

DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20200738

· 病例报告 ·

脑脊液高通量基因测序诊断造血干细胞移植术后颅内琼氏不动杆菌感染1例报告

孙雷, 章卫平, 陈洁, 杨丹*

海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院血液内科, 上海 200433

[关键词] 高通量基因测序; 造血干细胞移植术; 中枢神经系统感染; 琼氏不动杆菌感染; 脑脊液

[中图分类号] R 457.7; R 619.3

[文献标志码] B

[文章编号] 2097-1338(2023)03-0378-04

Intracranial *Acinetobacter junii* infection after hematopoietic stem cell transplantation diagnosed by high-throughput gene sequencing in cerebrospinal fluid: a case report

SUN Lei, ZHANG Wei-ping, CHEN Jie, YANG Dan*

Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Key words] high-throughput gene sequencing; hematopoietic stem cell transplantation; central nervous system infection; *Acinetobacter junii* infection; cerebrospinal fluid

[Acad J Naval Med Univ, 2023, 44(3): 378-381]

1 病例资料 患者女, 48岁, 2018年7月无诱因出现乏力伴面色苍白, 当地医院血常规检查示单核细胞增多($1.3 \times 10^9/L$); 骨髓细胞形态学检查示单核细胞占37.5%, 其中幼稚单核细胞占12.5%, 考虑慢性粒-单核细胞白血病(chronic myelomonocytic leukemia, CMML)。予小剂量阿糖胞苷(50 mg/d)连用7 d, 治疗结束后监测血常规2周, 外周血单核细胞计数波动在($1.2 \sim 1.4$) $\times 10^9/L$, 患者不适症状无改善。2018年10月15日来我院血液内科门诊就诊, 查骨髓细胞形态学示有核细胞增生活跃, 其中原始细胞占3%, 部分幼稚粒细胞及杆状核细胞核质发育不平衡, 成熟粒细胞可见分叶过多现象。成熟单核细胞占7.5%, 幼稚单核细胞占3%, 符合CMML骨髓象。遂以CMML收入院。于2018年10月17日、2018年12月14日、2019年1月18日先后行3个疗程化疗(地西他滨25 mg/d, 第1~5天; 阿柔比星10 mg/d, 第3~6天; 阿糖胞苷30 mg/d, 第3~9天)。2019年2月11日复查骨髓细胞形态学提示粒系增生骨髓象, 考虑治疗有效。为巩固治疗, 拟行单倍型异基因造血干细胞移植, 移植供体为患者儿子, 29岁,

供受体ABO血型: $Rh^+AB \rightarrow Rh^+A$, 人类白细胞抗原配型5/10(A、B、C、DR、DQ共10个位点中5个位点相合), 供体特异性抗体检测阴性。2019年2月14日予地西他滨(35 mg/d, 第1~3天)+氟达拉滨(50 mg/d, 第1~4天)+白消安(200 mg/d, 第2~4天)+兔抗人胸腺细胞Ig(125 mg/d, 第4~7天)+环磷酰胺(3.8 g/d, 第5~6天)方案化学治疗, 同时给予更昔洛韦预防病毒感染直至干细胞输注当天。分别于2019年2月21日、22日行供体骨髓及外周血干细胞输注(骨髓单核细胞数 $6.23 \times 10^8/kg$, 外周血单核细胞数 $6.18 \times 10^8/kg$, $CD34^+$ 细胞数共 $8.79 \times 10^6/kg$)。移植后常规给予环孢素A+氨甲蝶呤+麦考酚钠预防移植物抗宿主病。粒细胞缺乏期给予泊沙康唑预防真菌感染、人Ig输注增强免疫力。移植后第16天造血功能恢复, 复查骨髓细胞形态学示大致正常骨髓象。移植后供体嵌合率达99.01%, 移植成功。移植后第31天患者身体状况良好, 准予出院, 院外序贯复方磺胺甲噁唑、泊沙康唑、阿昔洛韦、左氧氟沙星治疗预防感染, 嘱每周1次门诊随访。

[收稿日期] 2020-05-18 [接受日期] 2020-07-30

[基金项目] 国家自然科学基金(81700175, 81270639)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81700175, 81270639).

