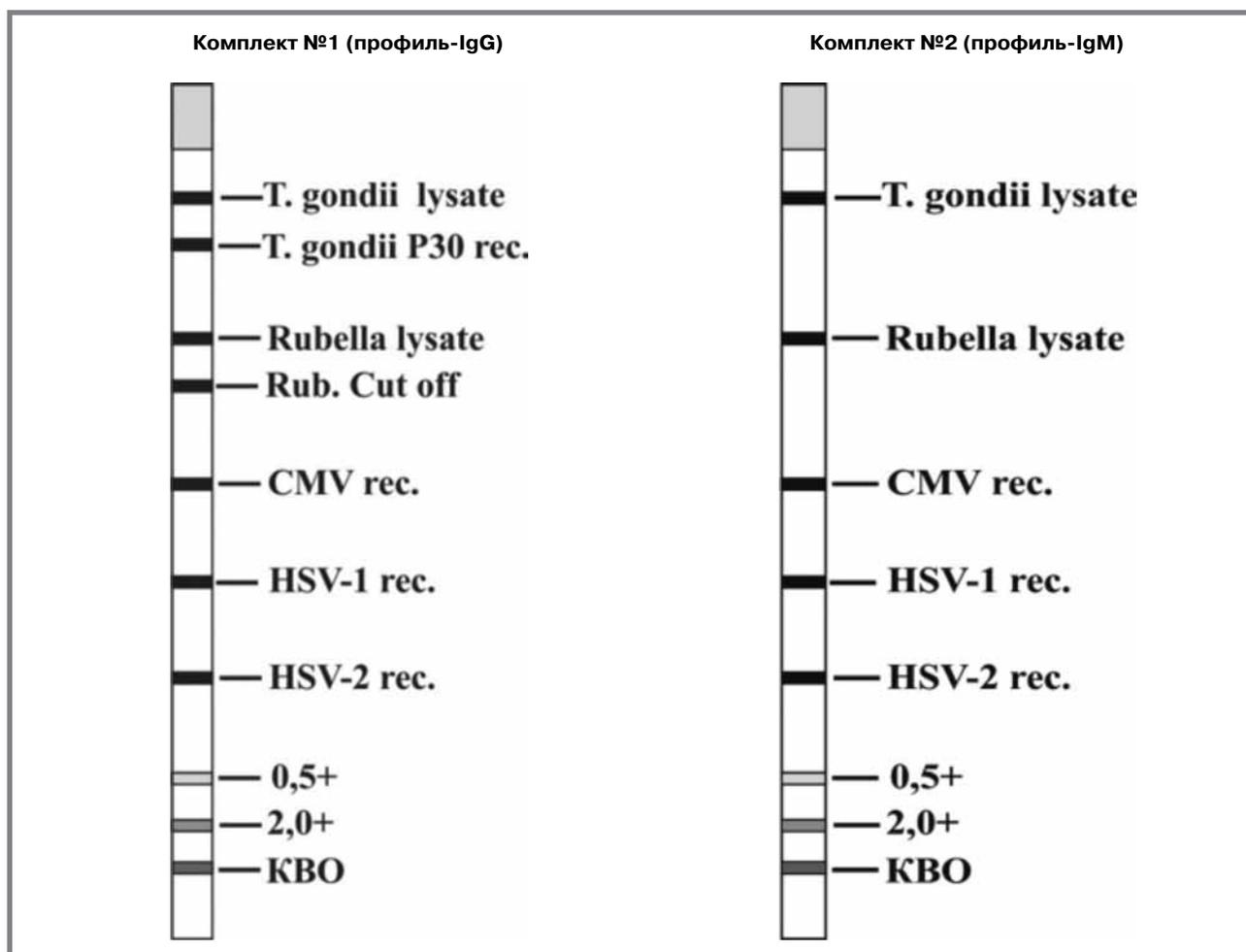
**Размещение антигенных линий на стрипах** представлено на схеме (рис. 1). Различия в составе иммуносорбента в комплектах № 1 и № 2 обусловлены особенностями осуществления диагностики инфекций.

