

## • 论著 •

GeneXpert MTB/RIF 技术对成年人结核性脑膜炎  
诊断价值的研究

杨元利 张永峰 刘元 周九鹏 窦权利 党丽云

**【摘要】 目的** 评价 GeneXpert MTB/RIF 技术检测脑脊液中的结核分枝杆菌对成年人结核性脑膜炎(TBM)的早期诊断价值。**方法** 选取西安市胸科医院 2015 年 6 月至 2016 年 12 月期间诊治的疑似结核性脑膜炎成年患者 90 例作为研究对象。研究对象均经抗结核药物治疗时间 $<2$ 周,年龄 $\geq 18$ 岁。收集患者脑脊液样本,分别用抗酸染色法、液体培养法、GeneXpert MTB/RIF 技术检测。按照最新的结核性脑膜炎诊断标准,以临床评分 $\geq 6$ 分作为参考标准,对研究对象进行分组,评价 GeneXpert MTB/RIF 技术的诊断价值。**结果** 90 例研究对象中参照临床评分标准,确定为 TBM 组 61 例,非 TBM 组 29 例。GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本阳性 25 例,敏感度为 41.0%(25/61),特异度为 100.0%(29/29),阳性预测值为 100.0%(25/25),阴性预测值为 44.6%(29/65)。GeneXpert MTB/RIF 检测未离心脑脊液标本、液体培养法、抗酸染色法检测 TBM 的敏感度分别为 23.0%(14/61)、18.0%(11/61)、4.9%(3/61)。GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本的敏感度高于检测未离心脑脊液标本、液体培养法及抗酸染色法,差异均有统计学意义( $\chi^2=4.56, P=0.033; \chi^2=7.72, P=0.005; \chi^2=22.43, P<0.05$ )。25 例经 GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本阳性患者中检出利福平耐药 1 例,与传统药敏结果一致。**结论** GeneXpert MTB/RIF 技术能快速特异地检测脑脊液中结核分枝杆菌,与抗酸染色和液体培养比较具有较高敏感度,其检测的脑脊液标本经离心浓缩处理后可提高其诊断敏感度。

**【关键词】** 结核,脑膜; 核酸扩增技术; 早期诊断; 利福平; 抗药性

**Diagnostic value of GeneXpert MTB/RIF for tuberculous meningitis in adults** YANG Yuan-li, ZHANG Yong-feng, LIU Yuan, ZHOU Jiu-peng, DOU Quan-li, DANG Li-yun. Xi'an Chest Hospital, Xi'an 710100, China  
Corresponding author: DANG Li-yun, Email: dangliyun@sina.com

**【Abstract】 Objective** To evaluate the diagnostic value of GeneXpert MTB/RIF for the early diagnosis of tuberculous meningitis in Adults. **Methods** Ninety predominantly adults with suspected meningitis were screened prospectively from Xi'an chest hospital between June 2015 and December 2016. All subjects aged  $\geq 18$  years were treated with anti-tuberculosis drug for  $<2$  weeks. Samples of cerebrospinal fluid were collected and tested by Ziehl-Neelsen staining, MGIT960 liquid culture and GeneXpert MTB/RIF. And the enrolled patients were grouped according to 2010 South African expert consensus. The diagnostic performance of GeneXpert MTB/RIF was evaluated by comparing against clinical scored  $\geq 6$  points. **Results** Of the 90 patients, 61 were in TBM group, and 29 were in no-TBM group. Twenty-five positive cases of cerebrospinal fluid (CSF) were tested by GeneXpert MTB/RIF, the sensitivity was 41.0% (25/61), the specificity was 100.0% (29/29), the positive predictive value was 100.0% (25/25), and the negative predictive was 44.6% (29/65). The sensitivity of GeneXpert MTB/RIF (non-centrifugal CSF), MGIT 960 liquid culture and Ziehl-Neelsen staining were 23.0% (14/61), 18.0% (11/61) and 4.9% (3/61), respectively. Compared with the sensitivity of GeneXpert MTB/RIF (centrifugal CSF), the significant difference was found among the sensitivity of GeneXpert MTB/RIF (non-centrifugal CSF), MGIT 960 liquid culture and Ziehl-Neelsen staining ( $\chi^2=4.56, P=0.033; \chi^2=7.72, P=0.005; \chi^2=22.43, P<0.05$ ). Rifampin resistance was found in 1 case, consistent with traditional drug susceptibility test. **Conclusion** GeneXpert MTB/RIF is a rapid and specific method to detect MTB in CSF. Compared with Z-N stain and MGIT 960, it has higher sensitivity. After centrifugal CSF, it could improve the sensitivity of diagnosis of TBM.

