

• 论 著 •

可用于尿酸检测的钯纳米粒子的制备及初步应用*

邹瑟音¹, 周 念², 黄文秀², 凌连生², 曹东林¹, 雷 达¹

(1. 广东省第二人民医院检验医学部, 广东广州 518037; 2. 中山大学化学与工程学院, 广东广州 510275)

摘 要:目的 制备具有过氧化物酶活性的钯纳米粒子, 并初步探讨其应用于尿酸检测的可行性。方法 通过简单的一步法化学反应合成具有氢键超分子结构的钯纳米粒子复合物(MCA-Pd NPs), 应用比色分析方法检测其过氧化物酶活性。再设计一系列的试验寻找到纳米粒子应用于尿酸检测体系的最佳反应时间、温度、试剂用量等, 并通过制作尿酸标准曲线、检测临床血清标本来探索其临床应用的可行性。结果 成功合成性质稳定、具有强过氧化物酶活性的 MCA-Pd NPs, 并能取代辣根过氧化物酶应用到尿酸检测体系中, 检测体系的最佳试剂用量为 100 μL MCA-Pd NPs(0.105 mg/mL)和 50 μL ABTS²⁻(90 mmol/L), 最佳反应温度为 37 $^{\circ}\text{C}$, 最佳反应时间为 20 min。纳米粒子比色法检测的 5 份临床血清标本与日立 7600 生化分析仪检测结果相一致, 与临床诊断相符合。结论 钯纳米粒子制作过程简单、性质稳定、类过氧化物酶活性强, 并基于该纳米粒子和尿酸酶建立了一种可初步应用于临床血清标本尿酸检测的比色分析方法。

关键词:钯纳米粒子; 过氧化物酶; 尿酸; 比色分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.22.014

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2020)22-2744-05

文献标识码:A

The preparation and application of palladium nanoparticles using in uric acid detection preliminarily*

ZOU Seyin¹, ZHOU Nian², HUANG Wenxiu², LING Liansheng², CAO Donglin¹, LEI Da¹

(1. Department of Clinical Laboratory Medicine, Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou, Guangdong 518037, China; 2. College of Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China)

Abstract:Objective To prepare palladium nanoparticles with peroxidase activity and use in uric acid detection preliminarily. **Methods** Synthesis of the palladium nanoparticles with hydrogen bonding supramolecular structure by a simple one-step reaction and the peroxidase activity was detected using the colorimetric analysis. To find the optimum reaction time, temperature, dosage of reagents of uric acid detection system involving palladium nanoparticles through a series of experiments. To explore the feasibility of its clinical application by standard curve production and clinical serum samples test. **Results** Successfully synthesised the palladium nanoparticles with stability and high peroxidase activity and could be applied in the uric acid detection system instead of horseradish peroxidase. The best dosage, optimum reaction temperature and time of this system was 100 μL MCA-Pd NPs (0.105 mg/mL) and 50 μL ABTS²⁻ (90 mmol/L), 37 $^{\circ}\text{C}$, 20 min respectively. The results of 5 clinical serum samples of palladium nanoparticles colorimetric analysis were consistent with those of Hitachi 7600 biochemical analyzer, being in keeping with the clinical diagnosis. **Conclusion** The palladium nanoparticles has the characteristics of making simply, stable nature and strong peroxidase activity, a colorimetric analysis is successfully established basing on palladium particles and uric acid enzyme to test uric acid.

