

# 使用 MALDI-TOF 快速鉴定鸡泄殖腔内微生物

## MALDI-040

**摘要：**在耐药菌监测中，微生物鉴定为后续的耐药菌药敏试验提供微生物菌种分类信息。MALDI-TOF 质谱法鉴定微生物具有快速、准确、成本低、高通量等特点。本文使用岛津 MALDI-TOF Performance 结合毅新博创微生物数据库，对养殖场中鸡泄殖腔内的微生物进行了快速鉴定，检测到的微生物主要包括大肠杆菌、粪肠球菌、屎肠球菌及鸟肠球菌等。

**关键词：**基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-TOF 鸡泄殖腔 微生物鉴定

### 技术特点：

- ❖ 质谱法鉴定微生物速度快、准确度高、日常使用成本低。
- ❖ 对动物体内的耐药菌进行快速鉴定。

抗生素的大规模使用，会导致一些细菌产生耐药性，此类菌株就是耐药菌株。细菌耐药已成为临床治疗中面临的严峻问题，正确的病原体检测及耐药监测可以帮助临床选择有效抗生素，控制耐药菌的发展。

微生物实验室菌种鉴定的标准流程通常包括样品采集、分离培养、细菌鉴定、药敏试验等步骤。其中细菌鉴定为后续的药敏试验提供微生物种类信息，因此快速准确的鉴定非常必要。传统方法（生化反应、

PCR）耗时较长，试剂耗材成本较高。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF) 方法近年飞速发展，具有快速、准确、成本低、高通量等特点，已广泛应用于临床及科研相关微生物鉴定。

本文利用岛津飞行时间质谱 MALDI-TOF 结合生物数据库，对鸡泄殖腔内微生物进行快速鉴定。经过与数据库中的标准谱图对比，成功鉴定大肠杆菌、粪肠球菌、屎肠球菌及鸟肠球菌等，测试结果与预期相符。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器及数据库

