

С.Г.Марданлы, В.В.Симонов, В.В.Помазанов

**СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ КОМПЛЕКСА РЕАКТИВНЫХ И
ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ИНФЕКЦИЙ TORCH – ГРУППЫ**

Информационно – методическое пособие

г. Электрогорск -2012

ВВЕДЕНИЕ

Принципиальные изменения в жизни человеческого социума, произошедшие в его новой и новейшей истории, неизбежно отразились и на структуре инфекционной патологии человека и, соответственно, на перечне наиболее актуальных для здравоохранения проблем. На смену «классическим» инфекционным угрозам прошлых веков – оспе, чуме, холере и т.п. пришел СПИД и ассоциированные с ним инфекции, развивающиеся на фоне иммунодефицитных состояний, число которых неуклонно возрастает, что дает основание говорить о «популяционном иммунодефиците». Все большую эпидемиологическую значимость начинают приобретать инфекции, занимавшие ранее социально второстепенные места и, следовательно, становятся все более актуальными проблемы эпидемиологического надзора за ними.

Наиболее значимой из них является проблема внутриутробных инфекций, которые в последние годы стали одной из ведущих причин смерти детей в раннем неонатальном периоде и одновременно рассматриваются как важный фактор инвалидизации с детства. Особое положение занимают инфекции так называемого TORCH-комплекса, являющегося предметом настоящего исследования и объединяющего в одну группу различные по биологическим свойствам возбудители. Эти инфекции – простейшие, вирусы, бактерии, несмотря на выраженные различия, обладают рядом общих черт:

- * возможностью пожизненного персистирования их возбудителей в организме человека при отсутствии каких бы то ни было клинических проявлений этого процесса;
- * убиквитарностью (вездесущностью) – все они широко распространены во всех регионах Земли среди разных групп населения;
- * крайним разнообразием клинических проявлений манифестных форм инфекции, то есть отсутствием характерной для каждой из них клиники (непатогномоничностью), а также наличием скрытых, бессимптомных, латентных форм инфекции;
- * возможностью вертикальной передачи возбудителей – от матери плоду через плаценту и возможностью инфицирования ребенка во время родов;
- * малой опасностью для взрослых людей с нормальным иммунным статусом при крайней опасности для плода и новорожденного, в особенности при инфицировании плода в ранние сроки беременности;
- * передаче инфекций половым путём.

Указанные особенности инфекций TORCH-комплекса с очевидностью определяют ведущий принцип борьбы с ними – в первую очередь

необходимость осуществления контроля за группами риска (беременные, женщины детородного возраста, новорожденные), основным элементом которого должно стать регулярное лабораторное обследование (мониторинг) указанных контингентов для своевременного выявления маркеров активно текущей и латентной инфекции. Необходимость такого контроля в Российской Федерации определена рядом нормативных актов Федерального и регионального уровней, однако, на практике такой контроль налажен пока недостаточно.

Во-первых, статистический учет заболеваемости далеко не полон. Так, например, учет герпетической инфекции, вызываемой вирусами простого герпеса 1-го и 2-го типов, на Федеральном уровне ведется только по аногенитальному герпесу, данные о котором на основании характерных клинических проявлений приводятся в соответствии с приказом Минздрава России от 12.08.2003 № 403 в учетной форме № 89 (Извещение о больном с вновь установленным диагнозом сифилиса, гонореи, трихомониаза, хламидиоза, герпеса уrogenитального, аногенитальными бородавками, микроспории, фавуса, трихофитии, микоза стоп, чесотки).

Во-вторых, данные статистического учета не отражают реального состояния дел. Так, по официальной статистике в последние годы в стране регистрировалось от 0,6 до 1,2 случаев токсоплазмоза на 100 тыс. населения. В то же время, даже в наиболее "благополучных" по токсоплазмозу странах Европы этот показатель составляет 600 – 1000 случаев на 100 тыс. населения.

В числе причин неудовлетворительного на сегодняшний день состояния эпидемиологического надзора за инфекциями TORCH-комплекса можно указать отсутствие стандартов их лабораторной диагностики и, соответственно, отсутствие конкретных рекомендаций практическому здравоохранению по выбору оптимальных методов лабораторного обследования групп риска.

С учетом особенностей возбудителей и течения инфекций TORCH-группы из широкого спектра методов лабораторной диагностики, используемых на практике для установления этиологии заболевания, наиболее вероятными претендентами на роль ведущих методов лабораторного обследования являются способы выявления в сыворотке/плазме крови специфических маркеров возбудителей – иммуноглобулинов классов М и G к их антигенам, а среди них – иммуноферментный анализ, сочетающий высокую чувствительность и специфичность с возможностями его практического использования если не во всех, то в большинстве клинических лабораторий для проведения скрининговых обследований групп риска, исследования с использованием реакции иммунофлюоресценции и иммунного блоттинга для заключительных подтверждающих исследований.

Особо следует отметить внедрение в медицинскую практику инновационной диагностической технологии мультимплексного иммунофлуоресцентного анализа, основанного на использовании микроаррэев (микросон с аналитическими реагентами, иммуночипов), позволяющих за один цикл диагностировать до нескольких десятков инфекций.

Отдельным технологическим направлением развития лабораторных методов диагностики являются подходы видеоцифрового компьютерного анализа, применение которого к традиционным тестам с визуальной регистрацией решает задачу документирования и объективизации результатов анализа, что поднимает эти тесты на принципиально более высокий уровень достоверности и аналитической ценности. Видеоцифровой анализ открывает принципиально новые возможности и для усовершенствования методов, где применяются обычные варианты фотометрии, в частности, в иммуноферментном и иммунофлуоресцентном анализе.

Другим перспективным направлением усовершенствования лабораторных методик и диагностических систем является внедрение микрометодов, подразумевающее проведение исследований с использованием минимальных количеств реагентов и образцов. Существенные преимущества дает сочетание подходов видеоцифровой регистрации с миниатюризацией аналитических процедур, которое обычно реализуется в виде полных аналитических комплексов, включающих приспособления для проведения реакций в минимальных объемах в матричном (например, с использованием биочипов) формате и видеоцифровые системы регистрации. Такие аналитические системы со специализированным программным обеспечением дают возможность создания новых методик и оборудования, отличающихся высокой производительностью и экономичностью.

Важной предпосылкой использования этих методов в лабораторной диагностике инфекций TORCH-группы является создание комплекса средств диагностики – иммуноферментных тест-систем, а также иммунофлуоресцентных диагностикумов, наборов для иммунного блоттинга, иммуночипов, устройств видеоцифровой регистрации с миниатюризацией аналитических процедур, - позволяющего проводить одновременное широкомасштабное обследование на все инфекции группы и доступного практически врачам-лаборантам.

Проводимые в стране научные и практические исследования в области лабораторной клинической диагностики инфекций TORCH-комплекса находится в тесной связи с целью и задачами национальной программы и законодательства в области защиты материнства и детства [1].

Реализация этих программ невозможна без создания и совершенствования клиничко-лабораторных комплексов, оснащенных современным оборудованием, методиками и постоянно развивающимися компьютерными технологиями. Очевидна направленность этих усовершенствований, призванных обеспечить повышение достоверности, точности, снижение времени выполнения и трудоемкости проведения анализов) [2,3].

В советский период отечественное здравоохранение добились серьёзных мировых достижений по снижению детской смертности. Сегодня в ч.2 ст.7 Конституции России закреплено, что в Российской Федерации обеспечивается государственная поддержка семьи, материнства, отцовства и детства. Пункт 1 ст. 38 Конституции провозглашает, что «материнство и детство, семья находятся под защитой государства». Данные принципы выступают базисом для принятия государством в лице его полномочных органов мер по охране интересов и защите матери и ребенка, правовых механизмов такой охраны, поощрения института материнства, направленные на создание здоровой семьи, общества, и государства в целом.

В 2007 г. государство впервые в отечественной истории открыто провозгласило пронаталистский характер своей семейной и демографической политики. Был введен целый комплекс важнейших мер по поддержке материнства, реализуемый и по сей день. Указом Президента страны от 9 октября 2007 г. была принята Концепция демографической политики России на период до 2025 г. Данная политика направлена на увеличение продолжительности жизни населения, сокращение уровня смертности, рост рождаемости, сохранение и укрепление здоровья населения, и улучшение на этой основе демографической ситуации в стране. Охрана материнства и детства в нашей стране стала одним из стратегических направлений государственной социальной политики. Благодаря последовательным мероприятиям, проводимым как на федеральном, так и региональном уровнях, удалось добиться улучшения основных показателей деятельности этой службы: выявилась тенденция к увеличению рождаемости (5,5%); сохраняется устойчивое последовательное снижение уровня младенческой смертности (с 2003 по 2006 гг. этот показатель уменьшился с 15,3 до 12,4 на 1000 родившихся живыми); имеется стойкая тенденция к снижению уровня материнской смертности (за 2003 г. он составил 32,0 на 100 тыс. живорожденных, в 2006 г. - 33,6). В 2008 – 2012 гг. наблюдается стабилизация отмеченных показателей.

В то же время всероссийская диспансеризация детского населения 2002 г. подтвердила, что за последнее десятилетие сформировались, так же, устойчивые негативные тенденции в динамике основных параметров здоровья детей: растет распространенность факторов риска формирования нарушений здоровья, увеличивается заболеваемость и число детей-инвалидов. Следует отметить, что статистические данные, показывающие

увеличение заболеваемости детей вызвано, по-видимому, не только истинным ее ростом, но и улучшением диагностики за счет внедрения более современных методов. За последние 5-7 лет заболеваемость детей в возрасте до 14 лет увеличилась на 23%, подростков - на 26%. Остается высоким уровень инфекционной заболеваемости. В ее структуре преобладают острые инфекции верхних дыхательных путей и грипп, составляющие более 90% от всех зарегистрированных инфекционных и паразитарных заболеваний у детей. Показатель заболеваемости ОРВИ у детей до 14 лет составил более 65 тыс. на 100 тыс., а у детей до 6 лет превысил 80 тыс. на 100 тыс. Гриппом ежегодно болеют от 14 до 18 млн. детей. Особую тревогу вызывает рост заболеваемости менингококковой инфекцией: только в 2005-2006 гг. ею переболело около 4000 детей в возрасте до 6 лет, в том числе более 1500 детей - до 1 года. В 2006 г. в 7,5 раза возросла заболеваемость корью. До 620 342 увеличилось число детей-инвалидов в 2006 г. (в 2005 г. - 617 096). Основными причинами формирования инвалидности в детском возрасте являлись инфекционные и соматические заболевания - 34,5%, болезни нервной системы и органов чувств - 20,6%, психические расстройства - 21,2%, врожденные аномалии развития - 18,0%.

За период реализации Федеральной целевой программы «Вакцинопрофилактика» удалось добиться существенного снижения уровня инфекционной заболеваемости у детей (дифтерией - в 5,4 раза, коклюшем - в 2 раза, эпидемическим паротитом - в 4,8 раза). За последние годы существенно возрос охват детей профилактическими прививками против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита, кори, эпидемического паротита. Среди детей в возрасте 2-х лет в целом по стране он составляет более 95%. Прививками против вирусного гепатита В охвачено 80,2% детей, против краснухи - 86,1%.

Разработка и внедрение иммунохимического лабораторно-клинического диагностического комплекса в практику отечественного здравоохранения, является эффективным решением одной из наиболее актуальных проблем совершенствования системы эпидемиологического надзора за инфекциями TORCH-группы, так как наличие современных адекватных методов диагностики будет способствовать своевременному выявлению случаев этих инфекций и осуществлению достоверной регистрации заболеваний и результатов их лечения. В конечном итоге, широкое внедрение диагностического комплекса в клиническую лабораторную практику, должно внести свою существенную лепту в общую картину качественного деторождения и снижения смертности.

Особенности инфекций TORCH – группы, методы и средства их клинической лабораторной диагностики

Особенность внутриутробных инфекций заключается в том, что, будучи относительно безобидными для взрослых, и даже для детей, они становятся чрезвычайно опасными для беременных, существенно влияя этим на качественный и количественный состав показателей рождаемости. В 1971 г. в соответствии с рекомендациями ВОЗ, эти инфекции были объединены в одну группу. По первым буквам латинских названий, входящих в эту группу инфекций, их принято называть TORCH-инфекциями или инфекциями TORCH-комплекса (группы).

TORCH-инфекции -- акроним, составленный из начальных букв инфекций, и применим только к беременным женщинам, их плодам и новорождённым:

•Т — токсоплазмоз (toxoplasmosis);	паразитирующее простейшее	непрожаренное мясо через кровь
•О — другие инфекции (others - другие);		контакт с кошкой
•R — краснуха (rubella)	вирус	воздушно-капельным
•С — цитомегаловирус (cytomegalovirus);	вирус	воздушно-капельным половым через кровь
•Н — герпес (herpes simplex virus)	вирус	воздушно-капельным половым

О — others (другие) — подразумевает такие влияющие на плод инфекции, как гепатит В и С, варицелла Зостер, сифилис, хламидиоз, гонококковая инфекция, листериоз. Недавно в этот перечень включили ВИЧ-инфекцию, ветрянную оспу, энтеровирусную инфекцию. Однако, как правило, в группу TORCH включают только четыре перечисленных заболевания: токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирус и герпес. Учитывая высокий уровень инфицированности населения России сифилисом, этот возбудитель так же был включен в рассматриваемую группу инфекций. Характерными особенностями выбранных инфекций TORCH-комплекса является их пагубное действие на все системы и органы плода, главным образом на его центральную нервную систему, повышая риск выкидыша, мертворождения и врожденных уродств ребенка, формирования пороков его развития, вплоть до инвалидности:

Т. Токсоплазмоз - очень широко распространенное заболевание, которым заражено почти 30% людей в мире. Для человека со здоровым иммунитетом токсоплазмоз не представляет опасности. Опасность представляет только токсоплазмоз, которым женщина заразилась во время

текущей беременности. Это значит, что если женщина уже переболела токсоплазмозом до беременности (не менее чем за полгода до нее) ее будущему ребенку болезнь не угрожает. Более того, в ситуации, когда из-за токсоплазмоза во время беременности женщина теряет ребенка, через полгода она может беременеть, уже не опасаясь заболеть. Чем более ранним был срок беременности — тем больше риск тяжелых последствий при заражении плода токсоплазмозом, но, в то же время, тем меньше вероятность того, что это заражение произойдет. И, наоборот, на более поздних сроках беременности процент передачи токсоплазмоза плоду очень высок (около 70%), но риск тяжелых поражений плода снижается. Врожденный токсоплазмоз часто приводит к гибели плода или к развитию тяжелых поражений глаз, печени, селезенки, а также нервной системы (особенно головного мозга) ребенка.

Р. Краснуха — инфекционное вирусное заболевание, передающееся здоровому человеку от больного чаще всего воздушно-капельным путем. Заражение часто происходит во время инкубационного периода, когда болезнь еще никак себя не проявляет и человек не знает о том, что он болен. При заражении краснухой беременной женщины эта практически безобидная инфекция становится смертельно опасной для плода. В начальной стадии беременности вирус краснухи чаще всего поражает нервную ткань плода, ткани глаза, сердце.

Современные вакцины против краснухи абсолютно действенны и практически не имеют побочных эффектов. Иммунитет к краснухе, который вырабатывается после вакцинации, сохраняется около 20 лет.

С. Цитомегаловирусная инфекция — это обнаруженное относительно недавно вирусное инфекционное заболевание, возбудителем которого является цитомегаловирус - ЦМВ. Может передаваться половым путем, через кровь, при грудном вскармливании. Большинство инфицированных ЦМВ людей переносят инфекцию, даже не замечая ее. Антитела к этому вирусу устойчивы и сохраняются на всю жизнь, повторных заболеваний почти никогда не возникает. Однако так же, как в случае с остальными TORCH-инфекциями, если первичное заражение цитомегаловирусом происходит при беременности, последствия могут быть катастрофическими.

Проблема усугубляется ещё тем, что риск внутриутробной передачи ЦМВ довольно велик — цитомегаловирусная инфекция занимает одно из первых мест по внутриутробному инфицированию плода. Причем инфицирование плода может произойти разными путями, и не только от больной матери, но и от отца во время зачатия, так как в мужской сперме тоже содержится ЦМВ. При внутриутробном заражении цитомегаловирусная инфекция может привести к внутриутробной гибели плода или рождению ребенка с врожденной цитомегаловирусной инфекцией. Которая может проявиться сразу после рождения ребенка такими пороками развития как

недоразвитый головной мозг, водянка головного мозга, гепатит, желтуха, увеличение печени и селезенки, пневмония, пороки сердца, врожденные уродства. Родившийся ребенок может страдать задержкой психического развития, глухотой, эпилепсией, церебральным параличом, мышечной слабостью.

Н. Герпес – является четвертой и последней из рассматриваемых инфекций TORCH – комплекса, хотя, как говорилось ранее, этот список может быть расширен. Строго говоря, герпес - это даже не одна болезнь, а целая группа вирусных инфекционных заболеваний. Известны две группы вирусов герпеса — герпес I и II типов. Герпес I типа, в частности, проявляется как известная всем «простуда» на губах. Герпес II типа в большинстве случаев поражает половые органы (урогенитальный герпес). Передается воздушно-капельным и половым путем, а также «вертикально», то есть от беременной матери инфекция через плаценту может переходить к плоду. В случае запущенного хронического течения болезни герпес обоих типов может проявляться поражениями не только кожи и слизистых, но и центральной нервной системы, глаз, внутренних органов.

При первичном заражении во время беременности, особенно на начальной ее стадии, когда закладываются все органы и системы будущего ребенка, герпесная инфекция может быть смертельно опасной для плода. В этом случае втрое повышается риск неразвивающейся беременности и выкидышей, возможно развитие уродств у плода. Если заражение генитальным герпесом происходит во второй половине беременности, то увеличивается вероятность появления врожденных аномалий плода, таких как микроцефалия, патология сетчатки, пороки сердца, врожденная вирусная пневмония. Могут произойти преждевременные роды. Кроме того, заражение плода во внутриутробный период может стать причиной тяжелых ситуаций, связанных с гибелью ребенка после рождения, детского церебрального паралича, эпилепсии, слепоты, глухоты.

О. Другие инфекции группы. Кроме четырех инфекций, традиционно приписываемых к TORCH-комплексу, следует обратить внимание на другие, имеющие сходное протекание болезни, большую социальную значимость, существенно влияющих на качество протекания беременности, инфицированность плода и состояние здоровья новорожденных.

Существенную роль в списке «других» TORCH-инфекций играет сифилис. Эпидемиологическая ситуация в России последних 15-20 лет, характеризующаяся резким ростом заболеваемости сифилисом (более 270 на 100 тыс. населения – 1993-1997 гг.), вскрыла существенные недостатки клинико-лабораторного обследования и ведения пациентов. Трансплацентарное заражение или инфицирование новорожденных через родовые пути больных сифилисом матерей, а также при кормлении грудью

представляет серьёзную опасность и диктует необходимость тщательного клинико-лабораторного исследования.

Более чем в половине случаев сифилис сочетается с другими инфекциями, как гонорея, трихомониаз, хламидиоз, туберкулёз. Особое внимание следует уделить вирусным инфекциям, частично или преимущественно передаваемым половым путём: папилломовирусной инфекции, цитомегаловирусу, герпесу, гепатитам В и С, ВИЧ-инфекциям, зачастую протекающими одновременно с сифилисом, осложняя диагностику и лечение последнего.

Всё это говорит о необходимости регулярного и планомерного проведения ранней диагностики возбудителей TORCH-комплекса как у беременных, так и у лиц, планирующих беременность, что позволит существенным образом уменьшить развитие инвалидных патологий новорождённых, а так же их смертность. Для этого необходимо разработать и внедрить соответствующие стандарты, методики, реактивы (тест-системы), приборное и вспомогательное оборудование, требуемое для экспрессной, надёжной, массовой (малозатратной) клинико-лабораторной диагностики инфекций и унифицированного (аппаратного) алгоритма их лабораторного контроля. Немаловажную роль в снижении патологий и смертности новорождённых будут играть способы и средства, повышающие и укрепляющие иммунитет матери, плода и ребёнка и не влияющие отрицательно на протекание беременности.

Исходя из особенностей и характера приведенных выше инфекций, их значения в протекании внутриутробной патологии, предполагается организация лабораторной диагностики возбудителей на всём временном (перинатальном) отрезке риска возможного заражения ими как организма будущей матери, так её плода и новорожденного (Рис.1).

Рассматривается три этапа. На первом этапе А-Б (5 мес.), диагностируются оба предполагаемых родителя. На втором, Б-С (9 мес.) - диагностируется будущая мать, затем, этап С-Д (1 мес.) – новорожденный. Итого, предлагаемый для внесения в стандарт временной интервал обязательного диагностирования на выявление инфекций TORCH-комплекса должен составлять не менее 15 мес., что потребует наличия дополнительных высокопроизводительных массовых клинико-лабораторных исследований и соответствующих материальных затрат.

А----- 5 мес.-----Б-----9 мес.-----С—1 мес.---Д

1.- диагностика

2. -диагностика

3. -диагностика

* отца

* беременной

* матери

* матери

* новорожденного

2*. назначение иммунотерапии
слежение за ходом процесса

3.*слежение за ходом процесса

А – Б -до рождения; **Б-С** -беременность; **С-Д** - месяц после рождения ребёнка.

Рис.1. Предпочтительные временные интервалы клинико-лабораторной диагностики инфекций TORCH-комплекса.

