

研究报告

2019—2020年度食品中副溶血弧菌能力验证样品的研制及其应用

刘娜,赵琳娜,王学硕,崔生辉

(中国食品药品检定研究院,食品化妆品检定所,北京 100050)

摘要:目的 制备食品中副溶血弧菌检验能力验证样品,并应用于2019—2020年度实验室能力验证考核。方法 将5种背景菌株和副溶血弧菌通过生化、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定确认菌株种属。采用冷冻干燥技术制备阳性样品和阴性样品,阴性样品仅含有背景菌株,阳性样品在背景菌的基础上添加有副溶血弧菌。随机抽取20份样品进行均匀性检验,将样品存放于-20℃、4℃进行保藏稳定性检验,将样品存放于25℃、37℃进行运输稳定性检验。向参加考核的实验室发放样品并提供作业指导书,回收各实验室结果进行统计。结果 菌株种属确认与预期结果一致,阴性样品和阳性样品的均匀性和稳定性均满足要求。2019年和2020年考核结果满意率分别为87.5%和90%。结论 本研究制备的样品满足食品中副溶血弧菌能力验证项目的要求,通过组织能力验证考核可以反映出我国实验室之间的差异,有助于进一步提高实验室检验水平。

关键词:副溶血弧菌;能力验证;样品研制;考核

中图分类号:R155

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2022)04-0643-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.04.002

Preparation of quality control samples of *Vibrio parahaemolyticus* and their application in the proficiency test in 2019—2020

LIU Na, ZHAO Linna, WANG Xueshuo, CUI Shenghui

(National Institute for Food and Drug Control, Food and Cosmetics Inspection Institute, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To prepare proficiency testing samples of *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) and apply to laboratory test. **Methods** The five background strains and *V. parahaemolyticus* were identified by biochemical reaction and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). The *V. parahaemolyticus* positive samples and negative samples were prepared by freeze-drying. The negative samples contained background bacteria only and the *V. parahaemolyticus* were added in positive samples with background strains. Twenty samples were selected randomly for uniformity test. The samples were stored respectively at -20℃ and 4℃ to evaluate the storage stability, meanwhile the transport stability were evaluated by storing samples at 25℃ and 37℃ for 7 d. Samples were distributed to laboratories participating in the proficiency test with operation instruction, and the feedback results from laboratories were analyzed. **Results** The results of all the related strains were consistent with the expectations. Both of the positive samples and negative samples could meet the requirements of the uniformity and stability. The satisfaction rates of assessment results were 87.5% and 90% in 2019 and 2020 respectively. **Conclusion** The *V. parahaemolyticus* samples could meet the requirements of the proficiency test. By organization proficiency test, the difference of laboratories can be discovered which is helpful to further improve the laboratory test capacity.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; proficiency test; sample preparation; assessment

副溶血弧菌是一种重要的水产食品污染菌株,

一旦食用被其污染的食品会引起腹痛、腹泻、呕吐等食物中毒症状,甚至威胁生命^[1-3]。随着我国社会的进步,渔业和运输体系高度发达,各类海鲜等水产品不受地域和季节的限制^[4-5],一年四季均可出现在人们的餐桌上,这也使得副溶血弧菌的危害性进一步扩大^[6-8]。其次,由于副溶血弧菌具有嗜盐性,因此腌渍食品也较易被污染^[9-10]。近些年来,由副溶血弧菌导致的食物中毒事件在多地时常发生^[11-12]。尤其是耐药菌株的频繁出现^[13-14],使人类

收稿日期:2021-11-09

基金项目:科技部“食品安全关键技术研发”重点专项项目(2018YFC1604303);中国食品药品检定研究院中青年基金(2020C3)

