



国家示范性高职院校重点建设专业系列教材

食品微生物检验技术

shi pin wei sheng wu jian yan ji shu

(食品类专业用)

罗红霞 主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

国家示范性高职院校重点建设专业系列教材

食品微生物检验技术

(食品类专业用)

罗红霞 主编

中国农业大学出版社
· 北京 ·

内 容 简 介

《食品微生物检验技术》是高职高专国家级示范校建设教改教材系列之一。本书围绕高职高专食品类专业食品加工、食品检验岗位(岗位群)的培养目标,在能力本位、就业导向、工学结合职业教育新理念的指导下,以任务驱动的方式阐述了食品微生物检验技术的基础知识与实际操作技能。在编写过程中适当压缩了理论部分内容,扩大了案例分析、国家最新检测标准等实际应用方面的内容,对操作经验及采样及结果分析、微生物检验实验室管理内容做了适当介绍。内容主要包括:食品微生物检测岗前培训、食品微生物检验样品的采集与处理、微生物的显微镜检验、微生物基本操作技术、菌落总数检验、大肠菌群测定、霉菌和酵母检验、食品中常见致病菌及其检测、食品中抗生素残留及其检验、食品微生物的快速检测方法。

本教材适合食品、农产品、水产品等专业检验类课程使用。教材注重培养学生的动手能力和实践创新能力,也可供企事业单位相关人员作为培训教材使用。

图书在版编目(CIP)数据

食品微生物检验技术/罗红霞主编. —北京:中国农业大学出版社,2010.11
ISBN 978-7-5655-0096-1

I. ①食 II. ①罗… III. ①食品微生物-食品检验-高等学校:技术学校-教材 IV. ①TS207.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 174380 号

书 名 食品微生物检验技术

作 者 罗红霞 主编

策划编辑 陈阳 伍斌

封面设计 郑川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路2号

电 话 发行部 010-62731190,2620

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2010年11月第1版 2010年11月第1次印刷

规 格 787×980 16开本 11.25印张 203千字

定 价 19.00元

责任编辑 陈阳

责任校对 王晓凤 陈莹

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出版部 010-62733440

e-mail: cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编审人员

- 主 编** 罗红霞(北京农业职业学院)
- 副主编** 王 建(北京农业职业学院)
王 芳(北京农业职业学院)
许文涛(农业部农产品质量监督检验测试中心)
- 参 编** 李春平(北京农业职业学院)
郭慧媛(中国农业大学)
隋 欣(北京三元食品股份有限公司)
刘爱萍(蒙牛乳业(北京)股份有限公司)
- 主 审** 任发政(中国农业大学)
肖海峻(北京农业职业学院)

前 言

在我国大力发展高等职业教育的今天,深化对高职高专课程体系和教学内容的改革与创新,是实现人才培养目标的核心内容。本教材按照食品加工与食品检验相关专业的高职高专教育要求,本着力求适应社会行业需求,内容符合“必需、够用、实用”同时兼顾学生知识和技能拓展的原则编写本教材,为此,《食品微生物检验技术》在编写过程中贯穿了以下指导思想:

1. 结构设计突出“任务”与“问题”引导。各部分学习内容以“工作任务”形式组织,每一任务以案例开篇,由案例引导出“问题”,以引导学生对学习内容相关的现实问题进行思考,并由此认识到所要学习内容的应用场合。接着给出一个模拟场景向学生下达“工作任务”单,工作任务单中出现这一部分学习内容的具体指标,激发学生好奇心和学习兴趣。这样的设计改变了传统教材直接灌输理论知识的方式,使学生在在学习之前有很强针对性。后续的基础理论知识以“学习资料”的形式出现,主要针对“工作任务”而设计。理论学习完成后的项目实施部分能够让学生亲自动手,并最终完成项目。这样的设计让学生在在学习过程中感受到工作的成就感与学习的乐趣,不仅可以提高学习效率,而且为以后的实际工作打下理论和实践的基础。