Исследованию состояния вопроса в области клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы и посвящено настоящее информационно-методическое пособие

Обзор инфекций TORCH-комплекса и их значение в возникновении внутриутробной патологии

Конец двадцатого века знаменует собой не только расцвет биологии теоретической, но и становление прогрессивной, быстро развивающейся отрасли производства – биотехнологии. Биохимические понятия стали общепринятыми во многих разделах биологии. Биохимия легла в основу клеточной биологии, иммунологии, микробиологии, физиологии, фармакологии, патологии и генетики и стали средством выражения понятий в этих разделах науки. Язык биотехнологии используется также при описании явлений и закономерностей экологии, клинической медицины и сельского хозяйства. Вот почему решая задачи яко бы чисто здравоохранительные, мы не можем обойтись без решения задач биологических и, как следствие, им сопутствующих – биохимических, иммунологических, наконец, биотехнологических, связанных, в том числе, с исследованием, разработкой и производством диагностических тест-систем для клинико-лабораторной диагностики инфекционных заболеваний [3,4].

Ниже рассматриваются результаты аналитических исследований, связанных с обоснованием и выбором изучаемого объекта: инфекции TORCH-комплекса, их особенности и значение в возникновении внутриутробной патологии, качественные и количественные характеристики заболеваемости на территории России и других стран мира, методы и реактивно-технические средства клинико-лабораторной диагностики внутриутробных инфекций [5-10].

Токсоплазмоз

Токсоплазмоз – зооноз, вызываемый внутриклеточно паразитирующим простейшим *Toxoplasma gondii* и характеризующийся преимущественно бессимптомным течением, но принимающий манифестные формы у лиц со сниженным иммунитетом и у части внутриутробно инфицированных новорожденных. *Toxoplasma gondii* (тип Apicomplexa, класс Sporozoea, отряд Eucoccidiidae, подотряд Eimeriina, семейство Eimeriidae) – внутриклеточный паразит, морфологически напоминающий вытянутую дольку апельсина длиной 407 мкм. По Романовскому-Гимзе цитоплазма окрашивается в голубой цвет, ядро – в красно-фиолетовый. Выделен Николем и Мансо в 1908 г. в Тунисе у грызунов гонди и в Бразилии у кроликов. Распространение токсоплазм в природе значительно превышает ареал проживания животных семейства кошачьих, являющихся их естественными хозяевами. Это легко представить, если учесть, что бесполовыми формами паразита поражено до 400 видов животных, в том числе птиц, чей высокий миграционный потенциал хорошо известен [11-15].

Число лиц, инвазированных токсоплазмами превышает 1,5 млрд. человек, причем пораженность ими населения на разных территориях колеблется от 14 до 90%, составляя в среднем не менее 35%. Минимальная пораженность населения отмечается в странах Северной Европы – 14%, низкая, на уровне 25%, - в Новой Зеландии, Великобритании и Австралии, средняя – 35-50% во многих странах Азии, Африки, Америки и Европы. Об этом, в частности свидетельствует то, что среди населения ряда стран Азии и Западной Европы выявлен высокий процент (60–90%) лиц с антителами к токсоплазме. Ежегодные показатели сероконверсии в странах с высокой пораженностью населения составляют более 3%; в "благополучных" по токсоплазмозу странах Северной Европы и "относительно благополучных" - Великобритании, и США, этот показатель составляет менее 1% (так, в США он составляет 0,6 %) [13]. Но даже если ориентироваться на минимальный показатель, то те 0,6% населения США, которые ежегодно переносят острую фазу инвазии, дают около 1,5 млн. случаев заболевания, причем примерно 15% из них являются клинически значимыми [16]. На разных территориях России инвазированность населения (по весьма неполным данным) составляет в среднем 30–35%. Так, по данным профессора В.В.Васильева [8], в 2004 г. в Санкт-Петербурге среди лиц в возрасте до 40 лет было выявлено 31,1% инвазированных. Столь высокая инвазированность населения приобретает особое значение в связи с высоким риском поражения плода при инвазии беременной, который составляет от 25 в первом и до 65% в третьем триместре беременности [17-21].

Не менее значимо и то, что удельный вес токсоплазмоза в развитии хориоретинитов в США и Европе достигает 30 %. Причем в странах с высокой пораженностью населения токсоплазмой, хориоретиниты возникают не

менее, чем у 15-25% больных с ВИЧ-инфекцией в периоде прогрессирования заболевания. Токсоплазмоз с поражением ЦНС у лиц в возрасте старше 1 года является СПИД-индикаторным заболеванием, занимая 2-4 место среди причин летальных исходов у больных ВИЧ-инфекцией [22].

Особенностями эпидемиологии токсоплазмоза является то, что окончательными хозяевами токсоплазм служат кошки и некоторые дикие представители семейства кошачьих. Ооцисты, выделяющиеся с их испражнениями, могут инвазировать до 400 различных видов млекопитающих (в том числе человека) и птиц. Человек инвазируется через загрязненные ооцистами руки, посуду, при приеме в пищу продуктов, обсемененных ооцистами. Возможно заражение и от промежуточных хозяев токсоплазм при употреблении в пищу их сырого мяса, содержащего ооцисты возбудителя. Кроме алиментарного пути заражения, инвазия может произойти перкутанно (например, повреждение кожи при разделке сырого мяса), а также при трансплантации органов или, что менее вероятно, при трансфузии крови [11].

Особое значение имеет вертикальный (от матери плоду) механизм инвазии токсоплазмами. При отсутствии этиотропной терапии он реализуется в 40-50% случаев инвазирования женщины во время беременности. Обычно инвазия плода токсоплазмами происходит в антенатальный период [17-21].

При вертикальном механизме передачи развитие паразитемии у беременной, переносящей раннюю фазу первичной инвазии (манифестно или бессимптомно) в сочетании с низким уровнем специфических (протективных) антител класса IgG, обуславливает развитие плацентита и последующей инвазии плода токсоплазмами. Путь проникновения возбудителя в организм во многом определяет тяжесть течения токсоплазмоза. Так если, при алиментарном инвазировании процесс развивается постепенно, параллельно с развитием иммунитета, то при вертикальном механизме заражения токсоплазмы проникают непосредственно в кровяное русло плода, и инвазия с самого начала принимает генерализованный характер, тем более тяжелый, чем менее зрелой является иммунная система плода [15, 17, 22].

Патоморфологически при врожденном токсоплазмозе обнаруживаются признаки анемии, геморрагии в серозные оболочки, дилатация полостей сердца, очаги пневмонии или отек легких, некротические очаги в печени и селезенке, гиперплазия лимфатических узлов, полнокровие головного мозга. В пораженных тканях выявляются очаговые некрозы, диффузная или гранулематозная пролиферация ретикулярных клеток, лимфогистиоцитарные или плазмноклеточные инфильтраты. По периферии некротических очагов обнаруживаются паразиты (трофозоиты). Нарушается развитие больших полушарий головного мозга. Поражение эпендимы, возникновение спаек в желудочках мозга и облитерация подпаутинных

пространств приводят к развитию гидроцефалии. При поздней фетопатии в коре головного мозга, подкорковой области и стволовом отделе появляются очаги некроза и обызвествления. Характерно продуктивное воспаление вещества головного мозга и его оболочек, нередко развивается менингоэнцефалит. Возникают очаги некробиоза в сетчатой оболочке с образованием гранул в сосудистом тракте (продуктивно-некротический эндофтальмит) [11-13, 19-23, 24].

Частота инвазии токсоплазмами беременных женщин и клиника токсоплазмоза у них существенно не отличается от частоты инвазии и клиники токсоплазмоза у небеременных женщин соответствующего возраста, проживающих на одной территории. В большинстве случаев заболевание протекает бессимптомно. Если у беременной ранняя фаза токсоплазмоза имеет манифестный характер, она протекает, как правило, легко и может остаться недиагностированной. В обоих случаях верификация токсоплазмоза возможна при проведении систематического иммунохимического скрининга в течении беременности. Она тем более необходима, поскольку основной риск инвазии плода связан с первичной инвазией женщины токсоплазмами в период беременности, а врожденный токсоплазмоз, как следствие заражения через плаценту, протекает всегда в виде генерализованного процесса. Тяжесть его определяется инвазирующей дозой токсоплазм, количеством поступивших от матери к плоду протективных антител и периодом беременности, в котором произошло заражение [13]. Частота передачи инвазии от матери плоду возрастает по мере увеличения срока беременности во время первичной инвазии токсоплазмами организма беременной. Риск инвазии плода равен 10-25% в первом триместре и 60-65% в третьем триместре [23,24].

Клиническая картина при врожденном токсоплазмозе варьирует от тяжелых поражений у младенца в перинатальном периоде, что может привести к смертельному исходу до отсутствия клинических проявлений у инвазированного новорожденного. Бессимптомное течение врожденного токсоплазмоза наблюдается у 3/4 новорожденных. Тяжелые формы заболевания наблюдаются только у 10-20% всех инвазированных младенцев. Частота развития тяжелой патологии плода колеблется от 75%, если беременная была инвазирована в первом триместре беременности, до 5%, если это произошло в третьем триместре. В последнем случае, особенно если заражение произошло в конце беременности, манифестное течение ранней фазы заболевания у новорожденного может сопровождаться лихорадкой, симптомами энцефалита, макулезной сыпью, полилимфаденитом, гепатоспленомегалией с прогрессирующей желтухой, тяжелым миокардитом, изъязвлениями на слизистой оболочке носоглотки, пневмонией, нарушением ритма дыхания, цианозом и отеками. При заражении беременной в конце второго – начале третьего триместра

беременности манифестное течение ранней фазы заболевания частично приходится на период внутриутробного развития плода. Происходящая при этом инвазия токсоплазмами ЦНС приводит к развитию энцефалита и резко нарушает рост и созревание головного мозга плода. У новорожденного наблюдаются судороги, выбухающий большой родничок, нистагм, необычно выраженная округлость черепа, кальцификаты в головном мозге, тромбоцитопения. В динамике заболевания нарастает гидроцефалия, появляются симптомы летаргии, наблюдаются частые судорожные подергивания. Это состояние часто ошибочно расценивается как родовая травма. Нередко отмечается тетрада симптомов: судороги, гидроцефалия, очаговые кальцификаты, хориоретинит. Эта форма врожденного токсоплазмоза слабо поддается лечению, значительная часть детей погибает на первом году жизни, а выжившие имеют тяжелые инвалидизирующие поражения мозга. Однако, при более позднем заражении с развитием клиники острого энцефалита (когда еще нет обширных некрозов или сужения "Сильвиева водопровода") заболевание хорошо поддается специфической терапии и излечивается без резидуальных явлений [20].

У детей и подростков возможно развитие поздних проявлений врожденного токсоплазмоза. Так, более чем у 85% детей с бессимптомным течением инвазии развивается ретинопатия. В других случаях у детей и подростков наблюдаются повышенная утомляемость, лимфаденопатия. Часто отмечается задержка физического и психического развития, дефекты слуха, судорожные или эпилептические припадки, слабоумие, эндокринные нарушения. Судорожные припадки и слабоумие в ряде случаев обнаруживаются на 2-4 году, эпилептические припадки – на 7-12 годах жизни. В связи с формированием органических поражений ряда жизненно важных органов специфическая терапия на этой стадии заболевания не эффективна [17, 23, 24].

Для лабораторной диагностики токсоплазмоза чаще всего применяют серологические методы – реакцию связывания комплемента - РСК, реакцию непрямой иммунофлюоресценции - РНИФ, иммуноферментный анализ - ИФА. Из всех этих методов наибольшее предпочтение в настоящее время отдается последнему, поскольку он технически наиболее прост, наименее трудоемок и наиболее объективен в плане интерпретации полученных результатов [11-13, 18].

Краснуха.

Краснуха (германская корь, трехдневная корь, эпидемическая розеола, или третья (детская) болезнь) — вирусная инфекция, поражающая преимущественно детей в возрасте от 2 до 10 лет и характеризующаяся у

них, как правило, острым, но доброкачественным течением с умеренно выраженными лихорадкой и интоксикацией, лимфаденопатией, мелкопятнистой сыпью; особенностью инфекции является более тяжелое течение у взрослых и высокий риск тяжелых поражений плода при ее развитии у беременных.

Возбудитель – вирус краснухи (род Rubivirus) близок к тетравирусам, он патогенен для ограниченного круга позвоночных; отдельные штаммы дают тератогенный эффект у кроликов. Вирус выделен Хиро и Тасака в 1938 г. В лабораторных условиях размножается в различных культурах клеток. Вирус краснухи агглютинирует эритроциты птиц и проявляет гемолитическую активность, что позволило разработать диагностическую реакцию радиального гемолиза, а также метод титрования специфических антител по задержке гемолиза в присутствии вируса краснухи.

Краснуха встречается у людей, живущих на всех континентах и, несмотря на впечатляющие успехи программ вакцинации населения в экономически развитых странах, эта инфекция еще далека от ликвидации даже среди цивилизованной части населения Земли. Риск развития клинически выраженного поражения плода составляет 60-85% при заражении женщины в первом триместре беременности, 15-20% - во втором и менее 5% в третьем. При этом особая тяжесть поражений различных органов плода наблюдается при его инфицировании в первые 16 недель беременности, а тяжелые тератогенные эффекты развиваются чаще всего в первый ее триместр [9, 13, 21-27].

Источником инфекции являются больные различными формами краснухи (приобретенной и врожденной). Дети с врожденной краснухой остаются заразными от нескольких месяцев до 1,5 лет. Основной путь передачи инфекции - воздушно-капельный. Вирус выделяется во внешнюю среду от больного человека с капельками носоглоточной слизи. Кроме того, инфекция передается вертикально от матери к плоду. Естественная восприимчивость человека к краснухе высокая. Исключение составляют дети первого года жизни, имеющие пассивный иммунитет, переданный от матери. Переболевшие краснухой приобретают стойкий пожизненный иммунитет. Вакцинация против краснухи также способствует развитию продолжительного иммунитета. Однако все же возможна и реинфекция, и инфицирование после вакцинации. В этих случаях краснуха течет, как правило, бессимптомно и выявляется по резкому подъему титров антител после близкого контакта с больным, что может быть документировано с помощью ИФА. При этом отмечено, что такие случаи более часты у лиц с поствакцинальным иммунитетом, чем у людей с естественно приобретенным иммунитетом [8, 13, 25].

Иммунный статус населения экономически развитых стран относительно вируса краснухи существенно изменился после введения

иммунизации детей дошкольного возраста. Так, если до введения иммунизации антитела к вирусу краснухи обнаруживались у 50% детей в возрасте 9-11 лет и у 80-85% женщин детородного возраста, то в 80-х годах после введения иммунизации они были обнаружены уже у 88% детей в возрасте 10-16 лет, а среди жителей в возрасте 17-30 лет они обнаруживались у 89% мужчин и 96% женщин. В то же время в развивающихся странах Азии и Африки иммунная перестройка была зарегистрирована почти у всех детей школьного возраста [28, 29].

Проникший в организм человека воздушно-капельным путем вирус сначала репродуцируется в шейных лимфатических узлах, через неделю развивается вирусемия, появляется сыпь и возникают поражения внутренних органов. В этот период могут увеличиваться регионарные лимфатические узлы. При тяжелых формах болезни поражается центральная нервная система, что приводит к развитию менингита, энцефалита. На фоне появления сыпи в крови больных нарастает содержание вируснейтрализующих IgM-антител, через 2-3 недели их титр достигает максимума, а через 2-3 месяца они исчезают. После исчезновения сыпи появляются IgG-антитела, их титр достигает максимума к 8-9 неделе заболевания и сохраняется длительное время [8, 13, 25].

Краснуха беременной женщины чрезвычайно опасна для плода. Вирус, проникая через плаценту, повреждает плод, при этом частота и характер повреждения зависит от сроков беременности, в которые произошло инфицирование женщины. Наиболее опасны первые 3 мес. беременности. Заражение женщины в этот срок в 60-85% случаев приводит к развитию генерализованной и персистирующей инфекции плода, которая течет как мультисистемное заболевание со множественными пороками развития в последующем. Более поздние сроки заражения беременной менее опасны, при них поражения плода развиваются реже (в 25-30% случаев) и они менее выражены [30- 33] .

При развитии внутриутробной инфекции у ребенка продуцируются IgM-антитела, которые сохраняются и в постнатальном периоде (до 6 мес.). Одновременно у ребенка выявляются IgG-антитела, полученные им от матери. Эти антитела через несколько месяцев исчезают, но к этому времени у ребенка появляются собственные IgG-антитела. После родов вирус краснухи обнаруживается в плаценте. У больных новорожденных он обнаруживается в носоглотке, слюне моче, кале; вирус выделяется и на протяжении следующих 1-2 лет [34, 35].

Симптомокомплекс врожденной краснухи - СВК зависит от срока инфицирования плода. При инфицировании на ранних сроках развития, особенно, в первые 8 недель беременности (т.е. в критическую фазу органогенеза), возникают множественные аномалии, являющиеся следствием массивной инфекции. Повреждаются сердце, органы слуха,

зрения, кости черепа, конечностей. Среди таких младенцев отмечается очень высокий процент перинатальной смертности. Наиболее частыми видами врожденных аномалий, обусловленных заражением женщины краснухой после первого триместра беременности, являются глухота и ретинопатия. Несколько реже встречаются увеличение печени и селезенки, геморрагический синдром, признаки гепатита, пневмонии [36- 39].

Статистический учет заболеваемости краснухой в отличие от заболеваемости герпесвирусными инфекциями налажен достаточно хорошо и в распоряжении эпидемиолога имеется большой массив информации для проведения анализа эпидситуации, однако сведения о заболеваемости врожденной краснухой часто недостоверны ввиду дефектов при выявлении случаев этой патологии. Многообразие клинических проявлений часто способствует тому, что ребенок с СВК попадает под наблюдение офтальмолога, кардиолога, невропатолога, лор-врача и других специалистов, при этом этиологический диагноз врожденной краснухи ставится несвоевременно либо вообще не ставится. Это весьма опасно, так как такой ребенок является источником краснухи на протяжении длительного времени и представляет большую опасность для окружающих его лиц [28].

В лабораторной диагностике краснухи в настоящее время могут быть использованы серологические, вирусологический и молекулярно-биологические методы. Однако, вирусологический и молекулярно-биологические методы диагностики достаточно сложны технически, требуют для своей реализации специального оборудования и высокой квалификации персонала, затратны по времени. Поэтому в обычной практике клинической лабораторной диагностики краснухи на первое место вышли серологические методы исследования. Для серодиагностики краснухи могут быть использованы реакция торможения гемагглютинации - РТГА, реакция нейтрализации - РН и иммуноферментный анализ. Причем первые два метода явно уступают ИФА по простоте постановки и длительности исследования [28, 32, 33].

Цитомегаловирус.

Цитомегаловирусная инфекция - ЦМВИ – заболевание, вызываемое возбудителем из группы бетагерпесвирусов, для которого основными клетками-мишенями в организме человека, нередко трансформирующимися при его репликации в цитомегалические, являются моноциты, макрофаги, гранулоциты, эпителиальные и эндотелиальные клетки, фибробласты, гладкомышечные клетки. ЦМВИ характеризуется многообразными проявлениями от бессимптомного до генерализованного (септического) течения с тяжелым поражением ЦНС и других органов. Инфекция известна

давно, однако лишь в 1925 г. Паппенхаймер с соавторами предположили, а в 1926 г. Коул и Куттнер доказали ее вирусную этиологию. Возбудитель же был выделен лишь в 1956 г. на культуре фибробластов человека.

ЦМВИ встречается у людей, живущих на всех континентах, вызывая разнообразные по клиническим проявлениям заболевания как у экономически и социально незащищенной части населения (чаще), так и среди лиц среднего класса и богатых (реже) [5, 6, 9, 10, 13, 40-42].

Уровень пораженности населения этой инфекцией в большинстве стран мира колеблется в пределах от 50 до 90%. Более высокая пораженность наблюдается в развивающихся странах Азии и Африки по сравнению с экономически развитыми странами Европы и Америки. В то же время уровень пораженности ЦМВИ значительно варьирует в различных популяциях даже в пределах одной страны в зависимости от этнических и социально-экономических факторов. Так, в Великобритании около 40% женщин европейской расы в возрасте 20-24 лет являются серопозитивными по ЦМВИ. К 45 годам этот показатель уже несколько превышает 50%. В то же время женщины азиатского происхождения на 90% серопозитивны по ЦМВИ уже в молодом возрасте. Среди женщин афро-американского происхождения в молодом возрасте уровень серопозитивности ниже, чем у женщин азиатского происхождения, но выше, чем у женщин европейской расы, и лишь к 25-30 годам серопозитивность резко возрастает, немногим уступая показателю у азиатских женщин.

ЦМВИ имеет самый высокий удельный вес среди врожденных инфекций. Частота её развития в разных странах варьирует от 0,3 до 3,0% от числа живорожденных. При этом в отличие от других инфекций TORCH-группы тяжелые поражения плода при ЦМВИ могут развиваться в любом триместре беременности. Удельный вес ЦМВИ в развитии хориоретинитов столь же высок, как и при токсоплазмозе. В странах с высокой пораженностью населения ЦМВ рецидивы инфекции с тяжелым течением возникают не менее, чем у 15-25% больных с ВИЧ-инфекцией в периоде прогрессирования заболевания. ЦМВИ с поражением ЦНС у лиц в возрасте старше 1 года является СПИД-индикаторным заболеванием, занимая второе-четвертое место по частоте причин летальных исходов у больных ВИЧ-инфекцией [19, 43-46].

Источником инфекции является человек, зараженный цитомегаловирусом. После первичной инфекции выделение вируса из организма реконвалесцента обычно продолжается несколько месяцев. При заражении в перинатальном периоде непрерывное выделение вируса продолжается 4-8 лет. Как у взрослых, так и у детей состояние латентной инфекции может прерываться периодическими рецидивами, во время которых вновь начинается выделение вируса. Поскольку в подавляющем большинстве случаев ЦМВИ протекает в бессимптомной форме, источники

инфекции не выявляются, не изолируются и длительное время сохраняют свою активность [47, 48].

