

- stroke in the Chinese Han GeneID population[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(64):107678-107684.
- [5] 靳蕾, 张立军. 双丹明目胶囊联合羟苯磺酸钙治疗糖尿病视网膜膜病变的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(1):166-170.
- [6] KARIMI E, MOINI A, YASERI M, et al. Effects of synbiotic supplementation on metabolic parameters and apelin in women with polycystic ovary syndrome: a randomised double-blind placebo-controlled trial[J]. *Brit J Nutr*, 2018, 119(4):398-406.
- [7] MUGHAL A, SUN C, O'ROURKE S T. Apelin reduces nitric oxide-induced relaxation of cerebral arteries by inhibiting activation of large-conductance, calcium-activated k channels. [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2018, 71(4):223-232.
- [8] 陈波, 王小明. 2 型糖尿病合并肾病患者的血清脂联素、胱抑素 C、同型半胱氨酸水平及其相关性[J]. *实验与检验医学*, 2019, 37(1):73-74.
- [9] PRITCHARD N, KAITU'U-LINO T J, GONG S, et al. ELABELA/APELA levels are not decreased in the maternal circulation or placenta among women with pre-eclampsia[J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(8):1749-1753.
- [10] 吴敬明, 王帅南, 赵周婷, 等. 阿卡波糖联合羟苯磺酸钙治疗糖尿病视网膜膜病变伴白内障临床效果观察[J]. *临床军医杂志*, 2018, 46(12):1445-1447.
- [11] ROCHE J, RAMÉ C, REVERCHON M, et al. Apelin (APLN) regulates progesterone secretion and oocyte maturation in bovine ovarian cells [J]. *Reproduction*, 2017, 153(5):589-603.
- [12] KALIORA A C, KANELLOS P T, GIOXARI A, et al. Regulation of GIP and ghrelin in healthy subjects fed on sun-dried raisins: a pilot study with a crossover trial design[J]. *J Med Food*, 2017, 20(3):301-308.
- [13] 彭晓智, 黎宗保, 吴佩娴. 心肌酶谱与糖尿病视网膜膜病变相关性及其临床诊断价值研究[J]. *临床军医杂志*, 2018, 46(8):961-963.
- [14] 秦学维, 谢学军. 视网膜内环境平衡失调对糖尿病视网膜膜病变影响的研究进展[J]. *山东医药*, 2017, 57(17):99-102.
- [15] 刘志南, 凯赛尔·衣沙克, 邓国华, 等. 联合用药对 DR 患者视网膜血管血氧饱和度和血清 Apelin 水平的影响[J]. *国际眼科杂志*, 2019, 19(1):99-103.
- [16] 谭思敏, 梁荣班, 陈小军. 转甲状腺素蛋白和人脂氧素 A4 在糖尿病视网膜膜病患者中的表达及其临床意义[J]. *广西医科大学学报*, 2019, 36(10):1639-1642.
- [17] DUMAN H, BAHCECI I, HAMUR H, et al. The relationship between serum apelin levels and the severity of calcific aortic stenosis. [J]. *Acta Cardiol Sin*, 2018, 34(3):259-266.

(收稿日期:2021-03-12 修回日期:2021-09-07)

• 短篇论著 •

两种丝状真菌前处理试剂在质谱鉴定中的比较^{*}

彭雨萌¹, 宗来斌², 董晓燕³, 金大智⁴, 吕火焯^{5△}

1. 蚌埠医学院研究生院, 安徽蚌埠 233030 ; 2. 浙江大学附属第四医院检验科, 浙江义乌 322000 ; 3. 浙江省中医药大学第二临床医学院, 浙江杭州 310053 ; 4. 杭州医学院检验医学院, 浙江杭州 310053 ; 5. 浙江省人民医院/杭州医学院附属人民医院临床医学检验中心, 浙江杭州 310014

