

## 脑脊液 ECLIA 与 FTA-ABS 检测在 NS 诊断中的应用价值研究

应珊珊, 罗 岚, 邓杰伦, 王远芳, 李冬冬<sup>△</sup>

四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041

**摘要:**目的 探讨脑脊液(CSF)梅毒特异性抗体在神经梅毒(NS)诊断中的应用价值。方法 选择 2018 年 1 月至 2020 年 1 月于该院确诊的梅毒患者 124 例作为研究对象,以梅毒性病研究实验室试验(VDRL)结果作为诊断 NS 金标准,将患者分为 NS 组(36 例)和非 NS 组(88 例),收集患者相关临床资料,评价电化学发光免疫分析(ECLIA)和荧光螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)对 NS 的诊断效能。结果 ECLIA 检测 CSF 梅毒特异性总抗体诊断 NS 的最佳临界值为 19.1, AUC 为 0.964(95%CI:0.914~0.989),灵敏度为 92.05%,特异度为 94.44%;FTA-ABS 检测 CSF 免疫球蛋白 G(IgG)诊断 NS 的 AUC 为 0.878(95%CI:0.810~0.930),灵敏度为 97.22%,特异度为 78.41%;FTA-ABS 检测 CSF 免疫球蛋白 M(IgM)诊断 NS 的 AUC 为 0.650(95%CI:0.560~0.730),灵敏度为 30.56%,特异度为 98.86%。结论 FTA-ABS 检测 CSF IgG 诊断 NS 的灵敏度最高,但其操作复杂,可考虑作为 NS 的阴性排除试验;FTA-ABS 检测 CSF IgM 诊断 NS 的灵敏度低但特异度较高,可以考虑作为 NS 活动感染指标;ECLIA 检测 CSF anti-TP 诊断 NS 的灵敏度和特异度较好,而且操作简便及自动化程度高,可考虑作为筛查试验。

**关键词:**神经梅毒; 梅毒特异性抗体; 脑脊液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.11.003

中图法分类号:R759.1+3

文章编号:1673-4130(2021)11-1291-04

文献标志码:A

## Study on the application value of cerebrospinal fluid ECLIA and FTA-ABS in the diagnosis of NS

YING Shanshan, LUO Lan, DENG Jielun, WANG Yuanfang, LI Dongdong<sup>△</sup>

Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

**Abstract: Objective** To investigate the value of cerebrospinal fluid (CSF) syphilis specific antibody in the diagnosis of neurosyphilis (NS). **Methods** A total of 124 syphilis patients diagnosed in the hospital from January 2018 to January 2020 were selected as the research objects, and the results of syphilis and venereal disease research laboratory test (VDRL) were used as the gold standard for NS diagnosis, the patients were divided into the NS group (36 cases) and the non-NS group (88 cases). The clinical data of patients were collected totally, and the diagnostic efficacy of electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) and fluorescent treponemal antibody absorption test (FTA-ABS) for NS. **Results** The best cut-off value of ECLIA for detecting CSF syphilis-specific total antibodies for diagnosing NS was 19.1, AUC was 0.964 (95%CI: 0.914-0.989), the sensitivity was 92.05%, and the specificity was 94.44%; The AUC of FTA-ABS for the detection of CSF immunoglobulin G (IgG) in the diagnosis of NS was 0.878 (95%CI: 0.810-0.930), the sensitivity was 97.22%, and the specificity was 78.41%; The AUC of FTA-ABS in detecting CSF immunoglobulin M (IgM) in the diagnosis of NS was 0.650 (95%CI: 0.560-0.730), the sensitivity was 30.56%, and the specificity was 98.86%. **Conclusion** FTA-ABS has the highest sensitivity for detecting CSF IgG in diagnosing NS, but its operation is complicated and can be considered as a negative exclusion test for NS; FTA-ABS has low sensitivity but high specificity for detecting CSF IgM in diagnosing NS, and can be considered as active NS infection Indicators; ECLIA has good sensitivity and specificity for detecting CSF anti-TP in diagnosing NS, and it is easy to operate and has a high degree of automation. It can be considered as a screening experiment.

