

论著 • 临床研究

# 多指标联合检测在诊断结核性脑膜炎中的临床价值

许 茜,董 轲,李 鸾,姜南艳,张惠中<sup>△</sup>

(空军军医大学第二附属医院/唐都医院检验科,陕西西安 710038)

**摘 要:****目的** 观察脑脊液结核杆菌 DNA(TB-DNA)、脑脊液腺苷脱氨酶(ADA)和结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)联合检测在结核性脑膜炎(TBM)诊断中的价值。**方法** 选取该院神经内科收治的 84 例 TBM 患者纳入试验组,86 例非 TBM 患者作为对照组,对 2 组进行脑脊液 TB-DNA、脑脊液 ADA 和 T-SPOT. TB 检测,比较三项单独与联合检测的临床诊断价值。**结果** 84 例 TBM 患者,TB-DNA、ADA 和 T-SPOT. TB 阳性率分别为 33.33%(28/84)、65.48%(55/84)和 75.00%(63/84),三项联合检测阳性率为 95.24%(80/84)。**结论** 三联检测对 TBM 的诊断有较高的敏感性,对临床诊治具有重要意义。

**关键词:**脑脊液; 腺苷脱氨酶; 结核感染 T 细胞斑点试验; 结核性脑膜炎

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.21.019

**中图法分类号:**R529.3

**文章编号:**1673-4130(2019)21-2637-04

**文献标识码:**A

## Clinical value of multi-index combined detection in diagnosis of tuberculous meningitis

XU Qian, DONG Ke, LI Luan, JIANG Nianyan, ZHANG Huizhong<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University/Tangdu Hospital, Xi'an, Shaanxi 710038, China)

**Abstract:****Objective** To observe the value of combined detection of tuberculosis bacillus DNA(TB-DNA), adenosine deaminase(ADA)in cerebrospinal fluid and T-cell dot test (T-SPOT. TB) in the diagnosis of tuberculous meningitis (TBM). **Methods** A total of 84 patients with TBM admitted to the department of neurology of the hospital were enrolled in the experimental group, and 86 patients with non-TBM were included in the control group. Cerebrospinal fluid TB-DNA, cerebrospinal fluid ADA and T-SPOT. TB were detected in the two groups, and the clinical diagnostic value of three tests were compared. **Results** The positive rates of TB-DNA, ADA and T-SPOT. TB in 84 patients with TBM were 33.33%(28/84), 65.48%(55/84) and 75.00%(63/84), respectively. The positive rates of three combined tests were 95.24%(80/84). **Conclusion** Triple detection has high sensitivity in the diagnosis of TBM and is of great significance in clinical diagnosis and treatment.

**Key words:**cerebrospinal fluid; adenosine deaminase; tuberculosis infection T cell spot test; tuberculous meningitis

结核性脑膜炎(TBM)是一种严重的肺外结核症,致残率及致死率较高,目前早期检测手段有限,易误诊、误治导致病情加重<sup>[1]</sup>。脑脊液结核杆菌 DNA(TB-DNA)和脑脊液腺苷脱氨酶(ADA)检测是临床用于诊断 TBM 的常用实验室检查方法,而结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)是近几年兴起的一种将免疫学和细菌学方法相结合的检测技术,越来越广泛地应用于临床。但有关于此三项检测指标联合检测的报道较少,本研究选取 84 例 TBM 患者多项实验

室检查指标进行回顾性分析,以比较单项检测与联合检测的异同,进一步探讨其应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择空军军医大学第二附属医院神经内科收治的 170 例临床资料比较完备的脑膜炎患者临床资料,收集入院时三项检测指标的结果,对其进行回顾性分析。其中,84 例 TBM 患者作为试验组,男 52 例,女 32 例,年龄 14~76 岁,平均(36.8±15.9)岁;86 例非 TBM 患者(58 例病毒性脑膜炎、22

