

论著·临床研究

利用 MALDI-TOF MS 快速鉴定经固体培养基 短时培养的阳性血培养物中的病原菌*

周道红,黎敏,鲁卫平[△]

(中国人民解放军陆军军医大学大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042)

摘要:目的 探讨利用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)快速鉴定经固体培养基短时培养的阳性血培养物中的病原菌的可行性,为临床早期诊断血流感染并提供合理的用药依据。方法 血培养瓶呈阳性结果以后按照日常处理流程转种于血平板上,孵育 2、4、6、8 h 后,挑取菌膜于靶标板上,用 MALDI-TOF MS 进行病原菌鉴定。同时,所有标本经过 16~24 h 的隔夜培养后,用 MALDI-TOF MS、VITEK[®] Compact、各种生化反应以及凝集反应进行确认。结果 该研究共有来自 102 例患者的 171 份单一菌感染的血培养阳性瓶用于试验,包括 76 份(44.4%)革兰阳性菌和 95 份(55.6%)革兰阴性菌。与最终鉴定结果比较,在转种培养 2、4、6、8 h 时用 MALDI-TOF MS 进行鉴定的成功鉴定率分别为 106 份(62.0%)、150 份(87.7%)、161 份(94.2%)、165 份(96.5%);其中,革兰阳性菌的鉴定率分别为 26 份(34.2%)、56 份(73.7%)、66 份(86.9%)、70 份(92.3%),革兰阴性菌的鉴定率分别为 80 份(84.2%)、94 份(98.9%)、95 份(100.0%)、95 份(100.0%)。结论 该研究表明,利用 MALDI-TOF MS 快速鉴定经固体培养基短时培养的阳性血培养物中的病原菌是一个早期可靠的方法。

关键词:血培养; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 快速鉴定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.007

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2018)22-2746-05

文献标识码:A

Rapid identification of microorganisms from positive blood cultures by maldi-tof mass spectrometry following short-term incubation on solid medium*

ZHOU Daohong, LI Min, LU Weiping[△]

(Department of Laboratory Medicine, Institute of Field Surgery, Daping Hospital of PLA
Army And Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

Abstract: Objective To explore the feasibility of rapid identification of pathogenic bacteria in positive blood cultures cultured on solid medium by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), and to provide a rational basis for clinical early diagnosis of bloodstream infection. **Methods** After the blood culture flask showed the positive results, they were transferred to the blood plate according to the routine treatment process, the bacterial membrane was selected on the target plate after incubation for 2, 4, 6 and 8 hours, and the pathogens were identified by MALDI-TOF MS. At the same time, all specimens were cultured overnight for 16 to 24 hours and confirmed by MALDI-TOF MS, VITEK[®] Compact, various biochemical reactions and agglutination reactions. **Results** A total of 171 blood culture positive flasks from 102 patients were tested, including 76 (44.4%) gram-positive bacteria and 95 (55.6%) gram-negative bacteria. Compared with the final identification results, the successful identification rates of MALDI-TOF MS were 106 (62.0%), 150 (87.7%), 161 (94.2%) and 165 (96.5%) at 2, 4, 6, and 8 h after transfection culture, respectively. Among them, the identification rates of Gram-positive bacteria were 26 (34.2%), 56 (73.7%), 66 (86.9%) and 165 (96.5%) respectively. 70 (92.3%) were identified, and the identification rates of Gram-negative bacteria were 80 (84.2%), 94 (98.9%), 95 (100%) and 95 (100%) respectively. **Conclusion** This study showed that the rapid identification of pathogenic bacteria in short-term positive blood culture by MALDI-

* 基金项目:全军医学科研“十二五”计划面上项目(CWS13J039)。

作者简介:周道红,女,主管技师,主要从事临床微生物方面研究。 △ 通信作者, E-mail: ronnylu@126.com。

本文引用格式:周道红,黎敏,鲁卫平. 利用 MALDI-TOF MS 快速鉴定经固体培养基短时培养的阳性血培养物中的病原菌[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2746-2749.

TOF MS was an early and reliable method.

