

· 论著 · 系统性疾病 ·

MALDI-TOF MS在快速鉴定血流感染病原菌中的应用*

陈俊 周成英* 侯祺敏 朱丽 王燕

兴义市人民医院医学检验科(贵州 兴义 562400)

【摘要】目的 评估基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)快速鉴定经固体培养基短培养时间的阳性血培养物中的病原菌的准确性,为临床早期诊断血流感染及合理用药提供依据。**方法** 收集 2024年1月至2025年1月贵州省兴义市人民医院分离的血培养阳性菌株112株,分别在短培养后(3h、4h、5h、6h、8h),用MALDI-TOF MS进行鉴定,并与传统24小时培养方法进行比较分析。**结果** 在转种培养3h、4h、5h、6h、8h时,50份革兰阳性菌的成功鉴定率分别为14份(28.0%)、21份(42.0%)、27份(54.0%)、35份(70.0%)、47份(94.0%);62份革兰阴性菌的鉴定率分别为50份(80.64%)、56份(90.32%)、58份(93.54%)、62份(100.0%)、62份(100.0%)。**结论** 短培养联合MALDI-TOF MS可显著缩短病原菌的鉴定时间,提高血流感染患者的治疗成功率,且准确性高、操作简便、成本低廉,适合临床微生物室常规开展。

【关键词】 血流感染;基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱;快速鉴定;准确性

【中图分类号】 R446

【文献标识码】 A

【基金项目】 贵州省黔西南州科学技术局(医学科研联合项目,项目编号2023-3-53)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2026.6.060

Application of MALDI-TOF MS in Rapid Identification of Pathogens Causing Bloodstream Infections*

CHEN Jun, ZHOU Cheng-ying*, HOU Qi-min, ZHU Li, WANG Yan.

Department of Medical Laboratory, Xingyi People's Hospital, Xingyi 562400, Guizhou Province, China

Abstract: Objective To evaluate the accuracy of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in rapidly identifying pathogens in positive blood cultures after short-term solid medium cultivation, providing evidence for early clinical diagnosis of bloodstream infections and rational drug use. **Methods** A total of 112 positive blood culture isolates collected from Xingyi People's Hospital, Xingyi City, Guizhou Province, from January 2024 to January 2025 were subjected to short-term cultivation (3h, 4h, 5h, 6h, 8h) followed by identification using MALDI-TOF MS. The results were compared with those obtained using the traditional 24-hour cultivation method. **Results** At 3h, 4h, 5h, 6h, and 8h post-inoculation, the successful identification rates for 50 Gram-positive bacteria were 14 (28.0%), 21 (42.0%), 27 (54.0%), 35 (70.0%) and 47 (94.0%) respectively; for 62 Gram-negative bacteria, the identification rates were 50 (80.64%), 56 (90.32%), 58 (93.54%), 62 (100.0%), and 62 (100.0%) respectively. **Conclusion** The combination of short-term solid-phase cultivation with MALDI-TOF MS significantly reduces the time required for pathogen identification, enhances the treatment success rate for patients with bloodstream infections, and offers advantages such as high accuracy, ease of operation, and low cost, making it suitable for routine implementation in clinical microbiology laboratories.

Keywords: Bloodstream Infection; Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry; Rapid Identification; Accuracy

世界范围内,随着侵入性诊疗技术的广泛开展以及广谱抗菌药物、激素的广泛应用,血流感染(BSI, blood stream infection)的发病率有逐年增高趋势^[1-2]。BSI被认为是最严重的医院感染之一,病死率从20%~50%不等^[3]。根据《血流感染临床检验路径专家共识》^[4]、《儿童血培养规范化标本采集的中国专家共识》^[5],血培养是临床微生物实验室最重要的检查之一,是诊断血流感染的“金标准”。临床研究发现,BSI可快速引起患者发生感染性休克,每延迟1h采取有效治疗措施就会使患者的存活率平均降低7.6%^[6]。传统的血培养从仪器报阳到发出报告需要1~2d的时间,这也是患者死亡率居高不下的关键原因^[3]。因此,尽早确定血流感染患者的致病菌并选择合适的抗菌药物进行强化治疗具有重要意义^[7]。

