

DOI:10.13350/j.cjpb.250113

• 论著 •

# 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\*

肖钢<sup>1</sup>, 刘沫然<sup>2\*\*</sup>

(1. 齐齐哈尔医学院附属第三医院肿瘤一科, 黑龙江齐齐哈尔 161000; 2. 齐齐哈尔医学院附属第三医院检验中心)

**【摘要】** **目的** 探讨医院血流感染病原菌种类及基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TOF MS) 技术在病原菌快速识别中的应用。 **方法** 收集 2022-2023 年本院血流感染患者的血培养阳性标本 234 份, 对分离出的病原菌进行种类鉴定及药敏试验。通过细胞分离液 (Percoll 液) 密度梯度离心法 (简称 Percoll 分离法) 与十二烷基硫酸钠 (SDS) 沉淀法联合 MALDI-TOF MS 法直接鉴定提取物, 将鉴定结果与传统血培养结果进行比较, 对比两种不同前处理方式联合 MALDI-TOF MS 对病原菌的鉴定效率。 **结果** 在 234 份血培养阳性标本中, 主要分离自消化科病房 (21.37%, 50/234), 其次为呼吸科病房 (14.10%, 33/234)。从 234 份血培养阳性标本中分离出 234 株病原菌, 包括 177 株革兰阴性菌 (75.64%) 和 57 株革兰阳性菌 (24.36%)。在革兰阴性菌中, 大肠埃希菌 103 株 (44.02%), 占比最高, 其次为肺炎克雷伯菌 44 株 (18.80%)。革兰阳性菌中, 金黄色葡萄球菌 23 株 (9.83%), 占比最高, 其他菌株数量较少。大肠埃希菌对氨苄西林/舒巴坦、头孢呋辛、环丙沙星、左氧氟沙星、复方新诺明、庆大霉素耐药率超 50%, 对哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、阿米卡星耐药率低于 10%。肺炎克雷伯菌对头孢呋辛、环丙沙星耐药率超 50%, 对哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、阿米卡星耐药率低于 10%。两者对氨苄西林/舒巴坦、复方新诺明、庆大霉素耐药率差异显著 ( $P < 0.05$ ), 而对其他抗生素耐药率差异不显著 ( $P > 0.05$ )。金黄色葡萄球菌对青霉素 G 等耐药率超 50%, 对莫西沙星等耐药率较低, 未发现对利奈唑胺、万古霉素耐药。与传统培养法对比, Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的准确率为 93.59%, 革兰阴性菌鉴定结果准确率为 94.92%, 革兰阳性菌鉴定结果准确率为 89.47%。SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的准确率为 76.5%, 革兰阴性菌鉴定结果准确率为 80.23%, 革兰阳性菌鉴定结果准确率为 64.91%。Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的病原菌的准确率显著高于 SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS, 其中对革兰阴性菌、革兰阳性菌、肺炎克雷伯菌、人葡萄球菌的鉴定准确率差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。 **结论** 本研究血流感染阳性标本主要分离自消化科病房, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主要病原菌, 其耐药性监测显示对常见抗生素存在不同程度耐药。Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的病原菌的准确率显著优于 SDS 沉淀法, 为临床快速、准确诊断血流感染提供了有力支持。

**【关键词】** 血流感染; 病原菌; 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

**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2025)01-0071-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2025 Jan.; 20(01):71-76.]

## Distribution and composition of pathogenic bacteria causing bloodstream infections in a hospital and analysis of the value of MALDI-TOF MS in rapid identification of pathogenic bacteria

XIAO Yin<sup>1</sup>, LIU Moran<sup>2</sup> (1. The Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University, Department of Medical Oncology, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China; 2. Test Center, The Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University)\*\*\*

**【Abstract】** **Objective** To explore the types of pathogenic bacteria causing bloodstream infections in a hospital and the application of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) technology in the rapid identification of pathogenic bacteria. **Methods** A total of 234 positive blood culture specimens from patients with bloodstream infections in our hospital from 2022 to 2023 were collected. The types of pathogenic bacteria isolated were identified and drug susceptibility tests were performed. The extract was directly identified by the combined method of density gradient centrifugation with cell separation solution (Percoll solution) (referred to as Percoll separation method) and sodium dodecyl sulfate (SDS) precipitation method and MALDI-TOF MS. The identification results were

