

• 论 著 •

一种国产全自动微生物质谱检测系统性能评价*

李世荣, 田月如, 王钰婷, 林怡菁, 关明, 蒋浩琴[△]
复旦大学附属华山医院检验科, 上海 200040

摘要:目的 对国产全自动微生物质谱检测系统的临床常见病原菌鉴定能力进行评价。方法 收集该院 2021 年 3—5 月来自临床非重复菌株 302 株。采用 CMI-3800 全自动微生物质谱检测系统(CMI-3800 MS)和 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪(VITEK 2 Compact)对病原菌进行鉴定,结果不一致的菌株采用 16SrDNA 基因测序予以确认。结果 CMI-3800 MS 鉴定到属水平有 297 株(98.34%),鉴定到种水平有 288 株(95.36%);VITEK 2 Compact 鉴定到属水平有 296 株(98.01%),鉴定到种水平有 277 株(91.72%)。两种检测方法鉴定属一致的为 296 株(98.01%),种一致的为 277 株(91.72%);在种不一致的 25 株中取 18 株采用 16SrDNA 测序鉴定。结果显示,CMI-3800 MS 有 12 株标本在种水平鉴定与 16SrDNA 基因测序结果完全一致,4 株标本属水平一致,其余 2 株种属均不一致;VITEK 2 Compact 有 13 株标本在属水平鉴定与 16SrDNA 基因测序的结果一致,4 株种属均不一致,有 1 株未能鉴定出来。结论 CMI-3800 MS 与 VITEK 2 Compact 对临床常见病原菌的鉴定结果较一致,但前者通量大、重复性好、操作简便,且在时间和经济成本上明显优于后者,符合对临床微生物鉴定的要求。

关键词:CMI-3800 MS; VITEK 2 Compact; 16SrDNA 基因测序; 病原菌鉴定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.17.012 **中图分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2022)17-2105-06

文献标志码:A

Performance evaluation of a domestic automatic microbial mass spectrometry detection system*LI Shirong, TIAN Yueru, WANG Yuting, LIN Yiqing, GUAN Ming, JIANG Haoqin[△]

Department of Clinical Laboratory, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Abstract: Objective To evaluate the identification ability of common clinical pathogens in a domestic automatic microbiological mass spectrometry detection system. **Methods** A total of 302 non-repetitive strains isolated from different clinical specimens in the hospital from March to May 2021 were collected. CMI-3800 automatic microbial mass spectrometry detection system(CMI-3800 MS) and VITEK 2 compact automatic microbial identification system (VITEK 2 Compact) was used to identify the pathogens. The strains with inconsistent results were confirmed by 16SrDNA gene sequencing. **Results** A total of 297 strains(98.34%) were identified at the genus level and 288 strains(95.36%) at the species level by CMI-3800 MS. A total of 296 strains(98.01%) were identified at the genus level and 277 strains(91.72%) at the species level by VITEK 2 Compact. The results of the two methods showed that 296 strains (98.01%) were consistent at the genus level and 277 strains(91.72%) were consistent at the species level. Among the 25 strains with inconsistent results at the species level, 18 strains were identified by 16SrDNA sequencing. The results showed that 12 strains identified in CMI-3800 MS were completely consistent with 16SrDNA sequencing results at the species level, 4 strains were consistent at the genus level, and the other 2 strains were inconsistent. 13 strains identified in VITEK 2 Compact were consistent with the results of 16SrDNA gene sequencing at the genus level, while 4 strains were inconsistent, and 1 strain could not be identified. **Conclusion** CMI-3800 MS is consistent with VITEK 2 compact in the identification of common clinical pathogens, but the former has large throughput, good repeatability, simple operation, and is significantly better than the latter in terms of time and economic cost, which meets the requirements of clinical microbial identification.

Key words:CMI-3800 MS; VITEK 2 Compact; 16SrDNA gene sequencing; pathogen identification

* 基金项目:上海市公共卫生体系建设三年行动计划(2020-2022 年)重点学科项目建设(GWV-10.1-XK4),上海市 2022 年度第四批应急科技攻关项目(22YJ1901304),上海市青年医学人才类-临床检验项目(SHWS(2020)_087)。