如何快速、有效、简便易操作地进行血培养鉴定,成为临床微生物研究中的热点问题。既往有诸多研究针对如何缩

短血培养检测时间,如采用分子生物学方法对阳性血培养瓶内致病菌直接进行基因检测^[8-9],但该方法成本较高、需另外购置仪器、操作繁琐,因此未在临床工作中推广。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱是近年发展起来的一种新型技术,能简单和高效地测得细菌肽质量指纹谱(peptide mass fingerprinting, PMF),以数据库查询识别的方式对蛋白质组学进行鉴定,可以大大缩短病原菌鉴定时间,为临床提供快速、准确的治疗依据。当前,国内外学者曾尝试使用细胞裂解法和分离胶促凝管辅助法等对阳性培养物进行处理后再进行质谱仪鉴定,以提高鉴定成功率及缩短鉴定时间,但存在操作繁琐、需另外购买试剂等问题,未得到推广使用。本研究拟采用MALDI-TOF MS技术结合短时固相培养法,在培养瓶报阳后立即转种平板进行培养,在培养后(3h、4h、5h、6h、8h)内分别对病原菌进行鉴定,并将鉴定结果与传统方法进行比较分

【第一作者】 陈俊,女,副主任医师,主要研究方向:血流感染病原菌分析。E-mail: 1017739042@qq.com

【通讯作者】 周成英,女,副主任技师,主要研究方向:临床医学检验。E-mail: 28119653@qq.com

析，评估快速鉴定的准确性，以期BSI早期实验室诊断并实施精准治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2024年1月至2025年1月，贵州省兴义市人民医院收集的112株血培养阳性菌株，其中革兰阳性菌50株，革兰阴性菌62株。

1.2 仪器与试剂 采用Bact/Alert 3D 120全自动血培养仪及配套血培养瓶(法国生物梅里埃公司)，MALDI-TOF MS及其配套基质液(美国布鲁克公司)，VITEK-2 Compact全自动细菌鉴定分析系统及鉴定卡(法国生物梅里埃公司)。培养基均购自郑州安图生物科技有限公司。

1.3 质控菌株选择 霍氏肠杆菌ATCC700323，嗜麦芽窄食单胞菌ATCC17666、腐生葡萄球菌ATCC BAA-750、大肠埃希菌ATCC25922、金黄色葡萄球菌ATCC25923、白假丝酵母菌ATCC14053，质控菌株均购自美国菌种保藏中心。

1.4 标本采集及送检 严格按无菌要求采集静脉血，成人8~10mL/瓶，儿童1~4mL/儿童瓶，于寒战、发热初期患者(接受抗菌药物治疗或下次使用前)，采集后立即常温送检。

1.5 培养方法 采血后的血培养瓶立即放入血培养仪，对报警阳性标本立即转种血平板、麦康凯及巧克力平板并放于5%CO₂培养箱中进行培养，同时进行涂片革兰染色镜检后电

话通知临床镜检结果，进行一级报告。分别在培养后3h、4h、5h、6h、8h使用MALDI-TOF MS进行鉴定，并与24h传统方法对比。

1.6 统计学方法 采用WHONET 5.6软件进行数据分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，计数资料采用卡方检验，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 革兰阳性菌及革兰阴性菌不同时间点总鉴定率 革兰阴性菌在3h鉴定率为80.0%，6h后达100.0%；革兰阳性球菌3h鉴定率为20.0%，5h达54.0%，8h为94.0%。两者差异有统计学意义(P<0.05)，菌株各时间点的总鉴定率情况见表1。

2.2 革兰阴性菌在不同时间点的鉴定率 肠杆菌科细菌3h鉴定率为88.89%，4h为94.44%，5h为98.14%；非发酵菌3h鉴定率为25.0%，4h、5h均为62.50%，6h、8h均为100%。各种革兰阴性菌在不同时间点的鉴定率情况，见表2。

