《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》

标准验证方案及验证报告

各位验证专家：

由北京市通州区疾病预防控制中心、北京市疾病预防控制中心、北京市顺义区疾病预防控制中心承担的北京预防医学会团体标准《腹泻病人粪便标本中溶藻弧菌检验》已完成预实验，在充分研读讨论《SN/T 3266-2012 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 食品微生物检验方法确认技术规范》、《RB/T 033-2020 中华人民共和国认证认可行业标准 微生物检测方法确认与验证指南》、《GB/T 20001.4-2015 标准编写规程 第 4 部分：试验方法标准》、《GB 4789.28-2013 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求》的基础上确定此标准验证方案，现按照本验证方案开展标准的验证工作。

项目信息

实验室内验证单位：

北京市通州区疾病预防控制中心

实验室间验证单位：

北京市疾病预防控制中心

北京市顺义区疾病预防控制中心

北京市延庆区疾病预防控制中心

具体验证内容如下：

1. 选择性培养基验证

2. 标准的包容性验证

3. 标准的排他性验证

4. 标准的检测限验证（杂菌干扰实验）

第一部分 标准实验室内验证方案

1 选择性分离培养基的验证（TCBS、弧菌显色培养基）

1.1 平板的制备

倾注融化的 TCBS、弧菌显色培养基到平皿中，使之在平皿中形成一个至少 3 mm 厚的琼脂层（直径 90 mm 的平皿通常要加入 18 mL～20 mL 琼脂培养基），倾注后将平板放到水平平面，使琼脂冷却凝固。

1.2 工作菌液的制备

将标准储备菌株溶藻弧菌 CICC10889 和验证实验室从腹泻粪便和食源性疾病暴发疫情中分离的溶藻弧菌接种到脑心浸液肉汤培养过夜作为工作菌悬液。

1.3 接种

取增菌液划线接种于 TCBS 平板和弧菌显色培养基平板，于 36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。

1.4 结果评价及报告

观察溶藻弧菌在两种选择性培养基上的生长状态并详细记录于附表 1 上，并将结果评价填于报告单上。

2 标准的包容性验证

2.1 试剂的准备

VITEK GN 卡

荧光 PCR 试剂

MALDI-TOF MS 检测试剂

2.2 菌株的准备

收集北京市通州区疾病预防控制中心和北京市顺义区疾病预防控制中心实验室从腹泻粪便和食源性疾病暴发疫情中分离的溶藻弧菌 30 株，于脑心浸液肉汤中培养过夜，转种于 3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂，过夜培养。

2.3 验证

分别用 VITEK 系统生化鉴定、荧光 PCR 方法、MALDI-TOF MS 三种方法对 30 株溶藻弧菌进行鉴定。

2.3.1 生化鉴定

将细菌纯培养物调成浊度 0.6 菌悬液，用 VITEK GN 卡鉴定，记录鉴定结果。

2.3.2 荧光 PCR 法鉴定

2.3.2.1 核酸提取

刮取适量细菌纯培养物于商品化试剂盒提取细菌 DNA 或者至于 200 微升纯水中 100 摄氏度煮 10 分钟，离心取上清；

2.3.2.2 荧光 PCR 检测

实时荧光 PCR 反应体系体积为 20 uL：2×通用 PCR 反应混合物(Premix Ex TaqTM)10 uL、上下游引物(10 umol/L)各 0.4 uL、探针(10 umol/L)0.4 uL、模板 DNA 2 uL,水补足至 20 uL。引物和探针序列见表 1。

反应参数：95 ℃预变性 30 s，95 ℃变性 5 s，60 ℃退火延伸 20 s,循环 40 次，在退火阶段检测荧光。

表 1 溶藻弧菌实时荧光 PCR 引物和探针的序列及产物长度

引物	核苷酸序列(5'～3')	产物长度
COL F	GTGGCTTACACGTTGGAATGATC	
COL R	TTTGGCAAGGTCTGTTTGGTTAC	142 bp
COL P	HEX－CACAAATTGCTCGTTCCACTGCCCACC－BHQ1	

2.3.2.3 结果判定

Ct 值≥40.0,判定样品检测结果为阴性，报告未检出溶藻弧菌；

Ct 值≤35.0,可判定该样品结果为溶藻弧菌核酸阳性；

Ct 值在 35.0 与 40.0 之间,需重新检测,如重测 Ct 值仍在此区间且曲线呈标准的 S 型且有明显的指数增长期，则判断为阳性，否则判断为阴性。

2.3.3 MALDI-TOF MS 检测

2.3.3.1 检测步骤

a 在1.5 mL离心管中加入300 μL去离子水。

b 挑取1个～2个单菌落于离心管中，充分振荡混匀。

c 加入900 μL无水乙醇，充分混匀。

d 室温离心2min～4 min，转速8000 rpm～14800 rpm，倾去上清，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。

e 37 ℃～40 ℃干燥沉淀2min～5 min，至沉淀表面无明显水迹。

f 加入裂解液1（10 μL），振荡混匀。

j 加入裂解液2（10 μL），充分混匀。h.室温离心2min～4 min，转速8000 rpm～14800 rpm。

h 吸取1 μL上清液，滴加到样品靶上，并在室温下晾干。

i 晾干后取1 μL基质溶液覆盖在上述样品点上，并在室温下晾干。

j 将样品靶放入质谱仪进行测定。

2.3.3.2 仪器参数设置

选择线性操作模式，正离子模式，检测范围：2000 Da-20 000 Da；激光点击数：每图谱40次(6次激光累积)；激光频率：60.0 Hz；离子源加速电压：20 kV。对可疑菌落进行质谱数据采集并保存，通过 autof ms 操作软件进行分析鉴定。

2.3.3.3 结果判读

MALDI-TOF MS 鉴定结果给出数据库中与鉴定菌种最为匹配的 10 个菌株种属，并给出相对应的匹配分值，分值 6 分以下不可信，6-9 分需要查看十个明细，9 分以上种水平可信。

2.3.3.4 MALDI-TOF MS 结果判定及报告

可疑菌落经 MALDL-TOF MS 鉴定为溶藻弧菌，且匹配分值大于等于 9 分，判定检测结果为阳性。

（此处为Autof MS1000 MALDI-TOF MS 质谱仪操作方法及技术参数，其它品牌和型号请参见仪器说明书。）

2.4 结果评价及报告

记录结果，填写附表2，并将结果评价填于报告单上

3 标准的排他性验证

3.1 试剂的准备 同 2.1

3.2 菌株的准备

北京市通州区疾病预防控制中心的标准储备菌株和检出的各种保存菌株 20 株，见表 2；及溶藻弧菌的近源菌株 6 株，见表 3，于脑心浸液肉汤中培养过夜，转种于哥伦比亚血琼脂平板，过夜培养。

