

На правах рукописи

НЕГАШЕВА ЕКАТЕРИНА СЕРГЕЕВНА

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ И АЛГОРИТМЫ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ НЕЙРОСИФИЛИСА**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы» в отделе научно-прикладных методов исследования

Научный руководитель:

Жукова Ольга Валентиновна - доктор медицинских наук, профессор, ученый секретарь ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения г. Москвы»

Научный консультант:

Дмитриев Георгий Александрович - доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения г. Москвы»

Официальные оппоненты:

Иванов Андрей Михайлович - д.м.н., профессор; член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики «Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова» Министерства обороны РФ, главный специалист по лабораторной диагностике ВМА имени С.М. Кирова, главный лаборант Министерства обороны Российской Федерации (14.01.10 - медицинские науки)

Зильберберг Наталья Владимировна – д.м.н. профессор, заместитель директора по научной работе Государственного бюджетного учреждения Свердловской области «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии» (ГБУ СО «УрНИИДВиИ») (14.00.11, 14.00.33 - медицинские науки)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова)

Защита диссертации состоится «18» сентября в 15 часов на заседании Диссертационного совета ПДС 0300.002 на базе РУДН, по адресу: ФГБОУ ВО Российский университет дружбы народов Минобрнауки России (г.Москва, ул. Миклухо-Маклая д.8/2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Российский университет дружбы народов Минобрнауки России на сайте <http://dissovet.rudn.ru>

Автореферат разослан " ____ " _____ 2019 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета ПДС 0300.002:
Кандидат медицинских наук, доцент

БаткаеваН.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность исследования

Нейросифилис (НС) – тяжелое заболевание, вызванное бледной трепонемой, приводящее к поражению центральной и вегетативной нервной системы, результатом которого является инвалидизация пациентов и летальный исход, особенно в случаях проведения неполноценного обследования и неадекватной терапии.

В последние десятилетия отмечается тенденция роста заболеваемости нейросифилисом на фоне общего снижения заболеваемости сифилисом, как в России в целом, так и в мегаполисе, городе Москве. Так, в Москве за период с 2010 по 2016 г. число зарегистрированных случаев НС возросло в 5,3 раза, при этом как ранние, так и поздние формы НС клинически нередко характеризуются отсутствием или слабой выраженностью симптоматики, что существенно затрудняет диагностику [М.В Родиков, В.И. Прохоренков 2010; Статистические материалы за 2015-2016 гг.].

В настоящее время определяющим для диагностики НС является исследование цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) больных с подозрением на нейросифилис. Однако применяемые при этом методологии определения содержания общего белка и клеточного состава ЦСЖ (цитоза) не являются специфичными для сифилиса.

Для оценки специфичности поражения применяется комплекс нетрепонемных и трепонемных тестов, однако ни один из методов не дает возможности получить однозначный ответ о наличии или отсутствии НС.

Степень разработанности темы исследований

Согласно руководству по лечению заболеваний, передаваемых половым путем в США, стандартным тестом для диагностики НС путем исследования ликвора является VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) - один из наиболее специфичных тестов на НС. Вместе с тем, в действующих в РФ приказах и проектах стандартов применение данного метода для диагностики НС не регламентировано, хотя в отечественной литературе имеются отдельные сообщения о возможности его успешного использования [Куляш Г.Ю. с соавт., 2012, Дмитриев Г.А. и соавт. 2013; Дмитриев Г.А. 2016].

Для доказательства интратекального синтеза антител к *T. pallidum* в ликворе в странах Европы применяется расчет индексов, определяемых соотношением концентраций специфических иммуноглобулинов в ликворе к аналогичному показателю в сыворотке крови (сывороточно-ликворное соотношение, или ИТРА-

индекс), что позволяет более точно установить диагноз НС и подтвердить факт интратекального синтеза антител к *T. pallidum*. В России данные показатели для диагностики НС не применяются.

Высокую чувствительность и специфичность для диагностики сифилиса и НС показал метод иммуноблоттинга [Birdsall H. et al., 1990; Byrne R. et al., 1992; Sato N. et al., 1999; Sambri V., et al., 2001]. Однако данный метод не позволяет проводить большое число исследований одновременно на одном иммуносорбенте, отличается субъективизмом интерпретации результатов, имеет высокую стоимость [Маркелов М.Л. и соавт., 2010]. Новым форматом тест-систем для многопараметрической диагностики инфекционных заболеваний, в том числе сифилиса, лишенных недостатков технологии иммуноблоттинга, являются иммуночипы, дающие возможность выявлять антитела к разным рекомбинантным антигенам возбудителя одновременно у большого числа пациентов. Однако в доступной научной литературе до последнего времени отсутствовали указания о применении технологии иммуночипов для диагностики НС путем исследования ЦСЖ.

В настоящее время в различных областях медицины используют математические подходы, что существенно расширяет возможности диагностики и терапии заболеваний. Одним из таких подходов является метод многомерного дискриминантного анализа (МДА), позволяющий существенно повысить точность диагностики и создавать математические модели заболеваний. Для диагностики НС данный математический подход до настоящего времени не использовался.

Анализ данных литературы показывает, что степень разработанности проблемы оказалась недостаточной в вопросах изучения:

- метода VDRL в качестве регламентированного метода, рекомендованного в качестве основного нетрепонемного теста при подозрении на нейросифилис, в особенности в связи с возможностью использовать отечественные тест-системы;
- способа подсчета сывороточно-ликворного соотношения (ТРА-индекса) как основного критерия для установления диагноза нейросифилиса;
- метода иммуночипа в качестве трепонемного теста для использования в биопробах ЦСЖ пациентов;
- возможности применения множественного дискриминантного анализа для диагностики нейросифилиса и создания математической модели диагностики нейросифилиса;
- надежного алгоритма диагностики нейросифилиса с использованием инновационных отечественных методик.

Цель исследования

Разработка новых подходов и алгоритмов лабораторной диагностики нейросифилиса, основанная на применении актуальных и инновационных методов.

Задачи исследования

1. Оценить диагностическую эффективность метода VDRL в сравнении с другими нетрепонемными и трепонемными тестами у больных нейросифилисом
2. Изучить возможность использования экспериментальной тест-системы в формате иммуночипа для выявления антител к *T. pallidum* в цереброспинальной жидкости больных нейросифилисом
3. Оценить эффективность определения сывороточно-ликворного соотношения (ИТРА-индекса) для подтверждения диагноза НС.
4. Изучить возможность использования многомерного дискриминантного анализа для диагностики НС

Научная новизна исследования

В процессе выполнения работы впервые:

- установлена высокая эффективность экспериментальной тест-системы в формате иммуночипа для диагностики НС, имеющая высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности

- для диагностики НС применен многомерный дискриминантный анализ, позволивший разработать способ диагностики нейросифилиса, повышающий точность диагностики заболевания, в особенности при получении дискордантных результатов лабораторных исследований

- в сравнительном аспекте изучена диагностическая значимость метода VDRL на отечественных реактивах и других общепринятых (регламентированных) лабораторных методов исследования; показаны ее преимущества перед РМП в диагностике нейросифилиса

- показана высокая эффективность определения ИТРА-индекса (сывороточно-ликворного соотношения) для оценки интратекального синтеза трепонемоспецифических антител с целью подтверждения диагноза НС

- разработан алгоритм диагностики нейросифилиса с использованием известных и инновационных подходов.

• Теоретическая и практическая значимость работы

На основании результатов проведенных исследований для диагностики НС научно обосновано преимущество применения метода VDRL, подсчета ИТРА-индекса (сывороточно-ликворного соотношения), технологии иммуночипов и в сложных

случаях – многомерного дискриминантного анализа, что имеет большое значение для практического здравоохранения.

Впервые на основании использования многомерного дискриминантного анализа лабораторных показателей ЦСЖ больных НС создана математическая модель заболевания и разработан способ диагностики нейросифилиса, позволяющий с высокой точностью диагностировать нейросифилис.

