

DOI:10.13350/j.cjpb.220206

• 论著 •

# 宏基因组二代测序在儿童布鲁氏菌脑炎诊治中的应用价值探索\*

张春艳<sup>1</sup>, 李政<sup>1</sup>, 易明岗<sup>2</sup>, 王素兰<sup>1</sup>, 程广霞<sup>3</sup>, 时黎明<sup>4</sup>, 李静<sup>1</sup>, 于文文, 寇琳娜<sup>1</sup>, 王月玲<sup>5</sup>, 张运奎<sup>1</sup>, 王世富<sup>1\*\*</sup>

(1. 山东大学附属儿童医院临床微生物科, 山东济南 250022; 2. 山东大学附属儿童医院医学影像中心; 3. 山东省公共卫生临床中心; 4. 菏泽市立医院; 5. 山东第一医科大学附属省立医院临床医学检验部)

**【摘要】** 目的 探索脑脊液宏基因组二代测序(metagenomics next generation sequencing, mNGS)在中枢神经系统布鲁氏菌感染中的诊治价值。 方法 收集2020年11月至2021年2月山东大学附属儿童医院住院并临床疑似为中枢神经系统布鲁氏菌感染的2例患者的临床资料分析儿童中枢神经系统布鲁氏菌感染的临床、实验室检查结果的特点,探索mNGS在布鲁氏菌脑炎临床诊治中的应用。 结果 2例患者均有羊接触史,均为急性起病伴发热,1例头晕,1例颈肩部疼痛伴有呕吐。影像学检查表现为半卵圆中心受累。脑脊液常规白细胞计数升高,以单核细胞为主,蛋白质水平增加,葡萄糖水平降低。脑脊液mNGS检测出布鲁氏菌的核酸序列数为(175~389)条,覆盖度为(0.05~0.11)%。 结论 脑脊液mNGS能够辅助中枢神经系统布鲁氏菌感染的临床诊断,有利于患者的及时诊疗。

**【关键词】** 宏基因组二代测序;脑脊液;脑膜炎;布鲁氏菌

**【中图分类号】** R378.5

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2022)02-0154-05

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Feb;17(2):154-158.]

## Clinical value of mNGS in the diagnosis and treatment of brucella encephalitis in children

ZHANG Chun-yan<sup>1</sup>, LI Zheng<sup>1</sup>, WANG Su-lan<sup>1</sup>, YI Ming-gang<sup>2</sup>, CHENG Guang-xia<sup>3</sup>, SHI Li-ming<sup>4</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, YU Wen-wen, KOU Lin-na<sup>1</sup>, WANG Yue-ling<sup>5</sup>, ZHANG Yun-kui<sup>1</sup>, WANG Shi-fu<sup>1</sup> (1. Department of Clinical Microbiology, Children's Hospital affiliated to Shandong University, Jinan 250022, Shandong, China; 2. Medical Imaging Center, Children's Hospital affiliated to Shandong University; 3. Shandong Public Health Clinical Center; 4. Heze Municipal Hospital; 5. Department of Laboratory Medicine, Shandong Provincial Hospital affiliated to Shandong First Medical University)

**【Abstract】** **Objective** To study the diagnostic value of metagenomics next generation sequencing(mNGS) in the *Brucella* infection in the central nervous system. **Methods** The clinical data of two patients admitted to *Children's Hospital affiliated to Shandong University* from November 2020 to February 2021 were retrospectively analyzed, and these two patients were clinically suspected to be *Brucella* infection of the central nervous system. **Results** Both patients had a history of contact with sheep, all of them had acute onset with fever, one had dizziness, and one had neck and shoulder pain with vomiting. Radiographic examination showed semioval center altered in the two cases. The white blood cells (which are mainly monocytes) and protein increased, meanwhile glucose decreased in cerebrospinal fluid. The number of *Brucella* nucleic acid sequences detected by mNGS in cerebrospinal fluid was (175-389), and the coverage was (0.05-0.11) %.

**Conclusion** mNGS can assist the clinical to diagnosis the *Brucella* infection in central nervous system, and is beneficial to timely diagnosis and treatment of patients.

