

· 论 著 ·

自建 MALDI-TOF MS 霉菌数据库的研究*

李艳君,孙钊坤,丁赔赔,王姣贤,董 蓉,赵强元[△]

解放军总医院第六医学中心检验科,北京 100048

摘要:目的 建立基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)霉菌数据库,提高引起临床相关感染的各种霉菌的鉴定能力。**方法** 收集临床标本来源的霉菌 266 株,纯培养后进行霉菌 18S rDNA 扩增测序,获得菌种鉴定结果。选取 210 株霉菌用于数据库的构建,通过甲酸萃取法提取蛋白,应用 MALDI-TOF MS 配套的 FlexControl 软件收集蛋白谱图,采用 Biotype 软件构建评价数据库。其余 56 株霉菌用于数据库鉴定能力的验证,分别用商品化数据库、自建的 MALDI-TOF MS 数据库和扩展数据库进行菌种鉴定,应用 χ^2 检验比较数据库的鉴定率差异。**结果** 自建本地化 MALDI-TOF MS 霉菌鉴定数据库包含 19 个菌属,67 个菌种,共计 204 株霉菌的质谱图。用于数据库验证的 56 株霉菌中,用商品化数据库鉴定正确 18 株,鉴定正确率为 32.1%,用扩展数据库鉴定正确 51 株,鉴定正确率为 91.1%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 自建霉菌数据库提高了霉菌的鉴定能力,从而有助于临床霉菌感染的病原诊断和治疗。

关键词:基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 霉菌; 数据库

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.06.002

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)06-0645-05

文献标识码:A

Study of the in-house mold database of MALDI-TOF MS*

LI Yanjun, SUN Zhaokun, DING Peipei, WANG Jiaoxian, DONG Rong, ZHAO Qiangyuan[△]

Department of Clinical Laboratory, the Sixth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Abstract: Objective To set up a mold database of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS), aiming to improve the identification ability of clinical infections with molds. **Methods** A total of 266 mold strains were isolated from clinical samples. The species identification was performed by amplifying and sequencing the 18S rDNA of fungi after strains with purified culture. Totally 210 strains were assigned for database construction, and the FlexControl software was used to collect the protein spectrum after protein preparing with formic acid extraction method and the Biotype software was used to construct and assess the database. In order to validate the database, the rest 56 strains were identified by the commercial and the expanding database, respectively. The chi-square test was used to compare the differences between the identification rates of the two databases. **Results** The in-house mold database included 19 genus, 67 species, and 204 strains spectrums in sum. Among the 56 strains for database validation, 18 were identified by the commercial database, with the accuracy rate 32.1%, while 51 were identified by in-house database, with the accuracy rate 91.1%, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The in-house mold database can improve the identification ability and then contribute to the pathogen detection and therapy of the clinical mold infections.

Key words: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry; mold; database

近年来,随着肿瘤、艾滋病等免疫受损患者的增多,免疫抑制剂及广谱抗菌药物的长期使用,以及介

入治疗手段的开展,真菌感染发病率呈上升趋势,尤其是侵袭性真菌感染,是感染性疾病死亡的主要原因

* 基金项目:国家科技重大专项项目(2018ZX10101003-001-006);军队后勤重点项目(BHJ13J002)。

作者简介:李艳君,女,副主任医师,主要从事临床微生物检验及病原的鉴定溯源研究。[△] 通信作者,E-mail:zhaoqiangyuan001@126.com。

本文引用格式:李艳君,孙钊坤,丁赔赔,等.自建 MALDI-TOF MS 霉菌数据库的研究[J].国际检验医学杂志,2020,42(6):645-648.