\* **【基金项目】** 黑龙江省齐齐哈尔市科技计划联合引导项目 (No. LSF GG-2022014)。

\*\* **【通讯作者】** 刘沫然, E-mail: 47638423@qq.com

**【作者简介】** 肖 钢 (1983), 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 肺癌治疗及病原菌感染治疗。  
E-mail: silang123@163.com

compared with traditional blood culture results to compare the identification efficiency of pathogenic bacteria by two different pretreatment methods combined with MALDI-TOF MS. **Results** Among the 234 positive blood culture specimens, the majority were mainly isolated from the gastroenterology ward (21, 37%, 50/234), followed by the respiratory ward (14, 10%, 33/234). A total of 234 pathogenic bacteria were isolated from 234 positive blood culture specimens, including 177 Gram-negative bacteria (75.64%) and 57 Gram-positive bacteria (24.36%). Among the Gram-negative bacteria, there were 103 strains of *Escherichia coli* (44.02%), accounting for the highest proportion, followed by 44 strains of *Klebsiella pneumoniae* (18.80%). Among the Gram-positive bacteria, there were 23 strains of *Staphylococcus aureus* (9.83%), accounting for the highest proportion, and the number of other strains was relatively small. The resistance rate of *Escherichia coli* to ampicillin/sulbactam, cefuroxime, ciprofloxacin, levofloxacin, cotrimoxazole, and gentamicin exceeded 50%. The resistance rate to piperacillin/tazobactam, meropenem, imipenem, and amikacin was less than 10%. The resistance rate of *K. pneumoniae* to cefuroxime and ciprofloxacin exceeded 50%. The resistance rate to piperacillin/tazobactam, meropenem, imipenem, and amikacin was less than 10%. There was a significant difference in the resistance rate of the two to ampicillin/sulbactam, cotrimoxazole, and gentamicin ( $P < 0.05$ ), while there was no significant difference in the resistance rate to other antibiotics ( $P > 0.05$ ). The resistance rate of *S. aureus* to penicillin G and others exceeded 50%, and the resistance rate to moxifloxacin and others was relatively low. No resistance to linezolid and vancomycin had been found. Compared with the traditional culture method, the accuracy rate of rapid identification by Percoll separation method combined with MALDI-TOF MS was 93.59%. The accuracy rate of identification results of Gram-negative bacteria was 94.92%, and the accuracy rate of identification results of Gram-positive bacteria was 89.47%. The accuracy rate of rapid identification by SDS precipitation method combined with MALDI-TOF MS was 76.5%. The accuracy rate of identification results of Gram-negative bacteria was 80.23%, and the accuracy rate of identification results of Gram-positive bacteria was 64.91%. The accuracy rate of rapid identification of pathogenic bacteria by Percoll separation method combined with MALDI-TOF MS was significantly higher than that by SDS precipitation method combined with MALDI-TOF MS. The differences in the identification accuracy rates of Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria, *K. pneumoniae*, and *S. hominis* were statistically significant ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** The positive specimens of bloodstream infection in our hospital were mainly isolated from the gastroenterology ward. *E. coli* and *K. pneumoniae* were the main pathogenic bacteria. The drug resistance monitoring showed different degrees of resistance to common antibiotics. The accuracy of rapid identification of pathogenic bacteria by Percoll separation method combined with MALDI-TOF MS was significantly better than that by SDS precipitation method, providing strong support for rapid and accurate clinical diagnosis of bloodstream infection.

**【Keywords】** Bloodstream infection; pathogenic bacteria; cell separation method; sodium dodecyl sulfate precipitation method; matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry.