作者简介:刘娜 助理研究员 研究方向为食品安全监测
E-mail:xinyiliuna@163.com

通信作者:崔生辉 研究员 研究方向为食品安全检测
E-mail:cuishenghui@aliyun.com

健康受到了极大威胁^[15-16]。

在保证水产及相关食品的安全工作中,副溶血弧菌检验是关键环节。准确可靠的检验结果则来自于具有一定水平的实验室。为了解全国多个实验室在微生物检验方面的情况以及促进实验室检验水平的提高,中国食品药品检定研究院开展多个微生物能力验证项目,其中副溶血弧菌检验项目是每年的必备项目。本研究通过副溶血弧菌能力验证样品制备和保存条件等的研究,建立了一套可满足能力验证要求的副溶血弧菌考核样品的制备方法。依据 CNAS-CL03-A001:2019《能力验证提供者认可准则在微生物领域的应用说明》^[17]、CNAS-GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》^[18]、CNAS-GL017:2018《标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法》^[19]、ISO/TS22117 食品和动物饲料微生物能力验证特定要求和指南 (Microbiology of food and animal feeding stuffs-Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison)、CNAS-GL002:2018《能力验证结果的统计处理和评价指南》^[20]对研制的副溶血弧菌能力验证样品进行验证,确保样品的均匀性和稳定性满足要求,从而依据反馈结果了解我国实验室在本项目上的水平。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

LL1500 冷冻干燥机(美国 Thermo 公司);PL2002 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司);Therm01389 生物安全柜(美国 Thermo 公司);Incuell 恒温培养箱(德国 MMM 公司);Eddy Jet 全自动微生物螺旋加样系统(西班牙 IUL 公司);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)(德国 Bruker 公司);全自动微生物分析系统(法国 Mérieux 公司)。

副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, CICC21528)、溶藻弧菌(*Vibrio vulnificus*, CMCC20100)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, CMCC26609)、大肠杆菌(*Escherichia coli*, ATCC25922)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, ATCC29212)、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*, ATCC43864)均来自中国食品药品检定研究院;大豆酪蛋白琼脂(Trypticase soy agar, TSA)培养基、硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖琼脂(Thiosulfate bile salts sucrose agar, TCBS)培养基(美国 BD 公司);碱性蛋白胨水培养基(美国 OXOID 公司);氯化钠(中国国药集团)。

1.2 方法

1.2.1 菌株种属确认

用 10 μ L 接种环,取冻存于 -80°C 冻存液[50%甘油配制的脑心浸液肉汤(Brain heart infusion, BHI)液体培养基]的背景菌中的溶藻弧菌及副溶血弧菌株各一环,分区划线于 3% 氯化钠 TSA 平板,同样方法将其他背景菌分区划线于 TSA 平板,均置 36°C 培养 18~24 h。挑取单菌落分区划线于对应培养基平板,置 36°C 培养 18~24 h。通过 MALDI-TOF MS 和全自动微生物分析系统对新鲜培养物进行种属确认。

1.2.2 能力验证样品的制备

1.2.2.1 统计菌株冻干存活率

用高压灭菌后的棉签分别收集各个背景菌和副溶血弧菌的新鲜培养物于冻存保护剂(经 0.22 μm 滤膜过滤)中,将菌液经 5 μm 滤膜过滤后,冻存于液氮中。从液氮中取出各个冻存菌液,用冻干保护剂稀释冻存于液氮中各个菌株的菌液至一定浓度,通过螺旋涂布仪的 E50 模式涂布于平板,其中副溶血弧菌和溶藻弧菌涂布于 3% 氯化钠 TSA 平板,其他背景菌涂布于 TSA 平板,均置(36 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 h 后,统计 CFU 数作为冻干前数据。同时,将稀释液以 20 μL /样品在液氮中速冻,于冷冻干燥机中冷冻干燥,制备成预实验样品。用生理盐水溶解预实验样品,依照统计冻干前数据的方法涂布和培养,统计 CFU 数作为冻干后数据,冻干后 CFU 数/冻干前 CFU 数 $\times 100\%$ =冻干存活率。

1.2.2.2 阴性样品的制备

根据前期检测的冻存液冻干前数据和各个菌株的冻干存活率,将 5 个种属的背景菌株加入到冻干保护剂中,最终制备出各种背景菌含量均为 10^4 CFU 的样品,作为阴性样品。将冻干后的样品放入 2 mL 的西林瓶中,将胶塞虚掩地盖在西林瓶上,然后用冷冻干燥机进行真空压盖,共制备阴性样品 300 份。

1.2.2.3 阳性样品的制备

根据前期检测的冻存液冻干前数据和各个菌株种属的冻干存活率,将副溶血弧菌和 5 个种属的背景菌株加入到冻干保护剂中,最终制备出各个种属菌含量均为 10^4 CFU 的样品,作为阳性样品。将冻干后的质控样放入 2 mL 的西林瓶中,将胶塞虚掩地盖在西林瓶上,然后用冷冻干燥机进行真空压盖,共制备阳性样品 300 份。