表 2 排他性菌株

序号	菌株名称	序号	菌株名称
1	大肠埃希氏菌 CICC23657	11	金黄色葡萄球菌 CICC23656
2	弗氏柠檬酸杆菌 CICC10404	12	金葡 2017189
3	产气肠杆菌 CICC10293	13	金葡 2017190
4	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CICC10869	14	蜡样芽胞杆菌 CICC23828
5	肠炎沙门氏菌 CICC21513	15	蜡样 2021081
6	鼠伤寒沙门氏菌 CICC21484	16	蜡样 2021105
7	福氏志贺菌 CICC10865	17	单增李斯特 CICC21635
8	痢疾志贺菌 CICC23829	18	单增 2021078
9	鲍氏志贺菌 CICC21680	19	单增 2021079
10	宋内志贺菌 CICC23875	20	单增 2021080

表 3 溶藻弧菌近源菌株

序号	菌株名称	序号	菌株名称
1	副溶血性弧菌 CICC21617	4	创伤弧菌 CICC21615
2	霍乱弧菌 CICC23789	5	嗜水气单胞菌 2019186
3	河流弧菌 2019342	6	类志贺邻单胞菌 2012320

3.3 验证

分别用 VITEK 系统生化鉴定、荧光 PCR 方法、MALDI-TOF MS 三种方法对 26 株菌进行鉴定。方法同 2.3。

3.4 结果评价及报告

记录结果，填写附表 3，并将结果评价填于报告单上。

4 标准的检测限验证（杂菌干扰实验）

4.1 材料：

3%氯化钠碱性蛋白胨水 10mL/支，50 支；

弧菌显色培养基 50 皿；

TCBS 50 皿；

VITEK GN 卡 50 测试（5℃保存）；

荧光 PCR 试剂（-20℃保存）；

质谱试剂；

溶藻质控球（5℃保存）；

大肠埃希氏菌 ATCC25922 标准菌株（实验室标准储存菌株）；

3%氯化钠胰酪胨大豆琼脂 200mL 高压备用；

0.85%生理盐水 200mL；

脑心浸液肉汤 10mL/支，1 支。

4.2 干扰菌液准备

大肠埃希氏菌 ATCC25922 接种于 10mL 脑心浸液肉汤中过夜培养。调菌液浊度 0.5，稀释度-4，则为 10 000CFU/mL～20 000 CFU/mL。

4.3 模拟污染标本制备

荧光 PCR 检测无溶藻弧菌核酸的腹泻病人粪便标本，高压后分成 1g/份，共 50 份。每份粪便标本加入 1 000 CFU～2 000 CFU 干扰菌大肠埃希氏菌 ATCC25922（菌液 0.1 mL)。此 50 份粪便即为模拟腹泻病人粪便的标本。

荧光 PCR 检测无溶藻弧菌核酸的腹泻病人粪便标本，高压后分成 1g/份，共 50 份。每份粪便标本加入 1 000 CFU～2 000 CFU 干扰菌大肠埃希氏菌 ATCC25922（菌液 0.1 mL)。此 50 份粪便即为模拟腹泻病人粪便的标本。

A 人工染菌高浓度粪便标本制备

将溶藻弧菌质控球（每个质控球 100 CFU～1000 CFU，北京陆桥）1 支溶于 10 毫升生理盐水中，混合均匀为原液，取 2 毫升原液溶于 18 毫升生理盐水中，混合均匀，此 -1 稀释度菌液即为高浓度菌液（预定浓度为 1 CFU/mL～10 CFU/mL)。取 1 毫升菌液加入到 1 份粪便标本中，共制作 5 份。

B 人工染菌低浓度粪便标本制备

取 5 毫升高浓度菌液（-1 稀释度）加入到 45 毫升生理盐水中，混合均匀，此菌液即为低浓度菌液（预定浓度为 0.1CFU/mL～1CFU/mL)。取 1 毫升菌液加入到 1 份粪便标本中，共制作 40 份。

C 对照粪便标本

另取 5 份粪便标本不添加溶藻弧菌菌液，即为对照标本。

4.4 接种

各取 1 份粪便标本加入 1 支 10 mL 3%氯化钠碱性蛋白胨水中，高浓度 5 份、低浓度 40 份、对照标本 5 份，共 50 份。36℃培养 8h～18h。

4.5 检测

按图 1 溶藻弧菌检验程序进行检测。出具荧光 PCR 初筛、生化鉴定、荧光 PCR 鉴定、质谱鉴定检测结果。

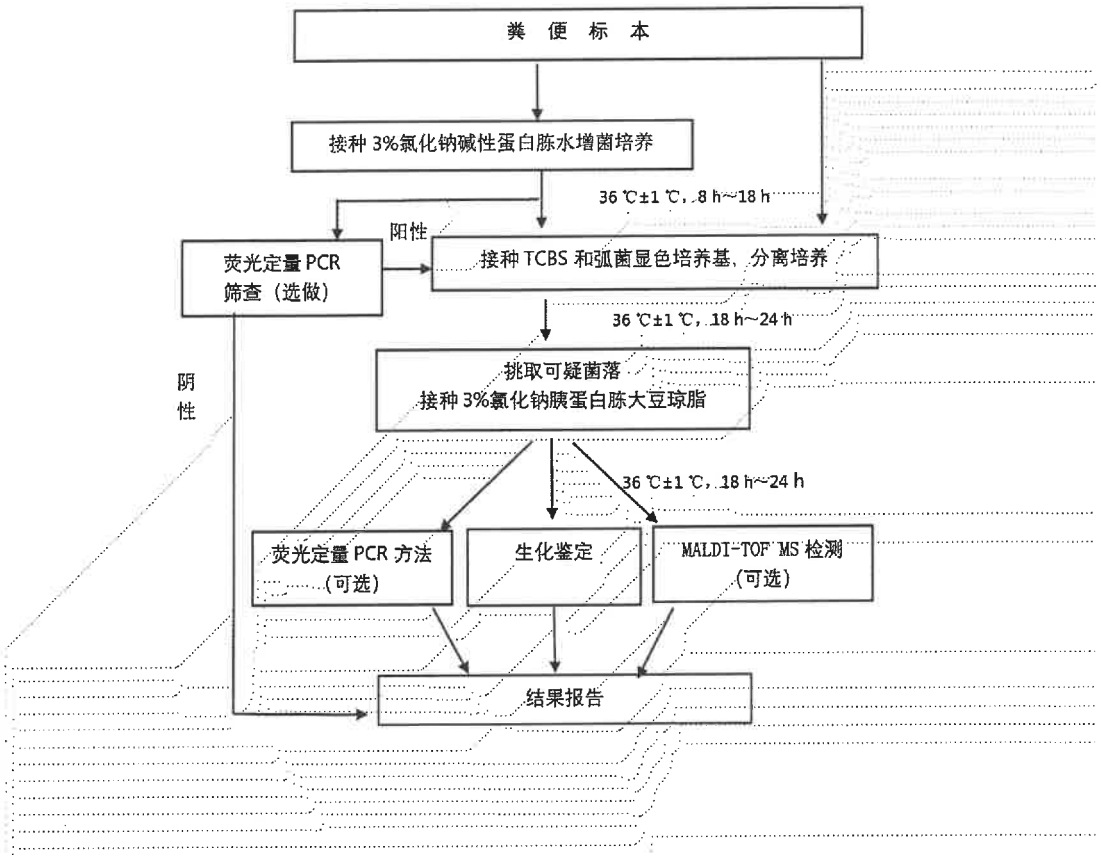

图 1 溶藻弧菌检验程序

4.5.1 实时荧光PCR方法快速筛查

4.5.1.1 DNA提取 取增菌液 1 mL 加到无菌离心管中，8000 r/min 离心2 min，吸弃上清，加入 500 uL无菌超纯水，充分混匀后制成肉眼可见的混浊菌悬液，煮沸 10 min，12 000 r/min 离心 5 min，取上清液用于 PCR 检测。