之一^[1-3]。真菌感染病原的快速鉴定对于临床及时实施抗真菌目标治疗、降低患者病死率至关重要。近年来,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)突破传统方法的鉴定耗时长、鉴定能力不足等弊端,在临床得到广泛应用^[4-6]。但对于真菌中的霉菌而言,MALDI-TOF MS 存在鉴定能力不足的问题^[7-8],其原因之一是霉菌菌丝结构细胞壁较厚,导致菌体蛋白释放不充分,而更主要的原因是仪器商品化的霉菌数据库包含的菌种资源较少,缺少可供鉴定的比对数据。本研究通过收集临床来源的各类霉菌,建立本地化 MALDI-TOF MS 霉菌数据库,目的在于提高霉菌的鉴定能力,从而为临床霉菌感染病原的快速检测和患者的及时治疗提供帮助。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 266 株临床霉菌分离自 2018 年 1 月至 2019 年 4 月本院临床送检的各类标本,包括痰液、肺泡灌洗液、脓液、组织标本等,所有标本以三区划线方式接种至沙保罗培养基,28 ℃ 培养 48 h 左右,挑取肉眼可见的单个菌落,以点种方式接种至沙保罗培养基进行纯培养,28 ℃ 培养 48 h 后每日观察菌落生长状况,根据不同种类丝状真菌生长速度不同,适当延长培养时间,以菌落直径达到 1.5 cm 时结束培养,进行后续试验。

1.2 仪器与试剂 德国 Bruker 公司的 Microflex 系列 MALDI-TOF 质谱仪及配套分析软件 FlexControl 3.4 和 Biotype 3.1;美国 ABI 梯度 PCR 仪;上海一恒 MJ-II 霉菌培养箱;质谱仪配套甲酸及基质液;日本 Sigma 公司真菌 DNA 提取试剂盒、PCR 反应试剂;法国梅里埃沙保罗真菌培养基。

1.3 方法

1.3.1 基于 18S rDNA 测序的菌种鉴定 纯培养菌落用异丙醇沉淀法提取基因组 DNA,扩增引物序列为 ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAAACCTGC-3'; ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。反应体系为 30.0 μL(DNA 模板 1.0 μL,上下游引物各 3.0 μL,缓冲液 3.0 μL, dNTP 2.0 μL, Taq 酶 0.2 μL, 水 17.8 μL);扩增条件为 95 ℃ 5 min,(95 ℃ 30 s, 55 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min) × 35 循环,72 ℃ 10 min。扩增产物上机测序,序列结果登录美国国立生物技术信息中

心(NCBI)网站进行比对,明确菌种。

1.3.2 采集蛋白谱图 纯培养霉菌菌落应用甲酸萃取法提取蛋白,吸取 1 μL 上清液,滴加到 MALDI 靶板上,每株菌制备到 8 个靶位,晾干后滴加 HCCA 基质溶液,干燥后上机检测。打开 FlexControl 3.4 软件采集谱峰:每个靶位采图 3 张,每张图轰击 100 次激光,将获得的 24 张图谱在 Flexanalysis 中打开,除去低质量的图谱。将 >20 张的有效图谱在 Biotype 3.1 中打开,若 <20 张有效图谱则重复试验,按照 18S rDNA 测序鉴定结果输入菌株名称,指定路径和目录完成建库过程。

1.3.3 数据库的验证 56 株霉菌分别用商品化数据库、自建数据库和扩展数据库(商品化数据库 + 自建数据库)进行菌种鉴定,与 18S rDNA 扩增测序鉴定结果进行比较,结果一致为鉴定正确,否则为鉴定错误。并记录鉴定分值,根据仪器提供的分值判断:>2.0 分为可信的菌种水平鉴定;1.7~2.0 分为可能的菌种水平鉴定;<1.7 分为不可靠的鉴定。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析处理,应用 MALDI-TOF MS 配套的 FlexControl 软件收集蛋白谱图,采用 Biotype 软件构建评价数据库。计数资料以例数或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 自建数据库霉菌菌种信息及质谱图容量 210 株霉菌经 18S rDNA 扩增测序后,6 株出现双峰或测序失败,故 204 株霉菌用于数据库的构建。自建霉菌数据库中共包含 19 个菌属,67 个菌种,204 株临床常见霉菌的质谱图及菌株详细信息见表 1。曲霉属在数据库中占比最高(33.8%),共 69 株,包含 15 个常见菌种,其中 7 种为商品化数据库未包含的菌种。除商品化数据库和自建数据库中共有的菌种以外,加入自建数据库后,目前扩展数据库共包括 53 个菌属,169 个菌种,569 株霉菌的质谱图,与原商品化数据库比较,增加了 10 个菌属,42 个菌种,共 204 个质谱图,包括篮状菌、小穴壳菌属、双膜菌、亚隔孢壳属、外瓶霉、耙齿菌、派伦霉属、棘壳孢、丝孢菌和子囊菌属。见表 2。