Разработан и внедрен в практическое здравоохранение алгоритм комплексной диагностики НС, основанный на междисциплинарном взаимодействии врачей разных специальностей, включающий клиническое и параклиническое обследование пациентов, а также лабораторные технологии исследования ЦСЖ пациентов с использованием известных и инновационных подходов. Применение разработанного алгоритма в практическом здравоохранении будет способствовать оптимизации лабораторной диагностики нейросифилиса.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Метод VDRL на отечественных реактивах в сравнении с методом РМП имеет более высокую диагностическую эффективность при исследовании как сыворотки крови, так и цереброспинальной жидкости больных НС, что обосновывает целесообразность включения данного метода в число стандартных регламентированных нетрепонемных методов диагностики этого заболевания.

2. Разработанный и клинически апробированный экспериментальный вариант тест-системы для определения трепонемоспецифических антител в ликворе в формате иммуночипа имеет высокие показатели диагностической эффективности при исследовании образцов ЦСЖ пациентов с НС и может быть рекомендован для диагностики НС.

3. Определение сывороточно-ликворного соотношения (ТРА-индекса) высоко эффективно при установлении диагноза нейросифилиса по сравнению с регламентированными методами исследования, что обосновывает возможность его включения в число стандартных регламентированных методов диагностики НС

4. Многомерный дискриминантный анализ может быть использован для диагностики НС. На основе МДА разработаны: способ диагностики нейросифилиса, повышающий точность выявления нейросифилиса при дискордантных результатах лабораторных исследований цереброспинальной жидкости, и математическая модель НС.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Достоверность результатов диссертационного исследования обоснована базовыми теоретическими знаниями в рамках изучаемой проблемы, достаточным

объемом клинического материала, использованием регламентированных диагностических методов, применением сертифицированных тест-систем для иммунохимического исследования, результатами лабораторного исследования, использованием лицензионных программ и адекватных методов статистической обработки полученных данных. Представленные в диссертационном исследовании данные согласуются с результатами проведенных ранее исследований, опубликованных в отечественной и зарубежной научной литературе.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: IX Международном форуме дерматовенерологов и косметологов, Москва 16-18 марта 2016 года; IX междисциплинарной научно-практической конференции «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия», 19-20 мая 2016г. Санкт-Петербург; Российском конгрессе лабораторной медицины, Москва, ВДНХ, павильон 75, 14-16 октября 2016 года; VI Межрегиональном Форуме «Дерматовенерология и косметология. Синтез науки и практики», 17-18 октября 2016 года, Москва; Ассамблее «Здоровье столицы» 20-30 ноября 2016 года, Москва; XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики. Москва, КРОКУС-Экспо, 21-23 марта 2017 года; X юбилейной междисциплинарной научно-практической конференции «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия» с симпозиумами: «Мужское здоровье» и «Заболевания шейки матки», 27-28 апреля 2017г. Санкт-Петербург; X межрегиональной научно-практической конференции «Современная лабораторная медицина: эффективность, доступность, качество», 26-27 мая 2017г., Москва; VII Межрегиональном форуме дерматовенерологов и косметологов, Москва, 20 октября 2017; XVI Ассамблее «Здоровье столицы», Москва, «Крокус-Экспо» 1.12.2017; XI Международном форуме дерматовенерологов и косметологов, Москва, 14-16 марта 2018; XXIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и новации клинической лабораторной диагностики». Москва, 20–22 марта 2018 год; Евразийском форуме с международным участием: Дерматовенерология: время реальных дел. Екатеринбург 12-13 апреля 2018 года, IV Российском конгрессе лабораторной медицины 3-5 октября 2018 года, Москва.

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ соискателя, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук, 2 статьи в изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science.

Автором досконально изучена и проработана отечественная и зарубежная литература по теме диссертации, разработан дизайн исследования, определены основные методологические подходы к выполнению диссертационной работы, осуществлены: обследование больных с подозрением на нейросифилис, отбор и транспортировка биологических образцов пациентов, статистическая обработка полученных результатов, анализ и интерпретация полученных данных, а также подготовка выступлений и публикаций по диссертационной теме. Личный вклад диссертантки составил не менее 90%.

Внедрение результатов работы

Результаты работы внедрены в практику лечебной работы отделений ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы», а также в клиническую практику Федерального Государственного Автономного Учреждения «Национальный Медицинский Исследовательский Центр Нейрохирургии Имени Академика Н. Н. Бурденко» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 147 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 18 таблицами и 12 рисунками. Работа состоит из введения, 3 глав с описанием данных литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 171 источников, из них 71 - российских и 100 - зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн исследования: перечень этапов и содержание работ

В соответствии с поставленной целью и задачами исследование было проведено в несколько этапов. На первом этапе была осуществлена оценка диагностической эффективности метода VDRL при нейросифилисе. Для этого был проведен сравнительный анализ значимости VDRL и общепринятых регламентированных общеклинических методов (цитоз, содержание общего белка в ЦСЖ), а также нетрепонемных (РМП) и трепонемных (ИФА, РПГА, РИФ, РИБТ) иммунохимических методов, применяемых для диагностики нейросифилиса, с использованием в качестве биосубстрата сыворотки крови и цереброспинальной жидкости. На втором этапе разработан и клинически апробирован иммуночип для диагностики НС путем исследования ЦСЖ. На третьем этапе исследования было проведено изучение

эффективности определения сывороточно-ликворного соотношения для подтверждения диагноза нейросифилиса. На четвертом этапе, на основании анализа базы лабораторных показателей пациентов с НС и пациентов с сифилисом, но без НС, были проведены работы по изучению возможности использования многомерного (множественного) дискриминантного анализа (МДА) в диагностике НС. На конечном, пятом этапе исследования, был предложен алгоритм комплексной диагностики НС с использованием клинических, параклинических, лабораторных (общепринятых и инновационных) показателей, а также МДА, позволяющий улучшить качество диагностики НС.

Объект исследования. Клиническая характеристика пациентов

Объектом настоящего исследования явились 152 пациента, в том числе больные сифилисом и лица, не страдавшие сифилисом (группа контроля).

Группу больных сифилисом (n = 91) составили лица в возрасте от 21 до 71 года, из них 63 мужчины и 28 женщин, получавшие лечение и обследование в ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы, филиал Клиника им. В.Г. Короленко, в период с 2014 по 2018 годы. Среди них были больные НС (группа 1, n = 67) и больные сифилисом с подозрением на НС, которым были проведены люмбальная пункция и исследование ЦСЖ с целью исключения НС (группа 2, сравнения, n = 25).

Группу больных НС (n = 67) составили лица в возрасте от 21 до 71 лет, в том числе 41 мужчина (61,2%) и 26 женщин (38,8%). Средний возраст пациентов составил 46 ± 25 лет. Среди мужчин наиболее многочисленную группу (n=15, 36,6%) составили лица в возрасте от 41 до 50 лет, среди женщин – лица в возрасте от 31 до 40 лет (n=12, 46%) и от 51 до 60 лет (n=10, 38,5) (рис. 1).

