

优势,其快速、非选择性的特性较好地补充了传统病原学诊断方法的不足。近些年 mNGS 已广泛应用于多种感染性疾病的诊断,对于提高感染性疾病患者,特别是危重症和免疫功能低下患者的诊断率,具有一定的临床意义^[8]。但现阶段 mNGS 亦存在一些不足^[9],如:费用高、无药敏试验结果、无法检测耐药性、判读标准缺乏、测序结果与治疗关系不明确、循证医学证据支持不足等。临床医师需合理应用,结合临床表现科学解读^[10],动态观察疗效。

参考文献

[1] 曹钰,柴艳芬,邓颖,等.中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J].临床急诊杂志,2018,20(1):2-22.

[2] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组.宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识[J].中华急诊医学杂志,2019,28(2):151-155.

[3] LONG Y,ZHANG Y,GONG Y,et al. Diagnosis of sepsis with cell-free DNA by next-generation sequencing technology in ICU patients[J]. Arch Med Res,2016,47(5):365-371.

• 案例分析 • DOI:10.3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 11. 041

应用二代测序技术诊断神经系统囊虫病并文献复习

刘小广,安 强[△]

北京市门头沟区医院/首都医科大学门头沟教学医院神经内科,北京 102300

关键词:神经系统囊虫病; 二代测序; 脑脊液
中图法分类号:R741.04 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2022)11-1582-03

神经系统囊虫病(NCC)是一种常见的中枢神经系统寄生虫感染疾病,主要临床表现为头痛、癫痫发作,也可引起脑积水、局灶性神经功能缺损、精神异常等。NCC 的临床表现取决于病变的部位、寄生虫的阶段(存活、退化、钙化)和宿主的反应。从无症状感染到危及生命的颅内高压,其表现可能各不相同^[1]。尽管腰椎穿刺脑脊液常规生化检查、细胞学检查、血清免疫抗体检测、PCR 等已经被广泛应用,但在总体上其诊断灵敏性及特异性仍较差,早期、准确诊断 NCC 仍具有挑战性。二代测序(NGS)可快速提供病原菌高通量的 DNA 序列,帮助临床医生早期、准确诊断^[2]。本文报道 1 例经脑脊液 NGS 诊断 NCC 的病例,并结合相关文献来探讨 NGS 对该类病例诊断的重要性,现报道如下。

1 临床资料

患者,男,56 岁,退休工人。以“头痛 2 年余,呕

[4] 中华医学会呼吸病学分会.中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016 年版)[J].中华结核和呼吸杂志,2016,39(4):253-279.

[5] 刘又宁,施毅.铜绿假单胞菌下呼吸道感染诊治专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2014,37(1):9-15.

[6] 顾鹏,许书添,姜雪,等.外周血宏基因组宏基因二代测序对肺孢子菌肺炎的诊断价值[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2020,29(1):8-13.

[7] 张慈,孙蕾,朱晓颖,等.免疫功能正常肺孢子菌肺炎 1 例[J].临床肺科杂志,2019,24(3):570-572.

[8] 李冰,缪青,金文婷,等.宏基因二代测序技术对厌氧菌感染精准化诊断的临床价值[J].中华医院感染学杂志,2019,29(13):1927-1930.

[9] 缪青,马玉燕,胡必杰.基于宏基因二代测序技术检测呼吸道病毒的临床应用[J].中华医院感染学杂志,2018,28(12):1908-1912.

[10] 瞿介明,刘海霞.病原体分子诊断技术在下呼吸道感染诊断中的应用及其价值[J].中华结核和呼吸杂志,2019,42(7):486-489.

