

# 脑脊液宏基因组学第二代测序辅助诊断中枢神经系统链球菌感染二例

狄晓萌 王佳伟 段泽君 刘磊

【关键词】 脑膜炎,肺炎球菌性; 脑脓肿; 脑脊髓液; 宏基因组学; 基因检测; 病例报告

【Key words】 Meningitis, pneumococcal; Brain abscess; Cerebrospinal fluid; Metagenomics; Genetic testing; Case reports

## Metagenomic next-generation sequencing assisted diagnosis of Streptococcal infection of central nervous system: two cases report

DI Xiao-meng<sup>1</sup>, WANG Jia-wei<sup>1</sup>, DUAN Ze-jun<sup>2</sup>, LIU Lei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China

<sup>2</sup>Department of Pathology, Sanbo Brain Hospital, Capital Medical University, Beijing 100093, China

Corresponding author: LIU Lei (Email: pathologyliu@163.com)

Conflicts of interest: none declared

**例 1** 男性, 53 岁, 主因头痛 7 天、发热伴意识障碍 4 天, 于 2019 年 7 月 5 日入院。患者 7 天前淋雨后出现头痛, 未予重视。4 天前晨起再次出现头痛, 伴恶心、呕吐, 无明显卡他症状, 无意识障碍, 当地医院诊断为“感冒”, 予藿香正气(具体剂量不详)止吐, 5 小时后出现意识障碍, 呼之可睁眼, 体温增至 39.4 °C, 再次至当地医院急诊行头部 CT 和 MRI 检查无明显异常; 胸部 CT 显示右侧肺门偏下增大, 双肺下叶片状高密度影、以右侧为著, 双侧少量胸腔积液可能性大; 腰椎穿刺脑脊液(CSF)呈黄色、浑浊, 压力 > 330 mm H<sub>2</sub>O (1 mm H<sub>2</sub>O = 9.81 × 10<sup>-3</sup> kPa, 80 ~ 180 mm H<sub>2</sub>O), 白细胞计数 6240 × 10<sup>6</sup>/L [(0 ~ 8) × 10<sup>6</sup>/L], 蛋白定量为 2790 mg/L (150 ~ 450 mg/L), 葡萄糖为 0.33 mmol/L (2.50 ~ 4.40 mmol/L), 氯化物水平为 107 mmol/L (120 ~ 130 mmol/L), 临床考虑化脓性脑膜炎, 遂予以阿昔洛韦 0.25 g/次 (3 次/d)、头孢曲松 3 g/d、美罗培南 2 g/次 (3 次/d) 联合万古霉素 0.80 g/次 (2 次/d) 静脉滴注经验性治疗, 治疗过程中出现躁动, 予咪达唑仑持续静脉泵入镇静, 连续 2 天

后转至我院神经内科急诊。急查血常规白细胞计数 17.53 × 10<sup>9</sup>/L [(3.50 ~ 9.50) × 10<sup>9</sup>/L]、中性粒细胞绝对值为 16.34 × 10<sup>9</sup>/L [(1.80 ~ 6.30) × 10<sup>9</sup>/L], 血清 C-反应蛋白水平为 217.40 mg/L (0 ~ 8 mg/L), 降钙素原为 11.34 ng/ml (< 0.05 ng/ml); 予以美罗培南 2 g/次 (3 次/d) 抗感染, 甘露醇 125 ml/次 (4 次/d) 脱水降低颅内压, 体温和意识状态较前好转, 遂以“中枢神经系统感染”收入神经内科病房。患者既往有 IgA 肾病和类风湿关节炎, 长期服用醋酸泼尼松、雷公藤多苷、来氟米特, 控制尚可; 右下肢截肢术后。入院后体格检查: 患者体温 37.6 °C, 呼吸 35 次/min, 脉搏为 120 次/min, 血压为 141/81 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa); 昏睡状态, 疼痛刺激可睁眼, 查体不配合, 双侧瞳孔等大、等圆, 直径约 2 mm, 对光反射存在, 双眼向左侧凝视, 无眼震; 面纹对称, 伸舌检查不配合, 双上肢可自主活动, 左下肢疼痛刺激无反应, 右下肢缺如, 左侧 Babinski 征阴性, Brudzinski 征阴性, Kernig 征阳性, 颈项强直, 颞下一掌。实验室检查: 腰椎穿刺脑脊液呈淡粉色(考虑穿刺伤)、微浑, 压力 230 mm H<sub>2</sub>O, 白细胞计数 220 × 10<sup>6</sup>/L, 多核细胞比例 79%、单核细胞比例 21%, 蛋白定量为 1715 mg/L, 葡萄糖 1.34 mmol/L, 氯化物于正常值范围, IgG 鞘内合成率、墨汁染色、抗酸染色、新型隐球菌荚膜抗原检测、结核分枝杆菌检测及耐药基因检测均未见异常, 脑脊液细菌和真菌培养阴性。采集

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2024.04.008

作者单位: 100730 首都医科大学附属北京同仁医院神经内科(狄晓萌, 王佳伟, 刘磊); 100093 北京, 首都医科大学三博脑科医院病理科(段泽君)

通讯作者: 刘磊, Email: pathologyliu@163.com

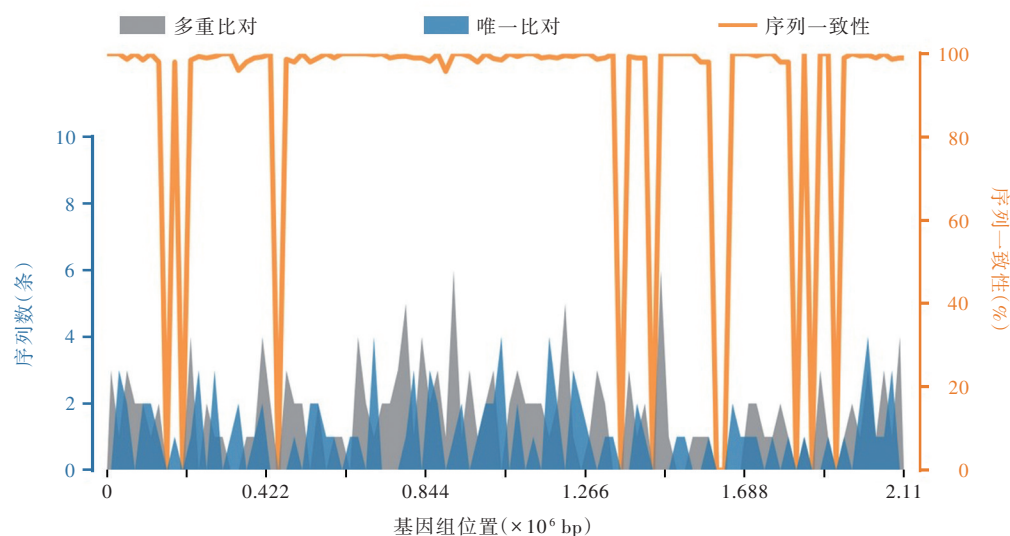


图1 例1重复送检冻存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱的脑脊液样本mNGS测序显示,肺炎链球菌基因组的总碱基数为2 110 968 bp,序列覆盖的总长度为8951 bp,覆盖度为0.424%,平均深度为 $1\times$

**Figure 1** mNGS in Case 1 (re-tested CSF samples stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  refrigerator) showed *Streptococcus pneumoniae* was detected by mNGS in CSF, the total number of bases in the sequence was 2 110 968 bp, the total length of the sequence coverage was about 8951 bp, the genome coverage was 0.424%, and the average sequencing depth was  $1\times$ .