**作者简介:**许茜,女,技师,主要从事临床医学检验方面的研究。<sup>△</sup> **通信作者,**E-mail:zhanghuizhong328@163.com。

**本文引用格式:**许茜,董轲,李鸾,等.多指标联合检测在诊断结核性脑膜炎中的临床价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(21):2637-2640.

例化脓性脑膜炎、6 例隐球菌脑膜炎)作为对照组,男 56 例,女 30 例,年龄 12~79 岁,平均(40.1±16.4)岁,性别和年龄差异无统计学意义( $P>0.05$ )。纳入标准<sup>[2]</sup>:(1)脑脊液培养或抗酸杆菌涂片查见结核杆菌或皮肤结核菌素试验阳性;(2)有结核病史或脑外活动性结核病灶;(3)有脑膜炎临床表现,细菌和真菌培养无阳性结果,墨汁染色和革兰染色阴性;(4)颅脑影像学符合结核性脑膜炎特征;(5)抗结核治疗有效;(6)脑脊液糖和氯化物降低和蛋白定量升高。以上标准需全部满足。

1.2 主要方法

1.2.1 脑脊液 ADA 检测 标本以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,取上清液采用速率法进行 ADA 检测,试剂购自中国科华生物科技股份有限公司;仪器采用全自动生化分析仪,购自美国贝克曼库尔特公司,型号 AU5800。ADA 大于 7.5 U/L 为诊断 TBM 的标准。

1.2.2 脑脊液 TB-DNA 检测 TB-DNA 检测采用实时荧光定量 PCR 方法,试剂购自中国湖南圣湘生物科技股份有限公司;仪器采用实时荧光定量 PCR 扩增仪,购自美国 ABI 公司,型号 7500。

1.2.3 血浆 T-SPOT. TB 检测 采用微生物学和免疫学相结合的方法严格按照标准程序进行。(1)从肝素抗凝的外周血分离出单个核细胞并进行洗涤和计

数制成标准悬液,将细胞悬液和抗原在适宜条件下培养过夜后洗涤加入酶标和底物反应液,最后斑点计数。(2)结果判读:严格按照试剂说明书进行结果分析。T-SPOT. TB 诊断试剂盒购自英国 Oxford Immunotec 公司。

1.2.4 脑脊液抗酸染色 严格按照《结核病细菌学检验规程》进行,取 3~5 mL 脑脊液离心留沉渣进行涂片、固定、染色,镜下查找结核杆菌并计数。试剂购自中国珠海贝索生物技术有限公司,仪器采用 Olympus CX21 光学显微镜。

1.3 统计学处理 用 SPSS18.0 软件,计数资料的比较采用  $\chi^2$  检验,计量资料的比较采用独立样本  $t$  检验,以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TB-DNA、ADA、T-SPOT. TB 和抗酸染色在 2 组中的结果比较 在各检测方法 TB-DNA、ADA、T-SPOT. TB 和抗酸染色对诊断 TBM 的单项检测的阳性率中,试验组均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。TB-DNA、ADA、T-SPOT. TB 和抗酸染色阳性率分别为 33.3%(28/84)、65.5%(55/84)、75.0%(63/84)、10.7%(9/84),阳性率以 T-SPOT. TB 方法最高,抗酸染色最低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 2 组患者四种检测方法阳性率比较

| 检查项目       | 试验组 |           |        | 对照组 |           |        | $\chi^2$ | $P$   |
|------------|-----|-----------|--------|-----|-----------|--------|----------|-------|
|            | $n$ | 阳性( $n$ ) | 阳性率(%) | $n$ | 阳性( $n$ ) | 阳性率(%) |          |       |
| TB-DNA     | 84  | 28        | 33.3   | 86  | 0         | 0.0    | 85.497   | 0.000 |
| ADA        | 84  | 55        | 65.5   | 86  | 22        | 25.6   | 27.295   | 0.000 |
| T-SPOT. TB | 84  | 63        | 75.0   | 86  | 35        | 40.7   | 20.479   | 0.000 |
| 抗酸染色       | 84  | 9         | 10.7   | 86  | 0         | 0.0    | 9.729    | 0.002 |

2.2 抗酸染色、ADA、TB-DNA 和 T-SPOT. TB 在两组中的诊断性能 以临床最终诊断确定为金标准,分别计算抗酸染色、ADA、TB-DNA 和 T-SPOT. TB 的灵敏度、特异度、阳性及阴性预测值、正确率和约登指数。四种方法中,灵敏度和阴性预测值依次升高,以 T-SPOT. TB 最高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );特异度和阳性预测值依次递减,以 TB-DNA 和抗酸染色最高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );正确率和约登指数以 ADA 最高;抗酸染色和 TB-DNA 两种方法比较,特异度和阳性预测值相同,而灵敏度、阴性预测值、正确率和约登指数后者均高于前者,并且 9 例抗酸染色阳性者均被 TB-DNA 阳性者所包含,显示出

