

分离胶法与十二烷基硫酸钠法在血培养阳性瓶基质辅助激光解析电离飞行时间质谱病原菌直接鉴定中的应用

王岩 曹敬荣 常玥 陈典典 段园园 王育英 闵嵘 王培昌

【摘要】目的 评估分离胶促凝管法和十二烷基硫酸钠(SDS)法两种阳性血培养瓶前处理方法联合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)快速鉴定病原菌的临床应用。**方法** 收集2016年11月至2017年5月首都医科大学宣武医院微生物室阳性血培养需氧瓶120例和厌氧瓶80例(经革兰染色镜检确认为单一菌),利用分离胶促凝管和0.5% SDS前处理后与转种纯培养菌落MALDI-TOF MS鉴定比较,评价两种方法的鉴定准确率。**结果** 分离胶法和SDS法质谱鉴定与培养鉴定的符合率为86.0%和87.0%;分离胶法鉴定需氧瓶和厌氧瓶中病原菌的准确率为86.7%和85.0%,SDS法为85.0%和90.0%,两者鉴定需氧瓶中病原菌的鉴定率差异无统计学意义,SDS法鉴定厌氧瓶中细菌的准确率显著高于分离胶法($\chi^2 = 11.13$ 、 $P < 0.05$);分离胶法和SDS法对革兰阴性杆菌的鉴定准确率(94.3%和94.3%)显著高于革兰阳性球菌(80.6%和83.3%)和真菌(50.0%和63.6%),差异均有统计学意义($\chi^2 = 24.7$ 、 40.3 、 15.1 , $P < 0.01$);分离胶法和SDS法鉴定革兰阴性菌和阳性菌的准确率差异无统计学意义,而SDS法鉴定真菌和厌氧菌的准确率显著高于分离胶法($\chi^2 = 11.05$ 、 $P < 0.01$, $\chi^2 = 14.05$ 、 $P < 0.05$);分离胶法和SDS法鉴定分值 > 2.0 分者分别占37.5%和45.0%($\chi^2 = 20.48$ 、 $P < 0.05$),1.6~2.0分者分别占33.0%和25.0%($\chi^2 = 11.14$ 、 $P < 0.05$),差异均具有统计学意义;而 < 1.6 分者分别占15.5%和17.0%,差异无统计学意义($\chi^2 = 5.9$ 、 $P > 0.05$)。**结论** 分离胶法和SDS法均可快速直接鉴定阳性血培养瓶中常见病原菌,显著缩短鉴定时间,在真菌和厌氧菌鉴定时以SDS法前处理MS鉴定效果较好。

【关键词】 分离胶促凝管; 十二烷基硫酸钠; 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱; 血培养阳性瓶

Application of direct determination of pathogens in positive blood culture bottles with matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry by Separation Gel Coagulation tube method and Sodium Dodecyl Sulfonate method Wang Yan, Cao Jingrong, Chang Yue, Chen Diandian, Duan Yuanyuan, Wang Yuying, Min Rong, Wang Peichang. Department of Laboratory, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China

Corresponding author: Cao Jingrong, Email: 13683581168@126.com

【Abstract】Objective To evaluate the clinical application of fast identification of pathogens by two pretreatments of separation gel coagulation tube and sodium dodecyl sulfonate (SDS) on positive blood culture bottles with matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). **Methods** Positive blood samples in 120 aerobic bottles and 80 anaerobic bottles (confirmed single bacteria by Gram's staining technique) were collected from November 2016 to May 2017 in microbiology laboratory of Xuanwu Hospital of Capital Medical University. The identification accuracy of the two methods was evaluated by comparing the pre-treatment of the separated gelatinizing tube and 0.5% SDS with the identification of MALDI-TOF MS in pure culture colonies. **Results** The coincidence rates of identification

