

• 论 著 •

MALDI-TOF MS 技术直接鉴定无菌体液病原菌的效果评价*

张鞠玲¹, 康 琳^{2#}, 鲍春梅¹, 王 欢¹, 贾天野¹, 陈素明¹, 庞君丽¹, 李伯安^{1△}

1. 解放军总医院第五医学中心检验科, 北京 100039; 2. 军事科学院军事医学研究院微生物流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071

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)直接鉴定无菌体液病原菌快速、准确的方法。方法 2020 年 6—10 月, 连续收集解放军总医院第五医学中心检验科培养阳性的血液和腹水标本 418 份, 其中血液标本 220 份、腹水标本 198 份。应用 MALDI-TOF MS 对阳性培养瓶进行前处理后直接快速鉴定, 并与 VITEK-2 全自动微生物鉴定及药敏分析仪(简称 VITEK-2)鉴定结果进行比对, 两种方法鉴定结果不同的用分子生物学方法确认。结果 410 份单菌株感染所致的阳性标本中, MALDI-TOF MS 直接鉴定准确率为 98.54%(404/410), VITEK-2 鉴定的准确率为 98.54%(404/410), 两者比较差异无统计学意义($\chi^2=0.085, P>0.05$)。两种方法鉴定结果不同的单菌株共 12 株, 经分子生物学方法确认, MALDI-TOF MS 直接鉴定符合 6 株, 准确率为 50.00%(6/12)。经 MALDI-TOF MS 直接鉴定: 410 株单菌株属、种水平鉴定率分别为 93.17%(382/410)、82.68%(339/410); 244 株革兰阴性菌鉴定准确率为 99.59%(243/244), 属、种水平鉴定率分别为 97.54%(238/244)、89.34%(218/244); 149 株革兰阳性菌鉴定准确率为 97.32%(145/149), 属、种水平鉴定率分别为 87.92%(131/149)、74.50%(111/149); 17 株真菌鉴定准确率为 94.12%(16/17), 属、种水平鉴定率分别为 76.47%(13/17)、58.82%(10/17); 8 株复合菌属、种水平鉴定率分别为 75.00%(6/8)、25.00%(2/8)。结论 应用 MALDI-TOF MS 技术对阳性培养瓶进行直接鉴定, 可有效缩短检测时间, 且结果准确率高, 可作为脓毒症病原菌鉴定的重要手段, 为临床快速、合理选用抗菌药物提供依据。

关键词: 脓毒症; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 无菌体液; 病原菌; 鉴定

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.24.016 **中图法分类号:** R446.5

文章编号: 1673-4130(2022)24-3016-06 **文献标志码:** A

Assessment of direct identification of pathogens from aseptic humoral by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry*

ZHANG Juling¹, KANG Lin^{2#}, BAO Chunmei¹, WANG Huan¹,

JIA Tianye¹, CHEN Suming¹, PANG Junli¹, LI Boan^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100039, China; 2. State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity,

Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100071, China

Abstract: **Objective** To establish and assessment a rapid and accurate method of matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry(MALDI-TOF MS) for the identification of pathogens from aseptic humor. **Methods** A total of 418 culture-positive blood and ascites samples were collected from the clinical laboratory of the Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital from June to October 2020, including 220 blood samples and 198 ascites samples. MALDI-TOF MS was applied to directly and rapidly identify the positive culture bottles, their results was compared with those identified by automatic micro-organism identification and drug sensitivity analyzer(VITEK-2). The different results were verified by the molecular biological methods. **Results** Among 410 positive samples caused by single strain infection, the direct identification accuracy rate of MALDI-TOF MS was 98.54%(404/410), which of VITEK-2 was 98.54%(404/410), and there was no statistically significant difference between them ($\chi^2=0.085, P>0.05$). A total

