

predicts pre-beta-HDL formation; studies in type 2 diabetic and nondiabetic subjects[J]. J Intern Med, 2009, 266(3): 258-267.

[23] Kappelle PJ, Ahnstrom J, Dikkeschei BD, et al. Plasma apolipoprotein M responses to statin and fibrate administration in type 2 diabetes mellitus[J]. Atherosclerosis, 2010, 213(1): 247-250.

[24] 白洲霞. 2 型糖尿病血清载脂蛋白 A1、B、脂蛋白(a)水平观察分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(10): 1146-1147.

[25] Ooi EM, Watts GF, Chan DC, et al. Association of apolipoprotein M with high-density lipoprotein kinetics in overweight-obese men

[J]. Atherosclerosis, 2010, 210(1): 326-330.

[26] Luo G, Zhang X, Nilsson-Ehle P, et al. Apolipoprotein M [J]. Lipids Health Dis, 2004, 3: 21.

[27] Feingold KR, Shigenaga JK, Chui LG, et al. Infection and inflammation decrease apolipoprotein M expression[J]. Atherosclerosis, 2008, 199(1): 19-26.

(收稿日期: 2011-05-15)

• 综 述 •

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在临床微生物领域的应用进展^{*}

颜英俊^{1,2}综述, 汤一苇^{2△}审校

(1. 四川省医学科学院/四川省人民医院, 成都 610072; 2. 美国范德堡大学医学中心, 田纳西州, 美国 37232)

关键词: 细菌; 真菌; 病毒; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 应用

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 17. 025 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2011)17-1969-04

在临床微生物实验室, 革兰染色、菌落形态、显微镜检查、选择培养基的生长特点、各种手工或自动的生化试验是细菌、酵母、真菌的主要鉴定方法。这些方法依赖细菌生产代谢过程, 需要长时间的孵育, 一般需要 24~48 h, 不能满足临床对感染患者的快速诊断和适当的治疗。分子生物学方法、细菌核糖体(16S rRNA) 基因序列分析、实时荧光定量 PCR 检测特定的基因被认为是替代方法, 但这些技术复杂、耗费高, 不适用于临床微生物实验室的检测工作。目前迫切需要寻找和建立新的病原微生物快速诊断的方法, 以满足临床的需要。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) 是近年来发展的一种简便、快速、准确、经济的病原微生物鉴定的新方法, 随着该方法的发展和在临床微生物实验室的应用, 将取代或改变现在微生物实验室的工作模式和流程, 有着良好的应用前景。

1 MALDI-TOF MS 的检测原理、特点及优势

20 世纪 80 年代以来, 有 4 种软电离质谱技术产生, 分别为等离子体解吸(plasma desorption, PD)、快原子轰击(fast atom bombardment)、电喷雾电离(electrospray ionization)和基质辅助激光解吸/电离(MALDI)。MALDI 质谱(MALDI-MS) 是 19 世纪 80 年代末问世并迅速发展起来的质谱分析技术。这种离子化方式产生的离子常用飞行时间(time of flight, TOF)检测器检测。MALDI 与 TOF 合用的 MALDI-TOF MS 技术, 使传统的主要用于小分子物质研究的质谱技术发生了革命性的变革, 从此迈入生物质谱技术发展新时代。

MALDI-TOF MS 首先由 Karas 等^[1]于 1987 年提出, 用于分析非挥发性生物大分子^[2]。其原理非常简单: 当用一定强度的激光照射样品与基质形成的共结晶薄膜, 基质从激光中吸收能量, 样品解吸附, 基质-样品之间发生电荷转移使得样品分子电离, 电离的样品在电场作用下加速飞过飞行管道, 根据到达检测器的飞行时间不同而被检测, 即测定离子的质量电荷之比(m/z)与离子的飞行时间呈正比来检测离子。MALDI-TOF-

MS 的中心技术就是依据样品 m/z 的不同来进行检测, 并测得样品的相对分子质量。完整的细胞可以产生特殊的蛋白图谱(指纹图谱), 通过和以前收集的数据库中的指纹图谱相比较来鉴定微生物。