with MALDI-TOF MS by the pretreatment of the separation gel coagulation tube method and the SDS method were 86.0% and 87.0%, respectively. In the Separation Gel Coagulation tube method, the coincidences by aerobic bottle and anaerobic bottle were 86.7% and 85.0%, respectively, which were 85.0% and 90.0% for SDS method. No significant difference was identified in terms of coincidence with aerobic blood bottles for the two methods. However, the accuracy by SDS method was clearly superior to that of Separation Gel Coagulation tube method with anaerobic bottles ($\chi^2 = 11.14$, $P < 0.05$). The accuracy rates for Gram-negative bacteria (94.3%, 94.3%) were significantly higher than those of Gram-positive bacteria (80.6%, 83.3%) and *fungi* (50.0%, 63.6%), with significant differences ($\chi^2 = 24.7$, 40.3, 15.1; all $P < 0.01$). The two methods had no significant difference in accuracy of determining Gram-negative and Gram-positive bacteria. However, the identification accuracy of *fungi* and anaerobic bacteria by SDS method was significantly higher than that of the separation gel coagulation tube method ($\chi^2 = 11.05$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 14.05$, $P < 0.05$). The scores > 2.0 identified by pretreatment of separation gel and SDS method were 37.5% and 45.0% ($\chi^2 = 20.48$, $P < 0.05$), which were 33.0% and 25.0% for scores 1.6-2.0 ($\chi^2 = 11.14$, $P < 0.05$), and 15.5% and 17.0% for score < 1.6 ($\chi^2 = 5.9$, $P > 0.05$). **Conclusions** The common pathogens in positive blood culture bottles can be quickly and directly identified by pretreatment of separation gel and SDS method, which significantly reduce the identification period. SDS method is better for identification of *fungi* and anaerobes.

【Key words】 Separation gel coagulation tube; Sodium dodecyl sulfonate; Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry; Positive blood culture bottle

血流感染发病率和病死率高,为临床重症感染性疾病之一。病原微生物的快速准确鉴定是治疗血流感染的中心环节,对临床中抗菌药物的合理使用和疗效的提高至关重要。近年来,不断有文献^[1-11]报道基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)直接鉴定血培养标本中的病原菌可显著降低用药不当所致的病死率和住院费用,已成为国内外研究热点。本研究在血培养仪报阳后涂片镜检有菌的基础上,利用分离胶促凝管和0.5% SDS法联合MALDI-TOF MS直接鉴定阳性血培养瓶中病原菌并与传统血培养阳性鉴定,评价两种快速检测方法的临床应用价值,以探讨两种检测方法的可行性,现报道如下。

材料和方法

一、研究对象

收集2016年11月至2017年5月首都医科大学宣武医院微生物室血培养阳性需氧瓶120瓶和厌氧瓶80瓶,经直接镜检有单一菌生长,当天完成阳性标本的富集菌预处理和质谱鉴定。

剔除标准:血培养报阳后在涂片中未找到病原菌和生长两种及以上病原菌。

二、试剂与仪器

Bactec 9240全自动血培养系统及其配套含树

脂需氧血培养瓶和含溶血素厌氧血培养瓶(美国BD公司);分离胶促凝管(美国BD公司);甲酸、乙腈、三氟乙酸(美国Sigma Aldrich公司),IVD细菌测试标准品、基质(HCCA)、96孔金属靶板和Biotyper 3.1鉴定分析软件及质谱仪(德国Bruker公司);血琼脂平板和沙保弱平板(英国OXOID);十二烷基磺酸钠(SDS,美国Sigma)。

三、血培养阳性标本涂片镜检及常规血培养阳性转种后MALDI-TOF MS鉴定

血培养阳性报警后1 h内完成对阳性培养液的染色镜检,根据镜检结果初步确定血培养瓶中待测菌种类,记录镜检结果。需氧血培养瓶阳性报警后转种于血琼脂平板、中国蓝平板或沙保弱平板,阳性厌氧血培养同时加做厌氧血平板。35℃或28℃需氧或厌氧环境孵育18~24 h后,以1 μl移液器挑取上述白色菌体沉淀少量点靶,室温干燥后加入70%甲酸1 μl,室温干燥后加入1 μl基质溶液覆盖,室温晾干后将靶板放到MALDI-TOF质谱仪鉴定。质谱鉴定的参数设置为线性、正离子、蛋白峰峰谱m/z范围2 000~20 000,激光解析至少240次/孔,应用Biotyper 3.1鉴定分析软件进行鉴定,记录鉴定结果和质谱评分。

四、分离胶促凝管预处理阳性血培养标本直接MALDI-TOF MS鉴定^[3]

将涂片镜检阳性的血培养瓶混匀后,用无菌

注射器抽取瓶内溶液4 ml至分离胶促凝管, 室温下4 000 r/min、离心5 min (离心半径 $r = 6\text{ cm}$) 弃上清, 分离胶上层边缘可见灰白色沉淀, 加入无菌水1 ml混匀后移至1.5 ml EP管, 13 000 r/min、离心2 min, 弃上清, 重复洗涤2次至清亮, 沉淀加入300 μl 无菌生理盐水和900 μl 无水乙醇混匀, 13 500 r/min、离心2 min后弃上清, 加入50 μl 70%甲酸和50 μl 乙腈混匀后13 500 r/min、离心2 min, 上清即为菌体蛋白, 取1 μl 点靶, 室温干燥后加入1 μl 基质溶液覆盖, 进行质谱鉴定。同一标本涂抹两个靶位, 两个靶位鉴定结果一直作为最后结果, 如出现不一致, 则重复鉴定后确定结果。

