

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.02.004

◇综述◇

三种常见细菌的潜在挥发性生物标志物研究进展

聂茅毛,李明娟,郭雷,刘德胜,李恩有

作者单位:哈尔滨医科大学附属第一医院麻醉科,黑龙江 哈尔滨 150001

通信作者:李恩有,男,教授,博士生导师,研究方向为呼气代谢组学领域,E-mail:enyouli@aliyun.com

摘要:细菌是引起疾病感染最常见的病原体,不同种类细菌可产生一些挥发性有机化合物,其中一些潜在标志物可达到细菌鉴别的目的。现总结分析三种常见细菌(铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌)的潜在挥发性有机化合物的生物标志物和不同种类细菌之间的相同产物,以达到鉴别的目的。同时简要叙述了此三种细菌常见应用色谱、质谱检测技术原理及优缺点,并对未来细菌挥发性有机化合物分析方法发展进行了展望。

关键词:细菌; 挥发性有机化合物; 生物标志物

Advances in the study of potential volatile biomarkers of three common bacteria

NIE Maomao, LI Mingjuan, GUO Lei, LIU Desheng, LI Enyou

Author Affiliation: Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China

Abstract: Bacteria are the most common pathogens causing disease infection. Different kinds of bacteria can produce some volatile organic compounds, of which some potential markers may be used for bacterial identification. In this paper, we summarized the potential volatile biomarkers of three common bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and the same volatile organic compounds among different kinds of bacteria for the purpose of identification. Meanwhile, the principles, advantages and disadvantages of the gas chromatography (GC) and mass spectrometry (MS) detection techniques for these three bacteria were introduced, and the development prospects were also made of the analysis methods for the volatile organic compounds in bacteria.

Key words: Bacteria; Volatile organic compounds; Biomarkers

感染是指细菌、病毒、真菌、寄生虫等病原体侵入人体所引起的局部组织和全身性炎症反应,其中以细菌感染最为常见。引起感染的细菌被称为致病菌。致病菌侵袭人体不同部位和组织,可以引发各种疾病,如常见的肺炎、肠炎等。另外,致病菌及其代谢产物通过血液传播也可引发多种全身性症状,如毒血症、菌血症等,严重威胁人类的生命安全^[1]。

细菌感染的传统诊断方法有分离培养、生化鉴定、血清学试验以及显微镜检查等。目前,细菌的分离培养鉴定是细菌学诊断的金标准,然而,这种方法过程繁杂、耗时较长,从获得样本到最后确诊一般需要24~48 h。一些新兴的分子生物学方法,如基因杂交、基因扩增等,虽然缩短了检测时间,增加了检验的准确性,但同样存在过程繁琐的缺点,增加了临床应用的难度。虽然目前病原学诊断检查方法众多,但现代细菌感染所具有的复合感染、广泛耐药、菌株变异以及内源性感染等特点^[2],大大增加了临

床上确诊细菌种类的难度,这对于感染细菌种类的确诊方法也提出了更高的要求。因此,临床上迫切需要一种理想的检测细菌种类的方法,这种方法应该具有快速、实时以及灵敏度和特异性高等特点^[3]。

挥发性有机化合物分析是近年来发展起来的一种用于疾病诊断的新兴方法,由于其具有方便、快速、灵敏度高等特点而备受研究者关注。不同种属或同一种属不同表现型的细菌所产生的代谢物各不相同,这些代谢物中的某些特异性挥发性有机化合物即可成为鉴别诊断细菌种类的潜在性生物标志物。现对近年来三种研究较多的细菌感挥发性生物标志物研究进行综述,将对一些有潜力成为细菌诊断标志物的多种挥发性有机化合物质谱进行整理分析,并对其可能的代谢途径进行讨论。另外,针对目前各研究结果之间存在较大差异的原因进行了分析,并对分析的研究方向进

行了展望。

1 三种常见细菌的潜在挥发性有机化合物

1.1 铜绿假单胞菌 铜绿假单胞菌原称绿脓杆菌,是一种革兰阴性菌,在正常人的皮肤、呼吸道和肠道等都有分布。它是一种呼吸道条件致病菌,可以反复感染肺囊性纤维化病人,使病人的发病率和病死

