

# 脑脊液宏基因组学第二代测序在颅内感染诊断与治疗中的应用

苏高健 崔倩倩 高杰 朱栋梁 吴楚伟 黄贤键

**【摘要】 目的** 探讨脑脊液宏基因组学第二代测序(mNGS)在颅内感染诊断与治疗中的应用价值。**方法** 纳入2020年1月至2022年12月广东省深圳市第二人民医院收治的117例颅内感染患者,均于启动经验性广谱抗生素治疗前收集脑脊液行微生物培养(常规培养组,58例)和(或)mNGS测序(mNGS组,59例),并根据结果回报调整抗生素治疗方案,对比两种检测方法的病原体检出率和结果回报时间、抗生素强度分级,以及重症监护病房(ICU)住院时间、总住院时间和病死率。**结果** 本组117例患者经脑脊液微生物培养和(或)mNGS测序共检出65种病原体,尤以病毒占比最高,为49.23%(32/65),其次依次为革兰阴性菌(24.62%,16/65)、革兰阳性菌(18.46%,12/65)和真菌(7.69%,5/65)。脑脊液mNGS测序的病原体检出率高于( $\chi^2 = 22.781, P = 0.000$ )、结果回报早于( $t = -32.588, P = 0.000$ )微生物培养;根据结果回报,mNGS组有20例(33.90%)调整抗生素治疗方案,抗生素应用强度降级5例、升级15例,常规培养组有30例(51.72%)调整抗生素治疗方案,抗生素应用强度降级17例、升级13例,组间差异无统计学意义( $Z = -1.917, P = 0.055$ );两组ICU住院时间( $Z = -0.716, P = 0.474$ )、总住院时间( $Z = -0.933, P = 0.351$ )和病死率(Fisher确切概率法: $P = 0.496$ )差异亦无统计学意义。**结论** 脑脊液mNGS测序可以有效提高颅内感染病原体检出率,尽可能减少广谱抗生素应用时间、降低抗生素总体应用强度,有助于临床准确诊断与精确治疗。

**【关键词】** 中枢神经系统感染; 脑脊髓液; 序列分析,DNA; 细菌学技术; 抗菌药

## Application effect of cerebrospinal fluid metagenomic next-generation sequencing in diagnosis and treatment of intracranial infection

SU Gao-jian, CUI Qian-qian, GAO Jie, ZHU Dong-liang, WU Chu-wei, HUANG Xian-jian

Department of Neurosurgery, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518035, Guangdong, China

Corresponding author: HUANG Xian-jian (Email: ken\_1978@163.com)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of cerebrospinal fluid (CSF) metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in diagnosis and treatment of intracranial infection. **Methods** A retrospective analysis of 117 patients with intracranial infection were admitted to Shenzhen Second People's Hospital from January 2020 to December 2022. Before initiating empirical broad-spectrum antibiotic treatment, CSF samples were collected for microbial culture (conventional culture group,  $n = 58$ ) and/or mNGS (mNGS group,  $n = 59$ ). The results were used to adjust the antibiotic treatment plan, and the study compared the pathogen detection rates and result reporting times of the two testing methods, as well as the antibiotic intensity grading, the intensive care unit (ICU) stay, total hospital stay, and mortality rate. **Results** A total of 65 pathogens were detected from the CSF samples of all the patients through microbial culture and/or mNGS, with viruses being the most prevalent, accounting for 49.23% (32/65), followed by Gram-negative bacteria (24.62%, 16/65), Gram-positive bacteria (18.46%, 12/65) and fungi (7.69%, 5/65). The pathogen detection rate of CSF mNGS was higher than that of CSF microbial culture ( $\chi^2 = 22.781, P = 0.000$ ), and the results were reported earlier ( $t = -32.588, P = 0.000$ ). Based on the results, 20 cases (33.90%) in the mNGS group adjusted antibiotic treatment plan, with 5 cases downgrading and 15 cases upgrading the intensity of antibiotic application. In the conventional culture group, 30 cases (51.72%)

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2024.06.004

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金项目(项目编号:2023A1515010320)

作者单位:518035 广东省深圳市第二人民医院神经外科

通讯作者:黄贤键,Email:ken\_1978@163.com

adjusted their antibiotic treatment plan, with 17 cases downgrading and 13 cases upgrading the intensity of antibiotic application. There was no significant difference between the 2 groups ( $Z = -1.917, P = 0.055$ ). And there was no statistically significant difference in ICU stay ( $Z = -0.716, P = 0.474$ ), total hospital stay ( $Z = -0.933, P = 0.351$ ) and mortality rate (Fisher's exact probability:  $P = 0.496$ ) between the 2 groups.