作者简介:李世荣,女,主管技师,主要从事革兰阴性细菌耐药机制方面的研究。△ 通信作者,E-mail:nonyajhq@126.com。

传统对病原菌鉴定的方法需要观察细菌在各种培养基中的菌落形态、颜色、气味、是否溶血等,还需借助革兰染色、氧化酶和触酶等一系列生化反应,不仅操作烦琐,所需时间较长,而且灵敏度和特异度较低,致使临床治疗方案难以及时制订而极大地影响了患者的生存率和病死率^[1]。近些年发展的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)是一项包括微生物在内众多物质的快速鉴定新技术,除了能对不同细菌的种、属准确的鉴定外,还具有快速、方便和成本较低的优势^[2],甚至一度被认为是可替代基因测序的方法^[3]。MALDI-TOF MS 的原理是将标本和基质混合涂抹于金属靶板上,形成的共结晶薄膜,经激光照射后,标本分子获得能量解吸附,基质和标本之间发生了电荷的转移,标本分子获得了质子并成为离子,后者在电场中飞速运动、聚焦,并进入飞行时间探测器。由于离子质荷比与飞行时长的平方比为常数,不同质荷比的离子具有不同的飞行时长,因此可依据获得的质谱图与图谱库进行对比,从而对不同的物质进行鉴别^[4]。CMI-3800 MS 是国内研发的一款质谱鉴定系统,对细菌鉴定性能目前还缺乏相应的数据评估。本文旨在通过利用该检测系统对临床常见 302 株非重复病原菌进行鉴定,客观评估其对临床病原菌鉴定结果的准确性。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集本院 2021 年 3—5 月来自临床不同标本(血液、脑脊液、腹腔积液、尿液、脓液、伤口分泌物和痰等)分离的常见非重复菌株共 302 株,其中革兰阳性菌 88 株,包括葡萄球菌 35 株,肠球菌 21 株,链球菌 24 株,其他 8 株;革兰阴性菌 157 株,包括肠杆菌 86 株,非发酵菌 45 株,其他 26 株;念珠菌 57 株。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922,购自上海市临床检验中心。

1.2 仪器与试剂 CMI-3800 MS 及配套试剂、菌种数据库均购自广州禾信康源医疗科技有限公司;VITEK 2 Compact 鉴定仪;GP 革兰阳性菌鉴定卡、GN 革兰阴性菌鉴定卡、YST 念珠菌鉴定卡、NH 苛氧菌鉴定卡、ANC 厌氧菌棒状杆菌鉴定卡购自法国生物梅里埃公司;沙保弱培养基和血培养琼脂平板均购自上海科玛嘉微生物技术有限公司;35 °C CO₂ 孵箱购自美国赛默飞世尔科技公司;厌氧发生袋购自 OXOID 公司。

1.3 方法

1.3.1 病原菌培养 将收集的菌株从-70 °C 低温冰箱中取出,用 1 μL 一次性接种环以四区划线的方式接种于血琼脂平板。革兰阳性或阴性需氧菌和兼性厌氧菌、念珠菌采用 35 °C CO₂ 孵箱培养 18~24 h,难以生长的细菌可延迟至 2~3 d;厌氧菌放入厌氧发

生袋中密封后放入 35 °C CO₂ 孵箱培养中培养 2~3 d,得到菌落后,为保证菌落必须为纯菌落,再纯分一次,以相同条件培养。

1.3.2 VITEK 2 Compact 鉴定仪鉴定 根据纯菌落形态、革兰染色结果以及简单的生化实验结果选择相对应的细菌鉴定卡上机鉴定。革兰阳性需氧菌采用 GP 细菌鉴定卡、革兰阴性需氧菌采用 GN 细菌鉴定卡、念珠菌采用 YST 细菌鉴定卡、奈瑟菌等苛氧菌采用 NH 细菌鉴定卡、厌氧菌和棒状杆菌采用 ANC 细菌鉴定卡。使用前将卡片和 0.45% 氯化钠(NaCl)溶液从 4 °C 冰箱取出,放室温 15~20 min,充分复温。每根试管中加入 3 mL 0.45% NaCl 溶液配制菌悬液,并用比浊仪测定菌液浓度。将革兰阳性或阴性需氧菌配制成 0.50~0.63 McF 的菌悬液浓度,念珠菌配制成 1.8~2.2 McF 的菌悬液浓度,奈瑟菌等苛氧菌、厌氧菌、棒状杆菌配制成 2.7~3.3 McF 的菌悬液浓度。将配制好的菌悬液依次放在载卡架上,按照操作说明完成上机鉴定。

1.3.3 CMI-3800 MS 鉴定 35 °C CO₂ 孵箱培养 18~24 h 得到纯菌落后,用 1 μL 一次性接种环将校准菌株大肠埃希菌 ATCC25922 均匀涂在靶板的校准点位上,将待测纯菌落均匀涂在测试点位上,涂菌后添加 1 μL 甲酸溶液(FA),干燥后加 1 μL α-萘基-4-羧基肉桂酸(CHCA)基质液,再次干燥后将样品靶放入靶板槽中盖好换样盖板,进靶,设置标准标本和盲样,开始鉴定。病原菌的纳入标准:CMI-3800 MS 鉴定到种的得分>8.00 分,鉴定属的得分>6.00 分;VITEK 2 Compact 鉴定置信度≥89.00%。

1.3.4 鉴定结果不一致标本处理 对于两种方法鉴定不一致的菌株,重新接种平板复测确认,确认不一致的菌株送上海迈浦生物科技有限公司进行 16SrDNA 测序。扩增长度为 1 500 bp,扩增区域为 16S 的全长序列。细菌 16S PCR 的引物为:27F:AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG;1492R:GGT TAC CTT GTT ACG ACT T。测序完成后,在 NCBI 数据库里比对,得到菌株的最终鉴定结果。

