

- [17] KIM H, KWON Y M, KIM J S, et al. Elevated mRNA levels of DNA methyltransferase-1 as an independent prognostic factor in primary nonsmall cell lung cancer [J]. *Cancer*, 2006, 107(5):1042-1049.
- [18] CALIN G A, CROCE C M. MicroRNA signatures in human cancers[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(11):857-866.
- [19] 罗顺蓉, 姜岚今, 姜雅各, 等. 微小 RNA-205 在非小细胞肺癌中的表达及其启动子甲基化情况[J]. *广西医学*, 2018, 46(3):241-244.
- [20] ANDOT, YOSHIDA T, ENOMOTO S, et al. DNA methylation of microRNA genes ingastric mucosae of gastric cancer patients:Its possible involvement in the formation of epigenetic field defect[J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(10):2367-2374.
- [21] JAFFREY S R, KHARAS M G. Emerging links between m(6)A and misregulated mRNA methylation in cancer [J]. *Genome Med*, 2017, 9(1):2.
- [22] JUN L, MARK A E, BRYAN T, et al. m6A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 9(20):1074-1083.
- [23] ZHANG C, ZHI W, LU H, et al. Hypoxia-inducible factors regulate pluripotency factor expression by ZNF217- and ALKBH5-mediated modulation of RNA methylation in breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40):64527-64542.
- [24] LI Z, WENG H, SU R, et al. FTO Plays an Oncogenic Role in Acute Myeloid Leukemia as a N(6)-Methyladenosine RNA Demethylase[J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1):127-141.
- [25] NISHIZAWA Y, KONNO M, ASAI A, et al. Oncogene c-Myc promotes epitranscriptome m(6)A reader YTHDF1 expression in colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(7):7476-7486.
- [26] OMARUDDIN R A, CHAUDHRY M A. Detection of genomic DNA methylation with denaturing high performance liquid chromatography [J]. *Human Cell*, 2010, 23(5):41-49.
- [27] KUMAR S, CHENG X, KLIMASAUSKAS S, et al. The DNA (cytosine-5) methyltransferases [J]. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22(1):1-10.
- [28] CLARK S J, HARRISON J, PAUL C L, et al. High sensitivity mapping of methylated cytosines [J]. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22(15):2990-2997.
- [29] 王春华. 支气管肺泡灌洗液 SHOX2, RASSF1A 甲基化检测在肺癌诊断中的研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2016.
- [30] WEE E J, RAUF S, SHIDDIKY M J, et al. DNA ligase-based strategy for quantifying heterogeneous DNA methylation without sequencing[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(1):163-171.
- [31] JACOB F, HITCHINS M P, FEDIER A, et al. Expression of GBGT1 is epigenetically regulated by DNA methylation in ovarian cancer cells[J]. *BMC Mol Biol*, 2014, 15(2):24.
- [32] EADS C A, DANENBERG K D, KAWAKAMI K, et al. MethyLight: a high-throughput assay to measure DNA methylation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(8):E32.
- [33] DOMINISSINI D, MOSHITCH-MOSHKOVITZ S, SCHWARTZ S, et al. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq [J]. *Nature*, 2012, 485(7397):201-206.
- [34] LINDER B, GROZHIK A V, OLARERIN-GEORGE A O, et al. Single-nucleotide-resolution mapping of m6A and m6Am throughout the transcriptome [J]. *Nat Meth*, 2015, 12(8):767-772.
- [35] LIU N, PARISIEN M, DAI Q, et al. Probing N6-methyladenosine RNA modification status at single nucleotide resolution in mRNA and long noncoding RNA[J]. *RNA*, 2013, 19(12):1848-1856.

