

• 论 著 •

基于 MALDI-TOF MS 的不同富集法在血流感染病原菌快速鉴定中的应用*

李孟春¹, 王 涛^{2△}, 舒荣春¹, 雷建东¹, 吴林军¹

1. 乐山市中医医院检验科, 四川乐山 614000; 2. 滨州医学院附属医院检验科, 山东滨州 256603

摘 要: **目的** 探讨试剂盒提取法和短时培养法在血流感染病原菌快速鉴定中的应用, 建立科学、高效且可行的菌体富集方法。 **方法** 收集 2024 年 9 月至 2025 年 9 月乐山市中医医院微生物实验室血培养阳性样本, 经直接涂片革兰染色确定为单一病原菌后, 分别采用试剂盒提取法和 2、3、4、5、6 h 短时培养法富集菌体并进行基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)鉴定, 以单个菌落法质谱鉴定结果为参考标准, 比较不同富集方法的鉴定符合率和平均检测时间。 **结果** 191 份血培养阳性样本中分离出革兰阴性菌 135 株, 革兰阳性菌 54 株, 真菌 2 株。试剂盒提取法鉴定符合率为 90.58%, 短时培养法在 2、3、4、5、6 h 的鉴定符合率依次为 69.11%、83.25%、93.72%、94.76%、94.76%, 两种富集法对革兰阴性菌的鉴定符合率均显著高于革兰阳性菌($P < 0.001$)。4、5、6 h 短时培养法鉴定符合率与 2、3 h 短时培养法相比, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与试剂盒提取法相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 种富集法比单个菌落法可缩短周转时间 7~18 h。 **结论** 基于 MALDI-TOF MS 的试剂盒提取法与 4 h 短时培养法均是实现血流感染病原菌快速鉴定的有效菌体富集手段, 且能显著缩短血培养阳性样本周转时间。血培养报阳后可优先采用试剂盒提取法, 若鉴定失败则采用 4 h 短时培养法。

关键词: 血流感染; 血培养; 试剂盒提取法; 短时培养法; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.15.016 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2026)15-1877-06 **文献标识码:**A

Application of different enrichment methods based on MALDI-TOF MS for rapid identification of pathogens in bloodstream infections*

Li Mengchun¹, Wang Tao^{2△}, Shu Rongchun¹, Lei Jiandong¹, Wu Linjun¹

1. Department of Clinical Laboratory, Leshan Traditional Chinese Medicine Hospital, Leshan, Sichuan 614000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou, Shandong 256603, China

Abstract: **Objective** To investigate the application of the kit extraction method and the short-term culture method in the rapid identification of pathogenic bacteria causing bloodstream infections, and to establish a scientific, efficient, and feasible bacterial enrichment method. **Methods** From September 2024 to September 2025, blood culture positive samples from the microbiology laboratory of Liangshan Traditional Chinese Medicine Hospital were collected. After direct smear and Gram staining, they were determined to be single pathogenic bacteria. Then, the bacterial cells were enriched using the kit extraction method and the short-term culture methods of 2, 3, 4, 5, and 6 hours, and identified by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). The results of single colony mass spectrometry were used as the reference standard to compare the identification accuracy rates and average detection times of different enrichment methods. **Results** Among the 191 blood culture positive samples, 135 strains of Gram-negative bacteria, 54 strains of Gram-positive bacteria, and 2 strains of fungi were isolated. The identification accuracy rate of the kit extraction method was 90.58%. The identification accuracy rates of the short-term culture method at 2, 3, 4, 5, and 6 hours were 69.11%, 83.25%, 93.72%, 94.76%, and 94.76% respectively. The identification accuracy rates of both enrichment methods for Gram-negative bacteria were significantly higher than those for

* 基金项目: 乐山市 2024 年重点科技计划项目(24ZDYF0039)。

作者简介: 李孟春, 女, 主管技师, 主要从事临床微生物检验及耐药机制研究。 △ 通信作者, E-mail: wangtaoliwang@163.com。

Gram-positive bacteria ($P < 0.001$). The identification accuracy rates of the 4-hour short-term culture method at 4, 5, and 6 hours were statistically different from those at 2 and 3 hours; compared with the kit extraction method, there was no statistically significant difference ($P > 0.05$). The two enrichment methods could shorten the turnaround time by 7 to 18 hours compared with the single colony method. **Conclusion** Both the kit extraction method and the 4 h short-term culture method based on MALDI-TOF MS are effective enrichment approaches for the rapid identification of pathogens in bloodstream infections, which can significantly shorten the turnaround time of positive blood culture samples. It is recommended that the kit extraction method be prioritized after blood culture positivity is alerted, and if the identification fails, the 4 h short-term culture method should be adopted.

