

质谱鉴定联合直接快速药敏试验在细菌血流感染中的应用

张小云, 刘 本, 连建春, 姜玉章, 唐朝贵, 王 霞

(南京医科大学附属淮安一院检验科, 江苏 淮安 223300)

摘要: **目的** 评估质谱快速鉴定联合直接药敏试验在革兰阴性细菌血流感染诊断中的临床应用价值。**方法** 对2021年8月—2022年3月我院133瓶血培养阳性标本经SDS沉淀离心富集细菌后,使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)直接鉴定,对阳性血培养液进行直接快速药敏试验(RAST),同时对培养后的菌落进行质谱鉴定和VITEK 2 Compact药敏分析,比较两种方法的一致性。**结果** 133例血培养阳性标本经鉴定后革兰阴性细菌共122株,直接细菌鉴定的准确率为91.73%,包括大肠埃希菌56株、肺炎克雷伯菌26株、鲍曼不动杆菌12株和铜绿假单胞菌12株,其中鲍曼不动杆菌检出率最高为100.00%,阴沟肠杆菌最低为66.67%;所有药物结果符合(CA)比例在4、6、8 h呈现逐渐升高现象;在8 h时除了哌拉西林/他唑巴坦(TZP)和美罗培南(MEN),其他药物的CA均高于可接受值(CA>90%),仅有1例铜绿假单胞菌对TZP的药敏结果在6、8 h时为非常重大错误(VME),1例大肠埃希菌对TZP、阿米卡星(AK)在4、6、8 h时均为重大错误(ME),2例肺炎克雷伯菌对TZP、头孢他啶(CAZ)在4、6、8 h时为ME,1例铜绿假单胞菌对妥布霉素(TOB)和庆大霉素(CN)在6、8 h时为微小错误(mE)。**结论** 5% SDS沉淀法联合MALDI-TOF MS直接鉴定细菌菌种准确性高,RAST的CA比例高,8 h可作为革兰阴性细菌RAST药敏判读的最佳时间点,对于及时指导临床用药及改善患者预后具有重要意义。

关键词: 血流感染;革兰阴性杆菌;质谱快速鉴定;直接快速药敏试验;基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱

中图分类号:R446.5

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.03.020

文章编号:1006-1959(2023)03-0098-06

Application of Mass Spectrometry Combined with Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing in Blood Stream Infection

ZHANG Xiao-yun, LIU Ben, LIAN Jian-chun, JIANG Yu-zhang, TANG Chao-gui, WANG Xia

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an 223300, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical application value of mass spectrometry rapid identification combined with rapid antimicrobial susceptibility testing in the diagnosis of gram-negative bacterial blood stream infection. **Methods** From August 2021 to March 2022, 133 blood culture positive specimens in our hospital were enriched by SDS precipitation centrifugation, and the bacteria were directly identified by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) was performed on the positive blood culture medium, and the cultured colonies were identified by mass spectrometry and VITEK 2 Compact drug sensitivity analysis. The consistency of the two methods was compared. **Results** There were 122 strains of gram-negative bacteria in 133 blood culture positive samples after direct identification, the accuracy was 91.73%. Among them, there were 56 strains of *Escherichia coli*, 26 strains of *Klebsiella pneumoniae*, 12 strains of *Acinetobacter baumannii* and 12 strains of *Pseudomonas aeruginosa*. The highest detection rate of *Acinetobacter baumannii* was 100.00%, and the lowest detection rate of *Enterobacter cloacae* was 66.67%. The proportion of CA in all drugs increased gradually at 4, 6 and 8 h time points. At the 8 h time point, except for piperacillin/tazobactam (TZP) and meropenem (MEM), CA results were above the acceptable value (categorical agreement, CA>90%). Only 1 case of TZP in *Pseudomonas aeruginosa* showed very major error (VME) at 6 and 8 h; 1 case of TZP and amikacin (AK) in *Escherichia coli* showed major error (ME) at 4, 6 and 8 h; 2 cases of TZP and ceftazidime (CAZ) of in *Klebsiella pneumoniae* showed ME at 4, 6 h and 8 h; 1 case of tobramycin (TOB) and gentamicin (CN) in *Pseudomonas aeruginosa* showed minor error (mE) at 6 and 8 h. **Conclusion** The accuracy of 5% SDS precipitation combined with MALDI-TOF MS for the direct identification of pathogenic bacteria is high, RAST has a high CA ratio, 8 h can be used as the optimal time point for RAST susceptibility of gram-negative bacteria, which is of great significance to timely guide clinical medication and improve the prognosis of patients.