**Key words:** neurosyphilis; syphilitic specific antibody; cerebrospinal fluid

神经梅毒(NS)是梅毒螺旋体(TP)感染累及神经系统时出现脑膜、大脑、血管或脊髓等损伤的一组临

作者简介:应珊珊,女,技师,主要从事临床微生物方面的研究。<sup>△</sup> 通信作者, E-mail:jiangxili1219@163.com。

本文引用格式:应珊珊,罗岚,邓杰伦,等. 脑脊液 ECLIA 与 FTA-ABS 检测在 NS 诊断中的应用价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(11):1291-1294.

床综合征,但 NS 目前确诊较困难,容易被漏诊与误诊<sup>[1-2]</sup>。2020 版《梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南》推荐 NS 脑脊液(CSF)检查首选试验为梅毒性病研究实验室试验(VDRL)和荧光螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS),相对于广泛用于临床的电化学发光免疫分析(ECLIA),FTA-ABS 和 VDRL 在我国医院开展较少<sup>[3]</sup>。本研究使用 2 种方法(ECLIA 和 FTA-ABS)来检测 CSF 中 3 类梅毒特异性抗体[梅毒特异性总抗体(anti-TP),梅毒特异性抗体免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)],探索 ECLIA 和 FTA-ABS 在 NS CSF 检测中作为初筛试验应用的价值<sup>[4]</sup>。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2018 年 1 月至 2020 年 1 月于本院就诊的梅毒确诊患者 124 例作为研究对象,患者多就诊于神经内科或感染科,多伴有 NS 相关神经症状或临床诊断确诊/怀疑 NS。以 CSF VDRL 结果作为诊断 NS 的金标准,将患者分为 NS 组和非 NS 组。NS 组纳入标准:满足中国疾病预防控制中心发布的《梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2020 年)》<sup>[3]</sup> NS 疑似条件且 CSF VDRL 阳性的患者。非 NS 组纳入标准:血清梅毒初筛、梅毒血清学试验(TURST)及梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)皆阳性,而 CSF VDRL 阴性的患者。本研究经本院生物医学伦理审查委员会批准。

**1.2 方法** 收集 NS 组和非 NS 组患者 CSF 标本,排除明显血性的 CSF,CSF 性状均正常。将标本置于 -80 °C 标本冰箱保存备用。质量控制严格按照说明书执行,试验操作步骤和结果判读方法如下。

**1.2.1 采用 VDRL 检测梅毒非特异性抗体** 相关试剂来自美国 BD 公司。将 CSF 标本从冰箱取出后置于室温下复温 30 min,在反应玻片 2~4 孔加入 50  $\mu$ L 0.9% NaCl 溶液,在第 1、2 孔加入 50  $\mu$ L 待测标本,将第 2 孔标本与 0.9% NaCl 溶液轻轻吹打混匀并吸取 50  $\mu$ L 到第 3 孔,重复操作,直到最后一孔吸取 50  $\mu$ L 标本弃用完成稀释。混匀抗原悬液(每日制备新鲜抗原悬液)并在每个反应孔垂直悬空加入 10  $\mu$ L。将反应玻片放置于旌派仪器有限公司(上海)梅毒旋转振荡器 XK96-9 上,180 r/min 振荡 4 min。使用 Olympus 公司(日本)光学显微镜 BX43 在 10 倍物镜下观察结果。结果判读:根据说明书将结果分为中一大团阳性(R)、小一弱团阳性(WR)和无凝集或非常轻微的阳性(NR),第 1 次检测标本最高稀释倍数为 1:8,如果最后一孔依然为阳性则继续稀释,最后以显微镜中结果为 R 的最大滴度为最终结果。

