

MALDI-TOF MS 用于沙门菌食源性疾病暴发同源性分析初步研究

苏良, 宋迎春, 杨柳青, 张玉娟, 刘晓蕾

长沙市疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

摘要: **目的** 评价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)技术用于沙门菌食源性疾病暴发同源性分析的效果,为沙门菌暴发疫情处置提供技术支持。**方法** 收集长沙市近年5起食源性疾病暴发事件相关的42株沙门菌,进行生化鉴定和血清学分型并对其进行脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)分型分析。应用MALDI-TOF MS技术采集42株沙门菌质谱数据构建主要谱图后进行质谱鉴定,并对42株沙门菌进行相关距离聚类同源分析,再对不同事件的相关沙门菌分4次分别进行不加参考菌株和加入参考菌株的聚类同源分析,并与PFGE聚类分析结果进行比较。**结果** 29份食品中分离出5株沙门菌,62份病人标本中分离出37株沙门菌,42株沙门菌的质谱鉴定结果和生化鉴定结果符合率为100%,血清学鉴定分为3个血清型,肠炎沙门菌22株,布伦登卢普沙门菌17株,鼠伤寒沙门菌3株。PFGE将5次事件的沙门菌分成了4个内部完全一致的分支,42株沙门菌的质谱聚类在300的相对相关距离水平上分为3个不同的分支,和血清学分型一致,和PFGE聚类分型大致相同。4次无参考菌株的质谱分别聚类同源分析不能将相关菌株聚类为预期的簇,但加入参考菌株后的质谱聚类同源分析能将同一事件中的菌株聚类成相似度接近100%的一簇,和PFGE分型结果高度一致。**结论** MALDI-TOF MS聚类分析可在一定范围内应用于沙门菌食源性疾病暴发同源性的病原学确认,可作为PFGE同源性分析的一种较好补充方法,但其不能直接将不同平台数据进行比较。

关键词: 沙门菌;基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱;脉冲场凝胶电泳;聚类分析;食源性疾病

中图分类号:R446.5;R574.6 文献标识码:A 文章编号:1006-3110(2023)04-0406-05 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2023.04.005

Preliminary study on homology analysis of *Salmonella* isolated from foodborne disease outbreaks by MALDI-TOF MS

SU Liang, SONG Ying-chun, YANG Liu-qing, ZHANG Yu-juan, LIU Xiao-lei

Changsha Municipal Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Abstract: **Objective** To evaluate the feasibility of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for homology analysis of *Salmonella* isolated from foodborne disease outbreaks, and to provide technical support for the treatment of *Salmonella* outbreaks. **Methods** We collected 42 strains of *Salmonella* associated with 5 foodborne disease outbreaks in Changsha City in recent years, and then performed biochemical identification, serotyping and PFGE typing. The mass spectrum data about the 42 *Salmonella* strains were collected by MALDI-TOF MS technology to construct the main spectrum (MSP), and then the MSP was identified by MBT Compass software. Correlation distance cluster homology analysis was performed on the 42 *Salmonella* strains, and then 4 times of cluster homology analyses without and with reference strains were conducted on the related *Salmonella* strains of different events. The results of MSP dendrogram were compared with those of PFGE cluster analysis. **Results** Five *Salmonella* strains were isolated from 29 food samples, and 37 *Salmonella* strains from 62 patient samples. The results of MSP and biochemical identification of the 42 *Salmonella* strains were completely consistent, and the strains were identified as 22 strains of *Salmonella enteritidis*, 17 strains of *Salmonella braenderup* and 3 strains of *Salmonella typhimurium*. The *Salmonella* strains from the 5 events were divided into four internal completely consistent branches by PFGE. MSP dendrogram of the 42 *Salmonella* strains was divided into three different branches at the level of 300 relative correlation distance, which was consistent with serotyping and roughly the same as PFGE cluster typing. Four times of mass spectrometry clustering homology analysis without reference strains could not cluster related strains from the expected cluster, but after adding reference strains, the strains in the same event were clustered into a cluster with close to 100% similarity, which was highly consistent with the PFGE

基金项目:湖南省自然科学基金(2022JJ70049);湖南省卫生健康委指导课题(D202312067054)

作者简介:苏良(1979-),男,学士,副主任技师,研究方向:食源性疾病微生物检验。

typing results. **Conclusion** MALDI-TOF MS clustering analysis by MSP dendrogram can be used to confirm the homology of *Salmonella* foodborne disease outbreaks in a certain range, and can be used as a good complementary method to PFGE homology analysis, but it cannot directly compare different platform data.