1.4 统计学处理 采用 Excel 进行数据处理,计数资料采用例数或百分率表示。

2 结果

2.1 CMI-3800 MS 和 VITEK 2 Compact 对 286 株菌的鉴定 对 302 例菌株标本进行分析,CMI-3800 MS 鉴定到属水平有 297 株,占 98.34%,鉴定到种水平有 288 株,占 95.36%;VITEK 2 Compact 鉴定到属水平有 296 株,占 98.01%,鉴定到种水平有 277 株,占 91.72%。两种仪器检测到属水平一致的为 296 株,占 98.01%,种水平一致的为 277 株,占 91.72%;6 株鉴定结果属不一致,占 1.99%,25 株鉴

定结果种不一致,占 8.28%。

2.2 CMI-3800 MS 和 VITEK 2 Compact 对革兰阳性和阴性菌的鉴定 表 1 与表 2 分别为革兰阳性菌与革兰阴性菌的详情。如表 1 所示,在 88 株革兰阳性菌中, CMI-3800 MS 鉴定到属的为 88 株(100.00%),鉴定到种的为 84 株(95.45%)。

VITEK 2 Compact 鉴定到属的为 86 株(97.73%),鉴定到种的为 79 株(89.77%)。两种方法在属水平一致性为 97.73%,在种水平一致性为 89.77%。

表 1 革兰阳性菌株 (n=88)

菌名	n	菌名	n	菌名	n
金黄色葡萄球菌	13	停乳链球菌	2	山羊葡萄球菌	1
尿肠球菌	9	肺炎链球菌	3	克氏库克菌	1
化脓性链球菌	4	无乳链球菌	3	松鼠葡萄球菌	1
粪肠球菌	6	醇鸡肠球菌	3	星座链球菌	1
溶血葡萄球菌	5	婴儿链球菌	1	口腔链球菌	1
柯氏葡萄球菌	5	嗜热链球菌	2	假肺炎链球菌	1
人葡萄球菌	3	表皮葡萄球菌	1	黏滑罗菌	1
铅黄肠球菌	3	头状葡萄球菌	1	藤黄微球菌	1
腐生葡萄球菌	2	皮氏葡萄球菌	1	路邓葡萄球菌	1
咽颊炎链球菌	2	变异链球菌	1	非发酵棒状杆菌	1
纹带棒状杆菌	2	缓症链球菌	1	假肠膜明串珠菌	1
中间链球菌	2	沃氏葡萄球菌	1	蜡样芽胞杆菌	1

表 2 革兰阴性菌株 (n=157)

菌名	n	菌名	n	菌名	n
肺炎克雷伯菌	22	嗜麦芽窄食单胞菌	2	浅金黄假单胞菌	1
大肠埃希菌	17	阴沟肠杆菌	2	人苍白杆菌	1
鲍曼不动杆菌	14	少动鞘氨醇单胞菌	2	深红沙雷菌	1
铜绿假单胞菌	11	鲁氏不动杆菌	1	类香味菌属	1
黏质沙雷氏菌	6	洋葱伯克霍尔德菌	2	斯氏普罗威登菌	1
产酸克雷伯菌	4	植生拉瓦尔菌	2	琼氏不动杆菌	1
流感嗜血杆菌	5	唐菖蒲伯克赫尔德	2	食酸丛毛单胞菌	1
产气克雷伯菌	4	布氏柠檬酸杆菌	2	奥斯陆莫拉菌	1
奇异变形杆菌	4	黏金黄杆菌	2	水生拉恩菌	1
鼠伤寒沙门菌	3	卡他莫拉菌	2	嗜水气单胞菌	1
福氏志贺菌	3	解甘露醇罗尔斯顿菌	2	摩根摩根菌	1
脆弱拟杆菌	3	臭鼻假单胞菌	2	鞣丸酮丛毛单胞菌	1
雷氏普罗威登斯菌	2	脑膜炎奈瑟菌	3	海藻希瓦菌	1
克氏柠檬酸杆菌	2	弗氏枸橼酸杆菌	1	氧化木糖无色杆菌	1
宋内志贺菌	2	霍氏肠杆菌	1	淋病奈瑟菌	2
产吡喹酮金黄色杆菌	2	赫尔曼大肠埃希菌	1	耐林丹黄杆菌	1
弗氏柠檬酸杆菌	2	甲型副伤寒沙门菌	1	泛菌属	1
金色金黄色微菌	1	人金黄色杆菌	2	—	—

注:—表示无数据。

在 157 株革兰阴性菌中, CMI-3800 MS 鉴定到属的为 154 株(98.09%),鉴定到种的为 148 株(94.27%); VITEK 2 Compact 鉴定到属的为 153 株(97.45%),鉴定到种的为 142 株(90.45%)。两种方法在属水平上一致性为 96.82%,在种水平上一致性为 90.45%。见表 3。