抗酸染色诊断性能不如 TB-DNA。见表 2。

表 2 抗酸染色、TB-DNA、ADA 和 T-SPOT. TB 对诊断 TBM 的诊断效果(%)

| 检测方法       | 灵敏度  | 特异度   | 阳性预测值 | 阴性预测值 | 正确率  | 约登指数 |
|------------|------|-------|-------|-------|------|------|
| 抗酸染色       | 10.7 | 100.0 | 100.0 | 53.4  | 55.9 | 11.0 |
| TB-DNA     | 33.3 | 100.0 | 100.0 | 60.6  | 67.1 | 33.0 |
| ADA        | 65.5 | 74.4  | 71.4  | 68.8  | 70.0 | 40.0 |
| T-SPOT. TB | 75.0 | 59.3  | 64.3  | 70.8  | 67.1 | 34.0 |

2.3 TB-DNA、ADA 和 T-SPOT. TB 单项和联合检测对诊断 TBM 的价值 把 TB-DNA(a)、ADA(b)和

T-SPOT、TB(c) 三种检测方法分别进行两两组合或三者联合计算出诊断效能。结果显示：(1)在灵敏度方面,a+b+c 联合模式相比较 a+b 和 a+c 联合模式大大提高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但相比较 b+c 联合模式差异无统计学意义( $P>0.05$ );(2)在特异度方面,a+b+c 联合模式相比较 a+c 和 b+c

联合模式差异无统计学意义( $P>0.05$ ),说明特异度降低不明显;(3)在阳性预测值和正确率方面,a+b+c 联合模式相比较三种两两组合差异无统计学意义( $P>0.05$ );(4)a+b+c 联合模式相比较 b+c 联合模式,在诊断效能方面虽有所提高,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 3。

| 表 3 ADA、TB-DNA 和 T-SPOT、TB 三项指标在诊断 TBM 的联合分析(%) |      |       |      |      |       |       |       |      |       |       |
|-------------------------------------------------|------|-------|------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 组合                                              | 灵敏度  | 特异度   | 误诊率  | 漏诊率  | 阳性预测值 | 阴性预测值 | 正确率   | 约登指数 | 阳性似然比 | 阴性似然比 |
| 单项试验                                            |      |       |      |      |       |       |       |      |       |       |
| a                                               | 33.3 | 100.0 | 0.0  | 66.7 | 100.0 | 60.6  | 67.1  | 33.0 | —     | 0.7   |
| b                                               | 65.5 | 74.4  | 25.6 | 34.5 | 71.4  | 68.8  | 70.0  | 40.0 | 2.6   | 0.5   |
| c                                               | 75.0 | 59.3  | 40.7 | 25.0 | 64.3  | 70.8  | 67.1  | 34.0 | 1.8   | 0.4   |
| 联合检测                                            |      |       |      |      |       |       |       |      |       |       |
| a+b                                             | 73.8 | 75.5  | 24.4 | 26.2 | 74.7  | 74.7  | 74.7  | 49.0 | 3.0   | 0.4   |
| a+c                                             | 82.1 | 58.1  | 41.9 | 17.9 | 65.7  | 76.9  | 70.0  | 40.0 | 2.0   | 0.3   |
| b+c                                             | 90.5 | 54.6  | 45.4 | 9.5  | 66.1  | 85.5  | 72.4  | 45.0 | 2.0   | 0.2   |
| a+b+c                                           | 95.2 | 54.6  | 45.4 | 4.8  | 67.2* | 92.2  | 74.7* | 50.0 | 2.1   | 0.1   |

注:a、b、c 分别代表 TB-DNA、ADA 和 T-SPOT、TB 检测;分别与 a+b、a+c、b+c 3 种联合模式比较,\*  $P>0.05$ ;—表示此项无数据

3 讨 论

TBM 有“三个最”:是最常见的肺外结核病;是最常见的神经系统结核病;是结核病中最严重的病型<sup>[3]</sup>。激素和抗菌药物的不规范使用使得 TBM 的症状、体征及多项检查结果表现不典型<sup>[4]</sup>,加上病原学诊断的相对滞后和低检出率,造成误诊率、病残率和病死率较高<sup>[5-6]</sup>。因此早期诊断为 TBM 的重中之重。