**Conclusions** The application of mNGS can effectively improve the detection rate of intracranial infection pathogens, which may shorten the duration of antibiotic use and reduce the intensity of broad-spectrum antibiotics, so as to help clinical effective judgment and treatment decision.

**【Key words】** Central nervous system infections; Cerebrospinal fluid; Sequence analysis, DNA; Bacteriological techniques; Anti-bacterial agents

This study was supported by Guangdong Basic and Applied Basic Research Fund Project (No. 2023A1515010320).

**Conflicts of interest:** none declared

颅内感染系发生于颅内的病毒、细菌、真菌或寄生虫引起的感染,可累及脑实质、脑室和脑膜,导致不同种类疾病如脑实质脓肿、硬膜下或硬膜外脓肿、脑膜炎、蛛网膜炎、脑室炎和脑炎等<sup>[1]</sup>。脑脊液微生物培养是诊断颅内感染的“金标准”,但是由于培养耗时长、标本易污染,使得阳性率较低,文献报道脑脊液微生物培养阳性率为 6%~9%<sup>[2]</sup>。临床疑诊颅内感染时往往经验性选择广谱抗生素,导致抗生素滥用且耐药性增强,加之,颅内感染治疗过程中受血脑屏障的限制,药物穿透性下降,导致治疗效果欠佳,严重者甚至死亡,因此,及时、准确检出病原体是明确诊断与治疗的关键。宏基因组学第二代测序(mNGS)亦称高通量测序,是一种允许同时独立测序数千至数十亿 DNA 片段的技术,可快速、有效检出病原体<sup>[3-4]</sup>,目前已广泛应用于感染性疾病的诊断与治疗,但针对颅内感染的研究较少且诊断效果评价不一。本研究回顾广东省深圳市第二人民医院收治的 117 例颅内感染患者的诊断与治疗经过,探讨脑脊液 mNGS 测序的应用价值,以为临床诊断与治疗颅内感染提供客观依据。

## 对象与方法

### 一、研究对象

1. 诊断标准 颅内感染的诊断标准参照《中国神经外科重症患者感染诊治专家共识(2017)》<sup>[5]</sup>: (1)难以控制的体温持续升高和持续高热。(2)存在颈项强直、Kerning 征阳性或 Brudzinski 征阳性等脑膜刺激症状。(3)血常规白细胞计数明显增加,或者腰椎穿刺脑脊液外观浑浊,白细胞计数  $> 10 \times 10^9/L$ 。(4)脑脊液微生物培养呈阳性。上述条件中满足 4 即可明确诊断为颅内感染;若不满足(4),则根

据实际情况诊断疑似颅内感染,待脑脊液微生物培养或 mNGS 测序结果回报后方可明确或排除诊断。

2. 纳入与排除标准 (1)至少符合疑似颅内感染的诊断标准。(2)留取脑脊液标本行微生物培养或 mNGS 测序。(3)排除既往有中枢神经系统感染病史、免疫系统缺陷病史或曾接受免疫抑制治疗,放弃治疗或未接受抗感染治疗,妊娠期女性,以及临床资料不完整患者。(4)本研究经广东省深圳市第二人民医院医学伦理委员会审核批准(审批号:2023-238-02PJ)。(5)所有患者及其家属均对检查项目知情并签署知情同意书。

3. 一般资料 选择 2020 年 1 月至 2022 年 12 月在我院神经外科住院治疗的颅内感染患者 117 例,男性 95 例,女性 22 例;年龄 8~84 岁,平均( $49.46 \pm 16.68$ )岁;既往有呼吸系统疾病占 1.71%(2/117),心血管系统疾病占 46.15%(54/117),消化系统疾病占 5.98%(7/117),泌尿系统疾病占 3.42%(4/117),神经系统疾病占 11.97%(14/117),血液系统疾病占 2.56%(3/117),内分泌系统疾病占 13.68%(16/117),免疫系统疾病占 3.42%(4/117)。

### 二、研究方法

1. 脑脊液常规和生化检测 所有患者疑似诊断后即行腰椎穿刺脑脊液检查,包括红细胞计数(正常参考值为零)、白细胞计数[正常参考值( $0 \sim 8$ )  $\times 10^6/L$ ],以及蛋白定量(正常参考值 120~600 mg/L)、葡萄糖(正常参考值 2.20~3.90 mmol/L)、氯化物(正常参考值 120~132 mmol/L)等。

2. 病原体检测及分组 所有患者疑似诊断后、启动经验性广谱抗生素治疗前,均留取脑脊液标本 2 份(每份各 5 ml),行脑脊液微生物培养和(或) mNGS 测序,记录两种方法的病原体检出率和结果

