

质谱技术在临床微生物实验室的应用进展

韩志勇 刘媛媛

作者单位:300280 天津市,天津海滨人民医院检验科

【摘要】 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) 技术是一项能够分析多种组分 (如蛋白质、脂类、脂多糖等) 的技术,其以操作简便、自动化、快速和高通量的优点成为临床微生物检验的新方法。MALDI-TOF-MS 技术在细菌、真菌和厌氧菌鉴定中较其他常用微生物检验方法的准确率高,且均可鉴定到种。但在亲缘关系较近的链球菌属和嗜麦芽窄食单胞菌中的鉴定准确性较低,仍需进一步探索研究。MALDI-TOF-MS 技术对金黄色葡萄球菌、产碳青霉烯酶细菌和鲍曼不动杆菌等的耐药性筛查具有较高的准确率,但对肠杆菌科耐药性的检测效果较差,仍需深入研究。随着细菌数据库及标准菌株图谱的完善, MALDI-TOF-MS 技术必将在微生物鉴定、分型和耐药监测等方面发挥更大作用。

【关键词】 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱;细菌;真菌;厌氧菌;耐药性;菌种
doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.03.013

目前,在医院临床微生物实验室鉴定细菌主要依赖于传统的生物化学反应、分子生物学和形态学等方法,培养出单个细菌菌落的鉴定耗时长,即使使用自动化细菌鉴定仪器,在时间上还是不能满足临床对检测结果时效性的要求;而基于分子生物学方法进行微生物鉴定大大地提高了灵敏度和时效性,但对工作人员技术要求高,检测成本高,只能针对某些特定菌株,还是难以满足临床常规要求。自 80 年代初,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) 技术就已经成为一个用于研究与分析蛋白质特征的有利工具,以其操作简便、自动化、快速、高通量等优势受到青睐,并开始应用于医院微生物实验室,成为了一种新的微生物鉴定方法。然而由于仪器昂贵,一次性投入成本高, MALDI-TOF-MS 在国外临床微生物实验室的应用尚未普及,在国内临床微生物检验中的应用也刚刚起步。但是, MALDI-TOF-MS 质谱技术以其固有的优势进入临床微生物诊断,发展迅速,并预计在将来彻底改变微生物实验室的面貌。本文就国内外对 MALDI-TOF-MS 技术用于临床微生物鉴定临床分离菌株及细菌耐药性研究的最新进展做一综述。

1 MALDI-TOF-MS 技术

MALDI-TOF-MS 分析法是通过对被测样品离子质荷比的测定来进行分析的一种分析方法,其基本原理是使样品中的分析物在离子源中发生电离,生成不同质荷比的带电荷的离子,经加速电场的作用,形成离子束,进入质量分析器。质

量分析器将同时进入其中的不同质量的离子按质荷比大小分离。分离后的离子依次进入离子检测器,采集放大离子信号,经计算机处理,绘制成质谱图。这些原理使 MALDI-TOF-MS 能完成多种成分 (包括蛋白质、脂类、脂多糖和脂寡糖、DNA、多肽及其他能被离子化的分子) 的分析^[1,2]。同时具有样本制备方便、实验操作简单、数据库可不断扩展等优点,可实现样本微量化、高通量检测和结果自动分析,检测过程从上样到结果报告可在数分钟内完成。

