

梅里埃 VTIEK MS 质谱仪在甲氧西林耐药及敏感的金黄色葡萄球菌快速鉴定的应用研究

林晓晖, 麦惠香, 简梦华, 朱剑霞, 邱伟波 (广州市番禺区中心医院, 广州 511400)

摘要:目的 探讨梅里埃 VTIEK MS 质谱仪快速鉴定甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌 (MRSA) 及甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌 (MSSA) 的可行性。方法 对广州市番禺区中心医院 2018 ~ 2019 年各个病区住院患者在不同部位分离的 30 株 MRSA 及 20 株 MSSA, 用 VITEK 2 Compact 的药敏卡 AST-P639 进行耐药性检测, 用 VTIEK MS 对所有菌株进行鉴定。结果 用 VITEK MS 的 Launch pad 软件对 30 株 MRSA 及 20 株 MSSA 所产生的质谱峰图 m/z 进行分析, 质谱峰 m/z 的 3 009, 5 624 和 6 887 为金黄色葡萄球菌的特征峰, 质谱峰 m/z 2 637 及 4 308 为区分 MRSA 及 MSSA 最主要的特征峰, 其中质谱峰 m/z 2 637 MSSA 组较 MRSA 组低, 质谱峰 m/z 4 308 则 MRSA 组较 MSSA 组高, 不同菌株质谱峰略有不同。结论 梅里埃 VTIEK MS 可快速准确鉴别 MRSA 及 MSSA, 且具有耗时短、灵敏度高、特异性好等特点。**关键词:** 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间质谱仪; 甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌

中图分类号: R378.11; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-121-03
doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.031

Study on VTIEK MS Mass Spectrometer Rapid Identification of Methicillin Resistance and Sensitive *Staphylococcus Aureus*

LIN Xiao-hui, MAI Hui-xiang, JIAN Meng-hua, ZHU Jian-xia, QIU Wei-bo

(Panyu Central Hospital of Guangzhou, Guangzhou 511400, China)

Abstract: Objective To explore the feasibility of VTIEK MS mass spectrometer rapid identification of methicillin resistance aureus (MRSA) and sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). **Methods** 30 MRSA and 20 MSSA was isolated by the patients in various disease areas of Guangzhou Panyu Center Hospital from 2018 to 2019, that with VITEK 2 Compact's drug-sensitive card AST-P639 for drug resistance testing, and VITEK MS to identify the strain. **Results** Analysis of the mass spectrometry peak m/z produced by VITEK MS certified MRSA and MSSA using VITEK MS Launch pad software, mass spectrometry peak m/z of 3 009, 5 624, 6 887 was the characteristic peak of *Staphylococcus aureus*, mass spectrometry peak m/z 2 637 and 4 308 were the most important characteristic peaks to distinguish MRSA from MSSA, where mass spectrometry peak m/z 2 637 MSSA group was lower than the MRSA group, the mass spectrometry peak m/z 4 308 was higher than MSSA, and the mass spectrometry peak skewed of different strains was slightly different. **Conclusion** VTIEK MS can quickly and accurately identify MRSA and MSSA, which are characterized by short time-consuming, high sensitivity and good specificity.

Keywords: methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; MOLDI-TOF MS; methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*

金黄色葡萄球菌是革兰氏阳性球菌致病菌,可引起化脓感染、肺炎、伪膜性肠炎,甚至败血症、脓毒症等全身感染。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 自 1961 年首次被发现至今,其感染几乎遍及全球,且感染率呈逐年增加的趋势^[1]。基质辅助激光解吸 / 电离技术是新近出现的可用于微生物鉴定的强有力的技术^[2-3], VTIEK MS 质谱仪是法国生物梅里埃公司的基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TOF MS)。本研究探讨 VTIEK MS 质谱仪快速鉴定甲氧西林耐药及敏感的金黄色葡萄球菌的可行性。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2018 年 1 月 ~ 2019 年 4 月广州市番禺区中心医院各个病区患者各种标本分离的 MRSA 30 株及 MSSA 20 株。其中 MRSA 标本中痰标本 6 株,血液 5 株,分泌物 14 株,尿标本 2 株,粪便、穿刺液及脓各 1 株。MSSA 标本中,血液 5 株,分泌物 14 株,痰 1 株。