Keywords: *Salmonella*; matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; pulsed-field gel electrophoresis; homology analysis; foodborne disease

沙门菌是一种最常见的食源性疾病致病菌,常通过污染的食物而引起沙门菌食源性疾病的暴发^[1]。对于沙门菌引起的食源性疾病暴发事件,一般通过血清学分型鉴定和脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)分子分型来确定其暴发,溯源控制^[2],但其操作复杂繁琐,成本较高,常需历时 3~4 d。20 世纪 80 年代末,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)技术被应用于微生物的鉴定,至今已有 30 多年的历史^[3],MALDI-TOF MS 技术通过获取微生物蛋白和多肽的质量电荷比谱图,对微生物进行鉴定及聚类同源性分析,具有快速、重复性好、灵敏度高、特异性强、成本低等特点^[4]。国内外众多的研究者通过 MALDI-TOF MS 技术对包括沙门菌在内的多种微生物进行了分型和同源性研究,其研究结果显示此方法在微生物同源性分析上有较大应用前景^[5-6]。本研究收集 5 次长沙市范围内的沙门菌食源性疾病暴发疫情分离的 42 株沙门菌,通过 MALDI-TOF MS 技术对其进行了同源性分析,现将研究情况报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 42 株沙门菌来源于 2019 和 2022 年共 5 次沙门菌食源性疾病暴发疫情,5 株从 29 份食品样品中分离,37 株从 62 份病人粪便中分离,于 50% 的甘油脑心浸出液肉汤-80℃冻存。PFGE 参考菌株 H9812 来自中国疾病预防控制中心传染病防治所,见表 1。

1.2 主要仪器设备和试剂 全自动细菌生化鉴定仪 VITEK 2 Compact 和细菌鉴定 GN 卡来自法国生物梅里埃股份有限公司;MALDI-TOF MS 微生物质谱仪、一次性金属靶板、 α -氨基-4-羟基肉桂酸、IVD BTS 标准蛋白质校准品均购于德国布鲁克道尔顿公司;标准溶剂(乙腈 50%、水 47.5%和三氟乙酸 2.5%)购自美国霍尼韦尔公司;沙门菌诊断血清(丹麦 SSI 国家血清研究院);木糖赖氨酸去氧胆酸盐琼脂(xylose lysine desoxycholate medium, XLD)平板和哥伦比亚血平板(北京陆桥技术股份有限公司);脉冲场凝胶电泳系统和凝胶成像系统(美国 Bio-Rad Laboratories, Inc.);限

制性内切酶 Xba I(大连 TaKaRa 公司);5×TBE(北京索莱宝科技有限公司);Seakem Gold 琼脂(瑞士 LONZA 公司);Gel Red 染料(美国 biotium 公司)。

1.3 方法

1.3.1 菌株分离、复苏和纯化鉴定 采集的食品标本按照 GB 4789.4-2010《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》中的方法进行沙门菌分离。病人粪便标本用 SBG 增菌液 36℃培养 18~24 h,进行选择性的增菌后,再按照 GB 4789.4-2010《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》用 XLD 平板分离沙门菌。冻存的菌株无菌挑取一环分区划线于 XLD 平板,36℃培养 18~24 h 后,挑取平板上黑色产硫化氢菌落接种于哥伦比亚血平板上,36℃培养 18~24 h 后用梅里埃细菌鉴定 GN 卡按照操作说明通过全自动细菌生化鉴定仪 VITEK 2 Compact 进行生化鉴定。

1.3.2 沙门菌血清分型 按照 GB 4789.4-2010 相应血清分型方法和丹麦 SSI 沙门菌诊断血清说明,查找对照 Kauffman White 沙门菌抗原表进行分型。