也可利用细菌基因组提取试剂盒提取 DNA，操作方法按试剂盒说明书进行。

4.5.1.2 荧光PCR 检测

荧光PCR检测及结果判定同2.3.2 。

判定溶藻弧菌核酸阳性者，需进行分离培养及后续的鉴定试验。

4.5.2 分离

取增菌液划线接种于 TCBS 平板和弧菌显色培养基平板，于 36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。典型的溶藻弧菌菌落在 TCBS 上呈圆形、表面光滑、大而扁平的黄色菌落，直径 2 mm～3 mm。在弧菌显色培养基上的菌落特征参照产品说明书进行判定。

4.5.3 纯培养

在 TCBS 平板和弧菌显色培养基平板上各挑取 5 个可疑菌落，划线接种 3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂，36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。

4.5.4 鉴定

溶藻弧菌的鉴定可采用生化鉴定或 MALDI-TOF MS 鉴定或实时荧光 PCR 方法鉴定。三种鉴定方法操作同2.3。

4.6 结果与报告

将荧光 PCR 初筛、生化鉴定、荧光 PCR 鉴定、质谱鉴定检测结果填写附表 4 检出限验证报告。

二、结果报告

填写方法验证报告单

附表 1 选择性分离培养基验证报告单

附表 2 标准的包容性验证报告单

附表 3 标准的排他性验证报告单

附表 4 标准的检测限验证报告单

三、问题与建议

问题建议请填写于方法验证报告中。

四、联系方式

如有任何问题请随时联系我们。

联系人：赵凤玲

地址：北京市通州区潞河中学北街 1 号

电话：010-69543000

手机：15010161036

第二部分 标准实验室间验证方案

标准的检测限验证（杂菌干扰实验）

1 材料：

3%氯化钠碱性蛋白胨水 10mL/支，50 支；

弧菌显示培养基 50 皿；

TCBS 50 皿；

VITEK GN 卡 50 测试（5℃保存）；

荧光 PCR 试剂（-20℃保存）；

质谱试剂；

溶藻质控球（5℃保存）；

大肠埃希氏菌 ATCC25922 标准菌株（各实验室储存菌株）；

3%氯化钠胰酪胨大豆琼脂 200mL 高压备用；

0.85%生理盐水 200mL；

脑心浸液肉汤 10mL/支，1 支。

2 干扰菌液准备

大肠埃希氏菌 ATCC25922 接种于 10mL 脑心浸液肉汤中过夜培养。调菌液浊度 0.5，稀释度-4，则为 10 000CFU/mL～20 000 CFU/mL。

3 模拟污染标本制备

荧光 PCR 检测无溶藻弧菌核酸的腹泻病人粪便标本，高压后分成 1g/份，共 50 份。每份粪便标本加入 1 000 CFU～2 000 CFU 干扰菌大肠埃希氏菌 ATCC25922（菌液 0.1 mL)。此 50 份粪便即为模拟腹泻病人粪便的标本。

A 人工染菌高浓度粪便标本制备

将溶藻弧菌质控球（每个质控球 100 CFU～1000 CFU，北京陆桥）1 支溶于 10 毫升生理盐水中，混合均匀为原液，取 2 毫升原液溶于 18 毫升生理盐水中，混合均匀，此 -1 稀释度菌液即为高浓度菌液（预定浓度为 1 CFU/mL～10 CFU/mL)。取 1 毫升菌液加入到 1 份粪便标本中，共制作 5 份。

B 人工染菌低浓度粪便标本制备

取 5 毫升高浓度菌液（-1 稀释度）加入到 45 毫升生理盐水中，混合均匀，此菌液即为低浓度菌液（预定浓度为 0.1CFU/mL～1CFU/mL)。取 1 毫升菌液加入到 1 份粪便标本中，共制作 40 份。

C 对照粪便标本

另取 5 份粪便标本不添加溶藻弧菌菌液，即为对照标本。

4 接种

各取 1 份粪便标本加入 1 支 10 mL 3%氯化钠碱性蛋白胨水中增菌，高浓度 5 份、低浓度 40 份、对照标本 5 份，共 50 份。36℃培养 8h～18h。