Key words: palladium nanoparticles; peroxidase; uric acid; colorimetric analysis

过氧化物酶是一类以过氧化氢为电子受体催化底物氧化的氧化还原酶, 它们能催化很多反应, 大部分的过氧化物酶都由植物、真菌或细菌产生, 如辣根过氧化物酶(HRP)、木质素过氧化物酶、酵母细胞色素 C 过氧化物酶等^[1-5], 它们被广泛应用于临床检验项目的检测, 是试剂盒显色体系中的关键成分。然

而, 天然过氧化物酶属于蛋白, 在实际应用中也存在许多不足, 随着纳米医学技术的不断发展, 越来越多的研究者致力于寻找或设计出可替代天然过氧化物酶的材料, 如纳米模拟酶, 指模拟具有天然过氧化物酶的特定催化活性的纳米材料, 它们既具备天然过氧化物酶的优良催化活性, 又弥补了天然过氧化物酶的

* 基金项目: 广东省第二人民医院青年科研项目(YQ2017-008); 广东省中医药局课题面上项目(20202004)。

作者简介: 邹瑟音, 女, 副主任技师, 主要从事临床检验方法学建立的基础与临床应用研究。

本文引用格式: 邹瑟音, 周念, 黄文秀, 等. 可用于尿酸检测的钯纳米粒子的制备及初步应用[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(22): 2744-2747.

各种不足,可应用于各种物质的检测。AMOURIZI 等^[6]通过化学还原法合成具有过氧化物酶活性的金纳米粒子 PVA-GNPs,可通过比色法进行氟离子(F^-)、溴离子(Br^-)和碘离子(I^-)等负离子的检测。WU 等^[7]通过简单而高效的方法合成的氧化亚铜(Cu_2O)纳米粒子表现出极高的类过氧化物酶活性,可应用于检测葡萄糖和胆固醇。SHI 等^[8]的研究利用二价铜离子和氮掺杂石墨烯量子点,在碱性条件下合成的纳米复合材料展现出来的类过氧化物酶活性远高于纯 Cu_2O 纳米粒子和天然过氧化物酶 POx,且该研究基于尿酸酶建立了一种用于微量尿酸检测的化学发光法。本研究自行设计合成具有氢键超分子结构的钯纳米粒子复合物(MCA-Pd NPs),并应用到尿酸检测中,以初步探讨其对临床血清标本中尿酸进行检测的可行性。

1 材料与方法

1.1 标本来源 5 份血清标本均来自广东省第二人民医院门诊及住院患者,3 000 r/min 离心 5 min,2 h 内检测。

1.2 仪器与试剂 30%过氧化氢(H_2O_2)溶液购自国药集团化学试剂有限公司;三聚氰胺($C_3N_6H_6$)、三聚氰酸($C_3H_3N_3O_3$)购自比利时 Acros Organics 公司,无水柠檬酸($C_6H_8O_7$)、无水乙酸钠(CH_3COONa)、醋酸(CH_3COOH)购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;氯化钯($PdCl_2$)、2,2'-连氨基-双-(3-乙基苯并二氢噻唑啉-6-磺酸)二铵盐($ABTS^{2-}$)购自上海生工生物工程有限公司;浓盐酸购自广州化学试剂厂;尿酸标准品购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;HRP 购自 Sigma 公司;尿酸酶购自上海瓦兰生物科技有限公司;试验过程中所用的水皆为超纯水,且所用试剂均为分析纯。UV-2550 紫外-可见分光光度计购自日本岛津公司;GZX-9146 数显鼓风干燥箱购自上海博迅实业有限公司医疗设备厂;Optima MAX-XP 台式超速离心机购自美国 Beckman Coulter 公司;B-260 恒温水浴锅购自上海亚荣生化仪器厂;85-2 型恒温磁力搅拌器购自巩义市予华仪器有限责任公司;电子天秤购自赛多利斯科学仪器有限公司;日立 7600 生化分析仪及配套试剂购自北京利德曼生化股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 MCA-Pd NPs 的合成 在洗净、烘干的 150 mL 的烧杯中加入 10 mL 的 $C_3N_6H_6$ 溶液,不断搅拌情况下,同时再将 0.4 mL 的 50 mmol/L H_2PdCl_4 加入上述 $C_3N_6H_6$ 溶液中;然后,将 10 mL 的 10 mmol/L $C_3H_3N_3O_3$ 加入上述混合液中;最后,在混合液中加入 0.8 mL 的 50 mmol/L $C_6H_8O_7$ 。可以观察到混合液中开始出现黄色沉淀物,在室温下持续搅拌 12 h 后,即可合成具有氢键超分子结构的 MCA-Pd NPs,可以用于后续试验。

