

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析技术在微生物检测与鉴定中的应用

杜美红*, 赵瑞雪, 李静雯

(北京市理化分析测试中心, 北京市食品安全分析测试工程技术研究中心, 北京 100089)

摘要: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)在微生物检测与鉴定中有着广泛的应用前景。本文着重介绍了MALDI-TOF MS分析技术微生物检测原理、前处理技术及其在微生物检测、鉴定、分型、溯源分析中的应用。与传统的检测鉴定方法相比, MALDI-TOF MS分析技术表现出成本低、检测时间短、易于操作等显著的技术优势。随着微生物质谱数据库以及分析方法的逐渐完善, 该技术将成为微生物实验室致病菌快速检测鉴定的重要分析手段。

关键词: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术; 微生物检测; 微生物分型鉴定; 微生物溯源

Application of matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry in the detection and identification of microorganisms

DU Mei-Hong*, ZHAO Rui-Xue, LI Jing-Wen

(Beijing Center for Physical & Chemical Analysis, Beijing Engineering Research Center of Food Safety Analysis, Beijing 100089, China)

ABSTRACT: Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has been widely used in the detection and identification of microorganisms. This paper mainly reviewed the principles and pretreatment technology of MALDI-TOF MS for microbiology and its application in microbiological inspection, identification, classification and traceability. Compared with the traditional methods, MALDI-TOF MS has the advantages of low cost, short detection time and easy operation, etc. With the improvement of microbial mass spectrometry database and analytical methods, MALDI-TOF MS technology will be an important analytical tool for rapid detection and identification of pathogenic bacterium in microbiological laboratory.

KEY WORDS: matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry; microbiological detection; microbiological type identification; microbiological traceability

1 引言

由微生物致病菌引起的食品安全事故是全世界共性

问题。检测与鉴定食品中的微生物使得污染的致病菌得到溯源, 能够提供有效的信息, 及时控制与阻止中毒事件的发生与发展。目前, 微生物的检测与鉴定主要为传统的培

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项(2013YQ140371)、北京市科技计划项目(Z161100000916001)、北京市自然科学基金项目(2162018)

Fund: Supported by the National Major Special Project in Scientific Equipments (2013YQ140371), Beijing Science and Technology Program (Z161100000916001) and Beijing Natural Science Foundation (2162018)

*通讯作者: 杜美红, 副研究员, 主要研究方向为食品安全与快速检测。E-mail: dumeihong@beijinglab.com.cn

*Corresponding author: DU Mei-Hong, Associate Researcher, Beijing Center for Physical & Chemical Analysis, Beijing Engineering Research Center of Food Safety Analysis, Beijing 100089, China. E-mail: dumeihong@beijinglab.com.cn

养方法和生理生化方法, 这些方法鉴定方法周期长(3~5 d), 灵敏度和特异性都较差, 很难满足检测与鉴定的需求。近年来, 免疫分析技术^[1-3]和分子生物学技术^[4,5]因具有特异性高、检测速度快的优势而被应用于微生物的检测与鉴定, 但这些技术对检测人员自身素质要求高, 影响了其在基层实验室的普及与使用。质谱分析技术作为一种新型的检测技术, 以其低成本、快速、易操作的优势在微生物的检测鉴定中得到快速发展^[6-9]。本文重点阐述了基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)分析技术在微生物检测与鉴定中的应用。

1975年, Anhalt和Fenselau在300~350℃下高温裂解冻干细菌, 通过质谱仪检测产生特征谱峰, 采用质谱技术对肠杆菌微生物进行分析鉴定^[10], 开启了质谱技术鉴定微生物的时代。但是这种方法灵敏度不高, 裂解后的混合物质谱图非常复杂, 仅能鉴定出细菌为革兰氏阴性细菌, 还不能鉴别出阴性菌间的差异。随后, 快原子轰击(fast atom bombardment, FAB)、共振吸收(plasma desorption, PD)和激光解析电离(laser desorption ionization, LDI)等质谱技术的发展, 使得质谱分析在微生物鉴定中的应用更加深入, 然而这些技术提供的微生物信息还是有限, 只能检测小分子的生物标记物及提供较少的结构信息, 而且其样品的前处理过程比较复杂^[11]。随着MALDI-TOF MS的出现, 基于质谱图中存在的微生物特异性分子或离子可分析不同微生物菌体蛋白肽指纹图谱的差异, 对微生物种属进行更准确的鉴别, 使得质谱分析技术在微生物检测鉴定中得到更好的发展^[12-14]。