У инфицированного человека вирус находится во внутренних органах, а также в крови, ликворе, слюне, моче, влагалищном секрете, сперме, грудном молоке, слезной жидкости. Заражение восприимчивого человека происходит при непосредственном контакте с источником инфекции (орально-оральный, сексуально-трансмиссионный пути) или опосредованно – воздушно-капельным путем или через контаминированную вирусом посуду, зубные щетки, игрушки. Кроме того, инфекция может передаваться вертикально — от матери к плоду. Сравнительно с другими вирусами, ЦМВ чаще передается от матери к плоду. Врожденная ЦМВИ встречается у 1% новорожденных [7, 9, 10, 13, 41-43].

Серьезная проблема — заражение ЦМВ реципиентов крови, являющееся одним из искусственных путей передачи инфекции. В нашей стране доноры пока не обследуются на ЦМВИ. В то же время известно, что при переливании крови от серопозитивных доноров заражается от 15 до 40% детей и 2-3% взрослых. Еще более сложные проблемы связаны с трансплантацией органов, поскольку фактором передачи инфекции может быть не только перелитая кровь, но и пересаженный орган [10, 49-55].

ЦМВИ — заболевание, опосредованное иммунной системой. При иммуносупрессии возникают различные клинические синдромы, локализация, тяжесть и распространение которых зависят от иммунного ответа организма на вирус [47, 48]. Реактивация вируса вплоть до развития клинической симптоматики наблюдается и при "физиологической иммуносупрессии", которая сопутствует беременности. При тяжелой иммуносупрессии развиваются генерализованные формы инфекции с частым неблагоприятным исходом. В настоящее время известно, что ЦМВ сам снижает уровень клеточного иммунитета, т.е. обладает иммуносупрессивным действием [40, 45].

Врожденная ЦМВИ возникает в том случае, если во время беременности происходит первичное заражение матери или реактивируется латентная инфекция при отсутствии необходимого уровня протективных антител. Околоплодные воды, кровь, влагалищный секрет содержат вирус, поэтому входными воротами при врожденной инфекции являются плацента, плодные оболочки, внешние покровы плода, дыхательные пути, пищеварительный тракт. Вероятность инфицирования плода при этом составляет 26-50% [53]. Считается, что не менее чем у 5% беременных происходит реактивация ЦМВИ, но число новорожденных с признаками ЦМВИ даже в слаборазвитых странах не превышает 1-3%. Таким образом, у большей части новорожденных ЦМВИ не развивается из-за наличия высокого уровня протективных антител у беременной или они переносят инфекцию в бессимптомной форме.

Наиболее активно инфекция передается в перинатальный период через зараженное грудное молоко, определяя около 60% всех случаев перинатальной инфекции. Характер поражения плода и новорожденного зависит от сроков инфицирования и отличается многообразием проявлений - от серьезных дефектов развития и генерализованных форм до бессимптомного течения инфекции [55-65]. Как и у небеременных женщин, первичная ЦМВИ у обычно протекает бессимптомно. Вторичная ЦМВИ у беременных также может протекать как бессимптомная рецидивирующая инфекция. Манифестное течение у беременных чаще всего дает клинику, сходную с мононуклеозом или ОРВИ [55]. Врожденная ЦМВИ может быть следствием первичной или вторичной (рецидивирующей) инфекции у беременной [48]. Считается, что около 40% женщин с первичной инфекцией в период беременности передают вирус своему плоду.

Вторичная (рецидивирующая) ЦМВИ является причиной одной трети случаев врожденной инфекции в экономически развитых странах и большинства случаев заболевания во многих развивающихся странах, где чрезвычайно высок процент серопозитивных женщин детородного возраста. Частота развития врожденной ЦМВИ в различных странах согласно имеющимся данным, составляет от 0,3 до 3% числа живорожденных [56]. Врожденная инфекция у новорожденных в большинстве случаев (95%) протекает бессимптомно. Однако, почти у 10% из них впоследствии возникают односторонняя или двусторонняя нейросенсорная тугоухость, замедление психического развития или нарушение двигательных функций [13]. В ряде случаев инфицирование плода на ранних стадиях его развития приводит к уродствам и гибели плода или новорожденного. Заражение на поздних сроках не нарушает строение органов и проявляется в постнатальном периоде в виде желтухи, гепатоспленомегалии, тромбоцитопенической пурпуры, поражений центральной нервной системы и пневмонии.

Характерный клинический признак цитомегалии — геморрагический синдром. Обычно уже в первые часы или в течение первых суток после рождения у ребенка на лице, туловище, конечностях появляются множественная петехиальная сыпь, кровоизлияния в кожу, слизистые оболочки, кровотечение из пупка, кровь в стуле. Как правило, геморрагический синдром через 8-10 дней бесследно проходит, но может снова возникнуть через несколько недель. У некоторых детей с первых дней жизни возникает желтуха, генез которой может быть различным — поражение гепатоцитов, желчевыводящих путей, гемолиз эритроцитов. Нередко развивается пневмония, являющаяся причиной дыхательной недостаточности. Один из постоянных симптомов — поражение почек по типу нефроза-нефрита. У новорожденных с поражением головного мозга наблюдаются угнетение безусловных рефлексов, тремор верхних

конечностей, ригидность конечностей, судороги, нистагм, сонливость, симптомы гидроцефалии. При врожденной ЦМВИ отмечаются хориоретиниты, катаракта, атрофия зрительного нерва, заканчивающаяся развитием полной слепоты. Слюнные железы у новорожденных поражаются реже, чем у детей старшего возраста и взрослых. Существует обоснованное представление о том, что источником заражения ЦМВИ новорожденных и детей первого года жизни, родившихся неинфицированными от серопозитивных по ЦМВИ матерей, являются сами матери. Наиболее значимым фактором передачи в этом случае служит грудное молоко, содержащее цитомегаловирус.

ЦМВИ у доношенных новорожденных обычно протекает бессимптомно и без неблагоприятных последствий. У недоношенных, особенно развившаяся вследствие заражения при гемотрансфузии, протекает тяжело, нередко как ЦМВ-сепсис и имеет плохой прогноз [9, 10, 47, 51, 53, 54, 58].

Лабораторная диагностика ЦМВИ может основываться на результатах непосредственного обнаружения вируса в клиническом материале путем электронной микроскопии или выделения вируса в культуре клеток, а также с помощью РИФ с применением моноклональных антител к ЦМВ. Однако указанные методы исследования либо малодоступны (электронная микроскопия), либо весьма длительны. Большее распространение имеют серологические методы исследования, основанные на выявлении специфических антител к ЦМВ – РСК, РГА, РИФ, ИФА. Среди них наибольшие преимущества по простоте исполнения, экспрессности и объективности учета результатов имеет иммуноферментный анализ [40-42, 47].

Герпес.

Герпетическая инфекция или простой герпес (herpes simplex) – это инфекция, которая вызывается вирусами простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1 и ВПГ-2) и характеризуется тергментальными (от лат. *tegmental*is — покровный) поражениями, т.е. поражениями кожи и слизистых оболочек, поражениями нервной системы, а также других систем организма. Ее проявления часто ассоциированы с иммуносупрессией, а у иммунокомпрометированных лиц она может иметь диссеминированное, септическое течение. Особое значение имеет то, что герпетическая инфекция способна вызывать врожденную патологию плода и заболевания у новорожденных [13,42,61-65]. Простой герпес является одной из самых распространенных вирусных инфекций; его можно встретить у людей, живущих на всех континентах. Пораженность ВПГ-1 во многих странах мира достигает 90-95 %, а пораженность ВПГ-2 – 20-30 %, причем более высокий уровень инфицированности населения наблюдается в развивающихся

странах Азии и Африки по сравнению с экономически развитыми странами Европы и Америки [13,42]. Особое значение имеет связь простого герпеса с патологией беременности, плода и новорожденных. Обычно конгенитальный герпес ассоциирован с самопроизвольными абортами, преждевременными родами и неонатальной герпетической инфекцией. При первичной герпетической инфекции у беременных максимальный риск вертикальной трансмиссии ВПГ может составить 50%, при первом клиническом проявлении непервичной инфекции – до 33%, при ее рецидиве – до 3% [65, 63-81].

Возбудители герпетической инфекции - Herpes simplex virus type 1 и 2 (HSV-1,2 или ВПГ-1,2) относятся к роду Simplexvirus, подсемейству Alphaherpesvirinae, семейству Herpesviridae [42]. Источником заражения являются люди, инфицированные ВПГ, независимо от того, протекает у них инфекция бессимптомно или манифестно [63]. В зависимости от локализации поражения вирусы обнаруживают у инфицированного человека в различных секретах - носоглоточной слизи, слезной жидкости, содержимом везикул, эрозий, язв, менструальной крови, вагинальном, цервикальном секретах, околоплодных водах, сперме [59-61]. В период вирусемии ВПГ циркулируют в крови и выделяются с мочой. Наибольшая концентрация вируса отмечается при манифестных формах инфекции; при ее бессимптомном течении возбудитель может присутствовать в биологическом материале, но в меньших концентрациях. Так, например, у 5% взрослых людей, не имеющих клинической симптоматики, ВПГ можно обнаружить в носоглотке [42, 61-63].

Основными механизмами заражения являются перкутанный и аспирационный (аэрогенный). Внедрение возбудителя осуществляется через слизистые оболочки или кожу, поврежденную патологическим процессом (нейродермит, экзема, мацерация и др.). Перкутанный механизм заражения реализуется в естественных, и искусственных условиях, но естественный путь передачи является доминирующим.

Большинство людей инфицируются генитальным герпесом с началом половой жизни. Группы риска здесь те же, что при вирусном гепатите В и ВИЧ-инфекции - проститутки, гомосексуалисты, а также лица, имеющие множество случайных сексуальных партнеров. Распространению инфекции способствуют алкоголизм и наркомания, которые ведут к беспорядочной половой жизни и внебрачным связям [59-61]. Передача ВПГ от матери к плоду происходит различными путями. Чаще плод инфицируется интранатально во время прохождения по родовым путям, если женщина страдает генитальным герпесом и, особенно, если к моменту родов имеются клинические проявления. При этом входными воротами для вируса являются носоглотка, кожа, конъюнктива плода. Риск заражения плода во время родов при наличии у матери генитального герпеса составляет около 40 % [59-65].

При любом варианте инфицирования возникают разные виды патологии плода и беременности. Так, до инфицирования плода нередко поражаются околоплодные оболочки, что приводит к преждевременному прерыванию беременности. Следует отметить, что генитальный герпес может быть причиной привычного не вынашивания беременности [68]. В медицинских учреждениях возможно также заражение при использовании контаминированного вирусами инструментария, применяющегося в гинекологической, стоматологической, отоларингологической, офтальмологической, дерматологической практике [71].

Большая часть людей (почти 80 %) заражаются ВПГ-1 в возрасте до 6 лет, причем люди с высоким социально-экономическим уровнем жизни инфицируются, как правило, в более поздний период жизни, а часть взрослых остается неинфицированной. Заражение ВПГ-2, если исключить случаи передачи инфекции от матери плоду или новорожденному, связано, как правило, с началом половой жизни [72].

Активная репликация вируса в эпителиальных клетках характеризуется развитием очаговой баллонизирующей дегенерации эпителия и возникновением очагов некроза. В окружающей их зоне возникает воспаление, сопровождающееся миграцией лимфоидных элементов, макрофагов, выбросом биологически активных веществ, реакцией сосудов. Клинически это проявляется хорошо известными симптомами: чувство жжения, гиперемия, формирование папул, везикул. Однако, инфекционный процесс на этом не останавливается – новые вирионы попадают в лимфатические сосуды, а затем в кровь.

Вирусемия является важным звеном патогенеза простого герпеса. Вирус циркулирует в крови, преимущественно в составе ее форменных элементов. По-видимому, вирус не только механически перемещается с клетками крови, но и изменяет их. Так, обнаружены изменения хромосомного аппарата лимфоцитов и их функциональной активности, что может вызвать иммуносупрессию. В результате вирусемии ВПГ попадает в различные органы и ткани, но особый тропизм он имеет к клеткам нервных ганглиев. Не исключается и проникновение вируса в нервные ганглии из места внедрения через нервные окончания и аксоны. При нормальном иммунном ответе вирус элиминируется из органов и тканей, за исключением паравертебральных сенсорных ганглиев, где он сохраняется в латентном состоянии на протяжении всей жизни хозяина.

Инфекция протекает с периодами рецидивов и ремиссий, продолжительность которых зависит от состояния иммунной системы человека, штамма вируса и его взаимодействия с другими вирусами, прежде всего из семейства герпесвирусов. Особое значение приобретает простой герпес у лиц, инфицированных ВИЧ. Установлено, что ВПГ, попадая в геном клетки, пораженной ВИЧ, активирует его, способствуя репликации. Это

позволяет считать ВПГ кофакторами прогрессирования ВИЧ-инфекции [75, 76].

Клинические проявления герпетической инфекции чрезвычайно многообразны как по локализации, так и по тяжести поражений [38]. Установлено, что инфицирование в I триместре беременности приводит к развитию у плода микро-, гидроцефалии, пороков сердца, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), мочеполовой системы, скелета, катаракты, глухоты. Инфицирование во II и III триместрах вызывает у плода гепатоспленомегалию, анемию, желтуху, гипотрофию, пневмонию, менингоэнцефалит, сепсис. При восходящем пути инфицирования (из шейки матки) нередко наблюдается многоводие, невынашивание беременности, задержка внутриутробного развития, отечный синдром и пр. В тоже время поражение плода чаще имеет менее тяжелый характер, чем при трансплацентарной передаче инфекции [42, 59, 63, 66].

Угроза прерывания беременности встречается в 5 раз, а многоводие - в 10 раз чаще у беременных, серопозитивных к ВПГ-2, по сравнению с серонегативными женщинами. Невынашивание беременности (ранние и поздние выкидыши, неразвившаяся беременность) отмечаются у 29% серопозитивных беременных [59-61]. Среди осложнений родов установлен высокий процент несвоевременного отхождения околоплодных вод [62, 63]. Простой герпес у новорожденных - риск для плода при наличии у беременной первичного простого герпеса значительно выше (до 50%), чем при рецидивирующей болезни (менее 3%). Вероятно, это связано с протективным действием материнских антигерпетических антител [84-86]. В тоже время эти антитела не оказывают влияния на развитие клинической симптоматики и прогрессирование болезни [87]. Самый высокий риск для новорожденного возникает во время родов в результате воздействия ВПГ-2 при первичной или рецидивирующей генитальной инфекции женщины во время беременности. При этом ВПГ находится в родовых путях и в окружающих их участках кожи, и новорожденный инфицируется во время родов [13].

У половины больных клинически выраженная перинатальная герпетическая инфекция протекает в диссеминированной форме, у 30% - в первичной неврологической форме (менингоэнцефалит) и у 20% - в виде поражений кожи и слизистых [73]. Столь выраженное разнообразие клинических форм простого герпеса существенно осложняет его диагностику и выводит на первый план методы лабораторной диагностики.

Методы диагностики герпетической инфекции во многих случаях основаны на исследовании характерных поражений слизистой оболочки и кожи. Однако, особенно в последние годы, с учетом значительного увеличения числа скрытых и "стертых" форм инфекции и значимости своевременного диагноза в предродовом периоде у женщин с генитальным

герпесом в анамнезе – этого явно недостаточно. Использование в диагностических целях микроскопии (проба Цанке), а также выделения и культивирования возбудителя (в культуре клеток) недостаточно эффективны и весьма сложны для интерпретации. В связи с этим, несомненно, актуальна разработка и внедрение в практику диагностики герпетической инфекции, в особенности – в комплексе с исследованиями на другую инфекционную патологию) тест-систем на основе современного и высокотехнологичного метода иммуноферментного анализа.

Сифилис.

Сифилис относится к антропонозным инфекциям с преимущественно половым путем передачи возбудителя - *Treponema pallidum* подвид *pallidum*. Источником инфицирования во всех случаях является больной сифилисом человек, его биологические выделения или донорские органы и ткани.

Для сифилитической инфекции характерно хроническое рецидивирующее течение с постепенным вовлечением в патологический процесс различных тканей, органов и систем органов, что приводит к нарушению жизненно важных функций организма человека. Тяжесть клинического течения заболевания и развивающихся при этом осложнений позволили отнести его к социально значимым и представляющим опасность для окружающих заболеваниям [001]. В связи с этим систематические эпидемиологические наблюдения над распространением сифилиса среди населения осуществляются органами здравоохранения подавляющего большинства государств, а также международными организациями [002-006].

В клиническом течении сифилиса у больных выделяют ряд периодов, отличающихся по активности и выраженности клинических проявлений. После относительно длительного инкубационного периода, который может составлять от 2 недель до 6 месяцев (в среднем 3-4 недели), заболевание дебютирует появлением в месте проникновения патогена в макроорганизм первичного воспалительного очага (твердого шанкра), сопровождаемого воспалением ближайшего лимфатического сосуда и лимфатических узлов (лимфангит и регионарный склераденит). Описанная классическая триада представляет клиническую картину первичного периода инфекции.

Быстрое распространение возбудителя по лимфатическим и кровеносным сосудам приводит к диссеминации инфекционного процесса по всему организму и появлению на коже и видимых слизистых оболочках больного сифилисом различных неостровоспалительных, субъективно не беспокоящих пациентов полиморфных высыпаний, что характеризует наступление вторичного периода заболевания. Морфологические формы

клинического проявления элементов сыпи у больных сифилисом многообразны: сосудистые и пигментные пятна, папулезные элементы различной величины, локализации и выраженности воспалительного компонента в их основании, нередко сопровождаемые образованием пузырьковых или пустулезных элементов на их поверхности, а также нарушение роста волос [007-009]. Образование высыпаний на коже может сопровождаться патологическими воспалительными изменениями внутренних органов, наиболее опасными из которых являются поражения сердечнососудистой и нервной систем. Периоды проявления клинических признаков у больного вторичным сифилисом чередуются их полным исчезновением - периоды скрытого (латентного) сифилиса. Без лечения периоды выраженного обострения и разрешения клинических проявлений при вторичном сифилисе могут продолжаться в течение 2-5 лет и более.

Третичный период сифилис характеризуется появлением бугорковых и гуммозных проявлений, он наступает через 2-5 и более лет после заражения. Наиболее опасными в эпидемиологическом отношении являются больные ранними формами сифилиса, так как в морфологических элементах сыпи больного содержится большое количество трепонем. При поздних формах сифилиса клинические проявления в значительной степени обусловлены поражением сосудистой сети различных систем органов, нервной системы или появлением гиперреактивных воспалительных элементов (гуммы и узелки), при которых возбудитель заболевания в ткани элементов присутствует в малых количествах. В связи с этим роль больных поздними формами сифилиса в распространении инфекции незначительна [010-012].

Для сифилитической инфекции характерен также вертикальный путь передачи инфекционного агента от больной сифилисом матери плоду с развитием у него врожденного сифилиса. Наиболее часто инфицирование плода происходит на третьем триместре беременности благодаря распространению инфекции по межтканевым лимфатическим щелям пупочного канатика. В связи с незрелостью иммунной системы плода инфекция вызывает разнообразные поражения кожи, внутренних органов, костной и нервной системы, что может приводить к его внутриутробной гибели плода или рождению ребенка с выраженными нарушениями развития. Особенностью клинического течения врожденного сифилиса является также возможность длительного скрытого течения заболевания и появления клинических признаков спустя многие годы (вплоть до периода полового созревания ребенка) [013-014].

Лабораторная диагностика сифилиса основана на прямом выявлении возбудителя заболевания в отделяемом из очагов поражения и его визуальной идентификации по морфологическим свойствам или выявлении уникальных фрагментов генетического материала *T. pallidum* молекулярно-биологическими методами (ПЦР, ДНК-гибридизация) [015-019]. При

микроскопии в темном поле зрения возбудителя сифилиса часто обнаруживают при первичном, вторичном и врожденном сифилисе с обильными высыпаниями, реже - при поздних формах вторичного и очень редко - при третичном сифилисе [015, 020]. На ранних стадиях заболевания чувствительность и специфичность теста составляет 56-97% и 77-100% [009, 021-025].

Современные методики ПЦР позволяют определять наличие небольшого количества генетического материала в объеме пробы (от $1 \cdot 10$ до $1 \cdot 10^3$ микробных клеток), что обуславливает максимальную аналитическую чувствительность исследования [017, 022, 026-029]. Клиническая чувствительность ПЦР при обследовании больных сифилисом варьирует в пределах 68-100% в зависимости от вида исследуемого биологического материала (сыворотка крови, ликвор или серозное отделяемое сифилидов) [025, 030]. Специфичность методики ПЦР определяется уникальностью фрагмента нуклеотидной последовательности ДНК или РНК исследуемого микроорганизма, выбранной для присоединения праймеров, и созданием оптимальных условий проведения циклов амплификации; по данным разных авторов она составляет 96-100% [022, 031].

Для первичного скрининга и установления диагноза при скрытых клинических формах заболевания, а также для целей последующего наблюдения за состоянием здоровья пациентов после проведения им специфического лечения определяющую роль играют иммунологические методы исследования, основанные на выявлении антител к антигенам *T. pallidum* в жидких средах организма [009, 015, 016, 019, 023, 024, 032-036]. Иммунологические исследования для диагностики сифилиса в зависимости от вида выявляемых антител и используемого в исследовании антигена принято подразделять на трепонемные и нетрепонемные реакции [009, 015, 032-037].