1.3.2 比色分析 所有标本的比色分析均使用 UV-2550 紫外-可见分光光度计完成,每一批检测都同时设置空白管作为参比溶液,在参比池和测试池中同时放置参比溶液对仪器进行基线校正,然后依次将样品放入测试池中进行检测,记录吸光度值。

1.3.3 尿酸标准曲线制备 准确称取适量的尿酸标准品,用超纯水溶解并定容至刻度,充分摇匀,此溶液为 5 mmol/L 尿酸标准储备液,于 4 ℃ 保存;临用前,将尿酸标准储备液用超纯水稀释至 1 mmol/L,此为尿酸标准应用液。分别用超纯水稀释配制成 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mmol/L 的尿酸标准系列溶液。进行比色分析,每个水平重复测定 3 次,取吸光度值的均值为纵坐标,以尿酸水平($\mu\text{mol/L}$)为横坐标,绘制尿酸标准曲线,并计算回归方程。

1.3.4 临床标本检测 5 份临床血清标本分别用本试验建立的尿酸检测体系和日立 7600 生化分析仪进行尿酸水平检测,严格按照试剂盒说明书操作。

1.3.5 MCA-Pd NPs 的稳定性检测 新合成的 MCA-Pd NPs 放置于室温,用反应体系 20 μL 1 mmol/L H_2O_2 + 100 μL 0.105 mg/mL MCA-Pd NPs + 50 μL $ABTS^{2-}$,每隔 5 d 检测一次酶活性,比色法检测吸光度值越高说明酶活性越强,连续检测 6 次共 30 d。

1.3.6 尿酸检测体系的建立 参考常用于尿酸检测的尿酸酶-过氧化物酶偶联法,为了检测 MCA-Pd NPs 在尿酸检测体系中发挥过氧化物酶的催化作用,应用 HRP 作为参照在室温条件下设计了如下试验:(1)a 管,10 μL 蒸馏水 + 50 μL 1.6 g/L 尿酸酶 + 100 μL 2 000 U/L HRP + 50 μL 90 mmol/L $ABTS^{2-}$;(2)b 管,10 μL 310 $\mu\text{mol/L}$ 尿酸 + 50 μL 1.6 g/L 尿酸酶 + 100 μL 2 000 U/L HRP + 50 μL 90 mmol/L $ABTS^{2-}$;(3)c 管,10 μL 310 $\mu\text{mol/L}$ 尿酸 + 50 μL 1.6 g/L 尿酸酶 + 100 μL 0.105 mg/mL MCA-Pd NPs + 50 μL 90 mmol/L $ABTS^{2-}$;(4)d 管,50 μL 蒸馏水 + 50 μL 1.6 g/L 尿酸酶 + 100 μL 0.105 mg/mL MCA-Pd NPs + 50 μL 90 mmol/L $ABTS^{2-}$ 。

1.3.7 尿酸检测体系条件优化 (1)MCA-Pd NPs 和 $ABTS^{2-}$ 用量的确定,为保证反应体系中 MCA-Pd NPs 和 $ABTS^{2-}$ 足量,但同时不能浪费材料,先同时固定 H_2O_2 溶液(1 mmol/L)和 $ABTS^{2-}$ (90 mmol/L)的用量分别为 20 μL 和 80 μL ,各反应管加入不同体积的 MCA-Pd NPs(20、40、80、160、250 μL),在 420 nm 波长处检测吸光度值;接着固定 H_2O_2 溶液(1 mmol/L)和 MCA-Pd NPs(0.105 mg/mL),用量分别为 20 μL 和 100 μL ,各反应管加入不同体积的 $ABTS^{2-}$ (10、20、40、80、120 μL),在 420 nm 波长处检测吸光度值。(2)反应温度和时间的确定,为确定最佳反应温度设计如下试验:4 管混合液(10 μL 310 $\mu\text{mol/L}$ 尿酸标准品 + 50 μL 1.6 g/L