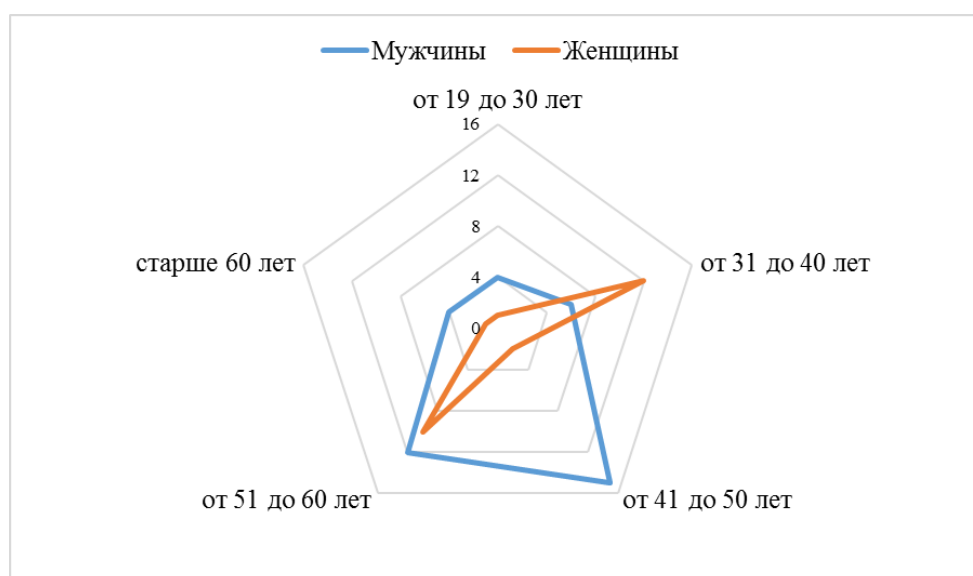


Рис. 1. Гендерный и возрастной состав пациентов с НС

У большинства пациентов (35 человек, 52%) нейросифилис был диагностирован среди лиц с впервые установленным диагнозом сифилиса. Среди них были: 3 (9%) больных вторичным сифилисом кожи и слизистых оболочек с клиническими проявлениями в виде сыпи из полиморфных элементов (розеолы, папулы, везикулы, пустулы), диффузной алопеции у 1 пациента, 1 больной (3%) ранним сифилисом скрытым, 15 больных (43%) поздним сифилисом скрытым и 16 (46%) больных скрытым сифилисом, неуточненным как ранний или поздний.

В 48% случаев (32 пациента) НС был зарегистрирован у лиц с серорезистентностью. Из них 14 пациентов получили лечение по поводу раннего скрытого сифилиса, 10 - по поводу скрытого сифилиса, неуточненного как ранний или поздний и у 8 больных первоначальный диагноз сифилиса был не известен (рис 2.).

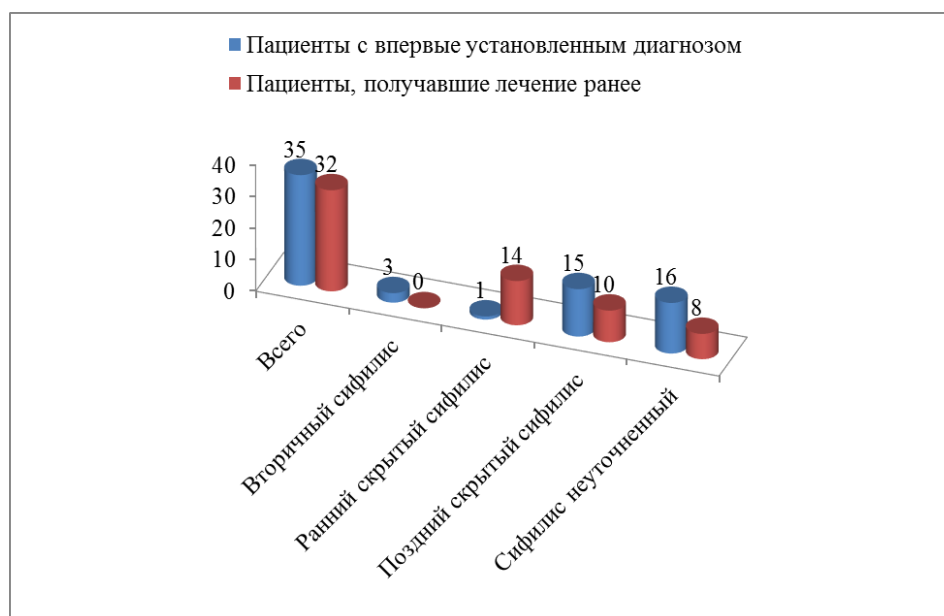


Рис. 2. Исходный диагноз заболевания у больных НС

В соответствии с МКБ-Х, среди всех больных НС было установлено: раннее поражение нервной системы - у 8-и больных - код А51.4 (другие формы вторичного сифилиса); позднее поражение нервной системы - у 13-и больных – код А52.1 (нейросифилис с симптомами); асимптомный нейросифилис - у 46-и больных– код А52.2.

Таким образом, среди больных НС было 46 больных (68,7% пациентов) с асимптомным НС (АНС) и 21 человек (31,3% пациентов) с НС с симптомами (НСС), в том числе с ранним (ранний менинговаскулярный НС – у 8-и больных;12%) и поздним

(поздний менинговаскулярный НС – у 13-и больных; 19,3%) поражением нервной системы (рис. 3.).

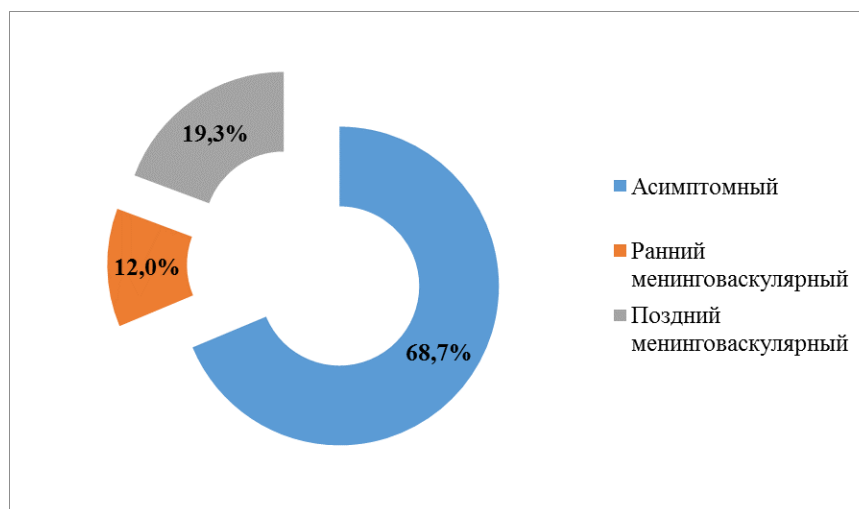


Рис. 3. Клинические формы НС

Таким образом, у находившихся под наблюдением пациентов в большинстве случаев НС развивался на фоне скрытого сифилиса и серорезистентности, а среди клинических форм преобладал асимптомный НС и менинговаскулярный НС с нерезко выраженной клинической симптоматикой, что соответствует данным современной литературы, отмечающей аналогичные тенденции.

Группу сравнения составили больные с установленным диагнозом сифилиса и с подозрением на НС (n = 25). Данную группу составили лица в возрасте от 20 до 61 года, 18 мужчин и 7 женщин. Средний возраст пациентов составил 40 ± 20 лет. По диагнозам пациенты распределялись следующим образом: 7 (28%) больных вторичным сифилисом кожи и слизистых оболочек с клиническими проявлениями в виде сыпи из полиморфных элементов (розеолы, папулы, везикулы, пустулы), диффузной алопеции; 8 больных (32%) ранним сифилисом скрытым; 4 больных (16%) поздним сифилисом скрытым и 6 (24%) больных скрытым сифилисом, неуточненным как ранний или поздний. Отсутствие клинических симптомов НС и результаты исследования ЦСЖ позволили исключить сифилитическое поражение нервной системы у абсолютного большинства пациентов группы сравнения, в связи с чем они в дальнейшем (при проведении многомерного дискриминантного анализа) рассматривались как пациенты «с сифилисом без НС».

Группу контроля составил 61 человек - пациенты Федерального государственного автономного учреждения «Национальный научно-практический центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» МЗ РФ, обследованные и получавшие лечение в данном учреждении в период с 2016 по 2017 годы. Гендерное

соотношение между пациентами составило 1:1 (31 женщина и 30 мужчин); возраст пациентов варьировал от 18 до 80 лет.

37 пациентов группы контроля имели в анамнезе опухоли ЦНС (спинной или головной мозг), 11 пациентов были госпитализированы с диагнозом «закрытая черепно-мозговая травма», 7 пациентов получали лечение в связи с аневризмами головного мозга, 3 пациента - в связи с межпозвоночной грыжей, 3 пациента - в связи с сирингомиелией. Все пациенты группы контроля имели неврологическую симптоматику, соответствующую клиническим диагнозам. Так как по клинической картине проявления нейросифилиса схожи с целым рядом других патологий, необходимо отметить, что выбирались пациенты с наиболее яркими клиническими симптомами, такими как: поражения черепных нервов, параличи и парезы, статико-локомоторная и динамическая атаксия, нарушение функции тазовых органов. Больные предъявляли жалобы на головную боль, головокружение, нарушение памяти и сна, снижение работоспособности, быструю утомляемость, у части больных отмечалась оглушенность, нарушение ориентации, отсутствие возможности адекватно осмыслить складывающиеся ситуации, отсутствие критики к своему состоянию. Диагноз сифилиса у пациентов группы контроля был исключен на основании результатов клинического и лабораторного обследования (все пациенты имели отрицательные нетрепонемные и трепонемные тесты), указания на сифилис в анамнезе у них отсутствовали.

