

# 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析技术在微生物鉴定与分型中的应用

张秋艳, 唐 静, 祝素珍, 贾俊涛, 吴丽娜, 王海霞, 马 云, 姜英辉, 李正义\*  
(青岛海关技术中心, 青岛 266111)

**摘 要:** 微生物的鉴定方法有很多种, 这些方法基于表型、免疫学、遗传学等, 目前普遍采用 16S rRNA 和 18S rRNA 基因测序为标准, 但这些方法也有一些局限性, 费时费力、操作复杂、劳动力和试剂成本都很高, 限制了在常规微生物检测实验室的普及与推广。近年来, 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)在微生物学领域的应用越来越重要, 与应用于微生物鉴定的其他技术不同, MALDI-TOF MS 更快速、准确、经济且易于操作。随着样品制备、数据库丰富和算法优化的发展, 使用 MALDI-TOF MS 进行鉴定的准确性和速度不断提高。虽然大多数研究都集中在细菌上, 但这项技术也应用于真菌和病毒。本文对 MALDI-TOF MS 技术对细菌、真菌、病毒鉴定与分型的研究进展以及目前该技术的局限性进行综述, 旨为该技术在临床诊断、食品检测等领域的多种应用奠定基础。

**关键词:** 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术; 细菌鉴定; 真菌; 病毒; 微生物分型鉴定

## Application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in microbial identification and typing

ZHANG Qiu-Yan, TANG Jing, ZHU Su-Zhen, JIA Jun-Tao, WU Li-Na, WANG Hai-Xia, MA Yun, JIANG Ying-Hui, LI Zheng-Yi\*

(Technology Center of Qingdao Customs, Qingdao 266111, China)

**ABSTRACT:** There are many methods for microbial identification, which are based on phenotype, immunology, genetics, etc. At present, 16S rRNA and 18S rRNA gene sequencing are widely used as the standards, but these methods also have some limitations, such as time consuming, labor consuming, complex operation, high labor and reagent costs, which limit the popularization and promotion in routine microbiological testing laboratories. In recent years, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has become more and more important in the field of microbiology. Unlike other technologies used in microbial identification, MALDI-TOF MS is faster, more accurate, more economical and easier to operate. With the development of sample preparation, rich database and algorithm optimization, the accuracy and speed of identification by MALDI-TOF MS

基金项目: 青岛海关科研项目(QK201920)、食品安全国家标准制修订项目(spaq-2019-022)

Fund: Supported by the Science and Research Projects of Qingdao Customs (QK201920), and the National Food Safety Standards Revision Project (spaq-2019-022)

\*通信作者: 李正义, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: lizhengyisdcq@163.com

\*Corresponding author: LI Zheng-Yi, Professor, Technology Center of Qingdao Customs, No.83, Xinyue Road, Chengyang District, Qingdao 266111, China. E-mail: lizhengyisdcq@163.com

are increasing. Although most studies are focused on bacteria, this technology is also applied to fungi and viruses. This paper reviewed the advances in the identification and typing of bacteria, fungi and viruses using MALDI-TOF MS technology as well as the limitations of this technology, aiming to lay the foundation for its multiple applications in clinical diagnosis, food detection and other fields.

**KEY WORDS:** matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry; identification of bacteria; fungus; viruses; microbial typing and identification

## 0 引言

污染腐败的食品会对人体健康和生命安全构成威胁,也会给食品工业带来巨大的经济损失。微生物安全在食品工业产品质量控制中至关重要,因此,快速、可靠地鉴定食品中的微生物是加强食品安全和质量管理的关键步骤。传统的微生物鉴定方法是以表型技术为基础的,培养方法和生理生化方法耗时费力,且特异性差。此外,免疫学分析技术<sup>[1]</sup>以及分子生物学方法<sup>[2-3]</sup>虽然灵敏度高、特异性强,但操作复杂、成本高、容易产生假阳性,这些都影响了其在普通微生物实验室的推广和使用。因此,成本低廉、操作简便、快速准确、特异性强的微生物鉴定新方法成为目前研究的热点<sup>[4-5]</sup>。

近年来,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是快速发展起来的一种新技术,能够鉴定多种微生物包括细菌、真菌和病毒<sup>[6]</sup>。由于该技术可以以较低的成本用于微生物的快速鉴定,是常规鉴定方法和分子鉴定系统的一种替代和补充方式,这种方法的主要贡献是它大大缩短了鉴定阳性样品的时间。因此本文重点基于MALDI-TOF MS技术在微生物鉴定与分型方面的应用进行综述,为日后在临床和食品相关微生物的检测、鉴定、溯源等多方面的应用发展奠定基础。