**【Key words】** metagenomics next generation sequencing ; cerebrospinal fluid; cephalomeningitis; *Brucella*

\*\*\*布鲁氏菌(*Brucella*)是一种革兰阴性杆菌,易感染猪、牛、羊等家禽。布鲁氏菌通过直接接触受感染的动物、吸入气溶胶或摄入未经巴氏消毒的牛奶或奶制品传染给人类。布鲁氏菌病在地中海盆地、中东和拉丁美洲最为流行,在全球范围内,每年约诊断出50万例新增布鲁氏菌病例,为世界上最流行的细菌性人畜共患病<sup>[1-2]</sup>。然而,由于诊断不准确、监测不充分,许多病例仍未被确诊。根据世界卫生组织(WHO)的数据,实际发病率可能更高,保守估计全球14亿牛中有3亿

牛感染了这种病原体<sup>[3]</sup>。目前陆生布鲁氏菌属菌种包括6个种:马耳他布鲁氏菌、流产布鲁士菌、猪布鲁氏

\* **【基金项目】** 国家科技重大专项(No. 2017ZX10103004-007);山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2020MH306);山东省医药卫生科技发展计划项目(No. 2017WS530)。

\*\* **【通讯作者】** 王世富, E-mail: wshfu709@163.com

**【作者简介】** 张春艳(1979-),女,山东省潍坊市临朐人,硕士,主管技师,主要从事儿童细菌耐药监测和耐药机制研究。 E-mail: zhang19790603@126.com

菌、犬布鲁氏菌、绵阳布鲁氏菌和沙林鼠布鲁氏菌。由布鲁氏菌感染所致的布鲁氏菌病(Brucellosis)是一种人畜共患病,其临床特点为长期反复发热(地中海弛张热,马耳他热或波浪热)、多汗、关节痛及肝脾肿大等症状,易侵犯中枢神经系统和脊柱<sup>[4]</sup>。中枢神经系统受累的布鲁氏菌病被称为神经型布鲁氏菌病(Neuro-brucellosis, NB),是由布鲁氏菌侵犯中枢神经系统引起的人畜共患病<sup>[5-6]</sup>,主要累及脑脊髓膜及半卵圆,临床相对少见(发病率低于5%)<sup>[7]</sup>。NB可在疾病的任何阶段发展,可能有广泛的不同的表现,包括脑炎、脑膜脑炎、神经根炎、脊髓炎、周围神经和颅神经病变、蛛网膜下腔出血和精神症状<sup>[8-9]</sup>。NB患者既没有典型的临床表现,也无特定的脑脊液表现。NB的临床诊断无特异性,实验室检查无特征性指标,该病很容易与其他疾病混淆。目前对儿童NB的报道较少,NB的治疗多选用多西环素联合其他药物的治疗方案,与其他儿童化脓性脑炎的治疗方案多经验性选择头孢曲松或美罗培南完全不一致,因此尽早确诊NB有助于及时规范治疗,减少后遗症的发生,而且对公共卫生也具有重大意义。本研究通过对儿童中枢神经系统布鲁氏菌感染患者的临床和脑脊液宏基因组二代测序(metagenomics next generation sequencing, mNGS)结果进行分析,探索mNGS在儿童布鲁氏菌脑炎感染诊治中的临床应用价值。

## 材料与方法

### 1 病例

为2020年11月至2021年3月在本院神经内科住院并临床疑诊为NB的2例患儿进行回顾性分析。详细记录每例患者的病史体征、实验室检验及其他辅助检查结果。本研究得到山东大学附属儿童医院伦理委员会批准,患者家属均已签署知情同意书。

### 2 方法

**2.1 实验室检查** 根据血常规、脑脊液常规和脑脊液生化检查结果,脑脊液抗酸染色和结核分枝杆菌及利福平耐药基因检测鉴别结核分枝杆菌感染,同时检测脑脊液新型隐球菌荚膜抗原以排除隐球菌感染。

**2.2 NB诊断标准**<sup>[10]</sup> NB应符合下列任一标准:(1)符合神经布鲁氏菌病的症状和体征;(2)从脑脊液中分离布鲁氏菌和(或)在脑脊液中存在抗布鲁氏菌抗体;(3)脑脊液中淋巴细胞增多,蛋白水平升高,葡萄糖水平降低;(4)头颅磁共振成像或CT诊断结果。

