

· 论 著 ·

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱快速检测 无菌体液分离病原菌的研究

王洁¹, 贾乾², 李静¹, 杨朝菊¹, 帖彦清¹

(1.河北省人民医院检验科, 河北石家庄 050051; 2.河北省人民医院体检中心, 河北石家庄 050051)

[摘要] 目的 探讨基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)快速检测增菌报阳后无菌液体病原菌的临床应用价值。方法 收集河北省人民医院肉汤增菌培养阳性的无菌体液标本412份。报阳后的标本进行涂片革兰染色镜检,同时接种固体培养基进行培养,35℃培养4~6h长出菌膜,35℃培养18~24h长出单个菌落,应用质谱仪VITEK MS分别对菌膜和菌落进行鉴定,以质谱鉴定菌落的结果作为参考标准,分析菌膜的鉴定符合率。结果 VITEK MS(菌落)共鉴定出412株病原菌,包括革兰阳性球菌212株(51.45%)、革兰阴性杆菌172株(41.75%)和真菌28株(6.80%)。与VITEK MS(菌落)鉴定结果相比,VITEK MS(菌膜)总体鉴定符合率为91.50%(377/412),革兰阳性球菌鉴定符合率为89.15%(189/212),革兰阴性杆菌鉴定符合率为94.19%(162/172),差异均有统计学意义($\chi^2 = 36.553, 24.319, 10.299$, 均 $P < 0.05$);真菌鉴定,VITEK MS(菌膜)鉴定符合率为92.86%(26/28),差异无统计学意义($\chi^2 = 2.074, P = 0.150$)。结论 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术对报阳后的无菌体液标本进行4~6h菌膜鉴定,可进一步缩短病原菌鉴定时间,快速准确提供鉴定结果,为临床侵袭性感染疾病的诊疗提供早期依据。

[关键词] 细菌; 质谱; 无菌体液; 快速鉴定 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.09.019

[中图分类号] R378 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)09-1090-07

Study of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid detection of pathogenic bacteria isolated from sterile body fluids

WANG Jie¹, JIA Qian², LI Jing¹, YANG Chao-ju¹, TIE Yan-qing¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China;

2. Medical Examination Center, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

[Abstract] **Objective** To explore the clinical application value of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid detection of pathogenic bacteria isolated from sterile body fluids after positive reporting of enrichment. **Methods** Four hundred and twelve specimens of sterile body fluids with positive broth culture were collected from Hebei General Hospital. The positive specimens were microscopically examined by smear Gram staining, and inoculated with solid medium for culture. The bacterial membrane grew at 35℃ for 4–6 h, and the single colony grew at 35℃ for 18–24 h. The VITEK MS was applied to identify the bacterial membrane and the colony respectively, and the results of the mass spectrometry identification of the colony were used as the reference standard to analyze the identification rate of the mass spectrometry identification of the bacterial membrane. **Results** A total of 412 pathogenic strains were identified by VITEK MS (colony),

[收稿日期]2023-09-04

[基金项目]河北省医学科学研究课题计划(20220929)

[作者简介]王洁(1988-),女,河北石家庄人,河北省人民医院

主管检验师,医学硕士,从事临床检验研究。

including 212 Gram-positive cocci (51.45%), 172 Gram-negative bacilli (41.75%) and 28 fungal strains (6.80%). Compared with the VITEK MS (colony) identification results, the overall identification compliance rate was 91.50% (377/412) for VITEK MS (membrane), 89.15% (189/212) for Gram-positive cocci and 94.19% (162/172) for Gram-negative bacilli, all with significant differences ($\chi^2 = 36.553, 24.319, 10.299, P < 0.05$). For fungal identification, identification compliance rate was 92.86% (26/28) by VITEK MS (membrane), with no significant difference ($\chi^2 = 2.074, P = 0.150$). **Conclusion** The application of MALDI-TOF MS for 4–6 h identification of sterile body fluid specimens after positive reporting can further shorten the identification time of pathogenic bacteria, provide rapid and accurate identification results, and provide an early basis for the diagnosis and treatment of invasive infectious diseases in clinical practice.

