

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ  
«УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ»

# **ЛИКВОРОДИАГНОСТИКА НЕЙРОСИФИЛИСА**

Пособие для врачей

Екатеринбург  
2018

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ  
«УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ»

«УТВЕРЖДЕНО»  
Ученым Советом  
ГБУ СО «УрНИИДВИ»  
протокол № 3 от «22» марта 2018 г.



## **ЛИКВОРОДИАГНОСТИКА НЕЙРОСИФИЛИСА**

Пособие для врачей

Екатеринбург  
2018

УДК 616.972  
Л 561

Утверждено Ученым советом УрНИИДВиИ  
в качестве пособия для врачей  
«22» марта 2018 г., протокол № 3

Государственное бюджетное учреждение Свердловской области  
«Уральский НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии»  
(разработчик пособия)

**Рецензенты:**

*Новиков Александр Иванович* –  
президент Омского государственного медицинского университета,  
доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач Российской Федерации  
*Лосева Ольга Казимировна* –  
профессор кафедры кожных и венерических болезней  
с курсом косметологии Московского государственного университета  
пищевых производств, доктор медицинских наук

**Составители:**

Кунгуров Н. В., д-р мед. наук, профессор; Левчик Н. К., канд. мед. наук, доцент;  
Пономарева М. В., канд. биол. наук; Зильберберг Н. В., д-р мед. наук, профессор;  
Сурганова В. И., канд. мед. наук, доцент; Герасимова Н. А., канд. биол. наук

Л 561 **Ликвородиагностика** нейросифилиса: пособие для врачей /  
Н. В. Кунгуров, Н. К. Левчик, М. В. Пономарева, Н. В. Зильберберг, В. И. Сур-  
ганова, Н. А. Герасимова; ГБУ СО «УрНИИДВиИ». – Екатеринбург : СВ-96,  
2018. – 28 с.

ISBN 978-5-89516-292-7

В пособии представлена полная информация, касающаяся лабораторной диагностики нейросифилиса при ликворологическом исследовании: кратко изложены необходимые теоретические сведения, освещено современное состояние проблемы, приведены подробные практические указания по проведению ликвородиагностики при подозрении на нейросифилис, рассмотрены особенности используемых лабораторных тестов и принципы интерпретации результатов исследования.

Пособие предназначено для специалистов по клинической лабораторной диагностике, а также врачей, проводящих обследование и лечение больных нейросифилисом.

УДК 616.972

ISBN 978-5-89516-292-7

© ГБУ СО «Уральский НИИ  
дерматовенерологии и иммунопатологии»

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
СИФИЛИТИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ .....	5
ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНАЯ ЖИДКОСТЬ .....	7
ЛИКВОРОДИАГНОСТИКА ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА НЕЙРОСИФИЛИС.....	8
Показания к ликворологическому исследованию.....	8
ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП.....	9
АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП .....	10
Основные методы исследования .....	10
Дополнительные методы исследования.....	19
ПОСТАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП (ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ) .....	23
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....	26

## ВВЕДЕНИЕ

Современная эпидемиологическая ситуация в Российской Федерации характеризуется изменением структуры заболеваемости сифилиса в сторону преобладания скрытых и поздних форм, а также наличием значительного числа лиц с сохраняющейся серопозитивностью после лечения сифилиса. Поздний скрытый и серорезистентный сифилис являются резервуаром нейросифилиса, длительное течение которого приводит к необратимым последствиям и может являться причиной инвалидизации и летального исхода.

Своевременное установление факта вовлечения центральной нервной системы в инфекционный процесс при сифилисе является очень важной врачебной задачей, так как диктует особую тактику лечения пациента. Стандартная терапия таких пациентов по схемам неврологического сифилиса, как правило, неэффективна.

Поражение центральной нервной системы (ЦНС) при сифилитической инфекции может проявляться любыми неврологическими, психическими, слуховыми, вестибулярными или офтальмологическими нарушениями. В настоящее время наблюдается снижение частоты «классических» клинических проявлений нейросифилиса и увеличение числа случаев асимптомного и малосимптомного нейросифилиса, при которых диагностика нейросифилиса базируется в основном на ликворологическом исследовании.

## СИФИЛИТИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Сифилис – инфекционное заболевание, передаваемое преимущественно половым путем, вызываемое возбудителем *Treponema pallidum* подвид *pallidum* (бледная трепонема) (порядок *Spirochaetales*, семейство *Spirochaetaeaceae*), характеризующееся поражением всех органов и систем организма и волнообразной сменой активных проявлений периодами скрыто протекающей инфекции, длительное течение которого приводит к тяжелым и необратимым последствиям. Нейросифилис – общее название разнообразных клинических форм поражения нервной системы сифилитической этиологии.

Инвазия бледной трепонемы в ЦНС происходит на ранних стадиях течения сифилитической инфекции в период гематогенной диссеминации возбудителя. Биологические свойства спирохеты позволяют ей напрямую свободно проникать через эндотелий сосудов (перфорируя стенку) в любые ткани и органы, в том числе и в ЦНС. Удельный вес нейроинвазии составляет от 30 до 100 % всех случаев сифилиса по данным разных авторов. Тот факт, что присутствие трепонемы в ЦСЖ не всегда сопровождается патологическими изменениями в ЦСЖ и наличием неврологической симптоматики, позволил предположить, что проникновение *T. pallidum* в ЦНС человека не обязательно приводит к развитию серьезных нарушений со стороны нервной системы, то есть «инвазия» не означает «заболевание». Предполагается возможность самопроизвольной элиминации трепонем из нервной ткани без воспалительной реакции или развитие транзиторного воспаления в мозговых оболочках, которое разрешается спонтанно.

По литературным данным, только у 13–20 % пациентов развивается асимптомный нейросифилис, сопровождающийся патологическими изменениями ликвора. Существует достаточно высокая вероятность последующего перехода асимптомного нейросифилиса в манифестный, и эта вероятность коррелирует с выраженностью изменений ликвора (от 14 % при минимально выраженных лабораторных отклонениях до 72 % при выраженных изменениях). В настоящее время неизвестно, почему только у части пациентов, инфицированных *T. pallidum*, развивается нейросифилис, даже после адекватной антибактериальной терапии на ранних этапах инфекции. У 15–30 % пациентов с серорезистентностью при ликворологическом обследовании выявляются лабораторные признаки нейросифилиса.

## ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНАЯ ЖИДКОСТЬ

Поражение специфическим процессом ЦНС может развиваться как результат непосредственного действия бледных трепонем на нервную ткань и ее оболочки, так и как следствие длительно текущей воспалительной реакции, нарушения трофики нервной ткани, циркуляции ЦСЖ и т. д. Не исключается аутоиммунный характер поражения ЦНС при сифилисе. Обсуждается также гипотеза о наличии особых нейтроинвазивных штаммов *T. pallidum*.

Клиническая диагностика нейросифилиса представляет собой сложную задачу, поскольку, с одной стороны, в настоящее время наблюдается увеличение доли малосимптомных и асимптомных форм нейросифилиса, с другой – не существует патогномичных симптомов специфического поражения, что обуславливает необходимость проведения дифференциальной диагностики нейросифилиса с заболеваниями ЦНС иной этиологии.

