

Percoll 分离法和 SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS 在快速鉴定血流感染病原菌中的应用

刘沫然 郑玉婷 李红柳 肖钢 杜欣 才奇博

作者单位: 161000 黑龙江齐齐哈尔, 齐齐哈尔医学院附属第三医院检验科(刘沫然、郑玉婷、李红柳、杜欣、才奇博), 肿瘤一科(肖钢)

通信作者: 刘沫然, Email: 47638423@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.04.004

【摘要】 目的 分析细胞分离液 Percoll 分离法和十二烷基硫酸钠(SDS)沉淀法联合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)在快速鉴定血流感染病原菌中的应用。方法 收集 2022 年 1—11 月齐齐哈尔医学院附属第三医院检测的 300 份血培养报警阳性标本(报警时间 < 48 h), 通过 Percoll 分离法和 SDS 沉淀法快速提取血培养阳性病原菌, 并采用 MALDI-TOF MS 法直接鉴定提取物, 将鉴定结果与传统血培养 16~24 h 的结果进行比较。结果 300 份血液标本分离出 210 株革兰阴性(G^-)菌、78 株革兰阳性(G^+)菌、12 株念珠菌。采用 Percoll 分离法鉴定 G^+ 菌、 G^- 菌、念珠菌的鉴定率均明显高于 SDS 沉淀法(G^+ 菌: 92.31% 比 76.92%, G^- 菌: 98.57% 比 90.48%, 念珠菌: 83.33% 比 33.33%, 均 $P < 0.05$)。MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法处理后的 G^+ 菌、 G^- 菌鉴定率均明显高于 SDS 沉淀法处理后的病原菌鉴定率(G^+ 菌: 89.74% 比 64.10%, G^- 菌: 95.71% 比 80.96%, 均 $P < 0.05$)。MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法处理后标本病原菌鉴定率与传统血培养真菌鉴定率比较差异无统计学意义。MALDI-TOF MS 对 SDS 沉淀法处理后的 G^+ 菌、 G^- 菌鉴定率均明显低于传统血培养。结论 Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 可提高血流感染病原菌的鉴定率, 适用于直接鉴定病原菌, 与传统血培养鉴定结果接近, 具有成本低廉、操作简单等优点, 值得推广。

【关键词】 细胞分离法; 十二烷基硫酸钠沉淀法; 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱; 血流感染
基金项目: 黑龙江省齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LSFGG-2022014)

Application of Percoll separation and SDS precipitation combined with MALDI-TOF MS in rapid identification of pathogens of bloodstream infection

Liu Moran, Zheng Yuting, Li Hongliu, Xiao Yin, Du Xin, Cai Qibo. Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China (Liu MR, Zheng YT, Li HL, Du X, Cai QB); Department of Oncology, the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China (Xiao Y)

Corresponding author: Liu Moran, Email: 47638423@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the application of cell separation solution Percoll separation and sodium dodecyl sulfate (SDS) precipitation combined with matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in rapid identification of pathogens of bloodstream infection. **Methods** The 300 positive blood culture samples (alarm time < 48 hours) were collected from the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College from January 2022 to November 2022. Percoll separation method and SDS precipitation method were used to quickly extract the positive pathogens in blood culture, and then MALDI-TOF MS method was used to directly identify the extracts. The results of identification were compared with those of traditional blood culture for 16–24 hours. **Results** The 210 strains of Gram negative (G^-) bacteria, 78 strains of Gram positive (G^+) bacteria and 12 strains of *Candida* were isolated from 300 blood samples. The identification rates of G^+ bacteria, G^- bacteria and *Candida* were significantly higher by Percoll separation than those by SDS precipitation (G^+ bacteria: 92.31% vs. 76.92%, G^- bacteria: 98.57% vs. 90.48%, *Candida*: 83.33% vs. 33.33%, all $P < 0.05$). The identification rates of G^+ and G^- bacteria by MALDI-TOF MS after Percoll separation were significantly higher than those after SDS precipitation (G^+ bacteria: 89.74% vs. 64.10%, G^- bacteria: 95.71% vs. 80.96%, both $P < 0.05$). There was no statistical difference between the identification rate of pathogenic bacteria in the samples treated with Percoll separation method by MALDI-TOF MS and that of traditional blood culture. The identification rates of G^+ and G^- bacteria after SDS precipitation were lower than those by traditional blood culture. **Conclusions** Percoll separation combined with MALDI-TOF MS could improve the rapid identification rate of bloodstream infection, and

is suitable for direct identification of pathogenic bacteria. The results are close to those by traditional blood culture, and have the advantages of low cost and simple operation, so it is worth promoting.