5 检测

按图 1 溶藻弧菌检验程序进行检测。出具荧光 PCR 初筛、生化鉴定、荧光 PCR 鉴定、质谱鉴定检测结果。

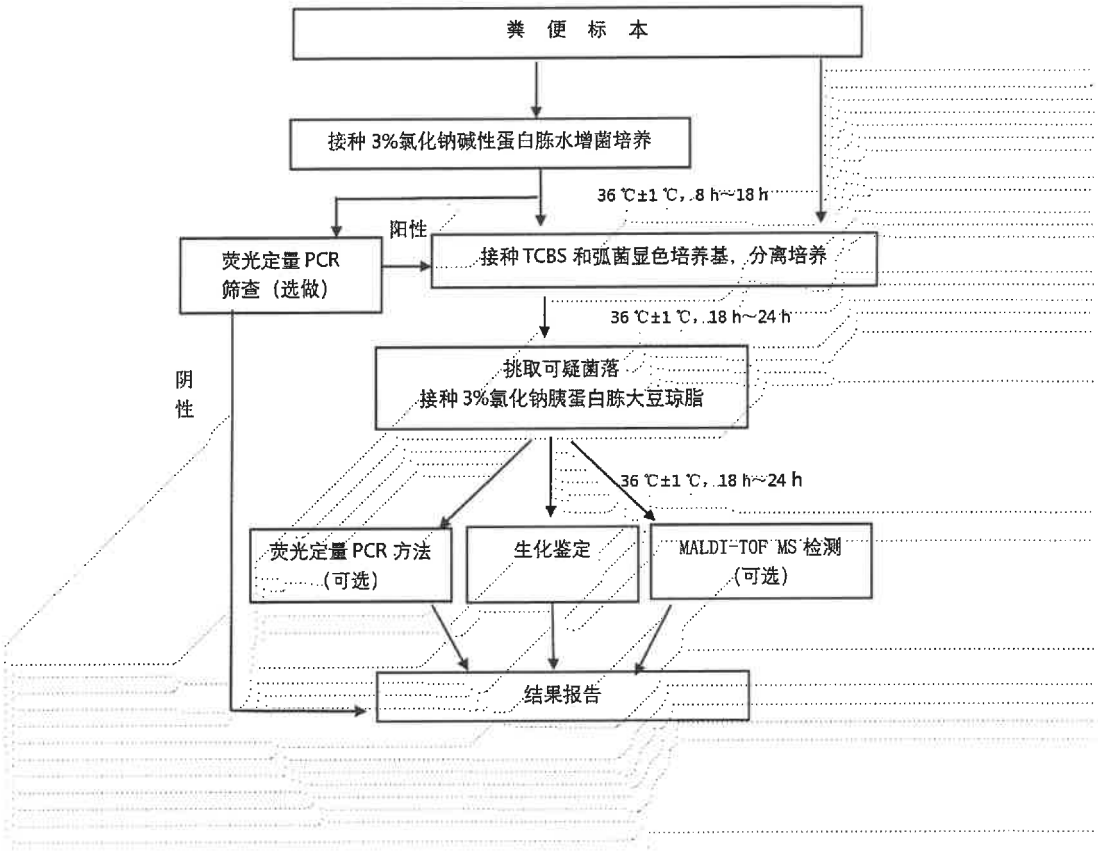

图 1 溶藻弧菌检验程序

5.1 实时荧光PCR方法快速筛查

5.1.1 DNA提取 取增菌液 1 mL 加到无菌离心管中，8000 r/min 离心2 min，吸弃上清，加入 500 uL无菌超纯水，充分混匀后制成肉眼可见的混浊菌悬液，煮沸 10 min，12 000 r/min 离心 5 min，取上清液用于 PCR 检测。

也可利用细菌基因组提取试剂盒提取 DNA，操作方法按试剂盒说明书进行。

5.1.2 PCR 检测

实时荧光 PCR 反应体系体积为 20 uL：2×通用 PCR 反应混合物(Premix Ex TaqTM)10 uL、上下游引物(10 umol/L)各 0.4 uL、探针(10 umol/L)0.4 uL、模板 DNA 2 uL，水补足至 20 uL。引物和探针序列见表 1。

反应参数：95 ℃预变性 30 s，95 ℃变性 5 s，60 ℃退火延伸 20 s，循环 40 次，在退火阶段检测荧光。

表 1 溶藻弧菌实时荧光 PCR 引物和探针的序列及产物长度

引物	核苷酸序列(5'～3')	产物长度
COL F	GTGGCTTACACGTTGGAATGATC	
COL R	TTTGGCAAGGTCTGTTTGGTTAC	142 bp
COL P	HEX－CACAAATTGCTCGTTCCACTGCCCACC－BHQ1	

5.1.3 结果判定

Ct 值≥40.0,判定样品检测结果为阴性，报告未检出溶藻弧菌；

Ct 值≤35.0,可判定该样品结果为溶藻弧菌核酸阳性；

Ct 值在 35.0 与 40.0 之间,需重新检测,如重测 Ct 值仍在此区间且曲线呈标准的 S 型且有明显的指数增长期，则判断为阳性，否则判断为阴性。

5.2 分离

取增菌液划线接种于 TCBS 平板和弧菌显色培养基平板，于 36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。典型的溶藻弧菌菌落在 TCBS 上呈圆形、表面光滑、大而扁平的黄色菌落，直径 2 mm～3 mm。在弧菌显色培养基上的菌落特征参照产品说明书进行判定。

5.3 纯培养

在 TCBS 平板和弧菌显色培养基平板上各挑取 5 个可疑菌落,划线接种 3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂，36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。

5.4 鉴定

溶藻弧菌的鉴定可采用生化鉴定或 MALDI-TOF MS 鉴定或实时荧光 PCR 方法鉴定。

5.4.1 生化鉴定

取适量纯培养菌落制成浊度 0.6 的菌悬液,用 VITEK 生化鉴定系统进行菌落鉴定。

5.4.2 MALDI-TOF MS 检测

5.4.2.1 检测步骤

a 在1.5 mL离心管中加入300 μL去离子水。

b 挑取1个～2个单菌落于离心管中，充分振荡混匀。

c 加入900 μL无水乙醇，充分混匀。

d 室温离心2min～4 min，转速8000 rpm～14800 rpm，倾去上清，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。

e 37 ℃～40 ℃干燥沉淀2min～5 min，至沉淀表面无明显水迹。

f 加入裂解液1（10 μL），振荡混匀。

j 加入裂解液2（10 μL），充分混匀。h.室温离心2min～4 min，转速8000 rpm～14800 rpm。

h 吸取1 μL上清液，滴加到样品靶上，并在室温下晾干。

i 晾干后取1 μL基质溶液覆盖在上述样品点上，并在室温下晾干。

j 将样品靶放入质谱仪进行测定。

5.4.2.2 仪器参数设置

选择线性操作模式，正离子模式，检测范围：2000 Da-20 000 Da；激光点击数：每图谱40次(6次激光累积)；激光频率：60.0 Hz；离子源加速电压：20 kV。对可疑菌落进行质谱数据采集并保存，通过 autof ms 操作软件进行分析鉴定。

5.4.2.3 结果判读

MALDI-TOF MS 鉴定结果给出数据库中与鉴定菌种最为匹配的 10 个菌株种属，并给出相对应的匹配分值，分值 6 分以下不可信，6-9 分需要查看十个明细，9 分以上种水平可信。

5.4.2.4 MALDI-TOF MS 结果判定及报告

可疑菌落经 MALDL-TOF MS 鉴定为溶藻弧菌，且匹配分值大于等于 9 分，判定检测结果为阳性。

（此处为Autof MS1000 MALDI-TOF MS 质谱仪操作方法及技术参数，其它品牌和型号请参见仪器说明书。）

5.4.3 荧光 PCR 鉴定

5.4.3.1 DNA 提取

将 TCBS 或弧菌显色培养基上的溶藻弧菌可疑菌落纯培养物转至 500 uL 无菌超纯水中，充分混匀后制成肉眼可见的混浊菌悬液，煮沸 10 min，12 000 r/min 离心 5 min，取上清液用于 PCR 检测。

也可用商业化的 DNA 提取试剂盒，按其说明提取制备 DNA 模板。

5.4.3.2 PCR 检测和结果判定

同 5.1.2。

6 结果与报告

将荧光 PCR 初筛、生化鉴定、荧光 PCR 鉴定、质谱鉴定检测结果填写附表 4 检出限验证报告。并将检测记录及报告邮寄至北京市通州区疾病预防控制中心，进行统计分析。

联系方式

联系人：赵凤玲

地址：北京市通州区潞河中学北街 1 号

电话：010-69543000

手机：15010161036

附表 1

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：_____
验证项目：选择性培养基验证
验证结果：

菌株号	TCBS 上菌落特征	弧菌显色培养基上菌落特征	结果评价
溶藻弧菌 CICC10889			
粪便中分离菌株			

主要培养基生产厂家及批号：
1.
2.

主要仪器信息：
1.
2.