Длительный преклинический период, разнообразие клинических и нейровизуализационных проявлений нейросифилиса, включая неспецифические симптомы, существование асимптомных форм определяют важную роль в диагностике нейросифилиса лабораторного исследования цереброспинальной жидкости (ЦСЖ).

Цереброспинальная жидкость (ликвор, спинномозговая жидкость) – биологическая жидкость, которая выполняет функцию гидромеханической защиты ЦНС, а также играет важную роль в обеспечении питания для аксонов/нейронов, удалении токсичных метаболитов и регуляции гомеостаза.

ЦСЖ представляет собой результат процессов фильтрации и секреции, распределения и реабсорбции. Механизмы, с помощью которых формируется и перемещается ЦСЖ, в настоящее время окончательно не определены, в научном сообществе ведутся дискуссии. К структурам, связанным с гидродинамикой ЦСЖ, относят сосудистые сплетения, капилляры головного мозга, арахноидальные ворсинки, периневральные пространства и лимфатические сосуды, однако доля их участия остается неизвестной.

Продукция и реабсорбция ЦСЖ в норме достаточно сбалансированы, что способствует поддержанию относительно постоянного объема в ликворных путях. В норме у взрослого человека объем ЦСЖ составляет приблизительно 140 (125–150) мл, у годовалого ребенка – 35 мл, у новорожденного – 15–20 мл. Скорость обновления ЦСЖ варьирует от человека к человеку, в среднем полная замена ЦСЖ происходит 3–5 раз в течение суток у взрослого человека и до 6–8 раз у детей раннего возраста.

Регулирование состава и объема ЦСЖ осуществляется за счет гематоэнцефалического и гематоликворного (ГЭБ/ГЛБ) барьеров, препятствующих свободному обмену между ЦНС и кровью. В норме около 80 % молекулярных компонентов ЦСЖ происходят из системного кровотока, а остальная часть (20 %) имеет мозговое происхождение или синтезируется интратекально. Барьерные системы проницаемы не только для малых молекул, но и для макромолекул и циркулирующих клеток.

ЦСЖ находится в тесном взаимодействии с интерстициальной жидкостью паренхимы мозга, она быстро реагирует изменением своего биохимического и клеточного состава, что позволяет рассматривать данную биологическую жидкость как среду, отражающую состояние ЦНС и процессов, происходящих на ее территории. Предполагается, что ЦСЖ является достаточно однородной по составу и равномерно распределяется через все ликворные пути, такие как субарахноидальные пространства головного и спинного мозга, желудочки головного мозга, центральный спинномозговой канал. Однако следует учитывать, что в ЦСЖ, получаемой при традиционной люмбальной пункции, в основном будут находить отражение патологические процессы, происходящие вблизи от ликворных путей и в значительно меньшей степени – локализованные в удаленных областях коры головного мозга.

## ЛИКВОРОДИАГНОСТИКА ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА НЕЙРОСИФИЛИС

### Показания к ликворологическому исследованию

Спинальная (люмбальная) пункция для исследования ЦСЖ показана следующим категориям пациентов:

1. пациенты, серопозитивные по сифилису, имеющие любые психиатрические, неврологические, офтальмологические, отоларингологические симптомы, в том числе изолированные и субъективные (в виде жалоб на ухудшение зрения, слуха, головокружение, головные боли) независимо от стадии заболевания;
2. пациенты со скрытыми и поздними формами сифилиса;
3. пациенты с вторичным сифилисом с давностью заболевания более шести месяцев и с клиническими проявлениями в виде лейкодермы, особенно сочетания с алопецией;
4. пациенты с отсутствием положительной динамики (негативация или снижение титра антител в четыре и более раз) нетрепонемных тестов в крови в течение 12 месяцев после проведенного полноценного специфического лечения ранних форм;
5. пациенты с сопутствующей ВИЧ-инфекцией;
6. дети с подозрением на врожденный сифилис;
7. пациенты на контроле эффективности терапии нейросифилиса.

Также дополнительно предложены лабораторные критерии, позволяющие выделить пациентов с высоким риском нейросифилиса:

- количество CD4+T-клеток в крови меньше, чем 350/мкл у ВИЧ-инфицированных пациентов;
- титр выше, чем 1:32 в нетрепонемном тесте РМП/РРР в крови.

## ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП

Для исследования ЦСЖ чаще всего получают путем люмбальной пункции, у взрослого человека можно без осложнений получить 8–10 мл ликвора, у детей, включая детей младшего возраста, – 5–7 мл, у грудных детей – 2–3 мл. Для избавления от примеси «путевой» крови, попадающей в первую порцию из поврежденных иглой кровеносных сосудов, расположенных в области эпидурального пространства, удаляют первые несколько капель ликвора, при необходимости и больше.

Основные требования к пробиркам для образцов: свободные от частиц пыли, химически чистые (без ЭДТА, фторида и прочих наполнителей), плотно закрывающиеся, желателен одноразовые. Рекомендовано использовать полипропиленовые пробирки с винтовой крышкой объемом 2–5–12 мл.

**Запрещено** использовать вакуумные пробирки с цветными крышками, предназначенными для взятия образцов крови. Во избежание аварийных ситуаций, а также адгезии клеток ЦСЖ к стенкам нежелательно использовать стеклянные пробирки.

Из-за быстрого разрушения клеток ликвора вследствие низкой концентрации белков, оказывающих стабилизирующее действие на клеточные мембраны, необходимо подсчитать клетки в течение 30 мин после извлечения ЦСЖ, поэтому для получения достоверных результатов необходимо немедленно доставить образцы в лабораторию. При невозможности срочной доставки до момента транспортировки ЦСЖ хранить в бытовом холодильнике, не добавлять консервантов, не фиксировать. Транспортировку ЦСЖ желателен осуществлять при этой же температуре с использованием при необходимости термоэлементов.

Для проведения биохимических/иммунохимических исследований пробы ЦСЖ центрифугируют в режиме 2000g (или 400g при необходимости сохранить клеточные элементы) 10 мин при комнатной температуре. При наличии «путевой» крови пробы с содержанием эритроцитов >500 клеток/мкл бракуются и не анализируются. Для определения ряда показателей возможно хранение образцов в замороженном состоянии при низких температурах.

При использовании методологий, предполагающих сопоставление результатов исследований в парах ЦСЖ-кровь, желателен, чтобы временной интервал между забором образцов крови и люмбальной пункцией был минимален.

Для проведения молекулярно-биологического исследования берется концентрат ЦСЖ, полученный при высокоскоростном центрифугировании. Экстракцию ДНК из ликвора необходимо проводить методами, включающими несколько этапов очистки от сопутствующих белков, ингибиторов. Для хранения клинических проб до исследования требуется глубокая заморозка.



## АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП

Ликворологическое исследование диктует особые требования к организации аналитического процесса и качеству лабораторных исследований.

Необходим систематический контроль с использованием контрольных и калибровочных материалов.

Должны использоваться реактивы и тест-системы, разрешенные к медицинскому применению в Российской Федерации, и по возможности те из них, инструкции по применению которых предусматривают исследование данного вида биологического материала – ЦСЖ.