Key words: bloodstream infection; blood culture; kit extraction method; short-term culture method; matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry

血流感染是指各类病原微生物及其产生的毒素进入全身血液循环进而导致的系统性炎症反应综合征^[1], 严重时, 可发展为败血症甚至脓毒血症, 使患者发生休克、弥散性血管内凝血和多器官衰竭, 是住院患者死亡的主要原因之一。有研究报道, 患者每延迟 1 h 接受适当的抗菌药物治疗, 其生存率平均下降 7.6%^[2], 因此血流感染的早期精准诊治至关重要。虽然已有研究表明, 数字 PCR、宏基因组二代测序等非培养技术在血流感染诊断中具有较高的灵敏度和准确度, 且机器学习在风险预测领域展现出巨大潜力^[3-5], 但血培养目前仍然是临床诊断血流感染的金标准^[6]。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)通过分析微生物独特的蛋白质指纹图谱实现菌种鉴定。该方法凭借快速、准确、高通量、低成本等优势, 有效弥补了传统血培养流程烦琐、周转时间长等不足, 已成为细菌、酵母及酵母样真菌鉴定的首选方法之一^[7-8]。相关研究发现, MALDI-TOF MS 技术可对血培养阳性样本进行直接鉴定且具有较高的准确性^[9]。而样本中病原菌的富集是影响鉴定效率及准确性的重要环节^[10], 探索科学、高效、可行的菌体富集方法是实现血流感染早期精准诊疗的重要保障。本研究通过对比基于 MALDI-TOF MS 的试剂盒提取法与短时培养法在血流感染病原菌快速鉴定中的应用效果, 以期建立一套可靠的菌体富集方案, 为临床血流感染的快速诊断提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 样本来源 收集 2024 年 9 月至 2025 年 9 月乐山市中医医院检验科微生物室血培养阳性样本。纳入标准: (1) 血培养仪发出阳性报警; (2) 阳性瓶培养液经涂片革兰染色镜检后确认为单一病原菌。排除标准: (1) 复合菌感染; (2) 同一患者同一诊疗周期内血培养重复检出相同病原菌。

1.2 仪器与试剂 仪器: 血培养仪及配套血培养瓶

(珠海迪尔), EXS2600 全自动微生物质谱鉴定系统(中元汇吉), 恒温培养箱(济南鑫西贝), 离心机(珠海黑马)。试剂与耗材: 血培养阳性样本预处理试剂盒、质谱系统微生物样本预处理试剂盒(中元汇吉), 血琼脂营养培养基、血巧克力琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基、沙保罗琼脂培养基(成都瑞奇), 厌氧袋(重庆庞通)。

1.3 方法 血培养仪发出阳性报警后, 取出对应培养瓶, 在生物安全柜内采用无菌操作抽取培养液涂片, 革兰染色镜检, 确认为单一病原菌后, 按照《质谱系统血培养阳性样本预处理试剂盒说明书》的操作步骤进行预处理, 并对提取物进行 MALDI-TOF MS 鉴定, 称为试剂盒提取法; 同时, 将血培养阳性样本转种在固体培养基上进行孵育培养, 分别对培养 2、3、4、5、6 h 的菌膜进行 MALDI-TOF MS 鉴定, 称为短时培养法。记录两种富集方法的鉴定结果及检测耗时, 以固体培养基上单个菌落经 MALDI-TOF MS 鉴定的结果为参考标准, 与参考标准完全一致者视为鉴定符合, 其余视为鉴定失败, 分别统计试剂盒提取法和短时培养法的鉴定符合率和平均检测耗时。

