DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260427001
引用格式: 唐静, 李明哲, 刘文, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术在沙门氏菌检测及鉴定中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(18): 143–153.
Tang Jing, Li Mingzhe, Liu Wen, et al. Research progress on the application of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry technology in the detection and identification of *Salmonella* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(18): 143–153. (in Chinese with English abstract).

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术在沙门氏菌检测及鉴定中的应用研究进展

唐 静[1], 李明哲[1], 刘 文[1], 何京澄[1], 刘 笑[2], 赵 月[3], 殷培军[1*]
(1. 青岛海关技术中心, 青岛 266000; 2. 临沂大学生命科学学院, 临沂 276000; 3. 大连海关, 大连 116000)

摘 要: 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)技术作为一种新型的微生物检测及鉴定方法, 在沙门氏菌检测及鉴定领域展现出巨大的应用潜力, 具有快速、准确、经济等优势, 但是对沙门氏菌种、亚种及血清型鉴定有局限性。本文分析了 2005—2025 年间发表的相关研究文献, 重点关注 MALDI-TOF MS 技术在沙门氏菌种、亚种及血清型鉴定中的研究进展。通过筛选特异性生物标志物可实现对沙门氏菌种、亚种和常见血清型的快速鉴定。结合基因组序列信息和决策树算法等技术, 能提高血清型鉴定的准确性。MALDI-TOF MS 技术已经广泛应用于食品安全、临床诊断、耐药性和流行病学等领域, 对沙门氏菌属的检测具有较高的准确性。尽管该技术在沙门氏菌分型方面仍存在一定挑战, 但随着数据库的完善和技术的创新, MALDI-TOF MS 技术有望成为沙门氏菌分型鉴定的重要方法之一, 为食品安全监控、临床诊断和流行病学调查提供有力支持。

关键词: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术; 沙门氏菌; 检测; 生物标志物; 血清型鉴定
中图分类号: TS207.4 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)18–0143–11

Research progress on the application of matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry technology in the detection and identification of *Salmonella*

TANG Jing[1], LI Ming-Zhe[1], LIU Wen[1], HE Jing-Cheng[1], LIU Xiao[2], ZHAO Yue[3], YIN Pei-Jun[1*]
(1. *Technology Center of Qingdao Customs District*, *Qingdao* 266000, *China*; 2. *School of Life Sciences*, *Linyi University*, *Linyi* 276000, *China*; 3. *Dalian Customs District*, *Dalian* 116000, *China*)

ABSTRACT: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), a novel technique for microbial detection and identification, exhibits tremendous application potential in the detection and identification of *Salmonella*. It boasts prominent strengths including rapid detection, high accuracy and low cost, yet it has inherent limitations in discriminating *Salmonella* species, subspecies and serovars. This paper systematically

基金项目: 海关总署科研项目(2024HK004)
第一作者: 唐静(1982—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为微生物检测。E-mail: sigebaby@163.com
***通信作者:** 殷培军(1979—), 男, 硕士, 正高级农艺师, 主要研究方向为微生物检测。E-mail: yinqaz309@126.com

reviewed relevant research papers published from 2005 to 2025, with a special focued on advances in applying MALDI-TOF MS to differentiate *Salmonella* species, subspecies and serovars. Rapid identification of *Salmonella* species, subspecies and common serovars could be realized by screening specific protein biomarkers. Integration of genomic sequence data with algorithms such as decision trees could further boost the accuracy of serovar identification. Currently, MALDI-TOF MS had been widely deployed in food safety monitoring, clinical diagnosis, antimicrobial resistance testing and epidemiological investigations, achieving high accuracy for genus-level identification of *Salmonella*. Despite persistent challenges in fine-scale typing of *Salmonella*, continuous database optimization and technological innovations will make MALDI-TOF MS a vital tool for *Salmonella* typing and identification, providing robust technical support for food safety surveillance, clinical diagnosis and epidemiological tracing.

KEY WORDS: matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; *Salmonella*; detection; biomarker; serotype identification

0 引 言

沙门氏菌属(*Salmonella*)是肠杆菌科(Enterobacteriaceae)的成员，包含两个种：肠炎沙门氏菌(*Salmonella enterica*)和邦戈沙门氏菌(*Salmonella bongori*)，根据脂多糖抗原(O)、鞭毛(H)和荚膜(Vi)抗原的差异决定各亚种的血清型，沙门氏菌共有 2600 多种血清型，其中肠炎沙门氏菌的 6 个亚种至少包含 1531 个血清型[1]。沙门氏菌病是重要的人畜共患病之一，也是重要的食源性传染病之一[2]，尤其对于发展中国家，发病率和死亡率更高[3]。沙门氏菌可引起人的肠炎、伤寒热甚至菌血症[4−7]，具有致病性的沙门氏菌主要包括：肠炎沙门氏菌、伤寒沙门氏菌、都柏林沙门氏菌、纽波特沙门氏菌、汤普逊沙门氏菌等。沙门氏菌的宿主广泛，从哺乳动物到水生动物均有涉及，一些沙门氏菌仅在某种动物中传播，如鸡白痢沙门氏菌、马流产沙门氏菌等，有的可感染多种动物，但不包括人，如印第安纳沙门氏菌，只感染鸡和猪。沙门氏菌的传播方式为经口传播，禽类还有经卵传播的报道[8]。

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 1985 年由德国的 Michael Karas 与 Franz Hillenkamp 提出[9]；1987 年日本的 Koichi Tanaka 以“超细金属+液体基质法”实现大分子蛋白电离，并凭软解吸电离贡献获得 2002 年诺贝尔化学奖[10]；首台商用 MALDI-TOF MS 仪器于 1990 年，由 Marvin Vestal 团队在 Vestec 推出[11]。之后，商用 MALDI-TOF MS 仪器不断推陈出新，目前已上市的主要有以下产品：Bruker 公司的 MALDI Biotyper、microflex、autoflex；bioMérieux 公司的 VITEK MS PRIME；Shimadzu 公司的 MALDI-8020/8030、AXIMA 系列；Thermo Fisher Scientific 公司的 iQLAS、MALDI LTQ Orbitrap；Agilent 公司的 MALDI TOF/TOF；天瑞仪器公司的 microTyper MS；融智生物公司的 QuanTOF 等。

MALDI-TOF MS 技术的核心原理是软电离技术结合飞行时间质量分析，具体分为两个关键步骤：基质辅助电离和飞行时间检测。基质辅助电离是将待测生物大分子(如蛋白质、多肽)与特定基质化合物混合并结晶，激光脉冲照射时，基质优先吸收能量、快速汽化并将能量传递给样品分子，使样品分子温和电离为带电离子，同时避免大分子结构裂解。飞行时间检测是带电离子在加速电场中获得相同动能，随后进入飞行管，由于离子的飞行速度与质荷比(m/z)的平方根成反比，质荷比越小的离子飞行速度越快、到达检测器的时间越短，通过精准记录飞行时间即可计算出离子的质荷比，再与标准谱图库比对实现样品鉴定。随着该技术的不断改进与成熟，已应用于各领域微生物的检测，如：水产品[12]、食品[13−17]、临床医学[18−21]、环境[22−23]、发酵工业[24]等。本文总结近 20 年 MALDI-TOF MS 技术在沙门氏菌检测及鉴定上的研究情况并展望其未来的应用前景，以期 MALDI-TOF MS 技术可以在沙门氏菌的精准分型鉴定中发挥更好的作用。

1 MALDI-TOF MS 技术检测步骤

1.1 样本制备

直接涂抹法：取少量菌体，均匀涂布在 MALDI 专业靶板的一个靶点上，形成一个薄层，待菌体室温干燥后再覆盖基质溶液[如：α-氰基-4-羟基肉桂酸(α-cyano-4-hydroxycinnamic acid, CHCA)]，自然干燥后进行分析。该方法操作简单，是最常用的样本制备方法。扩展涂抹法：是在直接涂抹法的基础上，优化改良的样品前处理方法，增加了甲酸处理步骤，具体流程为将微生物纯培养物涂抹于靶板后，滴加少量 70%甲酸溶液，作用 30~60 s 后自然干燥，再滴加基质溶液进行质谱检测。蛋白提取法：主要原理是通过甲酸裂解微生物细胞壁，再利用乙腈沉淀纯化蛋白质，实现高效蛋白提取。具体流程为取适量微生物纯培养物，加入生理盐水充分混匀，再加入甲酸溶液裂解细胞