摘要:目的 比较自配试剂与商品化试剂盒(VITEK MS 丝状真菌试剂盒)提取丝状真菌蛋白对质谱鉴定准确率的影响。方法 分别用自配试剂和商品化试剂盒进行丝状真菌前处理, 采用 VITEK MS 质谱仪进行鉴定, 以分子测序结果为金标准, 比较两种试剂提取丝状真菌蛋白质谱鉴定准确率。结果 自配试剂质谱鉴定准确率为 88.37%, 商品化试剂盒质谱鉴定准确率为 95.35%, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 自配试剂和商品化试剂盒提取丝状真菌蛋白在质谱鉴定准确率中的差异无统计学意义, 且自配试剂可以在不影响质谱鉴定准确率的前提下, 提供一种更为廉价、便捷的检测方法。

关键词: 丝状真菌; 质谱鉴定; 前处理

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.22.027

文章编号: 1673-4130(2021)22-2810-04

中图法分类号: R466.5

文献标志码: A

近年来, 随着器官移植、肿瘤、艾滋病和重症监护室患者的增多, 临床免疫抑制剂和激素使用增多以及抗菌药物的滥用, 丝状真菌感染的发病率呈上升趋势^[1-3]。由于丝状真菌对一些常用的抗真菌药物存在天然耐药, 且不同种类的丝状真菌具有不同的耐药谱, 因此丝状真菌鉴定到种水平在疾病的诊治中至关

势^[1-3]。由于丝状真菌对一些常用的抗真菌药物存在天然耐药, 且不同种类的丝状真菌具有不同的耐药谱, 因此丝状真菌鉴定到种水平在疾病的诊治中至关

* 基金项目: 浙江省卫生健康重大科技计划项目(WKJ-ZJ-2107)。

△ 通信作者, E-mail: lab_lhx@126.com。

本文引用格式: 彭雨萌, 宗来斌, 董晓燕, 等. 两种丝状真菌前处理试剂在质谱鉴定中的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(22):2810-2812.

重要^[4-6]。目前丝状真菌的检测方法以形态学为主,但是丝状真菌培养所需时间较长,且形态学方法易受检验人员主观因素的影响,具有一定的不准确性。血清学检测虽然对真菌病的辅助诊断具有一定的参考意义,但是其灵敏度和特异度较差,在临床诊断中无确诊意义^[7-8]。分子生物学检测目前虽然作为丝状真菌检测的金标准,但是因其操作烦琐、需特殊实验室、价格昂贵等原因,目前并未在临床检测中普及^[9-10]。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)技术因其简便、快速和准确地鉴定到种水平而得到广泛应用^[11-12]。MALDI-TOF MS 技术检测丝状真菌步骤包括点靶、前处理和上机,但由于丝状真菌细胞壁较厚,不易被破坏提取蛋白,因此前处理是此方法中的关键步骤。目前用于丝状真菌前处理的试剂有自配试剂和商品化试剂盒,本研究比较自配试剂和 VITEK MS 丝状真菌试剂盒在丝状真菌质谱鉴定中的准确率,旨在为临床摸索出最优选择。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 从 2019 年 1 月至 2020 年 3 月浙江省人民医院住院患者的痰液、肺泡灌洗液、纤支镜刷取物、胸腔积液、眼分泌物、血液等培养分离出 47 株丝状真菌。

1.2 仪器与试剂 VITEK MS 质谱仪(采用 VITEK MS V3.0 数据库)、VITEK MS-CHCA 基质液购自法国生物梅里埃公司,甲酸和乙腈溶液购自上海凌峰化学试剂有限公司,VITEK MS 丝状真菌试剂盒-Ref. 415680 购自梅里埃诊断产品(上海)有限公司,沙氏葡萄糖琼脂(SDA)购自杭州滨和微生物试剂有限公司,DNA 提取试剂盒购自北京天根生化公司。