1.2.2.4 基质的制备

分装购买的市售鱼蛋白粉于自封袋(25 g/袋)中,经过 60°C 烘烤 72 h 灭菌,再封装于铝箔袋中作

为基质,共制备鱼蛋白粉基质 600 份。

1.2.3 样品的检验

1.2.3.1 样品前处理

取 225 mL 灭菌碱性蛋白胨水加入到无菌均质袋中,在生物安全柜内将样品打开并加入到碱性蛋白胨水中,充分溶解。然后再将与西林瓶相同编码的鱼蛋白粉样品加入到上述碱性蛋白胨水增菌液中,充分均质混匀。

1.2.3.2 样品的检验

随机抽取制备好的阳性样品、阴性样品各 20 份以及制备好的鱼蛋白粉基质,参照样样品前处理过程,后续依据 GB4789.7—2013《食品安全国家标准食品微生物学检验副溶血性弧菌检验》定性检测方法进行均匀性检验。

将阳性样品、阴性样品于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中存放,于 1、7、14、28、60 d 后分别抽取 3 份样品以及制备好的鱼蛋白粉基质,参照样样品前处理过程和 GB4789.7—2013《食品安全国家标准食品微生物学检验副溶血性弧菌检验》定量检测方法进行保藏稳定性检验。其中为避免由于加样量不同导致阴性样品出现假阴性,1:100、1:1 000 稀释液依照国标进行定量检验,同时将剩下的 1:10 稀释液则在均质袋中直接培养,后续依照定量方法检验。

应用 DataTrace 系统模拟运输条件,向泡沫箱加入三个大冰袋($-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存 48 h 而成),用胶带将泡沫箱密封好后于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中存放,实时监测泡沫箱内温度变化。

将阳性样品、阴性样品于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中存放,于 1、3、5、7 d 后分别抽取 3 份样品以及制备好的鱼蛋白粉基质,参照样样品前处理和均匀性检验过程进行保藏稳定性检验。

1.2.4 能力验证项目的组织及样品准备

1.2.4.1 防止数据串通的措施

编制 1~100 的随机数字表,其中 50 个随机数字作为阳性样品编码,另外 50 个则用为阴性样品编码,各家实验室的考核样品编码均由随机数字表中随机数字组成,相互之间没有可比性,且每一套考核样品中的阴性样品数量和阳性样品数量不完全相同,避免实验室间串通现象的发生。

1.2.4.2 样品的组成

本项目考核样品由 2 份样品组成,分别为阳性样品 0~2 份、阴性样本 0~2 份,每套样品中 CODE 编号和相匹配的鱼蛋白粉基质 CODE 编号均由随机数字生成。

1.2.4.3 考核样品的发放

2019—2020 年度,对报名参加本项目的实验室

发放样品,将包含样品的西林瓶固定于缓冲的塑料底座,然后用定制的塑料盒包装,再置于塑封袋中,并配有匹配的鱼蛋白粉基质,最后用泡沫盒包装,放入 5 kg 干冰,用胶带密封放于运输箱中。

1.2.4.4 结果的评价原则

本次样品考核要求参加实验室依据上述前处理过程以及 GB4789.7—2013《食品安全国家标准食品微生物学检验副溶血性弧菌检验》定性检测方法进行检验。结论设为满意、不满意两类。其中,参加考核机构在规定时间内上报结果,且 2 份考核样品副溶血弧菌分离、生化鉴定结果均正确则判定为“满意”;否则判定为“不满意”。

2 结果

2.1 菌株种属确认

背景菌株和副溶血弧菌菌株经由 MALDI-TOF MS 和全自动微生物分析系统鉴定结果均与预期结果一致。

2.2 样品均匀性检验结果

随机抽取的 20 份阳性样品均检出副溶血弧菌,且 20 份阴性样品均未检出副溶血弧菌。

2.3 样品稳定性的检验结果

对于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下存放 1、7、14、28、60 d 后的样品进行检测,结果见表 1 和表 2,阳性样品均检出副溶血弧菌且均 $>11\ 000\ \text{MPN}/\text{样品}$,与制备时设计