2 MALDI-TOF MS 微生物鉴定分析原理

微生物包括细菌、病毒、霉菌和酵母菌等。微生物的主要组成成分为具有生物活性的蛋白质和核酸, 从分子生物学的角度看, 核酸(基因)决定蛋白的表达, 蛋白质的表达决定生物体的表型。因此, 基于蛋白质指纹图谱进行的微生物鉴定分析, 相比核酸水平进行的鉴定更为准确和直接。

MALDI-TOF MS是通过对蛋白质的解离分析来完成对微生物的鉴定与分型的。用激光照射微生物样品与基质形成的共结晶薄膜, 基质从激光中吸收大部分能量(保护样本), 即质子(H⁺)转移到生物分子上使其带正电荷, 生物分子被汽化。带正电荷离子在电场作用下加速通过飞行管道, 根据到达检测器的飞行时间不同而被检测, 即离子的 m/z 与离子的飞行时间成正比。这种方式产生的离子用飞行时间(time of flight, TOF)检测器检测, 采集数据并获得图谱, 通过软件分析得到鉴定结果, 从而对样品进行定性和定量分析^[15]。该检测方法采用软电离方式(对样品的破坏最小), 可产生稳定的分子离子, 因而是测定生物活性大分

子物质非常有效的方法。

3 MALDI-TOF MS 微生物分析技术

3.1 前处理

获得稳定的重复性好的微生物特征性MALDI-TOF MS质谱图取决于微生物样品与基质是否形成共结晶, 样品和基质的共结晶越均匀, 重复性越好, 所以基质的选择与样品的制备非常关键。研究表明, 与微生物样品结合解吸效果较好的基质为 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid, CHCA)、芥子酸(sinapic acid, SA)、阿魏酸(ferulic acid, FA)和2,5-二羟基苯甲酸(2,5-Dihydroxybenzoic acid, DHB)等^[16], CHCA的解吸效果优于其他基质, 得到的质谱图背景干扰信号少, 信噪比高^[17]。

微生物样品制备可以分为全菌体制备和菌体裂解制备。全菌体质谱分析是MALDI-TOF MS分析技术一个突出的优势, 微生物样品不经过处理可以直接点样, 在匹配的基质辅助下进行检测, 得到全菌的质谱图。质谱图中的每个谱峰来源于微生物细胞壁或细胞膜上的蛋白质经激光解析后给予的信号, 不同属、种、菌株间的微生物都有自己的表面特征蛋白, 由此得到不同微生物的特征性谱峰, 通过检索特征性质谱峰数据库或与已知微生物的质谱峰比较, 对微生物进行快速检测、鉴定和分型。但是全菌分析得到的谱图给予的结构信息比较少, 不能完全反应菌体的结构特征, 对微生物的鉴定分析比较困难。菌体裂解制备是将微生物样品通过用酸、酶解、超声等方法对细胞壁或细胞膜进行破碎, 裂解产物通过MALDI-TOF MS分析得到谱图。菌体裂解分析得到的谱图信息量多, 更容易获得微生物的特征谱峰, 对于种间微生物的鉴别有很大优势。Bao等^[18]分别使用直接点样法和蛋白提取法2种方法处理后的200株宋内志贺野生株进行了鉴定验证, 结果表明直接点样法鉴定准确率为71.5%, 通过蛋白提取法鉴定的准确率为100%, 同时通过对比分析宋内志贺菌的特征峰, 能够鉴别到亚种。总的来讲, 无论是全菌或菌体裂解, 对于MALDI-TOF MS都是基于获得的蛋白信息对微生物进行鉴定, 不同的微生物在科、属、种甚至株存在着差别, 所以不同的微生物需采用不同的前处理方法才能获得更有鉴定意义的质谱图, 由于微生物革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁结构的不同, 所以在前处理中革兰氏阳性菌多加了一步细胞壁破坏过程, 这样才能得到信息量较多的谱图^[19]。

