

## • 病例报告 •

## 宏基因二代测序早期诊断炭疽性脑膜脑炎一例及文献复习

李亚霖<sup>1</sup> 游海英<sup>2</sup> 康寿磊<sup>1</sup> 王文涛<sup>1</sup> 朱瑞玲<sup>1</sup> 郝强<sup>3</sup><sup>1</sup> 山东第一医科大学附属聊城二院重症医学科, 聊城 252600; <sup>2</sup> 山东第一医科大学附属聊城二院介入手术室, 聊城 252600; <sup>3</sup> 山东第一医科大学附属聊城二院神经内科, 聊城 252600

通信作者: 郝强, Email: 12345ksl@163.com

【关键词】炭疽性脑膜脑炎; 宏基因二代测序技术; 抗感染

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20241006-00166

## 一、病例介绍

患者, 男, 56 岁, 因发热 3 d, 意识不清伴抽搐 6 h 于 2024 年 1 月 31 日就诊于山东第一医科大学附属聊城二院。患者 2024 年 1 月 28 日无明显诱因出现发热, 伴寒战、全身酸痛, 自测体温 39.0 °C。就诊于当地诊所, 给予口服退热药物及输液治疗(具体不详), 效果不佳, 患者仍有发热, 体温波动于 (37.6~38.8) °C 之间。6 h 前, 患者输液中逐渐出现烦躁不安、呼之不应、口角歪斜、四肢强直, 随即送至我院, 以“重症脑炎”收入 ICU 病房。既往史: 该患者 5 年前曾因头部外伤住院治疗, 期间发现脑脊液鼻漏, 住院 11 d 出院。5 年来, 时有低头或打喷嚏时见少量清亮液体自鼻孔流出。入院查体: 体温 37.3 °C, 心率 134 次/min, 呼吸 32 次/min, 血压 158/100 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa)。神志不清, 呼之不应, 表情痛苦, 急性面容, 呼吸急促, 四肢强直, 被动体位, 查体不合作。双肺呼吸音粗, 未闻干湿性啰音。心律齐, 心音有力, 各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音。腹部平坦、柔软, 肝脾肋下未触及, 肠鸣音消失。神经系统查体: 双侧瞳孔等大同圆, 直径 2 mm, 对光调节反射存在。颈抵抗阳性, 四肢肌张力高, 双侧 Babinski 征、Gordon 征、Oppenheim 征、Kernig 征、Brudzinski 征均阳性。辅助检查: 血气分析显示, pH 7.33, PCO<sub>2</sub> 26 mmHg, PO<sub>2</sub> 79 mmHg, 乳酸 10.8 mmol/L, 碱剩余 -7.3 mmol/L, 血糖 10.6 mmol/L; 血常规 WBC 26.28×10<sup>9</sup>/L, 中性粒细胞占比 86.1%, C 反应蛋白 52.75 mg/L, 降钙素原 0.25 ng/mL, D-二聚体 16.34 mg/L, 肝功能、肾功能和心肌酶检测未见异常, 甲型流感病毒抗原、乙型流感病毒抗原、新型冠状病毒抗原、肺炎支原体 DNA 均为阴性, 胸部 X 线拍片未见异常。

患者入院后立即给予经口气管插管呼吸机辅助呼吸, 控制癫痫, 脱水降颅压, 给予哌拉西林他唑巴坦 4.5 g+去甲万古

霉素 1.0 g 静脉滴注治疗。急行颅脑 MRI 检查, 结果示右侧尾状核头部, 双侧海马异常信号, 疑诊脑炎。留取血培养、痰培养、血宏基因二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 并完善腰穿送检脑脊液常规、生化、培养及 mNGS 明确病原学依据。腰穿见脑脊液淡黄色浑浊, 压力大, 不能测量, 采取半保留穿刺针芯留取脑脊液 5 mL 送检。2 h 后回报脑脊液细胞数 899×10<sup>6</sup>/L, 多核细胞占比 88.7%, 蛋白含量 5 421 mg/L, 糖 1.28 mmol/L, 氯化物 118.2 mmol/L, 墨汁染色、涂片找抗酸杆菌、薄膜实验均阴性。诊断化脓性脑膜脑炎明确, 更改抗菌药物为美罗培南 1.0 g (每 8 小时 1 次)+万古霉素 1.0 g (每 12 小时 1 次)。