率显著增加^[4]。铜绿假单胞菌感染的早期如发现和治疗,可以根除细菌的感染,防止疾病转归为慢性^[5]。作为一种新兴的疾病筛查及诊断方法,近年来挥发性有机化合物分析被广泛应用于细菌的早期诊断,其中以铜绿假单胞菌的研究数量最多,获得的潜在生物标志物也最多,具体见表1。

表1 铜绿假单胞菌的潜在挥发性生物标志物

类别	名称	样本来源	检测分析方法
烃类	甲硫烯	体外菌株培养 ^[6-7]	GC-MS ^[6] , SIFT-MS ^[7]
	1-十一烯	体外菌株培养 ^[6-8]	GC-MS ^[6] , NT-GC-MS ^[8]
	一氧化异戊二烯	体外菌株培养 ^[9]	GC-MS ^[8] , SIFT-MS ^[9]
	2-甲基-1-庚烯	痰培养 ^[10-11]	GC-MS ^[10-11]
	2,4-二甲基-1-庚烯	痰培养 ^[10-11]	GC-MS ^[10-11]
	双戊烯	痰培养 ^[10-11]	GC-MS ^[10-11]
	2-甲基丁酸	鼻窦黏液培养 ^[12]	GC-FPD ^[12]
	醋酸	鼻窦黏液培养 ^[12]	GC-FPD ^[12]
	异戊酸酐	鼻窦黏液培养 ^[12]	GC-FPD ^[12]
	丙酸	鼻窦黏液培养 ^[12]	GC-FPD ^[12]
酮类	邻氨基苯乙酮	体外菌株培养 ^[6,13-16] 、鼻窦黏液培养 ^[12] 、呼出气 ^[18]	GC-MS ^[6,18] , GC-TLC ^[13] , SIFT-MS ^[14-15] , SESI-MS ^[16] , GC-FPD ^[17]
	间氨基苯乙酮	体外菌株培养 ^[9]	GC-MS ^[8] , SIFT-MS ^[9]
	丙酮	体外菌株培养 ^[9,19-21] 、鼻窦黏液培养 ^[12] 、呼出气 ^[19]	SIFT-MS ^[9,19-21] , GC-FPD ^[17]
	2-丁酮	体外菌株培养 ^[6,9,22]	GC-MS ^[6,22] , SIFT-MS ^[9]
	2-壬酮	体外菌株培养 ^[6,22] 、痰培养 ^[10-11]	GC-MS ^[6,10-22]
	2-十三烷酮	体外菌株培养 ^[23]	GC × GC-TOF-MS ^[24]
	4-甲基-2-戊酮	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	2-庚酮	体外菌株培养 ^[15,22]	GC-MS ^[15,22]
	4-庚酮	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	3-辛酮	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	苯乙酮	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	3-羟基-2-丁酮	鼻窦黏液培养 ^[17]	GC-FPD ^[17]
醇类	异戊醇	体外菌株培养 ^[6,22] 、痰培养 ^[10]	GC-MS ^[6,10,22]
	叔丁醇	体外菌株培养 ^[6]	GC-MS ^[6]
	异丙醇	体外菌株培养 ^[20]	SIFT-MS ^[20]
	乙醇	体外菌株培养 ^[7,9,15-16] 、呼出气 ^[19]	GC-MS ^[9,15] , SIFT-MS ^[7,9,19] , SESI-MS ^[16]
醛类	3-己基硫-丙二醛	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
酯类	甲硫氰酸酯	体外菌株培养 ^[9] 、呼出气 ^[24]	GC-MS ^[9] , SIFT-MS ^[24]
芳香族	对甲酚	体外菌株培养 ^[16]	SESI-MS ^[16]
	甲苯	体外菌株培养 ^[6]	GC-MS ^[6]
含硫化合物	氢硫酸	体外菌株培养 ^[25] 、鼻窦黏液培养 ^[17]	SIFT-MS ^[25] , GC-FPD ^[26]
	二甲基硫	体外菌株培养 ^[23,25] 、鼻窦黏液培养 ^[17]	GC × GC-TOF-MS ^[23] , GC-FPD ^[16] , SIFT-MS ^[25]
	二甲基二硫	体外菌株培养 ^[6-7] 、鼻窦黏液培养 ^[11]	GC-MS ^[6] , SIFT-MS ^[7] , GC-FPD ^[12]
	二甲基三硫	体外菌株培养 ^[6]	GC-MS ^[6]
含氮化合物	吡啶	鼻窦黏液培养 ^[12]	GC-FPD ^[12]
	氢氰酸	体外菌株培养 ^[14,24,26-27] 、肺泡灌洗液培养 ^[28] 、呼出气 ^[19]	SIFT-MS ^[14,19,24,26-28] , GC-MS ^[28]
	氨	体外菌株培养 ^[7]	SIFT-MS ^[7]
	乙酰胺	鼻窦黏液培养 ^[12]	GC-FPD ^[12]
	4-甲基酚-啉啉	体外菌株培养 ^[6]	GC-MS ^[6]

