

SHIPIN WEISHENGWU JIANYAN JISHU
II SHEBEI CAOZUO ZHINAN



食品微生物检验技术 及设备操作指南

主 编 张 璟
副主编 胡晓宁



甘肃文化出版社

SHIPIN WEISHENGWU JIANYAN JISHU
JI SHEBEI CAOZUO ZHINAN



食品微生物检验技术 及设备操作指南

主 编 张 璟
副主编 胡晓宁



图书在版编目 (C I P) 数据

食品微生物检验技术及设备操作指南 / 张璟主编

— 兰州: 甘肃文化出版社, 2017. 8

ISBN 978-7-5490-1432-3

I. ①食… II. ①张… III. ①食品微生物—食品检验—指南 IV. ①TS207.4-62

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第211518号

食品微生物检验技术及设备操作指南

张璟 | 主 编

胡晓宁 | 副主编

责任编辑 | 王天芹

封面设计 | 苏金虎

出版发行 |  甘肃文化出版社

网 址 | <http://www.gswenhua.cn>

投稿邮箱 | press@gswenhua.cn

地 址 | 兰州市城关区曹家巷1号 | 730030(邮编)

营销中心 | 王 俊 贾 莉

电 话 | 0931-8454870 8430531(传真)

印 刷 | 甘肃北辰印务有限公司

开 本 | 787毫米×1092毫米 1/16

字 数 | 850千

印 张 | 28.25

版 次 | 2017年8月第1版

印 次 | 2017年8月第1次

书 号 | ISBN 978-7-5490-1432-3

定 价 | 88.00元

版权所有 违者必究(举报电话:0931-8454870)

(图书如出现印装质量问题,请与我们联系)

前言

近十年来,我国食品工业取得了举世瞩目的成绩,已成为国民经济中增长最快、最具活力和发展的经济增长点,但食品工业在满足人们对食品消费的同时,也引起了人们对食品安全的高度关注。我国政府历来重视食品安全,制定了《食品安全法》等一系列与食品安全相关的法律、法规。作为食品微生物检验工作者、食品从业人员和食品卫生监督工作者,更有责任和义务担当起食品安全的重任。目前,食品微生物检验技术已逐渐改变了传统的检验方法,新的检验技术为食源性疾病的诊断分析提供了更为快捷、更为精确的方法。检测机构的市场服务竞争加剧了检验仪器设备的更新换代。仪器的设计更加注重人性化、自动化、智能化、新设计组合、低污染和低成本。目前,全球的微生物检验仪器在技术上正朝向数字化、网络化、微型化方向发展。由于食品微生物检验技术的飞速发展对食源性疾病的诊断、治疗、检测、预后判断和健康评价起着越来越重要的作用。随着新型电子、计算机、生物信息、激光、精密仪器制造等先进技术的迅猛发展和应用,食品微生物检验仪器的更新换代也日新月异。因此,从事食品微生物检验的专业人员,了解现代食品微生物检验仪器的原理、使用和维修越发显得重要。本书是编者充分结合多年的食品微生物检验经验,立足于检验者的需求,侧重于提高检验者的实际检验操作技术及检验设备的使用,具有较强的适用性、典型性和可操作性。本书将内容分为五章:食品微生物实验室建设与管理;食品微生物基础检验技术及设备;细菌生化、药敏、毒素及血清学鉴定技术及设备;细菌分子生物学鉴定技术及设备;食品微生物检验设备的管理。总之,希望能通过对本书的学习,为食品生产、食品商检、卫生防疫的微生物学检验人员及相关人员提供学习和参考,为就业创造条件,为食品工业的发展、为人民群众的身体健康发挥作用。

参加本书编写的均为甘肃省疾病预防控制中心多年从事食品微生物检验工作的老师:张璟(第四章,21.25万字)、胡晓宁(第一章至第二章第二节、第五章,13.50万字)、权玉玲(第二章第三节至第六节的二,12.17万字)、董锟(第二章第六节的三至第十二节,13.04万字)、申艳琴(第三章第一节的一至五,12.55万字)、甘连军(第三章第一节的六,6.13万字)、马文杰(第三章第一节的七至第二节,6.34万字)。在此,对各位老师的辛勤付出表示衷心的感谢。由于编者水平有限,时间仓促,本书中难免出现不妥之处,恳请广大读者批评指正。