【Key words】 Cell separation; Sodium dodecyl sulfate precipitation method; Matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry; Bloodstream infection

Fund Program: Heilongjiang Qiqihar Science and Technology Plan Joint Guidance Project (LSFGG-2022014)

近年来,由于临床各类侵入性操作的增加以及抗菌药物的不合理应用,会削弱患者机体免疫功能,增加血流感染的发生率^[1]。血流感染具有病情发展迅速且危及生命等特点,会引发机体严重损伤,也是导致重症监护病房(intensive care unit, ICU)患者死亡的重要原因之一,现已引起临床的高度重视与关注^[2-3]。传统血培养鉴定具有易操作、结果准确等优点,但耗费时间较长,细菌培养一般需 16~24 h^[4]。然而对血流感染患者而言,时间就是生命,及早鉴定出病原菌对提高患者存活率具有重要意义。细胞分离液 Percoll 是一种硅胶颗粒,含有乙烯吡咯烷酮,不能穿透生物膜,因此多用于病毒、细菌和细胞分离^[5]。十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)沉淀法利用温和的表面活性剂纯化菌体,去除干扰因素,从而提高细菌鉴定率。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是一种新型的细菌鉴定技术,不仅可以鉴定纯培养的菌落,还可以直接鉴定培养结果为阳性的体液、尿液、血液标本,与传统血培养方法比较,明显缩短了细菌鉴定时间^[6-7]。本研究收集 2022 年 1—11 月齐齐哈尔医学院附属第三医院接收的 300 份血培养报警阳性标本,探讨 Percoll 分离法和 SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS 在快速鉴定血流感染病原菌中的应用价值,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 样本收集 收集 2022 年 1—11 月齐齐哈尔医学院附属第三医院接收的 300 份血培养报警阳性标本(报警时间<48 h),剔除同日同一位患者重复报警的标本。

1.2 仪器与试剂 安图 AUTOF-MS1000 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪购自郑州安图生物工程股份有限公司, BD 9120 全自动血培养仪购自美国 BD 公司, DL96A 全自动微生物鉴定及药敏分析系统购自珠海迪尔生物工程股份有限公司, HF151 细菌培养箱由上海力申科学仪器有限公司提供。SDS 溶液购自北京中诺泰安科技有限公司, Percoll 细胞分离液购自北京索莱宝科技有限公司,中国蓝

琼脂平板和血琼脂平板均购自郑州安图生物工程股份有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 菌种鉴定 将收集的血培养报警阳性标本立即接种到血琼脂平板和中国蓝琼脂平板,在 35 ℃需厌氧环境中培养 16~24 h 后,对单个菌落进行染色镜检,通过 MALDI-TOF MS 对细菌进行直接鉴定。

1.3.2 Percoll 分离法 取 3 mL 0.9% 氯化钠溶液和 3 mL 培养瓶内容物,加入 15 mL 离心管中,混匀后以 1 000 r/min(离心半径为 8 cm)离心 10 min,将上清液移至另一支离心管中,以 5 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 0.4 mL 超纯水,转移至提前加入 2 mL Percoll 液的离心管中,氯化钠溶液与 Percoll 溶液的体积比为 7:3,以 5 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,转移余下的液体至平底 EP 管,以 13 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,重复洗涤 2 次,直至洗涤液清亮。