При проведении парного определения показателей ЦСЖ-кровь исследование рекомендуется проводить с использованием одной аналитической серии, подбирая соответствующее разведение биологических жидкостей.

Рекомендуемые методы исследования ЦСЖ для диагностики нейросифилиса:

– *основные*: неспецифические тесты (подсчет лейкоцитов, определение количества белка); специфические тесты (нетрепонемные и трепонемные тесты);

– *дополнительные* (определение альбуминового коэффициента и интратекального синтеза общих иммуноглобулинов, расчет индексов интратекального синтеза противотрепонемных АТ (ТРНА-индекс, IТрА-индекс – *intrathecal T. pallidum antibody index*, молекулярно-биологическое исследование на наличие ДНК *T. pallidum*).

### Основные методы исследования

#### Подсчет лейкоцитов ЦСЖ

При обнаружении в первой, а иногда во второй пробирках «путевой» крови для цитологических исследований используют ликвор соответственно из второй или третьей пробирки.

При помощи микроскопа и счетной камеры Фукса – Розенталя (объем 3,2 мкл) подсчитывают число в ликворе лейкоцитов после разрушения эритроцитов (рис. 1). Используются следующие красители:

– *реактив Самсона* (фуксин (спиртовой раствор 1:10) (2,5 мл) + ледяная уксусная кислота (30 мл) + карболовая кислота (2,0 г) + дистиллированная вода (до 100 мл)) – время окраски 10–15 мин.

– *10 % раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиловым фиолетовым* (ледяная уксусная кислота (5 мл) + дистиллированная вода (до 50 мл) + метиловый фиолетовый (0,1 мл)) – время окраски 2–3 мин;

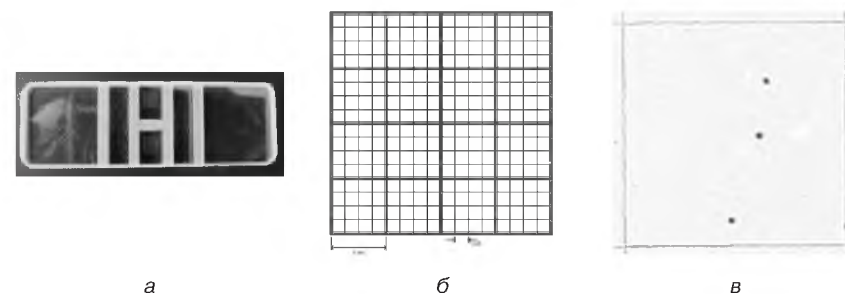


Рис. 1. Камера Фукса – Розенталя:

а – общий вид; б – сетка камеры, состоящая из 256 квадратов; в – препарат с реактивом Самсона, в поле зрения находятся три лимфоцита и один нейтрофил, увеличение x400

Лейкоциты считают по всей сетке (256 квадратов) при увеличении 10x40.

Количество клеток в 1 мкл =  $(A \times 11) / (3,2 \times 10) \approx A / 3,0$ ,

где А – количество клеток в камере, 3,2 – объем камеры в мкл, 11/10 – степень разведения ЦСЖ красителем.

Возможно использование камеры Горяева (объем 0,9 мкл), при этом необходимо считать клетки в трех камерах:

Количество клеток в 1 мкл =  $(A_1 + A_2 + A_3) \times 0,4$ . Референсные значения в зависимости от возраста приведены в табл. 1.

При исследовании ЦСЖ с примесью свежей («путевой») крови используют метод Фридмана, чтобы установить собственный цитоз геморрагического ликвора, для чего необходимо знать количество эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови, взятой до люмбальной пункции, и произвести подсчет лейкоцитов и эритроцитов в ликворе.

Подсчет эритроцитов в ликворе производят с помощью камеры Горяева без добавления реактива Самсона, при большом количестве эритроцитов ликвор разводят физиологическим раствором. Эритроциты считают в пяти больших квадратах, разделенных на 16 малых и расположенных в камере по диагонали. Расчет производят по формуле:

Количество эритроцитов в 1 мкл =  $(A \times 4000 \times p) / 80 = A \times 50 \times p$ .

где А – количество эритроцитов в 80 малых квадратах, 1/4000 – объем одного малого квадрата камеры в мкл, р – степень разведения ЦСЖ физраствором.

Расчет истинного цитоза ликвора производят в несколько этапов. Сначала следует вычислить количество эритроцитов приходящихся на 1 лейкоцит в периферической крови, затем, учитывая полученную пропорцию, рассчитывают количество лейкоцитов приходящихся на количество «ликворных» эритроцитов, далее из количества лейкоцитов, подсчитанных в камере Фукса – Розенталя, вычитают рассчитанное число лейкоцитов.

*Пример.* В 1 мкл ликвора с примесью «путевой» крови 12 000 эритроцитов и 30 лейкоцитов. В 1 мкл периферической крови больного 4 000 000 эритроцитов и 8 000 лейкоцитов, следовательно, на один лейкоцит в периферической крови приходится  $4000000/8000 = 500$  эритроцитов. Так как в ликворе все 12 000 эритроцита попали из периферической крови, в которой на 1 лейкоцит приходится 500 эритроцитов, можно рассчитать, сколько лейкоцитов попало с «путевой» кровью  $12000/500 = 24$  лейкоцита. Истинное (корректированное) количество лейкоцитов в ликворе будет  $30 - 24 = 6$  лейкоцитов в 1 мкл ликвора.

**Примечание:** метод Фридмана применим только при небольшой примеси «путевой» крови. Если нет данных периферической крови больного, то истинный цитоз можно рассчитать с допущением, что в среднем на каждые 1 000 эритроцитов приходится 1 лимфоцит периферической крови.

Таблица 1

#### Количество клеток в люмбальной ЦСЖ

Возраст	0–3 мес	3 мес – 1 год	1–2 года	2–5 лет	5–7 лет	7–10 лет	Старше 10 лет	Взрослые
Референсные значения (кл/мкл)	20–25	14–15	11–14	10–12	8–10	6–8	4–6	3–5

#### Общий белок ЦСЖ

На сегодняшний момент имеется широкая линейка зарегистрированных наборов реагентов для определения уровня белка в ЦСЖ при неавтоматизированном анализе, а также для автоматических, полуавтоматических биохимических анализаторов.

Для определения уровня белка в ликворе используются следующие методы:

*Метод с сульфосалициловой кислотой (6 %) и сульфатом натрия (14 %)* – турбидиметрический метод, основан на снижении растворимости белков вследствие образования суспензии взвешенных частиц под воздействием преципитирующих агентов. О содержании белка в исследуемой пробе судят по ослаблению светового потока образовавшейся суспензией, что определяется фотометрически при длине волны 400–480 нм.

*Пирогалловый метод* – колориметрический метод, основан на образовании окрашенного комплекса молибдата пирогаллового красного с молекулой белка в кислой среде, который поглощает свет на длине волны 578–613 нм. Интенсивность цветовой реакции пропорциональна концентрации исследуемого вещества.

Референсные значения в зависимости от возраста приведены в табл. 2.