表 3 CMI-3800 MS 和 VITEK 2 Compact 对革兰阳性和阴性菌株的鉴定 (%)

细菌类别	属水平一致	种水平一致
革兰阳性菌	97.73	89.77
革兰阴性菌	96.82	90.45

2.3 念珠菌鉴定结果 57 株念珠菌, CMI-3800 MS 可将 57 株(100.00%)鉴定到属, 57 株(100.00%)鉴定到种; VITEK 2 Compact 可将 57 株(100.00%)鉴定到属, 56 株(98.25%)鉴定到种, 两种方法在种的一致性为 98.25%, 在属的一致性为 100.00%。见表 4。

表 4 念珠菌菌株明细 (n=57)

菌名	n	菌名	n	菌名	n
白念珠菌	22	光滑念珠菌	4	克柔念珠菌	2
热带念珠菌	12	新型隐球菌	3	希木龙念珠菌	1
近平滑念珠菌	11	葡萄牙念珠菌	3	—	—

注:—表示无数据。

2.4 16SrDNA 基因测序 25 株种不一致的标本中(其中包括属不一致 6 株), 有 7 株细菌蛋白质指纹图谱相似, 属于质谱方法学难以区分菌株, 故对其余 18 株属或种不一致的菌株进行 16SrDNA 基因测序鉴定。18 株标本的 16SrDNA 基因测序鉴定结果中有 12 例标本与 CMI-3800 MS 鉴定的种水平完全一致, 4 株样本属水平一致, 其余 2 例种属均不一致; 16SrDNA 基因测序鉴定结果与 VITEK 2 Compact 鉴定结果相比较, 13 株属一致, 4 株种属均不一致, 有 1 例 VITEK 2 Compact 鉴定仪未鉴定出来, 见表 5、6。

表 5 7 株质谱方法学难以区分菌株

VITEK 2 Compact 鉴定仪鉴定结果	CMI3800 MS 鉴定结果	CMI3800 MS 鉴定得分(分)	两种方法一致性分析
鼠伤寒沙门菌	肠道沙门菌肠道亚种	9.18	属一致
霍氏肠杆菌	阴沟肠杆菌	9.74	属一致
鼠伤寒沙门菌	肠道沙门菌肠道亚种	9.20	属一致
宋内志贺菌	大肠埃希菌	9.76	不一致
甲型副伤寒沙门菌	肠道沙门菌肠道亚种	9.53	属一致
鲁氏不动杆菌	博瑞森不动杆菌	9.99	属一致
鼠伤寒沙门菌	肠道沙门菌	9.99	属一致

表 6 18 株菌 3 种方法鉴定结果比较

VITEK 2 Compact 鉴定结果	CMI3800 MS 鉴定结果		VITEK2 Compat 和 CMI3800 MS 一致性分析	16SrDNA 基因测序结果	3 种方法一致性分析
	菌名	得分(分)			
产气克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	9.98	属一致	肺炎克雷伯菌	与 CMI3800 一致
肺炎克雷伯菌	产酸克雷伯菌	9.98	属一致	产酸克雷伯菌	与 CMI3800 一致
沃氏葡萄球菌	溶血葡萄球菌	9.99	属一致	溶血葡萄球菌	与 CMI3800 一致
鲁氏不动杆菌	约氏不动杆菌	9.70	属一致	约氏不动杆菌	与 CMI3800 一致
洋葱伯克霍尔德菌	多噬伯克霍尔德菌	9.99	属一致	多噬伯克霍尔德菌	与 CMI3800 一致
龋齿罗菌	黏滑罗菌	9.58	属一致	黏滑罗菌	与 CMI3800 一致
泛菌属	菠萝泛菌	9.99	属一致	菠萝泛菌	与 CMI3800 一致
耳念珠菌	希木龙念珠菌	9.45	属一致	希木龙念珠菌	与 CMI3800 一致
副血链球菌	中间链球菌	9.99	属一致	中间链球菌	与 CMI3800 一致
唾液链球菌	咽峡炎链球菌	9.95	属一致	咽峡炎链球菌	与 CMI3800 一致
副血链球菌	唾液链球菌	9.30	属一致	婴儿链球菌	均不一致(属一致)
唾液链球菌	口腔链球菌	9.68	属一致	假肺炎链球菌	均不一致(属一致)
戈登链球菌	链球菌	9.50	属一致	咽峡炎链球菌	均不一致(属一致)
耳炎苏黎世菌	非发酵菌棒杆菌	9.40	不一致	非发酵菌棒杆菌	与 CMI3800 一致
缺陷短波单胞菌	耐林丹黄杆菌	9.02	不一致	耐林丹黄杆菌	与 CMI3800 一致
缺陷短波单胞菌	嗜肺军团菌	7.86	不一致	人金黄杆菌	均不一致
少动鞘氨醇单胞菌	鲁氏不动杆菌	8.55	不一致	金色金色微菌	均不一致
未鉴定出	假肺炎链球菌	9.03	不一致	缓症链球菌	均不一致