**Процедуру лабораторного исследования образцов физиологических жидкостей человека** (сыворотки крови или цереброспинальной жидкости – ликвора) осуществляют в следующей последовательности:

- перед определением антител класса М образцы обрабатывают РФ-сорбентом для удаления IgM ревматоидного фактора, а также избытка IgG;
- иммуносорбент инкубируют в реакционной канавке с раствором образца в рабочем разведении, что приводит к образованию иммунных комплексов, фиксированных в участках иммобилизации соответствующих антигенов возбудителей TORCH-инфекций; при последующем 4-кратном промывании из реакционной канавки и со стрипа удаляются все не вступившие в реакцию белки образца;
- в реакционные канавки вносят конъюгаты, что обуславливает формирование на стрипах более

Рисунок 1.

Схема размещения антигенов и контрольных линий на стрипах иммуносорбента в наборе реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» (комплект № 1: профиль-IgG и комплект № 2: профиль-IgM)



сложных иммунных комплексов, которые не подвергаются диссоциации на этапе промывания, в то время как не вступившие в связь со стрипами компоненты удаляются из реакционной среды;

- на завершающем этапе в ячейки с иммуносорбентом вносят субстрат, содержащий хромоген и окислитель. В местах первичной локализации на стрипах антигенов возбудителей TORCH-инфекций или контрольных антител в результате индуцированного щелочной фосфатазой восстановления хромогена происходит локальное образование окрашенных формазанов, степень их окрашивания пропорциональна исходному содержанию специфических антител в испытуемом образце.

#### Учет и интерпретация результатов исследования

Появление и степень окрашивания контрольных линий позволяют оценить правильность проведения всей процедуры исследования, а «КВО» – внесение исследуемого образца в реакционную лунку. Сопоставление интенсивности окраски линий «0,5+», «2+» с линиями нанесения каждого из антигенов иммуносорбента позволяет осуществить

полуколичественную оценку содержания в исследуемом образце специфических антител соответствующего класса к антигенам *T. gondii*, ЦМВ, ВПГ-1 и ВПГ-2. Степень проявления окраски линии «0,5+» служит критическим уровнем, «cut off»: менее интенсивное окрашивание расценивают как соответствующее отрицательному результату в определении антител, а более интенсивное – как положительный результат. Выраженность цвета линии «2+» позволяет оценить окраску основных линий на стрипе в условных единицах, «плюсах»: от «0,5+» до «4+».

Антитела к антигенам возбудителя краснухи, *Rubella virus*, учитывают по отношению к интенсивности окрашивания линии «Rub. Cut off» (комплект № 1), содержащей IgG человека к вирусу краснухи в концентрации 15 – 20 МЕ/мл (международный стандарт ВОЗ). Использование этого индикатора позволяет также получить дополнительную информацию об иммунном статусе пациента, так как концентрация IgG против вируса краснухи в 15 – 20 МЕ/мл по международным стандартам считается минимальной, обеспечивающей защитный уровень относительно инфицирования *Rubivirus*.

Выявление на стрипе дополнительной полосы на

участке размещения рекомбинантного аналога токсоплазменного антигена р30 позволяет ориентировочно оценить сроки инфицирования обследуемого лица, так как окрашивание обеих полос (*T. gondii* lysate и р30) позволяет исключать первичную инфекцию в течение последних 3-х месяцев.

**Результаты и обсуждение**

**Доклиническая оценка набора реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль».**

Оценка качественных характеристик «Лайн-Блот TORCH-профиль» была проведена со 141 контрольным материалом, содержащим (n = 94) и не содержащим (n = 47) антитела к антигенам возбудителей TORCH-инфекций.

При исследовании каждой панели сывороток с новым набором реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» было установлено полное совпадение результатов определения специфических антител с их паспортными характеристиками и таким образом были показаны 100%-ная чувствительность и специфичность.

**Оценка клинической информативности результатов исследований с набором реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG», комплект № 1**

Клиническую информативность по ГОСТ Р 53022.3-2008 [19] комплекта № 1 нового набора изучали при исследовании 1115 сывороток крови, полученных от беременных и лиц, проходивших плановое или диагностическое обследование в специализированных медицинских организациях. В качестве наборов реагентов сравнения использовали разрешенные к применению в Российской Федерации тест-системы для определения в ИФА антител к антигенам каждого из возбудителей TORCH-инфекций. Полученные при этом результаты приведены в таблице 1.

