

临床实验室检测技术专题·论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.17.001

# 国产 MALDI-TOF MS 系统 microTyper MS 对革兰阴性菌的鉴定性能评估

杨会林,温见翔,闫津津,周丽娜,陈娟,欧嘉文,黄海灵

北京大学深圳医院检验科,广东深圳 518036

**摘要:**目的 评估国产基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)系统 microTyper MS 鉴定革兰阴性菌的性能。**方法** 使用国产 MALDI-TOF MS 系统 microTyper MS 与进口质谱系统 VITEK MS 系统同步鉴定该实验室储存的标准菌株及 2018 年 6 月至 2019 年 6 月临床分离的革兰阴性菌株。鉴定结果不一致时,使用表型试验或 16s rDNA 测序进行确认,以此评估 microTyper MS 对革兰阴性菌的鉴定能力。**结果** 纳入鉴定的革兰阴性菌株一共 45 属 4 509 株。VITEK MS 系统准确鉴定 4 419 株,准确率为 98.0%; microTyper MS 准确鉴定 4 405 株,准确率为 97.7%。**结论** microTyper MS 在革兰阴性菌鉴定方面具有与 VITEK MS 系统相仿的临床细菌鉴定能力。

**关键词:**基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 革兰阴性菌; 细菌鉴定

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)17-2465-04

## Evaluation of domestic MALDI-TOF MS system microTyper MS in identification of gram-negative organisms

YANG Huilin, WEN Jianxiang, YAN Jinjin, ZHOU Lina, CHEN Juan, OU Jiawen, HUANG Hailing  
Department of Clinical Laboratory, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong 518036, China

**Abstract: Objective** To evaluate the performance of domestic matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) system microTyper MS in identifying gram-negative organisms. **Methods** Gram-negative reference strains stored in the laboratory and clinical gram-negative strains isolated from June 2018 to June 2019 were detected parallelly using domestic MALDI-TOF MS system microTyper MS and imported mass spectrometry system VITEK MS system. Biochemical identification or 16s rDNA Sequencing was performed when different result occurred. So as to evaluate the performance of microTyper MS in identification of gram-negative organisms. **Results** A total of 45 genus or 4 509 strains of gram-negative organisms were tested, 4 419 strains accurately identified by VITEK MS system with accuracy of 98.0%. A total of 4 405 strains accurately identified by microTyper MS with accuracy of 97.7%. **Conclusion** microTyper MS system has similar capability in identifying gram-negative organisms compared with VITEK MS system.

**Key words:** matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry; gram-negative organisms; bacteria identification

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)利用激光照射样品与基质形成的共结晶薄膜,使样品生物分子发生电离并带上电荷,带电荷的生物分子在电场作用下移动,测量移动速度可以得到离子的质荷比,绘制成生物分子质荷比峰图。通过分析不同细菌不同的质荷比峰图,可以进行微生物鉴定。质谱鉴定已经成为微生物实验室的常规鉴定手段,相比生化鉴定,质谱鉴定有简便、快速、准确、高通量等优点<sup>[1]</sup>。目前,临床微生物实验室使用的质谱鉴

定系统多为法国生物梅里埃 VITEK MS 系统和德国布鲁克 Bruker Biotyper。天瑞质谱细菌鉴定系统 microTyper MS 是国内研发的一款质谱细菌鉴定系统,目前对其细菌鉴定性能还缺乏相应的数据评估。本研究拟评估国产 MALDI-TOF MS 系统 microTyper MS 对革兰阴性菌的鉴定能力,为今后 microTyper MS 的临床应用提供数据支持。

### 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 收集 2018 年 6 月至 2019 年 6 月北

作者简介:杨会林,男,副主任技师,主要从事感染性疾病实验室诊断研究。

本文引用格式:杨会林,温见翔,闫津津,等.国产 MALDI-TOF MS 系统 microTyper MS 对革兰阴性菌的鉴定性能评估[J].检验医学与临床,2021,18(17):2465-2468.

京大学深圳医院临床分离的革兰阴性菌及实验室收藏的革兰阴性菌标准菌株。临床分离革兰阴性菌中肠杆菌科目细菌 2 717 株,非发酵革兰阴性菌 1 536 株及其他少见革兰阴性菌 256 株。标准菌株包括大肠埃希菌 ATCC8739、大肠埃希菌 ATCC35218、大肠埃希菌 ATCC 25922、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603、产气克雷伯菌 ATCC 713048、阴沟肠杆菌 ATCC 700323、鼠伤寒沙门菌血清型 ATCC 14028、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、嗜麦芽窄食单胞菌 ATCC 717666、流感嗜血杆菌 ATCC 10211/ATCC 49247、侵蚀艾肯菌 ATCC BAA-1152。

