



团 体 标 准

T/CCAA 134—2025

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在 食品微生物鉴定中的应用评价要求

Evaluation requirement for matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry application on food microorganism identification

2025-11-12 发布

2025-11-12 实施

中国认证认可协会 发布
中国标准出版社 出版

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 评价准备	2
4.1 验证菌株准备	2
4.2 质量控制与校准	3
4.3 生物防护	3
5 评价内容	3
5.1 整体数据库评价	3
5.2 鉴定方法应用评价	4
6 评价结果应用	5
附录A(资料性) 不同类型微生物的培养条件	6
附录B(资料性) 整体数据库评价菌株推荐清单	7
附录C(资料性) 自建库及其评价	21
参考文献	23

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国认证认可协会提出并归口。

本文件起草单位：北京市食品检验研究院(北京市食品安全监控和风险评估中心)、梅里埃诊断产品(上海)有限公司、国家食品安全风险评估中心、中国计量科学研究院、中国质量检验检测科学研究院、山东省食品药品检验研究院、上海康识食品科技有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、达能亚太(上海)管理有限公司、光明乳业股份有限公司、好丽友食品有限公司、南京海关动植物与食品检测中心、华润饮料(控股)有限公司、深圳市计量质量检验研究院、南京师范大学、包头海关综合技术服务中心、嘉兴市食品药品与产品质量检验检测研究院、可口可乐饮料(上海)有限公司、汤臣倍健股份有限公司。

本文件主要起草人：蔡雪凤、貌达、孟云、王伟、王娉、霍胜楠、周炯、李金霞、张鑫欣、王红坤、鲁岑、栾军、于遥、赖心田、杨瑶、张鹏翔、胡智恺、韦昱、陆俊杰、刘思渊、邢超、李倩、郭森、刘红梅、孟静、单萌、杨宜笑、陈晶、吴士焕、徐嘉泽、伊廷存、姚艳玲、萧中音、王岗。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在 食品微生物鉴定中的应用评价要求

1 范围

本文件规定了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)在食品微生物鉴定中的评价准备、评价内容和评价结果应用。

本文件适用于MALDI-TOF MS在食品微生物鉴定中的数据库评价和鉴定方法应用评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 4789.45 食品安全国家标准微生物检验方法验证通则

GB 19489 实验室生物安全通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定技术 MALDI-TOF MS identification technology