表 1 阳性样品稳定性检测结果

Table 1 Stability test results of positive samples

保藏时间/d	温度/ $^{\circ}\text{C}$	检出副溶血弧菌
		($>11\ 000\ \text{MPN}$)样品数目
1	37、25、4、 -20	3
3	37、25	3
5	37、25	3
7	25、4、 -20	3
14	4、 -20	3
28	4、 -20	3
60	4、 -20	3
365	-20	3
730	-20	3
1 195	-20	3

表 2 阴性样品稳定性检测结果

Table 2 Stability test results of negative samples

保藏时间/d	温度/ $^{\circ}\text{C}$	检出副溶血弧菌样品数目
1	37、25、4、 -20	0
3	37、25	0
5	37、25	0
7	25、4、 -20	0
14	4、 -20	0
28	4、 -20	0
60	4、 -20	0
365	-20	0
730	-20	0
1 195	-20	0

的 10^4 CFU/样品要求一致。阴性样品均未检测出副溶血弧菌,与制备时设计只有背景菌要求一致。为进一步保证样品的稳定性,对于存放于 -20°C 长达3年的样品再次做稳定性试验,阳性样品检出副溶血弧菌且均为 $>1\ 100$ MPN/样品,阴性样品未检测出副溶血弧菌。

应用 DataTrace 系统模拟运输条件结果如图 1 所示,在 25°C 、 37°C 条件下放置 7 d 和 3 d 后泡沫箱内的温度与外环境中的温度相同。表明在短时间内泡沫箱内可以维持较低的温度,随着时间延长箱内的温度受外界环境温度影响较大,通过向泡沫箱内加冰袋的方法并不能长期使其保持低温。

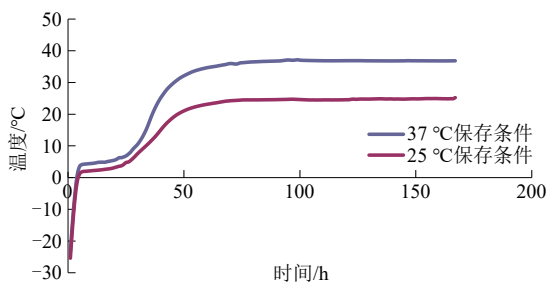


图 1 DataTrace 系统模拟运输条件的温度变化曲线

Figure 1 Temperature variation curve of DataTrace system under simulated transportation conditions

在 25°C 和 37°C 下存放 1、3、5、7 d 后的样品进行检测结果见表 1 和表 2,阳性样品均检出副溶血弧菌,但是只有 25°C 存放 7 d 内以及 37°C 存放 5 d 内的样品检测结果满足 $>11\ 000$ MPN/样品。阴性样品均未检测出副溶血弧菌,与制备时设计只有背景菌要求一致。

进一步监测样品在 25°C 和 37°C 条件下的稳定性,在 25°C 条件下,存放 14 d 后的三个样品中仍为 $>11\ 000$ MPN/样品,21 d 后的三个样品为 $4\ 600$ MPN/样品,28 d 后的三个样品样品 $1\ 500$ MPN/样品。在 37°C 条件下,发现存放 7 d 后的三个样品中有两个为 $11\ 000$ MPN/样品,另外一个样品仍为 $>11\ 000$ MPN/样品,存放 14 d 后的三个样品为 $1\ 500$ MPN/样品,存放 21 d 后的三个样品为 <3 MPN/样品。

目前,样品寄送时间大约 2~3 d,偏远地区寄送样品的时间会长一些,5 d 内基本上都可以到达。本项目在邮寄样品时,会加入 5 kg 干冰防止意外高温,结合样品的运输稳定性实验结果,该样品的稳定性可以满足本次考核实验的需求。

2.4 考核结果

2019—2020 年度,食品中副溶血弧菌检验的实验室类型以及评价结果见表 3,均以市场监督管理局系统实验室为主。其中,2019 年度,报名参加考

核的实验室分布于全国 15 个省(市)、自治区,共计 17 家实验室,中途一家实验室由于搬迁不能进行实验而暂时退出,最终共计 16 家实验室上报结果;2020 年度,参加考核的实验室分布于全国 10 个省(市)、自治区,共计 20 家实验室,最终共计 20 家实验室上报结果。依据满意率=(结果合格实验室家数)/(上报结果实验室总家数) $\times 100\%$,统计 2019—2020 年度考核满意率分别为 87.5% 和 90.0%。