Представленные данные выявили наличие расхождений в результатах определения антител класса G разными методами (в ИФА и ЛИБ): к возбу-

ждению токсоплазма – в 3 (1,19%) из 253 случаев, к *Rubella virus* – в 4 (1,16%) из 344, к ЦМВ – в 1 (0,31%) из 323, к ВПГ-1 – в 4 (2,22%) из 180 и к ВПГ-2 – в 4 (2,16%) из 185 случаев. Клинические образцы (n = 16), с которыми установлены дискордантные результаты в ИФА и ЛИБ, дополнительно были изучены в ЛИБ с набором реагентов «Recomline TORCH Screening IgG» («Mikrogen», Германия). Результаты исследования в линейном иммуноблоттинге с двумя разными наборами реагентов были сопоставлены; совпадение результатов составило 93,75% (по 75 из 80 определений).

Детализированный анализ данных ЛИБ с двумя использованными наборами реагентов позволил констатировать полное совпадение результатов определения IgG к возбудителю токсоплазма и ВПГ-1 и расхождение результатов в отношении определения антител к *Rubella virus* – по 1 образцу, к ЦМВ – по 3 образцам и к ВПГ-2 – по 1 образцу. При этом из 5 установленных случаев расхождения результатов в 3 случаях различия заключались между положительными (+) и неопределенными (+/-), а в 2 случаях – между неопределенными (+/-) и отрицательными (-) результатами.

По совокупности совпадающих результатов исследования клинических образцов в ИФА и ЛИБ с 2 наборами реагентов разных производителей проведена завершающая аттестация клинических образцов по содержанию в них специфических IgG, а также осуществлены расчет и сравнительная оценка показателей клинической информативности (клинической чувствительности, специфичности и диагностической эффективности) изучавшихся методов и соответствующих им наборов реагентов (табл. 2).

Представленные данные позволили прийти к заключению о достаточно высокой диагностической эффективности изучавшихся методов и применявшихся наборов реагентов. При выявлении различий в результатах скрининга специфических IgG методами ИФА и ЛИБ приоритет имеют данные, по-

**Таблица 1.**  
**Результаты исследования 1115 клинических образцов сывороток крови в ИФА-IgG и линейном иммуноблоттинге («Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG»)**

Результат исследования	Количество результатов определения антител класса G к возбудителю TORCH-инфекций в ИФА и ЛИБ									
	ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ	
	токсоплазма	вирус краснухи	ЦМВ	ВПГ-1	ВПГ-2	токсоплазма	вирус краснухи	ЦМВ	ВПГ-1	ВПГ-2
Положительный	63	65	255	259	219	220	149	152	30	30
Неопределенный	8	5	13	9	5	4	4	0	4	0
Отрицательный	182	183	66	66	99	99	27	28	151	155
Всего	253	253	334	334	323	323	180	180	185	185

лученные в линейном иммуноблоттинге, так как для них была установлена более высокая диагностическая эффективность (99,4 – 100%). Разработанный российский набор реагентов в комплектации «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG» имеет высокие показатели клинической информативности, что позволяет рекомендовать его для использования при обследовании населения с целью скрининга TORCH-инфекций в медицинских организациях, оказывающих как первичную медико-санитарную, так и специализированную медицинскую помощь.

**Оценка клинической информативности результатов исследований с набором реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM», комплект № 2**

Клиническую информативность комплекта № 2

изучали при исследовании 860 сывороток, также полученных от беременных женщин и лиц, проходивших специализированное обследование в диагностических целях. Наборами реагентов сравнения также служили соответствующие ИФА IgM тест-системы для определения антител к антигенам возбудителей группы TORCH, имеющие регистрацию в Российской Федерации. Полученные результаты представлены в таблице 3.

При определении антител класса М было получено большее количество расхождений, чем при выявлении IgG в ИФА и ЛИБ: к возбудителю токсоплазма – в 24 (9,72%) случаях из 247, к Rubella virus – в 5 (2,12%) из 236, к ЦМВ – в 24 (10,91%) из 220, к ВПГ-1 – в 8 (4,28%) из 187 и к ВПГ-2 – в 8 (3,88%) из 206 случаев.