1.3 分子生物学鉴定 按照 DNA 提取试剂盒说明书进行核酸提取,将所提取的核酸进行 PCR 扩增后将 PCR 产物送至广州金域医学检验中心有限公司进行测序,引物的碱基序列为 ITS1 5'-TCCGTAGGT-GAACCTGCGG-3',ITS4 的碱基序列为 5'-TCCTC-CGCTTATTGATATGC-3',测序结果采用 BLAST 序列分析工具进行分析,获得丝状真菌菌种鉴定结果。当测试结果与数据库中的同源性达到 98% 时,认为结果可靠,选择同源性最高的结果作为菌种的最终结果。

1.4 质谱技术鉴定

1.4.1 自配丝状真菌前处理试剂 配制 70% 甲酸:用蒸馏水和购买的甲酸试剂配制 70% 甲酸溶液,甲酸易挥发,每次使用需现配现用。除去 VITEK-MS V3.0 数据库中没有的菌株,将剩余丝状真菌接种在 SDA 培养基上,置于 28 °C 温箱中培养 5 d,取直径

0.5 cm 菌落置于 900 μL 75% 乙醇中静置 10 min,13 000 r/min 离心 2 min,弃上清液后静置 10 min,加入 40 μL 70% 甲酸涡旋振荡 10 min,再加入乙腈涡旋振荡 3 min,13 000 r/min 离心 2 min。每个标本做 3 次平行实验。取上清液 1 μL 置于靶板上,干燥后加入 1 μL 基质液,干燥后上机鉴定,质控菌株为 ATCC8739,数据库采用 VITEK MS V3.0 版。3 次平行实验取可信度最高的结果为最终鉴定结果,与分子生物鉴定结果一致,则认为质谱鉴定结果正确,否则认为不正确。

1.4.2 VITEK MS 丝状真菌试剂盒-Ref. 415680 除去 VITEK-MS V3.0 数据库中没有的菌株,将剩余丝状真菌接种在 SDA 培养基上,置于 28 °C 温箱中培养 5 d,按照 VITEK MS 丝状真菌试剂盒-Ref. 415680 的操作说明书进行。每个标本做 3 次平行实验。提取上清液后点靶、上机,结果判读同上。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计数资料以例数或百分率表示,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 分子测序结果 47 株丝状真菌包括烟曲霉 24 株、黄曲霉 5 株、土曲霉 4 株、黑曲霉 3 株、构巢曲霉 2 株、亮白曲霉 2 株、聚多曲霉 1 株、茄病镰刀菌复合群 1 株、尖端赛多孢 1 株,裂褶菌 1 株,海豚镰刀菌 1 株,小孢头束霉 1 株,微紫青霉 1 株。

2.2 自配试剂与商品试剂盒质谱鉴定准确率的比较 除去 VITEK-MS V3.0 数据库中没有的 4 种菌株(裂褶菌、海豚镰刀菌、小孢头束霉、微紫青霉),剩余 43 株。43 株丝状真菌进行质谱鉴定,自配试剂质谱鉴定准确率为 88.37%,商品化试剂盒质谱鉴定准确率为 95.35%,两者准确率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 不同前处理试剂的质谱鉴定结果比较

组别	鉴定出菌种 (n)	未鉴定出菌种 (n)	合计 (n)	准确率 (%)
自配试剂	38	5	43	88.37
商品化试剂盒	41	2	43	95.35
χ^2				1.40
P				0.237

2.3 分子测序及质谱鉴定菌株结果 43 株丝状真菌分子生物学测序以及使用两种不同试剂提取丝状真菌蛋白质谱鉴定结果见表 2。

表 2 菌株鉴定结果(n)

	烟曲霉	黄曲霉	土曲霉	黑曲霉	构巢曲霉	亮白曲霉	聚多曲霉	茄病镰刀菌复合群	尖端赛多孢
分子测序	24	5	4	3	2	2	1	1	1
自配试剂	23	4	4	3	2	0	1	0	1
商品化试剂盒	24	5	4	3	2	1	1	0	1