1.3.3 SDS 沉淀法 取 3 mL 0.9% 氯化钠溶液和 3 mL 培养瓶内容物,加入 15 mL 离心管中,混匀后以 1 000 r/min 离心 10 min,将上清液移至另一支离心管中,加入 1 mL 0.05% SDS 溶液,将管内溶液颠倒混匀,以 5 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 1.5 mL 超纯水,混匀后转移至平底 EP 管,以 13 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,重复洗涤 2 次,洗涤后尽可能排干多余水分。

1.3.4 MALDI-TOF MS 直接鉴定法 取 1 μL 富集菌体,涂布在金属靶板(96 孔)上,在室温环境下干燥处理,加入 1 μL 70% 甲酸,室温环境下干燥处理,加入 1 μL 基质液覆盖,室温环境下干燥处理,将靶板置于 MALDI-TOF MS 质谱仪上,进行细菌鉴定分析,详细记录鉴定结果。

1.3.5 传统血培养鉴定法 将采集的阳性标本接种到中国蓝琼脂平板和血琼脂平板上,在需厌氧环境下孵育 16~24 h,孵育温度为 35 ℃,获得纯菌落后,进行细菌鉴定。

1.4 统计学方法 数据处理采用 SPSS 26.0 软件,计量资料符合正态分布以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Percoll 分离法与 SDS 沉淀法鉴定结果比较

300 份标本中分离出 210 株革兰阴性(Gram negative, G⁻)菌、78 株革兰阳性(Gram positive, G⁺)菌以及 12 株念珠菌。Percoll 分离法对 G⁺ 菌、G⁻ 菌和念珠菌的鉴定率均明显高于 SDS 沉淀法, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 Percoll 分离法与 SDS 沉淀法对菌株的鉴定结果

组别	株数 (株)	Percoll 分离法 [% (例)]		SDS 沉淀法 [% (例)]	
		鉴定	未鉴定	鉴定	未鉴定
G ⁺ 菌	78	92.31 (72)	7.69 (6)	76.92 (60) ^a	23.08 (18)
G ⁻ 菌	210	98.57 (207)	1.43 (3)	90.48 (190) ^a	9.52 (20)
念珠菌	12	83.33 (10)	16.67 (2)	33.33 (4) ^a	66.67 (8)
合计	300	96.33 (289)	3.67 (11)	86.67 (260)	13.33 (40)

注: SDS 为十二烷基硫酸钠, G⁺ 为革兰阳性, G⁻ 为革兰阴性; 与 Percoll 分离法比较, ^a $P < 0.05$

2.2 MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法和 SDS 沉淀法处理后标本的病原菌鉴定结果与传统血培养鉴定结果比较

MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法处理后标本 G⁺ 菌、G⁻ 菌的鉴定率均明显高于 SDS 沉淀法处理后标本病原菌的鉴定率(均 $P < 0.05$)。MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法处理后标本真菌鉴定率与传统血培养鉴定率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。MALDI-TOF MS 对 SDS 沉淀法处理后标本 G⁺ 菌、G⁻ 菌的鉴定率均明显低于传统血培养方法(均 $P < 0.05$)。见表 2。

3 讨论

血流感染是由于各种毒素和病原菌生物侵入人体血液系统而引发的一种血液感染, 脓毒症血流感染是一种较严重的全身感染性疾病, 血液中不断释放大量的毒素和代谢产物, 会加重患者的原发病, 增加病死率^[8-9]。血流感染具有病情进展迅速、病死率高、预后差等特征, 病死率可高达 20% 以上^[10]。快速鉴定血流感染病原菌对患者疾病的早期诊断及治疗具有重要意义。

传统血培养是临床诊断血流感染的“金标准”, 但该方法耗费时间较长, 尤其是对于非典型微生物、苛氧菌等, 诊断时间更长, 不能满足临床诊治需求^[11-12]。实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)、病原菌核酸技术荧光原位杂交虽然也能明确病原菌类型, 但菌种受限于已知类型, 具有对检测人员技术要求高、耗时长、成本高等不足^[13]。MALDI-TOF MS 技术给血流感染的病原菌类型鉴定提供了廉价、高效、可靠的方法。

