

· 前沿进展 ·

结核性脑膜炎实验室诊断技术研究进展

章玉坤, 张齐龙

【摘要】 本文阐述了近 5 年来结核性脑膜炎实验室诊断技术方面取得的研究进展, 从细菌学、免疫学、分子生物学、生物化学及细胞学等角度进行分析、总结, 认为虽然目前报道的结核性脑膜炎实验室诊断技术众多, 但仍然缺乏一种简单、快捷、经济、可靠的实验室诊断技术, 而现有的实验室诊断技术各有优缺点; 结核性脑膜炎的基础研究方面还有很大发展空间, 抗结核治疗后的临床随访对结核性脑膜炎实验室诊断技术的改良、创新有促进和启发作用。

【关键词】 结核, 脑膜; 诊断; 临床实验室技术; 综述

【中图分类号】 R 529.3 **【文献标识码】** A doi: 10.3969/j.issn.1008-5971.2015.01.004

章玉坤, 张齐龙. 结核性脑膜炎实验室诊断技术研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2015, 23 (1): 9-12. [www.syxnf.net]

Zhang YK, Zhang QL. Progress on laboratory diagnosis technology of tubercular meningitis [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2015, 23 (1): 9-12.

在全球范围内, 结核性脑膜炎在肺结核中占有很大比例, 其发病率和病死率均很高, 尤其是在患儿和 HIV 感染患者中。由于结核性脑膜炎缺少特异性临床表现, 因此确诊较难, 目前的实验室诊断技术对结核性脑膜炎的灵敏度和特异度也较低^[1-2]。早期诊断和治疗结核性脑膜炎可以挽救更多患者的生命, 近年来关于结核性脑膜炎治疗方面的研究已取得很大进展, 并可能在不久的将来影响相关指南的制定, 而其实验室诊断技术方面研究相对不足。有鉴于此, 笔者结合近 5 年来相关文献, 就结核性脑膜炎实验室诊断技术在细菌学、免疫学、分子生物学、生物化学、细胞学等^[3]方面取得的进展进行综述如下。

1 细菌学

脑脊液细菌学检查是诊断结核性脑膜炎的“金标准”, 其研究进展主要体现在以下 3 个方面:

基金项目: 江西省自然科学基金 (20114BAB205060)

作者单位: 330006 江西省南昌市, 江西省胸科医院神经内科

1.1 脑脊液涂片 由于结核分枝杆菌是一种胞内病原体, 脑脊液中含量极少, 因此采用常规的抗酸染色法检出脑脊液中结核分枝杆菌常需要大量脑脊液标本, 且检测阳性率极低。我国第四军医大学西京医院开发的一种改良抗酸染色法采用细胞离心涂片及 Triton 破膜技术进行标本处理, 只需要 0.5 ml 脑脊液, 该方法不仅提高了细胞外结核杆菌阳性检出率, 还能清晰显示中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞等细胞内结核杆菌, 其较常规抗酸染色法更高效、更灵敏, 是一项方便而准确的结核性脑膜炎快速诊断技术^[4]。此外, 免疫细胞化学染色脑脊液巨噬细胞胞质分枝杆菌抗原诊断结核性脑膜炎的灵敏度为 73.5%, 特异度为 90.7%^[5]。

1.2 脑脊液培养 采用固体培养基进行脑脊液结核杆菌培养是传统的结核性脑膜炎诊断方法, 但该培养过程需要 4~7 周, 常导致不恰当的抗结核治疗。在东京都立保健科学大学微生物学系进行的一项纳入了 100 例疑似结核性脑膜炎患儿的观察性研究中, 研究者利用 BACTEC 分枝杆菌生长指示管 (MGIT) 960 系统作为一个快速验证工具进行脑脊液分析, 培养结果为

[13] van der Graaff MM, Sage CA, Caan MW. Upper and extra-motoneuron involvement in early motoneuron disease: a diffusion tensor imaging study [J]. Brain, 2011, 134 (Pt 4): 1211-1228.

