



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2024.03.016

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.03.016

· 论著摘要 ·

## 不同剂量脑脊液标本对 Gene Xpert MTB/RIF 检查结果的影响

姚戈 聂琦 涂盛锦 周勇 肖璠 陈华

**[摘要]** 目的 评估不同剂量脑脊液标本对 Gene Xpert MTB/RIF 检查结果的影响。方法 选取 2017 年 1 月 1 日~2020 年 12 月 31 日武汉市金银潭医院收治的结核性脑膜炎患者 116 例,按随机数字表法分为高剂量组和低剂量组,每组 58 例。对高剂量组与低剂量组患者均行腰椎穿刺,分别收集脑脊液 5 ml、2 ml 进行 Gene Xpert MTB/RIF 检查,比较两组患者脑脊液标本 Gene Xpert MTB/RIF 检查的阳性率。结果 高剂量组患者脑脊液标本 Gene Xpert MTB/RIF 检查阳性率(67.24%)高于低剂量组(24.14%),比较差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。结论 高剂量脑脊液标本 Gene Xpert MTB/RIF 检查结果的阳性率高,能有效帮助对疑似结核性脑膜炎患者的早期诊断。

**[关键词]** 结核性脑膜炎; 高剂量; 脑脊液; Gene Xpert MTB/RIF 检查; 影响

**[中图分类号]** R529.3 **[文献标识码]** A

2020 年全球有 987 万新发结核病患者和 128 万 HIV 阴性的结核病患者死亡<sup>[1]</sup>。结核性脑膜炎(TBM)占有结核新发病例的 1%~5%,是其最严重的表现形式之一,可致近一半患者严重残疾或死亡<sup>[2]</sup>。TBM 预后不良的主要原因是诊断和治疗的延误<sup>[3]</sup>。传统的抗酸染色敏感性低,诊断效率和准确性不高<sup>[2]</sup>;而结核菌培养阳性率适中,但需要 2~6 周出结果,因此不能用于早期诊断<sup>[4]</sup>;免疫学检查中脑脊液腺苷脱氨酶(ADA)测定则由于临界值缺乏标准化,限制了 ADA 在临床中的应用<sup>[5,6]</sup>;结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT.TB)的敏感性高,但受结核感染时机(如潜伏感染,既往感染等)及宿主免疫状态等的干扰,采用单一检查诊断 TBM 可能导致假阳性、假阴性结果<sup>[7]</sup>;影像学检查难以在早期发现颅内特异性病变,也难以满足早期诊断的要求。近年来随着分子检查技术的快速发展,尤其是测序技术的问世,为 TBM 早期诊断带来了可能<sup>[8,9]</sup>。本研究通过送检脑脊液标本的体积不同来比较不同剂量脑脊液标本 Gene Xpert MTB/RIF 检查敏感度的差异,现报道如下。

### 对象与方法

1. 对象:纳入我院结核科 2017 年 1 月 1 日~2020 年 12 月 31 日收治的 TBM 患者 116 例。将所有患者按随机数字表法分为高剂量组和低剂量组,每组 58 例。纳入标准:脑脊液涂片检查、脑脊液浓缩集菌改良抗酸染色检查、脑脊液结核培养+药物敏感试验检查和脑脊液 Gene Xpert MTB/RIF 检查,以上 4 项检查均完成且至少一项结果为阳性。排除标准:(1)脑疝征象;(2)凝血功能严重障碍;(3)影像学表现为颅后窝有占位性病

变,颅内压增高明显者;(4)腰椎穿刺(简称腰穿)部位的皮肤和软组织严重感染;(5)休克、衰竭或严重全身感染。本研究经武汉市金银潭医院伦理委员会审核批准,所有患者均知情同意。

2. 方法:两组均给予常规治疗,包括抗结核、激素、护肝、护胃及对症支持治疗;同时行腰穿以鞘内注射异烟肼 100 mg+地塞米松 5 mg,每周 2 次,直至脑脊液有核细胞计数和蛋白质水平基本恢复正常。低剂量组第 1 次腰穿收集脑脊液 5 ml 送检,检查项目包括:常规、生化、普通细菌培养+药物敏感性试验(简称药敏)、结核分枝杆菌培养+药敏、真菌培养、墨汁染色、细胞学检查、结核抗体、涂片找抗酸杆菌、浓缩集菌改良抗酸染色、病毒性脑膜炎诊断全套、隐球菌荚膜抗原及 Gene Xpert MTB/RIF 检查,其中 Gene Xpert MTB/RIF 检查标本量约 2 ml。Gene Xpert MTB/RIF 检查按照说明书操作指南加入标本处理液后放入仪器中进行核酸扩增,2 h 内仪器会自动输出检查结果。高剂量组第 1 次腰穿收集脑脊液 5 ml 送检,除 Gene Xpert MTB/RIF 检查外,送检项目与低剂量组完全一致;第 2 次腰穿收集脑脊液 5 ml,全部送 Gene Xpert MTB/RIF 检查;将标本抗凝后,以 6 000 r/min 的速度离心 20 min,弃上清液,取沉淀物约 2 ml 按照说明书操作指南加入标本处理液后放入仪器中进行核酸扩增,2 h 内仪器会自动输出检查结果。