通过分析微生物核糖体等高丰度、稳定表达的特征蛋白指纹图谱,并将其与已知数据库进行比对,实现对微生物属种水平的快速鉴定。

3.2

微生物鉴定质谱数据库 mass spectrometry database for microbial identification

包含可鉴定出的微生物种类的集合类别数据库,包括设备厂家建立并定期更新的商品库和用户根据自身用途而建立的自建库。

3.3

数据库评价 database evaluation

在微生物鉴定质谱数据库使用前,对鉴定准确率进行评价。

3.4

鉴定方法应用评价 method evaluation

在方法制定和修订过程中,针对特定微生物检测项目使用MALDI-TOF MS鉴定,对其包容性、排他性进行评价。

3.5

鉴定准确率 identification accuracy rate

正确的菌株鉴定结果数量占总的鉴定菌株数量的百分比。

3.6

包容性 inclusivity

MALDI-TOF MS方法对目标微生物的检出能力。

3.7

排他性 exclusivity

MALDI-TOF MS 方法对非目标微生物的抗干扰能力。

3.8

靶板 target plate

在 MALDI-TOF MS 中用于承载样品并进行检测的关键部件,主要分为一次性和可重复使用靶板。

3.9

基质液 matrix liquid

应用 MALDI-TOF MS 鉴定微生物时,滴加在涂抹完微生物靶板上的关键试剂。

注:基质液是激光解吸/电离的关键介质,用于吸收并传递激光能量,使样品分子解吸并电离。

3.10

非选择性固体培养基 non-selective solid medium

对微生物没有选择性抑制的固体培养基。

3.11

鉴定错误 misidentification

针对已知微生物进行的鉴定,给出错误结果的情况。

3.12

不可鉴定 no identification

对已知或未知微生物进行鉴定时,MALDI-TOF MS 给不出鉴定结果,或者鉴定结果可信度较低的情况。

4 评价准备

4.1 验证菌株准备

4.1.1 验证菌株要求

验证菌株宜来自权威菌种保藏机构的标准菌株或经具备国家认证认可资质的第三方检验机构鉴定的菌株。所有选用的菌株均应分别列出菌株来源,属地和必要的菌株的遗传特征。

4.1.2 培养条件

MALDI-TOF MS 的鉴定目标应为纯化后的微生物。宜使用在非选择性固体培养基上培养、分离出单个菌落、生长至快速生长期至稳定期早期的微生物。

细菌、酵母菌和霉菌划线接种至验证用培养基,不同类型微生物的培养条件可参考附录 A 中的 A.1。

当有特殊需求需要选择液体培养基时,应保证培养物的纯度,并按照相应的技术规范进行菌株的富集、离心和清洗等步骤后进行质谱鉴定。

4.1.3 前处理方法

4.1.3.1 直接涂抹法

容易裂解的革兰氏阴性菌宜采用直接涂抹法,涂菌至靶板后直接覆盖基质液。

4.1.3.2 改良涂抹法

细胞壁较厚的革兰氏阳性菌或酵母菌,宜采用滴加 0.5 μL 25% 甲酸(v/v)溶液辅助破壁后再覆盖基

质液。

4.1.3.3 甲酸乙腈提取法

霉菌推荐用甲酸乙腈提取法,先用70%乙醇制备菌丝悬液并震荡离心2 min,即菌株灭活后,分别使用70%甲酸溶液和乙腈对微生物特征蛋白进行提取,经离心、萃取、干燥等步骤,然后将蛋白提取液涂靶板,干燥后滴加基质液覆盖。

注:验证菌株前处理方法也可以参照设备厂商的方法进行处理。

4.2 质量控制与校准

4.2.1 靶板准备

可以根据各质谱厂家配置和用户的用途,选择一次性或可重复使用靶板。选择可重复靶板应符合清洗质控要求。

4.2.2 基质液准备

可以使用各质谱厂家配套的基质液试剂盒,也可以选择根据基质液成分自行配制。基质液应按要求保存。基质液验收应符合日常检测质控与校准要求。

4.2.3 日常检测质控与校准

日常检测应按照厂家操作规程在靶板上分别设置校准点和阳性对照测试。如检测细菌,可选大肠埃希氏菌 ATCC 8739 或 CMCC 44102(或等效菌株)或质控样品作为校准点的质控菌株,同时可以选择一株革兰氏阴性或者阳性菌做阳性对照;如检测真菌,应选择一株真菌作为阳性对照,可选白色念珠菌 CMCC(F) 98001 或 CICC 1965(或等效菌株),黑曲霉 CMCC(F) 98003 或 CICC 2487(或等效菌株)。

注:微生物质谱仪获取的质谱图质量需要在峰强度、分辨率、信噪比以及采集时间等指标之间进行平衡,这些参数之间往往存在相互制约的关系。因此,建议定期对设备进行维护和校准,以确保质谱图的质量符合检测要求。

4.2.4 可重复靶板清洗质控

应选用大肠埃希氏菌 ATCC 8739 或 CMCC 44102(或等效菌株)或质控样品处理样本后,在靶板上随机制备5个点样,任选1点进行检测,应与目标菌鉴定结果一致。随后,按照标准流程清洗靶板后,在原点样点制备5个空白基质液样本,进行检测,空白样本检测后应无明显目标峰(信噪比 <3)。此质量控制应定期进行,建议不少于每周一次。

4.3 生物防护

所有微生物培养物以及接种后的实验材料均应在符合 GB 19489 规定的相应生物安全等级的实验室条件下进行操作,并适当处置。

5 评价内容

5.1 整体数据库评价

5.1.1 数据库建立原则

对于待评价数据库中声称的可鉴定菌种,采用不少于5株代表性菌株建库,5株菌应保证来自不同

种、亚种或血清型,根据鉴定到属种水平来选择方可保证鉴定结果的准确率,若因菌株特殊无法获得5株,应对少于5株的原因做特殊说明。

5.1.2 鉴定准确率

数据库评价指标为鉴定准确率。应选用不少于100株包含在数据库范围内的验证菌株,尽可能多地覆盖数据库声称的属种类型,在MALDI-TOF MS设备上上进行上机鉴定,然后按属种水平分别统计鉴定结果,并将MALDI-TOF MS鉴定结果与其他参考方法鉴定结果比对,进行整体数据库鉴定准确率的计算。评价菌株选择参考附录B,如因厂家商品库无法覆盖实际所需鉴定微生物种类,可以进行数据库的扩充,自建库的要求和评价方法见附录C。

5.1.3 取值规则

数据库鉴定准确率按照5.1.2中的评价要求对鉴定结果进行计算,计算公式为公式(1)。

$$N_A = N_1 / N_2 \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- N_A——鉴定准确率(%);
- N₁——鉴定结果正确的菌株数量;
- N₂——总的用于鉴定准确率试验的菌株数量。

5.1.4 评价结果

数据库鉴定准确率(5.1.2)属水平应达到100%,种水平应大于90%,则数据库评价的鉴定准确率符合要求。其中不可鉴定或者鉴定错误的菌株信息应记录菌株来源、属地和必要的菌株遗传特征。