Key words: Blood stream infection; Gram-negative bacteria; Rapid identification; Rapid antimicrobial susceptibility testing; Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry

作者简介:张小云(1987.8-),女,江苏淮安人,硕士,主管技师,主要从事感染性疾病诊断及细菌耐药机制研究

通讯作者:王霞(1975.5-),女,江苏沐阳县人,本科,副主任技师,主要从事感染性疾病病原菌诊断研究

血流感染(blood stream infection,BSI)是临床常见的严重感染性疾病,具有起病急、病死率高的特点^[1]。研究发现^[2-5],早期适当的抗菌药物治疗可以改善血流感染患者的预后,而每延迟 1 h 治疗,患者死亡率会增加 9%,而血培养为诊断血流感染的“金标准”,其血液培养阳性的周转时间(turn-around time,TAT),即抗微生物药物敏感性试验报告结果是 72~96 h。因此,改进方法缩短微生物鉴定和药敏试验的报告时间是目前微生物学检验面临的巨大挑战之一。研究发现^[6],利用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry,MALDI-TOF MS)技术可对血培养阳性标本进行快速直接鉴定且具有较高的准确性。欧洲抗菌药物敏感性试验委员会(EUCAST)已经提出了抗微生物快速药敏试验(rapid drug sensitivity test,RAST),该方法是从阳性血培养瓶中取出标本直接进行药敏试验^[7,8]。本研究应用 MALDI-TOF MS 对细菌进行快速菌种鉴定,同时参考 EUCAST 中血培养 RAST 方法对肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌的血培养阳性标本进行药敏试验,并将结果与常规细菌鉴定和 MIC 药敏结果进行对比,为建立血培养阳性标本快速鉴定及药敏试验方法提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集南京医科大学附属淮安一院检验科微生物室 2021 年 8 月-2022 年 3 月血培养报警阳性标本共 133 份(报警时间<48 h),将同一人的同一天报警的重复标本及 2 种以上菌混合感染的标本剔除。

1.2 仪器试剂 Bactec FX 全自动血培养仪和血培养瓶(美国 BD 公司)、真空采血管(浙江龚东医疗器械有限公司)、基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱仪(法国生物梅里埃有限公司)、琼脂培养基(郑州安图生物工程股份有限公司)、药敏纸片(赛默飞世尔科技<中国>有限公司)、细菌培养箱(赛默飞世尔科技<中国>有限公司);全自动微生物鉴定及药敏分析系统 VITEK2 Compact(法国梅里埃生物有限公司)、离心机(赛默飞世尔科技<中国>有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 血培养阳性标本快速鉴定及药敏试验 ①Vitek MS 快速鉴定细菌:血培养瓶阳性报警后,取出血培养瓶内培养物进行革兰染色,当镜下显示单一革兰阴性