## 1 MALDI-TOF MS 的原理

MALDI-TOF MS 属于一种化学分类学技术,它对微生物的蛋白质进行分析,不同种、属、菌株间的蛋白质都有自己的特征,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。

其原理是,首先使微生物样品和基质在靶板上形成共结晶薄膜,在下一阶段,将干燥的样品置于分析仪内,在激光的照射下,微生物的蛋白质和基质分子在分析仪内发生解吸和电离。基质具有很强的吸收激光能量的能力,因此基质在解吸和电离过程中起着重要的作用,可以使样品的分子释放并且防止样品分解。由此产生的电离分子在真空分析仪柱中加速,经过飞行时间检测器,

根据到达检测器的飞行时间不同而被检测,低质量离子先到达探测器,然后是高质量离子。随后 MALDI-TOF MS 系统自动生成特异性峰谱图,这些峰对应于不同质荷比( $m/z$ )的离子。将样品的图谱与现有的质谱数据库中的图谱进行比较,从而对微生物进行鉴定, MALDI-TOF MS 软件系统还可以分析峰强度、数量<sup>[6-7]</sup>。MALDI-TOF 质谱技术的一般原理如图 1 所示。

MALDI-TOF MS 技术在微生物的鉴定分型方法中越来越受到重视,主要得益于它的操作简便,灵敏度和准确性高。MALDI-TOF MS 可以在种、属水平上几乎完美地鉴定微生物,同时实现 90%左右的微生物菌株正确分型<sup>[8]</sup>。

## 2 MALDI-TOF MS 在微生物鉴定中的应用

### 2.1 细菌

MALDI-TOF MS 是一种快速、可靠、经济的细菌鉴定技术。在过去的几年里,许多研究人员已经证明了 MALDI-TOF MS 在细菌鉴定、分型分类方面的适用性。QUINTELA-BALUJA 等<sup>[9]</sup>使用 MALDI-TOF MS 快速鉴定肠球菌菌株,由于其 rRNA 序列高度同源性,以 16S rRNA 基因测序为基础的分子生物学方法对其菌株鉴定存在着局限性,而 MALDI-TOF MS 指纹图谱能在种属水平上快速检测鉴定肠球菌菌株。MALDI-TOF MS 能用于快速鉴定铜绿假单胞菌<sup>[10]</sup>,将 MALDI-TOF 质谱鉴定结果与 VITEK 鉴定系统进行比较,结果完全一致。MALDI-TOF MS 还能鉴定多种葡萄球菌属、致病性奈瑟菌属、分枝杆菌属<sup>[11-13]</sup>。KASSIM 等<sup>[14]</sup>用 VITEK 2™ 鉴定系统和 MALDI-TOF MS 等方法,对 383 株细菌进行鉴定,结果表明, MALDI-TOF MS 对所有菌株到属级鉴定正确率为 97.6%,而 VITEK 2™ 鉴定系统常规方法对属级鉴定正确率为 95.7%。在种水平上,共分析了 358 个菌株,其中 MALDI-TOF MS 的正确识别率为 97.4%,而 VITEK 2™ 鉴定系统的正确识别率仅为 88.0%。在革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的鉴定水平中 MALDI-TOF 质谱明显优于 VITEK 2™ 鉴定系统。对革兰氏阳性菌来说,凝固酶阴性葡萄球菌和肠球菌的鉴定也有着显著性差异。MALDI-TOF MS 在微生物实验室比自动生化系统具有更好的性能,对常见细菌的鉴定具有较高的灵敏度。