问题与建议：

验证人：_____

验证单位：（盖章）
年　　月　　日

附表 2

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：_____
验证项目：包容性验证
验证结果：

序号	样本号	鉴定结果		
		生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	质谱结果(数值）	荧光 PCR 结果（Ct 值）
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
26				
27				
28				
29				
30				

主要培养基生产厂家及批号：
1.
2.

主要仪器信息：
1.
2.

问题与建议：

验证人：_____

验证单位：（盖章）
年　　月　　日

附表 3

《腹泻病人粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：_____

验证项目：排他性验证

验证结果：

序号	样本号	鉴定结果		
		生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	质谱结果(数值)	荧光 PCR 结果（Ct 值）
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				

主要培养基生产厂家及批号：

1.

2.

主要仪器信息：

1.

2.

问题与建议：

验证人：_____

验证单位：（盖章）

年　　月　　日

附表 4

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：_____

验证项目：检出限验证

验证结果：

浓度类别	样本号	增菌液荧光 PCR 初筛结果（Ct 值）	鉴定结果		
			生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	质谱结果(数值)	荧光 PCR 结果(Ct 值)
高浓度	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
低浓度	6				
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12				
	13				
	14				
	15				
	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
	21				
	22				
	23				
	24				
	25				
	26				
	27				
	28				
	29				
	30				
	31				
	32				

	33				
	34				
	35				
	36				
	37				
	38				
	39				
	40				
	41				
	42				
	43				
	44				
	45				
对照组	46				
	47				
	48				
	49				
	50				

主要培养基生产厂家及批号：
1.
2.

主要仪器信息：
1.
2.

问题与建议：

验证人：_____

验证单位：（盖章）
年　　月　　日

附表 1

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心
验证项目：选择性分离培养基验证
验证结果：

菌株号	TCBS 上菌落特征	弧菌显色培养基上菌落特征	结果评价
溶藻弧菌 CICC10889	圆形、表面湿润光滑、大而扁平的黄色菌落，直径 2 mm～3 mm，起始部位可为绿色。	圆形、水润、白色菌落，直径 2 mm～3 mm，奶油状，有蔓延生长的趋势	生长旺盛、状态良好
粪便中分离菌株	圆形、表面湿润光滑、大而扁平的黄色菌落，直径 2 mm～3 mm，起始部位可为绿色。	圆形、水润、白色菌落，直径 2 mm～3 mm，奶油状，有蔓延生长的趋势	生长旺盛、状态良好

主要培养基生产厂家及批号：
1.TCBS 北京市陆桥公司 批号 220722
2. 弧菌显示培养基（HX）CHRO Magar 批号 P002736

主要仪器信息：
1.恒温培养箱，Thermo IGS 400，01-WJJ070
2./

问题与建议：/

验证人：赵凤玲 常馨 刘杨

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心（盖章）
2023 年 8 月 10 日

附表 2

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心
验证项目：包容性验证
验证结果：

序号	样本号	鉴定结果					
		生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	生化结果可信度（%）	质谱结果(拉丁文名称)	质谱评分	荧光 PCR 结果(阴性/阳性)	荧光 PCR(Ct 值)
1	2014290	Vibrio alginolyticus	99	Vibrio alginolyticus	9.055	阳性	14.99
2	2014291	Vibrio alginolyticus	97	Vibrio alginolyticus	9.189	阳性	14.59
3	2014296	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.311	阳性	15.26
4	2014364	Vibrio alginolyticus	99	Vibrio alginolyticus	9.518	阳性	15.48
5	2014369	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.417	阳性	16.85
6	2014366	Vibrio alginolyticus	90	Vibrio alginolyticus	9.335	阳性	17.46
7	2014371	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.027	阳性	17.68
8	2014376	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.160	阳性	20.42
9	2014388	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.204	阳性	17.07
10	2016307	Vibrio alginolyticus	88	Vibrio alginolyticus	9.149	阳性	16.03
11	2016322	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.281	阳性	17.48
12	2016325	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.489	阳性	17.35
13	2016309	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.325	阳性	16.97
14	2016324	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.535	阳性	16.58
15	2016328	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.509	阳性	14.89
16	2016310	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.566	阳性	16.65
17	2016320	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.509	阳性	15.63
18	2016311	Vibrio alginolyticus	88	Vibrio alginolyticus	9.122	阳性	16.73
19	2018066	Vibrio alginolyticus	90	Vibrio alginolyticus	9.002	阳性	16.21
20	2018091	Vibrio alginolyticus	97	Vibrio alginolyticus	9.198	阳性	17.14
21	2018052	Vibrio alginolyticus	86	Vibrio alginolyticus	9.112	阳性	17.33
22	2018071	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.418	阳性	14.13
23	2018096	Vibrio alginolyticus	86	Vibrio alginolyticus	9.322	阳性	20.88

24	2018213	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	8.183	阳性	20.37
25	2018076	Vibrio alginolyticus	99	Vibrio alginolyticus	9.137	阳性	18.75
26	2018081	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.271	阳性	16.61
27	2018078	Vibrio alginolyticus	98	Vibrio alginolyticus	9.465	阳性	18.74
28	2018253	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.216	阳性	17.77
29	RZ 质控球分离菌株	Vibrio alginolyticus	90	Vibrio alginolyticus	9.175	阳性	17.64
30	溶藻弧菌 CICC10889	Vibrio alginolyticus	99	Vibrio alginolyticus	9.396	阳性	16.42

结果评价：3 种鉴定方法都能很好地鉴定出 30 株溶藻弧菌。
因 6 月初-7 月底实验室防火改造，实验室烟尘比较大，对生化评分有些影响，但鉴定结果都可以接受（按照 VITEK 操作手册，可信度在 85%以上都是可以接受的结果）。

主要培养基生产厂家及批号：
1. 3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂 北京陆桥公司 批号 220617
2. VITEK GN 卡 梅里埃 批号 2412199503
3. 质谱样本预处理试剂 郑州安图生物 批号 20230605
4. Premix Ex TaqTM TAKARA 批号 AM92071A
5. 荧光 PCR 引物和探针为上海生工合成

主要仪器信息：
1. VITEK 微生物生化鉴定系统 梅里埃 VITEK2 COMPACT30 编号 01-WJF108
2. MALDI-TOF MS 安图 Autof MS1000
3. 荧光 PCR 仪 ABI-QuantStudio 5（美国赛默飞公司）编号 01-WJF195

问题与建议：/

验证人：赵凤玲 常馨 刘杨

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心（盖章）
2023 年 8 月 20 日

附表 3

《腹泻病人粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心
验证项目：排他性验证
验证结果：

序号	样本号	鉴定结果					
		生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	生化结果可信度（%）	质谱结果(拉丁文名称)	质谱评分	荧光 PCR 结果（阴性/阳性）	荧光 PCR（Ct 值）
1	大肠埃希氏菌 CICC23657	Escherichia coli	98	Escherichia coli	9.605	阴性	-
2	弗氏柠檬酸杆菌 CICC10404	Citrobacter freundii	98	Citrobacter freundii	9.476	阴性	-
3	产气肠杆菌 CICC10293	Enterobacter aerogenes	99	Klebsiella aerogenes	9.132	阴性	-
4	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CICC10869	Yersinia enterocolitica	99	Yersinia enterocolitica	9.522	阴性	-
5	肠炎沙门氏菌 CICC21513	Salmonella group	97	Salmonella sp.	9.582	阴性	-
6	鼠伤寒沙门氏菌 CICC21484	Salmonella group	93	Salmonella sp	9.463	阴性	-

