

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.09.011

· 论 著 ·

## 全血 $\gamma$ -干扰素释放试验对结核性脑膜炎的早期辅助诊断价值探讨

邓雯秋<sup>1,2</sup>, 赵贺红<sup>1</sup>, 钟册俊<sup>1</sup>, 吕晓菊<sup>1</sup>

(1 四川大学华西医院, 四川 成都 610041; 2 绵竹市人民医院, 四川 绵竹 618200)

**[摘要]** **目的** 评价外周血结核分枝杆菌  $\gamma$ -干扰素体外释放试验(TB-IGRA)对结核性脑膜炎早期辅助诊断的价值。**方法** 收集2015年1—12月四川大学华西医院住院治疗的56例结核性脑膜炎患者(实验组)及56例非结核性脑膜炎患者(对照组)的TB-IGRA、脑脊液结核分枝杆菌培养、脑脊液TB-DNA的检查结果,计算各诊断方法的灵敏度和特异度。**结果** TB-IGRA、脑脊液培养、脑脊液TB-DNA诊断结核性脑膜炎的灵敏度分别为87.5%(49/56)、19.6%(11/56)、60.7%(34/56),特异度分别为89.3%(50/56)、100.0%(56/56)、76.8%(43/56)。TB-IGRA诊断结核性脑膜炎的灵敏度高于脑脊液TB-DNA检查和脑脊液结核分枝杆菌培养,且TB-IGRA特异度高于脑脊液TB-DNA(89.3% > 76.8%),三者两两相比,差异均具有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。其中脑脊液培养确诊的11例病例中,有10例TB-IGRA阳性,阳性率为90.9%(10/11);45例临床诊断+抗结核治疗有效的病例中,TB-IGRA阳性39例,阳性率为86.7%(39/45)。**结论** TB-IGRA协助结核性脑膜炎患者的早期诊断具有高灵敏度和特异度,其检查方便、快速、有效,值得临床推广。

**[关键词]** 结核分枝杆菌  $\gamma$ -干扰素释放试验; 结核性脑膜炎; 诊断; 鉴别诊断

**[中图分类号]** R529.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)09-0837-04

## Value of blood interferon- $\gamma$ release assay in early adjuvant diagnosis of tuberculous meningitis

DENG Wen-qiu<sup>1,2</sup>, ZHAO He-hong<sup>1</sup>, ZHONG Ce-jun<sup>1</sup>, LV Xiao-ju<sup>1</sup> (1 West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2 People's Hospital of Mianzhu City, Mianzhu 618200, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the value of peripheral blood *Mycobacterium tuberculosis* interferon- $\gamma$  release assay (TB-IGRA) in early adjuvant diagnosis of tuberculous meningitis (TBM). **Methods** 56 patients with TBM (trial group) and 56 patients with non-TB meningitis (control group) admitted to West China Hospital of Sichuan University in January-December 2015 were analyzed, results of TB-IGRA, cerebrospinal fluid (CSF) *Mycobacterium tuberculosis* (MT) culture, and CSF TB-DNA testing of two groups of patients were analyzed, the sensitivity and specificity of each diagnostic method were calculated. **Results** The sensitivity of TB-IGRA, CSF MT culture, and CSF TB-DNA for diagnosis of TBM were 87.5% (49/56), 19.6% (11/56), and 60.7% (34/56) respectively, specificity were 89.3% (50/56), 100.0% (56/56), and 76.8% (43/56) respectively. The sensitivity of TB-IGRA for diagnosing TBM was higher than that of CSF TB-DNA and CSF MT culture, specificity of TB-IGRA was higher than that of CSF TB-DNA (89.3% > 76.8%), pairwise comparison showed a significant difference (all  $P < 0.01$ ). Among 11 cases confirmed by CSF culture, 10 (90.9% [10/11]) were positive for TB-IGRA; among 45 cases with clinical diagnosis and effective anti-tuberculosis treatment, 39 (86.7% [39/45]) were positive for TB-IGRA. **Conclusion** TB-IGRA is highly sensitive and specific in the early adjuvant diagnosis of TBM, it is convenient, rapid, effective, and worthy to be popularized in clinical practice.