(收稿日期:2018-10-20 修回日期:2019-02-16)

• 综 述 •

血流感染病原微生物诊断技术的研究与应用^{*}

章 波^{1,2}, 伊贝拜汗·买买提¹综述, 张 新^{1△}审校

(1. 新疆生产建设兵团医院/石河子大学医学院第二附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830002;

2. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832000)

摘 要:血流感染(BSI)是指病原微生物侵入血液循环并在体内繁殖的一种全身感染性疾病。近年来因其高发病率及病死率而受到越来越多的关注,如何实现 BSI 致病菌的快速检测及其药敏结果的准确回报,是长期困扰临床的问题。血培养是诊断 BSI 病原微生物的“金标准”,但其阳性率低且结果报告周期长,因此需探索新的技术以弥补此缺陷。近年来,微生物多种诊断技术,如阳性报警时间、核酸杂交技术、核酸扩增技术、质谱检测技术、基因芯片和测序技术等逐步从研究阶段走向 BSI 病原微生物诊断的临床应用阶段。本文旨在对 BSI

^{*} 基金项目:国家临床重点专科建设项目(兵卫发电[2011]24 号);兵团临床重点专科建设项目(兵卫发[2013]24 号)。

[△] 通信作者, E-mail: xjzhangxin108@126. com.

本文引用格式:章波,伊贝拜汗·买买提,张新. 血流感染病原微生物诊断技术的研究与应用[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11):1360-

病原微生物基于全血标本和基于血培养的检测技术进行综述,为 BSI 病原微生物快速诊断和治疗提供方法学依据。

关键词:血流感染; 血培养; 诊断技术; 病原菌; 病原微生物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.019

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2019)11-1360-06

文献标识码:A

Research and application of diagnostic technology of pathogenic microorganisms in bloodstream infection*

ZHANG Bo^{1,2}, YIBEIBAIHAN Maimaiti¹, ZHANG Xin^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Xinjiang Production and Construction Corps Hospital /

Second Affiliated Hospital of Medical College of Shihezi University, Urumqi, Xinjiang 830002, China;

2. Medical College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

Abstract: Bloodstream infection (BSI) is a systemic infectious disease in which pathogenic microorganisms invade in the blood circulation and reproduce in vivo. In recent years, more and more attention has been paid to BSI due to its high morbidity and mortality, and how to realize the rapid detection of pathogenic bacteria in BSI and the accurate return of their drug sensitivity results is a long-term clinical problem. Blood culture is the "gold standard" for the diagnosis of pathogenic microorganisms in BSI, but the positive rate is low and the reporting period is long. Therefore, new techniques need to be explored to remedy this defect. In recent years, many diagnostic techniques of microorganisms, such as positive alarm time, nucleic acid hybridization, nucleic acid amplification, mass spectrometry, gene chip and sequencing technology, have gradually moved from the research stage to the clinical application stage of BSI pathogenic microorganism diagnosis. The purpose of this paper is to review the detection techniques of BSI pathogenic microorganisms based on whole blood samples and blood culture, and to provide methodological basis for rapid diagnosis and treatment of BSI pathogenic microorganisms.

Key words: bloodstream infection; blood culture; diagnostic techniques; pathogenic bacteria; pathogenic microorganisms

血流感染(BSI)是一种发病率及病死率高的病原微生物全身感染性疾病^[1]。研究表明,延迟、不足或不适当的抗感染治疗与 BSI 患者病死率增加有关^[2]。虽然在感染 24 h 内经验性治疗能改善患者预后,但可导致耐药菌的出现和传播,并增加侵袭性真菌感染的机会^[3]。因此,正确且及时的抗感染治疗对患者的生存和抑制病原微生物的耐药性至关重要。BSI 病原微生物的快速鉴定和药敏试验是临床微生物实验室最重要的任务之一,对于 BSI 病原微生物快速鉴定、药敏技术的研究及临床应用应引起检验人员的高度关注。本文讨论了病原微生物诊断的最新技术研究,为促进 BSI 的诊断和治疗提供新的视角。

1 基于血培养的病原微生物检测技术

血培养仍然是 BSI 病原微生物诊断的“金标准”,但血培养仪阳性报警后,需分离纯化病原微生物进行鉴定和药敏试验,因而导致报告结果周期长。目前,已有较多方法可快速鉴定阳性血培养中的病原菌,这些检测方法简化了常规血培养的工作流程,缩短了结果报告时间。