**1.2.2 采用 ECLIA 检测 CSF 中 anti-TP** CSF 标本从冰箱取出后置于室温下复温 30 min,去盖后上架编号并使用德国 Roche 公司 Cobas e801 电化学发光免疫自动分析仪检测,检测使用的配套试剂购自德国

Roche 公司。结果判读:记录每个标本临界值指数(COI)值,采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 COI 值的最佳临界值,COI 值 < 最佳临界值为无反应性即 anti-TP 抗体阴性,COI 值  $\geq$  最佳临界值为有反应性即 anti-TP 抗体阳性。

**1.2.3 采用 FTA-ABS 检测 CSF 中 IgG、IgM** 相关试剂来自德国欧蒙公司。按照试剂说明书要求准备磷酸盐缓冲液(PBS)-吐温缓冲剂、FTA-ABS 吸附剂和 RF 吸附剂。标本复温后使用 FTA-ABS 吸附剂稀释(IgM 检测还需 RF 吸附剂稀释)并放置于干式恒温金属浴 37 °C 孵育 30 min。经加样、温育、冲洗、浸泡,加二抗再重复温育、冲洗、浸泡,最后封片,使用荧光显微镜 EUROStar III Plus 判读荧光模型。结果判读:质控芯片上代表相应抗体的微点出现阳性,反应区全片出现均匀的 TP 发光即为阳性;质控芯片上代表相应抗原微点出现阳性,且反应区不出现荧光或出现非特异性荧光为阴性;质控芯片无荧光,检测结果不可靠应重新试验。

**1.2.4 清蛋白商(QAlb)** 回顾性分析患者实验室检查结果,选取留存标本同日患者 CSF、血清清蛋白检查结果,并按照公式[QAlb = CSF 清蛋白/血清清蛋白]计算 QAlb。根据各年龄段参考值进行结果判读:0~15 岁, QAlb <  $5.0 \times 10^{-3}$ ; >15~40 岁, QAlb <  $6.5 \times 10^{-3}$ ; >40 岁, QAlb <  $8.0 \times 10^{-3}$ 。

**1.3 统计学处理** 使用 EXCEL 365 统计数据,IBM SPSS Statistics 22.0 和 GraphPad Prism 8.0.2.263 软件处理分析数据,MedCalc 15.2.2 绘图。计数资料以频数、率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 ROC 曲线及曲线下面积(AUC)分析 CSF 梅毒特异性抗体检测方法对 NS 的诊断效能。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 梅毒患者 CSF VDRL 检测结果** NS 组患者共 36 例,其中女 8 例,男 28 例,2 例伴人类免疫缺陷病毒(HIV)感染;非 NS 组患者共 88 例,其中女 40 例,男 48 例,5 例伴人类免疫缺陷病毒(HIV)感染。

**2.2 2 组患者 CSF 中梅毒特异性抗体的阳性检出率比较** NS 组 CSF 中 anti-TP、IgM、IgG 的阳性检出率高于非 NS 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 2 组患者 CSF 中梅毒特异性抗体的阳性检出率比较[n(%)]

组别	n	anti-TP 阳性	IgM 阳性	IgG 阳性
NS 组	36	35(97.2)	11(30.6)	35(97.2)
非 NS 组	88	34(38.6)	1(1.1)	19(21.6)
$\chi^2$		35.53	22.04	59.45
P		<0.01	<0.01	<0.01

**2.3 CSF 中 3 种梅毒特异性抗体检测对 NS 的诊断效能** 绘制 anti-TP、IgM、IgG 诊断 NS 的 ROC 曲线, ECLIA 检测 anti-TP 诊断 NS 的最佳临界值为 19.1, AUC 为 0.964(95%CI: 0.914~0.989), 特异度为 94.44%, 灵敏度为 92.05%, 约登指数为 0.864 9。以 COI>19.1 为阳性, ECLIA 检测 anti-TP 诊断 NS 的 AUC 大于 FTA-ABS 检测 IgM 和 IgG 诊断 NS 的 AUC( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 3 种梅毒特异性抗体对 NS 的诊断效能