Материалами исследования у пациентов основной, контрольной групп и группы сравнения служили образцы сыворотки крови и цереброспинальной жидкости, забор, подготовка и исследование которых производилось в соответствии с принятыми нормативами.

Методы исследования

В работе применялись методы клинического обследования пациентов, лабораторные методы исследования сыворотки крови и цереброспинальной жидкости пациентов, статистические методы обработки полученных результатов, метод многомерного дискриминантного анализа.

В рамках лабораторного обследования 67 пациентов с подтвержденным НС в образцах ЦСЖ проводилось определение цитоза и концентрации общего белка. Кроме этого, в парных образцах сыворотки крови и ЦСЖ, полученных от пациентов, определялось наличие антител к *T. pallidum* с помощью регламентированных иммунохимических методов исследования, таких как реакция микропреципитации (РМП) и реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), иммуноферментный анализ (ИФА), реакция иммунофлюоресценции в модификации РИФабс и РИФц, реакция

иммобилизации бледных трепонем (РИБТ), а также не регламентированного приказами и стандартами РФ нетрепонемного метода диагностики — VDRL.

Кроме того, в образцах 55 пациентов (33 пациента с НС и 22 пациента группы сравнения) определялся ИТРА-индекс. Для этого производилось определение в количественном варианте уровня трепонемоспецифических IgG в РПГА и уровень общих IgG методом ИФА. Далее величина ИТРА-индекса рассчитывалась по формуле:

$$\text{ИТРА – индекс} = \frac{\text{РПГА IgG титр в ЦСЖ}}{\text{общие IgG } \left(\frac{\text{МГ}}{\text{Л}}\right) \text{ в ЦСЖ}} : \frac{\text{РПГА IgG титр в сыворотке}}{\text{общие IgG } \left(\frac{\text{МГ}}{\text{Л}}\right) \text{ в сыворотке}}$$

Также в исследовании для определения антител к *T. pallidum* в ЦСЖ больных НС была применена современная инновационная технология иммуночипов.

В процессе выполнения исследования был разработан и клинически апробирован экспериментальный вариант тест-системы для определения трепонемоспецифических антител в ликворе в формате иммуночипа. На первом этапе исследования обеспечивали связывание содержащихся в образцах специфических антител с иммобилизованными на иммуносорбенте рекомбинантными антигенами *T. pallidum* с молекулярной массой 15, 17, 42-44 (TmpA), 47 кД. На втором этапе для выявления образовавшихся иммунных комплексов антиген-антитело проводили их инкубацию с конъюгатом, представляющим собой смесь антител к IgG и IgM человека, меченных флуорофорами Cy5 и Cy3. Оценка результатов тестирования проводилась с помощью флуоресцентного сканера MArS (Ditabis, Германия) по двум каналам: Cy5/Red (оценка сигналов специфических антител класса G) и Cy3/Green (оценка сигналов специфических антител класса M) (рис. 4.).

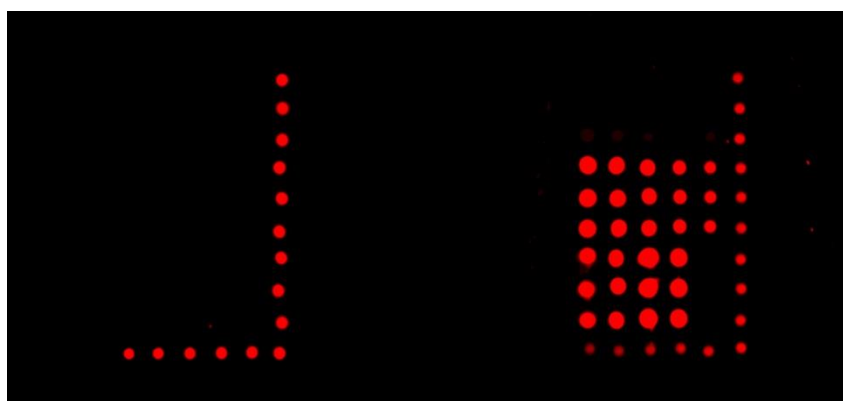


Рисунок 4. Флуоресцентное изображение иммуночипа на канале Cy5, полученное после процессирования, с использованием отрицательных (А) и положительных (Б) по наличию антитрепонемных антител образцов ликвора

Обработка флуоресцентных профилей иммуночипов проводилась с использованием программного обеспечения SpotScout (Ditabis, Германия). Образец

считали положительным, если в нем были выявлены антитела к одному и более антигенам *T. pallidum* и отрицательным, если значения флуоресценции для всех иммобилизованных антигенов были меньше порогового значения. Результаты исследования выражали в условных единицах.

Статистические методы. Оценку эффективности выявления в образцах сыворотки крови и ЦСЖ антител к *T. pallidum* проводили путем расчета показателей диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС), диагностической эффективности (ДЭ) [ГОСТ Р 53022.4-2008].

Изучение материалов исследования проводилось с использованием программы статистического пакета: «Statistica 8,0». Обработка вариационных рядов включала подсчет значений средних арифметических величин, ошибок средней величины и среднего квадратического отклонения. Выделенные группы сравнивали между собой с помощью критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при значении уровня достоверности менее 0,05 ($p < 0,05$).

В целях повышения точности диагностики НС на завершающем этапе исследования при анализе групп, сформированных во время исследования, наряду с описательной и сравнительной статистикой, был использован один из многомерных методов – *многомерный дискриминантный анализ* [Кузнецов ЕА. И соавт., 2001]. Проверка точности дифференциации групп проводилась с помощью линейных дискриминационных функций, для оценки информативности признаков применялся F-критерий Фишера.

Результаты изучения диагностической эффективности метода VDRL при нейросифилисе

Исследование ЦСЖ регламентированными общеклиническими методами исследования, такими как *определение цитоза и общего белка*, показало низкий процент позитивных результатов у больных с установленным диагнозом НС (соответственно, 22,4 и 29,9% в общей группе больных НС) и не являлось высоко информативным для установления диагноза. При этом частота определения повышенного уровня цитоза и белка была выше у больных НСС (соответственно, 34,8 и 43,5%) в сравнении с больными АНС (соответственно, 16,9 и 11,4%). Средние показатели уровня цитоза и белка у пациентов с НСС (соответственно, $7,17 \pm 5,65$ клеток/мкл и $0,44 \pm 0,14$ г/л) были достоверно выше в сравнении с больными АНС (соответственно, $3,35 \pm 1,81$ клеток/мкл и $0,36 \pm 0,1$ г/л; $p \leq 0,05$).

Постановка иммунохимических *нетрепонеменных тестов* в сыворотке крови больных НС показала 100% положительных результатов VDRL и 98,5% положительных результатов РМП (диагностическая чувствительность). При этом РМП

показала 97,7% положительных результатов у больных АНС и 100% - у больных НСС, в то время как VDRL была позитивной у всех пациентов с НС. Значения титров VDRL более 1:4 были получены при исследовании 30 (68,1%) и 20 (87%) образцов сыворотки крови, полученных от пациентов с АНС и с НСС соответственно. Значения титра РМП 1:64 и 1:128, свидетельствующие о высоком содержании антител к кардиолипину, были установлены в 11,3% и 34,7% образцов пациентов с АНС и НСС. У всех пациентов, не страдавших сифилисом (61 чел.), результаты как РМП, так и VDRL, оказались отрицательными, т.е. диагностическая специфичность РМП и VDRL составила 100%. Показатели диагностической эффективности для обоих тестов составили 99,2% и 100% соответственно.