五、0.5% SDS法预处理阳性血培养标本直接MALDI-TOF MS鉴定^[1]

将涂片镜检阳性血培养瓶混匀后, 用无菌注射器抽4 ml瓶内溶液至含有4 ml提前配置的0.5% SDS的离心管, 4 000 r/min离心5 min, 弃上清; 加入无菌水1 ml混匀后移至1.5 ml EP管, 13 000 r/min、离心2 min, 弃上清, 重复洗涤2次至清亮, 沉淀加入300 μl 无菌生理盐水和900 μl 无水乙醇混匀, 13 500 r/min、离心2 min后弃上清, 加入50 μl 70%甲酸和50 μl 乙腈混匀后13 500 r/min、离心2 min, 上清即为菌体蛋白, 取1 μl 点靶, 室温干燥后加入1 μl 基质溶液覆盖, 进行质谱鉴定。

六、直接鉴定法的质谱评分标准和鉴定结果分析

直接鉴定结果包括鉴定到种或属、鉴定出两种或两种以上菌待选择、频谱错误、无鉴定结果、峰谱不足等。本研究参考文献^[6]自建MALDI-TOF MS鉴定结果判读标准, 若鉴定分值 ≥ 1.60 且均为同种菌, 记为鉴定结果; 分值 ≥ 1.60 存在1种以上菌种 (非同属), 几种菌均记为鉴定结果; 若分值 ≥ 1.60 有1种以上菌种 (为同一属), 以其中连续两个或以上相同菌种记为鉴定结果, 不足2个时以第1种菌种为鉴定结果; 真菌鉴定分值截点为1.50。统计时将鉴定到种或属为实验结果阳性, 鉴定时频谱错误、峰谱不足者为鉴定不出记为阴性。

七、统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 研究中所涉及的鉴定率等计数资料以率表示, 统计分析采用 χ^2 检验、Fisher确切概率检验或非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、分离胶促凝管法和0.5% SDS预处理法MALDI-TOF MS直接鉴定阳性血培养菌

1. 两种前处理方法对阳性血培养病原菌的鉴定结果与符合率: 分离胶法MALDI-TOF MS直接鉴定与培养后纯菌落质谱鉴定结果符合率为86% (172/200), 其中革兰阳性菌鉴定率为86.1%, 革兰阴性杆菌鉴定率为97.2%, 真菌鉴定率为63.6%, 见表1。0.5% SDS法MALDI-TOF MS直接鉴定与培养后的纯菌落鉴定结果符合率为87% (174/200), 其中革兰阳性菌鉴定率为90.3%, 革兰阴性杆菌鉴定率为96.2%, 真菌鉴定率为77.3%, 见表1。

两种前处理方法对革兰阴性杆菌鉴定准确率均显著高于革兰阳性球菌和真菌, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 24.7, 40.3, 15.1, P$ 均 < 0.01)。分离胶法和SDS法直接鉴定革兰阴性杆菌和革兰阳性菌准确率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), SDS法鉴定真菌的准确率高於分离胶法, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表1。

2. 两种前处理方法鉴定不同血培养瓶和厌氧菌的检出率: 分离胶法鉴定需氧瓶和厌氧瓶中病原菌的检出率分别为86.7% (104/120) 和85.0% (68/80); SDS法鉴定需氧瓶和厌氧瓶中病原菌的检出率分别为85.0% (102/120) 和90.0% (72/80)。两种方法在不同血培养瓶中的鉴定率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 二者在鉴定错误率和无鉴定的比率分别为14%和13%, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 5.89, P > 0.05$); 但SDS法鉴定厌氧菌的准确率高於分离胶法 (90% vs. 85%, $\chi^2 = 14.05, P < 0.05$)。分离胶法和SDS法均可鉴定专性厌氧菌 (如脆弱拟杆菌和多形拟杆菌), 分离胶法鉴定脆弱拟杆菌和多形拟杆菌得分1.6~2.0分, SDS法鉴定脆弱拟杆菌和多形拟杆菌得分 > 2.0 分。