血流感染是一种严重的全身性感染症,当病原体侵入血液并在其中繁殖时,会引发一系列的病理生理反应,可能诱发严重的并发症,已成为全球范围内主要的公共卫生问题之一<sup>[1]</sup>。血流感染具有病情发展快、病死率高等特点,相关研究显示,我国血流感染率约为28%,美国的血流感染病死率约为15%<sup>[2]</sup>。随着广谱抗菌药物、糖皮质激素、免疫抑制剂等各类药物的广泛应用,侵袭性操作的不断增加及人口老龄化等因素的影响,血流感染的发生风险及病死率呈现逐渐上升趋势<sup>[3]</sup>。因此,对于血流感染患者而言,迅速而精确的病原体检测至关重要,这不仅能够显著提升患者的生存率,还能大幅减少医疗开支<sup>[4]</sup>。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)技术近年来在微生物学领域中占据了重要地位。该技术通过分析细菌蛋白质的图谱,实现了快速准确的细菌鉴定,已被广泛应用于实际工作

中<sup>[5]</sup>。它为疾病的快速诊断提供了新的选择,通过先进的技术和方法,能够迅速识别病原体,从而指导临床抗菌药物的正确使用。这一创新手段大幅缩短了报告时间,使得临床医生能够在更短的时间内获得准确的诊断结果,不仅提高了诊断的效率,还为感染性疾病的精准治疗提供了强有力的支持,确保患者能够及时接受最合适的治疗方案,从而提高治愈率,减少不必要的药物使用,降低医疗成本,最终达到改善患者预后的目的<sup>[6]</sup>。

本次研究选取2022-2023年本院住院患者送检的234份血培养阳性标本,探析血流感染病原菌种类及MALDI-TOF MS技术在病原菌快速识别中的应用,结果报告如下。

## 材料与方法

### 1 菌株来源

选取2022-2023年,齐齐哈尔医学院附属第三医

院住院患者送检的 234 份血培养阳性标本为本次研究对象。纳入标准:①在本院接受住院治疗的患者;②所有患者的临床资料完整且详尽;③严格遵守临床检验操作规程,确保标本的采集和处理符合规定;④成人血培养阳性报警标本。排除标准:①由多种菌种引起的菌血症患者;②同一患者相同采血部位的重复标本;③镜检结果为阴性的菌株和污染菌株。对于同一患者多次送检的血培养标本,只计算首次出现阳性结果的标本。

## 2 仪器与试剂

BD 9120 全自动血培养仪购自美国 BD 公司;哥伦比亚血琼脂平板、麦康凯平板、巧克力平板购自郑州安图生物工程股份有限公司;HF151 细菌培养箱购自上海力申科学仪器有限公司;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;甲酸、基质液、96 孔金属靶板购自美国 SigmaAldrich 公司;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;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。

## 3 研究方法

**3.1 病原菌鉴定及药敏试验** 血培养样本的采集应在患者出现寒战或发热初期。采集前应彻底进行手部卫生处理,采血时应对穿刺点进行严格的皮肤消毒,推荐使用含有 2%碘酊或含酒精氯己定的消毒剂对穿刺部位进行消毒。在采血前,需检查血培养瓶是否完整无损且未过期。首选的静脉穿刺部位为前臂静脉或其他上肢静脉,建议从不同部位采集两套血培养样本,成人每套样本应采集 10 mL 血液。使用无菌注射器进行穿刺取血后,直接将血液注入血培养瓶中。血液注入培养瓶后,轻柔地摇动以确保血液与培养基充分混合,避免血液凝固。采血完成后,立即将血培养瓶送至检验科微生物室进行培养。将血培养阳性标本立即接种到血平板、麦康凯平板、巧克力平板固体培养基上,需氧瓶转种后放置培养 16~24 h,厌氧瓶转种后放置培养 1~3 d。待细菌生长后挑取单个菌落行革兰氏染色镜检。采用全自动微生物鉴定药敏分析仪以及相应的配套试剂,对病原微生物进行全面而精确的鉴定和药敏试验。这一过程严格遵循美国临床实验室标准化协会(Clinical and laboratory standards institute, CLSI)于 2022 年发布的推荐标准,以确保药敏结果的准确性和可靠性。

**3.2 Percoll 分离法** 取 3 mL 0.9%的氯化钠溶液及 3 mL 培养瓶内的内容物,将其移入 15 mL 的离心管内,充分混合均匀后,以 1 000 r/min(半径为 8.7 cm)离心 10 min。接着,将上层清液转移到另一支离心管