壁, 随后加入乙腈溶液沉淀蛋白质, 离心后取上清液点样, 干燥后滴加基质溶液进行检测。该方法可提高检测灵敏度, 特别适用于复杂样本。对于厚壁微生物还可以增加研磨和超声的步骤帮助蛋白质的释放。

1.2　质谱分析

检测范围一般为 2000~20000 Da。数据采集采用正离子模式, 加速电压为 20~25 kV。每个样本通常采集 200~300 个激光轰击的结果, 以提高信号的信噪比。不同厂家在参数设置上略有差异。

1.3　数据处理

主要包括质谱图预处理(基线校正、平滑、归一化等)、峰识别和数据库比对。常用的商业软件包括 Bruker Biotyper、VITEK MS 等, 这些软件配备了完善的微生物数据库, 可实现对沙门氏菌等微生物的自动鉴定。有的研究还采用了自建数据库和自定义分析算法, 以提高鉴定的准确性和特异性。

2　沙门氏菌生物标志物的筛选

2.1　生物标志物的筛选策略

沙门氏菌特异性生物标志物的筛选是提高 MALDI-TOF MS 技术鉴定准确性的关键。根据文献报道, 生物标志物筛选主要采用以下几种方法: 比较分析法、基因组序列辅助法、理论计算数据库法。

比较分析法是通过比较不同血清型沙门氏菌的质谱图谱, 筛选出特异性差异峰。Costa 等[25]使用德国布鲁克的 MALDI-TOF MS 仪器通过比较 105 株肠炎沙门氏菌与其他血清型菌株的质谱图谱, 发现了 *m*/*z* (3016±3) Da 和 (6034±3) Da 两个特异性生物标志物。基因组序列辅助法是结合沙门氏菌的基因组序列信息, 预测可能的生物标志物。Dieckmann 等[26]使用德国布鲁克的 MALDI-TOF MS 仪器通过分析沙门氏菌的基因组序列和决策树算法, 筛选出 200 多个主要对应于核糖体蛋白的生物标志物峰。理论计算数据库法是构建理论计算的质量数据库, 用于生物标志物的预测和验证。Ojima-Kato 等[27]构建了包含 12 种生物标志蛋白的理论质量数据库, 丰富了日本岛津 MALDI-TOF MS 的数据库, 可完成沙门氏菌血清型分型。

2.2　沙门氏菌属水平上生物标志物的发现

沙门氏菌属包括两个种, 即肠炎沙门氏菌和邦戈沙门氏菌。肠炎沙门氏菌下包括 6 个亚种。MALDI-TOF MS 技术在沙门氏菌属水平上的鉴定依据是沙门氏菌属包含的这两个种共有的特征离子峰。Dieckmann 等[28]研究了 126 株不同沙门氏菌亚种使用德国布鲁克 MALDI-TOF MS 仪得到的 MALDI-TOF MS 图谱, 发现邦戈沙门氏菌和其他 6 个亚种的沙门氏菌共有的特征离子峰有 57 个, 表 1 列出了主要离子峰及可能对应的蛋白质。

表 1　沙门氏菌属水平的特异性生物标志物
Table 1　Specific biomarkers of the genus *Salmonella*

生物标志物(*m*/*z*)/Da	可能对应的蛋白质
6383.80	RL 30
7719.80	RL 31
9592.10	RS 17
10188.00	分子伴侣 10
10286.10	RS 19
11214.70	RL 23
11579.40	RL 21
11767.70	RS 10
13569.00	RL 14
15225.50	RL 16
15413.00	DNA 结合蛋白 H-NS
17461.40	RS 7
17671.20	RL 10
23356.50	RS 4
25856.40	RS 3

注: RL 为核糖体大亚基; RS 为核糖体小亚基。

目前商用的 MALDI-TOF MS 的分析软件都可以鉴定到属。如李赫婧等[29]对 31 份市场购入的生鸡肉样品进行 MALDI-TOF MS 和生化培养法分离沙门氏菌, 结果表明生化和质谱鉴定结果一致, 但是这两种方法只能将沙门氏菌鉴定到属; 赵婉妤[30]在成都市采集了 354 份猪肉样品, 使用 MALDI-TOF MS 仪和 VITEK2 COMPACT 系统对分离到的可疑沙门氏菌进行鉴定, 共检出阳性样品 202 份, 两方法鉴定结果一致率达 100%, 均具备对沙门菌属水平的鉴定能力。虽然通过筛选沙门氏菌属水平的特异性生物标志物使 MALDI-TOF MS 技术对沙门氏菌属的鉴定已经非常的准确, 但是其对种、亚种、血清型的鉴定还存在局限性, 而明确沙门氏菌的精细化分型对控制沙门氏菌的流行, 制订针对性预防策略至关重要。

2.3　沙门氏菌种/亚种水平上生物标志物的发现

沙门氏菌属包括肠炎沙门氏菌和邦戈沙门氏菌两个种。肠炎沙门氏菌下又包括肠道亚种(*subsp enterica*)、萨拉姆亚种(*subsp salamae*)、亚利桑那亚种(*subsp arizonae*)、双亚利桑那亚种(*subsp diarizonae*)、豪顿亚种(*subsp houtenae*)和英迪卡亚种(*subsp indica*)共 6 个亚种。能够进行种间鉴定的依据是邦戈沙门氏菌与 6 个亚种之间有离子峰的差异, 亚种之间的鉴定则是各亚种之间的离子峰差异。Dieckmann 等[28]结合沙门氏菌的基因组序列, 通过德国布鲁克的 MALDI-TOF MS 技术确认了沙门氏菌种及亚种鉴定的生物标志物离子, 并筛选出 200 多个主要对应于高丰

度、强碱性核糖体或核酸结合蛋白的生物标志物峰。通过对沙门氏菌菌株生物标志物谱的详细比较分析，揭示了多管家蛋白中单个或多个氨基酸变化所对应的序列变异。研究发现，肠炎沙门氏菌的特征峰出现在 *m/z* 8920、12522、14696 和 16019 Da，而邦戈沙门氏菌的特征峰在 *m/z* 7899.4、8094.7、9175.6、9207.2、9240、10108.2、12548.9、14726.2、19519.4、24607.9、26614.2 和 29711.3 Da。对于其他几个亚种则为，亚利桑那亚种: *m/z* 7692.9、8035.1、10607.9、10883.8、11221、12282.9、15318.3、20203.3 和 24584.6 Da; 英迪卡亚种: *m/z* 7665.8、19504.9 Da; 肠炎亚种: *m/z* 9175.6、13444.9 和 13996.3 Da; 豪顿亚种: *m/z* 9227、9498.4、9521.9 和 19578.6 Da; 双亚利桑那亚种: *m/z* 9134.5 Da; 萨拉姆亚种因不具备上述特征峰而与其他亚种区分开。综上所述，通过对沙门氏菌种/亚种水平上生物标志物的发现可以完成沙门氏菌种/亚种水平的鉴定。

2.4 沙门氏菌血清型水平上生物标志物的发现

传统的沙门氏菌分型方法，即血清学分型，其理论基础是基于菌体多糖抗原(O)、鞭毛抗原(H)和荚膜抗原(Vi)的差异，通过特异性抗体和抗原的凝集试验来确定。能够将沙门氏菌鉴定到血清型是除了传统的血清型鉴定方法外，其他各种快速鉴定方法想要达到的最高追求。而 MALDI-TOF MS 技术是以分析蛋白质为基础的技术方法，何种蛋白质引起的血清型上的差异是研究者要解决的问题。

最早尝试用 MALDI-TOF MS 技术进行沙门氏菌血清学分型的是 Dieckmann 等[26]，该团队使用德国布鲁克的 MALDI-TOF MS 仪分析了代表 89 种不同血清型的 913 株肠炎沙门氏菌亚种菌株，基于属、种、亚种和血清型识别生物标志物离子的组合，用于快速鉴定最常分离的 5 种肠炎沙门氏菌血清型，这 5 种血清型沙门氏菌的生物标志物组合见表 2。