**2.3 影像学检查** 脑部CT和MRI可以辅助用于NB的诊断,临床多表现为脑膜炎、脑膜脑炎影像学特征,但NB的影像学异常无特异,临床上常难以与其他感染或炎症反应鉴别诊断。

**2.4 脑脊液 mNGS 检测** 腰椎穿刺,留取1~2 ml 脑脊液(应在30 min内放入-80℃冰箱保存),使用病原破壁试剂盒(华大生物科技有限公司生产)在生物安全柜内(严格无菌),对脑脊液中的病原体进行玻璃珠破壁处理,使用核酸提取试剂盒(武汉华大科技有限公司生产)提取DNA,并用DNA酶切试剂盒(华大生物科技有限公司生产)将提取的DNA酶切至200~300 bp的片段;使用PMseq TM文库制备试剂盒(华大生物科技有限公司生产)进行文库构建。使用华大基因提供的阴性和阳性质控,进行全流程质控监测。使用BGISEQ50测序平台(华大生物科技有限公司生产)对质控合格的DNA纳米球进行测序分析。

**2.5 数据生信分析** 测序数据下机后,剔除低质量、测序长度<35 bp的读数,以获得高质量的测序数据,然后应用华大数据分析平台独立进行病原菌数据库比对,从而对微生物进行初步鉴定和序列数统计分析。

## 结果

### 1 患者一般情况

2例患者均为男性,年龄分别为11岁和12岁。1例冬季起病,1例春季起病,2例患儿经流行病学调查均与羊有密切接触史。

### 2 临床表现

2例患者均急性起病,均表现为不明原因的弛张热。1例患儿伴头晕,1例颈肩部疼痛,伴有呕吐,此外2例患者均合并肺部感染。

### 3 实验室检查

2例患者血液布鲁氏菌凝集试验阳性;血培养1例阳性,1例阴性(表1);2例患者颅内压均升高;2例患者脑脊液常规白细胞计数升高,以单核细胞为主;葡萄糖水平降低,蛋白质水平升高;氯化物水平降低;脑脊液普通培养阴性,脑脊液血培养瓶增菌3、5 d后血培养仪器报警,质谱鉴定为羊布鲁氏菌,菌液转种到血平板24 h后长出细小菌落(图1)。

### 4 影像学检查

2例患者均行磁共振成像(MRI)检查,MRI示双侧半卵圆中心见小片状长T1长T2异常信号,FLAIR呈高信号(图B箭头),DWI呈高信号,ADC低信号(图2)。

### 5 病原微生物 mNGS 检测

以脑脊液mNGS检测到的细菌序列数>1条为判定条件,1例检出细菌5属8种,检出真菌1属1种,病毒、原生生物(寄生虫等)微生物未检出;脑脊液mNGS检测出布鲁氏菌序列数为175条,剔除背景菌,致病菌仅为羊布鲁氏菌。另1例检出细菌2属8种,检出真菌1属1种,均为检出结核分枝杆菌和新型

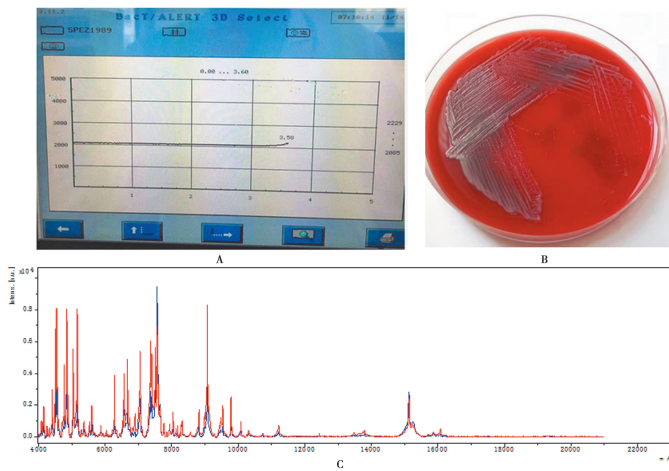
隐球菌,其他病毒、寄生虫等微生物亦均未检出;脑脊液 mNGS 检出布鲁氏菌序列数为 389 条,剔除背景菌,致病菌仅为羊布鲁氏菌。2 例患儿 mNGS 测序基