#### Содержание общего белка в люмбальной ЦСЖ

Возраст	Референсные значения
От 0 до 16 лет	0,15–1,3 г/л
Старше 16 лет	0,15–0,45 г/л

#### Нетрепонемные и трепонемные тесты

Для выявления сифилис-ассоциированных антител в ЦСЖ используются те же тесты и та же методология, что и при исследовании крови, однако иногда требуется иное разведение биологической жидкости либо реагентов.

Используемые тесты различаются по способу индикации специфических антител, свойствам антигена, техническим условиям. Положительный результат теста свидетельствует о наличии антител, специфичных по отношению к примененным антигенам, отрицательный – об их отсутствии. В положительных образцах может быть проведена визуальная оценка интенсивности произошедшей реакции, которая выражается либо в условных единицах: 4+(++++), 3+(+++), 2+(++), 1+(+), либо градацией (сильноположительная, положительная, слабоположительная, сомнительная). Полуколичественная оценка содержания антител может быть произведена при титровании, когда осуществляется серия последовательных двукратных разведений биологической жидкости (титром считают последнее разведение, при котором еще наблюдается положительная реакция, выраженность которой определяется производителем тест-системы). В реакциях с возможностью автоматического учета результат может быть представлен в виде коэффициента позитивности или – при использовании калибраторов с аттестованными значениями аналита (количественный вариант) – в единицах на миллилитр.

В зависимости от природы используемого антигена тесты традиционно делят на две группы: нетрепонемные и трепонемные.

В **нетрепонемных** (кардиолипиновые, реагиновые) тестах в качестве антигена используется стандартизованный кардиолипиновый антиген (эмульсия холестерина 0,98 %; кардиолипина 0,03 %; лецитина 0,27 % в абсолютном спирте), позволяющий определять противолитоидные (антикардиолипиновые) антитела – «реагины».

*Реакция микропреципитации (РМП)* – флокуляционный тест. При добавлении эмульсии кардиолипинового антигена и наличии реагиновых антител в биологической жидкости образуется преципитат, выпадающий в виде хлопьев белого цвета. Регистрация результатов проводится визуально (рис. 2).



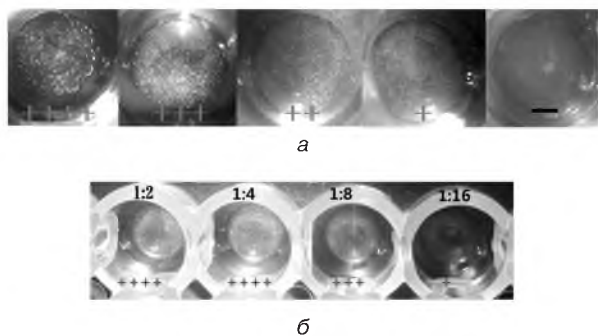


Рис. 2. Реакция микропреципитации для выявления ассоциированных с сифилисом реактивных антител: *а* – визуальная оценка реакции: 4+ (белые крупные хлопья преципитата, реакционная среда почти полностью прозрачная), 3+ (белые хлопья средней величины, реакционная среда белесоватая), 2+ (мелкие хлопья белого цвета, реакционная среда белесоватая), 1+ (очень мелкие хлопья, сомнения в наличии преципитата, реакционная среда непрозрачная), отрицательный результат (преципитата нет, реакционная среда непрозрачная, опалесцирующая); *б* – титрование (серия последовательных двукратных разведений положительного образца)

**VDRL (Venereal Disease Research Laboratory)** – флокуляционный тест. Принцип реакции сходен с таковым при РМП. Отличительной особенностью является необходимость приготовления суспензии VDRL-антигена и визуальная регистрация результатов с использованием микроскопа с возможностью 100-кратного увеличения (рис. 3).

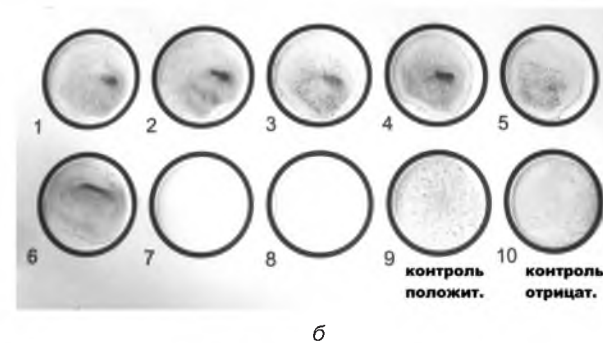


Рис. 3. VDRL тест для выявления реактивов к *Treponema pallidum*, микроскопическая картина, увеличение  $\times 100$ . Визуальная оценка интенсивности реакции: положительная (большие и средние агрегаты); слабоположительная (небольшие агрегаты); отрицательная (агрегаты отсутствуют)

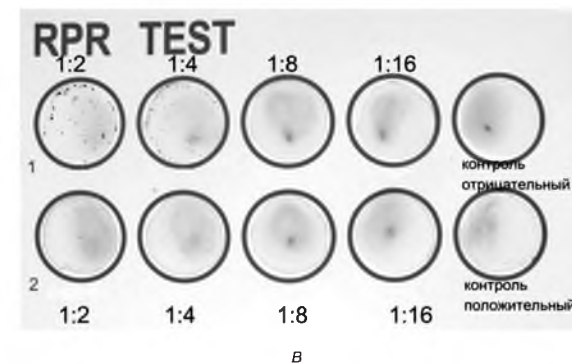
**Тест быстрых плазменных реактивов (Rapid Plasma Reagins, RPR или РПР)** – флокуляционный тест для определения реактивных антител, добавленные угольные частицы улучшают визуализацию реакции флокуляции. Регистрация результатов проводится визуально (рис. 4):



положительная реакция      слабоположительная реакция      отрицательная реакция



1 2 3 4 5  
6 7 8 9 контроль положит. 10 контроль отрицат.



RPR TEST  
1:2 1:4 1:8 1:16 контроль отрицательный  
1 2  
1:2 1:4 1:8 1:16 контроль положительный

Рис. 4. Rapid Plasma Reagins (RPR/ППР) тест для определения реактивных антител. Добавленные угольные частицы улучшают визуализацию реакции флокуляции: *а* – визуальная оценка реакции: положительная (крупные и средние агрегаты темно-серого цвета, с просветлением реакционной среды), слабоположительная (редкие и мелкие агрегаты, реакционная среда гомогенной структуры), отрицательная (видимые агрегаты отсутствуют, наблюдается равномерное распределение частиц равномерного серого цвета); *б* – качественный вариант теста: положительные образцы № 3, 5, отрицательные образцы № 1, 2, 4, 6; *в* – титрование (серия последовательных двукратных разведений положительного образца)

В **трепонемных** тестах в качестве антигена используются целноклеточные живые или фиксированные *T. pallidum*, разрушенные ультразвуком фиксированные *T. pallidum* штамма Николса либо созданные с помощью генной инженерии рекомбинантные белки или синтетические пептиды *T. pallidum*.

**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ).** В качестве антигена используются фиксированные на стекле бледные трепонемы патогенного штамма Nichol, антивидовая сыворотка конъюгирована с флуоресцеин-5-изотиоцианатом. Применяется в нескольких модификациях: РИФц (анализ проводится с нативной ЦСЖ) и РИФабс (включает этап адсорбции перекрестно реагирующих антител путем использования непатогенных трепонем штамма Рейтера).