表 2 5 种常见流行病学血清型沙门氏菌生物标志物组合
Table 2 Biomarker combinations of 5 kinds of common epidemiological *Salmonella* serotypes

血清型	特异性标志物组合(*m/z*)/Da
肠炎沙门氏菌	6306, 23012
伤寒沙门氏菌	7097, 8686, 10067, 22949
弗氏沙门氏菌	6008, 7097, 10048
婴儿沙门氏菌	6512, 18635
海德尔沙门氏菌	8699, 9404, 10927, 18654

2012 年，Kuhns 等[31]在研究 MALDI-TOF MS 技术应用于撒哈拉以南非洲地区致病性沙门氏菌检测时发现，4 个伤寒沙门氏菌的特异性特征峰，即 *m/z* 5713.9、2856.4、3258.0 和 3258.0 Da，这几个特征峰能够把伤寒沙门氏菌与其他沙门氏菌明显地区分开。除了伤寒沙门氏菌，其他只能鉴定到沙门氏菌属。虽然 Kang 等[32]2017 年的研究显示，MALDI-TOF MS 技术可将沙门氏菌准确鉴定到种水平，并认为在血清型鉴定方面存在局限性，但随着技术的进步，MALDI-TOF MS 技术被证明是可以应用于沙门氏菌血清型分型的一种重要手段。本文总结了两个研究团队筛选的 MALDI-TOF MS 技术用于沙门氏菌血清型鉴定的特异性生物标志物，见表 3。从表 3 可以看出，*m/z* (3016±3) Da 和 (6034±3) Da 是肠炎沙门氏菌最具特征性的生物标志物[25]。这一发现与 Yang 等[33]的研究结果中肠炎沙门氏菌的 *m/z* (3018±1) Da 和(6037±1) Da 特征峰的生物标志物大体一致，他们将细菌进行了蛋白纯化，然后再进行实验，还检测到了分别针对鼠伤寒沙门氏菌和汤普森沙门氏菌的特征峰，分别为: *m/z* (7184±1) Da 和(4925±1) Da，可实现对这几个血清型沙门氏菌的鉴定。

表 3 肠炎沙门氏菌及鼠伤寒沙门氏菌的血清型特异性生物标志物
Table 3 Serotype-specific biomarkers of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*

生物标志物(*m/z*)/Da	血清型	参考文献
3016±3	肠炎沙门氏菌	[25]
6034±3	肠炎沙门氏菌	[25]
3018±1	肠炎沙门氏菌	[33]
6037±1	肠炎沙门氏菌	[33]
7184±1	鼠伤寒沙门氏菌	[33]
4925±1	汤普森沙门氏菌	[33]

同时，国内学者也在积极开展应用 MALDI-TOF MS 技术进行沙门氏菌血清型鉴定的研究。如宋安华等[34]选取 10 种不同血清型的沙门氏菌，采用 MALDI-TOF MS 技术获得蛋白质指纹图谱，并进行离子峰差异性分析，结果发现菌株存在完全不同的离子峰，分析质谱离子峰的差异，能够获得不同血清型的沙门氏菌具有差异性离子峰基础数据，对于建立分型溯源数据库有重要意义；贺靖等[35]利用 MALDI-TOF MS 技术采集 61 株鼠伤寒、肠炎沙门氏菌的特征性蛋白质指纹图谱，使用 Flex Analysis 软件对不同沙门氏菌血清型的主要离子峰进行分析，建立本地数据库。结果表明，基于 MALDI-TOF MS 技术建立的本地数据库可用于鼠伤寒、肠炎沙门氏菌血清型的快速分型鉴定。刘单单等[36]的研究发现鼠伤寒沙门氏菌(ATCC14028)的离子峰为: *m/z* 2807~2808、3006、3047~3049、4366~4368、4764~4766、5384~5386、5616~5619、6013~6015、6097~6101、6258~6262、7162~7165、7665~7669、8335~8338、9245~9249、9528~9532、10962~10968 Da 等。而战晓微等[37]较早的研究表明 *m/z* 4366~4368、5384~5386、6258~6262、7162~7165、9528~9532 Da 等也是甲型副伤寒沙门氏菌 MALDI-TOF MS 技术检测的共有离子峰。本文推测刘单单等[36]和战晓微等[37]所得到的离子峰可能并非

鼠伤寒沙门氏菌和甲型副伤寒沙门氏菌的特异性离子峰, 而是沙门氏菌种水平上的特征性离子峰, 如需最终确定, 还需要进一步分析其他几个沙门氏菌血清型和更多的鼠伤寒沙门氏菌和甲型副伤寒沙门氏菌的离子峰数据。

3　MALDI-TOF MS 技术与其他鉴定方法的比较与分析

与传统方法相比, MALDI-TOF MS 技术和其他非传统方法一样, 有自己独特的特点和优势, 如快速、准确、经济等。但是检测准确性是需要考量的最重要的一个方面。该部分内容结合文献, 在检测准确性方面, 将 MALDI-TOF MS 技术与传统生化、血清学和分子生物学 3 个技术进行了比较。

3.1　与生化鉴定方法的比较与分析

传统生化鉴定一直是沙门氏菌常用的检测手段, 是基于细菌在生长过程中的表现、代谢等指标实现对细菌的鉴定, 因此整个检测时长取决于细菌的生长时间, 得到纯培养物后, 即便使用全自动生化鉴定仪也需要数小时完成检测, 而 MALDI-TOF MS 技术能将检测时长缩减至几分钟, 这是该技术最显著的优势。

同时, 针对沙门氏菌, 目前大多数生化鉴定仪和 MALDI-TOF MS 仪仅能鉴定到属, 部分可以鉴定到种/亚种[38]。如 Ferreira 等[39]分析了 294 株菌(65 株革兰氏阳性菌和 229 株革兰氏阴性菌), 比较了传统方法与 MALDI-TOF MS 法, 结果显示革兰氏阳性菌在种水平的鉴定一致性达 100%; 革兰氏阴性菌(包括沙门氏菌)在种水平的鉴定一致性为 87.7%, 属水平一致性为 97.7%; Deng 等[40]比较了 MALDI-TOF MS 仪和 VITEK2 系统, 结果显示 6 株沙门氏菌的鉴定结果一致, 但也仅仅在属水平上, 这与 Bastin 等[41]检测结果一致; 孟令缘等[42]使用 MALDI-TOF MS 仪和 VITEK 全自动细菌鉴定系统对 210 株沙门氏菌进行鉴定, 结果表明两种方法均可将 210 株沙门氏菌鉴定到属水平, 准确性为 100.0%, 鉴定水平相同, 他们的研究以 Bruker 公司提供的商业数据库进行比对, 因此没有将沙门氏菌鉴定到种、亚种或血清型。上述研究证明了现有的很多 MALDI-TOF MS 配套的商业数据库并不能将沙门氏菌鉴定到属以下, 需要自己建库来实现更精准的分型[31]。Kim 等[38]的一项研究从标本为粪便、血液、尿液、体液和组织的样品中分离出 1389 株沙门氏菌, 并评估了 MALDI-TOF MS 仪对由 66 种已确认血清型组成的大量沙门氏菌分离株的鉴定性能, 所有 1389 株沙门氏菌分离株均被正确鉴定到属。然而, 对于伤寒沙门氏菌和 5 株双亚利桑那沙门氏菌, 仅一株被正确鉴定, 而其他则无法精准鉴定。而 VITEK2 系统成功鉴定了所有伤寒沙门氏菌(伤寒沙门氏菌和副伤寒沙门氏菌)及双亚利桑那沙门氏菌。由此可见 MALDI-TOF MS 法能准确的将沙门氏菌鉴定到属, 但是属以下的精准分型还有待于进一步的研究。

现阶段, MALDI-TOF MS 技术与生化鉴定方法相比, 其主要的优势就是时效性, 能够快速完成鉴定, 缩短鉴定时间, 并且在沙门氏菌属水平的鉴定准确性也可达 100%, 但是精细化分型鉴定方面的能力还有待提高。