2 MALDI-TOF MS 在临床微生物检测和鉴定中的应用

在细菌检测和鉴定方面: Cain 等^[3]最早通过提取水溶性蛋白应用 MALDI-TOF MS 来鉴别微生物。这种方法可以区别几种革兰阴性和阳性的细菌。后来 Holland 等^[4]应用完整的细胞而不是提取物来鉴定细菌。在研究中, 取琼脂平板上的细菌菌落直接和基质溶液混合, 然后直接点样在 MALDI-TOF MS 样品靶盘上分析。应用这种方法, 不仅可以鉴定一系列肠杆菌, 还能区别假单胞菌 3 个不同的种。后来有研究认为直接检测完整细胞可以获得革兰阴性和阳性的细菌的种和株特异的鉴定图谱^[5-6]。这些研究不仅表明分析细菌完整细胞可以鉴定和区别细菌不同的种和株, 而且表明和细胞提取方法相比较, 这种样品制备的方法更加简便和快速。

近年来, 有不少研究应用 MALDI-TOF MS 直接鉴定细菌菌落: Eigner 等^[7]应用细菌菌落直接检测上千株常规分离的细菌, 代表临床微生物实验室主要分离的细菌, 用 MALDI-TOF MS 能准确鉴定 95.2%。Seng 等^[8]研究 1 660 株分离细菌菌株, 代表 109 个不同的种, 用 MALDI-TOF MS 84.1% 能准确鉴定到种, 11.3% 只能鉴定到属。笔者认为结果错误或不能鉴定是由于 MALDI-TOF MS 数据库不完善。van Veen 等^[9]分析 980 株细菌, 发现和传统方法相比, 两种方法鉴定到种和属的一致率分别为 79.9% 和 17.3%。另有试验证实^[10], 分析 1 371 株临床分离株发现 1 278 株(93.2%) 能鉴定到种水平, 73 株(5.3%) 到属水平, 不能得到可靠结果的有 20 株(1.5%)。在这 1 278 株准确鉴定的结果中, 和传统生化方法鉴定到种的水平一致率为 95.1% (1 215 株), 和属的一致率为 3% (39 株), 种和属不一致率 1.9% (24 株)。大部分的差异(42/63) 是因为系统数据库相关的分类学差异, 14 个是因为得到的 MALDI-TOF MS 图谱的鉴别能力差, 7 个因为最初传统方法

^{*} 基金项目: 美国国立卫生研究院基金资助项目(UL1-RR024975)。 [△] 通讯作者, E-mail: yingjun.yan@vanderbilt.edu。

鉴定错误。在鉴定非发酵菌方面^[11],用人类感染相关的 37 个属的 248 株非发酵菌建立数据库,测定 80 株临床分离菌,并且和 16S rRNA 基因序列分析比较,57 株产生特异的种鉴定,11 株结果不确定,只能鉴定到属水平,10 株鉴定到属水平,2 株不能鉴定。MALDI-TOF MS 能鉴定 67 株(85.9%),9 株鉴定错误,2 株不能鉴定。因此笔者认为,MALDI-TOF MS 能准确、可重复地鉴定非发酵细菌且在 10 min 内不需要其他的耗材。一项由范德堡大学参与的,分别在 8 个实验室用 MALDI-TOF MS 分析鉴定非发酵菌,鉴定结果提示此方法有良好的实验室间重复性^[12]。

笔者尝试直接从粪便选择培养基上生长的可疑菌落进行 MALDI-TOF MS 分析,从而对常规引起腹泻的致病菌进行快速鉴别与鉴定。该方法可提前 2~3 d 对大多数非乳糖发酵正常菌群,如大肠埃希菌、枸橼酸杆菌、变形杆菌、阴沟肠杆菌、摩根菌等做出准确判定^[13]。尽管在鉴定缓征链球菌和草绿色链球菌群、厌氧菌方面还需要更多的研究和发展,但近年的研究表明 MALDI-TOF MS 是一个鉴定临床分离细菌的有效、可靠的方法。