5.2 鉴定方法应用评价

5.2.1 指标

数据库在属种水平鉴定方法制定和修订过程中,鉴定方法应用评价指标为包容性和排他性。

5.2.1.1 指标的选择

分为实验室内和实验室间两个阶段的验证评价,可以根据方法的应用范围按表1选择适合的验证阶段,按照要求参数和菌株数量进行验证。

表1 性能指标的选择

验证阶段	包容性及菌株数量		排他性及菌株数量	
实验室内验证	✓	30	✓	30
实验室间验证	✓	10	✓	5

注: 1. 实验室间验证建议不少于5家实验室。
2. 实验室可以采用不少于表格内的菌株数量进行验证。

5.2.1.2 包容性试验

包容性试验菌株数量及类型的选择按照GB 4789.45的要求,选择至少30株目标微生物,菌株应具有代表性,并且所用菌株要保证可溯源性。如沙门氏菌检验方法的包容性试验,选择不同血清型(不少于

5种)的至少50株沙门氏菌,应涵盖主要沙门氏菌血清型。包容性的计算见5.2.2中公式(2)。若因菌株特殊无法获得30株,应对少于30株的原因做特殊说明。

5.2.1.3 排他性试验

排他性试验所选用菌株应覆盖目标微生物分类单位外同一级的密切相关的种类,还应包含样品通常含有的优势种类(数量不应超过排他性试验选择菌株总数的1/3)。排他性试验至少选择30株非目标微生物。排他性的计算见5.2.2中公式(2)。

5.2.2 取值规则

包容性和排他性应按属种水平分别统计MALDI-TOF MS鉴定结果与其他参考方法鉴定结果进行数据分析,计算公式为公式(2)。

$$N_{I/E} = N_1 / N_2 \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

N_I ——包容性(%);

N_E ——排他性(%);

N_1 ——鉴定结果正确的菌株数量;

N_2 ——总的用于包容性/排他性试验的菌株数量。

5.2.3 评价结果

包容性(5.2.1.2),实验室内和实验室间验证中检出目标微生物的测试结果数量与所选择的菌株数量相等,即包容性计算结果为100%,则鉴定方法应用评价的包容性符合要求。

排他性(5.2.1.3),实验室内和实验室间验证中未检出目标微生物的测试结果数量与所选择的菌株数量相等,即排他性计算结果为100%,则鉴定方法应用评价的排他性符合要求。

6 评价结果应用

应依据本文件开展数据库评价工作,用于考察MALDI-TOF MS设备性能及关键技术指标。

应依据本文件开展鉴定方法应用评价,用于考察针对特定检测项目使用MALDI-TOF MS时的性能参数指标。

除上述规定的应用场景外,其他用途的评价在遵循本文件所确立的原则基础上,参照适用场景的评价要求选择对应的评价方法。

附录 A

(资料性)

不同类型微生物的培养条件

- A.1 不同类型微生物的培养条件见表 A.1。
- A.2 本附录未包含微生物类型的培养要求参见 GB/T 33682。
- A.3 除本附录推荐的培养基类型外,可选用其他经验证过的培养基。

表 A.1 不同类型微生物的培养条件

微生物种类		培养基	培养温度	培养时间
细菌和 酵母菌	需氧革兰阴性/阳性细菌	TSA(Tryptic Soy Agar,胰酪大豆胨琼脂培养基)	35℃±2℃	18 h~24 h
	苛养菌及厌氧菌	Schaedler 琼脂+5%羊血	35℃±2℃	24 h~72 h
	酵母菌	SDA (Sabouraud Dextrose Agar,沙氏葡萄糖琼脂)	25℃~30℃	18 h~24 h
霉菌	快生长型	PDA(Potato Dextrose Agar,马铃薯葡萄糖琼脂)	25℃±2℃	2 d~8 d
	慢生长型			5 d~25 d