注:GC-MS为气相色谱-质谱联用仪;SIFT-MS为选择性离子流质谱;NT-GC-MS为非靶向气相色谱-质谱串联;GC-FPD为带高选择性火焰热离子检测器的气相色谱仪;GC-TLC为气相-薄层色谱法;SESI-MS为二次电喷雾电离质谱;GC × GC-TOF-MS为全二维气相色谱飞行时间质谱仪

分析表1可知,已发现的铜绿假单胞菌的潜在挥发性生物标志物较多,共39种挥发性有机化合物,其中以烃类、酮类化合物为主,其次是含氮化合物、含硫化合物以及醇类化合物。其中,2-氨基苯乙酮(2-AA)是发现最早的潜在生物标志物,也是到目前为止研究最多的铜绿假单胞菌诊断标志物之一。1979年,有研究已证实铜绿假单胞菌所产生的特殊葡萄样气味,其来源即为化合物2-AA^[13]。近年来,随着多种挥发性有机化合物分析技术的发展,越来越多的研究为2-AA成为铜绿假单胞菌感染的诊断标志物提供了有力证据^[6,18]。另外,一些体外培养铜绿假单胞菌的研究发现,向培养基中加入色氨酸可使铜绿假单胞菌特异性的葡萄样气味增加^[13,29],这是因为2-AA是喹唑啉生物合成途径中的一个中间物质,而喹唑啉生物合成路径是色氨酸分解代谢途径的一个分支^[30]。然而也有研究^[10]提出,对于细菌的挥发性生物标志物的研究,需明确体外细菌培养和体内样本分析之间的差别。

铜绿假单胞菌的另一个潜在的挥发性生物标志物是氢氰酸,它也是唯一一种可以在所有来源的样本中均可检测到的挥发性有机化合物。研究表明,

氢氰酸对真核细胞有强烈的毒性,并且这种毒性能够抑制真菌的生长,为铜绿假单胞菌的感染提供了有利条件^[31-32]。另一种挥发性生物标志物硫氰酸甲酯的产生可能与氢氰酸有一定联系。有研究^[24]提出,氢氰酸可能是硫氰酸甲酯生物合成途径的一种底物。目前所有多种挥发性有机化合物其潜在的生物途径均尚不清楚,需要研究者的进一步探究,也需要一些化学专家的分析支持。

1.2 大肠埃希菌 大肠埃希菌又称大肠杆菌,是一种革兰阴性菌。根据致病机制的不同,致泻性大肠埃希菌被分为肠产毒性大肠埃希菌、肠道侵袭性大肠埃希菌、肠道致病性大肠埃希菌、肠集聚性黏附性大肠埃希菌以及肠出血性大肠埃希菌5种。大肠杆菌常被作为粪便污染的指标。近几年来,大肠杆菌的多种挥发性有机化合物指纹谱分析逐渐被应用于食品卫生与保健方面的研究中。目前发现的大肠杆菌的潜在挥发性生物标志物较少,具体见表2。

在表2中所有的多种挥发性有机化合物中,吡啶是研究较多的潜在生物标志物之一,由色氨酸通过色氨酸酶代谢产生^[39]。Kunze等^[37]研究发现,在大肠杆菌的不同生长阶段(迟缓期、对数期、稳定期)