另外也有少量研究利用 MALDI-TOF MS 检测细菌对抗菌剂的耐药性。凝固酶阳性和凝固酶阴性的金黄色葡萄球菌在临床治疗和感染控制上有不同的意义,一些研究表明 MALDI-TOF MS 可以快速区分凝固酶阳性和凝固酶阴性的金黄色葡萄球菌^[14-15]。美国范德堡大学和英国曼切斯特大学的研究发现该方法的应用可能部分替代甲氧西林或头孢西丁纸片法检测耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA),并有可能应用在快速鉴定血培养中的 MRSA。在细菌毒力研究方面,带有杀白细胞素(panton-valentine leukocidin, PVL)金黄色葡萄球菌显示有特异的 4 448 质荷比的峰,然而 PVL 阴性的金黄色葡萄球菌无峰,该方法检测的灵敏度为 100%,特异性为 90.6%,可快速检测 PVL 阳性的金黄色葡萄球菌^[15-16]。

细菌对抗菌剂耐药机制依赖于一些微小蛋白的改变,如和 β -内酰胺酶耐药相关的青霉素结合蛋白,与喹诺酮类耐药相关的拓扑异构酶基因突变,或者可诱导的耐药机制,用 MALDI-TOF MS 检测目前还比较困难。另一方面,或许可以用 MALDI-TOF MS 检测针对抗菌剂分子的细菌各种获得性酶(如 β -内酰胺酶、甲基化酶、质子泵等)。监测不同药物浓度下白色念珠菌蛋白组改变,并且和传统方法测定氟康唑 MIC 相比较,显示了 MALDI-TOF MS 测定抗菌剂敏感试验的可行性^[17]。

在真菌检测和鉴定方面,MALDI-TOF MS 可用来鉴定酵母菌、酵母样菌、丝状霉菌。Marklein 等^[18]表明,250 株临床分离的念珠菌,包含 15 个种,96%可准确鉴定。van Veen 等^[9]试验表明 61 株酵母样菌属于 12 个不同的种,能准确鉴定 85%。Bizzini 等^[10]检测 24 株酵母样菌属于 4 个不同种,能准确鉴定 100%。但是当前在丝状真菌鉴定方面的报道较少见。主要原因有:(1)和细菌相比,丝状真菌可表现出完全不同的表型,其蛋白图谱也可能和生长条件或取材时用来分析的真菌菌丝的区域有关;(2)丝状真菌蛋白提取无标准程序;(3)目前数据库中只有有限的参考图谱。但最近有一些研究显示,MALDI-TOF 在丝状真菌鉴定方面的应用前景。譬如:曲霉菌^[19]、青霉菌^[20]、镰刀菌^[21]或各种皮肤癣菌^[22]。这些研究建立和应用自己的参考图谱数据库并且严格控制分析前步骤,如:培养基,孵育时间等。应用 MALDI-TOF MS 常规鉴定丝状真菌还需

要进一步完善数据库和建立分析前标准程序。

临床标本和培养基中直接快速鉴定细菌或真菌:从临床标本或培养基中直接鉴定细菌或真菌可节省细菌转种培养和鉴定的时间。笔者尝试应用 MALDI-TOF MS 不经过细菌培养直接从标本中鉴定细菌。取得显著进展的是从血培养阳性标本中直接鉴定细菌和酵母样真菌。La Scola 和 Raoal^[23]、Prod'hom 等^[24]、Stevenson 等^[25]应用不同的操作程序,结合离心,运用血清分离管或氯化铵溶解红细胞,实验结果显示:562 株细菌中,MALDI-TOF MS 准确鉴定 66%(91%革兰阴性细菌,49%革兰阳性细菌),122 株中,79%(90%革兰阴性细菌,73%革兰阳性球菌)准确鉴定,212 株中,能准确鉴定 76.4%单一细菌感染。但目前 MALDI-TOF MS 数据分析软件库还不能鉴定存在混合感染的细菌。

在血培养阳性瓶中,和用细菌菌落直接鉴定一样,鉴定草绿色链球菌群仍然存在问题。近期发表的研究报告认为 16/20(80%)肺炎链球菌不能用 MALDI-TOF MS 鉴定。因此当鉴定结果是草绿色链球菌群时,要求用胶乳凝集试剂盒确诊。