中,以 5 000 r/min 离心 5 min,去除上层清液。之后,加入 0.4 mL 超纯水,并将其转移到预先加入 2 mL Percoll 溶液的离心管中,确保氯化钠溶液与 Percoll 溶液的体积比为 7:3。再次以 5 000 r/min 离心 5 min,去除上层清液,将剩余的液体转移到平底 EP 管中,以 13 000 r/min 离心 2 min,去除上层清液。重复此洗涤过程两次,直至洗涤液变得清澈透明。

**3.3 SDS 沉淀法** 参照参考文献[7] 取 3 mL 0.9%的氯化钠溶液与 3 mL 培养瓶中的内容物,混合后置入 15 mL 的离心管中。充分混匀后,以 1 000 r/min 的速度离心 10 min。将所得的上清液转移到另一支离心管中,随后加入 1 mL 0.05%的 SDS 溶液,再次混匀。以 5 000 r/min 的速度离心 5 min,去除上清液。接着加入 1.5 mL 超纯水,混合均匀后转移到平底 EP 管中,以 13 000 r/min 的速度离心 2 min,去除上清液。重复上述洗涤步骤两次,洗涤完毕后尽量排除剩余的水分。

**3.4 MALDI-TOF MS 鉴定** 依据仪器操作手册的指导,将标准菌株均匀涂布于靶板的校准位置,随后选取 0.5~1 个菌落,涂布于靶板的指定点位。接着,取 1.5  $\mu$ L 经过预处理的样本,均匀涂布于金属靶板(96 孔)上,并在室温条件下进行干燥处理。校准点位和待检测样本均加入 1  $\mu$ L 的 CHCA 基质液,待其完全干燥后,将靶板置入 MALDI-TOF 仪中。该仪器将自动采集病原菌全细胞蛋白质谱,并将待测菌的质谱数据与 MS 细菌数据库中的质谱数据进行对比分析,以得出鉴定结果。

## 4 统计分析

数据处理采用 SPSS 26.0 软件,计数资料以例(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 科室分布

234 份血培养阳性标本中,50 份分离自消化科病房(21.37%, 50/234),33 份分离自呼吸科病房(14.10%, 33/234),31 份分离自神经内科病房(13.25%, 31/234),22 份分离自肾内科病房(9.40%, 22/234),18 份分离自肿瘤科病房(7.69%, 18/234),9 份分离自内分泌科病房(3.85%, 9/234),9 份分离自神经外科病房(3.85%, 9/234),8 份分离自血液内科病房(3.42%, 8/234),7 份分离自放疗科病房(2.99%, 7/234),7 份分离自心血管科病房(2.99%, 7/234),7 份分离自新生儿病房(2.99%, 7/234),6 份分离自泌尿外科病房(2.56%, 6/234),5 份分离自骨外科病房(2.14%, 5/234),5 份分离自介入科病房

(2.14%, 5/234), 5份分离自重症医学科病房(2.14%, 5/234), 3份分离自普外科病房(1.28%, 3/234), 2份分离自血管外科病房(0.85%, 2/234), 产科、儿科病房、风湿免疫科病房、妇科病房、急诊外科门诊、全科病房、心胸外科病房各分离1份(0.43%, 1/234)。

### 2 病原菌分布情况

234份血培养阳性标本共分离病原菌234株,其中革兰阴性菌177株(75.64%, 177/234),革兰阳性菌57株(24.36%, 57/234)。革兰阴性菌中,大肠埃希菌103株(44.02%, 103/234),肺炎克雷伯菌44株(18.80%, 44/234),铜绿假单胞菌8株(3.42%, 8/234),奇异变形杆菌6株(2.56%, 6/234),阿氏肠杆菌5株(2.14%, 5/234),阴沟肠杆菌3株(1.28%, 3/234),弗氏柠檬酸杆菌2株(0.85%, 2/234),产酸克雷伯菌2株(0.85%, 2/234),普通变形杆菌2株(0.85%, 2/234),粘质沙雷菌2株(0.85%, 2/234)。革兰阳性菌中,金黄色葡萄球菌23株(9.83%, 23/234),人葡萄球菌12株(5.13%, 12/234),表皮葡萄球菌10株(4.27%, 10/234),粪肠球菌5株(2.14%, 5/234),尿肠球菌4株(1.71%, 4/234),溶血葡萄球菌2株(0.85%, 2/234),无乳链球菌1株(0.43%, 1/234)。