**Таблица 2.**  
**Показатели клинической информативности наборов реагентов для определения IgG к возбудителям TORCH-инфекций**

Наборы реагентов	Показатель информативности в отношении возбудителей (в %)				
	токсоплазма	вирус краснухи	ЦМВ	ВПГ-1	ВПГ-2
<i>Клиническая чувствительность</i>					
Для ИФА	99,2	99,1	99,1	98,3	100
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG	100	99,7	99,4	100	100
Recomline TORCH Screening IgG	100	100	100	100	100
<i>Клиническая специфичность</i>					
Для ИФА	99,6	100	99,7	99,4	98,4
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG	100	100	99,7	100	99,5
Recomline TORCH Screening IgG	100	100	100	99,4	100
<i>Диагностическая эффективность</i>					
Для ИФА	99,6	99,1	98,8	97,8	98,4
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG	100	99,7	99,1	100	99,5
Recomline TORCH Screening IgG	100	100	100	99,4	100

**Таблица 3.**  
**Результаты исследования 860 клинических образцов крови в ИФА IgM и ЛИБ («Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM»)**

Результат исследования	Количество результатов определения антител класса М к возбудителю TORCH-инфекций методами ИФА и ЛИБ									
	ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ		ИФА ЛИБ	
	токсоплазма	вирус краснухи	ЦМВ	ВПГ-1	ВПГ-2	токсоплазма	вирус краснухи	ЦМВ	ВПГ-1	ВПГ-2
Положительный	11	14	9	12	52	62	9	11	4	5
Неопределенный	41	18	11	6	40	16	11	3	12	4
Отрицательный	195	215	216	218	128	142	167	173	190	197
Всего	247	247	236	236	220	220	187	187	206	206

**Таблица 4.**  
**Показатели клинической информативности наборов реагентов для определения IgM к возбудителям TORCH-инфекций**

Наборы реагентов	Показатель информативности в отношении возбудителей (в %)				
	токсоплазма	вирус краснухи	ЦМВ	ВПГ-1	ВПГ-2
<i>Клиническая чувствительность</i>					
Для ИФА	78,6	75,0	81,7	81,8	80,0
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM	100	100	96,6	100	100
Recomline TORCH Screening IgM	100	100	100	100	100
<i>Клиническая специфичность</i>					
Для ИФА	86,1	98,2	88,9	96,5	96,5
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM	94,8	99,1	98,6	100	100
Recomline TORCH Screening IgM	100	100	100	99,4	100
<i>Диагностическая эффективность</i>					
Для ИФА	85,8	97,0	87,3	95,7	96,1
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM	95,1	99,2	98,2	100	100
Recomline TORCH Screening IgM	100	100	100	99,5	100

Все клинические образцы, имевшие расхождение в результатах ИФА и ЛИБ («Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM»), также дополнительно изучены с набором реагентов «Recomline TORCH Screening IgM» (Mikrogen, Германия). Результаты исследований в ЛИБ с двумя наборами реагентов разного производства были сопоставлены между собой и установлено их полное совпадение в 80% случаев: при определении специфических IgM к возбудителю токсоплазма – в 50%, к *Rubella virus* – в 90%, к ЦМВ – в 75%, к ВПГ-1 – в 83% и к ВПГ-2 – в 100% случаев.

По совпадающим результатам исследования в ЛИБ клинические образцы были окончательно аттестованы по содержанию в них IgM к антигенам возбудителей TORCH-инфекций и рассчитаны показатели клинической информативности по ГОСТ Р 53022.3-2008 как для методов исследования, так и для наборов реагентов (табл. 4).

Результаты анализа полученных показателей позволили установить более высокую клиническую информативность определения IgM к антигенам возбудителей TORCH-группы в ЛИБ (98,6 – 100%), нежели в ИФА (75 – 98,0%); при этом набор реагентов российского производства «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM» показал результаты, не уступающие соответствующему зарубежному аналогу. По завершении процедуры государственной регистрации в Российской Федерации набор реагентов может быть рекомендован для

применения в специализированных медицинских организациях с целью скрининга и установления активности инфекционного процесса.

#### Выводы

1. Для скрининга специфических антител к иммунодоминантным антигенам основных возбудителей TORCH-инфекций в биологических образцах (сыворотке крови или ликворе) на предприятии ЗАО «ЭКОлаб» был разработан набор реагентов в формате линейного иммуноблоттинга «Лайн-Блот TORCH-профиль» (комплект № 1 – IgG и комплект № 2 – IgM), который показал 100%-ную чувствительность и специфичность.
2. Набор реагентов российского производства «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM» показал результаты, не уступающие соответствующему зарубежному аналогу.
3. Исследование клинических образцов сыворотки крови, полученных от беременных и лиц, проходивших диагностическое обследование, установило более высокие показатели клинической информативности исследований методом линейного иммуноблоттинга по сравнению с иммуноферментным анализом. Это позволило рекомендовать набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» в качестве альтернативы ИФА, сберегающей время, реагенты и трудозатраты.