因组的覆盖度为(0.05~0.11)%,测序深度为 1.00 (表 2)。

表 1 2 例中枢神经系统布鲁氏菌感染患者的实验室检查结果  
Table 1 Laboratory results of 2 patients with NB

编号 No	血液 Blood				脑脊液 Cerebrospinal fluid							
	白细胞 WBC ( $\times 10^9/L$ )	单核 细胞 % Monocytes (%)	细菌 培养 Bacterial Culture	虎红 试验 RBPT	压力 Pressure (mmH <sub>2</sub> O)	白细胞 WBC ( $\times 10^6/L$ )	单核 细胞 % Monocytes (%)	蛋白质 Protein (g/L)	腺苷脱氨酶 adenosine deaminase (U/L)	葡萄糖 Glucose (mmol/L)	氯化物 Chloride (mmol/L)	增菌 培养 enriched culture
1	12.67	16.70	-	+	330	28	92.9	0.78	24	1.59	113	+
2	8.57	33.40	+	+	185	30.3	77.6	0.99	56	1.02	112	+

注:1 mmH<sub>2</sub>O=0.0098 kPa;血液白细胞的正常范围为(3.50~9.50) $\times 10^9/L$ ;脑脊液压力正常值 80~180 mmH<sub>2</sub>O;脑脊液常规正常值:白细胞数(0~5) $\times 10^6/L$ ;脑脊液生化正常值:蛋白 0.15~0.45 g/L,葡萄糖 2.5~4.5 mmol/L,氯化物 120~132 mmol/L。

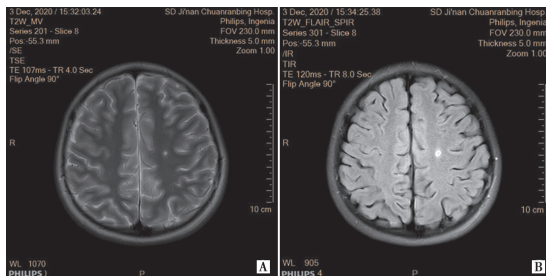


A 脑脊液血培养瓶增菌后血培养仪报警曲线 B 脑脊液增菌后转种血平板培养 24 h C 患者 1(蓝色)和患者 2(红色)脑脊液增菌后质谱鉴定为羊布鲁氏菌

图 1 脑脊液增菌培养及质谱鉴定分析

A Thealarm curve of blood culture apparatus after injecting cerebrospinal fluid into aerobic culture media B Cerebrospinal fluid was cultured in aerobic culture media and transferred to blood plate for further culture for 24 hours C Cerebrospinal fluid from patient 1(blue) and patient 2(red) were injected into blood culture vials and the culture products were identified by mass spectrometer as *Brucella melitensis*

Fig. 1 Enriched Culture and Mass Spectrometer analysis of CSF



注:双侧半卵圆孔中心见小片状长 T1 长 T2 异常信号(图 A 箭头),FLAIR 呈高信号(图 B 箭头),DWI 呈高信号,ADC 低信号。

图 2 2 例布鲁氏菌感染患者的 MRI 检查

Note: Abnormal signals of long T1 and long T2 were observed in the Centrum Semiovale (arrow in Figure A), FLAIR showed high signal (arrow in Figure B), DWI showed high signal, ADC showed low signal.

Fig. 2 MRI examination of 2 patients with NB

表 2 2 例布鲁氏菌脑炎患者的宏基因组二代测序结果  
Table 2 mNGS results of 2 patients with NB

病例 编号 No.	发病至检出时间 (d) Time from onset to detection	序列数 The sequence number	覆盖度 (%) Coverage	深度 Depth	临床诊断 Clinical diagnosis
1	30	175	0.05	1	羊布鲁氏菌脑膜炎
2	6	389	0.11	1	羊布鲁氏菌脑膜炎

## 6 细菌基因组序列比对

经数据过滤和组装后,获得两分离菌株的部分基因组序列。将其与公共数据库下载国内外流行株比较,构建系统进化树(图 3),证实 2 株布鲁氏菌与 2019 年印度 Veeraraghavan B 等已报到的 CP044983.1 株羊布鲁氏菌在进化系统中亲缘性较近<sup>[11]</sup>。