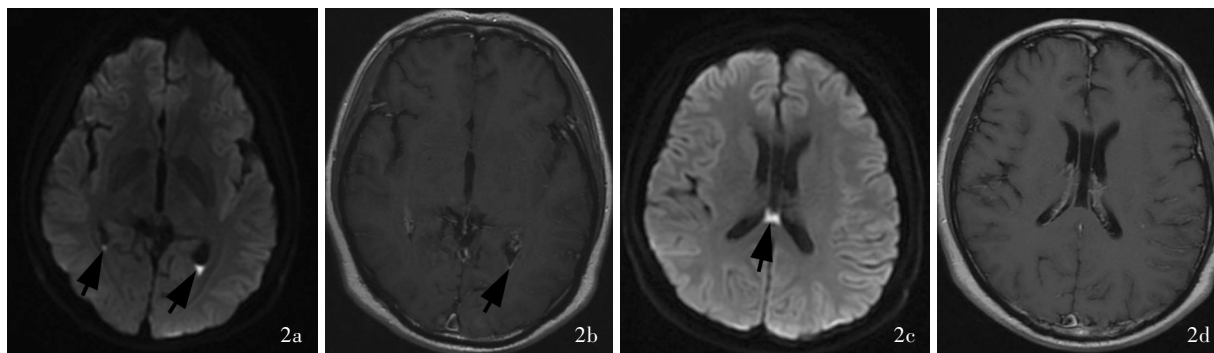


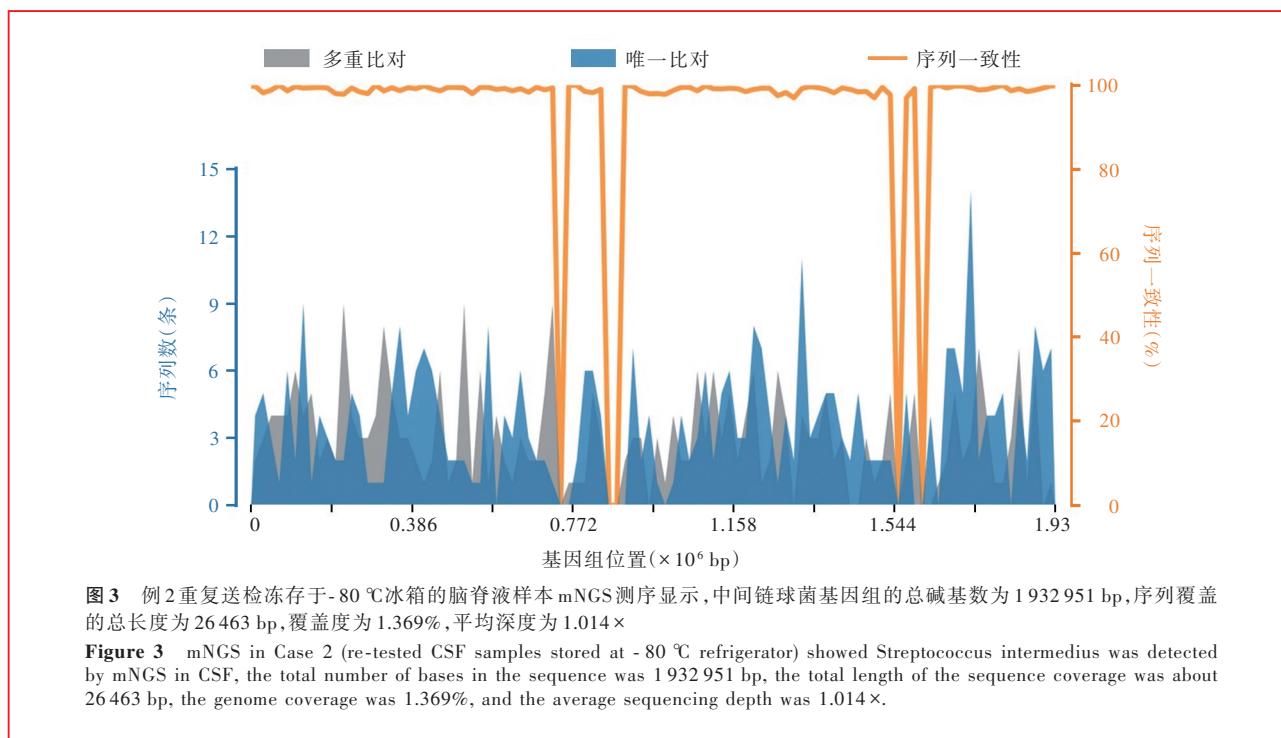
图2 例1头部MRI检查所见 2a 横断面DWI显示双侧侧脑室枕角高信号,提示液-液平(箭头所示) 2b 横断面增强 $T_1\text{WI}$ 未见右侧侧脑室强化征象,可见左侧侧脑室枕角室管膜轻度线样强化(箭头所示) 2c 横断面DWI显示第三脑室后部高信号,提示液-液平(箭头所示) 2d 横断面增强 $T_1\text{WI}$ 未见第三脑室后部异常强化征象

**Figure 2** Cranial MRI findings of Case 1 Axial DWI showed hyperintensity in bilateral occipital horn of the lateral ventricles, suggesting fluid-fluid planes (arrows indicate, Panel 2a). Axial enhanced  $T_1\text{WI}$  showed no enhancement in the occipital horn of the right lateral ventricle but mild rim-like ependymal enhancement in the horn of the left lateral ventricle (arrow indicates, Panel 2b). Axial DWI showed hyperintensity in the posterior portion of the third ventricle, suggesting fluid-fluid planes (arrow indicates, Panel 2c). Axial enhanced  $T_1\text{WI}$  showed no signs of abnormal enhancement of the posterior portion of the third ventricle (Panel 2d).