附录 B
(资料性)
整体数据库评价菌株推荐清单

表 B.1 评价菌株推荐清单

序号	属序号	属验收菌株信息		验收菌株数量	种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称		种验收菌株名称	验收菌株数量		
1			肠沙门菌亚种 <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>paratyphi</i> subsp. <i>paratyphi</i>	1	/	/	CICC 21506	必选
2	1	沙门氏菌属	肠沙门菌双相亚种 <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>paratyphi</i> subsp. <i>paratyphi</i>	1	/	/	CICC 25301	必选
3			鼠伤寒沙门菌 <i>Salmonella</i> ser. <i>Typhimurium</i>	1	/	/	CICC 25045=CMCC (B) 50976 =GDMCC 1.3028	必选
4			产气肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella aerogenes</i>	1	/	/	CICC 25014=CMCC (B) 45108 =GDMCC 1.2340	必选
5	2	克雷伯氏菌属	产酸克雷伯菌 <i>Klebsiella oxytoca</i>	1	/	/	CICC 25306	必选
6			肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	/	/	CICC 10870=CMCC(B)46117	必选
7			阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	1	/	/	CICC 21539	必选
8			霍氏肠杆菌 <i>Enterobacter hormaechei</i>	1	/	/	CICC 10432	必选
9	3	肠杆菌属	神户肠杆菌 <i>Enterobacter kobe</i>	1	/	/	CICC 24162	必选
10			路德维格肠杆菌 <i>Enterobacter ludwigii</i>	1	/	/	CICC 24144	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
11	3	肠杆菌属	马赛肠杆菌 <i>Enterobacter massiliensis</i>	1	/	CICC 24160	必选
12			土肠杆菌 <i>Enterobacter soli</i>	1	/	CICC 23608	必选
13	4	埃希氏菌属	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	2	3	CICC 24106=CMCC (B) 44102 =GDMCC 1.223 CICC 25012=CMCC (B) 43201 =GDMCC 1.2425 CICC 25013=CMCC (B) 44939 =GDMCC 1.2702 CICC25043=CMCC (B) 43207 =GDMCC 1.2953 CICC25044=CMCC (B) 44841 =GDMCC 1.3004 CICC25100=CMCC (B) 44840 =GDMCC 1.2987 CICC25101=CMCC (B) 43208 =GDMCC 1.2970	必选
14			弗格森埃希菌 <i>Escherichia fergusonii</i>	1	弗格森埃希菌 <i>Escherichia fergusonii</i>	1	CICC 24137
15	6	埃希氏菌属	赫氏埃希菌 <i>Escherichia hermannii</i>	1	1	CICC 22907 CICC 23080	必选
16			阿尔伯特埃希 <i>Escherichia albertii</i>	1	阿尔伯特埃希菌 <i>Escherichia albertii</i>	1	CICC 24149
17	5	柠檬酸杆菌属	无丙二酸柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	/	CICC 24084	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
18			沃克曼柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter werkmanii</i>	1	/	CICC 24147	必选
19	5	柠檬酸杆菌属	弗劳地柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	1	/	CICC 25015=CMCC (B) 48098 =GDMCC 1.2619	必选
20			克氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter koseri</i>	1	/	CICC 24128	必选
21			副溶血性弧菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2	3	CICC 25029=CMCC (B) 20035 =GDMCC 1.2936 CICC 25008=CMCC (B) 20033 =GDMCC 1.2391 CICC 21617 CICC 23924 CICC 25275 CICC 25274 CICC 25280	必选
22	6	弧菌属	溶藻弧菌 <i>Vibrio alginolyticus</i>	1	1	CICC 25007=CMCC (B) 20100 =GDMCC 1.2561 CICC 10889	必选
23			创伤弧菌 <i>Vibrio vulnificus</i>	1	3	CICC 25009=CMCC (B) 17244 =GDMCC 1.2459 CICC 10383	必选
24			拟态弧菌 <i>Vibrio mimicus</i>	1	1	CICC 10474 CICC 21613	必选
25			弗氏弧菌 <i>Vibrio furnissii</i>	1	1	CGMCC 1.1600	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
26	6	弧菌属	河弧菌 <i>Vibrio fluvialis</i>	1	河弧菌 <i>Vibrio fluvialis</i>	CICC 21612	必选
27	7	弯曲菌属	空肠弯曲菌 <i>Campylobacter jejuni</i>	1	空肠弯曲菌 <i>Campylobacter jejuni</i>	CICC 25010=CMCC (B) 22073 =GDMCC 1.2544 CICC 22936 CICC 22937 CICC 24752	必选
28			胎儿弯曲菌 <i>Campylobacter fetus</i>	1	胎儿弯曲菌 <i>Campylobacter fetus</i>	ATCC 27374	
29			大肠弯曲菌 <i>Campylobacter coli</i>	1	大肠弯曲菌 <i>Campylobacter coli</i>	CICC 25027=CMCC (B) 22103 =GDMCC 1.2585	必选
30			小肠结肠炎耶尔森氏菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	2	小肠结肠炎耶尔森氏菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	CICC 10869=CMCC(B)52204 CICC 21565 CICC 21567 CICC 21668 CICC 21669 CICC 21681	必选
31	8	耶尔森氏菌属	中间型耶尔森氏菌 <i>Yersinia intermedia</i>	1	中间型耶尔森氏菌 <i>Yersinia intermedia</i>	GDMCC 1.1090	必选
32			弗氏耶尔森氏菌 <i>Yersinia frederiksenii</i>	1	弗氏耶尔森氏菌 <i>Yersinia frederiksenii</i>	GDMCC 1.1040	必选
33			假结核耶尔森氏菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	假结核耶尔森氏菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	GDMCC 1.267	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称	验收菌株数量		
34		金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	2	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	3	CICC 10384=CMCC (B) 26003 =GDMCC 1.221 CICC 25018=CMCC (B) 26305 =GDMCC 1.2442 CICC 10306 CICC 10790 CICC 21676 CICC 23926 CICC 25138	必选
35		表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	CICC 10436=CMCC(B)26069 CICC 10294	必选
36		腐生葡萄球菌 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	腐生葡萄球菌 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	CICC 22941 CICC 24948	必选
37	9	沃氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus warneri</i>	1	沃氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus warneri</i>	1	CICC 24438 CICC 24439	必选
38		巴斯德葡萄球菌 <i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	巴斯德葡萄球菌 <i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	CICC 24781 CICC 24786	必选
39		路邓葡萄球菌 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	路邓葡萄球菌 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	ATCC 49576 ATCC 700328	必选
40		中间葡萄球菌 <i>Staphylococcus intermedius</i>	1	中间葡萄球菌 <i>Staphylococcus intermedius</i>	1	GDMCC 1.896	必选
41		鸡葡萄球菌 <i>Staphylococcus gallinarum</i>	1	鸡葡萄球菌 <i>Staphylococcus gallinarum</i>	1	CICC 24568 CICC 24274	必选
42		溶血葡萄球菌 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	溶血葡萄球菌 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	CGMCC 1.10528 CGMCC 1.540	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单（续）