3 讨 论

MALDI-TOF MS 技术已被证实在耐药性分析和感染控制方面具有广阔的应用前景^[5], 不仅可实现快速的耐药分析, 而且可精确地对传染疾病的病原菌进行诊断^[6]。最近周淑燕等^[7] 用法国生物梅里埃 MALDI-TOF-MS 和 VITEK 2 Compact 对 300 株临床分离的病原菌进行了鉴定, 法国生物梅里埃 MALDI-TOF-MS 鉴定到种水平的菌株有 268 株 (89.33%), 属水平的菌株有 297 株 (99.00%); VITEK 2 Compact 鉴定到种水平有 266 株 (88.67%); 属水平的菌株有 297 株 (99.00%)。本研究用 CMI-3800 MS 与 VITEK 2 Compact 对 302 株菌株进行了分析, CMI-3800 MS 鉴定到属水平有 297 株 (98.34%), 鉴定到种水平有 288 株 (95.36%); VITEK 2 Compact 鉴定到属水平有 296 株 (98.01%), 鉴定到种水平有 277 株 (91.72%)。比较 MALDI-TOF MS 系统检测能力, CMI-3800 MS 检测属水平 (98.34%) 与法国生物梅里埃 MALDI-TOF MS (99.00%) 相仿, 但前者检测种水平 (95.36%) 明显高于后者 (88.67%)。另外, 周淑燕等^[7] 用两种方法鉴定的种属一致性分别为 82.67% 与 98.33%。由此可见, CMI-3800 MS 对细菌检测能力和梅里埃 MALDI-TOF-MS 相当。另外, 本研究两种方法检测

种不一致的 25 株 (其中包括属不一致 6 株) 中, 由于有 7 株细菌的蛋白质指纹图谱十分相似而难以用质谱方法学区分, 为此本文用 16SrDNA 基因测序对 18 株属或种不一致的菌株进行了鉴定。结果表明, 16SrDNA 基因测序确认与 CMI-3800 MS 鉴定种、属水平一致的分别为 12 株 (66.67%) 和 16 株 (88.89%); 16SrDNA 基因测序与 VITEK 2 Compact 鉴定细菌为属一致的有 13 株 (72.22%), 4 株种、属均不一致, 有 1 例菌株为惰性乳杆菌, 其生长速度缓慢, 故 VITEK 2 Compact 未能鉴定出结果。显然, 对少见菌鉴定的成功率和准确程度, CMI-3800 MS 无疑比 VITEK 2 Compact 更胜一筹, 更符合临床对菌株样本检测的需求。

革兰阳性菌和革兰阴性菌为临床常见的细菌。王冰等^[8] 用 Biotyper MS 和 Vitek-MS 对 63 株革兰阳性菌和 83 株革兰阴性菌进行了鉴定, 结果显示两种 MS 系统对革兰阳性菌和革兰阴性菌的种属鉴定率均达 95.00%, 表明 MALDI-TOF MS 质谱检测系统可对它们的种属进行有效的鉴定。在本研究收集的 302 株菌株中, 81.13% (245/302) 的菌株为革兰阳性菌和革兰阴性菌。CMI-3800 MS 对革兰阳性菌种属的鉴定率分别为 95.45% (84/88) 和 100.00% (88/88), 对革兰阴性菌种属的鉴定率分别为 94.27%

(148/157)和 98.09%(154/157);VITEK 2 Compact 对革兰阳性菌种属的鉴定率分别为 89.77%(79/88)和 97.73%(86/88),对革兰阴性菌种属的鉴定率分别为 90.45%(142/157)和 97.45%(153/157)。显然 CMI-3800 MS 对革兰阳性菌和革兰阴性菌鉴定种的能力均高于 VITEK 2 Compact。然而,CMI-3800 MS 对革兰阴性菌中包括大肠埃希菌与志贺菌属、沙门菌群、阴沟杆菌复合群、不动杆菌复合群等未能很好鉴定,除了可能与这些革兰阴性细菌蛋白质指纹图谱相似而难以区分外,亦与 MALDI-TOF MS 数据库中缺乏某些菌属如志贺菌属^[9]的数据有关,因此,在对沙门志贺菌进行鉴定时,一定要辅以血清学试验结果作为最终的鉴定结果^[10]。此外,在本研究中有 1 株人金黄色杆菌和 1 株金色金色微菌也未能被 CMI-3800 MS 检测系统鉴定,其原因可能是数据库里菌株数量过少而无法达到质谱检测灵敏度的要求,或是细菌数据库里未储存该菌种。