编者

2017年3月

目 录

第一章 食品微生物实验室建设与管理	001
第一节 食品微生物实验室基本设计	001
一、微生物实验室的整体设计思路	001
二、食品微生物洁净实验室的要求	004
第二节 食品微生物实验室使用与管理	006
一、微生物实验室的基本条件	006
二、检验员手册	007
三、微生物实验室各功能区的划分	008
四、微生物致病因子的溢洒处理	010
第三节 食品微生物实验室基本功能及设备配置	012
一、食品微生物实验室的基本功能	012
二、食品微生物实验室设备配置	013
第二章 食品微生物基础检验技术及设备	014
第一节 玻璃器皿及清洗设备	014
一、玻璃器皿的实验要求	014
二、超声清洗仪	020
第二节 实验室用水及纯水设备	022
一、实验室用水要求及纯水水质标准	022
二、纯水设备	028
第三节 培养基配制及设备	031
一、食品微生物检验常用培养基及配置要求	031
二、电子天平	035
三、红外加热炉	039
四、磁力搅拌器	042
五、pH计	044
六、水浴锅	049
七、自动培养基制备器、培养基分装仪	052



第四节 消毒灭菌基本知识及设备	054
一、消毒灭菌的基本知识	054
二、紫外线消毒器	058
三、臭氧发生器	061
四、高压蒸汽灭菌器	062
五、干烤灭菌器	068
第五节 微生物检验采样方法及采样设备	072
一、微生物检验采样方法及要求	072
二、空气微生物采样器	077
三、采样机器人	087
第六节 微生物无菌检验技术及检验设备	091
一、微生物无菌检验要求及细菌接种方法	091
二、生物安全柜	096
三、超净工作台	103
四、重量稀释仪	106
五、均质器	109
六、螺旋接种仪	112
七、微量移液器	115
八、膜过滤系统	119
九、红外线接种环灭菌器	124
十、免疫磁珠仪	126
第七节 细菌培养方法及设备	129
一、细菌培养方法概述	129
二、恒温培养箱	133
三、二氧化碳培养箱	136
四、厌氧需氧培养系统	138
第八节 细菌的形态学鉴定方法及设备	140
一、微生物的形态学鉴定方法	140
二、显微镜	144
三、革兰氏染色仪	147
第九节 菌落计数方法及设备	149
一、菌落计数方法概述	149
二、菌落计数器	152
第十节 冷藏冷冻设备	155

第十一节 菌株保存方法及设备	157
一、菌株保存方法概述	157
二、菌株真空冻干系统	163
第十二节 商业无菌及设备	166
第三章 细菌生化、药敏、毒素及血清学鉴定技术及设备	171
第一节 细菌生化及药敏鉴定	171
一、细菌生化鉴定方法概述	171
二、细菌药敏检测方法概述	186
三、细菌生化、药敏自动鉴定系统介绍	190
四、VITKE [®] 2 Compact全自动微生物鉴定/药敏分析系统	194
五、ATB Expression微生物鉴定/药敏分析仪	219
六、BD Phoenix [™] 全自动细菌鉴定/药敏系统	250
七、BIOMIC V3微生物数字图像分析系统	279
第二节 细菌毒素的检测及血清学鉴定	283
一、细菌毒素的检测及血清学鉴定概述	283
二、mini VIDAS全自动荧光免疫分析仪	292
三、Luminex 200流式荧光点阵分析仪	298
第四章 细菌分子生物学鉴定技术及设备	308
第一节 分子生物学技术在菌株鉴定中的应用	308
第二节 核酸提取技术及设备	310
一、核酸提取方法概述	310
二、全自动核酸提取工作站	315
第三节 PCR技术及PCR仪	317
一、PCR技术概述	317
二、普通PCR仪	319
三、实时荧光定量PCR仪	322
第四节 电泳技术及电泳仪	324
一、电泳技术概述	324
二、普通电泳仪	329
三、毛细管电泳仪	332
四、脉冲场凝胶电泳仪	334
第五节 凝胶成像系统	339
第六节 核酸测序技术及设备	342
一、核酸测序技术的发展及应用	342



二、核酸测序仪	346
第七节 基因芯片技术及设备	348
一、基因芯片技术及应用	348
二、基因芯片设备	351
第八节 微生物质谱鉴定技术及设备	352
一、质谱技术在微生物鉴定和生物学中的应用	352
二、VITEK MS全自动快速微生物质谱检测系统	355
三、MALDI-TOF基质辅助激光解吸电离飞行时间生物质谱仪	377
第五章 食品微生物检验设备的管理	406
第一节 大型设备管理的基本要求	406
一、大型仪器设备的购置	406
二、大型仪器设备的使用管理	407
第二节 微生物实验室设备使用管理相关制度	410
一、微生物实验室设备使用和维护制度	410
二、设备管理程序	411
三、量值溯源程序	414
四、期间核查程序	416
五、仪器设备使用管理相关记录表格	418
参考文献	440