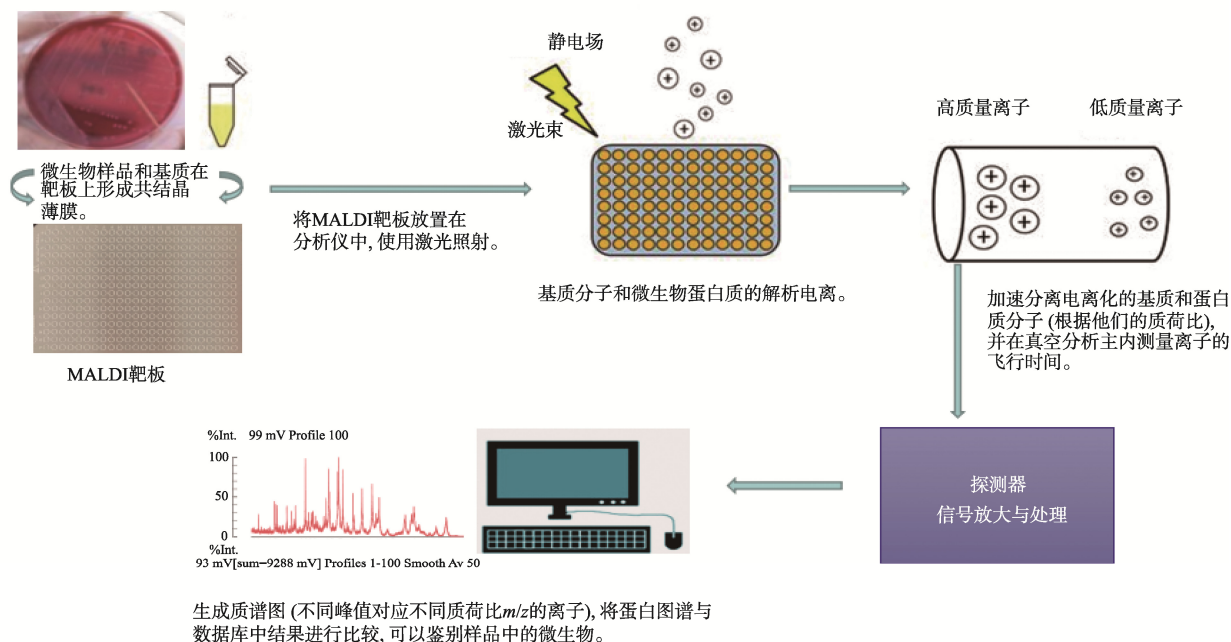


图 1 MALDI-TOF MS 技术分析样品的原理  
Fig.1 Principle of MALDI-TOF MS for sample analysis

MALDI-TOF MS 在细菌鉴定方面具有显著的优势,但除了常见病原菌外<sup>[15-17]</sup>,还能鉴定出难以培养的微生物例如苛养菌、厌氧菌等。传统的生理生化鉴定方法对这些生长缓慢、生化反应不活跃的细菌,很难区分到种水平。巢世兰等<sup>[18]</sup>同时用常规鉴定方法 API 板条和 MALDI-TOF MS 对 36 株厌氧菌进行鉴定,2 种方法鉴定结果不一致的菌株采用 16S rRNA 或 ropB 测序作为鉴定金标准,API 鉴定种水平的为 25 株,鉴定结果不一致的菌为 11 株;MALDI-TOF MS 鉴定种水平的为 34 株,鉴定结果不一致的菌为 2 株,MALDI-TOF MS 鉴定准确率要远高于 API 板条。MALDI-TOF MS 在厌氧菌鉴定方面与传统方法相比将越来越具有明显优势。LI 等<sup>[19]</sup>对 6685 株厌氧菌进行研究表明,MALDI-TOF MS 对种的鉴定准确率为 84%,对属的鉴定准确率为 92%。其中类杆菌鉴定准确率最高为 96%,其次是乳酸杆菌属、拟杆菌属、梭状芽孢杆菌属、丙酸杆菌属、普雷沃菌属、韦荣球菌属、消化链球菌属等正确鉴定率均在 90%以上,但对非常见的厌氧菌的准确率相对较低。随着技术的不断发展,数据库的不断完善,MALDI-TOF MS 技术将为这些难培养细菌的鉴定带来新的发展。

MALDI-TOF MS 不仅适用于种属鉴定,在菌株分型中也有应用。陈志敏等<sup>[20]</sup>表明 MALDI-TOF MS 实现了对金黄色葡萄球菌特异性快速鉴定与分型。王耀等<sup>[21]</sup>使用 MALDI-TOF MS 鉴别了 37 株共 9 种型别的单核李斯特菌。宗凯等<sup>[22]</sup>使用 MALDI-TOF MS 快速鉴定了蜂蜜中的芽孢杆菌,并对其分型溯源。基于 MALDI-TOF MS 的鉴

别和分型方法已经对分枝杆菌分型、副溶血性弧菌分型、及导致医院感染性流感爆发的鲍曼不动杆菌的分型进行研究描述<sup>[23-25]</sup>。

## 2.2 真菌

传统的真菌鉴定方法是基于形态学、生物化学和免疫学特性的,可能需要 2~5 d 或更长时间,并且通常需要结合几种表型方法进行结论性解释。而 18S rRNA 基因测序和内部转录间隔区序列分析技术既烦琐又耗时<sup>[26]</sup>。