2. 突出检验程序的“标准”。食品微生物检验是项严肃的工作,其检验结果是决定食品“合格”还是“不合格”的一项指标,因此也决定了产品是“销售”还是“放弃”,在一定程度上也就决定了企业是“盈利”还是“亏损”。为此,食品检验结果的准确、有效至关重要。本教材引用的检验程序都出自当前最新版的相关“国家标准”和规定,在确保检验权威性的同时也让学生意识到“国标”等相关法规、标准的重要性,培养学生以后工作中随时紧跟最新“标准”的意识。

3. 突出了学习内容与实际的结合。教材编写过程中力求工作任务与实际工作情景一致,为此,编者与食品企业检验人员、农业部农产品质量监督检验测试中心检验室人员进行合作,引入最新的检测方法及实际操作手段。

《食品微生物学检验技术》由北京农业职业学院罗红霞教授主编。本书力求体现我国职业教育最新发展方向,反映食品微生物检验课程体系的最新成果。全书凝聚了众多专业人士的智慧与经验,同时也得到了北京农业职业学院、农业部农产品质量监督检验测试中心、北京三元食品股份有限公司等单位领导的关怀和悉心指导。本书书稿完成后,承蒙中国农业大学任发政教授、北京农业职业学院肖海峻

副教授对书稿进行了审阅,提出了许多宝贵意见。本书工作任务一、任务四由北京农业职业学院罗红霞、王芳编写;任务二由农业部农产品质量监督检验测试中心许文涛编写;任务五、任务六和任务七由北京农业职业学院李春平和蒙牛乳业(北京)股份有限公司刘爱萍高工编写,任务三、任务八和任务九由北京农业职业学院王建和北京三元食品股份有限公司隋欣高工编写,任务十由中国农业大学郭慧媛老师编写。

由于编者水平有限,时间仓促,书中难免有疏漏与不足之处,真诚希望广大师生和读者批评指正。

编 者

2010年5月

学习指南

本课程对应工种:食品检验工

学习相关网站及图书资料

【资料】

食品安全国家标准 GB 4789 系列 2010 版

【网站】

北京市质量技术监督局 <http://www.bjtsb.gov.cn/>

北京出入境检验检疫局 <http://www.bjciq.gov.cn/>

食品伙伴网 <http://www.foodmate.net>

食品商务网 <http://www.21food.cn>

工作任务一	微生物检测岗前培训	1
工作任务二	食品微生物检验样品的采集与处理	15
工作任务三	微生物的显微镜检验	28
项目一	显微镜的使用	29
项目二	细菌标本片的制作	35
项目三	真菌标本片的制作	45
工作任务四	微生物基本操作技术	51
项目一	培养基制备	53
项目二	细菌的分离纯化与转种	62
项目三	细菌培养	67
项目四	细菌的菌落特征观察	70
项目五	微生物的菌种保藏技术	73
工作任务五	菌落总数检验	77
工作任务六	大肠菌群测定	86
工作任务七	霉菌和酵母检验	95
工作任务八	食品中常见致病菌及其检测	109
项目一	沙门氏菌检验	111
项目二	金黄色葡萄球菌检验	123
项目三	单核细胞增生李斯特氏菌	131
工作任务九	食品中抗生素残留及其检验	139
工作任务十	食品微生物的快速检测方法	148
附录一	食品微生物检验相关国家标准	156
附录二	常用染色剂、培养基配制	158
参考文献	169

工作任务一 微生物检测岗前培训

知识目标

1. 了解食品微生物检验相关的法律法规(国家标准、操作规范)。
2. 掌握食品微生物检验的基本要求。

能力目标

1. 掌握实验器具与试剂消毒灭菌方法。
2. 初步掌握实验室无菌操作规程。

案例分析 细菌性食源性疾病的溯源工作

近年来,在世界范围内食品安全恶性事件频频发生,食源性疾病的发生率居高不下,食源性疾病和食品污染已经构成了一个巨大的不断扩大的世界性公共卫生问题,严重影响了公众的身体健康、社会稳定和经济发展,是各国政府必须面对并亟须解决的重大问题。据WTO统计,全球每年发生40亿~60亿例食源性腹泻,仅发展中国家就有180万人口死于此病,即便是工业化国家也有30%以上的人群患食源性疾病,而发展中国家食源性疾病的漏报率高达95%以上,我国目前掌握的食物中毒数据仅为我国实际发生的食源性疾病的“冰山一角”。