3.2　与血清学鉴定方法的比较与分析

血清学分型是沙门氏菌分型的金标准, 但是整个分型过程耗时较长, 而且分型血清成本很高, 一次分型至少需要十几种血清。因此, MALDI-TOF MS 技术的出现, 则有可能解决该问题, 并有望成为一种替代方法。Mangmee 等[43]在对泰国鸡肉的研究中, 直接应用 MALDI-TOF MS 技术检测沙门氏菌, 他们以 142 株已知 5 种血清型的 NTS(非伤寒沙门氏菌)沙门氏菌为参考株, 以其他 145 株背景未知的沙门氏菌为测试株。结果显示可对 5 种常见的 NTS 血清型进行准确的鉴定, 其准确率与传统的血清学分型结果相比, 能达到 99.3%, 证明所建立的方法能够直接用于 NTS 沙门氏菌的检测。Persad 等[44]构建了 6 种已知沙门氏菌血清型的 MALDI-TOF MS 数据库, 对 845 株未知的沙门氏菌分离株, 分别用 MALDI-TOF MS 技术和传统分型/聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)方法进行分型比较, 结果发现成功对其中的 803 株进行了成功的分型, 其中针对伤寒沙门氏菌和纽波特沙门氏菌, 所建立的方法与传统的分型方法一致率为 100%, 最低的是蒙得维的亚沙门氏菌, 为 79%。作为分型方法, 他们的自建库方式值得其他研究人员借鉴, 也说明 MALDI-TOF MS 技术通过数据库的完善可以用于血清学分型。

现在越来越多的实验证明 MALDI-TOF MS 技术可用于沙门氏菌的血清型鉴定, 并且其操作过程与 MALDI-TOF MS 法进行普通的微生物菌种鉴定完全一致, 没有任何其他烦琐的步骤和特殊的试剂耗材引入, 所以随着 MALDI-TOF MS 技术的不断完善, 该技术将成为传统血清型鉴定的完美替代方法。

3.3　与分子生物学方法的比较与分析

分子生物学方法已广泛应用于沙门氏菌的鉴定和分型, 包括全基因组测序[45–49]、实时荧光 PCR[50–53]等。这些技术也能对沙门氏菌进行快速准确的鉴定, 但检测时长较 MALDI-TOF MS 技术略长, 而且依赖于引物特异性, 同时检测成本也较高。以全基因组测序为例, 一株菌的测序费用将近万元。MALDI-TOF MS 技术则完全解决了分子生物学鉴定费用较高的问题, 激光靶板可以重复利用, 试剂成本也很低。Demirci 等[54]研究了从不同动物采集的生乳样本中沙门氏菌属和志贺氏菌属存在的流行病学数据。样本来自 48 头奶牛、65 头山羊、65 头绵羊和 53 头驴的 231 份生乳样本。比较了 MALDI-TOF MS 与 PCR 方法在沙门

氏菌检测上的研究, 结果显示 231 份生乳样本中有 5 份(2.16%)沙门氏菌属呈阳性, 而多重实时 PCR 的检测仅 2 份(0.87%)为阳性。Mello 等[55]研究了新鲜蛙肉和室温储存 90 d 的冻干调味蛙肉中沙门氏菌的存在情况。所有样本均进行了三重平行分析, 采用传统方法、PCR 和 MALDI-TOF MS 技术, 并对 3 种方法的检测结果进行了比较。结果显示, MALDI-TOF MS 技术在所有蛙肉中均检出了沙门氏菌, 而 PCR 法对两组蛙肉的检出率分别为 100%和 67%。以上研究显示出 MALDI-TOF MS 技术的检出率高于 PCR 法。Loff 等[56]比较了标准选择性平板法、常规 PCR 和 MALDI-TOF MS 技术在李斯特菌、沙门氏菌和大肠杆菌 O157: H7 鉴定上的表现, 结果显示, MALDI-TOF MS 技术与 16S rRNA 测序相比具有明显的优势, 其较高的特异性在假阳性的菌落排除方面能够节省很多人力物力。

另外, 分子生物学方法与 MALDI-TOF MS 技术相结合能提高沙门氏菌血清型鉴定的准确性。随着测序技术的进步和数据库的完善, 全基因组测序分型方法具有快速、能准确分型与溯源等优点, 在 MALDI-TOF MS 技术难以完成常规血清分型的情况下, 能为沙门氏菌感染应急事件中沙门氏菌血清型快速判定及溯源提供参考[57−58]。

4 MALDI-TOF MS 技术直接应用于沙门氏菌的检测及鉴定

随着 MALDI-TOF MS 技术的不断成熟以及分析软件的持续优化, 该方法已成为沙门氏菌检测及鉴定的筛选手段, 广泛应用于食品安全、临床诊断、耐药性和流行病学研究等多个领域。

4.1 食品安全

在食品安全领域, MALDI-TOF MS 技术已成为沙门氏菌检测的重要工具, 多项研究证实了其在不同食品基质中的应用价值。Samia 等[59]在阿尔及利亚进行的鸡肉中沙门氏菌流行病学调查中, 成功应用 MALDI-TOF MS 技术鉴定出多种血清型, 包括肯塔基、海德堡、肠炎、曼哈顿等。研究发现, MALDI-TOF MS 技术不仅能够准确鉴定沙门氏菌, 还能区分不同的血清型, 为追溯污染源提供了重要线索。Panera-Martínez 等[60]对 234 份鸡肉样品(鸡胴体、鸡块、鸡制品)进行沙门氏菌的分离培养, 纯培养物进行 MALDI-TOF MS 分析, 所有菌包括沙门氏菌在内仅鉴定到属。Bardoň 等[61]分析了 52735 份肉制品中沙门氏菌的检出情况, 可疑菌用 MALDI-TOF MS 技术鉴定, 也仅能鉴定到属, 最终的确认需血清学的鉴定。Padovani 等[62]研究了有机蔬菜和常规生产蔬菜中携带沙门氏菌的情况。他们使用 MALDI-TOF MS 仪配套的 BIOTYPER 3.1 系统对从巴西圣保罗市销售的新鲜蔬菜中分离的菌株进行鉴定, 成功鉴定出包括伤寒沙门氏菌亚种在内的多种沙门氏菌。该研究还比较了不同前处理方法对检测结果的影响, 发现适当的富集步骤可以显著提高检测灵敏度。这和国内的研究结果相仿, 赵宏等[63]建立了免疫富集联合 MALDI-TOF MS 法对牛奶、鸡蛋中的沙门氏菌进行快速检测的方法, 结果表明使用特异性免疫富集法, 当样品中菌浓度为 3 CFU/mL 时, 沙门氏菌通过选择性增菌 9 h 即可被 MALDI-TOF MS 仪准确鉴定出来。

国内在食品安全方面利用 MALDI-TOF MS 技术鉴定沙门氏菌的研究也越来越成熟。早期的研究表明, 利用 MALDI-TOF MS 技术对鸡场分离的 41 株沙门氏菌进行鉴定, 匹配度分值均大于 2.300, 表明鉴定结果的可信度很高; 但是其血清型鉴定结果与传统方法并不一致, 缺乏相关性, 但是也发现不同分离株的指纹图谱之间存在一定的差异[64]。将 MALDI-TOF MS 技术运用于生鲜猪肉检验过程中沙门氏菌与大肠杆菌的分离鉴定, 共检出 6 种类似的肠杆菌科其他细菌, 并用 PCR 法进行验证, 结果与 MALDI-TOF MS 技术鉴定结果完全一致[65]。崔洁等[66]利用 MALDI-TOF MS 技术对散装即食食品中的沙门氏菌进行快速检测并鉴定, 结果表明沙门氏菌样品分离株与标准菌株不同, 其在质荷比 6094 *m*/*z* 附近出现两波最强离子峰, 其余出峰点强度较低, 峰型偏缓, 基线轻微漂浮, 信噪比偏低, 与标准菌株均在质荷比 2098、4761、7266、9528 *m*/*z* 附近显现主要离子峰, MALDI-TOF MS 技术在沙门氏菌血清学分型鉴定方面越来越受重视。另有研究表明, 在湖南、云南省各市县等地的农贸市场、大型超市随机选取的新鲜禽肉、禽蛋和畜肉 101 批次样品中, 筛选得到 7 个不同分型的沙门氏菌, 对于建立谱库的沙门氏菌基本能够快速鉴定到相应血清型, 且鉴定结果与传统血清分型结果一致[67], 说明补充 MALDI-TOF MS 技术指纹图谱, 可为易受沙门氏菌污染的食品检验工作提供可靠的血清型鉴定。