Регистрация результатов проводится визуально с использованием люминесцентного микроскопа (рис. 5).

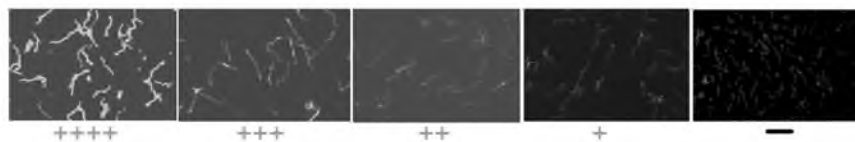


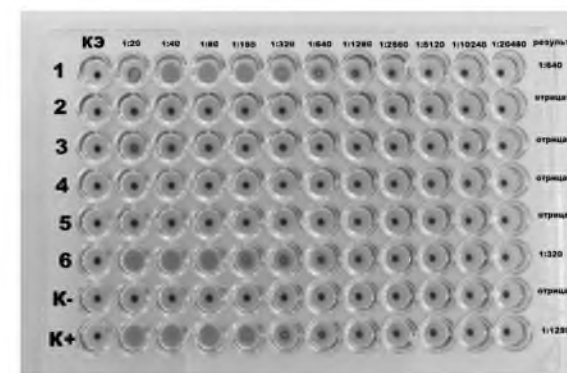
Рис. 5. Реакция иммунофлюоресценции для выявления антител к *Treponema pallidum*. Визуальная оценка реакции: 4+ (блестящее зелено-желтое свечение), 3+ (яркое свечение), 2+ (слабое свечение), 1+ (трепонемы окрашены чуть интенсивнее фона), отрицательный результат (отсутствие свечения)

**Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА, в зарубежной литературе TPHA – *Treponema pallidum* haemagglutination assay).** В данных тестах применяют эритроциты животных с адсорбированными на них антигенами. В качестве антигенов используются рекомбинантные белки бледной трепонемы либо компоненты патогенного штамма Nichol. В присутствии антител эритроциты «склеиваются» между собой, образуя молекулярно-корпускулярную решетку, что изменяет форму осадка. Для контроля неспецифических реакций параллельно осуществляется постановка реакции с контрольными эритроцитами (частицами) без антигена.

Регистрация результатов проводится визуально (рис. 6). При полуколичественной оценке реакции указывается титр, представляющий собой последнее разведение, при котором еще наблюдается положительная реакция (выраженность реакции определяется производителем тест-системы).



а



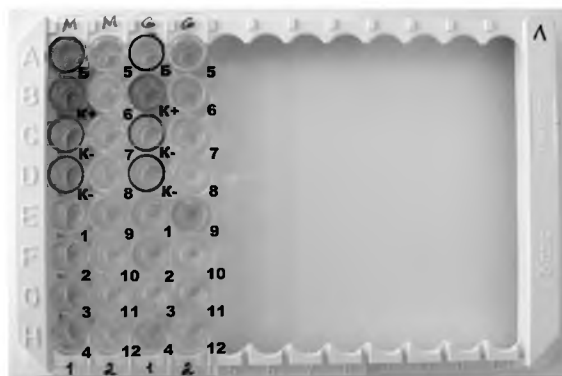
б

Рис. 6. Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) для выявления антител к *Treponema pallidum*: а – визуальная оценка реакции: 4+ (эритроциты расположены ровным слоем почти по всему дну лунки), 3+ (эритроциты расположены на большей части дна лунки, по периферии осадка формируется заметное кольцо из эритроцитов), 2+ (эритроциты расположены на небольшой части дна лунки, в центральной части – плотное кольцо из осадка эритроцитов с заметным просветлением в центре), 1+ (небольшой рыхлый осадок эритроцитов с нечеткими краями, с незначительным просветлением в центре), отрицательный результат (компактный осадок в центральной части дна лунки); б – титрование (серия последовательных двукратных разведений образца): КЭ – контрольные эритроциты; К- – отрицательный контроль; К+ – положительный контроль

**Иммуноферментный анализ (ИФА).** Метод основан на использовании в качестве метки ферментов, способных разлагать субстрат и приводить к образованию окрашенного продукта (хромогена), при этом интенсивность окраски хромогена соответствует количеству образовавшихся иммунных комплексов. Могут использоваться лизатные, рекомбинантные или синтетические пептидные антигены. Существует значительное число методических вариантов ИФА. Также существуют дополнительные возможности по отдельному определению различных классов антител (G, M), в том числе к каждому из антигенов отдельно.

В **планшетном ИФА** в качестве твердофазного носителя используется поверхность лунок полистиролового планшета. Регистрация ре-

зультатов проводится с использованием спектрофотометров, специально приспособленных для работы со стандартными планшетами, что предоставляет возможность в ряде случаев проводить количественный анализ без использования метода серийных разведений, так как интенсивность окраски в лунке пропорциональна количеству фермента и, следовательно, количеству антител (рис. 7). Существуют автоматизированные системы, выполняющие полный цикл иммуноферментного анализа.



№ образца	КП IgM	КП IgG
1	0,03	0,90
2	0,04	2,29
3	0,02	0,30
4	0,01	3,63
5	0,06	9,28
6	0,03	5,54
7	0,03	1,30
8	0,03	0,26
9	1,11	10,58
10	0,01	0,30
11	0,03	1,00
12	0,01	0,34

Рис. 7. Иммуноферментный анализ. Определение иммуноглобулинов классов М, G к *Treponema pallidum* № 1–12 – исследуемые образцы цереброспинальной жидкости: №1, 11: сомнительный результат IgG (КП 0,9–1,0); № 2, 4, 5, 6, 7: положительный результат IgG (КП >1,0); № 9: слабоположительный результат IgM (КП 1,11), положительный результат IgG (КП 10,58); № 3, 8, 10, 12: отрицательные результаты IgG и IgM; К+ – положительный контроль, К- – отрицательный контроль, Б – бланк, КП – коэффициент позитивности

В линейном иммуноблоте (WesternBlot) синтетические аналоги трепонемных антигенов адсорбированы на пористой мембране, в виде отдельных полос, образовавшиеся в месте их локализации иммунные комплексы визуализируются с помощью хромогенного субстрата в виде окрашенного участка мембраны, что позволяет определять антитела к каждому из антигенов отдельно. Регистрация результатов проводится визуально, путем сравнения интенсивности окраски антигенных линий с интенсивностью окраски контрольных линий (0,5+; 1,0+; 3,0+) (рис. 8).