表 3 2019—2020 年度食品中副溶血弧菌检验能力验证项目结果

Table 3 Test results of *Vibrio parahaemolyticus* in food in 2019—2020

年份	实验室类型(结果合格实验室数/上报结果实验室总数)			满意率
	市场监督管理局系统	企业	疾控	
	2019	10/12	3/3	
2020	13/15	3/3	2/2	90.0%(18/20)
总计	23/27	6/6	3/3	—

本项目要求各个实验室在上报结果时提供培养基的品牌。2019—2020 年度,参加食品中副溶血弧菌检验能力验证项目的实验室使用培养基情况见表 4。对于普通的增菌培养基,所有实验室均选择国内品牌的培养基;对于分离培养基,国外品牌培养基占比为 25%(9/36),明显高于普通增菌培养基。

表 4 2019—2020 年度参加能力验证项目实验室使用培养基情况

Table 4 The love status of the laboratory use of cultivating homosexual in the competency verification program in 2019—2020

年份	普通增菌培养基品牌		分离培养基品牌	
	国内	国外	国内	国外
2019	16	0	10	6
2020	20	0	17	3
总计	36	0	27	9

注:国外品牌培养基占比=(选择国外品牌的实验室家数)/(实验室总家数) $\times 100\%$

在 2019 年度考核结果中,两家实验室为结果不满意,其中一家实验室选择国内品牌普通增菌培养基,选择国外品牌分离培养基;另外一家实验室所有培养基均为国内品牌。14 家实验室为满意结果,其中有两家实验室选择国内品牌的普通培养基,同时选择国外品牌分离培养基;另外 12 家实验室则是普通增菌培养基和分离培养基均选择国内品牌。在 2020 年度考核结果中,两家实验室为结果不满意,这两家实验室所有培养基均为国内品牌。18 家实验室为满意结果,其中有两家实验室选择国内品牌普通培养基,分离培养基则是选择国外品牌;另外 16 家实验室则是普通增菌培养基和分离培养基

均选择国内品牌。通过横向比较培养基品牌,则可以确定培养基品牌不是影响检验结果的因素。

为了准确查找检验结果不满意的原因,对2019—2020年度参加本项目的所有实验室提供的相关原始记录进行分析比较,发现以下问题:首先是假阳性结果,该实验室在进行相关检验时,并未设置阳性对照和空白对照,是否存在样品交叉污染等情况不能明确判断;其次是假阴性结果,在分离培养实验中,由于背景菌溶藻弧菌和目的菌副溶血弧菌培养条件一致,但是本项目选择的溶藻弧菌菌株生长速率大于副溶血弧菌,当未能按照培养时间及时查看选择培养基上菌落状态时,则可能导致溶藻弧菌(黄色菌落)掩盖了副溶血弧菌(蓝绿色菌落),从而导致假阴性结果。在排除培养基品的因素下,造成结果不满意的主要原因还是实验设计或实验室人员技术问题。

3 讨论

本研究旨在制备稳定可靠的样品并应用于全国实验室能力验证考核,通过对副溶血弧菌检测能力验证样品的制备及后续均匀性、储藏稳定性、运输稳定性的检验,证实了样品的可靠性^[21]。依据各地实验室的反馈结果,尚未发现样品质量问题,表明样品的稳定性较好,完全满足能力验证的相关要求。

在各个实验室上报结果时,提供的培养基种类和品牌便于横向比较各个实验室结果是否与培养基的差异结果有关,从而为广大实验室选择培养基时提供依据。在2019和2020年度,在普通的增菌培养基如3%氯化钠碱性蛋白胨水、3%氯化钠TSA培养上所有实验室均选择国内品牌培养基;而在选择培养基上,如副溶血弧菌显色培养基,则有部分实验室选择国外品牌。进一步分析比较培养基品牌与最终的检验结果是否正确并无直接关系。因此,国内培养基品牌可以满足本项目的检验要求。与国内关于副溶血弧菌培养基的报道^[22-24]一致。

通过统计分析2019—2020年度食品中副溶血弧菌能力验证结果,发现我国大多数实验室均可以顺利通过能力验证考核,但是部分实验室存在能力不足或操作不规范的现象,需要进一步加强。实验室通过参加能力验证,不仅可以促进质量控制,同时也提高检测能力。当然,一次能力验证的结果只能证明实验室参加本次能力验证的情况,不能说明实验室的真实检测水平。通过横向比较全国实验室检验结果,各个实验室也可以了解自身水平,针对性地强化不足之处。从而提高我国食品检测

