

宏基因组二代测序在获得性免疫缺陷综合征合并中枢神经系统感染中的临床应用

李倩¹ 邓莉平¹ 陈果¹ 张忠威¹ 莫平征¹ 胡文佳¹ 陈良君² 张捷³ 张永喜¹
杨蓉蓉¹ 熊勇¹

【摘要】目的 评价脑脊液宏基因组二代测序(mNGS)在获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者合并中枢神经系统(CNS)感染诊断中的临床应用价值,了解AIDS患者合并CNS感染的病原谱。**方法** 收集2021年1月至2022年8月于武汉大学中南医院收治并诊断为AIDS合并CNS感染者的临床资料、mNGS与常规病原检测法检出的病原体信息。比较常规病原学检测与mNGS检出病原体情况,与临床诊断进行一致性评价。**结果** 61例诊断为AIDS合并CNS感染者中,经mNGS联合常规病原学检测后60例(98.4%、60/61)患者明确病原学诊断,与单独常规病原学检测阳性率(49.2%、30/61)以及单独mNGS阳性率(83.6%、51/61)差异均具有统计学意义($\chi^2 = 38.125$ 、 $P < 0.001$, $\chi^2 = 8.093$ 、 $P = 0.004$)。mNGS阳性患者51例(83.6%),高于常规病原体检测阳性30例(49.2%),差异具有统计学意义($\chi^2 = 16.201$ 、 $P < 0.001$)。其中mNGS方法结果中两种及以上的病原体同时检出率为41.0%(25/61),高于常规病原检测法[9.8%(6/61)],差异具有统计学意义($\chi^2 = 15.612$ 、 $P < 0.001$)。在隐球菌脑膜炎检出率中,常规检测方法[14.8%(9/61)]与mNGS检测方法[13.1%(8/61)]具有良好一致性,其中前者与临床诊断的一致性为90%(9/10),后者为80%(8/10);43例(70.5%)患者至少检出1种病毒,其中24例(39.3%)患者检出人疱疹病毒4型(EB病毒),15例(24.6%)患者检出人疱疹病毒5型(CMV),8例(13.1%)患者检出JC多瘤病毒。14例(23.0%)患者中共检出18株真菌,包括新型隐球菌8株、似滑念珠菌3株、曲霉菌4株、马尔尼菲篮状菌、耶氏肺孢子菌及尖端赛多孢子菌各1株;非典型病原体8例(13.1%),包括刚地弓形虫3例、苍白密螺旋体3例、军团菌、猫立克次体各1例;结核及非结核分支杆菌各2例(6.6%)。61例患者中,3例死亡,病死率为4.9%(3/61)。**结论** AIDS晚期患者合并CNS感染中混合感染常见,病原谱依次包括病毒、真菌、细菌和非典型病原体等。mNGS联合常规病原学检测可显著提高颅内感染的病原检出率,有助于及时精准诊疗,提高患者生存率。

【关键词】 宏基因组二代测序;获得性免疫缺陷综合征;人类免疫缺陷病毒;病原学检测;中枢神经系统感染;病原谱

Clinical application of metagenomic next-generation sequencing in patients with acquired immune deficiency syndrome complicated with central nervous system infection LI Qian¹, Deng Liping¹, Chen Guo¹, Zhang Zhongwei¹, Mo Pingzheng¹, Hu Wenjia¹, Chen Liangjun², Zhang Jie³, Zhang Yongxi¹, Yang Rongrong¹, Xiong Yong¹. ¹Department of Infectious Diseases, ²Department of Clinicallaboratory, ³Department of Neurosurgery, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China
Corresponding author: Xiong Yong, Email: yongxiong64@163.com

【Abstract】Objective To evaluate the clinical value of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) of cerebrospinal fluid in acquired immune deficiency syndrome (AIDS) complicated with central

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2023.01.005

基金项目: 2020年湖北省重点研发计划项目(No. 2020BCB025); 武汉大学中南医院学科培育项目(No. ZNXKPY2021021)