(收稿日期:2021-10-10 修回日期:2022-04-08)

吐、记忆力下降、步态不稳 4 个月,发热、睡眠增多、大小便失禁 1 个月”于 2020 年 2 月 26 日入院。患者 2 年前(2019 年 12 月)无诱因出现头部针刺样疼痛,症状持续数十分钟至数小时,反复发作,当地医院行头颅 CT 示脑积水,未予药物治疗。4 个月前头痛加重,并频繁出现恶心、呕吐、记忆力下降、言语减少、交流困难、步态不稳,无发热、肢体无力及大小便失禁,无视力下降,无肢体抽搐,行头颅 MRI 示交通性脑积水并双侧脑室周围间质性水肿。腰椎穿刺检查压力 200 mm H₂O,脑脊液呈淡黄色、微浑浊,白细胞计数 2.03×10⁹/L,单核细胞百分比 99%,蛋白 2 550 mg/dL,葡萄糖 0.79 mmol/L,氯化物 116 mmol/L,脑脊液细菌及真菌培养阴性,眼底检查未见视乳头水肿,患者未予特殊治疗。1 个月前患者症状逐渐加重,出现持续性发热,最高体温 39.4℃,睡眠增多,大小便失禁,不能行走,予甘露醇、阿昔洛韦治疗,症状无

[△] 通信作者,E-mail:fengniao169@163.com。

好转。既往患高血压、2 型糖尿病,有乙型肝炎病毒携带史。否认输血史,无外地久居史,无地方病,无生食习惯。入院查体:体温 37.5℃,脉搏 84 次/分,呼吸 20 次/分,血压 155/88 mm Hg,双肺呼吸音粗,意识清,反应迟钝,交流困难,双侧瞳孔等大等圆,对光反射灵敏,双侧鼻唇沟对称,伸舌居中,口角无歪斜,四肢均能抬举,肌力检查不合作,四肢腱反射正常,双侧巴氏征可疑阳性,颈抵抗,颈胸距 4 横指,克氏征阳性。入院后头颅 CT 表现无钙化,头颅增强 MRI 示脑积水伴双侧脑室周围间质性水肿。行腰椎穿刺时无脑脊液流出,考虑存在蛛网膜下腔梗阻。为明确梗阻部位行腰椎 MRI 示马尾神经走行、形态及信号异常。更换穿刺部位后腰椎穿刺压力 210 mm H₂O,脑脊液呈淡黄色,白细胞计数 $1.00 \times 10^9/L$ 。白细胞分类:单核细胞比例 99%,多核细胞比例 1%。蛋白 279 mg/dL,葡萄糖 2.06 mmol/L,氯化物 116.0 mmol/L;墨汁、抗酸染色阴性。TORCH 病毒全项、GM 试验、T-SPOT、人类免疫缺陷病毒、梅毒检测均为阴性。脑脊液经华大基因公司行病原菌 NGS,检出带绦虫属序列数 6 829,链状带绦虫序列数 4 935,随后血及脑脊液囊虫 IgG 抗体检测阳性。追问病史,患者 10 年前曾进食“米猪肉”,结合临床及影像学表现确诊为脑囊虫合并脊髓囊虫。给予口服阿苯达唑、激素,脑室穿刺引流等治疗。出院两个月后(2020 年 5 月 24 日)患者病情明显好转,头痛、大小便失禁症状消失,记忆力改善、可独自行走,复查腰椎穿刺压力 150 mm H₂O,脑脊液呈无色透明,脑脊液白细胞计数 $0.97 \times 10^9/L$,单核细胞比例 99%,蛋白 265 mg/dL,葡萄糖 2.38 mmol/L,氯化物 117.0 mmol/L,头颅 CT 示脑积水,脑室系统扩张程度较之前稍减轻,血及脑脊液囊虫 IgG 抗体仍为阳性,继续予阿苯达唑联合激素规范治疗。

2 讨 论

NCC 是猪肉绦虫的幼虫寄生于中枢神经系统引起的疾病。该病呈世界性分布,尤其在发展中国家广泛流行。我国人群猪肉绦虫感染率为 0.14%~3.20%,全国囊尾蚴病患者约 300 万人,其中约 80% 为脑囊虫病;脑囊虫病以男性青壮年发病较多,患者平均年龄 35 岁,误诊率、误治率为 25%~35%^[3]。根据囊尾蚴寄生的部位可分为脑实质型、脑室型、蛛网膜型、脊髓型、混合型,其中累及蛛网膜下腔、脑池等部位的蛛网膜型相对少见,据研究报道该型占 NCC 总患病率的 0~43.8%^[4]。脊髓受累占囊虫感染的 1.0%~5.8%,故脑囊虫合并脊髓受累更少见^[5]。蛛网膜型脑囊虫病常表现为慢性脑膜炎、脑积