[收稿日期] 2016-08-03

[作者简介] 邓雯秋(1982-),女(汉族),四川省绵竹市人,主治医师,主要从事感染性疾病研究。

[通信作者] 吕晓菊 E-mail:lvxj3369@163.com

[Key words] *Mycobacterium tuberculosis*; interferon- $\gamma$  release assay; tuberculous meningitis; diagnosis; differential diagnosis

[Chin J Infect Control, 2017, 16(9): 837-840]

近年来,结核病的发病呈上升趋势,尤其是长期使用免疫抑制剂及艾滋病、糖尿病等患者其发病率逐年升高<sup>[1]</sup>。最新数据<sup>[2]</sup>表明,我国每年新增结核分枝杆菌感染者达 130 万人(其中肺外结核患者约占 10%),疫情严重。结核性脑膜炎是肺外结核病中最严重的类型,是由结核分枝杆菌侵入蛛网膜下腔后引起软脑膜、蛛网膜,进而累及脑实质及脑血管的病变,是非化脓性炎症性疾病。脑脊液中发现结核分枝杆菌生长是诊断结核性脑膜炎的“金标准”<sup>[3]</sup>,但培养阳性率极低,有研究提示抗酸染色阳性率仅 3.50%,结核分枝杆菌培养阳性率约 32%<sup>[4]</sup>。因结核性脑膜炎临床症状不典型,结核感染的常规检测方法对肺外结核的检出有限,临床极易误诊、漏诊,加上结核性脑膜炎进展快,病死率及致残率高,如何早期诊断及治疗仍是困扰临床医生的一大难题。结核分枝杆菌  $\gamma$ -干扰素体外释放试验(tuberculosis interferon- $\gamma$  release assay, TB-IGRA)是近年来开展的一项新型结核病免疫学诊断方法,因其操作简单、易行,越来越多地应用于临床。目前,我国相关文献偏少,本文分析 TB-IGRA 在成人结核性脑膜炎中的检出情况,探讨其对结核性脑膜炎早期辅助诊断的价值。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1—12 月四川大学华西医院临床诊断结核性脑膜炎并进行诊断性抗结核治疗有效的患者为实验组,共 56 例,其中男性 34 例,女性 22 例;年龄 14~79 岁,平均(36.15±17.67)岁。实验组诊断标准:(1)实验室确诊:脑脊液结核分枝杆菌培养阳性;(2)临床诊断:脑脊液结核分枝杆菌培养阴性,但临床表现、脑脊液常规、生化、头部影像学检查支持结核性脑膜炎,且抗结核药物治疗有效。同时选择同期住院的非结核性脑膜炎患者 56 例作为对照组,其中男性 36 例,女性 20 例;年龄 15~77 岁,平均(37.13±16.09)岁。化脓性脑膜炎 13 例,均经抗菌药物治疗痊愈出院;病毒性脑膜炎 23 例,均经抗病毒治疗痊愈出院;隐球菌脑膜炎 20 例,经抗真菌治疗好转出院。对照组诊断标

准:均否认结核病史,并经结核菌素试验、结核分枝杆菌培养或结核分枝杆菌 DNA(TB-DNA)检测及影像学检查等排除活动性结核病。对照组通过临床表现及辅助检查后均明确系其他感染性疾病。两组患者在年龄、性别上差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

1.2 方法 采集入组患者的临床资料并进行回顾性分析,比较两组患者外周血 TB-IGRA、脑脊液结核分枝杆菌培养、脑脊液 TB-DNA 等检查的灵敏度及特异性。TB-IGRA 按照 QuantiFERON-TB Gold in tube(QFT-GIT)试剂盒(澳大利亚 Cellestis 公司)说明书进行操作。结核分枝杆菌培养采用 BACTECMGIT 960 进行, TB-DNA 采用 qPCR 扩增检测。

1.3 统计分析 应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,计数资料采用  $\chi^2$  检验,以  $P\leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

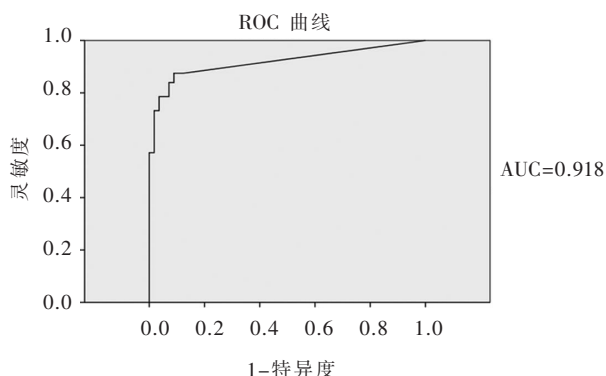
2.1 TB-IGRA 与常规检查结果比较 实验组 56 例结核性脑膜炎患者中, TB-IGRA 阳性 49 例,脑脊液培养阳性者 11 例,脑脊液 TB-DNA 阳性者 34 例,灵敏度分别为 87.5%(49/56)、19.6%(11/56)、60.7%(34/56)。其中脑脊液培养确诊的 11 例病例中,有 10 例 TB-IGRA 阳性,阳性率为 90.9%(10/11);45 例临床诊断+抗结核治疗有效的病例中, TB-IGRA 阳性 39 例,阳性率为 86.7%(39/45)。实验组 56 例患者均经抗结核治疗好转出院,随访 6 个月,患者均无因同种病再入院,病情好转。对照组 56 例非结核性脑膜炎中, TB-IGRA 阳性者 6 例,特异度为 89.3%(50/56),脑脊液 TB-DNA 阳性者 13 例,特异度为 76.8%(43/56),脑脊液结核培养阳性者为 0,特异度为 100%。TB-IGRA 诊断结核性脑膜炎的灵敏度高于脑脊液 TB-DNA 检查和脑脊液结核分枝杆菌培养(87.5% > 60.7% > 19.6%),且 TB-IGRA 特异度高于脑脊液 TB-DNA(89.3% > 76.8%),三者两两相比,差异具有统计学意义(均  $P<0.01$ )。见表 1。

