

• 论 著 •

脑脊液与外周血 T-SPOT. TB 检测在结核性脑膜炎诊断中的临床应用价值

吴长静

(山东省济宁市结核病防治所检验科, 山东济宁 272000)

摘要:目的 探讨脑脊液与外周血结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)在结核性脑膜炎(TBM)诊断中的临床价值。方法 选取 2015 年 9 月至 2016 年 9 月该院收治的 35 例 TBM 患者和 40 例非 TBM 患者分别作为观察组和对照组,采用 T-SPOT. TB 检测脑脊液和外周血单个核细胞中结核分枝杆菌效应 T 细胞。结果 观察组脑脊液、外周血 T-SPOT. TB 检测的阳性率(97.14%、80.00%)明显高于对照组(2.50%、0.00%),差异有统计学意义($P<0.05$);脑脊液 T-SPOT. TB 检测的灵敏度、阴性预测值(97.14%、97.50%)明显高于外周血(80.00%、85.11%),差异有统计学意义($P<0.05$);脑脊液 T-SPOT. TB 检测的特异度、阳性预测值(97.50%、97.14%)和外周血(100.00%、100.00%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 脑脊液和外周血 T-SPOT. TB 检测可对 TBM 提供早期诊断依据,且脑脊液 T-SPOT. TB 检测灵敏性较高,具有重要的临床应用价值。

关键词:结核性脑膜炎; 脑脊液; 结核感染 T 细胞斑点试验; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.22.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)22-3122-03

Clinical application value of CSF and peripheral blood T-SPOT. TB detection in diagnosis of tuberculous meningitis

WU Changjing

(Department of Clinical Laboratory, Jining Municipal Institute of Tuberculosis Control, Jining, Shandong 272000, China)

Abstract: **Objective** To research the clinical value of cerebrospinal fluid and peripheral blood tuberculosis infection T cell spot test(T-SPOT. TB) in the diagnosis of tuberculous meningitis(TBM). **Methods** 35 cases of TBM and 40 cases of non-TB intracranial infection in this hospital from September 2015 to September 2016 were selected as the observation group and control group respectively. T-SPOT. TB was adopted to detect mycobacterium tuberculosis effector T cells in cerebrospinal fluid and detect peripheral blood mononuclear cells. **Results** The T-SPOT. TB detection positive rates of cerebrospinal fluid and peripheral blood in the observation group were 97.14% and 80.00% respectively, which were significantly higher than 2.50% and 0.00% in the control group, the difference was statistically significant($P<0.05$); the sensitivity and negative predictive value in cerebrospinal fluid T-SPOT. TB detection were 97.14% and 97.50%, which were significantly higher than 80.00% and 85.11% in peripheral blood T-SPOT. TB detection, the difference was statistically significant($P<0.05$); the specificity and positive predictive value in the cerebrospinal fluid T-SPOT. TB detection was 97.50% and 97.14% respectively, while which in peripheral blood T-SPOT. TB detection were 100.00% and 100.00% respectively, but the difference between the two groups was not statistically significant($P>0.05$). **Conclusion** The detection of cerebrospinal fluid and peripheral blood T-SPOT. TB detection can provide early diagnostic basis for TBM, moreover cerebrospinal fluid T-SPOT. TB detection has higher sensitivity and possesses an important clinical application value.

Key words: tuberculous meningitis; cerebrospinal fluid; tuberculosis infection T cell spot test; diagnosis

结核性脑膜炎(TBM)是一种由结核分枝杆菌(MTB)感染所致的非化脓性、炎症性疾病^[1],占神经系统结核的 70%。结核性脑膜炎发病缓慢,致残率、病死率较高,早期症状不明显,随着病情的进展表现为低热、盗汗、乏力、运动异常、惊厥和昏迷等,严重时危及患者生命安全。在临床工作中,早期 TBM 症状和脑脊液改变不典型,易与化脓性脑膜炎、病毒性脑膜炎、新型隐球菌性脑膜炎混合,造成误诊和漏诊。因此及时明确诊断和科学治疗对降低 TBM 患者致残率和病死率至关重要。结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)是诊断结核病的新颖技术,通过对外周血和脑脊液单个核细胞进行刺激,使用 γ -干扰素($\text{IFN-}\gamma$)对 T 淋巴细胞应答反应进行检测,判断感染状态,其灵敏性和特异性较高。为观察外周血和脑脊液 T-SPOT. TB 对 TBM 的诊断价值,本研究收集了 35 例 TBM 患