**1.2 仪器与试剂** microTyper MS(江苏天瑞仪器股份有限公司),所用数据库为 V1. 6. 0. 10 版本; VITEK MS 系统(法国生物梅里埃公司),所用数据库为 V3.0 版本。两个系统细菌鉴定使用试剂均为仪器配套试剂。

**1.3 方法** 临床标本培养分离纯化后,采用 VITEK MS 系统及 microTyper MS 鉴定。标准菌株传代后进行同步鉴定。操作及质量控制参照仪器使用说明书及文献[2-3]。当两种系统鉴定结果出现不一致,或均鉴定不出结果时,采用生化方法或 16s rDNA 测序进行验证。对于不易区分的复合群,如阴沟肠杆菌复合群(阴沟肠杆菌、阿氏肠杆菌、霍氏肠杆菌、路氏肠杆菌等)、鲍曼不动杆菌复合群(鲍曼不动杆菌、皮特

不动杆菌、医院不动杆菌、醋酸钙不动杆菌等)、洋葱伯克霍尔德菌复合群(洋葱伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌等)、无色杆菌复合群(木糖氧化无色杆菌、反硝化无色杆菌等)、沙门菌群等,如果系统对复合群细菌鉴定到种,且两系统结果不一致,则需要验证。

**1.4 统计学处理** 采用 Excel2007 软件进行数据处理及统计分析。

**2 结果**

**2.1 细菌鉴定总体情况** 标准菌株中除鼠伤寒沙门菌外,其余菌株 VITEK MS 系统及 microTyper MS 均能准确鉴定到种水平。临床分离菌株共鉴定 4 509 株革兰阴性菌,159 株鉴定结果不一致。以生化鉴定方法和 16s rDNA 测序验证后,VITEK MS 系统准确鉴定 4 419 株,准确率为 98. 0%;microTyper MS 准确鉴定 4 405 株,准确率为 97. 7%。

**2.2 肠杆菌目细菌鉴定情况** VITEK MS 系统主要对部分柠檬酸杆菌属(12/65)和变形杆菌属(2/94)不能进行属内区分,对部分埃希菌属(3/1 018)、克雷伯菌属(3/1 172)、柠檬酸杆菌属(3/65)鉴定无结果或鉴定错误;而 microTyper MS 对部分埃希菌属(4/1 018)、克雷伯菌属(7/1 172)、变形杆菌属(4/94)、柠檬酸杆菌属(3/65)、多源杆菌属(4/17)鉴定无结果或鉴定错误。见表 1。

表 1 肠杆菌目细菌鉴定结果(n)

菌属	n	VITEK MS 系统				microTyper MS			
		鉴定准确	鉴定至属	未鉴定	鉴定错误	鉴定准确	鉴定至属	未鉴定	鉴定错误
埃希菌属	1 018	1 015	0	3	0	1 014	0	0	4
克雷伯菌属	1 172	1 169	0	2	1	1 165	0	7	0
肠杆菌属	202	202	0	0	0	201	0	0	1
变形杆菌属	94	92	2	0	0	90	0	0	4
柠檬酸杆菌属	65	53	9	3	0	62	0	1	2
沙雷菌属	42	42	0	0	0	42	0	0	0
摩根菌属	38	38	0	0	0	38	0	0	0
沙门菌属	17	17	0	0	0	17	0	0	0
多源杆菌属	17	17	0	0	0	13	0	0	4
其他肠杆菌目细菌	52	52	0	0	0	49	0	0	3
合计	2 717	2 697	11	8	1	2 691	0	8	18

注:其他肠杆菌目细菌包括哈夫尼亚菌属(n=11)、普罗科威登菌属(n=11)、拉乌尔菌属(n=9)、泛菌属(n=8)、迟钝爱德华菌(n=5)、邻单胞菌属(n=2)、戴氏西地西菌(n=2)、克吕沃菌属(n=2)、非脱羧勒克菌(n=1)、克洛诺杆菌属(n=1)。

**2.3 非发酵革兰阴性菌鉴定情况** 对非发酵革兰阴性菌,VITEK MS 系统对部分莫拉菌属(3/63)只能鉴定到属,对部分假单胞菌属(9/603)、不动杆菌属(22/546)、伯克霍尔德菌属(3/30)、代尔夫特菌属(6/16)、金黄杆菌属(2/13)鉴定无结果或鉴定错误;

而 microTyper MS 对部分假单胞菌属(20/603)、伯克霍尔德菌属(2/30)、无色杆菌属(3/19)、金黄杆菌属(2/13)鉴定无结果或鉴定错误。见表 2。

**2.4 少见革兰阴性菌鉴定情况** 对少见革兰阴性菌,VITEK MS 系统对部分嗜血杆菌属(2/218)、全部

气单胞菌属(15/15)只能鉴定到属,对部分嗜血杆菌属(1/218)、全部布鲁菌属(4/4)未给出鉴定结果;而 microTyper MS 对全部气单胞菌属(15/15)只能鉴定