第一章 食品微生物实验室建设与管理

第一节 食品微生物实验室基本设计

一、微生物实验室的整体设计思路

食品微生物实验室建设必须遵守国家有关法律、法规，从工作实际出发，正确处理好现状与发展、需要与可能的关系。必须坚持科学、合理、实用、节约的原则，根据服务人口数量、服务内容与需求量等因素，结合区域经济发展水平和卫生规划，在满足基本功能的同时，体现标准化、智能化、人性化的特点，适当考虑未来发展的需要，确定实验室建设规模。

现代化的食品微生物实验室在功能上涉及给水、排水、通风、排风、强电、弱电、空调、消防、废气废液处理、集中供气等复杂的工艺技术，同时要考虑环保、安全、可持续性发展等诸多因素，是一个复杂的系统工程，基本设计需要注意以下几个方面，如图1-1。



图1-1 现代化专业食品微生物检验实验室主要涉及的工艺技术

(一) 合理定位，科学规划

实验室定位是指预期要达到的水准。如实验室在国际、国内的定位或行业（系统）内的定位，实验室在所处地理区域的定位，在社会中的定位，例如行使政府职能、第三方检测、通用实验室或食品企业质量检测等。

实验室规划包括两个方面：一是实验室建筑规划，二是实验室工艺规划。实验室建筑规划包括建筑外观、风格、高度、园区布局等。实验室建设之前，调查实验室需求，确定整个实验室3~5年规划的过程，需要进行大量前期调研工作，既要明晰自身的需求和未来的发展方向又要广泛地考



察相关单位已建成的实验室，学习其经验和教训。实验室建设流程如图1-2。

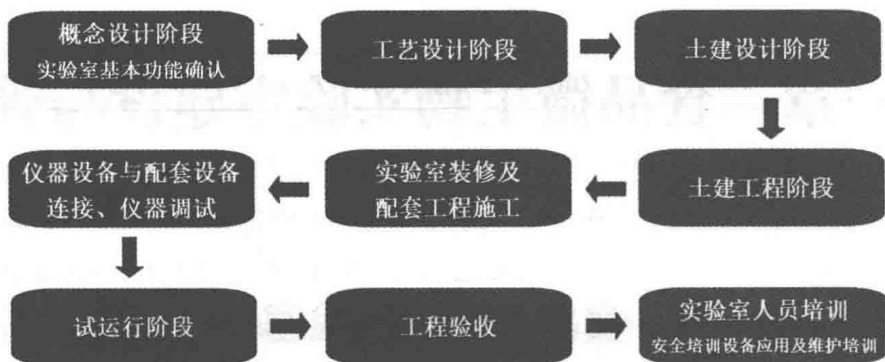


图1-2 实验室建设流程

(二) 实验室设计应先于土建设计

按照GB 50346-2011 生物安全实验室建筑技术规范的要求进行实验室设计，应充分考虑安装、调试、维护和升级等方面对建筑有着特殊要求。正确的实验室建设流程是首先进行实验室的工艺设计，然后在满足实验室工艺要求的前提下，进行实验室的土建设计。建设单位应在项目的土建设计阶段，就及时介入，多与专业的实验室设计方沟通。

(三) 实验室设计与承建单位的选择

实验室设计与承建单位应选择具有一定规模的企业，必须严格考察其设计、研发、生产和施工能力和资质水准。设计单位的设计人员应专业全面、经验丰富、认真负责、队伍稳定。承建单位最好在实验室所在地已承担过建设项目，这样比较熟悉当地情况，也便于施工和后续的维护工作。设计图纸完成后，最好请第三方机构和权威专家进行详细审核，以避免出现不合理的设计和重大缺陷。

(四) 实验室布局的设计

实验室应符合当地城市建设总体规划，其选址要充分考虑利用城市基础设施、地形规整，交通方便、避让饮用水源保护区、避开化学、生物、噪声、振动、强电磁场等污染源及易燃易爆场所。实验用房宜与办公等其他功能用房分开设置，不同类别实验室建筑宜独立设置，合理分区。实验室建筑宜处于最小风频上风向。如果各类实验用房集中在一个楼宇的，垂直布局由上至下宜按照毒理（包括动物实验室）、理化、微生物依次安排。业务、实验、行政及保障等各类功能用房集中在一个楼宇的，实验用房宜置于楼宇上部，楼层平面宜为中廊式。实验区位于楼层一端，垂直通道、实验人员办公及生活等其他区域位于楼层另一端，与实验有关的辅助用房可置于上述两个区域之间。实验室开间模数宜为3.5 m~4.0 m（以3.6 m为佳），进深宜为6.0 m~9.0 m。有洁净度、压力梯度、恒温恒湿等特殊要求的实验室净高宜为2.5 m~2.7 m。在确定建设高度时，应尽量扩大技术夹层的高度。实验室走廊净宽宜为1.6 m~2.0 m，普通实验室门宽以1.1 m~1.5 m（不对称双开）为宜；有缓冲间的实验室（包括无菌室、洁净实验室、生物安全实验室等结构复杂的实验用房），应留有隐蔽的设备门，供实验设备，尤其是大型设备的进出。