表1 mNGS组与常规培养组患者临床资料的比较

Table 1. Comparison of clinical data between mNGS group and conventional culture group

观察指标	常规培养组 (n=58)	mNGS组 (n=59)	统计量值	P值	观察指标	常规培养组 (n=58)	mNGS组 (n=59)	统计量值	P值
性别[例(%)]			0.268	0.605	脑脊液蛋白定量[例(%)]			1.676	0.416
男性	46(79.31)	49(83.05)			120~600 mg/L	1(1.72)	3(5.08)		
女性	12(20.69)	10(16.95)			>600~3000 mg/L	22(37.93)	33(55.93)		
年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	52.57 ± 15.06	46.97 ± 17.82	1.454	0.069	>3000 mg/L	35(60.34)	21(35.59)		
呼吸系统疾病[例(%)]	0(0.00)	2(3.39)	—	0.496	脑脊液葡萄糖[例(%)]			4.240	0.237
心血管系统疾病[例(%)]	31(53.45)	23(38.98)	2.463	0.117	<1.00 mmol/L	5(8.62)	7(11.86)		
消化系统疾病[例(%)]	3(5.17)	4(6.78)	0.000	1.000	1.00~2.20 mmol/L	19(32.76)	12(20.34)		
泌尿系统疾病[例(%)]	1(1.72)	3(5.08)	0.241	0.623	>2.20~3.90 mmol/L	19(32.76)	16(27.12)		
神经系统疾病[例(%)]	8(13.79)	6(10.17)	0.365	0.546	>3.90 mmol/L	15(25.86)	23(38.98)		
血液系统疾病[例(%)]	2(3.45)	1(1.69)	0.000	0.988	脑脊液氯化物[例(%)]			0.168	0.432
内分泌系统疾病[例(%)]	9(15.52)	7(11.86)	0.331	0.565	<1200 mmol/L	29(50.00)	23(38.98)		
免疫系统疾病[例(%)]	2(3.45)	2(3.39)	0.000	1.000	120~132 mmol/L	25(43.10)	28(47.46)		
脑脊液红细胞计数 [ $M(P_{25}, P_{75}), \times 10^6/L$ ]	3000.00 (343.75, 32000.00)	5000.00 (410.50, 30000.00)	0.304	0.761	>132 mmol/L	4(6.90)	7(11.86)		
脑脊液白细胞计数 [ $M(P_{25}, P_{75}), \times 10^6/L$ ]	485.50 (151.75, 2857.50)	252.50 (44.75, 1115.00)	1.767	0.077					

—, Fisher's exact probability, Fisher确切概率法。Two-independent-sample *t* test for comparison of age, Mann-Whitney *U* test for comparison of cerebrospinal fluid white blood cell count and red blood cell count, and  $\chi^2$  test for comparison of others. 年龄的比较行两独立样本的 *t* 检验, 脑脊液白细胞计数和红细胞计数的比较行 Mann-Whitney *U* 检验, 其余指标的比较行  $\chi^2$  检验。mNGS, metagenomic next-generation sequencing, 宏基因组学第二代测序

回报时间。(1)脑脊液微生物培养:脑脊液标本送检广东省深圳市第二人民医院检验科,行脑脊液细菌和真菌培养,常规培养7 d。(2)脑脊液 mNGS 测序:脑脊液标本送检天津金匙医学科技有限公司,行高通量测序。常规培养组仅行脑脊液微生物培养, mNGS 组同时行脑脊液微生物培养和 mNGS 测序。

3. 抗生素应用强度分级 根据《抗菌药物临床应用管理办法》<sup>[6]</sup>, 抗生素应用强度分为非限制使用级、限制使用级和特殊使用级共3级, 其中经验性广谱抗生素为特殊使用级。计算公式为: 抗生素应用强度 = 抗生素消耗量(累计限定日剂量) × 100 / 同期患者住院时间, 其中同期患者住院时间 = 同期患者平均住院时间 × 同期出院病例数; 抗生素总体应用强度为各抗生素应用强度的总和。

4. 治疗方法 (1)经验性广谱抗生素治疗: 予以美罗培南 1 g 溶于 50 ml 生理盐水微量泵入(每6小时1次) + 万古霉素 1000 mg 溶于 50 ml 生理盐水微量泵入(每12小时1次)。(2)调整抗生素治疗方案: 脑脊液微生物培养或 mNGS 测序呈阳性患者, 根据结果回报针对性调整抗生素治疗方案; 呈阴性患者则继续予以经验性广谱抗生素治疗。记录重症监护病房(ICU)住院时间、总住院时间、病死率等。

