研究报告

多重核酸检测系统联合MALDI-TOF MS在产气荚膜梭菌鉴定中的应用

施菊萍[1],王亚平[2],刘芳[1],徐兰[1],钱惠芬[1],樊飞[1],王翔[3],邵景东[4]

(1. 张家港市疾病预防控制中心,江苏 张家港 215600;2. 江阴市食品安全检测中心,江苏 江阴 214400;3. 上海理工大学健康科学与工程学院,上海 200093;4. 张家港海关综合技术中心,江苏 张家港 215600)

摘 要:目的 建立多重核酸检测系统联合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)对产气荚膜梭菌的快速筛查鉴定方法,为食源性致病菌检测提供新策略。**方法** 采集张家港市一起食物中毒事件的样本,分别采用多重核酸检测系统和MALDI-TOF MS快速筛查、传统生化和MALDI-TOF MS进行致病菌鉴定,并以荧光定量PCR结合16S rRNA测序验证鉴定结果的准确性。**结果** 经多重核酸检测系统和MALDI-TOF MS快速筛查,初步提示了样本中存在产气荚膜梭菌。采用国标GB 4789.13—2012方法检测,在与食物中毒相关的122份样本中检出了31株产气荚膜梭菌。此外,对7株生化试验结果有偏差的菌株进行了荧光定量PCR和16S rRNA基因测序验证,最终确认此7株菌株同样为产气荚膜梭菌。**结论** 多重核酸检测系统具有快速提示和排除常规检测项目的优势,MALDI-TOF MS操作简便、快速、鉴定结果准确性高,两种技术结合使用,可快速、准确地查找确认致病因子,为食源性致病菌鉴定提供了新的有效手段。

关键词:多重核酸检测系统;产气荚膜梭菌;食物中毒;基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱;分离;鉴定

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2025)02-0131-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2025.02.004

Application of multiple nucleic acid detection system combined with MALDI-TOF MS in the identification of *Clostridium perfringens*

SHI Juping[1], WANG Yaping[2], LIU Fang[1], XU Lan[1], QIAN Huifen[1], FAN Fei[1], WANG Xiang[3], SHAO Jingdong[4]

(1. Zhangjiagang Centre for Disease Control and Prevention, Jiangsu Zhangjiagang 215600, China; 2. Jiangyin Food Safety Testing Centre, Jiangsu Jiangyin 214400, China; 3. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 4. Zhangjiagang Customs Integrated Technical Centre, Jiangsu Zhangjiagang 215600, China)

Abstract: Objective To develop a rapid method for the screening and identification of foodborne (*C. perfringens*) isolates using multiple nucleic acid detection system combined with matrix assisted laser desorpt ionionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), and to provide a new strategy for the identification of foodborne pathogens. **Methods** Samples from a food poisoning incident in Zhangjiagang City were collected for rapid screening with the multiplex nucleic acid detection system and MALDI-TOF MS, detection with traditional biochemical and MALDI-TOF MS, the accuracy of the results was verified by Real-time PCR combined with 16S rRNA sequencing. **Results** After initial screening using a multiplex nucleic acid detection system and MALDI-TOF MS, preliminary evidence indicated the samples had *C. perfringens*. Following GB 4789.13—2012 testing protocol, 31 strains of *C. perfringens* were identified in 122 samples associated with food poisoning incidents. Furthermore, fluorescence quantitative PCR and 16S rRNA gene sequencing were employed to verify 7 strains that showed inconsistent biochemical test results. These additional analyses ultimately confirmed that these 7 strains were indeed *C. perfringens*. **Conclusion** The multiple nucleic acid detection system has the advantages of prompt detection and elimination of routine detection items, and the MALDI-TOF MS is easy

收稿日期:2024-05-31

基金项目:江苏省卫生健康委科研课题(Ym2023077);苏州市预防医学科研课题(SZYZ202409);苏州市"科教兴卫"青年科技项目(KJXW2023066)

作者简介:施菊萍 女 副主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail:1006824137@qq.com

通信作者:王翔 男 副教授 研究方向为食品微生物 E-mail:xiang.wang@usst.edu.cn

to operate, rapid, has a high accuracy of detection results. The combination of the two technologies can quickly and accurately screen and confirm pathogenic factors, providing a new effective method for the detection of foodborne pathogens.