1.1 阳性报警时间(TTP)的应用 TTP 是指从血培养瓶放入监测系统到仪器报告阳性的时间。根据不同微生物在血培养瓶中生长速度的快慢,利用 TTP 可初步推断微生物的类型。谢香梅等^[4]统计大肠杆

菌、葡萄球菌、肺炎克雷伯杆菌、肠球菌、链球菌及真菌等各有不同的 TTP,结合革兰染色可对 BSI 病原微生物类型进行初步鉴定。同时 TTP 对于鉴别分离菌株是否为污染菌具有一定的参考价值,朱珠等^[5]对 1 300 例 BSI 分离菌株的 TTP、实验室数据及临床资料进行综合分析,并将这些细菌分为感染菌组与污染菌组,两组比较 TTP 差异有统计学意义($P < 0.05$)。根据血培养瓶 TTP 的早晚可对病原微生物进行初步鉴定或判断是否存在污染菌的情况等受诸多因素的影响,如抗菌药物的使用、标本含菌量、取样时间、取样量等,因此其在临床的应用仍有待于不断研究。

1.2 显色培养基 显色培养基是根据微生物自身代谢产生酶的特征而设计的一种分离培养基,通过直接观察菌落颜色即可对菌株做出鉴定。目前,除了针对沙门菌、念珠菌属、铜绿假单胞菌、无乳链球菌、艰难梭菌、弯曲菌、小肠结肠炎耶尔森菌等的特殊显色培养基外,还有用于筛选耐药性病原菌的显色培养基,如耐万古霉素肠球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、耐超广谱 β -内酰胺酶和碳青霉烯酶的肠杆菌等。将自动血培养仪与涂片镜检、显色培养基结合起来,可缩短对血培养中阳性病原菌检测时间。陈荣等^[6]采用显色培养基检测血培养中 MRSA,结果提示该方法与实验室常规鉴定方法及聚合酶链反应

(PCR)检测结果的符合率高,特异度为 98.8%,灵敏度为 97.9%,同时该方法将实验室诊断 MRSA BSI 的平均报告时间提前 1 d。

1.3 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS) MALDI-TOF MS 是依据微生物生物标志蛋白各自特异度肽质量指纹图谱的不同,通过与商业化的参考数据库进行比对,进而确定待测微生物的种属。该技术对阳性血培养中病原菌分离纯化后进行鉴定仅需几分钟,并且对临床常见细菌鉴定准确率达到 90%~95%^[7]。对从阳性血培养中病原菌不分离纯化直接鉴定而言,也仅需几十分钟,但该方法仍需探索以提高检测的准确性。马坚等^[8]采用 MALDI-TOF MS 直接检测 312 份阳性血培养中病原菌,与常规方法比较,属水平鉴定符合率仅为 84.0%,种水平符合率为 64.7%,对革兰阳性菌鉴定准确率不佳且低于革兰阴性菌。MALDI-TOF MS 对检测病原菌耐药性也有潜在的帮助,如检测 β -内酰胺酶或碳青霉烯类耐药菌、检测金黄色葡萄球菌耐药基因及毒力因子以及区分万古霉素敏感和万古霉素耐药肠球菌等^[3]。尽管 MALDI-TOF MS 现已成为临床实验室鉴定微生物的有效工具,但依然存在诸多问题,如病原菌肽质量指纹图谱重复性问题、质谱数据库亟待完善及细菌耐药性研究应用于临床等均需要进一步改进和完善。

1.4 荧光原位杂交(FISH)技术 FISH 是一种利用荧光标记探针对不同病原微生物的 rRNA 分子进行靶向杂交的技术。该技术可用于金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、肠球菌属、链球菌属、铜绿假单胞菌、大肠杆菌、布鲁菌属和真菌等微生物的检测。目前已有较多商业性试剂盒可用于直接鉴定阳性血培养中特定病原菌,如 PNA-FISH® (AdvanDx)、Quick FISH® (AdvanDx)、The AccuProbe system® (Hologic)、Accelerate Diagnostics™ (Arizona)等,这些均可在数小时内完成阳性血培养分离菌株的检测,检测的灵敏度和特异度可达到 96%~100%^[9]。一项多中心研究中,用肽核酸荧光原位杂交法(PNA-FISH)检测阳性血培养中分离的 355 株肠球菌,检测特异度和灵敏度分别为 100%和 97%^[10]。尽管该技术在阳性血培养病原微生物检测中表现出较好的应用前景,但可用的特异度探针数量有限,一些微生物只能在属的水平上鉴定,并且缺乏所鉴定微生物的抗菌药物敏感信息。