[Key words] bacteria; mass spectrometry; sterile body fluids; rapid identification

感染性相关疾病的病死率不断增加,给人类的生命健康、社会经济带来了严重影响^[1]。感染性疾病的明确诊断与实验室检测密切相关,临床需要实验室缩短感染性疾病的检测时间,提高诊断准确性。目前血流感染和其他无菌部位感染病原菌的检测主要依靠血培养、传统微生物培养、菌落生化鉴定,但这种检测模式培养周期长,鉴定需要足够的单个菌落,对少见菌、苛养菌的鉴定能力不足。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是一种简单、快速、高通量、低成本^[2-3]的鉴定技术,通过测定病原菌的核糖体蛋白,能够在短时间内鉴定常见及少见病原菌^[4-5],同时具有很高的重复性与准确性,质谱技术正在改变并逐步替代传统的生化鉴定^[6-8]。质谱的数据库覆盖临床常见的细菌及少见菌,包括革兰阴性菌、革兰阳性菌以及真菌。使用 MALDI-TOF MS 鉴定病原菌需要病原菌的丰度高于一定阈值,因此,临床实验室通常应用质谱鉴定单个菌落。为了进一步缩短鉴定时限,本研究对质谱直接鉴定菌膜的能力进行试验,与质谱鉴定菌落的结果进行对比,评估其在临床中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2022 年 1 月—2023 年 3 月河北省人民医院增菌培养阳性的无菌体液标本 412 份(包括胸腔积液、腹腔积液、穿刺液、关节液、心包积液、引流液、脑脊液、骨髓)。纳入标准:标本由临床医生严格遵循无菌操作,采集后立即送检。排除标准:重复样本;标本污染;对报阳后标本进行革兰染色镜检,未见病原菌或 ≥ 2 种病原菌。

本研究经河北省人民医院医学伦理委员会批

准,批准文号为 2021-116 号。

1.2 实验仪器与试剂 全自动血培养仪(型号 BacT/Alert 3D 480 和 BacT/Alert 3D 120)、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(型号 VITEK MS)、70%甲酸、基质液、需氧树脂培养瓶、厌氧树脂培养瓶均购自法国梅里埃;哥伦比亚血平皿、伊红美兰平皿、巧克力平皿和沙保罗平皿均购自郑州安图。

1.3 细菌培养 在生物安全柜内严格无菌操作,将报阳的培养瓶菌液混匀后,用无菌注射器抽取报阳瓶中无菌液体接种于合适的固体培养基上,用一次性接种环进行分区划线。细菌培养皿(血平皿、伊红美兰平皿、巧克力平皿)放在 CO₂ 培养箱 35 ℃ 培养,真菌培养皿(沙保罗平皿)放在真菌培养箱 28 ℃ 培养。

1.4 VITEK MS 质谱鉴定 转种后的培养皿,分为 2 种鉴定方法。方法如下:①菌膜鉴定:培养 4~6 h 后,培养皿上形成一层菌膜, VITEK MS 质谱直接对菌膜进行鉴定,记录 VITEK MS(菌膜)鉴定结果;②单个菌落鉴定:培养 18~24 h 后,培养皿形成单个菌落,用单个菌落直接进行 VITEK MS 质谱鉴定,记录 VITEK MS(菌落)鉴定结果。以 VITEK MS(菌落)鉴定作为参考方法,质控菌株为 ATCC 8739 大肠埃希菌。鉴定率(%) = 准确鉴定菌株数/菌株总数 $\times 100\%$ 。

1.5 VITEK MS 质谱鉴定要求 ①所有操作过程均应遵守实验室生物安全要求。②涂菌时应戴无粉乳胶手套。③VITEK MS 操作的关键步骤是涂菌和加基质。菌涂要求适量,建议涂菌后立刻加基质,便于基质穿透细菌涂层。真菌需要加 70%甲酸,干燥后再加基质。④确保在挑取菌落时不要带有任何琼脂。⑤靶板应保存在无尘环境。取靶板时避免手接触靶板的点位表面,防止污染。

1.6 16S rRNA 基因测序鉴定 当 VITEK MS(菌落)结果未鉴定出或置信度 < 60.00% 时,送检北京睿博兴科生物技术有限公司进行 16SrRNA 基因测序,结果与美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI) 数据库中已有序列进行比对。以 16SrRNA 基因测序结果作为最终参考方法。