**表 1** 实验组和对照组患者脑脊液 TB-IGRA 与常规检测方法阳性情况

**Table 1** Positive results of CSF TB-IGRA and routine detection methods in the trial group and control group

组别	例数	TB-IGRA		脑脊液 TB-DNA		脑脊液结核培养	
		阳性例数	阳性率 (%)	阳性例数	阳性率 (%)	阳性例数	阳性率 (%)
实验组	56	49	87.5	34	60.7	11	19.6
对照组	56	6	10.7	13	23.2	0	0.0

2.2 TB-IGRA 诊断结核性脑膜炎患者的 ROC 曲线图 根据 TB-IGRA 在实验组和对照组的結果, 绘制 ROC 曲线, 见图 1。曲线下面积 (AUC) 为 0.918, 说明 TB-IGRA 在结核性脑膜炎辅助诊断中的阳性率高, 假阳性率低, 灵敏度、特异性均高。



**图 1** TB-IGRA 诊断结核性脑膜炎的 ROC 曲线图

**Figure 1** ROC curve of TB-IGRA for diagnosis of TMB

### 3 讨论

结核性脑膜炎和非结核性脑膜炎常见于青壮年, 临床表现为急性或亚急性起病的中枢神经系统感染, 临床表现无特异性, 且脑脊液中病原菌检出率低。如何早期诊断及治疗结核性脑膜炎, 减少误诊率仍是困扰临床医生的一大难题。

人体感染结核分枝杆菌后, 会产生特异性的 T 淋巴细胞并储存在外周血中, 当再次受到结核菌特异性抗原刺激后, 已被致敏的 T 淋巴细胞就会被激活, 增殖分化并产生细胞因子  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ )<sup>[5]</sup>, 据此可将这些特异性的 T 淋巴细胞产生的  $\gamma$ -干扰素作为结核分枝杆菌感染的检测指标。TB-IGRA 正是利用这一原理, 采用酶联免疫吸附/酶联免疫斑

点方法, 定量检测全血/外周血单个核细胞 (PB-MCs) 在结核分枝杆菌特异性抗原刺激下释放  $\gamma$ -干扰素的水平, 用于诊断潜伏性结核分枝杆菌感染及结核病。

TB-IGRA 试剂盒采用结核分枝杆菌特异性抗原 (卡介苗和大多数非结核分枝杆菌中普遍缺失的 RD1 区码的 ESAT-6 和 CFP-10 蛋白) 在体外刺激待检测者的全血, 经过培养后, 采用酶联免疫吸附 (ELISA) 方法定量分析样本中  $\gamma$ -干扰素的释放水平, 进而判断受试者结核分枝杆菌感染的情况<sup>[6]</sup>。

本研究对 56 例结核性脑膜炎 (实验室确诊 + 临床诊断) 和 56 例非结核性脑膜炎患者 TB-IGRA、脑脊液结核培养和脑脊液 TB-DNA 检查结果进行统计学分析, 结果显示, TB-IGRA 在结核性脑膜炎的诊断中灵敏度为 87.5%, 特异度为 89.3%, 与其他学者<sup>[7]</sup>报道一致。脑脊液中培养出结核分枝杆菌是确诊结核性脑膜炎的金标准, 本研究确诊为结核性脑膜炎的 56 例患者中仅 11 例脑脊液结核分枝杆菌培养阳性, 灵敏度为 19.6%, 远不能满足临床诊断的需要。

近年来, 脑脊液 TB-DNA 检测因其检测快速、方便, 而被广泛应用于临床。文献<sup>[8]</sup>报道, 其在结核性脑膜炎检测中具有高阳性率。但也有学者认为由于 PCR-TB-DNA 试剂污染, 制备过程采血试管洗涤不彻底、反复使用交叉感染、塑料试管吸附抗原物质等及其他原因等, 导致其在临床上出现了较高的假阴性或者假阳性, 不少学者<sup>[9]</sup>检测非结核性脑膜炎患者 TB-DNA 阳性率较高, 限制了其在临床上的应用。