1.2 试剂及仪器 金黄色葡萄球菌的药敏卡 AST-P639 及 VITEK 2 Compact 全自动细菌分析仪为生物梅里埃公司的产品。甲酸、基质及靶板购自法国生物梅里埃公司,基质辅助激光解吸 / 电离飞

基金项目: 广州市卫计局资助项目 (20171A010335)。

作者简介: 林晓晖 (1976-), 女, 硕士, 主任技师, 主要从事微生物检验, E-mail: carollinxh@163.com。

行时间质谱仪 (MOLDI-TOF MS) 为法国生物梅里埃公司的 VITEK MS。

1.3 方法

1.3.1 菌株的培养和鉴定: 把 30 株及 20 株复苏后的 MRSA 及 MSSA 转入血平板, 35℃ CO₂ 温箱孵育 24 h, 按仪器的操作要求用 VITEK MS 进行鉴定并得到相应的质谱峰图。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC8739。

1.3.2 药敏试验及质控菌株: 金黄色葡萄球菌用 VITEK2 Compact 的药敏卡 AST-P639 药敏进行药敏试验, 结果参照 CLSI2018 规定的标准判断, 质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213。

1.4 统计学分析 把 30 株 MRSA 及 20 株的 MSSA 质谱峰图用法国生物梅里埃公司 VITEK MS 的 Launch pad 软件进行比较。

2 结果

2.1 MRSA 及 MSSA 的临床资料 30 株 MRSA 其中痰标本 6 株, 血液 5 株, 分泌物 14 株, 尿标本 2 株, 粪便、穿刺液及脓各 1 株; 病区分布 ICU 5 株,

肾病风湿科 4 株, 内分泌科 4 株, 呼吸内科 2 株, 创伤骨科 4 株, 神经外科 3 株, 乳腺科 2 株, 消化内科、康复科、微创介入科、关节骨科、泌尿外科、耳鼻喉科各 1 株。20 株 MSSA 中, 血液标本 5 株, 分泌物标本 14 株, 痰标本 1 株; 病区分布中 ICU 2 株, 内分泌科 2 株, 肾病风湿科 2 株, 心血管内科 2 株, 耳鼻喉科 3 株, 感染科 2 株, 乳腺科 2 株, 血液科、微创介入科、关节骨科、综合病区、新生儿科各 1 株。

2.2 MRSA 及 MSSA 质谱峰图分析 用 VITEK MS 质谱仪科研库 (RUO) 的 Launch pad 软件对 MRSA 及 MSSA 所产生的质谱峰图 m/z 进行分析, 质谱峰 m/z 的 3 009, 5 624, 6 887 为金黄色葡萄球菌的特征峰, 2 637, 4 308 为区分 MRSA 及 MSSA 最主要的特征峰, 其中 MSSA 组的质谱峰 m/z 在 2 637 低于 MRSA 组, 而质谱峰 m/z 4 308 时 MRSA 组则高于 MSSA 组。不同的菌株 MRSA 的质谱峰略有差异。A1, A2, B4 为 MRSA, 分别为分泌物, 血及痰标本, A3, B1 为 MSSA, 分别为血及分泌物标本。结果见图 1 及图 2。