质量控制整体水平和实验室的技术能力。

参考文献

- [1] 李诗怡,杨靖亚,马燕,等. 副溶血弧菌耐热直接溶血毒素的急性毒性研究[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(3): 386-390.
LI S Y, YANG J Y, MA Y, et al. Study on acute toxicity of *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2020, 47(3): 386-390.
- [2] 穆丽丽,牛犇,张昭寰,等. 副溶血弧菌VI型分泌系统对其种内竞争的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(3): 429-438.
MU L L, NIU B, ZHANG Z H, et al. Effect of *Vibrio parahaemolyticus* T6 SS on intraspecific competition[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(3): 429-438.
- [3] 马红梅,张晴,张爽,等. 一起副溶血弧菌食源性疾病暴发事件病原学检测结果分析[J]. 首都公共卫生, 2019, 13(6): 304-307.
MA H M, ZHANG Q, ZHANG S, et al. Etiology analysis of a foodborne disease outbreak caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Capital Journal of Public Health, 2019, 13(6): 304-307.
- [4] 刘娜,骆海朋,陈怡文,等. 食品中副溶血性弧菌检验能力验证样品的研制及其应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1816-1820.
LIU N, LUO H P, CHEN Y W, et al. Preparation of quality control samples of *Vibrio parahaemolyticus* and their application in the proficiency test[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(7): 1816-1820.
- [5] 陈秀英,梅建华,陈沙彬,等. 2014—2018年浙江省丽水市副溶血弧菌流行情况及菌株特征分析. 疾病监测, 2019, 34(9): 822-826.
CHEN X Y, MEI J H, CHEN S B, et al. Spread and characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* in Lishui, Zhejiang, 2014-2018[J]. Disease Surveillance, 2019, 34(9): 822-826.
- [6] 高红,张琰,章丹阳,等. 2017年宁波市副溶血弧菌临床株病原学和分子特征分析[J]. 现代实用医学, 2019, 31(6): 765-768.
GAO H, ZHANG Y, ZHANG D Y, et al. Analysis of pathogenic and molecular characteristics of clinical strains of *Vibrio parahaemolyticus* in Ningbo in 2017 [J]. Modern Practical Medicine, 2019, 31(6): 765-768.
- [7] 李颖,张晴,张爽,等. 北京市顺义区三起关联性副溶血弧菌食源性疾病暴发事件的识别与分析[J]. 疾病监测, 2019, 34(4): 371-376.
LI Y, ZHANG Q, ZHANG S, et al. Identification and analysis of three correlated foodborne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus* in Shunyi, Beijing[J]. Disease Surveillance, 2019, 34(4): 371-376.
- [8] 刘杰,曾令泽,贺晓晨,等. 广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌的分离鉴定及其耐药性[J]. 广西畜牧兽医, 2019, 35(5): 197-202.
LIU J, ZENG L J, HE X C, et al. Isolation, identification and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from *Litopenaeus*