Ferroni 等^[26]直接检测模拟的酵母样菌阳性血培养液中 10 株白色念珠菌和 10 株非白色念珠菌以及 11 株患者血培养标本中的白色念珠菌,鉴定准确率均为 100%。Marinach 等^[27]直接鉴定血培养液中 12 株酵母样菌,属于不同的 6 个种,鉴定准确率为 100%。笔者与德国某公司合作,应用其新近研制生产的血培养液标本处理试剂盒直接从阳性血培养液中提取和鉴定酵母样菌蛋白获得了满意结果^[28]。

这些令人鼓舞的研究结果也促使了应用 MALDI 直接快速鉴定尿液中的细菌。研究表明^[29]:220 份尿液标本,细菌数量大于 10^5 CFU/mL,鉴定到种的一致率为 91.8%,鉴定到属的一致率 92.7%。笔者认为 MALDI-TOF MS 直接鉴定尿液标本中的细菌快速、准确,尤其是大肠埃希菌,正确鉴定率为 97.6%。另外也有研究应用 MALDI-TOF MS 直接检测和鉴定其他正常无菌液体中的细菌。应用 MALDI 检测 46 份液体,包括移植养护液、关节液、深部脓疱标本、骨小孔标本用血培养液孵育,发现 44/46(96%)能鉴定到种水平,2 份鉴定到属水平。但由于在正常体液中感染的细菌的数量少,目前还主要用于检测和鉴定血液和尿液标本。

在病毒检测和鉴定方面:MALDI-TOF MS 应用在病毒鉴定方面还不普遍,但 MALDI-TOF MS 被证实是更加快速的鉴定病毒的方法。大多数的研究集中在通过 MALDI-TOF MS 分析病毒特征来鉴定病原菌^[30-35]。除了用 MALDI-TOF MS 来分析完整病毒,也可以分析一些特殊的感兴趣的蛋白。例如:Colquhoun 等^[30]用 MALDI-TOF MS 来测定引起胃肠炎的诺如病毒的衣壳蛋白。还有研究集中在检测病毒融合蛋白或包膜病毒的糖蛋白^[36]。Lopaticki 等^[32]鉴定了新城疫病毒的不同变异体的融合蛋白。不同的病毒变异体的融合蛋白影响病毒的毒力,因为一些融合蛋白不能和宿主细胞结合。Parker 等^[35]应用 MALDI-TOF MS 检测被 HIV 感染的细胞来检测病毒的融合蛋白 p26。为了证明病毒的生物标记,Kim 等^[36]研究辛德毕斯病毒包膜糖蛋白,它是东方和西方的马脑脊髓炎病毒相同家族的模式病毒。

另外,MALDI-TOF MS 在病毒方面的应用还包括测定互补 DNA 特殊的限制性片段的相对分子质量^[31,33-34]。Luan 等^[33]应用 MALDI-TOF MS 检测扩增 HBV 逆转录酶基因的各种突变,鉴定了 60 个病毒变异体。Ilina 等^[31]研究了 HCV

基因组 5' 非转录区突变体。这项技术还应用于其他宿主病毒, 包括禽流感病毒(H5N1)。Michael 等^[34]观察 H5N1 基因组限制性片段, 来确定和病毒毒力有关的点突变。

3 目前 MALDI-TOF MS 方法的局限性和展望

MALDI-TOF-MS 的技术特点之一是灵敏度高, 所需样品量少, 可达 fmol 级。但在检测和鉴定细菌方面其检测灵敏度还不高^[37], 用模拟的金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌培养标本表明细菌量为($10^7 \sim 10^8$) CFU/mL 可准确鉴定, 10^6 CFU/mL 细菌量产生的信号不能和背景阴性对照信号区分, 为了得到准确的鉴定图谱, 需要点样至少 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL 细菌在样品靶盘上。因此, 除了在阳性血培养液和尿液中可以直接鉴定病原菌外(因为这些标本中病原菌的量), MALDI-TOF MS 还不能直接鉴定患者标本中的病原菌。发展新的富集技术, 如亲和捕捉耦联 MALDI-TOF MS 分析或许将直接分析样本, 甚至有大量微生物的呼吸道标本和粪便标本。