1.5 核酸扩增技术 核酸扩增技术是一种体外扩增核酸片段的技术,以 PCR 技术最为常用,可从血液或阳性血培养中直接进行病原微生物鉴定及耐药基因的检测,具有较高的特异度和灵敏度^[11]。该技术通常是使用特异引物扩增病原微生物目标基因或使用通用引物扩增细菌(16S/23S)或真菌(18S)基因组的保守 rRNA 区域,随后对扩增产物进行凝胶电泳、高分

辨率熔解曲线、微阵列杂交或基因测序等分析。MASEK 等^[12]使用 PCR 方法联合高分辨率熔解曲线分析有效地检出 BSI 中沙门菌。MOORE 等^[13]检测 1 130 份疑似菌血症患者血样,采用 PCR 扩增病原菌 16S 和/或 23S rRNA,然后进行焦磷酸测序,该方法与传统培养法的一致性为 96.9%,灵敏度为 77.8%,特异度为 99.3%。

由 PCR 衍变相关核酸扩增技术也广泛用于 BSI 病原微生物检测,如实时荧光 PCR 技术、多重 PCR 技术和环介导等温扩增技术(LAMP)等。这些方法提高了 PCR 的灵敏度、特异度和检测速度,更有利于 BSI 中多重病原微生物的检测,同时也可对常见耐药基因检测,如 *mecA*、*vanA/B*、*vanC1/C2/C3*、*blaKPC*、*blaNDM-1*、*blaVIM* 或 *blaIMP* 等。胡种等^[14]采用多重 PCR 法鉴定 200 份阳性血培养标本,约 4 h 可完成细菌鉴定,与传统血培养法结果符合率为 100.0%;任春阳等^[15]应用环介导等温扩增技术直接检测 300 份阳性血培养瓶中大肠埃希菌,检出时间约 1 h,与传统培养法比较,灵敏度和特异度均达 100.0%。

目前,已有较多基于 PCR 技术的商业性平台应用于阳性血培养中病原微生物鉴定及耐药基因的直接检测,如 FilmArray® (bioMérieux, France)、The GeneXpert® MRSA/SA BC assay (Cepheid, USA)、BD Max™ StaphSR Assay (BD, Canada)、Cognitor® Minus (Momentum Bioscience, UK) 和 Eazyplex® (Amplex ByoSystems GmbH, Germany)等。虽然这些商业性平台提高了检测速度,但仍然无法摆脱 PCR 方法的局限性,如血液中 PCR 抑制剂及污染物 DNA 或死亡微生物的 DNA 的存在等影响检测结果;在病原菌未明的情况下,难以做到逐一检测用于 BSI 多重病原菌感染的诊断。其次,在国内实验室推广应用上也受多种因素限制,如基层实验室条件限制、PCR 试剂盒诊断价格和某些技术平台国内批准文号等。

1.6 基因芯片(DNA 微阵列) DNA 微阵列由固定在固体表面特异度 DNA 探针组成,通过识别待分析靶 DNA 与阵列杂交的荧光信号从而对多种病原微生物进行检测,同时该技术也用于检测耐药基因和基因分型。目前,DNA 微阵列可检测 90%~95%已知导致 BSI 的病原菌,灵敏度范围为 $10^1 \sim 10^5$ 个细胞/mL,适用于阳性血培养中病原微生物检测^[16]。