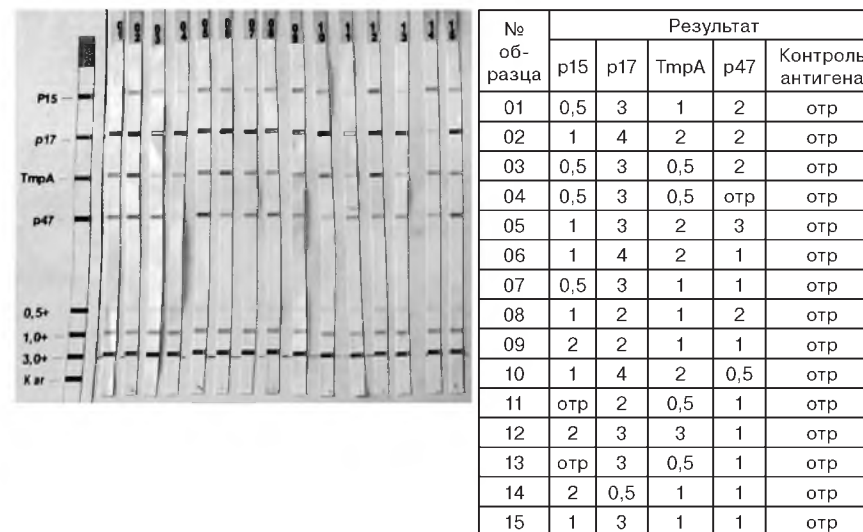


Рис. 8. Линейный иммуноферментный анализ (линейный иммуноблот). Выявление антител к отдельным антигенам возбудителя сифилиса (p15, p17, TmpA, p47): а – тест-полоски: регистрация результатов проводится визуально, путем сравнения интенсивности окраски антигенных линий с интенсивностью окраски контрольных линий (0,5+; 1,0+; 3,0+); б – во всех образцах (№ 1–15) результат положительный (не меньше двух полос с интенсивностью окрашивания, не меньшей «0,5+»)

### Дополнительные методы исследования

К дополнительным методам относят тесты, которые были предложены для ликвородиагностики нейросифилиса, однако не получили широкого распространения по причине труднодоступности методологии и/или недостаточности доказательных научных исследований.

#### Определение альбуминового индекса

Альбумин является основным белком ЦСЖ и преимущественно поступает из системного кровотока, поэтому является индикатором функционального состояния ГЭБ/ГЛБ. Определение альбумина проводится иммунохимическими методами.

Одновременное определение альбумина в сыворотке (плазме) крови и ЦСЖ позволяет вычислить альбуминовый индекс:

$$Qalb = \frac{\text{концентрация альбумина ЦСЖ} \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}}\right)}{\text{концентрация альбумина в сыворотке} \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}}\right)}$$

Значения  $Qalb$ , превышающие возрастные нормы [ $Qalb = (4 + \text{возраст}/15) \times 10^{-3}$ ] расцениваются как дисфункция гематоликворного барьера: менее 9,0 – незначительные нарушения, 9,0–14,3 – небольшие нарушения, 14,3–33,3 – умеренные нарушения, 33,3–100,0 – тяжелые нарушения; больше 100,0 – «катастрофическое повреждение».

#### Определение интратекального синтеза иммуноглобулинов

Существует несколько методологий выявления интратекального синтеза иммуноглобулинов, отличающиеся способом выявления локального характера иммунного ответа, различной трудоемкостью, доступностью и чувствительностью. К качественным методам относят электрофорез и изоэлектрическое фокусирование с иммунофиксацией. Качественные методы позволяют лишь классифицировать гуморальную реакцию в ЦСЖ и крови по количеству клонов, продуцирующих антитела (моноклональная, олигоклональная или поликлональная реакция). У здоровых людей иммуноглобулины поликлональны. Однако при системных инфекциях идентичные олигоклональные группы иммуноглобулинов выявляются как в ЦСЖ, так и в крови, что не позволяет исключить пассивную диффузию данных иммуноглобулинов из системного кровотока, особенно при функциональной несостоятельности гемато-ЦНС барьеров. Поэтому интратекальный синтез у пациентов с инфекционными заболеваниями чаще исследуют количественными методами.

Основой количественных методов выявления интратекального синтеза иммуноглобулинов является тот факт, что проницаемость гемато-ЦНС барьеров для иммуноглобулинов коррелирует с таковой для альбумина (белка, имеющего меньшую молекулярную массу и поступающего в ЦСЖ исключительно из системного кровотока) и имеется прямая зависимость концентрации аналита в ЦСЖ от таковой в системном кровотоке. Количественные методы представляют собой различные математические модели зависимости коэффициентов иммуноглобулинов (соотношение концентраций в ЦСЖ к таковой в сыворотке крови) к соответствующему показателю для альбумина ( $Qalb$ ). Наиболее простым в использовании является метод, предложенный Н. Link с соавторами, основанный на линейной зависимости с расчетом IgG- и IgM-коэффициентов. Более точной и более сложной является методология, предложенная Н. Reiber, в основу которой заложена эмпирически полученная гиперболическая зависимость проницаемости альбумина и иммуноглобулинов при различных состояниях гемато-ЦНС барьеров. Для пациента рассчитывается показатель соотношения уровня иммуноглобулинов в ЦСЖ к уровню в сыворотке крови ( $Qlg$ ).

$$Qlg = \frac{\text{фактическая концентрация } Ig \text{ ЦСЖ } \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}}\right)}{\text{фактическая концентрация } Ig \text{ в сыворотке } \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}}\right)}$$

Затем проводится сравнение  $Qlg$  с индивидуально рассчитываемым предельным уровнем диффузии иммуноглобулинов через гематоэнцефалический/гематоликворный барьер ( $Qlim$ ).

$$Qlim(IgG) = 0,93 \cdot \sqrt{Qalb^2 + 6 \cdot 10^{-6}} - 1,7 \cdot 10^{-3}$$

$$Qlim(IgA) = 0,77 \cdot \sqrt{Qalb^2 + 23 \cdot 10^{-6}} - 3,1 \cdot 10^{-3}$$

$$Qlim(IgM) = 0,67 \cdot \sqrt{Qalb^2 + 120 \cdot 10^{-6}} - 7,1 \cdot 10^{-3}$$

Если фактический коэффициент иммуноглобулинов превышает показатель предельного уровня диффузии ( $Q_{lg} > Q_{lim}$ ), то производится расчет значений интратекальной фракции ( $Ig_{IF}$ ):

$$Ig_{IF} (\%) = [Ig_{loc}/Ig_{ЦСЖ}] \cdot 100 \%,$$

$$\text{где } Ig_{loc} (\text{мг/л}) = [Q_{lg} - Q_{lim}] \cdot Ig_{\text{сыворотка}}.$$

При значении  $Ig_{IF}$  выше 0 % констатируют наличие интратекального синтеза иммуноглобулинов.

#### Расчет индексов интратекального синтеза противотрепонемных АТ

Специфические индексы были разработаны с целью минимизации влияния нарушений гематоэнцефалического барьера и уровня антител в крови. Предложены ТРНА(РПГА)-индекс и IТрА-индекс (Intrathecally produced *T. pallidum* Antibody index), основанные на величине титра ТРНА(РПГА) в ЦСЖ, которая подвергается коррекции с использованием либо альбуминового коэффициента ( $Qalb$ ), либо иммуноглобулинового коэффициента ( $Q_{lg}$ ), соответственно.

РПГА индекс = титр РПГА<sub>ЦСЖ</sub>/ $Qalb \cdot 10^3$ , референсные значения: >70

IТрА индекс = титр РПГА<sub>ЦСЖ</sub>/титр РПГА<sub>кровь</sub>/ $Q_{lg}$ , референсные значения >3.