2 在临床微生物细菌鉴定中的应用

2.1 细菌鉴定 近年来,用 MALDI-TOF-MS 鉴定细菌的报道不断增加,由于分析所需细菌的样本量小,只需要将菌株培养 24 h 后就可分析,分析每个样本孔需 1 min 左右的时间,显示出这一技术在临床病原菌鉴定中广阔的应用前景。2010 年, Bizzini 等^[3]对使用 MALDI-TOF-MS 方法和传统方法鉴定临床分离细菌进行了比较,用 MALDI-TOF-MS 鉴定 1371 株已用传统方法鉴定完成的临床分离株,其中 1278 株 (93.2%) 可以鉴定到种的水平,73 株 (5.3%) 可以鉴定到属的水平,不能够准确鉴定的有 20 株 (1.5%);在被鉴定到种的水平的 1278 株菌中,有 63 (4.9%) 株的鉴定结果与传统方法的鉴定结果不一致,其中绝大多数 (42/63) 不一致的结果是由系统数据库相关分类的差异造成的,14 株是由质谱仪的分辨率较低造成的,另外的 7 株是由于传统方法的鉴定错误。van Veen 等^[4]也对 980 株临床分离细菌进行了前瞻性实验研究,结果表明 MALDI-TOF-MS 对菌株进行鉴定的准确性要高于

传统的生化方法(92.2%和 83.1%)。MALDI-TOF-MS 可以准确鉴定 97.7%的肠杆菌科,92.0%发酵型革兰阴性杆菌,94.3%的葡萄球菌,84.8%的链球菌及 85.2%的酵母菌。

随着研究不断深入,各种细菌的质谱数据库逐步完善。目前,已经有经食品药品监督管理局和国家食品药品监督管理局批准的质谱仪及相应的质谱数据库,可覆盖包括革兰阴性菌、革兰阳性菌等临床常见细菌以及真菌的不同菌属及菌种。2011 年,Benagli 等^[5]用 MALDI-TOF-MS 与 Phoenix、API 和 16S rDNA 序列分析方法对 1019 株菌进行比较研究,证明加德纳菌、尿肠球菌和粪肠球菌等与其他常规方法的鉴定一致率分别为 97.4%、100.0%和 100.0%,其结果与 16S rDNA 序列分析几乎完全吻合。但是鸪鸡肠球菌和链球菌属的鉴定一致率较低,分别为 44.4%和 78.9%。国内鲍春梅等^[6]用 MALDI-TOF-MS 鉴定 27 个菌属和 73 个菌种共计 1665 株革兰阴性菌,在属和种水平上与 Vitek2 鉴定结果的符合率埃希菌属为 99%和 99%,克雷伯菌属为 95%和 90%,假单胞菌属为 94%和 89%,沙雷菌属为 93%和 88%,肠杆菌属为 93%和 73%,并将细菌鉴定时间由 16-18 h 缩短到 3-5 min。而鉴定气单胞菌、弧菌和沙门菌在种的水平结果不理想,符合率仅为 37%、27%和 0%。

吕佳等^[7]研究发现直接涂抹法虽操作简便,可重复性好,但相对而言,其质谱峰的质量易受涂抹均匀性、杂质(如脂质和多糖)峰等背景峰干扰,造成信噪比降低,直接影响鉴定结果的准确性。提取法能有效提取细菌表面蛋白,降低背景峰干扰,信噪比良好,是值得推荐使用的处理方法。

MALDI-TOF-MS 技术对有些微生物,如链球菌属和嗜麦芽芽孢单胞菌的鉴定不尽如人意,可能与细菌之间的亲缘关系相近或特殊蛋白指纹图谱峰的特征性不明显有关,需要在实际临床应用中不断探索^[4]。

2.2 真菌鉴定 采用 MALDI-TOF-MS 技术对真菌进行检测的研究相对较晚。2000 年,Welham 等^[8]首次对 MALDI-TOF-MS 技术在青霉菌、小柱孢菌和红色毛癣菌等真菌检测中的应用进行了初步研究。之后很多学者对 MALDI-TOF-MS 在致病性酵母菌和丝状真菌检测中的准确性、检测条件以及应用范围等方面进行了更为深入地研究。