7	福氏志贺菌 CICC10865	Shigella group	97	Escherichia coli	9.294	阴性	-
8	痢疾志贺菌 CICC23829	Shigella group	94	Escherichia coli	9.519	阴性	-
9	鲍氏志贺菌 CICC21680	Shigella group	99	Escherichia coli	9.390	阴性	-
10	宋内志贺菌 CICC23875	Shigella sonnei	98	Escherichia coli	9.528	阴性	-
11	金黄色葡萄球菌 CICC23656	Staphylococcus aureus	99	Staphylococcus aureus	9.534	阴性	-
12	金葡 2017189	Staphylococcus aureus	99	Staphylococcus aureus	9.513	阴性	-
13	金葡 2017190	Staphylococcus aureus	99	Staphylococcus aureus	9.612	阴性	-
14	蜡样芽胞杆菌 CICC23828	NA		Bacillus cereus	5.578	阴性	-
15	蜡样 2021081	NA		Bacillus cereus	6.273	阴性	-
16	蜡样 2021105	NA		Bacillus sp.	9.525	阴性	-
17	单增李斯特 CICC21635	Listeria monocytogenes	99	Listeria monocytogenes	9.005	阴性	-
18	单增 2021078	Listeria monocytogenes	99	Listeria monocytogenes	9.406	阴性	-
19	单增 2021079	Listeria monocytogenes	99	Listeria monocytogenes	9.452	阴性	-
20	单增 2021080	Listeria monocytogenes	99	Listeria monocytogenes	9.467	阴性	-

21	副溶血性弧菌 CICC21617	Vibrio parahaemolyticus	96	Vibrio parahaemolyticus	9.122	阴性	-
22	霍乱弧菌 CICC23789	Vibrio cholerae	95	Vibrio cholerae	9.554	阴性	-
23	河流弧菌 2019342	Vibrio furnissii	99	Vibrio furnissii	9.442	阴性	-
24	创伤弧菌 CICC21615	Vibrio vulnificus	97	Vibrio vulnificus	9.127	阴性	-
25	嗜水气单胞菌 2019186	Aeromonas hydrophila /cabiae	98	Aeromonas hydrophila	9.442	阴性	-
26	类志贺邻单胞菌 2012320	Plesiomonas shigelloides	97	Plesiomonas shigelloides	9.588	阴性	-

结果评价：三种鉴定方法对溶藻弧菌检验的排他性良好(生化对蜡样效果不好，质谱对志贺和产气肠杆菌效果不好)

主要培养基和试剂信息：

1. 哥伦比亚血琼脂平板 北京陆桥 批号 230601
2. VITEK GN 卡 梅里埃 批号 2412211403
   VITEK GP 卡 梅里埃 批号 2422359503
3. 质谱样本预处理试剂 郑州安图生物 批号 20230605
4. Premix Ex TaqTM TAKARA 批号 AM92071A
5. 荧光 PCR 引物和探针为上海生工合成

主要仪器信息：

1. VITEK 微生物生化鉴定系统 梅里埃 VITEK2 COMPACT30 编号 01-WJF108
2. MALDI-TOF MS 安图 Autof MS1000
3. 荧光 PCR 仪 ABI-QuantStudio 5（美国赛默飞公司）编号 01-WJF195

验证人：赵凤玲 常馨 刘杨

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心（盖章）

2023 年 8 月 20 日

附表 4

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心
验证项目：检出限验证
验证结果：

浓度类别	样本号	增菌液荧光 PCR 初筛结果		鉴定结果					
		阴性/阳性	（Ct 值）	生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	生化结果可信度（%）	质谱结果(拉丁文名称)	质谱评分	荧光 PCR 结果（阴性/阳性）	荧光 PCR（Ct 值）
高浓度	1	阳性	21.129	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.518	阳性	13.675
	2	阳性	22.300	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.627	阳性	15.627
	3	阳性	22.621	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.657	阳性	15.384
	4	阳性	21.720	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.648	阳性	15.658
	5	阳性	21.331	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.430	阳性	15.846
低浓度	6	阳性	25.254	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.657	阳性	16.124
	7	阴性	/	/		/	/	/	/
	8	阳性	24.635	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.760	阳性	17.232
	9	阳性	25.736	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.723	阳性	16.354
	10	阳性	25.437	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.669	阳性	16.747
	11	阴性	/	/		/	/	/	/
	12	阳性	24.720	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.492	阳性	15.621
	13	阳性	25.850	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.632	阳性	16.165
	14	阳性	24.982	Vibrio		Vibrio	9.742	阳性	16.234

				alginolyticus		alginolyticus			
	15	阳性	36.958	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.670	阳性	16.074
	16	阴性	/	/		/	/	/	/
	17	阴性	/	/		/	/	/	/
	18	阳性	21.309	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.659	阳性	15.936
	19	阳性	24.389	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.535	阳性	15.721
	20	阳性	25.267	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.617	阳性	15.492
	21	阳性	25.146	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.736	阳性	15.321
	22	阴性	/	/		/	/	/	/
	23	阳性	21.092	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.730	阳性	15.746
	24	阳性	30.256	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.678	阳性	15.924
	25	阳性	19.829	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.564	阳性	15.635
	26	阳性	25.724	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.599	阳性	15.283
	27	阳性	32.178	/	/	/	/	/	/
	28	阳性	25.329	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.710	阳性	15.236
	29	阳性	24.678	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.694	阳性	15.658
	30	阳性	24.324	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.628	阳性	16.271
	31	阴性	/	/		/	/	/	/
	32	阳性	24.236	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.480	阳性	16.426
	33	阳性	24.141	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.740	阳性	16.832
	34	阳性	22.875	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.643	阳性	15.635
	35	阳性	23.927	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.614	阳性	15.269
	36	阳性	26.098	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.705	阳性	15.147
	37	阴性	/	/		/	/	/	/
	38	阴性	/	/		/	/	/	/
	39	阳性	22.044	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.575	阳性	14.981

	40	阳性	19.657	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.592	阳性	15.636
	41	阳性	22.192	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.681	阳性	16.748
	42	阳性	26.257	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.640	阳性	15.237
	43	阳性	19.457	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.635	阳性	16.625
	44	阳性	24.632	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.534	阳性	16.324
	45	阳性	30.646	Vibrio alginolyticus		Vibrio alginolyticus	9.614	阳性	15.825
对照组	46	阴性	/	/		/	/	/	/
	47	阴性	/	/		/	/	/	/
	48	阴性	/	/		/	/	/	/
	49	阴性	/	/		/	/	/	/
	50	阴性	/	/		/	/	/	/