二、分离胶促凝管法与0.5% SDS法MALDI-TOF MS直接鉴定阳性血培养的分值

分离胶法和SDS法鉴定 > 2.0 分者分别占37.5%和45.0% ($\chi^2 = 20.48, P < 0.05$), 1.6~2.0分者分别占33.0%和25.0% ($\chi^2 = 11.14, P < 0.05$), < 1.6 分者分别占15.5%和17.0% ($\chi^2 = 5.9, P > 0.05$)。SDS法鉴定革兰阳性球菌 > 2.0 分的比率显著高於分

表1 分离胶法与0.5% SDS法MALDI-TOF MS直接鉴定[株(%)]

	株数	分离胶法	SDS法	χ^2 值	P值
G ⁺ 菌	72	62 (86.1)	64 (90.3)	5.78	0.25
金黄色葡萄球菌	18	18 (100.0)	18 (100.0)		
人葡萄球菌	14	12 (85.7)	12 (85.7)		
粪肠球菌	3	3 (100.0)	3 (100.0)		
屎肠球菌	14	12 (85.7)	14 (100.0)		
表皮葡萄球菌	16	12 (75.0)	14 (87.5)		
肺炎链球菌	4	2 (50.0)	4 (100.0)		
口腔链球菌	3	3 (100.0)	3 (100.0)		
G ⁻ 菌	106	103 (97.2)	102 (96.2)	7.78	0.10
大肠埃希菌	33	33 (100.0)	33 (100.0)		
肺炎克雷伯菌	47	45 (95.7)	44 (93.6)		
鲍曼不动杆菌	14	13 (92.8)	13 (92.8)		
奇异变形杆菌	5	5 (100.0)	5 (100.0)		
铜绿假单胞菌	5	5 (100.0)	5 (100.0)		
嗜麦芽窄食单胞菌	2	2 (100.0)	2 (100.0)		
真菌	22	14 (63.6)	15 (77.3)	11.05	0.01
白念珠菌	14	8 (57.1)	10 (71.4)		
光滑念珠菌	4	4 (100.0)	4 (100.0)		
近平滑念珠菌	4	2 (50.0)	3 (75.0)		

表2 分离胶促凝管法与0.5% SDS法MALDI-TOF-MS直接鉴定血培养阳性菌[株(%)]

染色结果	株数	分离胶法				SDS法			
		> 2.0分	1.6~2.0分	< 1.6分	错误/无鉴定	> 2.0分	1.6~2.0分	< 1.6分	错误/无鉴定
G ⁺ 球菌	60	10 (16.7)	32 (53.3)	13 (21.7)	5 (8.3)	26 (43.3)	9 (15.0)	19 (31.7)	6 (10.0)
G ⁺ 杆菌	12	2 (16.7)	0 (0.0)	4 (33.3)	6 (50.0)	1 (8.3)	5 (41.7)	0 (0.0)	6 (50.0)
G ⁻ 杆菌	106	62 (58.5)	33 (31.1)	5 (4.7)	6 (5.7)	60 (56.6)	30 (28.3)	10 (9.4)	6 (5.7)
真菌	22	1 (4.5)	1 (4.5)	9 (40.9)	11 (50.0)	3 (13.6)	6 (27.3)	5 (22.7)	8 (36.4)
合计	200	75 (37.5)	66 (33.0)	31 (15.5)	28 (14.0)	90 (45.0)	50 (25.0)	34 (17.0)	26 (13.0)

离胶法(43.3% vs. 16.7%, $\chi^2 = 48.5$ 、 $P < 0.01$)，而鉴定1.6~2.0分时分离胶法显著高于SDS法(53.3% vs. 15.0%, $\chi^2 = 25.1$ 、 $P < 0.01$)；SDS法鉴定真菌得分在> 2.0和1.6~2.0分均显著高于分离胶法(13.6% vs. 4.5%, $\chi^2 = 11.14$ 、 $P < 0.05$ ；27.3% vs. 4.5%, $\chi^2 = 24.3$ 、 $P < 0.01$)；两种方法鉴定革兰阴性菌得分无显著差异。分离胶法与SDS法鉴定结果详见表2。