表2 大肠埃希菌的潜在挥发性生物标志物

类别	名称	样本来源	检测分析方法
烃类	乙酸	体外菌株培养 ^[33]	PTR-MS ^[33]
	甲硫醇	体外菌株培养 ^[33]	PTR-MS ^[33]
酮类	丙酮	体外菌株培养 ^[25,33-34]	SIFT-MS ^[25] , PTR-MS ^[33] , MCC-IMS ^[34]
	2-庚酮	体外菌株培养 ^[34]	MCC-IMS ^[34]
	甲基庚基甲酮	体外菌株培养 ^[34]	MCC-IMS ^[34]
醇类	甲醇	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	乙醇	体外菌株培养 ^[25,33-34,36-37]	SIFT-MS ^[25] , PTR-MS ^[33] , MCC-IMS ^[34,36-37]
	丁醇	体外菌株培养 ^[33]	PTR-MS ^[33]
	(S)-(-)-2-甲基-1-丁醇	体外菌株培养 ^[33]	PTR-MS ^[33]
	1H,1H-全氟正癸醇	体外菌株培养 ^[37]	MCC-IMS ^[37]
	8-氯-1-辛醇	体外菌株培养 ^[37]	MCC-IMS ^[37]
醛类	乙醛	体外菌株培养 ^[21,25,33] 、呼出气 ^[35]	SIFT-MS ^[20,25] , TD-GC-MS ^[35] , PTR-MS ^[33]
	氨甲酸,(4-羟基己基)-甲基醛	体外菌株培养 ^[38]	NT-GC-MS ^[38]
芳香族	苯腈	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
含硫化合物	二甲基硫化物	体外菌株培养 ^[21,25] 、呼出气 ^[35]	SIFT-MS ^[21,25] , TD-GC-MS ^[35]
	硫化氢	体外菌株培养 ^[21,25] 、呼出气 ^[35]	SIFT-MS ^[21,25] , TD-GC-MS ^[35]
	二硫化碳	体外菌株培养 ^[38]	NT-GC-MS ^[39]
含氮化合物	吡啶	体外菌株培养 ^[33,36-38]	PTR-MS ^[33] , MCC-IMS ^[36-37] , NT-GC-MS ^[38]

注:PTR-MS为质子传递反应质谱;MCC-IMS为快速气相色谱-离子迁移谱联用谱仪;TD-GC-MS为热脱附-气质联用法;其余缩写同表1

均有吡啶产生。也有研究表明,大肠杆菌具有某种特殊气味,其来源很可能是吡啶这种挥发性有机化合物^[40]。研究结果提示,吡啶很有可能成为诊断大肠埃希菌感染的挥发性生物标志物。

1.3 金黄色葡萄球菌 金黄色葡萄球菌是革兰阳性菌的代表细菌,可引起许多严重感染。金黄色葡萄球菌易产生耐药,其中的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌^[41]也称为“超级细菌”,除了万古霉素,几乎可以抵抗所有的抗生素。据美国疾病控制中心报告

称,由金黄色葡萄球菌引起的感染占第二位,仅次于大肠杆菌,由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件也时有发生。因此,利用呼出气挥发性有机化合物分析,对疑似金黄色葡萄球菌引起的食物中毒病人进行早期诊断,对人类健康具有重大的意义。我们将近年对金黄色葡萄球菌潜在挥发性生物标志物的研究进行了总结分析,结果共发现了 30 多种挥发性有机化合物,具体见表 3。

目前,关于金黄色葡萄球菌的挥发性有机化合

表 3 金黄色葡萄球菌的潜在挥发性生物标志物

类别	名称	样本来源	检测分析方法
烃类	丁烷	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	环己烷	体外菌株培养 ^[42]	GC-tof-MS ^[42]
	2,2,3-三甲基戊烷	体外菌株培养 ^[42]	GC-tof-MS ^[42]
	1,1,2,2-四氯乙烷	体外菌株培养 ^[42]	GC-tof-MS ^[42]
	4-甲基环己烯	体外菌株培养 ^[42]	GC-tof-MS ^[42]
	2-甲基丙烯	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	1,3-丁二烯	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	乙酸	体外菌株培养 ^[15-16,21]	GC-MS ^[15] ,SIFT-MS ^[21] ,SESI-MS ^[16]
	甲硫醇	体外菌株培养 ^[43]	SIFT-MS ^[43]
酮类	丙酮	体外菌株培养 ^[16]	SESI-MS ^[16]
	羟基丁酮	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	羟丙酮	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	2,3-丁二酮	体外菌株培养 ^[42]	GC-tof-MS ^[42]
	异丙基丙酮	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	甲基乙烯酮	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
醇类	乙醇	体外菌株培养 ^[16,43]	SIFT-MS ^[43] ,SESI-MS ^[16]
	2-甲基-2-硝基-1-丙醇	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	丁醇	体外菌株培养 ^[16]	SESI-MS ^[16]
	异戊醇	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
醛类	乙醛	体外菌株培养 ^[7,15,21,43] 、呼出气 ^[35]	GC-MS ^[15] ,SIFT-MS ^[7,21,43] ,TD-GC-MS ^[35]
	丙二醛	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	异丁醛	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
	2-甲基丁醛	体外菌株培养 ^[42]	GC-tof-MS ^[42]
	3-甲基丁醛	体外菌株培养 ^[15,42]	GC-MS ^[14] ,GC-tof-MS ^[42]
	己烷	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
	苯甲醛	体外菌株培养 ^[42] 、呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35] ,GC-tof-MS ^[42]
	反 2 甲 2 丁烯醛	体外菌株培养 ^[15]	GC-MS ^[15]
酯类	乙酸乙酯	呼出气 ^[35]	TD-GC-MS ^[35]
含硫化合物	二甲基硫化物	体外菌株培养 ^[21,42]	SIFT-MS ^[20] ,GC-tof-MS ^[42]
含氮化合物	氨	体外菌株培养 ^[21]	SIFT-MS ^[21]