表 1 自建霉菌数据库的菌种信息

菌属	菌株(<i>n</i>)	构成比(%)	菌种名称
曲霉属	69	33.8	烟曲霉、米曲霉、黄曲霉、萨氏曲霉、土曲霉、杂色曲霉、溜曲霉、黑曲霉、红缓曲霉、棘孢曲霉、费希尔曲霉、日本曲霉、假青色曲霉、四脊曲、塔宾曲霉
青霉菌	38	18.6	草酸青霉、指状青霉、桔青霉、普通青霉菌、短密青霉菌、皮壳青霉、菌核青霉菌、简青霉、戈茨青霉菌、灰黄青霉、赭绿青霉、徘徊青霉、波兰青霉菌、pimiteouiense

续表 1 自建霉菌数据库的菌种信息

菌属	菌株 (n)	构成比 (%)	菌种名称
青霉属	22	10.8	绳状篮状菌、变异篮状菌、马内菲篮状菌、黄色蓝状菌、赤红篮状菌、allahabadensis 篮状菌、purplegenus 篮状菌、pinophilus 蓝状菌
枝孢属	32	15.7	枝状枝孢霉、凿形枝孢霉、锯突枝孢霉、绿头枝孢霉、尖孢枝孢霉、silenes 枝孢霉、极细枝孢霉
镰刀菌	5	2.5	串珠镰刀菌、木贼镰刀菌、尖孢镰刀菌、层生镰刀菌
链格孢霉	14	6.9	互隔交链格孢霉、芸苔链格孢霉、厚垣链格孢霉
木霉	3	1.5	长梗木霉、桔绿木霉、贵州木霉
白僵菌	4	2.0	球孢白僵菌、假球孢白僵菌
裂褶菌	6	2.9	裂褶菌
小穴壳菌属	2	1.0	聚生小穴壳菌
双膜菌	1	0.5	舌苔双膜菌
亚隔孢壳属	1	0.5	亚隔孢壳属
外瓶霉	1	0.5	皮炎外瓶霉
耙齿菌	1	0.5	白囊耙齿菌
派伦霉属	1	0.5	prosopidis 派伦霉
棘壳孢	1	0.5	人甲棘壳孢
丝孢菌	1	0.5	水生丝孢菌
子囊菌属	1	0.5	子囊菌属
节菱孢属	1	0.5	节菱孢属

表 2 各数据库霉菌质谱图容量比较(n)

数据库	菌属	菌种	菌株
商品化数据库	43	127	365
自建数据库	19	67	204
扩展数据库	53	169	569

注: 扩展数据库为商品化数据库和自建数据库的组合数据库。

2.2 数据库验证

2.2.1 验证菌株 选取临床霉菌分离株 56 株, 经

18S rDNA 扩增测序后明确菌种, 包含 12 个菌属, 29 个菌种, 各菌种株数及鉴定结果见表 3。

2.2.2 数据库鉴定结果 4 株杂色曲霉有 1 株鉴定错误, 其余 3 株的鉴定分值 <1.7 分。鉴定正确株数、正确率及鉴定分值分布数据见表 4。商品化数据库与扩展数据库的鉴定正确率经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=58.35, P<0.05$)。

表 3 56 株用于数据库验证的菌株信息

菌属	菌株(n)	构成比(%)	18S rDNA 测序后菌种
曲霉属	19	33.9	构巢曲霉、黑曲霉、红缓曲霉、黄曲霉、萨氏曲霉、土曲霉、烟曲霉、杂色曲霉
青霉菌	14	25.0	草酸青霉、指状青霉、产紫青霉、灰黄青霉、桔青霉、赭绿青霉
蓝状菌	3	5.4	马内菲蓝状菌、绳状蓝状菌
枝孢属	3	5.4	凿形枝孢霉、枝状枝孢霉
镰刀菌	3	5.4	层生镰刀菌、尖孢镰刀菌
链格孢霉	6	10.7	厚垣链格孢霉、互隔交链孢霉、芸苔链格孢霉
木霉	1	1.8	桔绿木霉
白僵菌	1	1.8	假球孢白僵菌
裂褶菌	2	3.6	裂褶菌
丝孢菌	1	1.8	水生丝孢菌
拟青霉	2	3.6	淡紫拟青霉
外瓶霉	1	1.8	皮炎外瓶霉