由于 MALDI-TOF MS 检测法对蛋白的纯度及丰度要求较高, 因此在进行 MALDI-TOF MS 法检测前需要先分离培养物中的菌体, 将血浆蛋白和细胞去除, 最大限度降低对检测结果的干扰^[14-15]。本研究对选定的血液样品在 MALDI-TOF MS 检测前通过 Percoll 分离法和 SDS 沉淀法快速提取血培养阳性病原菌, 结果显示, Percoll 分离法对 G⁺ 菌、G⁻ 菌、念珠菌的鉴定率均明显高于 SDS 沉淀法, 差异均有统计学意义, 表明 Percoll 分离法对提取血培

表 2 MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法和 SDS 沉淀法处理后标本病原菌鉴定结果与传统血培养鉴定结果比较

菌株	株数 (株)	MALDI-TOF MS 鉴定 Percoll 分离法标本 [例 (%)]		MALDI-TOF MS 鉴定 SDS 沉淀法标本 [例 (%)]		传统血培养鉴定 [例 (%)]	
		鉴定	未鉴定	鉴定	未鉴定	鉴定	未鉴定
G ⁺ 菌	78	70 (89.74) ^{ab}	8 (10.26)	50 (64.10) ^a	28 (35.90)	72 (92.31)	6 (7.69)
金黄色葡萄球菌	10	9 (90.00)	1 (10.00)	8 (80.00)	2 (20.00)	9 (90.00)	1 (10.00)
表皮葡萄球菌	10	9 (90.00)	1 (10.00)	6 (60.00)	4 (40.00)	9 (100.00)	1 (10.00)
溶血葡萄球菌	10	9 (90.00)	1 (10.00)	5 (50.00)	5 (50.00)	9 (90.00)	1 (10.00)
腐生葡萄球菌	8	7 (87.50)	1 (12.50)	5 (62.50)	3 (37.50)	8 (100.00)	0 (0.00)
无乳链球菌	8	7 (87.50)	1 (12.50)	5 (62.50)	3 (37.50)	7 (87.50)	1 (12.50)
化脓链球菌	7	6 (85.71)	1 (14.29)	5 (71.43)	2 (28.57)	7 (100.00)	0 (0.00)
屎肠球菌	6	5 (83.33)	1 (16.67)	5 (83.33)	1 (16.67)	5 (83.33)	1 (16.67)
粪肠球菌	5	4 (80.00)	1 (20.00)	3 (60.00)	2 (40.00)	5 (100.00)	0 (0.00)
咽峡链球菌	7	7 (100.00)	0 (0.00)	3 (42.86)	4 (57.14)	7 (100.00)	0 (0.00)
缓症链球菌	4	4 (100.00)	0 (0.00)	3 (75.00)	1 (25.00)	4 (100.00)	0 (0.00)
口腔链球菌	2	2 (100.00)	0 (0.00)	1 (50.00)	1 (50.00)	1 (50.00)	1 (50.00)
产单核李斯特菌	1	1 (100.00)	0 (0.00)	1 (100.00)	0 (0.00)	1 (100.00)	0 (0.00)
G ⁻ 菌	210	201 (95.71) ^{ab}	9 (4.29)	170 (80.96) ^a	40 (19.05)	205 (97.62)	5 (2.38)
大肠埃希菌	44	42 (95.45)	2 (4.55)	40 (90.91)	4 (9.09)	43 (97.73)	1 (2.27)
弗氏枸橼酸杆菌	25	23 (92.00)	2 (8.00)	20 (80.00)	5 (20.00)	25 (100.00)	0 (0.00)
阴沟肠杆菌	27	26 (96.30)	1 (3.70)	23 (85.19)	4 (14.81)	26 (96.30)	1 (3.70)
肺炎克雷伯菌	34	33 (97.06)	1 (2.94)	30 (88.24)	4 (11.76)	33 (97.06)	1 (2.94)
嗜麦芽窄食单胞菌	20	19 (95.00)	1 (5.00)	18 (90.00)	2 (10.00)	19 (95.00)	1 (5.00)
鲍曼不动杆菌	30	28 (93.33)	2 (6.67)	28 (93.33)	2 (6.67)	30 (100.00)	0 (0.00)
铜绿假单胞菌	30	30 (100.00)	0 (0.00)	21 (70.00)	9 (30.00)	29 (96.67)	1 (3.33)
奇异变形杆菌	12	9 (75.00)	3 (25.00)	2 (16.67)	10 (83.33)	10 (83.33)	2 (16.67)
光滑念珠菌	3	2 (66.67)	1 (33.33)	1 (33.33)	2 (66.67)	3 (100.00)	0 (0.00)
近平滑念珠菌	3	3 (100.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (100.00)	3 (100.00)	0 (0.00)
白色念珠菌	6	4 (66.67)	2 (33.33)	1 (16.67)	5 (83.33)	4 (66.67)	2 (33.33)