作者单位: 430071 武汉市, 武汉大学中南医院感染科¹、检验科²、脑外科³

通信作者: 熊勇, Email: yongxiong64@163.com

nervous system (CNS) infection, and to investigate the pathogenic spectrum. **Methods** AIDS patients complicated with CNS infection in Zhongnan Hospital of Wuhan University from January 2021 to August 2022 were analyzed, including the clinical characteristics and pathogen information detected by mNGS and routine etiological examination. The pathogens detected by routine etiological examination and mNGS were compared, and the consistency with clinical diagnosis was evaluated. **Results** Among the 61 patients with CNS infection, 60 patients (98.4%, 60/61) were identified by mNGS combined with routine etiological examination, which was significantly higher than that of routine etiological examination alone (49.2%, 30/61) and that of mNGS alone (83.6%, 51/61), with significant differences ($\chi^2 = 38.125$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 8.093$, $P = 0.004$). The positive rate of mNGS 83.6% (51/61) was significantly higher than that of routine etiological examination [49.2% (30/61)], with significant difference ($\chi^2 = 16.201$, $P < 0.001$). The detection rate of two or more pathogens by mNGS was 41.0% (25/61), which was significantly higher than that by routine etiological examination (9.8%, 6/61), with significant difference ($\chi^2 = 15.612$, $P < 0.001$). For the detection rate of cryptococcal meningitis, conventional detection method [14.8% (9/61)] was in good agreement with mNGS [13.1% (8/61)], and the consistency with clinical diagnosis were 90% (9/10) and 80% (8/10), respectively. At least one virus was detected in 43 (70.5%) patients, of which 24 (39.3%) cases detected human herpesvirus 4 (EBV), 15 (24.6%) cases detected human herpesvirus 5 (CMV), and 8 (13.1%) cases detected JC polyomavirus. Total of 18 strains of *fungi* were detected in 14 (23.0%) patients, including 8 strains of *Cryptococcus neoformans*, 4 strains of *Aspergillus*, 3 strains of *Candida parapsilosis*, 1 strain of *Talaromyces marneffei*, 1 strain of *Pneumocystis jirovecii* and 1 strain of *Dosporium apiospermum*. There were 8 (13.1%) atypical pathogens detected, including 3 strains of *Toxoplasma gondii*, 3 strain of *Treponema pallidum*, 1 strain of *Legionella* and 1 strain of *Rickettsia felis*. Tuberculosis and non-tuberculous mycobacterium were detected in 2 (6.6%) cases respectively. Total of 3 cases died, the mortality rate was 4.9% (3/61). **Conclusions** Mixed infections are common in advanced AIDS patients complicated with CNS infection, and the pathogenic spectrum includes virus, fungi, bacterial and atypical pathogens. mNGS combined with routine etiological examination could significantly improve the rapid pathogen detection rate of intracranial infections and the survival rate of patients.

【Key words】 Metagenomic next-generation sequencing; Acquired immune deficiency syndrome; Human immunodeficiency virus; Etiological examination; Central nervous system infection; Pathogenic spectrum

获得性免疫缺陷综合征 (acquired immune deficiency syndrome, AIDS) 已成为严重威胁人类健康的重大公共卫生问题^[1]。虽然自1996年开始联合抗逆转录病毒治疗 (combined anti-retroviral therapy, cART) 以来, 中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 机会性感染 (opportunistic infections, OIs) 总体发病率有所下降, 但仍为 AIDS 患者死亡的重要原因^[2]。中枢神经系统感染的病因较多, 包括细菌、真菌、病毒和寄生虫等^[3]。国外一项多中心调查显示非人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染人群中 CNS 感染以病毒为主^[4], 而国内一项类似研究提示真菌为 HIV 合并 CNS 感染的主要病因, 不同地区不同人群合并 CNS 感染的疾病谱不一^[5]。然而, 临床常规病原体检测方法尚不能有效涵盖 CNS 感染的病原谱, 尤其是罕见病原体, 此外, 部分病原体

确诊依赖于活检, 因此中枢神经系统感染者病原诊断率有待提高^[6-7], 临床迫切需要快速、准确的诊断技术。

近年来, 随着分子诊断技术水平的不断提高, 宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 在感染领域的应用越来越广泛。目前, 已有多项研究表明 mNGS 技术对一些罕见疾病、特殊病原体的检出具有较大优势^[8-11], 但是, 目前有关 mNGS 在 AIDS 合并 CNS 感染临床应用的研究报道较少。本研究收集武汉大学中南医院收治的 AIDS 合并中枢神经系统感染者的临床资料, 比较脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 常规病原学和 mNGS 病原体检出结果, 了解 AIDS 患者合并 CNS 感染的病原谱, 初步探讨 mNGS 在此类患者诊断中的临床应用价值, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象及诊断标准

1. 研究对象：研究对象为2021年1月至2022年8月武汉大学中南医院收治的AIDS合并中枢神经系统感染者。

入组标准：①年龄>16岁；②确诊HIV/AIDS患者；③诊断CNS感染；④均签署知情同意书并完成CSF相关检测。

排除标准：①非HIV感染者；②不具备中枢神经系统感染临床表现及影像学表现；③患者病历资料不全；④孕妇或儿童；⑤入院后24 h内死亡患者。

入组患者均于抗感染治疗前完成腰椎穿刺术。CSF行常规、生化、涂片（革兰+抗酸+墨汁染色）、培养（细菌、真菌、结核）及常规的病原学检测（隐球菌抗原检测、单纯疱疹病毒DNA、EB病毒（Epstein-Barr virus, EBV）DNA、巨细胞病毒DNA、结核分枝杆菌DNA、结核X-pert），常规检测均送本院检验科完成，另CSF标本完成mNGS检测（基于Illumina测序平台和PCR-free建库技术）。本研究获武汉大学中南医院伦理委员会审核批准（审批号：科伦2021079）。