1.3.3 沙门菌 PFGE 分型 按照国家《食源性疾病预防工作方案》非伤寒沙门菌 PFGE 操作规程进行实验操作,电泳图通过 BioNumerics 7.6 进行处理,选用 Dice 相关系数和非加权平均建树法,容许度设置为 1.5%。

1.3.4 菌株蛋白的提取和结晶 取一环菌落至含 300 μ l 超纯水 1.5 ml 离心管充分混匀,再加入 900 μ l 无水乙醇涡旋混匀。13 000 rpm 离心 2 min 弃上清液,再次 13 000 rpm 离心 2 min 后弃残余液体。加入 50 μ l 70%甲酸水溶液混匀,再加入 50 μ l 乙腈充分混匀。13 000 rpm 离心 2 min 后吸取 1 μ l 上清点靶,室温晾干后每孔覆盖 1 μ l HCCA 基质液,室温晾干后用于下一步的质谱数据获取。

1.3.5 菌株质谱数据获取和鉴定 将 flexControl 软件质谱仪质量轴通过 IVD BTS 进行校准,再采用自动线性正离子模式获取数据。对单个靶板孔不同的位置分别收集质谱数据,叠加至强度为 2.0×10^4 左右保存为一张图谱,每个靶板孔采集 3 张图谱。通过 MBT Compass 软件对原始图谱进行处理,质谱峰筛选采用软件标准方法,质量范围为 3 000~15 000 m/z,预期峰个数为 100 个。同一标本 3 张图谱构建一个主谱(main spectrum, MSP),运用 MBT Compass 软件的标准方法

构建标本的 MSP, MSP 预期最大峰个数为 70, 最小预期峰频率为 25%。对构建的 MSP 进行数据库比对鉴定, 记录比对结果和得分。

1.3.6 菌株质谱数据聚类同源分析 通过 MBT Compass 软件, 对构建的 MSP 进行聚类同源分析 (MSP Dendrogram), 采用软件的标准方法和参数, 计算的距离为相关距离 (correlation distance)^[7], linkage 为均值, 相关距离的最大值是 1, 表示完全不相关, 最小值是 0, 代表两样本相同。MBT Compass 软件生成的聚类图横轴表示相关距离, 软件把所有参与聚类的集合元素中最大的相关距离标准化为 1 000, 作为此次聚类分析的最大距离, 其他各元素间的距离按照按此标准比例放大。所以不同 MBT Compass 的聚类图不能相互比较距离, 只能在同一次聚类中体现相对的远近关系。先将 42 株沙门菌作总的聚类分析, 因 PFGE 聚类分析显示 A 和 E 事件的菌株完全同源, 所以将 A 和 E 事件的菌株合并分析, 对 5 次事件分别做 4 次聚类分析。采取加入参考菌株的方法对菌株再次进行聚类分析, B 事件菌株加入 A 事件肠炎沙门菌 YH1 作为参考菌株, 其他事件均加入 B 事件鼠伤寒沙门菌 YL1 作为参考菌株, 比较各聚类分析结果。

2 结果

2.1 生化和血清型鉴定结果 共采集食品 29 份, 检出 5 株沙门菌, 分离阳性率为 17.24%; 粪便 62 份, 检出沙门菌 37 株, 分离阳性率为 59.68%。冻存菌株在 XLD 平板上复苏生长良好, 纯化后通过细菌鉴定 GN 卡菌鉴定为沙门菌, 血清型鉴定 42 株菌为 3 种血清型, 同一起事件的血清型相同, 见表 1。

表 1 42 株暴发相关沙门菌血清型信息表

菌株号	血清型	分离时间	相关事件
YH1~8	肠炎沙门菌	2019 年 8 月	事件 A
YL1~3	鼠伤寒沙门菌	2019 年 10 月	事件 B
CS1~2	肠炎沙门菌	2019 年 11 月	事件 C
CS4~6			
YH9~10			
KF7			
B1~17	布伦登卢普沙门菌	2022 年 5 月	事件 D
C18~23	肠炎沙门菌	2022 年 6 月	事件 E