Key words: Multiple nucleic acid detection system; *Clostridium perfringens*; food poisoning; matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry; isolation; identification

产气荚膜梭菌,作为一种常见的厌氧性细菌[1-3],是引发气性坏疽的主要病原体,能够分解肌肉和结缔组织中的糖,产生大量气体,导致组织严重气肿,可引发人类多种疾病[4-5]。在食源性疾病监测中,产气荚膜梭菌的快速鉴定对于食源性疾病事件防控至关重要。然而,传统的培养鉴定方法存在操作烦琐、耗时长且易漏检的缺点。因此,寻找一种快速、准确且高通量的鉴定方法成为当前研究的重点。近年来,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(Matrix assisted laser desorpt ionionization time of flight mass spectrometry,MALDI-TOF MS)作为一种新型的软电离生物质谱技术,因其操作简单、快速、准确及高通量的特点,在化学、生物学、医学和环境科学等领域得到了广泛应用。但在食源性产气荚膜梭菌的鉴定方面,国内报道尚属少见[6]。本研究探讨了多重核酸检测系统、传统培养鉴定法和MALDI-TOF MS在产气荚膜梭菌鉴定中的应用,为实验室寻求一种更为有效的鉴定手段。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2024年张家港市一起食源性疾病事件相关的122份样本,包括12份患者肛拭子和24份饭店工作人员肛拭子、44份环境涂抹样42份食品样品。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器

FilmArray多重核酸检测系统(梅里埃诊断产品有限公司,美国),荧光定量PCR仪(ABI公司,新加坡),生物安全柜(赛默飞世尔科技有限公司,苏州),SPX-250型生化培养箱(上海跃进医疗器械有限公司,上海),Autofms 1000全自动微生物质谱检测系统(郑州安图生物工程股份有限公司,郑州)。

1.2.2 主要试剂

通用细菌采样管、一次性使用采样管(友康生物科技股份有限公司,北京),胃肠道感染测试条(梅里埃诊断产品有限公司,美国),肠聚集性大肠埃希菌(EAEC)核酸检测试剂盒、出血性大肠杆菌(EHEC)核酸检测试剂盒(江苏硕世生物科技股份有限公司,扬州),厌氧产气袋(三菱瓦斯化学株式会社,日本),胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸(TSC)琼脂、液体硫乙醇酸盐培养基(FTG)、缓冲动力-硝酸盐培养基、乳糖-明胶培养基、含铁牛乳培养基(北京陆桥技术股份有限公司,北京),质谱样本预处理试剂(郑州安图生物工程股份有限公司,郑州),产气荚膜梭菌核酸测定试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司,上海),细菌基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)。

1.3 方法

1.3.1 病原生物快速筛查

选取10份临床症状明显的患者样本,每份吸取200 μL采样液混匀共2 000 μL作为样本1,选取5份重点怀疑食品涂抹液、5份环境涂抹液,每份吸取200 μL混匀作为样本2。使用FilmArray多重核酸检测系统,选用配套的胃肠道感染测试条,一次性检测13种细菌、5种病毒和4种寄生虫,共计22个病原生物靶标(表1),按照多重核酸检测系统作业指导书进行快速筛查。其中检出阳性的靶标,选用对应的核酸检测试剂盒,按照试剂盒说明书对单份样本进行荧光定量PCR检测。多重核酸检测系统结果无指示时,将此20份样本分别接种2块血平板,分需养和厌氧两种培养条件进行培养,选取单个菌落用MALDI-TOF MS筛查。

1.3.2 分离培养鉴定

根据多重核酸检测系统和MALDI-TOF MS的初步筛查结果,确定需要进一步分离培养鉴定的目标微生物。所有的生物样本、食品和涂抹液参照GB 4789.13—2012《食品安全国家标准 食品微生物学检验产气荚膜梭菌检验》[7]的操作程序选择相应的培养基进行分离培养和确证试验。

1.3.3 MALDI-TOF MS鉴定

取分离培养平板上单个菌落按照Autofms 1000全自动微生物质谱检测系统使用说明书分别使用直涂法和提取法进行处理并上机检测。直涂法:取少量单菌落以薄膜的形式涂布于靶板上,加1 μL质谱样本预处理试剂盒中的基质溶液覆盖样品,室温下自然晾干后上机进行鉴定。提取法:在1.5 mL离心管中加入300 μL去离子水,取单个菌落于离心管中,充分振荡混匀。加入900 μL无水乙醇,充分混匀,室温离心3 min(转速12 000 r/min,离心半径5 cm),倒去上清,再次离心,使用移液枪完全除去上清,操作过程中不应接触沉淀。36 ℃干燥沉淀5 min,至沉淀表面无明显水迹。加入10 μL裂