## Литература

1. Во всех регионах России отмечено снижение младенческой смертности. Федеральное информационное агентство «Regnum». Доступно на: <http://www.regnum.ru/news/society/1891012.html> (дата обращения – 24.03.2015).
2. Медовиков П.С. Причины детской смертности. Санкт-Петербург; 2004.
3. Заплатников А.Л., Корovina Н.А., Корнева М.Ю., Чебуркин А.В. Риск вертикального инфицирования и особенности течения неонатального периода у детей с внутриутробной инфекцией. Рус. мед. журн. 2005; 13 (1): 45 – 47.
4. Гриноу А., Осборн Дж., Сазерленд Ш., ред. Врожденные перинатальные и неонатальные инфекции. Москва: Медицина; 2000.
5. Acolet D., Golightly S., Springett A. Perinatal Mortality Confidential Enquiry into Maternal and Child Health (CEMACH): Perinatal Mortality 2006: England, Wales and Northern Ireland. London: CEMACH, 2008.
6. Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates. WHO library Cataloguing-in-Publication Data. Доступно на: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241563206\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241563206_eng.pdf) (дата обращения 02.03.2015).
7. Царегородцев А.Д., Рюмина И.И. Заболеваемость новорожденных внутриутробными инфекциями и задачи по ее снижению в Российской Федерации. Рос. вестн. перинатол. и педиатрии. 2001; 46 (2): 4 – 7.
8. Голева О.П., Богза О.Г. Состояние младенческой смертности в современной России. Журнал научных публикаций аспирантов и докторантов. 2013. Доступно на: <http://www.jurnal.org/articles/2013/med7.html> (дата обращения 28.02.2015).
9. Нисевич Л.Л., Талалаев А.Г., Каск Л.Н., Миронюк О.В., Парсегова Т.С., Туманова Е.Л. и др. Врожденные вирусные инфекции и маловесные дети. Вопросы соврем. педиатрии. 2002; 1 (4): 9 – 13.
10. Remington J.S., Klein J.O., eds. Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant. 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 2001: 389 – 424.
11. Землянский О.А. Эпидемиология внутриутробных инфекций плодов и новорожденных и оптимизация системы слежения за ними: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Москва; 2004.
12. Володин Н.Н., ред. Протоколы диагностики, лечения и профилактики внутриутробных инфекций у новорожденных детей. Москва: ГОУ «ВУНМЦ» МЗ РФ; 2002.
13. Марданлы С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО «ЭКОлаб» для диагностики простого герпеса. Клин. лабор. диагностика. 2008; 2: 35 – 38.
14. Марданлы С.Г., Асратян А.А. Иммуноферментные тест-системы для диагностики цитомегаловирусной инфекции. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008; 3: 98 – 100.
15. Марданлы С.Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест-систем для диагностики токсоплазмоза. Клин. лаборат. диагностика. 2009; 2: 37 – 40.
16. Марданлы С.Г. Задачи и перспективы совершенствования клинической лабораторной диагностики инфекций группы TORCH. Вестник службы крови. 2013; 2: 54.
17. Марданлы С.Г., Томашевская Н.А., Мухина А.И., Гвильдис И.Ю., Кириллова Л.Д., Хожайнова М.П. Опыт использования комплекса тест-систем для диагностики инфекций TORCH-группы. Эпидемиология и инфекционные болезни: Актуальные вопросы. 2014; 5: 65 – 69.
18. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Акиншина Ю.А., Амелина Е.А., Захаров М.В., Никитина А.В. Разработка нового набора реагентов для скрининговой диагностики с целью одновременного обнаружения антител к каждому из основных возбудителей инфекций TORCH-группы методом линейного иммуноблоттинга. Эпидемиология и инфекционные болезни: Актуальные вопросы. 2014; 6: 24 – 29.
19. Национальный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р 53022.3-2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