1.7 统计学方法 应用 SPSS26.0 统计软件分析数据。实验所得数据以鉴定株数和鉴定率(%)表示,计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 无菌体液病原菌的分布情况 本研究共检测出 412 株菌,病原菌分布如图所示,分离率排名前十位的细菌是肺炎克雷伯菌 52 株(12.62%)、表皮葡萄球菌 51 株(12.38%)、大肠埃希菌 47 株(11.41%)、尿肠球菌 42 株(10.19%)、鲍曼不动杆菌 38 株(9.22%)、人葡萄球菌 35 株(8.50%)、溶血葡萄球菌 23 株(5.58%)、金黄色葡萄球菌 19 株(4.61%)、粪肠球菌 13 株(3.16%)、头状葡萄球菌 12 株(2.91%);其他细菌 52 株(12.62%);真菌 28 株(6.80%)。见图 1。

株(6.80%)。见图 1。

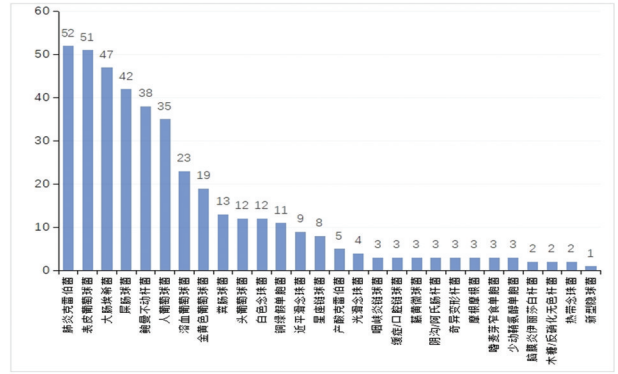


图 1 412 株无菌体液病原菌分布

Figure 1 Distribution of 412 pathogenic bacteria in sterile body fluid

2.2 VITEK MS 鉴定 412 株病原菌的结果比较 以 VITEK MS(菌落)鉴定作为参考方法,共鉴定出 412 株病原菌,包括革兰阳性球菌 212 株(51.45%)、革兰阴性杆菌 172 株(41.75%)和真菌 28 株(6.80%)。VITEK MS(菌膜)共鉴定出 377 株病原菌,包括革兰阳性球菌 189 株(89.15%)、革兰阴性杆菌 162 株(94.19%)和真菌 26 株(92.86%)。见表 1。

表 1 412 株病原菌鉴定结果比较

Table 1 Comparison of identification results of 412 pathogenic bacteria

病原菌	总株数	VITEK MS 鉴定(菌落)		VITEK MS 鉴定(菌膜)	
		鉴定株数	鉴定率(%)	鉴定株数	鉴定率(%)
革兰阳性球菌	212	212	100.00	189	89.15
革兰阴性杆菌	172	172	100.00	162	94.19
真菌	28	28	100.00	26	92.86
合计	412	412	100.00	377	91.50

2.3 VITEK MS 鉴定 212 株革兰阳性球菌的结果比较 VITEK MS 鉴定(菌落)法鉴定出 11 种革兰阳性球菌,共 212 株。VITEK MS 鉴定(菌膜)法共鉴定出 189 株(89.15%),其中粪肠球菌(13 株)和藤黄微球菌(3 株)的鉴定符合率为 100%;金黄色葡萄球菌(19 株)、表皮葡萄球菌(51 株)、头状葡萄球菌(12 株)、尿肠球菌(42 株)鉴定符合率 > 90%;人葡萄球菌(35 株)、溶血葡萄球菌(23 株)鉴定符合率为 85%~90%;星座链球菌(8 株)、咽峡炎链球菌(3 株)、缓症/口腔链球菌(3 株)鉴定符合率 < 80%。

金黄色葡萄球菌的鉴定符合率(94.74%,18/19)高于凝固酶阴性葡萄球菌(88.43%,107/121);对链球菌总体鉴定符合率较低(50.00%,7/14)。见表 2。

金黄色葡萄球菌 1 株、表皮葡萄球菌 5 株、人葡萄球菌 5 株、溶血葡萄球菌 3 株、头状葡萄球菌 1 株、尿肠球菌 1 株未鉴定出结果。星座链球菌 2 株未生长出明显菌膜,鉴定错误 1 株为中间链球菌,鉴定错误 1 株为咽峡炎链球菌。咽峡炎链球菌 2 株未生长出明显菌膜,缓症/口腔链球菌 1 株鉴定错误为肺炎链球菌。