### 3 主要病原菌耐药性分析

**3.1 主要革兰阴性菌耐药性分析** 药敏结果显示,大肠埃希菌对氨苄西林/舒巴坦、头孢呋辛、环丙沙星、左氧氟沙星、复方新诺明、庆大霉素的耐药率高于50%,对哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、阿米卡星的耐药率低于10%。肺炎克雷伯菌对头孢呋辛、环丙沙星的耐药率高于50%,对哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、阿米卡星的耐药率低于10%。大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌对氨苄西林/舒巴坦、复方新诺明、庆大霉素的耐药率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),对哌拉西林/他唑巴坦、头孢呋辛、头孢他啶、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南、环丙沙星、左氧氟沙星、阿米卡星的耐药率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

**3.2 主要革兰阳性菌耐药性分析** 药敏结果显示,23株金黄色葡萄球菌对青霉素G、红霉素的耐药率高于50%,分别为95.65%(22/23)、69.57%(16/23);对莫西沙星、四环素、复方新诺明、庆大霉素的耐药率较低,分别为21.74%(5/23)、21.74%(5/23)、17.39%(4/23)、26.09%(6/23);未产生对利奈唑胺、万古霉素的耐药株;对克林霉素、环丙沙星、阿奇霉素、左氧氟沙星耐药率分别为43.48%(10/23)、39.13%(9/23)、34.78%(8/23)、34.78%(8/23)。

### 4 Percoll 分离法与 SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定血培养病原菌准确率对比

与传统培养法对比,Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的准确率为 93.59%(219/234),革兰阴性菌鉴定结果准确率为 94.92%(168/177),革兰阳性菌鉴定结果准确率为 89.47%(51/57)。SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的准确率为 76.5%(179/234),革兰阴性菌鉴定结果准确率为 80.23%(142/177),革兰阳性菌鉴定结果准确率为 64.91%(37/57)。Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 快速鉴定的病原菌的准确率显著高于 SDS 沉淀法联合 MALDI-TOF MS,其中对革兰阴性菌、革兰阳性菌、肺炎克雷伯菌、人葡萄球菌的鉴定准确率差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表 1 大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌耐药性对比分析  
Table 1 Comparative analysis of drug resistance between *E. coli* and *K. pneumoniae*

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=103)		肺炎克雷伯菌 (n=44)		$\chi^2$	P
	耐药株	耐药率	耐药株	耐药率		
氨苄西林/舒巴坦	52	50.49	9	20.45	11.453	0.001
哌拉西林/他唑巴坦	4	3.88	2	4.55	0.035	0.853
头孢呋辛	52	50.49	24	54.55	0.204	0.652
头孢他啶	31	30.10	13	29.55	0.004	0.947
头孢吡肟	21	20.39	9	20.45	0.000	0.993
美罗培南	4	3.88	1	2.27	0.243	0.622
亚胺培南	2	1.94	1	2.27	0.017	0.897
环丙沙星	68	66.02	23	52.27	2.470	0.116
左氧氟沙星	62	60.19	20	45.45	2.716	0.099
复方新诺明	59	57.28	14	31.82	7.996	0.005
庆大霉素	52	50.49	11	25.00	8.177	0.004
阿米卡星	3	2.91	1	2.27	0.048	0.827