1.3.1 试剂盒提取法 充分混匀血培养阳性样本, 取 1 mL 样本注入 1.5 mL 无菌离心管, 加入裂解缓冲液, 混匀后静置 3~5 min, 500×g 离心 10 min, 弃去上清液, 加入 500 μL 缓冲液 I, 混匀后 12 000 r/min 离心 1 min, 弃去上清液, 加入 500 μL 缓冲液 II, 混匀后 12 000 r/min 离心 1 min, 弃去上清液, 根据沉淀物的量加入 15~25 μL 70% 甲酸, 混匀后加入等体积的乙腈并再次混匀。13 000 r/min 离心 1 min, 取 1 μL 上清液进行 MALDI-TOF MS 鉴定。

1.3.2 短时培养法 混匀血培养阳性样本, 取 0.5 mL 样本转种于血琼脂营养培养基、血巧克力琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基, 厌氧瓶需接种血琼脂营养培养基后放入厌氧袋密封, 真菌则接种沙保罗琼脂培养基。随后置于 35℃ 恒温培养箱培养并计时, 分别

在培养 2、3、4、5、6 h 时,挑取菌膜进行 MALDI-TOF MS 鉴定。

1.3.3 单个菌落法 转种方法同短时培养法,并置于 35 ℃恒温培养箱培养至单个菌落形成,挑取菌落进行 MALDI-TOF MS 鉴定。

1.3.4 校准与质控 校准菌株:大肠埃希菌 ATCC25922;质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、白念珠菌 ATCC10231。

1.4 统计学处理 采用 WPS Excel 汇总数据,采用 SPSS29.0 统计软件进行数据分析,呈正态分布的计量资料(检测耗时)以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析及 SNK-*q* 检验,两组比较采用配对 *t* 检验;计数资料(符合率)以频数或百分率表示,采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 试剂盒提取法与短时培养法的病原菌鉴定结果 共收集单一菌感染的血培养阳性样本 191 例,其中检出革兰阴性菌 135 株,革兰阳性菌 54 株,真菌 2 株。仅 1 株猪霍乱沙门菌经 MALDI-TOF MS 鉴定至属水平,后续采用血清凝集试验进一步鉴定至种水平,其余病原菌均经 MALDI-TOF MS 鉴定至种水平。试剂盒提取法对血流感染常见病原菌属如肠杆菌目、葡萄球菌属、肠球菌属鉴定符合率均大于 94.0%,并成功鉴定 1 株真菌和 1 株厌氧菌。2、3、4、5 h 短时培养法的鉴定符合率随培养时间延长呈递增趋势。6 h 培养法的鉴定结果与 5 h 培养法鉴定结果完全相同,且仍失败鉴定 3 株链球菌,2 株棒状杆菌,2 株真菌,1 株莫拉菌,1 株乏养菌,1 株微单胞菌。见表 1。

表 1 试剂盒提取法与不同时间点短时培养法对 191 例病原菌的鉴定符合率[*n*(%)]

名称	<i>n</i>	试剂盒提取法	短时培养法				
			2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
大肠埃希菌	85	83(97.65)	74(87.06)	83(97.65)	85(100.00)	85(100.00)	85(100.00)
肺炎克雷伯菌	35	35(100.00)	29(82.86)	33(94.29)	35(100.00)	35(100.00)	35(100.00)
金黄色葡萄球菌	14	13(92.86)	13(92.86)	14(100.00)	14(100.00)	14(100.00)	14(100.00)
表皮葡萄球菌	8	7(87.50)	2(25.00)	5(62.50)	8(100.00)	8(100.00)	8(100.00)
人葡萄球菌	7	7(100.00)	0(0.00)	4(57.14)	6(85.71)	7(100.00)	7(100.00)
铜绿假单胞菌	4	2(50.00)	1(25.00)	2(50.00)	4(100.00)	4(100.00)	4(100.00)
头葡萄球菌	4	4(100.00)	2(50.00)	2(50.00)	4(100.00)	4(100.00)	4(100.00)
肺炎链球菌	3	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(33.33)	1(33.33)	1(33.33)
奇异变形杆菌	2	2(100.00)	2(100.00)	2(100.00)	2(100.00)	2(100.00)	2(100.00)
尿肠球菌	2	2(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	2(100.00)	2(100.00)	2(100.00)
阿氏肠杆菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
奥斯陆莫拉菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
白念珠菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
鸪鸡肠球菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
非发酵棒杆菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
粪肠球菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
霍氏肠杆菌	1	1(100.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
克氏棒状杆菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
路登葡萄球菌	1	1(100.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
麻疹孪生球菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)
摩根摩根菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
牛链球菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
佩藤科夫葡萄球菌	1	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
皮特不动杆菌	1	1(100.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
普通变形杆菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
铅黄肠球菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)