尿酸酶+100 μL 0.105 mg/mL MCA-Pd NPs+50 μL 90 mmol/L ABTS²⁻)分别在室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴锅 37 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴锅 42 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴锅 50 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min,对它们在 420 nm 下的吸光度值进行测定分析。通过设计以下试验来确定体系的最佳反应时间:10 μL 300 $\mu\text{mol/L}$ 尿酸标准应用液+50 μL 1.6 g/L 尿酸酶+100 μL 0.105 mg/mL MCA-Pd NPs + 50 μL ABTS²⁻,共 5 管反应管混匀,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 分别反应 5、10、20、30、40 min,对它们在 420 nm 处的吸光度值进行测定分析。

1.3.8 临床标本检测 参考尿酸临床检测范围,选取 6 个工作标准液点建立标准曲线;在最佳反应条件下检测 5 份临床血清标本,并与临床日立 7600 生化分析仪检测结果进行比较,检测严格按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel2003 和 SPSS17.0 统计软件进行数据处理和统计学分析,不同方法检测的结果比较采用配对样本 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 过氧化物模拟酶活性检测结果 a 管液体在 420 nm 处有明显的特征吸收峰,而 b 管和 c 管液体在 420 nm 处几乎没有吸收,与肉眼观察结果相符,只有当 ABTS²⁻、MCA-Pd NPs 和 H₂O₂ 同时存在时,才能将无色的 ABTS²⁻ 变为绿色自由基 ABTS⁻,而在 420 nm 处有特征吸收峰。

2.2 MCA-Pd NPs 的稳定性检测结果 到第 30 天时吸光度值仍为 2.11,与第 1 天检测的吸光度值 2.185 差别微小。

2.3 尿酸检测体系的建立情况 肉眼可见 b 和 c 两管液体由无色转变为绿色,而 a 和 d 两管液体仍表现为无色,使用紫外-可见分光光度计在 420 nm 波长处分别对 4 管混合液进行吸光度值检测,b 和 c 两管液体均有较高的吸光度值,而 a、c 两管液体在 420 nm 处几乎没有吸收,与肉眼观察结果相符,见图 1, MCA-Pd NPs 具有与 HRP 相似的过氧化物酶活性,能应用到尿酸检测体系中。