注: MALDI-TOF MS 为基质辅助激光解析电离飞行时间质谱, SDS 为十二烷基硫酸钠, G⁺ 为革兰阳性, G⁻ 为革兰阴性; 与传统血培养鉴定比较, ^a $P < 0.05$; 与 MALDI-TOF MS 鉴定 SDS 沉淀法标本比较, ^b $P < 0.05$

养阳性病原菌的鉴定率高于 SDS 沉淀法。本研究结果显示, MALDI-TOF MS 对 Percoll 分离法处理后标本的病原菌鉴定率明显高于 SDS 沉淀法处理后标本病原菌鉴定率,表明将 MALDI-TOF MS 法与 Percoll 分离法结合可提高对病原菌的鉴定率,鉴定结果与传统血培养鉴定结果较接近。分析原因可能是 SDS 沉淀法在提取和鉴定病原菌的过程中,虽然使用的 SDS 溶液浓度较低,但仍会影响脆弱拟杆菌等部分 G⁻ 菌的形态结构,导致 SDS 沉淀法检测的部分 G⁻ 菌发生黏液化,从而导致病原菌聚集成团,最终降低鉴定诊断的准确度^[16-17]。SDS 沉淀法处理后病原菌的鉴定率降低,考虑可能与部分细菌的细胞壁结构不同有关, G⁻ 菌与 G⁺ 菌比较细胞壁更薄,含有大量蛋白质及脂类物质,因此,洗涤过程中更易被 SDS 溶液破坏。虽然与 SDS 沉淀法比较, Percoll 分离法提高了鉴定率,但该方法也存在一定不足,如增加了洗涤过程的复杂性,在洗涤过程中容易丢失部分菌体^[5]。MALDI-TOF MS 检测法步骤更简便,结果更精确,对经 Percoll 分离法处理的标本进行鉴定时,可更加直接、快速、准确地鉴定病原菌类型,提高鉴定结果与传统血培养鉴定结果的符合率,为血流感染患者的早期诊断与治疗提供了科学的参考依据,具有较强的实用性^[18-19]。梁林等^[20]研究表明, Percoll 分离法结合 MALDI-TOF MS 对 G⁻ 菌的鉴定率(84.5%)明显高于 SDS 沉淀法结合 MALDI-TOF MS(60.6%),与本研究结果接近,验证了 Percoll 分离法结合 MALDI-TOF MS 在血流感染病原菌的快速鉴定中鉴定率更高。

综上所述,将 Percoll 分离法结合 MALDI-TOF MS 应用于血流感染病原菌的快速鉴定中,可提高鉴定率,鉴定结果与传统血培养鉴定结果接近,符合率较高,因此临床实用价值较高,值得推广、参考、借鉴,给更多血流感染患者的早期诊治带来福音。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 BASSETTI M, ECHOLS R, MATSUNAGA Y, et al. Efficacy and safety of cefiderocol or best available therapy for the treatment of serious infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CREDIBLE-CR): a randomised, open-label, multicentre, pathogen-focused, descriptive, phase 3 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21 (2): 226-240. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30796-9.
- 2 吴婷婷, 张晓慧, 陆燕飞, 等. 肠球菌血流感染临床特征及预后危险因素分析 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2022, 22 (3): 265-270. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2022.03.004.
- 3 许雨乔, 宋为娟, 夏文颖, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌血流感染死亡患者临床特征及危险因素分析 [J]. *中国感染与化疗杂*