ADA 作为嘌呤核苷酸代谢的一种关键酶,与 T 淋巴细胞的活化密切相关。它参与了结核性脑膜炎的病理生理过程,导致在脑脊液中的活性增高<sup>[7]</sup>。本次研究中,ADA 的阳性率为 64.9%,特异度为 75.0%,显著高于对照组,符合国外学者 CHO 等<sup>[8]</sup>观点。有报道显示,脑脊液 ADA 检测不仅可用于 TBM 的早期诊断,还可用于病情和疗效观察<sup>[9]</sup>。但也有报道指出,ADA 作为 T 淋巴细胞的活化的一种标志物,其升高亦可见于其他神经系统疾病,如脑膜淋巴瘤、结节病,蛛网膜下腔出血等,另外一些患者由于其免疫力较弱(如白血病、AIDS 等),即使患有 TBM,ADA 浓度和阳性率也比较低<sup>[10]</sup>。因此 ADA 对诊断 TBM 虽有相对较高的灵敏度和特异度,但其活性高低直接与机体免疫情况有关,只能间接反映结核感染。

TB-DNA 检测具有取材多样、用量少、用时短、费用低的特点,还能大大提高 L 型结核菌的检出率<sup>[11]</sup>。和涂片法比较,二者均具有高特异性,而阳性率分别为 33.3%(28/84)和 10.7%(9/84),TB-DNA 检测是涂片法的 3.1 倍,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。分

析原因为:(1)涂片法无法检出 L 型结核菌,这也说明 TB-DNA 提高的阳性率其中大部分为 L 型结核菌;(2)标本中因含菌量太少,传统方法无法检出;(3)抗酸染色过程中,脑脊液沉渣膜不易固定,冲洗时较易出现部分剥脱的现象。虽然 TB-DNA 有较高的特异度,但其灵敏度相比较 ADA 和 T-SPOT、TB 仍然较低。分析原因为:(1)抗结核治疗使脑脊液中 TB-DNA 降到最低检出限以下;(2)血脑屏障的保护作用使得结核杆菌释放到脑脊液中的菌量较少<sup>[12]</sup>。并且从表 3 中可以看出 a+b+c 模式相比较 a+c 模式,在各项诊断效能方面虽均无统计学意义( $P>0.05$ ),但因其高特异性(100.0%),大大减少了误诊率(0.0%),相比较 ADA 和 T-SPOT、TB,TB-DNA 对确诊 TBM 仍然具有不可替代的作用。

T-SPOT、TB 检测是最近几年兴起的一种微生物学和免疫学相结合的方法,具有标本易取、高阳性率、耗时短的特点。此外,可检测的标本类型多种多样,静脉血、脑脊液、心包液、胸腹水等均获适用,操作简便<sup>[13]</sup>。另外,该方法所用到的两种刺激性抗原(ES-AT-6 和 CFP-10)均具结核杆菌特异性,不存在于绝大部分非结核杆菌和所有卡介苗中,因此 T-SPOT、TB 检测可以很好地鉴别诊断绝大部分非结核杆菌感染者和接种卡介苗者<sup>[14]</sup>。在本次研究中,T-SPOT、TB 检测在诊断效能方面灵敏度最高(75.0%),漏诊率最低(25.0%),差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但特异度和阳性预测值最低,与张秀英等<sup>[15]</sup>的报道相符,

相比较陆建红等<sup>[16]</sup>报道偏低。因此,笔者认为,T-SPOT. TB 检测对于 TBM 的初筛具有较好的临床价值,一旦阳性能够提示临床医生 TBM 的可能,进而进行针对性的检查,减少漏诊。但 T-SPOT. TB 检测收费较高且不能对结核感染的陈旧期、潜伏期和活动期进行有效区分,对于结核发病率高且贫困的地区,限制了该检测的优势。尽管如此,当临床特征和其他实验室指标低于预先设定的诊断标准时,T-SPOT. TB 还是展现了较好的应用价值<sup>[17-18]</sup>。