* 基金项目: 病原微生物生物安全国家重点实验室开放课题(SKLPBS2142)。

作者简介: 张鞠玲, 女, 副主任技师, 主要从事临床病原微生物鉴定及耐药研究。 # 共同第一作者。 △ 通信作者, E-mail: lba@

of 12 different individual strains were identified to different results by the two methods. The molecular biological method confirmed that 6 strains directly identified by MALDI-TOF MS were correct with an accuracy of 50.00% (6/12). In the MALDI-TOF MS direct identification, the genus and species identification rates of 410 strains of single bacterium were 93.17% (382/410) and 82.68% (339/410), respectively. The identification accuracy rate of 244 strains of Gram-negative bacteria was 99.59% (243/244), the genus and species identification rates were 97.54% (238/244) and 89.34% (218/244) respectively. The identification accuracy rate of 149 strains of Gram-positive bacteria was 97.32% (145/149), the genus and species identification rates were 87.92% (131/149) and 74.50% (111/149) respectively. The identification accuracy rate of 17 strains of fungi was 94.12% (16/17), the genus and species identification rates were 76.47% (13/17) and 58.82% (10/17) respectively. The genus and species identification rates of 8 strains of compound bacteria were 75.00% (6/8) and 25.00% (2/8) respectively. **Conclusion** Applying MALDI-TOF MS to directly identify the positive culture bottles could effectively shorten the detection time with high result accuracy, which could serve as an important means for the identification of sepsis pathogens and provide a basis for rapid and reasonable selection of antibacterial drugs in clinic.

Key words: sepsis; matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry; aseptic humoral; pathogenic bacteria; identification

脓毒症是机体对感染反应失调进而引发器官功能障碍、危及生命的疾病^[1]。脓毒症发生率高,全球每年有超过 1 900 万严重脓毒症病例,美国每年有 75 万脓毒症患者,造成超过 21 万人死亡,是危重患者死亡的主要原因^[2]。在临床 ICU,血液感染所致脓毒症的发生率可达到 95%,病死率约为 26%;腹腔感染所致脓毒症的发生率可达到 40%,病死率约为 36%^[3-4]。及时识别病原菌并使用适当的抗菌药物治疗可显著降低脓毒症病死率^[5-6]。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)是近年来关注度较高的鉴定技术,通过采集待检标本中的生物标志物蛋白,得到目标生物的蛋白指纹质谱图,与数据库中标准质谱图进行比对,从而鉴定细菌、真菌及分枝杆菌等,该方法具有快速、准确、高通量、重复性好、灵敏度高等优点^[7-8]。本研究将血液和腹水阳性培养瓶中的病原菌富集后,应用 MALDI-TOF MS 进行直接鉴定,与传统培养法比较菌种鉴定结果的准确性,探讨此方法在脓毒症诊断中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 标本来源 连续收集 2021 年 6—10 月解放军总医院第五医学中心检验科血液、腹水培养报警阳性的标本共 418 份(包括需氧瓶和厌氧瓶)。其中血培养阳性标本 220 份,腹水培养阳性标本 198 份;单菌株感染培养瓶 410 份,混合感染培养瓶 8 份。单菌株感染中革兰阴性菌 244 株,革兰阳性菌 149 株,真菌 17 株。对于同一患者不同部位感染的普通和厌氧培养瓶也同时纳入本研究中。

1.2 仪器与试剂 血平皿(英国 Oxoid 公司)、中国蓝平皿(Oxoid 公司,英国)、沙保弱平皿(英国 Oxoid 公司)、1.5 mL 离心管(美国 Axygen 公司)、 α -氨基-4-

羟基肉桂酸即 HCCA(德国 Bruker 公司)、无水乙醇、乙腈及甲酸(美国 Fisher Scientific 公司),溶血剂(迈瑞南京生物技术有限公司)。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 Microflex LT(德国 Bruker 公司),VITEK-2 全自动微生物鉴定及药敏分析仪(法国梅里埃生物股份有限公司),电热恒温培养箱(上海一恒科技有限公司),高速离心机(美国 Thermo 公司),BACT/ALERT 3D 240 全自动血液培养仪(法国梅里埃生物股份有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 MALDI-TOF MS 检测