脑脊液4 ml行宏基因组学第二代测序(mNGS,送检北京金匙基因科技有限公司),显示肺炎链球菌序列数为385条;重复送检脑脊液标本,mNGS测序显示肺炎链球菌序列数为104条(图1)。头部MRI可见双侧侧脑室枕角及第三脑室液-液平,双侧额叶皮质下白质脱髓鞘改变(图2)。临床诊断为化脓性脑膜炎,抗生素由美罗培南2 g/次(3次/d)静脉滴注改为头孢曲松2 g/次(2次/d)静脉滴注,共14天,治疗过程中意识转清,对答切题,体温恢复正常,遂停用头孢曲松(7月21日)。复查脑脊液(7月22日),白

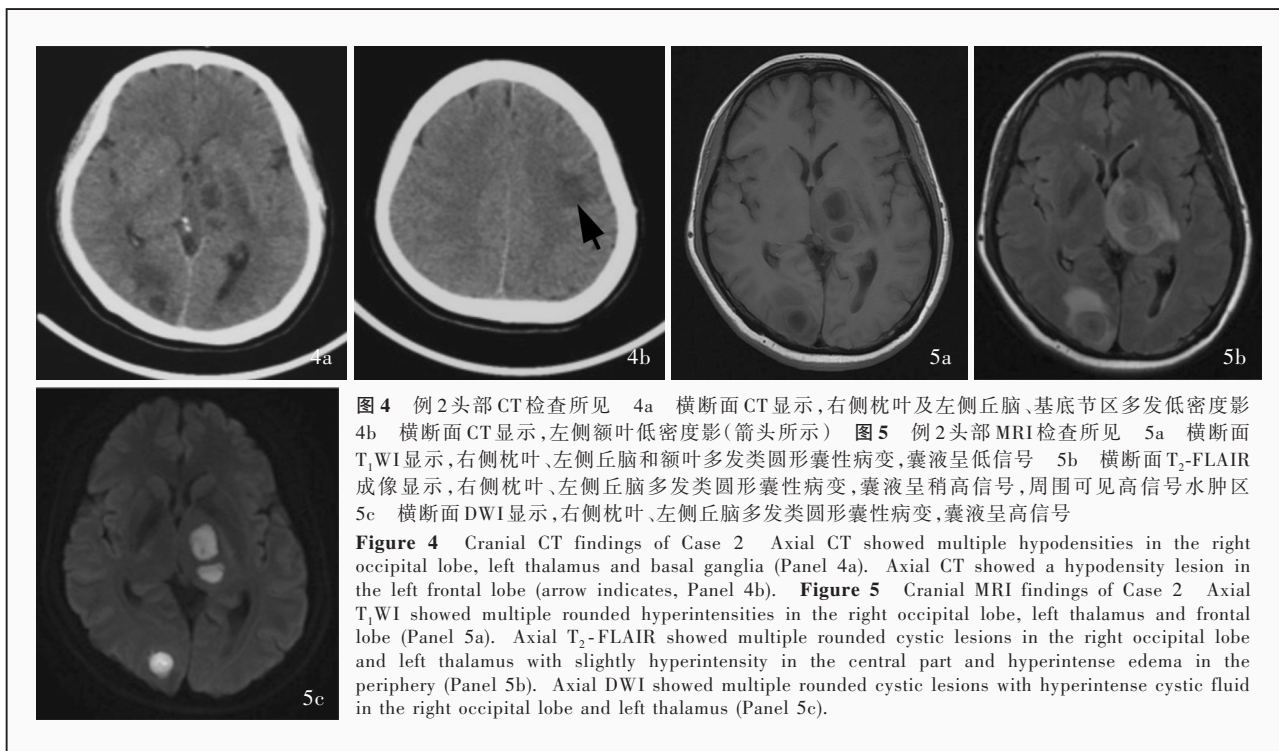
细胞计数降至 $14\times 10^6/\text{L}$ ,压力、生化均正常,肺炎链球菌抗原检测试剂盒(胶体金法,美国Abbott公司)检测脑脊液肺炎链球菌抗原呈阳性。患者共住院21天,出院时症状完全缓解,神志清楚,体温正常,无头痛等不适主诉。出院后1个月电话随访,无遗留症状,未再复查实验室及影像学指标。

**例2** 女性,49岁,因间断发热、头痛20天,右侧肢体无力、言语不清6天,于2018年11月13日入院。患者20天前无明显诱因出现间断性发热,体温最高 $38.7^{\circ}\text{C}$ ,伴头痛、呕吐,无明显卡他症状,无意



识障碍,急诊至我院就诊,实验室检查血常规白细胞计数  $22.74 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞绝对值为  $19.81 \times 10^9/L$ 、血清C-反应蛋白  $178 \text{ mg/L}$ 、尿常规尿沉渣白细胞计数  $185 \text{ 个}/\mu\text{l}$  ( $0 \sim 30 \text{ 个}/\mu\text{l}$ ),提示细菌感染,临床诊断为“泌尿系统感染”,予头孢克肟  $0.10 \text{ g/次}$  ( $2 \text{ 次}/\text{d}$ )和左氧氟沙星  $0.50 \text{ g/d}$ 口服抗感染治疗后无明显好转。6天前出现右侧肢体无力,右上肢为著,无明显感觉异常,伴言语不清,无吞咽困难、饮水呛咳,无意识障碍,无视力和听力下降,无肢体抽搐、大小便失禁。3天前头部MRI检查显示,左侧丘脑、基底节区、大脑脚、左侧顶叶、右侧枕叶多发稍长  $T_1$ 、长  $T_2$ 信号。急诊以“颅内占位性病变”收入神经外科病房。患者30年前患膀胱炎,经抗感染治疗(具体方案不详)后好转;甲癣5年,未进行特殊处理。入院后体格检查:体温  $36.9 \text{ }^\circ\text{C}$ ,呼吸  $17 \text{ 次}/\text{min}$ ,脉搏  $76 \text{ 次}/\text{min}$ ,血压  $125/57 \text{ mm Hg}$ ,指甲和趾甲可见甲癣;神志清楚,不完全运动性失语,双眼粗测视力正常,双侧瞳孔等大、等圆,直径约  $3 \text{ mm}$ ,对光反射灵敏,各向眼动充分,无眼震,面纹对称,伸舌居中;右下肢肌力2级、右上肢0级,左侧肢体肌力5级,四肢肌张力正常,双侧肢体感觉对称,右侧肢体共济运动检查不配合,右侧Babinski征阳性,脑膜刺激征阴性。实验室检查:血常规白细胞计数和中性粒细胞绝对值正常,血清C-反应蛋白  $17.37 \text{ mg/L}$ ,白蛋白  $28.10 \text{ g/L}$  ( $35 \sim 52 \text{ g/L}$ ),碱性磷酸酶  $160 \text{ U/L}$  ( $40 \sim$