者和 40 例非 TBM 患者资料进行比较分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 9 月至 2016 年 9 月本院收治的 35 例 TBM 患者作为观察组,其中男 18 例,女 17 例,年龄 20~73 岁,平均(41.81 \pm 2.33)岁。入选标准:患者符合结核性脑膜炎诊断标准^[2];表现为不同程度发热、呕吐、头痛,脑膜刺激征阳性,MTB 培养结果为阳性者;脑脊液检查显示淋巴细胞比例增高,MTB 培养为阴性者;经 CT 检查显示脑水肿者;对抗结核药物治疗有效者。排除标准:排除细菌、真菌、病毒、梅毒引起的中枢神经系统感染者;重要脏器功能严重不全者;精神异常者;恶性肿瘤者;临床资料不完善者。同时,选取经组织病理学、影像学技术确诊的 40 例非结核性颅内感染患者作为对照组,其中男 21 例,女 19 例,年龄 19~73 岁,平均(41.78 \pm

2.36)岁,化脓性脑膜炎 22 例,病毒性脑膜炎 18 例。两组年龄和性别资料差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 细胞工作液的制备 (1)采集外周静脉血 4~6 mL,采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)或肝素锂抗凝,加入淋巴细胞分离液,单个核细胞层采用密度梯度离心法收集。外周血标本细胞浓度为 2.5×10^6 /mL 工作液。(2)留取 6 mL 新鲜脑脊液,注入含肝素锂抗凝剂的试管中,在二级生物安全柜中操作,加入等量细胞培养液,混匀离心,留取沉淀物。脑脊液标本采用无血清培养基混悬细胞将细胞密度调整为 0.1×10^6 /mL 的工作液。T-SPOT. TB 试剂盒购自英国 Oxford Immune 公司。

1.2.2 T-SPOT. TB 试验 待测标本启用 2 个检测孔,加入培养滤液蛋白-10(CFP-10)和 MTB 靶向抗原-6(ESAT-6),将植物血凝素加入阳性对照孔中,将不含有抗原的细胞培养加入阴性对照孔中,再加入事先制备的检测细胞工作液 100 μ L,置入二氧化碳的孵箱中,37 $^{\circ}$ C、5%湿度下培养 16~20 h。所有操作必须严格按照试剂盒说明进行,最后统计斑点数,判断结果。

1.3 判定标准 阳性标准:阴性对照斑点 6 个及以上,检测孔斑点数目是阴性对照的 2 倍及以上;或阴性对照斑点不足 5 个,检测孔与阴性对照后斑点数目差在 6 个及以上。阴性标准:阳性对照斑点数目合格,2 个检测孔均未达到阳性标准^[3]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行统计学处理,计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用方差检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组脑脊液 T-SPOT. TB 检测结果 观察组中,34 例确诊为 TBM,阳性检出率为 97.14%;对照组中,仅 1 例诊断为 TBM,阳性检出率为 2.50%。两组脑脊液 T-SPOT. TB 检测结果差异有统计学意义($\chi^2=179.137, P=0.000$),见表 1。

表 1 两组脑脊液 T-SPOT. TB 检测结果比较[n(%)]			
组别	n	阳性	阴性
观察组	35	34(97.14)	1(2.86)
对照组	40	1(2.50)	39(97.50)

2.2 外周血 T-SPOT. TB 检测结果比较 观察组中,28 例确诊为结核性脑膜炎,7 例确诊为非结核性脑膜炎,阳性检出率为 80.00%;对照组均确诊为非结核性脑膜炎,阳性检出率为 100.00%。两组外周血 T-SPOT. TB 检测结果差异有统计学意义($\chi^2=133.333, P=0.000$)。见表 2。

表 2 两组外周血 T-SPOT. TB 检测比较[n(%)]			
组别	n	阳性	阴性
观察组	35	28(80.00)	7(20.00)
对照组	40	0(0.00)	40(100.00)

2.3 脑脊液和外周血 T-SPOT. TB 检测结果比较 脑脊液和外周血 T-SPOT. TB 检测的特异度、阳性预测值差异无统计学意义($P>0.05$);脑脊液 T-SPOT. TB 检测灵敏度、阴性预测值

高于外周血 T-SPOT. TB 检测,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 脑脊液和外周血 T-SPOT. TB 检测结果比较[n(%)]				
检测指标	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
脑脊液	97.14	97.50	97.14	97.50
外周血	80.00	100.00	100.00	85.11
χ^2	14.510	2.532	2.902	9.668
P	0.000	0.112	0.088	0.002