入院第 2 天, mNGS 检测脑脊液: 炭疽芽孢杆菌, 序列数 83942; 血液 mNGS: 炭疽芽孢杆菌, 序列数 41。明确诊断炭疽杆菌脑膜脑炎。立即负压病房单间隔离, 调整抗感染治疗为美罗培南 2.0 g (每 8 小时 1 次)+万古霉素 1.5 g (每 8 小时 1 次)+莫西沙星 0.4 g (1 次/d) 静滴。电话上报聊城市疾病预防控制中心, PCR 检测结果显示脑脊液炭疽特异性核酸阳性, 血样本及痰样本均阴性。患者病情危重, 深昏迷, 持续高热, 时有癫痫发作, 抗感染基础上给予呼吸支持, 控制癫痫, 降温, 脱水降颅压等对症处理; 给予地塞米松 10 mg 次/d 静脉滴注。

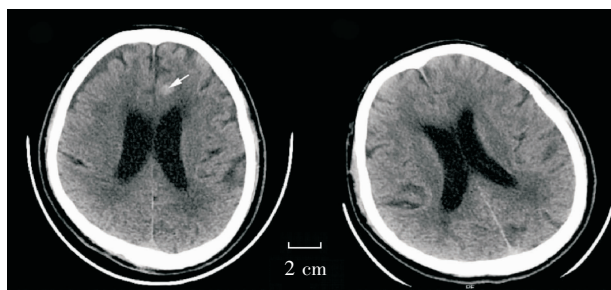
入院后第 7 天, 患者仍昏迷, 体温降至正常, 生命体征逐渐稳定; 第 15 天给予气管切开。万古霉素使用 14 d 后更换为利奈唑胺 0.6 g (每 12 小时 1 次) 静滴; 美罗培南使用 21 d 更换为青霉素 400 万 U (每 12 小时 1 次), 同时将静脉用莫西沙星换为口服剂型, 剂量不变。机械通气治疗第 7 天采用一次性支气管镜给予支气管镜检查+支气管肺泡灌洗。发现气道内痰液较多, 黄色黏稠, 黏膜可见充血水肿, 存在感染迹

象。予生理盐水局部支气管灌洗,留取痰样本及灌洗液培养及炭疽杆菌特异性核酸 PCR 监测。共进行支气管镜操作 7 次,最初 2 次样本培养结果为肺炎克雷伯菌,该菌对美罗培南敏感,故未调整抗菌药物方案。支气管肺泡灌洗 3 次后镜下所见水肿、充血等感染表现逐渐好转。肺泡灌洗液炭疽杆菌特异性核酸 PCR 监测结果均为阴性。入院后第 31 天,患者神志浅昏迷,脱机后呼吸平稳,拔除气管切开套管。

入院后第 36 天,患者神志转清,脑脊液 PCR 法检测炭疽特异性核酸连续 2 次阴性(间隔 24 h),解除隔离,转至普通病房。治疗期间脑脊液压力、细胞数、糖及蛋白含量演变提示患者颅内感染逐步好转(见图 1)。利奈唑胺及青霉素均使用 20 d 停药,保留口服莫西沙星 400 mg,1 次/d,直至莫西沙星疗程满 60 d。患者住院 66 d,神志清,精神较好,四肢活动自如,记忆力、定向力无异常,无发热、头痛,能生活自理;血常规化验 WBC、CRP 炎症指标完全正常,痊愈出院。住院期间该患者共行腰穿化验脑脊液 10 次,PCR 法检测炭疽特异性核酸前 8 次为阳性,后 2 次为阴性。入院后第 36 天行脑 CT 检查示左侧额叶少许出血(图 2 A),20 d 后复查出血消失(图 2 B)。

