

成人疑似病毒性脑炎、脑膜炎患者 xTAG 脑脊液病毒多重检测结果分析*

伊洁¹, 关鸿志², 倪安平¹, 范思远², 徐英春¹

(1. 中国医学科学院 北京协和医院检验科, 侵袭性真菌病机制研究与精准诊断

北京市重点实验室, 北京 100730; 2. 中国医学科学院 北京协和医院神经内科, 北京 100730)

摘要:目的 分析 xTAG 脑脊液病毒多重检测试剂盒(cerebral spinal fluid viral panels, xTAG CSFVP)对成人疑似病毒性脑炎、脑膜炎病原体检测结果。方法 收集 2014 年 10 月~2016 年 9 月就诊于北京协和医院的 115 例疑似病毒性脑炎或脑膜炎的成人患者脑脊液标本 115 例, 使用 xTAG CSFVP 进行检测并对结果进行分析。结果 115 例脑脊液标本中, 有 28 例检测出病毒, 阳性率为 24.3%, 其中单纯疱疹病毒 1 型的检出率最高(7.8%), 水痘-带状疱疹病毒和 EB 病毒检出率次之(均为 6.1%)。共检出病毒 30 例, 其中单一感染占 92.86%(26/28), 混合感染占 7.14%(2/28)。xTAG CSFVP 阳性和阴性患者的临床症状和脑脊液生化指标差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。结论 成人病毒性脑炎脑膜炎患者 xTAG 脑脊液病毒检出率最多的病原体为单纯疱疹病毒 1 型, 水痘-带状疱疹病毒和 EB 病毒, 检出 2 例混合感染。

关键词:脑炎; 脑膜炎; 病毒性; xTAG 脑脊液病毒多重检测技术

中图分类号: R512.3; R446.14 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)01-014-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.01.004

Analysis on Results of Suspected Viral Encephalitis and Meningitis Patients Detected by xTAG Cerebral Spinal Fluid Viral Panels

YI Jie¹, GUAN Hong-zhi², NI An-ping¹, FAN Si-yuan², XU Ying-chun¹

(1. Department of Clinical Laboratory//Beijing Key Laboratory for Mechanisms Research
and Precision Diagnosis of Invasive Fungal Diseases, Peking Union Medical College Hospital,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China;

2. Department of Neurology, Peking Union Medical College Hospital,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

Abstract: **Objective** To analyze the detection results of adult patients who were suspected viral encephalitis and meningitis using xTAG Cerebral Spinal Fluid Viral Panels (xTAG CSFVP). **Methods** 115 cerebral spinal fluid (CSF) samples from 115 adult patients, who were suspected viral encephalitis and meningitis, admitted in Peking Union Medical College Hospital from October 2014 to September 2016, were collected. The nucleic acids of CSF samples of the patients were screened by xTAG CSFVP and the results were analyzed. **Results** Among all 115 samples, 28 could be detected viruses, and the positive rate was 24.3%. The detection rate of herpes simplex virus 1 (HSV-1) was the highest (7.8%), followed by varicella zoster virus (VZV) and EB virus (EBV) (both 6.1%). 30 viruses could be detected, of which the proportion of single infections was 92.86% (26/28), and the proportion of co-infection was 7.14% (2/28). There was no statistically different in clinical characteristics and CSF biochemical indicators between xTAG CSFVP positive and negative samples (all $P>0.05$). **Conclusion** HSV-1, VZV and EBV were the most detected pathogens in adult patients who were suspected viral encephalitis and meningitis screened by xTAG CSFVP, and 2 samples were co-infections.

Keywords: encephalitis; meningitis; viral; xTAG CSFVP

中枢神经系统(central nervous system, CNS)感染可引起脑炎或脑膜炎, 其临床症状表现为头痛、发热、呕吐、颈强直、意识改变等, 常见的原因有细菌、病毒、寄生虫等, 其中病毒感染是最常见的原因^[1,2]。病毒性脑炎或脑膜炎的临床症状不特异, 因此病原学诊断显得尤为重要。目前实验室主要