## References

1. In all regions of Russia decreased infant mortality. Federal information Agency «Regnum». Available at: <http://www.regnum.ru/news/society/1891012.html> (accessed 24.03.2015) (in Russian).
2. Medovikov P.S. Causes of child mortality. Saint Petersburg; 2004 (in Russian).
3. Zaplatnikov A.L., Korovina N.A., Korneva Y.M., Cheburkin A.V. Intrauterine infection: diagnosis, treatment, prevention. Lechashhij vrach. 2005; 8. Available at: <http://www.lvrach.ru/2005/08/4532901/> (accessed 28.03.2015) (in Russian).
4. Greenough A., Osborne J., Sutherland S., ed. Congenital perinatal and neonatal infection. Moscow: Medicine, 2000 (in Russian).
5. Acolet D., Golightly S., Springett A. Perinatal Mortality Confidential Enquiry into Maternal and Child Health (CEMACH): Perinatal Mortality 2006: England, Wales and Northern Ireland. London: CEMACH, 2008.
6. Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates. WHO library Cataloguing-in-Publication Data. Available at: URL [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241563206\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241563206_eng.pdf) (accessed 02.03.2015) (in Russian).
7. Tsaregorodtsev A.D., Rumina I.I. The Incidence of newborn intrauterine infections and targets for its reduction in the Russian Federation. Ros. Vestn. women. and Pediatrics. 2001; 46 (2): 4 – 7 (in Russian).
8. Goleva O.P., Bogues O.G. Status of infant mortality in modern Russia. Journal of scientific publications graduate and doctoral students. 2013; 3. Available at: <http://www.jurnal.org/articles/2013/med7.html> (accessed 28.02.2015) (in Russian).
9. Nisevich L.L., Talalaev A.G., Kask L.N., Mironyuk O.V., Parsegova T.S., Tumanova E.L. et al. Congenital VI-Ronnie infection and underweight children. Vopr. contemporary Pediatrics. 2002; 1(4): 9 – 13 (in Russian).
10. Remington J.S., Klein J.O., Eds. Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant. 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 2001 : 389 – 424 (in Russian).
11. Zemlyansky O.A. Epidemiology of fetal infection of fetuses and newborns and optimization tracking system for them. PhD of med. sci. diss. Moscow, 2004 (in Russian).
12. Volodin N.N., ed. Protocols for diagnosis, treatment and prevention of congenital infections in newborns. Moscow: Russian educational, scientific and methodological center for continuing medical and pharmaceutical education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; 2002 (in Russian).
13. Mardanly S.G. Enzyme Immunoassay system «EKOlal» PhD of med. sci. diss. Moscow; for the diagnosis of herpes simplex. Klin. laboratornaja diagnostika. 2008; 2: 35 – 38 (in Russian).
14. Mardanly S.G., Asratyan A.A. An ELISA test system for the diagnosis of cytomegalovirus infection. Journal of Microbiology, epidemiology and immunology. 2008; 3: 98 – 100 (in Russian).
15. Mardanly S.G. Development and testing of new immunoassay test kits for the diagnosis of toxoplasmosis. Klin. laboratornaja diagnostika. 2009; 2: 37 – 40 (in Russian).
16. Mardanly S.G. Problems and prospects for improving clinical laboratory diagnosis of infections of the TORCH group. Bulletin of the blood service. 2013; 2: 54 (in Russian).
17. Mardanly S.G., Tomashevskaya N.A., Mukhin A.I., Gwi'dis I.Yu., Kirillova L.D., Khozhainova M.P. Experience in the use of complex test systems for the diagnosis of infections TORCH-group. Epidemiology and infectious disease: Current issues. 2014; 5: 65 – 69 (in Russian).
18. Mardanly S.G., Arsenieva V.A., Akinshina Ju.A., Amelina E.A., Zakharov M.V., Nikitina A.V. Development of a new kit of reagents for screening diagnosis for the purpose of simultaneous detection of antibodies to each of the major pathogens of TORCH-group with method of linear immunoblotting. Epidemiology and infectious disease: Current issues. 2014; 6: 24 – 29 (in Russian).
19. National standard of the Russian Federation. GOST R 53022.3-2008. Technology clinical laboratory. Requirements for the quality of the Clinical laboratory research. Part 3. The rules of evaluation of clinical informative laboratory tests (in Russian).