[14] Andersen PM, Al-Chalabi A. Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis: what do we really know? [J]. Nat Rev Neurol, 2011, 7 (11): 603-615.

[15] 邹漳钰, 李晓光, 崔丽英. 肌萎缩侧索硬化研究进展及面临的挑战 [J]. 中华神经科杂志, 2012, 45 (12): 893-896.

[16] Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD [J]. Neuron, 2011, 72 (2): 257-268.

[17] DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al.

Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS [J]. Neuron, 2011, 72 (2): 245-256.

[18] Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis [J]. Science, 2006, 314 (5796): 130-133.

[19] Quadri M, Cossu G, Saggi V, et al. Broadening the phenotype of TARDBP mutations: the TARDBP ALA382Thr mutation and Parkinson's disease in Sardinia [J]. Neurogenetics, 2011, 12 (3): 203-209.

(收稿日期: 2014-07-25; 修回日期: 2014-12-20)

(本文编辑: 鹿飞飞)

阳性者行一线抗结核药物敏感试验, 并与基于临床特征的诊断结果进行对比, 结果发现 100 份脑脊液标本中只有 14 份标本培养结果为阳性, 提示基于临床特征的结核性脑膜炎诊断结果并不可靠; 而 BACTEC MGIT 960 系统与脑脊液生化检查对结核性脑膜炎的诊断价值间未发现统计学差异 ($P=2.260$), 但与脑脊液细胞学检查对结核性脑膜炎的诊断价值间存在统计学差异 ($P=0.001$), 提示 BACTEC MGIT 960 系统可作为一种快速有效的肺外结核诊断技术^[6]。

1.3 噬菌体生物扩增法 (PhaB) PhaB 的原理是分枝杆菌噬菌体能够感染待检标本中活分枝杆菌 (结核分枝杆菌和少数几种非结核分枝杆菌) 并在菌体内增殖, 而未进入感染菌体内的噬菌体则被随后加入的灭活剂灭活, 增殖的噬菌体将细菌裂解后释放出的噬菌体可感染其他目标菌并将其裂解, 导致琼脂平板上出现噬菌斑, 根据有无噬菌斑形成即可判定待检标本中是否存在活分枝杆菌。PhaB 检测过程只需 1~2 d, 灵敏、简便、价廉, 还可同时进行临床标本的直接药敏试验^[7], 其已应用于结核分枝杆菌的快速检测和耐药性检测^[8], 但未见用于诊断结核性脑膜炎的报道, 只是偶尔涉及体液标本中少量脑脊液标本检查结果, 因此其在结核性脑膜炎中的应用价值尚不清楚, 有待进一步研究。

2 免疫学

2.1 细胞免疫 结核分枝杆菌基因组分析方面取得的研究进展使得结核分枝杆菌特异性抗原得以发现, 且这些抗原被发现后不久即用于诊断结核菌感染, 其中 ESAT-6 和 CFP-10 具有很强的诱导致敏 T 细胞释放干扰素 γ (IFN- γ) 作用, 因此结核分枝杆菌特异性抗原试验也被称为 γ -干扰素释放试验 (IGRAs)。由于所有卡介苗和大多数非结核分枝杆菌均不含 ESAT-6 和 CFP-10, 因此, ESAT-6 和 CFP-10 能准确鉴别卡介苗接种者和大部分非结核分枝杆菌感染者。目前市面上销售的 IGRAs 试剂有两种, 即 QuantiFERON-TB Gold (在日本称为 QFT-2G) 和基于 ELISPOT 方法的 T-SPOT.TB, 大多数学者认为 T-SPOT.TB 较 QFT-2G 诊断结核性脑膜炎的灵敏度更高, 但这两种试剂应用时间较短, 仍存在问题亟待解决: (1) IGRAs 不能区分活动性和潜伏性结核感染; (2) QFT-2G 在血液标本以外标本中的应用及在 T 细胞反应中作用; (3) QFT-2G 在判断疾病预后方面的应用; (4) 外周血及炎性病灶对结核杆菌抗原的特异性免疫反应, 有学者采用浆膜腔积液标本进行 IGRAs, 可用于鉴别活动性结核性胸膜炎、结核性腹膜炎、结核性脑膜炎及结核性心包炎; (5) IGRAs 在免疫系统脆弱患者 (如婴儿及艾滋病患者) 中的应用、化疗药物的影响、对活动性结核患者预后的判断、试验质量保证等, 解决这些问题和改良 IGRAs 很重要, 尚需基于基础免疫学的研究^[9]。