Диагностическая чувствительность *трепонемных тестов*: РПГА, ИФА, РИФабс, РИБТ, - при исследовании сыворотки крови больных НС составила 100%. Титр РПГА составил 1:10240 при исследовании всех образцов сыворотки крови. Коэффициент позитивности в ИФА варьировал от 3 до 15. При тестировании образцов сыворотки крови, полученных от пациентов контрольной группы, были выявлены отрицательные результаты в ИФА и РПГА; диагностическая специфичность и диагностическая эффективность обоих трепонемных тестов составила 100%. В РИФ и РИБТ данные показатели не исследовались (таблица 1).

Таблица 1.

Диагностическая эффективность иммунохимических реакций при исследовании образцов *сыворотки крови* больных нейросифилисом

Показатели	Нетрепонемные тесты		Трепонемные тесты			
	РМП	VDRL	РПГА	ИФА	РИФ	РИБТ
ДЧ, %	98,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
ДС, %	100,0	100,0	100,0	100,0	-	-
ДЭ, %	99,2	100,0	100,0	100,0	-	-

Таким образом, при исследовании образцов сыворотки крови, полученных от больных нейросифилисом, метод VDRL оказался несколько более чувствительным нетрепонемным методом по сравнению с РМП. Его диагностическая чувствительность оказалась равной 100%, в то время как для РМП - 98,5%. Диагностическая специфичность РМП составила 100%, диагностическая эффективность - 99,2%. Для VDRL данные показатели составили 100%.

Показатели трепонемных методов: диагностическая чувствительность (для всех тестов), диагностическая специфичность и диагностическая эффективность (для ИФА и РПГА; для других трепонемных тестов показатели диагностической специфичности и диагностической эффективности не определялись) составили 100%, что могло быть

связано с высоким содержанием антител в сыворотке крови больных сифилисом на этапе развития инфекционного процесса, вызванного *T.pallidum*, включающем поражение нервной системы, и высокой чувствительностью использованных диагностикумов.

Постановка *нетрепонемных тестов в ЦСЖ* больных НС показала 31,3% положительных результатов VDRL и 10,4% положительных результатов РМП. При этом у больных АНС чувствительность VDRL составила 9% (РМП – 4,5%), у больных НСС – 74% (РМП – 21,7%); У лиц контрольной группы результаты РМП и VDRL были отрицательными, таким образом, диагностическая специфичность обоих тестов составила 100%. Диагностическая эффективность РМП составила 53,1, VDRL - 64,1%.

Диагностическая чувствительность трепонемных методов (РПГА, ИФА, РИФабс, РИБТ) при исследовании ЦСЖ больных НС составила, соответственно, 97%, 98,5%, 95,5% и 80,6%. При исследовании образцов ЦСЖ, полученных от пациентов контрольной группы, в ИФА и РПГА были получены отрицательные результаты. Таким образом, диагностическая специфичность ИФА и РПГА составила 100%, а диагностическая эффективность -99,2% и 98,4%, соответственно. Диагностическая специфичность и эффективность других трепонемных методов не изучалась (таблица 2).

Таблица 2.

Диагностическая эффективность иммунохимических реакций при исследовании образцов ЦСЖ больных нейросифилисом

Показатели	Нетрепонемные тесты		Трепонемные тесты			
	РМП	VDRL	РПГА	ИФА	РИФц	РИБТ
ДЧ, %	10,4	31,3	97,0	98,5	95,5	80,6
ДС, %	100,0	100,0	100,0	100,0	-	-
ДЭ, %	53,1	64,1	98,4	99,2	-	-

Таким образом, при исследовании образцов ЦСЖ, полученных от больных НС, метод VDRL оказался более чувствительным нетрепонемным методом по сравнению с РМП. Диагностическая чувствительность VDRL была втрое выше в сравнении с РМП (31,3% против 10,4%); при этом у больных НСС чувствительность VDRL (74%) была в 3,4 раза выше в сравнении с РМП (21,7%); у больных АНС чувствительность VDRL (9%) была в 2 раза выше в сравнении с РМП (4,5%).

Диагностическая чувствительность трепонемных методов при исследовании ЦСЖ оказалась высокой (на уровне 95,5 – 98,5%) для всех методов, за исключением

РИБТ (80,6%). Диагностическая специфичность ИФА и РПГА составила 100%; диагностическая эффективность данных методов оказалась на уровне 99,2 и 98,4% соответственно. В РИФ и РИБТ показатели диагностической специфичности и диагностической эффективности не определялись.

Результаты изучения возможности использования и эффективности усовершенствованной тест-системы в формате иммуночипа для диагностики НС

При изучении образцов сыворотки крови, полученных от больных нейросифилисом, с использованием усовершенствованной тест-системы в формате иммуночипа во всех 67 образцах в тех или иных сочетаниях были выявлены специфические антитела к 4 рекомбинантным белкам-антигенам (Tr17, Tr15, Tr47 и TmpA) *T.pallidum*. Таким образом, чувствительность тест-системы для тестирования образцов сыворотки крови составила 100%.

При исследовании образцов сыворотки крови, полученных от пациентов контрольной группы, при использовании технологии иммуночипа были выявлены отрицательные результаты. Таким образом, специфичность тест-системы для тестирования образцов сыворотки крови составила 100%.

При изучении образцов ЦСЖ, полученных от пациентов с НС, с использованием разработанного иммуночипа специфические антитела как минимум к одному из рекомбинантных антигенов (Tr17, Tr15, Tr47 и TmpA) *T.pallidum* были выявлены во всех 67 (100%) образцах при всех клинических формах НС. При этом антитела к Tr17 регистрировались у всех пациентов (100%), антитела к остальным рекомбинантным антигенам – с близкой частотой на уровне 65%: к Tr47 – в 79,1%, к Tr15 – в 65,7%, к TmpA – в 59,7%. У большинства пациентов (70,2%) одновременно регистрировались антитела к трем или четырем антигенам *T.pallidum*, а у 83,6% пациентов - к двум и более антигенам *T.pallidum*.

При исследовании образцов ЦСЖ, полученных от пациентов контрольной группы, с использованием технологии иммуночипа были получены отрицательные результаты.

Таким образом, высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности усовершенствованного иммуночипа при исследовании образцов сыворотки и ЦСЖ, полученных от пациентов с НС, свидетельствуют о том, что иммуночип, содержащий 4 рекомбинантных антигена *T. pallidum* (Tr17, Tr15, Tr47, TmpA), может успешно применяться в клинической практике. При этом в образцах ЦСЖ пациентов с нейросифилисом в 100% случаев выявляются антитела к белку-антигену Tr17, а антитела к двум и более антигенам в разных сочетаниях выявляются в 83,6% образцов. Преимуществом диагностического теста в формате иммуночипа при

выявлении антител против антигенов *T. pallidum* в сыворотке крови и ЦСЖ является возможность его применения как в скрининговых (сыворотка крови), так и в подтверждающих (сыворотка крови, ЦСЖ) иммунохимических исследованиях, что в перспективе может позволить значительно снизить стоимость лабораторной диагностики нейросифилиса.

Результаты изучения эффективности определения ИТРА-индекса для подтверждения диагноза нейросифилиса

Одной из целей настоящего исследования стало изучение эффективности определения сывороточно-ликворного соотношения для подтверждения диагноза нейросифилиса, которое было проведено путем сопоставительного анализа стандартной методологии (клинико-биохимическое и иммунохимическое исследование ЦСЖ путем определения цитоза, белка и постановки иммунохимических реакций в ЦСЖ) и методологии определения ИТРА-индекса, ранее не использованного в РФ при диагностике НС. Объектом исследования служили парные образцы (сыворотки крови и цереброспинальной жидкости) 67 пациентов с нейросифилисом (1-я, основная группа) и 25 пациентов, больных сифилисом - ранним, поздним скрытым, вторичным и сифилисом неуточненным (2-я – группа, сравнения) без клинических признаков НС.