2. 诊断标准：HIV/AIDS患者的诊断符合《2021年艾滋病诊疗指南》要求^[12]。中枢神经系统感染临床诊断参照《中枢神经系统感染诊治中国专家共识（2021版）》^[13]。

CNS感染诊断标准：体征和（或）症状中包括至少一项：发热（>38℃）、头痛、恶心/呕吐、抽搐、脑膜刺激征、局灶性神经功能缺损、意识改变、癫痫发作；至少满足以下1条：①CSF中白细胞数增多、蛋白升高、糖和氯化物降低；②脑CT或MRI检查显示病理感染改变；③CSF培养及病原学检查阳性，为诊断金标准。若无明确病原学依据但给予经验性治疗有效，也可诊断。

二、mNGS检测方法及判读标准

1. 样本处理和DNA提取：取600 μl脑脊液，使用预设的破壁仪程序进行破壁处理，然后吸取300 μl使用TIANamp Micro DNA Kit（DP316, TIANGEN BIOTECH, 北京），根据试剂盒说明书提取DNA。提取的DNA经转座酶建库待测核酸加上标签序列，制备好的文库经过纯化、扩增、再纯化后，使用Qsep1和Qubit分别对文库片段大小和文库浓度进行定量（微远建库试剂盒）。然后

依据预设的上机数据量取定量文库混合后，使用Illumina公司的Nextseq 550Dx上机测序。

2. 数据分析：测序数据下机后去除低质量的和长度<40 bps的数据以获得高质量数据。通过BWA（BWA: <http://bio-bwa.sourceforge.net/>）软件比对将人参考基因组序列的数据去除。剩下的数据在去除低复杂度reads后与专用的微生物数据库比对，并将比对后的数据按照病毒、细菌、真菌和寄生虫等进行分类和排列。mNGS结果的解读由两名感染专科医师结合病史、实验室相关检查及传统的病原体检测判断。

3. 判读标准：①病原体检出阳性标准：mNGS检出病原体，按照一定实验质控标准，排除背景污染和标签跳跃后，结合患者临床资料（与临床表现、辅助检查结果以及疗效等相符），纳入病原阳性微生物群。②疑似污染定植菌：mNGS检出病原体，但按照一定实验质控标准考虑为试剂或环境背景污染、皮肤常见定植菌，结合患者临床资料（与临床表现、辅助检查结果以及疗效等不相符），纳入疑似或人体共生微生物群。

三、临床资料收集

2名感染科医师在本院医院管理信息系统（hospital information system, HIS）中收集患者的基本信息、临床表现、血常规、血生化、降钙素原、C-反应蛋白、红细胞沉降率、淋巴细胞亚群计数、HIV RNA载量、血巨细胞病毒（cytomegalovirus, CMV）DNA，EBV DNA，结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应、真菌（1-3）-β-D-葡聚糖、GM试验及血隐球菌抗原、头颅计算机断层摄影（computed tomography, CT）或磁共振成像（magnetic resonance imaging, MRI）资料、初次脑脊液常规、生化，常规病原学检查及CSF mNGS等结果，形成Excel电子表格，对比CSF常规病原学与mNGS检出病原体情况，临床疗效和预后等，综合评价mNGS在AIDS合并中枢神经系统感染诊断中的价值。

四、统计学处理

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计学分析，GraphPad Prism 9.0软件绘图。年龄、CSF氯化物为正态分布计量资料，采用 $\bar{x} \pm s$ 表示；CD4⁺T淋巴细胞计数、HIV RNA载量、CSF有核细胞数、葡萄糖及蛋白为非正态分布，用中位数（四分位数）[M（P25, P75）]表示。其余为计数资料，采用百分

率表示。两种方法各病原体检出率采用卡方检验进行分析,理论频数> 5但< 1,并且样本量≥ 40时,使用连续性校正卡方检验,两种方法一致性比较采用配对 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、一般资料

61例AIDS合并中枢神经系统感染住院患者中男性56例(91.8%),女性5例(8.2%),年龄20~72岁,平均(39.46±12.47)岁;CD4⁺T淋巴细胞计数为29(10,166)个/μl,51例(83.6%)患者< 200个/μl,处于HIV感染的AIDS阶段;HIV均经性途径感染,其中男男同性55例(90.2%);起病时间为30(14,60)d,住院天数为17(9,25)d,主要临床表现见表1。