使用 MALDI-TOF MS 对真菌分离并不如细菌那样成功,且鉴定的速度比细菌鉴定的速度慢。这是由于真菌具有复杂的系统发育关系和更复杂的形态,因此很难对其进行分类<sup>[27]</sup>,为了获得可重复的肽指纹图谱,需要标准化培养基、接种菌株的数量和培养时间等内容。此外,真菌细胞还可能需要用三氟乙酸、甲酸或乙腈进行额外处理,以破坏其细胞壁<sup>[28]</sup>。

在真菌中,像念珠菌、隐球菌和毕赤酵母这些酵母属能在琼脂平板上形成均匀的菌落,形成的肽指纹图谱具有高度的可重复性,可以使用 MALDI-TOF 样品制备的标准程序(用于细菌)有效地进行裂解<sup>[29]</sup>。然而,梁世周等<sup>[30]</sup>评估了 MALDI-TOF MS 鉴定假丝酵母的 3 种预处理方式,得出结论:使用甲酸/乙腈提取可以得到更好的鉴定结果。许多研究人员报告,MALDI-TOF MS 是一种鉴定真菌可靠且省时的方法。QUÉRO 等<sup>[31]</sup>根据 MALDI-TOF MS 获得了属于 136 个物种的 618 个真菌菌株的质谱图,并创建了一个数据库,该数据库对 90%的真菌鉴定到种水平上,且培养时间和培养基对其鉴定结果没有不良影响。DHIMAN 等<sup>[32]</sup>

评估了 Bruker 系统对 138 种常见和 103 种不常见酵母菌株的鉴定,分别报告了 96%和 85%的到种水平的鉴定准确率。丝状真菌是世界范围内造成食物损失的主要原因之一,其产生真菌毒素的能力可对人类健康构成危害。丝状真菌的蛋白提取困难,蛋白表达易受培养条件影响,丝状真菌的处理通常比酵母菌需要更长的时间。尽管如此,丝状真菌仍可以用 MALDI-TOF MS 鉴定<sup>[33]</sup>。DE CAROLIS 等<sup>[34]</sup>建立了自己的镰刀菌属、曲霉属和毛霉属的文库,应用文库系统在 94 个菌株中鉴定 97%的菌株至种水平。吴友伟等<sup>[35]</sup>对临床分离的 102 株丝状真菌采用 MALDI-TOF MS 技术进行鉴定,同时回顾形态学方法鉴定结果,均与聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)测序鉴定结果进行比对。MALDI-TOF MS 技术正确鉴定 77 株(92.78%),形态学方法仅为 55 株(67.47%)。曹敬荣等<sup>[36]</sup>对 90 株临床分离丝状真菌进行菌株鉴定,其中包括曲霉属、青霉属、链格孢属、镰刀菌属、赛多孢属、米根霉、根毛霉和哈茨木霉;MALDI-TOF MS 鉴定到种水平 82 株,质谱鉴定曲霉属、镰刀菌属、赛多孢属和链格孢属时准确率更高。SINGH 等<sup>[37]</sup>使用 Bruker 系统和用户开发的数据库分析了来自 19 个印度医疗中心患者的 72 株临床分离的黑色化真菌,报告 100%鉴定率。PAUL 等<sup>[38]</sup>使用改良的蛋白质提取方案创建了 59 种黑色化真菌的内部数据库,并使用该数据库测试了 117 种临床分离菌。然而使用 Bruker 数据库仅识别了 29 个(25%)霉菌,通过使用内部数据库补充 Bruker 数据库,所有霉菌都得到了准确识别。MALDI-TOF MS 已成为一种常规的酵母鉴定方法,并被应用于丝状真菌。相关真菌的数据库也正在慢慢变得更加完整,随着数据库系统的增多和持续更新,可以预期到未来可以提供更高质量的真菌鉴定。

使用 MALDI-TOF MS 对真菌分离株进行菌株分型也是可行的,据研究报道,通过 MALDI-TOF MS 可以对于白色念珠菌和近平滑念珠菌进行菌株分型<sup>[39-40]</sup>。QUÉRO 等<sup>[41]</sup>也证明 MALDI-TOF MS 是一种快速简便的丝状真菌菌种鉴定和菌株分型的分子生物学技术替代方法。