**【Key words】** Tuberculous, meningeal; Nucleic acid amplification techniques; Early diagnosis; Rifampin; Drug resistance

结核性脑膜炎(tuberculous meningitis, TBM)是由结核分枝杆菌(MTB)感染引起的中枢神经系统感染性疾病,约占结核病发病的 5%~10%,具有较高的病死率和致残率<sup>[1-2]</sup>。因此,早期快速准确的诊断对于 TBM 治疗及预后具有重要的意义。脑脊液的 MTB 涂片和培养阳性率偏低,在 TBM 诊断中价值不大。2011 年,WHO 推荐将 GeneXpert MTB/RIF 技术作为肺结核或疑似耐药肺结核及并发 HIV 感染结核病患者的首选筛查方法<sup>[3]</sup>。笔者即应用 GeneXpert MTB/RIF 技术检测成年 TBM 患者脑脊液标本,以探讨其对成年人 TBM 的诊断价值。

对象和方法

1. 研究对象:选取西安市胸科医院 2015 年 6 月至 2016 年 12 月期间诊治的疑似 TBM 成年患者 90 例作为研究对象。研究对象均经抗结核药物治疗时间<2 周,年龄≥18 岁。参照 2010 年国际 TBM 协作组制定的诊断标准<sup>[4]</sup>,评分标准见表 1。

具备以下一项或多项脑膜炎的症状和体征:头痛、易激惹、呕吐、发热、颈项强直、抽搐、局灶性神经功能缺损、意识障碍或倦怠;根据患者的临床表现,脑脊液和头颅影像学检查结果,以及其他部位结核确诊证据进行评分,最终将患者分为 4 组:(1)确诊组:符合临床诊断标准,同时脑脊液检出抗酸杆菌,或脑脊液 MTB 或抗酸检测阳性;(2)很可能组:符合临床诊断标准,同时临床评分≥10 分(无神经影像学表现)或临床评分≥12 分(伴神经影像学表现),并排除其他类型脑膜炎;(3)可能诊断组:符合临床诊断标准,同时临床评分为 6~9 分(无神经影像学表现)或临床评分为 9~11 分(伴有神经影像学表现),而未行腰椎穿刺脑脊液检查或神经影像学检查者不得确诊;(4)非 TBM 组:不符合临床标准,未进行抗结核药物治疗,排除 TBM。将前 3 组(即临床评分≥6 分)作为 TBM 组,与非 TBM 组比较,进行后续试验结果的分析。本研究方案获得本院医学伦理委员会的批准。

表 1 结核性脑膜炎的临床诊断评分

诊断项目	诊断得分
临床症状	最高 6 分
症状持续>5 d	4
包含 1 项或多项结核中毒症状,如体质量减轻、盗汗、持续咳嗽>2 周	2
1 年内有与结核病患者密切接触史(10 岁以内儿童)	2
除外颅神经的局部神经功能缺损	1
颅神经麻痹	1
意识状态改变	1
脑脊液实验室检查标准	最高 4 分
外观透明	1
细胞数 10~500 个/ $\mu$ l	1
淋巴细胞>50 $\times$ 10 <sup>6</sup> /L	1
蛋白>1 g/L	1
糖<2.2 mmol/L 或者低于正常血糖值的 50%	1
颅脑影像学表现	最高 6 分
脑积水	1
大脑基底池增宽	2
脑结核瘤	2
脑梗塞	1
脑基底池高密度	2
其他结核证据	最高 6 分
胸部 X 线摄影提示活动性结核(2 分,如为粟粒型结核病计 4 分)	2 或 4
CT、MRI、超声均或分别提示存在颅外结核	2
痰、淋巴结、胃液、尿、血的抗酸染色涂片或结核分枝杆菌培养阳性	4
脑脊液以外标本 PCR 检测阳性	4

注 排除诊断:根据患者年龄、免疫状况、所在地理区域等情况综合判断。需排除以下诊断:化脓性脑膜炎、新型隐球菌性脑膜炎、病毒性脑膜炎、脑型疟疾、嗜酸性粒细胞性脑膜炎、脑弓形虫病、脑脓肿、脑恶性肿瘤。排除这些诊断需要确凿的微生物学或病理学证据