分析 CMI-3800 MS 对革兰阳性菌中不同菌属的鉴定能力,对肠球菌属和葡萄球菌属的种属鉴定率均为 100.00%,对链球菌的种属鉴定率则分别为 83.33%(20/24)和 100.00%(24/24),表明 CMI-3800 MS 对链球菌种的鉴定能力相对较弱,这与木尼热·马合苏提等^[11]用 VITEK-MS 对链球菌种的鉴定率(84.80%)十分接近,该文作者认为 MS 对链球菌种的鉴定率之所以比较低的原因可能是与链球菌之间的亲缘关系比较相近或蛋白指纹图谱峰的特征不明显有关,陆丹等^[12]建议,在链球菌的鉴定中,应根据实际情况结合其他辅助方法做出正确判断,如进行奥普托欣敏感试验。

王琦琦等^[13]研究表明,MALDI-TOF MS 可准确鉴定 98.30%的念珠菌,对常见念珠菌鉴定的准确率为 100.00%,而对少见念珠菌的鉴定准确率为 95.70%。本研究 CMI-3800 MS 对 57 株念珠菌种属鉴定率均为 100.00%;而 VITEK 2 Compact 对它们属的鉴定率为 100.00%(57 株),种的鉴定率为 98.25%(56 株)。尽管耳念珠菌与希木龙念珠菌有较近的亲缘关系^[13],但研究表明 MALDI-TOF MS 仍能够准确地区分这两种念珠菌^[14-16],并且 MURO 等^[17]研究还认为,MALDI-TOF MS 对希木龙念珠菌的鉴定比 VITEK 2 Compact 鉴定仪更为精准。在本研究中 VITEK 2 Compact 鉴定仪就是将 1 株希木龙念珠菌鉴定为耳念珠菌,而 CMI-3800 MS 则准确地把这 1 株念珠菌区分了出来。

综上所述,CMI-3800 MS 具有对临床菌株检测准确率高、通量大、重复性好、操作简单和菌种数据库完

善等优势,鉴定每株细菌的耗材成本较低,每日可鉴定微生物高达 3 500 株,可以满足临床实验室对微生物鉴定的需求。

参考文献

- [1] ANGELETTI S, CICCOCCHI M. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical microbiology: an updating review[J]. Infect Genet Evol, 2019, 76(1): 1040-1045.
- [2] HOU T Y, CHIANG-NI C, TENG S H. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology [J]. J Food Drug Anal, 2019, 27(2): 404-414.
- [3] VÁRADI L, LUO J L, HIBBS D E, et al. Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: past, present, and future [J]. Chem Soc Rev, 2017, 46(16): 4818-4832.
- [4] 张雅静, 李劭昱. MALDI-TOF MS 在常规标本病原菌鉴定和细菌耐药性检测中的应用及进展[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(11): 1-7.
- [5] HUANG Y, LI J, WANG Q Y, et al. Rapid detection of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China based on MALDI-TOF MS. [J]. J Microbiol Methods, 2022, 192: 106385.
- [6] 王立琴, 张驰, 李晓东, 等. MALDI-TOF MS 技术在传染病诊断中的应用进展[J/OL]. 中国科学: 生命科学, 1-10 [2022-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5840.Q.20220331.1353.002.html>.
- [7] 周淑燕, 柳丽娟, 卓传尚, 等. 梅里埃 MALDI-TOF-MS 系统与 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪对临床常见病原菌鉴定的一致性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2): 92-96.
- [8] 王冰, 任晓庆, 褚美玲, 等. MALDI-TOF 质谱仪在临床常见细菌鉴定中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(16): 2228-2230.
- [9] NEVILLE S A, LECORDIER A, ZIOCHOS H, et al. Utility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry following introduction for routine laboratory bacterial identification [J]. Clin Microbiol, 2011, 49(8): 2980-2984.
- [10] 陈蓉, 居颺, 刘战民. 3 种鉴定系统在微生物室间质量评价中的应用和比较[J]. 检验医学, 2017, 32(5): 415-420.
- [11] 木尼热·马合苏提, 向阳, 刘涛, 等. 两种细菌鉴定仪对临床分离细菌鉴定结果的对比分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(16): 3604-3606.
- [12] 陆丹, 周雪婷, 陈雨婷, 等. Autof MS 1000 质谱鉴定系统对临床分离病原菌的鉴定能力评价[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(1): 31-35.
- [13] 王琦琦, 李若瑜, 刘伟. 病原性念珠菌规范化检测的进展及其对生物医学转化的启示[J]. 生物医学转化, 2021, 2(2): 24-30.