抗体类型	AUC (95%CI)	最佳 临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数
anti-TP	0.964(0.914~0.989)	19.1	92.05	94.44	0.864 9
IgM	0.650(0.560~0.730)	—	30.56	98.86	0.294 2
IgG	0.878(0.810~0.930)	—	97.22	78.41	0.756 3

注:—表示无临界值。

**2.4 VDRL 滴度与 CSF 中 IgM 阳性结果的相关性** 随着 VDRL 滴度上升, CSF 中 IgM 结果呈阳性的患者比例增加, 但发现 1 例非 NS 患者 CSF IgM 结果阳性, 见表 3。

表 3 VDRL 不同滴度 CSF 中 FTA-ABS-IgM 阳性分布情况

VDRL 滴度	IgM 阳性数(n)	IgM 阴性数(n)
阴性	1	87
1:1	0	4
1:2	2	6
1:4	3	6
1:8	3	6
1:16	2	3
1:32	0	0
1:64	1	0

**2.5 QAlb 不同的 CSF 中 IgM 结果分布情况** 排除年龄和 CSF、血清清蛋白数据不全标本后, 纳入统计数据的患者 NS 组 21 例, 非 NS 组 65 例。QAlb 与 CSF 中 IgM 结果联合分析发现, QAlb 结果在 NS 组和非 NS 组分布差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表 4。

表 4 QAlb 不同的 CSF 中 IgM 结果分布情况比较(n)

QAlb	NS 患者 IgM 检测结果			非 NS 患者 IgM 检测结果		
	阳性	阴性	合计	阳性	阴性	合计
升高	3	6	9	0	3	3
正常	4	8	12	0	62	62
合计	7	14	21	0	65	65

注: QAlb 联合 CSF IgM 对 NS 的筛选, 判断标准如下, (1) QAlb 正常同时 CSF IgM 阳性, 认为 IgM 是鞘内合成, 考虑 NS 活动期; (2) QAlb 正常同时 CSF IgM 阴性, 考虑既往梅毒感染, 排除 NS; (3) QAlb 升高时, 无法判断 CSF 中 IgM 来源。

### 3 讨论

多数患者神经系统被 TP 侵犯时无症状, 无法提示临床医生怀疑 NS 感染, 易错过 NS 早期诊断和治疗时机<sup>[5]</sup>。在梅毒发展到 II、III 期时, TP 数量减少但破坏力增强, 预后变差<sup>[6]</sup>。血脑屏障功能正常时, 血中的 IgM 等大分子蛋白质无法进入 CSF, CSF 中的 IgM 皆由鞘内免疫反应合成, 提示 NS 活动性感染; 而血脑屏障异常时, CSF 中的 IgM 可能来源于血液或鞘内合成, 无法判断是否为 NS 活动性感染。本试验使用 QAlb 来评价血脑屏障功能完整性, 以 15 岁和 40 岁为节点, 不同年龄段 QAlb 参考范围不同, QAlb 也可提示神经系统疾病感染类型, QAlb 轻度升高(QAlb<20×10<sup>-3</sup>) 常见于急、慢性病毒感染, 多发性硬化, NS 等<sup>[7-8]</sup>。