的诊断方法为脑脊液的病毒抗体检测, 其敏感性和时效性较低, 因此亟需一种早期敏感准确的方法作为诊断依据。由于 CNS 感染病毒较为多样, 而分子生物学技术可以快速高通量地对病毒进行检测^[3-5], 因此利用分子生物学技术有利于病毒性脑炎或脑膜炎的病因诊断。xTAG 脑脊液病毒多重

* 基金项目: 十三五“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项(2017ZX10103004003); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-12M-1-014)。

作者简介: 伊洁(1983—), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事病原微生物分子检测, E-mail: yijie0908@126.com。

通讯作者: 徐英春(1964—), 男, 本科, 研究员, 博士生导师, 主要从事临床微生物研究, Tel: 010-69159766, E-mail: xycpunch@139.com。

检测(xTAG CSFVP)技术是将多重逆转录 PCR 与微球杂交融合在一起的液相悬浮芯片检测系统,与现有的临床诊断方法如酶联免疫吸附(ELISA)法比较,其具有特异度高、高通量、高敏感、重复性好、检测标本用量少等优点^[6-7]。本研究利用 xTAG CSFVP 技术对疑似病毒性脑炎或脑膜炎成人患者的脑脊液(cerebral spinal fluid, CSF)病原体进行检测,报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2014 年 10 月~2016 年 9 月就诊于北京协和医院神经内科疑似病毒性脑炎或脑膜炎的 115 例患者的 CSF 标本 115 份,其中男性 69 例,女性 46 例,年龄 18~79 岁,平均年龄 37.10 ± 17.07 岁。所有患者均行 CSF 常规、生化、细菌涂片、抗酸染色、墨汁染色等实验室检查,排除细菌、真菌和寄生虫感染。所有患者均有急性神经系统的症状和体征,比如头痛、发热、意识改变等,并有 CSF 异常,如 CSF 白细胞数 $\geq 5 \times 10^6/L$,蛋白浓度 $> 0.45 g/L$ 的患者。检测剩余 CSF 样本冻存于 $-80^\circ C$,统一应用 xTAG CSFVP 技术进行检测。

1.2 试剂与仪器 xTAG CSFVP 技术:每份 CSF 样本吸取 200 μl 转移至 1.5 ml 无 RNA 酶 Eppendorf 管中,加入大肠埃希菌噬菌体 MS2 20 μl 作为内参照,按照 RNA 和 DNA 提取试剂盒操作说明书进行总核酸提取。xTAG CSFVP (Luminex Molecular Diagnostics Inc, 加拿大)按照试剂盒说明书进行操作,可检出单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1),单纯疱疹病毒 2 型(HSV-2),水痘-带状疱疹病毒(VZV),巨细胞病毒(CMV),EB 病毒(EBV)和肠道病毒(EV)。

1.3 方法 使用 xTAG CSFVP 对 115 份 CSF 标本的人疱疹病毒和 EV 共 6 种病毒进行检测,分析每种病毒的检出率,并分析 115 例患者的单一感染率和混合感染率。比较 xTAG CSFVP 阳性和阴性患者的临床特征和 CSF 生化指标。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。结果中计数资料以例数或百分率表示, xTAG CSFVP 阳性和阴性患者临床特征的差异性检验选用配对设计资料的 χ^2 检验进行分析,平均年龄和 CSF 生化指标的差异性检验选用独立样本 t 检验进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 xTAG CSFVP 检出结果 见表 1。115 份患者标本中,28 份检测出至少一种病毒,阳性率为 24.3%,共检出病毒 30 例。阳性率最高的为 HSV1 (7.8%),其次为 VZV 和 EBV (均为

6.1%)。

表 1 115 份病毒性脑炎脑膜炎患者 CSF 病毒检出情况

病毒种类	n	阳性率(%)	构成比(%)
HSV-1	9	7.8	30.0
VZV	7	6.1	23.3
HSV-2	2	1.7	6.7
CMV	1	0.9	3.3
EBV	7	6.1	23.3
EV	2	1.7	13.3

2.2 单一感染与混合感染结果 见表 2。28 例阳性患者中检出单一病毒感染 26 例(92.86%),混合病毒感染 2 例(7.14%)。其中 HSV-1 与 VZV 共感染 1 例,HSV-1 与 EBV 共感染 1 例。

表 2 单一感染与混合感染的 CSF 病毒分布(例)