3. 统计学处理:应用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验。计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结果

1. 两组患者一般临床资料比较:两组患者一般临床资料比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

2. 两组患者脑脊液检查结果比较:高剂量组患者脑脊液 Gene Xpert MTB/RIF 检查阳性率高于低剂量组( $\chi^2 = 21.713$ ,  $P < 0.001$ )。其余检查结果两组间比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

基金项目:武汉市卫生和计划生育委员会医学科科研项目(WX17Q28)

作者单位:430023 武汉,华中科技大学同济医学院附属武汉金银潭医院耐药结核科 湖北省传染病临床医学研究中心 中国医学科学院武汉传染性疾病预防研究中心 中国科学院武汉病毒研究所 武汉市金银潭医院感染性疾病与健康联合实验室

通讯作者:陈华, E-mail:417509645@qq.com

表 2 两组患者脑脊液检查结果比较[例, (%) ]

组别	例数	葡萄糖含量 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	氯化物含量 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	蛋白质含量 (mg/L, $\bar{x} \pm s$ )	有核细胞计数 ( $\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$ )	GeneXpert MTB/ RIF 阳性	涂片 阳性	结核菌培养 阳性	浓缩集菌改良 抗酸染色阳性
高剂量组	58	1.91 $\pm$ 0.21	112.05 $\pm$ 3.75	3 500.93 $\pm$ 729.57	418.79 $\pm$ 238.06	39(67.24)	2(3.45)	33(56.90)	12(20.89)
低剂量组	58	1.88 $\pm$ 0.23	111.36 $\pm$ 3.86	3 525.87 $\pm$ 706.56	409.66 $\pm$ 227.18	14(24.14)	2(3.45)	34(58.62)	13(22.41)
$\chi^2/t$ 值		0.732	0.977	0.187	0.211	21.713	0	0.035	0.051
P 值		0.466	0.331	0.852	0.833	<0.001	1	0.852	0.821

表 1 两组患者一般临床资料比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 (岁)	从发病到入院时间 (天)
高剂量组	58	32/26	41.58 $\pm$ 11.82	13.40 $\pm$ 3.05
低剂量组	58	31/27	42.56 $\pm$ 11.92	13.42 $\pm$ 3.01
$\chi^2/t$ 值		0.035	0.445	0.036
P 值		0.852	0.657	0.971

讨论

TBM 是严重威胁人类生命的结核病,其快速准确的诊断并制定合理的治疗方案是决定预后的关键因素<sup>[10]</sup>。传统脑脊液的抗酸染色涂片检查和分枝杆菌培养因敏感度低或耗时过长等原因难以满足临床需要,寻找早期、快速、准确的诊断方法一直是临床上亟待解决的问题。随着检查设备及手段的不断进步, Gene Xpert MTB/RIF 检查系统的问世为结核病的早期诊断提供了快速、有效的确诊方法<sup>[11-12]</sup>。该技术是一种基于巢式 PCR 技术发展而来的基因扩增技术,能够在 2 h 内针对 rpoB 基因 81 个碱基对利福平耐药核心区间设计引物、探针,检查其是否发生突变,进而用于诊断结核及检查利福平耐药<sup>[13]</sup>。Gene Xpert MTB/RIF 技术作为 WHO 推荐的用于结核分枝杆菌及利福平耐药快速检查的手段,具有污染可能性小、检查样本多样、操作简单、检查周期短、敏感性高、特异性强、对实验室要求较低等特点,使其成为结核诊断方面具有里程碑意义的新方法<sup>[14]</sup>。Sharma 等<sup>[15]</sup>总结了大量评价 Gene Xpert MTB/RIF 检查诊断 TBM 的研究,结果发现 Gene Xpert MTB/RIF 检查的敏感度为 14.2% ~ 94.4%;各研究单位 Gene Xpert MTB/RIF 检查的敏感度差异较大,可能的原因是使用的脑脊液标本剂量不同。本研究中所有病例均通过综合各项检查结果后最终确诊。我们在这些确诊的病例中评价不同剂量脑脊液标本 Gene Xpert MTB/RIF 检查的阳性率,结果显示高剂量组 Gene Xpert MTB/RIF 检查的阳性率明显高于低剂量组。考虑是采用了浓缩集菌的方法增加了脑脊液标本中细菌 DNA 浓度,从而提高了 Gene Xpert MTB/RIF 检查的阳性率。本研究采用第 2 次腰穿收集脑脊液 5 ml 全部送检 Gene Xpert MTB/RIF 检查,就是为了避免 1 次腰穿留取脑脊液量过大,导致低颅内压给患者带来的不利影响。虽然第 2 次腰穿留取的脑脊液标本是在使用了抗结核药物 3 天后的,但死菌的 DNA 依然存在,不会影响 Gene Xpert MTB/RIF 检查的结果。且由于患者每周要进行 2 次腰穿加鞘内注射,第 2 次腰穿收集的脑脊液是在当次腰穿加鞘内注射同时留取的,故没有因为需要收集脑脊液标本额外增加腰穿的次数,从而避免增加患者的痛苦。本研究有 5 例患者被 Gene Xpert MTB/RIF 检查出利福平耐药并及时调整了其抗结核治疗的方案。