主要基于富集核糖体分析的 MALDI-TOF MS 方法对一些进化过程中接近的细菌的辨别有较大困难。例如: 目前的 MALDI-TOF MS 技术不能将志贺菌和/或 O157 大肠埃希菌与普通的大肠埃希菌区分开^[13]。微生物在不同的环境条件下表达不同的蛋白, 因此生长培养基、培养时间, 样品制备等试验因素可能影响分析的重复性。分析前标本的质量控制、建立标准的样品制备方法、数据获取和分析方法, 是获得实验室内和实验室间重复性的保证。

目前发表的研究和应用都列出了各自的操作程序。该方法要常规应用于临床必须要进行前处理程序的标准化和评价。厂家可以发展和销售他们的细胞裂解液、蛋白提取液、基质液等来标准化样本的处理过程, 促使方法的自动化发展。优化实验室程序将进一步降低病原菌鉴定的时间, 促使 MALDI-TOF MS 在实验室应用的半自动或全自动方向发展。

由于 MALDI-TOF MS 快速、使用简单, 低成本消耗, 无疑将在不久的将来改变或取代临床微生物实验室鉴定病原微生物的方法和流程。同时, 除了病原菌鉴定方面, 在毒力因子、抗生素耐药、细菌分型方面也将会有大的发展。值得一提的是, 世界上数家临床微生物产品生产厂商分别与 MALDI-TOF MS 研发公司建立合作进行数据库的开发和扩展。因此, 联合实验室建立的数据库和实验室间的数据库, 将会扩展 MALDI-TOF MS 在临床微生物实验室的应用。

志 谢

感谢广东医学院深圳福田医院何英、美国范德堡大学医学中心李海静、孟淑芳和纽约罗切斯特大学边冬末等参与部分实验工作。感谢石工一博士提供技术帮助和讨论。愿籍此文纪念近日遇难的青年华人科学家富思宇(Fu S), 为 MALDI-TOF MS 技术推广和应用做出重要贡献。

参考文献

- [1] Karas M, Bachmann D, Bahr U, et al. Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of non-volatile compounds[J]. Int J Mass Spectrom, 1987, 78: 53-68.
- [2] Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10 000 daltons[J]. Anal Chem, 1988, 60(20): 2299-2301.
- [3] Cain TC, Lubman DM, Weber Jr WJ. Differentiation of bacteria using protein profiles from matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass

- Spectrom, 1994, 8(12): 1026-1030.
- [4] Holland RD, Wilkes JG, Rafii F, et al. Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1996, 10(10): 1227-1232.
- [5] Martin A, Claydon, Simon N, et al. The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry[J]. Nat Biotechnol, 1966, 14(11): 1584-1586.
- [6] Krishnamurthy T, Ross PL. Rapid identification of bacteria by direct matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis of whole cells[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1996, 10(15): 1992-1996.
- [7] Eigner U, Holfelder M, Oberdorfer K, et al. Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory[J]. Clin Lab, 2009, 55(7-8): 289-296.
- [8] Seng P, Drancourt M, Gouriet, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(4): 543-551.
- [9] van Veen SQ, Claas EC, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 900-907.
- [10] Bizzini A, Durussel C, Bille J, et al. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5): 1549-1554.
- [11] Mellmann A, Cloud J, Maier T, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(6): 1946-1954.
- [12] Mellmann A, Bimet F, Bizet C, et al. High interlaboratory reproducibility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based species identification of nonfermenting bacteria[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(11): 3732-3734.
- [13] He Y, Li H, Lu X, et al. Mass spectrometry biotyper system identifies enteric bacterial pathogens directly from colonies grown on selective stool culture media[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 3888-3892.
- [14] Edwards-Jones V, Claydon MA, Evason DJ, et al. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus by intact cell mass spectrometry[J]. J Med Microbiol, 2000, 49(3): 295-300.
- [15] Majcherczyk PA, McKenna T, Moreillon P, et al. The discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry to differentiate between isogenic teicoplanin-susceptible and teicoplanin-resistant strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, 255(2): 233-239.
- [16] Bittar F, Ouchenane Z, Smati F, et al. MALDI-TOF-MS for rapid detection of staphylococcal Pantone-Valentine leukocidin[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 34(5): 467-470.
- [17] Marinach C, Alanio A, Palous M, et al. MALDI-TOF MS-based drug susceptibility testing of pathogens: the example of Candida albicans and fluconazole[J]. Proteomics, 2009, 9(20): 4627-4631.