### 2.3 病毒

传统上,病毒是通过细胞培养进行检测的,但培养时间需要数天甚至数周才能得到结果。常见的病毒检测实验室技术包括酶联免疫吸附试验、聚合酶链反应和斑点杂交等分子技术。MALDI-TOF MS 技术在病毒学中的应用不如在细菌学或真菌学中的应用先进,但 MALDI-TOF MS 在病毒鉴定方面也具有明显的优势,许多研究人员已经证明了 MALDI-TOF MS 可以在临床样本中诊断各种感染性病毒,如流感病毒、肠道病毒、人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)、肝炎病毒等<sup>[42]</sup>。罗红学等<sup>[43]</sup>报告了同 PCR 方法对高危型 HPV 的检测比较, MALDI-TOF 方法

用于自取阴道宫颈脱落细胞样本高危型 HPV 的检测一致性较高;对于高级别宫颈病变,其筛查灵敏度无显著差别。CAI 等<sup>[44]</sup>利用 MALDI-TOF MS 开发了一种高通量基因分型方法,与罗氏 cobas 4800 HPV DNA 检测系统比较,其一致性为 80.1%。常见的食源性病毒一般以粪便、口等途径传播扩散,包括诺如病毒、甲肝病毒、猪瘟疫病毒、轮状病毒、冠状病毒等。PIAO 等<sup>[45]</sup>将多重 PCR 与 MALDI-TOF MS 相结合,开发了一种 PCR-质量分析方法,可同时检测与人类肠道感染相关的 8 种不同病毒,包括脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒 A16、肠道病毒 71、戊型肝炎病毒、艾柯病毒、诺如病毒、星状病毒和呼肠孤病毒。后来, PENG 等<sup>[46]</sup>证明了多重 PCR 与 MALDI-TOF MS 相结合的 PCR-质量分析方法对与手足口疾病相关的人类肠道病毒类型特异性检测的实用性,使用 MALDI-TOF MS 获得的结果与 DNA 测序之间的一致性为 93.4%。

快速识别现有和新出现的呼吸道病毒对防治疫情和流行病至关重要。CALDERARO 等<sup>[47]</sup>应用 MALDI-TOF MS 技术对甲型和乙型流感病毒、腺病毒 C 种、副流感病毒 1、2 和 3 型进行鉴定,对呼吸道合胞病毒、回声病毒、巨细胞病毒和偏肺病毒进行分析,表明该方法对引起呼吸道感染的相关病毒特异性鉴别的实用性。去年由 2019 新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)引发的新型冠状病毒肺炎(corona virus disease, COVID-19)在全球暴发,对全球公共卫生体系构成了巨大的威胁。YAN 等<sup>[48]</sup>通过建立了一种基于 MALDI-TOF MS 的高通量血清肽组分析方法用于 COVID-19 的高效检测,表明了该方法用于大规模人群中筛查、常规监测和诊断 COVID-19 的巨大潜力。同时,RYBICKA 等<sup>[49]</sup>也表明在对 SARS-CoV-2 的检测中, MALDI-TOF MS 同反转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)相比似乎是检测和鉴别病毒基因组内突变的理想选择。MALDI-TOF MS 对于未来广泛应用于病毒检测方面具有很大优势。

除了病毒鉴定外, MALDI-TOF MS 还被用于高危型 HPV 基因分型<sup>[44]</sup>,对评价高危型 HPV 致癌的危险程度具有重要意义。LIU 等<sup>[50]</sup>采用 MALDI-TOF MS 技术对 10 种禽流感病毒同时进行了检测和基因分型,该方法在病毒性传染病的诊断和监测中也具有潜在的应用价值。

### 3 MALDI-TOF MS 的局限性

目前的综述表明 MALDI-TOF MS 是一种简单、准确、快速、经济的鉴定分析技术,可以在属和种水平上几乎完美地鉴定微生物。然而,该方法还存在着一定的局限性。只有在质谱数据库中含有特定的属、种、亚种、菌株的肽段指纹图谱时,才能够识别该菌株<sup>[28]</sup>。许多研究已经分析了 MALDI-TOF MS 的可靠性和准确性,质谱数据库对于

微生物鉴别至关重要。但随着质谱数据库信息不断完善与升级, MALDI-TOF MS 系统会实现对于大多数菌种的正确鉴别。此外 MALDI-TOF MS 的设备成本也很高, 小型实验室的引进会有一定压力, 可从长远来看, 低价的试剂和劳动力成本的降低可以弥补设备成本的支出<sup>[51]</sup>。