质谱仪：岛津基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-TOF Performance

数据库：毅新博创微生物鉴定平台 BE3.1.6.1

### 1.2 试剂与样品

样品：本次实验共测试养殖场鸡泄殖腔内采集到的 20 个样品，均采用固体培养基培养。

基质： $\alpha$ - 氰基 -4- 羟基肉桂酸 (CHCA)，5 mg/mL。

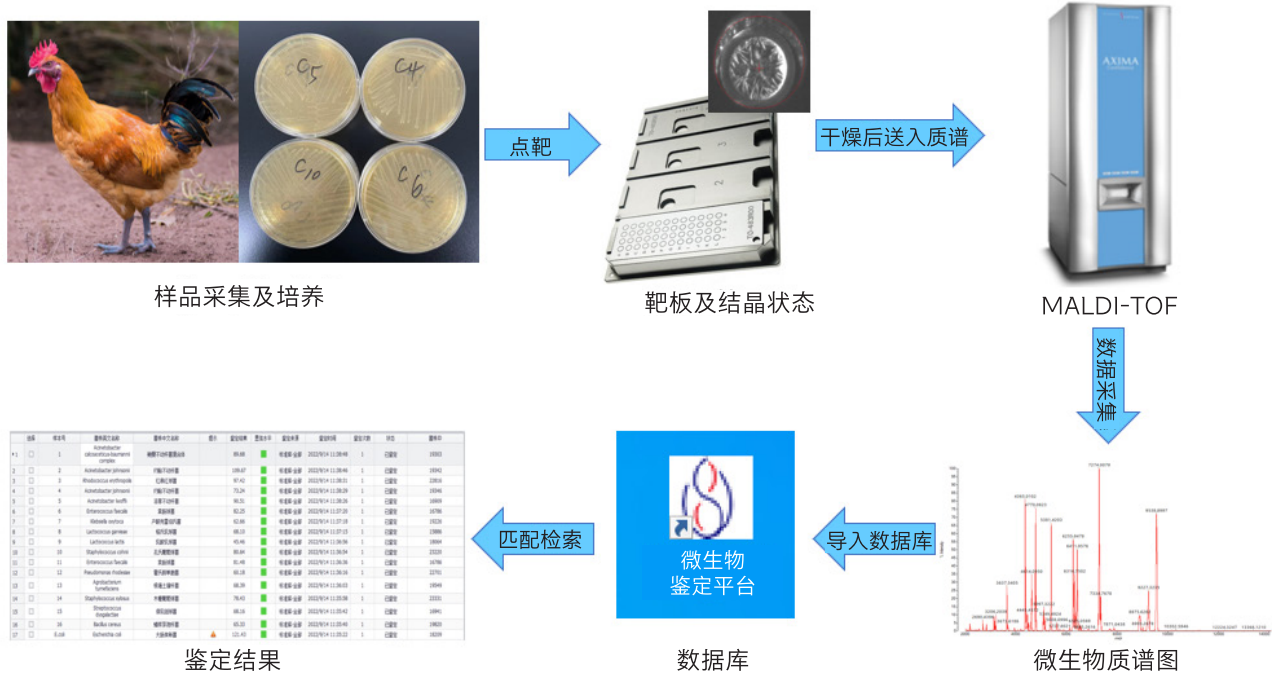


图1 鸡泄殖腔内微生物鉴定流程图

### 1.3 样品前处理

大肠杆菌标准菌株 ATCC 8739 及 20 个样品，均采用乙醇甲酸提取法前处理，流程如图 2。

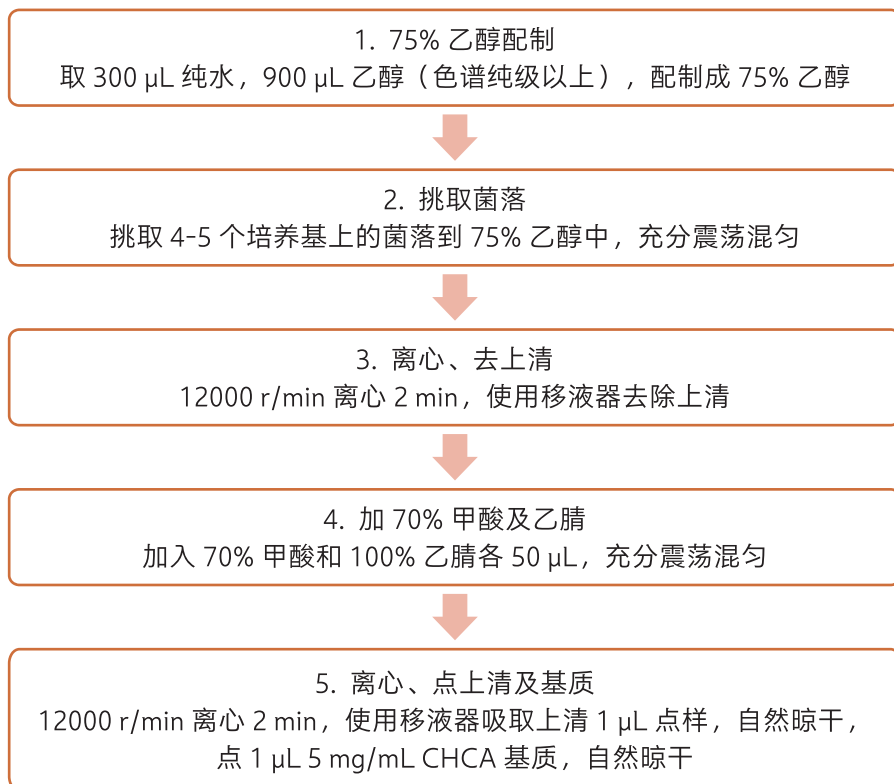


图2 乙醇甲酸提取法流程图

#### 1.4 分析条件

调谐模式：Linear-Saramis

激光器：337 nm 气体激光器

扫描范围：m/z 2000-20000

激光频率：20 Hz

脉冲引出质量：8330 Da

激光能量：65-75

### ■ 结果与讨论

将样品前处理后进行质谱分析，使用 MALDI-TOF Performance 采集质谱图，将数据导入微生物数据库鉴定。标准菌株 ATCC 8739 及部分测试样品的质谱图如下所示（图 3-6）。