表2 212株革兰阳性球菌鉴定结果比较

Table 2 Comparison of identification results of 212 Gram-positive cocci

病原菌	总株数	VITEK MS 鉴定(菌落)		VITEK MS 鉴定(菌膜)	
		鉴定株数	鉴定率(%)	鉴定株数	鉴定率(%)
金黄色葡萄球菌	19	19	100.00	18	94.74
表皮葡萄球菌	51	51	100.00	46	90.20
人葡萄球菌	35	35	100.00	30	85.71
溶血葡萄球菌	23	23	100.00	20	86.96
头状葡萄球菌	12	12	100.00	11	91.67
尿肠球菌	42	42	100.00	41	97.62
粪肠球菌	13	13	100.00	13	100.00
星座链球菌	8	8	100.00	4	50.00
咽峡炎链球菌	3	3	100.00	1	33.33
缓症/口腔链球菌	3	3	100.00	2	66.67
藤黄微球菌	3	3	100.00	3	100.00
合计	212	212	100.00	189	89.15

2.4 VITEK MS 鉴定 172 株革兰阴性杆菌的结果比较 VITEK MS 鉴定(菌落)法鉴定出 12 种革兰阴性杆菌,共 172 株。VITEK MS 鉴定(菌膜)法鉴定出 162 株(94.19%),其中大肠埃希菌(47 株)、产酸克雷伯菌(5 株)、摩根摩根菌(3 株)、铜绿假单胞菌(11 株)、嗜麦芽窄食单胞菌(3 株)鉴定符合率为 100%;肺炎克雷伯菌(52 株),鲍曼不动杆菌(38 株)鉴定符合率 > 90%;阴沟/阿氏肠杆菌(3 株)、奇异变形杆菌(3 株)、少动鞘氨醇单胞菌(3 株)、脑膜炎伊丽莎白杆菌(2 株)、木糖氧化/反硝化无色杆菌(2 株)鉴定符合率 < 80%。见表 3。培养 4~6 h 后菌膜质谱鉴定、培养 18~24 h 后单个菌落质谱鉴定会生成不同的蛋白峰图,峰的位置、大小、形状有差异,但是鉴定结果置信度均为 99.90%,肺炎克雷伯菌的质谱鉴定结果,见图 2。肺炎克雷伯菌培养 4~6 h 形成的菌膜与 18~24 h 后在血平皿和伊红美蓝平

皿形成的单个菌落,见图 3。

肺炎克雷伯菌 2 株未鉴定出结果;阴沟/阿氏肠杆菌 1 株鉴定错误为霍氏肠杆菌;奇异变形杆菌 1 株未生长出明显菌膜;鲍曼不动杆菌 2 株未鉴定出来,1 株鉴定错误为皮特不动杆菌;少动鞘氨醇单胞菌 1 株未生长出明显菌膜;脑膜炎伊丽莎白杆菌 1 株鉴定错误为按蚊伊丽莎白杆菌;木糖/反硝化无色杆菌 1 株未生长出明显菌膜。

将 VITEK MS 鉴定(菌落)法鉴定置信度为 50.00%的阴沟肠杆菌/阿氏肠杆菌送检 16SrRNA 基因测序,结果为阴沟肠杆菌、霍氏肠杆菌或肠杆菌属,用 16SrRNA 基因无法很好的鉴定到种;将鉴定置信度为 50.00%的木糖氧化/反硝化无色杆菌送检 16SrRNA 基因测序,结果为木糖氧化无色杆菌,见图 4。