[作者简介] 孙雷, 住院医师。E-mail: syd_alan@163.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161298, E-mail: yangdanxuexi@163.com

移植后2个月随访期间患者出现血小板进行性下降,最低至 $19 \times 10^9/L$,伴四肢、手掌及足底红色斑片状皮疹,符合皮肤急性移植物抗宿主病表现,于2019年4月25日再次收入院。在环孢素A治疗基础上加用芦可替尼(10 mg/d)治疗15日,皮疹逐步消退,血小板上升至 $52 \times 10^9/L$,停用芦可替尼,继续环孢素A治疗,患者出院并定期门诊复查。移植后第92天(2019年5月25日)患者无诱因出现发热,体温 $37.7^\circ C$,血压 $40/20 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg}=0.133 \text{ kPa}$),收入院。体格检查:神志清楚,双肺可闻及散在啰音。胸部CT检查示双肺底渗出影,明确肺部感染,行巨细胞病毒、EB病毒、真菌G试验、GM试验、外周血病原微生物培养等检测均为阴性。予亚胺培南西司他丁抗感染、多巴胺升压等抢救,患者血压逐步恢复正常,生命体征平稳。2019年5月26日患者突发意识模糊、牙关紧闭伴四肢抽搐,症状持续约2 min后自行好转,考虑癫痫发作。癫痫发作期间生命体征平稳,床边胸部X线片提示双肺炎症,此时为移植术后3个月余,患者环孢素A为逐步减停状态,癫痫发作当天停用环孢素A,加用替考拉宁、伏立康唑联合抗感染,丙戊酸钠静脉维持,同时给予高通量无创呼吸机辅助呼

吸。5月28日患者再次出现突发意识模糊伴四肢肌张力升高,无法应答,症状持续约2 h后自行缓解,行头颅CT检查示双侧大脑半球灰白质清晰,脑内多发斑片状低密度影(图1A),脑室系统不大,脑池、脑沟无增宽,中线结构居中。行腰椎穿刺术及脑脊液检查,脑脊液压力为 $210 \text{ mmH}_2\text{O}$ ($1 \text{ mmH}_2\text{O}=9.8 \text{ Pa}$),有核细胞数 $2 \times 10^6/L$ 、脑脊液细胞总数 $1.08 \times 10^9/L$ 、蛋白质(±)、葡萄糖 3.0 mmol/L 、总蛋白 456 g/L 、氯化物 127 mmol/L 。脑脊液墨汁染色阴性,病原微生物培养及鉴定未找到病原菌,流式细胞学检测未见肿瘤细胞。神经内科及脑外科会诊后行头颅MRI增强检查:双侧大脑半球占位(图1B),感染或白血病中枢神经系统浸润可能。留取脑脊液标本送检病原微生物高通量基因测序(华大基因检测),结果提示琼氏不动杆菌感染,检出序列数为336,且耐药基因检测阴性,其余病毒、真菌、寄生虫、分枝杆菌、支原体、衣原体均未检出。结合脑脊液高通量基因测序结果,考虑患者中枢神经系统琼氏不动杆菌感染可能,继续给予以碳青霉烯类抗生素为主的联合抗感染治疗,但患者此后3 d反复癫痫发作,意识不清,在明确琼氏不动杆菌颅内感染后第5天因多器官功能衰竭死亡。

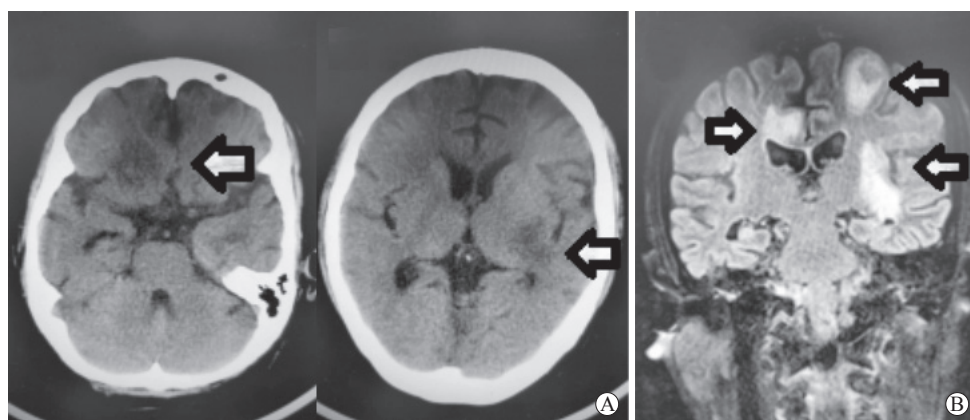


图1 造血干细胞移植术后患者头颅影像学检查结果

A:计算机断层扫描检查示双侧大脑半球灰白质清晰,脑内多发斑片状低密度影(箭头所示),脑室系统不大,脑池、脑沟无增宽,中线结构居中;B:磁共振成像增强检查示双侧大脑半球散在多发信号影(箭头所示),弥散明显受限,周围环绕水肿区,脑室系统大小形态未见明显异常,脑沟裂增宽,中线结构无移位。

2 讨论 异基因造血干细胞移植术后中枢神经系统并发症主要包括感染、脑血管病、癫痫发作、代谢性脑病、药物介导不良反应等。有研究者对1461例异基因移植患者进行随访观察发现,癫痫的累积发生率为7.1%,患者年龄、供体类型、移植物抗宿主病、低钠血症是癫痫发作的独立危险因素,癫痫发作的患者中死亡率达53.2%^[1]。有研究认为异基因干细胞移