1.3.1.1 标本的前处理 (1)含有血细胞阳性瓶的前处理:用 5 mL 无菌注射器从血阳性培养瓶中吸取 2 mL 液体至空白管中,15 000 r/min 离心 3 min,吸取 200 μ L 上清液于 EP 管中,加入 100 μ L 溶血剂振荡混匀 30 s,将混合物 12 000 r/min 离心 3 min 吸去上清液,再加入 700 μ L 蒸馏水振荡混匀 30 s,将混合物 12 000 r/min 离心 3 min 吸去上清液备用。(2)不含血细胞阳性瓶的前处理:从培养瓶中吸取 500 μ L 带菌液体于 EP 管中,将混合物 12 000 r/min 离心 3 min 吸去上清液,加入 700 μ L 蒸馏水振荡混匀 30 s,将混合物 12 000 r/min 离心 3 min 吸去上清液。(3)菌液富集:向留有沉淀的 EP 管中加入 300 μ L 蒸馏水和 900 μ L 无水乙醇振荡混匀 30 s,将混合物 12 000 r/min 离心 3 min 吸去上清液,加入 50 μ L 70%甲酸,再加入 50 μ L 乙腈,振荡混匀 30 s,12 000 r/min 离心 2 min,得到上清液待用。

1.3.1.2 MALDI-TOF MS 鉴定 取 1 μ L 上清液点在 MALDI 靶板上,干燥后表面加入 1 μ L 基质,再次室温干燥后将靶板放入质谱仪中进行蛋白质指纹图

谱的采集。使用 MALDI Biotyper 3.0 软件进行数据分析和比对得出鉴定结果。每株菌点 2 个靶点进行平行检测,取最高评分计入数据统计。

1.3.1.3 MALDI-TOF MS 结果判读 MALDI-TOF MS 系统鉴定分值>2.0 为菌株鉴定结果到种水平可信;分值在 1.7~2.0 为菌株鉴定结果到属水平可信,重新检测或补充实验帮助鉴定;分值<1.7 结果不可信。

1.3.2 病原菌培养与生化鉴定 血培养仪阳性瓶报警后,经涂片、革兰染色、镜检、转种血平皿、中国蓝平皿或厌氧平板,培养 24~48 h,挑取纯菌落,选取合适的鉴定卡用 VITEK-2 鉴定并记录结果。VITEK-2 鉴定结果同 MALDI-TOF MS 直接鉴定结果不同的菌株,送生工生物工程(上海)股份有限公司进行 PCR 测序。

1.3.3 质量控制 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 Microflex LT 和 VITEK-2 全自动微生物鉴定及药敏分析仪均使用大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC25923、白色念珠菌 ATCC14053 和肺炎链球菌 ATCC49619 作为质控菌株,菌株购自美国模式培养物集存库。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件进行数据处理,计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验

和 Fisher 检验。比较 MALDI-TOF MS 与 VITEK-2 菌株鉴定的准确率。准确率=准确鉴定菌株数/菌株总数 $\times 100\%$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MALDI-TOF MS 单一病原菌的直接鉴定 410 份单菌株感染所致的阳性标本中,MALDI-TOF MS 直接鉴定准确率为 98.54%(404/410),VITEK-2 鉴定的准确率为 98.54%(404/410),两者比较差异无统计学意义($\chi^2=0.085, P>0.05$)。革兰阴性菌 MALDI-TOF MS 直接鉴定的准确率为 99.59%(243/244),VITEK-2 鉴定的准确率为 98.77%(241/244),两者比较差异无统计学意义($\chi^2=0.252, P>0.05$)。革兰阳性球菌 MALDI-TOF MS 鉴定的准确率为 97.32%(145/149),VITEK-2 鉴定的准确率为 99.33%(148/149),两者比较差异无统计学意义($\chi^2=0.814, P>0.05$)。17 株真菌 MALDI-TOF MS 直接鉴定的准确率为 94.12%(16/17),VITEK-2 鉴定的准确率为 88.24%(15/17),两者比较差异无统计学意义($P=0.5$)。见表 1。MALDI-TOF MS 和 VITEK-2 鉴定结果不同的单菌株共 12 株,经分子生物学方法确认,MALDI-TOF MS 鉴定准确 6 株,准确率为 50.00%(6/12)。见表 2。