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
43	9	葡萄球菌属	木糖葡萄球菌 <i>Staphylococcus xylosum</i>	1	木糖葡萄球菌 <i>Staphylococcus xylosum</i>	CGMCC 1.8022 CGMCC 1.8381 CGMCC 1.8382 CICC 22112 CICC 25192 GDMCC 1.895	必选
44			肉葡萄球菌 <i>Staphylococcus carnosus</i>	1	肉葡萄球菌 <i>Staphylococcus carnosus</i>	CICC 25173 GDMCC 1.955	必选
45	10	微球菌属	藤黄微球菌 <i>Micrococcus luteus</i>	1	/	CICC 10445=CMCC (B) 28001 =GDMCC 1.226	可更换属 内其他种
46			里拉微球菌 <i>Micrococcus lysae</i>	1	/	CICC 23990	可更换属 内其他种
47			土微球菌 <i>Micrococcus terreus</i>	1	/	CGMCC 1.7054	可更换属 内其他种
48	11	红球菌属	嗜粪红球菌 <i>Rhodococcus coprophilus</i>	1	/	CGMCC 4.1813	可更换属 内其他种
49			圆红球菌 <i>Rhodococcus globerulus</i>	1	/	CGMCC 4.1819	可更换属 内其他种
50			马红球菌 <i>Rhodococcus equi</i>	1	/	CICC 22955	可更换属 内其他种
51	12	链球菌属	无乳链球菌 <i>Streptococcus agalactiae</i>	1	/	CICC 10465	必选
52			化脓链球菌 <i>Streptococcus pyogenes</i>	1	/	CICC 10373=CMCC (B) 32210 =GDMCC 1.245	必选
53			唾液链球菌 <i>Streptococcus salivarius</i>	1	/	ATCC 13419	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
54		产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	2	产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	CICC 22949 CICC 25011=CMCC (B) 64724 =GDMCC 1.2357 CICC 24751=CMCC (B) 64724 =GDMCC 1.2357 GDMCC 1.5492 GDMCC 1.5507 GDMCC 1.5512 GDMCC 1.5491	必选
55	13	梭菌属	丁酸梭菌 <i>Clostridium butyricum</i>	1	丁酸梭菌 <i>Clostridium butyricum</i>	CICC 10390 CICC 23847	必选
56			艰难梭菌 <i>Clostridium difficile</i>	1	艰难梭菌 <i>Clostridium difficile</i>	CICC 25028=CMCC (B) 64967 =GDMCC 1.2602 CICC 22951	必选
57		巴氏梭菌 <i>Clostridium pasteurianum</i>	1	巴氏梭菌 <i>Clostridium pasteurianum</i>	CICC 8014 CICC 10391	必选	
58		生孢梭菌 <i>Clostridium sporogenes</i>	1	生孢梭菌 <i>Clostridium sporogenes</i>	CICC 25026=CMCC (B) 64942 =GDMCC 1.2734 CICC 10385	必选	
59	14	芽孢杆菌属	蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	2	蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	CICC 23828=CMCC(B)63303 CICC 10184 CICC 21261 CICC 22451 CICC 23324 CICC 23366 CICC 23374	必选
	3						