植术后患者发生癫痫的主要原因为感染及出血,其次是治疗药物毒性、肿瘤中枢浸润、脑血管疾病及代谢异常等^[2-3]。本例患者中枢神经系统症状表现为反复癫痫发作,后期出现意识不清,影像学检查首先排除颅内出血。此外,造血干细胞移植术后患者白血病控制良好,脑脊液检查未见肿瘤细胞,排除肿瘤中枢神经系统浸润可能。环孢素A属于免疫抑制药物,该药

可引起治疗相关的脑电图改变及抽搐发作, MRI 检查具有特异性, 表现为可逆性脑白质改变, 停药后神经症状和影像学改变可恢复^[4-5]。本例患者在首次出现神经系统症状时即停用环孢素 A, 且影像学检查无脑白质变化, 停药后患者仍反复癫痫发作, 且症状呈进行性加重, 此时考虑药物所致癫痫可能性不大。最终因脑脊液检查发现致病菌, 诊断为中枢神经系统感染所致癫痫发作。

移植后中枢神经系统感染多为全身感染播散导致, 危险因素为免疫抑制、中性粒细胞/白细胞低下、代谢异常等。本例患者为单倍型异基因移植, 术后常规使用免疫抑制剂治疗, 其间出现移植物抗宿主病, 后合并肺部感染, 这些均可能促使中枢神经系统感染的发生。明确中枢神经系统感染主要依靠患者临床表现、影像学及实验室检查, 诊断金标准为病原学检测^[6]。中枢神经系统感染临床表现无特异性, 常见症状包括癫痫样改变、精神状态改变(烦躁、言语不清、谵妄等)、意识障碍(嗜睡、昏睡、昏迷等)、感觉及运动障碍等^[7]。中枢神经系统感染的患者中约 33% 可有非特异性头颅 CT 改变, 其中病毒感染检出率最高可达 58%, 而头颅 CT 无特异表现的患者 MRI 检查对病毒感染的检出率亦可达 22%, 因此推荐优先选择 MRI 检查, 尤其是临床高度怀疑颅内病毒感染的患者^[6,8]。约 49% 的中枢神经系统感染患者脑脊液中细胞数目增多^[9], 且脑脊液病原学检测是感染诊断的金标准, 已有报道通过脑脊液病原学检测明确诊断颅内曲霉菌、病毒、弓形虫感染等^[8]。本例患者癫痫初发时就已对外周血进行了常见致病菌排查, 后期通过脑脊液标本才得以明确诊断。所以脑脊液样本的获取对中枢神经系统并发症的诊断尤为重要。目前临床样本的微生物分离培养检测操作烦琐, 且所需时间长、诊断正确率低, 本例患者脑脊液微生物培养阴性, 通过高通量基因测序技术才找到致病菌。病原学高通量基因测序技术是基于样本中游离核酸对微生物核酸序列进行分析, 并与数据库中已知微生物序列进行比对, 从而鉴定可疑致病微生物^[10]。

不动杆菌为非发酵革兰阴性杆菌属, 为条件致病菌, 在机体介入性操作、恶性肿瘤免疫抑制、大量广谱抗生素应用时可成为重要的致病菌。近年来不动杆菌属的感染率呈上升趋势, 以鲍曼不动杆菌为主(88.6%)^[11]。随着分子生物学技术的发展, 通过全基因组测序等技术可对不动杆菌属进行精确的分

类, 截至 2020 年, 不动杆菌属命名的菌种数量已达 58 个^[12], 其中琼氏不动杆菌是从活性泥中分离出, 具有高效的异养硝化作用和需氧反硝化能力, 可定植于机体的鼻、咽、皮肤等湿润部位, 在一定条件下导致相应器官或系统的感染。琼氏不动杆菌感染以血流感染最为多见^[13-15], 也有研究发现其可导致脓胸、腹膜炎、角膜炎^[16]。中枢神经系统也是其靶器官之一^[6], 恶性血液病患者反复多次化学治疗会改变机体血脑屏障通透性, 使琼氏不动杆菌等致病菌进入中枢神经系统而引起颅内感染。相对鲍曼不动杆菌感染, 琼氏不动杆菌感染报道较少, 且感染后耐药率高、预后差^[17]。

琼氏不动杆菌引起成人中枢神经系统感染不多见, 本例患者常规病原微生物培养阴性可能是因为脑脊液中琼氏不动杆菌含量较低, 较为遗憾的是患者病情进展快, 无条件再次获取脑脊液进行病原菌复测及疗效评估。虽然高通量基因测序技术灵敏度高, 且可对分离培养阴性的标本进一步排查, 但也具有一定局限性, 检测阴性并不能完全排除感染可能, 因为致病菌序列数可能较低, 或处于数据库范围以外, 最终的诊断需依靠临床医师的综合判断及疗效的动态观察, 最好能通过传统的病原菌培养结果进行验证^[18]。