表1 Filmarray胃肠道感染测试条检测靶标

Table 1 Filmarray gastrointestinal panel targets

品类	靶标	品类	靶标
细菌	弯曲菌属(空肠、结肠、乌普萨拉)	细菌	志贺菌/肠侵袭性大肠埃希菌
	艰难梭菌(毒素A/B)		大肠埃希菌O157
	类志贺邻单胞菌	病毒	腺病毒F组40/41
	沙门菌		星状病毒
	小肠结肠炎耶尔森菌		诺如病毒GⅠ/GⅡ
	弧菌(副溶血性弧菌、创伤弧菌、霍乱弧菌)		轮状病毒A群
	霍乱弧菌		札幌病毒(Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ和Ⅴ型)
	肠聚集性大肠埃希菌	寄生虫	隐孢子虫
	肠产毒性大肠埃希菌		圆孢子虫
	肠致病性大肠埃希菌		痢疾阿米巴
	产类志贺毒素的大肠埃希菌stx1/stx2		蓝氏贾第鞭毛虫

解液1，振荡混匀，加入10 μL裂解液2，充分混匀，室温离心3 min(转速12 000 rpm，离心半径5 cm)。吸取1 μL上清液，滴加到靶板上，晾干后加1 μL基质溶液覆盖样品，晾干后放入质谱仪进行测定。

质谱鉴定结果以分数表示，范围为0~10分，细菌得分大于9.0分时，匹配结果在种水平可信。使用直涂法结果得分在9.0分以下时，重新取菌涂布检测，减少因操作引起的误差。

1.3.4 16S rRNA测序及比对

当MALDI-TOF MS与国标检测方法结果出现偏差时，使用荧光定量PCR结合16S rRNA基因测序进行菌株的进一步验证。经试剂盒提取疑似产气荚膜梭菌菌株基因组DNA，使用产气荚膜梭菌核酸测定试剂盒，按照试剂盒说明书进行荧光定量PCR检测。细菌16S rRNA基因通用引物对菌株基因片段进行PCR扩增，扩增片段由上海生工生物工程有限公司进行测序。将测序得到的16S rRNA序列与NCBI数据库中的序列进行比对。

1.3.5 统计学分析

采用SPSS 26.0软件进行统计分析，通过配对样本t检验比较两种制样方法的鉴定分值差异。提取法制样的分值显著高于直涂法(t=-5.061，P<0.05)，差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 快速筛查结果

FilmArray多重核酸检测结果显示，由10份患者样本组成的混合样本1及食品和环境涂抹样组成的混合样本2在筛查的22个靶标中均为阴性。使用MALDI-TOF MS对血平板上的疑似菌落进行筛查，检测结果包含大肠埃希菌、产气荚膜梭菌、摩根摩根菌、口腔链球菌、肺炎克雷伯菌、无乳链球菌和粪肠球菌。因FilmArray多重核酸检测排除了致泻性大肠埃希菌感染的可能性，且由摩根摩根菌、口腔链球菌、肺炎克雷伯菌、无乳链球菌和粪肠球菌引起的食物中毒少有报道。因此，综合现有检测结果，对产气荚膜梭菌进一步分离鉴定。

2.2 分离培养结果

参照GB 4789.13—2012《食品安全国家标准食品微生物学检验产气荚膜梭菌检验》对122份样本进行产气荚膜梭菌检测，经TSC琼脂倾注培养，选取可疑菌落分别进行常规确证试验(镜检形态、牛奶发酵、动力-硝酸盐和乳糖-明胶)。经分离鉴定共获得疑似产气荚膜梭菌共38株，其中31株菌完全符合典型产气荚膜梭菌生化反应特征，分别来自患者样本(12株)、工作人员(6株)、环境样本(10株)和食品样本(3株)，见表2。另有6株仅动力-硝酸盐生化结果不符合，1株仅乳糖-明胶实验不符，其中5株分离自饭店工作人员样本，1株分离自患者样本，1株来自环境样本(表2)。使用MALDI-TOF MS对疑似菌落进行鉴定，38株菌株均鉴定为产气荚膜梭菌。3份产气荚膜梭菌检测为阳性的食品样品，经平板计数污染水平分别为10、76、80 CFU/g。

表2 38株疑似产气荚膜梭菌生化检测结果符合情况

Table 2 Results of biochemical tests for 38 suspected *Clostridium perfringens* strains

方法	项目	符合/株	不符合/株	实验耗时/h
常规鉴定	涂片镜检	38	0	24
	暴烈发酵试验	38	0	36
	动力-硝酸盐	32	6	48
	乳糖-明胶	37	1	48~72
MALDI-TOF MS	鉴定结果	38	0	0.5