杆菌时取 1 ml 阳性血培养标本置于 1.5 ml EP 管,离心管中加入 200 μ l 5% SDS 溶液充分混匀,13 000 r/min 离心 2 min,弃去上清液,加入 1000 μ l 无菌蒸馏水,充分混匀管内悬液,13 000 r/min 离心 2 min,弃去上清液,得到沉淀,取 0.5 μ l 沉淀点样至金属靶板,加 1 μ l 基质液,待靶板干燥后进行快速鉴定,质控菌株为大肠埃希菌 ATCC8739 与产气肠杆菌 ATCC13048;②阳性血培养液 RAST 快速药敏鉴定:以质谱快速鉴定结果为革兰阴性细菌的血培养阳性标本作为 RAST 的研究对象。参考 2018 年 EUCAST 公布的阳性血培养液 RAST 方法^[9],从血培养瓶中直接吸取 100 μ l 培养液至直径 90 mm 的 M-H 平板上,均匀涂布平板后贴上抗菌药物纸片。质谱快速鉴定为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的药敏纸片包括庆大霉素(CN,10 μ g)、头孢噻肟(CTX,5 μ g)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP,36 μ g/6 μ g)、头孢他啶(CAZ,10 μ g)、美罗培南(MEN,10 μ g)、阿米卡星(AK,30 μ g)、环丙沙星(CIP,5 μ g)、妥布霉素(TOB,10 μ g);铜绿假单胞菌的药敏纸片包括庆大霉素(CN,10 μ g)、亚胺培南(IPM,10 μ g)、头孢噻肟(CTX,5 μ g)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP,36 μ g/6 μ g)、美罗培南(MEN,10 μ g)、阿米卡星(AK,30 μ g)、环丙沙星(CIP,5 μ g)、妥布霉素(TOB,10 μ g),35 $^{\circ}$ C 温育 4、6、8 h 后,分别量取抑菌圈直径,根据指南中不同细菌在不同时间的快速药敏折点判读药敏结果,质控菌株为大肠埃希 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3.2 血培养阳性标本常规鉴定及药敏试验 当血培养仪提示阳性报警时,取出阳性瓶进行革兰染色并转种至相应的平板,分离出的单个菌落采用质谱仪进行鉴定。同时选择相应的药敏卡通过 VITEK 2 Compact 进行抗菌药物敏感性分析。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3.3 药敏结果比较 比较 RAST 药敏结果与常规药敏结果的一致性,判断标准如下:①结果符合(categorical agreement,CA):常规药敏结果显示为敏感(或耐药),RAST 结果也为敏感(或耐药);②错误(error,Er):包括以下 3 种情况:Ⓐ非常重大错误(very major errors,VME):假敏感,即常规药敏结果判定为耐药,RAST 结果为敏感;Ⓑ重大错误(major errors,ME):假耐药,即常规药敏结果判定为敏感,RAST 结果为耐药;Ⓒ微小错误(minor errors,mE):

常规药敏结果判定为中介, RAST 结果为敏感或耐药。无 ATU 结果的判读及比较。

2 结果

2.1 Vitek MS 快速鉴定与常规鉴定结果比较 共分离出革兰阴性菌 133 株。直接鉴定与培养后菌落 Vitek MS 鉴定结果符合率为 91.73%(122/133), 其中鲍曼不动杆菌检出率最高, 为 100.00%(12/12), 阴沟肠杆菌最低, 为 66.67%(6/9), 见表 1。

2.2 RAST 药敏结果判读 共对 94 株革兰阴性细菌 RAST 结果进行研究, 所有药物 CA 比例在 4、6、8 h 间呈现逐渐升高现象。在 8 h 时除了 TZP 和 MEM, 其他药物 CA 均高于可接受值 (CA>90%); 94 例革兰阴性杆菌中仅有 1 例铜绿假单胞菌对 TZP 的药敏结果在 6、8 h 时为 VME, 1 例大肠埃希菌对 TZP、AK 在 4、6、8 h 时为 ME, 2 例肺炎克雷伯菌的 TZP、CAZ 在 4、6、8 h 时为 ME, 1 例铜绿假单胞菌的 TOB 和 CN 在 6、8 h 时为 mE, 见表 2~表 4。

表 1 Vitek MS 快速鉴定与常规鉴定结果比较[n(%)]