## 二、流行病学

患者发病前 2 天曾到当地屠宰店购买生牛肉,聊城市疾控工作人员对屠宰店刀具采用 PCR 法检测炭疽特异性显示



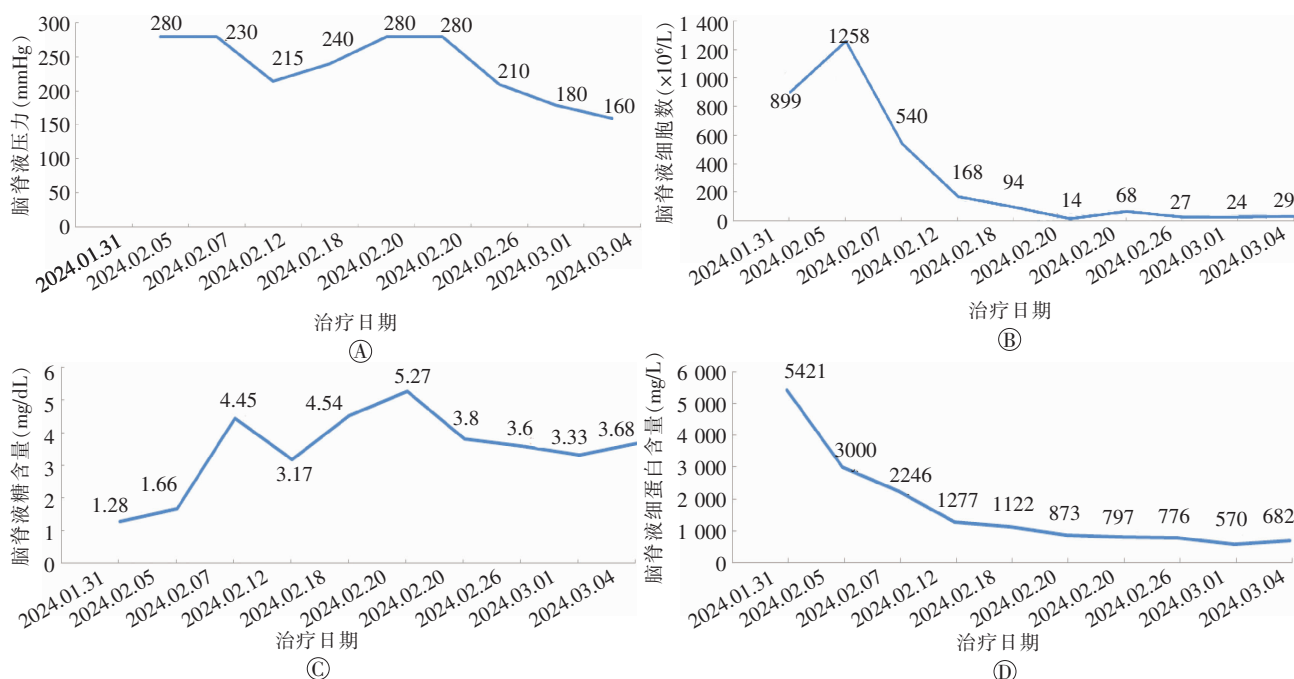
注: A 图为入院第 36 天脑 CT 见左侧少量脑出血(箭头处); B 图为 20 天后复查显示出血完全吸收

图 2 治疗过程中患者颅脑 CT 变化

核酸阳性。密切追踪屠宰工作人员、参与牛肉烹饪、进食、与患者有密切接触的家属、与患者同期购买牛肉的社区居民及与患者同处一室的病友、参与患者抢救治疗的医务人员,时间超过 14 d,该类人群无发热等可疑症状。

## 三、讨论

炭疽是由炭疽芽孢杆菌感染导致的人畜共患疾病,往往由于直接暴露于感染动物或其制品而发病。根据临床表现炭疽感染可分为皮肤炭疽、肺炭疽、肠炭疽、炭疽性脑膜炎、败血症型炭疽 5 类。其中以皮肤炭疽最多见,约占总炭疽病例的 95%。炭疽性脑膜炎多为其他部位炭疽感染的并发症,国外报道炭疽性脑膜炎死亡率可达 96%~100%<sup>[1]</sup>。国家



注: 1 mmHg=0.133 kPa; A 图为患者入院后脑脊液压力随治疗时间逐渐下降至正常范围; B 图为规范抗炭疽杆菌感染治疗后患者脑脊液细胞数迅速下降; C 图为规范抗炭疽杆菌感染治疗后患者脑脊液糖含量迅速回升至正常水平; D 图为患者脑脊液蛋白含量早期下降迅速,后期下降缓慢