注:GC-tof-MS:气相色谱-飞行时间-质谱;其余缩写同表 1

物分析研究较少,大多数的多种挥发性有机化合物仍需进一步验证。值得一提的是,在有些研究中将金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌按照一定的比例(分别为3:1,1:1和1:3)混合后培养,并分析其顶空气多种挥发性有机化合物,结果发现一些特异性多种挥发性有机化合物不仅可以鉴别不同的细菌,同时也可以用来推测其混合的比例^[16]。这为我们将来研究细菌的复合感染提供了一种全新的思路。

另一方面,我们将3种细菌的潜在挥发性生物标志物进行横向分析发现,乙酸、丙酮、乙醇以及二甲基二硫醚等4种挥发性有机化合物在3种细菌的指纹谱中都有出现,而有些挥发性有机化合物仅仅出现在某一种细菌指纹谱中,如2-(4-联苯基)-2-丙醇、氢氰酸、2-庚酮、苯甲醛等,这些挥发性有机化合物对这些细菌的诊断能力均需要进一步的交叉验证。

另外,这些潜在的挥发性生物标志物并非由同一研究机构研究所得,不同的研究中心所采用的样本来源以及采取的检测分析方法均有所不同。绝大多数的研究采用的样本来源于体外细菌培养,与体内来源的样本如痰、鼻窦黏液、肺泡灌洗液以及呼出气相比,体外研究可以避免体内来源样本分析所面临的干扰因素过多、过程不可控等缺点,然而,由于体外研究无法完全模拟体内感染细菌的生存环境,因此体外培养得到的多种挥发性有机化合物是否可以完全代替内源性样本来源所获得的多种挥发性有机化合物,以及这些挥发性有机化合物对于相关疾病的诊断能力,这些需要研究者的进一步探讨与研究。

2 细菌挥发性有机化合物色谱、质谱检测方法

细菌挥发性有机化合物指纹谱分析的飞速发展依赖于检测分析方法的不断进步。这三种细菌常用的多种挥发性有机化合物指纹谱色谱、质谱分析检测方法是GC-MS、PTR-MS、SIFT-MS、SESI-MS等。应用最多的方法是GC-MS。我们将四种挥发性有机化合物指纹谱分析方法各自的优点及不足之处总结如下。

2.1 GC-MS GC-MS属于化学电离技术。气相部分主要起分离和将目标物质引入质谱系统的作用,而质谱部分主要起检测器的作用。GC-MS分析具有色谱高精度度、高敏感性以及高稳定性的特点,是一种比较成熟的方法,应用极为广泛。但GC-MS也

有其局限性,如需要先进行预浓缩再进行热解析进样分析,增加了分析时间,且GC-MS无法完成实时检测等^[44]。

2.2 PTR-MS PTR-MS的工作原理是通过反应离子 H_3O^+ 与被测物质多种挥发性有机化合物之间的质子转移反应,从而实现挥发性有机化合物的离子化和质谱探测^[45]。PTR-MS主要的优点是不需要预处理等步骤,样品分析时间大大缩短(100 ms),甚至可以实现实时监测。在分析方面,扩大了检测的范围,提高了检测的灵敏度。但PTR-MS也有不足。那就是它的检测范围只局限于亲和力大于水的质子;而且,它不适用于检测浓度较高的样本,检测限不能超过 10×10^{-6} 浓度的挥发性有机化合物^[46-48]。