菌名	n	Vitek MS 快速鉴定	常规鉴定
大肠埃希菌	58	56(96.56)	58(100.00)
肺炎克雷伯菌	28	26(92.86)	28(100.00)
铜绿假单胞菌	13	12(92.31)	13(100.00)
嗜麦芽窄食单胞菌	2	2(100.00)	2(100.00)
鲍曼不动杆菌	12	12(100.00)	12(100.00)
阴沟肠杆菌	6	5(83.33)	6(100.00)
奇异变形杆菌	5	4(80.00)	5(100.00)
聚团肠杆菌	1	1(100.00)	1(100.00)
粘质沙雷菌	1	1(100.00)	1(100.00)
沙门菌群	1	1(100.00)	1(100.00)
嗜水气单胞菌	1	1(100.00)	1(100.00)
布氏杆菌	2	2(100.00)	2(100.00)
溶血不动杆菌	1	1(100.00)	1(100.00)
产酸克雷伯菌	1	1(100.00)	1(100.00)
普城沙雷菌	1	1(100.00)	1(100.00)

表 2 大肠埃希菌 RAST 药敏结果与常规药敏结果一致性比较[n(%)]

抗菌药物	时间(h)	CA(n)		CA	ATU	VME	ME	mE
		S	R					
TZP	4	29	12	41(73.21)	14(25.00)	0	1(1.79)	0
	6	29	13	42(75.00)	13(23.21)	0	1(1.79)	0
	8	31	13	44(78.57)	11(19.64)	0	1(1.79)	0
CTX	4	28	22	50(89.29)	6(10.71)	0	0	0
	6	28	24	52(92.86)	4(7.14)	0	0	0
	8	27	26	53(94.64)	3(5.36)	0	0	0
CAZ	4	26	24	50(89.29)	6(10.71)	0	0	0
	6	25	26	51(91.07)	5(8.92)	0	0	0
	8	26	27	53(94.64)	3(5.36)	0	0	0
MEM	4	44	4	48(85.71)	8(14.29)	0	0	0
	6	44	6	50(89.29)	6(10.71)	0	0	0
	8	44	6	50(89.29)	6(10.71)	0	0	0
CIP	4	18	33	51(91.07)	5(8.92)	0	0	0
	6	18	34	52(92.86)	4(7.14)	0	0	0
	8	20	34	54(96.42)	2(3.57)	0	0	0
AK	4	43	7	50(89.29)	5(8.92)	0	1(1.79)	0
	6	44	8	52(92.86)	3(5.36)	0	1(1.79)	0
	8	46	8	54(96.42)	1(1.79)	0	1(1.79)	0
CN	4	33	18	51(91.07)	5(8.92)	0	0	0
	6	33	19	52(92.86)	4(7.14)	0	0	0
	8	35	20	55(98.21)	1(1.79)	0	0	0
TOB	4	24	22	46(82.14)	10(17.86)	0	0	0
	6	25	23	48(85.71)	8(14.29)	0	0	0
	8	27	26	53(94.64)	3(5.36)	0	0	0

表 3 肺炎克雷伯菌 RAST 药敏结果与常规药敏结果一致性比较[n(%)]

抗菌药物	时间(h)	CA(n)		CA	ATU	VME	ME	mE
		S	R					
TZP	4	11	8	19(73.08)	6(23.08)	0	1(3.85)	0
	6	11	9	20(76.92)	5(19.23)	0	1(3.85)	0
	8	11	11	22(84.62)	3(11.54)	0	1(3.85)	0
CTX	4	13	11	24(92.31)	2(7.69)	0	0	0
	6	13	12	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
	8	13	12	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
CAZ	4	12	11	23(88.46)	2(7.69)	0	1(3.85)	0
	6	12	12	24(92.31)	1(3.85)	0	1(3.85)	0
	8	12	12	24(92.31)	1(3.85)	0	1(3.85)	0
MEM	4	20	2	22(84.62)	4(15.38)	0	0	0
	6	20	3	23(88.46)	3(11.54)	0	0	0
	8	20	3	23(88.46)	3(11.54)	0	0	0
CIP	4	6	18	24(92.31)	2(7.69)	0	0	0
	6	6	19	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
	8	6	19	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
AK	4	21	3	24(92.31)	2(7.69)	0	0	0
	6	21	4	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
	8	21	4	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
CN	4	13	11	24(92.31)	2(7.69)	0	0	0
	6	13	12	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
	8	13	12	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0
TOB	4	12	7	19(73.08)	7(26.92)	0	0	0
	6	13	7	20(76.92)	6(23.08)	0	0	0
	8	17	8	25(96.15)	1(3.85)	0	0	0