2011 年,Putignani 等^[9]对 303 株临床分离的酵母菌和酵母样菌采用 MALDI-TOF-MS 进行检测,与传统方法鉴定的符合率为 84.8%,经基因分型校正后,鉴定准确率为 91.7%,其中 20 株由于数据库数据缺乏而未得到鉴定。2012 年,Seyfarth 等^[10]采用 MALDI-TOF-MS 与 API 系统两种方法检测 83 株酵母菌,二者准确率分别达到 94.0%和 84.3%,而 MALDI-TOF-MS 参考数据库的更新较 API 系统要方便许多。McTaggart 等^[11]对 160 株酵母菌(包括 137 株隐球菌和 23 株非隐球菌)进行了 MALDI-TOF-MS 检测,鉴定到种水平的准

确率为 100%,而新生隐球菌鉴定到亚种水平的准确度也高达 98.8%(85/86)。2012 年,Firacative 等^[12]利用 MALDI-TOF-MS 技术对 164 株新生隐球菌和格特隐球菌进行检测,能够 100% 准确鉴定到种,而且能够区分 8 个主要的分子类型。

2012 年,国内靳颖等^[13]对 MALDI-TOF-MS 鉴定临床常见的酵母菌株进行了评价,目的是确定其是否适合酵母菌的快速鉴定。实验中 MALDI-TOF-MS 对 150 株临床酵母菌在属的水平上 100%可以被正确鉴定出来,在种的水平上的鉴定符合率为 94%。

张明新等^[14]对 60 株临床分离的酵母菌研究时,用 MALDI-TOF-MS 鉴定的结果与 Vitek compact 全自动微生物鉴定系统比对,鉴定符合率为 95%(57/60),他们认为质谱分析前准备阶段是鉴定的关键环节,其中培养条件和菌落处理溶剂是重要影响因素。

MALDI-TOF-MS 在丝状真菌检测中的应用由于丝状真菌具有多种形态如菌丝、分生孢子等,使得蛋白质谱可能会因真菌的生长状况和样本部位的不同而发生变化,因此 MALDI-TOF-MS 对丝状真菌的检测相对落后于细菌和酵母菌,但近年来亦有不少学者对此进行了从基础到临床应用方面的研究。Alshawa 等^[15]对 360 株临床分离的皮肤癣菌和 21 株小柱孢属菌进行 MALDI-TOF-MS 检测,鉴定到种的准确率分别为 91.9%(331/360)和 85.7%(18/21),27 株皮肤癣菌和 3 株小柱孢属菌没有得到鉴定是因为没有获得质谱信号,而只有 2 株(0.5%)皮肤癣菌鉴定错误。

2.3 厌氧菌鉴定 厌氧菌感染常见于临床深部组织及血液感染,随着临床对厌氧菌感染的日益重视以及细菌培养技术的提高,其培养阳性率也逐渐提高。厌氧菌对培养条件及鉴定条件要求苛刻。传统生化鉴定技术易受到环境影响,且鉴定周期长,已不能满足临床实验室快速准确鉴定厌氧菌的需求。厌氧菌 16S rRNA 基因序列法虽然有快速、准确的优点,但操作复杂、成本较高,不适合作为临床实验室常规检测项目开展。MALDI-TOF-MS 是一种新型的软电离生物质谱,具有灵敏、准确、分辨率高的特点,而且操作简单、成本低廉,可高通量检查样本,为临床微生物检验提供了一种新型的有效手段。

2014 年,袁梁等^[16]对 56 株厌氧菌的研究表明,MALDI-TOF-MS 与 16S rRNA 基因序列法鉴定的符合率为 94.6%;传统生化 Vitek32 ANI 鉴定卡与 16S rRNA 基因序列法鉴定结果的符合率为 80.4%。MALDI-TOF-MS 技术鉴定的符合率高于传统生化鉴定技术。MALDI-TOF-MS 仪器操作简单,即使批量鉴定也可在 1-2 h 完成,16S rRNA 基因序列法至少需要 4-6 h 才能完成一个检测周期,而 Vitek32 ANI 鉴定卡则需要 24-72 h 才能获得结果。在快速检测与高通量检测方面,MALDI-TOF-MS 优势明显,而且 MALDI-TOF-MS 所使用试