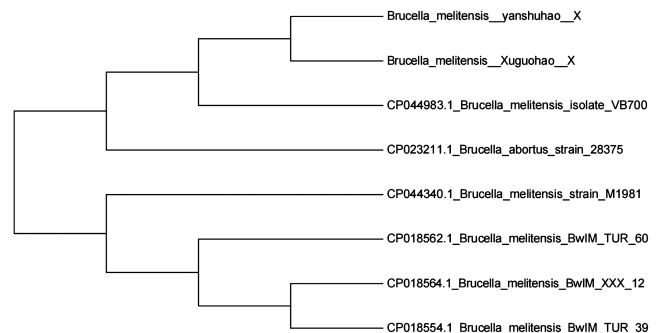


图 3 患者 1(Xuguohao)和患者 2(Yansuhao)感染布鲁氏菌测序序列系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *Brucella* sequence from patient 1(Xuguohao) and patient 2(Yansuhao)

## 7 治疗及转归

2 例患者均给予多西环素(0.1 g,1 次/12 h),同时联合头孢曲松(3.0 g,1 次/d)和利福平(0.5 g,1 次/d)治疗,并辅以降颅压、营养神经等对症支持治疗。脑脊液和血常规、生化及影像学检查均明显好转,头痛、发热等症状均消失,疗程 14~28 d 后均未留下任何后遗症并治愈出院。



## 讨 论

中枢神经系统布鲁氏菌病是布鲁氏菌感染机体后引起的一种少见的急危重症疾病,约占布鲁氏菌病的3%~5%<sup>[7]</sup>。NB于1896年由Hughes首次报道<sup>[5]</sup>,极易漏诊和误诊,极易造成临床的致残和致死,其病死率可高达7%<sup>[12]</sup>,无论布鲁氏菌从哪个入口进入人体,都会迅速通过上皮层易位,并被粘膜巨噬细胞和树突状细胞吞噬<sup>[2]</sup>。内化的布鲁氏菌最初定位于局部淋巴结,然后通过血液扩散,进入富含巨噬细胞的组织,如肝脏,脾脏,淋巴结或骨髓,采取细胞内生活方式逃避先天和适应性免疫反应和许多抗生素的作用<sup>[13]</sup>,诱发持续感染。当机体宿主免疫力下降时,布鲁氏菌侵袭脑膜,通过受损的血脑-屏障侵犯中枢神经系统,引起各种神经系统症状<sup>[14]</sup>。NB发病的具体机制目前仍不明确,有研究报道可能与细菌直接侵犯或其内毒素成分对神经系统产生影响有关<sup>[15]</sup>。

NB常累及脑脊髓膜和中枢神经系统,以脑膜炎、脑膜脑炎、脊髓炎为主要临床表现<sup>[16]</sup>,本院收治的2例患者均有脑膜炎症状,但是NB感染的临床表现与许多疾病相似,不易区分。目前布氏菌的实验室检测主要有以下几种方法:(1)病原学检查:是布氏杆菌病的诊断“金标准”。但体外培养生长繁殖缓慢,检测周期长、阳性率低,常规脑脊液培养布鲁氏阳性报道极少<sup>[10,17,18]</sup>。(2)血清学检查:血清学检测缺乏特异性,不能区分既往感染和现症感染,容易出现假阳性和假阴性。(3)布鲁氏菌脑炎患者的脑脊液实验室检查指标与结核性脑膜炎相似,也缺乏特异性。(4)PCR技术及一代测序由于检测的序列有限,并受到仪器设备限制难于普及<sup>[19]</sup>。

NB是一种可治性疾病,早期治疗效果良好,但是一旦误诊或漏诊,致残率很高,故需要探索新的临床诊断方法。近年来mNGS以其病原诊断的高通量、快速精准的优势被广泛应用于感染性疾病的诊断。