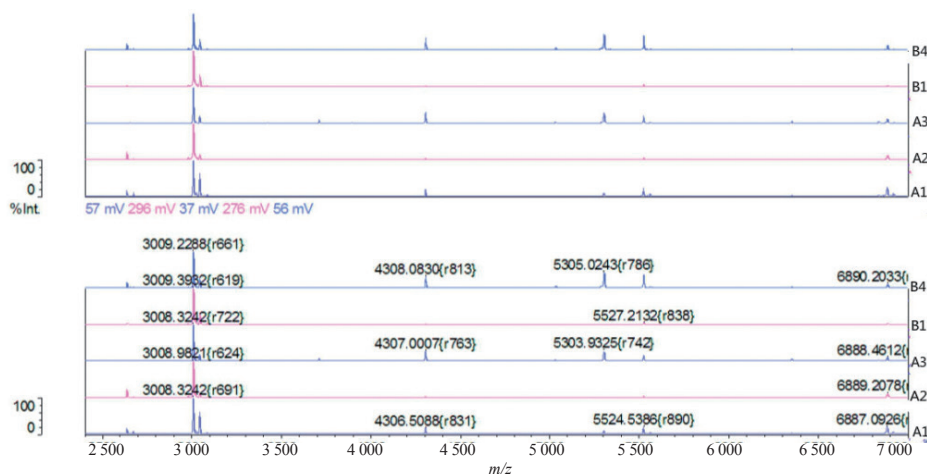


图1 部分 MRSA 及 MSSA 在 2 000 ~ 7 000 质谱峰图

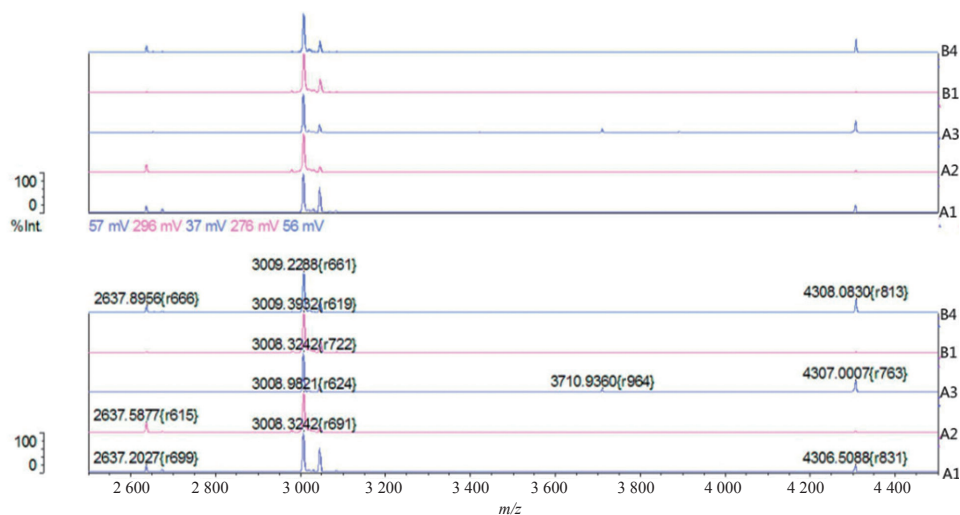


图2 部分 MRSA 及 MSSA 在 2 500 ~ 4 500 质谱峰图

3 讨论

由于 MRSA 具有感染的发病率和致死率较高, 传染性强, 容易导致流行的暴发等特点。如何快速区分 MRSA 及 MSSA 成为临床微生物检验及临床治疗的迫切任务。分析本研究中菌株的临床资料, 标本大部分来源于分泌物, 这可能与金黄色葡萄球菌感染部位以化脓性感染为主有关。另外, 血液标本仅次于分泌物标本, 这可能与大部分病患基础疾病且在住院期间使用呼吸机、置管或植入物等侵入性操作有关。

MALDI-TOF MS 是通过飞行时间不同而被检测即测定离子的质荷比 (M/Z) 与离子的飞行时间呈正比, 检测离子。MALDI-TOF MS 技术具有快速、准确、灵敏、自动化等特点^[4], 逐渐在微生物实验室鉴定中占有重要的地位^[5], 虽然 MALDI-TOF MS 用于微生物的鉴定已日趋成熟, 但该技术在细菌药物敏感性及其耐药性研究的能力仍然有限^[6]。近年来, 也有学者用 MOLDI-TOF MS 快速区分 MRSA 及 MSSA^[7-8]; MALDI-TOF MS 还可用于 MRSA 的分型及克隆菌株的分子流行病学研究^[9]。