Тестирование образцов сыворотки крови и ЦСЖ пациентов с НС и лиц группы сравнения (без клинических признаков НС) с помощью традиционной методологии, включавшей исследование в ЦСЖ содержания общего белка и цитоза, а также общепринятых нетрепонемных (РМП) и трепонемных тестов (РПГА, ИФА, РИФц, РИБТ) (таблица 3) показало, что ликворологические исследования, основанные на определении содержания белка, цитоза и РМП в большинстве случаев (70,6 – 89,6%) не дают возможности подтвердить или опровергнуть диагноз НС.

Таблица 3.

Результаты исследования ЦСЖ пациентов основной группы и группы сравнения по стандартной методологии (% положительных и отрицательных результатов; в скобках указано абсолютное число больных)

Показатель	НС (1 группа)		Сифилис без НС (2 группа)	
	Положит.	Отрицат.	Положит.	Отрицат.
Цитоз	22,4 (15)	77,6 (52)	12,0 (3)	88,0 (22)
Белок	29,9 (20)	70,1 (47)	24,0 (6)	76,0 (19)
РМП	10,4 (7)	89,6 (60)	4,5 (1)	95,5 (24)
РПГА	97,0 (65)	3,0 (2)	40,9 (10)	59,1 (15)
ИФА	98,5 (66)	1,5 (1)	45,5 (11)	54,5 (14)
РИФц	95,5 (64)	4,5 (3)	13,6 (4)	86,4 (21)
РИБТ	80,6 (54)	19,4 (13)	13,6 (4)	86,4 (21)

Примечание: желтым цветом выделены методы исследования ликвора, с помощью которых часто устанавливается диагноз нейросифилиса и которой пользуются многие специалисты.

Преимущественно отрицательные значения тех же тестов (от 76 до 95,5%) отмечены и при исследовании ликвора пациентов группы сравнения.

Наиболее демонстративными были данные, полученные в ликворе больных НС трепонемными методами РПГА, РИФц и ИФА (соответственно, 97,0; 95,5 и 98,5% положительных результатов). Вместе с тем ликворологические исследования пациентов группы сравнения продемонстрировали полиморфную картину из положительных и отрицательных результатов иммунохимических тестов с преобладанием отрицательных (в РМП – у 95,5% обследованных, в РПГА – у 59,1%; в ИФА – в 54,5%; в РИФц и РИБТ – в 86,4%).

Таким образом, проведенные исследования показали, что в большинстве случаев ликворологические исследования, основанные на значениях триады показателей (плеоцитоз, протеинария, положительная РМП), с помощью которой устанавливается диагноз нейросифилиса и которой пользуются многие специалисты, не подтверждают наличие патологии ЦСЖ у больных НС. Положительные же значения трепонемных реакций в ликворе отвечают лишь на вопрос о наличии сифилиса, но не о нарушении ЦНС, вызванном проникновением *T. pallidum* или ее компартментов в спинномозговой канал.

Тестирование 55 пациентов с помощью второй методологии (определения ИТРА-индекса) показало, что ИТРА-индекс у большинства больных НС, за исключением 2-х пациентов, составил от 9,06 до 260,8, что соответствовало наличию нейросифилиса. В пробах двух пациентов с АНС значения индекса составили 1,88, что соответствовало «пограничному» состоянию. Однако наличие клинических и других лабораторных признаков НС (РПГА, РИФц) и получение повторно положительных значений ИТРА-индекса позволило подтвердить им диагноз НС. Таким образом, диагноз НС с помощью ИТРА-индекса был подтвержден у всех (100%) пациентов.

У подавляющего большинства пациентов группы сравнения (91,0%) нейросифилис по данным ИТРА-индекса обнаружен не был. Результаты проведенных исследований показали, что ИТРА-индекс является высоко информативным показателем при диагностике НС. Разница в абсолютных значениях показателя между больными НС и сифилисом без НС оказалась высоко достоверной ($p < 0,001$) (рисунок 5).

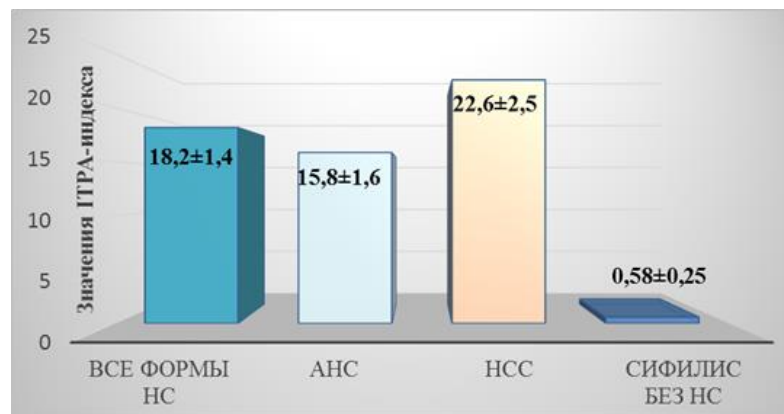


Рисунок 5. Абсолютные значения ТРА-индекса у больных нейросифилисом, в том числе асимптомным НС (АНС) и нейросифилисом с симптомами (НСС), и пациентов группы сравнения (сифилис без НС).

Таким образом, проведенные исследования показали высокую эффективность ТРА-индекса по сравнению с регламентированными методами исследования: с помощью ТРА-индекса диагноз НС был подтвержден у всех (100%) пациентов с НС; у большинства (91%) пациентов с вторичным, ранним и поздним скрытым и неуточненным сифилисом были получены отрицательные результаты ТРА-индекса, что позволило отвергнуть у них диагноз НС; у ряда пациентов со скрытыми и манифестными формами сифилиса (9%) были обнаружены значения ТРА-индекса, свидетельствовавшие о развитии патологии ЦНС, что потребовало изменений тактики ведения больных и назначения адекватной специфической терапии.

Результаты изучения возможности использования многомерного дискриминантного анализа для диагностики НС

Одним из возможных подходов к диагностике НС и дифференциальной диагностике различных форм НС может являться математический подход, осуществляемый, в частности, с использованием многофакторного (множественного, или многомерного) дискриминантного анализа (МДА).

МДА был применен для дифференциации двух групп пациентов: больных НС (67 чел.) и больных сифилисом без НС (24 чел.).

На основании результатов проведения МДА были подсчитаны коэффициенты линейных дискриминантных функций для каждого из использованных лабораторных показателей сыворотки крови (антитела в РМП, VDRL, РПГА, РИБТ, ИФА, РИФ, Тр 15 Тр 17, Тр 47 ТmpA) и ЦСЖ (антитела в РМП, VDRL, РПГА, РИБТ, ИФА, РИФ, Тр 15 Тр 17, Тр 47 ТmpA, цитоз, белок).

При анализе показателей сыворотки крови точность дифференциации пациентов на предмет наличия/отсутствия нейросифилиса составила 89,85% и оказалась недостаточна надежной. Поэтому в дальнейших исследованиях в качестве объекта исследования использовалась ЦСЖ.

Коэффициенты линейных классификационных функций, полученные при анализе показателей ЦСЖ для каждого из 12-ти использованных лабораторных показателей, отображены в таблице таблица 4.

Таблица 4.