二、常规实验室指标检查

患者入院后均完善血常规、血生化、外周血淋巴细胞计数、降钙素原及红细胞沉降率等检查,其中29例(47.5%)患者白细胞计数降低,48例(78.7%)白蛋白下降,28例(45.9%)患者降钙素原升高,18例(29.5%)CRP增高,54例(88.5%)患者红细胞沉降率升高。61例患者均行头颅CT及MRI检查,其中47例(77.1%)发现异常,主要表现为脑白质高信号、脑实质异常信号、基底节区多发病灶、颅内肿块占位、枕大池增大、颅缝增宽以及脑萎缩等。患者入院后均完善腰椎穿刺;常规病原检测阳性率49.2%(30/61),详见表2。

三、脑脊液mNGS病原体检测

纳入疾病谱61例患者中有51例(83.6%)mNGS检测阳性,其中25例(41.0%)患者为混合感染,常规检测方法联合mNGS检出混合感染29例

(47.5%),共检出病原体99株,主要分为细菌、真菌、病毒、结核、非结核分枝杆菌和非典型病原体6大类(表3)。

细菌感染者8例(13.1%、8/61),共检出10株细菌,主要包括铜绿假单胞菌2株、大肠埃希菌、变栖克雷伯菌、溶血葡萄球菌、人葡萄球菌、豚鼠耳炎诺卡菌、鼻疽诺卡菌、鸟肠球菌各和伊丽沙白金菌各1株;真菌感染者14例(22.9%、14/61),共检出18株真菌,包括新型隐球菌8株、似平滑念珠菌3株、曲霉菌4株、马尔尼菲篮状菌、耶氏肺孢子菌及尖端赛多孢子菌各1株;病毒感染者43例(70.5%、43/61),共检出59株病毒,包括人疱疹病毒4型(EB病毒)感染者24例(其中2例有颅内占位患者活检证实为中枢淋巴瘤)、人疱疹病毒5型(CMV)感染者15例、JC多瘤病毒感染8例、

表 2 61 例 AIDS 合并中枢神经系统感染者
常规实验室检测指标

指标	数值
外周血CD4 ⁺ T淋巴细胞计数 [M (P25, P75), 个/μl]	29 (10, 166)
CD4 ⁺ T细胞 < 200.0个/μl [例 (%)]	51 (83.6)
外周血Lg HIV-VL	4.6 (4.0, 5.3)
外周血病原学指标 [例 (%)]	
CMV DNA (+)	19 (31.1)
EB DNA (+)	29 (47.5)
1, 3-真菌D葡聚糖 (+)	14 (23.0)
CSF有核细胞数 [M (P25, P75), 个/μl]	6 (2, 30)
CSF有核细胞 > 8.0个/μl [例 (%)]	28 (45.9)
CSF生化	
葡萄糖 [M (P25, P75), mmol/L]	2.8 (2.3, 3.3)
葡萄糖 < 2.5 mmol/L [例 (%)]	19 (31.1)
蛋白 [M (P25, P75), g/L]	0.7 (0.5, 1.1)
蛋白 > 0.4 g/L [例 (%)]	48 (78.7)
氯化物 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	122.5 ± 5.5
氯化物 < 120.0 mmol/L [例 (%)]	14 (23.0)
CSF常规病原学检测 [例 (%)]	
CMV DNA (+)	7 (11.5)
EB DNA (+)	18 (29.5)
HSV DNA (+)	0 (0.0)
墨汁染色异常	4 (6.6)
革兰染色异常	1 (1.6)
抗酸染色异常	0 (0.0)
CSF培养 (+) [例 (%)]	3 (4.9)
结核DNA/X-pert (+) [例 (%)]	2 (3.3)
隐球菌抗原 (+) [例 (%)]	8 (13.1)

注:CMV:巨细胞病毒;HSV:单纯疱疹病毒,CSF:脑脊液;外周血CD4⁺T淋巴细胞计数正常值范围:345~2350个/μl,脑脊液有核细胞数正常值范围:0~8个/μl,葡萄糖正常值范围:2.5~4.5 mmol/L,蛋白正常值范围:0.1~0.4 g/L,氯化物正常值范围:120.0~132.0 mmol/L

表 1 61 例 AIDS 合并中枢神经系统感染者的临床表现

症状	例 (%)
头晕头痛	33 (54.1)
发热	31 (50.8)
恶心呕吐	20 (32.8)
四肢乏力伴行动障碍	17 (27.9)
视力模糊	9 (14.8)
意识障碍	7 (11.5)
言语障碍	4 (6.6)
呼吸困难	3 (4.9)
癫痫发作	3 (4.9)

人疱疹病毒3型[水痘带状疱疹病毒(varicella zoster virus, VZV)]感染者4例、传染性软疣病毒感染者1例、人疱疹病毒1型、人类细小病毒B19、人多瘤病毒1型、人疱疹病毒6A型、6B型和人乳头瘤病毒10型、134型感染者各1例；结核分枝杆菌感染者2例(3.2%、2/61)；非结核分枝杆菌感染者2例(3.2%、2/61)，包括鸟分枝杆菌，偶发分枝杆菌感染者各1例；非典型的病原体感染者8例(13.1%、8/61)，包括刚地弓形虫感染者3例、苍白密螺旋体感染者3株、军团菌和猫立克次体感染者各1例。部分病原体因不符合检出病原阳性标准已剔除。