已用于临床阳性血培养中病原微生物检测的商品化基因芯片,如 Prove-it™ Sepsis (Mobidiag, Finland)可在 3.5 h 内检测 60 种细菌和 30 种真菌,并且可检测 *mecA*、*vanA*、*vanB* 耐药基因,灵敏度和特异度分别达到 95.0%和 99.0%^[17],但该商品盒目前已停产。另一种是美国食品和药物管理局(FDA)批准基于 DNA 微阵列的 Verigene® 系统(Nanosphere, USA),该系统用于检测 12 种革兰阳性菌以及相关耐药基因(*mecA*、*vanA* 和 *vanB*)和另外 9 种革兰阴性细

菌(1 种未经 FDA 批准)及其耐药基因(blaNDM、blaVIM、blaKPC、blaOXA 和 blaCTX-M),可在 2.5 h 内直接从阳性血培养中识别细菌及其相关耐药基因,灵敏度为 92.6%~100.0%,特异度 94.3%~100.0%^[18]。然而,昂贵的基因芯片及检测仪器严重限制了这种技术的临床普及与应用。

1.7 综合检测平台 近年来,结合不同的分子生物学技术而开发的综合检测平台已用于临床阳性血培养中病原微生物直接检测。如 Sepsis Flow Chip (Master Diagnostica, Spain)利用多重 PCR 和低密度 DNA 微阵列技术,可在 3 h 内同时检测 36 种细菌、念珠菌属(白色念珠菌和其他念珠菌属)和 20 种耐药基因。GALIANA 等^[19]对该检测方法进行性能评价,细菌鉴定的灵敏度和特异度分别为 93.3%和 100.0%,检测耐药基因的灵敏度和特异度分别为 93.6%和 100.0%;The ePlex[®] system(Carlsbad, USA)全自动多重分子诊断系统,结合多重 PCR 扩增和数字微流控技术,可在 1.5 h 内检测 41 种细菌、16 种真菌和 10 种耐药基因(blaNDM、blaVIM、blaKPC、blaOXA、blaCTX-M、blaIMP、mecA/C 和 vanA/B 等),与实验室常规方法比较,该检测系统检测真菌、革兰阴性菌和革兰阳性菌的一致性分别为 100.0%、97.8%和 97.8%^[9,20]。综合性检测平台诊断性能上具有较好的优势,但仍需进一步研究以获取可靠数据,同时也需综合考虑其临床效益。

2 基于全血标本的病原微生物检测技术

从疑似 BSI 患者血液样本中直接检测病原微生物的技术,因无需进行血培养而有可能显著缩短检测时间。已有较多基于全血标本的快速病原微生物检测技术,如基于 PCR 技术、MALDI-TOF 法、宏基因组学、基于声学分离的集成微系统和微芯片法、基于表面等离子体共振成像仪与抗体微阵列耦合的无标记方法、基于微流控分离细菌方法、基于 T2 磁共振(T2MR)法等^[3]。在这里,笔者讨论最近可应用于临床的商业性平台和直接从全血诊断 BSI 的方法。

2.1 PCR 技术 目前,传统 PCR 方法以及 PCR 衍变的相关核酸扩增技术在直接检测血液中病原菌及其耐药基因中均有报道。同时也出现了较多商业性平台或试剂盒,如 LightCycler[®] SeptiFast Test (Roche, Germany)、SepsiTest (Molzym, Germany)、Magicplex[®] Sepsis Real-time Test (Seegene, Korea)和 Vyoo[®] (Analytik Jena, Germany)等,这些均可显著缩短检测时间,并逐步应用于临床 BSI 诊断之中。如应用广泛的 LightCycler[®] SeptiFast Test 平台,该系统可直接检测全血标本中 25 种病原体(10 种革兰阴性菌、9 种革兰阳性菌、6 种真菌),整个过程需 4~6 h^[21]。然而这些商业性平台或试剂盒仍需经过临床验证才能进行推广,一项荟萃分析显示,SeptiFast 法与培养法比较,灵敏度和特异度分别为 68%和 86%,