直涂法或提取法制样后经MALDI-TOF MS鉴定，38株TSC琼脂分离培养获得的疑似菌株均为产气荚膜梭菌。所有菌株经涂布法制样鉴定得分均高于9.0分，提取法均高于9.6分(图1)。经t检验分析，提取法制样的分值显著高于涂布法，差异有统计学意义(P<0.05)。

2.3 MALDI-TOF MS鉴定指纹图谱

分离培养后取单个菌落用MALDI-TOF MS进

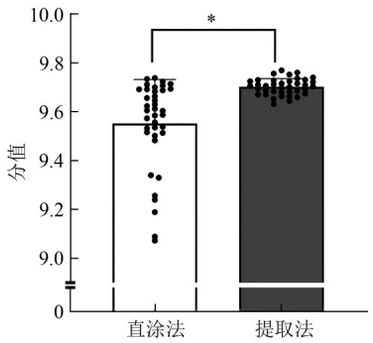

图 1　不同前处理方法检测产气荚膜梭菌的 MALDI-TOF MS 检测分值

Figure 1　Scores of different sample preparation methods for detection of *Clostridium perfringens* using MALDI-TOF MS

行分析，获得指纹图谱。代表性图谱和与质谱仪菌库内标准菌株均一性比较见图 2。38 株产气荚膜梭菌分别使用直涂法和提取法处理后进行质谱检测得到的指纹图谱见图 3。

2.4　16S rRNA 测序结果

针对 6 株在动力-硝酸盐检测结果中，以及 1 株在乳糖-明胶生化试验中结果不符合预期的疑似产气荚膜梭菌，采用荧光定量 PCR 结合 16S rRNA 测序进行验证。结果发现此 7 株菌的荧光定量 PCR 检测结果均为产气荚膜梭菌阳性，16S rRNA 序列与 NCBI 数据库中的产气荚膜梭菌均具有高度的同源性（图 4）。

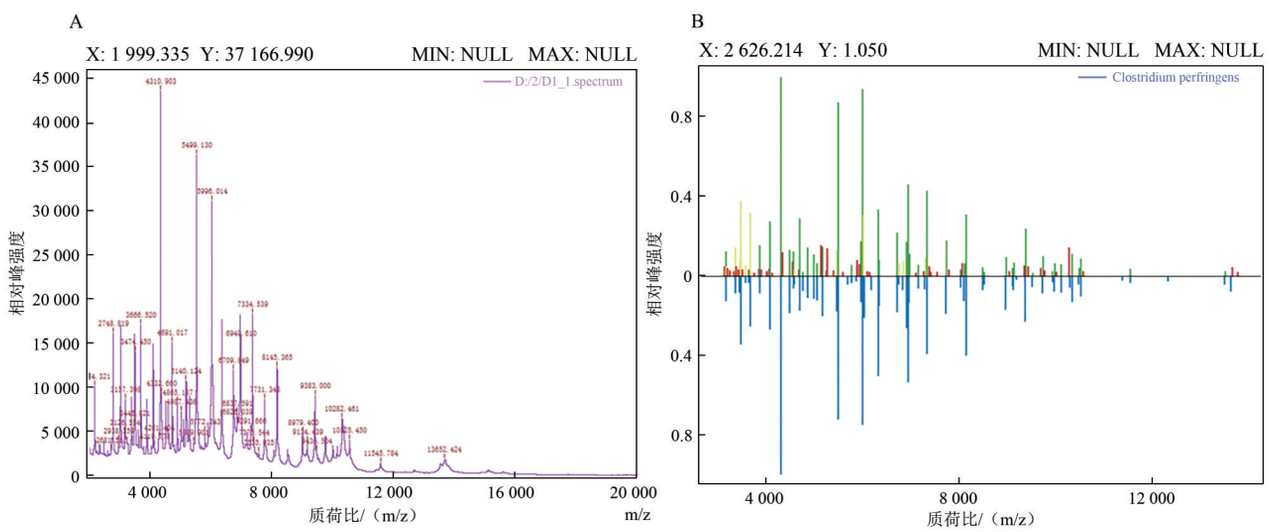

图 2　产气荚膜梭菌质谱图谱（A）和与数据库内标准菌株均一性比较图（B）

Figure 2　*Clostridium perfringens* mass spectra of MALDI-TOF MS (A) and Comparison of the homogeneity of *Clostridium perfringens* with the standard strains in the database (B)