$150 \text{ U/L}$ ), $\gamma$ -谷氨酰转氨酶  $98 \text{ U/L}$  ( $5 \sim 50 \text{ U/L}$ );腰椎穿刺脑脊液压力  $220 \text{ mm H}_2\text{O}$ ,白细胞计数  $3 \times 10^6/L$ ,蛋白定量  $917.60 \text{ mg/L}$ ,葡萄糖、氯化物于正常值范围,抗酸染色、墨汁染色呈阴性,脑脊液细菌涂片和细菌培养呈阴性。采集脑脊液  $4 \text{ ml}$ 行mNGS测序,显示中间型链球菌序列数为306条,巨细胞病毒序列数为3条;重复送检脑脊液标本,mNGS测序显示中间型链球菌序列数为355条,巨细胞病毒序列数为6条(图3)。头部CT显示,右侧顶枕叶以及左侧丘脑、基底节区、放射冠和额叶多发片状和环状低密度影,中线结构右侧移位(图4);MRI显示,右侧枕叶以及左侧丘脑和额叶多发类圆形长  $T_1$ 、长  $T_2$ 信号影,DWI高信号,周围环绕更高信号(图5)。临床诊断为脑脓肿,遂予美罗培南  $2 \text{ g/次}$  ( $3 \text{ 次}/\text{d}$ )和万古霉素  $1000 \text{ mg/次}$  ( $2 \text{ 次}/\text{d}$ )静脉滴注抗感染治疗。入院第8天(11月20日)症状突然加重,出现昏迷,予甘露醇  $250 \text{ ml/次}$  ( $3 \text{ 次}/\text{d}$ )静脉滴注强化脱水降低颅内压后意识转清;入院第13天(11月26日)转至外院继续治疗,并于11月30日在局部麻醉下行立体定向右侧枕叶和左侧丘脑脓肿穿刺引流术,术中抽出淡黄色浓稠液体  $6 \text{ ml}$ 。穿刺引流术中取左侧基底节组织,术后病理学检查显示,左侧基底节呈疏松水肿组织,其内散在小血管周围淋巴细胞“套袖”形成,脑实质内可见神经胶质细胞增生、淋巴细胞浸润,未见明确化脓性炎症、肿瘤及血管畸形,不除外



**图 4** 例 2 头部 CT 检查所见 4a 横断面 CT 显示,右侧枕叶及左侧丘脑、基底节区多发低密度影 4b 横断面 CT 显示,左侧额叶低密度影(箭头所示) **图 5** 例 2 头部 MRI 检查所见 5a 横断面 T<sub>1</sub>WI 显示,右侧枕叶、左侧丘脑和额叶多发类圆形囊性病变,囊液呈低信号 5b 横断面 T<sub>2</sub>-FLAIR 成像显示,右侧枕叶、左侧丘脑多发类圆形囊性病变,囊液呈稍高信号,周围可见高信号水肿区 5c 横断面 DWI 显示,右侧枕叶、左侧丘脑多发类圆形囊性病变,囊液呈高信号

**Figure 4** Cranial CT findings of Case 2 Axial CT showed multiple hypodensities in the right occipital lobe, left thalamus and basal ganglia (Panel 4a). Axial CT showed a hypodensity lesion in the left frontal lobe (arrow indicates, Panel 4b). **Figure 5** Cranial MRI findings of Case 2 Axial T<sub>1</sub>WI showed multiple rounded hyperintensities in the right occipital lobe, left thalamus and frontal lobe (Panel 5a). Axial T<sub>2</sub>-FLAIR showed multiple rounded cystic lesions in the right occipital lobe and left thalamus with slightly hyperintensity in the central part and hyperintense edema in the periphery (Panel 5b). Axial DWI showed multiple rounded cystic lesions with hyperintense cystic fluid in the right occipital lobe and left thalamus (Panel 5c).

病变边缘可能(图 6)。引流液涂片提示革兰阳性球菌。予以头孢曲松 2 g/次(2 次/d)和甲硝唑 0.40 g/次(3 次/d)静脉滴注抗感染治疗,共 14 天,左侧肢体无力和言语不清较前好转,体温恢复正常,复查外周血 C-反应蛋白较前下降;复查 MRI 提示脓肿较前缩小,周围水肿程度较前减轻。出院后 6 个月后电话随访,遗留轻微肢体力弱、言语欠流利。

## 讨 论

链球菌属(*Streptococcus*)是化脓性球菌中的常见革兰阳性球菌,广泛分布于自然界以及健康人鼻咽部,大部分属正常菌群,通常不致病。致病性链球菌主要包括化脓性链球菌、肺炎链球菌(*Str. pneumoniae*)和中间型链球菌(*Str. intermedius* group),其中,肺炎链球菌为细菌性脑膜炎最常见、病死率最高的病原菌,最初定植于呼吸道等黏膜,因乳突炎等骨质缺陷或血行播散侵入软脑膜<sup>[1]</sup>。既往一项对颅内感染患者脑脊液病原学检测的回顾性研究显示,通过脑脊液细菌培养检出的革兰阳性菌依次为凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、肠球菌<sup>[2]</sup>。成人社区获得性急性细菌性脑膜炎的主要致病菌包括肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌和单核细胞增生李斯特菌,其中肺炎链球菌脑膜炎在 ≤ 5 岁儿童和 ≥ 65 岁老年人中较脑膜炎奈瑟

菌脑膜炎更常见,除年龄外,其他因素也参与社区获得性细菌性脑膜炎的发生,免疫力低下(如寒冷刺激、感冒、麻疹和应用免疫抑制药)或免疫功能缺陷的成年人患肺炎链球菌脑膜炎的风险增加,应注意与病毒性脑膜炎、自身免疫性脑炎(AE)、药物诱导的无菌性脑膜炎、脑膜癌病等相鉴别<sup>[3]</sup>。既往数十年因肺炎球菌结合疫苗的普遍接种,肺炎链球菌脑膜炎的全球发病率大幅下降<sup>[4]</sup>。