表3 172株革兰阴性杆菌鉴定结果比较

Table 3 Comparison of identification results of 172 Gram-negative bacilli

病原菌	总株数	VITEK MS 鉴定(菌落)		VITEK MS 鉴定(菌膜)	
		鉴定株数	鉴定率(%)	鉴定株数	鉴定率(%)
肺炎克雷伯菌	52	52	100.00	50	96.15
大肠埃希菌	47	47	100.00	47	100.00
产酸克雷伯菌	5	5	100.00	5	100.00
阴沟/阿氏肠杆菌*	3	3	100.00	2	66.67
奇异变形杆菌	3	3	100.00	2	66.67
摩根摩根菌	3	3	100.00	3	100.00
鲍曼不动杆菌	38	38	100.00	35	92.11
铜绿假单胞菌	11	11	100.00	11	100.00
嗜麦芽窄食单胞菌	3	3	100.00	3	100.00
少动鞘氨醇单胞菌	3	3	100.00	2	66.67
脑膜炎伊丽莎白杆菌	2	2	100.00	1	50.00
木糖氧化/反硝化无色杆菌**	2	2	100.00	1	50.00
合计	172	172	100.00	162	94.19

注: * 质谱鉴定结果为阴沟肠杆菌/阿氏肠杆菌,置信度为 50% ** 质谱鉴定结果为木糖氧化/反硝化无色杆菌,置信度为 50%

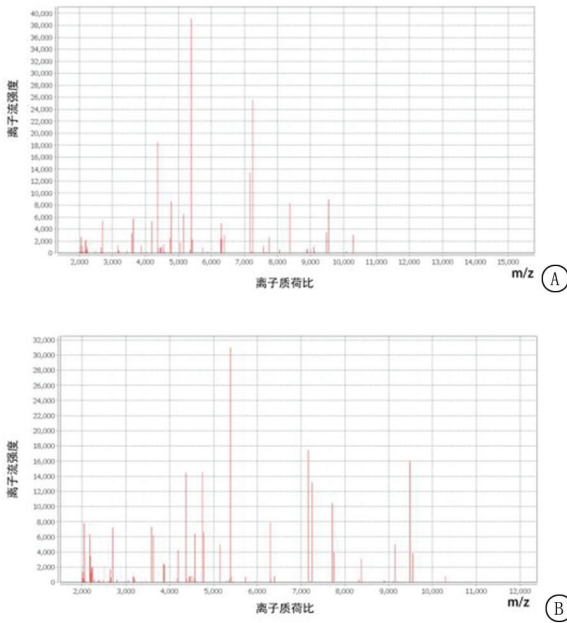


图2 肺炎克雷伯菌质谱鉴定结果
A.培养4~6 h后菌膜质谱鉴定结果;B.培养18~24 h后单个菌落质谱鉴定结果
Figure 2 Results of mass spectrometric identification of *Klebsiella pneumoniae*

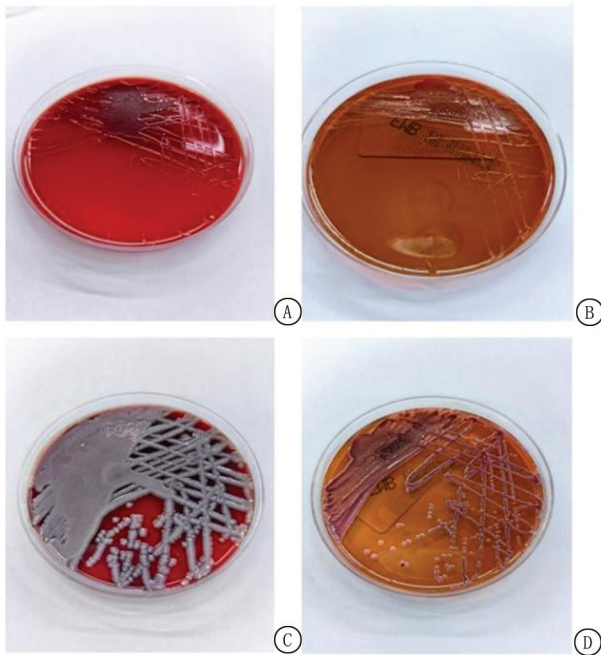


图3 肺炎克雷伯菌在血平皿和伊红美蓝平皿的形态
A.培养4~6 h血平皿;B.培养4~6 h伊红美蓝平皿;C.培养18~24 h血平皿;D.培养18~24 h伊红美蓝平皿
Figure 3 Morphology of *Klebsiella pneumoniae* in blood agar plate and eosin methylene blue agar plate