3 讨 论

MALDI-TOF MS 是基于细菌和真菌的蛋白质质量而获得不同指纹图来达到鉴别细菌和真菌的目的。该技术近年来被普遍认为是一种简便、快捷、高效、经济、准确的微生物病原学检测方法,对丝状真菌引起的相关感染具有准确鉴定的临床意义^[13-16]。丝状真菌细胞壁较厚,不易被破坏,蛋白质提取难度较大,因此前处理在质谱鉴定中至关重要。本研究探讨了自配前处理试剂和商品试剂盒质谱鉴定结果的差异。

目前,MOLDI-TOF MS 应用于丝状真菌鉴定在临床微生物检测中并未普及,主要因其缺乏简单、可重复、统一的蛋白质提取程序。不同蛋白质提取方法的质谱鉴定准确率差异较大,本研究采用甲酸乙腈法提取丝状真菌蛋白,应用自配试剂和商品化试剂盒两种不同的试剂提取丝状真菌蛋白,比较两种试剂所提取的丝状真菌蛋白质谱结果是否有差异。实验结果表明,自配试剂提取蛋白质谱鉴定准确率为 88.37%,商品化试剂盒提取蛋白质谱鉴定准确率为 95.35%,差异无统计学意义。LAU 等^[17]采用磁珠法提取丝状真菌蛋白,421 株丝状真菌通过此法提取蛋白的质谱鉴定准确率为 88.9%,笔者认为磁珠法可以提高质谱鉴定准确率,黄艳飞等^[18]的研究也发现磁珠法较好,但是磁珠法较甲酸乙腈法更为复杂,且需氧化锆-二氧化硅微珠,较单纯使用甲酸乙腈法昂贵。双甲酸夹心法提取丝状真菌蛋白较甲酸乙腈法简单、省时,苍金荣等^[19]使用双甲酸夹心法提取丝状真菌蛋白进行质谱鉴定时,鉴定到种的准确率为 71.52%(113/158),但是也有得到高鉴定准确率的报道^[20-21],质谱鉴定准确率不同,可能跟实验所用丝状真菌的菌属不同有关。双甲酸法适用于曲霉属和青霉属等较容易破壁的丝状真菌。CASSAGNE 等^[22]比较了 5 种不同丝状真菌质谱鉴定前处理流程,认为甲酸乙腈法最理想。

本研究自配试剂甲酸乙腈未鉴定出的菌株为烟曲霉 1 株,黄曲霉 1 株,亮白曲霉 2 株,茄病镰刀菌复合群 1 株;商品化试剂盒未鉴定出的菌株为亮白曲霉 1 株,茄病镰刀菌复合群 1 株。虽然商品化试剂盒未鉴定出的菌株只有 2 株,而自配试剂甲酸乙腈未鉴定出 5 株,但两种试剂相比,差异无统计学意义。自配试剂甲酸乙腈提取丝状真菌蛋白,对于临床常见的丝状真菌准确率可达 88.37%(38/43),对于曲霉中最常见的烟曲霉的准确率可达 95.83%(23/24),可满足临床微生物日常工作的需要。而且两种试剂相比,自配试剂的价格较低,可以在不影响鉴定准确率的情况下,为患者减轻经济负担。

本研究所涉及的菌株以及菌种较少,主要是曲霉属,可能会对实验产生一定的影响,但本研究对临床日常工作的开展仍有一定意义,因为临床最常见丝状真菌感染是曲霉感染^[23]。