续表 1 试剂盒提取法与不同时间点短时培养法对 191 例病原菌的鉴定符合率 $[n(\%)]$

名称	<i>n</i>	试剂盒提取法	短时培养法				
			2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
缺陷乏养菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
溶血葡萄球菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
沙门菌属	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
藤黄微球菌	1	1(100.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
豚鼠气单胞菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
微小微单胞菌	1	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
纹带棒状杆菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
无丙二酸盐枸橼酸杆菌	1	1(100.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
无乳链球菌	1	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
新型隐球菌	1	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
咽峡炎链球菌	1	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	1(100.00)	1(100.00)
合计	191	173(90.58)	132(69.11)	159(83.25)	179(93.72)	181(94.76)	181(94.76)

2.2 革兰阴性菌与革兰阳性菌鉴定符合率的比较 无论试剂盒提取法还是各时间点短时培养法,对革兰阴性菌的鉴定符合率均显著高于革兰阳性菌($P<0.001$),提示不同富集方法均对革兰阴性菌的鉴定结果可信度更高。因 6 h 培养法鉴定结果与 5 h 培养法完全一致,故未将 6 h 培养法鉴定结果纳入统计分析。见表 2。

2.3 试剂盒提取法与各时间点短时培养法鉴定符合率比较 试剂盒提取法及各时间点短时培养法的鉴定符合率比较,差异有统计学意义($P<0.001$),随后进行两两比较,并将 P 值与经 Bonferroni 校正后的显著性水平($\alpha=0.003$)比较发现,2 h 短时培养法的鉴定符合率最低,且与试剂盒提取法和其他时间点短时培养法的鉴定符合率差异均有统计学意义($P<0.01$)。4、5、6 h 短时培养法鉴定符合率与 2、3 h 短时培养法相比,差异有统计学意义($P<0.01$);与试剂

盒提取法相比,在当前样本量下未观察到差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 3。

2.4 不同菌体富集法的平均检测耗时比较 与单个菌落法比较,试剂盒提取法与短时培养法可将病原菌检出时间缩短 7~18 h,且试剂盒提取法较短时培养法还可缩短检测时间 1.5~4.0 h。3 种方法的平均检测耗时存在显著性差异($P<0.001$)。见表 4。

表 2 革兰阴性菌与革兰阳性菌的鉴定符合率比较(%)

菌体富集法	革兰阴性菌 (<i>n</i> =135)	革兰阳性菌 (<i>n</i> =54)	χ^2	<i>P</i>
试剂盒提取法	95.56	79.63	11.99	<0.001
2 h 短时培养法	81.48	40.74	30.56	<0.001
3 h 短时培养法	94.07	59.26	35.14	<0.001
4 h 短时培养法	99.26	83.33	19.61	<0.001
5 h 短时培养法	99.26	87.04	14.17	<0.001

表 3 试剂盒提取法与各时间点短时培养法鉴定符合率比较

菌体富集方法	试剂盒提取法	2 h 短时培养法	3 h 短时培养法	4 h 短时培养法	5 h 短时培养法
试剂盒提取法	—	<0.001	0.034	0.254	0.116
2 h 短时培养法	<0.01	—	0.001	<0.001	<0.001
3 h 短时培养法	>0.05	<0.01	—	0.001	<0.001
4 h 短时培养法	>0.05	<0.01	<0.01	—	0.660
5 h 短时培养法	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05	—