剂价格低廉,成本也具有一定优势。该研究中,4 株厌氧菌的鉴定结果分值小于 1.7 的占 7.1%(4/56),其中 3 株的结果与 16S rRNA 基因序列法的鉴定结果不一致。有学者^[4]认为这与 Biotyper 软件数据库不完善有关,Biotyper 3.0 软件包含 212 种厌氧菌质谱数据,涵盖大部分临床常见厌氧菌,但如果希望进一步提高鉴定成功率及扩大使用范围,仍需完善 MALDI-TOF-MS 的数据库。

2.4 血液及体液标本的培养鉴定 部分研究人员对 MALDI-TOF-MS 检测血培养中病原菌的方法学进行了评价。尽管研究者们使用了不同的血培养系统,但尚无证据表明血培养系统对实验结果的影响。2009 年,在 1 项为期 5 个月的回顾性研究中,研究者^[17]对 584 份阳性血培养标本进行检测,其中 562 份为单一菌感染,22 份为混合菌感染。实验结果显示可鉴定 94% 的革兰阴性杆菌,但只能鉴定 67% 的革兰阳性球菌,尤其是链球菌无法鉴定。通过比较不同的溶剂,发现使用乙腈作为前处理的溶剂不利于革兰阳性球菌的鉴定。另一项为期 9 w 的研究^[18]发现,122 份阳性血培养标本中,98.55% 的标本可鉴定至种属水平,发生鉴定错误的细菌主要见于链球菌和葡萄球菌。10 株肺炎链球菌中有 8 株无法鉴定,2 株虽可鉴定至种,但其所获鉴定评分较低(1.7~2)。

通过上述研究可见,MALDI-TOF-MS 快速、可靠,但对肺炎链球菌的鉴定尚存在一定困难,必须用其他方法确认。如使用链球菌胶乳凝集试剂可成功地将肺炎链球菌与缓症链球菌区分。

Lee 等^[19]用 MALDI-TOF-MS 直接对尿液样本鉴定腐生葡萄球菌,并与目前通用的鉴定系统包括 BD 公司的 Phoenix 鉴定仪、梅里埃公司的 Vitek2 鉴定仪和 MicroScan 鉴定系统进行比较。通过 16S rRNA 和 rpoB 基因测序确定,鉴定正确率分别为 100%、86.7%、86.7% 和 93.3%。

Ferreira 等^[20]用 MALDI-TOF-MS 联合 UF-1000I 流式细胞仪直接对 220 份细菌含量大于 105 CFU/mL 的尿路感染标本进行细菌鉴定,结果对最常引起尿路感染的大肠埃希菌在种的水平上的鉴定正确率分别为 91.8% 和 92.7%。该研究表明,当患者为单一菌感染且菌落计数达 105 CFU/mL 时,MALDI-TOF-MS 的种属鉴定准确率可以达到 90% 以上,而对于混合性细菌感染尿液标本的鉴定,其鉴定正确率会大大降低。

尽管 Nyvang 等^[21]报道了用 MALDI-TOF-MS 在 30 min 内快速鉴定出 1 例患者脑脊液标本中肺炎链球菌的结果,然而目前该技术对胸水、腹水、脑脊液、脓液等标本的直接检测的相关报道还比较少,应用于这些无菌部位体液中病原的直接鉴定还有待于进一步探索。