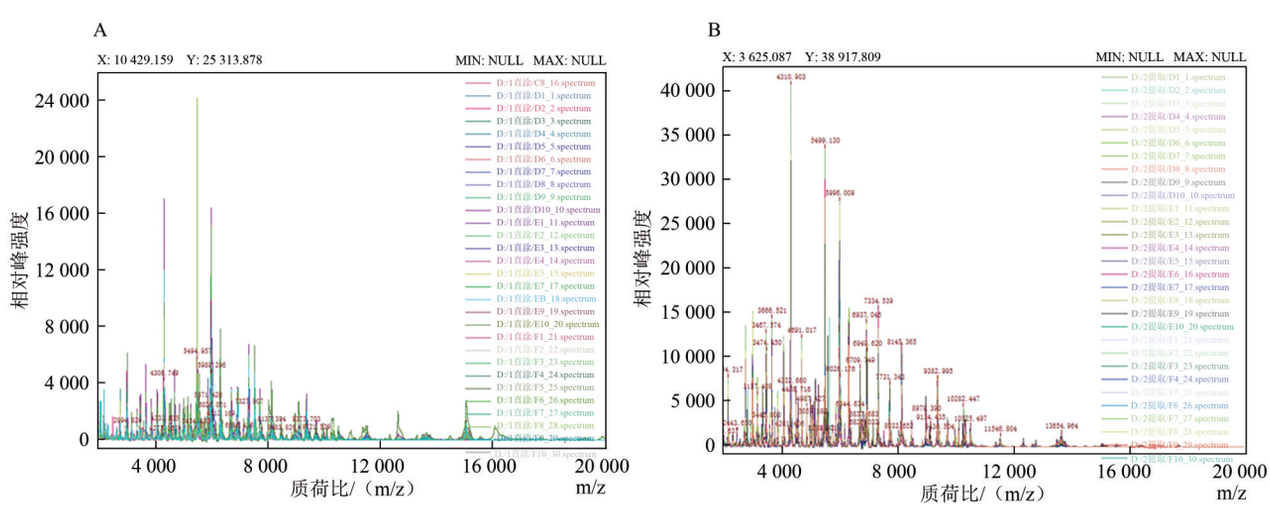

图 3　38 株产气荚膜梭菌经直涂法（A）和提取法（B）的质谱图谱

Figure 3　Mass spectra of 38 strains of *Clostridium perfringens* obtained by direct coating (A) and extraction (B)

3　讨论

随着分子生物学技术的不断发展，多重核酸检测系统在临床诊断、食品安全和公共卫生等领域的应用越来越广泛[8-9]。FilmArray 多重核酸检测系统具有前处理简单、检测速度快、能够使用原样本检测等优点在食物中毒处置中发挥了重要作用[10-12]。