食源性疾病是由于食用或饮用了被污染的食品而引发的疾病。目前,人类已明确的食源性疾病有200多种,其中绝大部分是由微生物引起的。1992—2001年全国食源性疾病致病因素分析显示,由微生物引起的有2221件,占总的食源性疾病发生件数的38.5%;患病人数达82888人,占总患病人数的50.9%,发病率为1.4/10万,死亡141人,死亡率为0.17%。

【问题】

1. 什么是细菌性食源性疾病?

2. 食品微生物检测有何现实意义?
3. 生活中如何尽量避免细菌性食物中毒?

一、工作任务

北京“雪瑞”食品公司拟建立食品微生物检验室,对其生产过程及产品卫生进行全方位检验,以保证其食品安全。请你就实验室流程基本要求、无菌室建设以及人员操作基本要求查找相应国家标准、法规资料,按照表 1.1 要求做一份实施计划。

表 1.1 食品微生物检测实验室

-
- ★检测项目:
 - ★检测依据:
 - ★微生物检验室基本要求:
 - ★无菌室配置要求:
 - ★检测设备要求:
 - ★检测人员要求:
 - ★微生物操作要求:
 - ★试剂管理要求:
 - ★废弃物处置要求:
-

日期:

签名:

注:请务必认真填写此表,标★为必填项目,如没有该项,可用“/”表示。

二、学习资料

? 食品微生物检测是干什么的? 主要检测什么内容呢?

(一)基本概念

1. 食品微生物检验

微生物性食物中毒:食用被微生物或微生物毒素污染的食品而引起的中毒称为微生物性食物中毒。为了预防微生物性食物中毒,应该进行食品微生物检测。

食品微生物检验技术是应用微生物学的理论与方法,研究外界环境和食品中微生物的种类、数量、性质、活动规律、对人和动物健康的影响及其检验方法与指标的一门技术。微生物与食品的关系复杂,既有有利的一面,也有有害的一面。食品微生物检验,侧重于有害方面,重点研究食品的微生物污染、检测范围、卫生指标、检验方法等。

食品微生物检验主要包括以下几个方面:

- (1)生产环境的检验,包括生产车间用水、空气、地面、墙壁、操作台等。
- (2)原、辅料的检验,包括动植物食品原料、添加剂等原、辅料。
- (3)食品加工过程、贮藏、销售等环节的检验,从业人员的健康及卫生状况、加工工具、运输车辆、包装材料的检验等。
- (4)食品的检验,包括对出厂食品、可疑食品及食物中毒食品的检验。

2. 食品微生物检验项目

我国卫生部颁布的食品微生物检验指标有菌落总数、大肠菌群和致病菌等几项内容。具体检验的主要项目如下:

(1)菌落总数 菌落总数是指食品检验样品经过处理,在一定条件下培养后,所得1 mL(或1 g)检样中所形成菌落的总数。菌落总数的国家标准是《GB/T 4789.2—2010 食品微生物学检验 菌落总数测定》,在此标准规定的培养条件下所得结果,包括在平板计数琼脂上生长发育的嗜中温需氧菌或兼性厌氧菌的菌落总数。菌落总数可以反映食品的新鲜度、被细菌污染的程度和食品生产卫生状况等。因此它是判断食品卫生质量的重要依据之一。

(2)大肠菌群 大肠菌群是指在37℃条件下培养48 h能发酵乳糖、产酸产气的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性无芽孢杆菌。该菌群主要来源于人畜粪便,作为粪便污染指标评价食品卫生状况,推断食品中导致病菌污染的可能。