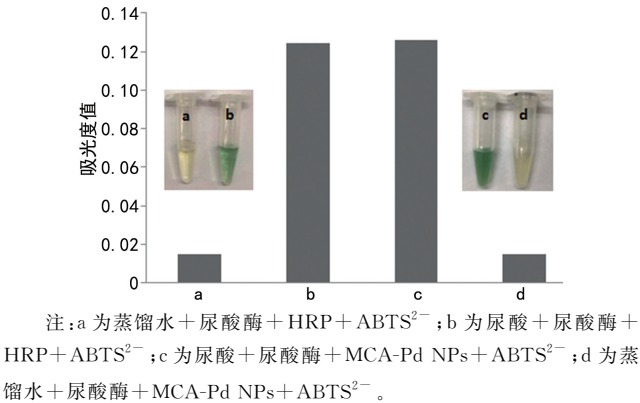


图 1 尿酸检测体系中不同试验管的吸光度值

2.4 尿酸检测体系条件的优化情况 (1)MCA-Pd

NPs 和 ABTS²⁻ 用量,检测发现 MCA-Pd NPs 和 ABTS²⁻ 用量分别为 80 μL 和 40 μL 时吸光度值即达到最高值,后面随着用量增加,吸光度值没有增加。在该检测体系中 20 μL 1 mmol/L H₂O₂ 要被完全催化还原并表现为溶液颜色的改变,需要 MCA-Pd NPs 体积 > 80 μL 、ABTS²⁻ 体积 > 40 μL ,因此,在后面的检测体系中将 MCA-Pd NPs (0.105 mg/mL) 和 ABTS²⁻ (90 mmol/L) 用量分别固定为 100 μL 和 50 μL 。(2)最佳反应温度,在 25~37 $^{\circ}\text{C}$ 时,反应体系随着温度升高而吸光度值增强,在 37~50 $^{\circ}\text{C}$ 时,吸光度值随着温度升高而减弱,MCA-Pd NPs 及尿酸酶的酶活性在 37 $^{\circ}\text{C}$ 达到最优,选择 37 $^{\circ}\text{C}$ 为体系的最佳反应温度。(3)最佳反应时间,反应体系随着温育时间延长而吸光度值增强,在达到 20 min 以后,吸光度值随着时间的延长而升高不明显,为了缩短反应时间,使检测体系更具有实用性,选择 20 min 这个时间点为体系的最优温育时间。见图 2。

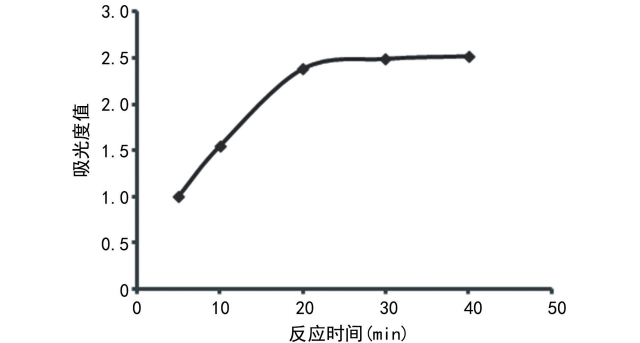


图 2 检测体系在不同时间点的吸光度值变化

2.5 临床血清标本检测结果 临床血清标本检测结果与临床常用生化分析仪检测结果比较,差异无统计学意义 (*P* > 0.05),临床诊断为痛风的 2 例患者(标本 4 和标本 5)血清尿酸水平均明显升高,见表 1,该检测体系初步应用于检测临床血液标本是可行的。

表 1 两种检测方法检测血清中尿酸的水平 ($\mu\text{mol/L}$)					
检测方法	标本 1	标本 2	标本 3	标本 4	标本 5
日立 7600 生化分析仪检测法	115	270	358	487	636
纳米粒子比色法	110	258	369	471	623

3 讨 论

纳米材料具有表面效应、量子尺寸效应、体积效应及宏观量子隧道效应等优越性能,在尺寸、形状和表面电荷等方面与天然过氧化物酶具有一定的相似性,许多纳米材料如四氧化三铁磁性纳米粒子(Fe₃O₄ MNPs)、贵金属纳米粒子、碳基纳米材料等被发现具有过氧化物酶活性,并被应用到生物传感、免疫分析、癌症诊断与治疗、神经保护、环境治理等领域^[9-11]。本研究自行设计合成的 MCA-Pd NPs 通过化学反应将钯纳米粒子固定在 C₃N₆H₆ 和 C₃H₃N₃O₃ 形成的氢键超分子骨架上(MCA),MCA 本身不具备内在的过氧化物催化活性,但是由于 MCA 的氢键超分子结构,

使它在促进纳米粒子的催化活性上起到了关键的作用^[12-13],MCA 上面的活性位点使微小颗粒的钯纳米粒子吸附稳定,并避免了钯纳米粒子的聚集,同时氢键超分子结构为微小颗粒的钯纳米粒子提供了模拟酶骨架,因而具有非常强而稳定的类过氧化物酶催化活性,能催化 H_2O_2 产生某种中间物质,从而进一步氧化 ABTS^{2-} 至 ABTS^- ,使溶液颜色由无色转变成绿色,见图 1,与文献^[14-16]报道的具有过氧化物模拟酶活性的纳米材料能促进过氧化氢分解产生具有强氧化性的羟基自由基而氧化底物的说法相一致。