在近些年琼氏不动杆菌感染的相关报道中, 因感染部位多样性及诊断不确定性, 感染相关死亡率较高。对于行异基因造血干细胞移植的免疫抑制患者, 更应提高警惕, 加强移植后感染的预防及监测, 感染发生时充分利用多种实验室检测手段尽早诊断、尽早治疗。

[参 考 文 献]

- [1] ZHANG X H, XU L P, LIU D H, CHEN H, HAN W, CHEN Y H, et al. Epileptic seizures in patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis of incidence, risk factors, and survival rates[J]. Clin Transplant, 2013, 27: 80-89.
- [2] TEIVE H A, FUNKE V, BITENCOURT M A, DE OLIVEIRA M M, BONFIM C, ZANIS-NETO J, et al. Neurological complications of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): a retrospective study in a HSCT center in Brazil[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2008, 66: 685-690.
- [3] SCHMIDT K, SCHULZ A S, DEBATIN K M, FRIEDRICH W, CLASSEN C F. CNS complications in children receiving chemotherapy or hematopoietic stem cell transplantation: retrospective analysis and clinical

- study of survivors[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2008, 50: 331-336.
- [4] DULAMEA A O, LUPESCU I G. Neurological complications of hematopoietic cell transplantation in children and adults[J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13: 945-954.
- [5] DOWLING M R, LI S, DEY B R, MCAFEE S L, HOCK H R, SPITZER T R, et al. Neurologic complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: risk factors and impact[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2018, 53: 199-206.
- [6] SCHMIDT-HIEBER M, SILLING G, SCHALK E, HEINZ W, PANSE J, PENACK O, et al. CNS infections in patients with hematological disorders (including allogeneic stem-cell transplantation)—guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)[J]. *Ann Oncol*, 2016, 27: 1207-1225.
- [7] SCHWARTZ S, KONTOYIANNIS D P, HARRISON T, RUHNKE M. Advances in the diagnosis and treatment of fungal infections of the CNS[J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17: 362-372.
- [8] SCHMIDT-HIEBER M, ENGELHARD D, ULLMANN A, LJUNGMAN P, MAERTENS J, MARTINO R, et al. Central nervous system disorders after hematopoietic stem cell transplantation: a prospective study of the Infectious Diseases Working Party of EBMT[J]. *J Neurol*, 2020, 267: 430-439.
- [9] SAFDIEH J E, MEAD P A, SEPKOWITZ K A, KIEHN T E, ABREY L E. Bacterial and fungal meningitis in patients with cancer[J]. *Neurology*, 2008, 70: 943-947.
- [10] 祁云霞, 刘永斌, 荣威恒. 转录组研究新技术: RNA-Seq 及其应用[J]. *遗传*, 2011, 33: 1191-1202.
- [11] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 汪复, 蒋晓飞, 徐英春, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2017, 17: 481-491.
- [12] HUNG Y T, LEE Y T, HUANG L J, CHEN T L, YU K W, FUNG C P, et al. Clinical characteristics of patients with *Acinetobacter junii* infection[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2009, 42: 47-53.
- [13] 翟盼盼, 吴宇骞, 陆坚. 不动杆菌属分类的研究进展[J/CD]. *新发传染病电子杂志*, 2020, 5: 51-55, 59.
- [14] 刘志春, 徐修礼, 樊新, 刘家云. 静脉导管中分离出琼氏不动杆菌 1 例[J]. *现代检验医学杂志*, 2010, 25: 159.
- [15] TRAGLIA G M, ALMUZARA M, VILACOB A E, TUDURI A, NEUMANN G, PALLONE E, et al. Bacteremia caused by an *Acinetobacter junii* strain harboring class 1 integron and diverse DNA mobile elements[J]. *J Infect Dev Ctries*, 2014, 8: 666-669.
- [16] PELEG A Y, FRANKLIN C, WALTERS L J, BELL J M, SPELMAN D W. OXA-58 and IMP-4 carbapenem-hydrolyzing β -lactamases in an *Acinetobacter junii* blood culture isolate from Australia[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50: 399-400.
- [17] 赵楠, 邵东传, 王泽易, 张文才, 马钢. 颅内多重耐药和广泛耐药鲍曼不动杆菌感染的治疗进展[J]. *华西医学*, 2021, 36: 1115-1119.
- [18] DENEKE C, RENTZSCH R, RENARD B Y. A machine learning approach for the detection of novel pathogens from NGS data[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39194. DOI: 10.1038/srep39194.

[本文编辑] 魏学丽