表 1 单菌株感染 MALDI-TOF MS 和 VITEK-2 鉴定结果

病原菌	菌株数 (<i>n</i>)	MALDI-TOF MS 鉴定		VITEK-2 鉴定		χ^2	<i>P</i>
		株数(<i>n</i>)	准确率(%)	株数(<i>n</i>)	准确率(%)		
革兰阴性菌	244	243	99.59	241	98.77	0.252	>0.05
肠杆菌科	235	234	99.57	232	98.72		
大肠埃希菌	105	105	100.00	105	100.00		
肺炎克雷伯菌	80	80	100.00	80	100.00		
产气肠杆菌	12	12	100.00	12	100.00		
阴沟肠杆菌	10	10	100.00	10	100.00		
弗劳地枸橼酸杆菌	4	4	100.00	4	100.00		
产酸克雷伯菌	5	4	80.00	5	100.00		
肠炎沙门菌	5	5	100.00	5	100.00		
豚鼠气单胞菌	8	8	100.00	6	75.00		
维氏气单胞菌	3	3	100.00	2	66.66		
黏质沙雷菌	3	3	100.00	3	100.00		
非发酵菌	9	9	100.00	9	100.00		
铜绿假单胞菌	4	4	100.00	4	100.00		
鲍曼不动杆菌	3	3	100.00	3	100.00		
嗜麦芽窄食单胞菌	2	2	100.00	2	100.00		
革兰阳性球菌	149	145	97.32	148	99.33	0.814	>0.05
葡萄球菌	72	72	100.00	72	100.00		
金黄色葡萄球菌	38	38	100.00	38	100.00		

续表 1 单菌株感染 MALDI-TOF MS 和 VITEK-2 鉴定结果

病原菌	菌株数 (<i>n</i>)	MALDI-TOF MS 鉴定		VITEK-2 鉴定		χ^2	<i>P</i>
		株数(<i>n</i>)	准确率(%)	株数(<i>n</i>)	准确率(%)		
表皮葡萄球菌	10	10	100.00	10	100.00		
溶血葡萄球菌	9	9	100.00	9	100.00		
人型葡萄球菌	9	9	100.00	9	100.00		
头状葡萄球菌	6	6	100.00	6	100.00		
肠球菌	51	51	100.00	50	98.04		
屎肠球菌	35	35	100.00	35	100.00		
粪肠球菌	7	7	100.00	7	100.00		
铅黄肠球菌	6	6	100.00	5	83.33		
鸟肠球菌	2	2	100.00	2	100.00		
鸪鸡肠球菌	1	1	100.00	1	100.00		
链球菌	26	22	84.62	26	100.00		
唾液链球菌	9	7	77.78	9	100.00		
无乳链菌	7	7	100.00	7	100.00		
星座链球菌	3	3	100.00	3	100.00		
肺炎链球菌	2	2	100.00	2	100.00		
副血链球菌	1	1	100.00	1	100.00		
停乳链球菌	2	2	100.00	2	100.00		
缓症链球菌	2	0	0.00	2	100.00		
真菌	17	16	94.12	15	88.24	—	0.5
白色念珠菌	3	3	100.00	3	100.00		
光滑念珠菌	5	5	100.00	5	100.00		
热带念珠菌	4	4	100.00	4	100.00		
葡萄牙假丝酵母菌	1	1	100.00	1	100.00		
季也蒙假丝酵母	1	1	100.00	0	0.00		
萨希毛孢子菌	2	2	100.00	1	50.00		
新型隐球菌	1	0	0.00	1	100.00		
合计	410	404	98.54	404	98.54	0.085	>0.05

注：—表示无数据(该处比较是采用 Fisher 检验)。

表 2 两种方法鉴定结果不同的单菌株分子生物学方法
鉴定情况分析

分子生物学方法确认	菌株数 (<i>n</i>)	MALDI-TOF MS 鉴定		VITEK-2 鉴定	
		株数(<i>n</i>)	准确率(%)	株数 (<i>n</i>)	准确率 (%)
革兰阴性菌	4	3	75.00	1	25.00
产酸克雷伯菌	1	0	0.00	1	100.00
豚鼠气单胞菌	2	2	100.00	0	0.00
维氏气单胞菌	1	1	100.00	0	0.00
革兰阳性球菌	5	1	25.00	4	80.00
铅黄肠球菌	1	1	100.00	0	0.00
唾液链球菌	2	0	0.00	2	100.00
缓症链球菌	2	0	0.00	2	100.00
真菌	3	2	66.67	1	100.00