到属,对部分嗜血杆菌属(29/218)、艾肯菌属(3/7)、弧菌属(1/3)鉴定错误。见表 3。部分送 16s rDNA 测序菌株结果见表 4。

表 2 非发酵革兰阴性菌鉴定结果(n)

菌属	n	VITEK MS 系统				microTyper MS			
		鉴定准确	鉴定至属	未鉴定	鉴定错误	鉴定准确	鉴定至属	未鉴定	鉴定错误
假单胞菌属	603	594	0	8	1	583	0	0	20
不动杆菌属	546	524	0	22	0	546	0	0	0
窄食单胞菌属	180	180	0	0	0	180	0	0	0
莫拉菌属	63	59	3	1	0	63	0	0	0
伯克霍尔德菌属	30	27	0	2	1	28	0	0	2
无色杆菌属	19	19	0	0	0	16	0	0	3
代尔夫特菌属	16	10	0	6	0	16	0	0	0
金黄杆菌属	13	11	0	0	2	11	0	1	1
其他非发酵革兰阴性菌	66	63	0	3	0	63	0	0	3
合计	1 536	1 487	3	42	4	1 506	0	1	29

注:其他非发酵革兰阴性菌包括罗尔斯顿菌属(n=11)、贪铜菌属(n=11)、脑膜脓毒伊丽莎白菌(n=10)、鲍特菌属(n=8)、拟香味类香味菌(n=7)、苍白杆菌属(n=5)、鞘氨醇单胞菌属(n=5)、丛毛单胞菌属(n=4)、产碱杆菌属(n=2)、凯斯特菌属(n=2)、玫瑰单胞菌属(n=1)。

表 3 少见革兰阴性菌鉴定结果(n)

菌属	n	VITEK MS 系统				microTyper MS			
		鉴定准确	鉴定至属	未鉴定	鉴定错误	鉴定准确	鉴定至属	未鉴定	鉴定错误
嗜血杆菌属	218	215	2	1	0	189	0	0	29
气单胞菌属	15	0	15	0	0	0	15	0	0
巴斯德菌属	8	8	0	0	0	8	0	0	0
艾肯菌属	7	7	0	0	0	4	0	0	3
弧菌属	3	3	0	0	0	2	0	0	1
布鲁菌属	4	0	0	4	0	4	0	0	0
二氧化碳噬纤维菌属	1	1	0	0	0	1	0	0	0
合计	256	234	17	5	0	208	15	0	33

表 4 部分两个系统鉴定结果不一致菌株送 16s rDNA 测序结果

菌株编号	VITEK MS 系统		microTyper MS		16s rDNA 测序
	菌名	分值(分)	菌名	分值(分)	
1	霍氏肠杆菌	99.9	阴沟肠杆菌	2.15	霍氏肠杆菌
2	法式柠檬酸杆菌	99.9	无丙二酸盐柠檬酸杆菌	2.33	法式柠檬酸杆菌
3	门多萨单胞菌	99.9	产碱假单胞菌	1.99	产碱假单胞菌
4	黏玫瑰单胞菌	99.9	鉴定不出	—	吉氏玫瑰单胞菌
5	产吡啶金黄杆菌	99.9	黏金黄杆菌	1.95	<i>Chryseobacterium arthrospiraerae</i> *
6	黏金黄杆菌	99.9	鉴定不出	—	<i>Chryseobacterium daeguense</i> *
7	新洋葱伯克霍尔德菌	99.9	洋葱伯克霍尔德菌	2.14	洋葱伯克霍尔德菌
8	干酪/副干酪/鼠李糖乳杆菌	99.9	鼠李糖/干酪/类干酪乳杆菌	2.00	产碱假单胞菌
9	鉴定不出	—	腿伤凯斯特菌/粪产碱杆菌	2.65	腿伤凯斯特菌

注:\*为目前没有对应中文菌名翻译细菌;—为无数据。

### 3 讨 论

MALDI-TOF MS 通过分析细菌核糖体蛋白谱差异,进行微生物菌种鉴定,在常见细菌和真菌鉴定方面,其鉴定能力不弱于生化鉴定<sup>[4]</sup>。对于很多不常见微生物,MALDI-TOF MS 鉴定能力甚至优于生化鉴定<sup>[5]</sup>,相比生化鉴定,其鉴定更加简便、快速,较传统的生化鉴定早 1~2 d 得到鉴定结果<sup>[6-7]</sup>,临床可以提前根据本地区细菌耐药趋势,做出诊疗调整,节省治疗费用,减少因不合理使用抗菌药物导致的细菌耐药。MALDI-TOF MS 除了细菌鉴定,还能用于细菌药敏试验、流行病学调查、蛋白质检测、核酸检测等,具有广阔应用前景<sup>[8-11]</sup>。目前,国内临床微生物实验室使用的质谱细菌鉴定系统多为进口质谱系统,其具有较完善的数据库,但因病原微生物流行情况存在地域分布差异,需要验证其对国内细菌的鉴定性能。随着我国科技的发展,研制出多款国产质谱细菌鉴定系统<sup>[12]</sup>。国产质谱系统数据库的构建基于国内流行细菌的蛋白谱,相比进口设备,在国内细菌鉴定方面具有一定优势。但国产质谱系统因起步较晚,在数据库方面还需进一步完善,在临床微生物实验室使用较少,细菌鉴定能力还需进一步验证。