Трепонемные иммунологические реакции на сифилис позволяют определять в образцах биологического материала, полученных от пациентов, присутствие специфических антител, направленных против антигенов бледной трепонемы, относящихся к иммуноглобулинам класса G, M и A). К числу регламентированных в Российской Федерации специфических иммунологических реакций на сифилис относятся:

- иммуноферментный анализ (ИФА);
- реакция пассивной гемагглютинации (РПГА);
- реакция непрямой иммунофлюоресценции (РИФ);
- реакция иммобилизации бледных трепонем (РИТ);
- линейный иммуноферментный анализ - иммуноблоттинг (Western blot);
- иммунохроматографические исследования (ИХГИ);

- иммунохемилюминесцентные исследования (ИХЛИ) [038, 048].

Некоторые из перечисленных методов позволяют выявлять в биологических образцах пациента специфические антитела классов G, M и A суммарно (ИФА, ПРГА, РИФ, РИТ, ИХГИ и ИХЛИ), в то время как другие - IgG и IgM - дифференцированно (ИФА, иммуноблоттинг). Указанное обстоятельство играет важную роль при ранней диагностике приобретенного и врожденного сифилиса, так как на ранних стадиях развития инфекции происходит гуморальный ответ за счет выработки плазматическими клетками иммуноглобулинов класса M, и лишь спустя 1-2 недели происходит переключение на выработку иммуноглобулинов класса G [039-045].

В зависимости от используемого вида антигена трепонемные тесты позволяют оценить гуморальный ответ к сумме антигенов возбудителя сифилиса (ИФА, ПРГА, РИФ, РИТ) или к отдельным антигенным детерминантам (ИФА, иммуноблоттинг, ИХГИ, ИХЛИ). Применение технологий дифференцированного определения антител и их вклада в общий гуморальный ответ позволяет осуществлять дифференциальную диагностику сифилиса от состояний иммунологической реактивности с ложными биологическими результатами исследования в иммунологических исследованиях на сифилис.

Нетрепонемные реакции для диагностики сифилиса основаны на выявлении антител (класса IgG и IgM), направленных в основном к липоидным компонентам клеточной стенки возбудителя заболевания. В организме больного сифилисом происходит сенсibilизация в отношении разрушенных элементов бактериальной клетки, к которым и продуцируются реагиновые антитела. При этом направленность реагиновых антител по отношению к *T. pallidum* не строго специфичная, так как некоторые из липоидных структур клеточной стенки бледной трепонемы встречаются и в клетках человека. При сифилитической инфекции наблюдаются выраженные повреждения клеток макроорганизма, что также сопровождается повышенным поступлением в кровоток липоидных элементов клеточных структур организма хозяина.

При проведении нетрепонемных иммунологических тестов в качестве антигена применяют очищенные липоидные субстанции (кардиолипин в сочетании с другими липидами лецитином и холестеринном), которые по своему происхождению не имеют прямого отношения к возбудителю сифилиса, их получают из тканей и органов здоровых животных [046-047] или путем биохимического синтеза.

В Российской Федерации для исследования на сифилис разрешено использовать несколько модификаций нетрепонемных исследований [038, 048]:

- реакция микропреципитации с кардиолипиновым антигеном (РМП);

- реакция быстрого определения реагинов плазмы крови (Rapid Plasma Reagin или сокращенно RPR).

За рубежом применяются и другие модификации исследований для выявления реагиновых антител, такие как VDRL (микрореакция с кардиолипидным антигеном, разработанным в исследовательских лабораториях по диагностике венерических заболеваний - venereal diseases research laboratories), TRUST (тест с непрогретой сывороткой крови и кардиолипидным антигеном с добавлением красителя толуидинового красного), USR (реакция с непрогретой сывороткой крови) и другие [49].

Клиническая чувствительность исследований в нетрепонемных тестах варьирует в зависимости от методики исследования и стадии сифилитической инфекции. По данным зарубежных исследований в зависимости от клинической формы сифилиса RPR обладает чувствительностью: при первичном сифилисе - 60-87%, вторичном - 100%, при скрытых формах – 98%, при позднем сифилисе – 70-73%; [023, 024, 037]. В связи с тем, что кардиолипид содержится в клеточных стенках человека, положительные результаты исследования в нетрепонемных тестах для диагностики сифилиса могут иметь место у пациентов с инфекционными заболеваниями, сопровождающимися деструкцией паренхиматозных органов, при онкологических и эндокринных заболеваниях, а также при некоторых физиологических состояниях организма (беременность, старческий возраст).

Частота неспецифических ложноположительных результатов в нетрепонемных исследованиях в зависимости от состава обследуемых контингентов исследователей колеблется в пределах от 0,1-2,9% [015, 023-024, 050], 2-3% [051-052] и может достигать до 15,4% [053]. В связи с этим нетрепонемные исследования не могут использоваться в качестве диагностических тестов на сифилис, они являются отборочными тестами [048]. Положительные результаты, полученные с кардиолипидным антигеном, требуют верификации в одном или нескольких трепонемных исследованиях [16, 23-24, 32-38].

Следует отметить, что при серологическом обследовании пациентов с чрезвычайно высоким уровнем содержания антител к кардиолипину могут наблюдаться ложные отрицательные результаты, обусловленные равновесным состоянием количества антигена и антител в реакционной среде, так называемым феноменом «прозоны». Для исключения этого феномена осуществляется разведение образцов исследуемой сыворотки [024-025, 045].

Антитела к кардиолипину, определяемые в нетрепонемных исследованиях, являются наиболее лабильной частью иммунных антител при сифилитической инфекции; после проведения специфического лечения пациентов их уровень в биологических средах организма постепенно

понижается, и они перестают определяться. В соответствии с существующими критериями снижение у больного сифилисом титра реакиновых антител, определяемых в РМП или RPR, в 4 раза в течение года после окончания специфической терапии является показателем успешно проведенного лечения, что позволяет ставить вопрос о прекращении клинико-иммунологического наблюдения над ними [023-024, 032-033, 036-037, 053].

При наличии достаточно широкого выбора иммунологических методов для диагностики сифилиса у клинических специалистов имеются существенные претензии к качеству диагностических исследований, выполняемых в лабораториях медицинских организаций на выпускаемых отечественной промышленностью наборах реагентов [054-057].

До последнего времени оставались нерешенными вопросы осуществления ранней диагностики приобретенного и врожденного сифилиса путем определения в сыворотке крови специфических антител класса М. Выпускаемые отечественной промышленностью наборы реагентов для ИФА по показателям клинической чувствительности и специфичности не всегда отвечали потребностям практического здравоохранения и требовали развития и организации производственного выпуска наборов реагентов для РИФ IgM и IgM-иммуноблоттинга.

Анализ заболеваемости инфекциями TORCH-комплекса

Аналитические исследования большинства работ, рассмотренных в выше, показывают, что около 10% всех новорожденных имеют внутриутробное инфицирование. Микоплазмозное заражение имеет место у 19% новорожденных, у 16% выявлены сочетанные формы с другими инфекциями TORCH-группы (хламидийной, герпетической, токсоплазменной, или, токсоплазмозной), а в 45% случаев на основании данных бактериологического исследования, проведенного на 1-2 сутки жизни, у новорожденных отмечена бактериальная инфекция, представленная широким спектром других микроорганизмов (различные штаммы стафилококков, клебсиелл, E.coli, синегнойная палочка и грибковая флора). Эти инфекции репродуктивной системы достаточно распространены и представляют определенные диагностические и терапевтические трудности. Большинство исследований по TORCH-инфекциям, к сожалению, не могут дать адекватного заключения о полученных результатах. Корректные современные исследования на эти инфекции и их адекватная интерпретация являются сегодня крайне недостаточной и в ряде случаев противоречивой. Дополнительная информированность по этому вопросу крайне необходима

не только большинству практикующих врачей, но и руководителям здравоохранительных и надзорных служб, участвующих в национальной программе «Здоровье».

Таким образом, данная проблема нуждается в значительном более детальном изучении с использованием современных лабораторных методов диагностики и детальным анализом полученных результатов. Например, согласно данным ВОЗ, антитела иммуноглобулина класса G к цитомегаловирусу в крови у различных групп населения Европы, Азии, Америки и Африки выявляются с частотой от 40 до 100%. У детей этот показатель варьирует от 13 до 90%. В Великобритании и США среди взрослого населения со средним и высоким социально-экономическим уровнем серопозитивны 40-60% по сравнению с 80% в популяции с низким социальным статусом. В развивающихся странах распространенность ЦМВИ еще более высока. В США у 1-2% всех новорожденных ЦМВИ определяется в моче при рождении. К 1 году жизни количество таких детей увеличивается до 10-20%, а к 35 годам у 40% взрослых имеется сероконверсия с появлением антител ЦМВ, а к 50 годам почти все взрослые люди инфицированы ЦМВ. Сезонного распределения ЦМВ не выявляется. В России диагностика и регистрация этого заболевания находится на низком уровне, что вызвано недостаточным использованием в повседневной практике лабораторной диагностики инфекций TORCH-комплекса, в частности, методов иммуноферментного анализа.

Таким образом, для беременных женщин должен быть предусмотрен комплекс профилактических, диагностических и лечебных мероприятий направленных на уменьшение случаев возникновения врождённых патологий, что должно быть обязательным условием создания эффективной системы профилактики и охраны здоровья матери и ребенка.

В последние годы возрос интерес к роли вирусов (в частности, герпеса) в этиологии воспалительных заболеваний мочеполовой системы, что связано с увеличением их частоты и тяжестью осложнений (бесплодие, психоневротические расстройства и др.) Вирусная инфекция представляет многогранную медико-социальную проблему. Герпесвирусная инфекция продолжает оставаться одной из наиболее опасных у новорожденного ребенка. У беременных относится к числу самых распространенных заболеваний, определяющих внутриутробное инфицирование и акушерскую патологию. В последние годы отмечается тенденция к увеличению инфицирования беременных вирусом простого герпеса. По данным ВОЗ, заболевания, вызванные этим вирусом, занимают второе место (15,8%) после гриппа (35,8%), как причина смертности от вирусных инфекций. Частота генитального герпеса варьирует от 7 до 35%. Антитела вируса простого герпеса 1 обнаруживаются у 99% взрослого населения, типа 2 – у 73%. Частота выявления генитального герпеса в Москве составляет 19,7%.

Однако большинство исследователей считают, что истинная ситуация с генитальным герпесом неизвестна из-за значительной частоты его бессимптомных форм. Считается, что около 90% населения в мире инфицированы одним или несколькими типами вирусов принадлежащих к семейству Herpesviridae. Дородовая диагностика заболеваний плода и новорожденных является одной из приоритетных проблем. Это в полной мере относится и к выявлению внутриутробной герпетической инфекции.

Вывод напрашивается сам собой: обследование пары, планирующей беременность, на герпес, также должно проводиться еще до наступления беременности. Ранняя диагностика, своевременная профилактика и разумная терапия позволят снизить перинатальную заболеваемость и смертность и помогут рождению здорового поколения. При необходимости лечение герпеса назначается и во время беременности, для этого, как правило, используются противовирусные средства, подавляющие активность вируса герпеса, а также препараты, укрепляющие иммунитет беременной женщины, особенно стимулирующие выработку организмом интерферона.

Токсоплазмоз, как было показано выше - это очень широко распространенное заболевание, которым заражено почти 25-50% населения Земли, но заболевание с выраженными клиническими симптомами наблюдаются не часто, особенно в местностях с теплым, влажным климатом. Установлено, что частота инфицированности беременных в различных регионах планеты в зависимости от применяемых методик и тест-систем варьирует от 22% (Израиль), до 83,5% (Мадагаскар), составляя в среднем 40%. 1% женщин впервые инфицируется во время беременности. В 1985 г. в США на лечение, воспитание и образование детей с врожденным токсоплазмозом (около 3300 человек) израсходовано более 221 млн. долларов. Показано, что введение в Финляндии национальной программы пролонгированного скрининга для определения вероятности рождения ребенка с врожденным токсоплазмозом позволит сэкономить до 2,1 млн. долларов ежегодно. Эти данные свидетельствуют о том, что проблема токсоплазмоза у беременных и соответственно снижение риска вертикальной передачи инфекции является общегосударственной в развитых странах.

Особенности заболеваемости инфекциями TORCH-группы на территории России.

Для анализа были использованы данные статистической отчетности последних лет о заболеваемости токсоплазмозом, краснухой, цитомегаловирусной и герпетической инфекциями, любезно предоставленные сотрудниками Федерального Центра Государственного

санитарно-эпидемиологического надзора Российской Федерации [14, 131-133, 135-146]. Эти данные представлены в Табл. 1-4.

Таблица 1

Заболеваемость токсоплазмозом в Российской Федерации в 2000-2007 г.г.

Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения	Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения
2000	0,59	2003	1,2
2001	0,69	2004	0,61
2002	0,98	2005	0,71
2006	0,4	2007	0,3

Таблица 2

Заболеваемость краснухой в Российской Федерации в 1996-2007 г.г.

Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения	Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения
1996	117,7	2001	396,0
1997	121,2	2002	236,4
1998	304,5	2003	87,22
1999	399,3	2004	101,1
2000	313,4	2005	100,8
2006	93,13	2007	21,65

Таблица 3

Заболеваемость цитомегаловирусной инфекцией в Российской Федерации в 1999-2007 г.г.

Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения	Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения
1999	0,55	2004	0,87
2000	0,43	2005	1,1

2001	0,65	2006	0,63
2002	0,46	2007	0,92
2003	0,79		

Таблица 4

Заболеваемость аногенитальной герпетической вирусной инфекцией в Российской Федерации в 2002-2008 г.г.

Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения	Годы	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения
2002	18,2	2006	23,6
2003	19,6	2007	23,7
2004	21,6	2008	22,1
2005	21,8		

Анализ приведенных в Табл. 1-4 показателей заболеваемости позволяет сделать заключение о явном несоответствии официальной статистики реальному положению дел. Так, заболеваемость токсоплазмозом была зарегистрирована на уровне 0,3-1,2 случаев на 100 тыс. человек. В то же время, даже в наиболее "благополучных" по токсоплазмозу странах этот показатель по разным данным (например, по данным Holliman R.E [17]) составляет около 0,6-1 %, т.е. 600- 1000 случаев на 100 тыс. населения. Заболеваемость краснухой регистрировалась на уровне 23-400 случаев на 100 тыс. человек. По данным Нисевич Л.Л. с соавт. [128], манифестная форма составляет лишь небольшую часть от всех заболеваний краснухой. Цитомегаловирусная инфекция была зарегистрирована на уровне 0,4-1,1 случая на 100 тыс. человек. В то же время, по данным Каражас Н.В. [129, 130], ЦМВ выделяется из канала шейки матки у 3,5-20 % практически здоровых женщин и из спермы примерно 30 % практически здоровых мужчин.

Наконец, герпетическая инфекция регистрировалась в 18-24 случаях на 100 тыс. человек. Однако, как уже было подчеркнуто ранее, в Российской

Федерации регистрируется только заболеваемость аногенитальным герпесом, которая, отнюдь, не дает представления о фактическом распространении герпетической инфекции среди населения России.

Указанные несоответствия объясняются очевидным несовершенством системы эпиднадзора за инфекциями TORCH-группы, связанным, прежде всего, со слабостью его лабораторно-диагностической компоненты.

Методы и технические средства лабораторной клинической диагностики.

Введение чужеродных белков, антигенов, в организм определенных позвоночных, вызывает образование специфических антител, - белков плазмы, входящих в группу иммуноглобулинов. Выделяется три основных класса иммуноглобулинов – Ig: M, G и A, и два минорных D и E (Табл.5).

Таблица 5
Классы иммуноглобулинов человека [4].

Показатели физико-химические	LgG	LgA	LgM	LgD	LgE
М.м.	150 000	360 000 - 720 000	950 000	160 000	190 000
Углеводы,%	2,9	7,5	11,8	--	10,7
Концентрация, 0,00014 г/100 мл	0,6-1,7	0,14-0,42	0,05-01,19	0,003-0,04	0,00001-
Период полураспада,дни	23	5,8	5,1	2,8	2,5
Доля белка,% ката- болизируемая,сут.	6,7	25	18	37	89
Скорость синтеза, мг/кг массы/сутки	33	24	6,7	0,4	0,016

Молекулярная масса большинства антител характеризуется величинами порядка 150-190 тыс.ед. (IgG, IgD и IgE) или 360-950 тыс.ед. (IgA и IgM). В нашем случае наибольший интерес для исследования и методического применения представляли антигены класса M и G, имеющих максимальные показатели по молекулярной массе, скорости синтеза, периоду полураспада и концентрации.

Характеристика методов лабораторной диагностики

Все многообразие существующих методов специфической лабораторной диагностики инфекционных заболеваний можно разделить на две основные группы - прямые методы выявления возбудителя и косвенные методы этиологической диагностики [4,121,122]. Прямые методы связаны с непосредственным выделением культуры возбудителя (гистологические, цитологические), то есть методы микроскопического выявления возбудителя в окрашенных или нативных препаратах, которые приготовлены из клинического материала, взятого у пациента; и молекулярно-генетические методы исследования, основанные на выявлении в исследуемых образцах нуклеиновых кислот возбудителя, например, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностика), а также других методов амплификации нуклеиновых кислот.

К непрямым методам специфической диагностики следует отнести все серологические методы диагностики, основанные на выявлении в исследуемых образцах антигенов возбудителя или антител к нему.

Для специфической диагностики инфекций TORCH-группы, в принципе, могут быть использованы все перечисленные методы. Однако методы прямой диагностики, как правило, достаточно сложны и трудоемки, их использование требует наличия специальной аппаратуры, что существенно ограничивает круг клинических лабораторий, в которых они могут быть использованы на практике.

К недостаткам культуральных (бактериологического, вирусологического) методов диагностики можно отнести также длительность проведения исследования, необходимость в различных (элективных, селективных) питательных средах, культурах тканей или клеток. После получения чистой культуры необходима, как правило, биохимическая идентификация возбудителя, а также микроскопирование выделенного объекта в светооптическом и (или) люминесцентном микроскопах.

Все вышесказанное значительно снижает производительность исследования, удорожает его, не позволяет стандартизовать аналитическую процедуру, а также требует весьма высокой квалификации врачей-

лаборантов. Кроме того, ряд микроорганизмов и, прежде всего, большинство вирусов относится к трудно культивируемым (как, например, вирус герпеса) или вообще не культивируемым объектам. К этому следует добавить определенный субъективизм, имеющий место при оценке полученных результатов.

Весьма субъективны, длительны и трудоемки также все микроскопические методы исследования, которые требуют специальных методов подготовки исследуемого материала и его окраски (импрегнации). К тому же результаты микроскопии в большинстве случаев требуют подтверждения другими методами исследования. Их применение в практике обследования сотен и тысяч пациентов нереально, и они, также как культуральные методы, используются в комплексе с другими методами лишь в особо сложных случаях диагностики или для научно-прикладных разработок, в частности, для выделения и (или) идентификации штаммов, применяемых для приготовления антигена в различных серологических реакциях. Общим недостатком всех прямых методов исследования является, также, сложность либо невозможность дифференциации острых и хронических форм инфекции, что существенно снижает диагностическую ценность самого факта обнаружения возбудителя в организме больного. К этому следует добавить невозможность автоматизации учета результатов исследования и субъективизм в их интерпретации. Поэтому на первый план в практике лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы выступают серологические методы исследования, а среди них – иммуноферментный анализ - ИФА) и исследования в реакции иммунофлюоресценции - РИФ.

К достоинствам ИФА следует отнести высокую чувствительность и специфичность, низкие трудозатраты, отсутствие специфических режимов безопасности, стандартизация и автоматизация методики, что позволяет проводить большое количество однотипных исследований как в скрининговых исследованиях, так и в исследованиях в формате иммунного блоттинга – ИБ [123].

Для инфекций TORCH-группы характерна определенная последовательность и интенсивность выработки специфических иммуноглобулинов различных классов. Первыми появляются специфические IgM-антитела, которые достигают своего максимума к концу первого – началу третьего месяца заболевания, затем их содержание снижается, и они перестают определяться через 6-12 месяцев после заражения. Иммуноглобулины класса G появляются в сыворотке крови на 2-3-й неделе заболевания и достигают пика своей концентрации на месяц позже IgM-антител (2-4 мес.) В дальнейшем содержание IgG-антител может снижаться, но они, как правило, продолжают определяться пожизненно [9]. Очень важным диагностическим признаком, позволяющим определять точное время инфицирования и дифференцировать первичную инфекцию,

реинфекцию и реактивацию инфекционного процесса, является также изменение (повышение) avidности IgG-антител в ходе процесса [124, 125]. Исходя из этого, лабораторная диагностика инфекций TORCH-группы с использованием ИФА должна включать обследование пациента на наличие антител обоих классов, а также на уровень содержания и avidность IgG-антител.

В этом плане имеет огромное значение анализ достаточности средств специфической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы методом ИФА, т.е. наличие и особенности соответствующих тест-систем отечественного производства. Речь идет именно продукции Российских производителей, поскольку импортные аналоги при всех их достоинствах не могут рассматриваться как средство решения соответствующих проблем отечественного здравоохранения, прежде всего, по причине высокой стоимости, нередко превышающей стоимость отечественных тест-систем в два и более раз.

Из всех отечественных производителей ИФТС тест-системы и реагенты для комплексной диагностики инфекций TORCH-группы производят только две фирмы – ЗАО "Вектор-Бест" (пос. Кольцово, Новосибирской обл.) и ООО "НПО "Диагностические системы" (г. Нижний Новгород). В связи с этим целесообразно проанализировать те их характеристики, которые определяют основные потребительские свойства продуктов указанной группы. Анализ проведен по информации о тест-системах, представленной на сайтах указанных фирм [126, 127].