注: B10~12, YH4, CS5 这 5 株菌株来源于食品, 其他均来源于病人。

2.2 质谱鉴定结果 MBT Compass 软件对 42 株沙门菌使用软件自带的数据库进行了比对鉴定, 此数据库中只有 20 株参考沙门菌数据, 全部鉴定为沙门菌属, 鉴定得分为 (2.21~2.55) 分, 物种一致性全部为 A, 属的水平上和 VITEK 2 Compact 细菌鉴定 GN 卡的鉴定结果符合率为 100%, 但在血清型水平上和沙门诊断

血清鉴定的结果符合率仅 7.14% (3/42)。

2.3 PFGE 分子分型结果 42 株沙门菌通过 PFGE 后, 凝胶成像拍照均得到了清晰的条带图, 图片经 BioNumerisc 软件处理分析后进行聚类分析, 结果显示 42 株沙门菌分为 4 种带型, 3 种血清型聚类成 3 簇, 其中事件 A 和事件 E 虽为肠炎沙门菌且带型完全相同, 但分属两次不同事件, 与事件 C 的肠炎沙门菌相似性为 96%。事件 B 的鼠伤寒沙门菌和事件 D 的布伦登卢普沙门菌分成完全相同的两种带型。PFGE 分型的聚类结果显示除事件 A 和 E 外, 其他带型完全相同的菌株均为同一事件同一血清型菌株, 见图 1。

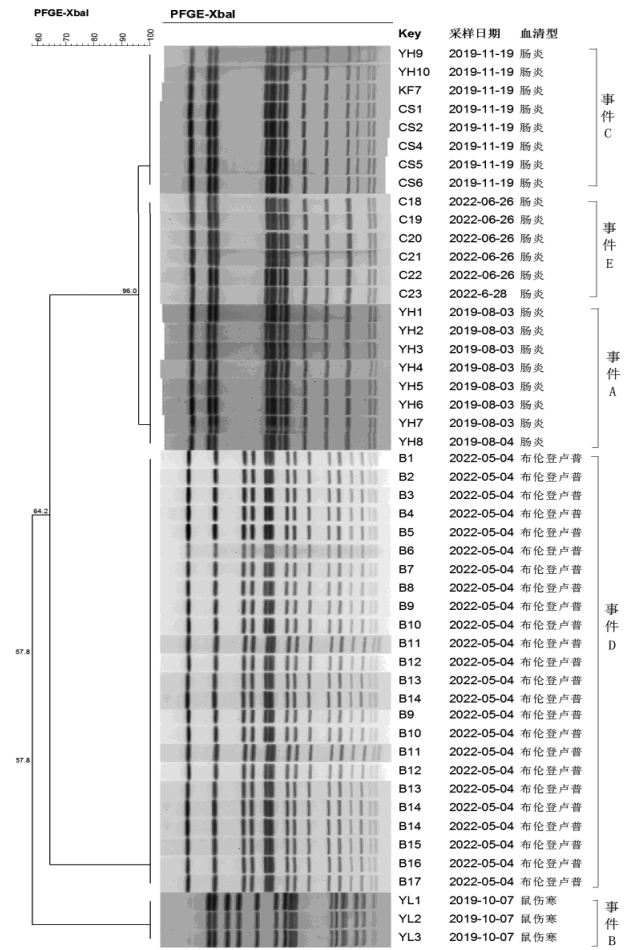


图 1 42 株沙门菌 PFGE 聚类分析图

2.4 MALDI-TOF MS 聚类同源分析结果

2.4.1 42 株沙门菌总聚类同源分析结果 以相对相关距离为度量指标, 在相对距离大约 300 左右分成了 3 个不同聚类, 每个聚类里各菌株中的相对相关距离从 10~300 左右。相同的血清型同在一个大的分支, 和图 1 的 PFGE 聚类图相比, 无 100% 相似的聚类分支。事件 D 和事件 B 相关的布伦登卢普沙门菌和鼠伤寒沙门菌成功地区分出了两支, 但是肠炎沙门菌没