5. 统计分析方法 采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据处理与分析。计数资料以相对数构成比(%)或率(%)表示, 采用 Fisher 确切概率法、 $\chi^2$  检验、配对  $\chi^2$  检验或 Mann-Whitney *U* 检验。正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnov 检验, 呈正态分布的计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用两独立样本的 *t* 检验或配对 *t* 检验; 呈非正态分布的计量资料以中位数和四分位数间距 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ] 表示, 两组比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

共 117 例患者根据病原体检测方法分为常规培养组(58 例)和 mNGS 组(59 例), 两组患者性别, 年龄, 既往合并呼吸系统疾病、心血管系统疾病、消化系统疾病、泌尿系统疾病、神经系统疾病、血液系统疾病、内分泌系统疾病、免疫系统疾病占比, 脑脊液红细胞计数、白细胞计数、蛋白定量、葡萄糖、氯化物差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ , 表 1)。

本组 117 例患者经脑脊液微生物培养和(或) mNGS 测序共检出 65 种病原体, 病毒占比最高, 为 49.23%(32/65), 其次依次为革兰阴性菌(24.62%,

表 2 颅内感染患者病原体的构成

Table 2. Pathogen composition in patients with intracranial infection

病原体	株数	百分比(%)
革兰阴性菌	16	24.62
肺炎克雷伯菌	8	12.31
大肠埃希菌	2	3.08
变栖克雷伯菌	1	1.54
口腔普雷沃菌	1	1.54
铜绿假单胞菌	1	1.54
伊氏副球菌	1	1.54
医院不动杆菌	1	1.54
黏质沙雷菌	1	1.54
革兰阳性菌	12	18.46
金黄色葡萄球菌	3	4.62
屎肠球菌	2	3.08
表皮葡萄球菌	1	1.54
肺炎链球菌	1	1.54
粪肠球菌	1	1.54
结核分枝杆菌复合群	1	1.54
蜡样芽孢杆菌	1	1.54
B族链球菌	1	1.54
中间链球菌	1	1.54
真菌	5	7.69
光滑念珠菌	1	1.54
土曲霉	1	1.54
赭曲霉	1	1.54
烟曲霉	2	3.08
病毒	32	49.23
细环病毒 15 型	15	23.08
人类疱疹病毒	15	23.08
人细小病毒	1	1.54
甲型乳头瘤病毒 2 型	1	1.54

表 3 mNGS 组患者脑脊液 mNGS 测序与微生物培养阳性率的比较(例)\*

Table 3. Comparison of the positive rate of CSF between mNGS and microbial culture in mNGS group (case)\*

检测方法	阳性	阴性	合计
脑脊液 mNGS 测序	35	24	59
脑脊液微生物培养	7	52	59
合计	42	76	118

\* $\chi^2 = 22.781, P = 0.000$ 。mNGS, metagenomic next-generation sequencing, 宏基因组学第二代测序

16/65)、革兰阳性菌(18.46%, 12/65)和真菌(7.69%, 5/65;表2)。比较两种检测方法的病原体检出率, mNGS 组脑脊液 mNGS 测序的病原体检出率高于脑

脊液微生物培养且差异具有统计学意义( $P = 0.000$ , 表3)。

本研究有 93 例(79.49%)患者在脑脊液微生物培养或 mNGS 测序结果回报前经验性应用至少 1 种抗生素。mNGS 组脑脊液 mNGS 测序结果回报 [(1.17 ± 0.46) d] 早于脑脊液微生物培养 [(6.86 ± 1.33) d] 且差异有统计学意义( $t = -32.588, P = 0.000$ ), 提示脑脊液 mNGS 测序有利于更早调整抗生素治疗方案。根据结果回报, mNGS 组有 39 例(66.10%)经验性广谱抗生素治疗适宜且对病原体敏感, 余 20 例(33.90%)调整抗生素治疗方案, 降低广谱抗生素的应用率, 其中抗生素应用强度降级(特殊使用级降为限制使用级)5 例、升级(限制使用级升为特殊使用级)15 例; 常规培养组有 28 例(48.28%)经验性广谱抗生素治疗适宜且对病原体敏感, 余 30 例(51.72%)调整抗生素治疗方案, 其中抗生素应用强度降级(特殊使用级降为限制使用级)17 例、升级(限制使用级升为特殊使用级)13 例, 组间差异无统计学意义( $P = 0.055$ , 表4), 但两组患者调整药物方案之后的抗生素总体应用强度差异无统计学意义 [6.82 (2.16, 21.99) 对 9.82 (3.41, 33.67);  $Z = -0.910, P = 0.363$ ]。调整抗生素治疗方案之后, mNGS 组第三代头孢菌素的应用率最高, 为 67.80% (40/59), 其次依次为糖肽类 (64.41%, 38/59)、碳青霉烯类 (57.63%, 34/59); 常规培养组抗生素应用的前 3 位也是第三代头孢菌素 (79.31%, 46/58)、糖肽类 (74.14%, 43/58) 和碳青霉烯类 (68.97%, 40/58; 表5)。

mNGS 组与常规培养组患者 ICU 住院时间、总住院时间和病死率差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ , 表6)。