表3 61例脑脊液 mNGS 检出病原体种类例数分布
[例(%)]

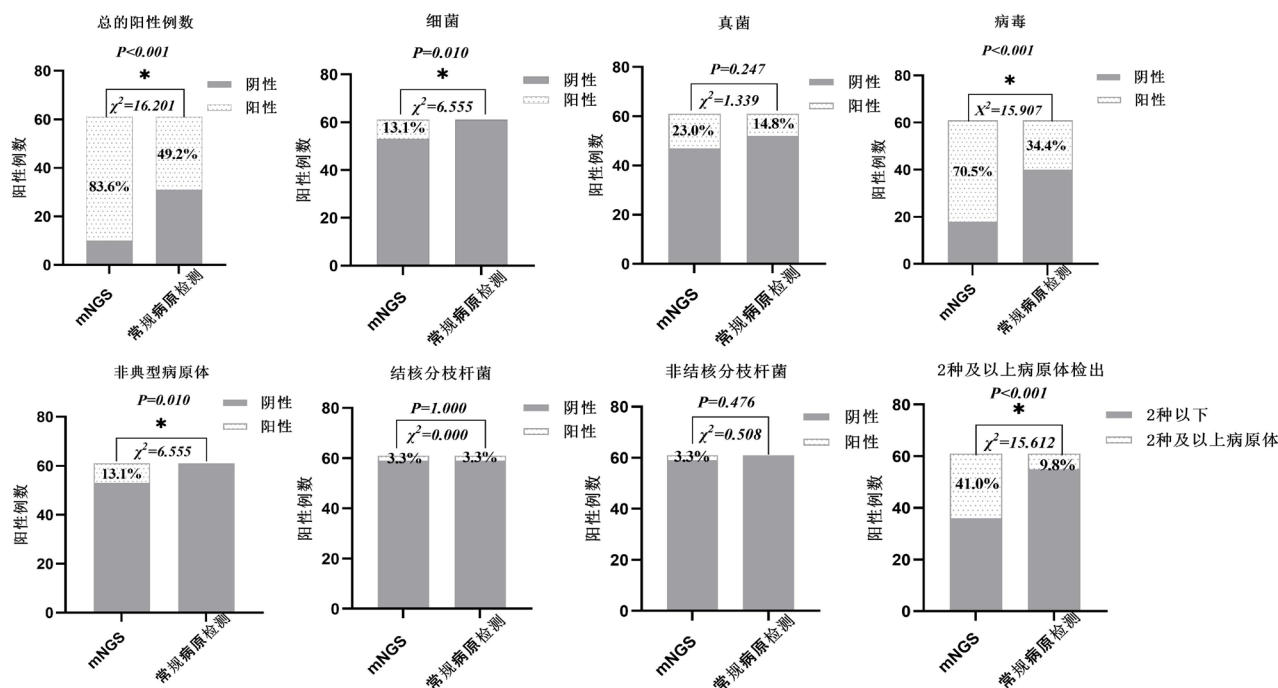
种类数	mNGS	常规检测方法	联合检测
0	10 (16.4)	31 (50.8)	8 (13.1)
1	26 (42.6)	24 (3.9)	24 (39.3)
2	12 (19.7)	6 (9.8)	15 (24.6)
3	10 (16.4)	0 (0.0)	11 (18.0)
4	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
5	1 (1.6)	0 (0.0)	1 (1.6)
6	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
7	2 (3.3)	0 (0.0)	2 (3.3)

四、脑脊液mNGS与常规病原学检测对比

61例患者纳入AIDS合并CNS感染疾病谱分析，其中mNGS检测阳性51例(83.6%)，高于常规病原体检测阳性30例(49.2%)，差异具有统计学意义($\chi^2 = 16.201$ 、 $P < 0.001$)，病毒($\chi^2 = 15.907$ 、 $P < 0.001$)、细菌($\chi^2 = 6.555$ 、 $P = 0.010$)及非典型病原体($\chi^2 = 6.555$ 、 $P = 0.010$)检出率差异均有统计学意义。mNGS检测结果中2种及以上病原体同时检出率为41.0%(25/61)，显著高于常规病原检测法(9.8%，6/61)，差异具有统计学意义($\chi^2 = 15.612$ 、 $P < 0.001$)，见图1。

mNGS联合常规病原学检测的总体阳性率(98.4%、60/61)，与单独常规病原学检测阳性率(49.2%、30/61)以及单独mNGS检测阳性率(83.6%、51/61)差异均具有统计学意义($\chi^2 = 38.125$ 、 $P < 0.001$ ， $\chi^2 = 8.093$ 、 $P = 0.004$)。mNGS联合常规病原学检测结果中2种及以上病原体同时检出率(47.5%、29/61)，显著高于常规病原检测(9.8%、6/61)，差异具有统计学意义($\chi^2 = 21.195$ 、 $P < 0.001$)，见表4。