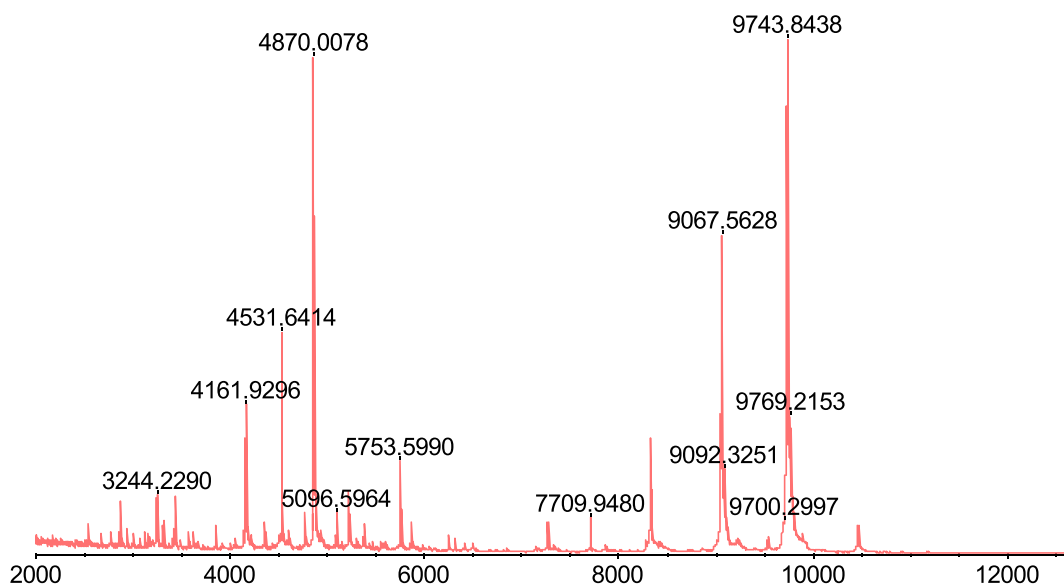


图 3 ATCC 8739 标准菌株的质谱图

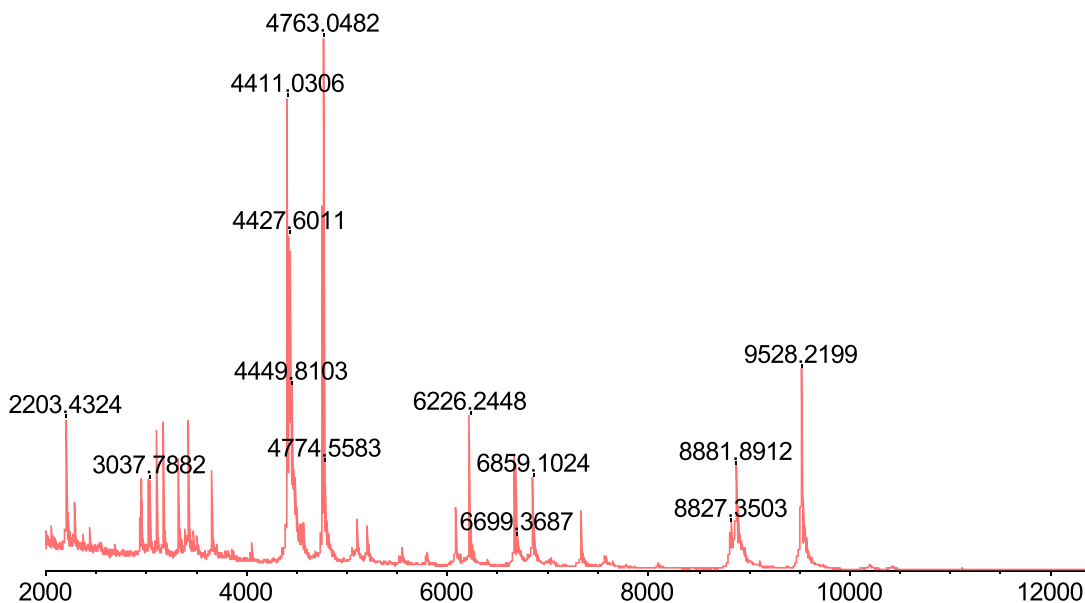


图 4 样品 1 的质谱图

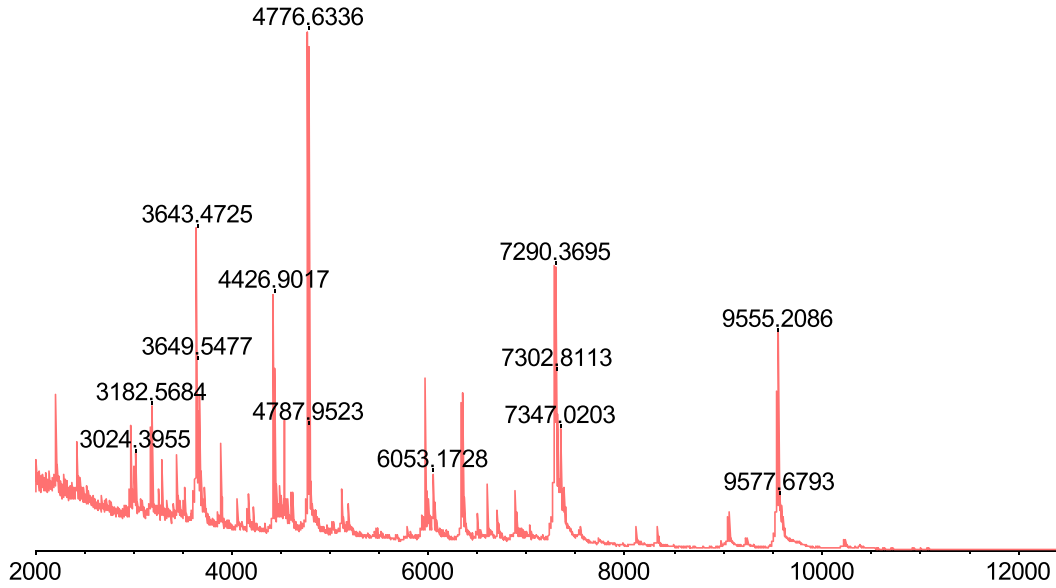


图 5 样品 2 的质谱图

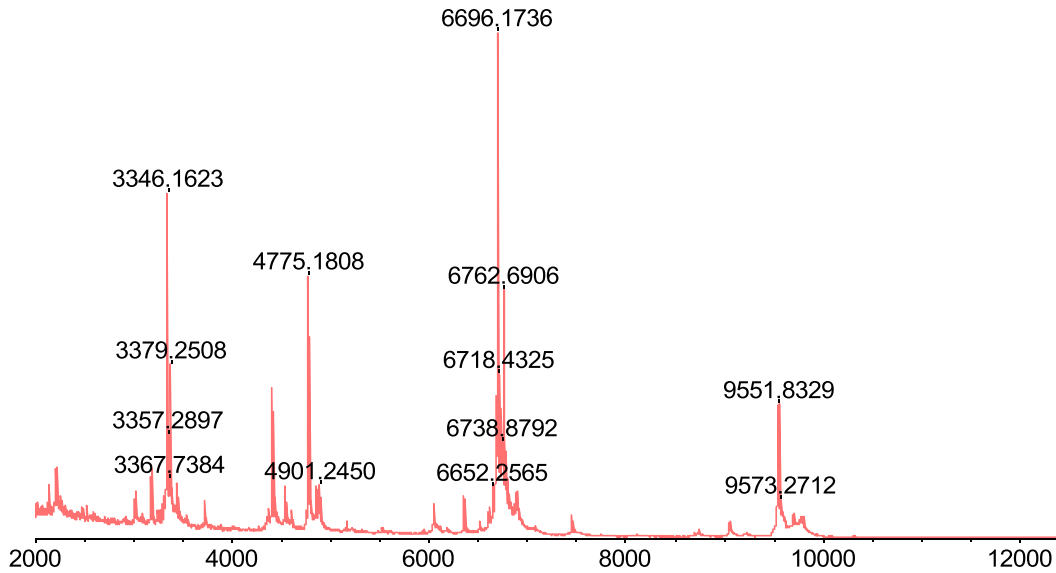


图 6 样品 3 的质谱图

样本号	菌株英文名称	菌株中文名称	提示	鉴定结果	置信水平	鉴定来源	鉴定时间	鉴定次数	状态
sample1	Enterococcus faecalis	粪肠球菌		102.21	■	标准库-全部	2023/3/6 22:42:21	1	已鉴定
sample2	Enterococcus faecium	屎肠球菌		121.58	■	标准库-全部	2023/3/6 22:42:09	1	已鉴定
sample3	Enterococcus avium	鸟肠球菌		74.21	■	标准库-全部	2023/3/6 22:42:07	1	已鉴定
sample4	Enterococcus avium	鸟肠球菌		72.04	■	标准库-全部	2023/3/6 22:42:04	1	已鉴定
sample5	Enterococcus avium	鸟肠球菌		84.41	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:55	1	已鉴定
sample6	Enterococcus faecalis	粪肠球菌		67.59	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:53	1	已鉴定
sample7	Enterococcus faecalis	粪肠球菌		96.32	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:42	1	已鉴定
sample8	Enterococcus faecalis	粪肠球菌		112.84	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:40	1	已鉴定
sample9	Enterococcus faecalis	粪肠球菌		101.66	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:28	1	已鉴定
sample10	Enterococcus hirae	空肠肠球菌		57.41	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:17	1	已鉴定
sample11	Enterococcus hirae	空肠肠球菌		80.42	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:07	1	已鉴定