2.3 革兰阳性球菌在不同时间点的鉴定率 葡萄球菌属3h鉴定率为26.67%，4h为40.0%，8小时为93.33%，链球菌属3h鉴定率为50.0%，4h为75.0%，5h、6h、8h链球菌属鉴定率均为100%。革兰阳性球菌在不同时间点的鉴定率情况，见表3。

表1 革兰阳性菌和革兰阴性菌在各个时间点的总鉴定率[n(%)]

细菌种类	成功鉴定率(鉴定分值≥1.8)	细菌种类	成功鉴定率(鉴定分值≥1.8)
革兰阴性菌(n=62)		革兰阳性球菌(n=50)	
3h	50(80.64)	3h	14(28.00)
4h	56(90.32)	4h	21(42.00)
5h	58(93.54)	5h	27(54.00)
6h	62(100)	6h	35(70.00)
8h	62(100)	8h	47(94.00)
24h	62(100)	24h	51(100)

表2 各种革兰阴性菌在不同时间点的鉴定率[n(%)]

病原菌	3h	4h	5h	6h	8h	24h
肠杆菌科	48(88.89)	51(94.44)	53(98.14)	54(100)	54(100)	54(100)
大肠埃希菌	30(93.75)	31(96.87)	32(98.14)	32(100)	32(100)	32(100)
肺炎克雷伯菌	18(90.00)	19(95.00)	20(100)	20(100)	20(100)	20(100)
泛菌属	0(0)	1(50)	1(50)	2(100)	2(100)	2(100)
非发酵菌	2(25.0)	5(62.50)	5(62.50)	8(100)	8(100)	8(100)
铜绿假单胞菌	2(50.0)	3(75.0)	3(75.0)	4(100)	4(100)	4(100)
鲍曼不动杆菌	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)
医院不动杆菌	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)
嗜麦芽窄食单胞菌	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)
人苍白杆菌	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)

表3 各种革兰阳性菌在不同时间段的鉴定率[n(%)]

病原菌	3h	4h	5h	6h	8h	24h
葡萄球菌属	12(26.67)	18(40.0)	23(51.11)	30(66.67)	42(93.33)	45(100)
人葡萄球菌	3(23.07)	3(23.07)	3(23.07)	5(38.46)	11(84.61)	13(100)
金黄色葡萄球菌	4(50.0)	7(87.5)	8(100)	8(100)	8(100)	8(100)
表皮葡萄球菌	1(10.0)	2(20.0)	3(30.0)	6(60.0)	10(100)	10(100)
头状葡萄球菌	4(50.0)	7(87.5)	8(100)	8(100)	8(100)	8(100)
溶血葡萄球菌	0(0)	0(0)	1(33.33)	2(66.67)	3(100)	3(100)
模仿葡萄球菌	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)	2(100)	2(100)	2(100)
沃氏葡萄球菌	0(0)	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)	2(100)	2(100)
腐生葡萄球菌	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)
山羊葡萄球菌	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)
科氏葡萄球菌	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)
链球菌属	2(50.0)	3(75.0)	4(100)	4(100)	4(100)	4(100)
尿肠球菌	2(66.67)	3(100)	3(100)	3(100)	3(100)	3(100)
无乳链球菌	0(0)	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)

3 讨论

血流感染是临床常见的严重感染性疾病，其发病率和病死率较高，早期诊断和合理使用抗菌药物对降低病死率至关重要，传统血培养方法耗时长，不能满足临床尽快明确病原菌的需求。既往针对如何缩短血培养报告时间的诸多研究，因存在成本高、操作繁琐、需另外购买试剂等问题，临床未推广使用^[9-10]。

本研究目的是寻找一种既可缩短阳性血培养结果报告时间，又避免额外增加试剂成本和人力成本的方法。张小云等^[11]研究表明革兰阴性菌转种培养4h、革兰阳性菌转种培养6h后进行生化鉴定是可行的,为进一步探讨转种后最佳鉴定时间，本研究对这2个时间点做了一个前后的扩展,确定了3h、4h、5h、6h、8h这5个时间点。研究结果显示，革兰阴性菌3h鉴定成功率为80.64%，6h达100.0%，革兰阴性菌感染占血流感染病原菌的70~75%不等^[12-13]，故对于大部分血流感染患者，本研究较既往研究提前1h出结果；革兰阳性球菌3h鉴定成功率为28.0%，5h达54.0%，8h达94.0%，结果与吕婕等^[14]研究结果相近；但对于革兰阳性球菌，本研究6h鉴定成功率为70.0%，较吴富炜等^[15]研究中6h鉴定率为87.0%稍低，考虑不同品牌质谱仪和血培养瓶所带来的差异。