## 4 展 望

最近几年, 虽然微生物鉴定仍以基因测序为金标准, 但 MALDI-TOF MS 在常规微生物实验室中表现了很大的潜力和适用性。MALDI-TOF MS 技术以其高通量、灵敏度高、易于操作的优势, 极大地缩短了实验室对菌种鉴定的时间, 对细菌、真菌鉴定至种水平只需要数分钟, 对病毒的鉴定也极具优势。相信随着质谱数据库的拓展及对操作规程不断标准化和规范化, MALDI-TOF MS 未来会成为微生物实验室的一种很有价值的技术方法, 在对微生物鉴定、分型与溯源等方面发挥重要作用, 使其今后能够鉴定更广泛的微生物类群。

## 参考文献

- [1] 章燕, 冯智田, 窦志勇, 等. 基于免疫学的微生物快速检测技术研究与应用现状[J]. 中国卫生监督杂志, 2020, 27(3): 253-256.  
ZHANG Y, FENG ZT, DOU ZY, *et al.* Research and application status of rapid detection technology of microorganism based on immunology [J]. Chin J Health Inspect, 2020, 27(3): 253-256.
- [2] TANIDA K, HAHN A, FRICKMANN H. Comparison of two commercial and one in-house real-time PCR assays for the diagnosis of bacterial gastroenteritis [J]. Eur J Microbiol Immunol (Bp), 2020, 10(4): 210-216.
- [3] SIM JH, TIAN F, JUNG SY, *et al.* Multiplex polymerase chain reaction assays for the detection of the zearalenone chemotype of *Fusarium* species in white and brown rice [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 269: 120-127.
- [4] 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]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1854(6): 528-537.
- [5] LÉVESQUE S, DUFRESNE PJ, SOUALHINE H, *et al.* A side by side comparison of bruker biotyper and vitek ms: Utility of MALDI-TOF MS technology for microorganism identification in a public health reference laboratory [J]. PLoS One, 2015, 10(12): 528-537.
- [6] GIEBEL R, WORDEN C, RUST SM, *et al.* Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) applications and challenges [J]. Adv Appl Microbiol, 2010, 71: 149-184.
- [7] WELKER M, MOORE ER. Applications of whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in systematic microbiology [J]. Syst Appl Microbiol, 2011, 34(1): 2-11.
- [8] AKIMOWICZ M, BUCKA-KOLENDO J. MALDI-TOF MS-application in food microbiology [J]. Acta Biochim Pol, 2020, 67(3): 327-332.
- [9] QUINTELA-BALUJA M, BÖHME K, FERNÁNDEZ-NO IC, *et al.* Characterization of different food-isolated *Enterococcus* strains by MALDI-TOF mass fingerprinting [J]. Mod Prev Med, 2013, 34(15): 2240-2250.
- [10] 崔学文, 罗慧萍, 李增婷, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在铜绿假单胞菌鉴定中的应用[J]. 现代预防医学, 2016, 43(10): 1862-1867.  
CUI XW, LUO HP, LI ZT, *et al.* Application of matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry in identification of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Mod Prev Med, 2016, 43(10): 1862-1867.
- [11] DUBOIS D, LEYSSENE D, CHACORNAC JP, *et al.* Identification of a variety of *Staphylococcus* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 941-945.
- [12] ILINA EN, BOROVSKAYA AD, MALAKHOVA MM, *et al.* Direct bacterial profiling by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry for identification of pathogenic *Neisseria* [J]. J Mol Diagn, 2009, 11(1): 75-86.
- [13] SALEEB PG, DRAKE SK, MURRAY PR, *et al.* Identification of mycobacteria in solid-culture media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(5): 1790-1794.
- [14] KASSIM A, PFLÜGER V, PREMJI Z, *et al.* Comparison of biomarker based matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and conventional methods in the identification of clinically relevant bacteria and yeast [J]. BMC Microbiol, 2017, 17(1): 128.
- [15] VEEN SV, CLAAS E, 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]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 900-907.
- [16] 顾丹霞, 余涛, 张晓飞, 等. MALDI Biotyper 和 VITEK MS 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱对链球菌鉴定的比较研究[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(2): 98-101.  
GU DX, YU T, ZHANG XF, *et al.* Comparative study on identification of *Streptococcus* by MALDI biotyper and VITEK MS matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry [J]. Chin J Lab Med, 2015, 38(2): 98-101
- [17] CROXATTO A, PROD'HOM G, GREUB G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology [J]. Fems Microbiol Rev, 2012, 36(2): 380-407.
- [18] 集世兰, 阿祥仁. 高原地区 MALDI-TOF MS 快速鉴定临床常见细菌、真菌的应用与评价[J]. 高原医学杂志, 2019, 29(3): 41-43.  
CHAO SL, A XR. Application and evaluation of MALDI-TOF MS in rapid identification of clinical common bacteria and fungi in plateau area [J]. J High Alit Med, 2019, 29(3): 41-43.
- [19] LI Y, SHAN M, ZHU Z, *et al.* Application of MALDI-TOF MS to rapid identification of anaerobic bacteria [J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 941.
- [20] 陈志敏, 张亦琴, 胡连霞, 等. 金黄色葡萄球菌基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱的鉴定与聚类分型[J]. 食品安全质量检测学报, 2019,