因此其特异度和灵敏度仍有待提高^[22]。

与直接从阳性血培养中检测病原微生物相比,采用 PCR 技术直接检测全血标本具有独特的优势,如检测生长缓慢及无法培养的微生物、处理接受过抗菌药物治疗的血样或抽血量较少的血液样本等。但是该方法更易造成假阳性结果,未感染时血液中的死细菌/真菌 DNA 或者有效抗感染治疗后血液残存的致病 DNA 等均可影响检测。总的来说,由于检测成本高、检测过程标准化和结果解释困难、灵敏度和/或特异度有限等严重影响了 PCR 方法直接检测 BSI 全血标本的临床应用。

2.2 PCR-电喷雾离子质谱法(PCR ESI-MS) PCR ESI-MS 通过 PCR 扩增及电喷雾离子质谱(ESI-MS)检测 PCR 扩增产物,然后将其与数据库进行比较以确定检测的微生物。研究表明,该方法可直接用于全血标本中病原微生物检测,与传统培养法的总体一致性为 77.1%,灵敏度为 50.0%,特异度为 93.8%;而采用该方法直接检测阳性血培养中病原微生物时,与传统培养法总体一致性为 94.2%,灵敏度为 96.8%,特异度为 98.5%,因此优选用于阳性血培养检测^[23]。

最近,已经开发了用于全血标本中病原菌及耐药基因的 PCR ESI-MS 检测平台。如雅培公司的 IRIDICA 系统允许 6 h 内鉴定约 800 种微生物及 4 种耐药基因(mecA、vanA、vanB、blaKPC)^[24]。对疑似 BSI 患者中 300 份全血标本进行的前瞻性研究发现,采用该系统与常规血培养法总体一致性为 86%,灵敏度为 76%,特异度为 90%^[25]。由于该方法检测结果需根据医学图表进行解释,并且无法确定抗菌药物耐药表型。因此,PCR ESI-MS 测定应被视为辅助而不是取代常规培养的方法。

2.3 宏基因组学 宏基因组学是对样本中特定或所有遗传物质的基因组分析。目前,对宏基因组测序主要有传统的 Sanger/鸟枪法和高通量测序技术(又称二代测序技术)。这些方法已成功应用于阳性血培养或全血标本中细菌鉴定,与传统培养法相比具有相同或更高的灵敏度^[26]。一项多中心研究显示,比较二代测序与常规微生物方法对 101 例免疫功能低下患者感染诊断价值,该方法具有更高的阴性预测值,并且可检测到更多的临床相关病毒和细菌^[27]。此外,宏基因组学可以检测耐药基因和毒力基因,并提供有关分子流行病学的重要信息。

目前,基于宏基因组学方法仅开发了一种可用于血液或血液制品的商业性系统:The iDTECT[™] Dx Blood test (PathoQuest SAS, France),该系统利用二代测序技术,从单个血液样本中可识别超过 1 200 种临床相关的细菌和病毒^[9]。目前,由于数据库限制、检测样本的高成本以及质量控制复杂等问题阻碍了该技术在临床微生物实验室的引入。

2.4 基于 T2 磁共振(T2MR)方法 T2MR 是一种

微型的、基于磁共振的诊断技术。该方法主要过程包括 PCR 扩增病原微生物特异度 DNA, 然后将扩增产物杂交到探针修饰的超顺磁性纳米颗粒上, 最后用磁共振技术检测。T2Candida® Panel (T2Biosystems, USA) 是 FDA 批准的基于 T2 磁共振检测真菌试剂盒。该试剂盒能够在 3~5 h 直接从全血中鉴定出 5 种念珠菌(白色念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌、光滑念珠菌和克柔念珠菌), 无需提取 DNA, 最低检测限为 1 CFU/mL^[28]。一项多中心研究显示, 采用该方法直接检测全血标本中病原菌的灵敏度和特异度分别为 99.4% 和 91.1%^[29]。最近, T2 Biosystems 推出了 T2Bacteria® Panel, 能在 3~5 h 内检测引起 BSI 的 6 种常见细菌(大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌和屎肠球菌), 但尚未公布任何性能数据。