病毒种类	单一感染	混合感染	总计
HSV-1	8	1	9
VZV	5	2	7
HSV-2	2	0	2
CMV	1	0	1
EBV	6	1	7
EV	4	0	4

2.3 xTAG CSFVP 检测阴性与阳性患者临床特征和 CSF 生化指标比较 xTAG CSFVP 检测阳性和阴性患者在性别及临床症状,如头痛、发热、恶性呕吐、脑膜刺激征、意识改变和抽搐方面进行比较,差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.081 \sim 2.823$, 均 $P > 0.05$)。两类患者在年龄、平均白细胞数和平均蛋白方面差异均无统计学意义($t = -1.463 \sim 0.345$, 均 $P > 0.05$)。

3 讨论 病毒性脑炎、脑膜炎是 CNS 最常见的感染,多发于儿童以及青少年,成人相对少见。表 3 中 xTAG CSFVP 阳性和阴性的患者临床症状和体征以及生化指标均无显著性差异,因此难以靠临床症状和 CSF 常规生化指标进行诊断。人疱疹病毒和 EV 是 CNS 病毒感染常见的两类病毒^[8-9],在本研究中,我们首次利用 xTAG CSFVP 试剂盒对北京协和医院疑似病毒性脑炎、脑膜炎患者感染的这两类病毒分布进行了分析,发现有 24.3% 的病例中至少存在一种病毒,此外有 2 例混合感染,而混合感染在脑炎或脑膜炎中并不多见,这得益于 xTAG CSFVP 技术的使用。

HSV 是脑炎中最常见的病毒,已有的研究报道在免疫功能正常的青少年和成人中将近 90% 的脑炎是由 HSV-1 导致的,而免疫缺陷患者的脑炎

与 HSV-2 感染相关^[10]。本研究发现,28 例 CSF 病毒阳性患者中 9 例为 HSV-1 阳性,其中 8 例是单一感染,1 例是与 VZV 混合感染。HSV-2 在 2 例免疫缺陷患者中检出,1 例为淋巴瘤,最终死亡,

另 1 例为慢性脑膜炎。所有患者均诊断为脑炎,这与已有的研究报道认为 HSV 是成人病毒性脑炎最常见病原体结果一致^[10-11]。

表 3 xTAG CSFVP 阳性和阴性患者临床特征情况

临床特征	阳性(n=28)	阴性(n=87)	χ^2/t	P 值
平均年龄(岁)	37.50±3.33	35.71±1.80	-1.463	0.146
性别(女/男)	9/19	37/50	0.398	0.528
症状和体征				
头痛[%(%)]	23(82.1)	63(72.4)	2.823	0.093
发热[%(%)]	20(71.4)	57(65.5)	0.740	0.390
恶心呕吐[%(%)]	13(46.4)	43(49.4)	0.180	0.671
脑膜刺激征[%(%)]	14(50.0)	40(46.0)	0.321	0.571
意识改变[%(%)]	10(35.7)	41(47.1)	2.492	0.114
抽搐[%(%)]	12(42.9)	39(44.8)	0.081	0.776
CSF 平均白细胞数($\times 10^6/L$)	79.22±76.30	54.80±101.71	-0.926	0.358
CSF 平均蛋白(g/L)	0.77±0.12	0.87±0.16	0.345	0.731

VZV 在病毒性中枢神经系统感染也较为常见,可导致脑炎或脑膜炎^[12]。本研究中 VZV 阳性 7 例患者中 5 例临床诊断为脑膜炎,其余 2 例癫痫患者诊断为脑炎。所有患者均未有皮肤异常,而且免疫功能均正常,提示 VZV 感染在不出疹的情况下亦可导致中枢神经系统疾病或者其他神经系统异常^[13]。混合感染在中枢神经系统感染不常见,但是本研究中有 2 例 VZV 混合感染。1 例是与 HSV-1 混合感染,另 1 例是与 EBV 混合感染。VZV 与 HSV-1 混合感染机制不清,可能是 VZV 或 HSV-1 在首次感染后在感觉神经节潜伏下来,另一种病毒感染后两种病毒可大量增殖并同时感染人的神经元^[14],并且嗅觉和三叉神经束可为两种病毒到达 CNS 提供神经通道^[15-16]。