有将事件 AE, 和事件 C 区分开, 而是整个聚在了一支, 见图 2。

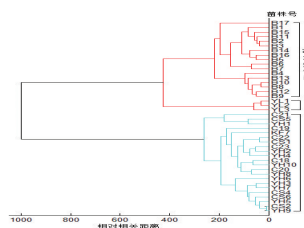
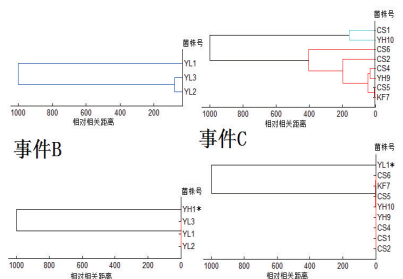


图 2 42 株沙门菌 MALDI-TOF MS 聚类分型图

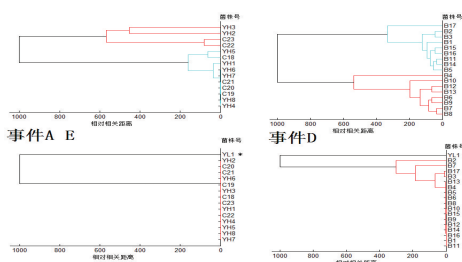
2.4.2 不同事件菌株单独聚类分析结果 事件 B 和事件 C 的单独聚类结果见图 3, 上半部分是无参考菌株的聚类结果, 同一次事件中的菌在相对距离为 300 左右被分成了至少两个不同聚类。图的下半部分则是加入了参考菌株的结果, 显示相同事件中的沙门菌被聚成了一支, 而且相对相似距离为 0, 几乎完全相同, 与 PFGE 聚类分型结果完全一致。



注: 图上半部分为无参考菌株的聚类结果, 下部分为加入相应参考菌株的聚类结果; * 表示参考菌株 YH1 为事件 A 肠炎沙门菌, YL1 为事件 B 鼠伤寒沙门菌。

图 3 事件 B 和 C 相关沙门菌 MALDI-TOF MS 聚类分型图

类似的结果也在事件 AE 和事件 D 的单独聚类结果图中有所体现, 但事件 AE 中的肠炎沙门菌在无参考菌株的聚类结果中有 7 株菌完全地被聚在了一支, 相对相关距离为 0, 见图 4。事件 D 中的 17 株布伦登卢普沙门菌在无参考菌的情况下在 300 相对相关距离左右被分成了 4 个不同的聚类分支, 在加入参考菌株鼠伤寒沙门菌 YL1 后, 有 13 株被分类在同一分支上, 相对距离几乎为 0, 还有 4 株被分在了不同的聚类分支上。