## 讨 论

颅内感染是神经外科手术的重要并发症, 常导致预后不良, 其高病死率不容忽视。尽管近年来严格的无菌操作以及抗生素的预防性应用使颅内感染率明显下降, 但病死率仍较高<sup>[7]</sup>。如何预防与治疗颅内感染是神经外科医师共同面对的难题, 明确病原体至关重要, 需腰椎穿刺或手术中留取脑脊液, 行微生物培养和药敏试验, 从而针对性予以药物治疗。目前, 脑脊液微生物培养仍是诊断颅内感染的“金标准”, 经济、简便、易操作, 但常规培养流

**表 4** 脑脊液微生物培养与 mNGS 测序结果回报后抗生素治疗方案调整的比较 [例(%)]\*

**Table 4.** Comparison of adjustments in antibiotic treatment regimens following the return of cerebrospinal fluid microbial culture and mNGS results [case (%)]\*

组别	例数	降级	维持不变	升级
常规培养组	58	17(29.31)	28(48.28)	13(22.41)
mNGS组	59	5( 8.47)	39(66.10)	15(25.42)

\*Z = - 1.917, P = 0.055. mNGS, metagenomic next - generation sequencing,宏基因组学第二代测序

**表 5** mNGS 组和常规培养组患者的抗生素应用率 [例(%)]

**Table 5.** Antibiotic use in mNGS and conventional culture group [case (%)]

抗生素种类	常规培养组(n = 58)	mNGS组(n = 59)
青霉素类	21(36.21)	16(27.12)
头孢菌素类		
第一代	1( 1.72)	3( 5.08)
第二代	4( 6.90)	7(11.86)
第三代	46(79.31)	40(67.80)
碳青霉烯类	40(68.97)	34(57.63)
氨基糖苷类	14(24.14)	12(20.34)
四环素类	3( 5.17)	2( 3.39)
糖肽类	43(74.14)	38(64.41)
喹诺酮类	13(22.41)	14(23.73)
抗真菌药	23(39.66)	8(13.56)

mNGS, metagenomic next-generation sequencing,宏基因组学第二代测序

**表 6** mNGS 组与常规培养组患者 ICU 住院时间、总住院时间和病死率的比较

**Table 6.** Comparison of ICU stay, total hospital stay and mortality rate between mNGS group and conventional culture group

组别	例数	ICU 住院时间 [M(P <sub>25</sub> ,P <sub>75</sub> ),d]	总住院时间 [M(P <sub>25</sub> ,P <sub>75</sub> ),d]	病死率 [例(%)]
常规培养组	58	14.00(3.00,24.00)	26.50(19.75,44.25)	0(0.00)
mNGS组	59	15.00(7.00,29.00)	27.00(17.00,42.00)	2(3.39)
Z 值		-0.716	-0.933	—
P 值		0.474	0.351	0.496

—, Fisher's exact probability, Fisher 确切概率法。mNGS, metagenomic next-generation sequencing,宏基因组学第二代测序; ICU, intensive care unit,重症监护病房

程复杂、检测效率低、耗时长,无法满足及时诊断与治疗的需求<sup>[8-9]</sup>。

mNGS 测序技术的出现改变了基因组学领域,快速和较低成本-效益比(CBR)的基因组规模序列数据生成具有极高的分辨率和准确性<sup>[10]</sup>。与常规培养相比,该项技术直接针对样本中所有核酸进行

无偏性测序,结合病原微生物数据库和特定算法,检测样本中可能的病原微生物序列<sup>[11]</sup>,且不依赖常规培养,对常见病原微生物检测阴性、经验性治疗失败、不明原因的急危重症感染的病原学诊断,以及新发、突发传染性病原体病原体的检测具有独特价值<sup>[11]</sup>。近 10 年来,mNGS 测序已成为感染性疾病领域的研究热点,用于血流感染、呼吸道感染、尿路感染等的病原学诊断<sup>[9,12]</sup>。目前,针对颅内感染病原体的 mNGS 测序研究较少,但其中枢神经系统感染中的应用逐渐成为热点。Li 等<sup>[13]</sup>认为,与传统脑脊液细菌培养相比,脑脊液 mNGS 测序在李斯特菌致颅内感染诊断中的有效性和及时性均有显著优势。吴蕾等<sup>[14]</sup>纳入 80 例疑似颅内感染患者,发现脑脊液 mNGS 测序的敏感性显著高于脑脊液细菌培养。此外,脑脊液 mNGS 测序亦有利于非典型颅内感染如病毒性脑炎的诊断<sup>[15]</sup>。