2. 仪器与试剂: (1) 仪器: BACTEC MGIT 960 液体培养系统(美国 BD 公司, 批号: 4087168); Gene Xpert MTB/RIF 扩增检测仪(美国 Cepheid 公司, 批号: 4140541)。 (2) 试剂: 抗酸染色试剂(珠海贝索生物有限公司); MGIT 液体培养管(美国 BD 公司)、分枝杆菌联合药物敏感性检测试剂盒(美国 BD 公司); 分枝杆菌培养添加试剂盒(美国 BD 公司); GeneXpert MTB/RIF 检测试剂盒(美国 Cepheid 公司)。

3. 抗酸染色法: 抗酸染色涂片检查参照《中国结核病防治规划痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》<sup>[5]</sup>中的标准化操作程序执行。具体方法为标本涂片, 干燥后行抗酸染色、镜检。

4. BACTEC MGIT 960 培养和药物敏感性试验(简称“药敏试验”): 采用 BACTEC MGIT 960 液体培养, 参照《结核分枝杆菌药物敏感性实验标准化操作程序及质量保证手册》<sup>[6]</sup>中的标准化操作程序执行。取处理好的脑脊液标本 1 ml 加入 MGIT 液体培养管中, 放入 BACTEC MGIT 960 液体培养系统中进行培养; 培养阳性的标本进一步行药敏试验。BACTEC MGIT 960 系统药敏试验是将从结核病患者分离得到的 MTB 在已知浓度的检测药物存在的条件下进行体外培养, 观察其生长状况, 同时与不加任何药物的对照管进行比较, 若菌株在对照及药物培养管中均生长, 则认为该菌株对该药物耐药; 若只在对照管中生长, 则认为该菌株对该药物敏感。

5. 脑脊液 GeneXpert MTB/RIF 检测: (1) 收集每例患者脑脊液 6 ml, 1 ml 直接与 2 倍体积的处理液混匀, 涡旋振荡 1 min, 取 2 ml 混合液放入仪器中进行核酸扩增。2 h 内仪器会自动输出检测结果, 即菌量及是否对利福平耐药。当 6 条探针中除了质控探针外至少 2 条探针发出荧光时可判定为 MTB 感染。 (2) 另 5 ml 脑脊液经  $3000 \times g$  离心 15 min, 去上清, 留 1 ml 与 2 倍体积的处理液混匀, 涡旋振荡 1 min, 取 2 ml 混合液放入仪器中进行核酸扩增, 2 h 内仪器会自动输出检测结果, 即菌量及是否对利福平耐药。当 6 条探针中除了质控探针外至少 2 条探针发出荧光时可判定为 MTB 感染。

6. 统计学分析: 应用 SPSS 17.0 软件对数据进行分析, 计数资料的比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 基本情况: 90 例研究对象中, 经液体培养阳

性, 确诊为 TBM 者 11 例(12.2%, 11/90)。50 例虽无明确病原学依据, 但符合很可能组(36 例)和可能诊断组(14 例)的临床评分要求。另外 29 例(32.2%, 29/90)为非 TBM 者, 包括病毒性脑膜炎 17 例、化脓性脑膜炎 5 例、新型隐球菌性脑膜炎 4 例、脑肺包虫病 1 例、系统性红斑狼疮脑病 1 例、脑布氏杆菌病 1 例。

2. 检测效能比较: GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本阳性 25 例, 敏感度为 41.0%(25/61), 特异度为 100.0%(29/29), 阳性预测值为 100.00%(25/25), 阴性预测值为 44.6%(29/65)。GeneXpert MTB/RIF 检测未离心脑脊液标本、液体培养法、抗酸染色法检测 TBM 的敏感度分别为 23.0%(14/61)、18.0%(11/61)、4.9%(3/61)。GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本的敏感度高于检测未离心脑脊液标本、液体培养法及抗酸染色法, 差异均有统计学意义( $\chi^2 = 4.56, P = 0.033$ ;  $\chi^2 = 7.72, P = 0.005$ ;  $\chi^2 = 22.43, P < 0.05$ ), 见表 2。

3. 利福平耐药检测: 25 例经 GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本阳性患者中检出利福平耐药 1 例。该例是经培养确诊的 TBM, 使用 MGIT SIRE 试剂盒进行检测, 得出此株 MTB 的药敏结果为异烟肼、利福平均耐药; 其余 24 例患者经 GeneXpert MTB/RIF 检测结果均为利福平敏感, 其中 10 例液体培养阳性, 菌株经检测也均为利福平敏感。