(五) 实验室配电系统

配电系统的设计在考虑现有仪器设备情况的同时也要考虑实验室几年的发展规划,也要充分考虑配电系统的预留问题及日后的电路维护等问题。实验室建筑的供电应留有足够的负荷余量,设施应安全可靠,一般采用双路供电,不具备双路供电条件的,应设置自备电源。有特殊要求的,应配备不间断电源。此外对于某些特殊的区域,如墙上的插座应充分考虑需求,例如样品室应留足冰箱的插座、预备离心机的插座、门口应预留自动鞋套机的插座、走廊两侧也应考虑到分布一些插座。

(六) 实验室弱电系统

实验室的弱电系统主要包括电话、监控、门禁、网络等,弱电系统预置后不可变更,不像强电线路一样可以根据所需更改。例如,网络接口应与墙插并列,高度应恰好高过实验台,这样方便日后使用。仪器室应预留足够多的网络接口,不要采用地插形式而应预留足够长的线头以方便仪器台安装时连接到台面网络接口。走廊如果很长,可以在远端预留电话线,方便工作时接打电话,无菌室内外由于隔音效果较好,应预设对讲电话,便于沟通。门禁系统应设在每层实验室的主入口处或其他需要控制出入的地方。

(七) 实验室通排风系统和空调系统

实验室通排风系统是整个实验室设计和建设过程中规模最大、影响最广泛的系统之一。通排风系统完善与否,直接对实验室环境、实验人员的身体健康、实验设备的运行维护等方面产生重要影响。通排风系统完善的实验室,应该是环境和谐、安全、健康的工作场所。实验室噪音、房间的换气次数、压差、通风柜有毒气体残留等都是值得关注的问题。另外,样品室和试剂室也应考虑有通排风设备,以免样品带来的异味影响环境;一个现代化的实验室,应设计新风系统;通风柜前方的新风口散流器应采用可以调节方向的活动式百叶设计,以避免冬夏季节外界冷热空气直接吹向操作者。

空调系统不仅仅是控制实验室的温湿度,同时还应与实验室通风系统配合,才能真正有效地保证实验室的温湿度和房间压差,给人员和精密仪器有一个良好的工作环境。食品微生物实验室空调系统应采用独立新风、回风与排风通风系统,实验室所在的整栋大楼若采用中央空调则一定要能够进行分区域、分时段的模块式管理,以避免加班时因不能正常使用空调而影响仪器的检测性能。实验室通风柜的排风系统宜独立设置,即一柜一管一风机系统,不宜共用风道,不得借用消防风道。实验用房在外墙上应预留潜藏的侧送侧排风口。极端天气情况下,应能确保样品室、气瓶室、超低温冰箱室、精密仪器室、不间断电源室等对温度要求高的区域保持24 h的恒定温度调节。

(八) 实验室室内装修细节

实验室的墙面应采用表面吸附性小、清洗方便的建筑材料。实验室的地面应采用耐腐蚀、耐磨损、易冲洗的建筑材料。洁净实验室、生物安全防护实验室以及其他有特定要求的实验室地面材料还应满足整体无缝隙的要求。实验室的天花应采用小方格的扣板形式,而不应采用大块的整体结构,这样便于施工和后期维护。实验室采取透明化分隔时,应采用不低于1 m的实墙。实验室外窗不宜采用有色玻璃,以免在实验时造成色觉判断误差。对有避光要求的实验室应另行采取物理



屏障措施。实验室若要达到最佳的视觉效果，配色也是一个考虑的方面。

(九) 实验室消防系统

实验楼的建筑耐火等级不应低于二级，消防设施的设置应符合国家有关建筑防火设计规范的规定。实验室设计要根据实验室的具体情况（设备投资及工艺特点、实验工艺要求、储存样品和试剂的种类、实验室建筑物的特点等），采用不同的消防措施来保障实验室的消防安全。如对于精密仪器室和无菌室、配电室、不间断电源室而言，其消防就不能采用自动喷淋装置，而应采用气体灭火装置，以避免自动喷淋装置损坏仪器设备或破坏洁净环境。实验室建筑的抗震设防类别不应低于乙类建筑。实验楼应设置完善的防雷系统。