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		验收菌株数量	参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称	验收菌株数量			
60	14	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	1	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	1	CICC 20558 CICC 22945	必选	
61		蕈状芽孢杆菌 <i>Bacillus mycooides</i>	1	蕈状芽孢杆菌 <i>Bacillus mycooides</i>	1	CICC 24780=CMCC (B) 63549 =GDMCC 1.2323 CICC 21473	必选	
62		巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	1	巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	1	CICC 20167 CICC 23035	必选	
63		脂肪芽孢杆菌 <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	1	脂肪芽孢杆菌 <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	1	CICC 25039=CMCC (B) 63509 =GDMCC 1.301 CICC 10392	必选	
64	15	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>subtilis</i>	1	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>subtilis</i>	1	CICC 10275=CMCC (B) 63501 =GDMCC 1.222 CICC 25023=CMCC (B) 63542 =GDMCC 1.2653	必选	
65		唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 <i>Burkholderia gladioli</i>	2	唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 <i>Burkholderia gladioli</i>	3	CICC 25108=CMCC (B) 10802 =GDMCC 1.2670 CICC 10574 CICC 25088 CICC 25089 CICC 25126 CICC 25131 CICC 25132	必选	
66		洋葱伯克霍尔德氏菌 <i>Burkholderia cepacia</i>	1	洋葱伯克霍尔德氏菌 <i>Burkholderia cepacia</i>	1	CICC 24956	必选	

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型							
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称			验收菌株数量						
67	16	李斯特菌属	单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	2	单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	CICC 25021=CMCC (B) 54012 =GDMCC 1.2408 CICC 21532 CICC 21574 CICC 21575 CICC 21633 CICC 21635 CICC 23929	必选							
								1	格氏李斯特氏菌 <i>Listeria grayi</i>	1	格氏李斯特氏菌 <i>Listeria grayi</i>	1	CICC 21670 CICC 24272	必选
								1	斯氏李斯特氏菌 <i>Listeria seeligeri</i>	1	斯氏李斯特氏菌 <i>Listeria seeligeri</i>	1	CICC 21671	必选
70			威氏李斯特氏菌 <i>Listeria welshimeri</i>	1	威氏李斯特氏菌 <i>Listeria welshimeri</i>	CICC 21672	必选							
71			伊氏李斯特氏菌 <i>Listeria ivanovii</i>	1	伊氏李斯特氏菌 <i>Listeria ivanovii</i>	CICC 21663	必选							
72			英诺克李斯特氏菌 <i>Listeria innocua</i>	1	英诺克李斯特氏菌 <i>Listeria innocua</i>	CICC 25020=CMCC (B) 54103 =GDMCC 1.2527 CICC 10417	必选							
73			阪崎克罗诺杆菌 <i>Cronobactersakazakii</i>	1	/	CICC 10295	必选							
74	17	克罗诺杆菌属	丙二酸盐克罗诺杆菌 <i>Cronobactermalonaticus</i>	1	/	CICC 23884	必选							
75			苏黎世克罗诺杆菌 <i>Cronobacterituricensis</i>	1	/	CICC 24178	必选							

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
76			莫金丝克罗诺杆菌 <i>Cronobacterium jensii</i>	1	/	CICC 25036=CMCC (B) 45407 =GDMCC 1.296	必选
77	17	克罗诺杆菌属	都柏林克罗诺杆菌 <i>Cronobacter dublinensis</i>	1	/	CICC 24179	必选
78			尤尼沃斯克罗诺杆菌 <i>Cronobacter universalis</i>	1	/	CICC 24183	必选
79	18	爱德华氏菌属	迟钝爱德华氏菌 <i>Edwardsiella tarda</i>	1	/	CICC 10497	可更换属 内其他种
80	19	哈夫尼菌属	蜂房哈夫尼亚菌 <i>Hafnia alvei</i>	1	/	CICC 22610	可更换属 内其他种
81	20	沙雷氏菌属	黏质沙雷 <i>Serratia marcescens</i>	1	/	CICC 10187	可更换属 内其他种
82			液化沙雷 <i>Serratia liquefaciens</i>	1	/	CICC 21538	可更换属 内其他种
83	21	变形杆菌属	奇异变形杆菌 <i>Proteus mirabilis</i>	1	/	CICC 21516=CMCC(B)49005	可更换属 内其他种
84			普通变形杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	1	/	CICC 10866=CMCC(B)49027	可更换属 内其他种
85	22	欧文氏菌属	比林欧文菌 <i>Erwinia billingiae</i>	1	/	CICC 10449	可更换属 内其他种
86	23	假单胞菌属	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CICC 21636 CICC 10419 CICC 24649	必选
87			荧光假单胞 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	荧光假单胞 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	CICC 21620	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
88	23	假单胞菌属	恶臭假单胞菌 <i>Pseudomonas putida</i>	1	恶臭假单胞菌 <i>Pseudomonas putida</i>	CICC 20576	必选
89			丁香假单胞菌 <i>Pseudomonas syringae</i>	1	丁香假单胞菌 <i>Pseudomonas syringae</i>	1	CGMCC 1.1727
90	24	双歧杆菌属	动物双歧杆菌 <i>Bifidobacterium animalis</i>	1	/	CICC 6250	可更换属 内其他种
91	25	乳杆菌属	德氏乳杆菌 <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1	/	CICC 6047	可更换属 内其他种
92	26	乳酪杆菌属	鼠李糖乳酪杆菌 <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	1	/	CICC 6224	可更换属 内其他种
93	27	粘液乳杆菌属	发酵粘液乳杆菌 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	1	/	CICC 24209	可更换属 内其他种
94	28	乳植杆菌属	植物乳植杆菌 <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1	/	CICC 25024=CMCC (B) 34130 =GDMCC 1.2685	可更换属 内其他种
95	29	联合乳杆菌属	唾液联合乳杆菌 <i>Ligilactobacillus salivarius</i>	1	/	CICC 25161	可更换属 内其他种
96	30	广布乳杆菌属	弯曲广布乳杆菌 <i>Latilactobacillus curvatus</i>	1	/	CICC 25190	可更换属 内其他种
97	31	乳球菌属	乳酸乳球菌 <i>Lactococcus lactis</i>	1	/	CICC 23205	可更换属 内其他种
98	32	丙酸杆菌属	费氏丙酸杆菌 <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	1	/	CICC 25163	可更换属 内其他种
99	33	丙酸菌属	产丙酸丙酸菌 <i>Propionibacterium acidipropionici</i>	1	/	CICC 24923	可更换属 内其他种