Key words: blood culture; matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry; rapid identification

世界范围内,每年血流感染引起的死亡率都保持在高水平。国内文献报道,院内菌血症发病率为 48.56/10 万住院患者^[1],菌血症的总病死率为 30%~40%^[2]。对于感染性休克伴低血压的患者来说,每延迟 1 h 采取有效治疗措施就会使患者的存活率平均降低 7.6%^[3]。因此,对引起血流感染的病原菌进行快速、准确地鉴定对患者的生命健康至关重要。

为了进一步减少鉴定时间,研究者用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)对阳性血培养物进行直接鉴定,从时效性、实用性、准确性以及费用上来看,引入 MALDI-TOF MS 进行鉴定无疑是临床微生物实验室的一大进步,也为患者选择有效的抗菌药物节约了时间^[4]。但是血培养阳性物里包括大量来自血液和培养基的大分子物质,在用 MALDI-TOF MS 进行鉴定前用一些前处理方法去除这些大分子物质以便得到细菌、真菌特异的蛋白质峰,这些方法需要花费额外的人力、财力、时间,不适用于临床微生物实验室的日常工作流程。

本次试验目的是探讨一个不需要额外耗费人力和财力的适用于微生物室日常工作的血培养阳性标本快速鉴定的方法的可行性。笔者将血培养阳性物转到固体培养基上孵育 2、4、6、8 h 后,用 MALDI-TOF MS 进行鉴定,并将鉴定结果与传统方法进行对比。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 4—5 月中国人民解放军陆军军医大学大坪医院的血培养阳性瓶单一菌株感染标本。同一患者送检的多套血培养瓶只考虑其中一套。模拟实验菌株为菌种库留取的标准菌种:产单核李斯特菌、无乳链球菌、阴沟肠杆菌。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC8739。

1.2 仪器与试剂 仪器:GNP29270 型恒温培养箱(上海精宏实验室设备有限公司)、CO₂ 孵育箱(美国赛默飞世尔公司)、VETEK-MS 质谱仪(法国生物梅里埃公司)、全自动血培养系统(BacT/ALERT® 3D, bioMérieux)、自动革兰染色仪(PREVI® Color Gram, bioMérieux)、全自动生化鉴定仪(VITEK® 2 Compact, bioMérieux)。试剂:VITEK MS-DS 靶板(法国生物梅里埃公司)、VITEK MS-CHCA 基质液(法国生物梅里埃公司)、75%乙醇(重庆川东化工有限公司)、生理盐水、哥伦比亚血琼脂平皿(英国 OXOID 公司),试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 血培养 标准需氧瓶(SA)和标准厌氧瓶(SN)注入患者血液 8~10 mL 以及小儿瓶(PF)注入患者血液 2~5 mL 后,3 种血培养瓶(BacT/ALERT®, bioMérieux)放入全自动血培养系统(BacT/ALERT® 3D, bioMérieux)进行孵育。将 5 d 内没有报阳的血培养瓶取出。对一些本次试验没有收集但与血流感染相关的病原菌(产单核李斯特菌、无乳链球菌、阴沟肠杆菌),笔者实施了模拟试验^[5]。将菌种库里的以上标准菌株分别接种于血平板中,悬浮血平板中的单个菌落于 10 mL 生理盐水中,注射 100 μL 菌悬液和 10 mL 健康人的血液标本到血培养瓶中,放入全自动血培养系统进行孵育。

1.3.2 转种培养与革兰染色 在生物安全柜中将报阳瓶采用 75%乙醇消毒后,用无菌针筒吸取少量血培养阳性物到哥伦比亚血琼脂平板上进行转种培养,同时进行涂片,革兰染色。最后将血平板放到普通孵箱(35℃)培养。

1.3.3 MALDI-TOF MS 快速鉴定法 转种培养 2、4、6、8 h 后,用 VETEK-MS 进行鉴定分析。VETEK-MS 进行鉴定分析时,用 1 μL 定量接种环将校准菌株大肠埃希菌 ATCC 8739 涂与中心校准小点位,待菌膜尚未完全干燥时加 1 μL CHCA 基质液。在选择的标本点位涂布 1~2 mm 标本菌膜(图 1)到靶标样品板上,待菌膜尚未完全干燥时加 1 μL CHCA 基质液。室温干燥 10 min 形成共结晶后即可开始 MALDI-TOF MS 鉴定。菌株数据库为梅里埃配套 VITEK® MS IVD。