3.2 检测与鉴定

采用传统的培养方法和生化方法检测与鉴定, 微生物需要3~5d的时间才能出结果, MALDI-TOF MS质谱分析技术在微生物的检测与鉴定方面表现出快速、稳定、灵敏度高等诸多优势, 许多学者通过采用MALDI-TOF MS

技术, 建立了对沙门氏菌、单细胞增生李斯特菌、弯曲杆菌、阪崎肠杆菌等致病菌检测与鉴定方法^[20-23]。MALDI-TOF MS 微生物鉴定技术代替了微生物常规程序复杂的生化鉴定方法, 通过与致病菌最佳的培养条件及样品处理方法相结合, 可以在更快的时间内检测与鉴定到样品中的污染菌。Chen 等^[24]在哥伦比亚琼脂培养基上培养沙门氏菌, 24 h 内准确检测到了目标菌; Jadhav 等^[25]采用选择性富集肉汤的方法检测了单细胞增生李斯特菌。龚艳清等^[26]在不同的培养基或不同的培养时间下对副溶血性弧菌标准菌株进行 MALDI-TOF MS 检测鉴定, 结果表明 MALDI-TOF MS 方法检测和鉴定副溶血性弧菌具有很好的重复性和稳定性, 可以快速、准确地鉴定不同来源的副溶血性弧菌。赵贵明^[27]等应用 MALDI-TOF MS 方法分别对 32 株克罗诺杆菌(28 株分离株, 4 株参考菌株)与相近菌株阴沟肠杆菌、产气肠杆菌进行鉴定, 通过 API20E 进行比较与评估, MALDI-TOF MS 作为一种新的细菌鉴定手段, 可用于克罗诺杆菌(阪崎肠杆菌)的鉴定; MALDI-TOF MS 已经作为国际公认的标准测试方法来鉴定阪崎肠杆菌^[28]。

在临床上, 利用 MALDI-TOF MS 技术对微生物的鉴定也进行了许多研究^[29-33], 尤其对于临床样本(血液培养标本), MALDI-TOF MS 不需要任何前处理就能够实现直接的鉴定分析^[34,35]。传统的方法对肺炎链球菌的鉴定非常困难, 采用 MALDI-TOF MS 技术能够准确鉴别出链球菌群中的肺炎链球菌和假性肺炎链球菌种属^[36]。目前为止, MALDI-TOF MS 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更高^[37-39]。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^[40,41]。

3.3 分型与溯源分析

传统经典的微生物分型方法从表现型上进行微生物的鉴定与分型, 分型时间长、操作程序繁琐, 容易受检测人员的主观性判断影响, 对于一些变异微生物无法有效鉴定, 该法具有一定的局限性, 而迅速发展起来的现代分子生物学技术如 PCR、变性梯度凝胶电泳、MALDI-TOF MS 分析技术、基因芯片技术、生物传感器技术等以其快速、灵敏、准确的特点被应用到微生物分析检测领域, 它们从分子水平上对微生物进行鉴定与分型, 对传统的分型技术作了有益的补充, 为微生物的分型与溯源发挥了重要作用。

采用 MALDI-TOF MS 可分析微生物的蛋白质指纹图谱完成微生物的检测与分型溯源, 国内外学者已经在食品微生物污染源的分子分型与溯源方面进行了研究与应用。郑秋月等^[41]通过 MALDI-TOF MS 主成分分析及聚类分析等方法, 对不同血清型、不同地区来源及不同宿主的 74 株沙门氏菌进行溯源研究, 结果显示相同宿主或地区来源的沙门