本研究对2例患者的临床与mNGS结果分析发现,2例患者均有发热和脑膜刺激症。血常规中白细胞计数为 $(8.57\sim 12.67)\times 10^9/L$ ,以中性分叶核粒细胞为主,单核细胞占比在16.70%~33.40%。脑脊液常规白细胞计数轻度升高 $(28\sim 33.3)\times 10^6/L$ ,与血常规中细胞分类相反,以单核细胞为主(77.6%~92.9%),葡萄糖水平降低 $(1.02\sim 1.59\text{ mmol/L})$ ,蛋白质水平升高。患儿1血培养阴性,患儿2血培养培养5d为阳性。脑脊液普通培养为阴性。神经影像学 and 神经生理学评估,同时结合微生物学诊断工具有助于并发症的诊断和评估。磁共振成像可以显示实质性病变和神经受累,PET/CT常用于软脑膜受累的影响

学检查<sup>[20]</sup>。本研究影像学病灶多集中于双侧半卵圆中心等部位。2例患者的血清学布鲁氏菌凝集实验均为阳性,但血清学检测本身容易出现假阳性。2例患者均检测出布鲁氏菌序列,序列数分别为(175~389)条。依据2例患者的临床表现、流行病学史、血清学布鲁氏菌凝集试验、脑脊液常规检查结果,以及mNGS的分析结果,均被诊断为中枢神经系统布鲁氏菌感染。mNGS结果显示,布鲁氏菌感染后普通培养保存的脑脊液1ml打入血培养瓶,增菌培养3d血培养仪报警,质谱鉴定均为羊布鲁氏菌,对于条件受限的实验室在高度怀疑布鲁氏菌感染时可先打入血培养瓶增菌,经再培养也能增加培养的阳性率。

mNGS采用宏基因组高通量测序技术基于对样品中病原微生物核酸序列进行分析,通过与数据库中已有微生物的核酸序列进行比对,鉴定样品中潜在的可疑12593种致病微生物。本研究中的mNGS可检测范围包括基因组序列已知的6039种细菌(其中包括174种分枝杆菌和137种支原体/衣原体/立克次体)、4945种病毒、1064种真菌和234种寄生虫。脑脊液mNGS通过对脑脊液标本中病原菌的DNA片段进行核酸序列进行测序分析,进而明确病原菌的属种,早期指导临床对感染性疾病的精准诊治,促进抗微生物药物的合理使用。mNGS技术对标本中存在微量的病原菌DNA即可被检出,对病原微生物的覆盖检出谱也是常规微生物技术难以企及的,且不受死菌的影响。通过mNGS对分离的2株菌株进行全基因组测序,经数据过滤和组装后获得基因组序列。将其与公共数据库下载的国内外流行株进行比较,构建了系统进化树,证实该2例患者的脑脊液感染的均为羊布鲁氏菌,且与2019年印度Veeraraghavan B等报到的CP044983.1株羊布鲁氏菌在进化系统中亲缘性较近。

虽然有越来越多的mNGS应用的成功报道,但仍有一些问题,如何区别感染与定植菌,识别外源性核酸污染等,《宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识》<sup>[21]</sup>的发表有助于标准化NGS检测过程,以及存储、分析和解读NGS数据结果<sup>[22]</sup>。本研究存在样本量少,测序深度低等缺陷。进一步扩大样本量和加大测序深度,可为mNGS在中枢神经系统感染患者脑脊液中的应用提供灵敏性及特异性的评估,促进mNGS在儿童布鲁氏菌脑炎精准诊治中的推广应用。

致谢:感谢山东省儿童健康与疾病医学临床研究中心研究项目对本文的支持!

[1] No authors listed. Brucella in Raw Milk Prompts Health Warning in Texas[J]. JAMA, 2017, 318(16):1533.

[2] Franco MP, Mulder M, Gilman RH, et al. Human brucellosis[J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7(12):775-786.

[3] de Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, et al. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*-host interactions[J]. Am J Pathol, 2015, 185(6):1505-1517.

[4] Cho C, Goto M. Spinal Brucellosis[J]. N Engl J Med, 2018, 379(17):e28.

[5] Akdeniz H, Irmak H, Anlar O, et al. Central nervous system brucellosis: presentation, diagnosis and treatment[J]. J Infect, 1998, 36(3):297-301.

[6] Alavi SM, Alavi L. Treatment of brucellosis: a systematic review of studies in recent twenty years[J]. Caspian J Intern Med, 2013, 4(2):636-641.

[7] 金柯, 王晓娟, 关鸿志, 等. 二代测序在中枢神经系统布鲁菌感染中的应用[J]. 中华临床感染病杂志, 2020, 13(3):195-198.