### 讨论

本次研究中,234份血培养阳性标本中,消化科病房分离出最多,其次是呼吸科和神经内科病房。从这些标本中分离出234株病原菌,其中75.64%为革兰阴性菌,24.36%为革兰阳性菌。大肠埃希菌是占比最高的革兰阴性菌,其次是肺炎克雷伯菌。金黄色葡萄球菌是占比最高的革兰阳性菌。与杨思恒等<sup>[8]</sup>研究结果相近。大肠埃希菌是人体肠道中普遍存在的正常菌群之一。然而,在特定条件下,该细菌可能穿透肠道屏障,侵入血液循环系统,导致血行感染<sup>[9]</sup>。近年来,我国由大肠埃希菌引发的血流感染发病率逐年攀升。尤其令人忧虑的是,该菌对多种常用抗生素展现出不同程度的抗药性。这种抗药性使得治疗大肠埃希菌感染的临床过程更为复杂和艰难。因此,大肠埃希菌的抗药性问题已成为临床治疗领域面临的重要挑战,亟需医学界持续进行研究和应对。

本次研究药敏试验结果显示,大肠埃希菌对多种抗生素耐药率超过50%,但对哌拉西林/他唑巴坦等耐药率低于10%。肺炎克雷伯菌对头孢呋辛等耐药

表2 Percoll分离法与SDS沉淀法联合MALDI-TOF MS快速鉴定血培养病原菌准确率对比  
Table 2 Comparison of the accuracy of Percoll separation method and SDS precipitation method combined with MALDI-TOF MS for rapid identification of blood culture pathogens

病原菌	Percoll分离法联合MALDI-TOF MS快速鉴定		与传统培养法比较准确率 (%)	SDS沉淀法联合MALDI-TOF MS快速鉴定		与传统培养法比较准确率 (%)	$\chi^2$	P
	鉴定	未鉴定		鉴定	未鉴定			
革兰阴性菌	168	9	94.92	142	35	80.23	17.544	0.000
大肠埃希菌	98	5	95.15	92	11	89.32	2.439	0.118
肺炎克雷伯菌	43	1	97.73	33	11	75.00	9.649	0.002
铜绿假单胞菌	8	0	100.00	5	3	62.50	3.692	0.055
奇异变形杆菌	5	1	83.33	2	4	33.33	3.086	0.079
阿氏肠杆菌	4	1	80.00	3	2	60.00	0.476	0.490
阴沟肠杆菌	3	0	100.00	2	1	66.67	1.200	0.273
弗氏柠檬酸杆菌	2	0	100.00	1	1	50.00	1.333	0.248
产酸克雷伯菌	2	0	100.00	2	0	100.00	—	—
普通变形杆菌	2	0	100.00	1	1	50.00	1.333	0.248
粘质沙雷菌	1	1	50.00	1	1	50.00	—	—
革兰阳性菌	51	6	89.47	37	20	64.91	9.766	0.002
金黄色葡萄球菌	20	3	86.96	17	6	73.91	1.243	0.265
人葡萄球菌	11	1	91.67	6	6	50.00	5.042	0.025
表皮葡萄球菌	9	1	90.00	5	5	50.00	3.810	0.051
粪肠球菌	4	1	80.00	3	2	60.00	0.476	0.490
屎肠球菌	4	0	100.00	4	0	100.00	—	—
溶血葡萄球菌	2	0	100.00	1	1	50.00	1.333	0.248
无乳链球菌	1	0	100.00	1	0	100.00	—	—
合计	219	15	93.59	179	55	76.50	26.877	0.000

率超50%，对哌拉西林/他唑巴坦等耐药率低于10%。两者对氨苄西林/舒巴坦等耐药率有显著差异( $P < 0.05$ )，对其他抗生素耐药率无显著差异( $P > 0.05$ )。金黄色葡萄球菌对青霉素G耐药率超50%，对莫西沙星耐药率较低，未发现对利奈唑胺、万古霉素耐药。这表明，在针对这些病原菌的治疗策略上，我们需要更加细化与个性化。针对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌，哌拉西林/他唑巴坦具有良好的敏感性；而对于金黄色葡萄球菌，莫西沙星和万古霉素等药物则显示出较好的敏感性。这一发现为临床抗生素的选择提供了重要参考，同时强调了合理使用抗生素，减缓抗药性发展的重要性。此外，持续监测病原菌耐药性变化，对于指导临床治疗和防控感染具有重要意义。在我国，目前广泛推行的是血培养临床三级报告制度。这一制度旨在确保临床医生能够及时、准确地获取血培养结果，从而更好地指导临床治疗。根据这一制度，微生物实验室会对采集的血样进行详细的培养和分析，以确定是否存在病原菌，并进一步进行药敏试验，以评估不同抗菌药物对这些病原菌的敏感性<sup>[10]</sup>。临床医生在治疗过程中，可以参考微生物实验室提供的详细报告，包括病原菌的种类和药敏试验结果。这些信息对于合理使用抗菌药物具有重要意义。