过氧化物酶作为临床检验试剂中的常用酶,被广泛应用于各种临床检测方法中,但是由于天然过氧化物酶具有性质不稳定,在生物体的水平较低,提纯及储存较困难,在过酸、过碱及高温条件下容易失活等缺点,导致天然过氧化物酶的使用条件变得苛刻,因此限制了它的实际应用^[17-19]。而纳米材料模拟酶能够模拟天然过氧化物酶的活性,并弥补了天然过氧化物酶的许多不足,具有制备简单,制造及储存成本低,容易大规模生产和保存运输,对外界环境耐受性强,性质比较稳定,不易失活等优点。而本试验设计合成的 MCA-Pd NPs 具备制作简单,易于保存,稳定性好,过氧化物酶活性高等与以上所述优点相符合的特性。为进一步证明 MCA-Pd NPs 酶活性的实用性,将其应用到基于尿酸酶的比色法尿酸检测体系中,考虑到检测体系会受到反应物用量、反应温度及温育时间等因素的影响,通过设计一系列的试验来寻找该检测体系的最优反应条件,并在最优反应条件下进行血清标本的检测,检测结果与临床诊断相符合,为下一步扩大标本量的临床试验奠定了坚实可靠的试验基础。

目前,临床上常用于血清尿酸检测的方法主要是尿酸酶-过氧化物酶耦联法^[20-22]。本试验将自行设计合成的具有类过氧化物酶活性的 MCA-Pd NPs 取代天然过氧化物酶应用到尿酸检测体系中,对该体系进行了改进,只需要加入一种底物 ABTS^{2-} 来替代常规方法中的 3,5-二氯-2-羟苯磺酸(DHBS)和 4-氨基安替比林(4-AAP),就能对血清中的尿酸水平进行定量检测,使检测体系简单化,同时减少影响因素,降低试剂成本,具有实际意义。此外,临床中的许多常规检验项目,如尿酸、血糖、5'-核苷酶、总胆固醇、三酰甘油、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇等物质的检测原理都涉及过氧化物酶,若能将本课题组自行合成的 MCA-Pd NPs 应用到实际的临床实验室检测工作中,具有非常重要而广泛的实用价值。

4 结 论

本研究通过简单的一步法合成了性质稳定、类过氧化物酶活性强的 MCA-Pd NPs,一系列的试验研究证明了 MCA-Pd NPs 具有与 HRP 相当的强而稳定的酶活性,并由此建立一种可初步应用于临床血清标本尿酸检测的比色法。