3 讨 论

有研究表明,TBM 发病率占全身结核病的 6.00%,是肺外结核中致残率、病死率最高的疾病之一。由于 TBM 受起病隐匿、表现多样、病程长、诊断过程漫长等因素制约,这样不仅会加重患者经济、心理负担,还可能延误最佳治疗时机。MTB 具有特殊的生物学特性^[4],如抗酸性、多形性、抵抗力强、菌体结构复杂和生长缓慢等,这导致 TBM 早期缺乏特异的临床表现,脑脊液、血液等指标变化不明显,难以与病毒性、化脓性脑膜炎相鉴别。目前临床诊断 TBM 主要依赖于临床症状、CT、磁共振成像、生化和脑脊液常规检查等,确诊依赖于 MTB 的培养、涂片、染色和镜检等,其阳性检出率虽较高,但耗时长且增加了诊断难度。有研究表明,脑脊液涂片镜检阳性率为 10.00%,细菌培养阳性率为 10.00%~30.00%,而且随着病程的延长阳性检出率会升高,但对早期 TBM 的诊断意义不大^[5]。因试剂质量、抗原特异性和操作方法的影响,假阳性率为 2.00%~15.00%,对机体抵抗力较低、使用药物患者,假阴性率为 5.00%~45%^[6]。因此应选择一种高灵敏度、高特异度的检测方法诊断早期 TBM。

机体感染 MTB 后,在巨噬细胞抗原提呈作用下,周围 T 淋巴细胞产生免疫应答反应,释放出大量的淋巴因子,如 IFN- γ 、白细胞介素 2 等,其中 IFN- γ 是抗 MTB 感染的重要免疫细胞因子。陆迪雅等^[7]研究表明动态观察脑脊液 IFN- γ 变化对 TBM 病情监测意义重大。CFP-10 和 ESAT-6 是结核分枝杆菌复合群基因 RD1 区域中结核特异性蛋白抗原,从 MTB 感染患者 T 细胞中诱导出 IFN- γ 释放反应,这也是 T-SPOT. TB 的设计原理。T-SPOT. TB 是目前灵敏度、特异度较高的结核抗原特异性 T 淋巴细胞计数检测方法,在结核感染疾病中广泛应用。陶学芳等^[8]研究表明,T-SPOT. TB 在诊断结核感染方面特异性和灵敏性较高,对肺外结核、菌阴肺结核诊断和鉴别具有重要价值。

本研究结果显示,观察组脑脊液、外周血 T-SPOT. TB 阳性检出率均高于对照组($P<0.05$)。这表明 T-SPOT. TB 检测脑脊液或外周血单个核细胞中结核分枝杆菌效应 T 细胞,可快速准确诊断 TBM。经抗结核药物治疗 1 个月以上后,结核分枝杆菌效应 T 细胞存活期非常短,在病原体消失后即可消失。本研究中,观察组经脑脊液 T-SPOT. TB 检测时发现 1 例非 TBM 患者,这可能是由于患者治疗后体内特异性 T 细胞数目减少,导致 T-SPOT. TB 检查结果为阴性^[9]。另外,对照组经脑脊液 T-SPOT. TB 检测时发现 1 例 TBM 患者,这可能与该患者合并糖尿病、脑梗死等有关,也尚不排除潜在的 MTB 感染。崔中锋等^[10]对 40 例结核性脑膜炎和 66 例非结核性脑膜炎患者进行报道,发现 T-SPOT. TB 检测脑脊液、外周血单个核细胞 MTB 感染的阳性率较高,同时脑脊液 T-SPOT. TB

检测阳性检出率高于外周血。本研究发现脑脊液 T-SPOT. TB 检测灵敏度和阴性预测值均高于外周血 T-SPOT. TB 检测,与张秀英等^[11]研究结果类似。

在应用 T-SPOT. TB 检测时,对脑脊液分离出的单个核细胞需要在 4 h 内完成检测,标本存放时间越长,细胞计数虚假率越高。虽然本研究表明了 T-SPOT. TB 对 TBM 具有较高的灵敏性和特异性,但仍存在一定的局限^[12],如:TBM 的判断主要根据影像学检查、脑脊液特点和对抗结核药物反应性,传统 MTB 培养、脑脊液细胞涂片等多灵敏性较低缺乏微生物证据;其次纳入病例中合并心脑血管疾病、中枢神经系统肿瘤等,患者免疫力低下,对检测结果是否存在影响尚不清楚。综上所述,外周血和脑脊液 T-SPOT. TB 可提高 TBM 的诊断准确性,且脑脊液 T-SPOT. TB 检测灵敏性高于外周血 T-SPOT. TB 检测。

参考文献

[1] 傅钰,王永斌,何军兰,等.联合检测脑脊液中腺苷脱氨酶和结核杆菌 DNA 对结核性脑膜炎的诊断价值[J]. 临床内科杂志,2014,31(9):625-626.

[2] 李毅,于学忠,王仲,等.结核性脑膜炎的早期诊断标准分析[C]. 中华内科杂志,2007,46(3):217-219.

[3] 牟向欣. TB-DNA,分枝杆菌快速培养和 T-SPOT. TB 及联合检测对结核性脑膜炎的诊断价值[J]. 当代医学,2015,21(14):46-47.