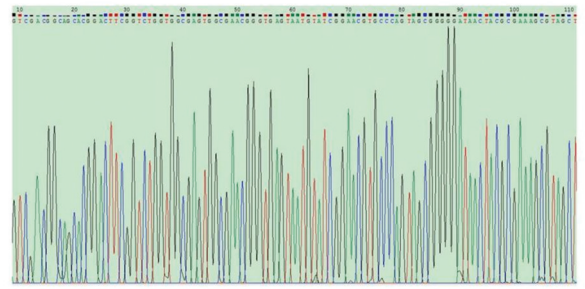


图4 木糖氧化无色杆菌 16SrRNA 保守基因区扩增产物测序图
Figure 4 Sequencing of the amplified product of 16S rRNA gene of *Achromobacter xylosoxidans*

2.5 VITEK MS 鉴定 28 株酵母样真菌的结果比较 VITEK MS 鉴定(菌落)法鉴定出 5 种酵母样真菌,共 28 株。VITEK MS 鉴定(菌膜)法鉴定出 26 株(92.86%),其中白色念珠菌(12 株),光滑念珠菌(4 株)、热带念珠菌(2 株)鉴定符合率为 100.00%;近平滑念珠菌(9 株)鉴定符合率为 88.89%;1 株新型隐球菌未鉴定出结果。1 株近平滑念珠菌和 1 株新型隐球菌未鉴定出结果。见表 4。

2.6 2 种鉴定方法鉴定率的比较 与 VITEK MS (菌落)鉴定率 100.00%(412/412)相比,VITEK MS(菌膜)总体鉴定率为 91.50%(377/412),差异有统计学意义($\chi^2 = 36.553, P < 0.001$)。革兰阳性球菌鉴定,VITEK MS(菌落)鉴定率为 100.00%(212/212),VITEK MS(菌膜)鉴定率为 89.15%(189/212),差异有统计学意义($\chi^2 = 24.319, P < 0.001$);革兰阴性杆菌鉴定,VITEK MS(菌落)鉴定率为 100.00%(172/172),VITEK MS(菌膜)鉴定率为 94.19%(162/172),差异有统计学意义($\chi^2 = 10.299, P = 0.001$);真菌鉴定,VITEK MS(菌落)鉴定率为 100.00%(28/28),VITEK MS(菌膜)鉴定率为 92.86%(26/28),差异无统计学意义($\chi^2 = 2.074, P = 0.150$)。革兰阴性杆菌的鉴定符合率(94.19%, 162/172)高于革兰阳性球菌(89.15%, 189/212)。见表 5。

表4 28株酵母样真菌鉴定结果比较

Table 4 Comparison of identification results of 28 yeasts

病原菌	总株数	VITEK MS 鉴定(菌落)		VITEK MS 鉴定(菌膜)	
		鉴定株数	鉴定率(%)	鉴定株数	鉴定率(%)
白色念珠菌	12	12	100.00	12	100.00
近平滑念珠菌	9	9	100.00	8	88.89
光滑念珠菌	4	4	100.00	4	100.00
热带念珠菌	2	2	100.00	2	100.00
新型隐球菌	1	1	100.00	0	0.00
合计	28	28	100.00	26	92.86

表5 VITEK MS(菌落)与 VITEK MS(菌膜)鉴定率比较

Table 5 Comparison of identification rates between VITEK MS (colony) and VITEK MS (membrane)

(株数)

组别	全部菌株	革兰阳性球菌	革兰阴性杆菌	酵母样真菌
VITEK MS 鉴定(菌落)组	412	212	172	28
VITEK MS 鉴定(菌膜)组	377	189	162	26
χ^2 值	36.553	24.319	10.299	2.074
P 值	<0.001	<0.001	0.001	0.150

3 讨 论

无菌体液包括胸腔积液、腹腔积液、穿刺液、关节液、心包积液、引流液、脑脊液、骨髓等标本,无菌体液常规直接接种平皿检出率低,临床实验室可以将样本接种于增菌肉汤中进行增菌培养鉴定。血培养瓶中营养丰富,利于病原菌生长,采用血培养瓶对无菌体液进行增菌培养,能极大提高病原菌检出率^[4-5]。本研究中用血培养瓶对无菌体液进行增菌培养,全自动血培养仪报阳后转种检测。传统鉴定流程是转种培养 18~24 h 后,取单个菌落进行生化鉴定,需要较长时间鉴定出病原菌种类。与传统鉴定流程相比,通过 MALDI-TOF MS 直接鉴定转种培养后形成的菌膜,根据是否有必要从菌落中提取蛋白质,检测临床病原菌只需要 5~45 min^[9],比常规生化细菌鉴定可以提早 16~18 h,酵母样真菌鉴定可以提早 24~48 h,显著缩短了鉴定时间。