3 在耐药性筛查中的应用

MALDI-TOF-MS 对耐药细菌的检测潜能正在被逐渐挖

掘。多数研究采用以下方法:①寻找耐药菌株与敏感菌株间的特征性蛋白和图谱峰;②通过耐药菌株与抗生素共培养,然后检测分解产物。2000 年,Edwards 等^[22]在对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA)的耐药研究中发现,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的质谱图中多个峰值(82~209)显著高于甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA)(37~67)的峰值,且 MRSA 和 MSSA 都有各自的特征峰,MRSA 菌株蛋白质指纹图谱特征峰主要位于 500~2000 质荷比的小分子量范围内。2006 年,Majcherczyk 等^[23]研究显示,MALDI-TOF-MS 能够区分基因型不同的不同耐药性菌株,主要就是根据不同耐药性菌株所具有不同的特征性图谱。Wolters 等^[24]对 MRSA 中的青霉素结合蛋白 PBP2a 检测的研究结果表明,通过寻找耐药菌株的特征性蛋白也可以确定耐药菌,以及迅速确认 SA 中的甲氧西林耐药表型。MALDI-TOF-MS 用于检测产 β -内酰胺酶和碳青霉烯酶的耐药菌,通过耐药菌株与酶抑制剂抗生素共培养 1~3 h,产生足以被质谱仪检测到的酶切产物,然后检测分解产物,从而间接证明耐药酶的存在。采用此方法已成功检测到对氨苄西林、哌拉西林、头孢曲松和头孢他啶耐药的肠杆菌科细菌及产 NDM-1、VIM-1、KPC、OXA-48 和 OXA-162 型碳青霉烯酶的细菌^[25]。

2003 年,国内杜宗敏等^[26]研究发现,在 76 株试验菌株中有 7 株菌株鉴定结果与聚合酶链反应结果不符,进一步的表型耐药性鉴定表明,有 2 株为甲氧苯青霉素耐药株,其他 5 株为敏感株。mecA 阴性的金黄色葡萄球菌也可以表现出耐药表型。这可能是由于青霉素结合蛋白的基因有突变,或是 β -内酰胺酶过度表达,导致 SA 对甲氧苯青霉素耐药的特点呈不均一性,另外,培养条件和所使用的抗生素浓度和种类都会影响到耐药性的表型。耐药性实验的培养条件和 MALDI-TOF-MS 鉴定时所使用的培养条件不同,可能会导致耐药性表型的不同表现。

石柱英等^[27]发现,MALDI-TOF-MS 对不同细菌耐药性检测能力不同,对葡萄球菌可有效鉴别其耐药株与标准株,而对革兰阴性杆菌尤其是肠杆菌的检测效果较差。MALDI-TOF-MS 将为葡萄球菌属细菌耐药性检测提供一种快速鉴定方法。此外,葡萄球菌属细菌耐药株与标准株表面成分的差异还需进一步研究。

2013 年,王利君等^[28]以 125 株泛耐药鲍曼不动杆菌及 110 株碳青霉烯类敏感鲍曼不动杆菌为研究对象,应用质谱仪的 ClinProTool 软件分析各个峰的 ROC 曲线显示 358 质荷比质谱峰与 380 质荷比质谱峰的 ROC 曲线下面积均为 0.99,表明无论不完全水解的质谱图多么复杂,只要水解反应后出现了质谱峰 358 质荷比与 380 质荷比,即可判断鲍曼不

动杆菌产 OXA-23, 此时统计学分析也显示检测灵敏度及特异度均为 100%。通过此方法能快速准确地检测产 OXA-23 鲍曼不动杆菌, 从而快速检测不动杆菌的碳青霉烯酶。

综上所述, 在早期和现阶段的研究中, MALDI-TOF-MS 不能正确地鉴定菌株是因为数据库中标准菌株的图谱有限, 质谱峰数据不充分导致得分较低, 以及细菌库中没有这些菌株, 而通过国内外不断研究补充数据库后, 所有的分离株将逐步被明确地鉴定出来。MALDI-TOF-MS 技术具有快速、准确、高通量的特点, 随着国内外临床实验室的广泛应用及数据库的进一步完善, 必将在微生物鉴定、分型、耐药监测等多方面发挥更大作用。