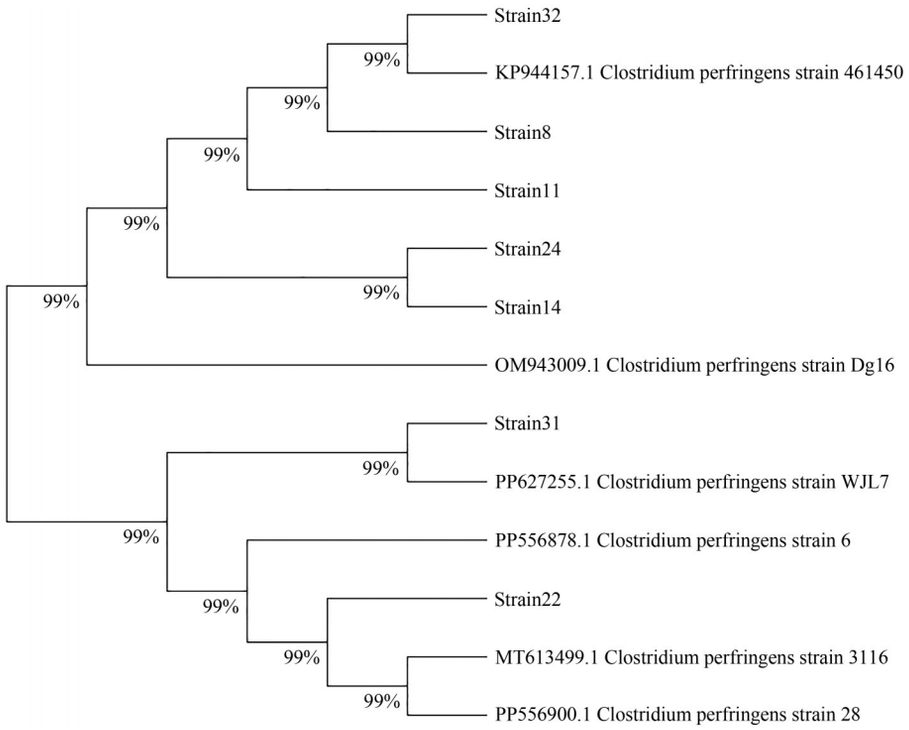

图4 产气荚膜梭菌16S rRNA序列同源性分析

Figure 4 Homology analysis of 16S rRNA sequences of *Clostridium perfringens*

在本次食物中毒处置中，FilmArray多重核酸检测系统仅需1.5 h完成快速筛查，虽未得到检测项目的提示，但排除了细菌、病毒和寄生虫22种靶标所包含的检测项目，包括MALDI-TOF MS筛查提示而无法区分的致泻性大肠埃希菌，减轻了后续实验的工作量，提高了检测效率。

常规鉴定法通常包括形态学观察、生化特性测试等。这些方法依赖于经验丰富的实验室人员，可能受到主观因素的影响[13]。此外，一些菌株可能表现出非典型的生化特征，导致鉴定结果的不确定性。荧光定量PCR结合16S rRNA基因测序结果具有较高的准确性和可靠性[14-15]。MALDI-TOF MS通过测量菌株的蛋白质指纹图谱来进行鉴定，具有高度的灵敏度和特异性[16-17]。在此次食物中毒事件中，常规鉴定法分离培养出38株产气荚膜梭菌，其中31株完全符合典型产气荚膜梭菌的生化特征，另7株仅1项生化结果有偏差。这38株产气荚膜梭菌采用MALDI-TOF MS检测均能检出，同时，生化结果有偏差的7株产气荚膜梭菌经荧光定量PCR和16S rRNA测序结果也符合，证明了其准确性和可靠性。从分离培养鉴定结果可以看出，自分离到单个菌落后，常规鉴定方法需要72~120 h出具结果，MALDI-TOF MS仅需要0.5 h，大大提高了检测效率[18-19]。

MALDI-TOF MS直涂法直接挑取单菌落涂抹在靶板上，此方法简单、快速，但因容易挑到培养基和菌层涂抹不均匀等原因，可能会影响鉴定结果[20]。在本研究中，直涂法有2株鉴定分值低于9.0分，经重复实验后，分值>9.0分，所有菌株均在种水平可信；提取法操作复杂、耗时长，适用于几乎所有菌株类型，能获取相对更优质的图谱与更高的鉴定得分，结果稳定性好[21]，本次实验菌株用提取法检测结果均>9.6分。经统计学分析，两种前处理方法检测的结果分值差异有统计学意义，提取法结果优于直涂法。两种方法可以按照实际需求来选择，如只需满足鉴定产气荚膜梭菌的要求，可选择直涂法，如需要进行聚类分析等进一步的研究，建议使用提取法。

流行病学调查分析和多重核酸检测系统快速筛查结果提示检测项目均为未检出时，常规实验室检测如大海捞针，无从下手，特别是引起本次食物中毒的产气荚膜梭菌属于厌氧菌，用常规培养基和一般培养条件不能“顺带”检出[2]，仅用多重核酸检测系统和常规方法检测也会造成漏检。本次实验尝试使用选择性弱的培养基，选用多种培养条件培养，用质谱“广撒网”，给出检测项目的提示，结合多重核酸检测系统排除干扰的提示项目，有针对性地进行分离培养，最终检出了引起这起食物中毒事件的病原菌。

本研究从食品、饭店工作人员、饭店环境和患者样本中均检出了产气荚膜梭菌，表明其可能与食物中毒事件密切相关。然而，为明确其致病性及其

在食物链中的传播途径，仍需要进行深入的溯源研究，例如对产气荚膜梭菌的基因型、毒力因子和耐药性等进行研究，以充分证实其在本次食物中毒事件中的作用和影响。通过这些研究可以更好地理解其在食物中毒中的潜在风险，为制定有效的预防和控制措施提供科学依据。

本研究建立的使用多重核酸检测系统联合 MALDI-TOF MS 鉴定食物中毒事件中产气荚膜梭菌的方法，极大地提高了检测的准确性和效率，为食物中毒病原菌鉴定提供了新的有效手段，也为探索使用多重核酸检测系统联合 MALDI-TOF MS 鉴定其他致病菌提供了思路。

参考文献

[1] MEHDIZADEH GOHARI I, A NAVARRO M, LI J, SHRESTHA A, et al. Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*[J]. Virulence, 2021, 12(1): 723-753.