表 4 铜绿假单胞菌 RAST 药敏结果与常规药敏结果一致性比较[n(%)]

抗菌药物	时间(h)	CA(n)		CA	ATU	VME	ME	mE
		S	R					
TZP	6	6	2	8(66.67)	3(25.00)	1(8.33)	0	0
	8	6	3	9(75.00)	2(16.67)	1(8.33)	0	0
CTX	6	6	5	11(91.67)	1(8.33)	0	0	0
	8	6	6	12(100.00)	0	0	0	0
IPM	6	8	2	10(83.33)	1(8.33)	0	1(8.33)	0
	8	8	3	11(91.67)	0(8.33)	0	1(8.33)	0
MEM	6	6	2	8(66.67)	4(33.33)	0	0	0
	8	7	2	9(75.00)	3(25.00)	0	0	0
CIP	6	8	3	11(91.67)	1(8.33)	0	0	0
	8	8	3	11(91.67)	1(8.33)	0	0	0
AK	6	9	2	11(91.67)	1(8.33)	0	0	0
	8	9	3	12(100.00)	0	0	0	0
CN	6	8	2	10(83.33)	1(8.33)	0	0	1(8.33)
	8	8	3	11(91.67)	0	0	0	1(8.33)
TOB	6	4	4	8(66.67)	4(33.33)	0	0	0
	8	6	5	11(91.67)	1(8.33)	0	0	0

3 讨论

血流感染是引起患者死亡的主要因素之一,早期且准确的病原学检测和药敏结果对患者的诊治十分重要。MALDI-TOF-MS是近些年发展起来的一种新型细菌鉴定技术,可以快速准确地进行细菌及真菌菌种鉴定,对培养后菌落的鉴定技术在临床已应用成熟。且菌落鉴定技术成本也远低于传统生化鉴定,极大缩短了菌株的鉴定时间^[10]。现阶段MALDI-TOF-MS技术对于标本的直接鉴定仍然为实验室检测的难点之一。采用不同方法处理血培养阳性标本后质谱直接鉴定的研究一直在不断的改进中,不同的前处理方法可直接影响细菌鉴定效果及结果的判定^[11,12]。本研究中血培养阳性报警标本采用5% SDS(十二烷基硫酸钠)法处理后进行直接进行质谱鉴定,鉴定符合率为91.73%,与王岩等^[13]研究报道的结果接近,且鉴定结果报告在1 h以内,可为临床早期经验性用药及后续快速药敏结果判读提供快速可靠的病原学依据。

阳性血培养液快速药敏试验近年来已成为国内外研究的热点^[14]。Sakarikou C等^[15]将阳性血培养液预处理后制备成0.5麦氏浊度单位的菌悬液,使用全自动微生物鉴定及药敏分析系统VITEK 2 Compact进行药敏试验,但此法耗时相对较长,获得最终药敏结果需18~24 h。Weme ET^[16]利用分子生物学方法快速检测细菌的耐药基因,但检测成本较高,不适用于临床实验室常规开展。Faria-Ramos I等^[17]利用流式细胞术对细菌的代谢参数进行检测,可在3 h内检测细菌对抗菌药物的敏感性,但此法方法需要特殊仪器,一般实验室难以实现。2018年4月EUCAST发布了阳性血培养液RAST及折点,该方法是从阳性血培养瓶中取出标本直接进行药敏试验,操作简单、成本低、耗时短,易于临床实验室常规开展,目前革兰阴性杆菌中肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌以及铜绿假单胞菌可进行RAST,药敏结果最早可在4 h内解读。