本研究结果显示,mNGS 组病原体检出率高于常规培养组,检出的病原微生物包括细菌、真菌和病毒等,其中细菌包括肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、变栖克雷伯菌、口腔普雷沃菌、铜绿假单胞菌、伊氏副球菌、医院不动杆菌、黏质沙雷菌等革兰阴性菌,以及金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、表皮葡萄球菌、肺炎链球菌、粪肠球菌、结核分枝杆菌复合群、蜡样芽孢杆菌、B 族链球菌、中间链球菌等革兰阳性菌;真菌包括光滑念珠菌、土曲霉、赭曲霉和烟曲霉;及在无免疫功能障碍患者中检出甲型乳头瘤病毒 2 型、人类疱疹病毒、人细小病毒和细环病毒 15 型等病毒,究其原因,主要是由于病毒极少存活于环境中,为尽量减少低水平微生物污染造成的假阳性结果,检出 3 条以上特异性序列即判断为病毒阳性<sup>[16]</sup>。mNGS 测序的敏感性极强,可以辅助临床早期明确病原体,调整抗生素治疗方案,待常规培养结果回报后,二者结合实现颅内感染的精准用药。

既往颅内感染的治疗,在尚未明确病原体时临床医师通常根据流行病学特点经验性选择抗生素。《神经外科中枢神经系统感染诊治中国专家共识(2021 版)》<sup>[17]</sup>提出,疑似中枢神经系统细菌感染时,经验性抗生素治疗推荐万古霉素联合抗假单胞菌的头孢菌素类或碳青霉烯类抗生素,然而过度抗感染治疗可能导致耐药性增强,同时也影响常规培养结果<sup>[18]</sup>。本研究 mNGS 组有 20 例患者根据 mNGS 测序结果调整抗生素治疗方案,常规培养组有 30 例根据微生物培养结果调整抗生素治疗方案,虽然两

组调整方案后抗生素总体应用强度无明显差异,但mNGS组抗生素总体应用强度有低于常规培养组的趋势,受限于样本量较小,推测mNGS测序可能对减少广谱抗生素应用时间和抗生素总体应用强度有所帮助,具有临床指导价值。mNGS测序结果回报时间短(<1 d),且不易受抗生素的影响,有助于临床医师更全面地评估经验性抗感染治疗策略,并有效调整治疗方案,从而改善患者预后<sup>[19]</sup>。

随着对mNGS测序的深入研究,其作为一种诊断手段在感染性疾病中的应用也越来越广泛,并写入多项专家共识或临床指南。mNGS测序既可以检出病原体,也可以检出环境中所有微生物,但无法区分致病菌与污染菌,故其结果判读至关重要<sup>[3]</sup>。目前针对mNGS测序检测病原体的结果判读尚无统一标准,应与临床实际相结合,同时根据临床常见致病菌的mNGS测序结果进行主观判断<sup>[20]</sup>。Langelier等<sup>[21]</sup>的研究显示,mNGS测序可检出细菌(不含分枝杆菌)、病毒和寄生虫,其覆盖率是其他微生物的10倍。Wang等<sup>[22]</sup>认为,当一种真菌的覆盖率是另一种真菌的5倍时,其mNGS测序呈阳性且结果可靠。Simner等<sup>[23]</sup>提出,由于分枝杆菌的DNA提取困难且污染可能性低,至少1个序列数被映射到种或属水平时即为结核分枝杆菌呈阳性。Grumaz等<sup>[24]</sup>采用的脓毒症指示性量化指标(SIQ)评分更接近病原体序列数。《高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识》<sup>[11]</sup>提出,根据结果回报中以百万分子序列数确定阳性阈值;序列数越高、病原微生物的可能性越大(数十条特异性序列);超过3条病毒特异性序列则判断为阳性;较难检测的病原菌(如结核分枝杆菌、鼠疫耶尔森菌、布鲁菌等)检出1条特异序列即为阳性。本研究以高特异性序列为主要判断依据,排除污染菌,其次再结合临床,做出最终判定结果。

本研究患者分别以脑脊液mNGS测序和微生物培养结果作为治疗决策,ICU住院时间、总住院时间和病死率均无明显差异,可能与样本量较小有关;颅内感染患者常合并肺部感染、尿路感染等,需联合用药,统计时难以将二者完全区分,导致结果存在一定偏差;由于大部分患者入院时神经功能已严重损伤,治疗前后神经功能变化不明显,未对比两种检测方法对神经功能结局的改善作用。