潜伏性结核感染的诊断和治疗是全球结核病控制面临的挑战之一, 结核菌素试验是目前广泛采用的潜伏性结核感染诊断方法, 但特异性较低, 因此, 寻找特异性抗原取代结核分枝杆菌纯蛋白衍生物一直是国际研究重点。目前已确定的 3 种有诊断潜力的特异性抗原为 ESAT-6、CFP-10 和 TB 7.7, 在欧盟、美国和日本, 这些抗原相关诊断试剂已经进入市场销售,

其有助于识别潜伏结核感染者和结核病全球防控。近年研究发现, T-SPOT.TB 较基于临床特征的诊断标准对结核性脑膜炎的诊断价值更高, 脑脊液单核细胞 RD-1 ELISPOT 检测与其他快速验证试验相结合 (革兰染色和隐球菌乳胶凝集试验) 可用于结核病和艾滋病流行地区结核性脑膜炎的快速、准确诊断^[10], 但在医疗资源匮乏地区, 基于临床特征的诊断标准可能对临床医生更为有用, 因此, T-SPOT.TB 可能只需要用在基于临床特征的诊断可能性低于预先设定标准时, 其诊断准确性仍需进一步研究证实^[11]。

2.2 体液免疫 在结核性脑膜炎患者脑脊液标本中, 除 50 kDa 免疫球蛋白重链、25 kDa 免疫球蛋白轻链条带外, 还可看到清晰的 12 kDa、30~32 kDa、71 kDa、86 kDa、96 kDa、110 kDa、120 kDa 条带及模糊的 69 kDa 人血清蛋白条带, 正常对照者脑脊液标本也显示免疫球蛋白和人血清蛋白条带, 但无交叉反应抗原条带, 其中 12 kDa (7.7%)、30~32 kDa (23.0%)、71 kDa (19.2%)、96 kDa (77.0%)、86 kDa (57.5%)、110 kDa (23.0%) 及 120 kDa (15.4%) 条带为反应带, 其结果要与反向被动乳胶凝集试验做对比。脑脊液中至少出现 1 个分枝杆菌特异性抗原条带诊断结核性脑膜炎的阳性率为 88.4%, 排除 86 kDa 特异性抗原后, 免疫电泳斑点法 (EITB) 诊断结核性脑膜炎的特异度可达 100%, 但该诊断技术比较费时费力^[12]。有研究显示, 阿拉伯甘露聚糖脂 (LAM) 抗原检测诊断结核性脑膜炎的灵敏度为 64%、特异度为 69% (LAM 法切割点 0.22), 而细菌学涂片诊断结核性脑膜炎的灵敏度和特异度分别为 0 和 100%, PCR 诊断结核性脑膜炎的灵敏度和特异度分别为 93% 和 77%, LAM 抗原检测可作为高艾滋病感染率地区快速诊断结核性脑膜炎的有效辅助手段^[13]。