61例患者中常规病原检测和mNGS检测均阳性26例(42.6%)，均阴性7例(11.5%)，常规病原检测阴性而mNGS检测阳性25例(41.0%、25/61)。



注：采用独立样本卡方检验

图1 mNGS与常规病原学检测

表4 常规病原学检测、mNGS 例与联合检测方法的病原体检出率 [例 (%)]

病原体检出	例数	常规病原学检测	mNGS	联合检测
病原体检出率	61	30 (49.2)	51 (83.6)	60 (98.4)
2种及以上病原体检出率	61	6 (9.8)	25 (41.0)	29 (47.5)

注: 病原体检出率: 常规病原学检测 vs. mNGS: $\chi^2 = 16.201$ 、 $P < 0.001$, 常规病原学检测 vs. mNGS 联合常规病原学检测方法: $\chi^2 = 38.125$ 、 $P < 0.001$, mNGS vs. mNGS 联合常规病原学检测方法: $\chi^2 = 8.093$ 、 $P = 0.004$ 。两种及以上病原体检出率: 常规病原学检测 vs. mNGS: $\chi^2 = 15.612$ 、 $P < 0.001$, 常规病原学检测 vs. mNGS 联合常规病原学检测方法: $\chi^2 = 21.195$ 、 $P < 0.001$, mNGS vs. mNGS 联合常规病原学检测方法: $\chi^2 = 0.532$ 、 $P = 0.466$

表5 mNGS、常规病原学检测与临床诊断隐球菌脑膜炎诊断中的敏感性和特异性

诊断方法	灵敏度	特异度	Kappa值	P值 ^a
mNGS/临床诊断	80% (8/10)	100% (51/51)	1.0472	0.480
常规病原学检测/临床诊断	90% (9/10)	100% (51/51)	1.0588	> 0.999

注: Kappa > 0.8 表明有很好的一致性; ^a: McNemar 检验, $P > 0.05$: 两种方法结果一致

以《2021年艾滋病诊疗指南》^[12]临床诊断的隐球菌脑膜炎为例, 常规病原检测阳性率为14.8% (9/61), mNGS检测阳性率为13.1% (8/61), 两种检测方法具有良好一致性。其中前者与临床诊断的一致性为90% (9/10), 后者为80% (8/10), 见表5。

10例mNGS检测阴性患者中9例结合病史及常规检测结果明确诊断, 4例患者诊断为神经梅毒, 3例患者诊断为急性HIV脑病, 2例患者诊断为结核性脑膜炎。

五、治疗及预后

61例患者被诊断为AIDS合并中枢神经系统感染, 其中35例 (57.4%) 患者依据mNGS检测结果更改了治疗方案。其中15例患者确定为CMV、EBV或VZV感染后加用抗病毒治疗 (更昔洛韦或阿昔洛韦), 8例患者检出JC多瘤病毒感染加用抗病毒治疗, 3例患者开始抗弓形虫治疗, 3例患者诊断为梅毒性脑膜炎后给予驱梅治疗, 2例患者确诊结核性脑膜炎给予抗结核治疗, 2例患者诊断为细菌性脑膜炎后给予抗菌治疗, 1例患者诊断为隐球菌脑膜炎给予抗真菌治疗, 1例患者经mNGS检出马尔尼菲蓝状菌后加用抗真菌治疗。58例 (95.1%) 患者经过积极治疗后好转出院, 3例 (4.9%) 患者死亡。

讨 论

mNGS即宏基因组二代测序技术是基于大规模并行测序原理, 具有不依赖于传统的微生物培养, 直接对临床样本中的核酸进行高通量测序, 能够快速、客观地检测多种病原微生物的特点^[14]。目前,

AIDS患者中有不少罕见病原体合并感染最终通过mNGS明确诊断的个案报道^[15-16], 但通过mNGS联合常规检测系统分析AIDS合并中枢神经系统感染疾病谱的报道尚少。本研究中AIDS患者颅内病变混合感染较常见, mNGS联合常规病原学检查可显著提高患者的病原学诊断, 超过98%的AIDS患者中枢神经系统感染的病原种类诊断明确, 病死率不到5%, 显著低于前期报道的AIDS合并颅内感染的病死率 (66.7%)^[17-18]。