ЗАО "Вектор-Бест" производит следующие реагенты и тест-системы:

ВектоТоксо-IgM	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса М к <i>Toxoplasma Gondii</i> .
ВектоТоксо-IgG	ИФТС	- для количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G к <i>Toxoplasma Gondii</i>
ВектоРубелла-IgM-стрип	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи.
ВектоРубелла-IgG-стрип	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу краснухи.
ВектоЦМВ- IgM	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса М к цитомегаловирусу.
ВектоЦМВ - IgG - стрип	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу .
ВектоВПГ-IgM-стрип	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу простого герпеса.
ВектоВПГ-2- IgG	ИФТС	- для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 2 типа.
ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность НР		- набор реагентов для иммуноферментного определения индекса avidности иммуноглобулинов класса G к вирусу простого

ВектоВПГ-2- IgG-авидность	НР	герпеса 1 и 2 типов в сыворотке/плазме крови. - набор реагентов для иммуноферментного определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 2 типа в сыворотке/плазме крови.
ВектоЦМВ-IgG-авидность	НР	- набор реагентов для иммуноферментного определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G к ЦМВ (6х8 анализов).
ВектоРубелла-IgG-авидность	НР	- набор реагентов для иммуноферментного определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу краснухи.
ЦМВ-IgG-блот-ИФА-БЕСТ	НР	- набор реагентов для подтверждения наличия иммуноглобулинов класса G к ЦМВ в сыворотке/плазме крови методом иммуноблоттинга.

ООО «НПО «Диагностические системы» производит следующие ИФТС:

ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G	ИФТС	- для выявления антител класса М к <i>Toxoplasma gondii</i> в сыворотке/плазме крови человека (кат. № Т-153).
ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G	ИФТС	- для выявления антител класса G к <i>Toxoplasma gondii</i> в сыворотке/плазме крови человека (кат. № Т-151).
ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-GT	ИФТС	- для выявления антител класса G к вирусу краснухи в сыворотке и плазме крови человека (кат. № RU-151).
ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-М	ИФТС	- для выявления антител класса М к ЦМВ в сыворотке и плазме крови человека (кат. № CM-153).
ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G	ИФТС	- для качественного и количественного определения антител класса G к ЦМВ в сыворотке и плазме крови человека (кат. № CM-151).
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ 1,2-G	ИФТС	- для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов в сыворотке и плазме крови человека (кат. № H-151).
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ 2-G	ИФТС	- для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса типа 2 в сыворотке и плазме крови человека (кат. № H-251).
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ1,2-G-АВИДНОСТЬ	ИФТС	- для определения индекса авидности антител класса G к вирусам простого

	герпеса 1 и 2 типов в сыворотке и плазме крови человека.
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ 2-G-АВИДНОСТЬ ИФТС	- для определения индекса avidности антител класса G к вирусу простого герпеса типа 2 в сыворотке и плазме крови человека
ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G-АВИДНОСТЬ ИФТС	-для определения индекса avidности антител класса G к цитомегаловирусу в сыворотке и плазме крови человека.
ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-АВИДНОСТЬ ИФТС авидности	-для определения индекса антител класса G к <i>Toxoplasma gondii</i> в сыворотке /плазме крови человека, содержащей анти-токсо IgG, с целью специфической диагностики первичной инфекции.
ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-G-АВИДНОСТЬ ИФТС	- для определения индекса avidности антител класса G к вирусу краснухи в сыворотке

В «линейке» тест-систем ЗАО "Вектор-Бест" не предусмотрено раздельное определение IgG-антител к ВПГ-1 и ВПГ-2. В "линейке" тест-систем ООО "Диагностические системы" отсутствуют тест-системы для выявления IgM-антител к вирусу краснухи и ВПГ, дифференцированного выявления IgG-антител к ВПГ-1 и ВПГ-2.

Общими характеристиками всех указанных тест-систем являются:

- * использование в качестве иммуносорбента рекомбинантных антигенов соответствующих возбудителей;
- * использование в качестве конъюгата антител к человеческим иммуноглобулинам класса G или M, меченых пероксидазой хрена;
- * необходимость предварительного 10-кратного разведения исследуемых образцов специальным раствором;
- * необходимость предварительного приготовления рабочего промывочного раствора, рабочего разведения конъюгата и субстратно-индикаторного раствора;
- * возможность дробного использования наборов (иммуносорбенты – на стрипированных планшетах).

Прочие потребительские характеристики указанных тест-систем (кроме тест-систем для оценки avidности и иммуноблотинга) приведены в Табл. 6. Как следует из представленных данных, все тест-системы для определения IgM-антител рассчитаны только на качественное определение их «наличия-отсутствия». Все тест-системы для определения IgG-антител рассчитаны как на качественное, так и на количественное их определение (определение

содержания в МЕ/мл или Е/мл или определение титра). При этом последнее выполняется либо по результатам той же постановки ("ВектоТоксо-IgG", "ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G", "ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-G", "ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G"), для чего в состав соответствующих тест-систем включены калибраторы с известным содержанием антител, либо по результатам дополнительного титрования "положительных" образцов, выявленных в качественном исследовании ("ВектоРубелла-IgG-стрип", "ВектоЦМВ-IgG-стрип", "ВектоВПГ-2-IgG", "ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ 1,2-G", "ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ 2-G").

Все тест-системы для определения IgM-антител позволяют исследовать с помощью одного набора от 60 до 91 образца (в зависимости от числа стрипов, использованных в одной постановке). Число образцов, которые можно исследовать с помощью одного набора при качественном определении IgG-антител варьирует от 32-44 до 60-91 образца, а при количественном, при использовании того же набора – от 12-44 до 60-91 образца, либо требует дополнительного использования еще одного набора. Из 15 тест-систем 3 имеют срок годности 12 мес., 5 тест-систем – 9 мес. и 7 тест-систем – 6 мес.

Эти данные свидетельствуют о том, что разработка тест-систем комплексной для диагностики инфекций TORCH-группы в целях совершенствования лабораторной компоненты системы эпидемиологического надзора за ними является весьма актуальной проблемой. Все рассмотренные тест-системы сконструированы на основе рекомбинантных антигенов возбудителей, и поэтому создание комплекса тест-систем на основе нативных ("лизатных") антигенов возбудителей может явиться существенным вкладом в обеспечение надежности лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы.

Не менее актуальна задача существенного улучшения потребительских характеристик наборов, в частности, задача выбора более рационального их состава для сокращения числа подготовительных операций и обеспечения максимальной эффективности использования каждого набора за счет возможности определения наличия и содержания IgG-антител в одной постановке при использовании всех соответствующих тест-систем, а также задача увеличения срока годности всех тест-систем до 12 мес.

Современные методы и средства клинико-лабораторной диагностики выбранных инфекций.

Иммунохимические методы анализа, основанные на специфическом связывании определяемого соединения соответствующими антителами, широко вошли в аналитическую практику и используются в различных областях медицины, сельского хозяйства, микробиологической и пищевой

промышленности, для целей охраны окружающей среды. Индикация образующегося комплекса антиген-антитело может быть осуществлена, если в один из исходных компонентов реакционной системы ввести метку, которая легко детектируется соответствующим высокочувствительным физико-химическим методом. Весьма удобными для этой цели оказались изотопные, ферментные, флуоресцентные, парамагнитные и др. метки, использование которых дало возможность увеличить чувствительность классических иммунохимических методов анализа в миллионы раз, а время анализа уменьшить до нескольких минут.

Исторически первым среди них был радиоиммунологический анализ - РИА, предложенный в конце 50-х годов прошлого века. Благодаря возможности определять метку, которой являлся изотоп I^{125} , в очень малых концентрациях, удалось достигнуть высокой чувствительности анализа (на уровне пкг/мл). В середине 60-х годов для идентификации и локализации антигенов в гистохимических препаратах и выявления полос преципитации в иммунодиффузных и иммуноэлектрофоретических методах в качестве высокочувствительной метки было предложено использовать молекулы ферментов. Являясь по своей природе мощными химическими катализаторами, ферменты способны эффективно осуществлять наработку легко детектируемого продукта, что делает возможным определение ферментной метки в весьма малых концентрациях (до 10^{-12} Моль и ниже). На протяжении последних трех десятилетий иммуноферментные методы анализа интенсивно развивались как в теоретическом, так и практическом плане и к настоящему времени они сформировались в самостоятельное научное направление, имеющее важное прикладное значение. Наибольшее распространение получили гетерогенные методы иммуноферментного анализа, основанные на использовании полистирольных планшетов для иммобилизации антител или антигенов, специфическом связывании определяемого вещества на стенках лунок планшета и последующем выявлении образовавшихся иммунокомплексов с помощью меченных ферментами компонентов.

Сравнительные данные по чувствительности исследованных иммунохимических методов анализа приведены в Табл.7

Таблица 7.

Предел обнаружения (чувствительность) иммунохимических методов анализа при использовании различных меток.

Тип метки	Чувствительность, Моль
-----------	---------------------------

Хемилюминесцентная	10^{-19}
Радиоизотопная	10^{-18}
Флюоресцентная	10^{-12}
Ферментная	10^{-9}

Реакция иммунофлуоресценции

Реакция иммунофлуоресценции предложена А.Н.Кунс ещё в 1942 г. [147-153]. В настоящее время эта старая реакция получила "вторую жизнь" благодаря появлению гибридных технологий, позволяющих получать моноклональные антитела. Их применение позволило значительно увеличить ее чувствительность и специфичность [149-151]. Популярность РИФ объясняется экономичностью, наличием широкого спектра диагностических наборов, быстротой получения ответа. Сегодня в этой реакции используются как поликлональные сыворотки, так и моноклональные антитела, меченые флюоресцеина изотиоцианатом - ФИТЦ. Для уменьшения неспецифического свечения фона применяют обработку мазка бычьим сывороточным альбумином, меченым родамином или голубым Эванса. Чаще всего РИФ используют для быстрого обнаружения возбудителя в патологическом материале. Учет результатов реакции осуществляется с помощью люминесцентного микроскопа, в оптическую систему которого устанавливается набор светофильтров, обеспечивающих освещение препарата ультрафиолетовым или сине-фиолетовым светом с заданной длиной волны. Исследователь оценивает характер свечения, форму, размер объектов и их взаимное расположение. Наибольшее распространение получили наборы, основанные на прямой реакции иммунофлуоресценции, однако имеются тест-системы, использующие реакцию непрямой иммунофлуоресценции. Если прямая РИФ может использоваться только для обнаружения антигена, то непрямой вариант этой реакции может быть использован как для обнаружения антигена, так и для серодиагностики (например, при болезни Лайма, сифилисе). При исследовании крупных объектов (трихомонады, гарднереллы, клетки пораженные вирусами) эти критерии позволяют получить высокодостоверный результат. В то же время, элементарные тельца хламидий и микоплазмы имеют размеры, лежащие на пределе разрешающей способности люминесцентного микроскопа. При этом оценка морфологии микроорганизмов затруднена, а свечение теряет периферический характер. Остающихся критериев явно недостаточно для уверенной идентификации наблюдаемого микроорганизма. В связи с

вышесказанным, субъективный характер учета реакции предъявляет особые требования к квалификации персонала проводящего исследования. В наших исследованиях реакция иммунофлюоресценции использовалась для подтверждения результатов иммуноферментного анализа.

Иммуноферментный анализ

Метод иммуноферментного анализа был предложен в начале 70-х годов тремя независимыми группами исследователей: Engvall и Perlmann в Швеции, van Weemen и Schuur в Нидерландах и Rubenstein с сотр. в США [4, 151,153,154]. К концу XX в. этот метод прошел путь от новейшей научной разработки до рутинного метода в лабораторно-клинической диагностике. Еще 10-15 лет назад ИФА-диагностику в России проводили только в крупных многопрофильных больницах, диагностических центрах, специализированных диспансерах. В настоящее время ИФА-диагностика является наиболее часто используемым иммунологическим методом в городских и районных больницах, поликлиниках, роддомах, учреждениях Роспотребнадзора и других медучреждениях, в том числе и для диагностики инфекций TORCH-комплекса [81,155-161]. Сущность ИФА заключается в специфическом взаимодействии антитела и антигена с последующим присоединением к полученному комплексу конъюгата (антивидавого иммуноглобулина, меченного ферментом). Фермент вызывает разложение хромогенного субстрата с образованием окрашенного продукта, который выявляется либо визуально, либо фотометрически. Регистрацию результатов реакции проводят на специальных фотометрах с вертикальным лучом при определенной длине волны. Результат выражают в единицах оптической плотности. Существует множество вариантов постановки ИФА, из которых наибольшее практическое значение получил гетерогенный твердофазный иммуноферментный анализ. Использование твердой фазы позволяет упростить процесс разделения компонентов реакции за счет иммобилизации одного из компонентов на твердой фазе и удаления субстанций, не участвующих в реакции. Основными требованиями, предъявляемыми к твердой фазе при проведении ИФА, являются устойчивость к растворам, используемым в реакции, и высокая специфическая емкость (т. е. способности сорбировать на своей поверхности антитела или антигены в количествах, необходимых для проведения реакции в сочетании с как можно меньшей неспецифической сорбцией белков из исследуемых образцов и конъюгатов). Наиболее распространенным способом иммобилизации антител или антигенов является адсорбция, процесс, при котором часть

молекул за счет ионных и гидрофобных взаимодействий, а также образования водородных связей, присоединяется к поверхности твердой фазы. В качестве твердой фазы в большинстве коммерческих диагностических наборов используют полистироловые 96-ти луночные планшеты или полистироловые шарики. Для ферментативной метки конъюгата могут быть применены разнообразные ферменты: пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза, глюкозооксидаза и др. Как правило, во всех коммерческих тест-системах используется исключительно пероксидаза хрена, выбор которой определяется ее высокой удельной каталитической активностью, доступностью, стабильностью, простотой детекции. В качестве субстратного реагента также применяются разнообразные хромогенные вещества, продукты окисления которых как раз и регистрируются фотометрически при определенных длинах волн (волновой диапазон 340-750 нм). Широкое использование стандартной конфигурации 96-луночного планшета позволило унифицировать оборудование, необходимое для проведения иммуноферментного анализа. Иммуноферментный анализ является одним из наиболее бурно развивающихся в настоящее время направлений прикладной иммунологии.

Для подтверждения результатов ИФА анализа, часто используют дополнительные методы подготовки и анализа пробы. Например, РИФ или иммуноблоттинг (вестернблот, иммуноблот). Иммуноблот - высокоспецифичный и высокочувствительный референтный метод, подтверждающий диагноз для пациентов с положительными или неопределенными результатами анализов, полученных в т.ч. при помощи РПГА или ИФА. Этот метод выявления антител к отдельным антигенам возбудителя основан на постановке ИФА на нитроцеллюлозных мембранах, на которые в виде отдельных полос нанесены специфические белки, разделенные гель-электрофорезом. Если имеются антитела против определенных антигенов - появляется темная линия в соответствующем локусе стрипа. Уникальность иммуноблота заключается в его высокой информативности и достоверности получаемых результатов.

Технология иммунологических биочипов.

Биологические микрочипы (biochips или DNA microarrays), в настоящее время всё больше находят широкое применение в биологии, медицине, аналитической химии [162-185]. Основное преимущество – одновременное иммунохимическое определение (диагностика) в исследуемом материале нескольких сразу нескольких (5, 10, 36 и более) возбудителей. Высокая производительность, относительно низкая стоимость анализа (Табл.8)

наряду с высокой чувствительностью и специфичностью определения, ставит это новое направление в клинической лабораторной иммунодиагностике, в том числе и инфекций TORCH-комплекса, наиболее перспективным. В России технология иммуночипов интенсивно развивается в ряде ведущих научных и научно практических центрах: ЗАО «ИММУНОСКРИН» (технология «ФОСФАН»), ФГУП «ГосНИИ Биологического приборостроения», ГНЦ ВП «ВЕКТОР», ЗАО «МиДи», ФГУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Л.Пастера», ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии, ООО «БИОГЕН-ИМБ» и др.

Уникальная диагностическая платформа технологии «ФОСФАН» [185] основана на использовании микроаррэев (микрозон с аналитическими реагентами), размещенными на дне лунок микропланшетов, и фосфоресцентных метчиков биомолекул-веществ обладающих интенсивной длительной люминесценцией. Специально созданная для этого регистрирующая аппаратура – биочип-анализатор «Диагем» – позволяет обнаруживать фосфоресценцию на поверхности дна лунок микропланшетов. Благодаря высокой чувствительности, биочип-анализатор способен обнаруживать очень низкие концентрации аналитов. Можно говорить о регистрации отдельных молекул, если их плотность в микроаррэях составляет около 1 молекулы на квадратный микрон.

В лунке микропланшета на площадке 3х3 мм может быть размещено до 36 микроаррэев. Это обеспечивает возможность одновременного выявления и расчета количественных характеристик каждого из 36 аналитов. Изменение концентрации одного аналита по отношению к другому даже в 1000 раз, практически не приводит к искажению результатов анализа.

Микропланшетный формат технологии ФОСФАН позволяет легко адаптировать ее для любой клинической лаборатории, так как не требуется иное дополнительное оборудование, кроме биочип-анализатора. Подготовка проб осуществляется также как и в иммуноферментном анализе с использованием обычного лабораторного оборудования для работы с микропланшетами (шейкеры, промыватели, диспенсеры).

Иммуночипы, несомненно, в ближайшей перспективе сформируют свой сегмент диагностического рынка и потеснят традиционные технологии иммунохимического анализа. Для этого имеются очень веские основания. Конкурентные преимущества микропланшетных иммуночипов обусловлены тем, что их применение позволяет кардинально поднять производительность лабораторий. Кроме того, снижаются затраты на расходные реагенты, так как стоимость мультиплексных тестов в расчете на один выявляемый аналит значительно ниже.

Преимущества технологии иммуночипов очевидны, когда речь заходит о получении комплексной картины заболевания, формируемой с помощью лабораторных тестов, а также при анализе малых количеств тестируемого

материала, например при скрининге новорожденных с использованием микрообразцов крови, высушенной на фильтровальной бумаге.

ЗАО «ЭКОЛАБ» совместно с ЗАО «ИММУНОСКРИН» планирует организовать промышленный выпуск иммуночипов для диагностики инфекций TORCH-комплекса уже в 2013 г.

Таблица 8.

Технико-экономическая эффективность использования биочипов [176]

Параметр	Единицы измерения	Конкурирующие методы и продукты			Анализ с помощью биочипов
		Проточная цитофлюориметрия	Иммунофлуоресцентный метод	Иммуноферментный метод	
Рыночная цена определения 1 антигена	руб.	240-250	200-250**	800 ***	15-20 *
Стоимость необходимого оборудования	руб.	5 -80 млн. (в зависимости от модели установки)	400 тыс.	60-80 тыс. ****	50-70 тыс. ****
Число одновременно определяемых антигенов на разных клетках	шт.	1-9	1-4	1	От нескольких десятков до нескольких тысяч
Число одновременно определяемых	шт.	1-9	1-4	1	1*

антигенов на одной клетке					
Время выполнени я анализа с учетом пробоподго товки	часы	0,5-1	2,5-3	8	2,5-4

Примечания:

** Данные указаны для биочипов с панелью, включающей 30-35 антител, при проведении анализа без дополнительного определения коэкспрессии антигенов. При расширении панели антител стоимость биочипа будет увеличиваться весьма незначительно, а цена определения 1 антигена будет существенно снижаться.*

*** Приводится рыночная цена определения 1 антигена при использовании антител отечественного производства. При использовании антител зарубежного производства цена проведения анализа возрастает, по меньшей мере, в 3-5 раз.*

**** Приводится рыночная цена определения 1 антигена при использовании набора реактивов для EnVision - метода (производитель: компания «Дасо», США).*

***** С учетом стоимости штатного общелабораторного оборудования.*

Сравнительный анализ используемых биосенсоров в иммунохимическом анализе.

Эффективность применения биосенсоров для диагностических тест-систем определяется возможностью упорядоченного размещением молекул биологически активных соединений на специальной подложке[186-195]. Подложка (носитель) для биочипа, как и для других биосенсоров, используемых в иммунохимическом анализе, чаще всего представляет собой пластинку из полимерного материала. Основная часть полимеров перед изготовлением микрочипов химически модифицируются с образованием на поверхности активных групп, способных связывать биологически активные соединения. Наиболее популярными являются поверхности с карбоксильной, аминокислотной, меркапто, альдегидной, изоцианатной, метакрилатной и др. группами. В ряде случаев удается иммобилизовать биологически активные соединения на полиамидных мембранах или на полистироле без их предварительной модификации.

Необходимость создания новых биосенсоров обусловлена еще и тем, что широкоиспользуемые 96-луночные титровальные планшеты обладают рядом недостатков и в неполной мере отвечают возросшим требованиям практики сегодняшнего дня. Проведенные исследования и анализ ошибок, связанных с неоднородными свойствами планшетов, оценки сорбционной

способности по белку, однородности сорбции, показали ограниченность области использования, проблематичность применения в области высокоточных экспериментов, а в некоторых случаях и на невозможность применения [186-191].

Сравнительный анализ [186] сорбционных свойств и однородности сорбции полистирольных планшетов целого ряда ведущих отечественных и зарубежных фирм приведены в Табл. 9. Полученные данные свидетельствуют о том, что исследованные планшеты обладают самыми различными сорбционными свойствами, при этом только первые три вида планшет фирм Nune, Dynatech и Co-star обладают как высокой сорбционной способностью, так и высокой однородностью сорбции (вариация 5-6%), что позволяет достичь высокой чувствительности анализов. Эти планшеты признаны пригодными для использования в количественном иммуноферментном анализе.