在 NS 的 CSF 检测中, 普遍认为 CSF VDRL 具有较高的特异度, 但其灵敏度较低<sup>[9]</sup>。2010 年美国疾病控制与预防中心(CDC)发布的性病治疗指南认为 CSF VDRL 阳性是实验室确诊 NS 的必要条件<sup>[10]</sup>, 并且只有在确保 CSF 标本无明显的血液污染的前提下, VDRL 阳性才具有临床价值。但 VDRL 的标本检测有效时限短且试剂需要提前配置、试剂盒购买困难等缺点限制了其临床检验的实用性。根据《梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2020 年)》<sup>[3]</sup> NS 疑似病例与确诊标准, NS 确诊需综合临床表现、血清学检查、CSF 蛋白、白细胞以及梅毒抗体检测综合判定。FTA-ABS 操作较复杂, 虽欧蒙公司已有间接免疫荧光法自动化仪器, 但仍需人工读片。FTA-ABS 可分别检测梅毒特异性抗体 IgG 和 IgM, 具有作为 NS CSF 筛查试验的潜质。根据目前的研究, CSF 梅毒血清学试验的灵敏度高, 特异度差, 很难直接作为确诊依据, FTA-ABS 和 VDRL 主要用于阴性排除<sup>[11]</sup>。

本研究对 124 例梅毒患者进行了 CSF VDRL 检查, 确诊 NS 36 例, NS 发生率为 29.0%。但 VDRL 灵敏度低, 存在一定的假阴性率。ECLIA 检测 anti-TP 是目前广泛应用于临床的梅毒初筛指标, 方法简单且大多数医院可进行全自动检测。该方法灵敏度较高, 根据 ROC 曲线分析, 当临界值为 19.1 时 ECLIA 对 NS 检测的诊断效能最佳, AUC 为 0.964(95%CI: 0.914~0.989), 特异度为 94.44%, 灵敏度为 92.05%, 约登指数为 0.864 9。但本研究样本数量不足以证明 19.1 的最佳临界值具有代表性, 后续需扩大研究样本数补充验证 ECLIA 在 CSF 中的最佳 COI 值, 可尝试设置灵敏度更高的发光值为临界值。

FTA-ABS 作为特异度较高的一种权威的 CSF 梅毒特异性抗体检测试验, 与免疫印迹法(WB)相比特异度相近, 但成本更低, 临床应用价值更高<sup>[12]</sup>。本研究中共有 11 例 CSF 标本 IgM 和 IgG 检测均阳性, IgM 阳性检出率明显低于 IgG。经数据分析发现,

FTA-ABS 检测 IgG 可以很好地用于区别 NS 和非 NS,灵敏度和特异度都较高,分别为 97.22% 和 78.41%,可以考虑作为 NS 的筛查指标。FTA-ABS 检测 IgM 的阳性检出率低,灵敏度仅有 30.56%,但特异度高达 98.86%。而 IgG 可以穿过血脑屏障,无法区分 CSF 中 IgG 是否由鞘内合成,可以用抗体特异性指数来反映病原特异性抗体是否为鞘内产生<sup>[13-14]</sup>。

血脑屏障功能正常时,CSF 中的 IgM 只能鞘内合成,理论上 CSF IgM 诊断 NS 较准确。IgM 只在梅毒活动期存在,不能提示既往梅毒感染,所以理论上 CSF IgM 在提示既往感染时存在一定的假阴性率,需要和 IgG 检测联合使用。VDRL 滴度高的标本 IgM 阳性检出率比 VDRL 滴度低的标本更高。

QAlb 正常时,CSF IgM 结果阳性则认为 NS 可能性较高,CSF IgM 结果阴性则认为 NS 可能性较低。QAlb 升高时,血脑屏障功能完整性被破坏,此时若 IgM 检测结果为阳性,无法判断出 CSF 中 IgM 是否由鞘内合成,此时可以参考抗体特异性指数进行诊断。当 QAlb 升高且 CSF IgM 为阴性时,存在两种可能:(1)NS 既往感染患者,血清及 CSF 中不含有或含有少量 IgM;(2)非 NS 既往感染患者,血清梅毒抗体 IgM 水平低或无。