肺炎链球菌主要通过 3 种途径侵入中枢神经系统:(1)经颅内动脉穿支的毛细血管后小静脉进入血管周围间隙组织液,随后经与之相通的蛛网膜下腔进入软脑膜。(2)经蛛网膜下腔脑膜血管的毛细血管后小静脉进入蛛网膜下腔脑脊液,随后经蛛网膜下腔进入血管周围间隙和脑组织。(3)经脑室血管穿过脉络丛上皮进入脑脊液,随后进入脑组织和软脑膜<sup>[5]</sup>。除血行播散外,肺炎链球菌还可通过邻近部位直接蔓延(如鼻窦炎和中耳炎)<sup>[6]</sup>。肺炎链球菌脑膜炎主要表现为急性发热、惊厥发作、意识障碍、颅内压增高和脑膜刺激征,腰椎穿刺脑脊液外观浑浊,白细胞计数明显增加(> 1000 个/μl),蛋白定量明显升高(总蛋白 > 10 000 mg/L),葡萄糖降低(< 1.67 mmol/L)且脑脊液葡萄糖/血糖比值 < 0.30,但仍有 1/3 患者无上述典型表现<sup>[7]</sup>。最新研究显示,延迟应用抗生素是肺炎链球菌脑膜炎患者死

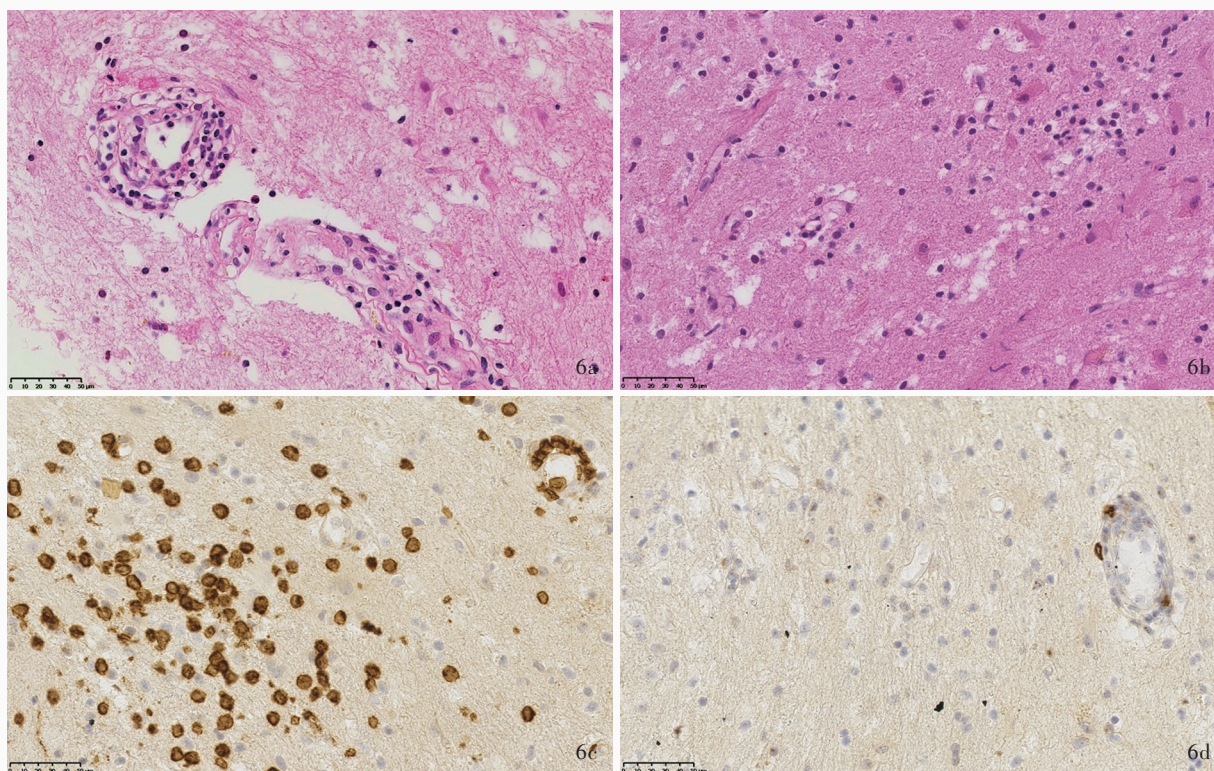


图6 例2左侧基底节病变光学显微镜观察所见 ×400 6a 水肿脑组织内散在小血管周围淋巴细胞“套袖”形成 HE染色 6b 脑实质内可见星形胶质细胞增生及散在淋巴细胞浸润 HE染色 6c 炎性细胞主要为CD3<sup>+</sup>T细胞 免疫组化染色(EnVision二步法) 6d 仅见个别CD20<sup>+</sup>B细胞 免疫组化染色(EnVision二步法)

**Figure 6** Light microscopy findings of left basal ganglia of Case 2 ×400 There was brain edema with scattered perivascular lymphocytic cuffing (Panel 6a). HE staining Astrocyte infiltration and scattered lymphocytic infiltration were noted in the brain parenchymal lesions (Panel 6b). HE staining The main component inflammatory cells were CD3<sup>+</sup>T lymphocytes (Panel 6c). Immunohistochemical staining (EnVision) There were few CD20<sup>+</sup>B lymphocytes (Panel 6d). Immunohistochemical staining (EnVision)

亡的独立预测因素<sup>[8]</sup>。根据2023年《德国成人社区获得性急性细菌性脑膜炎指南》，肺炎链球菌脑膜炎的抗生素治疗，若药敏试验提示第三代头孢菌素(头孢曲松/头孢噻肟)敏感，推荐首选头孢曲松、美罗培南；若头孢曲松/头孢噻肟耐药，则选择头孢曲松联合万古霉素或者头孢曲松联合利福平或美罗培南<sup>[9]</sup>。肺炎链球菌脑膜炎病死率较高，尽管抗生素治疗敏感，生存患者出现远期后遗症的风险仍较高，全身并发症包括肾功能衰竭、呼吸衰竭和感染性休克，神经系统并发症包括脑脓肿、脑炎、癫痫、脑梗死、脑积水和认知功能障碍等<sup>[5,8]</sup>。联合应用糖皮质激素可显著降低病死率和并发症发生率<sup>[7,10]</sup>。本文例1为中年男性，合并IgA肾病和类风湿关节炎，长期服用激素等多种免疫抑制药，淋雨受凉为发病诱因，实验室检查外周血白细胞计数、中性粒细胞绝对值、C-反应蛋白和降钙素原明显升高，提示细菌感染，胸部CT提示双肺下叶片状高密度影，支持肺炎链球菌肺炎表现，脑脊液mNGS测序提示肺