综上所述,自配试剂和商品化试剂盒两种不同试剂提取丝状真菌蛋白的质谱鉴定准确率比较,差异无统计学意义。自配试剂操作较简单,且可以在不影响

质谱鉴定准确率的前提下,提供一种价格更为低廉的检测方法,为患者减轻经济负担。

参考文献

- [1] CHEN M, XU Y, HONG N, et al. Epidemiology of fungal infections in china[J]. Front Med, 2018, 12(1): 58-75.
- [2] SANGUINETTI M, POSTERARO B. Susceptibility testing of fungi to antifungal drugs[J]. J Fungi (Basel), 2018, 4(3): 110.
- [3] BASSETTI M, BOUZA E. Invasive mould infections in the ICU setting: complexities and solutions[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(suppl_1): i39-i47.
- [4] AL-HATMI A M, MEIS J F, DE HOOG G S. Fusarium: molecular diversity and intrinsic drug resistance[J]. PLoS Pathog, 2016, 12(4): e1005464.
- [5] 张莉莉, 王强兄, 沈亮亮, 等. 曲霉菌临床分离株的分子鉴定及体外抗真菌药物敏感性分析[J]. 同济大学学报(医学版), 2018, 39(1): 70-75.
- [6] MASI H A, SINGH P K, KATHURIA S, et al. Identification by molecular methods and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and antifungal susceptibility profiles of clinically significant rare aspergillus species in a referral chest hospital in DELHI, INDIA[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(9): 2354-2364.
- [7] IBÁÑEZ-MARTÍNEZ E, RUIZ-GAITÁN A, PEMÁN-GARCÍA J. Update on the diagnosis of invasive fungal infection[J]. Rev Esp Quimioter, 2017, 30(Suppl 1): 16-21.
- [8] GARCÍA J, PEMÁN J. Microbiological diagnosis of invasive mycosis[J]. Rev Iberoam Micol, 2018, 35(4): 179-185.
- [9] WHITE P L, BARNES R A, SPRINGER J, et al. Clinical performance of aspergillus PCR for testing serum and plasma: a study by the european aspergillus PCR initiative [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(9): 2832-2837.
- [10] 曹敬荣, 王岩, 谢威, 等. 质谱技术快速鉴定临床分离丝状真菌的应用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020, 14(5): 374-379.
- [11] CHALUPOVÁ J, RAUS M, SEDLÁROVÁ M, et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Biotechnol Adv, 2014, 32(1): 230-241.
- [12] 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.
- [13] ANGELETTI S. Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology[J]. J Microbiol Methods, 2017, 138: 20-29.
- [14] GE M C, KUO A J, LIU K L, et al. Routine identification of microorganisms by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: success rate, economic analysis, and clinical outcome[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2017, 50(5): 662-668.
- [15] ZHOU L, CHEN Y, XU Y. Performance of VITEK mass spectrometry V3.0 for rapid identification of clinical aspergillus fumigatus in different (下转第 2816 页)

PCT 检测等手段来提高临床工作者的诊疗准确度,基层医院要从自身实际情况出发选择合适的治疗方案;(2)病原学的鉴定要重视时效性,微生物工作者应不断提高自身的水平,灵活运用各种检查技术及时准确地鉴定出病原菌;(3)加强检验科与临床的沟通,若检出少见菌、罕见菌要及时主动通知临床,积极地参与到临床疾病的诊治中,结合患者病史资料、临床症状等共同判断,更好地为患者服务。