讨论

早期准确的病原学诊断是血流感染诊治的关键，MALDI-TOF MS最大优势为可直接鉴定血培养

瓶中病原菌而缩短鉴定时间。目前，不断有血培养阳性报警瓶MALDI-TOF MS直接鉴定的报道^[1-12]，阳性标本前处理方法可直接影响其鉴定效果及结果判定(鉴定准确率约为80%)^[1-2, 6, 13]。本研究参照文献报道的分离胶法^[3]和SDS法^[1]预处理阳性血培养标本，在涂片染色确定有菌的基础上应用两种预处理方法进行质谱直接鉴定，并对离心参数及相关试剂用量进行微调以提高鉴定准确率。因血培养瓶中的红细胞或白细胞等会干扰质谱峰，本研究参照文献^[3, 6]自建质谱鉴定结果判读评分，将真菌鉴定截点定为1.50。

本研究通过两种不同预处理方法直接对120例需氧瓶和80例厌氧瓶中微生物的鉴定，结果显示分

离胶法和SDS法与纯培养鉴定的符合率和鉴定不同血瓶中微生物的检出率差异均无统计学意义,即两种方法均可用于MS直接鉴定。分离胶法和SDS法在鉴定革兰阴性杆菌时准确率高(>96%),且对临床常见G⁻细菌可准确鉴定其所属种,可为临床G⁻菌感染所致败血症的诊治提供依据。而对真菌和厌氧菌的鉴定,SDS法准确率显著高于分离胶法,提示当厌氧血培养瓶报警阳性或需氧瓶涂片结果为真菌时则可考虑采用0.5% SDS法对本标本进行预处理,以达到更高的检出率和更佳的鉴定结果^[14]。分离胶法和SDS法对于G⁺球菌鉴定的总体检出率差异无统计学意义,但得分>1.60者分离胶法显著高于SDS法;而对于革兰阳性杆菌和真菌鉴定,SDS法对得分>1.60分者则显著高于分离胶法,提示根据涂片镜检结果不同微生物采用不同的预处理方法,可有效提高鉴定准确率。

本研究中真菌检出率显著低于革兰阴性菌和革兰阳性菌,可能与真菌细胞壁厚、结构坚韧,未能与甲酸更好的结合破壁,核蛋白未能完全释放出来;真菌生长缓慢及在血培养中菌量少,靶点涂菌不均匀、薄或厚而不能形成较好结晶,谱图不完善;有些菌株缺乏特异性峰值或峰值数量不足,无法形成好的图谱而鉴定不出等有关^[15],鉴于本研究样本量小,尚有待加大标本量进一步验证。本研究对80瓶阳性厌氧瓶进行直接质谱鉴定,除检测出兼性厌氧菌外,检测专性厌氧菌准确率为100%。本研究采用分离胶法和SDS法直接鉴定与培养鉴定的符合率均低于国内文献报道^[6, 17-18],可能与阳性标本前处理方法不同、质谱仪不同^[17-19]、血培养瓶成分不同等相关,有待于进一步优化方法提高检出率和准确率。

在阳性血培养标本直接鉴定中,用分离胶促凝管法和0.5% SDS前处理方法,具有操作简单、结果准确、缩短鉴定结果报告周期等优势,有利于增加MALDI-TOF MS的鉴定准确率。本研究将在阳性血液培养快速鉴定基础上,进一步评价其他无菌体液标本的快速鉴定^[23-26]及直接药敏试验的应用,以更好地为临床诊断提供实验室支持和帮助。但本研究未涉及革兰阴性球菌和混合菌感染进行评价,尚有待于进一步探索。

参 考 文 献

[1] Pulcrano G, Iula DV, Vollaro A, et al. Rapid and reliable MALDI-TOF

mass spectrometry identification of *Candida non-albicans* isolates from bloodstream infections[J]. *J Microbiol Methods*,2013,94(3):262-266.