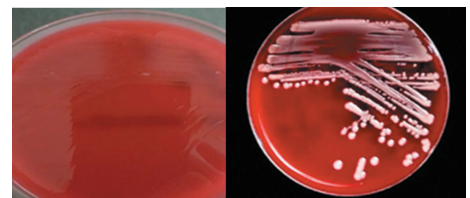


图 1 转种培养 4 h 的大肠埃希菌(左)和转种培养 24 h 的大肠埃希菌(右)

1.3.4 传统鉴定法 当转种培养平板在适宜条件下隔夜培养后,需要进行以下操作:观察菌落形态,实施简单的生化反应(如氧化酶试验、触酶试验、凝固酶试验、奥普托欣试验、胆汁溶解试验),使用传统的全自动生化鉴定仪(VITEK® 2 Compact, bioMérieux)或者质谱鉴定。

2 结果

2.1 革兰染色结果与传统鉴定法结果 试验期间共 212 份血培养瓶中呈阳性结果,其中 3 瓶为混合菌感

染,5 瓶为真菌感染,8 瓶为专性厌氧菌感染,5 瓶为假阳性,去除同一患者送检的多套血培养瓶 20 瓶,最终本次共有来自 102 例患者的 171 份血培养阳性瓶用于试验,包括 76 份(44. 4%)革兰阳性菌和 95 份(55. 6%)革兰阴性菌。经过 16~24 h 的转种培养后可以鉴定出所有细菌。

2.2 MALDI-TOF MS 快速鉴定法结果 转种培养时间 2、4、6、8 h 时,对本次试验包括的所有革兰阳性菌、革兰阴性菌,用 VITEK® MS 成功鉴定率分别为 106 份(62. 0%)、150 份(87. 7%)、161 份(94. 2%)、165 份(96. 5%);对革兰阳性菌,成功鉴定率分别为 26 份(34. 2%)、56 份(73. 7%)、66 份(86. 9%)、70 份(92. 3%);而对革兰阴性菌,成功鉴定率分别为 80 份(84. 2%)、94 份(98. 9%)、95 份(100. 0%)、95 份(100. 0%)。革兰阳性菌的平均鉴定时间为 4. 1 h,革兰阴性菌的平均鉴定时间为 1. 4 h。进行模拟实验的菌株为产单核李斯特菌、无乳链球菌、阴沟肠杆菌,分别在 2、4、2 h 成功鉴定。

表 1 革兰阳性菌和革兰阴性菌在各个时间点的总鉴定率[n(%)]

细菌种类	成功鉴定率(置信度达到 99)
革兰阳性菌(n=76)	
≤2 h	26(34. 2)
≤4 h	56(73. 7)
≤6 h	66(86. 9)
≤8 h	70(92. 3)
平均鉴定时间	4. 1 h
革兰阴性菌(n=95)	
≤2 h	80(84. 2)
≤4 h	94(98. 9)
≤6 h	95(100. 0)
≤8 h	95(100. 0)
平均鉴定时间	1. 4 h

表 2 各种革兰阳性菌在每个时间段的鉴定率[n,n(%)]

	>24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
葡萄球菌属					
金黄色葡萄球菌	12	9	2	1	0
表皮葡萄球菌	16	4	9	3	0
科氏葡萄球菌	4	2	2	0	0
头状葡萄球菌	6	2	2	0	2
溶血葡萄球菌	2	1	1	0	0
人型葡萄球菌	8	4	3	1	0
肠球菌属					
粪肠球菌	5	0	3	1	1

续表 2 各种革兰阳性菌在每个时间段的鉴定率[n,n(%)]