本研究中, 我们用 VITEK MS 的 Launch pad 软件的质谱峰区分 MRSA 及 MSSA, 从图 1 我们可以看到, 质谱峰 m/z 为 2 637, 4 308 为区分 MRSA 及 MSSA 最主要的特征峰。其中 MSSA 组的质谱峰 m/z 在 2 637 低于 MRSA 组, 而质谱峰 m/z 4 308 时 MRSA 组则高于 MSSA 组。不同的菌株的质谱峰略有差异, 这可能由于不同的菌株而不尽相同。另外, 不同标本的来源以及不同的培养条件下的 MRSA 及 MSSA 菌株也可能是造成质谱峰不同的原因。

综上所述, VITEK MS 可快速准确鉴别 MRSA 及 MSSA, 为临床提供一种快速全面简便的方法。

参考文献:

- [1] SHORR A F. Epidemiology of *Staphylococcal* resistance[J]. Clinical Infectious Diseases, 2007, 45(3): S171-S176.
- [2] FREIWALD A, SAUER S. Phylogenetic classification

and identification of bacteria by mass spectrometry[J]. Nature Protocols, 2009, 4(5): 732-742.

- [3] 赵苏英, 李岷. MALDI-TOF 质谱分析在临床微生物实验室的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(5): 110-112.
- ZHAO Suying, LI Min. MALDI-TOF mass spectrometry in the clinical microbiology laboratory[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(5): 110-112
- [4] DOERN C D. Integration of technology into clinical practice[J]. Clinics in Laboratory Medicine, 2013, 33(3): 705-729.
- [5] BISWAS S, ROLAIN J M. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture[J]. Journal of Microbiological Methods, 2013, 92(1): 14-24.
- [6] 蔡加昌, 张嵘. MALDI-TOF MS 在细菌耐药性检测中的应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33(2): 152-155.
- CAI Jiachang, ZHANG Rong. MALDI-TOF MS for the detection of drug resistance of bacteria [J] Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2013, 33(2): 152-155.
- [7] WANG Yeru, CHEN Qian, CUI Shenghui, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens by matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2013, 26(6): 430-436.
- [8] 胡燕燕, 蔡加昌, 周宏伟, 等. 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱仪快速鉴别甲氧西林耐药和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2015, 35(1): 42-45.
- HU Yanyan, CAI Jiachang, ZHOU Hongwei, et al. Rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry [J] Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2015, 35(1): 42-45.
- [9] WOLTERS M, ROHDE H, MAIER T, et al. MALDI-TOF MS fingerprinting allows for discrimination of major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2011, 301(1): 64-68.

收稿日期: 2020-04-20 修回日期: 2020-05-13

(下转第 54 页)

- [13] 常运鹤, 王庆贤. 循环微小 RNA 在静脉血栓栓塞症中的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(2): 389-393.
- CHANG Yunhe, WANG Qingxian. Research progress of circulating microRNA in venous thromboembolism [J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2019, 36(2): 389-393.
- [14] QU Yi, WU Jinlin, CHEN Dapeng, et al. MiR-139-5p inhibits HGTD-P and regulates neuronal apoptosis induced by hypoxia-ischemia in neonatal rats [J]. Neurobiology of Disease, 2014, 63: 184-193.
- [15] IRMADY K, JACKMAN K A, PADOW V A, et al. Mir-592 regulates the induction and cell death-promot-

ing activity of p75NTR in neuronal ischemic injury[J]. The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience, 2014, 34(9): 3419-3428.

- [16] CHEN Qun, ZHANG Fan, WANG Yanbo, et al. The transcription factor C-Myc suppresses miR-23b and miR-27b transcription during fetal distress and increases the sensitivity of neurons to hypoxia-induced apoptosis [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0120217.
- [17] WANG Peng, LIANG Jia, LI Yun, et al. Down-regulation of miRNA-30a alleviates cerebral ischemic injury through enhancing beclin 1-mediated autophagy[J]. Neurochemical Research, 2014, 39(7): 1279-1291.

收稿日期: 2020-03-22 修回日期: 2020-04-17