Таблица 9.

Сравнительный анализ сорбционных свойств и однородности сорбции полистирольных планшетов отечественных и зарубежных фирм [186].

Вид планшета (полимер)	Фирма изготовитель, страна	Среднее значение оптической плотности	Коэффициент вариации сорбции, %
Цельные М 129 В (ПС)	Dynatech, Германия	0,519	5,8
Разборные НВ (ПС)	Nune, Дания	0,504	4,9
Разборные (ПЭТФГ)	Costar, Нидерланды	0,554	4,4
Разборные (ПС)	Grainer, Германия	0,364	5,7
Цельные (ПХВ)	Costar, Нидерланды	0,301	4,3
Цельные (ПС)	Libro, Великобритания	0,214	7,2
Разборные МВ (ПС)	Nune, Дания	0,15	5,1
Цельные (ПС)	Kohinoor, Чехия	0,11	8,1
Разборные после у - облучения (ПС)	ГосНИИмедполимер	0,414	4,3
Разборные (ПС)	ГосНИИмедполимер	0,235	6,1
Цельные после отмывки гептаном	Ленмедполимер	0,228	13,9

- ближнее УФ излучение	200– 400 нм
- видимый свет	400–780 нм
- ближний ИК диапазон	780–2,5*10 ³ нм
- среднее ИК излучение	2,5– 50 мкм
- дальнее ИК излучение	50–1000 мкм.

Границы диапазонов весьма условные. Спектральный диапазон современных фотометрических приборов, работающих в клинических диагностических лабораториях, как правило, ограничивается диапазоном видимого света, ближнего ультрафиолетового и ближнего инфракрасного диапазона.

Фотометрический анализ.

Относится к абсорбционным методам, т.е. основан на измерении поглощения света веществом. Он включает спектрофотометрию, фотоколориметрию и визуальную фотометрию, которую обычно называют колориметрией. Каждое вещество поглощает излучение с определенными (характерные только для него) длинами волн, т.е. длина волны поглощаемого излучения индивидуальна для каждого вещества, и на этом основан качественный анализ по светопоглощению. Основой количественного анализа является закон Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c,$$

где $A = -\lg(I / I_0) = -\lg T$ – оптическая плотность; I_0 и I – интенсивность потока света, направленного на поглощающий раствор и прошедшего через него; c – концентрация вещества, моль/л; l – толщина светопоглощающего слоя; ϵ – молярный коэффициент светопоглощения; T – коэффициент пропускания.

Для определения концентрации анализируемого вещества наиболее часто используют следующие методы:

- молярного коэффициента светопоглощения;
- градуировочного графика; добавок;
- дифференциальной фотометрии;
- фотометрического титрования.

Как правило, биохимические анализаторы, использующие в качестве детектирующих устройств фотометры (спектрофотометры), работают в интервале длин волн 315 – 990 нм, хотя на практике (например, в случае ИФА иммуноглобулинов), стандартный прибор имеет набор интерференционных фильтров (2-3,5) в диапазоне 400 – 650 нм.

Флуорометрия.

Это метод определения концентрации вещества по интенсивности флуоресценции, возникающей при облучении вещества ультрафиолетовыми лучами. Молекулы люминофора поглощают свет с определенной длиной волны, который переводит их электроны из основного на более высокий энергетический уровень. Возбужденные молекулы возвращаются в основное состояние, отдавая избыточную энергию либо без излучения света, либо посредством излучения. В последнем случае электроны возбужденной молекулы переходят или непосредственно на основной уровень, или через промежуточное метастабильное триплетное состояние. Излучаемая энергия несколько меньше поглощенной, поэтому длины волн возбуждения и эмиссии света различны, а соответствующую разность называют Стоксовым сдвигом. При флуоресценции этот сдвиг обычно равен 30-50 нм, а при фосфоресценции он может превышать 200 нм.

Небольшие колебания температуры, pH, полярности среды, степени окисления или присутствие гасящих групп изменяют квантовый выход или длину волны испускаемого света. Могут иметь место и так называемые "эффекты внутренних фильтров", когда две сближенные флуоресцирующие группы молекулы белка взаимно гасят флуоресценцию. Чаще всего в флуоресцентном иммуноанализе в качестве меток применяют флуоресцеин, родамин, умбеллиферон, а с недавнего времени также хелаты редкоземельных металлов. Реже применяют флуорескамин, люцифер желтый, 1-анилино-8-нафта-линсульфоокислоту, дансилхлорид, производные пирена, природные порфирины и хлорофиллы. В случае иммунобиочипов (биочип-анализаторов), в качестве фосфоресцентных метчиков биомолекул используются платинакорпопорфирины [178-185]

Видеоцифровая регистрация.

Можно выделить два основных направления развития методов лабораторной диагностики [194]. Первое направление – это совершенствование методик лабораторного анализа путем создания полностью автоматизированных лабораторных систем, предназначенных для эксплуатации в крупных лабораторных центрах. Второе и не менее значимое направление – это развитие упрощенных в проведении лабораторных методов «экспресс-диагностики», которые могут производиться как в лабораториях, так и во внелабораторных условиях, то есть непосредственно у постели больного или любом месте оказания медицинской помощи [200,201]. Эти методы чаще всего основаны на сложных технологиях и процессах с использованием различных биохимических и иммунологических реакций, но реализуются в конечном

итоге как простые тесты, которые не требуют специальных условий, высокой квалификации и наличия специальных навыков лабораторных исследований у персонала [201,202 , 206].

В основном с развитием этого последнего направления, увеличением разнообразия и общего количества экспрессных лабораторных тестов актуальной задачей становится развитие компактных, простых в использовании систем регистрации результатов анализа. Эти системы должны обеспечивать сохранение первичной информации о проведенном тесте для возможности ретроспективной проверки и оценки правильности полученных результатов [195, 198, 204].

Практика показала, что наиболее перспективными для этих целей оказались подходы видеоцифровой регистрации, то есть получение аналитической информации с помощью сканеров или видеокамер. Это связано со стремительным развитием компьютерных технологий и постоянным снижением стоимости, повышением доступности соответствующих регистрирующих систем благодаря их массовому использованию и производству.

В течение последнего десятилетия в лабораторной диагностике широко используется получение аналитической информации с помощью устройств на основе видеоцифровых камер или сканеров [195, 203. 204, 207, 208,210]. Сфера применения таких устройств для клинко-диагностических исследований постоянно расширяется благодаря улучшению характеристик серийно выпускаемых сканеров, цифровых камер, разработкам новых технологических решений и пакетов программного обеспечения.

Под термином «видеоцифровая регистрация – ВЦР» подразумевается не частный элемент конкретного технического решения (получение цифрового изображения), а совокупность возможностей, позволяющих использовать видеоцифровые устройства и получение аналитической информации с помощью компьютерной обработки изображений в качестве основного компонента специализированных систем для лабораторной диагностики. Последнее время методы ВЦР во многих зонах лабораторной диагностики с успехом конкурируют с традиционными фотометрическими подходами [195, 204].

Методы традиционной фотометрии используются в клинической лабораторной диагностике для регистрации результатов реакций, приводящих к изменению светопропускания или светоотражения объектов с одинаковой оптической плотностью во всех точках аналитического компонента системы, то есть раствора в кювете или реагентной зоны тест-полоски, то есть объектов, однородных по своей сути [197,205]. При этом для каждого объекта измерения определяется одно значение оптической плотности или коэффициента отражения (один объект – одна цифра).

Хотя этот подход адекватен для большинства биохимических тестов и для ряда иммунологических реакций (например, иммуноферментный анализ в микропланшетах), существует множество диагностических методов иммунохимии, коллоидной химии, биохимии, изосерологии и др., где применение традиционной фотометрии сталкивается со значительными трудностями или в принципе невозможно.

Это значительная группа лабораторных методов, где в результате реакции появляется градиент окрашивания, возникают полосы и пятна, изменяется структура объектов. Часто это упрощенные методы, где результаты исследований учитываются визуально. Такие весьма распространенные лабораторные исследования являются зоной, где подходы ВЦР наиболее перспективны [195,196].

Принципиальное отличие систем ВЦР от приборов традиционной фотометрии состоит в способе детекции. В фотометрических приборах детектирующим элементом обычно является одиночный фотодиод, а в системах ВЦР детектор – это или линейка в случае сканера, или матрица в случае цифровых камер, которые состоят из сотен или тысяч чувствительных элементов микроскопического размера. Такие устройства называются ПЗС-линейками или ПЗС-камерами и производятся в массовых количествах. ПЗС - прибор с зарядовой связью и обозначает системы чувствительных элементов, позволяющее накапливать, хранить и передавать на внешнее регистрирующее устройство количество электрических зарядов, пропорциональное числу попавших на элемент фотонов.

На Рис.2 представлена схема, которая на примере измерений характеристик растворов в лунках микропланшетов для вертикальной фотометрии иллюстрирует принципы получения информации и возможности технологии ВЦР и обычных фотометрических методов при исследованиях однородных объектов и объектов, имеющих неоднородную структуру.

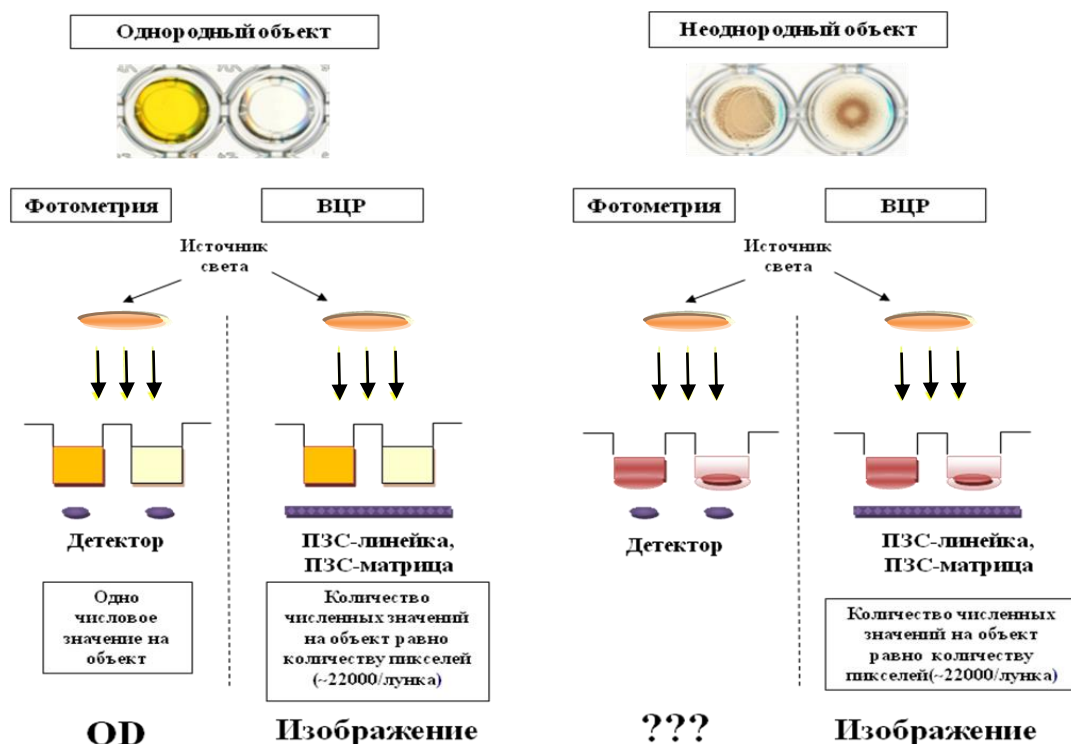


Рис.2. Сопоставление возможностей технологии видеоцифровой регистрации с традиционной фотометрией для однородных и неоднородных лабораторных объектов [194].

Как видно из Рис.2, системы ВЦР дают возможность получать изображение образца, представляющее собой совокупность сигналов, отвечающих большому количеству точек выбранного объекта. Естественно, это относится не только к лункам микропланшета для ИФА, но и другим объектам, таким как мембраны для дот-анализа или блот-анализа, иммуночипы, иммунохроматографические тест-полоски, тест-полоски сухой химии и т.п.

Таким образом, при ВЦР на один объект приходится большое количество регистрируемых цифровых характеристик, количество которых определяется пространственным разрешением соответствующего ПЗС устройства. Очевидно, что получаемое изображение с высоким разрешением несет гораздо больше информации, чем единичное значение оптической плотности или коэффициента отражения, получаемое методами обычной фотометрии или рефлектометрии или даже несколько таких значений, получаемых обычными устройствами с системой из нескольких детекторов.

В случае однородных объектов при ВЦР цифровые характеристики для каждой точки изображения усредняются, и таким образом можно вычислить значение оптической плотности или коэффициента светотражения для всего объекта с большой точностью (обычно для таких вычислений берется не менее 1 тыс. точек). Это позволяет уменьшить погрешность измерения из-за возможных случайных факторов при проведении исследования [209]. Кроме

того, при компьютерной обработке есть возможность исключить точки, характеристики которых свидетельствуют об их артефактном происхождении. Например, таким образом можно выявить лунки микропланшетов для ИФА с царапинами или пузырьками воздуха, искажающими результаты измерений, и скорректировать данные.

Все эти преимущества ВЦР перед методами обычной фотометрии могут быть использованы для усовершенствования методов регистрации результатов различных типов иммунологических и биохимических лабораторных исследований, а также для создания принципиально новых вариантов методик.

Таким образом, наиболее перспективными в применении с системами ВЦР являются варианты анализов, основанные на проявлении результата соответствующих реакций в виде неоднородных контрастных, окрашенных объектов (аналитических зон, пятен, полос) на планарных носителях, и исследований, при которых результат выражается в возникновении неоднородностей (осадка, агрегатов, агглютинатов) в растворах.

Также перспективны для систем ВЦР и объекты, представляющие собой, упорядоченные матрицы элементов, так как с помощью видеокамер или сканеров получается полное изображение всего объекта, то есть матрицы, а затем с каждым элементом матрицы можно проводить соответствующие расчеты независимо. То есть при таком построении программного обеспечения, с выделением каждого элемента матрицы в отдельную «зону интереса» системы ВЦР являются многоканальными с произвольным количеством каналов.

К лабораторным исследованиям на планарных носителях можно отнести: биохимические тесты «сухой химии»; иммунодот- и иммуноблот-тесты; иммунохроматографические и иммунофльтрационные тесты. Иммунодот тесты могут производиться с расположением аналитических точек в виде упорядоченных матриц, также в матричном формате реализуется технология так называемых биочипов или иммуночипов. ВЦР также с успехом может применяться и для реакций, проводимых в различных микропланшетах, которые, строго говоря, не являются планарными объектами. Такие микропланшеты представляют собой геометрически упорядоченную совокупность плоскодонных или круглодонных лунок-кювет. Для всех этих объектов на базе ВЦР могут быть разработаны универсальные технологические приемы, которые в рамках единого подхода позволяют решать задачи регистрации и интерпретации результатов различных клинических лабораторных исследований.

Значение тотальной перинатальной диагностики инфекций TORCH-комплекса в охране материнства и детства.

Как показали проведённые аналитические исследования, разрушительная роль внутриутробных инфекций в демографическом потенциале общества также очевидна, как и недостаточно удовлетворительное отношение государства к охране материнства и детства, что подтверждается статистическими данными.

В Табл.10-11 приведены данные, иллюстрирующие состояние демографического потенциала по опросам на примере населения Курской области [211-213] . По результатам социологического мониторинга, подавляющая часть (95,5% от числа всех опрошенных) признает низкий уровень рождаемости и пытается определить ее основные причины (Табл. 11). Наиболее значимыми причинами снижения рождаемости в Курской области ее жители считают низкие доходы, неудовлетворительные жилищные условия, отсутствие материальной государственной поддержки семей с детьми. К факторам сокращения рождаемости ряд информантов относят безработицу и связанную с ней трудовую миграцию, для женщин - угрозу потерять работу во время беременности и декретного отпуска. Некоторые респонденты обеспокоены воздействием на рождаемость плохой экологической обстановки, недостаточным количеством детских садов и маленьким размером детских пособий, смертностью в репродуктивном возрасте, старением. Данная группа факторов характеризует недостаток внешних (объективных) условий для стабилизации процесса рождаемости в области. Заметим, что подчеркивание зависимости уровня рождаемости от материального благосостояния населения (от уровня доходов, жилищных условий и др.) и патерналистские ориентации в вопросе улучшения демографической ситуации в российских регионах характерны для значительной части населения России.

Таблица 10.

Демографические процессы (на примере Курской области в 1990 – 2010 гг.) [211-213]

Годы	Число родивш ихся на 1000 человек населен ия	Число умерши х на 1000 человек населен ия	Число детей, умерши х в возрасте до 1 года, на 1000 родивш ихся живыми	Естестве нный прирост населен ия на 1000 человек населен ия
1990	11,9	13,9	18,1	-2
1995	8,6	16,9	17,1	-8,3
2000	8,2	18,6	16,4	-10,4
2005	8,6	19,7	12,2	-11,1
2008	10,7	18,3	9,6	-7,6
2009	10,9	17,6	8,5	-6,7
2010				

Таблица 11

Препятствия росту численности населения в Курской области (по оценкам населения в % от числа опрошенных)

Варианты ответов	2007	2009
Низкие доходы	63,2	65,7
Плохие жилищные условия	33,9	33,5
Государство фактически не поддерживает материально семьи с детьми	26,7	23
Многие считают, что в наше время достаточно иметь одного ребенка	19,8	24
Плохая медицинская помощь женщинам во время беременности, при родах	7,9	5,9
Другие	3,5	3,5

Большую роль в демографическом потенциале страны играет детская смертность. Несмотря на достижения современной перинатальной медицины, показатели перинатальной и младенческой смертности остаются очень высокими и намного превышают аналогичные показатели в других европейских странах (Рис. 3). Среди причин перинатальной и младенческой смертности ведущее место занимают внутриутробные инфекции - ВУИ.

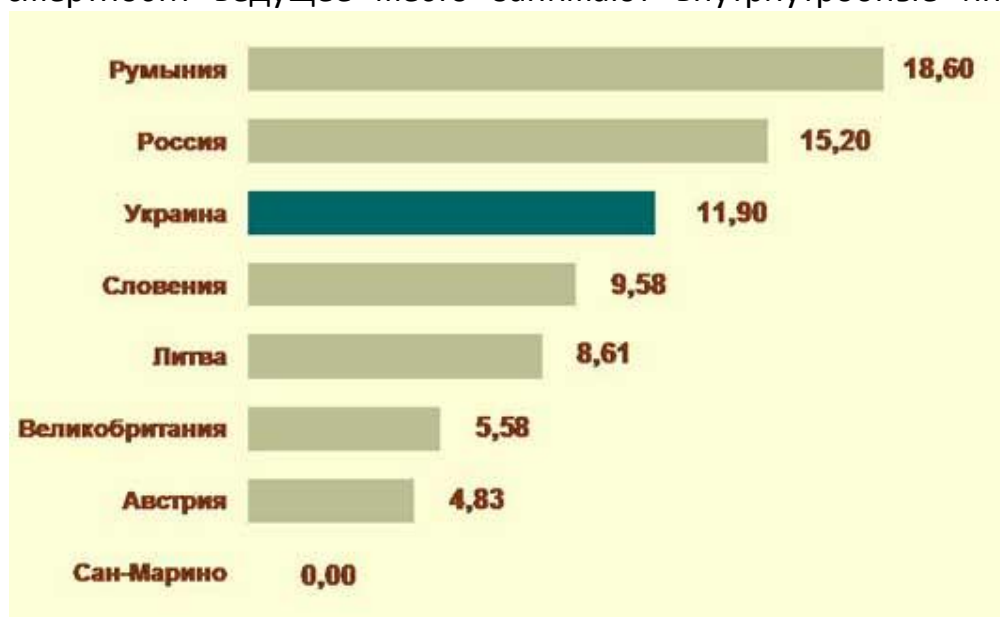


Рис.3. Показатели младенческой смертности в некоторых странах Европы [Европейское региональное бюро ВОЗ, 2003].

Доля ВУИ в структуре перинатальной смертности составляет почти 25%, вместе с тем трансплацентарное инфицирование плода считается одной из наиболее вероятных причин 80% врожденных пороков развития, которые, в свою очередь, составляют около 30% всех смертей детей до 1 года. Выше было показано (на примере инфекций TORCH-комплекса) негативное влияние ВУИ на состояние плода и новорожденного. Наличие хронической инфекции в организме беременной, слабая организация клинко-лабораторной диагностики, отсутствие адекватного лечения или санации очагов этой инфекции - часто становятся причиной развития фетоплацентарной недостаточности - ФПН, что приводит к задержке внутриутробного развития плода, поражению его важнейших органов жизнедеятельности и даже к внутриутробной гибели плода или смерти ребенка в раннем неонатальном периоде. Причем, как свидетельствуют данные литературы, только у 10% беременных инфекция имеет яркие клинические симптомы, что позволяет вовремя ее диагностировать и лечить. У большинства женщин она протекает скрыто, субклинически, а если еще учесть и физиологическую иммуносупрессию во время беременности, то становится понятным, почему такое невыраженное течение инфекции может привести к тяжелым последствиям как для матери, так и для плода. Поэтому своевременная клинко-лабораторная диагностика и адекватное лечение любых проявлений инфекции у беременной, профилактика и коррекция ФПН становятся патогенетически оправданными мероприятиями профилактики перинатальных и младенческих потерь.