- 志, 2022, 22 (1): 8-12. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2022.01.002.
- 4 刘泉波, 郑锐. 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌血流感染 41 例临床特征及发生危险因素分析 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2021, 21 (4): 388-393. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2021.04.002.
- 5 肖剑梅, 何韦韦, 王昊亮, 等. Percoll 离心结合免疫磁珠分选的方法从外周血分离单核细胞 [J]. *免疫学杂志*, 2021, 37 (5): 454-460. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20210063.
- 6 吴思颖, 王晓庆, 刘山泉, 等. MALDI-TOFMS 快速鉴定耐万古霉素屎肠球菌及其流行病学分型性能分析 [J]. *检验医学*, 2020, 35 (5): 470-475. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2020.05.017.
- 7 宗来斌, 吕火焯. MALDI-TOF MS 技术在侵袭性丝状真菌快速鉴定中的应用 [J]. *中国微生态学杂志*, 2022, 34 (3): 289-294. DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202203008.
- 8 EICHENBERGER E M, de VRIES C R, RUFFIN F, et al. Microbial cell-free DNA identifies etiology of bloodstream infections, persists longer than conventional blood cultures, and its duration of detection is associated with metastatic infection in patients with *Staphylococcus aureus* and Gram-negative bacteremia [J]. *Clin Infect Dis*, 2022, 74 (11): 2020-2027. DOI: 10.1093/cid/ciab742.
- 9 李珊, 王艳玲, 黄冬林, 等. 血必净通过调控自噬减轻脓毒症炎症反应和肺损伤的实验研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2022, 29 (4): 412-416. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.04.006.
- 10 肖科, 罗瑜, 赵东霞, 等. 获得性免疫缺陷综合征合并真菌性血流感染临床特点及预后分析 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20 (1): 18-22. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2020.01.003.
- 11 黄宇, 张志华, 郝长来. 二代测序在 1 例肝脓肿合并血流感染患者病原体检测中的应用 [J]. *河北医学*, 2020, 26 (4): 702-704. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2020.04.041.
- 12 石江龙, 程娜, 向天新, 等. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌血流感染的危险因素及预后的评估指标 [J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20 (12): 1082-1087. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20218185.
- 13 杜芳玲, 魏丹丹, 梅艳芳, 等. 重症医学科血流感染耐碳青霉烯类高黏液型肺炎克雷伯菌的临床及分子特征 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20 (2): 181-186. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2020.02.013.
- 14 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. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30477-1.
- 15 李蓉蓉, 方亚平, 李亚娟, 等. 利用 MALDI-TOF MS 检测鲍曼不动杆菌对替加环素耐药性的研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55 (4): 540-544. DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.011.
- 16 吴天鸽, 黄文君, 冯嘉轩. 三氯醋酸/丙酮沉淀法与硫酸铵沉淀法去除血浆高丰度蛋白效果的对比研究 [J]. *重庆医学*, 2020, 49 (23): 3876-3879. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2020.23.003.
- 17 黄欢, 宁洪鑫, 姚薛超, 等. 基于分子动力学的十二烷基硫酸钠对黄酮醇糖苷增溶作用及对体内药动学的影响 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44 (1): 25-30. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.01.004.
- 18 余佳佳, 李媛睿, 刘瑛. SDS 和 SAP 前处理联合 MALDI-TOF MS 在报阳血培养样本快速病原菌鉴定中的价值 [J]. *检验医学*, 2021, 36 (8): 864-868. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2021.08.018.
- 19 李进, 黎敏, 鲁卫平. MALDI-TOF MS 技术对 VIM 型和 SPM 型金属酶铜绿假单胞菌的检测分析 [J]. *第三军医大学学报*, 2020, 42 (16): 1663-1669. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202003323.
- 20 梁林, 幸雯, 张京, 等. Percoll 分离法联合 MALDI-TOFMS 直接鉴定血培养专性厌氧菌阳性标本的应用价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42 (19): 2324-2328. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.006.

(收稿日期: 2022-11-22)

(本文编辑: 邵文)