4 参考文献

- 1 Gekenedis MT, Studer P, Wüthrich S, et al. Beyond the matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) biotyping workflow: in search of microorganism-specific tryptic peptides enabling discrimination of subspecies. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80: 4234-4241.
- 2 Fujimura Y, Miura D. MALDI Mass Spectrometry Imaging for Visualizing In Situ Metabolism of Endogenous Metabolites and Dietary Phytochemicals. *Metabolites*, 2014, 4: 319-346.
- 3 Bizzini A, Durussel C, Bille J, et al. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*, 2010, 48: 1549-1554.
- 4 van Veen SQ, Claas EC, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J Clin Microbiol*, 2010, 48: 900-907.
- 5 Benagli C, Rossi V, Dolina M, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry for the identification of clinically relevant bacteria. *PLoS One*, 2011, 6: 16424.
- 6 鲍春梅, 陈素明, 崔恩博, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱快速鉴定革兰阴性杆菌的研究. *实用检验医师杂志*, 2012, 4: 96-99.
- 7 吕佳, 卢行安, 刘淑艳, 等. MALDI-TOF-MS 技术鉴定食源性致病菌的影响因素. *分析仪器*, 2011, 2: 12-16.
- 8 Welham KJ, Domin MA, Johnson K, et al. Characterization of fungal spores by laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2000, 14: 307-310.
- 9 Putignani L, Chierico FD, Onori M, et al. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi. *Mol Biosyst*, 2011, 7: 620-629.
- 10 Seyfarth F, Wiegand C, Erhard M, et al. Identification of yeast isolated from dermatological patients by MALDI-TOF mass spectrometry. *Mycoses*, 2012, 55: 276-280.
- 11 McTaggart LR, Lei E, Richardson SE, et al. Rapid identification of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*, 2011, 49: 3050-3053.
- 12 Firacative C, Trilles L, Meyer W. MALDI-TOF MS enables the rapid identification of the major molecular types within the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* species complex. *PLoS ONE*, 2012, 7: e37566.
- 13 靳颖, 杨爽风, 王俊妨, 等. 应用基质辅助激光电离飞行时间质谱快速鉴定临床酵母菌. *中国真菌学杂志*, 2012, 7: 269-272.
- 14 张明新, 朱敏, 王玫, 等. 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定常见细菌和酵母菌. *中华检验医学杂志*, 2011, 34: 988-992.
- 15 Alshawa K, Beretti JL, Lacroix C, et al. Successful identification of clinical dermatophyte and *Neoscytalidium* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*, 2012, 50: 2277-2281.
- 16 袁梁, 顾海彤, 耿佳靖, 等. 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术鉴定临床常见厌氧菌. *国际检验医学杂志*, 2014, 35: 327-329.
- 17 La Scola B, Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One*, 2009, 4: e8041.
- 18 Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*, 2010, 48: 444-447.
- 19 Lee TF, Lee H, Chen CM, et al. Comparison of the accuracy of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry with that of other commercial identification systems for identifying *Staphylococcus saprophyticus* in urine. *J Clin Microbiol*, 2013, 51: 1563-1566.
- 20 Ferreira L, Sánchez-Juanes F, González-Avila M, et al. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*, 2010, 48: 2110-2115.
- 21 Nyvang Hartmeyer G, Kvistholm Jensen A, Bocher S, et al. Mass spectrometry: pneumococcal meningitis verified and *Brucella* species identified in less than half an hour. *Scand J Infect Dis*, 2010, 42: 716-718.
- 22 Edwards-Jones V, Claydon MA, Evason DJ, et al. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by intact cell mass spectrometry. *J Med Microbiol*, 2000, 49: 295-300.
- 23 Majcherczyk PA, McKenna T, Moreillon P, et al. The discriminatory

power of MALDI-TOF mass spectrometry to differentiate between isogenic teicoplanin-susceptible and teicoplanin-resistant strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 255: 233-239.

24 Wolters M, Rohde H, Maier T, et al. MALDI-TOF MS fingerprinting allows for discrimination of major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *Int J Med Microbiol*, 2011, 301: 64-68.

25 Sparbier K, Schubert S, Weller U, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against β -lactam antibiotics. *J Clin Microbiol*, 2012, 50: 927-937.