总之, MALDI-TOF MS 技术在食品安全检测领域展现出巨大应用潜力。相较于传统生化鉴定、PCR 等方法, 该技术可大幅缩短检测周期, 完成对食品基质中沙门氏菌等多种食源性致病菌的高通量分析, 能够及时发现隐藏的食品安全风险, 助力食源性致病菌的快速分型与溯源调查, 为食品风险预警、突发食品安全事件处置以及食品安全管控体系建设提供有力的技术保障。

4.2 临床诊断

临床样本往往样品量大, MALDI-TOF MS 技术的高通量及快速优势将有助于这些大样品量的处理。Sparbier 等[68]对来自德国多家医院的 4847 个临床样本进行了沙门氏菌检测。使用传统临床检测方法总计鉴定出 108 个沙门氏菌阳性样本。同时使用 MALDI-TOF MS 技术总计鉴定出 100 个沙门氏菌阳性样本, 仅 8 个漏检, 灵敏度达到 92.3%, 特异性高达 99.8%。他们的研究采用两种检测策略,

旨在评估 MALDI-TOF MS 技术在大规模临床筛查中的实用性。一种检测策略为传统培养+MALDI-TOF MS 技术分析, 另一种为增菌液+MALDI-TOF MS 技术分析, 总共鉴定出 100 个沙门氏菌阳性样本, 其中 66 个样本是通过亚硒酸盐增菌液划线接种于赫克托恩琼脂后, 传统培养后进行 MALDI-TOF MS 技术分析可疑菌落得到的阳性结果; 另外 34 个阳性结果在培养第一天直接从亚硒酸盐增菌液中被鉴定为沙门氏菌, 无需后续纯培养。该研究的重要意义在于证明了 MALDI-TOF MS 技术与选择性亚硒酸盐富集肉汤相结合的方法可在 24 h 内为大多数样本提供阳性结果, 相比传统方法缩短了 36~48 h 的检测时间, 为临床治疗决策提供了及时的病原学依据。Bardoň 等[69]直接利用 MALDI-TOF MS 技术鉴定了 4174 株人畜共患病细菌病原体, 包括沙门氏菌属、空肠弯曲菌、大肠弯曲菌、单核细胞增生李斯特菌、小肠结肠炎耶尔森菌、假结核耶尔森菌、土拉弗朗西斯菌、梅里特布鲁氏菌、猪布鲁氏菌及坂崎克罗诺杆菌, 这些菌都可以鉴定到属水平。综上所述, MALDI-TOF MS 技术的快速检测和高通量属性, 非常满足应对临床诊断样品检测的需求, 能显著提高检测效率。

4.3　耐药性和流行病学研究

MALDI-TOF MS 技术在临床样本耐药性和流行病学研究中展现出独特的价值, 为感染控制和抗生素合理使用提供了重要支持。Fang 等[70]在一项创新性研究中, 利用 MALDI-TOF MS 技术结合机器学习算法, 成功识别出头孢曲松抗性的沙门氏菌。研究发现, 耐药菌株与敏感菌株在蛋白质谱图上存在特征性差异, 通过建立预测模型, 可以直接从质谱数据预测菌株的耐药性, 无需进行传统的药敏试验。这一方法将耐药性检测时间从传统的 24~48 h 缩短至数小时, 为临床合理用药提供了及时的指导。Ugbo 等[71]对尼日利亚西南部地区的 120 份肛门拭子和牛粪样本进行了系统分析。研究采用了富集培养结合 MALDI-TOF MS 的方法, 成功鉴定出 36 株沙门氏菌, 包括 14 株肠炎沙门氏菌亚种、19 株鼠伤寒沙门氏菌亚种和 3 株都柏林沙门氏菌亚种。该研究还对分离株进行了抗生素敏感性测试, 发现多重耐药菌株的存在, 为当地的公共卫生防控提供了重要数据。以上应用表明, MALDI-TOF MS 技术不仅可以用于沙门氏菌的快速鉴定, 还可以提供关于菌株耐药性和流行病学特征的重要信息, 为临床治疗和疾病防控提供全面的技术支持。

MALDI-TOF MS 技术在不同领域应用时, 其样品制备、质谱分析和数据分析等方法都类似, 为了能更好的将 MALDI-TOF MS 技术直接应用于各个领域沙门氏菌的检测及鉴定, 可以提高样品制备的质量和速度, 完善数据的覆盖范围, 对数据分析的计算方法进行优化, 通过这些手段的提升一定可以使检测和鉴定的结果更高效、更精准。

5　结束语

MALDI-TOF MS 技术已经存在了将近 30 年, 其在沙门氏菌的属、种、亚种, 甚至血清型的鉴定上也在不断进步, 在临床诊断方面甚至可以作为确诊手段[72–73]。但笔者认为, 该技术在如下几个方面仍需提高: 首先, 传统沙门氏菌检测需预增菌、选择性分离纯化、生化鉴定多步操作, 单批次样本处理周期长, 纯培养物获取也是制约检测速度的核心卡点。能够实现高通量免纯培养快速检测才能从源头上解决传统方法检测周期长、批量处理能力不足的痛点。目前商业 MALDI-TOF MS 仪配套的靶板多为单块 48、96 和 384 孔, 即单块靶板可同步检测 48、96 或 384 份样品, 实现高通量检测。另外, 已经有研究直接用增菌液进行上机检测[68], 后续可以考虑使用免疫磁珠富集和快速蛋白提取纯化等技术实现免纯培养快速检测。

其次, 优化样本的选择与处理来提高 MALDI-TOF MS 图谱的质量, 提高实验的重复性, MALDI-TOF MS 图谱的质量依赖于培养物的培养时间、制备方式、靶板上菌的厚度及基质的选择等很多因素。有研究显示老龄培养物的鉴定成功率明显降低[74–76]。同时, 由于革兰氏阳性菌细胞壁的特殊结构, 引入蛋白纯化应该是研究人员要考虑的重要步骤, 当然, 沙门氏菌为革兰氏阴性菌, 加入蛋白纯化步骤也会使得图谱更利于分析。也有研究表明, 靶版上菌的厚度也直接影响图谱的重复性[77]。另外, 培养基的选择也是决定图谱质量的因素之一, 尽量选择低干扰因素的培养基[28]。因此, 综合考虑以上因素能提高该方法的重复性。再者, 丰富当前数据库实现血清型分型的同时, 希望可以实现耐药与毒力同步鉴定。现有的商业数据库仅包含少量常见的沙门氏菌血清型, 对于一些罕见血清型或地区特异性血清型的覆盖严重不足。如 Kim 等[38]的分析表明, 现有的 MALDI-TOF MS 仪 VITEK MS 3.0 和 3.2 版本均不能对伤寒沙门氏菌进行鉴定, 对双亚利桑那沙门氏菌亚种的鉴定能力也有限。Padovani 等[62]的研究显示, 使用 MALDI-TOF MS 仪配套的 BIOTYPER 3.1 系统仅能将沙门氏菌鉴定到种水平, 虽然数据库中包含伤寒沙门氏菌亚种等亚种的信息, 但是实际检测中很难鉴定出来。另有研究表明通过蛋白特征峰可以初步分析菌株的耐药性, 沙门氏菌的耐药性具备血清型特异性, 部分高发血清型菌株可同时耐受多种抗生素, 目前沙门氏菌耐药菌株数据库覆盖范围不足, 耐药基因追踪属于空白[78]。所以只有通过丰富当前数据库的方法才能从根本上解决沙门氏菌精细鉴定的问题。此外, 新技术的引入促进 MALDI-TOF MS 技术更好发展。算法的优化和创新是提高鉴定能力的重要途径。Dieckmann 等[26]基于决策树算法, 实现了对常见血清型的快速鉴定。近些年来, 人工智能(artificial intelligence, AI)尤其是机器学习和深度学习技术突飞猛进的发展, 给解决一