## 讨 论

TBM 是结核病最严重的形式, 预后依赖于早期快速诊断, 所以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。最新的 TBM 诊断专家共识指出, 脑脊液培养、抗酸染色或 PCR 中任意一项阳性者可确诊为 TBM<sup>[4]</sup>; 但脑脊液抗酸染色、MTB 培养阳性率低, 且培养花费时间久, 约 4~6 周, 对 TBM 早期诊断价值有限<sup>[7]</sup>。

GeneXpert MTB/RIF 技术以荧光定量 PCR 技术为基础, 集样品收集、核酸提取、样品扩增于一体, 其对目标 DNA 序列的检测具有高度光学敏感度, 实时光学监测一经发现目标序列即可给出报告, 极大缩短了化验检测时间, 从上样到结束的全过程约 2 h, 且操作方便。目前, GeneXpert MTB/RIF 法因其较高的敏感度和特异度已逐渐开展并广泛应用于肺结核及肺外结核的诊断<sup>[8-10]</sup>。WHO 推荐 GeneXpert MTB/RIF 检测为 TBM 初次检测优先方案, 该方法在 TBM 的早期诊断中有巨大优势<sup>[11-12]</sup>。Nhu

表 2 不同方法检测结核性脑膜炎患者脑脊液标本的检测效能

检测方法	TBM 组 (61 例)	非 TBM 组 (29 例)	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
GeneXpert MTB/RIF(离心标本)			41.0	100.0	100.0	44.6
阳性(例)	25	0				
阴性(例)	36	29				
GeneXpert MTB/RIF(未离心标本)			23.0	100.0	100.0	38.2
阳性(例)	14	0				
阴性(例)	47	29				
液体培养法			18.0	100.0	100.0	36.7
阳性(例)	11	0				
阴性(例)	50	29				
抗酸染色法			4.9	100.0	100.0	33.3
阳性(例)	3	0				
阴性(例)	58	29				

注 敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%;阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)×100%;阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%

等<sup>[11]</sup>研究显示以临床诊断为金标准, GeneXpert MTB/RIF 检测的敏感度为 59.3%, 特异度为 99.5%, 通过在样本前处理中加入涡旋混匀步骤, 其敏感度提高了 20.6%, 检测并发 HIV 感染的 TBM 患者敏感度高达 78.8%。

本次研究共纳入 90 例疑似 TBM 成年患者的脑脊液标本, 由于 TBM 患者的脑脊液微生物学检测阳性率低, 确诊患者较少, 故此次研究将临床诊断作为金标准。结果显示, GeneXpert MTB/RIF 检测离心脑脊液标本的敏感度高于传统抗酸染色法、液体培养法, 以及未离心标本的检测, 差异均具有统计学意义, 这一结果在 TBM 临床诊断中具有非常重要的意义。其与国外研究比较, 本次研究敏感度不高的原因考虑可能为纳入患者数量少; 另一方面, 国外研究中 TBM 并发艾滋病患者所占比例多, 这类患者免疫力较差, 脑脊液中 MTB 含量可能较多, 这可能会增加 GeneXpert MTB/RIF 的检出效率<sup>[11-12]</sup>。从检测特异度方面来看, GeneXpert MTB/RIF 具有非常好的确定诊断的价值, 本研究中为 100.0%, 并通过临床症状、影像学、脑脊液化验及治疗随访证实符合 TBM。

GeneXpert MTB/RIF 技术可以同时检测利福平耐药, 该技术以 MTB 的 *rpob* 基因为靶基因, 自动提取 DNA 后扩增 *rpob* 基因进行检测。本次研究中应用 GeneXpert MTB/RIF 检测出 1 例利福平耐药, 并通过传统药敏试验得以确认。由于本次研究耐药 TBM 例数少, 尚不能评价其耐利福平的检

测效能。

综上所述, GeneXpert MTB/RIF 技术有其显著的优点: 第一, 能快速特异地检测脑脊液中 MTB, 全部检测过程 2 h, 与抗酸染色和液体培养法比较具有较高敏感度, 并且该技术对于优化即离心浓缩处理后的脑脊液标本具有更高的检测敏感度; 第二, 可用于检测 MTB 的利福平耐药性, 为临床提供可靠的依据; 第三, 检测系统操作简单, 将复杂步骤集中完成, 避免人工提取过程中可能污染造成的假阳性结果; 第四, 本研究对照组中无一例检测为阳性, 特异度为 100.0%。结合以上优点, GeneXpert MTB/RIF 技术可以作为成年人 TBM 早期诊断的分子检测手段。

参 考 文 献

[1] Brancusi F, Farrar J, Heemskerck D. Tuberculous meningitis in adults: a review of a decade of developments focusing on prognostic factors for outcome. *Future Microbiol*, 2012, 7(9): 1101-1116.