本研究结果显示,肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌以及铜绿假单胞菌的RAST中的所有药物CA比例在4、6、8 h 3个点呈现逐渐升高现象。在8 h除了TZP和MEM两种药物,其他药物CA比例均高于可接受值(>90%)。94例革兰阴性杆菌中仅有1例铜绿假单胞菌对TZP的药敏结果在6、8 h时判读为VME,有1例大肠埃希菌对TZP、AK在4、6、8 h时判读

为ME,1例肺炎克雷伯菌对TZP、CAZ在4、6、8 h时判读为ME,1例铜绿假单胞菌对TOB和CN在6、8 h时判读为mE。不同抗菌药物在不同时间点判读的药敏CA比例有所差别。陆燕飞等^[18]研究报道,应用RAST在6 h判读肠杆菌目细菌药敏结果时,TZP和MEM分别表现出最低和最高的CA(91.10% vs 98.90%)。本研究发现,6、8 h的TZP药敏判读结果CA最低,与上述文献报道一致。虽然本研究检测到相比4 h,6 h时大部分药物的CA升高,但在6 h时TZP、MEM及TOB的ATU比例仍然较高,CA<90%,所以建议药敏结果报告必须在8 h评估后提交。在本研究中,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对TZP、铜绿假单胞菌对MEM的CA<90%,这两种抗生素的CA比例较低,与部分研究结果相似^[19]。Soo YT等^[20]对148例阳性血培养瓶RAST和Vitek-2检测结果进行了比较,结果显示在8 h时无VME,ME检出率在3.3%~18.2%。与其报道的高ME率相反,在本研究仅4株菌株出现ME,1株菌株出现mE。Martins A等^[21]检测36株大肠杆菌和25株肺炎克雷伯菌4 h和6 h对8种抗菌药物的RAST结果,发现CIP和CTX的ME大于3%,在6 h对AK和TZP的mE各为34.4%和21.6%,该研究建议RAST可以代替除AK以外的其他抗生素的传统药敏方法。本研究中,在8 h时除TZP和MEM外,其他CA均在可接受范围内,因此本研究建议对于革兰阴性杆菌的RAST应谨慎使用TZP和MEM检测结果。这可能与本次选取的菌株数量不同及本地区的细菌耐药性分布不同所致,后续需要更多的血培养阳性培养液RAST的数据资料来验证。

本研究不足:本研究中血培养阳性瓶培养液RAST分析的数量不多,且未对革兰阳性菌的RAST进行评价。这些问题都有待进一步收集更多临床血培养阳性样本进行RAST研究来解决。且RAST方法本身也存在局限性,该方法不能对革兰氏染色后多种细菌混合感染标本及生长缓慢的细菌进行药物敏感性检测。在测量早期时间点的抑制区域,特别是4 h,由于在显影边缘细菌生长容易造成人为检测错误。基于RAST研究应该增加多中心研究,这将有助于获得更多可靠的结果。

综上所述,革兰阴性杆菌血培养阳性标本采用5% SDS沉淀法对样本进行前处理后采用MALDI-TOF MS直接鉴定细菌准确性较高。在重症感染患

者,尤其是败血症患者早期及时提供药敏结果进行治疗是非常重要的。许多新的技术方法旨在实现这一目标,但在资源有限的实验室中不适用。使用 RAST 方法是一个切实可行的方法,在日常工作流程中可以实现,使血培养阳性的 TAT 大大减少。根据 RAST 结果可以指导临床用药,及时升级或降级抗生素治疗,这将有助改善重症患者的预后。然而该方法是劳动密集型方法,要求每 4、6、8 h 阅读一次结果,因此,建议将 8 h 作为单一的时间点阅读并报告结果最为准确。随着研究的不断深入,标本前处理方法的不断完善,MALDI-TOF-MS 细菌直接鉴定及 RAST 的应用将会为临床重症感染患者的诊治提供更好的实验室依据和帮助。