Молекулярно-биологическое исследование на наличие ДНК *T.pallidum*

Для выявления специфического фрагмента ДНК *Treponema pallidum* может быть использован метод ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (ПЦР РВ). Все этапы ПЦР-исследования для каждого образца строго контролируются. Интерпретация результатов молекулярно-биологического исследования проводится автоматически, на основе лабораторной информационной системы (рис. 9).

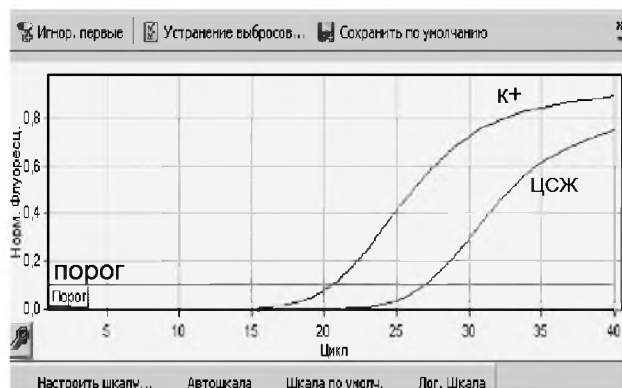


Рис. 9. Интерпретация результатов полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на основе наличия пересечения кривой накопления флуоресцентного сигнала ДНК *Treponema pallidum* с пороговой линией: K+ – положительный контроль, ЦСЖ – образец цереброспинальной жидкости – положительный результат

## ПОСТАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП (ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ)

При подозрении на специфическое поражение ЦНС при сифилитической инфекции целью исследования ЦСЖ является поиск лабораторных признаков, позволяющих подтвердить или исключить диагноз «нейросифилис». В основе ликвородиагностики нейроинфекций лежит детекция иммунного ответа в забарьерном (интратекальном) пространстве ЦНС.

Плеоцитоз (цитоз) – наиболее ранний и важный показатель активности процесса в ЦНС. Лейкоциты в ЦСЖ появляются путем хемотаксиса вследствие их привлечения и открытия эндотелиальных барьеров, опосредуемых цитокинами и хемокинами, продуцируемыми патологическим очагом в ЦНС. Рекрутирование лейкоцитов происходит при широком круге заболеваний (инфекционные, воспалительные (аутоиммунные), метаболические и злокачественные). Для нейросифилиса характерен лимфоцитарный (мононуклеарный) плеоцитоз, более 5 лейкоцитов/мкл для взрослых (более 10–20 кл/мкл у ВИЧ-инфицированных в зависимости от приема антиретровирусной терапии). В начальном периоде при ранних формах сифилиса небольшой плеоцитоз может быть единственным признаком поражения ЦНС. Количество клеток варьирует (6–350 кл/мкл), с медианой 23–29 кл/мкл, но редко превышает 100 кл/мкл. При симптоматическом нейросифилисе цитоз составляет 20–50 кл/мкл, чаще это менингovasкулярные формы, при поздних паренхиматозных формах может отсутствовать. В настоящее время в клинической практике отмечается преобладание случаев малого цитоза (6–12 кл/мкл).

Повышение уровня белка в ЦСЖ (>0,45 г/л у взрослых) также является неспецифическим маркером воспалительной реакции, но не всегда характерно для нейросифилиса. ЦСЖ содержит более 2 500 белков. Происхождение белка ЦСЖ связано с фильтрацией белковых молекул из плазмы крови, а также с синтезом белка в ЦНС. В основном белок в ЦСЖ состоит из альбуминов (0,168–0,240 г/л), различных фракций глобулинов (0,024–0,048 г/л), а также гормонов и физиологически активных веществ белковой природы, нейроспецифических белков.

При пассивной диффузии проницаемость приблизительно пропорциональна градиенту концентраций в кровеносном русле и ЦСЖ и обратно пропорциональна их молекулярной массе. Различия в молекулярной массе белков (альбумин ~67 кДа; IgG ~150 кДа; IgA ~170 кДа; IgM ~900 кДа) определяют их различную проницаемость. Так, при прохождении через ГЭБ/ГЛБ в норме концентрация альбумина уменьшается

в ~205 раз; IgG – в ~440 раз, IgA – в ~800 раз, IgM – в ~3400 раз по сравнению с системным кровотоком. Повышение проницаемости будет приводить к росту содержания общего белка в ликворе, однако при нейросифилисе, как правило, ГЭБ/ГЛБ существенно не повреждается, преобладают нарушения функционирования незначимой, легкой и умеренной степени выраженности.

Более значимой причиной повышения содержания общего белка в ЦСЖ при нейросифилисе является синтез иммуноглобулинов в пределах ЦНС (интратекальный/внутриоболочечный синтез). Данный процесс наблюдается при многих неврологических заболеваниях, преимущественно воспалительной природы, в том числе и в большинстве случаев нейросифилиса. Интратекальный гуморальный иммунный ответ может отражать три различных процесса: острое воспалительное заболевание ЦНС, которое сопровождается плеоцитозом и наличием признаков дисфункции гемато-ЦНС барьеров (повышенное значение *Qalb*); остаточный интратекальный синтез антител как результат перенесенной инфекции в прошлом; хронический воспалительный процесс аутоиммунной природы.

Выявление интратекального синтеза общих иммуноглобулинов является неспецифическим маркером интратекального иммунного ответа.

Специфический иммунный ответ в ЦНС исследуется путем определения сифилис-ассоциированных антител в нетрепонемных и трепонемных тестах. Доказательство интратекального происхождения специфических антител ЦСЖ лежит в основе лабораторного подтверждения диагноза нейросифилиса.

Общепризнано, что положительные результаты нетрепонемных тестов высокоспецифичны для нейросифилиса и являются «золотым стандартом». Однако данный «золотой стандарт» не совершенен, так как имеет недостаточную чувствительность, 30–78 % в зависимости от клинической группы (выше чувствительность для менингovasкулярных форм нейрофилиса и существенно ниже для паренхиматозных форм). В системном кровотоке реактивные антитела, выявляемые в данных тестах, находятся в небольшом количестве и в ЦСЖ при нейросифилисе имеют интратекальную природу. Однако следует учитывать, что данный антиген также широко представлен в тканях животных и человека (в мембранах митохондрий), определяемые антитела направлены не только против липидных антигенов бледной трепонемы, но и аутоантигенов, возникающих вследствие деструкции клеток макроорганизма, и возможны ложноположительные реакции. Наиболее чувствительным из нетрепонемных тестов признается VDRL-тест. Относительно применения тестов RPR и

РМП, на сегодняшний день нет единого мнения, исследователями получены противоречивые данные.

Трепонемные тесты обладают высокой чувствительностью (90–100 %), но недостаточно специфичны и могут быть положительными при формах сифилиса, не сопровождающихся поражением нервной системы. Наличие трепонемаспецифических антител в ликворе признано необходимым, но недостаточным условием для подтверждения диагноза «нейросифилис», так как эти антитела могут быть следствием пассивной диффузии из системного кровотока вследствие их высокого там содержания.

Индексы, предназначенные для оценки интратекального синтеза трепонемаспецифических антител (РПГА/ТРНА-индекс, ТрА-индекс), представляются более чувствительными по сравнению с нетрепонемными тестами и более специфичными по сравнению с трепонемными тестами, однако их реальное практическое применение затруднено из-за методологических сложностей.