在联合检测中,三者联合相比较两两组合和单独检测,能将 TBM 的灵敏度和阴性预测值分别提高至 95.2%和 92.2%,漏诊率和阴性似然比分别降至 4.8%和 0.1%,在强调 TBM 的早诊早治方面,不失为一种良好的组合模式。TBM 作为一种肺外结核的重症神经系统感染性疾病,由于早期临床表现不典型,病原学检出率低,影像学检查不特异。因此,在其诊断过程中,要在临床表现、影像学检查及是否合并颅外结核的基础上,结合 ADA、TB-DNA 和 T-SPOT. TB 检测,必要时应将三者联合检测以提高结核性脑膜炎的检出率。

4 结 论

在 TBM 的鉴别诊断中,任一单项指标的诊断效能均低于三者,单纯通过一项指标进行诊断均显不妥,ADA、TB-DNA 和 T-SPOT. TB 联合检测大大提高了灵敏度,减少了漏诊率,且创伤小、简便易行,尤其在一些经济欠发达和结核高负担的地区,能较大程度地减少误诊误治,利于结核疫情控制。

参考文献

[1] THWAITES G E, VAN T R, SCHOEMAN J. Tuberculous meningitis; more questions, still too few answers[J]. *Lancet Neurol*, 2013, 12(10): 999-1010.

[2] 陈晨, 于春江, 戚晓昆. 神经系统少见病诊断与治疗[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010.

[3] LOOTS D T. TB or not TB improving the understanding and diagnosis of tuberculosis through metabolomics[J]. *Biomark Med*, 2016, 10(10): 1025-1028.

[4] 罗振华, 胡方芳, 李伟, 等. T-SPOT. TB 技术对疑似结核患者的诊断价值[J]. *贵州医科大学学报*, 2017(8): 924-927.

[5] BRANCUSI F, FARRAR J, HEEMSKERK D. Tuberculous meningitis in adults; a review of a decade of developments focusing on prognostic factors for outcome[J]. *Future Microbiol*, 2012, 7(9): 1101-1116.

[6] ZUMLA A, GEORGE A, SHARMA V, et al. The WHO 2014 global tuberculosis report—further to go[J]. *Lancet*

*Glob Health*, 2015, 3(1): 10-12.

[7] RAVIRAJ, HENRY R A, RAO G G. Determination and validation of a lower cut off value of cerebrospinal fluid adenosine deaminase (CSF-ADA) activity in diagnosis of tuberculous meningitis[J]. *J Clin Diagn Res*, 2017, 11(4): 22-24.

[8] CHO B H, KIM B C, YOON G J, et al. Adenosine deaminase activity in cerebrospinal fluid and serum for the diagnosis of tuberculous meningitis[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2013, 115(9): 1831-1836.

[9] TANG Y, HUA S C, QIN G X, et al. Different subsets of macrophages in patients with new onset tuberculous pleural effusion[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88343.

[10] KHAN F Y, HAMZA M, OMRAN A H, et al. Diagnostic value of pleural fluid interferon-gamma and adenosine deaminase in patients with pleural tuberculosis in Qatar[J]. *Int J Gen Med*, 2013, 6: 13-18.

[11] 陈颖婷, 刘芳, 王琼, 等. 实时荧光定量 PCR 检测胃黏膜及粪便中的幽门螺杆菌核酸[J]. *贵州医科大学学报*, 2016(10): 1133-1136.

[12] 杨柳, 苏明权, 马越云, 等. 实时荧光定量聚合酶链反应技术对结核性脑膜炎的诊断价值[J]. *中国实验诊断学*, 2015(1): 35-38.

[13] PARK K H, LEE M S, LEE S O, 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.

[14] 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-gamma detection methods[J]. *Lab Med*, 2016, 47(1): 6-12.

[15] 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(2): 110-115.

[16] 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(6): 816-818.

[17] MANDALAKAS A M, HIGHSMITH H Y, HARRIS N M, et al. T-SPOT. TB performance in routine pediatric practice in a low tb burden setting[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2018, 37(4): 292-297.

[18] TAKASAKI J, MANABE T, MORINO E, et al. Sensitivity and specificity of QuantiFERON-TB gold plus compared with QuantiFERON-TB gold in-tube and T-SPOT. TB on active tuberculosis in Japan[J]. *J Infect Chemother*, 2018, 24(3): 188-192.