[2] 赵凤玲，高翔，甄博珺，等. 一起疑似产气荚膜梭菌腹泻暴发事件实验室检测分析[J]. 中国食品卫生杂志，2023，35(7)：1109-1113.
ZHAO F L, GAO X, ZHEN B J, et al. Laboratory detection analysis of a suspected outbreak of *Clostridium perfringens* diarrhea [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(7): 1109-1113.

[3] 王帝，王欣宇，郭伟奇，等. 江苏和浙江地区16株鸡源产气荚膜梭菌的分离鉴定及生物学特性分析[J/OL]. 中国动物传染病学报，1-8[2025-05-08]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract? v=Jy1bRTva-nWYkM4UWt2M9feNHXiwLOnDaElCFMLMXlWLp4GgEcmFAjgzQQb2H-sl6svnzt7aNJFcLEilyiGL38JzHSydbFZyB7bUoCOLgWr-XLq_Rf9tX6ereubVDRq6eE4Olcxu1js-CUJ5udj7zFoCCecXubkn54EnvR0_9TOLvmW3UBxxYw==&uniplatform=NZKPT&language=CHS.
WANG D, WANG X Y, GUO W Q, et al. Isolation and identification of 16 strains of Clostridium perfringens from chicken source in Jiangsu and Zhejiang regions and analysis of their characteristics [J/OL]. Chinese Journal of Animal Epidemiology, 1-8[2025-05-08]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract? v=Jy1bRTva-nWYkM4UWt2M9feNHXiwLOnDaElCFMLMXlWLp4GgEcmFAjgzQQb2H-sl6svnzt7aNJFcLEilyiGL38JzHSydbFZyB7bUoCOLgWr-XLq_Rf9tX6ereubVDRq6eE4Olcxu1js-CUJ5udj7zFoCCecXubkn54EnvR0_9TOLvmW3UBxxYw==&uniplatform=NZKPT&language=CHS.

[4] 王潘龙，程佳佳，尹月，等. 动物源A型产气荚膜梭菌流行情况调查及α毒素基因分析[J]. 中国兽医杂志，2023，59(7)：47-53.
WANG P L, CHENG J J, YIN Y, et al. Investigation on the prevalence of animal derived type A *Clostridium* perfringens and analysis of α toxin gene[J]. Chinese Veterinary Journal, 2023, 59(7): 47-53.

[5] 乔煜婷，金鹰，赵丽霞，等. 内蒙古中西部地区牛产气荚膜梭菌病血清流行病学调查[J]. 兽医导刊，2022(3)：4-8.
QIAO Y T, JIN Y, ZHAO L X, et al. Serological epidemiological investigation of *Clostridium* perfringens disease in cattle in central and western Inner Mongolia[J]. Veterinary Guide, 2022(3): 4-8.

[6] 冀国强，李颖，张爽，等. 一起产气荚膜梭菌食物中毒事件的实验室检测分析[J]. 疾病监测，2020，35(6)：547-551.
JI G Q, LI Y, ZHANG S, et al. Laboratory testing and analysis of a food poisoning event of *Clostridium perfringens*[J]. Disease Surveillance, 2020, 35(6): 547-551.

[7] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 产气荚膜梭菌检验：GB 4789.13—2012[S]. 北京：中国标准出版社，2012.
Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standard- Microbiological examination of food-Examination of *Clostridium perfringens*: GB 4789.13—2012[S]. Beijing: Standards Press of China, 2012.

[8] 董蕾，黄晓波，刘静璇. 多重 PCR 技术在食品检测中的应用与展望[J]. 安徽农业科学，2020，48(11)：15-18.
DONG L, HUANG X B, LIU J X. Application and prospect of multiplex PCR technology in food detection[J]. Anhui Agricultural Science, 2020, 48(11): 15-18.

[9] 官昭瑛，李慧敏，何曼文，等. 多重PCR技术在快速检测中的应用[J]. 山东化工，2021，50(3)：85-88.
GUAN Z Y, LI H M, HE M W, et al. Application of multiplex PCR technology in rapid detection [J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(3): 85-88.

[10] 樊玲芳，张京云，沙丹，等. FilmArray GI Panel在腹泻病原体检测中的应用[J]. 疾病监测，2022，37(6)：807-812.
FAN L F, ZHANG J Y, SHA D, et al. FilmArray GI Panel Application in the detection of diarrheal pathogens[J]. Disease Surveillance, 2022, 37(6): 807-812.

[11] 吕虹，黄伟峰，赵文霞，等. FilmArray GI Panel在食品中食源性致病菌检测的应用[J]. 预防医学情报杂志，2020，36(11)：1491-1494.
LYU H, HUANG W F, ZHAO W X, et al. FilmArray GI Panel application for the detection of foodborne pathogenic bacteria in food products[J]. Journal of Preventive Medical Intelligence, 2020, 36(11): 1491-1494.