	>24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
屎肠球菌					
屎肠球菌	4	1	2	1	0
铅黄肠球菌					
铅黄肠球菌	1	0	0	0	1
链球菌属					
肺炎链球菌	13(100. 0)	1(7. 7)	6(46. 2)	1(7. 7)	0(0. 0)
肺炎链球菌	2	0	1	1	0
缓症链球菌	4	1	3	0	0
咽峡炎链球菌*	3	0	0	0	0
毗邻颗粒链球*	1	0	0	0	0
星座链球菌*	1	0	0	0	0
无乳链球菌&	2	0	2	0	0
其他革兰阳性菌					
蜡样芽胞杆菌	5(100. 0)	2(40. 0)	0(0. 0)	2(40. 0)	0(0. 0)
蜡样芽胞杆菌	1	1	0	0	0
李生球菌属*	1	0	0	0	0
微球菌属	2	0	0	2	0
产单核李斯特菌&	1	1	0	0	0
合计					
	76(100. 0)	26(34. 2)	30(39. 5)	10(13. 2)	4(5. 3)

注: * 表示在设立的时间点内未能成功鉴定,& 表示对本次试验没有收集但进行了模拟试验的标本

表 3 各种革兰阴性菌在每个时间段的鉴定率[n,n(%)]

革兰阴性菌	>24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
肠杆菌科					
大肠埃希菌	76(100. 0)	66(86. 8)	10(13. 2)	0	0(0. 0)
大肠埃希菌	45	39	6	0	0
肺炎克雷伯菌	24	21	3	0	0
阴沟肠杆菌&	2	2	0	0	0
摩氏摩根菌	3	2	1	0	0
奇异变形杆菌	2	2	0	0	0
其他革兰阴性菌					
鲍曼不动杆菌	19(100. 0)	14(73. 6)	4(21. 1)	1(5. 3)	0(0. 0)
鲍曼不动杆菌	17	12	4	1	0
铜绿假单胞菌	1	1	0	0	0
解鸟氨酸拉乌尔菌	1	1	0	0	0
总计					
	95(100. 0)	80(84. 2)	14(14. 7)	1(1. 1)	0(0. 0)

注:& 表示进行模拟试验的标本

3 讨 论

在血流感染等危及生命的情况下,早期做出治疗决策至关重要。本次试验的目的是寻找一个适用于实验室日常工作流的鉴定方法——既拥有快速鉴定的优点,同时避免额外的金钱、时间、人员浪费,本次仅需要提前将转种琼脂平板取出鉴定即可。既往研究表明转种培养 2. 5 h 和 5. 5 h 后进行生化鉴定是可行的^[6],因此笔者对这 2 个时间点做了一个前后的扩展,确定了 2、4、6、8 h 这 4 个时间点;通过查阅文献发现转种培养用血平板和巧克力平板对成功鉴定时间无影响;通过本实验室的比对发现,对于血培养阳性标本,自动染色仪(PREVI® Color Gram,

bioMérieux) 相比于人工染色具有更精确、标准化的染色结果, 所以本实验室对血培养阳性标本均采用自动染色仪进行染色。

近年来研究表明, 应用不同的标本预处理程序, 可以使 MALDI-TOF MS 直接鉴定血培养阳性物而不需要转种培养^[7]。这些方法包括不同离心力的设置^[8]、血浆分离器的使用^[9]、化学试剂裂解^[10] 以及 Sepsityper 商业试剂盒的使用等^[11]。但是, 这些研究所用的质谱仪、血培养仪不同, 标本前处理方法以及对结果的解释规则都有差异, 所以其结果相似性较小, 总的来说, 平均成功鉴定率为 60%。而本试验在 4 h 时的鉴定率达 150 份 (87.7%), 且不需要额外的试剂以及裂解、洗涤、离心等日常鉴定流程以外的步骤。此外, 本方法相比于基于病原微生物 DNA 或 RNA 的分子生物学检测技术也具有相当优势。本方法因为其庞大的、不断更新的菌株数据库能够鉴定出大部分病原菌, 而像 QuickFISH 等分子方法由于需要特殊的探针, 其只能鉴定出引起血流感染常见的革兰阳性菌、革兰阴性菌和真菌^[12]。