图 1 患者脑脊液压力、蛋白含量、细胞数及糖含量变化

卫生健康委办公厅、国家中医药局综合司联合下发《炭疽诊疗方案(2023)》指出炭疽性脑膜炎病死率超过 90%。炭疽性脑膜炎分为原发性和继发性 2 种类型<sup>[2]</sup>。原发性常无明显感染部位,可能因炭疽芽孢杆菌定植于黏膜表面后经血液侵入蛛网膜下腔、脉络膜丛或脑室进入脑脊液所致<sup>[3]</sup>。该患者有外伤后脑脊液鼻漏病史,多次 PCR 法检测肺泡灌洗液及血液炭疽杆菌特异性核酸阴性,无皮肤及消化系统炭疽感染的临床表现,入院时胸部 X 线拍片无异常,排除皮肤、肺、肠炭疽。脑脊液 mNGS 检测炭疽芽孢杆菌序列数 83 942,多次采用 PCR 法检测脑脊液炭疽杆菌后显示特异性核酸阳性,血液炭疽特异性核酸阴性,初步判断原发感染部位为颅内,系炭疽芽孢杆菌通过脑脊液鼻漏处逆行进入颅内导致感染,而非其他部位感染后由血液透过血脑屏障导致脑膜炎。外伤后脑脊液鼻漏引发的炭疽性脑膜炎病例文献报道极少。

该患者通过 mNGS 技术检测 CSF 确诊炭疽性脑膜炎。炭疽杆菌的特异性病原学和血清学检查有细菌涂片、细菌培养、PCR 监测炭疽杆菌特异性核酸、免疫层析法炭疽杆菌抗原检测、ELISA 法和免疫层析法检测炭疽毒素抗原的抗体和荚膜抗体等方法<sup>[4]</sup>。因 PCR 法检测具有快速、经济、对设备要求较低等优势,目前我国疾控部门多使用该方法监测确诊炭疽感染。在非炭疽高发区域,医疗机构不常规开展炭疽杆菌相关病原体检测,故快速诊断炭疽性脑膜炎困难。mNGS 技术具有无偏倚检测的优势,可同时检测病原体 DNA 或 RNA,近年来常用于临床诊断<sup>[5]</sup>,尤其对混合感染、病原不明的疑难感染性疾病的诊断有较大价值<sup>[6]</sup>。此外,mNGS 可以提供耐药性预测所需的辅助基因组信息<sup>[7]</sup>,为抗感染药物选择提供帮助。有报道 mNGS 技术用于皮肤炭疽感染的诊断<sup>[8]</sup>,可见 mNGS 技术对于特殊病原体感染的诊断应用价值高。本例患者入院当天笔者采用 mNGS 技术检测脑脊液,发现炭疽芽孢杆菌基因片段,确诊炭疽颅内感染,为尽早规范治疗赢得了宝贵时间。不过 mNGS 技术也有其局限性:对样本质量要求高,若样本采集和运输过程中处理不当导致病原体 RNA 降解,可能产生假阴性结果<sup>[9]</sup>;而 mNGS 技术检测混合感染或在原有感染基础上继发感染患者时,往往会得到所有病原体信息,但并非所有病原体都是致病因素,导致检测假阳性率升高<sup>[9]</sup>;此外,如结核分枝杆菌、布鲁菌、伤寒沙门菌等主要寄生在单核细胞内,人体感染后释放入体液中的病原体较少,导致检测灵敏度下降<sup>[10]</sup>。与传统检测方法相比,mNGS 技术成本高,对设备及人员要求高,检测结果解读缺乏统一标准,限制了这一技术在基层医疗机构开展。基于目前技术,mNGS 不能完全取代传统实验室检测在病原学诊断中的地位,但可考虑作为一种确实有效的补充手段<sup>[11]</sup>。