些复杂的数据处理问题赋予了有力的工具[79–80]。Wang 等[81]基于 MALDI-TOF MS 数据与机器学习, 筛选出 *m/z* 6591 等关键生物标志物, 所构建的模型可在 10 h 内快速鉴定金黄色葡萄球菌的万古霉素耐药表型[曲线下面积(area under curve, AUC)=0.79], 所以未来, 可以结合 AI 等先进技术[82–83], 建立沙门氏菌血清型精准分型 AI 模型, 自动学习其中的复杂特征和深层联系, 高效的处理质谱数据, 进一步提高鉴定的准确性和效率。最后, 结合简化的样本前处理、快速富集, 可规避传统方法中纯化培养、生化鉴定的冗长流程, 如果可以摒弃复杂真空辅助系统等, 使传统大型实验室质谱仪小型化, 形成便携式 MALDI-TOF MS 设备即可突破传统设备仅限实验室使用的空间限制, 从而实现现场即时溯源、风险管控的食品现场快检的转化路径。另外, 现在国产 MALDI-TOF MS 微生物鉴定仪器也层出不穷, 相对于进口仪器具有仪器耗材采购成本低、仪器系统维修维护便捷、汉化系统操作简便等优点, 尤其是本土化数据库适配国内沙门氏菌流行菌株, 溯源更贴合本土流行病学。但是国产仪器也有通用菌种库、稀有微生物覆盖度不足, 精细分型能力弱等问题, 并且系统没有进口仪器稳定, 这些都有待于进一步提高。

总之, 与传统方法相比, MALDI-TOF MS 技术具有快速、准确、经济、操作简单、高通量等优势, 特别适合大规模筛查和应急检测。在食品安全监控、临床诊断和流行病学调查等领域具有广阔的应用前景。尽管沙门氏菌在血清型鉴定方面仍存在一定挑战, 但随着数据库的完善、生物标志物的筛选、算法的优化和技术的创新, 今后, MALDI-TOF MS 技术在沙门氏菌鉴定中的应用将会更加广泛和深入, 有望成为沙门氏菌检测/鉴定的首选筛选方法, 为公共健康安全提供更加有力的技术支持。

参考文献

[1] Grimont P A D, Weill F X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars (9th ed) [R]. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Paris: Institute Pasteur, 2007: 1–166.

[2] Galán-Relaño Á, Valero Díaz A, Huerta Lorenzo B, et al. *Salmonella* and salmonellosis: an update on public health implications and control strategies [J]. Animals, 2023, 13(23): 3666.

[3] Kurtz J R, Goggins J A, McLachlan J B. *Salmonella* infection: interplay between the bacteria and host immune system [J]. Immunology Letters, 2017, 190: 42–50.

[4] Wilson C N, Chunga A, Masesa C, et al. Incidence of invasive non-typhoidal *Salmonella* in Blantyre, Malawi between January 2011-December 2019 [J]. Wellcome Open Research, 2022, 7: 143.

[5] Reddy E A, Shaw A V, Crump J A. Community-acquired bloodstream infections in Africa: a systematic review and meta-analysis [J]. The Lancet Infectious Diseases, 2010, 10(6): 417–432.

[6] Feasey N A, Masesa C, Jassi C, et al. Three epidemics of invasive multidrug-resistant *Salmonella* Bloodstream infection in Blantyre, Malawi, 1998—2014 [J]. Clinical Infectious Diseases, 2015, 61(Suppl 4): S363–S371.

[7] Uche I V, MacLennan C A, Saul A. A systematic review of the incidence, risk factors and case fatality rates of invasive nontyphoidal *Salmonella* (iNTS) disease in Africa (1966 to 2014) [J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2017, 11(1): e0005118.

[8] Al-Ansari M M, Aljubali M M, Somily A M, et al. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars [J]. Journal of Infection and Public Health, 2021, 14(12): 1767–1776.

[9] Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10, 000 daltons [J]. Analytical Chemistry, 1988, 60(20): 2299–2301.

[10] Tanaka K, Waki H, Ido Y, et al. Protein and polymer analyses up to *m/z* 100000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1988, 2(8): 151–153.

[11] Kim H Y, Bierbaum V M. Focus in honor of *Marvin* L. vestal, recipient of the 2010 award for a distinguished contribution in mass spectrometry [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2011, 22(6): 949–952.

[12] Rosario Medina I, Suárez Benítez M A, Ojeda-Vargas M D M, et al. Investigation of carriers of *Salmonella* and other hydrogen sulphide-positive bacteria in the digestive content of fish from the Atlantic area of macaronesia: a comparative study of identification by API gallery and MALDI-TOF MS [J]. Animals, 2024, 14(22): 3247.

[13] 江连洲, 曹飞扬, 陈颖, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱快速鉴定蜡样芽胞杆菌研究与应用[J]. 东北农业大学学报, 2016, 47(12): 56–64.
Jiang Lianzhou, Cao Feiyang, Chen Ying, et al. Study on matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry method for *Bacillus cereus* identification [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2016, 47(12): 56–64.

[14] 魏超, 代晓航, 郭灵安, 等. 利用 MALDI-TOF MS 鉴定芽苗菜中解鸟氨酸拉乌尔菌和肺炎克雷伯菌的研究[J]. 分析测试学报, 2018, 37(1): 76–81.
Wei Chao, Dai Xiaohang, GUO Lingan, et al. Research on identification of *Raoultella ornithinolytica* and *Klebsiella pneumoniae* in sprouts by MALDI-TOF MS [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2018, 37(1): 76–81.

[15] 魏超, 代晓航, 郭灵安, 等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法分析天然牦牛酸奶中的德氏乳杆菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4522–4528.
Wei Chao, Dai Xiaohang, GUO Lingan, et al. Analysis of *Lactobacillus delbrueckii* isolated from natural yak yogurt by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(14): 4522–4528.

[16] Yan Wenjing, Qian Jing, Ge Yongjie, et al. Principal component analysis of MALDI-TOF MS of whole-cell foodborne pathogenic bacteria [J]. Analytical Biochemistry, 2020, 592: 113582.

[17] Khurajog B, Disastra Y, Lawwyne L D, et al. Selection and evaluation of lactic acid bacteria from chicken feces in Thailand as potential probiotics [J]. PeerJ, 2023, 11: e16637.

[18] 陈飞, 胡玢婕, 赵虎. MALDI-TOF MS 在临床微生物样本直接检测中的应用[J]. 检验医学, 2015, 30(7): 750–756.

Chen Fei, Hu Fenjie, Zhao Hu. Application of MALDI-TOF MS in direct identification of clinical microbiological samples [J]. Laboratory Medicine, 2015, 30(7): 750–756.

[19] Wattal C, Oberoi J K, Goel N, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of micro-organisms in the routine clinical microbiology laboratory [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2017, 36(5): 807–812.

[20] 王青, 王殿夫, 董雪, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱用于致病性弧菌鉴定[J]. 辽东学院学报(自然科学版), 2019, 26(3): 153–159.
Wang Qing, Wang Dianfu, Dong Xue, et al. Detection and identification of Pathogenic *Vibrio* with MALDI-TOF mass spectrometry [J]. Journal of Eastern Liaoning University (Natural Science Edition), 2019, 26(3): 153–159.

[21] 王海花, 苗丽, 冯艳红. MALDI-TOF MS 技术在临床感染猪肠球菌检测中的应用研究[J]. 黑龙江畜牧兽医(下半月), 2017(12): 91–93, 295.
Wang Haihua, Miao Li, Feng Yanhong. Application study of MALDI-TOF-MS method for the identification of *Enterococcus isolates* from clinical swine infections [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2017(12): 91–93, 295.