- 10(18): 6055–6061.
- CHEN ZM, ZHANG YQ, HU LX, *et al.* Identification and cluster classification of *S.aureus* matrix assisted laser analytical ionization time of flight mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(18): 6055–6061.
- [21] 王耀, 曹际娟, 赵昕, 等. 单增李斯特氏菌 MALDI-TOF-MS 鉴定与分型研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(3): 194–198.
- WANG Y, CAO JJ, ZHAO X, *et al.* Identification and typing of *Listeria monocytogenes* MALDI-TOF-MS [J]. *Food Sci*, 2012, 33(3): 194–198.
- [22] 宗凯, 周莉质, 李云飞, 等. 基于 MALDI-TOF-MS 质谱技术对蜂蜜中芽孢杆菌的鉴定与分型[J]. *安徽农业科学*, 2016, (8): 107–109.
- ZONG K, ZHOU LZ, LI YF, *et al.* Identification and typing of *Bacillus* in honey based on MALDI-TOF-MS mass spectrometry [J]. *Anhui Agric Sci*, 2016, (8): 107–109.
- [23] RODRIGUEZ-TEMPORAL D, RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ B, ALCAIDE F. Evaluation of MALDI biotyper interpretation criteria for accurate identification of *Nontuberculous mycobacteria* [J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(10): e01103–20.
- [24] LI P, XIN W, XIA S, *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry-based serotyping of *V. parahaemolyticus* isolated from the Zhejiang province of China [J]. *BMC Microbiol*, 2018 18(1): 185.
- [25] MENCACCI A, MONARI C, LELI C, *et al.* Typing of nosocomial outbreaks of *Acinetobacter baumannii* by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(2): 603–606.
- [26] SENDID B, DUCOROY P, FRANÇOIS N, *et al.* Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of medically -important yeasts in the clinical laboratories of Dijon and Lille hospitals [J]. *Med Mycol*, 2013, 51(1): 25–32.
- [27] SAMSON RA, VARGA J. What is a species in *Aspergillus*? [J]. *Med Mycol*, 2009, 47(1): S13–S20.
- [28] SINGHAL N, KUMAR M, KANAUIA PK, *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 791.
- [29] BADER O. MALDI-TOF-MS-based species identification and typing approaches in medical mycology [J]. *Proteomics*, 2013, 13(5): 788–799.
- [30] 梁世周, 蔡文品, 曾云祥, 等. 三种前处理在基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定假丝酵母菌属中的应用比较[J]. *中国微生态学志*, 2020, 32(10): 1203–1209.
- LIANG SZ, CAI WP, ZENG YX, *et al.* Comparison of three pretreatment methods in the identification of *Candida* by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry [J]. *Chin J Microecol*, 2020, 32(10): 1203–1209.
- [31] QUÉRO L, GIRARD V, PAWTOWSKI A, *et al.* Development and application of MALDI-TOF MS for identification of food spoilage fungi [J]. *Food Microbiol*, 2019, 81: 76–88.
- [32] DHIMAN N, HALL L, WOHLFIEL SL, *et al.* Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(4): 1614–1616.
- [33] SANGUINETTI M, POSTERARO B. Identification of molds by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(2): 369–379.
- [34] DE CAROLIS E, POSTERARO B, LASS-FLÖRL C, *et al.* Species identification of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Mucorales* with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(5): 475–484.
- [35] 吴友伟, 石红, 刘万静, 等. MALDI-TOF-MS 技术快速鉴定丝状真菌的临床评价[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(21): 3155–3156, 3159.
- WU YW, SHI H, LIU WJ, *et al.* Clinical evaluation of rapid identification of filamentous fungi by MALDI-TOF-MS [J]. *Lab Med Clin*, 2017, 14(21): 3155–3156, 3159.
- [36] 曹敬荣, 王岩, 谢威, 等. 质谱技术快速鉴定临床分离丝状真菌的应用 [J]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2020, 14(5): 374–379.
- CAO JR, WANG Y, XIE W, *et al.* Rapid identification of clinical filamentous fungi by mass spectrometry [J]. *Chin J Exp Clin Infect Dis (Ele Ed)*, 2020, 14(5): 374–379.
- [37] SINGH A, SINGH PK, KUMAR A, *et al.* Molecular and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based characterization of clinically significant melanized fungi in India [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(4): 1090–1103.
- [38] PAUL S, SINGH P, SHARMA S, *et al.* MALDI-TOF MS-based identification of melanized fungi is faster and reliable after the expansion of in-house database [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2019, 13(3): e1800070.
- [39] QIAN J, CUTLER JE, COLE RB, *et al.* MALDI-TOF mass signatures for differentiation of yeast species, strain grouping and monitoring of morphogenesis markers [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 392(3): 439–449.
- [40] PULCRANO G, ROSCETTO E, IULA VD, *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry and microsatellite markers to evaluate *Candida parapsilosis* transmission in neonatal intensive care units [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31(11): 2919–2928.
- [41] QUÉRO L, COURAULT P, CELLIÈRE B, *et al.* Application of MALDI -TOF MS to species complex differentiation and strain typing of food related fungi: Case studies with *Aspergillus* section *Flavi* species and *Penicillium roqueforti* isolates [J]. *Food Microbiol*, 2020, 86: 103311.
- [42] COBO F. Application of maldi-tof mass spectrometry in clinical virology: A review [J]. *Open Virol J*, 2013, 7: 84–90.
- [43] 罗红学, 卞苏环, 杜辉, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱和 HPV 基因测序分型检测阴道自取样用于宫颈癌筛查的有效性研究[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2017, 18(2): 120–123.
- LUO HX, BIAN SH, DU H, *et al.* Study on the effectiveness of matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry and HPV gene sequencing in detecting vaginal samples for cervical cancer screening [J]. *Chin J Clin Obstet Gynecol*, 2017, 18(2): 120–123.
- [44] CAI X, GUAN Q, HUAN Y, *et al.* Development of high-throughput genotyping method of all 18 HR HPV based on the MALDI-TOF MS platform and compared with the Roche Cobas 4800 HPV assay using clinical specimens [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 825.
- [45] PIAO J, JIANG J, XU B, *et al.* Simultaneous detection and identification