与传统的表型技术或分子生物学方法相比，

MALDI-TOF MS病原微生物鉴定技术展现出了其独特的优势。这种技术不仅功能强大，而且在鉴定完整细菌的过程中表现出快速、精确和经济高效的特性。在常规的工作流程中，MALDI-TOF MS技术能够显著缩短微生物鉴定所需的时间，大约可以缩短24 h<sup>[11]</sup>。这一显著的时间节省对于血流感染患者临床治疗具有重要意义，特别是在抗菌药物治疗方面。通过快速准确地鉴定出病原微生物，医生可以更迅速地为患者选择合适的抗生素，从而提高治疗效果，减少不必要的药物使用，降低耐药性风险，并最终改善患者的预后。在使用MALDI-TOF MS技术进行微生物鉴定时，影响其直接鉴定准确率的关键因素主要包括血培养瓶的种类以及对菌液进行预处理的方法。具体来说，对于需氧瓶中的菌液，目前常用的预处理方法包括使用Sepsityper试剂盒、分离胶促凝管、皂素溶解、滤膜吸附和SDS洗涤等<sup>[12]</sup>。然而，当这些方法被应用于厌氧菌标本的预处理时，其鉴定准确率往往显著低于需氧菌。这主要是因为厌氧菌的生长环境和生理特性与需氧菌存在较大差异，导致这些预处理方法在处理厌氧菌时效果不佳。因此，为了提高MALDI-TOF MS技术在鉴定厌氧菌时的准确率，需要开发和优化专门针对厌氧菌的预处理方法。Percoll是一种包有乙烯吡咯烷酮的硅胶颗粒，这种独特的结构使得Percoll具有不穿透生物膜的特性，因此在使用过程中不会对细胞造成任何毒害作用<sup>[13]</sup>。正因为其安全性和有效性，Percoll在实验室中得到了广泛的应用，主要用于分离和纯化各种生物样本，包括细胞、细菌和病毒等。通过Percoll的分离技术，研究人员能够有效地将目标生物体从复杂的混合物中提取出来，从而进行进一步的分析和研究。这种分离方法不仅提高了实验的准确性和效率，还为生物医学研究提供了重要的技术支持。本次研究中，Percoll分离法结合MALDI-TOF MS的鉴定准确率为93.59%，其中革兰阴性菌为94.92%，革兰阳性菌为89.47%。相比之下，SDS沉淀法结合MALDI-TOF MS的准确率为76.5%，革兰阴性菌为80.23%，革兰阳性菌为64.91%。Percoll分离法在鉴定病原菌，特别是革兰阴性菌、革兰阳性菌、肺炎克雷伯菌和人葡萄球菌方面，准确率显著高于SDS沉淀法，差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。分析原因可能是，尽管SDS沉淀法使用的SDS溶液浓度较低，但其仍可能影响部分革兰阴性菌的形态结构，发生黏液化，聚集成团，从而降低鉴定诊断的准确度<sup>[14]</sup>。尽管与SDS沉淀法相比，Percoll分离法在提高鉴定率方面表现出一定的优势，但这种方法也存在一些缺点。具体来说，Percoll分离法增加了洗涤过程的复杂性，使得操作变得更加繁琐。在洗涤过程中，由于操作不

当或其他原因,容易导致部分菌体的丢失,从而影响最终的鉴定结果<sup>[15]</sup>。因此,在使用 Percoll 分离法时,需要格外注意操作细节,以确保实验的准确性和可靠性。

综上所述,本次研究揭示了医院内血流感染病原菌的分布特点,对指导合理使用抗生素、防控感染具有重要意义。在此基础上,医院应进一步强化感染控制策略,提升病原菌检测能力,确保患者安全。同时,通过结合 MALDI-TOF MS 技术的深入应用,持续优化病原菌检测流程,确保检测结果的准确性和时效性。通过跨学科合作,强化病原菌信息数据库建设,为临床医生提供更为全面、精准的病原学参考,助力提升感染性疾病诊疗水平。

【参考文献】

[1] Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection: a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(2): 151-157.