目前, 对应于结核分枝杆菌 Ag 85 复合物特异性抗原表位的 4 种肽 (Ag 85 肽 1、2、3、4, 均为 7~10 个氨基酸长) 已被合成出来, 且均能用于结核病和结核性脑膜炎患者血清和脑脊液标本 ELISA。有学者对这 4 种肽的血清和脑脊液标本的诊断价值进行研究, Ag 85 肽 1、3、4 在肺结核患者中阳性率最高, 而 Ag 85 肽 1、2 在结核性脑膜炎患者中阳性率很高, Ag 85 肽 ELISA 是一项诊断肺结核及肺外结核的早期、敏感、特异、快速、廉价、有效的免疫学技术, 且该类合成肽较全抗原更易重复产生^[14]。有学者报道, 体液免疫反应 (包括 IgG 和 IgA 抗体) 中 16 kDa 抗原介导的间接 ELISA 诊断各类型肺结核的灵敏度为 73.8%~81.2%, 诊断结核性脑膜炎的灵敏度为 42.8%, 诊断结核性胸腔积液的灵敏度为 63.3%, 且均具有很高的特异度 (94.7% 左右); 而在所有的非疾病对照者中, 16 kDa 抗原介导的间接 ELISA 结果均为阴性^[15]。

3 分子生物学

3.1 PCR 脑脊液涂片及培养是诊断中枢神经系统结核的“金标准”, 其诊断过程复杂、耗时, 诊断结核性脑膜炎的灵敏度较低。近年来, 以分子生物学研究为基础的结核性脑膜炎诊断技术取得较大发展, 其中核酸扩增 (NAA) 检测技术 (特别是 PCR) 由于快速、灵敏、特异而在中枢神经系统结核的诊断方面具有较广阔的应用前景^[16]。PCR 较常规苯酚/三氯甲烷提取法灵敏度更高 (84.2% 比 73.6%), 检测过程更快

速,技术要求更低,其中单管法程序简单,可以早期、可靠地诊断结核性脑膜炎,是一项很有发展空间的实验室诊断技术^[17],而检测脑脊液中结核分枝杆菌 *glcB/HspX* 抗原/DevR DNA 有可能提高目前的结核性脑膜炎诊断效能,并加快诊断速度^[18]。

3.2 定量巢式实时 PCR 有学者对 4 种脑脊液标本结核分枝杆菌 DNA 检测方法〔实时 PCR、QIAGEN (R)、AMPLICOR (R)、MagNA Pure (R)〕进行比较发现,实时 PCR 的灵敏度高于其他方法,但无法检测出 < 100 个结核分枝杆菌/ml 者^[19]。有学者采用蛋白 B、MPB 64 及 IS6110 引物多重 PCR 对 18 例确诊结核性脑膜炎患者(脑脊液培养阳性)、92 例疑似结核性脑膜炎患者、100 例非结核性脑膜炎患者进行检测发现,多重 PCR 对确诊病例的灵敏度为 94.4%,特异度为 100.0%,对疑似病例的阳性检出率为 84.78%,镜检、脑脊液培养、多重 PCR 诊断结核性脑膜炎的总体灵敏度分别为 1.8%、16.7%、86.6%,特异度均 100.0%^[20];蛋白 B PCR 对确诊病例的灵敏度为 90.0%,特异度为 100.0%,对疑似病例的阳性检出率为 81.7%,镜检、脑脊液培养、蛋白 B PCR 诊断结核性脑膜炎的总体灵敏度分别为 1.4%、14.3%、82.8%,特异度均为 100.0%^[21]。巢式 PCR 诊断结核性脑膜炎的灵敏度依次较 Bac T/Alert、LJ 培养、镜检为高,但由于巢式 PCR 假阳性率和假阴性率较高,因此其不能单独作为启动或终止抗结核治疗的标准,而应该结合临床、影像学、细胞学和微生物学检查结果综合判断^[22]。

3.3 环介导等温扩增技术(LAMP) 有学者采用了 6 种识别结核分枝杆菌 IS6110 基因组序列的特异性引物(1 个正向外引物、1 个反向外引物、2 个内引物、2 个环引物)来快速检测和诊断结核性脑膜炎,其设定的最佳反应温度和反应时间分别为 63 ℃ 和 60 min,结果显示 LAMP 诊断结核性脑膜炎的灵敏度和特异度分别为 88.2% 和 80.0%,而巢式 PCR 分别为 52.9% 和 90.0%^[23]。