氏菌菌体蛋白表达更为相似, 地域差异是影响沙门氏菌的菌体蛋白表达的重要因素, MALDI-TOF-MS 显示出一定的溯源能力。尽管如此, MALDI-TOF-MS 并不能鉴别所有的目标菌属^[42,43], 为了提高 MALDI-TOF MS 对微生物靶细菌属的溯源能力, 采用建立数据库以及利用生物信息学的方法来增强菌属的分类与鉴别水平^[44,45]。王耀^[45]通过收集 37 株单核细胞增生性李斯特氏菌分离株, 应用 MALDI-TOF MS 采集获取独特的蛋白质指纹图谱, 汇总成标准图谱, 在国内外首次建立了单细胞增生李斯特菌鉴定数据库, 并且在数据库信息的基础上, 对 37 株单细胞增生李斯特菌分离株进行了聚类分型和溯源研究。MALDI-TOF MS 对微生物分型溯源得益于图谱数据库的建设与完善, 利用已建立的商业图谱数据库分析系统已经能够对大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 进行了有效的鉴定与溯源^[46,47]。

4 展望

MALDI-TOF MS 技术在微生物分析检测中的应用已经越来越广泛, 而且 MALDI-TOF MS 微生物分型溯源也具有很好的应用, 目前 MALDI-TOF MS 在微生物分型溯源中虽具有一定的能力, 但其分型结果与传统血清分型结果还存在一定的差异, 溯源的分析方法还需要进一步完善, 尤其是建立各种微生物菌株完善的质谱图数据库将是今后重点的研究方向。

参考文献

- [1] Huang HS, Phipps-Todd B, McMahon T, et al. Development of a monoclonal antibody-based colony blot immunoassay for detection of thermotolerant *Campylobacter* species [J]. J Microbiol Meth, 2016, 130: 76-82.
- [2] Song CM, Liu C, Wu SY, et al. Development of a lateral flow colloidal gold immunoassay strip for the simultaneous detection of *Shigella boydii* and *Escherichia coli* O157:H7 in bread, milk and jelly samples [J]. Food Control, 2016, 59: 345-351.
- [3] Zhang XN, Zhang F, Zhang HY, et al. Functionalized gold nanorod-based labels for amplified electrochemical immunoassay of *E. coli* as indicator bacteria relevant to the quality of dairy product [J]. Talanta, 2015, 132: 600-605.
- [4] Schmalz G, Tsigaras S, Rinke S, et al. Detection of five potentially periodontal pathogenic bacteria in peri-implant disease: A comparison of PCR and real-time PCR [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2016, 85: 289-294.
- [5] Fujioka M, Otomo Y, Ahsan CR. A novel single-step multiplex polymerase chain reaction assay for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli* [J]. J Microbiol Meth, 2013, 92(3): 289-292.
- [6] Capocéfalo M, Ridley EV, Tranfield EY, et al. Molecular microbial diagnostic methods [M]. UT: American Academic Press, 2016.
- [7] Lasch P, Jacob D, Grunow R, et al. Matrix-assisted laser

- desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (MS) for the identification of highly pathogenic bacteria [J]. Trends Anal Chem, 2016, DOI: 10.1016/j.trac.2016.04.013.
- [8] Wieser A, Schubert S. MALDI-TOF MS entering the microbiological diagnostic laboratory—from fast identification to resistance testing [J]. Trends Anal Chem, 2016, 84: 80–87.
- [9] Popović NT, Kazazić SP, Strunjak-Perović I, *et al.* Differentiation of environmental aquatic bacterial isolates by MALDI-TOF MS [J]. Environ Res, 2017, 152: 7–16.
- [10] Anhalt JP, Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry [J]. Anal Chem, 1975, 47(2): 219–225.
- [11] Zarrouk H, Kariblan D, Bodie S, *et al.* Structural characterization of the lipids A of three *Bordetella Bronchiseptica* strains: variability of fatty acid substitution [J]. J Bacteriol, 1997, 179: 3756–3760.
- [12] 张国林, 景荣先. 微生物快速鉴定、分型技术在食药源性微生物检测中的应用[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(11): 1412–1417.
Zhang GL, Jing RX. Application of microorganism identification and genotyping techniques in microbial contamination detection in food and drug quality control [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2014, 31(11): 1412–1417.
- [13] Lay JO. MALDI-TOF mass spectrometry of bacteria [J]. Mass Spectrom Rev, 2001, 20(4): 172–194.
- [14] Yssouf A, Almeras L, Berenger JM, *et al.* Identification of tick species and disseminate pathogen using hemolymph by MALDI-TOF MS [J]. Ticks Tick-borne Dis, 2015, 6(5): 579–586.
- [15] Sauer S, Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria [J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8(1): 74–82.
- [16] 吴多加, 李凤琴. 在食品微生物检测和鉴定中应用的一种质谱新技术[J]. 中华预防医学杂志, 2005, 39(5): 361–363.
Wu JD, Li FQ. A new technique of mass spectrometry applied in food microbiological detection and identification [J]. Chin J Prev Med, 2005, 39(5): 361–363.
- [17] 谢田刚, 王运铎, 郑秋月, 等. 铜绿假单胞菌的 MALDI-TOF-MS 检测方法的建立[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(10): 938–940.
Xie TG, Wang YD, Zheng QY, *et al.* The establishment of MALDI-TOF-MS method for *Pseudomonas aeruginosa* detection and identification [J]. Chin J Microecol, 2012, 24(10): 938–940.
- [18] Bao CM, Song XA, Cui EB, *et al.* Clinical application of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry for the identification of *Shigella sinnei* [J]. Infect Dis Inf, 2014, 27(3): 152–155.
- [19] Ishida Y, Madonna AJ, Rees JC, *et al.* Rapid analysis of intact phospholipids from whole bacterial cells by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry combined with on-probe sample pretreatment [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2002, 16: 1877–1882.
- [20] Dieckmann R, Malorny B. Rapid screening of epidemiologically important *Salmonella enteric* subsp. *enterica* serovars by wholecell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77: 4136–4146.
- [21] Barbuddhe SB, Maier T, Schwarz G, *et al.* Rapid identification and typing of *Listeria* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74: 5402–5407.
- [22] Sparbier K, Weller U, Boogen C, *et al.* Rapid detection of *Salmonella* sp. by means of a combination of selective enrichment broth and MALDI-TOF MS [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(5): 767–773.
- [23] 屠博文, 史伟峰, 韩晓冬, 等. 常见致病菌 MALDI-TOF 质谱分析影响因素的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(24): 4221–4226.
Tu BW, Shi WF, Han XD, *et al.* Research to the influential factors of MALDI-TOF spectrometry for common pathogens [J]. Chin J Health Lab Technol, 2015, 25(24): 4221–4226.
- [24] Chen XJ, Ying HH, Kuang H, *et al.* Studies on protein fingerprint of *Salmonella* by MALDI-TOF-MS [J]. J Food Sci Biotech, 2012, 31(11): 1189–1197.
- [25] Jadhav S, Seviar D, Bhavne M, *et al.* Detection of *Listeria monocytogenes* from selective enrichment broth using MALDI-TOF mass spectrometry [J]. J Proteomics, 2014, 97: 100–106.
- [26] 龚艳清, 陈信忠, 郭书林, 等. MALDI-TOF-MS 方法检测、鉴定副溶血性弧菌[J]. 食品安全质量技术学报, 2013, 4(2): 521–526.
Gong YQ, Chen XZ, Guo SL, *et al.* Detection and identification of *Vibrio parahaemolyticus* by matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2013, 4(2): 521–526.
- [27] 赵贵明, 杨海荣, 赵勇胜, 等. MALDI B iotyper 与 API20E 对克罗诺杆菌(阪崎肠杆菌)的鉴定结果比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(3): 464–466.
Zhao GM, Yang HR, Zhao YS, *et al.* Comparison of MALDI-TOFMS b iotyper with the phenotyping methods API20E for identification of *Cronobacter spp* [J]. Chin J Health Lab Technol, 2010, 20(3): 464–466.
- [28] Ranque S, Normand AC, Cassagne C, *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry identification of filamentous fungi in the clinical laboratory [J]. Mycoses, 2014, 57(3): 135–140.
- [29] Normand AC, Cassagne C, Ranque S, *et al.* Assessment of various parameters to improve MALDI-TOF MS reference spectra libraries constructed for the routine identification of filamentous fungi [J]. BMC Microbiology, 2013, 13(1): 76.
- [30] Angeletti S. Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology [J]. J Microbiol Meth, 2016. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.09.003.
- [31] Nomura F. Proteome-based bacterial identification using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology [J]. BBA-Proteins Proteom, 2015, 1854: 528–537.
- [32] Park JS, Choi SH, Hwang SM, *et al.* The impact of protein extraction protocols on the performance of currently available MALDI-TOF mass spectrometry for identification of mycobacterial clinical isolates cultured in liquid media [J]. Clin Chim Acta, 2016, 460: 190–195.
- [33] Carbonnelle E, Mesquita C, Bille E, *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory [J]. Clin Biochem, 2011, 44(1): 104–109.
- [34] Robinson AM, Ussher JE. Preparation of positive blood cultures for direct MALDI-ToF MS identification [J]. J Microbiol Meth, 2016, 127: 74–76.
- [35] Prehn J, Veen SQ, Schelfaut JGG, *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry for differentiation between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pseudopneumoniae* [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2016, 85 (1): 9–11.
- [36] Sparbier K, Lange C, Jung J, *et al.* MALDI biotyper-based rapid resistance detection by stable-isotope labeling [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(11):