注:—表示无数据。

表 4 3 种富集方法的平均检测耗时比较($\bar{x}\pm s, h$)

主要菌属	试剂盒提取法	短时培养法	单个菌落法
肠杆菌目	0.59±0.04	2.35±0.46	13.52±1.75
葡萄球菌属	0.58±0.05	2.95±0.90	14.50±1.82
非发酵菌	0.60±0.02	3.37±0.84	14.17±1.41
肠球菌属	0.59±0.03	2.97±1.10	15.77±1.67
链球菌属	0.60±0.04	3.50±1.15	16.84±1.63

3 讨 论

血流感染是临床常见的危重症之一,其高致死率及耐药菌的扩散已对全球公共卫生造成严峻挑战。血培养是识别血流感染病原体并测试其对抗菌药物敏感性的基本手段。MALDI-TOF MS 技术的日渐成熟,实现了对血培养阳性样本中病原菌的快速直接鉴定,为临床快速诊疗提供了有力支持^[7,11]。而菌体的高效富集,正是实现这一直接鉴定过程的关键环

节。早期研究采用的分离胶法、十二烷基硫酸钠(SDS)法及 Percoll 细胞分离液密度梯度离心法受分离胶质量、自配试剂稳定性、离心温度等诸多因素影响,在鉴定一致性上存在较大差异^[12-14],而进口商品化预处理试剂盒成本又较高昂,因此均未能在普通实验室普及使用。随着国内研发技术的不断发展,国产试剂盒凭借性能稳定、成本低廉等优势正得到日益广泛的应用。

本研究共检出 191 例病原菌,检出率排列前五的病原菌是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和人葡萄球菌。试剂盒提取法的总体符合率为 90.58%,标本中人体细胞、培养基成分的干扰,以及病原菌量不足,可能是导致血培养阳性样本直接鉴定失败的主要原因^[15],对革兰阴性菌的鉴定符合率为 95.56%,与许春燕等^[16]的研究结果一致,高于 Perše 等^[17]的研究结果;对革兰阳性菌的鉴定符合率为 79.63%,均高于其研究结果。此外,1 例酵母样真菌和 1 例厌氧菌的成功鉴定,提示试剂盒提取法不仅对常见病原菌具有较高鉴定符合率,且对生长缓慢、培养条件苛刻的少见病原菌,可能比传统培养鉴定在时效上更具优势。

2 h 培养法的鉴定符合率仅 69.11%,显著低于试剂盒提取法和其他时间点的短时培养法,因此不建议采用 2 h 培养法快速鉴定病原菌。鉴定失败的原因是此时病原菌尚未进入对数生长期,核糖体蛋白质含量少,无法形成特征谱峰。同时,挑取的菌膜中仍含大量人体红细胞、培养基成分等杂质,造成信号干扰,并产生杂散的质谱峰,影响目标谱图的质量。此后,随着培养时间的延长,病原菌逐渐进入快速增殖期,鉴定符合率随菌体数量增加及蛋白质水平升高而提升,3 h 培养法的鉴定符合率已升至 83.25%,4 h 时达 93.72%。6 h 培养法与 5 h 培养法的鉴定结果完全一致,二者鉴定符合率均为 94.76%,表明对于某些生长缓慢的病原菌,需要更长的培养时间方能富集到足够的菌量。虽在当前样本量下不足以发现试剂盒提取法鉴定符合率与 3、4、5、6 h 培养法存在统计学差异,但 4、5、6 h 培养法鉴定符合率较试剂盒提取法更高,对病原菌的鉴定结果更准确可靠。试验中,试剂盒提取法鉴定失败的 2 株大肠埃希菌、2 株葡萄球菌、2 株铜绿假单胞菌、1 株肺炎链球菌在短时培养 4 h 时均鉴定成功,而短时培养法未成功鉴定的 1 株微小单胞菌和 1 株新型隐球菌则被试剂盒提取法检出,提示试剂盒提取法和 4 h 短时培养法互补使用,可进一步提高鉴定结果的准确性。