非 NS 组中有 1 名患者 CSF VDRL 检测阴性,但使用 FTA-ABS 检测 CSF IgG 与 IgM 结果皆为弱阳性,ECLIA 检测 anti-TP 结果为阳性,患者 CSF TP-PA 滴度 1:320,CSF TRUST 阴性,查阅患者病历后发现该患者同时伴有 HIV 感染,CSF 中未查见白细胞,且无神经系统受损临床症状,不符合 NS 疑似标准,排除其感染可能,该患者 CSF IgG 升高可能与血清 TP IgG 高滴度有关(血清 TPPA 为 1:10 240),该患者无 CSF 生化结果,不能判断 QAlb 是否升高,CSF 中的 IgM 可能由血清产生。

综上所述,ECLIA 检测 CSF 中 anti-TP 诊断 NS 的灵敏度较高,自动化程度高,操作简单,可以考虑作为初筛试验,但本研究样本通量不大,计算的 COI 值需要更多数据验证,具体的应用效能评价需进一步研究;FTA-ABS 检测 CSF IgG 诊断 NS 的灵敏度和特异度都较好,可以考虑作为阴性排除试验,但成本较高,手工操作繁复。FTA-ABS 检测 CSF IgM 诊断 NS 的灵敏度低,但对 NS 的现症感染具有提示意义,排除血脑屏障损伤后诊断 NS 的结果更可信,但由于试验结果的荧光强度多数较低,人工判读差异较大,

易漏诊。

## 参考文献

- [1] 潘鹏克,蒙仁玖,韦礼华,等.神经梅毒的诊治研究进展[J].中国医学工程,2012,20(5):186-187.
- [2] LIU L L, ZHENGW H, TONG M L, et al. Ischemic stroke as a primary symptom of neurosyphilis among HIV-negative emergency patients[J]. J Neurol Sci, 2012, 317(1/2):35-39.
- [3] 中国疾病预防控制中心性病控制中心,中华医学会皮肤性病学会性病学组,中国医师协会皮肤科医师分会性病亚专业委员会.梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2020年)[J].中华皮肤科杂志,2020,53(3):168-179.
- [4] 李彩霞,田晓燕,吴金锁,等.电化学发光法检测梅毒螺旋体抗体的临床评价[J].中国卫生检验杂志,2017,27(23):3391-3392.
- [5] 卢改会,普雄明.血清 RPR 滴度与神经梅毒相关性分析[J].中国麻风皮肤病杂志,2017,33(10):577-579.
- [6] SINGH A E, ROMANOWSKI B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features[J]. Clin Microbiol Rev, 1999, 12(2):187-209.
- [7] FRIEDRICH F, GEUSAU A, GREISENEGGER S, et al. Manifest psychosis in neurosyphilis[J]. Gen Hosp Psychiatry, 2009, 31(4):379-381.
- [8] 王兰兰.医学检验:项目选择与临床应用路径手册[M].北京:人民卫生出版社,2013.
- [9] 樊尚荣,梁丽芬.2015年美国疾病预防控制中心性传播疾病诊断和治疗指南(续):梅毒的诊断和治疗指南[J].中国全科医学,2015,18(27):3260-3264.
- [10] WORKOWSKI K A, BERMAN S, Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010[J]. MMWR Recomm Rep, 2010, 59(RR-12):1-110.
- [11] 陈勇,段毓姣,杨思园,等.神经梅毒实验室诊断研究进展[J].传染病信息,2016,29(1):60-64.
- [12] 曾霓,陶锐,曹碧兰. FTA-ABS 和 WB 法对疑似梅毒患者血清特异性抗体检测复检结果分析[J].中国皮肤性病杂志,2017,31(4):462-464.
- [13] 孙伟.抗体特异性指数和脑脊液细胞学在部分病毒性脑炎诊断中的应用[D].石家庄:河北医科大学,2008.
- [14] 施辛,杨辰,石怡珍,等.梅毒螺旋体 IgM 抗体对于神经梅毒的诊断意义[J].中国皮肤性病杂志,2002,16(6):21-23.

(收稿日期:2021-01-08 修回日期:2021-03-16)