革兰阴性菌是国内临床微生物实验室分离的主要病原菌,占 70% 左右<sup>[13]</sup>,设备能否准确鉴定革兰阴性菌,对该设备是否能应用到临床细菌鉴定具有重要参考价值。本研究结果显示,在鉴定准确率方面,microTyper MS 与 VITEK MS 系统在革兰阴性菌鉴定方面具有相近的准确率(VITEK MS 系统准确率为 98.0%,microTyper MS 准确率为 97.7%)。VITEK MS 系统对部分柠檬酸杆菌属、全部气单胞菌属、部分莫拉菌属只能鉴定到属,对部分不动杆菌属、假单胞菌属、代尔夫特菌属无鉴定结果,而 microTyper MS 对气单胞菌属只能鉴定到属,对部分变形杆菌属、多源杆菌属、假单胞菌属、无色杆菌属有较多鉴定错误。两种系统对传统不易区分的复合群如阴沟肠杆菌复合群、鲍曼不动杆菌复合群、洋葱伯克霍尔德菌复合群、无色杆菌属复合群、沙门菌群等,大部分不能鉴定到属,对上述细菌的鉴定能力还有待加强。本研究显示,与进口质谱鉴定系统 VITEK MS 系统相比,microTyper MS 对革兰阴性菌具有相似的鉴定能力。对部分革兰阴性菌如金黄杆菌属、布鲁菌属、艾肯菌属、弧菌属、二氧化碳噬纤维菌属,因临床少见,故纳入比对菌株较少,对这些细菌的鉴定能力,还需进一步验证。革兰阴性菌是国内临床微生物实验室检出的主要病原菌。本研究结果显示,对革兰阴性菌,国产质谱鉴定系统 microTyper MS 具有与进口质谱鉴定系统 VITEK MS 系统相似的鉴定准确率。对一些少见革兰阴性菌,还需用更多菌株来验证国产质谱系

统的鉴定性能。

### 参考文献

- [1] ANGELETTI S. Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology[J]. J Microbiol Methods, 2017, 138: 20-29.
- [2] 胡继红, 马筱玲, 王辉, 等. MALDI-TOF MS 在临床微生物鉴定中的标准化操作专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(4): 241-249.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for the identification of cultured microorganisms using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry: M58 [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2017.
- [4] 罗燕萍. 质谱技术在临床微生物实验室中的应用前景[J]. 检验医学, 2015, 30(2): 97-101.
- [5] SENG P, ABAT C, ROLAIN J M, et al. Identification of rare pathogenic bacteria in a clinical microbiology laboratory: impact of Matrix-Assisted laser desorption Ionization-Time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(7): 2182-2194.
- [6] 陈荣, 罗燕萍, 杨继勇, 等. 利用质谱技术直接检测阳性血培养瓶中假丝酵母菌属[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(14): 3629-3631.
- [7] TIMOTHY J, LEE T, TOM O, et al. Rapid identification of gram-negative organisms from blood culture bottles using a modified extraction method and MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 77(2): 110-112.
- [8] VAN BELKUM A, CHATELLIER S, GIRARD V, et al. Progress in proteomics for clinical microbiology: MALDI-TOF MS for microbial species identification and more[J]. Expert Rev Proteomics, 2015, 12(6): 595-605.
- [9] MOORE L M, CHO S, THOREN K L. MALDI-TOF mass spectrometry distinguishes daratumumab from M-proteins[J]. Clin Chim Acta, 2019, 492: 91-94.
- [10] FEUCHEROLLES M, CAUCHIE H M, PENNY C. MALDI-TOF mass spectrometry and specific biomarkers: potential new key for swift identification of antimicrobial resistance in foodborne pathogens[J]. Microorganisms, 2019, 7(12): 593.
- [11] 张仁峰, 张炳昌, 邵春红, 等. MALDI-TOF MS 用于碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌同源性分析的初步研究[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(8): 589-595.
- [12] 赵琳娜, 张伟, 刘娜, 等. 三种基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱系统对常见微生物鉴定结果的比较[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(8): 679-687.
- [13] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2017 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(3): 241-251.