水,易与结核、真菌、病毒性脑膜炎等颅内感染相混淆,但很少出现发热、颈强直。合并脊髓病变时,如果受累部位为硬膜内,感染主要造成蛛网膜下腔及髓内的损害,囊尾蚴可在蛛网膜下腔直接通过脑脊液传播^[6]。本例患者多次行头颅影像学检查,脑实质及脑室中均未发现囊虫包囊及头节,病程中无抽搐、肢体瘫痪、感觉障碍等,其症状不典型,给诊断带来一定困难,使病程持续长达 2 年。因此,对 NCC 准确、及时的诊断是良好预后的关键,临床上找到一种检测速度快、准确率高的诊断 NCC 的方法意义重大。

脑脊液 NGS 通过收集脑脊液标本病原菌的 DNA 片段,对其扩增后同时检测出细菌、病毒、真菌或寄生虫 DNA 序列,为诊断提供关键线索^[7-8]。以“Next generation sequencing”和“Neurocysticercosis”作为关键词,通过 PubMed 数据库检索所有英文文献,共报道了 7 例 NCC 患者经 NGS 技术检测到链状带绦虫^[9-11],其中男 4 例、女 3 例,年龄 28~58 岁,病程 1~96 个月,临床特点主要表现为头痛、视物模糊、记忆力减退、抽搐、意识丧失、肢体麻木。影像学表现大多为脑膜强化、脑积水、钙化、多发囊样病灶,链状带绦虫检出 DNA 序列数为 478~58 789,并经脑脊液囊虫 IgG 抗体阳性证实。其中 LIU 等^[9]报道 1 例表现为头痛、纯感觉性卒中的患者,通过 NGS 检测到链状带绦虫,给予吡喹酮治疗后患者明显好转,并发现治疗后链状带绦虫 DNA 序列数较治疗前显著下降。FAN 等^[10]报道了 4 例神经系统感染的患者,常规检查未能明确其致病病原菌,而通过 NGS 检测意外发现其感染了链状带绦虫。WILSON 等^[11]报道了针对诊断困难的亚急性或慢性脑膜炎患者,可通过 NGS 分析脑脊液病原菌寻找病因,利用此方法 1 例近 1 年病情持续恶化的脑囊虫病患者得以确诊。

虽然有越来越多的病例报道和临床研究证明 NGS 可作为脑囊虫病诊断工具,但是污染和定植仍是 NGS 常见的问题。污染微生物中以痤疮丙氨酸杆菌最常见,污染可能与腰椎穿刺过程中的皮肤损伤、样品制备过程中的交叉污染等有关^[12],本病例与文献^[12]报道的结论一致,例如检出痤疮丙氨酸杆菌。背景微生物主要来源于周围环境,因此,在出具分析报告之前,研究人员应该首先了解实验室常见的背景微生物。本病例中检出葡萄球菌属、伯克霍尔德菌属、不动杆菌属与文献^[13]报道相符。

脑脊液 NGS 是早期准确诊断 NCC 的有效工具,尤其是患者临床表现不典型时更是如此。随着测序技术的进展和成本的下降,NGS 技术有望在临床广泛应用。

参考文献

[1] WEBB C M, WHITE A C. Update on the diagnosis and management of neurocysticercosis[J]. Current Infect Dis Rep, 2016, 18(12): 44.

[2] 冯国栋, 贺旻, 汪昕. 二代测序技术在诊断神经系统感染性疾病中的应用[J]. 诊断学理论与实践, 2018, 17(4): 391-395.

[3] 王小莉, 王鹏. 以传染源控制为主的血吸虫病综合防治策略长期实施效果[J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(9): 829-832.

[4] DAS R R, TEKULVE K J, AGARWAL A, et al. Race-mose neurocysticercosis[J]. Semin Neurol, 2012, 32(5): 550-555.

[5] KIM S W, WANG H S, JU C I, et al. Acute hydrocephalus caused by intraspinal neurocysticercosis: case report [J]. BMC Res Notes, 2014, 7(1): 2.

[6] KIM M, RHIM S C, KHANG S. Intramedullary spinal cysticercosis: a case report and review of literature[J]. Korean J Spine, 2014, 11(2): 81-84.