炎链球菌感染，尽管脑脊液细菌培养呈阴性，但肺炎链球菌抗原检测呈阳性，且对头孢曲松敏感，支持肺炎链球菌脑膜炎的诊断。

中间型链球菌属包括3种菌种，即中间型链球菌(*Str. intermedius*)、星座链球菌(*Str. contellatus*)和咽峡链球菌(*Str. anginosus*)，是一种β溶血性革兰阳性链球菌，存在于健康人口腔、上呼吸道、泌尿生殖系统和消化道，为正常菌群<sup>[11]</sup>，但特定条件如免疫力低下时可致病，引起牙周脓肿、脓胸、肝脓肿、盆腔脓肿及脑脓肿等，常与厌氧菌同时存在<sup>[12]</sup>。刷牙等口腔科操作可导致中间型链球菌血行播散，其他潜在危险因素包括鼻窦炎、糖尿病病史、酗酒、先天性心脏病、癌症等。中间型链球菌表达1个或多个结构和抗原相关的表面蛋白家族成员，称为链球菌表面抗原I/II，该抗原与人纤维连接蛋白和层黏连蛋白结合，诱导单核细胞释放白细胞介素-8(IL-8)，激活中性粒细胞趋化作用，促进炎性因子释放，导致组织损伤。中间型链球菌可产生多种促组织液

化和脓液形成的水解酶,如透明质酸酶、DNA 酶和硫酸软骨素裂解酶。脑脓肿的形成与中间型链球菌产生的透明质酸酶密切相关,透明质酸酶的降解产物可以作为细菌的营养来源;透明质酸酶可以增加结缔组织通透性,使微生物和毒素易于在组织间播散,还通过不同机制参与生物膜的形成,有助于保护病原体免受宿主防御并降低宿主对抗生素的敏感性<sup>[13]</sup>。脑脓肿是一种局灶性感染,通常为病原体自外周播散至脑实质,其形成经历以下阶段:急性脑炎阶段炎性细胞浸润,随后出现局部脑组织液化,逐渐进展为化脓阶段,1~2 周后逐渐被肉芽组织和血管周围结缔组织包裹,形成脓肿包膜<sup>[14]</sup>。脑脓肿发病机制包括:(1)直接蔓延,鼻窦、牙龈、中耳或乳突处感染通过引流上述区域的无静脉瓣引流静脉,流入入脑静脉。(2)血行播散,通常发生于肺部、胆道、盆腔、牙周及皮肤等远隔感染部位,可导致多发性脑脓肿。(3)穿透性颅脑创伤或神经外科手术。亦有高达 30% 的脑脓肿呈隐源性,即未发现明确的原发感染灶<sup>[15]</sup>。MRI 表现为 T<sub>1</sub>WI 低信号,脓肿壁呈环状等或略低信号,增强扫描呈均匀强化,周围可见明显水肿,亦可合并脑出血;T<sub>2</sub>WI 高信号,病灶边缘可见环状稍低信号,可能为坏死碎片或吞噬细胞;DWI 高信号,ADC 降低或不降低。抗生素治疗方案为青霉素联合氯霉素,广谱且可透过血脑屏障,生物利用度较高,但杀菌活性较低且不良反应较明显。近年来,中间型链球菌对青霉素、头孢菌素、大环内酯类、喹诺酮类和林可霉素类抗生素的敏感性逐渐降低,脑脓肿相关中间型链球菌对第 3 代头孢菌素(头孢噻肟/头孢吡肟)、万古霉素和亚胺培南较敏感。此外,脓肿引流术是体积较大的脑脓肿的重要干预措施<sup>[12]</sup>。本文例 2 为中年女性,CT 和 MRI 提示颅内多发脓肿,实验室检查外周血白细胞计数、中性粒细胞绝对值、C-反应蛋白明显升高,提示细菌感染血行播散至颅内可能性大,但既往无明确免疫功能受损病史,始终未发现原发感染灶,因此认为为隐源性脑脓肿,由于存在脓肿包膜,脑脊液白细胞计数正常且细菌培养阴性,脓肿引流液病理学未发现感染直接证据,引流液涂片提示革兰阳性球菌,与脑脊液 mNGS 测序吻合,由于脓肿局限形成包膜及其占位效应,本文患者接受敏感抗生素治疗过程中仍临床症状加重,脑脓肿穿刺引流术可快速清除脓肿腔内脓液并减轻占位效应,临床症状迅速缓解。

中枢神经系统感染性疾病的传统实验室诊断方法包括脑脊液涂片革兰染色、抗酸染色、墨汁染色、细菌培养等,脑脊液乳酸和降钙素原测定对区分细菌性与病毒性感染具有较高的敏感性<sup>[16]</sup>,特别是细菌培养被认为是细菌性脑膜炎诊断的“金标准”,但传统病原学检测的检出率较低,主要是由于脑脊液标本微生物数量较少、部分微生物培养条件较高、脑脊液标本质量较低、腰椎穿刺前已应用抗生素等<sup>[17]</sup>,且培养耗时较长,导致敏感抗生素开始治疗时间延迟。聚合酶链反应(PCR)包括多重 PCR、16s rRNA PCR 等,可快速检测微生物的 DNA 或 RNA(包括非活性菌核酸)且不受传统培养条件的限制,显著提高中枢神经系统感染性疾病的诊断率<sup>[18-19]</sup>。此外,微生物培养和 PCR 均呈阴性的疑似肺炎链球菌感染,还可补充尿抗原测定进一步确认。mNGS 测序可以克服 PCR 等靶向诊断方法的局限性,具有敏感性高、覆盖病原体广泛、检验效率高和无偏倚性的特点,对中枢神经系统罕见和机会性病原体感染(如曲霉菌<sup>[20]</sup>、奴卡菌<sup>[21]</sup>、JC 病毒<sup>[22]</sup>、弓形体<sup>[23]</sup>)的检测存在明显优势,亦可对病原体进行耐药分析,指导临床抗生素的选择和应用<sup>[24-26]</sup>。然而,mNGS 测序仍存在一定的局限性:(1)若病原微生物序列不在数据库范围内,则无法通过比对识别。(2)存在将环境背景微生物或实验室污染误判为感染的风险(特别是某些条件致病菌)。(3)对某些 RNA 病毒覆盖不全面。(4)对某些免疫介导机制起主要作用的中枢神经系统感染(如流行性乙型脑炎)的诊断仍主要依靠血清学检测,mNGS 测序通常呈阴性。(5)高宿主 DNA 背景可导致病原体 DNA 序列滴度相对较低,从而减弱 mNGS 测序敏感性<sup>[27-29]</sup>。因此,临床实践中需与传统病原学检验方法相结合,多角度验证 mNGS 测序结果。对于已形成脑脓肿的中枢神经系统感染性疾病,除常规脑脊液检查外,外科手术对鉴别致病菌也有重要意义,随着立体定向技术的发展,直径 < 1 cm 的脑脓肿也可予以立体定向穿刺引流术并进行病原体鉴定<sup>[30]</sup>。