中枢神经系统感染是AIDS患者住院的主要原因之一^[19]。既往研究报道, AIDS患者脑脊液病原体阳性率为27.9%~60%^[20-21], 本研究mNGS病原体检出率显著高于上述报道, 可能与本研究纳入对象为免疫功能严重低下人群有关。AIDS相关颅内感染种类较多, 包括弓形虫、结核分枝杆菌、隐球菌感染、CMV脑炎和JC病毒脑炎等^[2]。有研究报道^[22], 合并颅内病变的HIV感染者中, 73.5%通过mNGS鉴定出病原体。本研究结果与之相近, 在合并颅内病变的AIDS患者中, mNGS在感染性疾病诊断中的高检出优势得以证实, 提示对于严重免疫功能缺陷的AIDS患者, 在病原体种类未明确时, 应尽早行mNGS检测。

本研究中mNGS在诊断细菌、病毒和非典型病原体感染的总体阳性率检出高于常规病原学检测方法, 在病毒感染诊断方面优势最为突出, 如EB病毒、CMV病毒及JC多瘤病毒等。EBV是淋巴瘤的主要致病因素, 并发EBV病毒血症是AIDS并发CNS感染者死亡的独立危险因素^[17], 1年生存率低^[21]。本研究通过mNGS诊断EBV感染者中, 2例颅内占位最终经活检证实为中枢系统淋巴瘤, mNGS检测方法对提高临床诊疗效率发挥了积极作用。另外, 本研

究中经mNGS方法诊断为JC多瘤病毒和弓形虫感染的患者,结合头部MRI影像学表现、外周血弓形虫抗体和临床症状明确诊断,且疗效明显,避免了脑组织活检等有创操作,体现了其无创检测的诊断优势,更易被患者接受。此外,与既往报道相似^[23],本研究还在CSF中通过mNGS检测方法检出人乳头瘤病毒、人传染性软疣、人细小病毒B19等罕见病毒,但目前临床常规检测方法通常不包括上述病原体,再次体现了mNGS检测方法广覆盖性的优点。

在结核分枝杆菌及真菌感染诊断效率方面,mNGS与常规方法对病原体检出无显著差异。在非HIV感染者的脑脊液中,mNGS检测结核分枝杆菌的敏感度和特异度分别为84.44%和100%^[10]。在AIDS患者合并结核分枝杆菌感染的风险较高且病原学诊断困难的背景下,本研究通过mNGS和常规检测方法分别检出2例结核分枝杆菌,这表明两种方法联合应用效果更佳。本组患者颅内真菌感染以隐球菌为主,因常规隐球菌抗原检测对隐球菌脑膜炎的敏感性较高^[24],故mNGS未能显示其在颅内隐球菌感染诊断中的优势^[25]。其次,本研究还检出诺卡菌、伊丽莎白金菌、鸟分枝杆菌和偶发分枝杆菌等罕见致病菌,常规检测均为阴性。这些菌种主要导致呼吸道和血液等部位感染,颅内感染病例报道较少,常因不能及时发现致病菌类型而延误治疗^[15],已有指南将mNGS纳入到罕见致病菌的一线诊断中^[26]。

本研究mNGS检测病原体阴性的患者中,通过病史及常规检测方法证实为神经梅毒、急性HIV脑病和结核性脑膜炎;与Chen等^[22]报道mNGS漏诊的最常见AIDS颅内病变疾病为临床疑似结核性脑膜炎,其次是临床疑似非结核分枝杆菌脑膜炎不同,考虑可能与不同地区AIDS人群合并机会感染的疾病谱存在差异有关。本研究结果提示,AIDS合并颅内病变患者mNGS检测阴性尚需结合常规检测及病史综合判断。

本研究存在一定局限性,是一项单中心以重症病例为主的小样本研究,可能未充分反映本地区AIDS患者合并中枢系统感染的整体疾病谱;同时,常规病原检测所包含的病毒种类有限,这在一定程度上高估了mNGS在诊断病毒感染方面的优势,日后需扩大样本进一步研究;另外,mNGS检出的少见病原体感染对临床实践的指导意义尚待进一步验证^[27]。

综上,AIDS晚期合并CNS感染者混合感染常

见,病原谱依次包括病毒、真菌、细菌和非典型病原体等。mNGS作为一种新型微生物检测技术,在CNS感染病原体检测方面有显著优势,与常规病原学检测方法联合,能显著提高颅内感染的病原检出率,有助于及时精准诊疗,提高患者生存率。