3 小 结

BSI 的快速病原菌鉴定和药敏试验可以减少治疗时间和改善患者预后。面对日益严峻的抗菌药物耐药性威胁, 能够在几小时内确定 BSI 病原菌的快速诊断方法, 有望成为 BSI 治疗及抗菌药物管理最有效的方法。目前, 大多数方法依赖于阳性血培养后进行细菌鉴定, 但仍为一些不可培养的病原菌留下检测缺口。而直接从患者血液进行检测病原菌的方法可能对显著缩短 BSI 诊断周转时间更有潜力, 但其检测的灵敏度和特异度仍然是一个挑战。随着对各种新技术研究的深入, 一些技术逐渐从研究阶段应用于临床, 但理想的 BSI 病原微生物检测技术不仅应该能快速确定病原菌, 更重要的是确定其抗菌药物灵敏度信息。迄今为止对抗菌药物灵敏度的测定仍然取决于对分离菌株的药敏分析, 因此能够快速、准确地鉴定 BSI 病原菌及同步获得药敏信息的新方法仍需不断探索。

参考文献

- [1] LOONEN A, WOLFFS P, BRUGGEMAN C A, et al. Developments for improved diagnosis of bacterial bloodstream infections [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33(10): 1687-1702.
- [2] VAZQUEZ-GUILLAMET C, SCOLARI M, ZILBERBERG M D, et al. Using the number needed to treat to assess appropriate antimicrobial therapy as a determinant of outcome in severe sepsis and septic shock [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(11): 2342-2349.
- [3] FLORIO W, MORICI P, GHELARDI E, et al. Recent advances in the microbiological diagnosis of bloodstream infections [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2018, 44(3): 351-370.
- [4] 谢香梅, 冯永旺, 江新彪, 等. 血培养阳性病原菌报警时间的临床意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(15): 2280-2281, 2291.
- [5] 朱珠, 郭锐, 陈泽慧, 等. 血培养报阳时间在判断感染菌和

- 污染菌中的作用 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(21): 4885-4887.
- [6] 陈荣, 罗燕萍, 叶丽艳, 等. 应用显色培养基快速检测血培养中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(13): 2949-2951.
- [7] DE CAROLIS E, VELLA A, VACCARO L, et al. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology [J]. *J Infect Dev Ctries*, 2014, 8(9): 1081-1088.
- [8] 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.
- [9] PEKER N, COUTO N, SINHA B, et al. Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24(9): 944-955.
- [10] DECK M K, ANDERSON E S, BUCKNER R J, et al. Rapid detection of *Enterococcus* spp. direct from blood culture bottles using *Enterococcus* QuickFISH method: a multicenter investigation [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 78(4): 338-342.
- [11] GINN A N, HALLIDAY C L, DOUGLAS A P, et al. PCR-based tests for the early diagnosis of sepsis. Where do we stand? [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2017, 30(6): 565-572.
- [12] MASEK B J, HARDICK J, WON H, et al. Sensitive detection and serovar differentiation of typhoidal and nontyphoidal *Salmonella enterica* species using 16S rRNA Gene PCR coupled with high-resolution melt analysis [J]. *J Mol Diagn*, 2014, 16(2): 261-266.
- [13] MOORE M S, MCCARROLL M G, MCCANN C D, et al. Direct screening of blood by PCR and pyrosequencing for a 16S rRNA gene target from emergency department and intensive care unit patients being evaluated for bloodstream infection [J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 54(1): 99-105.
- [14] 胡翀, 马薇, 张可昕, 等. 多重 PCR 方法快速检测血流感染 10 种常见病原菌方法的建立与应用 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(7): 961-965.
- [15] 任春阳, 田杰. 环介导等温扩增法直接检测阳性血培养瓶中大肠埃希菌 [J]. *重庆医学*, 2015, 44(11): 1514-1515.
- [16] OPOTA O, CROXATTO A, PROD'HOM G, et al. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(4): 313-322.
- [17] TISSARI P, ZUMLA A, TARKKA E, et al. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study [J]. *Lancet*, 2010, 375(9710): 224-230.
- [18] MINEJIMA E, WONG-BERINGER A. Implementation of rapid diagnostics with antimicrobial stewardship. [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016, 14(11): 1-11.
- [19] GALIANA A, COY J, GIMENO A, et al. Evaluation of the sepsis flow chip assay for the diagnosis of blood infec-