[8] 中华人民共和国卫生部. 布鲁氏菌病诊疗指南(试行) [J]. 传染病信息, 2012, 25(6):323-324.

[9] Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature[J]. Int J Infect Dis, 2010, 14(6):e469-478.

[10] Guven T, Ugurlu K, Ergonul O, et al. Neurobrucellosis: clinical and diagnostic features[J]. Clin Infect Dis, 2013, 56(10):1407-1412.

[11] Veeraraghavan B, Amladi A, Arumugam A, et al. Brucella melitensis isolate VB700 chromosome I, complete sequence. NCBI[EB/OL]. (2019-10-5). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/CP044983.1/>. 2019. VB.

[12] Habeeb YK, Al-Najdi AK, Sadek SA, et al. Paediatric neurobrucellosis: case report and literature review[J]. J Infect, 1998, 37(1):59-62.

[13] Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, et al. Brucellosis[J]. N Engl J Med, 2005, 352(22):2325-2336.

[14] Jiao LD, Chu CB, Kumar CJ, et al. Clinical and laboratory findings of nonacute neurobrucellosis[J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128(13):1831-1833.

[15] Singh SK, Hasbun R. Neuroradiology of infectious diseases[J]. Curr Opin Infect Dis, 2021, 34(3):228-237.

[16] Mergen B, Sarici AM, Baltu F, et al. An unusual presentation of sixth nerve palsy: neurobrucellosis[J]. GMS Ophthalmol Cases, 2019(9): 13.

[17] Obiako OR, Ogoina D, Danbauchi SS, et al. Neurobrucellosis-a case report and review of literature[J]. Niger J Clin Pract, 2010, 13(3):347-350.

[18] Gul HC, Erdem H, Bek S. Overview of neurobrucellosis: a pooled analysis of 187 cases[J]. Int J Infect Dis, 2009, 13(6):e339-343.

[19] Khan MZ, Zahoor M. An overview of brucellosis in cattle and humans, and its serological and molecular diagnosis in control strategies[J]. Trop Med Infect Dis, 2018, 3(2):1-14.

[20] Wu M, Cui R, Li F, et al. Extensive Intraspinal Hypermetabolism Caused by Neurobrucellosis Shown on 18F-FDG PET/CT[J]. Clin Nucl Med, 2020, 45(9):722-724.

[21] 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2):107-120.

[22] Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(5):778-788.

【收稿日期】 2021-10-02 【修回日期】 2022-01-14

(上接 153 页)

[19] Wang JY, Teng Z, Chu W, et al. The emergence and spread of one coxsackievirus A16 genogroup D novel recombinant strain that caused a clustering HFMD outbreak in Shanghai, China, 2016 [J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1):131.

[20] Hassel C, Mirand A, Farkas A, et al. Phylogeography of coxsackievirus A16 reveals global transmission pathways and recent emergence and spread of a recombinant genogroup [J]. J Virol, 2017, 91(18):e00630-17.

[21] Chen P, Wang HY, Tao ZX, et al. Multiple transmission chains of coxsackievirus A4 co-circulating in China and neighboring countries in recent years: phylogenetic and spatiotemporal analyses based on virological surveillance [J]. Mol Phylogenet Evol, 2018(118):23-31.

[22] Lukashv AN. Role of recombination in evolution of enteroviruses [J]. Rev Med Virol, 2005, 15(3):157-167.

[23] Zhang Y, Wang JT, Guo WS, et al. Emergence and transmission pathways of rapidly evolving evolutionary branch C4a strains of human enterovirus 71 in the Central Plain of China [J]. PLoS One, 2011, 6(11):e27895.

[24] Shang PC, Misra S, Hause B, et al. A naturally occurring recombinant enterovirus expresses a torovirus deubiquitinase [J]. J Virol, 2017, 91(14):e00450-17.

[25] Noisumdaeng P, Sangsiriwut K, Prasertsopon J, et al. Complete genome analysis demonstrates multiple introductions of enterovirus 71 and coxsackievirus A16 recombinant strains into Thailand during the past decade [J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1):214.

【收稿日期】 2021-08-24 【修回日期】 2021-11-18