本研究表明, 用 MALDI-TOF MS 对在固体培养基上经过短时培养的血培养阳性标本进行快速病原菌鉴定是一个早期可靠的方法, 且不需要额外的标本预处理试剂以及裂解、洗涤、离心等日常鉴定流程以外的步骤。本次试验的标本来源有限, 试验结果可能不适用于其他地区。在直接鉴定血培养阳性物的研究中发现, MALDI-TOF MS 对革兰阴性菌的鉴定率较高, 所以革兰阴性菌比例的增加会导致总鉴定率升高, 这也是在较早时间点就能得到较高鉴定率的原因之一。本次试验 56 份革兰阳性菌 (73.7%) 在 4 h 成功鉴定, 80 份革兰阴性菌 (84.2%) 则在 2 h 时就能被成功鉴定, 高于一些研究中血流感染革兰阴性菌所占的比例^[13]。对于革兰阳性球菌来说, 葡萄球菌最易被快速鉴定, 而金黄色葡萄球菌又比其他凝固酶阴性葡萄球菌更易被快速鉴定, 其次是肠球菌, 链球菌最难被快速鉴定, 甚至不能被该方法快速鉴定^[14-15]。于本试验的设计来说, 血培养显示阳性以后, 应该立即转种培养并开始计时, 但本试验的目的也是为了寻找更好的鉴定方法以便符合日常工作流程, 白天报阳的血培养瓶可立即转种培养, 但是对于晚上显示阳性的血培养瓶, 延迟处理时间可达 14 h。从理论上来说, 延迟处理会导致在比较早的时间点就能成功鉴定。但是通过记录同一细菌延迟处理和立即处理的鉴定时间发现, 延迟处理并没有对成功鉴定时间产生太大影响。VERROKEN 等^[16] 研究也表明, 延迟处理时间和鉴定分数也无相关联系。由于厌氧菌和真菌缓慢的生长速度, 它们很难被本方法鉴定。所以对于革兰染色提示真菌和厌氧菌感染的血培养标本只有按照传

统方法转种培养 24 h 以后再鉴定。本方法的另外一个缺点就是对多重菌株感染的血培养标本不能完全鉴定, 这主要是由于质谱本身的局限性。

4 结 论

本次研究是利用 MALDI-TOF MS 快速鉴定经固体培养基短时培养的阳性血培养物中的病原菌, 一定程度上节省了人力和财力, 可适用于微生物室日常工作的血培养阳性标本快速鉴定的方法。本研究只评估了该方法的实验室可行性, 但对于该方法是否会给临床用药带来影响及改变尚未可知。未来还可验证基于短时转种培养的药敏试验在本实验室的可行性, 作出新的血培养阳性标本的鉴定药敏流程。

参考文献

- [1] 龚雅利, 刘春江, 汤荣誉, 等. 血液感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. 中国实验诊断学, 2010, 31(2): 107-108.
- [2] 刘俊, 陶建平. 革兰氏阳性球菌和革兰氏阴性杆菌菌血症的临床对比[J]. 医学信息: 下旬刊, 2010, 23(10): 15-16.
- [3] KUMAR A, ROBERTS D, WOOD K E. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock[J]. Ann Intern Med, 2007, 147(6): 413.
- [4] 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.
- [5] OZENCI V, TEGMARK-WISELL K, LUNDBERG C, et al. Rapid culture and identification: a practical method for early preliminary laboratory diagnosis of sepsis[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(2): 177-180.
- [6] FERREIRA L, SÁNCHEZ-JUANES F, PORRAS-GUERRA, et al. Microorganisms direct identification from blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(4): 546-551.
- [7] 蒋颜, 周宏伟, 蔡加昌, 等. MALDI-TOF MS 在临床常见菌快速鉴定中的应用研究[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(6): 544-547.
- [8] KLEIN S, ZIMMERMANN S, KÖHLER C, et al. Integration of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in blood culture diagnostics: a fast and effective approach[J]. J Med Microbiol, 2012, 61(Pt 3): 323-331.
- [9] CHEN J H, HO P L, KWAN G S, et al. Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(6): 1733-1739.
- [10] BUCHAN B W, RIEBE K M, LEDEBOER (下转第 2755 页)