2.3 SIFT-MS SIFT-MS同样属于化学电离技术,是一种相对较新的直接检测质谱分析技术^[49]。使用 H_3O^+ 、 NO^+ 和 O_2^+ 作为初始离子,与目标分析物在流动管中反应,通过四级杆滤质器进行全扫描或者选择性离子扫描。SIFT-MS的优势在于无需色谱分离即可对大多数挥发性有机化合物提供 10^{-12} 级甚至 10^{-10} 级水平的定量分析结果,无需前处理直接气体进样,不受湿度影响等^[49]。最重要的特点是可进行实时检测。但是,不能够进行单一挥发性有机化合物识别,并且不能进行完整的轮廓识别^[50]。

2.4 SESI-MS 二次电喷雾电力技术主要依靠电喷雾电力产生的带电粒子和中性气体样品分子间的气相作用^[51]。不同于PTR-MS和SIFT-MS,SESI-MS,可通过特殊峰碎片进行化合物鉴别,这是化合物鉴别的重要手段。SESI-MS最低检测限度是十万亿分之一,其优势在于样本无需预处理即可快速识别多种挥发性有机化合物的特征。2010年,Zhu等^[16]第一次将SESI-MS应用于检测细菌的多种挥发性有机化合物指纹谱,证实SESI-MS可用于多种挥发性有机化合物指纹谱的实时检测分析。

3 展望

综上所述,挥发性有机化合物分析具有快速、灵敏、无创等优势,随着检测技术及设备的不断更新,目前已经可以实现实时检测,前景良好。将挥发性有机化合物分析技术应用于临床对细菌感染等疾病进行早期诊断和鉴别,是研究者的共同目标。目前,多种细菌挥发性有机化合物的潜在挥发性生物