3.4 其他 目前,线性探针杂交(LiPA)、基因芯片、Xpert Mtb/RIF 检测技术、高分辨熔链曲线分析等最新结核分枝杆菌检测技术已应用于实验室,但仍处于研发阶段,尚无应用于临床诊断结核性脑膜炎的研究报道^[24]。

4 生物化学

4.1 腺苷脱氨酶(ADA) 目前,已有较多文献报道脑脊液 ADA 用于诊断结核性脑膜炎,但脑脊液 ADA 诊断结核性脑膜炎的界值还没有达成共识,大多数学者认为 9.5 U/L 是脑脊液 ADA 鉴别诊断结核性脑膜炎的最佳临界值,同时监测结核性脑膜炎患者脑脊液 ADA 变化可为评价抗结核治疗效果提供参考^[25];但考虑到脑脊液 ADA 不能准确鉴别结核性脑膜炎和细菌性脑膜炎^[26],而疑似患者可能会接受不必要的抗结核治疗,为提高诊断灵敏度和特异度,有学者建议将脑脊液 ADA 的最佳临界值定为 10.5 U/L^[27]。有学者通过研究发现,把鉴别诊断结核性脑膜炎和非结核性脑膜炎的血清 ADA 水平定为 15 U/L 时,其灵敏度为 84%、特异度为 82%,联合脑脊液 ADA ≥ 10 U/L 和血清 ADA ≥ 15 U/L 时,其特异度可达 92% ~ 97%。因此,脑脊液和血清 ADA 检测是鉴别诊断结核性脑膜

炎的一项简单、可靠的实验室诊断技术^[28-29]。

4.2 神经元特异性烯醇化酶(NSE) NSE 是一种神经组织损伤特异性生化标志物,有学者认为其较脑脊液/血清 NSE 对早期结核性脑膜炎的诊断效能更高^[30]。

4.3 其他 也有文献报道将定量蛋白质组学^[31]、可溶性 DLL-1 等用于诊断结核性脑膜炎,但其实用价值尚有待进一步研究。

5 细胞学

结核性脑膜炎患者脑脊液细胞数为 100 ~ 1 000 个/ μ l,并以淋巴细胞为主;有文献报道结核感染者外周血或脑脊液 CD₄⁺ T 细胞、CD₈⁺ T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞均明显增加,并与疾病严重程度及患者预后密切相关。但细胞学检查易受到多种因素影响,诊断结核性脑膜炎的特异度欠佳^[32]。

6 小结

综上所述,虽然目前报道的结核性脑膜炎实验室诊断技术众多,但仍然缺乏一种简单、快捷、经济、可靠的实验室诊断技术,而现有的实验室诊断技术各有优缺点:(1)脑脊液细菌学检查出结核分枝杆菌仍是诊断结核性脑膜炎的“金标准”,但脑脊液涂片阳性检出率低,培养周期长,改良抗酸染色法及 BACTEC MGIT 960 系统对传统脑脊液涂片方法有所改进;(2)以 T-SPOT.TB 为代表的免疫学检查技术诊断结核性脑膜炎的灵敏度和特异度均很高,但其不能有效鉴别潜伏期感染及是否受到结核药物等因素的影响,尚需进一步研究;(3)目前 PCR 技术已非常成熟,且应用广泛,其诊断结核性脑膜炎的特异度接近 100%,但由于灵敏度较高,核酸扩增过程中产生的假阳性问题亟待解决;(4)脑脊液/血清 ADA、NSE 等生化指标检测对诊断结核性脑膜炎有一定帮助,但特异度较低;(5)实验室技术人员技术水平参差不齐,其检测效能和质量控制高低不一。