MALDI-TOF MS 作为一种新技术,近十年来在临床微生物诊断中得到了广泛的应用,尤其适用于从固体培养基上培养的纯菌落的鉴定,正在逐渐取代传统的生物化学鉴定方法^[3]。Wattal 等^[10]对 MALDI-TOF MS 鉴定 12 003 种微生物分离株进行评估,包括革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌和分枝杆菌,MALDI-TOF MS 在种水平上能够正确鉴定 95.8% 的分离株。MALDI-TOF MS 对于少见菌、苛养菌的鉴定存在明显优势,由于少见菌、苛养菌培养周期长,传统生化鉴定所需菌量多,因此操作难度大,鉴定率低,MALDI-TOF MS 通过将病原菌的蛋白质谱与数据库中已知病原菌的标准谱进行比较来识别菌种,仅需单个菌落即可完成分析,可显著提高

微生物鉴定的可靠性并降低操作复杂性,已经被用于鉴定临床标本分离的分枝杆菌^[11]诺卡菌^[12]酵母菌^[2]丝状真菌^[13]和厌氧菌^[14]。本研究 VITEK MS (菌落)共鉴定出 412 株病原菌,包括革兰阳性球菌 212 株(51.45%)、革兰阴性杆菌 172 株(41.75%)和真菌 28 株(6.80%);VITEK MS(菌膜)总体鉴定率为 91.50%(377/412),包括革兰阳性球菌 189 株(89.15%)、革兰阴性杆菌 162 株(94.19%)和真菌 26 株(92.86%),具有较高的鉴定率。

研究显示,VITEK MS(菌膜)鉴定对不同菌属或菌种的鉴定能力有差别,革兰阴性杆菌的总体鉴定符合率高于革兰阳性球菌;革兰阳性球菌中,金黄色葡萄球菌的鉴定符合率(94.74%,18/19)高于凝固酶阴性葡萄球菌(88.43%,107/121),这与范宁等^[15]的研究结果一致;对链球菌鉴定符合率较低(50%,7/14),由于细胞蛋白质代表微生物的遗传指令和降解产物,MALDI-TOF MS 鉴定依赖于细胞蛋白质,尤其适用于高表达的蛋白质,比如细菌中相对分子质量为 2 000~20 000 的核糖体蛋白,然而 MALDI-TOF MS 无法区分核糖体蛋白高度保守的微生物,如果在构建 VITEK MS 数据库时 2 种或 3 种菌的特征太相近将无法区别,而链球菌之间由于亲缘关系相近或特殊蛋白指纹图谱峰的特征性不明显导致鉴定置信度降低^[8-9,15],如缓症链球菌与口腔链球菌,鉴定结果置信度为 50.00%。酵母样真菌菌膜与菌落鉴定率差异无统计学意义,表现出良好的鉴定性能,由于真菌生长时间长(48~72 h),需要培养足够时间获取较多的单个菌落进行传统生化鉴定,但鉴定准确率并不高,而 MALDI-TOF MS 的引入显著缩短了真菌的鉴定时限,提高了鉴定准确

率^[16-17]。

侵袭性感染疾病病情急、重,诊断需要明确病原菌,早期诊断和及时正确的抗生素治疗对提高生存率至关重要^[18]。传统生化鉴定需要较长时间(24~48 h)才能得到准确的鉴定结果,对于少见菌、苛养菌、真菌可能需要更长时间,导致临床患者不能得到及时有效的治疗。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱的发展通过引入简单、可靠、快速和低成本的技术^[12],改变了临床病原菌的传统生化鉴定流程,对无菌体液主要病原菌进行固体培养基短时生长菌膜快速鉴定,将鉴定时限缩短为4~6 h,尤其在革兰阴性杆菌和酵母样真菌鉴定方面鉴定符合率较高。菌膜质谱鉴定,不需要对标本进行特殊处理,通过查看固体培养基上菌膜生长情况随时进行鉴定,适合于常规临床实验室对侵袭性感染标本的鉴定,既方便、快速又准确,同时还具有成本效益^[9],具有很高的应用价值。