- vannamei* in Guangxi[J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2019, 35(5): 197-202.
- [9] 任启智, 刘洪博, 温冬爱, 等. 南岗区一起副溶血弧菌引起感染性腹泻事件调查[J]. 健康大视野, 2020, 9: 71-72.
REN Q Z, LIU H B, WEN D A, et al. Investigation on an infectious diarrhea caused by *Vibrio parahaemolyticus* in Nangang[J]. China Health Vision, 2020, 9: 71-72.
- [10] 宗华, 曾德唯, 殷静, 等. 重庆市南岸区水产品 and 腹泻患者副溶血弧菌相关性分析[J]. 现代医药卫生, 2020, 36(15): 2339-2342.
ZONG H, ZENG D W, YIN J, et al. Analysis on correlation between *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products and diarrhea patients in Nanan District of Chongqing City [J]. Journal of Modern Medicine & Health, 2020, 36(15): 2339-2342.
- [11] 姜大栋, 李琦. 一起副溶血弧菌感染食物中毒病原学检测[J]. 中国现代药物应用, 2018, 12(7): 220-222.
JIANG D D, LI Q. A pathogenic test of food poisoning caused by *Vibrio parahemolyticus* infection [J]. Chinese Journal of Modern Drug Application, 2018, 12(7): 220-222.
- [12] 李佐君, 钱冬梅. 副溶血弧菌感染性腹泻临床和耐药分析[J]. 四川医学, 2019, 40(10): 1043-1046.
LI Z J, QIAN D M. Clinical drug resistance analysis of 330 cases of *Vibrio parahaemolyticus* infectious diarrhea [J]. Sichuan Medical Journal, 2019, 40(10): 1043-1046.
- [13] 李翠苹, 翟倩倩, 王想, 等. 对虾养殖池副溶血弧菌的分离鉴定及其耐药特征、毒力基因分析[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(6): 174-180.
LI C P, ZHAI Q Q, WANG X, et al. Isolation and identification of *Vibrio parahaemolyticus* from shrimp culture ponds and analysis of its drug resistance and virulence genes [J]. Progress In Fishery Sciences, 2020, 41(6): 174-180.
- [14] 佟世胜. 急性腹泻患者的副溶血弧菌毒力及耐药特征分析[J]. 中国医学创新, 2020, 17(33): 165-168.
TONG S S. Analysis of virulence and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in patients with acute diarrhea [J]. Medical Innovation of China, 2020, 17(33): 165-168.
- [15] 张巍巍, 李颖, 王群, 等. 全基因组数据应用于多克隆副溶血弧菌感染暴发的病原学分析[J]. 疾病监测, 2020, 35(6): 518-522.
ZHANG W W, LI Y, WANG Q, et al. Analysis of virulence and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in patients with acute diarrhea [J]. Medical Innovation of China, 2020, 35(6): 518-522.
- [16] 张婷, 杨梦华. 副溶血弧菌的毒力基因表达调控的分子机制[J]. 微生物学报, 2020, 60(7): 1345-1357.
ZHANG T, YANG M H. Molecular mechanisms of virulence genes expression in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(7): 1345-1357.
- [17] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL03-A001:2019《能力验证提供者认可准则在微生物领域的应用说明》[S]. 2019.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-CL03-A001: 2019 Nengli yanzheng tigongzhe renke zhunze zai weishengwu lingyu de yingyongshuoming [S]. 2019.
- [18] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL003:2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 2018.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-GL003: 2018 Nengliyianzheng yangpin junyunxing he wendingxing pingjiazhinan [S]. 2018.
- [19] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL017:2018 标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法[S]. 2018.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-GL017: 2018 Biaozhunwuzhi/biaozhunyangpin dingzhi de yibanyuanze he tongjifangfa [S]. 2018.
- [20] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL002:2018 能力验证结果的统计处理和评价指南[S]. 2018.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-GL002: 2018 Nengliyianzhengjieguo de tongjichuli he nenglingpingjiazhinan [S]. 2018.
- [21] 顾文佳, 张懿翔, 许超, 等. 运用统计学方法对能力验证定性样品的均匀性和稳定性进行评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7138-7141.
GU W J, ZHANG Y X, XU C, et al. Evaluation of the homogeneity and stability of qualitative samples in the proficiency test with statistical methods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(21): 7138-7141.
- [22] 邓冬云, 陈萍. 两种副溶血性弧菌显色培养基实际应用效果比较[J]. 中国医药指南, 2011, 9(35): 45-46.
DENG D Y, CHEN P. Comparison of practical application effects of two kinds of *Vibrio parahaemolyticus* chromogenic medium [J]. Guide of China Medicine, 2011, 9(35): 45-46.
- [23] 沈颀, 汪云泉, 徐君辉, 等. 弧菌显色培养基对副溶血弧菌检测效果的初步评估[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(8): 1193-1194.
SHEN B, WANG Y Q, XU J H, et al. Evaluation of chromI D vibrio for isolation and presumptive identification of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2010, 20(8): 1193-1194.
- [24] 赵颖. 运用TCBS琼脂平板与科玛嘉弧菌显色培养基对腹泻病原微生物检验结果的分析[J]. 中国医疗器械信息, 2019, 25(16) 59-60.
ZHAO Y. Analysis of the results of the examination of pathogenic microorganisms of diarrhea by TCBS agar plate and vibrio komaga chromogenic medium [J]. China Medical Device Information, 2019, 25(16) 59-60.