26 杜宗敏, 杨瑞馥, 郭兆彪, 等. 金黄色葡萄球菌及其甲氧苯青霉素耐药性的 MALDI-TOF-MS 鉴定. *分析测试学报*, 2003, 22: 62-66.

27 石桂英, 孙宗科, 陈西平. 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测细菌耐药性的初步研究. *卫生研究*, 2008, 37: 82-85.

28 王利君, 范艳艳, 王玫. 产 OXA-23 鲍曼不动杆菌的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测研究. *国际检验医学杂志*, 2013, 34: 2587-2589.

(收稿日期: 2015-08-07)

(本文编辑: 陈淑莲)

(上接第 196 页)

1 丛玉隆, 邓新立, 时向民, 等. 噻氯匹啶对心肌梗塞患者血小板微粒膜蛋白动态变化的影响. *中华检验医学杂志*, 2003, 26: 654-657.

2 George JN, Thoi LL, McManus LM, et al. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. *Blood*, 1982, 60: 834-840.

3 叶应妩, 王毓三, 等主编. 全国临床检验操作规程. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997, 472-531.

4 稿件处理

4.1 本刊实行以同行审稿为基础的三审制(编辑初审、专家外审、编委会终审)。在投稿时作者须告知与该研究有关的潜在利益冲突(即:是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突)。审稿过程中保护作者稿件的私密权。对不拟刊用的稿件将告知退稿意见,对稿件处理有不同意见者,作者有权申请复议,并提出申诉的文字说明。

4.2 经审核拟定刊用的稿件按退修意见修改整理后,为缩短刊出周期和减少错误,请将修改稿以 E-mail 发送,且修改稿打印件、原稿、退修意见单一并寄回本刊编辑部。

4.3 论文“快速通道”要求 论文具备本专业领域的创新性、科学性和重要性,该论文的早日公布将对临床和科研工作产生重大影响。“快速通道”投稿要求:(1)稿件应符合本刊稿约的要求。(2)作者在投稿前应 与编辑部联系说明研究的基本情况,应提供说明论文需要通过“快速通道”发表理由的书面材料,同时,还应提供省级或省级以上文献检索机构出具的“查新报告”。同时有 2 位高级职称的同行专家(至少有 1 位为非本单位专家)书面推荐意见。(3)经编辑部同意后,将论文发送到指定的电子信箱,并邮寄单位介绍信。(4)作者可推荐 3~5 位审稿专家(包括详细联系方式)供编辑部参考。(5)来稿应提供作者的通讯地址、电话、手机、传真、E-mail 等联系方式。凡要求进入“快速通道”稿件,需交纳审稿费每篇 400 元。汇款至《实用检验医师杂志》编辑部,附言中请务必注明“快速通道审稿费”。对符合“快速通道”要求的论文采用特定审稿流程,在收稿后 1 个月内就论文审稿结果给予答复,对符合要求的论文在收稿后 4 个月内予以发表。

4.4 根据《中华人民共和国著作权法》,并结合本刊实际情况,凡接到本刊收稿回执后 3 个月内未接到稿件处理通知者,系仍在审阅中。作者如欲投他刊,请先与本刊联系,切勿一稿两投。一旦发现一稿两投,将立即退稿;而一旦发现一稿两用,本刊将进行如下处理:(1)刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明,并在中国医师协会系列杂志上通报;(2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报;(3)两年内拒绝发表以该文第一作者为作者的任何来稿。已在非公开发行的刊物上发表,或在学术会议交流过,或已用其他文种发表过(需征得首次刊登期刊的同意)的文稿,不属于一稿两投,但作者在投稿时必须注明。已在一种杂志以摘要形式发表的论文可将全文投给其他杂志,但须征得欲投期刊的同意。

5 投稿地址

来稿请寄:《实用检验医师杂志》编辑部收,地址:天津市河东区成林道 220 号 武警后勤学院南门,邮政编码:300162。

电话(传真):(022)60577729, E-mail: jianyanyishi@163.com, 网址: www.cjocp.com/www.cjocp.org