在本研究中, 脑脊液 TB-DNA 诊断结核性脑膜炎的灵敏度为 60.7%, 高于脑脊液结核分枝杆菌培养, 但 56 例非结核性脑膜炎中脑脊液 TB-DNA 阳性者 13 例, 阳性率 23.2%, 假阳性率较 TB-IGRA 相对较高。

本组研究结果显示, 与脑脊液结核分枝杆菌培养 (灵敏度 19.6%, 特异度 100%) 和脑脊液 TB-DNA 检测 (灵敏度 60.7%, 特异度 76.8%) 相比, TB-IGRA 诊断结核性脑膜炎的灵敏度 (87.5%) 较高, 特异性也高于脑脊液 TB-DNA 检测, 三者两两相比, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.01$ )。结核分枝杆菌培养阴性而临床诊断为结核性脑膜炎的 45 例病例, 38 例 TB-IGRA 阳性, 提示对于结核培养阴性的患者, TB-IGRA 可帮助提高诊断。与结核分枝杆菌培养相比, TB-IGRA 的另一个优点是能快

速诊断、操作简单。结核分枝杆菌培养所需时间长,常规培养需要 2 个月时间,快速培养也需要 1 周<sup>[10]</sup>。而且培养阳性率受采集标本中细菌数量的影响,不利于早期诊断与治疗。TB-IGRA 在 24 h 内即可获得结果,有助于早期辅助诊断。

56 例非结核性脑膜炎患者中,6 例 TB-IGRA 检测阳性。随访 6 个月,6 例均未发生活动性结核病。非活动性结核病患者 TB-IGRA 阳性一方面可能是实验的假阳性造成,另一方面提示可能存在结核分枝杆菌的潜伏感染。研究<sup>[11]</sup>证实,TB-IGRA 不能区分结核潜伏感染和活动性结核病,因此,也可以用来辅助诊断结核菌潜伏感染。

TB-IGRA 采用的抗原是结核分枝杆菌 RD1 和 RD16 区编码的蛋白,而卡介苗不包含该类蛋白,所以,TB-IGRA 能够很好地区别结核分枝杆菌感染和卡介苗接种。全血样本体外检测,肺内结核与肺外结核都可以检测,检测过程更安全。采用定量系统进行结果分析,可反映机体带菌情况,用于抗结核治疗效果跟踪及潜伏性结核分枝杆菌感染监控。目前,TB-IGRA 已被列入美国、欧洲等地结核病的诊疗指南<sup>[12-13]</sup>。

本组结果表明,TB-IGRA 是一种灵敏度和特异度高的方法,有助于结核性脑膜炎早期、快速诊断,可为临床医生提供参考依据,利于及早制定合理的抗感染治疗方案,值得临床推广应用。

#### [参 考 文 献]

- [1] Pehlivanoglu F, Yasar KK, Sengoz G. Tuberculous meningitis in adults: a review of 160 cases[J]. ScientificWorldJournal, 2012, 2012: 169028.
- [2] WHO. WHO global tuberculosis control report 2010. Summary[J]. Cent Eur J Public Health, 2010, 18(4): 237.
- [3] Thwaites GE, Chau TT, Stepniewska K, et al. Diagnosis of

adult tuberculous meningitis by use of clinical and laboratory features[J]. Lancet, 2002, 360(9342): 1287 - 1292.

- [4] Jordán Jiménez A, Tagarro García A, Baquero Artigao F, et al. Tuberculous meningitis: a review of 27 years[J]. An Pediatr (Barc), 2005, 62(3): 215 - 220.
- [5] Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update[J]. Ann Intern Med, 2008, 149(3): 177 - 184.
- [6] Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, et al. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*[J]. J Bacteriol, 1996, 178(5): 1274 - 1282.
- [7] Sester M, Sotgiu G, Lange C, et al. Interferon- $\gamma$  release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2011, 37(1): 100 - 111.
- [8] 薛承岩,刘怀深,杜新生.等.实验室诊断结核性脑膜炎 6 种方法的比较研究[J]. 临床检验杂志,2004,22(3):196 - 197.
- [9] 李国芬,胡天喜,童湘豫.等. 57 例结核性脑膜炎的临床表现及实验室检查分析[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(2):309 - 310.
- [10] Simpson A, Maniatis N, Jury F, et al. Polymorphisms in a disintegrin and metalloprotease 33(ADAM33) predict impaired early-life lung function[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172(1): 55 - 60.
- [11] Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research [J]. Ann Intern Med, 2007, 146(5): 340 - 354.
- [12] Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy[J]. Chest, 2007, 131(6): 898 - 1906.
- [13] Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States [J]. MMWR Recomm Rep, 2005, 54(RR - 15): 49 - 55.

(本文编辑:张莹、左双燕)