标志物研究仍处于探索阶段,已发现的潜在标志物的可能生物途径尚不清楚,需要更多研究者的进一步深入探究。

参考文献

- [1] 谢瑞玉,谢晖.血清降钙素原对血流细菌感染中 G^- 和 G^+ 菌的鉴别诊断价值[J].安徽医药,2015,19(1):142-143.
- [2] 张晖,栾兆鸿.现代感染性疾病病原学特点及对策[J].中国误诊学杂志,2002,2(7):1107-1108.
- [3] 曲芬,成军.细菌性感染实验室诊断的研究进展[J].临床内科杂志,2003,20(11):564-566.
- [4] PALMER GC,WHITELEY YW,HITELEY M. Metabolism and pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* infections in the lungs of individuals with cystic fibrosis [J]. Microbiol Spectr,2015,3(4):MBP-0003-2014.
- [5] PROESMANS PM. Best practices in the treatment of early cystic fibrosis lung disease [J]. Ther Adv Respir Dis,2017,11(2):97-104.
- [6] LABOWS JN,MCGINLEY KJ,WEBSTER GF,et al. Headspace analysis of volatile metabolites of *Pseudomonas aeruginosa* and related species by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol,1980,12(4):521-526.
- [7] THORN RM,REYNOLDSREYNODS DM,GREENMAN J. Multivariate analysis of bacterial volatile compound profiles for discrimination between selected species and strains in vitro [J]. J Microbiol Methods,2011,84(2):258-264.
- [8] ZSCHEPPANK C,WIEGAND HL,LENZEN C,et al. Investigation of volatile metabolites during growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* by needle trap-GC-MS [J]. Anal Bioanal Chem,2014,406(26):6617-6628.
- [9] SHESTIVSKA V,SPANNEP P,DRYAHINA K,et al. Variability in the concentrations of volatile metabolites emitted by genotypically different strains of *pseudomonas aeruginosa* [J]. J Appl Microbiol,2012,113(3):701-713.
- [10] GOEMINNE PC,VANDENDRIESSCHE T,VAN ELDERE J,et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in sputum headspace through volatile organic compound analysis [J]. Respir Res,2012,13(1):87.
- [11] SAVELEV SU,PERRY JD,BOURKE SJ,et al. Volatile biomarkers of *pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis and noncystic fibrosis bronchiectasis [J]. Letters in Applied Microbiology,2011,52(6):610-613.
- [12] PRETI G,THALER E,HANSON CW,et al. Volatile compounds characteristic of sinus-related bacteria and infected sinus mucus; analysis by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2009,877(22):2011-2018.
- [13] COX CD,PARKER J. Use of 2-aminoacetophenone production in identification of *pseudomonas aeruginosa* [J]. J Clin Microbiol,1979,9(4):479-484.
- [14] GICHRIST FJ,SIMS H,ALCOCK A,et al. Quantification of hydrogen cyanide and 2-aminoacetophenone in the headspace of *Pseudomonas aeruginosa* cultured under biofilm and planktonic conditions [J]. Analytical Methods,2012,4(11):3661-3665.
- [15] FILIPIAK W,SPONRING A,BAUR MM,et al. Molecular analysis of volatile metabolites released specifically by *staphylococcus aureus* and *pseudomonas aeruginosa* [J]. BMC Microbiol,2012,12(1):113.
- [16] ZHU J,BEAN HD,KUO YM,et al. Fast detection of volatile organic compounds from bacterial cultures by secondary electrospray ionization-mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol,2010,48(12):4426-4431.
- [17] PRETI G,THALER E,HANSON CW,et al. Volatile compounds characteristic of sinus-related bacteria and infected sinus mucus; analysis by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2009,877(22):2011-2018.
- [18] SCOTT-THOMAS AJ,SYHRE M,PATTEMORE PK,et al. 2-Aminoacetophenone as a potential breath biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the cystic fibrosis lung [J]. BMC Pulm Med,2010,10(1):56.
- [19] GILCHRIST FJ,BRIGHT-THOMAS RJ,JONES AM,et al. Hydrogen cyanide concentrations in the breath of adult cystic fibrosis patients with and without *Pseudomonas aeruginosa* infection [J]. J Breath Res,2013,7(2):026010.
- [20] WANG T,CARROLL W,LENNY W,et al. The analysis of 1-propanol and 2-propanol in humid air samples using selected ion flow tube mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom,2006,20(2):125-130.
- [21] ALLARDYCE RA,HILL AL,MURDOCH DR. The rapid evaluation of bacterial growth and antibiotic susceptibility in blood cultures by selected ion flow tube mass spectrometry [J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2006,55(4):255-261.
- [22] ZECHMAN JM,LABOWS JN. Volatiles of *Pseudomonas aeruginosa* and related species by automated headspace concentration — gas chromatography [J]. Can J Microbiol,1985,31(3):232-237.
- [23] BEAN HD,DIMANDJA JM,HILL JE. Bacterial volatile discovery using solid phase microextraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2012,901:41-46.
- [24] SHESTIVSKA V,NEMEC A,DREVINEK P,et al. Quantification of methyl thiocyanate in the headspace of *pseudomonas aeruginosa* cultures and in the breath of cystic fibrosis patients by selected ion flow tube mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom,2011,25(17):2459-2467.
- [25] ALLARDYCE,LANGFORD VS,HILL AL,et al. Detection of volatile metabolites produced by bacterial growth in blood culture media by selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) [J]. J Microbiol Methods,2006,65(2):361-365.
- [26] CARROLL W,LENNY W,WANG T,et al. Detection of volatile compounds emitted by *pseudomonas aeruginosa* using selected ion