- 3741–3748.
- [37] Cassagne C, Ranque S, Normand AC, *et al.* Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Plos One*, 2011, 6(12): e28425.
- [38] Toh BEW, Paterson DL, Kamolvit W, *et al.* Species identification within *Acinetobacter calcoaceticus–baumannii* complex using MALDI-TOF MS [J]. *J Microbiol Meth*, 2015, 118: 128–132.
- [39] 韩志勇, 刘媛媛. 质谱技术在临床微生物实验室的应用进展[J]. *实用检验医师杂志*, 2015, 7(3): 182–186.
- Han YZ, Liu YY. Application of mass spectrometry in clinical microbiology laboratory [J]. *Chin J Clin Pathologist*, 2015, 7(3): 182–186.
- [40] Loucif L, Bendjama E, Gacemi-Kirane D, *et al.* Rapid identification of *Streptomyces* isolates by MALDI-TOF MS [J]. *Microbiol Res*, 2014, 169: 940–947.
- [41] 郑秋月, 战晓微, 徐 杨, 等. 食源性致病菌沙门氏菌 MALDI-TOF MS 溯源分析[J]. *食品科技*, 2013, 38(12): 315–320.
- Zheng QY, Zhan XW, Xu Y, *et al.* Traceability analysis of food borne pathogen *Salmonella* by MALDI-TOF MS [J]. *Food Sci Technol*, 2013, 38(12): 315–320.
- [42] Karlsson R, Gonzales-Siles L, Boulund F, *et al.* Proteotyping: Proteomic characterization, classification and identification of microorganisms-A prospectus [J]. *Syst Appl Microbiol*, 2015, 38(4): 246–257.
- [43] Kopeckova A, Stramova Z, Kvasnova S, *et al.* Need for database extension for reliable identification of bacteria from extreme environments using MALDI TOF mass spectrometry [J]. *Chem Pap*, 2014, 68(11): 1435–1442.
- [44] Sandrin TR, Goldstein JE, Schumaker S. MALDI TOF MS profiling of bacteria at the strain level: A review [J]. *Mass Spectrom Rev*, 32(3): 188–217.
- [45] 王耀. 肉制品和乳制品中致病菌检测技术体系建立及李氏菌分型鉴定与溯源研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2011.
- Wang Y. Establishment of the detection system for pathogenic bacteria in meat and dairy products and studies on the identifying genotyping and tracing of *Listeria* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2011.
- [46] 肖迪. 基于肽质量指纹谱的病原微生物识别及分型研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2014.
- Xiao D. Studies on identification and typing of pathogenic microorganisms based on peptide mass fingerprinting [D]. Beijing: National institute for communicable disease control and prevention (ICDC), 2014.
- [47] Clark CG, Kruczkiewicz P, Guan C, *et al.* Evaluation of MALDI-TOF mass spectroscopy methods for determination of *Escherichia coli* pathotypes [J]. *J Microbiol Meth*, 2013, 94(3): 180–191.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



杜美红, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全微生物快速检测。
E-mail: dumeihong@beijinglab.com.cn