综上所述,脑脊液mNGS测序可以快速提高颅内感染病原体的检出率并快速获得感染证据,利于

尽可能减少广谱抗生素应用时间和抗生素总体应用强度,作为临床医师制定颅内感染治疗方案的辅助工具。未来尚待进一步扩大样本量深入研究,以期制定统一的测序结果判读标准,从而更好地服务临床。

利益冲突 无

## 参 考 文 献

- [1] Tehli GY, Kirmizigöz S, Durmaz MO, Ezgu MC, Tehli O. Risk factors and surgical treatment options for intracranial infections [J]. *Turk Neurosurg*, 2023, 33:308-317.
- [2] Li Y, Zhang G, Ma R, Du Y, Zhang L, Li F, Fang F, Lv H, Wang Q, Zhang Y, Kang X. The diagnostic value of cerebrospinal fluids procalcitonin and lactate for the differential diagnosis of post-neurosurgical bacterial meningitis and aseptic meningitis [J]. *Clin Biochem*, 2015, 48(1/2):50-54.
- [3] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14:319-338.
- [4] Yin Y, Butler C, Zhang Q. Challenges in the application of NGS in the clinical laboratory [J]. *Hum Immunol*, 2021, 82:812-819.
- [5] Neurosurgery Branch, Chinese Medical Association; Chinese Neurosurgical Intensive Care Management Collaborative Group. Experts consensus on the diagnosis and treatment of infections in neurosurgical intensive patients in China (2017) [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2017, 97:1607-1614. [中华医学会神经外科学分会, 中国神经外科重症管理协作组. 中国神经外科重症患者感染诊治专家共识(2017) [J]. *中华医学杂志*, 2017, 97:1607-1614.]
- [6] Ministry of Health of the People's Republic of China. Management measures for clinical application of antibiotics [J]. *Zhongguo Gan Ran Kong Zhi Za Zhi*, 2012, 11:236-240. [中华人民共和国卫生部. 抗菌药物临床应用管理办法 [J]. *中国感染控制杂志*, 2012, 11:236-240.]
- [7] Zhai T, Fu ZL, Qiu YB, Chen Q, Luo D, Chen K. Application of combined cerebrospinal fluid physicochemical parameters to detect intracranial infection in neurosurgery patients [J]. *BMC Neurol*, 2020, 20:213.
- [8] 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.
- [9] Miao Q, Ma Y, Wang Q, Pan J, Zhang Y, Jin W, Yao Y, Su Y, Huang Y, Wang M, Li B, Li H, Zhou C, Li C, Ye M, Xu X, Li Y, Hu B. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(suppl\_2):S231-S240.
- [10] Xuan J, Yu Y, Qing T, Guo L, Shi L. Next - generation sequencing in the clinic: promises and challenges [J]. *Cancer Lett*, 2013, 340:284-295.
- [11] Chinese Society of Laboratory Medicine. Expert consensus on clinical standardized application of metagenomics next - generation sequencing for detection of pathogenic microorganisms [J]. *Zhonghua Jian Yan Yi Xue Za Zhi*, 2020, 43:1181-1195. [中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43:1181-1195.]
- [12] Deurenberg RH, Bathoorn E, Chlebowicz MA, Couto N, Ferdous M, Garcia-Cobos S, Kooistra-Smid AM, Raangs EC, Rosema S, Veloo AC, Zhou K, Friedrich AW, Rossen JW. Application of