[22] Bhandari M, Rathnayake I U, Ariotti L, et al. Toxigenic *Vibrio cholerae* strains in South-East Queensland, Australian river waterways [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2023, 89(10): e0047223.

[23] Chudzik A, Jalkanen K, Täubel M, et al. Identification of environmental Actinobacteria in buildings by means of chemotaxonomy, 16S rRNA sequencing, and MALDI-TOF MS [J]. Microbiology Spectrum, 2024, 12(3): e03596–e03523.

[24] Viana R O, Magalhães-Guedes K T, Braga R A, et al. Fermentation process for production of apple-based kefir vinegar: microbiological, chemical and sensory analysis [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2017, 48(3): 592–601.

[25] Costa A, Catalano F, Alcain A, et al. Rapid discrimination of *Salmonella* Enteritidis from other serovars with MALDI-TOF MS in Argentina [J]. Revista Argentina De Microbiologia, 2025, 57(1): 24–32.

[26] Dieckmann R, Malorny B. Rapid screening of epidemiologically important *Salmonella enterica* subsp. enterica serovars by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(12): 4136–4146.

[27] Ojima-Kato T, Yamamoto N, Nagai S, et al. Application of proteotyping Strain Solution™ ver. 2 software and theoretically calculated mass database in MALDI-TOF MS typing of *Salmonella* serotype [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(23–24): 8557–8569.

[28] Dieckmann R, Helmuth R, Erhard M, et al. Rapid classification and identification of salmonellae at the species and subspecies levels by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(24): 7767–7778.

[29] 李赫婧, 王立平, 杨红莲, 等. 沙门氏菌鉴定和分型方法比对研究[J]. 现代食品, 2021(14): 146–150.
Li Hejing, Wang Liping, Yang Honglian, et al. Comparative assessment on identification and serotysping methods of *Salmonella* [J]. Modern Food, 2021(14): 146–150.

[30] 赵婉妤. 成都市猪肉中沙门菌分离鉴定、耐药性及 cgMLST 聚类研究[D]. 成都: 四川大学, 2021: 4.
Zhao Wanyu. Separation, identification, drug resistance and cgMLST cluster analysis of *Salmonella* from pork in Chengdu [D]. Chengdu: Sichuan University, 2021: 4.

[31] Kuhns M, Zautner A E, Rabsch W, et al. Rapid discrimination of *Salmonella enterica* serovar Typhi from other serovars by MALDI-TOF mass spectrometry [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e40004.

[32] Kang Lin, Li Nan, Li Ping, et al. MALDI-TOF mass spectrometry provides high accuracy in identification of *Salmonella* at species level but is limited to type or subtype *Salmonella* serovars [J]. European Journal of Mass Spectrometry, 2017, 23(2): 70–82.

[33] Yang S M, 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.

[34] 宋安华, 肖剑, 陈楷. 几种不同血清型沙门氏菌生化结果及基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱离子峰的差异性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(16): 5436–5442.
Song Anhua, Xiao Jian, Chen Kai. Biochemical results of several different serotypes of *Salmonella* and divergence analysis of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry ion peaks [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(16): 5436–5442.

[35] 贺靖, 宋迎春, 杨柳青, 等. 基于基质辅助激光解吸飞行时间质谱技术对常见沙门氏菌血清型鉴定的研究[J]. 实用预防医学, 2025, 32(11): 1383–1388.
He Jing, Song Yingchun, Yang Liuqing, et al. Identification of common *Salmonella* serotypes based on matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Practical Preventive Medicine, 2025, 32(11): 1383–1388.

[36] 刘单单, 李婉珊, 周露, 等. LAMP 和 MALDI-TOF-MS 技术在检测食品中沙门氏菌方面的应用[J]. 质量安全与检验检测, 2021, 31(5): 27–34.
Liu Dandan, Li Wanshan, Zhou Lu, et al. LAMP and MALDI-TOF-MS in detection of *Salmonella* in food [J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2021, 31(5): 27–34.

[37] 战晓微, 傅俊范, 郑秋月, 等. 沙门氏菌 MALDI-TOF-MS 检测方法的建立[J]. 现代食品科技, 2011, 27(5): 595–597, 514.
Zhan Xiaowei, Fu Junfan, Zheng Qiuyue, et al. Establishment of a MALDI-TOF-MS method for *Salmonella* detection [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(5): 595–597, 514.

[38] Kim G R, Kim S H, Kim E Y, et al. Performance of MALDI-TOF mass spectrometry (VITEK MS) in the identification of *Salmonella* species [J]. Microorganisms, 2022, 10(10): 1974.

[39] Ferreira L, Vega S, Sánchez-Juanes F, et al. Identifying bacteria using a matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer. Comparison with routine methods used in clinical microbiology laboratories [J]. Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica, 2010, 28(8): 492–497.

[40] Deng Jiankai, Fu Liang, Wang Ruilian, et al. Comparison of MALDI-TOF MS, gene sequencing and the Vitek 2 for identification of seventy-three clinical isolates of enteropathogens [J]. Journal of Thoracic Disease, 2014, 6(5): 539–544.

[41] Bastin B, Bird P, Benzinger M J, et al. Confirmation and identification of

Salmonella spp. , *Cronobacter* spp. , and other gram-negative organisms by the bruker MALDI biotyper method: collaborative study, first action 2017. 09 [J]. Journal of AOAC International, 2018, 101(5): 1593–1609.

[42] 孟令缘, 牛沁雅, 廉鲁昕, 等. 基于 16S rDNA 序列、MALDI-TOF-MS 和 VITEK 的沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的鉴定[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 197–205.
Meng Lingyuan, Niu Qinya, Lian Luxin, et al. Identification of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* using 16S rDNA sequencing, MALDI-TOF-MS and VITEK system [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(10): 197–205.

[43] Mangmee S, Reamtong O, Kalambaheti T, et al. MALDI-TOF mass spectrometry typing for predominant serovars of non-typhoidal *Salmonella* in a Thai broiler industry [J]. Food Control, 2020, 113: 107188.

[44] Persad A K, Fahmy H A, 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.

[45] Rackerby B, Lee S I, Moppert I, et al. Application of whole-genome sequencing to transposon mutants of *Salmonella* Heidelberg [M]. Microbial Transposon Mutagenesis: Protocols and Applications. New York: Springer New York, 2019: 17–27.

[46] Li Xiaoyan, Jiang Yan, Wu Kuihai, et al. Whole-genome sequencing identification of a multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain carrying bla NDM-5 from Guangdong, China [J]. Infection, Genetics and Evolution, 2017, 55: 195–198.

[47] Chmel M, Bartoš O, Beran O, et al. *Salmonella* Paratyphi infection: use of nanopore sequencing as a vivid alternative for the identification of invading bacteria [J]. Prague Medical Report, 2021, 122(2): 96–105.

[48] Lin Yanfeng, Yang Lang, Qiu Shaofu, et al. Rapid identification and source tracing of a *Salmonella* typhimurium outbreak in China by metagenomic and whole-genome sequencing [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2022, 19(4): 259–265.

[49] Hou Zhuru, Xu Benjin, Liu Ling, et al. Isolation, identification, antimicrobial resistance, genotyping, and whole-genome sequencing analysis of *Salmonella* enteritidis isolated from a food-poisoning incident [J]. Polish Journal of Microbiology, 2024, 73(1): 69–89.

[50] Xiong Dan, Yuan Li, Song Li, et al. A new multiplex PCR for the accurate identification and differentiation of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovars Pullorum and Gallinarum [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 983942.

[51] Shang Yuting, Ye Qinghua, Wu Qingping, et al. Novel multiplex PCR assays for rapid identification of *Salmonella* serogroups B, C1, C2, D, E, *S. enteritidis*, and *S. typhimurium* [J]. Analytical Methods, 2022, 14(14): 1445–1453.

[52] Kasturi K N. A real-time PCR for rapid identification of *Salmonella enterica* Gaminara serovar [J]. Journal of Microbiological Methods, 2020, 169: 105729.

[53] Park S H, Kim H J, Cho W H, et al. Identification of *Salmonella enterica* subspecies I, *Salmonella enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis and Typhi using multiplex PCR [J]. FEMS Microbiology Letters, 2009, 301(1): 137–146.