Коэффициенты линейных классификационных функций для двух групп пациентов по показателям ЦСЖ (математическая модель нейросифилиса)

№	Показатели	Единицы измерения	Классификационная функция	
			Нейросифилис (группа 1)	Сифилис без нейросифилиса (группа 2)
X1	РМП	значения от + до 4+	-0,735	0,114
X2	VDRL	значения от + до 4+	0,035	-0,348
X3	РПГА	значения от + до 4+	0,941	0,653
X4	РИБТ	%	-0,011	0,013
X5	ИФА	значения от + до 4+	0,445	-0,185
X6	РИФц	значения от + до 4+	3,304	0,124
X7	Цитоз	10 ⁶ /л	-0,201	-0,186
X8	Белок	г/л	20,022	22,242
X9	Тр 15	усл. ед.	0,003	0,002
X10	Тр 17	усл. ед.	0,000	0,001
X11	Тр 47	усл. ед.	0,001	0,000
X12	ТмрА	усл. ед.	-0,008	-0,005
	Постоянная		-13,682	-5,741

При этом были получены следующие значения дискриминантных функций:

$$D\Phi_1 = -13,682 - 0,735 \times \text{РМП} + 0,035 \times \text{VDRL} + 0,941 \times \text{РПГА} - 0,011 \times \text{РИБТ} + 0,445 \times \text{ИФА} + 3,304 \times \text{РИФц} - 0,201 \times \text{Цитоз} + 20,022 \times \text{Белок} + 0,003 \times \text{Тр15} + 0,000 \times \text{Тр17} + 0,001 \times \text{Тр47} - 0,008 \times \text{ТмрА}$$

$$D\Phi_2 = -5,741 + 0,114 \times \text{РМП} - 0,348 \times \text{VDRL} + 0,653 \times \text{РПГА} + 0,013 \times \text{РИБТ} - 1,185 \times \text{ИФА} + 0,124 \times \text{РИФц} - 0,186 \times \text{Цитоз} + 22,242 \times \text{Белок} + 0,002 \times \text{Тр15} + 0,001 \times \text{Тр17} + 0,000 \times \text{Тр47} - 0,005 \times \text{ТмрА}$$

При анализе показателей ЦСЖ точность дифференциации пациентов на предмет наличия/отсутствия нейросифилиса составила 95,0%. Оценка различий между группами по F-критерию показала высокую достоверность (F-критерий между 1 и 2 группами составил 17,437; $p < 0,0000 \dots$).

На основании полученных результатов исследований разработан «Способ диагностики нейросифилиса» (Заявка на патент на изобретение; регистрационный № 2018131297 от 30.08.2018) путем исследования цереброспинальной жидкости, отличающийся тем, что у пациента с подозрением на нейросифилис в цереброспинальной жидкости определяют ряд лабораторных показателей, а именно: РМП; VDRL, РПГА, РИБТ, ИФА, РИФц, цитоз, белок, антитела к Trp15, Trp17, Trp47, TmpA в формате иммуночипа с последующим определением линейных дискриминантных функций $ДФ_1$ и $ДФ_2$, и при значении $ДФ_1 > ДФ_2$ диагностируют наличие специфического поражения нервной системы (нейросифилис), а при значении $ДФ_2 > ДФ_1$ диагноз нейросифилиса исключают.

Способ повышает точность и достоверность диагностики НС в неясных случаях, в особенности при получении дискордантных (противоречивых) результатов различных методов исследования ЦСЖ, дает возможность выбора тактики ведения пациентов, в том числе определения объема проводимой терапии, прогноза для жизни пациентов и времени их снятия с учета благодаря использованию многофакторного дискриминантного анализа и применению ряда не регламентированных в РФ методов исследования (VDRL, определение антител к антигенам *T. pallidum* с молекулярной массой 15, 17, 41 и 47 кД в формате иммуночипа).

Значения дискриминантных функций и дискриминантных коэффициентов, полученные на основании обработки результатов исследования ЦСЖ больных нейросифилисом методом многомерного дискриминантного анализа, могут рассматриваться в качестве математической модели диагностики нейросифилиса.

Алгоритм диагностики НС с использованием инновационных подходов

На основании результатов проведенного исследования предложен современный алгоритм диагностики нейросифилиса с использованием инновационных подходов, основанный на междисциплинарном подходе, с привлечением к обследованию больных НС, кроме дерматовенерологов, также врачей других специальностей - неврологов, психиатров, специалистов функциональной диагностики, врачей клинической лабораторной диагностики. Алгоритм включает комплексное использование клинических, параклинических и лабораторных исследований при постановке диагноза НС, включая исследование ЦСЖ в нетрепонемном тесте VDRL, определение антител к *T. pallidum* в формате иммуночипа, подсчета ГПА-индекса, а также использование методологии многомерного дискриминантного анализа при получении дискордантных результатов лабораторных исследований (рис. 6).



Рис. 6 Алгоритм диагностики нейросифилиса

ВЫВОДЫ

1. По результатам работы установлена более высокая диагностическая эффективность VDRL в сравнении с РМП при тестировании сыворотки крови (100% и 99,2% соответственно) и цереброспинальной жидкости (64,1% и 53,1% соответственно). Полученные данные обосновывают целесообразность включения метода VDRL в число стандартных регламентированных методов диагностики НС.
2. Разработан и клинически апробирован экспериментальный вариант тест-системы для определения трепонемоспецифических антител в ликворе в формате иммуночипа. Иммуночип, содержащий 4 рекомбинантных антигена *Treponema pallidum* (Tr17, Tr15, Tr47, TmpA), может успешно применяться в клинической практике для диагностики НС, о чем свидетельствуют высокие показатели его диагностической эффективности (100% чувствительность и 100% специфичность) при исследовании образцов сыворотки крови и ЦСЖ пациентов с НС.
3. Установлена высокая эффективность определения сывороточно-ликворного соотношения (ИТРА-индекса) для оценки интратекального синтеза антител к *T. pallidum* и подтверждения диагноза нейросифилиса в случаях отсутствия плеоцитоза, гиперпротеинарии, положительных результатов РМП. Преимуществом определения ИТРА-индекса является наличие зарегистрированных отечественных тест-систем (РПГА и ИФА), автоматизированный учет результатов, возможность одновременного исследования значительного количества биопроб.

4. На основе применения многомерного дискриминантного анализа разработаны: способ диагностики нейросифилиса, существенно повышающий точность выявления нейросифилиса при дискордантных результатах лабораторных исследований цереброспинальной жидкости, и математическая модель нейросифилиса.

5. Разработан алгоритм диагностики нейросифилиса, основанный на междисциплинарном подходе и включающий *комплексное* использование клинических, параклинических и лабораторных исследований (в том числе методологию VDRL, иммуночипов и ИГРА-индекса) при постановке диагноза НС.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью оптимизации обследования и ведения пациентов с подозрением на НС представляется целесообразным проводить исследование парных биологических образцов (сыворотка крови и ЦСЖ), что необходимо для подсчета ИГРА-индекса. Интерпретация результатов определения ИГРА-индекса осуществляется следующим образом: в отсутствие патологии ЦНС соотношение специфических и общих иммуноглобулинов класса G (IgG) в биологических жидкостях (ЦСЖ и сыворотка) не превышает 1,0. Значения ИГРА-индекса в интервале от 1,0 до 3,0 вызывают подозрение в отношении возможного нейросифилиса. Значение индекса выше 3,0 свидетельствует об интратекальном синтезе антител к *T.pallidum* и о специфическом характере поражения нервной системы».

2. Алгоритм обследования больного с подозрением на нейросифилис должен включать в себя выявление клинических симптомов НС, изучение состояния нейропсихического статуса и когнитивных функций пациента, проведение комплекса параклинических (инструментальных) методов исследования (КТ, МРТ, ЭЭГ) с получением заключения невролога.

3. Комплекс лабораторных исследований для обследования пациента с подозрением на нейросифилис путем исследования цереброспинальной жидкости и сыворотки крови должен включать, помимо стандартных методов исследования, также методологии VDRL, подсчета ИГРА-индекса, множественного дискриминантного анализа, что позволит установить клинический диагноз НС и разработать индивидуальный план лечения.