参考文献:

- [1]Evans L,Rhodes A,Alhazzani W,et al.Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021[J].Crit Care Med,2021,49(11):e1063-e1143.
- [2]Niederman MS,Baron RM,Bouadma L,et al.Initial antimicrobial management of sepsis[J].Crit Care,2021,25(1):307.
- [3]王大胜,王大新,耿平.成人血流感染金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析[J].实用临床医药杂志,2018,22(1):1-3.
- [4]Fabre V,Carroll KC,Cosgrove SE.Blood Culture Utilization in the Hospital Setting: a Call for Diagnostic Stewardship [J].J Clin Microbiol,2022,60(3):e0100521.
- [5]Qazi S,Heath P,Balasegaram M,et al.Can the history of empiric antibiotic treatment for neonatal sepsis inform future global trials?[J].Clin Microbiol Infect,2022,16(22):00319-00326.
- [6]Faron ML,Buchan BW,Ledeboer NA.Matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry for use with positive blood cultures: Methodology,performance,and optimization[J].J Clin Microbiol,2017,55(12):3328-3338.
- [7]Berinson B,Oleary F,Both A,et al.EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST):analytical performance and impact on patient management[J].J Antimicrob Chemother,2021,76(5):1332-1338.
- [8]Taysi MR,Sentürk GÇ,Çalışkan E,et al.Implementation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test (RAST) directly from positive blood culture bottles without the advanced identification systems [J].J Antimicrob Chemother,2022, 77 (4):1020-1026.
- [9]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.
- [10]Bellanger AP,Gbaguidi-Haore H,Liapis E,et al.Rapid identification of *Candida* sp by MALDI-TOF mass spectrometry subsequent to short term incubation on a solid medium[J].APMIS,2019,127(4):217-221.
- [11]Mciver CJ,Noel E,Chinnmoy M,et al.A simplified and rapid method for the direct identification of microorganisms in positive BacT/ALERT blood culture bottles using MALDI-TOF MS[J].Pathology,2018,50(6):676-679.
- [12]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):6.
- [13]王岩,曹敬荣,常玥,等.分离胶法与十二烷基硫酸钠法在血培养阳性瓶基质辅助激光解析电离飞行时间质谱病原菌直接鉴定中的应用 [J]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2018,12(4):324-329.
- [14]Van den Bijllaardt W,Buiting A,Mouton JW,et al.Shortening the incubation time for antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion for Enterobacteriaceae: how short can it be and are the results accurate?[J].Int J Antimicrob Agents,2017,49:631-637.
- [15]Sakarikou C,Altieri A,Bossa MC,et al.Rapid and cost-effective identification and antimicrobial susceptibility testing in patients with Gram-negative bacteremia directly from blood-culture fluid[J].J Microbiol Methods,2018,146:7-12.
- [16]Weme ET.Rapid antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures by direct inoculation and reading of disc diffusion tests after 3-4 hours[J].APMIS,2018,126(11):870-876.
- [17]Faria-Ramos I,Espinar MJ,Rocha R,et al.A novel flow cytometric assay for rapid detection of extended-spectrum beta-lactamases[J].Clin Microbiol Infect,2013,19(1):E8-E15.
- [18]陆燕飞,刘根焰,张晓慧,等.质谱快速鉴定联合直接药敏试验在肠杆菌目细菌血流感染诊断中的应用评估[J].临床检验杂志,2021,39(11):822-827.
- [19]Åkerlund A,Jonasson E,Matuschek E,et al.EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories [J].J Antimicrob Chemother, 2020,75(11):3230-3238.
- [20]Soo YT,Waled SNMB,Ng S,et al.Evaluation of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles [J].Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2020,39(5):993-998.
- [21]Martins A,Wink P,Pereira D,et al.Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints[J].Glob Antimicrob Resist,2020,22:637-642.

收稿日期:2022-12-02;修回日期:2023-01-16

编辑/成森