sample12	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	81.19	■	标准库-全部	2023/3/6 22:41:05	1	已鉴定
sample13	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	77.20	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:56	1	已鉴定
sample14	Staphylococcus aureus	金黄色葡萄球菌		88.91	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:54	1	已鉴定
sample15	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	55.35	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:44	1	已鉴定
sample16	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	48.69	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:34	1	已鉴定
sample17	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	52.34	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:24	1	已鉴定
sample18	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	82.06	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:16	1	已鉴定
sample19	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	80.95	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:14	1	已鉴定
sample20	Enterococcus faecium	屎肠球菌		60.79	■	标准库-全部	2023/3/6 22:40:04	1	已鉴定
8739	Escherichia coli	大肠埃希菌	▲	83.89	■	标准库-全部	2023/3/6 22:39:54	1	已鉴定

图 7 数据库检索结果界面

质谱数据经软件处理后，导入数据库检索（图7）。数据库鉴定结果置信度阈值为25，高于25即为阳性结果。经鉴定20个样品均为阳性结果，详细鉴定结果见表1。

本次实验养殖场中鸡泄殖腔内检测到的微生物主要为大肠杆菌、粪肠球菌、屎肠球菌、鸟肠球菌、空肠肠球菌、金黄色葡萄球菌等，主要为肠道菌群，与预期相符。