参考文献

- [1] GHOLEH I, KHOO N K, KNAUS U G, et al. Oxidases and peroxidases in cardiovascular and lung disease: new concepts in reactive oxygen species signaling[J]. Free Radic Biol Med, 2011, 51(7): 1271-1288.
- [2] SHIGETO J, TSUTSUMI Y. Diverse functions and reactions of class III peroxidases[J]. New Phytol, 2016, 209(4): 1395-1402.
- [3] PETTIGREW G W, ECHALIER A, PAULETA S R. Structure and mechanism in the bacterial dihaem cytochrome c peroxidases[J]. J Inorg Biochem, 2006, 100(4): 551-567.
- [4] PANDEY V P, AWASTHI M, SINGH S, et al. A comprehensive review on function and application of plant peroxidases[J]. Biochem Anal Biochem, 2017, 6(2): 1-16.
- [5] VLASOVA R I. Vlasova peroxidase activity of human hemoproteins: keeping the fire under control[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2561-2587.
- [6] AMOURIZI F, DASHTIAN K, GHAEDI M, et al. Colorimetric determination of F^- , Br^- and I^- ions by Ehrlich's bio-reagent oxidation over enzyme mimic like gold nanoparticles: peroxidase-like activity and multivariate optimization[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2020, 226: 117606.
- [7] WU Q, HE L, JIANG Z W, et al. CuO nanoparticles derived from metal-organic gel with excellent electrocatalytic and peroxidase-mimicking activities for glucose and cholesterol detection[J]. Biosens Bioelectron, 2019, 145(9): 111704.
- [8] SHI B, SU Y, DUAN Y, et al. A nanocomposite prepared from copper(II) and nitrogen-doped graphene quantum dots with peroxidase mimicking. Properties for chemiluminescent determination of uric acid[J]. Mikrochim Acta, 2019, 186(7): 397-406.
- [9] GAO L, ZHUANG J, NIE L, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. Nature Nanot, 2007, 2(9): 577-583.
- [10] HE W, LIU Y, YUAN J, et al. Au@Pt nanostructures as oxidase and peroxidase mimetics for use in immunoassays[J]. Biomaterials, 2011, 32(4): 1139-1147.
- [11] ZHU C, YANG G, LI H, et al. Electrochemical sensors and biosensors based on nanomaterials and nanostructures[J]. Anal Ch, 2014, 87(1): 230-249.
- [12] LIN Y, REN J, QU X. Catalytically active nanomaterials: a promising candidate for artificial enzymes[J]. Accounts Chemical Res, 2014, 47(4): 1097-1105.
- [13] LI R, ZHOU Y, ZOU L, et al. In situ growth of gold nanoparticles on hydrogen-bond supramolecular structures with high peroxidase-like activity at neutral pH and their application to one-pot blood glucose sensing[J]. Sensor Actuat B-Chem, 2017, 245: 656-664.
- [14] LI M, YANG J, OU Y, et al. Peroxidase-like activity of 2', 7'-difluorofluorescein and its application for galactose detection[J]. Talanta, 2018, 182(5): 422-427. (下转第 2751 页)

者和 50% 的住院患者感染的病原菌为大肠埃希菌,但也有少部分患者感染金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、念珠菌等。传统的尿路感染诊断依靠尿液分析、尿沉渣技术、革兰染色镜检和细菌培养等,但目前临床更偏向于使用快速准确的检测技术。有研究对尿路感染的 220 份尿液标本进行常见的 MALDI-TOF MS 直接鉴定,当菌量 $>10^5$ CFU/mL 时,鉴定到属的检出率为 92.7%,鉴定到种的检出率为 91.8%,特别是对大肠埃希菌的鉴定,检出率达到 97.6%,检出时间也极大缩短^[12]。临床上尿液标本的培养一般需要 24 h,应用 MALDI-TOF MS 则可以快速完成菌种的鉴定。对于混合菌感染的尿液标本, MALDI-TOF MS 也可报告优势菌,节省了分纯培养的时间,为获得更好的治疗争取了时间并减少了费用。而 16sRNA 扩增技术的灵敏度与培养结果具有很好的一致性;并且在诊断使用过抗菌药物的患者标本中,具有更多的优越性^[13]。