续表 2 两种方法鉴定结果不同的单菌株分子生物学方法
鉴定情况分析

分子生物学方法确认	菌株数 (<i>n</i>)	MALDI-TOF MS 鉴定		VITEK-2 鉴定	
		株数(<i>n</i>)	准确率(%)	株数 (<i>n</i>)	准确率 (%)
季也蒙假丝酵母	1	1	100.00	0	0.00
萨希毛孢子菌	1	1	100.00	0	0.00
新型隐球菌	1	0	0.00	1	100.00
合计	12	6	50.00	6	50.00

注：表中的准确率是反映两种方法鉴定结果与分子生物学方法确
认结果的相符情况。

2.2 MALDI-TOF MS 直接鉴定分值分布 MAL-
DI-TOF MS 直接鉴定,410 株单菌株鉴定分值>1.7
即鉴定至属水平占 93.17%(382/410),分值>2.0 即

鉴定至种水平占 82.68%(339/410)。其中革兰阴性菌中属、种水平鉴定率分别为 97.54%(238/244)、89.34%(218/244),革兰阳性球菌中属、种水平鉴定率分别为 87.92%(131/149)、74.50%(111/149),真菌中属、种水平鉴定率分别为 76.47%(13/17)、58.82%(10/17)。革兰阴性菌中鉴定分值<1.7 的共 6 株,其中 5 株结果正确(肠炎沙门菌 1 株、嗜麦芽窄食单胞菌 2 株、黏质沙雷菌 2 株),1 株产酸克雷伯菌鉴定不正确。革兰阳性球菌中鉴定分值<1.7 的共 18 株,其中 14 株结果正确(头状葡萄球菌 2 株、肺炎链球菌 2 株、副血链球菌 1 株、唾液链球菌 4 株、星座链球菌 3 株、停乳链球菌 2 株),4 株未鉴定出结果(唾液链球菌 2 株、缓症链球菌 2 株)。真菌中鉴定分值<1.7 的共 4 株,其中 2 株萨希毛孢子菌、1 株葡萄牙假丝酵母菌鉴定分值<1.7,但结果正确,而 1 株新型隐球菌 MALDI-TOF MS 未鉴定出结果。复合菌株中属、种水平鉴定率分别为 75.00%(6/8)、25.00%(2/8),2 株复合菌鉴定分值<1.7,但是结果正确。见表 3。

表 3 418 份阳性标本 MALDI-TOF MS 直接鉴定 分值分布(n)				
病原菌	菌株数	>2.0	1.70~2.0	<1.70
单一菌株	410	339	43	28
革兰阴性菌	244	218	20	6
革兰阳性球菌	149	111	20	18
真菌	17	10	3	4
复合菌株	8	2	4	2
大肠埃希菌/合适柠檬酸杆菌	1	0	1	0
大肠埃希菌/屎肠球菌	2	1	1	0
粪肠球菌/弗劳地枸橼酸杆菌	2	1	1	0
屎肠球菌/豚鼠气单胞菌	1	0	1	0
鞣丸酮丛毛单胞菌/鸟肠球菌	1	0	0	1
光滑念珠菌/豚鼠气单胞菌	1	0	0	1

2.3 时间比较 MALDI-TOF MS 从阳性培养瓶报警、卸载、提取菌液到鉴定出结果需要 30 min,VITEK-2 从阳性培养瓶报警、卸载、标本接种、培养、挑取纯菌落上机到鉴定出结果需要 24~48 h,分子生物学方法经测序鉴定需要 24~48 h。

3 讨 论

脓毒症发病机制复杂,涉及全身多个系统,发病率和病死率居高不下。病程早期难以察觉,常缺乏指向性的临床表现,容易被误诊成局部病灶感染,进而发展成脓毒性休克,识别致病菌并合理选用抗菌药物是脓毒症个体化诊断和精准治疗的关键^[9-10]。MALDI-TOF MS 在微生物病原菌的快速鉴定中发挥着越来越重要的作用^[11-12],目前已报道的 MALDI-TOF MS 直接鉴定的标本种类包括血、脑脊液、尿等^[13-14],