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属验收菌株信息			种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
	属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称	验收菌株数量		
100	34	明串珠菌属 <i>Leuconostocmesenteroides</i>	肠膜明串珠菌 <i>Leuconostocmesenteroides</i>	1	/	CICC 6061	可更换属 内其他种
101	35	片球菌属 <i>Pediococcusacidilactici</i>	乳酸片球菌 <i>Pediococcusacidilactici</i>	1	/	CICC 25166	可更换属 内其他种
102	36	魏茨曼氏菌属 <i>Weizmanniacoaagulans</i>	凝结魏茨曼氏菌 <i>Weizmanniacoaagulans</i>	1	/	CICC 25162	可更换属 内其他种
103	37	动物球菌属 <i>Mammaliococcusscirturi</i>	小牛哺乳动物球菌 <i>Mammaliococcusscirturi</i>	1	/	GDMCC 1.2758	可更换属 内其他种
104	38	曲霉属	寄生曲霉 <i>Aspergillus parasiticus</i>	1	/	CICC 41386	可更换属 内其他种
105	38		黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	1	/	CICC 2487=CMCC (F) 98003= GDMCC 3.516	可更换属 内其他种
106	38		杂色曲霉 <i>Aspergillus versicolor</i>	1	/	CICC 2474	可更换属 内其他种
107	39	青霉属	桔青霉 <i>Penicillium citrinum</i>	1	/	CICC 41779=CMCC (F) 98028 =GDMCC 3.693	可更换属 内其他种
108	39		光滑青霉 <i>Penicillium glabrum</i>	1	/	CICC 4037	可更换属 内其他种
109	40	镰刀菌属 <i>Fusarium oryzporum</i>	尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oryzporum</i>	1	/	CICC 41029	可更换属 内其他种
110	41	木霉属 <i>Trichoderma viride/ghanense</i>	绿色/加纳木霉 <i>Trichoderma viride/ghanense</i>	1	/	CICC 2718	可更换属 内其他种
111	42	酵母菌属 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	/	CICC 33471=CMCC (F) 98017 =GDMCC 2.258	可更换属 内其他种

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		验收菌株数量	参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
	属名	属验收菌株名称	种验收菌株名称	验收菌株数量			
112	丝衣霉	纯黄丝衣霉 <i>Byssoschlamys fulva</i>	1	/	/	CICC 2649	可更换属 内其他种
113	巨大球菌属	解酪蛋白巨大球菌 <i>Macrocococcus caseolyticus</i>	1	/	/	CICC 25151	可更换属 内其他种
114	类芽孢杆菌属	解糖类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	1	/	/	CICC 23909	可更换属 内其他种
115	气单胞菌属	嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	1	/	/	CICC 25017=CMCC (B) 10506 =GDMCC 1.2306	可更换属 内其他种
116	微杆菌属	树状微杆菌 <i>Microbacterium arborescens</i>	1	/	/	CICC 20195	可更换属 内其他种
117		铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	CICC 24239	必选
118		粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	1	粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	3	CICC 25019=CMCC (B) 32482 =GDMCC 1.2493 CICC 23658 CICC 25037=CMCC (B) 32480 =GDMCC 1.2902 CICC 20175 CICC 20434	必选
119	肠球菌属	鸟肠球菌 <i>Enterococcus avium</i>	1	鸟肠球菌 <i>Enterococcus avium</i>	1	CGMCC 1.2505	必选
120		屎肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>	1	屎肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>	3	CICC 24252 CICC 24840 CICC 20536 CICC 21766 CICC 21767 CICC 20536	必选