本研究发现,试剂盒提取法和短时培养法对革兰阴性菌的鉴定符合率均显著高于革兰阳性菌,与 Samaranayake 等^[18]的研究结论一致,表明质谱法对革兰阴性菌的鉴定准确率高于革兰阳性菌。这是由于革兰阳性菌细胞壁中肽聚糖层较革兰阴性菌厚,难以

破壁,从而降低了蛋白质的提取效率;此外,某些革兰阳性菌的生长速度较慢,如链球菌、棒状杆菌等,导致提取所需的生物量不足;再者,部分革兰阳性菌如肺炎链球菌菌体存在荚膜,导致破壁困难,进而造成鉴定效率下降^[19]。

早期适当的抗菌药物治疗是减少败血症患者病死率最有效的措施之一,但若使用不当可能会引发一系列问题,如耐药菌产生、过敏或超敏反应、器官功能损伤、血小板减少、艰难梭菌感染以及死亡率增加^[20]。同时,国外一项针对 1968 例患者的调查显示,抗菌药物降阶梯治疗可使患者短期死亡风险降低 28%,住院天数平均减少 5.56 d,因此早期识别血流感染病原体并检测其耐药性尤为重要^[21-22]。本研究结果显示,试剂盒提取法和短时培养法比单个菌落法能提前 7~18 h 检出病原菌,可有效缩短血培养阳性报告的周转时间,为临床合理使用抗菌药物提供依据,对改善患者预后、缩短患者住院时间、节约医疗资源具有重要意义。同时,试剂盒提取法比短时培养法还可缩短 1.5~4.0 h,在时效上更具优势。此外,回顾试验操作流程,单个菌落法需经较长时间的培养后再行质谱鉴定,过程烦琐且耗时。而试剂盒提取法通过特定的试剂对病原菌进行直接提取和富集,减少了不必要的培养时间,可快速获得病原菌样本用于鉴定。短时培养法虽也可缩短培养时间,但相较于试剂盒提取法,仍需一定时长的培养过程。

综上所述,试剂盒提取法与 4 h 短时培养法均是联合 MALDI-TOF MS 实现血流感染病原菌快速鉴定的有效富集手段,且能显著缩短检测时间。本研究团队推荐将其整合进常规检验流程:血培养报阳后,首先采用试剂盒提取法进行鉴定;对于鉴定失败或鉴定结果不可靠的样本,转而采用 4 h 短时培养法进行鉴定;若仍不成功,则按传统方法培养至单个菌落形成后再行质谱鉴定。该阶梯式策略在保证鉴定准确率的同时,可最大程度地提升检测效率,从而实现病原菌的快速精准鉴定,为临床诊疗提供及时、有效的依据。

然而,本研究仍存在若干局限性:首先,无法用于复合病原菌感染样本的检测,此类样本需培养至单个菌落形成后再行鉴定;其次,离心、沉淀重悬及菌膜采集等步骤需人工操作,试验人员的个体操作差异可能导致鉴定结果的重复性不佳。同时,本研究纳入的真菌、厌氧菌等少见病原菌的样本量偏少,且所有样本均来源于单一医疗机构,这不仅限制了研究结果的普适性,也难以客观评估该方法对罕见或特殊微生物的鉴定性能。此外,从经济成本与人力投入角度分析,与单个菌落质谱鉴定法相比,短时培养法无需额外购置试剂,也未增加操作流程,而试剂盒提取法需配备相应的试剂盒与耗材,且提取步骤需投入一定人力。因此,应结合鉴定准确率、检测耗时、经济成本及人力

投入进行综合评估,方可筛选出适合不同临床实验室的最佳菌体富集方法。未来,本研究团队将继续优化研究设计,扩大研究样本量,进一步探索应对血流感染的有效措施,为临床血流感染的快速诊疗提供更可靠的实验室依据,保障患者生命健康。