主要培养基信息（培养基名称、生产厂家、批号）：

1. 3%氯化钠碱性蛋白胨水，北京陆桥 230429
2. TCBS 琼脂，北京陆桥 220722
3. 3%氯化钠胰酪胨大豆琼脂，北京陆桥 220617
4. 弧菌显色培养基，科玛嘉 P002736
5. 质谱样本预处理试剂 郑州安图生物 批号 20230605
6. Premix Ex TaqTM TAKARA 批号 AM92071A
7. 荧光 PCR 引物和探针为上海生工合成

主要仪器信息（仪器名称、厂家及型号、单位编号）：

1. VITEK 微生物生化鉴定系统 梅里埃 VITEK2 COMPACT30 编号 01-WJF108
2. MALDI-TOF MS 安图 Autof MS1000
3. 荧光 PCR 仪 ABI-QuantStudio 5（美国赛默飞公司）编号 01-WJF195
4. 恒温培养箱，Thermo IGS 400，01-WJJ070

问题与建议：

验证人：赵凤玲 常馨 刘杨

验证单位：北京市通州区疾病预防控制中心（盖章）

2023 年 8 月 20 日

附表 4

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市疾病预防控制中心
验证项目：检出限验证
验证结果：

浓度类别	样本号	增菌液荧光 PCR 初筛结果		鉴定结果					
		阴性/阳性	Ct 值	生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	生化结果可信度（%）	质谱结果（拉丁文名称）	质谱评分	荧光 PCR 结果（阴性/阳性）	荧光 PCR（Ct 值）
高浓度	1	阳性	14.43	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.808	阳性	11.21
	2	阳性	14.14	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.932	阳性	11.35
	3	阳性	14.08	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.803	阳性	11.20
	4	阳性	14.31	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.923	阳性	11.47
	5	阳性	14.24	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.070	阳性	12.41
低浓度	6	阳性	14.13	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.774	阳性	12.41
	7	阳性	14.16	Vibrio alginolyticus	97%	Vibrio alginolyticus	1.814	阳性	11.10
	8	阳性	14.60	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.800	阳性	13.10
	9	阳性	14.68	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	1.845	阳性	11.76
	10	阳性	14.08	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.713	阳性	12.29
	11	阳性	14.38	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.849	阳性	11.88
	12	阳性	14.51	Vibrio alginolyticus	90%	Vibrio alginolyticus	1.745	阳性	11.02
	13	阳性	15.05	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.828	阳性	11.81
	14	阳性	14.17	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.775	阳性	11.33
	15	阳性	14.78	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.788	阳性	12.23
	16	阳性	15.13	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.770	阳性	11.64
	17	阳性	15.27	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.714	阳性	11.45

CS 扫描全能王

18	阳性	14.79	Vibrio alginolyticus	97%	Vibrio alginolyticus	1.788	阳性	12.20
19	阳性	14.99	Vibrio alginolyticus	93%	Vibrio alginolyticus	1.771	阳性	12.39
20	阳性	14.97	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.890	阳性	13.44
21	阳性	15.13	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.968	阳性	12.71
22	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
23	阳性	15.20	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.704	阳性	11.99
24	阳性	15.02	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.826	阳性	10.70
25	阳性	15.22	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.008	阳性	13.34
26	阳性	15.26	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.894	阳性	11.25
27	阳性	14.33	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.963	阳性	11.32
28	阳性	14.59	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.830	阳性	12.31
29	阳性	14.79	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	2.176	阳性	11.82
30	阳性	13.44	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.772	阳性	10.62
31	阳性	14.21	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.933	阳性	12.07
32	阳性	14.48	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.887	阳性	11.97
33	阳性	14.65	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.808	阳性	11.30
34	阳性	14.06	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	1.766	阳性	11.85
35	阳性	14.36	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.945	阳性	11.78
36	阳性	14.23	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.878	阳性	13.07
37	阳性	14.48	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.765	阳性	12.25
38	阳性	13.58	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.034	阳性	12.08
39	阳性	14.43	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.780	阳性	11.68
40	阳性	14.73	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.015	阳性	11.56
41	阴性	N/A	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.841	阳性	12.12

CS 扫描全能王

	42	阳性	14.79	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	1.967	阳性	12.53
	43	阳性	14.43	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.776	阳性	11.93
	44	阳性	14.31	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.774	阳性	11.53
	45	阳性	14.74	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	1.948	阳性	12.96
对照组	46	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	47	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	48	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	49	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	50	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/

主要培养基信息（培养基名称、生产厂家、批号）：
1. 3%氯化钠碱性蛋白胨水，北京陆桥 230429
2. TCBS 琼脂，北京陆桥 220722
3. TSA 琼脂，北京陆桥 211103
4. 弧菌显色培养基，科玛嘉 P002736

主要仪器信息（仪器名称、厂家及型号、单位编号）：
1. 高智能全自动细菌鉴定及药敏分析仪、梅里埃 BITEK2、BJCDCYQ-06338
2. 细菌快速鉴定飞行时间质谱仪、Bruker Microflex LT、BJCDCYQ-07960
3. 荧光高通量定量 PCR 仪、BIO-RAD CFX96、BJCDCYQ-07931
4. 恒温金属浴、杭州博日科技有限公司 HB-100、BJCDCYQ-07396

问题与建议：

验证人：王迪

验证单位：（盖章）

2023年 9 月 11 日

CS 扫描全能王

附表 4

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市顺义区疾病预防控制中心

验证项目：检出限验证

验证结果：

浓度类别	样本号	增菌液荧光 PCR 初筛结果		鉴定结果					
		阴性/阳性	(Ct 值)	生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	生化结果可信度(%)	质谱结果(拉丁文名称)	质谱评分	荧光 PCR 结果（阴性/阳性）	荧光 PCR (Ct 值)
高浓度	1	阳性	14.33	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.299	阳性	12.51
	2	阳性	14.12	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.246	阳性	11.65
	3	阳性	14.07	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.308	阳性	11.45
	4	阳性	14.56	Vibrio alginolyticus	95%	Vibrio alginolyticus	2.267	阳性	12.41
	5	阳性	14.14	Vibrio alginolyticus	90%	Vibrio alginolyticus	2.466	阳性	11.23
低浓度	6	阳性	14.65	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.215	阳性	11.46
	7	阳性	14.84	Vibrio alginolyticus	90%	Vibrio alginolyticus	2.211	阳性	12.40
	8	阳性	14.68	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.370	阳性	11.20
	9	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	10	阳性	14.65	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.445	阳性	11.39
	11	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	12	阳性	15.53	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.373	阳性	12.12
	13	阳性	15.99	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.360	阳性	12.11
	14	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	15	阳性	15.18	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.329	阳性	11.65
	16	阳性	15.45	Vibrio alginolyticus	98%	Vibrio alginolyticus	2.307	阳性	11.44
	17	阳性	15.17	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.286	阳性	11.21
	18	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	19	阳性	15.33	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.312	阳性	11.93
	20	阳性	15.26	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.407	阳性	12.15
	21	阳性	15.43	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.197	阳性	11.73
	22	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	23	阳性	15.23	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.372	阳性	12.14
	24	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	25	阳性	15.29	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.377	阳性	11.75
	26	阳性	15.66	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.325	阳性	11.47
	27	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	28	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	29	阳性	14.77	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.333	阳性	11.33