颅内出血是炭疽性脑膜炎常见并发症。炭疽性脑膜炎出血部位可见于大脑半球、蛛网膜下腔、脑室内、脑灰白质交界处<sup>[12]</sup>。该例患者脑脊液检查无肉眼可见血性脑脊液,化验检查亦未提示脑脊液存在红细胞,患者最终结局与 Katharios-Lanweremeyer 等<sup>[1]</sup>结论一致,即脑脊液无出血表现的患者存活概率高。感染相关的颅内出血还可见于单纯疱疹病毒、水痘病毒、风疹病毒、EB 病毒、阿米巴等导致的颅内感染<sup>[13]</sup>,脑脊液化验表现为病毒性脑膜炎特点。临床医师遇到脑炎患者脑脊液检验以化脓性脑膜炎为突出特点合并出血改变时应想到炭疽感染的可能。该患者入院当天行脑 CT 及 MRI 检查均未发现颅内出血,入院后第 36 天脑 CT 检查示左侧额叶少许出血,为出血吸收期改变,20 d 后复查 CT 出血吸收。由于患者确诊炭疽性脑膜炎后实施了严格隔离措施,导致接受脑部影像学检查时间滞后,确诊颅内出血较晚。因此患者一旦确诊炭疽性脑膜炎应警惕脑出血的发生,在做好隔离的前提下应动态观察颅脑影像改变。该患者昏迷时间达 36 d,考虑与炭疽性脑膜炎基础上合并颅内出血相关。尼莫地平及他汀类药物已证实对蛛网膜下腔出血患者存在神经保护作用,但对炭疽性脑膜炎合并蛛网膜下腔出血患者疗效尚不确定<sup>[2]</sup>。高渗治疗及血压的控制可能有助于减少出血的扩大,减轻脑水肿,有利于炭疽性脑膜炎伴脑出血患者的治疗<sup>[2]</sup>。

我国《炭疽诊疗方案(2023)》指出:炭疽性脑膜炎感染给予至少 3 种抗菌药物治疗,其中至少一种为杀菌剂(氟喹诺酮类或  $\beta$ -内酰胺类),且至少一种为蛋白合成抑制剂,所有抗菌药物均应有良好中枢渗透性;系统性炭疽抗菌药物治疗总疗程为 60 d,静脉治疗 2 周后或临床症状明显好转可改为单一药物口服治疗<sup>[4]</sup>。本文患者确诊后采用万古霉素、美罗培南、莫西沙星三联抗感染治疗;2 周后患者脑脊液化验显示颅内感染减轻,考虑万古霉素在脑膜炎反应时可透过血脑屏障,而炎症反应消失后透过血脑屏障的作用减弱,改为透过血脑屏障效果更好的利奈唑胺继续治疗。我国《炭疽诊疗方案(2023)》未涉及抗毒素治疗药物。目前美国食品药品监督管理局(FDA)批准的抗毒素药物有炭疽免疫球蛋白、拉西巴库单抗克隆抗体(raxibacumab)和奥比妥昔单抗克隆抗体(obiloximab)。有限的临床研究及动物实验表明,抗毒素治疗可以提高炭疽患者存活率<sup>[14]</sup>,但美国疾病预防控制中心 2023 版指南指出抗毒素治疗并未改善患者预后<sup>[15]</sup>。有研究提示拉西巴库单抗克隆抗体和奥比妥昔单抗克隆抗体可引起过敏反应<sup>[16][17]</sup>,使用前需注射苯海拉明。

本文患者入院时病情危重,立即给予呼吸支持、控制颅内压、控制癫痫、控制体温等对症支持治疗,确诊炭疽颅内感染后抗感染治疗严格参照我国《炭疽诊疗方案(2023)》执行。

患者救治过程中机械通气时间长达 31 d, 期间支气管镜检查+支气管肺泡灌洗共 7 次, 有效地清除气道分泌物并为微生物培养提供可靠的样本, 为预防和治疗呼吸机相关肺部感染发挥了重要作用。本文最初 2 次样本培养结果为肺炎克雷伯菌, 对美罗培南敏感, 故未进行抗菌药物调整。经支气管肺泡灌洗及抗感染治疗, 镜下所见水肿、充血等感染表现逐渐好转, 灌洗液培养无菌生长, 最终成功撤离机械通气治疗。住院期间所采取的综合措施, 包括严格隔离、感染控制、营养支持、及时气管切开及静脉血栓预防, 是患者最终治疗成功的关键。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献声明** 李亚霖: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 游海英: 实施研究过程, 数据收集; 康寿磊: 实施研究过程, 数据收集; 王文涛: 资料整理; 朱瑞玲: 研究指导; 郝强: 论文审核