注: 图上半部分为没有参考菌株的聚类结果, 下部分为加入相应参考菌株的聚类结果; * 表示参考菌株, YL1 为事件 B 鼠伤寒沙门菌。

图 4 事件 AE 和 D 相关沙门菌 MALDI-TOF MS 聚类分型图

3 讨论

本研究用 MALDI-TOF MS 技术对 42 株沙门菌进行了鉴定, 在属水平上和生化鉴定结果完全一致, 但仅 3 株肠炎沙门菌正确鉴定到了相应的血清型, 其他菌株的血清型均不正确, 这和国内外的研究结果基本一致^[5,8-9]。要拓展其在种或血清型的鉴定能力, 要对数据库进行扩展, 加入更多的自建参比质谱图, Ojima-Kato 等^[8]通过查找沙门菌常见血清型的特征质谱峰组合, 构建新的参比数据库, 成功地鉴定了沙门菌的多种常见血清型。Yang 等^[9]通过 m/z 为 $3\ 018 \pm 1$ 、 $6\ 037 \pm 1$ 、 $7\ 184 \pm 1$ 、 $4\ 925 \pm 1$ 的 4 个特征峰的组合成功地对肠炎沙门菌, 鼠伤寒沙门菌和汤普森三种主要血清型做出了鉴别。PFGE 是分子分型和同源性分析的经典方法, 本研究中 PFGE 和流行病学调查相互验证了 5 起暴发事件的同源性, 其中发生在 2019 年的 A 事件和 2022 年的 E 事件相关的肠炎沙门菌属于完全相同的 PFGE 分型, 提示有高度的同源性, 但流行病学资料却没有明显数据支持。可能因为 2019 年的 A 事件肠炎沙门菌长期稳定的隐匿于某些食品供应链中, 如某些冷冻食品或原材料中, 提示监督监测部门要加大监测监督力度, 找出隐匿源头, 消除潜在威胁。MALDI-TOF MS 技术对微生物同源性分析具有操作快捷, 试剂成本低廉等特点, 但与经典的 MLST 和 PFGE 等同源性分析方法相比, 很难有完全一致的结果^[9-14]。MALDI-TOF MS 技术产生的数据和 PFGE 及 MLST 分型技术产生的数据有巨大的差异, 一个样本的 MALDI-TOF MS 谱图数据是多维度复杂的数据集, 包含质荷比、峰强度、峰频率等数千个测量值。直接产生的数据噪声高, 基线复杂, 维度多, 远比 PFGE 和 MLST 产生的数据复杂, 属于庞大复杂的生物大数据^[15]。因此 MALDI-TOF MS 技术应用效果的好坏, 很大程度上取决于质谱数据的前期处理, 数据库的建设, 以及软件的生物信息学算法和相关参数的调整优化^[16]。

本研究中肠炎沙门菌所致的事件 AE 和事件 C 在无参考菌的条件下, 不能通过质谱聚类分析加以区分, 全部聚在了一个分支上, 和 Yang 等^[9]的研究相似。他们成功地将肠炎沙门菌, 鼠伤寒沙门菌及汤普森沙门菌分成了 3 个不同的聚类。Jiang 等^[10]对肺炎克雷伯菌, 李进等^[11]对铜绿假单胞菌进行同源性分析结果不理想。但 Chaiden 等^[12]对猪链球菌, Fang 等^[13]对马尔尼菲篮状菌, Li 等^[14]对副溶血性弧菌进行同源性分析却得到了比较理想的结果。这些成功的研究结果提示 MALDI-TOF MS 技术在某些特定种类的微生物聚类同源分析应用上有较大价值。本研究将流行病学

具有同源性的不同事件沙门菌分别进行质谱聚类分析,但因评价的指标为相对相关距离,不能真实体现菌株之间的实际差异大小。图 3 中事件 AE 的上部分有 7 株菌的相对相似距离为 0,和 PFGE 结果一致。基于质谱数据高度复杂性的特点,相似性为 100% 的可能性非常小,而显示为 0 的真实原因为 7 株沙门菌之间的质谱数据绝对差异非常小,但在这一次聚类中把最大相关距离量化为 1 000 后,这 7 株间的差异被归一化为近似 0,聚类图上就显示出了高度的同源性。根据这一现象,本研究尝试在每次事件中加入一株相关的参考菌株,来优化比对参数。参考菌株的选取有一定的技巧和难度,本研究尝试加入大肠埃希菌作为参考菌株,但因差异太大,把不同血清型的沙门菌也归一化为近似 0 的相对相关距离,这和 PFGE 的聚类结果完全不同也不符合实际情况。加入软件自带参考库中的与待聚类分析菌株相同血清型的沙门菌后,因参考库中的菌都来自德国,和该地沙门菌的质谱数据有很大差异,归一化后无法将差异比较小的不同菌株区分。最终选择本次研究中的不相关事件的沙门菌作为聚类分析的参考菌株。聚类结果见图 3 和图 4 的下半部分,图中带 * 的参考菌被单独分为了一类,而其他一起事件中的菌都被聚在了近似为 0 的相对相关距离的一簇里,表现出高度的同源性,和 PFGE 结果高度统一。但是图 2 事件 D 中的布伦登卢普沙门菌有 4 株没有被聚在完全同源的一簇,分析可能是因为鼠伤寒沙门菌和布伦登卢普沙门菌间质谱数据差异较大,另外 4 株菌的质谱图确实是发生了某些改变,与其他菌株存在差异。