[12] 程春荣，周鹏，戴蕾，等. 一起疑似产气荚膜梭菌食物中毒事件的实验室检测分析[J]. 疾病监测，2022，37(8)：1124-1127.
CHENG C R, ZHOU P, DAI L, et al. Laboratory testing analysis of a suspected food poisoning incident involving *Clostridium* perfringens[J]. Disease Surveillance, 2022, 37(8): 1124-1127.

[13] 张启龙，钱云开，刘利勤，等. 动物源大肠杆菌MALDI-TOF MS质谱库的建立及在北京地区区域性差异应用分析[J/OL]. 中国动物传染病学报，1-10[2025-05-08]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract? v=Jy1bRTva-nWuR8JZofWPhVZf2dG78lUO2zvJQAKXbOxHUZPv2s43SokdbzM5DSdIhyS4KNHUswYUIN6sN612DDu6YKTIKiRyeHIu6fwTuDGrGzgW70B-BSy0B3knptSYxJA2FwcTZuNZuLVgSMnLVRt8i3ryvBAP_THFfN-Gy-3FqHNKOClJMA==&uniplatform=NZKPT&language=CHS.
ZHANG Q L, QIAN Y K, LIU L Q, et al. Establishment and Application Analysis of MALDI-TOF MS Protein Database of Animal-Source E. coli in Beijing Area [J/OL]. Chinese Journal of Animal Epidemiology, 1-10 [2025-05-08]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract? v=Jy1bRTva-nWuR8JZofWPhVZf2

dG78lUO2zvJQAKXbOxHUZPv2s43SokdbzM5DSdIhyS4KNHUswYUIN6sN612DDu6YKTlKiRyeHIu6fwTuDGrGzgW70B-BSy0B3knptSYxJA2FwcTZuNZuLVgSMnLVRt8i3ryvBAP_THFfN-Gy-3FqHNKOClJMA==&uniplatform=NZKPT&language=CHS.

[14] BÖHME K, ANTELO S C, FERNÁNDEZ-NO I C, et al. Detection of foodborne pathogens using MALDI-TOF mass spectrometry [M]. Antimicrobial Food Packaging, 2016: 203-214.

[15] CHEN F E, TRICK A Y, HASNAIN A C, et al. Ratiometric PCR in a portable sample-to-result device for broad-based pathogen identification[J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(26): 9372-9379.

[16] 尹盼盼，白雯静，李海燕，等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在微生物鉴定中的研究进展[J]. 微生物学通报，2023, 50(10): 4655-4666.
YIN P P, BAI W J, LI H Y, et al. Progress in matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in microbiological identification[J]. Microbiological Bulletin, 2023, 50(10): 4655-4666.

[17] 刘振波，夏苏苏，康琳，等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在病原微生物鉴定中的应用[J]. 中国国境卫生检疫杂志，2019, 42(3): 225-228.
LIU Z B, XIA S S, KANG L, et al. Application of matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in pathogen identification[J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2019, 42(3): 225-228.

[18] 刘宇，张忠兵，徐晓枫，等. 基于MALDI-TOF MS技术快速鉴定奶牛乳腺炎奶样中疑似金黄色葡萄球菌[J]. 中国兽医学报，2023, 43(9): 1941-1947.
LIU Y, ZHANG Z B, XU X F, et al. Rapid identification of suspected *Staphylococcus aureus* in mastitis milk samples from dairy cows based on MALDI-TOF MS technique[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2023, 43(9): 1941-1947.

[19] 袁媛，王欢，修宁宁，等. MALDI-TOF MS快速鉴定腹泻病原菌的评价[J]. 标记免疫分析与临床，2023, 30(2): 338-342.
YUAN Y, WANG H, XIU N N, et al. MALDITOF MS Evaluation of the rapid identification of diarrheal pathogens[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2023, 30(2): 338-342.

[20] 韩笑，刘莉，王紫薇，等. 副溶血性弧菌MALDI-TOF-MS检测方法的建立与应用[J]. 中国食品学报，2020, 20(1): 237-245.
HAN X, LIU L, WANG Z W, et al. Establishment and application of MALDI-TOF-MS detection method for *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Chinese Journal of Food Science, 2020, 20(1): 237-245.

[21] 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 J, LIN J H, SUN Y, et al. Rapid identification of three foodborne pathogens in bulk ready to eat foods using MALDI-TOF MS method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(5): 253-270.