笔者总结认为:(1)各级医院应根据当地实际情况选择性开展结核性脑膜炎实验室诊断技术,并结合临床以提高结核性脑膜炎诊断效率;(2)实验室技术人员需进行规范培训及系统学习,并对目前的实验室诊断技术进行系统评价和比较,以了解各项诊断技术的优缺点;(3)开展多部门、多学科协作,进行结核性脑膜炎诊断技术的创新性开发;(4)结核性脑膜炎的基础研究方面还有很大发展空间,抗结核治疗后的临床随访对结核性脑膜炎实验室诊断技术的改良、创新有促进和启发作用。

参考文献

- [1] Ho J, Marais BJ, Gilbert GL, et al. Diagnosing tuberculous meningitis—have we made any progress? [J]. Trop Med Int Health, 2013, 18 (6): 783-793.
- [2] Thakur R, Goyal R, Sarma S, et al. Laboratory diagnosis of tuberculous meningitis - is there a scope for further improvement? [J]. J Lab Physicians, 2010, 2 (1): 21-24.
- [3] Thwaites GE. Advances in the diagnosis and treatment of tuberculous meningitis [J]. Curr Opin Neurol, 2013, 26 (3): 295-300.
- [4] Chen P, Shi M, Feng GD, et al. A highly efficient Ziehl-Neelsen stain: identifying de novo intracellular Mycobacterium tuberculosis and