- flow tube mass spectrometry [J]. *Pediatric Pulmonology*, 2005, 39 (5):452-456.
- [27] GILCHRIST FJ, ALCOCK A, BELCHER J, et al. Variation in hydrogen cyanide production between different strains of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *European Respiratory Journal*, 2011, 38 (2):409-414.
- [28] JULAK J, STRANSKAE, ROSOVAV, et al. Bronchoalveolar lavage examined by solid phase microextraction, gas chromatography-mass spectrometry and selected ion flow tube mass spectrometry [J]. *J Microbiol Methods*, 2006, 65(1):76-86.
- [29] LABOWS JN, MCGINLEY KJ, WEBSTER GF, et al. Headspace analysis of volatile metabolites of *pseudomonas aeruginosa* and related species by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1980, 12(4):521-526.
- [30] MANN S. Quinazoline derivatives in pseudomonads [J]. *Archiv für Mikrobiologie*, 1967, 56(4):324.
- [31] BLUMER C, HASS D. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis [J]. *Archives of Microbiology*, 2000, 173(3):170-177.
- [32] HASS D, BLUMER C, KEEL C. Biocontrol ability of fluorescent pseudomonads genetically dissected: importance of positive feedback regulation [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2000, 11 (3):290-297.
- [33] BUNGE M, ARAGHIPOUR N, MIKOVINY T, et al. On-line monitoring of microbial volatile metabolites by proton transfer reaction-mass spectrometry [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74 (7):2179-2186.
- [34] MADDULAS S, BLANK LM, SCHMID A, et al. Detection of volatile metabolites of *Escherichia coli* by multi capillary column coupled ion mobility spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394 (3):791-800.
- [35] FILIPIAK W, BEER R, SPONRING A, et al. Breath analysis for in vivo detection of pathogens related to ventilator-associated pneumonia in intensive care patients: a prospective pilot study [J]. *J Breath Res*, 2015, 9(1):016004.
- [36] JUNGER M, VANUTZ W, KUHNS M, et al. Ion mobility spectrometry for microbial volatile organic compounds: a new identification tool for human pathogenic bacteria [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 93(6):2603-2614.
- [37] KUNZE N, GOPEL J, KUHNS M, et al. Detection and validation of volatile metabolic patterns over different strains of two human pathogenic bacteria during their growth in a complex medium using multi-capillary column-ion mobility spectrometry (MCC-IMS) [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(8):3665-3676.
- [38] ZSCHEPPANK C, WIEGAND HL, LENZEN C, et al. Investigation of volatile metabolites during growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* by needle trap-GC-MS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(26):6617-6628.
- [39] SNELL EE. Tryptophanase: structure, catalytic activities, and mechanism of action [J]. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1975, 42:287-333.
- [40] WANGD, DING X, RATHER PN. Indole can act as an extracellular signal in *escherichia coli* [J]. *J Bacteriol*, 2001, 183 (14):4210-4216.
- [41] 李娉, 李庆林, 刘丽萍, 等. 利奈唑胺和万古霉素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染疗效的 Meta 分析 [J]. *安徽医药*, 2015, 19(5):969-973.
- [42] BOOTSAAW, SMOLINSKA A, VAN BERKEL JJ, et al. Identification of microorganisms based on headspace analysis of volatile organic compounds by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Breath Res*, 2014, 8(2):027106.
- [43] ALLARDYCE RA, LANGFORD VS, HILL AL, et al. Detection of volatile metabolites produced by bacterial growth in blood culture media by selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) [J]. *J Microbiol Methods*, 2006, 65(2):361-365.
- [44] KIRALY M, DALMADINE KB, VÉKEY K, et al. Mass spectrometry: past and present [J]. *Acta pharmaceutica Hungarica*, 2015, 86 (1):3-11.
- [45] ROMANO A, CAPOZZI V, SPANO G, et al. Proton transfer reaction-mass spectrometry: online and rapid determination of volatile organic compounds of microbial origin [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(9):3787-3795.
- [46] SCHWOEBEL H, SCHUBERT R, SKAORZ M, et al. Phase-resolved real-time breath analysis during exercise by means of smart processing of PTR-MS data [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401 (7):2079-2091.
- [47] BLAKE RS, WHYTE C, HUGHES CO, et al. Demonstration of proton-transfer reaction time-of-flight mass spectrometry for real-time analysis of trace volatile organic compounds [J]. *Anal Chem*, 2004, 76(13):3841-3845.
- [48] HEWITT CN, HAYWARDS S, TANI A. The application of proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) to the monitoring and analysis of volatile organic compounds in the atmosphere [J]. *J Environ Monit*, 2003, 5(1):1-7.
- [49] SPANEL P, SMITH D. Selected ion flow tube mass spectrometry for on-line trace gas analysis in biology and medicine [J]. *Eur J Mass Spectrom (Chichester)*, 2007, 13(1):77-82.
- [50] WILSON HK, MONSTER AC. New technologies in the use of exhaled breath analysis for biological monitoring [J]. *Occup Environ Med*, 1999, 56(11):753-757.
- [51] ZHU J, BEAN H D, JIMENES J, et al. Secondary electrospray ionization-mass spectrometry (SESI-MS) breathprinting of multiple bacterial lung pathogens, a mouse model study [J]. *J App Physiol*, 2013, 114(11):1544-1549.

(收稿日期:2016-12-30, 修回日期:2017-02-09)