综上,高剂量脑脊液标本浓缩集菌 Gene Xpert MTB/RIF 检查能明显提高 TBM 的早期诊断率,且能同时检查出是否对利福平耐药,降低其致残率及死亡率,提高患者生存质量,值得临床医师推广使用。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2021 [EB/OL]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>, (2021-10-14) [2021-11-1].
- [2] Cresswell FV, Tugume L, Bahr NC, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for the diagnosis of HIV-associated tuberculous meningitis: a prospective validation study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(3): 308-317.
- [3] Sheu JJ, Yuan RY, Yang CC. Predictors for outcome and treatment delay in patients with tuberculous meningitis [J]. *Am J Med Sci*, 2009, 338(2): 134-139.
- [4] Bahr NC, Nuwagira E, Evans EE, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculous meningitis in HIV-infected adults: a prospective cohort study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(1): 68-75.
- [5] Saini PA, Chakrabarti PR, Shilpi D, et al. Raised adenosine deaminase in the cerebrospinal fluid: A tool for the diagnosis of tuberculous meningitis in developing countries [J]. *Niger Postgrad Med J*, 2017, 24(1): 56-59.
- [6] Pormohammad A, Riahi SM, Nasiri MJ, et al. Diagnostic test accuracy of adenosine deaminase for tuberculous meningitis: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Infect*, 2017, 74(6): 545-554.
- [7] Li XL, Xie N, Wang SW, et al. Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid T-SPOT. TB for Tuberculosis Meningitis in China [J]. *Biomed Environ Sci*, 2017, 30(9): 681-684.
- [8] 张梦月, 杨炯, 杜荣辉, 等. 宏基因组二代测序在结核性胸膜炎中的诊断价值 [J]. *临床内科杂志*, 2023, 40(4): 275-276.
- [9] 孙金昊, 陶磊, 贺向红, 等. Gene Xpert MTB/RIF 系统、MGIT-960 快速培养系统及药敏检测肺结核患者痰标本、支气管肺泡灌洗液标本阳性率比较及耐药分析 [J]. *临床军医杂志*, 2022, 50(12): 1275-1277.
- [10] Mai NT, Thwaites GE. Recent advances in the diagnosis and management of tuberculous meningitis [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2017, 30(1): 123-128.
- [11] Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(1): 76-84.
- [12] Walzl G, Mcnerney R, Plessis ND, et al. Tuberculosis: advances and challenges in development of new diagnostics and biomarkers [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(7): e199-e210.
- [13] Somily AM, Barry MA, Fawzia HA, et al. Evaluation of Gene Xpert MTB/RIF for detection of Mycobacterium tuberculosis complex and rpoB gene in respiratory and non-respiratory clinical specimens at a tertiary care teaching hospital in Saudi Arabia [J]. *Saudi Med J*, 2016, 37(12): 1404-1407.
- [14] Tang T, Liu F, Lu X, et al. Evaluation of Gene Xpert MTB/RIF for detecting Mycobacterium tuberculosis in a hospital in China [J]. *J Int Med Res*, 2017, 45(2): 816-822.
- [15] Sharma K, Sharma M, Chaudhary L, et al. Comparative evaluation of Xpert MTB/RIF assay with multiplex polymerase chain reaction for the diagnosis of tuberculous meningitis [J]. *Tuberculosis Edinb*, 2018, 113: 38-42.

(收稿日期: 2023-05-27)

(本文编辑: 李昊阳)