鲜见直接鉴定腹水标本的相关报道。本研究中,腹水和血液培养阳性标本预处理后经 MALDI-TOF MS 直接鉴定准确度高,可为快速诊断由腹水和血液感染所致的脓毒症带来极大的便利。

利用质谱技术直接分析临床标本,其前处理方法至关重要。本研究通过裂解破坏宿主细胞,再经离心收集菌体进行鉴定,溶血剂尝试选择实验室血常规仪器配套试剂,无需其他试剂及耗材,与传统生化 VITEK-2 鉴定方法相比,鉴定符合率高,与王林等^[15]研究结果相同。Bruker Sepsistyper 试剂盒对革兰阴性菌和革兰阳性球菌的鉴定率接近但略低于 LIN 方法^[16-17],但试剂盒成本高且部分试剂采购受限,目前不适合在临床实验室广泛推广。本研究显示,MALDI-TOF MS 直接鉴定革兰阴性菌属、种的准确率最高,其次是革兰阳性球菌、真菌,与张浩然等^[18]报道相同。本研究中,1 株产酸克雷伯菌鉴定不准确,这可能与表层黏液影响有效菌体蛋白的获取有关。链球菌鉴定分值普遍较低,这可能与链球菌生长缓慢,细菌富集量相对较少,细胞壁较厚增加其抗溶解性有关,同时溶解后的血细胞成分也对结果产生了干扰^[19]。新型隐球菌未鉴定出结果,可能与隐球菌细胞壁过厚不易破坏,且离心获得菌量不足导致未获得足够的菌体蛋白谱峰,无法完成质谱分析有关。MALDI-TOF MS 可将两种菌分开鉴定,本研究中复合菌属鉴定率达 75.00%,与侯伟伟等^[20]报道基本一致。通过对现有鉴定方法用时比较,发现 VITEK-2 鉴定单菌株需 24~48 h,MALDI-TOF MS 对单菌株鉴定耗时约 30 min 且可多菌株同时检测,用时最短、操作简便,实验室人员经过培训可独立完成,人为误差较小。

综上所述,本研究利用 MALDI-TOF MS 对血和腹水培养瓶标本进行快速直接鉴定,与传统菌落培养鉴定方法相比较,鉴定准确度高、快速、高效、成本低廉且实用性强,可为脓毒症病原菌的鉴定提供有效、可行的实验室检测手段,适合在临床微生物实验室中进行推广。

参考文献

[1] SINGER M,DEUTSCHMAN C S,SEYMOUR C W,et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. JAMA,2016,315(8): 801-810.

[2] DUGAR S,CHOUDHARY C,DUGGAL A. Sepsis and septic shock: guideline-based management[J]. Cleve Clin J Med,2020,87(1):53-64.

[3] REINHART K,DANIELS R,KISSOON N,et al. Recognizing sepsis as a global health priority-a WHO resolution [J]. N Engl J Med,2017,377(5):414-417.

[4] FLEISCHMANN C,SCHERAG A,ADHIKARI N K,et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations[J].

- Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(3):259-272.
- [5] EVANS L, RHODES A, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign; international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021[J]. Intensive Care Med, 2021, 47(11):1181-1247.
 - [6] FERRER R, MARTIN-LOECHES I, PHILLIPS G, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour; results from a guideline-based performance improvement program[J]. Crit Care Med, 2014, 42(8):1749-1755.
 - [7] PAYNE M, CHAMPAGNE S, LOWE C, et al. Evaluation of the film array blood culture identification panel compared to direct MALDI-TOF MS identification for rapid identification of pathogens[J]. J Med Microbiol, 2018, 67(9):1253-1256.
 - [8] TSUCHIDA S, UMEMURA H, NAKAYAMA T. Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology[J]. Molecules, 2020, 25(20):4775.
 - [9] GUPTA N, RICHTER R, ROBERT S, et al. Viral sepsis in children[J]. Front Pediatr, 2018, 6:252.
 - [10] LIN G L, MCGINLEY J P, DRYSDALE S B, et al. Epidemiology and immune pathogenesis of viral sepsis[J]. Front Immunol, 2018, 9:2147.
 - [11] 冯琳涵, 程强, 刘丁华, 等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在病原菌鉴定中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(14):1-3.
 - [12] ILES R K, ILES J K, ZMUIDINAITE R, et al. A How to Guide: Clinical population test development and authorization of MALDI-TOF mass spectrometry-based screening tests for viral infections[J]. Viruses, 2022, 14(9):1958.
 - [13] TORRES-SANGIAO E, LEAL RODRIGUEZ C, GARCÍA-RIESTRA C. Application and perspectives of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology laboratories[J]. Microorganisms, 2021, 9(7):1539.
 - [14] PADOAN A, BASSO D, ZAMBON C F, et al. MALDI-TOF peptidomic analysis of serum and post-prostatic massage urine specimens to identify prostate cancer biomarkers[J]. Clin Proteomics, 2018, 15:23.
 - [15] 王林, 王媚, 王维. MALDI-TOF-MS 在儿童血流及尿路感染病原菌直接鉴定中的应用[J]. 山西医科大学学报, 2021, 52(1):113-117.
 - [16] MORGENTHAUER N G, KOSTRZEWA M. Rapid identification of pathogens in positive blood culture of patients with sepsis: review and meta-analysis of the performance of the sepsityper kit[J]. Int J Microbiol, 2015, 2015:827416.
 - [17] ZHOU M, YANG Q, KUDINHA T, et al. An improved in-house MALDI-TOF MS protocol for direct cost-effective identification of pathogens from blood cultures[J]. Front Microbiol, 2017, 8:1824.
 - [18] 张浩然, 孙冰清, 徐汀, 等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在病原微生物鉴定中的应用[J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(1):106-109.
 - [19] WANG Y, JIN Y, BAI Y, et al. Rapid method for direct identification of positive blood cultures by MALDI-TOF MS[J]. Exp Ther Med, 2020, 20(6):235.
 - [20] 侯伟伟, 江涟, 李冬. MALDI-TOF MS 直接鉴定血培养阳性病原的临床应用[J]. 检验医学, 2021, 36(4):424-429.
- (收稿日期:2022-09-09 修回日期:2022-11-26)

(上接第 3015 页)

- [2] OFLIVER E. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis[J]. J Hepatol, 2010, 53(3):397-417.
 - [3] SAHINTURK Y, CEKIC B, GORGULUGIL G Z, et al. Cirrhotic Ascites management via procalcitonin level and a new approach B-mode gray-scale histogram[J]. Turk J Gastroenterol, 2015, 27(1):47-54.
 - [4] 陈良云, 朱跃红, 衣展华, 等. 血清降钙素原、C 反应蛋白、中性粒细胞比值联合检测在肝硬化细菌性水诊治中的意义[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(12):2114-2117.
 - [5] 黎倍伶, 钟国涛, 陈金军, 等. 自发性细菌性腹膜炎诊断和治疗现状[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(9):2079-2081.
 - [6] PIOTROWSKI D, SACZEWSKA-PIOTROWSKA A, JA ROSZEWICZ J, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio as the best simple predictor of bacterial infection in patients with liver cirrhosis[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(5):1727.
 - [7] CAI Y J, DONG J J, DONG J Z, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio predicts hospital-acquired bacterial infections in decompensated cirrhosis[J]. Clin Chim Acta, 2017, 469:201-207.
 - [8] 常颖智, 曹杰, 谭卫民, 等. 小野寺预后营养指数在老年结直肠癌患者预后评估中的应用[J]. 中华胃肠外科杂志, 2013, 16(6):561-564.
 - [9] 中华医学会肝病学分会. 肝硬化腹水及相关并发症的诊疗指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(10):1847-1863.
 - [10] JINDAL A, KUMAR M, BHADORIA A S, et al. A randomized open label study of 'imipenem vs. cefepime' in spontaneous bacterial peritonitis[J]. Liver Int, 2016, 36(5):677-687.
 - [11] BENDALL L J, BRADSTOCK K F. G-CSF: from granulopoietic stimulant to bone marrow stem cell mobilizing agent[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2014, 25(4):355-367.
- (收稿日期:2022-01-12 修回日期:2022-10-27)