参考文献

- [1] LOW J C, DONACHIE W. A review of listeria monocytogenes and listeriosis[J]. Vet J, 1997, 153: 9-29.
- [2] HERNANDEZ-MILIAN A, PAYERAS-CIFRE A. What is new in listeriosis? [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 358051.
- [3] GOULET V, KING L A, VAILLANT V, et al. What is the incubation period for listeriosis? [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(1): 11.
- [4] VÁZQUEZ-BOLAND J A, KUHN M, BERCHE P, et al. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants[J]. Clin Microbiol Rev, 2001, 14(3): 584-640.
- [5] NAKAMURA F, NASU R. Listeria monocytogenes septicemia and meningoencephalitis associated with relapsed and refractory follicular lymphoma[J]. J Infect Chemother, 2020, 26(6): 619-621.
- [6] TELZAKE E, GREENBERGM S, BUDNICKL D, et al. Diabetes mellitus-a newly described risk factor for infection from salmonella enteritidis[J]. J Infect Dis, 1991, 164(3): 538-541.
- [7] BAVISHI C, DUPONT H L. Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 34(11/12): 1269-1281.
- [8] KVISTHOLM J A, SIMONSEN J, ETHELBERG S. Use of proton pump inhibitors and the risk of listeriosis: a nationwide registry-based case-control study[J]. Clin Infect Dis, 2017, 64(7): 845-851.
- [9] REGAN T, MACSHARRY J, BRINT E. Tracing innate immune defences along the path of listeria monocytogenes infection[J]. Immunol Cell Biol, 2014, 92(7): 563-569.
- [10] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 401-426.
- [11] 白重阳, 顾炳权. 降钙素原预警脓毒血症一例[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(6): 1661.
- [12] LIANG J J, HE X Y, YE H. Rhombencephalitis caused by listeria monocytogenes with hydrocephalus and intracranial hemorrhage: a case report and review of the literature[J]. World J Clin Cases, 2019, 7(4): 538-547.
- [13] LEPE J A, RODRÍGUEZ-VILLODRES A, MARTÍN-GUTIÉRREZ G, et al. In vitro study of synergy of ampicillin with ceftriaxone against listeria monocytogenes [J]. Rev Esp Quimioter, 2019, 32(5): 465-468.
- [14] 卢兴兵, 戴仲秋, 王彦兮, 等. 透析患者发生产单核细胞李斯特菌血流感染一例[J]. 华西医学, 2020, 35(8): 1015-1017.
- [15] 张丽, 齐军, 吴宗勇, 等. 1 例肿瘤患者产单核细胞李斯特菌血流感染分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(13): 1663-1664.
- [16] 王珊, 郭玉金. 肺癌化疗后产单核细胞李斯特菌血流感染 1 例[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 485-486.
- [17] HOF H. An update on the medical management of listeriosis[J]. Expert Opin Pharmacother, 2004, 5(8): 1727-1735.
- [18] 龚艳清, 陈信忠, 杨俊萍, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在李斯特菌检测和鉴定中的应用[J]. 食品科学, 2012, 33(6): 209-214.
- [19] 黄艳飞, 常峥, 白婕, 等. 丝状真菌质谱鉴定前处理方法及应用[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(30): 2379-2383.
- [20] BILLE E, DAUPHIN B, LETO J, et al. MALDI-TOF MS andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, aspergillus spp and positive blood cultures[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(11): 1117-1125.
- [21] HETTICK J M, GREEN B J, BUSKIRK A D, 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.
- [22] CASSAGNE C, RANQUE S, NORMAND A C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28425.
- [23] SULEYMAN G, ALANGADEN G J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention [J]. Infect Dis Clin North Am, 2016, 30(4): 1023-1052.
- [24] 苍金荣, 王翠, 王曦, 等. “双甲酸夹心”快速样本前处理方法的建立及在丝状真菌质谱鉴定中的初步应用[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(3): 21-23.

(收稿日期: 2021-01-12 修回日期: 2021-06-17)

(收稿日期: 2021-03-12 修回日期: 2021-08-10)

(上接第 2812 页)

culture conditions based on ribosomal proteins[J]. Infect Drug Resist, 2017, 10: 499-506.

- [16] 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.
- [17] LAU A F, DRAKE S K, CALHOUN L B, et al. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(3): 828-834.

- [20] BILLE E, DAUPHIN B, LETO J, et al. MALDI-TOF MS andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, aspergillus spp and positive blood cultures[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(11): 1117-1125.
- [21] HETTICK J M, GREEN B J, BUSKIRK A D, 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.
- [22] CASSAGNE C, RANQUE S, NORMAND A C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28425.
- [23] SULEYMAN G, ALANGADEN G J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention [J]. Infect Dis Clin North Am, 2016, 30(4): 1023-1052.