表 B.1 评价菌株推荐清单 (续)

序号	属序号	属验收菌株信息		种验收菌株信息		参考标准菌株编号 (或等效菌株)	验收类型
		属名	属验收菌株名称	验收菌株数量	种验收菌株名称		
121	49	土芽孢杆菌属	嗜热脂肪土芽孢杆菌 <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	1	/	CICC 25039=CMCC (B) 63509 =GDMCC 1.301	可更换属 内其他种
122	50	肉食杆菌属	麦芽香肉杆菌 <i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	/	CGMCC 1.6466	可更换属 内其他种
123	51	接合酵母属	鲁氏接合酵母菌 <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	1	/	CICC 1379	可更换属 内其他种
124	52	脂环酸芽孢杆菌属	酸土脂环酸芽孢杆菌 <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	1	/	CICC 10374	可更换属 内其他种
125	53	气球菌属	绿色气球菌 <i>Aerococcus viridans</i>	1	/	ATCC 11563	可更换属 内其他种
126	54	不动杆菌属	鲍曼不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	1	/	CICC 10980=CMCC(B)25001	可更换属 内其他种
127	55	拉乌尔菌属	解鸟氨酸拉乌尔菌 <i>Raoultella ornithinolytica</i>	1	/	CICC 24131	可更换属 内其他种
128	56	假丝酵母菌属	热带假丝酵母 <i>Candida tropicalis</i>	1	/	CICC 32832	可更换属 内其他种
129			白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	1	/	CICC 1965=CMCC(F)98001= GDMCC 2.178	可更换属 内其他种

注：必选的菌属数量为17个，必选的菌种数量为80个，所需菌株数量为106株。

附 录 C

(资料性)

自建库及其评价

C.1 自建库的操作

具体自建库操作见各厂家提供的规范化操作规程。

C.2 自建库的一般要求

微生物鉴定数据库是MALDI-TOF MS技术的核心,待鉴定微生物只有与数据库中已有图谱达成匹配才能得到鉴定结果。对于已经熟练掌握MALDI-TOF MS常规操作,并且分离到一定数量现有参考库中无法鉴定的微生物,实验室可以根据厂家规范的建库流程进行自建库。

C.3 建库菌株的培养条件

微生物培养条件对图谱峰的数量和强度有重要影响,为保证自建库数据信息的可靠性,需采集同一菌株早期和晚期菌落的图谱进行建库。除本文件推荐的培养条件外,也可以自行评估菌株情况,选用其他培养条件菌株进行自建库。需保证建库所用微生物为纯培养物。

- a) 革兰氏阴性菌:使用TSAB(Tryptic Soy Agar with Blood,以胰蛋白胨大豆TSA琼脂为基础,向其中添加5%羊血)、TSA(Tryptic Soy Agar胰酪大豆胨琼脂培养基)和MAC(MacConkey Agar麦康凯琼脂)培养基,培养时间16 h~24 h和48 h~72 h。
- b) 革兰氏阳性菌:使用TSAB和TSA培养基,培养时间16 h~24 h和48 h~72 h。
- c) 酵母菌:使用TSAB和SDA(Sabouraud Dextrose Agar,沙氏葡萄糖琼脂),培养时间16 h~24 h和48 h~72 h。
- d) 霉菌:使用SDA和PDA(Potato Dextrose Agar,马铃薯葡萄糖琼脂)培养基,培养时间2 d~3 d和7 d~8 d(快生长),7 d~8 d和21 d~25 d(慢生长)。

C.4 入库菌株的鉴定

待入库微生物需经生化和分子方法获得精准鉴定结果后或来自权威菌种保藏机构的菌株可作为建库菌株使用。细菌推荐生化和16s rRNA或WGS基因序列分析,真菌通常推荐使用内部转录区间序列分析(Internal Transcribed Spacer,ITS)或WGS全基因组测序分析。

C.5 菌株数量及图谱采集

MALDI-TOF MS对菌种鉴定是基于图谱聚类原理,建库用菌株的数量与鉴定准确率成正比。每个微生物属种选取应包括至少一株标准菌株在内的不少于10株具有代表性的菌种的40张图谱,每株菌不少于4张,建立超级谱图(或其他类似集成图谱),对首次建库的罕见菌种,应包含至少一株标准菌株在内的2株菌,来自不同培养条件(如不同培养基和培养时间等)的谱图至少8张,并逐步完善至来自10株菌

T/CCAA 134—2025

的40张谱图。

C.6 自建库的评价

宜按照5.2对自建库进行评价。

参 考 文 献

- [1] GB/T 33682 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴别微生物方法通则
-

全国团体标准中国认证认可协会使用