### 参 考 文 献

- [1] Katharios-Lanwermeier S, Holty JE, Person M, et al. Identifying meningitis during an anthrax mass casualty incident: Systematic review of systemic anthrax since 1880[J]. Clin Infect Dis, 2016, 62 (12):1537-1545. DOI: 10.1093/cid/ciw184.
- [2] 刘瑜珊, 丁向春, 鲁晓攀, 等. 炭疽诊疗新进展[J]. 中华传染病杂志, 2023, 41 (9): 619-622. DOI: 10.3760/cma.j.cn311365-20230119-00018.
- [3] Schwert C, Tenenbaum T, Kim KS, et al. The choroid plexus-a multi-role player during infectious diseases of the CNS [J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9:80. DOI: 10.3389/fncel.2015.00080.
- [4] 何达, 周凌云.《炭疽诊疗方案(2023 年版)》解读[J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(7): 749-754. DOI: 10.13461/j.cnki.cja.007716.
- [5] Gu W, Deng X, Lee M, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next generation sequencing of infected body fluids[J]. Nat Med, 2021, 27(1):115-124. DOI:10.1038/s41591-020-1105-z.
- [6] Salipante SJ, SenGupta DJ, Cummings LA, et al. Application of whole-genome sequencing for bacterial strain typing in molecular epidemiology [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53 (4): 1072-1079. DOI: 10.1128/JCM.03385-14.
- [7] Boolchandani M, D'Souza AW, Dantas G. Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20 (6): 356-370. DOI: 10.1038/s41576-019-0108-4.
- [8] Liu Y, Zhang G, Li J, et al. A case report of cutaneous anthrax diagnosed by using a metagenomic next generation sequencing (mNGS) approach [J]. Infect Drug Resist, 2023, 16: 3601-3606. DOI: 10.2147/IDR.S411717.
- [9] 毕铭轶, 汪春付, 连建奇, 等. 宏基因组测序在感染性疾病中的应用与反思[J]. 中华临床感染病杂志, 2019, 12(5):379-384. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2019.05.012.
- [10] Chiu CY, Miller SA, Clinical metagenomics [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 341-355. DOI: 10.1038/s41576-019-0113-7.
- [11] 徐智察, 赵冬冬, 周华, 等. 宏基因组测序在感染性疾病病原学诊断中的应用 [J]. 中华临床感染病杂志, 2019, 12(4):302-308. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2019.04.011.
- [12] Popescu CP, Zaharia M, Nica M, et al. Anthrax meningoencephalitis complicated with brain abscess - A case report[J]. Int J Infect Dis, 2021, 108:217-219. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.05.013.
- [13] Kim HJ, Jun WB, Lee SH, et al. CT and MR findings of anthrax meningoencephalitis: Report of two cases and review of the literature[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2001, 22(7):1303-1305.
- [14] Hesse EM, Godfred-Cato S, Bower WA. Antitoxin use in the prevention and treatment of anthrax disease: A systematic review [J]. Clin Infect Dis, 2022, 75(Suppl 3): S432-S440. DOI: 10.1093/cid/ciac532.
- [15] Bower WA, Yu Y, Person MK, et al. CDC guidelines for the prevention and treatment of anthrax, 2023 [J]. MMWR Recomm Rep, 2023, 72(6):1-47. DOI: 10.15585/mmwr.r7206a1.
- [16] Anthim (obitoximab). Parsippany, NJ: Elusys therapeutics; 2019. [EB/OL]. [2024-10-03]. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/125509s0151bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/125509s0151bl.pdf).
- [17] Nagy CF, Leach TS, Hoffman JH, et al. Pharmacokinetics and tolerability of obitoximab: A report of 5 healthy volunteer studies[J]. Clin Ther, 2016, 38(9):2083-2097.e7. DOI: 10.1016/j.clinthera.2016.07.170.

(收稿日期: 2024-10-06)