[4] Lu D,Chen C,Yu S,et al. Diagnosis of tuberculous meningitis using a combination of peripheral blood T-SPOT. TB and cerebrospinal fluid interferon- γ detection methods

[J]. Lab Med,2016,47(1):6-12.

[5] Rajeev T,Renu G,Smita S. Laboratory diagnosis of tuberculous meningitis—Is there a scope for further improvement? [J]. J Lab Physicians,2010,2(1):21-24.

[6] 王娟娟,马利. 不同检测方法在结核性脑膜炎诊断中的应用价值[J]. 中国医药导报,2017,14(16):119-122.

[7] 陆迪雅,陈澍,高有方,等. 外周血结核感染 T 淋巴细胞斑点试验和脑脊液 γ 干扰素检测诊断结核性脑膜炎的价值[J]. 中华传染病杂志,2014,32(6):338-342.

[8] 陶学芳,王建华,李永兴,等. 结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验在肺结核及肺外结核诊断中的价值[J]. 浙江预防医学,2012,24(11):4-7.

[9] 陆建红,吴奕征,杨勇,等. 结核 T 细胞酶联免疫斑点试验诊断结核性脑膜炎的应用价值[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(6):816-818.

[10] 崔中锋,刘春礼,李格,等. T-SPOT. TB 在结核性脑膜炎早期诊断中的价值[J]. 中国实用神经疾病杂志,2016,19(16):97-98.

[11] 张秀英,吴若芬,范学文. T-SPOT. TB 法检测脑脊液单个核细胞对结核性脑膜炎早期诊断价值的研究[J]. 中国现代神经疾病杂志,2013,13(2):110-115.

[12] Park KH,Lee MS,Lee SO,et al. Kinetics of T-cell-based assays on cerebrospinal fluid and peripheral blood mononuclear cells in patients with tuberculous meningitis[J]. Korean J Intern Med,2014,29(6):793-799.

(收稿日期:2017-04-02 修回日期:2017-07-16)

(上接第 3121 页)

临床疗效,对全面了解患者的免疫状态有重要的诊疗价值。

参考文献

[1] 李炎梅,谭毅. 抗核抗体的研究进展[J]. 中国临床新医学,2013(8):814-817.

[2] 胡宗海,吴丽娟,谢静等. 淋巴细胞亚群在系统性红斑狼疮患者治疗中的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(20):2304-2305.

[3] 薛云红,侯瑞生,周言等. HIV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群数量及功能与疾病进展的关系[J]. 当代医学,2013,19(29):51-52.

[4] 王兰兰,许化溪. 临床免疫学检验[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2012:274.

[5] 辛苗苗,王吉波. T 淋巴细胞发育分化与自身免疫性疾病[J]. 医学综述,2010,16(21):3243-3246.

[6] 王云萍,董佳莉. 类风湿关节炎患者淋巴细胞亚群分析[J]. 临床医药实践,2016,25(12):911-913.

[7] 任娜,赵威,邱广斌,等. 系统性红斑狼疮患者的外周血淋巴细胞亚群结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(20):2449-2451.

[8] 张玉玲,朱芸,李明. 系统性红斑狼疮患者 T 淋巴细胞亚群及 Th1、Th2 类细胞因子变化的临床意义[J]. 山东医药,2011,51(49):75-76.

[9] 李志,杨婷婷,徐维家. CD4⁺ T 淋巴细胞与自身免疫性疾病的关系研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(23):2891-2894.

[10] 张玉高,石桂秀. T 淋巴细胞稳态增殖与自身免疫[J]. 实用医院临床杂志,2011,8(2):57-60.

[11] 唐雪梅. B 淋巴细胞的分化发育与自身免疫性疾病[J]. 中华实用儿科临床杂志,2014,29(21):1611-1613.

[12] 王茜,刘翠娥,焦艳梅,等. B 细胞的自身免疫与免疫调节[J]. 北京医学,2013,35(3):210-212.

[13] 李小燕,李旭. 调节性 B 淋巴细胞在自身免疫性疾病中的研究进展[J]. 国际免疫学杂志,2014,37(4):294-298.

[14] Spada R,Rojas JM,Barber DF. Recent findings on the role of natural killer cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. J Leukoc Biol,2015,98(4):479-487.

[15] 常炳庆,邹煦,韩玉霞,等. 自身免疫相关疾病患者外周血淋巴细胞亚群检测及其意义[J]. 中国现代医药杂志,2011,13(8):30-32.

[16] 陈遑琼,赵迪,邓晓刚,等. 抗核抗体核型与抗核抗体谱检测结果对比分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(14):1859-1863.

(收稿日期:2017-03-23 修回日期:2017-07-12)