- of enteric viruses by PCR-mass assay [J]. PLoS One, 2012, 7(8): e42251.
- [46] PENG J, YANG F, XIONG Z, *et al.* Sensitive and rapid detection of viruses associated with hand foot and mouth disease using multiplexed MALDI-TOF analysis [J]. J Clin Virol, 2013, 56(2): 170–174.
- [47] CALDERARO A, ARCANGELETTI MC, RODIGHIERO I, *et al.* Identification of different respiratory viruses, after a cell culture step, by matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) [J]. Sci Rep, 2016, 6: 36082.
- [48] YAN L, YI J, HUANG C, *et al.* Rapid detection of COVID-19 using MALDI-TOF-based serum peptidome profiling [J]. Anal Chem, 2021, 93(11): 4782–4787.
- [49] RYBICKA M, MIŁOSZ E, BIELAWSKI KP. Superiority of MALDI-TOF mass spectrometry over real-time PCR for SARS-CoV-2 RNA detection [J]. Viruses, 2021, 13(5): 730.
- [50] LIU N, WANG L, CAI G, *et al.* Establishment of a simultaneous detection method for ten duck viruses using MALDI-TOF mass spectrometry [J]. J Virol Methods, 2019, 273: 113723.
- [51] ELBEHIRY A, MARZOUK E, HAMADA M, *et al.* Application of

MALDI-TOF MS fingerprinting as a quick tool for identification and clustering of foodborne pathogens isolated from food products [J]. New Microbiol, 2017, 40(4): 269–278.

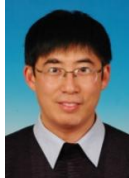
(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

## 作者简介



张秋艳, 硕士, 主要研究方向为食品微生物检测。

E-mail: zsmzh123@163.com



李正义, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测。

E-mail: lizhengyidciq@163.com