含 2 165 个碱基,编码 104 个氨基酸,主要表达在结直肠黏膜、胃、卵巢及输卵管等组织^[7]。有研究发现,S100A14 在乳腺癌、宫颈癌等肿瘤中异常表达,并能够促进肿瘤的增殖^[5,15]。本研究中,CRC 组织中 S100A14 的表达显著下调。目前 CRC 中调控 S100A14 表达的机制尚不清楚。ZHANG 等^[16]学者发现,肿瘤中 S100A14 的表达受到非编码 RNA 如微小 RNA-153-5p 的调控,微小 RNA-153-5p 的表达能够降低 S100A14 mRNA 的稳定性,抑制其表达。HE 等^[17]研究发现,在 CRC 中 miR-153-5p 能够通过抑制抑癌基因 Bcl-2 的表达,促进肿瘤细胞耐药性的形成,导致肿瘤进展。推测 CRC 中 S100A4 可能是新的 miR-153-5p 下游靶点,值得深入研究。本研究结果显示,S100A14 的表达与 TNM 分期、肿瘤分化程度有关,表明 CRC 中 S100A14 的表达下调促进肿瘤的进展。SAPKOTA 等^[18]学者报道,S100A14 能诱导肿瘤细胞 G1 期阻滞,S100A14 表达降低后,其 G1 期阻滞能力降低,促进口腔鳞癌细胞的增殖,并且肿瘤抑制蛋白 p53 的功能发挥也依赖于 S100A14,敲低肿瘤细胞中 S100A14 的表达,p53 的抑癌能力也显著下调。进一步研究 S100A14 对 CRC 患者预后的影响,结果显示 S100A14 阴性表达的 CRC 患者预后较差,且 S100A14 阴性表达是 CRC 患者不良预后的危险因素,表明 S100A14 可用于 CRC 的预后判断。

S100A16 是 S100 钙结合蛋白家族成员,参与多种信号通路的调节,如细胞外信号调节激酶、Notch 和核因子 κ B 通路等,并参与染色体重排,与宫颈癌、非小细胞肺癌等恶性肿瘤的发生和进展密切相关^[19-20]。本研究中,CRC 组织中 S100A16 表达降低,可能与 CRC 中 S100A16 的表观遗传学修饰有关。研究表明,S100A16 基因启动子区域的 CpG 岛的高甲基化状态,诱导 S100A16 基因的表达沉默,负性调控 S100A16 表达^[21]。本研究中,CRC 组织中 S100A16 的表达与 TNM 分期、肿瘤分化程度有关。提示 S100A16 的表达降低促进 CRC 的发生、发展。有文献报道^[22],S100A16 一方面通过抑制 JNK/p38 MAPK 信号通路的激活进而抑制肿瘤细胞的增殖,另一方面,S100A16 通过抑制肿瘤细胞的上皮间质转化,抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭等恶性生物学行为^[7]。此外,ZHANG 等^[23]发现,S100A16 通过 PI3K/AKT 通路抑制白血病细胞的细胞增殖,S100A16 的低表达与成人 B 细胞急性淋巴细胞白血病较高的复发率和较短的无复发存活时间相关。本研究中,S100A16 阴性表达的 CRC 患者预后较差,亦表明检测 CRC 组织中 S100A16 的表达有助于患者的预后判断。

本研究中,CRC 中 S100A14 与 S100A16 的表达呈正相关,表明其在 CRC 的发生、发展中可能存在相互协同的生物学功能。TANAKA 等^[24]学者在乳腺癌中发现,S100A14 与 S100A16 在细胞内空间分布上,均以钙非依赖性方式结合定位于细胞质和细胞膜中的肌动蛋白上,两者之间的相互协同作用促进细胞骨架动力学的变化,影响肿瘤细胞的迁移和侵袭能力。但目前 CRC 中两者的具体作用机制有待深入探索。

综上所述,CRC 组织中 S100A14、S100A16 表达降低,两者表达呈正相关。S100A14、S100A16 表达与 TNM 分期、肿瘤分化程度有关,两者共同促进 CRC 的恶性发展。此外,TNM 分期 III 期、S100A14 阴性、S100A16 阴性是影响 CRC 患者预后的危险因素。S100A14、S100A16 可用于评估 CRC 患者生存预后,值得临床深入探索。

参考文献

- [1] DEKKER E, TANISP J, VLEUGELS J, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480.
- [2] 陈琦,程景洪,周芯茹,等. PD-L1 基因多态性与结直肠癌患者奥沙利铂化疗疗效和安全性的相关性研究[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(10): 1828-1832.
- [3] CMOCH A, GROVES P, PALCZEWSKA M, et al. S100A proteins in propagation of a calcium signal in norm and pathology[J]. Postepy Biochem, 2012, 58(4): 429-436.
- [4] ZHANG Y, YANG X, ZHU XL, et al. S100A gene family: immune-related prognostic biomarkers and therapeutic targets for low-grade glioma[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(11): 15459-15478.
- [5] LI X, WANG M, GONG T, et al. A S100A14-CCL2/CXCL5 signaling axis drives breast cancer metastasis[J]. Theranostics, 2020, 10(13): 5687-5703.
- [6] BASNET S, SHARMA S, COSTEA D E, et al. Expression profile and functional role of S100A14 in human cancer[J]. Oncotarget, 2019, 10(31): 2996-3012.
- [7] SAPKOTA D, COSTEA D E, IBRAHIM S O, et al. S100A14 interacts with S100A16 and regulates its expression in human cancer cells[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e76058.
- [8] XUE J, GE X, ZHAO W, et al. PIPKI γ regulates CCL2 expression in colorectal cancer by activating AKT-STAT3 signaling[J]. J Immunol Res, 2019, 20(9): 3690-3701.
- [9] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229-231.
- [10] SONG M, CHAN A T, SUN J. Influence of the Gut Microbiome, Diet, and Environment on Risk of Colorectal Cancer[J]. Gastroenterology, 2020, 158(2): 322-340.