- tions[J]. PLoS One, 2017, 12(5):e0177627.
- [20] MAUBON D, DARD C, GARNAUD C, et al. Profile of GenMark's ePlex® blood culture identification fungal pathogen panel[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(2): 119-132.
- [21] TZIOLOS N, GIAMARELLOS-BOURBOULIS E J. Contemporary approaches to the rapid molecular diagnosis of sepsis. [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2016, 16(11): 1201-1207.
- [22] DARK P, BLACKWOOD B, GATES S, et al. Accuracy of LightCycler® SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis[J]. Intensive Care Med, 2015, 41(1): 21-33.
- [23] JORDANA-LLUCH E, CAROLAN H E, GIMÉNEZ M, et al. Rapid diagnosis of bloodstream infections with PCR followed by mass spectrometry[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62108.
- [24] VINCENT J L, BREALEY D, LIBERT N, et al. Rapid diagnosis of infection in the critically ill, a multicenter study of molecular detection in bloodstream infections, pneumonia, and sterile site infections[J]. Crit Care Med, 2015, 43(11): 2283-2291.
- [25] TASSINARI M, ZANNOLI S, FARABEGOLI P, et al. Rapid diagnosis of bloodstream infections in the critically ill; Evaluation of the broad-range PCR/ESI-MS technology[J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0197436.
- [26] DECUYPERE S, MEEHAN C J, VAN PUYVELDE S, et al. Diagnosis of bacterial bloodstream infections: a 16S metagenomics approach[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2016, 10(2): e0004470.
- [27] PARIZE P, MUTH E, RICHAUD C, et al. Untargeted next-generation sequencing-based first-line diagnosis of infection in immunocompromised adults: a multicentre, blinded, prospective study [J]. Clin Microbiol Infect, 2017, 23(8): 574.
- [28] CLANCY C J, NGUYEN M H. T2 magnetic resonance for the diagnosis of bloodstream infections: charting a path forward. [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(suppl_4): v2-5.
- [29] MYLONAKIS E, CLANCY C J, OSTROSKY-ZEICHNER L, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial [J]. Clin Infect Dis, 2015, 60(6): 892-899.

(收稿日期: 2018-10-26 修回日期: 2019-01-20)

• 综 述 •

同型半胱氨酸在冠心病发病机制中的研究进展*

易帆¹, 曾召琼¹, 李萍², 宁兴旺²综述, 谢小兵^{2△}审校

(1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心, 湖南长沙 410007)

摘要: 同型半胱氨酸(Hcy)作为冠心病(CHD)的独立危险因素, 已经得到了广泛的临床重视。Hcy在CHD中的相关研究不断在进展, 但是Hcy引起CHD的发病机制还有待进一步研究。本文就当前Hcy在CHD发病机制中的研究进展做一综述, 旨在探讨Hcy在CHD发病过程中的作用以及相关影响。

关键词: 同型半胱氨酸; 冠心病; 发病机制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2019. 11. 020

文章编号: 1673-4130(2019)11-1365-04

中图法分类号: R541. 4

文献标识码: A

Research progress of homocysteine in the pathogenesis of coronary heart disease*

YI Fan¹, ZENG Zhaoqiong¹, LI Ping², NING Xingwang², XIE Xiaobing^{2△}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. Center for Medical Test and Pathology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: Homocysteine (Hcy), as an independent risk factor for coronary heart disease (CHD), has received extensive clinical attention. The related research on Hcy in CHD is progressing, but the pathogenesis of CHD caused by Hcy remains to be further studied. This article reviews the current research progress of Hcy in the pathogenesis of CHD, and aims to explore the role of Hcy in the pathogenesis of CHD and its related effects.

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)子课题(2011AA02A111)。

△ 通信作者, E-mail: xxiaobing888@163. com。

本文引用格式: 易帆, 曾召琼, 李萍, 等. 同型半胱氨酸在冠心病发病机制中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(12): 1365-1368.