[2] Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and trends of sepsis in US hospitals using clinical vs claims data, 2009-2014 [J]. JAMA, 2017, 318(13): 1241-1249.

[3] Isendahl J, Giske CG, Tegmark Wisell K, et al. Risk factors for community-onset bloodstream infection with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: national population-based case-control study [J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(11): 1408-1414.

[4] Romero-Gomez MP, Gomez-Gil R, Pano-Pardo JR, et al. Identification and susceptibility testing of microorganism by direct inoculation from positive blood culture bottles by combining MALDI-TOF and Vitek 2 compact is rapid and effective[J]. J Infect, 2019, 65(6): 513-520.

[5] Barberino MG, Silva MO, Arraes ACP, et al. Direct identification

from positive blood broth culture by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)[J]. Braz J Infect Dis, 2017, 21(3): 339-342.

[6] Dubourg G, Raoult D, Fenollar F. Emerging methodologies for pathogen identification in bloodstream infections: an update[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(2): 161-173.

[7] Menglan Z, Qiwen Y, Timothy K, 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(2): 1824-1832.

[8] 杨思恒, 张学武, 胡国启, 等. 2019-2022 年我院血流感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 内科理论与实践, 2023, 18(6): 424-430.

[9] 严丽, 管湘玉. 苏州某中医院血流感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(2): 170-173.

[10] 陈重, 胡继华, 邓名贵, 等. 2020 年深圳市 56 家医院血培养送检情况[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(6): 840-845.

[11] 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.

[12] 梁林, 幸雯, 张京, 等. Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 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.

[13] Angel A, Maria UB, Wolfgang L. Variances in cellular sedimentation behavior as an effective enrichment method of hydrocarbon-overproducing *Micrococcus luteus* strains [J]. Biotechnol Biofuels, 2018, 11(3): 288-294.

[14] 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.

[15] 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.

【收稿日期】 2024-08-13 【修回日期】 2024-10-30

(上接 70 页)

[17] Hufnagl K, Pali-Scholl I, Roth-Walter F, et al. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma [J]. Semin Immunopathol, 2020, 42(1): 75-93.

[18] McCulloch JA, Davar D, Rodrigues RR, et al. Intestinal microbiota signatures of clinical response and immune-related adverse events in melanoma patients treated with anti-PD-1 [J]. Nat Med, 2022, 28(3): 545-556.

[19] 排组拉沙拉依阿当, 阿卜杜萨拉木·艾尼, 阿卜杜艾尼·阿卜力孜, 等. 肝泡型棘球蚴病病灶微环境中免疫细胞浸润范围指导研究取材的前瞻性研究[J]. 中华地方病学杂志, 2023, 42(10): 781-785.

[20] Komiyama S, Yamada T, Takemura N, et al. Profiling of tumour-associated microbiota in human hepatocellular carcinoma [J]. Sci

Rep, 2021, 11(1): 10589.

[21] Lin X, Xiao Z, Chen T, et al. Glucose Metabolism on Tumor Plasticity, Diagnosis, and Treatment [J]. Front Oncol, 2020, 10: 317.

[22] 阿卜杜艾尼·阿卜力孜, 阿卜杜萨拉木·艾尼, 冉博, 等. 肝泡型棘球蚴病病灶微环境摄取氟代脱氧葡萄糖的特征研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2023, 29(3): 176-180.

[23] Bian X, Liu R, Meng Y, et al. Lipid metabolism and cancer. J Exp Med. 2021, 218(1): e20201606.

[24] You M, Xie Z, Zhang N, et al. Signaling pathways in cancer metabolism: mechanisms and therapeutic targets [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 196.

【收稿日期】 2024-08-19 【修回日期】 2024-11-08