4 结 论

MALDI-TOF MS 的推广和使用,不仅能优化检验流程,还可以节省大量的成本和时间,快速准确地鉴定病原菌,对临床细菌感染的诊断及治疗具有重大意义。

参考文献

- [1] 张明新,朱敏,王玫,等.应用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱鉴定常见细菌和酵母菌[J].中华检验医学杂志,2011,34(11):988-992.
- [2] 秦娟秀,李敏. MALDI-TOF MS 指纹图谱技术在病原微生物分型中的应用前景[J].中华检验医学杂志,2015,38(6):367-369.
- [3] 袁璐,伍勇.基质辅助激光解析电离飞行时间质谱在临床病原微生物鉴定中的应用进展[J].中华微生物学和免疫学杂志,2013,33(2):148-151.
- [4] 王晔茹,崔生辉,李凤琴.基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱在沙门菌检测和鉴定分型中的应用研究[J].卫生研究,2008,37(6):685-689.
- [5] KOK J, THOMAS L C, OLMA T, et al. Identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption ionization Sepsityper™ and time of flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23285.
- [6] 王琳,李佳萍,陈功祥,等. MALDI-TOF MS 在中段尿液标本细菌直接检测中的应用[J].检验医学,2015,30(2):108-112.
- [7] 田月如,官明,李敏,等. MALDI-TOF MS 技术在临床微生物诊断中的挑战[J].中华检验医学杂志,2018,41(8):559-562.
- [8] 张景皓,方毅,张艳梅,等. MALDI-TOF MS 结合短期培养基快速检测中段尿液标本中的病原菌[J].检验医学,2017,32(4):326-330.
- [9] 杨溪,王新华,隋文君,等. MALDI-TOF MS 直接鉴定原始尿液中的病原菌[J].中华检验医学杂志,2013,36(11):1042-1044.
- [10] WANG X H, ZHANG G, FAN Y Y, et al. Direct identification of bacteria causing urinary tract infections by combining matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry with UF-1000i urine flow cytometry[J]. J Microbiol Methods, 2013, 92(3): 231-235.
- [11] 陈飞,胡玢婕,赵虎. MALDI-TOF MS 在临床微生物标本直接检测中的应用[J].检验医学,2015,30(7):750-756.
- [12] 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]. J Clin Microbiol, 2010, 48(6): 2110-2115.
- [13] 汪峰,刘彩林,廖亚龙,等.应用 16S rRNA 宽范围聚合酶链反应快速检测临床无菌体液感染[J].检验医学,2011,26(12):865-868.
- (收稿日期:2020-03-28 修回日期:2020-06-05)
- (上接第 2747 页)
- [15] JIANG H, CHEN Z, CAO H, et al. Peroxidase-like activity of chitosan stabilized silver nanoparticles for visual and colorimetric detection of glucose[J]. Analyst, 2012, 137(23): 5560-5564.
- [16] LIU Y, ZHU G, YANG J, et al. Peroxidase-like catalytic activity of Ag₃PO₄ nanocrystals prepared by a colloidal route[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e109158-e109165.
- [17] LIN Y, REN J, QU X. Catalytically active nanomaterials: a promising candidate for artificial enzymes[J]. Accounts Chemical Res, 2014, 47(4): 1097-1105.
- [18] NOVAK M J, PATTAMMATTEL A, KOSHMERL B, et al. "Stable-on-the-table" enzymes: engineering the enzyme-graphene oxide interface for unprecedented kinetic stability of the biocatalyst[J]. ACS Catalysis, 2015, 6(1): 339-347.
- [19] MATSUO T, HAYASHI A, ABE M, et al. Meso-unsubstituted iron corrole in hemoproteins: remarkable differences in effects on peroxidase activities between myoglobin and horseradish peroxidase[J]. J American Chemical Society, 2009, 131(42): 15124-15125.
- [20] 沈东华,张敏健.还原型谷胱甘肽对基于 Trinder 反应生化项目检测结果干扰的探讨[J].国际检验医学杂志,2014,35(20):2844-2845.
- [21] 国秀芝,张江涛,侯立安,等.羟苯磺酸钙对尿酸酶-过氧化物酶偶联法尿酸检测的干扰研究[J].中华检验医学杂志,2015,38(9):600-604.
- [22] 张栋梁,王跃荣,丁钱超. BECKMAN-COULTER AU5800 生化分析仪检测 2 例尿酸结果假性偏低的排除与浅析[J].检验医学,2016,31(2):128-130.
- (收稿日期:2019-12-08 修回日期:2020-06-11)