- [2] Idelevich EA, Grünastel B, Becker K. Rapid detection and identification of Candidemia by direct blood culturing on solid medium by use of lysis-centrifugation method combined with matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)[J]. *J Clin Microbiol*,2016,55(1):97-100.
- [3] 陈峰, 李媛睿, 皇甫昱婵, 等. 分离胶促凝管联合MALDI-TOF MS直接检测血培养阳性细菌[J]. *检验医学*,2015,30(2):113-121.
- [4] Yonetani S, Ohnishi H, Ohkusu K, et al. Direct identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF MS using an in-house saponin method[J]. *Int J Infect Dis*,2016,52(1):37-42.
- [5] 谢小芳, 周惠琴, 郑毅, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术直接鉴定血流感染病原菌的效果评价[J]. *中华临床感染病杂志*,2016,9(2):152-155.
- [6] 尚军, 李修远, 王丽赞, 等. 优化差速离心法在血培养报警瓶MALDI-TOF MS 细菌鉴定中的应用[J]. *临床检验杂志*,2016,34(12):913-918.
- [7] Egli A, Osthoff M, Goldenberger D, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) directly from positive blood culture flasks allows rapid identification of bloodstream infections in immunosuppressed hosts[J]. *Transpl Infect Dis*,2015,17(3):481-487.
- [8] Robinson AM, Ussher JE. Preparation of positive blood cultures for direct MALDI-TOF MS identification[J]. *J Microbiol Methods*,2016,127(1):74-76.
- [9] Barberino MG, Silva MO, Arraes ACP, et al. Direct identification from positive blood broth culture by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)[J]. *Braz J Infect Dis*,2017,21(3):339-342.
- [10] Chien JY, Lee TF, Du SH, et al. Applicability of an in-house saponin-based extraction method in Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry system for identification of bacterial and fungal species in positively flagged blood cultures[J]. *Front Microbiol*,2016,7(10):1432-1445.
- [11] Patel TS, Kaakeh R, Nagel JL, et al. Cost analysis of implementing matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry plus real-time antimicrobial stewardship intervention for bloodstream infections [J]. *J Clin Microbiol*,2016,55(1):60-67.
- [12] 马坚, 俞万钧, 胡必杰, 等. 通过基质辅助激光解析电离飞行时间质谱系统直接快速鉴定阳性血培养[J]. *中华医院感染学杂志*,2017,27(12):2676-2679.
- [13] 李修远, 黄艳飞, 尚军, 等. MALDI-TOF MS 在临床微生物鉴定中的常见问题及对策[J]. *临床检验杂志*,2016,34(12):885-891.
- [14] 王艳, 张会英, 吴俊, 等. 48例厌氧菌血流感染的临床特点及耐药性分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2017,11(6):573-577.
- [15] 张霄霄, 汪定成, 戈伟, 等. MALDI-TOF-MS技术在酵母样真菌鉴定中的临床应用评价[J]. *中国真菌学杂志*,2016,11(5):285-288.
- [16] 周春妹, 沈佳瑾, 黄声雷, 等. 评估SDS在MALDI-TOF MS 直接鉴定阳性血培养样本中的应用价值[J]. *检验医学*,2018,33(3):228-232.

- [17] 蒋月婷, 黎健成, 易建云, 等. 分离胶辅助VITEK-MS质谱仪快速鉴定血培养阳性菌的方法学研究[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(15): 2071-2073.
- [18] 中国临床微生物质谱共识专家组. 中国临床微生物质谱应用专家共识[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(10): I-IV.
- [19] 杨羚, 莫晓彦, 陈定强. VITEK-MS系统直接鉴定体液培养阳性标本的研究[J]. 广州医药, 2016, 47(3): 11-14.
- [20] 李秀娥, 王双云, 王禹. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱对常见细菌直接药物敏感性试验的可行性[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(16): 154-155.
- [21] 李媛睿, 陈峰, 皇甫昱婵, 等. 基于基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪快速鉴定结果的阳性血培养中常见细菌直接药物敏感性试验的评估[J]. 诊断学理论与实践, 2016, 15(1): 18-24.
- [22] Ilavenil S, Al-Dhabi NA, Srigopalram S, et al. Removal of SDS from biological protein digests for proteomic analysis by mass spectrometry[J]. Proteome Sci, 2016, 14(1): 11-13.
- [23] Abouseada N, Raouf M, El-Attar E, et al. Matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry rapid detection of carbapenamase activity in *Acinetobacter baumannii* isolates[J]. Indian J Med Microbiol, 2017, 35(1): 85-89.
- [24] De Carolis E, Paoletti S, Nagel D, et al. A rapid diagnostic workflow for cefotaxime-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* detection from blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry[J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0185935.
- [25] Sogawa K, Watanabe M, Ishige T, et al. Rapid discrimination between Methicillin-sensitive and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using MALDI-TOF mass spectrometry [J]. Biocontrol Sci, 2017, 22(3): 163-169.
- [26] Lallemand E, Arvieux C, Coiffier G, et al. Use of MALDI-TOF mass spectrometry after liquid enrichment (BD Bactec™) for rapid diagnosis of bone and joint infections[J]. Res Microbiol, 2017, 168(2): 122-129.

(收稿日期: 2018-01-06)

(本文编辑: 孙荣华)

王岩, 曹敬荣, 常玥, 等. 分离胶法与十二烷基硫酸钠法在血培养阳性瓶基质辅助激光解析电离飞行时间质谱病原菌直接鉴定中的应用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018, 12(4): 324-329.