[18] Marklein G, Josten M, Klanke U, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(9):2912-2917.

[19] Hettick JM, Green BJ, Buskirk AD, et al. Discrimination of Aspergillus isolates at the species and strain level by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting[J]. Anal Biochem, 2008, 380(2):276-281.

[20] Hettick JM, Green BJ, Buskirk AD, et al. Discrimination of Penicillium isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22(16):2555-2560.

[21] Marinach-Patrice C, Lethuillier A, Marly A, et al. Use of mass spectrometry to identify clinical Fusarium isolates[J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(7):634-642.

[22] Erhard M, Hippler UC, Burmester A, et al. Identification of dermatophyte species causing onychomycosis and tinea pedis by MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Exp Dermatol, 2008, 17(4):356-361.

[23] La Scola B, Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2009, 4(11):e8041.

[24] Prod'homme G, Bizzini A, Durussel C, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for direct bacterial identification from positive blood culture pellets[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(4):1481-1483.

[25] Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(2):444-447.

[26] Ferroni A, Suarez S, Beretti JL, et al. Real-time identification of bacteria and Candida species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5):1542-1548.

[27] Marinach-Patrice C, Fekkar A, Atanasova R, et al. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry[J]. PLoS One, 2010, 5(1):e8862.

[28] Yan Y, He Y, Maier T, et al. Improved identification of yeast species directly from positive blood culture media by combining sepi-

typer specimen processing and microflex analysis with the matrix-assisted laser desorption ionization biotyper system[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(7):2528-2532.

[29] Ferreira L, Sanchez-Juanes F, Gonzalez-Avila M, et al. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(6):2110-2115.

[30] Colquhoun DR, Schwab KJ, Cole RN, et al. Detection of norovirus capsid protein in authentic standards and in stool extracts by matrix-assisted laser desorption ionization and nanospray mass spectrometry[J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(4):2749-2755.

[31] Ilina EN, Malakhova MV, Generozov EV, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (mass spectrometry) for hepatitis C virus genotyping[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(6):2810-2815.

[32] Lopaticki S, Morrow CJ, Gorman JJ. Characterization of pathotype-specific epitopes of newcastle disease virus fusion glycoproteins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and post-source decay sequencing[J]. J Mass Spectrom, 1998, 33(10):950-960.

[33] Luan J, Yuan J, Li X, et al. Multiplex detection of 60 hepatitis B virus variants by maldi-tof mass spectrometry[J]. Clin Chem, 2009, 55(8):1503-1509.

[34] Michael K, Harder TC, Mettenleiter TC, et al. Diagnosis and strain differentiation of avian influenza viruses by restriction fragment mass analysis[J]. J Virol Methods, 2009, 158(1-2):63-69.

[35] Parker CE, Papac DI, Tomer KB. Monitoring cleavage of fusion proteins by matrix-assisted laser desorption ionization/mass spectrometry: recombinant HIV-1 III B p26[J]. Anal Biochem, 1996, 239(1):25-34.

[36] Kim YJ, Freas A, Fenselau C. Analysis of viral glycoproteins by MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2001, 73(7):1544-1548.

[37] Christner M, Rohde H, Wolters M, et al. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5):1584-1591.

(收稿日期:2011-05-20)

雄激素与男性冠心病关系的研究进展

江涛综述,李艳[△],王昌富审核

(1. 湖北省荆州市中心医院检验医学部 434020; 2. 武汉大学人民医院检验科 430060)

关键词: 冠状动脉疾病; 睾酮; 男性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 17. 026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)17-1972-03

流行病学调查显示男性冠心病(coronary heart disease, CHD)发病率和死亡率均显著高于女性,因此传统观点认为雄性激素是冠心病发病的危险因素之一。但是近年来大量的研究发现,雄激素水平与男性冠心病的发病率呈负相关,生理水平的雄

激素有抗动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)作用。本文就雄激素与男性冠心病的关系及其作用机制研究现状作一综述。

1 雄激素的组成、合成与代谢

人体内的雄激素由胆固醇在体内合成,主要包括睾酮

[△] 通讯作者, E-mail: yanlitf@yahoo. com. cn。