EBV 相关的 CNS 感染可以分为两类,一类是 EBV 原发感染或重新激活,另一类是长期慢性 EBV 感染^[17]。已有的研究报道过单独 EBV 感染导致 CNS 感染^[18-19],但是本研究,EBV 在 7 例患者中检出为阳性,其中 1 例与 VZV 混合感染。EBV DNA 阳性的检出较多可能是 EBV 在首次感染后在 B 细胞中潜伏下来,因此可以在没有临床症状时也可以检出 DNA^[20]。也有研究报道 EBV 常常与 CNS 感染的其他病原体相关^[21],提示 EBV 能在另一种病毒存在的情况下进行复制,因此 VZV 有可能与 EBV 共感染。

CMV 感染常常为机会性感染,可在免疫缺陷患者中引起急性或慢性 CNS 感染^[22]。本研究中,1 例系统性红斑狼疮患者由于脑水肿在接受减压手术后 CSF 中 CMV 阳性,而 CMV 引起的 CNS 感染常常在免疫缺陷病人中被忽视。

EV 感染是在 CNS 中较为常见并且类似于细

菌性脑膜炎感染。本研究中,2 例 EV 感染患者临床诊断为脑炎,1 例为脑膜脑炎,1 例为脑膜炎。有研究报道 EV 是儿童急性病毒性脑炎和脑膜炎最常见的病原体^[23],而本研究中 EV 的检出率并非最高,提示成人与儿童病毒性脑炎和脑膜炎患者的病原谱有所不同。

已有的研究多集中在儿童病毒性脑炎、脑膜炎病原谱,很少有对成人患者病原谱进行研究。本研究将疑似病毒性脑炎和脑膜炎的成人患者纳入,尽可能排除细菌性、真菌性和寄生虫性,利用可以同时检测 6 种病毒的 xTAG CSFVP 试剂敏感度和特异度高的优势,从病毒的种类及感染情况,以及将临床诊断与实验室诊断相结合进行综合分析,因此我们的研究结果可给临床提供有效的病原学资料,为成人病毒性脑炎和脑膜炎的预防和诊治提供合理依据。

参考文献:

- [1] BIG C, REINECK L A, ARONOFF D M. Viral infections of the central nervous system; a case-based review[J]. Clin Med Res, 2009, 7(4): 142-146.
- [2] STEINER I. Herpes simplex virus encephalitis; new infection or reactivation? [J]. Curr Opin Neurol, 2011, 24(3): 268-274.
- [3] LEVEQUE N, LEGOFF J, MENGELLE C, et al. Virological diagnosis of central nervous system infections by use of PCR coupled with mass spectrometry analysis of cerebrospinal fluid samples[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(1): 212-217.
- [4] JÄÄSKELÄINEN AJ, PIIPARINEN H, LAPPALAINEN M, et al. Improved multiplex-PCR and microarray for herpesvirus detection from CSF[J]. J Clin Virol, 2008, 42(2): 172-175.

(下转页 21)