综上所述,肺炎链球菌是成人急性细菌性脑膜炎的最常见病原体,其诊断与治疗技术近年不断提升,但病死率和病残率仍较高。脑脓肿的主要病原体已由葡萄球菌向链球菌转变,中间型链球菌是细菌性脑脓肿的常见病原体,由于脑脓肿感染较局限,传统病原学检测的检出率较低,应早期进行脑脊液微生物培养、抗原检测、PCR 联合 mNGS 测序

等,此外,立体定向穿刺引流术采集引流液进行检测可以快速提升病原体检出率,并指导抗生素的选择和应用,可减少脑积水、脑疝等严重并发症的发生,对改善预后至关重要。

利益冲突 无

### 参 考 文 献

- [1] van de Beek D, Brouwer M, Hasbun R, Koedel U, Whitney CG, Wijdicks E. Community-acquired bacterial meningitis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2:16074.
- [2] Sun DB, Wang M, Guo Y. Distribution and drug resistance of cerebrospinal fluid pathogenic bacteria in hospitalized patients[J]. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2020, 20:455-459.[孙登彬,王猛,郭焯.住院患者脑脊液病原菌分布及其耐药分析[J].中国现代神经疾病杂志,2020,20:455-459.]
- [3] van de Beek D, Brouwer MC, Koedel U, Wall EC. Community-acquired bacterial meningitis[J]. Lancet, 2021, 398:1171-1183.
- [4] McGill F, Heyderman RS, Panagiotou S, Tunkel AR, Solomon T. Acute bacterial meningitis in adults[J]. Lancet, 2016, 388:3036-3047.
- [5] Gil E, Wall E, Noursadeghi M, Brown JS. Streptococcus pneumoniae meningitis and the CNS barriers [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 12:1106596.
- [6] Marra A, Brigham D. Streptococcus pneumoniae causes experimental meningitis following intranasal and otitis media infections via a nonhematogenous route [J]. Infect Immun, 2001, 69:7318-7325.
- [7] Koelman DLH, Brouwer MC, Ter Horst L, Bijlsma MW, van der Ende A, van de Beek D. Pneumococcal meningitis in adults: a prospective nationwide cohort study over a 20-year period[J]. Clin Infect Dis, 2022, 74:657-667.
- [8] Martín-Cerezuela M, Aseginolaza-Lizarazu M, Boronat-García P, Asensio-Martín MJ, Alamán-Laguarda G, Álvarez-Lerma F, Roa-Alonso D, Socías L, Vera-Artúzcov P, Ramírez-Gallego P; Grupo de Trabajo en Infección y Sepsis (GTEIS) from the Sociedad Española de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias (SEMICYUC). Severe community-acquired Streptococcus pneumoniae bacterial meningitis: clinical and prognostic picture from the intensive care unit [J]. Crit Care, 2023, 27:72.
- [9] Klein M, Abdel-Hadi C, Bühler R, Grabein B, Linn J, Nau R, Salzberger B, Schlüter D, Schwager K, Tumani H, Weber J, Pfister HW. German guidelines on community-acquired acute bacterial meningitis in adults[J]. Neurol Res Pract, 2023, 5:44.
- [10] Buchholz G, Koedel U, Pfister HW, Kastenbauer S, Klein M. Dramatic reduction of mortality in pneumococcal meningitis[J]. Crit Care, 2016, 20:312.
- [11] Jensen A, Hoshino T, Kilian M. Taxonomy of the Anginosus group of the genus Streptococcus and description of Streptococcus anginosus subsp. whileyi subsp. nov. and Streptococcus constellatus subsp. viborgensis subsp. nov.[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2013, 63(Pt 7):2506-2519.
- [12] Issa E, Salloum T, Tokajian S. From normal flora to brain abscesses: a review of Streptococcus intermedius [J]. Front Microbiol, 2020, 11:826.
- [13] Mishra AK, Fournier PE. The role of Streptococcus intermedius in brain abscess[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2013, 32:477-483.
- [14] Brouwer MC, Tunkel AR, McKhann GM 2nd, van de Beek D. Brain abscess[J]. N Engl J Med, 2014, 371:447-456.
- [15] Menon S, Bharadwaj R, Chowdhary A, Kaundinya DV, Palande DA. Current epidemiology of intracranial abscesses: a prospective 5 year study[J]. J Med Microbiol, 2008, 57(Pt 10):1259-1268.
- [16] Sakushima K, Hayashino Y, Kawaguchi T, Jackson JL, Fukuhara S. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis: a meta-analysis[J]. J Infect, 2011, 62:255-262.
- [17] Nemescu RE, Iancu LS, Dorneanu OS, Ursu RG, Dorobăţ CM. Influence of antibiotic therapy prior to admission on the efficacy of classical methods for the diagnosis of meningococcal disease [J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2014, 118:497-502.
- [18] Diallo K, Fetei VF, Ibe L, Antonio M, Caugant DA, du Plessis M, Deghmane AE, Feavers IM, Fernandez K, Fox LM, Rodrigues CMC, Ronveaux O, Taha MK, Wang X, Brueggemann AB, Maiden MCJ, Harrison OB. Molecular diagnostic assays for the detection of common bacterial meningitis pathogens: a narrative review[J]. EbioMedicine, 2021, 65:103274.
- [19] Abdeldaim GM, Strålin K, Korsgaard J, Blomberg J, Welinder-Olsson C, Herrmann B. Multiplex quantitative PCR for detection of lower respiratory tract infection and meningitis caused by Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae and Neisseria meningitidis[J]. BMC Microbiol, 2010, 10:310.
- [20] Lin CX, Yang H, Zhang H. Cerebral infarction associated with Aspergillus infection in the central nervous system: a case report [J]. Zhong Feng Yu Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2022, 39:1027-1029.[林彩秀,杨卉,张灏.中枢神经系统曲霉菌感染相关脑梗死病例1例报告[J].中风与神经疾病杂志,2022,39:1027-1029.]
- [21] Meng C, Li R, Liu L, Wang JW. Infection of nocardia farcinica in central nervous system: one case report [J]. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2021:391-394.[孟超,李然,刘磊,王佳伟.中枢神经系统鼻疽奴卡菌感染一例[J].中国现代神经疾病杂志,2021,21:391-394.]
- [22] Zhang LH, Luo S, Xu ST, Li SJ, Hu WX, Xie HL. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with systemic lupus erythematosus diagnosed by cerebrospinal fluid next-generation sequencing test twice [J]. Shen Zang Bing Yu Tou Xi Shen Yi Zhi Za Zhi, 2022, 31:595-600.[张丽华,罗松,许书添,李世军,胡伟新,谢红浪.两次脑脊液宏基因组二代测序诊断系统性红斑狼疮并发进行性多灶性白质脑病[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2022,31:595-600.]
- [23] Tian P, Yang L, Fu JM, Liang HM, Fan XW. Diagnosis of AIDS combined with toxoplasmic encephalitis by cerebrospinal fluid next-generation sequencing: a case report [J]. Zhong Feng Yu Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2020, 37:378-379.[田盼,杨丽,付建敏,梁花敏,范学文.脑脊液二代测序诊断艾滋病合并弓形虫脑炎1例报告[J].中风与神经疾病杂志,2020,37:378-379.]
- [24] Boolchandani M, D'Souza AW, Dantas G. Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20:356-370.
- [25] Brown JR, Bharucha T, Breuer J. Encephalitis diagnosis using metagenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases [J]. J Infect, 2018, 76:225-240.
- [26] Li ZY, Dang D, Wu H. Next-generation sequencing of cerebrospinal fluid for the diagnosis of unexplained central nervous system infections [J]. Pediatr Neurol, 2021, 115:10-20.
- [27] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection [J]. Annu Rev Pathol, 2019, 14:319-338.
- [28] Wilson MR, O'Donovan BD, Gelfand JM, Sample HA, Chow FC, Betjemann JP, Shah MP, Richie MB, Gorman MP, Hajj-Ali RA, Calabrese LH, Zorn KC, Chow ED, Greenlee JE, Blum JH,