- improving detection of extracellular *M. tuberculosis* in cerebrospinal fluid [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50 (4): 1166–1170.
- [5] Shao Y, Xia P, Zhu T, et al. Sensitivity and specificity of immunocytochemical staining of mycobacterial antigens in the cytoplasm of cerebrospinal fluid macrophages for diagnosing tuberculous meningitis [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49 (3): 3388–3391.
- [6] Hannan A, Hafeez A, Chaudary S, et al. Rapid confirmation of tuberculous meningitis in children by liquid culture media [J]. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2010, 22 (4): 171–175.
- [7] Piuri M, Jacobs WR Jr, Hatfull GF, et al. Fluoromycobacteriophages for rapid, specific, and sensitive antibiotic susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *PLoS One*, 2009, 4 (3): e4870.
- [8] Minion J, Pai M. Bacteriophage assays for rifampicin resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*: updated meta-analysis [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010, 14 (8): 941–951.
- [9] Ariga H, Harada N. Evolution of IGRA researches [J]. *Kekkaku*, 2008, 83 (9): 641–652.
- [10] Patel VB, Singh R, Connolly C, et al. Cerebrospinal T-cell responses aid in the diagnosis of tuberculous meningitis in a human immunodeficiency virus- and tuberculosis-endemic population [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182 (4): 569–577.
- [11] Patel VB, Singh R, Connolly C, et al. Comparative utility of cytokine levels and quantitative RD-1-specific T cell responses for rapid immunodiagnosis of tuberculous meningitis [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49 (11): 3971–3976.
- [12] Venkatesh K, Parija SC. Electroimmunotransfer blot assay for the detection of mycobacterial antigens in the cerebrospinal fluid for diagnosis of tubercular meningitis [J]. *Indian J Tuberc*, 2010, 57 (3): 141–147.
- [13] Patel VB, Bhigjee AI, Paruk HF, et al. Utility of a novel lipoarabinomannan assay for the diagnosis of tuberculous meningitis in a resource-poor high-HIV prevalence setting [J]. *Cerebrospinal Fluid Res*, 2009, 6: 13.
- [14] Kashyap RS, Shekhawat SD, Nayak AR, et al. Diagnosis of tuberculosis infection based on synthetic peptides from *Mycobacterium tuberculosis* antigen 85 complex [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2013, 115 (6): 678–683.
- [15] Kaushik A, Singh UB, Porwal C, et al. Diagnostic potential of 16 kDa (HspX, α -crystalline) antigen for serodiagnosis of tuberculosis [J]. *Indian J Med Res*, 2012, 135 (5): 771–777.
- [16] Takahashi T, Tamura M, Takasu T, et al. The PCR-Based Diagnosis of Central Nervous System Tuberculosis: Up to Date [J]. *Tuberc Res Treat*, 2012: 831292. [Epub 2012 May 13]. doi: 10.1155/2012/831292.
- [17] Nagdev KJ, Kashyap RS, Deshpande PS, et al. Determination of polymerase chain reaction efficiency for diagnosis of tuberculous meningitis in Chelex-100 extracted DNA samples [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010, 14 (8): 1032–1038.
- [18] Haldar S, Sankhyan N, Sharma N, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* GlcB or HspX Antigens or devR DNA impacts the rapid diagnosis of tuberculous meningitis in children [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (9): e44630.
- [19] Thakur R, Sarma S, Goyal R, et al. Comparison of DNA Extraction Protocols for *Mycobacterium Tuberculosis* in Diagnosis of Tuberculous Meningitis by Real-time Polymerase Chain Reaction [J]. *J Glob Infect Dis*, 2011, 3 (4): 353–356.
- [20] Kusum S, Aman S, Pallab R, et al. Multiplex PCR for rapid diagnosis of tuberculous meningitis [J]. *J Neurol*, 2011, 258 (10): 1781–1787.
- [21] Sharma K, Sharma A, Singh M, et al. Evaluation of polymerase chain reaction using protein b primers for rapid diagnosis of tuberculous meningitis [J]. *Neurol India*, 2010, 58 (5): 727–731.
- [22] Sastry AS, Bhat KS, Kumudavathi, et al. The Diagnostic Utility of Bact/ALERT and Nested PCR in the Diagnosis of Tuberculous Meningitis [J]. *J Clin Diagn Res*, 2013, 7 (1): 74–78.
- [23] Nagdev KJ, Kashyap RS, Parida MM, et al. Loop-mediated isothermal amplification for rapid and reliable diagnosis of tuberculous meningitis [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49 (5): 1861–1865.
- [24] 朱长太, 胡忠义. 结核性脑膜炎实验室诊断技术进展 [J]. *中国防痨杂志*, 2011, 33 (12): 822–824.
- [25] Sun Q, Sha W, Xiao HP, et al. Evaluation of cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity for the differential diagnosis of tuberculous and nontuberculous meningitis [J]. *Am J Med Sci*, 2012, 344 (2): 116–121.
- [26] Tuon FF, Higashino HR, Lopes MI, et al. Adenosine deaminase and tuberculous meningitis – a systematic review with meta-analysis [J]. *Scand J Infect Dis*, 2010, 42 (3): 198–207.
- [27] Moghtaderi A, Niazi A, Alavi-Naini R, et al. Comparative analysis of cerebrospinal fluid adenosine deaminase in tuberculous and non-tuberculous meningitis [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2010, 112 (6): 459–462.
- [28] Karsen H, Koruk ST, Karahocagil MK, et al. Comparative analysis of cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity in meningitis [J]. *Swiss Med Wkly*, 2011, 141: w13214.
- [29] Gupta BK, Bharat A, Debapriya B, et al. Adenosine Deaminase Levels in CSF of Tuberculous Meningitis Patients [J]. *J Clin Med Res*, 2010, 2 (5): 220–224.
- [30] Song TJ, Choi YC, Lee KY, et al. Serum and cerebrospinal fluid neuron-specific enolase for diagnosis of tuberculous meningitis [J]. *Yonsei Med J*, 2012, 53 (6): 1068–1072.
- [31] Kumar GS, Venugopal AK, Mahadevan A, et al. Quantitative proteomics for identifying biomarkers for tuberculous meningitis [J]. *Clin Proteomics*, 2012, 9 (1): 12.
- [32] Vidal JE, de Oliveira AC, Hernández AV, et al. CD4⁺ T-cell count and cerebrospinal fluid findings in HIV-infected patients with tuberculous meningitis [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010, 14 (11): 1496–1497.

(收稿日期: 2014-07-20; 修回日期: 2014-12-15)

(本文编辑: 鹿飞飞)