

# 质谱模型分析法检测甲氧西林敏感与耐药金黄色葡萄球菌

采用本研究构建的数学模型,用MALDI-TOF MS 鉴定甲氧西林敏感(MSSA)与耐药(MRSA)金黄色葡萄球的实验程序和相应的操作。

## 1. 仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS)、培养箱、高压灭菌器、生物安全柜、离心机、移液器、振荡器。

**注意:** 因该分析模型时间基于 ClinProTools 软件构建的,该软件是布鲁克公司开发并仅适用于布鲁克质谱产生的原始数据,因此需要使用布鲁克MALDI-TOF MS 系列质谱,并配有 ClinProTools 分析软件。

## 2. 试剂耗材

(1) 仪器校正标准品: 可采用大肠埃希菌、不同型号厂家自带校正品,市售校正品进行仪器校正,校正质量范围为 2,000-20,000Da。

(2) 基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)。

(3) 试剂: 色谱级乙醇、甲酸、三氟乙酸、乙腈; 18 兆欧超纯水;

(4) 耗材: 1.5ml 离心管, 接种环, 废液缸, 吸头 (10 $\mu$ l、200 $\mu$ l、1ml)。

## 3. 试剂配制

(1) 基质溶解液: 超纯水与乙腈按 1:1 的比例混合,加入三氟乙酸 (TFA),使其在溶液中的浓度为 2.5%, 现用现配。

(2) 基质饱和溶液: 按需取相应体积的基质溶解液, 多次少量加入基质粉末, 每次加入后均震荡溶解, 直到基质不再溶解后停止加入基质; 2000g 离心, 上清备用。

(3) 70%甲酸提取液: 根据使用量, 采用超纯水与甲酸配制成 70%的甲酸溶液, 现用现配。

## 4. 检测模块安装

将本项目开发的金黄色葡萄球菌 MRSA/MSSA 检测模块拷贝到任意目录下。

## 5. 检测流程

(1) 菌株培养：按金黄色葡萄球菌的培养要求培养。

(2) 样本制备：为确保生物安全及鉴定效率，不提倡直接涂抹法，建议使用乙醇/甲酸提取法进行样本制备；应在生物安全柜中进行样本制备。

用接种环刮取单菌落或按需刮取适量的菌胎；将刮取的病原菌，置于含有 200 $\mu$ l 超纯水的离心管中，混匀；加入 600 $\mu$ l 的乙醇，混匀；12000g 离心 2 分钟，弃掉上清；沉淀中加入 50 $\mu$ l 70%的甲酸溶液，混匀，加入 50 $\mu$ l 乙腈，混匀；12000g 离心 2 分钟，取上清备用。

**注意：**可根据菌量调整超纯水与乙醇的使用体积，但需保证两者的体积比为 1:3；可根据沉淀量调整 70%的甲酸和乙腈的使用体积，但需保证两者的体积比为 1:1。

(3) 点靶：用移液器吸取 1 $\mu$ l 制备的样本溶液，点到质谱样本靶上，室温自然干燥；吸取饱和基质溶液 1 $\mu$ l 覆盖到靶板上的样本点上，室温自然干燥。

(4) 质谱检测：将样本靶放入质谱中，根据各自使用的仪器型号调整参数，检测范围为 2000-20000 Da，采集数据，确保谱图累计叠加峰强度在 10000 以上，并保存到相应的自定义文件中。

## 6. 结果检索及判读

打开 ClinProTools 软件，将本研究开发的检测模型调入软件，采用 Classify 功能，调入采集的待分析原始数据，点击确定进行分析，结果列表中 1 代表 MRSA，2 代表 MSSA。