(十) 实验室给排水系统

排水系统的管道应耐酸碱腐蚀及有机试剂对材质的溶解，应采用PPR或其他材质，而不能用普通的PVC管材，同时也要根据污水的性质、流量、排放规律并结合室外排水条件而确定方案。由于大型实验室下水管道复杂，应采取必要措施避免管道堵塞渗漏，如养成良好的用水习惯、放置滤网、设置存水弯、弯头采用45°角连接等。集中供水系统由于成本较高，水质不稳定，因此不推荐使用。为了避免二次污染，可采用感应式水龙头，缺点是容易坏。为了美观，热水器可采用内置式的即热式电热水器。高度超出城市给水管网水压范围的实验楼，给水系统宜设置变频恒压供水装置。实验废水应设污水处理装置或采取有效处理措施，具备有效去除酸、碱、重金属、有机溶剂及杀灭致病微生物的功能，水质达到污水排放标准。装置结构应设调节池、物化处理单元、生化处理单元及消毒单元。

(十一) 实验室家具的选择

实验室家具的选择首先应考虑能充分满足工作所需，主要涉及台面材质、柜体结构与材质、颜色搭配等要素。面材应具备耐腐蚀、易清洗、防火的特点，例如前准备间应采用耐酸碱的陶瓷板台面、仪器室应采用理化板台面等。台柜的结构主要分为钢木、铝木、全钢三种，实验台的支架又可分为C形、回形，应根据各个单位的需求而定。充分考量每个房间台柜的布局、种类、数量，边台、中央台、高柜、吊柜等应搭配得当，避免造成日后工作的不便。微生物实验室洗手水嘴宜使用非触摸式；实验室水槽、下水管道应耐酸、碱及有机溶剂，并采取防堵塞、防渗漏措施。存在生物危险因素的微生物实验室污染区不得设置地漏。此外，还有一些细节也应考虑，例如电脑位置合理配置，以避免将来使用的不便。

二、食品微生物洁净实验室的要求

食品、水质微生物检验室以洁净实验室为主。其中无菌试验应在100级洁净无菌室检验，食品水质微生物检验应在1000级无菌室检验。食源性疾病分离和鉴定实验室、霉菌分离和鉴定实验室应在生物安全2级实验室进行。动物实验观察为生物安全1级实验室。实验室设计基本思路为经济、实用。净化要求级别为万级以上的实验室设计有一更、二更、风淋和缓冲等实验前的准备工作区域。采用人流、物流分开原则，以减少实验污染，保证安全。洁净实验室结构单元设计要求如图1-3。

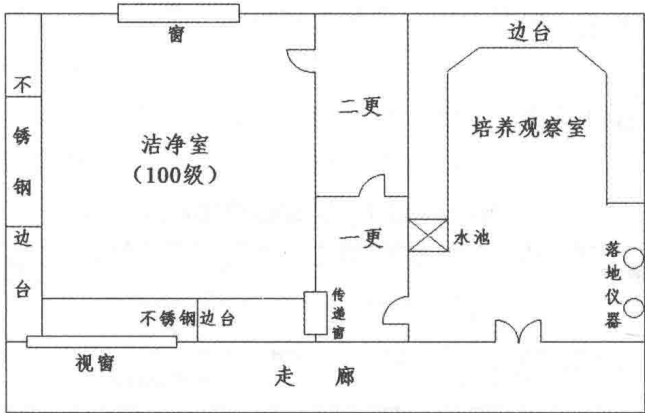


图1-3 洁净实验室结构单元设计要求

(一) 洁净实验室基本特征

- 1. 布置紧凑、合理，满足了实验室操作和空气洁净度等级要求，同时体现科学性与经济性的原则，考虑实验室要求和发展及运行费用最优。
- 2. 洁净室入口处设置风淋室，能有效清除人体所带灰尘，减少洁净室的灰尘量，同时风淋室也起到了气闸的作用，防止不洁净空气由门进入洁净区。
- 3. 洁净室设紫外灯杀菌装置。
- 4. 传递窗为全不锈钢材质，机械连锁控制，内带灭菌装置。
- 5. 观察窗为密闭洁净窗，门为气密洁净门。

(二) 洁净室空气净化系统特征

洁净室空气净化系统采取三级过滤，每级极差3-4级。送风口装有高效过滤静压箱，以实现进气洁净，另外更换高效过滤器比较方便。一般室内送排风采用上送下排方式，室内排风口应设在室内污染风险最高的区域，单侧布置，不得有障碍。洁净室需向室内供给一定比例的新鲜空气，净化过滤后进入各实验室以补偿排风，保证正压及工作人员需要。回风口由余压阀自动调节室内压力，保持正压洁净状态。风量回风次数采用风量调节阀对不同要求洁净级别的区域进行控制，以及压强梯度的调节，保证气流由“清洁”区域流向“污染”区域，洁净室不同级别之间压差为 $\geq 5\text{ pa}$ ，洁净室与室外压差为 $\geq 10\text{ pa}$ 。洁净室空气净化系统的原理如图1-4。