参 考 文 献

- [1] Zayyad Z, Spudich S. Neuropathogenesis of HIV: from initial neuroinvasion to HIV-associated neurocognitive disorder (HAND)[J]. *Curr HIV/AIDS Rep*,2015,12(1):16-24.
- [2] Le LT, Spudich SS. HIV-Associated Neurologic Disorders and Central Nervous System Opportunistic Infections in HIV[J]. *Semin Neurol*,2016,36(4):373-381.
- [3] Martinella A, Lanzafame M, Bonometti M A, et al. Neurological complications of HIV infection in pre-HAART and HAART era: a retrospective study[J]. *J Neurol*,2015,262(5):1317-1327.
- [4] Glaser CA, Honarmand S, Anderson LJ, et al. Beyond viruses: clinical profiles and etiologies associated with encephalitis[J]. *Clin Infect Dis*,2006,43(12):1565-1577.
- [5] Yang R, Zhang H, Xiong Y, et al. Molecular diagnosis of central nervous system opportunistic infections and mortality in HIV-infected adults in Central China[J]. *AIDS Res Ther*,2017,14(1):24.
- [6] Vetter P, Schibler M, Herrmann JL, et al. Diagnostic challenges of central nervous system infection: extensive multiplex panels versus stepwise guided approach[J]. *Clin Microbiol Infect*,2020,26(6):706-712.
- [7] Kanjilal S, Cho TA, Piantadosi A. Diagnostic testing in central nervous system infection[J]. *Semin Neurol*,2019,39(3):297-311.
- [8] Xing XW, Zhang JT, Ma YB, et al. Apparent performance of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of cryptococcal meningitis: a descriptive study[J]. *J Med Microbiol*,2019,68(8):1204-1210.
- [9] Zhou Y, Liu Y, Wen Y. Primary *Toxoplasma gondii* infection-associated with hemophagocytic syndrome in a man with HIV infection: a case report[J]. *BMC Infect Dis*,2022,22(1):35.
- [10] Yan L, Sun W, Lu Z, et al. Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of Tuberculosis meningitis in HIV-negative population[J]. *Int J Infect Dis*,2020,96:270-275.
- [11] Ramachandran PS, Wilson MR. Metagenomics for neurological infections--expanding our imagination[J]. *Nat Rev Neurol*,2020,16(10):547-556.
- [12] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组,中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2021年版)[J]. *中国艾滋病性病*,2021,27(11):1182-1201.
- [13] 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(1):2-15.
- [14] 赵雪瑶,李大伟. 脑脊液宏基因组下一代测序技术在中枢神经系统感染性疾病诊断中的应用[J]. *吉林医学*,2021,42(9):2258-2261.
- [15] Gao Y, Qu M, Song C, et al. Cerebral vasculitis caused by *Talaromyces marneffei* and *Aspergillus niger* in a HIV-positive patient: a case report and literature review[J]. *J Neurovirol*, 2022,28(2):274-280.
- [16] Hu Z, Weng X, Xu C, et al. Metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for toxoplasmic encephalitis[J]. *Ann Clin*

- Microbiol Antimicrob, 2018, 17(1):45.
- [17] 王中涛, 胡荣华, 周莹莹, 等. 153例获得性免疫缺陷综合征患者并发中枢神经系统机会性感染的临床特征和预后影响因素[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020, 14(3):191-197.
- [18] 张红, 熊勇, 高世成, 等. 艾滋病合并中枢神经系统病变的临床分析[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(2):46-50.
- [19] Ford N, Meintjes G, Calmy A, et al. Managing Advanced HIV Disease in a Public Health Approach[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(Suppl_2):S106-SS110.
- [20] Wilson MR, Sample HA, Zorn KC, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis[J]. N Engl J Med, 2019, 380(24):2327-2340.
- [21] Zhuang K, Zhang Y, Zhou L, et al. Isolation and characterization of spontaneously immortalized B-lymphocyte lines from HIV-infected patients with and without non-Hodgkin's Lymphoma[J]. Cancer Med, 2019, 8(15):6741-6755.
- [22] Chen J, Zhang R, Liu L, et al. Clinical usefulness of metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of central nervous system infection in people living with HIV[J]. Int J Infect Dis, 2021, 107:139-144.
- [23] 张赞, 石晓丹, 杜芳, 等. 宏基因组二代测序技术在中枢神经系统感染性疾病病原诊断中的应用及发展[J]. 中国临床神经科学, 2020, 28(3):328-333.
- [24] 韦芳菲, 熊勇, 张永喜, 等. 艾滋病合并隐球菌脑膜炎临床特征及预后影响因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(13):1936-1940.
- [25] Xing XW, Zhang JT, Ma YB, et al. Metagenomic next-generation sequencing for diagnosis of infectious encephalitis and meningitis: A large, prospective case series of 213 patients[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:88.
- [26] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11):681-689.
- [27] Wang J, Ye J, Yang L, et al. Inconsistency analysis between metagenomic next-generation sequencing results of cerebrospinal fluid and clinical diagnosis with suspected central nervous system infection[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1):764.
- (收稿日期: 2022-08-21)
(本文编辑: 孙荣华)

李倩, 邓莉平, 陈果, 等. 宏基因组二代测序在获得性免疫缺陷综合征合并中枢神经系统感染中的临床应用 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2023, 17(1):24-31.