另外，该方法对多重菌株感染和生长缓慢的病原菌(如真菌、苛养菌)不适用，且可能受到血细胞干扰，这也是质谱鉴定技术本身的局限性，故鉴定结果必须结合患者病情及一级报告内容综合分析。

综上所述，短时固相培养结合MALDI-TOF MS技术可用于血培养阳性标本的快速鉴定，具有准确性高、成本低廉、操作简便的优点，可显著缩短病原菌鉴定时间，提高血流感染患者的治疗成功率，适合临床微生物室常规开展。

参考文献

[1] 李國菲, 杨勇, 邓湘辉, 等. 不同细菌性血流感染所致脓毒症患者血清PGE2、S1P1和sTREM-1的表达及预后评估价值[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 8(1): 35-39.

[2] 纪日欢, 周小平, 乌司他丁联合美罗培南对脓毒血症病原菌清除率及炎症指标的影响[J]. 罕少疾病杂志, 2024, 31(7): 133-135.

[3] 李程. 降钙素原联合血常规相关指标在血流感染中的应用价值[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(11): 1573-1576.

[4] 上海市微生物学会临床微生物专业委员会, 上海市医学会检验医学专科分会, 上海市医学会危重病专科分会. 血流感染临床检验路径专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2022, 40(8): 457-475.

[5] 中国医师协会检验医师分会儿科疾病检验医学专家委员会. 儿童血培养规范化标本采集的中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(5), 547-552.

[6] 杨瑞, 张雨. 血清Lac和NT-proBNP联合检测对ICU脓毒血症患者预后评估价值分析[J]. 罕少疾病杂志, 2023, 30(12): 94-96.

[7] 王鑫, 崔娜, 赵丽丽, 等. 急性胰腺炎患者中心静脉导管相关血流感染的影响因素[J]. 河南医学研究, 2023, 32(14): 2521-2524.

[8] 赵子今, 滑少为, 赵萌, 等. 分子检测技术在血流感染病原学诊断中的研究进展[J]. 疾病监测, 2024, 39(10): 1314-1322.

[9] 孙坤, 王海江, 张恒. 实时荧光PCR应用于临床血流感染的病原诊断价值[J]. 中国校医, 2024, 38(7): 542-544.

[10] 范宁, 段雪红, 杨瑜, 等. 血培养阳性标本分离胶促凝管联合SDS前处理与固体培养基短时培养菌膜应用MALDI-TOF MS快速鉴定最佳时间探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(5): 132-138.

[11] 张小云, 李前辉, 林涛, 等. MALDI-TOF MS在血流感染快速鉴定病原菌中的应用[J]. 中国现代医生, 2023, 61(1): 85-89.

[12] 阮真, 毛隆春, 费凌, 等. 重庆某三甲医院血培养阳性的特征分析[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(6): 793-799.

[13] 罗艺兵, 张建刚, 付蕾, 等. 南宁某医院2020年—2023年血培养分离细菌分布及耐药性分析[J]. 国外医药(抗生素分册), 2025, 46(1): 59-64.

[14] 吕婕, 闫文萍, 牛莉莉. MALDI-TOF MS技术在快速鉴定革兰阴性杆菌血流感染中的应用[J]. 实用检验医师杂志, 2022, 14(1): 59-62.

[15] 吴富炜, 王圆圆, 杨靖嫻. 短时固相培养法联合MALDI-TOF MS快速鉴定含活性炭阳性血培养标本[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(12): 2176-2180.

(收稿日期: 2025-04-12)
(校对编辑: 李清芸)
(排版编辑: 刘淮嘉)