- Green G, Khan LM, Banerji D, Langelier C, Bryson-Cahn C, Harrington W, Lingappa JR, Shanbhag NM, Green AJ, Brew BJ, Soldatos A, Strnad L, Doernberg SB, Jay CA, Douglas V, Josephson SA, DeRisi JL. Chronic meningitis investigated via metagenomic next-generation sequencing [J]. *JAMA Neurol*, 2018, 75:947-955.
- [29] Wilson MR, Sample HA, Zorn KC, Arevalo S, Yu G, Neuhaus J, Federman S, Stryke D, Briggs B, Langelier C, Berger A, Douglas V, Josephson SA, Chow FC, Fulton BD, DeRisi JL, Gelfand JM, Naccache SN, Bender J, Dien Bard J, Murkey J, Carlson M, Vespa PM, Vijayan T, Allyn PR, Campeau S, Humphries RM, Klausner JD, Ganzon CD, Memar F, Ocampo NA, Zimmermann LL, Cohen SH, Polage CR, DeBiasi RL, Haller B, Dallas R, Maron G, Hayden R, Messacar K, Dominguez SR, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380:2327-2340.
- [30] Barlas O, Sencer A, Erkan K, Eraksoy H, Sencer S, Bayindir C. Stereotactic surgery in the management of brain abscess [J]. *Surg Neurol*, 1999, 52:404-410.

(收稿日期:2024-02-26)

(本文编辑:彭一帆)

## · 读者 · 作者 · 编者 ·

### 《中国现代神经疾病杂志》编辑部关于稿件作者署名、关键词选取、基金项目著录和摘要撰写的要求

《中国现代神经疾病杂志》编辑部对来稿中的作者署名、关键词选取、基金项目著录和摘要撰写的具体要求如下:

1. 作者署名 作者应是参与文稿专题研究工作的主要人员,应对全文内容负责,并能根据编辑部的修改意见进行核修,是论文的法定主权人和责任者。作者署名的次序应按参加者对论文的贡献大小排序。排序应在投稿时确定,在编排过程中不应再作更改。对仅参与提供资金或收集资料者不能列为作者;仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。集体署名的文章,必须明确该文的主要负责人(执笔者)。作者中若有外籍作者,应征得本人同意,并有证明信。对协助工作或提供资料、材料者,可放在文后致谢,但亦应事先征得被感谢人的同意。作者单位名称(应写全称)及邮政编码脚注于文章首页左下方,同时应注明通讯作者姓名及其Email地址。

2. 关键词选取 论著类稿件均应标引3~5个关键词。关键词请尽量选取美国国立医学图书馆编辑的最新版 *Index Medicus* 中医学主题词表 (*MeSH*) 内所列的词。若最新版 *MeSH* 中尚无相应的词,可根据树状结构表选取最直接的上位主题词,必要时可采用习用的自由词排列于最后。关键词中的缩写词应按 *MeSH* 还原为全称。

3. 基金项目著录 论文所涉及的课题如为国家或部、省级等基金项目或属攻关项目,应脚注于文题页左下方,并在圆括号内注明其项目编号,如:“基金项目:××××(项目编号:××××)”。基金项目名称应按照国家有关部门规定的正式名称书写,多项基金项目应以“;”隔开逐条列出。并附基金项目证明复印件。由厂商赞助的课题应在资金来源处注明。

4. 摘要撰写 论著类稿件须附中、英文摘要。摘要的内容必须包括研究背景(Background)或目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)及结论(Conclusions)共四部分。一般采用第三人称撰写,不用“本文”、“作者”等主语,不列图、表,不引用文献,不加评论和解释。摘要应客观、如实地反映文章原文,不得添加原文中所没有的内容。中文摘要以不超过800字为宜,英文摘要应与中文摘要相对应。英文摘要中应提供正式对外交流的英文单位名称。其他各类稿件均应附简要的中英文摘要,摘要内容要客观全面地反映文章的中心内容,中英文摘要内容要一致。

### 《中国现代神经疾病杂志》编辑部关于稿件统计分析方法的要求

《中国现代神经疾病杂志》编辑部对来稿中的统计分析方法一律要求明确研究设计方法,以及详细描述资料性质和结果,具体要求如下:

1. 研究设计方法 要求交代研究设计的名称和主要方法。如调查设计应写明是前瞻性、回顾性还是横断面调查研究;实验设计应写明具体设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计或正交叉设计等;临床试验设计应写明属于第几期临床试验,采用何种盲法措施等。应围绕“重复、随机、对照、均衡”四项基本原则进行概要说明,尤其要说明如何控制重要的非试验因素的干扰和影响。

2. 资料及结果的表达与描述 采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示近似服从正态分布的计量资料,采用中位数和四分位数间距 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ] 表示呈偏态分布的计量资料;采用相对数构成比(%)或率(%)表示计数资料,用相对数构成比时分母不能小于20。应写明所用统计分析方法的具体名称、统计量具体值,应尽可能给出确切的 *P* 值;当涉及总体参数时,在给出显著性检验结果的同时,给出95%CI。