[2] Thwaites GE. Advances in the diagnosis and treatment of tuberculous meningitis. *Curr Opin Neurol*, 2013, 26 (3): 295-300.

[3] World Health Organization. Automated real time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. Policy statement. WHO/HTM/TB/2011.4. Geneva: World Health Organization, 2011.

[4] Marais S, Thwaites G, Schoeman JF, et al. Tuberculous meningitis: a uniform case definition for use in clinical research. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10(11): 803-812.

[5] 赵雁林, 刘宇红, 姜广路, 等. 中国结核病防治规划痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册. 北京: 中国协和医科大学出

版社, 2008.

- [6] 王黎霞. 结核分枝杆菌药物敏感性试验标准化操作程序及质量保证手册. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 1-40.
- [7] Bahr NC, Boulware DR. Methods of rapid diagnosis for the etiology of meningitis in adults. *Biomark Med*, 2014, 8(9): 1085-1103.
- [8] Kim YW, Kwak N, Seong MW, et al. Accuracy of the Xpert® MTB/RIF assay for the diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis in South Korea. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2015, 19(1): 81-86.
- [9] 路丽苹, 陆斌, 刘梅, 等. GeneXpert MTB/RIF 技术在结核病早期诊断中的应用. *中国防痨杂志*, 2017, 39(1): 71-75.
- [10] 李妍, 张天华, 鲜小平, 等. Xpert Mtb/RIF 检测技术诊断肺

结核和肺外结核的价值. *中国防痨杂志*, 2015, 37(6): 586-589.

- [11] Nhu NT, Heemskerk D, Thu do DA, et al. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(1): 226-233.
- [12] Bahr NC, Tugume L, Rajasingham R, et al. Improved diagnostic sensitivity for tuberculous meningitis with Xpert® MTB/RIF of centrifuged CSF. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2015, 19(10): 1209-1215.

(收稿日期: 2017-03-15)

(本文编辑: 李敬文)

## 第四届耐药结核病防控与诊治新进展研讨会征文通知

由《中国防痨杂志》期刊社、中国防痨协会结核病临床专业分会、中国医疗保健国际交流促进会结核病防治分会、同济大学附属上海市肺科医院联合主办的“第四届耐药结核病防控与诊治新进展研讨会”拟于 2017 年 11 月 10—13 日(10 日报到, 13 日撤离)在江西景德镇召开; 同期将召开《中国防痨杂志》第九届编委会第二次全体工作会议。本届学术会议主题为“耐药结核病治疗中药品不良反应的诊治与应对”, 大会组委会除了邀请国内外耐药结核病知名的临床、基础研究、防控专家围绕着这一主题对国内外最新研究动向、最新理论进行精彩的专题学术讲座外, 同时将遴选优秀会议征文进行大会发言; 并且为《中国防痨杂志》组织 1~2 期相应的专题学术重点号。具体征文信息如下:

1. 征文要求: (1) 稿件要求未在国内外公开发行人物上发表(请在文题上方注明“未公开发表, 未一稿多投”); (2) 论著类稿件需提供全文+800 字左右的摘要, 摘要包括目的、方法、结果和结论, 也可仅提供符合上述要求的摘要; (3) 其他类型稿件为全文投稿; (4) 全文 4000 字以内, 编排顺序为: 题目、邮编、单位(至科室)、姓名、中文摘要、正文、参考文献; (5) 本次会议征文不接收通过邮局邮寄的纸质版论文, 只接

收 Word 版电子文件; 格式为: 题目 3 号黑体、正文 5 号宋体, 单倍行距; (6) 请务必附第一作者与通信作者的通信地址、联系电话、手机、Email。

2. 征文发送: (1) 请通过 Email 发送至联系人邮箱, 邮件注明“耐药结核病会议征文”; (2) 征文截止日期: 2017 年 10 月 20 日。

3. 接收人: 王然, 手机: 13811981490; 电话(传真): 010-62257587; Email: here\_wangran@126.com。

入选论文将纳入会议《资料汇编》, 经大会学术委员会评选出的优秀论文将推荐刊登于《中国防痨杂志》或《结核病与肺部健康杂志》, 并安排大会发言。参加会议者均可获得国家级继续医学教育学分证书。欢迎结核病临床、基础研究、防控专家及其他关注本届会议主题的医学工作者积极撰写会议征文并参加本次论坛。

《中国防痨杂志》期刊社  
中国防痨协会结核病临床专业分会  
中国医促会结核病防治分会  
同济大学附属上海市肺科医院