表 4 数据库鉴定结果

数据库	鉴定正确 (n)	总正确率 (%)	各分值鉴定正确(n)		
			<1.7 分	1.7~2.0 分	>2.0 分
商品化数据库	18	32.1	6	10	2
自建数据库	49	87.5	3	23	23
扩展数据库	51	91.1	3	24	24

注: 扩展数据库为商品化数据库和自建数据库的组合数据库。

3 讨 论

霉菌是真菌中的一大类,在临幊上可引起各类侵袭性感染,以呼吸系统感染最为多见^[9]。感染者多为免疫受损或接受各种侵入性操作的患者,临幊治疗困难,病死率较高^[8]。病原的快速诊断对于抢先治疗、提高治愈率至关重要。目前,对于霉菌的鉴定通常采用形态学方法,而霉菌体外培养生长缓慢,形态学鉴定对于检验人员技术能力要求较高,所以需要开发更加快速准确的检验技术以适应临幊需要。

近年来, MALDI-TOF MS 被越来越广泛地应用于临幊各类病原鉴定,但对于霉菌而言,仍存在鉴定能力不足的问题,其主要局限于商品化数据库的菌株信息有限。有研究报道,通过增加数据库容量,能够提高对霉菌的鉴定能力^[3,10-14]。本研究通过收集临幊菌株进行了自建本地化霉菌数据库的研究。

首先,自建霉菌数据库大大丰富了原商品化数据库的霉菌种类和数量。本研究自建数据库共包含 19 个菌属,67 个菌种,204 株霉菌质谱图,与商品化数据库比较,自建数据库新增了 10 个菌属,42 个菌种,204 株霉菌的质谱图。自建数据库与商品化数据库合并后形成的扩展数据库共包括 53 个菌属,169 个菌种,569 株霉菌的质谱图,不仅丰富了商品化数据库菌株的数量和种类,商品化数据库部分菌株来源于环境或工业标准菌株,而自建数据库中的菌株均来源于临幊标本,能够更加贴近临幊菌株的鉴定需求。如曲霉菌是临幊感染常见的霉菌种类,本研究中新增曲霉菌 69 株,其中 7 株为商品化数据库中未包含的菌种。

其次,通过对数据库鉴定能力的验证可评价自建数据库用于临幊常见霉菌鉴定的准确性。随机选取 56 株临幊来源霉菌,分别用自建数据库、商品化数据库和扩展数据库进行菌种鉴定,与 18S rDNA 扩增测序的鉴定结果进行比较,计算各数据库的鉴定正确率。通过数据分析,商品化数据库鉴定的正确率仅为 32.1%,而且从鉴定分值来看,>2.0 分的只有 2 株,<1.7 分的有 6 株,虽然这 6 株霉菌鉴定结果正确,但在实际工作中按照判断标准,<1.7 分的鉴定结果是不可信的,因此,应用商品化数据库进行 56 株霉菌的鉴定,只有 12 株霉菌得到可信的正确鉴定结果。自建数据库的鉴定正确率达到 87.5%,46 株霉菌得到可信的正确鉴定结果。扩展数据库的鉴定正确率

高达 91.1%,48 株霉菌得到可信的正确鉴定结果。对商品化数据库和扩展数据库鉴定正确率进行 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=58.35, P<0.05$),说明加入了自建数据库的霉菌质谱图后,明显提高了 MALDI-TOF MS 对临幊常见霉菌的菌种鉴定能力。