Таким образом, проведенный анализ младенческой смертности от внутриутробных инфекций позволил выявить их решающее влияние во время беременности матери и сделать вывод о необходимости тотальной диагностики на всём (Рис.1) временном (перинатальном) отрезке риска возможного заражения, своевременного и адекватного лечения любой инфекции, в том числе и TORCH-группы, на уровне как женской консультации, так и акушерского стационара и клиники. Только при таких условиях можно надеяться на снижение младенческой смертности от внутриутробных инфекций и существенным образом повлиять на прирост здорового населения страны. Следует отметить, что решающую роль в организации обязательной массовой диагностики инфекций TORCH-комплекса и других ВУИ будет играть наличие в клинко-лабораторной практике доступных, как по использованию, так и по стоимости, реактивных и технических средств, построенных на последних достижениях иммунохимических методов, в частности, иммуноферментных диагностикумов, технологии иммуночипов, а также их приборного оформления с использованием техники и оборудования визуальной регистрации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последние годы прошлого и начало текущего столетия характеризуются очевидными изменениями в перечне наиболее актуальных для здравоохранения проблем. Все большую эпидемиологическую значимость начинают приобретать инфекции TORCH-комплекса, занимавшие ранее второстепенное в плане социальной востребованности место и, следовательно, становятся все более актуальными проблемы эпидемиологического надзора за ними. Одной из таких крупномасштабных задач является обеспечение практического здравоохранения Российской Федерации эффективными, доступными и надежными средствами клинико-лабораторной диагностики указанной группы инфекций и, прежде всего, комплексом соответствующих диагностических средств отечественного производства, позволяющих оценивать наличие и содержание IgM- и IgG-антител к антигенам возбудителей. Эта проблема в настоящее время решена лишь частично, т.к. имеющиеся в распоряжении практической медицины отечественные тест-системы построены с использованием только рекомбинантных аналогов антигенов возбудителей, а также характеризуются рядом особенностей, снижающих их потребительскую ценность.

В связи с этим, разработку комплекса средств лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы, включающего ИФТС, сконструированные на базе натуральных (лизатных) антигенов их возбудителей и лишенные недостатков потребительских характеристик имеющихся тест-систем, а также наборы для аналогичных исследований с помощью РИФ и ИБ, можно считать первоочередным способом решения указанной проблемы.

Следующим этапом развития выбранного иммунохимического направления, является создание на разработанной диагностической базе новых технологий, позволяющих значительным образом увеличить производительность качественных и количественных измерений и, в тоже время в несколько раз уменьшить потребительскую стоимость анализа, сделать диагностику инфекций TORCH-комплекса доступной на любом уровне медицинских услуг, что является ключевым условием в организации широкомасштабного (тотального) пренатального обследования населения, участвующего в репродуктивной деятельности.

Таковыми базовыми направлениями является инновационные технологии получения иммунологических биочипов и аналитических приборных систем и программ на основе детекторов видеоцифровой регистрации результатов иммунологических реакций. Всё это позволило сформулировать дальнейшее направление научных, практических и производственных решений,

позволяющих определить алгоритм разработки «Комплекса реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы и их методического оснащения» (Рис.4), состоящего из следующих основных блоков:

Банк данных инфекций TORCH- группы	Выбор методов и технологий	ИФА РИФ ПЦР иммуно- чипы ИФТС	Приборная техническая реализация. Видеоцифровая регистрация	Программное методическое обеспечение	Клинико- лабораторные испытания. Организация производства
--	----------------------------------	--	---	--	---

Рис. 4. Принципиальная схема блоков, определяющих алгоритм создания «Комплекса реактивов и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы и их методического оснащения».

В процессе выполнения аналитических исследований получены следующие основные результаты и выводы:

- определен и исследован перечень внутриутробных инфекций TORCH-комплекса, оценена его эпидемиологическая значимость;
- оценена роль и особенности выявленных инфекций на территории Российской Федерации и их значение в демографическом потенциале;
- определена необходимость организации тотальной лабораторной клинической диагностики инфекций TORCH-комплекса в рамках национальной Программы по охране материнства и детства;
- исследованы и выбраны иммунохимические методы (иммунофлуоресцентные, иммуноферментные, ИБ), положенные в основу реактивных и технических компонентов разрабатываемого клинико-лабораторного Комплекса;
- исследованы теоретические и практические пути создания новых высокоэффективных технологий на основе иммунных биочипов, позволяющих существенным образом расширить доступность клинико-лабораторной диагностики инфекций TORCH-комплекса в практику медицинского обслуживания населения;
- предложены технические (приборные) и методические пути реализации Комплекса клинико-лабораторной диагностики с использованием детекторов визуальной цифровой регистрации и их программного обеспечения;

- обоснованы и определены теоретические, научно-практические и производственные пути создания Комплекса, его реактивного и технического оснащения и методического

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малышева В.А., Системный анализ законодательства в области охраны и защиты материнства и детства //Социальное и пенсионное право. 2009. №2, 24 - 27
2. Концепция развития службы клинической лабораторной диагностики Министерства здравоохранения Российской Федерации на 2003-2010 гг.
3. Клиническая лабораторная диагностика. Национальное руководство. Под ред. Долгова В.В. и Меньшикова В.В. в двух томах // М., «Геотар-Медиа», 2012, Том 1 - 928 с., Том 2 -808 с.
4. Уайт А. и др. Основы биохимии, // М.Мир, 1981, Том 1 -534 ., Том 2 -617 с. Том. 3 -726 с.
5. Лысенко А.Я., Лавдовская М.В.// СПИД-ассоциируемые инфекции и инвазии. М., МЕДИКАС, 1992, 327 с.
6. Землянский О.А. Эпидемиология внутриутробных инфекций плодов и новорожденных и оптимизация системы слежения за ними. //Автореф. дис. д. м. н., М., 2004, 33 с.
7. Самохин П.А. Цитомегаловирусная инфекция у детей. М.: Медицина, 1987. – с.160.
8. Анджапаридзе О.Г., Червонский Г.И.// Краснуха, М., 1975, 102 с.
9. Малышев Н.А., Смагулов К.З., Каражас Н.В. //Цитомегаловирусная инфекция. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. М., 2001. 303 с.
10. Русанова Н.Н., Теплова С.Н., Коченгина С.А.// Цитомегаловирусная инфекция у детей. – СПб, 2001. 150 с.
11. Казанцев А.П. Токсоплазмоз.- Л.: Медицина, 1985.- 168 с.
12. Васильев В.В. Токсоплазмоз: современные научно-практические подходы. [Http://www.infectology.ru/mnenie/index.asp](http://www.infectology.ru/mnenie/index.asp), 2004.
13. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции. Под ред. А. Гриноу А, Осборна Дж, Сазерленда Ш.- М.:Медицина, 2000. 288 с.
14. Заболеваемость протозоозами и гельминтозами населения Российской Федерации в 2003-2004 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. Раздел 3.2. М. 2003.
15. Holliman R.E. в кн. "Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции". Пер.с англ. /Под ред. Гриноу А, Осборна Дж, Сазерленд Ш, М. Медицина, 2000, 288 с.
16. Mead P.S. et al. Food-Related Illness and Death in the United States // Emerging Infectious Diseases, - 1999 -Vol. 5, №5.

17. Hohfeld P., Daffos F., Thulliez P. et al. 1989. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *Journal of Pediatrics*, 1989, 115: 765-769.
18. Remington J.S., Desmonts G. 1990 Toxoplasmosis. In: Remington J.S., Klein J.O. (eds) *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 3rd edn. WB Saunders, Philadelphia, 1990, 143-263.
19. Daffos F., Forestier F., Capella-Pavlovsky M., Thulliez P., Aufrant C., Valenti D., Cox W. 1988. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *New England Journal of Medicine*, 1998, 318: 271-275.
20. Desmonts G., Daffos F., Forestier F., Capella-Pavlovsky M., Thulliez P., Chartier M. 1985. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Lancet* i: 500-504.
21. Holliman R.E. 1990. Serological study of the prevalence of toxoplasmosis in asymptomatic patients infected with human immunodeficiency virus. *Epidemiology and Infection*, 1990, 5: 415-418\
22. Teutsch S.M., Sulzer A.J., Ramsey J.E., Murray W.A., Juranek D.D. 1980. *Toxoplasma gondii* isolated from amniotic fluid. *Obstetrics and Gynecology* 55: 28-48.
23. Dubey J.P., Beattie G.P. 1988. Toxoplasmosis in man (*Homo sapiens*). In: *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Florida, p 41-60
24. Remington J.S., Desmonts G. 1990 Toxoplasmosis. In: Remington J.S., Klein J.O. (eds) *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 3rd edn. WB Saunders, Philadelphia, p 143-263
25. Banatvala JE, Best JM 1990 Rubella. In: Collier L, Timbury M (eds) *Topley & Wilson's Principles of bacteriology, virology and immunity*, Volume 4, 8th edn. Edward Arnold, London, p. 501-531
26. Best JM, Banatvala JE 1990 Rubella. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR (eds) *Principles and practice of clinical virology*, 2nd edn. John Wiley, Chichester, p 337-374
27. Cutts FT, Best J, Sdiquiira MM, Engstrom K. Guidelines for surveillance of congenital rubella syndrome and rubella/ Department of Vaccines and Biologicals, World Health Organization, Geneva, 1999.
28. Семериков В.В. Оптимизация системы эпидемиологического надзора за краснушной инфекцией. Автореферат Дисс.. д м. н. 2007 г. 36 с.
29. Morgan-Capner P, Wright J, Miller CL, Miller E, Surveillance of antibody to measles, mumps, and rubella by age. *British Medical Journal*, 1988 297: 770- 772
30. Daffos F. et al. Prenatal diagnosis of congenital rubella. *Lancet* 1984; 2:1—3
31. Cooper L.Z, Krugman S., 1967 Clinical manifestations of postnatal and congenital rubella. *Archives of Ophthalmology*, 1967, 77: 434-439
32. Заргарьянц, А.И. Краснуха: современная ситуация / А.И. Заргарьянц, Т.С.Селезнева, Н.С. Титова // *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. — 2001. № 1 (01).— .28-31.

33. Болотовский, В.М. Корь, краснуха, эпидемический паротит: единая система управления процессами / В.М. Болотовский, И.В. Михеева, КН. Лыткина, И.Л. Шаханина // Под ред. В.И. Покровского. — М., 2004. — 224
34. Заргарьянц, А.И. Длительность и напряженность поствакцинального гуморального иммунитета к вирусам кори, паротита и краснухи / А.И.Заргарьянц, И.В. Яковлева, Т.С. Селезнева, В.В. Сидоров, А.А. Белевская // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. — 2005. - № 5 (24). 15- 19.
35. Заргарьянц, А.И. Напряженность и длительность гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи в разные сезоны иммунизации и обследования / А.И.Заргарьянц, Т.С. Селезнева, И.В. Яковлева, В.В. Свиридов // Теоретические и практические аспекты элиминации кори: сб. науч. тр. — М., 2005. 51-54.
36. Cooper LZ 1975 Congenital rubella in the United States. In: Krugman S, Gershon AA (eds) Infections of the fetus and the new-born infant. Progress in Clinical and Biological Research, Vol. 3. AR Liss, New York, 1975, 1-21
37. Брико, Н.И. Критерии оценки эффективности вакцинации / Н.И. Брико // Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики: информационный бюллетень. —2000.- 3 6. —С. 3-5. 235
38. Висницкий Н.Н. Заболеваемость краснухой в Ленинграде и выявление групп риска при краснушной инфекции // Актуал. вопр. мед. вирусол.: сб. науч. тр. — Свердловск, 1989. - С. 216-219.
39. Детская смертность (тенденции, причины и пути снижения) // Под ред. А.А.Баранова, В.Ю. Альбицкого. — М., 2001. — С. 21-95.
40. Долгушина Н.В., Макацария А.Д. Вирусные инфекции у беременных. Руководство для врачей. «Триада-Х», М.,2004, 144с.
41. Рахманова А.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А., Ремезов А.П. Этиопатогенез, лабораторная диагностика и терапия герпесвирусных инфекций.-СПб, 2003.- 47 с.
42. Рахманова А.Г., Неверов В.А., Пригожина В.К. Инфекционные болезни: руководство для врачей общей практики (2 изд.).- СПб:Питер, 2001.- 576 с.
43. Alford C.A., Stagno S., Pass R.F, Britt W.J. 1990 Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. Reviews of Infectious Diseases 12 (supplement 7): S745-753
44. Boppana S.B., Rivera L.B., et al. Intrauterine transmission of CMV to infants of women with preconceptional immunity. N Engl J Med 2001; 344: 1366—1371
45. Griffiths P.D., Stagno S., Pass R.F., Smith R.J., Alford C.A. 1982 Infection with cytomegalovirus during pregnancy: specific IgM antibodies as a marker of recent primary infection. Journal of Infectious Diseases, 1982, 145: 647-653
46. Grose C., Weiner C.P. 1990 Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: Two decades later. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1990, 163: 447-450
47. Ho M. Cytomegalovirus, Biology and infection. NY: Plenum Press, 1991.

48. Mosarski E.S. In "The human herpesviruses" // N.York, Raven Press, 1993.
49. Фарбер Н.А. Цитомегаловирусная инфекция в клинической медицине. // Тер. архив, 1989, №11,6-11);
50. Островская О.В., Когут Е.Т., Сысолетина И.П. и др. Перинатальная диагностика цитомегаловирусной инфекции. // Клинич. лаб. диагностика. - 2001. - №2. 20-23;
51. Хахалин Л.Н. ЦМВ-инфекция у беременных и новорожденных. Известная инфекция: герпес. // Смоленск: Фарммаграфикс. 1999. – 93-9;
52. Halwachs-Baumann G., Genser B. Die konnatale zytomegalievirus Infection. – Wien, 2003.; Stagno S., Reynolds K. // Clinical Management of Herpes Viruses / Eds S. Sacks et al. – Washington, 1995. – Chapt. 19. – P. 239-340);
53. Фризе К., Кахель В. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных: Перев. с нем. – М., 2003.;
54. Halwachs-Baumann G., Genser B. Die konnatale zytomegalievirus Infection/ - Wien, 2003.; Revello M., Gerna G. // Clin. Microbiol. Rev. – 2002. – N10. – 680-715);
55. Кузьмин В.Н., Музыкантова В.С., Штыкунова Е.В. // Цитомегаловирусная инфекция в акушерстве и перинатологии: Пособие для врачей / Под ред. Серова В.Н. – М., 2000. – с.40.;
56. Stagno S. 1990 Cytomegalovirus. In: Remington JS, Klein JO (eds) Infectious diseases of the fetus and newborn infant. WB Saunders, Philadelphia
57. Stagno S., Pass R.F., Dworsky M.E. et al 1982 Congenital cytomegalovirus infection; the relative importance of primary and recurrent maternal infection. New England Journal of Medicine, 1982, 306: 945-949
58. Stagno S., Pass R.F. et al. Primary CMV infection in pregnancy: incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. JAMA 1986;256:1904—1908.
59. Исаков В.А., Сафонова М.М. Клиника и лечение генитального герпеса. СПб, 1997. 33с.
60. Лебедев В.В., Никулин Л.А., Александрова О.К. и др. Герпетическая инфекция. 2000//www.infectology.ru/RUK/herpes/index.asp.
61. Рахманова А.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А., Ремезов А.П. Этиопатогенез, лабораторная диагностика и терапия герпесвирусных инфекций. СПб, 2003. - 47 с.
62. Ярославский В.К. и др. Простой герпес. Л., 1988. 53-59.
63. Ярославский В.К. и др. Герпетическая инфекция и беременность. СПб, 1996. 32с
64. Gelb L. In "The human herpesviruses" // N.York, Raven Press, 1993
65. Corey L, Spear PG 1986 Infections with herpes simplex viruses: Parts 1 and 2. New England Journal of Medicine, 1986, 314: 686-691, 749-757.
66. Ades AE, Peckham CS, Dalt GE et al 1989 Prevalence of antibodies to herpes simplex virus types 1 and 2 in pregnant women and estimated rates of infection. Journal of Epidemiology and Community Health, 1989, 43: 53 - 60

67. Arvin AM, Hensleigh PA, Prober CG 1986 Failure of antepartum maternal cultures to predict the infant's risk of exposure to herpes simplex virus at delivery. *New England Journal of Medicine*, 1986, 315: 796-800
68. Binkin NJ, Koplan JP, Gates W 1984 Preventing neonatal herpes. The value of weekly viral cultures in pregnant women with recurrent genital herpes. *Journal of the American Medical Association*, 1984, 251: 2816-2821
69. Brown ZA, Vontver LA, Benedetti J et al 1987 Effects on infants of a first episode of genital herpes during pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 1987, 317: 1246-1251
70. Carney O, Mindel A 1988 Screening pregnant women for genital herpes. *British Medical Journal*, 1988, 296: 1643
71. Committee on Fetus and Newborn, Committee on Infectious Diseases 1980 Perinatal herpes simplex virus infections. *Pediatrics*, 1980, 66: 147-149
72. Corey L, Spear PG 1986 Infections with herpes simplex viruses: Parts 1 and 2. *New England Journal of Medicine*, 1986, 314: 686-691, 749-757
73. Freij BJ, Sever JL 1988 Herpes virus infections in pregnancy: risks to embryo, fetus and neonate. *Clinics in Perinatology*, 1988, 15: 203-231
74. Prober CG, Sullender WM, Yasukawa LL, Au DS, Yeager AS, Arvin AM 1987 Low risk of herpes simplex virus infections in neonates exposed to the virus at the time of vaginal delivery to mothers with recurrent genital herpes simplex virus. *New England Journal of Medicine*, 1987, 316: 240-244
75. Prober CG, Hensleigh PA, Boncher FD, Yasukawa LL, Au DS, Arvin AM 1988 Use of routine viral cultures at delivery to identify neonates exposed to herpes simplex virus. *New England Journal of Medicine*, 1988, 318: 887-891
76. Reeves WC, Corey L, Adams HG, Vontver LA, Holmes KK 1981 Risk of recurrence after first episodes of genital herpes. Relation to HSV type and antibody response. *New England Journal of Medicine*, 1981, 305: 315-319
77. Sanders DY, Cramblett HG 1968 Viral infections in hospitalised neonates. *American Journal of Diseases of Childhood* 116: 251-256
78. Sullender WM, Yasukawa LL, Schwartz M et al 1988 Type specific antibodies to herpes simplex virus type 2 (HSV-2) glycoprotein G in pregnant women, infants exposed to maternal HSV-2 infection at delivery and infants with neonatal herpes. *Journal of Infectious Diseases* 157: 164-171
79. Vontver LA, Hickock DE, Brown Z, Reid L, Corey L 1982 Recurrent genital herpes simplex virus infection in pregnancy: infant outcome and frequency of asymptomatic recurrences. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 143: 75-84.
80. Whitley RJ 1990 Herpes simplex viruses. In: Fields BN (ed) *Virology*. Raven Press, New York, p 1843-1887
Whitley RJ, Nahmias AJ, Visintine AM, Fleming CL, Alford CA 1980 The natural history of herpes simplex virus infection of mother and newborn. *Pediatrics* 66: 489-494

81. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А.-Герпетическая инфекция(простой герпес). Электрогорск, ISBN 5-8311-0201-7,2011, 48 с.
82. Цинзерлинг А.В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. СПб. Сотис, 1993. 287 с.
83. Пригожина В.К., Чайка Н.А., Рахманова А.Г. Герпетическая инфекция и СПИД: рекомендации для врачей. Л., 1990. 44 с.
84. Yeager AS, Arvin AM 1984 Reasons for the absence of a history of recurrent genital infections in mothers of neonates infected with herpes simplex virus. Pediatrics 73: 188-193
85. Yeager AS, Arvin AM, Urbani LJ, Kemp JA 1980 Relationship of antibody to outcome in neonatal herpes simplex virus infections. Infection and Immunity 29: 532- 538.
86. Sullender WM, Yasukawa LL, Schwartz M et al. Type specific antibodies to herpes simplex virus type 2 (HSV-2) glycoprotein G in pregnant women, infants exposed to maternal HSV-2 infection at delivery and infants with neonatal herpes. Journal of Infectious Diseases 1988,157: 164-171.
87. Whitley RJ, Herpes simplex viruses. In: Fields BN (ed) Virology. Raven Press, New York, p 1843-1887 Whitley RJ, Nahmias AJ, Visintine AM, Fleming CL, Alford CA 1980 The natural history of herpes simplex virus infection of mother and newborn. Pediatrics,1988, 66: 489-494.

88 – 120 ---- Сифилис

121. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии; Под ред. Теца В.В.; Медицина; 2002 г.; 352 с.
122. Львов Д.К. Медицинская вирусология. Руководство. М. МИА. 2008. 656 с.
123. Кишкун А.А. Иммунологические исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. Медицинское информационное агентство, 2009 г.
124. Inouye S., Hasegava A., Matsuno S. and oth. Changes in antibody avidity after virus infections: detection by an immunosorbent assay in which a mild protein-denaturing agent is employed // J.Clin.Microbiol. – 1984. – Vol. 20. – P. 525 – 529.
125. Ynouve S., Hasegava A., Matsuno S. and oth. Changes in antibody avidity after virus infection: detection by an immunosorbent assay in which a mild protein-denaturing agent is employed // J. Clin. Microbiol. – 1984. –Vol. 20. – P. 525 – 529.
126. Каталог продукции ЗАО "Вектор-Бест"; <http://www.vector-best.mhost.ru/prod/cat.php?cat=0&id=00>.
127. Каталог продукции ООО "НПО "Диагностические системы"; <http://www.npods.ru/?id=6395>.
128. Нисевич Л.Л., Бахмут Е.В., Талалаев А.Г. и др. В кн. Краснуха. Синдром врожденной краснухи, Инф. сб., 1997, с. 31-39.