综上,MALDI-TOF MS 技术应用于沙门菌食源性疾病暴发同源性分析的结果和 PFGE 分析方法有较高的符合性,如加以优化和统一,有较好的应用前景。但因为各平台的聚类算法和质谱数据前处理方法各不相同,质谱聚类同源分析暂时不能像 PFGE 一样在全球范围内成为一种标准的方法。期待各质谱平台统一聚类分析数据的前处理算法和聚类算法,统一同源性评价指标以及参数水平,需要行业进一步研究确认后形成共识。本研究初步确认加入参考菌株后能得到和 PFGE 高度一致的聚类分析结果,但参考菌株选择的参考标准还有待进一步研究和探讨。在无参考菌株的聚类分析中如果同一次事件中有相对相关距离近似 0 的菌株,则基本可以确定为同源性暴发疫情。但限于本研究的样本数量和血清型种类较少,还有待在以后的工作中进一步的验证确认。

参考文献

- [1] 苏良,宋迎春,杨柳青,等. 2021 年长沙市食源性疾病沙门菌血清分型及 PFGE 分子分型分析[J]. 实用预防医学,2022,29(9): 1028-1031.
- [2] 宋迎春,苏良,刘晓蕾,等. 长沙市 2 起肠炎沙门菌食物中毒事件的病原鉴定与溯源[J]. 现代预防医学,2021,48(6): 1103-1106.
- [3] 罗燕萍,徐英春,王辉,等. 自建 MALDI-TOF MS 微生物鉴定数据库专家共识[J]. 中华检验医学杂志,2019,42(6): 414-419.
- [4] Persad AK, Fahmy HA, Anderson N, et al. Identification and subtyping of *Salmonella* isolates using matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) [J]. Microorganisms, 2022,10(4): 688.
- [5] 侯柏龙,王蔚,高雯洁. 飞行时间质谱技术在肠炎沙门菌快速鉴定及同源性分析中的应用[J]. 医学信息,2021,34(9): 176-178.
- [6] Huber CA, Reed SJ, Paterson DL. Bacterial sub-species typing using matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry: what is promising? [J]. Curr Issues Mol Biol, 2021, 43(2): 749-757.
- [7] 鲁辛辛. 微生物质谱技术应用手册[M]. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社,2021: 157-158.
- [8] Ojima-Kato T, Yamamoto N, Nagai S, et al. Application of proteotyping Strain Solution (TM) ver. 2 software and theoretically calculated mass database in MALDI-TOF MS typing of *Salmonella* serotype[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2017,101(23-24): 8557-8569.
- [9] Yang SM, Kim E, Kim D, et al. Rapid detection of *Salmonella enteritidis*, *typhimurium*, and *thompson* by specific peak analysis using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Foods, 2021,10(5): 933.
- [10] Jiang F, Kong Z, Cheng C, et al. Overestimated discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry for typing of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clones[J]. Epidemiol Infect, 2019,147: e324.
- [11] 李进,胡韦维,张峰领,等. 多重耐药铜绿假单胞菌的两种同源性分析方法的比较[J]. 第三军医大学学报,2018,40(14): 1258-1262.
- [12] Chaiden C, Jaresithikunchai J, Kerdin A, et al. *Streptococcus suis* serotyping by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2021,16(5): e0249682.
- [13] Fang L, Liu M, Huang C, et al. MALDI-TOF MS-based clustering and antifungal susceptibility tests of *Talaromyces marneffe* isolates from Fujian and Guangxi (China) [J]. Infect Drug Resist, 2022, 15: 3449-3457.
- [14] 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.
- [15] 刘宏生,冯华伟,张力,等. 机器学习在 MALDI-TOF MS 鉴定微生物中的应用[J]. 微生物学报,2020,60(5): 841-845.
- [16] 杨伟伟,汪曦,孙传强,等. 数据处理和分析方法在 MALDI-TOF MS 鉴定微生物中的应用[J]. 中国微生态学杂志,2018, 30(3): 368-372.

收稿日期:2022-10-08