	30	阳性	15.42	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.311	阳性	11.26
	31	阳性	15.61	Vibrio alginolyticus	95%	Vibrio alginolyticus	2.255	阳性	10.99
	32	阳性	15.12	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.415	阳性	10.98
	33	阳性	15.98	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.367	阳性	12.00
	34	阳性	15.14	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.230	阳性	11.74
	35	阳性	14.99	Vibrio alginolyticus	97%	Vibrio alginolyticus	2.355	阳性	12.01
	36	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	37	阳性	15.18	Vibrio alginolyticus	96%	Vibrio alginolyticus	2.280	阳性	11.85
	38	阳性	15.28	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.267	阳性	11.97
	39	阳性	15.23	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.270	阳性	12.18
	40	阳性	15.13	Vibrio alginolyticus	97%	Vibrio alginolyticus	2.212	阳性	10.96
	41	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	42	阳性	15.19	Vibrio alginolyticus	99%	Vibrio alginolyticus	2.299	阳性	11.77
	43	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	44	阳性	14.31	Vibrio alginolyticus	97%	Vibrio alginolyticus	2.256	阳性	12.03
	45	阳性	15.24	Vibrio alginolyticus	97%	Vibrio alginolyticus	2.355	阳性	11.47
对照组	46	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	47	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	48	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	49	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/
	50	阴性	N/A	/	/	/	/	/	/

主要培养基信息（培养基名称、生产厂家、批号）：

1. 弧菌显色培养基（厂家：CHROMagar；批号：P002878）
2. TCBS 培养基（厂家：北京陆桥技术股份有限公司；批号：22070711）
3. 3%氯化钠碱性蛋白胨水（厂家：北京陆桥技术股份有限公司；批号：2203279）

主要仪器信息（仪器名称、厂家及型号、单位编号）：

1. 实时荧光 PCR 仪（厂家：Applied Biosystems；型号：QuantStudio7；单位编号：WA-Y003）
2. 飞行时间质谱（厂家：美国布鲁克公司；型号：Autoflex speed；单位编号：WB-Y001）
3. 全自动细菌鉴定仪（厂家：法国梅里埃公司；型号：VITEK2 compact；单位编号：WB-Y002）

问题与建议：无

验证人：李颖　王苗

验证单位：北京市顺义区疾病预防控制中心（盖章）

2023 年 09 月 12 日

附表 4

《腹泻粪便标本中溶藻弧菌检验》
验证报告

验证单位：北京市延庆区疾病预防控制中心
验证项目：检出限验证
验证结果：

浓度类别	样本号	增菌液荧光 PCR 初筛结果		鉴定结果					
		阴性/阳性	（Ct值）	生化结果（VITEK 报告拉丁文名称）	生化结果可信度（%）	质谱结果(拉丁文名称)	质谱评分	荧光 PCR 结果（阴性/阳性）	荧光 PCR（Ct 值）
高浓度	1	阳性	15.5	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.074	阳性	13.0
	2	阳性	15.3	Vibrio alginolyticus	94	Vibrio alginolyticus	9.279	阳性	12.0
	3	阳性	15.8	Vibrio alginolyticus	92	Vibrio alginolyticus	9.303	阳性	13.0
	4	阳性	15.8	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.342	阳性	12.5
	5	阳性	15.2	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.476	阳性	13.5
低浓度	6	阳性	26.3	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.335	阳性	14.3
	7	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	8	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	9	阳性	15.7	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.237	阳性	14.0
	10	阳性	25.4	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.008	阳性	12.0
	11	阳性	29.1	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.268	阳性	13.0
	12	阳性	15.6	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.426	阳性	13.0
	13	阳性	15.4	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.349	阳性	13.0
	14	阳性	28.1	Vibrio alginolyticus	94	Vibrio alginolyticus	9.162	阳性	14.5
	15	阳性	28.9	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.178	阳性	13.5
	16	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	17	阳性	25.4	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.188	阳性	15.6
	18	阳性	15.6	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.274	阳性	12.5
	19	阳性	26.4	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.053	阳性	12.5
	20	阳性	28.3	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.175	阳性	14.0
	21	阳性	29.7	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.130	阳性	13.5
	22	阳性	16.1	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.199	阳性	13.2
	23	阳性	15.8	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.002	阳性	13.0
	24	阴性	/	/	/	/	/	/	/

	25	阳性	26.4	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.122	阳性	16.3
	26	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	27	阳性	23.8	Vibrio alginolyticus	94	Vibrio alginolyticus	9.476	阳性	13.6
	28	阳性	24.8	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.425	阳性	12.0
	29	阳性	16.3	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.507	阳性	12.0
	30	阳性	26.6	Vibrio alginolyticus	95	Vibrio alginolyticus	9.531	阳性	13.5
	31	阳性	25.5	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.442	阳性	14.5
	32	阳性	30.3	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.002	阳性	13.5
	33	阳性	25.3	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.034	阳性	13.5
	34	阳性	28.4	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.518	阳性	14.0
	35	阳性	31.3	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.257	阳性	13.5
	36	阳性	26.5	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.189	阳性	14.0
	37	阳性	21.6	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.096	阳性	12.5
	38	阳性	24.6	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.157	阳性	15.0
	39	阳性	23.5	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.057	阳性	14.6
	40	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	41	阳性	32.0	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.415	阳性	12.0
	42	阳性	28.6	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.167	阳性	12.0
	43	阳性	22.6	Vibrio alginolyticus	94	Vibrio alginolyticus	9.537	阳性	13.8
	44	阳性	24.7	Vibrio alginolyticus	92	Vibrio alginolyticus	9.518	阳性	16.2
	45	阳性	22.6	Vibrio alginolyticus	93	Vibrio alginolyticus	9.335	阳性	15.4
对照组	46	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	47	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	48	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	49	阴性	/	/	/	/	/	/	/
	50	阴性	/	/	/	/	/	/	/

主要培养基信息（培养基名称、生产厂家、批号）：
1. 3%氯化钠碱性蛋白胨水，北京陆桥 230429
2. TCBS 琼脂，北京陆桥 220722
3. TSA 琼脂，北京陆桥 211103
4. 弧菌显色培养基，科玛嘉 P002736
5. 质谱样本预处理液，安图生物 20230207

主要仪器信息（仪器名称、厂家及型号、单位编号）：
1. 微生物培养箱，赛默飞，Scientific-CN IGS180，150
2. 实时荧光 PCR 扩增仪，赛默飞，QS7flex，F-157
3. 全自动微生物鉴定药敏分析仪，美国 BD，Phoenix M 50，F-168

问题与建议：无

验证人：崔玉娟 张莹

验证单位：（盖章）
2023 年 9 月 5 日