[54] Demirci M, Yigin A, Altun S K, et al. *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. detection *via* multiplex real-time PCR and discrimination *via* MALDI-TOF MS in different animal raw milk samples [J]. Nigerian Journal of Clinical Practice, 2019, 22(8): 1083–1090.

[55] Mello S C R P, De Souza R M, Rodrigues E, et al. *Salmonella* spp. detection in fresh and freeze-dried frog meat: a comparison of methods [J]. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2025, 97: e20230552.

[56] Loff M, Mare L, De Kwaadsteniet M, et al. 3M™ Molecular detection system versus MALDI-TOF mass spectrometry and molecular techniques for the identification of *Escherichia coli* 0157: H7, *Salmonella* spp. & *Listeria* spp. [J]. Journal of Microbiological Methods, 2014, 101: 33–43.

[57] 李碧明, 彭力荇, 姚伟珍, 等. 2022—2024 年云浮市食品中沙门氏菌病原学特征分析[J]. 食品安全导刊, 2025(29): 81–86.
Li Biming, Peng Lixing, Yao Weizhen, et al. Analysis of the pathogenic characteristics of *Salmonella* in food from Yunfu City from 2022 to 2024 [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(29): 81–86.

[58] 陈丹妮, 韩营营, 李杰, 等. 基于基因组序列的 3 种沙门菌分子血清分型方法比较研究[J]. 疾病监测, 2021, 36(5): 468–474.
Chen Danni, Han Yingying, Li Jie, et al. Comprehensive assessment of three molecular serotyping methods of *Salmonella* based on genomic sequence [J]. Disease Surveillance, 2021, 36(5): 468–474.

[59] Samia D, Bakir M, Rachid E, et al. Prevalence and genotypic characterization of *Salmonella* spp. from chicken meats marketed in the province of Skikda, Algeria [J]. Journal of Infection in Developing Countries, 2021, 15(4): 523–529.

[60] Panera-Martínez S, Rodríguez-Melcón C, González-Machado C, et al. Identification and antibiotic resistance of isolates from poultry meat and poultry meat by-products exhibiting characteristic *Salmonella* morphology on chromogenic agar [J]. Antibiotics, 2025, 14(6): 540.

[61] Bardoň J, Ondrušková J, Ambrož P. Prevalence of *Salmonella* in meat and meat products in Moravia in 2010—2015 [J]. Klinicka Mikrobiologie a Infekcni Lekarstvi, 2016, 22(2): 48–53.

[62] Padovani N F A, Santos T S, Almeida P, et al. *Salmonella* and other Enterobacteriaceae in conventional and organic vegetables grown in Brazilian farms [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2023, 54(2): 1055–1064.

[63] 赵宏, 杨柳, 赵良娟, 等. 免疫富集联合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法测定牛奶、鸡蛋中的沙门氏菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2936–2945.
Zhao Hong, Yang Liu, Zhao Liangjuan, et al. Determination of *Salmonella* in milk and eggs by immune enrichment and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(9): 2936–2945.

[64] 王海花, 徐耀辉, 苗丽, 等. MALDI-TOF MS 对河南地区鸡源沙门菌快速鉴定的研究[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(11): 70–72.
Wang Haihua, Xu Yaohui, Miao Li, et al. Rapid identification of Avian *Salmonella isolates* from Henan area by MALDI-TOF-MS [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2017, 53(11): 70–72.

[65] 李滨洲, 陈飞, 郭珍珍, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术分离鉴定生鲜猪肉中沙门氏菌/大肠杆菌类似菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 717–722.
Li Binzhou, Chen Fei, Guo Zhenzhen, et al. Isolation and identification of *Salmonella*/*Escherichia coli* analogues in raw pork by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(4): 717–722.

[66] 崔洁, 林吉恒, 孙瑛, 等. MALDI-TOF MS 法快速鉴定散装即食食品中 3 种食源性致病菌[J]. 食品工业科技, 2024, 45(5): 253–270.
Cui Jie, Lin Jiheng, Sun Ying, et al. Rapid identification of three foodborne pathogens in ready-to-eat bulk foods by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(5): 253–270.

[67] 刘兰, 高晗, 周培华, 等. 不同血清分型沙门菌 MALDI-TOF MS 指纹图谱建立及应用[J]. 食品工业, 2024, 45(4): 282–286.
Liu Lan, Gao Han, Zhou Peihua, et al. Establishment and application of MALDI-TOF MS fingerprint of *Salmonella* [J]. The Food Industry, 2024, 45(4): 282–286.

[68] 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]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2012, 31(5): 767–773.

[69] Bardoň J, Štromerová N. Identification of zoonotic bacterial pathogens by the MALDI TOF MS method [J]. Klinicka Mikrobiologie a Infekcni Lekarstvi, 2015, 21(2): 46–50.

[70] Fang Chao, Zhou Zheng, Zhou Mingming, et al. Rapid detection of ceftriaxone-resistant *Salmonella* by matrix-assisted laser desorption–ionization time-of-flight mass spectrometry combined with the ratio of optical density [J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2024, 23(1): 70.

[71] Ugbo E, Effendi M, Ugbo A, et al. Public health impact of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars identified *via* MALDI-TOF MS in cattle from Abakaliki abattoirs, Nigeria [J]. Open Veterinary Journal, 2025, 15(9): 4393.

[72] Pena-Hernandez D C, Joneson J, Wilkes R P, et al. Evaluation of RapidChek® SELECT™ for the detection of *Salmonella* spp. in environmental samples from a veterinary hospital [J]. Journal of Microbiological Methods, 2023, 214: 106843.

[73] Varghese G, Jamwal A, Deepika, et al. Trends in antimicrobial susceptibility pattern of *Salmonella* species isolated from bacteremia patients at a tertiary care center in Northern India [J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2024, 109(4): 116354.

[74] Ford B A, Burnham C A. Optimization of routine identification of clinically relevant Gram-negative bacteria by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and the Bruker Biotyper [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2013, 51(5): 1412–1420.

[75] Giebel R, Worden C, Rust S M, et al. Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) [M]. Advances in Applied Microbiology. Amsterdam: Elsevier, 2010: 149–184.

[76] Holland R D, Wilkes J G, Cooper W M, et al. Thymol treatment of bacteria prior to matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis aids in identifying certain bacteria at the subspecies level [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2014, 28(23): 2617–2626.

[77] Veloo A C M, Elgersma P E, Friedrich A W, et al. The influence of incubation time, sample preparation and exposure to oxygen on the quality of the MALDI-TOF MS spectrum of anaerobic bacteria [J]. Clinical Microbiology and Infection, 2014, 20(12): O1091–O1097.

[78] 张增英. 冷冻食品中沙门氏菌污染状况及检测方法研究[J]. 食品安全导刊, 2025(35): 111–113.
Zhang Zengying. Study on *Salmonella* contamination in frozen food and its detection methods [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(35): 111–113.

[79] Szymczak P, Szczurek E. Artificial intelligence-driven antimicrobial peptide discovery [J]. Current Opinion in Structural Biology, 2023, 83: 102733.

[80] Wang Yeji, Song Minghui, Liu Fujing, et al. Artificial intelligence using a latent diffusion model enables the generation of diverse and potent antimicrobial peptides [J]. Science Advances, 2025, 11(6): eadp7171.

[81] Wang H Y, Chen C H, Lee T Y, et al. Gut microbiota and metabolites mediate the interaction between periodontitis and benign prostatic hyperplasia [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2393.

[82] Gao Anli, Fischer-Jenssen J, Slavic D, et al. Rapid identification of *Salmonella* serovars Enteritidis and Typhimurium using whole cell matrix assisted laser desorption ionization - Time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) coupled with multivariate analysis and artificial intelligence [J]. Journal of Microbiological Methods, 2023, 213: 106827.

[83] Ren Jun, Xia Jintao, Zhang Mengyu, et al. Automated identification of *Salmonella* serotype using MALDI-TOF mass spectrometry and machine learning techniques [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2025, 63(7): e0003725.

(责任编辑: 蔡世佳　范彩旭)