- 妇产科医师大会, 2012-07-12.
- HU Hua, YAO Hong, ZHANG Rong, et al. Study on the factors affecting Non-invasive prenatal testing (NIPT) of cell-free fetal DNA in maternal plasma [C]. Hefei: 2012 Chinese Obstetrics and Gynecology Association, 2012-07-12.
- [9] 马燕琼, 芮淑贤, 柴丽芬, 等. 无创产前检测技术在胎儿性染色体非整倍体检测中的应用[J]. 宁夏医科大学学报, 2018, 40(5): 581-583.
- MA Yanqiong, RUI Shuxian, CHAI Lifan, et al. Application value of uninvase DNA gene detection technique in fetal chromosome aneuploidy disease[J]. Journal of Ningxia Medical University, 2018, 40(5): 581-583.
- [10] WANG Yanlin, ZHU Jiansheng, CHEN Yan, et al. Two cases of placental T21 mosaicism: challenging the detection limits of non-invasive prenatal testing [J]. Prenat Diagn 2013; 33(12): 1207-1210.
- 收稿日期: 2018-08-17
修回日期: 2018-12-25
-
- (上接 16 页)
- [5] LEVEQUE N, VAN HAECKE A, RENOIS F, et al. Rapid virological diagnosis of central nervous system infections by use of a multiplex reverse transcription-PCR DNA microarray[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(11): 3874-3879.
- [6] 伊洁, 徐志鹏, 徐英春. 疑似病毒性肺炎住院患者 xTAG 呼吸道病毒多重检测结果分析[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(34): 2799-2801.
- YI Jie, XU Zhipeng, XU Yingchun. Analysis on xTAG RVP testing results of hospitalized patients with suspected viral pneumonia [J]. Natl Med J China, 2015, 95(34): 2799-2801.
- [7] 伊洁, 解宏杰, 刘文静, 等. 多重核酸检测技术和传统检测方法对胃肠道感染性病原体检测的比较[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(5): 118-121.
- YI Jie, XIE Hongjie, LIU Wenjing, et al. Comparison of pathogens in infectious gastroenteritis case using multiplex nucletic acid amplification testing and conventional labotatory diagnostic tools[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(5): 118-121.
- [8] REIMANN C A, HAYES E B, DIGUISEPPI C, et al. Epidemiology of neuroinvasive arboviral disease in the United States, 1999-2007[J]. Am J Trop Med Hyg, 2008, 79(6): 974-979.
- [9] DUPUIS M, HULL R, WANG H, et al. Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State[J]. J Med Virol, 2011, 83(12): 2172-2181.
- [10] KENNEDY P G, CHAUDHURI A. Herpes simplex encephalitis [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2002, 73(3): 237-238.
- [11] WHITLEY R J. Viral encephalitis[J]. N Engl J Med, 1990, 323(4): 242-250.
- [12] PERSSON A, BERGSTROM T, LINDH M, et al. Varicella-zoster virus CNS disease-viral load, clinical manifestations and sequels[J]. J Clin Virol, 2009, 46(3): 249-253.
- [13] MENDOZA LP, BRONZONI RV, TAKAYANAGUI O M, et al. Viral infections of the central nervous system in Brazil[J]. J Infect, 2007, 54(6): 589-596.
- [14] SLOUTSKIN A, YEE M B, KINCHINGTON P R, et al. Varicella-zoster virus and herpes simplex virus 1 can infect and replicate in the same neurons whether co- or superinfected [J]. J Virol, 2014, 88(9): 5079-5086.
- [15] SCHLITT M, LAKEMAN A D, WILSON E R, et al. A rabbit model of focal herpes simplex encephalitis[J]. J Infect Dis, 1986, 153(4): 732-735.
- [16] JOHNSON R T. The pathogenesis of herpes virus encephalitis. I virus pathways to the nervous system of suckling mice demonstrated by fluoresecent antibody staining[J]. J Exp Med, 1964, 119: 343-356.
- [17] FUJIMOTO H, ASAOKA K, IMAIZUMI T, et al. Epstein-Barr virus infections of the central nervous system[J]. Intern Med, 2003, 42(1): 33-40.
- [18] DOJA A, BITNUN A, JONES E L, et al. Pediatric epstein-barr virus-associated encephalitis: 10-year review[J]. J Child Neurol, 2006, 21(5): 385-391.
- [19] KREMER S, MATERN J F, BILGER K, et al. EBV limbic encephalitis after allogenic hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Neuroradiol, 2010, 37(3): 189-191.
- [20] BABCOCK G J, DECKER L L, VOLK M, et al. EBV persistence in memory B cells in vivo[J]. Immunity, 1998, 9(3): 395-404.
- [21] MARTELIUS T, LAPPALAINEN M, PALOMÄKI M, et al. Clinical characteristics of patients with Epstein Barr virus in cerebrospinal fluid[J]. BMC Infect Dis, 2011, 11: 281.
- [22] CINQUE P, BOSSOLASCO S, LUNDKVIST A. Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system[J]. J Clin Virol, 2003, 26(1): 1-28.
- [23] AI Junhong, XIE Zhengde, LIU Gang, et al. Etiology and prognosis of acute viral encephalitis and meningitis in Chinese children: a multicentre prospective study[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 494.
- 收稿日期: 2018-11-27
修回日期: 2018-12-25