- next generation sequencing in clinical microbiology and infection prevention[J]. J Biotechnol, 2017, 243:16-24.
- [13] Li J, Zhang Y, Zhang Q, Lu S, Huang F, Wang J. Application of metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of intracranial infection of *Listeria monocytogenes*[J]. Ann Transl Med, 2022, 10:672.
- [14] Wu L, Zhang SL, Huang HW, Shi GZ. Diagnostic efficacy of metagenomic next - generation sequencing for intracranial bacterial infection pathogens after neurosurgery [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2022, 102:2272-2277.[吴蕾, 张少兰, 黄华玮, 石广志. 宏基因组二代测序对神外术后颅内细菌感染病原菌的诊断效能[J]. 中华医学杂志, 2022, 102:2272-2277.]
- [15] Kang Z, Jin X, Wei N, Ji Y, Han J. Next-generation sequencing of cerebrospinal fluid for diagnosis of atypical herpes simplex encephalitis[J]. J Int Med Res, 2021, 49:1-9.
- [16] Miller S, Naccache SN, Samayoa E, Messacar K, Arevalo S, Federman S, Stryke D, Pham E, Fung B, Bolosky WJ, Ingebrigtsen D, Lorizio W, Paff SM, Leake JA, Pesano R, DeBiasi R, Dominguez S, Chiu CY. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. Genome Res, 2019, 29:831-842.
- [17] Neurosurgery Intensive Care Expert Committee, Neurosurgeon Branch, Chinese Medical Doctor Association; Neurosurgery Critical Care Group, Neurosurgery Branch, Beijing Medical Association. Chinese experts consensus on the diagnosis and treatment of neurosurgical central nervous system infection (2021 edition)[J]. Zhonghua Shen Jing Wai Ke Za Zhi, 2021, 37:2-15.[中国医师协会神经外科医师分会神经重症专家委员会, 北京医学会神经外科学分会神经外科危重症学组. 神经外科中枢神经系统感染诊治中国专家共识(2021版)[J]. 中华神经外科杂志, 2021, 37:2-15.]
- [18] Muzumdar D, Jhavar S, Goel A. Brain abscess: an overview[J]. Int J Surg, 2011, 9:136-144.
- [19] Mai NTH, Phu NH, Nhu LNT, Hong NTT, Hanh NHH, Nguyen LA, Phuong TM, McBride A, Ha DQ, Nghia HDT, Chau NVV, Thwaites G, Tan LV. Central nervous system infection diagnosis by next-generation sequencing: a glimpse into the future [J]? Open Forum Infect Dis, 2017, 4:ofx046.
- [20] Chinese Society of Infectious Diseases and Cerebrospinal Fluid Cytology. Expert consensus on clinical application of metagenomic next-generation sequencing of cerebrospinal fluid in the diagnosis of infectious diseases of the central nervous system[J]. Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi, 2021, 54:1234-1240. [中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液宏基因组学二代测序应用专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54:1234-1240.]
- [21] Langelier C, Zinter MS, Kalantar K, Yanik GA, Christenson S, O'Donovan B, White C, Wilson M, Sapru A, Dvorak CC, Miller S, Chiu CY, DeRisi JL. Metagenomic sequencing detects respiratory pathogens in hematopoietic cellular transplant patients[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2018, 197:524-528.
- [22] Wang S, Chen Y, Wang D, Wu Y, Zhao D, Zhang J, Xie H, Gong Y, Sun R, Nie X, Jiang H, Zhang J, Li W, Liu G, Li X, Huang K, Huang Y, Li Y, Guan H, Pan S, Hu Y. The feasibility of metagenomic next - generation sequencing to identify pathogens causing tuberculous meningitis in cerebrospinal fluid[J]. Front Microbiol, 2019, 10:1993.
- [23] Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66:778-788.
- [24] Grumaz C, Hoffmann A, Vainshtein Y, Kopp M, Grumaz S, Stevens P, Decker SO, Weigand MA, Hofer S, Brenner T, Sohn K. Rapid next - generation sequencing - based diagnostics of bacteremia in septic patients[J]. J Mol Diagn, 2020, 22:405-418.

(收稿日期:2024-04-30)

(本文编辑:彭一帆)

## · 小词典 ·

## 中英文对照名词词汇(二)

肌酐清除率 creatinine clearance rate( $CL_{Cr}$ )

肌酸 creatine(Cr)

Janus激酶2 Janus kinase 2(JAK2)

急性生理学和慢性健康状况评估II

Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II)

急性一氧化碳中毒

acute carbon monoxide poisoning(ACOP)

急性一氧化碳中毒迟发性脑病

delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning(DEACMP)

1-甲基-4-苯基吡啶离子 1-methyl-4-phenylpyridine(MPP<sup>+</sup>)

1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶

1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine(MPTP)

简化急性生理功能评分II

simplified acute physiology score II (SAPS II)

胶质细胞源性神经营养因子

glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF)

胶质纤维酸性蛋白 glial fibrillary acidic protein(GFAP)

金属β-内酰胺酶 metallo-β-lactamase(MBL)

菌落形成单位 colony forming units(CFU)

抗体依赖性细胞介导的细胞毒性

antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity(ADCC)

控制性皮质撞击 controlled cortical impact(CCI)

快速眼动睡眠期 rapid eye movement(REM)

快速眼动睡眠期行为障碍

rapid eye movement sleep behavior disorder(RBD)

扩展残疾状态量表 Expanded Disability Status Scale(EDSS)

酪氨酸羟化酶 tyrosine hydroxylase(TH)

颅脑创伤 traumatic brain injury(TBI)

颅内压 intracranial pressure(ICP)

慢性硬膜下血肿 chronic subdural hematoma(CSDH)

美国感染性疾病学会

Infectious Diseases Society of America(IDSA)

美国国立卫生研究院卒中量表

National Institutes of Health Stroke Scale(NIHSS)