本研究评估了MALDI-TOF MS在检测无菌体液报阳后菌膜的临床应用价值,并比较菌膜与菌落2种检测结果的鉴定符合率。MALDI-TOF MS可快速准确提供鉴定结果,为临床医生对患者进行快速、合理抗菌药物治疗提供有效证据。

[参考文献]

- [1] Baik D, Kim BW, Ki M. Increasing trends in mortality and costs of infectious diseases in Korea; trends in mortality and costs of infectious diseases[J]. *Epidemiol Health*, 2022, 44: e2022010.
- [2] Girard V, Monnin V, Giraud D, et al. Multicenter evaluation of the VITEK MS matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of bacteria, including *Brucella*, and yeasts [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2021, 40(9):1909-1917.
- [3] Chen XF, Hou X, Xiao M, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) analysis for the identification of pathogenic microorganisms: a review [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(7):1536.
- [4] Watanabe T, Hara Y, Yoshimi Y, et al. Application of MALDI-TOF MS to assess clinical characteristics, risk factors, and outcomes associated with anaerobic bloodstream infection: a retrospective observational study [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2021, 20(1):42.
- [5] Sun B, Wang W, Ma P, et al. Accuracy of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for direct bacterial identification from culture-positive urine samples [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(8):647.
- [6] Tsuchida S, Umemura H, Nakayama T. Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic

- microbiology [J]. *Molecules*, 2020, 25(20):4775.
- [7] Horinouchi N, Shiota S, Takakura T, et al. Bacteremia caused by *Enterobacter asburiae* misidentified biochemically as *Cronobacter sakazakii* and accurately identified by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; a case report [J]. *J Med Case Rep*, 2022, 16(1): 19.
- [8] Yahiaoui RY, Goessens WH, Stobberingh EE, et al. Differentiation between *Streptococcus pneumoniae* and other viridans group streptococci by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(8):1088.e1-1088.e5.
- [9] Elbehry A, Aldubaib M, Abalkhail A, et al. How MALDI-TOF mass spectrometry technology contributes to microbial infection control in healthcare settings [J]. *Vaccines (Basel)*, 2022, 10(11):1881.
- [10] Wattal C, Oberoi J K, Goel N, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of microorganisms in the routine clinical microbiology laboratory [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017, 36(5):807-812.
- [11] Rodriguez-Temporal D, Herrera L, Alcaide F, et al. Identification of mycobacterium abscessus subspecies by MALDI-TOF mass spectrometry and machine learning [J]. *J Clin Microbiol*, 2023, 61(1):e0111022.
- [12] Hodille E, Prudhomme C, Dumitrescu O, et al. Rapid, easy, and reliable identification of nocardia sp. by MALDI-TOF mass spectrometry, VITEK-MS IVD V3.2 database, using direct deposit [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6):5469.
- [13] Fissel JA, Holdren-Serrell CK, Memon W, et al. Performance of a matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry testing algorithm for the rapid identification of clinical filamentous molds [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:915049.
- [14] D'Inzeo T, Fiori B, Liotti FM, et al. Direct matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry testing from positive blood cultures for rapid identification of bloodstream infection-causing anaerobic bacteria [J]. *J Clin Microbiol*, 2021, 59(7):e0052121.
- [15] 范宁, 段雪红, 杨瑜, 等. 血培养阳性标本分离胶促凝管联合 SDS 前处理与固体培养基短时培养菌膜应用 MALDI-TOF MS 快速鉴定最佳时间探讨 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(5):132-138.
- [16] Lau AF. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight for fungal identification [J]. *Clin Lab Med*, 2021, 41(2): 267-283.
- [17] Meena S, Mohanty A, Kaistha N, et al. Comparative assessment of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) and conventional methods in the identification of clinically relevant yeasts [J]. *Cureus*, 2021, 13(6):e15607.
- [18] Wall EC, Chan JM, Gil E, et al. Acute bacterial meningitis [J]. *Curr Opin Neurol*, 2021, 34(3):386-395.