本研究发现,霉菌鉴定即便在一定程度上通过自建数据库提高了其鉴定能力,与细菌鉴定比较,仍存在一定的局限性,主要是因为霉菌的菌丝及分生孢子等特殊结构的细胞壁较厚,常规的前处理方法难以重复裂解细胞壁,释放菌体蛋白,导致鉴定分值较低,如临幊常见的杂色曲霉,尽管商品化数据库中存在 10 株杂色曲霉的质谱图,本研究中的 4 株杂色曲霉有 1 株鉴定错误,其余 3 株的鉴定分值<1.7 分。另有研究报道,霉菌的培养条件与 MALDI-TOF MS 鉴定能力也存在一定相关性,28 °C 培养温度下的鉴定率高于 35 °C 培养温度,培养第 2、3 天种水平和属水平鉴定率均较高,但沙保罗和土豆葡萄糖琼脂两种培养基间的鉴定率差异无统计学意义($P>0.05$)^[15]。所以,通过建立基于临幊来源菌株的霉菌数据库,摸索适宜的菌株前处理方法,有助于充分发挥 MALDI-TOF MS 鉴定高通量、速度快、操作简便等优势,提高临幊各类感染来源霉菌的鉴定能力。

综上所述,本研究通过收集临幊菌株建立本地化的 MALDI-TOF MS 霉菌数据库,大大丰富了商品化数据库菌株的种类和数量,经验证,扩展数据库明显提高了临幊菌株的鉴定能力。在今后的临幊工作中,应不断添加新菌种,优化菌株前处理条件,为临幊侵袭性感染霉菌的快速准确鉴定提供有力支持。

参考文献

- [1] HSU L Y, LEE D G, YEH S P, et al. Epidemiology of invasive fungal diseases among patients with haematological disorders in the asia-pacific: a prospective observational study[J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(6): 594-599.
- [2] DUFRESNE S F, COLE D C, DENNING D W, et al. Serious fungal infections in canada [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(6): 987-992.
- [3] LIMPER A H, ADENIS A, LE T, et al. Fungal infections in HIV/AIDS[J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(11): e334-e343.
- [4] 邵锦, 万喆, 李若瑜, 等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱在医学真菌领域的应用进展[J]. 菌物学报, 2019, 38(8): 1277-1286.
- [5] 张丽丽, 周守瑜, 陈世鹏, 等. MALDI-TOF MS 用于临幊微生物检验中常见菌鉴定的应用探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(5): 534-536.
- [6] 曹敬荣, 王岩, 陈典典, 等. MALDI-TOF MS 直接鉴定阳性厌氧血培养瓶中细菌的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(21): 2584-2588.

(下转第 652 页)

断血流感染的最佳截断值分别为 0.29、0.27 ng/mL, 诊断的灵敏度可提高至 75.3%、71.8%。可见若以 PCT<0.50 ng/mL 作为血流感染的排除标准, 极易出现漏检。

本研究仅从溯源及检测原理方面选用了具有代表性的两种仪器进行比较分析, 没有纳入其他检测原理的仪器是本研究的不足, 因临幊上使用的仪器类型繁多, 在未来可以采用多中心、多型号的检测仪器对 PCT 进行更深入的研究。

综上所述, 两种溯源及检测原理不同的检测系统检测 PCT 对血流感染的临幊诊断价值均较为准确, 且采用合适的截断值可以提高血流感染诊断的灵敏度。

参考文献

- [1] 黄晨静, 夏华峰, 王寅. 血清降钙素原定量检测在细菌感染诊断中的临幊意义[J]. 检验医学, 2015, 30(10): 980-982.
- [2] LI Y, ZHANG Z, CHEANG I, et al. Procalcitonin as an excellent differential marker between uncomplicated and complicated acute appendicitis in adult patients[J]. Eur J Trauma Emerg Surg, 2020, 46(3): 853-858.
- [3] 李幽然, 张国军, 高之宪, 等. 脑脊液降钙素原在鉴别颅内细菌性感染与无菌性脑膜炎中的作用[J]. 中华神经外科杂志, 2015, 31(10): 997-1000.
- [4] 王冬英, 姜海波. 呼吸、消化系统疾病老年脑卒中相关性肺炎患者血清降钙素原和外周血淋巴细胞亚群的变化[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(4): 4588-4590.
- [5] 黄彩芝, 莫丽亚, 李爱国, 等. 儿童重症肺炎凝血指标与降钙素原变化及分析[J]. 临床儿科杂志, 2015, 33(1): 20-22.
- [6] 穆原, 沈京培, 管贤伟, 等. 小儿危重病例评分联合 D-二聚