- [11] 王思远,张思懿,王焕强,等. APC 基因甲基化与上消化道肿瘤发病风险关联的 Meta 分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2020,40(8):1235-1240.
- [12] 李震,姚弘虞,王世豪,等. WNT 信号通路在 KRAS 基因突变型结直肠癌中的作用[J]. 郑州大学学报(医学版),2021,56(3):417-422.
- [13] KAGIMOTO A, TSUTANI Y, KUSHITANI K, et al. Serum S100 calcium-binding protein A4 as a novel predictive marker of acute exacerbation of interstitial pneumonia after surgery for lung cancer[J]. BMC Pulm Med, 2021,21(1):186.
- [14] HATOUM D, YAGOUB D, AHADI A, et al. Annexin/S100A protein family regulation through p14ARF-p53 activation;a role in cell survival and predicting treatment outcomes in breast cancer[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169925.
- [15] WANG X, YANG J, QIAN J, et al. S100A14, a mediator of epithelial-mesenchymal transition, regulates proliferation, migration and invasion of human cervical cancer cells [J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(4):1484-1495.
- [16] ZHANG W, LIU K, PEI Y, et al. Long noncoding RNA HIF1A-AS2 promotes non-small cell lung cancer progression by the miR-153-5p/S100A14 axis[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13(6):8715-8722.
- [17] HE Y, ZHANG L, TAN F, et al. miR-153-5p promotes sensibility of colorectal cancer cells to oxaliplatin via targeting Bcl-2-mediated autophagy pathway[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2020, 84(8):1645-1651.
- [18] SAPKOTA D, COSTEA D E, BLØ M, et al. S100A14 inhibits proliferation of oral carcinoma derived cells through G1-arrest[J]. Oral Oncol, 2012, 48(3):219-225.
- [19] TOMIYAMA N, IKEDA R, NISHIZAWA Y, et al. S100A16 up-regulates Oct4 and Nanog expression in cancer stem-like cells of Yumoto human cervical carcinoma cells[J]. Oncol Lett, 2018, 15(6):9929-9933.
- [20] XU Z H, MIAO Z W, JIANG Q Z, et al. Brain microvascular endothelial cell exosome-mediated S100A16 up-regulation confers small-cell lung cancer cell survival in brain [J]. FASEB J, 2019, 33(2):1742-1757.
- [21] OU S, LIAO Y, SHI J, et al. S100A16 suppresses the proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells in part via the JNK/p38 MAPK pathway[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(2):164-173.
- [22] CHEN D, LUO L, LIANG C. Aberrant S100A16 expression might be an independent prognostic indicator of unfavorable survival in non-small cell lung adenocarcinoma [J]. PLoS One, 2018, 13(5):e0197402.
- [23] ZHANG J, LU W Y, ZHANG J M, et al. S100A16 suppresses the growth and survival of leukaemia cells and correlates with relapse and relapse free survival in adults with Philadelphia chromosome-negative B-cell acute lymphoblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2019, 185(5):836-851.
- [24] TANAKA M, ICHIKAWA-TOMIKAWA N, SHISHITO N, et al. Co-expression of S100A14 and S100A16 correlates with a poor prognosis in human breast cancer and promotes cancer cell invasion [J]. BMC Cancer, 2015, 159(11):53.

(收稿日期:2022-01-06 修回日期:2022-04-11)

(上接第 2109 页)

- [14] ARASTEHFAR A, DANESHNIA F, KORD M, et al. Comparison of 21-Plex PCR and API 20C AUX, MALDI-TOF MS, and rDNA Sequencing for a wide range of clinically isolated yeast species: improved identification by combining 21-Plex PCR and API 20C AUX as an alternative strategy for developing countries[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9:21.
- [15] VATANSHENASSAN M, BOEKHOUT T, MEIS J F, et al. Candida auris Identification and Rapid Antifungal Susceptibility Testing Against Echinocandins by MALDI-TOF MS[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019; 9:20.
- [16] VATANSHENASSAN M, BOEKHOUT T, LASS-FLÖR C, et al. Proof of concept for MBT ASTRA, a rapid matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)-based method to detect caspofungin resistance in *Candida albicans* and *Candida glabrata* [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(9): e00420.
- [17] MURO M D, MOTTA F D E A, BURGER M, et al. Echinocandin resistance in two *Candida haemulonii* isolates from pediatric patients [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(11):3783-3785.

(收稿日期:2021-12-26 修回日期:2022-04-18)