参考文献

- [1] 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会,中华医学会检验医学分会临床微生物学组,中华医学会微生物学和免疫学分会临床微生物学组,等. 血液培养技术用于血流感染诊断临床实践专家共识[J]. 中华检验医学杂志,2022,45(2):105-121.
- [2] Kumar A, Roberts D, Wood K E, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock[J]. Crit Care Med, 2006, 34(6):1589-1596.
- [3] Lin L, Chen Y, Zhou N, et al. Clinical evaluation of digital PCR for rapid pathogen detection in suspected blood-stream infections[J]. Br J Hosp Med, 2025, 86(10):1-22.
- [4] 周欣悦,徐春晖,冯四洲. 宏基因组二代测序在血液病患者感染病原体检测中的应用[J]. 中国感染与化疗杂志, 2025, 25(3):351-356.
- [5] Chen Y, Chen Z, Xu D, et al. Early prediction of blood-stream infections in ICU patients using machine learning methods based on routine laboratory parameters[J]. BMC Infect Dis, 2025, 25(1):1196.
- [6] Lamy B, Dargère S, Arendrup M C, et al. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art[J]. Front Microbiol, 2016, 7:697.
- [7] Calderaro A, Chezzi C. MALDI-TOF MS: a reliable tool in the real life of the clinical microbiology laboratory[J]. Microorganisms, 2024, 12(2):322.
- [8] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组. MALDI-TOF MS 鉴定病原微生物临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2024, 47(9):1013-1026.
- [9] 范芳华,王选,张亚培,等. 阳性血培养标本菌种快速鉴定及药敏试验方法研究[J]. 预防医学, 2023, 35(8):732-736.
- [10] Han S S, Jeong Y S, Choi S K. Current scenario and challenges in the direct identification of microorganisms using MALDI TOF MS[J]. Microorganisms, 2021, 9(9):1917.
- [11] Zengin C H, Bayraktar B. Direct rapid identification from positive blood cultures by MALDI-TOF MS: specific focus on turnaround times[J]. Microbiol Spectr, 2021, 9(3):e01103-e01121.
- [12] 周丽雯,高向阳,张渝,等. 不同富集法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定在血流感染中的应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2025, 46(11):1386-1390.
- [13] 肖钢,刘沐然. 医院血流感染病原菌分布构成及 MALDI-TOF MS 在快速鉴定病原菌中的价值分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2025, 20(1):71-76.
- [14] Srivastava S, Shankar A, Sharad N, et al. Bacterial identification using MALDI-TOF mass spectrometry in positive blood cultures: a pilot study[J]. J Biol Meth, 2025, 12(2):e99010058.
- [15] Ashmawy M M, Khairat S M, Reda N M, et al. Rapid and cost-effective identification of microorganisms from positive blood cultures using MALDI-TOF MS[J]. BMC Infect Dis, 2025, 25(1):736.
- [16] 许春燕,郭锋,上官佳敏,等. 一种联合 MALDI-TOF MS 直接鉴定阳性血培养瓶方法改进及与 Sepsityper Kit 试剂盒法、SELTERS 法和血清分离胶法的比较[J]. 中国微生物生态学杂志, 2020, 32(3):334-339.
- [17] Perše G, Samošanec I, Bošnjak Z, et al. Sepsityper® kit versus in-house method in rapid identification of bacteria from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Life, 2022, 12(11):1744.
- [18] Samaranayake W A M P, Dempsey S, Howard-Jones A R, et al. Rapid direct identification of positive paediatric blood cultures by MALDI-TOF MS technology and its clinical impact in the paediatric hospital setting[J]. BMC Res Notes, 2020, 13(1):12.
- [19] Croxatto A, Prodromou G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology[J]. FEMS Microbiol Rev, 2012, 36(2):380-407.
- [20] Prescott H C, Antonelli M, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2026[J]. Intensive Care Med, 2026, 52(5):863-936.
- [21] Tabah A, Bassetti M, Kollef M H, et al. Antimicrobial de-escalation in critically ill patients: a position statement from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) and European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Critically Ill Patients Study Group (ESGCIP)[J]. Intensive Care Med, 2020, 46(2):245-265.
- [22] Kadri S S, Lai Y L, Warner S, et al. Inappropriate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on discordant in-vitro susceptibilities: a retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and mortality risk in US hospitals[J]. Lancet Infect Dis, 2021, 21(2):241-251.

(收稿日期:2025-11-25 修回日期:2026-03-05)