(上接第 648 页)

- [7] 张伟铮, 关文苑, 李松, 等. ITS 序列分析与 MALDI-TOF MS 质谱技术在丝状真菌鉴定中的应用[J]. 菌物学报, 2019, 38(8): 1298-1305.
- [8] 武静, 胡成进, 刘晓斐, 等. MALDI-TOF-MS 鉴定丝状真菌研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(5): 664-666.
- [9] BOUCHARA J P, LE GOVIC Y, KABBARA S, et al. Advances in understanding and managing scedosporium respiratory infections in patients with cystic fibrosis[J]. Expert Rev Respir Med, 2020, 14(3): 259-273.
- [10] SINGH A, SINGH P K, KUMAR A, et al. Molecular and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based characterization of clinically significant melanized fungi in India[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(4): 1090-1103.
- [11] PAUL S, SINGH P, SHARMA S, et al. MALDI-TOF MS-Based identification of melanized fungi is faster and reliable after the expansion of in-house database[J]. Proteomics Clin

体及降钙素原检测用于儿童感染病情的早期评判[J]. 中华实用儿科临幊杂志, 2016, 31(6): 425-428.

- [7] AKAGI T, NAGATA N, WAKAMATSU K, et al. Procalcitonin-guided antibiotic discontinuation might shorten the duration of antibiotic treatment without increasing pneumonia recurrence[J]. Am J Med Sci, 2019, 385(1): 33-44.
- [8] 刘盛盛, 张妍蓓. 血清降钙素原水平对慢性阻塞性肺疾病急性加重期抗菌药物使用的指导价值[J]. 中国抗菌药物杂志, 2015, 40(6): 459-463.
- [9] LI Y, CHEN L, FANG W, et al. Application value of procalcitonin, C-reactive protein and interleukin-6 in the evaluation of traumatic shock[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(6): 4586-4592.
- [10] 慕婉晴, 周燕南, 胡延妍, 等. 降钙素原(PCT)在脓毒症临幊诊断治疗中作用的研究进展[J]. 复旦学报(医学版), 2019, 46(1): 103-107.
- [11] 陈俊, 王燕, 钱耀先, 等. 某院血流感染常见病原菌分布特征及耐药性分析[J]. 检验医学与临幊, 2019, 16(2): 200-203.
- [12] 邹秀丽, 吴铁军, 崔玉静, 等. 降钙素原与不同菌种血流感染致脓毒症早期诊断价值的探讨[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(3): 297-301.
- [13] 李饶山. 生化免疫检验中化学发光免疫测定技术的应用及临幊价值[J]. 医疗装备, 2018, 31(16): 44-45.
- [14] 降钙素原急诊临床应用专家共识组. PCT 临幊应用专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(9): 944-951.
- [15] 中华医学会儿科学分会医院感染管理与控制专业委员会. 血清降钙素原检测在儿童感染性疾病中的临幊应用专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(1): 9-15.

(收稿日期: 2020-08-11 修回日期: 2020-12-23)

Appl, 2019, 13(3): e1800070.

- [12] ZVEZDANOVA M E, ESCRIBANO P, RUIZ A, et al. Increased species-assignment of filamentous fungi using MALDI-TOF MS coupled with a simplified sample processing and an in-house library[J]. Med Mycol, 2019, 57(1): 63-70.
- [13] HONNAVAR P, GHOSH A K, PAUL S, et al. Identification of malassezia species by MALDI-TOF MS after expansion of database[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2018, 92(2): 118-123.
- [14] 邓穗燕, 易江华, 蔡文莹, 等. MALDI-TOF MS 自建库在红色毛癣菌感染中的临幊快速诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4): 418-422.
- [15] 李颖, 张戈, 杨洋, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定丝状真菌的影响因素分析[J]. 协和医学杂志, 2020, 11(2): 156-161.

(收稿日期: 2020-03-12 修回日期: 2020-08-30)