129. Каражас Н.В. Цитомегаловирусная инфекция – типичный представитель оппортунистических инфекций. // Российские медицинские вести. 1997. – № 2. – с. 34-36.
130. Каражас Н.В. Эпидемиологическая характеристика цитомегаловирусной инфекции и пневмоцистоза как оппортунистических инфекций. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. М. 2002.
131. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации в 1999-2000 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. ч. 2. М. 2001.
132. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации в 2001-2002 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. ч.3. М. 2003.
133. Инфекционная заболеваемость в субъектах Российской Федерации за 2003-2004 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. ч.3. М. 2005.
134. Приказ МЗ РФ № 403 от 12.08.2003 "Об утверждении и введении в действие учетной формы №89/у-кв Извещение о больном с вновь установленным диагнозом сифилиса, гонореи, трихомониаза, хламидиоза, герпеса урогенитального, аногенитальными бородавками, микроспории, фавуса, трихофитии, микоза стоп, чесотки".
135. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2000-2001 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2002.
136. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2001-2002 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2003.
137. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2002-2003 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2004.
138. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2003-2004 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2005.
139. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2004-2005 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2006.
140. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2005-2006 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2007.
141. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации в 2006-2007 гг. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2008.

142. Заболеваемость протозоозами и гельминтозами населения Российской Федерации в 2006-2007 гг. Раздел 3.2. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. М. 2008.
143. Ресурсы и деятельность кожно-венерологических учреждений. Заболеваемость за 2002-2003гг. (Статистические материалы). – М.:Минздравсоцразвития, 2005. – 124 с.
144. Ресурсы и деятельность кожно-венерологических учреждений. Заболеваемость за 2004-2005 годы (Статистические материалы). – М.:Минздравсоцразвития, 2006. – 120 с.
145. Ресурсы и деятельность кожно-венерологических учреждений. Заболеваемость за 2005-2006гг. (Статистические материалы). – М.:Минздравсоцразвития, 2007. – 116 с.
146. Заболеваемость, ресурсы и деятельность кожно-венерологических учреждений (2006-2007гг.): (Статистические материалы). – ФГУ ГНИИ информатизации и организации здравоохранения Росздрава, 2008. – 120 с.
147. Большая медицинская энциклопедия. Под ред. Петровского Б.Г.,М. «СЭ»,1980, Том 13
148. Мирахмедов У.М., Резникова Л.С. //Руководство по серологии и некоторым биохимическим методам исследованиям применяемым в клинической медицине, М. Медицина, 1976, 196 с.
149. Кеннет Р. Г., Мак-Керн Т. Дж., Бехтол К. Б. Моноклональные антитела: Гибридомы: новый уровень биологического анализа. М.: Медицина, 1983.
150. Ройт А. Основы иммунологии. М.: Мир, 1991.
151. Иммунобиологические методы. Под ред. Фримеля Г. М.Мир,1979, 520 с.
152. Брант Дх., Элингтон Г. Применение спектроскопии в органической химии, М.Мир,1967, 280 с.
153. Tijssen P., Practice and theory of enzyme immunoassays. 1985, Amsterdam ; New York: Elsevier ; New York, USA : Sole distributors for the USA and Canada, Elsevier Science Pub. 1985, 502p.
154. Егоров А. М., Осипов А. П., Дзантиев Б. Б., Гаврилова Е. М. Теория и практика иммуноферментного анализа. 1991, Москва: Высшая школа.
155. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И. Неверов В.А. Токсоплазмоз // Электрогорск, ISBN 5-8311-0203-3, 2011, 40 с.
156. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Цитомегавирусная инфекция//Электрогорск, ISBN8-8311-0205-X, 2011, 32 с.
157. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Краснуха// Электрогорск ISBN, 5-8311-0203-3, 2011, 24 с.
158. Марданлы С.Г., Дмитриев Г.А., Лабораторная диагностика сифилиса. //Электрогорск, ISBN 978-5-6311-0441-7, 2009, 24 с.
159. Марданлы С.Г. Куляш Г.Ю. Проблемы достоверности и объективной оценки результатов лабораторной диагностики гонореи, трихомониаза и уrogenитального хламидиоза.//

Электрогорск, ISBN 978-5-8311-0303-8, 2011. 48 с.

160. Марданлы С.Г., Куляш Г.Ю. Реакция пассивной гемагглютинации в серологической диагностике сифилиса // Электрогорск, ISBN 5-8311-0246-7, 2011, 40 с.

161. Марданлы С.Г. Первушин Ю.В., Иванова В.Н. Спинномозговая жидкость, лабораторные методы исследования и их клинико-диагностическое значение // Электрогорск, ББК 53.4Я73, 2011, 72 с.

162.

162-185 см. стр.12-15 - рукописн.

186. Бурдыгина И.Ф., Венгерова Н.А., Эльцефон Б.С., Изучение возможности модификации функциональных свойств отечественных планшетов // Биотехнология, 1994, №11-12

187. Brunangelo F., Taylor C. //Arch.Pathol. lab. Med., 1983, Vol.10 №3

188. Murroy R.W.// Electroanalytical Chem. Ser.of Fdvances. Vol.13, Ed. Barel A.J. New Jork – Bazel, 1984

189. Комаров В.С. Адсорбенты и их свойства //М., Наука и техника, 1977

190. Грег С., Грег К., Адсорбция, удельная поверхность, пористость.//М., Мир,1984

191. Король А.Н. Неподвижная фаза в газо-жидкостной хроматографии // Киев, Наукова думка, 1976, 250 с.

192. Помазанов В.В., Калинин Ю.Т., Сакодынский К.И. Хроматографическое изучение микроорганизмов с целью их классификации //М., ВИНТИ, сер. Хроматог., 1984,Т.4, 116-169

193. Яшин Я.И., Яшин А.Я., Яшин Е.Я., Газовая хроматография// М., Транс Лит, 2009, 528

194. Старовойтова Т.А. Видеоцифровая регистрация для иммунологических и биохимических исследований в практике клинической лабораторной диагностики // Автореферат д.м.н., М., ГОУ «РГМУ» Росздрава,2010, 36 с.

195. Венгеров Ю.Ю. Иммунохимические «быстрые» тесты с компьютерной видеоцифровой регистрацией – эффективная лабораторная технология для массовых анализов // Клин. лаб. диагност., №9, 19

196. Венгеров Ю.Ю. Микроминиатюаризация лабораторных технологий: перспективы и проблемы // Клин. лаб. диагност., 1999, №9, 5

197. Долгов В.В. Ованесов Е.Н.,Щетникович К.А.Фотометрия в лабораторной практике //СПб.:Витал Диагностикс, 2004, 192 с.

198. Клиническая лабораторная аналитика, Том 1, Основы клинического лабораторного анализа. Под ред. Меньшикова В.В., М.,Агат Мед, 2002, 860 с.

199. Козлов А.В.,Аналитические возможности методов латекс – агглютинации, М.: Terra Medica nova, 2002, 3-22

200. Медицинская лабораторная диагностика (программа и алгоритмы) // Под.ред. Карпищенко А.И. СПб.:Интермедика,1999, 656 с.
201. Меньшиков В.В. В центре проблем лабораторной службы // Лаб. мед., 2001, №4, 7-18
202. Меньшиков В.В. Лабораторные исследования возле пациента // Клин. лаб. диагност.,2002, №4, 23-34
203. Титов В.Н. Микроальбуминурия: патофизиология, диагностическое значение и методы её изучения // Тер. Архив, 1998, №6, 134-140
204. CombiScan 500 Urin Test Analyzer. Technical Features Description // Analyticon Biotechnologies AG – Lichtenfels,m Germany, 2003
205. Pope V., Fears V.B. et al. Comparison of the Serodia Treponema pallidum particle agglutination, Captia Syphilis-G, and SpiroTek Reagin II test with standard test techniques for diagnosis of syphilis // J. Clin.Microbiology, 2000, №7, 2543-2545
206. Evidence. Biochip Array Technology// Randox Laboratories Ltd.Crumlin,2007
207. LifeSign MI. From the Original Maker of Rapid Cardiac Tests. Analytical Features Description // New Jersey, USA, 2003
208. Medicines and healthcare products regulatory agency. Evaluation Report: Six automated blood grouping systems // MHRA, UK, 2003
209. MiraWell. Rapid HBV/HIV/HCV Combination Screen Test. Analytical features Discription // MedMira – NovaScotia, Canada, 2003
210. Urine Reagent Strips //Teco Diag. Catalogue. Anaheim, USA, 2003
211. Регионы России. Социально-экономические показатели. 2009; Стат. сб. //Росстат. М., 2010.
212. Социально-экономическое положение России. Январь 2010 г.: Стат. сб. //Росстат. М., 2010.
213. URL: http://www.gks.ru/bgd/regl/M0_14p/Main.htm -2011

Сифилис

001. Постановление Правительства РФ N 715 от 01.12.2004 г. "Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих".
002. ВОЗ. Перспективы внедрения принципов общественного здравоохранения в профилактику и лечение инфекций, передаваемых половым путем, в странах Восточной Европы и Центральной Азии. Отчет о совещании. EUR/02/5031803. - Берлин, Германия, 2002. - 21 с.
003. ВОЗ. Динамика инфекций, передаваемых половым путем, и ВИЧ инфекции в Европейском регионе, 1980-2005 гг. Документ технического брифинга 01B/06 Копенгаген, 12.09.2006 г.// ВОЗ, 2006 г. – (<http://www.euro.who.int/aids>).

004. ВОЗ. Глобальная стратегия профилактики инфекций, передаваемых половым путем, и борьба с ними, 2006-2015 годы. // ВОЗ, 2007 г. - 32 с.
005. Aral S.O. Determinants of STD epidemics: implications for phase appropriate intervention strategies. // STI. - apr.2002. - Vol.78, suppl.1. - P. i3-i13.
006. Sexually Transmitted Disease. Syphilis Surveillance Report 2007. // Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; Division of STD Prevention.; Atlanta, Georgia, U.S.: March 2009. - P.30 (<http://www.cdc.gov/std/Syphilis2007/default.htm>).
007. Скрипкин Ю.К. Кожные и венерические болезни. Руководство для врачей / Ю.К. Скрипкин (ред.), В.Н. Мордовцев (ред.) // М.: Медицина, 1999; Т. I.
008. Черешнев В.А., Патрушева Н.Б., Бейкин Я.Б. и др. Сифилис: Иммунология и лабораторная диагностика. Екатеринбург: УрО РАН, 2006.
009. Аковбян В.А. Сифилис. Диагностика. / В.А. Аковбян, В.Г. Нестеренко // Инфекции, передаваемые половым путем. - М.: Медиа Сфера, 2007: 306-323.
010. Кунгуров Н.В. Опыт организации борьбы с сифилисом в субъекте Российской Федерации. / Н.В. Кунгуров, Р.А. Хальфин, Т.А. Сырнева, Н.В. Марченко // Екатеринбург: Чароид, 2002. - 249 с.
011. Кубанова А.А. Современные представления об эпидемическом процессе инфекций, передаваемых половым путем, и ВИЧ-инфекции. / А.А. Кубанова, В.А. Аковбян, И.А. Тоскин // Вестник дерматологии и венерологии 2000. - №6. - С. 14-19.
012. Кубанова А.А. Дерматовенерология в России. Реальность и перспективы. / А.А. Кубанова, Л.И. Тихонова // Вестник дерматологии и венерологии 2004; №2: С.411.
- 013
- 014.
015. Овчинников Н.М. Лабораторная диагностика заболеваний, передающихся половым путем. / Н.М. Овчинников, В.Н. Беднова, В.В. Делекторский - М.: Медицина, 1987. - 303с..
016. Петришина С.В. Лабораторная диагностика сифилиса. // Российский журнал кожных и венерических болезней 2004. - №2. - С.46-49.
017. Петухова И.И. Возможности полимеразной цепной реакции в детекции бледной трепонемы у больных сифилисом: Автореф. дис... канд. мед. наук. - М., 2002. - 18 с.
- 018 Kennedy E.J. Darkfield microscopy for the detection and identification of *Treponema pallidum*. / E.J.Kennedy, E.T.Creighton // Manual of tests for syphilis. 9-th Ed. – Washington: DC, 1998. - P.119-134.
019. UK National Guidelines on the Management of Syphilis, 2008 // (<http://www.bashh.org/documents/1879>).

020. Wheeler H.L. Dark ground microscopy and treponemal serological tests in the diagnosis of early syphilis. / Wheeler H.L., Agarwal S., Goh B.T. // Sex. Transm. Infect. - 2004. - Vol.80. - P.411-414.
021. Глазко И.И. Современные подходы к молекулярной диагностике сифилиса / И.И. Глазко, Г.А. Дмитриев // Венеролог. - 2006. - №10. - С.36-42.
022. Гущин А.Е. Перспективы применения полимеразной цепной реакции у больных ранними формами сифилиса. / А.Е. Гущин, Н.В. Фриго, Л.А. Дударева, Л.М. Топоровский, С.В. Ротанов // Вестник дерматологии и венерологии. - 2009. - №1. - С.46-51.
023. Young H. Syphilis: new diagnostic directions. // Int. J. of STD & AIDS. - 1992. - №3. - 391-413.
024. Young H. Guidelines for serologic testing for syphilis. // Sex. Transm. Inf. – 2000. - Vol. 76. – P. 403-405.
025. Palmer H.M. Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom / H.M. Palmer, S.P. Higgins, A.J. Herring, M.A. Kingston. // Sex. Transm. Infect. - 2003. - Vol.79. - P.479-483. «).
026. Аксенов М.Ю. Диагностика инфекционных заболеваний методом ПЦР. / М.Ю. Аксенов, А.Г. Гинцбург // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 1993. - №4. - С.3-8.
027. Артемьев М.И. ПЦР-детекция *Treponema pallidum* в клинических материалах / М.И. Артемьев, Н.А. Федоров, В.А. Максимов и др. // Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний. - М.,1998. - С. 40.
028. Burst J.M. Sensitive Detection of *Treponema pallidum* by Using the Polymerase Chain Reaction / J.M. Burst, E. Grimpel, S. Lukehart et al. // J. Clin. Microbiol. - 1991. - Vol.29, №1. - P.62-69.
029. Stephen F. *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum*: a comparison of functional genomics, environmental adaptations, and pathogenic mechanisms / F. Stephen, P. Schwan, T.G. Schwan // J. Clin. Invest. - 2001. - Vol.107, №6. - P.651-656.
030. Grimpel E. Use of polimerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect *Treponema pallidum* in amniotic fluid, fetaland neonatal sera, and cerebrospinal fluid / E. Grimpel, P.J. Sanchez, G.D. Wendel et al. // J. Clin. Microbiol. - 1991. - Vol.29. - P.1711-1718.
031. Liu H. New Tests for Syphilis: Rational Design of a PCR Method for Detection of *Treponema pallidum* in Clinical Specimens Using Unique Regions of the DNA Polymerase I Gene. / H. Liu, B. Rodes, C.-Y. Chen, B. Steiner // J. Clin. Microbiol. - 2001. - Vol.39. - P.1941-1946.
032. Соколовский Е.В. Руководство по лабораторной диагностике си-филиса в странах Восточной Европы. / Е.В Соколовский, Н.В Фриго, С.В Ротанов и др. // Вестник дерматологии и венерологии. – 2008б.- №5. - 87-96 с.

033. Соколовский Е.В. Лабораторная диагностика сифилиса: методические рекомендации. / Е.В.Соколовский., А.М. Савичева и др. - СПб.: Изд-во Н-Л., 2009.- 72 с.
034. Фриго Н.В. Стандарты и алгоритмы диагностики сифилиса в России и за рубежом. Актуальные вопросы дерматологии, венерологии и дерматокосметологии: Материалы V съезда дерматовенерологов Республики Беларусь. Минск: «ДокторДизайн», 2006: 143-149.
035. Фриго Н.В. Лабораторная диагностика ИППП в Российской Федерации. Результаты национального исследования. / Н.В. Фриго, С.В. Ротанов, И.Н. Лесная и др. // Вестник дерматологии и венерологии 2008; 5: 33-41.,
036. Китаева Н.В. Актуальные проблемы сифилидологии. Современные технологии диагностики сифилитической инфекции. / Н.В. Китаева, Н.В. Фриго, Л.Е. Мелехина // Вестник дерматологии и венерологии 2008; 5: 51-59.
037. Larsen S. Laboratory diagnosis and interpretation of test for syphilis. / S. Larsen et al. // Clin. Microbiol. Rev.. - 1995. - Vol.8, №1 - P.1-21.
038. Кубанова А.А. (ред.). Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями // М.: Изд. дом «ДЕЛОВОЙ ЭКСПРЕСС», 2012.
039. Кашкин К.П. Иммунологические исследования в клинике инфекционных заболеваний // Новости прикладной иммунол. и аллергол. 2004; 8: 1-10.
040. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
041. Ткачев В.К., Вяткина Т.Г. ИФА-диагностика сифилиса: информационно-методическое пособие. 3-е изд., 2005. URL: <http://www.vector-best.ru/brosh/9607.htm>.
042. Красносельских Т.В., Соколовский Е.А. Современный сифилис: эпидемиологические тенденции и достижения в области изучения *Treponema pallidum* // Проблемы современной дерматол., венерол. и косметол. 2010; 1: 84-87.
043. Kern A. Fundamentals and prospects of syphilis serology // Dermatol Monatsschr 1979; 165 (11): 769-782.
044. Ляхов В.Ф., Борисенко К.К., Поткаев Н.С и др. Динамика трепонемоспецифической иммуноглобулинемии при ранних формах сифилиса // Вестн. дерматол. и венерол. 1990; 8: 38-42.
045. Luger A. Serological diagnosis of syphilis; current methods // In Young H., McMillan A. (Eds.). Immunological diagnosis of sexually transmitted diseases. N-Y: Marcel Dekker, 1998: 249-274.
046. Pangborn M.C. Cardiolipin and its application in a chemically purified antigen for the serodiagnosis of syphilis. // Proc NY State Assoc Public Health Lab. 1946; 26 (1): 26-9.
047. Резникова Л.С. Кардиолипидные антигены в серодиагностике сифилиса. // Советская медицина 1953; 1: 40-42.

048. Приказ Минздрава РФ №87 от 26 марта 2001 года «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» (Приложение №1 «Постановка отборочных и диагностических тестов на сифилис»).

049. Лосева О.К., Ловенецкий А.Н. Эпидемиология, клиника, диагностика и лечение сифилиса. Руководство для врачей. // В кн.: Опыт организации борьбы с сифилисом в субъекте Российской Федерации. - Екатеринбург: Чароид, 2002: 159-248.

050. Тацкая Л.С. Состояние серодиагностики сифилиса в Украине и перспектива ее дальнейшего развития. // Дерматология та венерология 2002; 1(15): 58-61.

051. Ломоносов К.С. Положительные серологические реакции на сифилис как проблема в клинической медицине. / К.С. Ломоносов, В.С. Новоселов // Российский журнал кожных и венерических болезней 2005; 4: 5-7.

052. Peeling R.W. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. / R.W. Peeling, H. Ye // Bull World Health Organ 2004 (Jun); 82 (6): 439-46.

053. Дмитриев Г.А. СИФИЛИС. Дифференциальный клинко-лабораторный диагноз. / Г.А. Дмитриев, Н.В. Фриго. - М.: Медицинская книга, 2004; 366 с.

054. Куляш Г.Ю. О роли отрицательных результатов ИФА на IgM к *Treponema pallidum* в ошибках при диагностике и оценке эффективности лечения сифилиса. // ИПП 2002; 2: 25-29.

055. Лосева О.К. Сифилис и беременность. // В кн.: Современные методы диагностики, терапии и профилактики ИПП и других урогенитальных инфекций. Сб. мат-лов рабочих совещаний дерматовенерологов и акушеров-гинекологов 1999-2000 гг. // Базель: Хоффман ля Рош Лтд., 2000: 13-18.

056. Чеботарев В.В., Земцов М.А., Чеботарева Н.В. Серологические реакции в диагностике сифилиса: реальность и перспективы. // Российский журнал кожных и венерических болезней 2005; 4: 7-10.

057. Чеботарев В.В., Земцов М.А., Павлик Л.В., Чеботарева Н.В. Проблема серорезистентности у больных сифилисом, леченных по современным методикам. // Клиническая дерматология и венерология 2006; 2: 101-106.

Учитывая важность рассматриваемой проблемы, на 59-й сессии Всемирной Ассамблеи Здравоохранения, ВОЗ утвердила «Глобальную стратегию профилактики инфекций, передаваемых половым путем, и борьбы с ними, 2006-2015 гг.».

004.

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Введение	_____
Особенности инфекций TORCH – группы, методы и средства их клинической лабораторной диагностики	_____
Обзор инфекций TORCH-комплекса и их значение в возникновении внутриутробной патологии	_____
Токсоплазмоз	_____
Краснуха	_____
Цитомегаловирус	_____
Герпес	_____
Сифилис	_____
Анализ заболеваемости инфекциями TORCH-комплекса	_____
Особенности заболеваемости инфекциями TORCH-группы на территории России	_____
Методы и технические средства клинической лабораторной диагностики	_____
Характеристика методов лабораторной диагностики	_____
Современные методы и средства клинико-лабораторной диагностики выбранных инфекций	_____
Реакция иммунофлуоресценции	_____
Иммуноферментный анализ	_____
Технология иммунологических биочипов	_____
Сравнительный анализ используемых биосенсоров в иммунохимическом анализе	_____
Методы и средства получения и обработки изображений при видеоцифровой регистрации	_____
Фотометрический анализ	_____
Видеоцифровая регистрация	_____
Значение тотальной перинатальной диагностики инфекций TORCH-комплекса в охране материнства и детства	_____
Заключение	_____