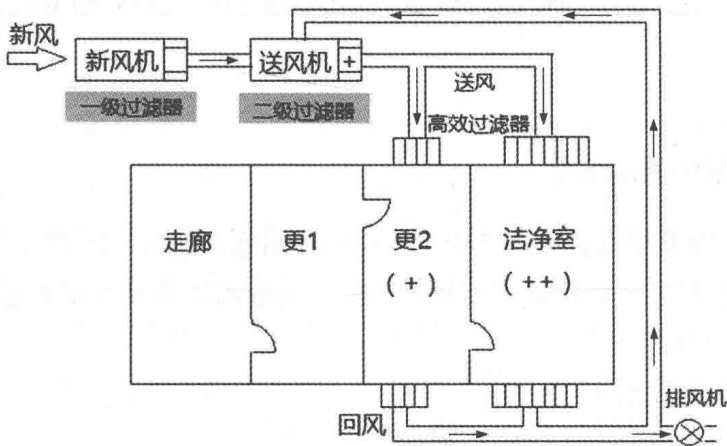


图1-4 洁净室空气净化系统原理



(三) 洁净实验室技术参数

1. 噪声： ≤ 50 dB。
2. 温/湿度见表1-1。

表1-1 洁净实验室温/湿度要求

温度		湿度	
冬季	夏季	冬季	夏季
16℃-20℃	18℃-28℃	30%-50%	60%-70%

3. 新风量：要满足洁净室最小新风量、满足洁净室正压要求的最小新风量、满足个人所需最小新风量之和。保证供给洁净室内每人每小时的新鲜空气量不小于 40 m^3 。
4. 压差：洁净区与非洁净区之间的压差应不小于 5 Pa ，洁净区与室外的压差应不小于 10 Pa 。
5. 配电：有自备电源或不间断电源供电，持续保证洁净实验室正常供电。
6. 照度：洁净室的照明一般要求亮度高。但灯具安装的数量受到送风口数量和位置等条件的限制。这要求在达到统一照度值情况下，安装的灯具的个数最少。一般采用荧光灯作为照明光源。一般照明的最低照度取 350 lx ，平均在 500 lx 。洁净室内一般照度均匀度不应小于 0.7 。
7. 空气净化级别见表1-2。

表1-2 净化级别表

等级	静态空气洁净度		浮游菌	沉降菌	自净换气数
	级别	$\geq 0.5\text{ }\mu\text{m}$ 的微粒数/ m^3	菌落数/ m^3	菌落数/ $30\text{ min}\cdot\varphi 90\text{ 皿}$	
I	100	≤ 3500	≤ 5	≤ 1	>100
II	1000	≤ 35000	≤ 75	≤ 2	55
III	10000	≤ 350000	≤ 150	≤ 3	30

第二节 食品微生物实验室使用与管理

一、微生物实验室的基本条件

食品微生物检验实验室要求高度清洁卫生，房屋的墙壁和地板，使用的各种家具都要符合便于清洗的要求。微生物检验室应具备保证显微镜、微生物分离培养及其基本化学实验顺利进行的基本条件。具体应有以下要求。

1. 光线明亮，且避免阳光直射室内。
2. 洁净无菌，地面及四壁平滑，便于清洁和消毒。
3. 配有纱窗，可防蚊蝇、小虫的袭扰。

4. 配有空调设备及防风、防尘设备,保证温度适宜,空气清新。
5. 应有安全、适宜的电源和安全、充足的水源。
6. 具备整洁、稳固、适用的实验台,台面以耐酸碱、防腐蚀的黑胶板为宜。
7. 应设有相应的橱柜,用于显微镜及常用工具、药品的存放。
8. 检验室的工作区域应与办公室区域明显分开。
9. 一般样品检验应在洁净区域(包括超净工作台或洁净实验室)进行,洁净区域应有明显的标识。
10. 病原微生物分离鉴定工作应在二级生物安全实验室(Biosafety level 2, BSL-2)进行。