- cosine in prostate cancer progression[J]. *Nature*, 2009, 457(7231):910-914.
- [43] WANG Z, KLIPFELL E, BENNETT B J, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease[J]. *Nature*, 2011, 72(7341):57-63.
- [44] FAN Y, LI Y, CHEN Y, et al. Comprehensive metabolomic characterization of coronary artery diseases[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(12):1281-1293.
- [45] 于伟越, 赵瑞, 刘洪川, 等. 高效液相色谱串联质谱法和电化学发光免疫分析法测定人血清中 25-羟基维生素 D 浓度的相关性研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2017, 33(23):2424-2426.
- [46] 李强, 金玉娥, 汪国权. 超高液相色谱-串联质谱法测定干血点中 25-羟基维生素 D[J]. *实验技术及其应用*, 2017, 44(11):2050-2055.
- [47] 方慧玲. 血清 1 α , 25-二羟基维生素 D 液相色谱串联质谱检测方法的建立及其应用[D]. 北京: 北京协和医院研究生院, 2016.
- [48] 韩吉春, 王小臣, 李广林, 等. 液相色谱-串联质谱检测干血点样本中 25-羟基维生素 D₂ 和 25-羟基维生素 D₃ [J]. *分析化学*, 2015, 45(3):448-454.
- [49] 赵丽, 王伟业. 用液相色谱串联质谱法检测脐带血血清 25-羟基维生素 D₂ 和 25-羟基维生素 D₃ 浓度[J]. *检验医学*, 2015, 30(8):825-829.
- [50] 苗静琨. HPLC-MS/MS 分析干血滤纸片维生素 A 及其前体的方法学研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- [51] MARTANO C, MUGONI V, DAL BELLO F, et al. Rapid high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry methodology for multiple prenol lipids analysis in zebrafish embryos [J]. *J Chrom A*, 2015 (1412):59-66.
- [52] HU K, LI Y, DING R, et al. A simple, sensitive and high-throughput LC-APCI-MS/MS method for simultaneous determination of vitamin K1, vitamin K1 2, 3-epoxide in human plasma and its application to a clinical pharmacodynamic study of warfarin [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018(159):82-91.
- [53] 刘占利, 朗亚琴, 陈笑艳, 等. 同位素稀释超高液相色谱-串联质谱法检测人血清中维生素 K1 含量[J]. *临床检验技术研究*, 2018, 36(6):415-417.
- [54] KUSHNIR M M, ROCKWOOD A L, ROBERTS W L, et al. Performance characteristics of a novel tandem mass spectrometry assay for serum testosterone [J]. *Clin Chem*, 2006, 52(1):120-128.
- [55] RHEA J M, FRENCH D, MOLINARO R J. Direct total and free testosterone measurement by liquid chromatography tandem mass spectrometry across two different platforms[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(7/8):656-664.
- [56] FAQEHI A M M, COBICE D F, NAREDO G, et al. Derivatization of estrogens enhances specificity and sensitivity of analysis of human plasma and serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2016 (151):148-156.
- [57] 安卓玲, 沈忱, 赵瑞, 等. 基于超高效液相色谱-质谱的药物性肝损伤患者血清代谢组学研究[J]. *分析化学*, 2015, 43(9):1408-1414.

(收稿日期:2018-04-22 修回日期:2018-07-16)

(上接第 2749 页)

- N A. Comparison of the MALDI biotyper system using sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood culture bottles[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(2):346-352.
- [11] MARTINEZ R M, BAUERLE E R, FANG F C, et al. Evaluation of three rapid diagnostic methods for direct identification of microorganisms in positive blood cultures [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(7):2521-2529.
- [12] IDELEVICH E A, SCHÜLE I, GRÜNSTEL B, et al. Acceleration of antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures by inoculation of Vitek 2 cards with briefly incubated solid medium cultures[J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(11):4058-4062.
- [13] 吴文娟. 血流感染的快速诊断:从病原到宿主整体策略[J]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2015, 3(2):68-71.
- [14] CLARK A E, KALETA E J, ARORA A, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry; a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2013, 26(3):547-603.
- [15] KOHLMANN R, HOFFMANN A, GEIS G, et al. MALDI-TOF mass spectrometry following short incubation on a solid medium is a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures[J]. *Int J Med Microbiol*, 2015, 305(4/5):469-479.
- [16] VERROKEN A, DEFOURNY L, LECHGAR L, et al. Reducing time to identification of positive blood cultures with MALDI-TOF MS analysis after a 5-h subculture [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2015, 34(2):405-413.

(收稿日期:2018-04-25 修回日期:2018-07-18)