[7] 陆杰, 关鸿志, 王多浩, 等. 脑脊液病原菌二代测序在 α 疱疹病毒颅内感染诊断中的应用[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(4): 387-391.

[8] 辛子凯, 邹月丽, 范佳, 等. 脑脊液二代测序确诊中枢神经

系统李斯特菌感染二例[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(25): 1989-1990.

[9] LIU P, WENG X, ZHOU J, et al. Next generation sequencing based pathogen analysis in a patient with neurocysticercosis: a case report[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 113.

[10] FAN S Y, QIAO X D, LIU L, et al. Next-generation sequencing of cerebrospinal fluid for the diagnosis of neurocysticercosis[J]. Front Neurol, 2018, 9: 471

[11] WILSON M R, ODOONOVAN B D, GELFAND J M, et al. Chronic meningitis investigated via metagenomic next-generation sequencing[J]. JAMA Neurol, 2018, 75(8): 947.

[12] BUKOWSKA-OSKO I, PERLEJEWSKI K, NAKAMURA S, et al. Sensitivity of next-generation sequencing metagenomic analysis for detection of rna and dna viruses in cerebrospinal fluid: the confounding effect of background contamination[M]. Cham; Springer International Publishing, 2016: 53-62.

[13] FAN S Y, REN H T, WEI Y P, et al. Next-generation sequencing of the cerebrospinal fluid in the diagnosis of neurobrucellosis[J]. Int J Infect Dis, 2018, 67: 20-24.

(收稿日期: 2021-11-06 修回日期: 2022-03-08)

(上接第 1577 页)

效率, 必须对碎片化知识和学习平台重组。为了将碎片化学习法更加系统化应用于临床实践中, 建构合理的课程体系是必要保障。本研究利用线上 MOOC、视频公开课、远程教育等平台搭建各种教学途径, 精心遴选更多有价值的学习内容, 利用现代化的设备和便捷的信息网络推送给学生, 并在应用过程中不断地对学习内容进行精选、分类、标记和有效整合, 从“碎片”到“整体”建构合理的课程管理体系, 对学习方式进行综合评估并不断更新, 通过有效组织, 使知识点实现从碎片化到课程体系化的转变。

通过教学实践, 可以看出, 将碎片化学习法应用在医学检验技术专业临床教学实践中, 可以巩固学生的基础知识, 提高学生的综合实践能力, 提升学生学习的主动性和积极性; 而将碎片化学习法体系化管理, 可以让学生更系统地学习、掌握知识技能, 让教师及时了解学生的学习情况, 形成具有特色的实习生理论教学课程体系, 也为其他实习教学基地提供教学模式参考。今后, 笔者会进一步跟踪、研究学生的实习及就业情况, 根据教师带教的意见和用人单位的反馈, 继续研究、完善该教学模式, 使碎片化学习法更有

效地服务于医学检验技术专业学生的临床教学。

参考文献

[1] 张克永. 碎片化学习中的认知障碍问题研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.

[2] 王偲, 李小强, 石宇, 等. 浅谈检验科实习带教存在的问题与对策[J]. 中国继续医学教育, 2019, 11(33): 74-76.

[3] 贺喜. 浅谈慕课对碎片化学习的作用研究[J/CD]. 新教育时代电子杂志(教师版), 2019, 8(1): 81-82.

[4] 王竹立. 移动互联时代的碎片化学习及应对之策: 从零存整取到“互联网+”课堂[J]. 远程教育杂志, 2016, 34(4): 9-16.

[5] 邓小燕, 吴红, 徐德意, 等. 血液学检验技术精品课程翻转设计研究[J]. 卫生职业教育, 2019, 37(21): 66-67.

[6] 曾凡梅, 魏延. 基于问题的碎片化学习模式探究[J]. 成人教育, 2018, 38(2): 15-18.

[7] 杨洪军, 徐娟娟, 李萍. 碎片化学习与系统教学整合策略研究[J]. 教学与管理, 2019, 36(15): 11-14.

[8] 黄建锋. 碎片化学习: 基于“互联网+”的学习新样式[J]. 教育探索, 2016, 36(12): 115-119.

(收稿日期: 2021-10-11 修回日期: 2022-01-28)