二、检验员手册

微生物检验员应谨记检验对象可能有病原微生物,如果不慎发生意外,不仅自身招致污染,而且可能造成病原微生物的传播。为了做好工作,并保证安全,应做到以下几点。

1. 随身物品勿带入检验室,必需的文具、实验数据、笔记本等带入后要远离操作部位。
2. 进入检验室应穿工作服,自检验室进入无菌室时要戴口罩、工作帽,换专用鞋。
3. 不在检验室内接待客人,不抽烟,不饮食,不用手抚摸头部、面部。
4. 样品检验前应登记生产日期、批号,详细记录样品检验序号、检验日期、检验程序和结果。
5. 室内应保持整洁,样品检验完毕后及时清理桌面。凡是要丢弃的培养物应经高压灭菌后处理,污染的玻璃仪器高压灭菌后再洗刷干净。
6. 接种环用前用后均需火焰灭菌,吸过菌液的吸管、沾过菌液的玻片等用后,要浸泡在盛有3%来苏水或5%石炭酸溶液的玻璃筒内。其他污染的试管、玻皿等必须盛于指定的容器内,经灭菌后再洗涤晾干。
7. 如有病原微生物溢洒,按照本节“微生物致病因子的溢洒处理”部分处理。
8. 易燃化学品如酒精、二甲苯、醚、丙酮等应远离火源,妥为保存。易挥发性的药品如醚、氯仿、氨水等,应放在冰箱内保存。
9. 贵重仪器,在使用前应加以检查。使用后要登记使用日期、使用人员、使用时间等。
10. 工作完毕,要仔细检查烘箱、电炉是否切断电源,自来水开关是否拧紧,培养箱、电冰箱的温度是否正常,门是否关严,所用器皿、试剂是否放回原处,工作台是否用消毒液抹拭等。
11. 离开检验室前一定要用肥皂把手洗净,脱去工作衣、帽、专用鞋。关闭门窗以及水、电、气等开关,以确保安全。

12. 几种意外情况的处理

- (1) 遇火险,立即关闭电源开关、天然气(煤气、液化气)开关,如果酒精、乙醚、汽油着火,切勿用水,应以沙土灭火(实验室应备有防火沙包)。
- (2) 皮肤破伤,先除尽异物,用蒸馏水或生理盐水洗净后,涂以2%碘酒。
- (3) 灼烧伤,涂以凡士林油、5%的鞣酸或2%的苦味酸。
- (4) 化学药品腐蚀伤,若为强酸腐蚀,先用大量清水冲洗,再用5%碳酸氢钠或氢氧化铵溶液洗涤中和之;若为强碱腐蚀,用大量水冲洗后,再用5%醋酸或5%硼酸溶液洗涤中和之。若是眼部受伤,经上述步骤处理后,最后滴入橄榄油或液体石蜡1~2滴。如有污染物进入嘴内,要立即吐出,并以大量清水漱口,切勿使漱口水咽下,必要时可服用有关药物,以防发生感染。病原微生物



物污染工作服时，应立即脱下，并用高压蒸汽灭菌器消毒。

三、微生物实验室各功能区的划分

微生物实验室根据功能可划分为准备室、灭菌室、无菌室、恒温培养室和普通实验室五部分组成。

(一) 准备室

准备室用于配制培养基和样品处理等。室内设有试剂柜、存放器具或材料的专柜、实验台、电炉、冰箱和上下水道、电源等。对于较大的食品微生物实验室可另设洗涤间用于洗刷器皿等。室内应备有加热器、蒸锅，洗刷器皿用的盆、桶等，还应有各种瓶刷、去污粉。

(二) 灭菌室

灭菌室主要用于培养基的灭菌和各种器具的灭菌，室内应备有高压蒸汽灭菌器、烘箱等灭菌设备及设施。

(三) 无菌室或洁净室

1. 培养室的设置

(1) 培养室应有内、外两间，内室是培养室，外室是缓冲室。房间容积不宜大，以利于空气灭菌，内室面积在 $3.2 \times 4.4 = 14.08 \text{ m}^2$ 左右，外室面积在 $3.2 \times 1.8 = 5.58 \text{ m}^2$ 左右，高以2.5 m左右为宜，都应有天花板。

(2) 分隔内室与外室的墙壁上部应设带空气过滤装置的通风口。

(3) 为满足微生物对温湿度的需要，需安装恒温恒湿机。

(4) 内外室都应在室中央安装紫外线灯，以供灭菌用。

2. 培养室内设备及用具

内室通常配备各类培养箱、培养架、培养盒。外室应有专用的工作服、鞋、帽、口罩、手持喷雾器和5%石炭酸溶液、70%酒精棉球等。

3. 培养室的灭菌、消毒

同无菌室的灭菌、消毒措施。小规模的培养可不启用恒温培养室，而在恒温培养箱中进行。

(四) 恒温培养室

无菌室也称接种室，是接种、纯化菌种等无菌操作的专用实验室。在微生物工作中，菌种的接种移植是一项主要操作，这项操作的特点就是要保证菌种纯种，防止杂菌的污染。在一般环境的空气中，由于存在许多尘埃和杂菌，很易造成污染，对接种工作干扰很大。