СПИСОК НАУЧНЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дмитриев Г.А., Андриющенко А.В., Негашева Е.С. Роль сывороточно-ликворного соотношения в диагностике нейросифилиса // Клиническая дерматология и венерология. -2015. -Т. 14. -№6. -С. 44-49 (цит. RSCI)
2. Потекаев Н.Н., Негашева Е.С., Савинов Г.В., Стуколова О.А., Карасева И.П., Судьина А.Е., Маркелов М.Л., Шипулин Г.А., Дмитриев Г.А., Фриго Н.В. Эффективность современных методов диагностики нейросифилиса. Возможности и перспективы применения VDRL и иммуночипов. // Клиническая дерматология и венерология. -2016. -Т. 15. -№ 6. -С. 11-21 (цит. RSCI)
3. Фриго Н.В., Потекаев Н.Н., Негашева Е.С. Известные и инновационные технологии диагностики нейросифилиса. // Клиническая дерматология и венерология. -2017. -Т. 16. -№ 5. -С. 73-83 (цит. RSCI)
4. Дмитриев Г.А., Потекаев Н.Н., Негашева Е.С., Фриго Н.В. ИТРА-индекс в клинико-лабораторной диагностике нейросифилиса. // Клиническая дерматология и венерология. -2017; -Т. 16. -№6. -С. 38-43 (цит. RSCI)
5. Негашева Е.С., Ротанов С.В. Клинико-серологическое наблюдение пациентов, получивших лечение по поводу ранних форм сифилиса // Клиническая дерматология и венерология. -2015. -№4. -С.42-49 (цит. RSCI)
6. Дмитриев Г.А., Фриго Н.В., Негашева Е.С., Ротанов С.В., Сапожникова Н.А., Милонова Т.И. Апробация диагностического набора «сифилис-VDRL-тест» с целью оптимизации диагностики нейросифилиса // Материалы к VIII Международному форуму дерматовенерологов и косметологов - IFDC2015, 18 марта – 20 марта 2015, Москва: Крокус-Экспо. - 2015. - С. 65
7. Фриго Н.В., Лебедева Г.А., Негашева Е.С. Эпидемиологическая ситуация по заболеваемости нейросифилисом в Москве. // Terra medica. -2015. –Т.79 -№1. -С. 94
8. Дмитриев Г.А., Андриющенко А.В., Негашева Е.С. Роль сывороточно-ликворного соотношения в диагностике нейросифилиса // Материалы к V Московскому форуму «Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики», 14-16 октября 2015 года, Москва: Здание правительства Москвы. -2015. – С.53.
9. Негашева Е.С., Савинов Г.В., Стуколова О.А., Дмитриев Г.А., Фриго Н.В. Иммунологический метод диагностики нейросифилиса с использованием иммуночипа. Материалы к V Московскому форуму «Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики», 14-16 октября 2015 года, Москва: Здание правительства Москвы. -2015. – С.75
10. Фриго Н.В., Марданлы С.Г., Негашева Е.С., Амелина Е.А., Антипин Р.Л., Мажуга А.Г. Усовершенствование системы визуализации комплексов антиген-антитело в VDRL-тесте для диагностики нейросифилиса. // Материалы к IX Международному форуму дерматовенерологов и косметологов - IFDC 2016, 16 - 18 марта 2016 года, Москва: Крокус-Экспо. -2016. - С.123
11. Дмитриев Г.А., Негашева Е.С. Оптимизация лабораторной диагностики нейросифилиса с использованием сывороточно-ликворного соотношения. // Материалы к IX Международному форуму дерматовенерологов и косметологов - IFDC 2016, 16 - 18 марта 2016 года, Москва: Крокус-Экспо. -2016. - С.68
12. Фриго Н.В., Негашева Е.С., Дмитриев Г.А., Жукова О.В. Новые подходы и алгоритмы в лабораторной диагностике нейросифилиса // Terra medica. -2016. -№1-2. –С. 83-84
13. Жукова О.В., Фриго Н.В., Негашева Е.С., Дмитриев Г.А., Маляренко Е.Н., Чистова О.Ю.

Современные методологии в диагностике нейросифилиса // Материалы к XV ассамблее «Здоровье Москвы» 29-30 ноября 2016г, Москва: Крокус-Экспо. -2016. – Москва. - С.162 (журнал «московская медицина» Специальный выпуск №1 ноябрь 2016)

14. Potekaev N., Frigo N., Negasheva E. Current methodologies in neurosyphilis diagnostics // Investigative dermatology. October 2017. Volume 137, issue 10, supplement 2, page s279 (цит. Web of Science)

15. Фриго Н.В., Негашева Е.С., Дмитриев Г.А. ИТРА-индекс как способ верификации нейросифилиса. // Материалы к VII Межрегиональному форуму дерматовенерологов и косметологов, 19-20 октября 2017, Москва: Здание правительства Москвы. -2017. –Москва. -С.50

16. Потекаев Н.Н., Негашева Е.С., Негашева М.А., Фриго Н.В. Использование математических методов в диагностике нейросифилиса. // Материалы к XVI Ассамблее "Здоровье Москвы", 30 ноября – 1 декабря 2017г. Москва: Крокус-Экспо. -2017. –Москва.

17. Савинов Г.В., Стуколова О.А., Карасева И.П., Маркелов М.Л., Судьина А.Е., Негашева Е.С., Шипулин Г.А., Фриго Н.В. Перспективы использования иммуночипов для диагностики нейросифилиса. // В сборнике: Молекулярная диагностика 2017. Сборник трудов IX всероссийской научно-практической конференции с международным участием. -2017. –Москва. -С. 450-451.

18. Потекаев Н.Н., Негашева Е.С., Негашева М.А., Фриго Н.В. Множественный дискриминантный анализ в диагностике нейросифилиса // Материалы к XI Международному форуму дерматовенерологов и косметологов - IFDC 2018, 14-16 марта 2018, Москва: Крокус-Экспо. -2017. –Москва. - С.112

19. **Negasheva E., Potekaev N., Frigo N., Dmitriev G. ИТРА index in neurosyphilis laboratory diagnosis // Biomedical research 2018. Volume 29, Issue 21: 3877-3879.**

20. Новые подходы к лабораторному обследованию пациентов с нейросифилисом. Лабораторная служба 2019, 8(1): 44. Негашева Е.С., Фриго Н.В., Дмитриев Г.А., Ротанов С.В., Китаева Н.В. (цит. RSCI)

21. Потекаев Н.Н., Негашева Е.С., Фриго Н.В., Новожилова О.Л., Жукова О.В., Китаева Н.В. Профилактика сифилиса: виды и стратегические направления. Профилактическая медицина. 2019;22(2):38-44. <https://doi.org/10.17116/profmed20192202138> (цит. Scopus)

22. Использование многомерного дискриминантного анализа в диагностике нейросифилиса «Клиническая дерматология и венерология» 2019; Том 19. - №1. - с. 18-26; <https://doi.org/10.17116/klinderma2019801118> Потекаев Н.Н., Негашева Е.С., Жукова О.В., Фриго Н.В., Негашева М.А., Дмитриев Г.А., Китаева Н.В. (цит. RSCI)

Аннотация

Диссертация посвящена разработке новых инновационных подходов к лабораторной диагностике нейросифилиса. Процесс создания алгоритма диагностики нейросифилиса включал целесообразность внедрения в российские стандартные методы обследования больных с подозрением на нейросифилис метод VDRL, известный и широко используемый за рубежом, усовершенствование диагностики с помощью иммуночипа, определение сывороточно-ликворного соотношения (ИТРА-индекса) с использованием российских тест-систем и известных методов исследования, использование методологии многомерного дискриминантного анализа для диагностики нейросифилиса с возможностью постановки диагноза при дискордантных результатах исследований и созданием математической модели нейросифилиса.

Ключевые слова: нейросифилис, диагностика нейросифилиса, VDRL, ИТРА-индекс, иммуночип, множественный дискриминантный анализ.

Annotation

The thesis is devoted to the development of new innovative approaches to the laboratory diagnosis of neurosyphilis. The process of creating a neurosyphilis diagnostic algorithm included the feasibility of introducing the VDRL method into Russian standard examination methods for patients with suspected neurosyphilis, known and widely used abroad, improving diagnostics using an immunochip, studying the serum-liquor ratio (ITPA-index) using Russian tests systems and well-known research methods, using the methodology of multidimensional discriminant analysis for the diagnosis of neurosyphilis, with the possibility of making a diagnosis with discordant research results and the creation of a mathematical model of neurosyphilis.

Key words: neurosyphilis, neurosyphilis diagnosis, VDRL, ITPA-index, immunochip, multiple discriminant analysis.

Подписано в печать 23.06.2019 г.

Формат А5

Бумага офсетная. Печать цифровая.

Тираж 100 Экз. Заказ №126830-6-19

Типография ООО “МДМпринт”

(Печатный салон МДМ)

119146, г. Москва, ул.Дмитрия

Ульянова, д.20, к.1

Тел. 8-495-256-10-00