Некоторые исследователи предполагают, что для трепонемаспецифических антител имеет значение их количественное содержание в ЦСЖ. В частности, показано, что титр антител в ЦСЖ в РПГА/ТРНА выше, чем 1:320 и положительный результат РИФ-абс при нейросифилисе ассоциирован с интратекальным синтезом антител. При использовании данных критериев следует учитывать, что иммунный ответ к белковым антигенам трепонемы является сильным, длительным и нормализуется медленнее, чем к липидным антигенам. Поэтому данные критерии следует с осторожностью применять у пациентов, получавших терапию по поводу сифилиса.

Основываясь на высокой чувствительности трепонемных тестов, предложено их отрицательные результаты использовать в качестве критерия исключения нейросифилиса. Тем не менее возможно установление диагноза нейросифилиса при отрицательных результатах трепонемных тестов в тех случаях, когда клинические проявления являются типичными для нейросифилиса, другие возможные причины исключены, а предполагаемый очаг воспаления располагается удаленно по отношению к ликворосодержащим пространствам.

В целом для корректного установления/исключения диагноза «нейросифилис» необходима комплексная интерпретация всех результатов ликворологического и серологического исследований с обязательным сопоставлением с анамнестическими данными и клинической симптоматикой пациента.



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Долгов В. В., Миронова И. И. Исследование спинномозговой жидкости // Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. Т. 1. С. 372–398.

Красносельских Т. В., Соколовский Е. В. Нейросифилис: нерешенные проблемы и невыученные уроки (часть 1 // Совр. проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. 2011. № 5. С. 5–11.

Куляш Ю. Г. Диагностика нейросифилиса: проблемы трактовки результатов лабораторных исследований // Клиническая дерматология и венерология. 2011. №4. С. 6–14.

Нейросифилис. Современные представления о диагностике и лечении : руководство для врачей / под ред. А. В. Самцова. СПб.г : СпецЛит, 2006. 127 с.

О совершенствовании серологической диагностики сифилиса : Приказ М-ва здравоохранения Рос. Федерации № 87 от 26 марта 2001 г. М., 2001. 63 с.

Об утверждении протокола ведения больных «сифилис» : приказ М-ва здравоохранения Рос. Федерации № 327 от 25 июля 2003 г. М., 2003. 63 с.

Родиков М. В., Прохоренков В. И. Нейросифилис: от диагноза к лечению. Часть 2. Диагностика, терапия, прогноз // Вестн. дерматологии и венерологии. 2010. № 2. С. 20–25.

Родиков М. В., Прохоренков В. И. Нейросифилис: от диагноза к лечению. Ч. 1. Эпидемиология, патогенез, клиника // Вестн. дерматологии и венерологии. 2010. № 1. С. 28–34.

Сифилис // Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. 5-е изд., перераб. и доп. М. : Деловой экспресс, 2016. С. 679–720.

Современные иммунологические методы исследования цереброспинальной жидкости у больных нейросифилисом / Н. В. Фриго, Г. Л. Катунин, С. В. Ротанов, О. С. Левин // Вестн. дерматологии и венерологии. 2011. № 6. С. 49–57.

Функциональное состояние гематоэнцефалического/гематоликторного барьера у больных сифилисом / Н. В. Кунгуров, Н. К. Левчик, М. В. Пономарева, Н. В. Киселева, В. И. Сурганова, Н. В. Зильберберг // Журнал совр. проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. 2012. № 4 (23.). С. 14–21.

Хронические нейроинфекции / под ред. И. А. Завалишина, Н. Н. Спирина, А. Н. Бойко, С. С. Никитина. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. 560 с.

Эффективность современных методов диагностики нейросифилиса. Возможности и перспективы применения VDRL и иммуночипов / Н. Н. Потекаев, Е. С. Негашева, Г. В. Савинов, О. А. Стуколова и др. // Клиническая дерматология и венерология. 2016. Т. 15, № 6. С. 11–21.

A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking / C. E. Teunissen, A. Petzold, J. L. Bennett, F. S. Berven et al. // J. Neurology. 2009. № 73 (22). P. 1914–1922.

Cerebrospinal fluid abnormalities in patients with syphilis: association with clinical and laboratory features / C. M. Marra et al. // The Journal of Infectious Diseases. 2004. № 189. P. 369–376.

Cerebrospinal Fluid Treponema pallidum Particle Agglutination Assay for Neurosyphilis Diagnosis / C. M. Marra et al. // J. Clin Microbiol. 2017. № 55 (6). P. 1865–1870.

Criteria for the Diagnosis of Neurosyphilis in Cerebrospinal Fluid: Relationships With Intrathecal Immunoglobulin Synthesis and Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier Dysfunction / N. Levchik, M. Ponomareva, V. Surganova, N. Zilberberg, N. Kungurov // Sexually Transmitted Diseases. 2013. Vol. 40. Is. 12. P. 917–922.

European Guideline on the Management of Syphilis / M. Janier, V. Hegyi, N. Dupin, M. Unemo, G. S. Tiplica, M. Poto nik, P. French, R. Patel // J. Eur Acad Dermatol Venereol, 2014. № 28 (12). P. 1581–1593. DOI: 10.1111/jdv.12734.

Harding A. S., Ghanem K. G. The performance of cerebrospinal fluid treponemal-specific antibody tests in neurosyphilis: a systematic review // Sexually Transmitted Diseases. 2012. Vol. 39, № 4. P. 291–297.

Workowski K. A., Bolan G. A. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines // MMWR Recomm. 2015. Rep. 5 (64) (RR-03). P. 1–137.

## АКТ ВНЕДРЕНИЯ ПОСОБИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

1. Название пособия для врачей «Ликвородиагностика нейросифилиса»
2. Дата начала внедрения \_\_\_\_\_
3. Полное название учреждения, внедрившего пособие для врачей \_\_\_\_\_

4. Форма внедрения: тиражирование и рассылка методического материала; обучение специалистов; использование при лечении или диагностике больных, организации лечебно-профилактических мероприятий и т. д. (нужное подчеркнуть), другое \_\_\_\_\_

5. Эффективность от внедрения пособия для врачей: медицинская, экономическая, социальная (нужное подчеркнуть):

– обеспечивает выполнение ликворологического исследования при подозрении на нейросифилис на современном уровне, соответствующем российским и международным стандартам;

– улучшает понимание врачами-клиницистами и врачами клинической лабораторной диагностики теоретических основ ликвородиагностики нейросифилиса, и обеспечивает корректную интерпретацию данных лабораторного обследования;

– повышает качество знаний обучающихся по образовательным программам;

– другое \_\_\_\_\_

6. Укажите, какие трудности Вами отмечены при внедрении пособия для врачей

ФИО и должность сотрудника учреждения, ответственного за внедрение \_\_\_\_\_

Руководитель учреждения МП

-----

Подписано в печать 01.04.2018.  
Формат 60 x 84 1/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура PragmaticaC. Усл. печ. 1.63 л.  
Тираж 500 экз. Заказ № 10947.

Отпечатано в ООО «Типография Аграф»  
г. Екатеринбург, ул. Колмогорова, 3, офис 905  
тел.: (343) 245-58-58