1. 无菌室的结构设置

无菌室应根据既经济又科学的原则来设置。其基本要求有以下几点：

(1) 无菌室应有内、外两间，内间是无菌室，外间是缓冲室。房间容积不宜过大，以便于空气灭菌。最小内间面积 $2 \times 2.5 = 5 \text{ m}^2$ ，外间面积 $1 \times 2 = 2 \text{ m}^2$ ，高以2.5 m以下为宜，都应有天花板。

(2) 内间应当设拉门，以减少空气的波动，门应设在离工作台最远的位置上；外间的门最好也用拉门，要设在距内间最远的位置上。

(3) 在分隔内间与外间的墙壁或“隔扇”上，应开一个小窗，作接种过程中必要的内外传递物

品的通道,以减少人员进出内间的次数,降低污染程度。小窗宽60 cm、高40 cm、厚30 cm,内外都挂对拉的窗扇。

(4) 无菌室容积小而严密,使用一段时间后,室内温度很高,故应设置通气窗。通气窗应设在内室进门处的顶棚上(即离工作台最远的位置),最好为双层结构,外层为百叶窗,内层可用抽板式窗扇。通气窗可在内室使用后、灭菌前开启,以流通空气。有条件可安装恒温恒湿机。

2. 无菌室内设备和用具

(1) 无菌室内的工作台,不论是什么材质、用途的,都要求表面光滑和台面水平。

(2) 在内室和外室各安装一个紫外灯(多为30 W)。内室的紫外灯应安装在经常工作的座位正上方,离地面2 m,外室的紫外灯可安装在外室中央。

(3) 外室应有专用的工作服、鞋、帽、口罩、盛有来苏儿水的瓷盆和毛巾、手持喷雾器和5%石炭酸溶液等。

(4) 内室应有酒精灯、常用接种工具、不锈钢制的刀、剪、镊子、70%的酒精棉球、工业酒精、载玻璃片、特种蜡笔、记录本、铅笔、标签纸、胶水、废物筐等。

3. 无菌室工作规程

(1) 无菌室内墙壁应光滑,尽量避免死角,便于洗刷消毒。

(2) 应保持密封、防尘、清洁、干燥。操作时尽量避免走动。

(3) 室内设备简单,禁止放置杂物。

(4) 工作台、地面和墙壁应用新洁尔灭或过氧乙酸溶液擦洗消毒。

(5) 无菌室内应备有专用开瓶器、金属勺、镊子、剪刀、接种针、接种环,每次使用前后应在酒精灯火焰上烧灼灭菌。

(6) 杀菌前做好一切准备工作,然后用紫外线杀菌灯进行空气消毒。开灯照射30min后方可进入室内工作。

(7) 无菌室内应备有盛放3%来苏水或5%石炭酸溶液的玻璃缸,内浸纱布数块;备有75%酒精棉球,用于样品表面消毒及意外污染消毒;无菌室每次使用前后,用紫外灯照射。

(8) 工作中应注意安全。如遇棉塞着火,用手紧握或用湿布包裹熄灭,切勿用嘴吹,以免扩大燃烧;如遇有菌培养物洒落或打碎有菌容器时,应用浸润5%石炭酸的抹布包裹后,并用浸润5%石炭酸的抹布擦拭台面或地面,用酒精棉球擦手后再继续操作。

(9) 根据无菌室的净化情况和空气中含有的杂菌种类,可采用不同的化学消毒剂。如果霉菌较多,先用5%石炭酸全面喷洒室内,再用甲醛熏蒸;如果细菌较多,可采用甲醛与乳酸交替熏蒸。一般情况下,也可酌情间隔一定时间用2 mL/m³甲醛溶液或20 mL/m³丙二醇溶液熏蒸消毒。

4. 无菌室的熏蒸消毒

(1) 熏蒸:这是无菌室彻底灭菌的措施。无菌室使用了较长时间,污染比较严重时,应进行熏蒸灭菌,主要采取甲醛熏蒸消毒法,方法如下:

1) 加热熏蒸按熏蒸空间计算量取甲醛溶液,盛在小铁筒内,用铁架支好,在酒精灯内注入适量酒精,将室内各种物品准备妥当后,点燃酒精,关闭门窗,任甲醛溶液煮沸挥发。酒精灯内酒精的量最好能在甲醛溶液蒸发完后即自行熄灭。

2) 氧化熏蒸准备一瓷碗或玻璃容器,称取高锰酸钾(甲醛用量的1/2)倒入,另外量取定量的甲醛溶液,室内准备妥当后,把甲醛溶液倒在盛有高锰酸钾的器皿内,立即关门。几秒钟后,甲