表1 鸡泄殖腔内微生物鉴定结果

菌株编号	鉴定菌种名称		鉴定得分
	英文名	中文名	
1	<i>Enterococcus faecalis</i>	粪肠球菌	102.21
2	<i>Enterococcus faecium</i>	屎肠球菌	121.58
3	<i>Enterococcus avium</i>	鸟肠球菌	74.21
4	<i>Enterococcus avium</i>	鸟肠球菌	72.04
5	<i>Enterococcus avium</i>	鸟肠球菌	84.41
6	<i>Enterococcus faecalis</i>	粪肠球菌	67.59
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	粪肠球菌	96.32
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	粪肠球菌	112.84
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	粪肠球菌	101.66
10	<i>Enterococcus hirae</i>	空肠肠球菌	57.41
11	<i>Enterococcus hirae</i>	空肠肠球菌	80.42
12	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	81.19
13	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	77.20
14	<i>Staphylococcus aureus</i>	金黄色葡萄球菌	88.91
15	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	55.35
16	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	48.69
17	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	52.34
18	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	82.06
19	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	80.95
20	<i>Enterococcus faecium</i>	屎肠球菌	60.79
ATCC8739	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	83.89

## ■ 结论

本文采用岛津飞行时间质谱 MALDI-TOF Performance，结合毅新博创微生物数据库，对鸡泄殖腔内的微生物进行了快速检测，成功鉴定大肠杆菌、粪肠球菌、鸟肠球菌等肠道菌群。MALDI-TOF 指纹图谱法高效、快速、成本低、通量高，是微生物鉴定的有力分析方法。

岛津应用云