(3)致病菌 致病菌即能够引起人们发病的细菌。食品中不允许有致病菌存在,这是食品安全必不可少的标准之一。致病菌种类繁多,食品的加工、贮藏条件不同,被污染程度不同。食品中的致病菌只有根据不同食品可能污染的情况来做针对性的检验,同时应选择相应的参考菌进行检验。例如,海产品以副溶血性弧菌作为参考,蛋与蛋制品以沙门菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌等作为参考菌群;米、面类食品以蜡样芽孢杆菌、变形杆菌、霉菌等作为参考菌群;罐头食品以耐热性芽孢杆菌作为参考菌群等。

(4)霉菌 鉴于有很多霉菌能够产生毒素,引起疾病,故应该对产毒霉菌进行检验。例如曲霉属的黄曲霉、寄生曲霉等,青霉属的橘青霉、岛青霉等,镰刀霉属的串珠镰刀霉、禾谷镰刀霉等。

(5)其他指标 微生物指标还应包括抗生素,如对鲜乳中抗生素残留的检验。其他指标还有病毒,如肝炎病毒、猪瘟病毒、鸡新城疫病毒、口蹄疫病毒、猪水疱病毒等与人类健康有直接关系的病毒微生物,在一定场合是食品微生物检验的指标。

食品微生物检验依据的文件有哪些?

3. 食品微生物检验标准

食品微生物检验相关国家标准如附录 1, 在卫生检验的工作中根据自己所从事的检验项目应该遵守相关的国家标准, 如:

GB/T 4789.1—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则

GB/T 4789.2—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 4789.3—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数

GB/T 4789.4—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验

GB/T 4789.10—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB/T 4789.15—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB/T 4789.30—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验

GB/T 4789.35—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验

GB/T 4789.40—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 阪崎肠杆菌检验

《GB/T 4789.1—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则》由中华人民共和国卫生部发布, 2010年6月1日实施。2010年标准与GB/T 4789.1—2008相比, 主要修改如下: 1. 修改了标准的中英文名称; 2. 修改了检验方法的选择。2010年标准所替代标准与历年版本发布情况为: GB 4789.1—1984、GB 4789.1—1994、GB/T 4789.1—2003、GB/T 4789.1—2008。

? 食品微生物检验实验室有哪些要求?

(二) 食品微生物检验实验室基本要求

进行食品微生物检验要有相应的条件, 通常包括微生物检验实验室、微生物检测设备与材料、相关检验标准与法规、检验人员等。食品微生物实验室的基本要求包括食品微生物检测实验室的管理要求、技术要求、过程控制要求、结果质量保证、操作质量控制以及结果报告的要求。

1. 管理要求

(1) 目标与任务: 食品微生物检验室应根据国际通用标准规范, 严格食品微生物

物检验室质量控制规范,提供食品安全检验的技术保证。

(2)组织结构:食品微生物检验室应具有明确的法律地位,应避免涉及任何可能会降低其在能力、公正性、判断力或运作诚实性方面可信度的活动;不应因经济或政治的因素(例如诱惑)而影响检测。检测结果应具有一定的权威性。食品微生物检测室有对良好职业行为、检验工作质量的承诺。

(3)管理体系:食品微生物检验室有义务完成职责范围内的食品微生物检验工作,对检出客户要求以外的食源性致病微生物,应将结果报告客户,必要时通知相关部门。并有检验室管理层负责对实验室质量管理体系及全部的食品微生物检验活动进行监督和评审,要有技术管理者全面负责技术工作和所需资源的供应,以保证所要求的检验室工作质量。

(4)文件控制:食品微生物检验室的检验工作应遵循国际或国家制定的法规、标准或检验程序等。应建立一套程序,用以识别、收集、索引、访问、存放、维护以及安全处置文件。所有记录均应清晰明确,便于检索,并有专人负责。应有程序保护和备份以电子形式存储的记录,以防止未经授权的侵入和修改。

2. 技术要求

(1)检验人员的要求:

①食品微生物检验室的管理层应保证所有人员工作所必需的设备操作、微生物检验技能(如倒平板、菌落计数、无菌操作等)和实验室生物安全等方面的培训;并针对所有级别检测人员的继续教育计划。

②检验室应由具有一定资质的微生物学或相近专业的人员来操作或指导微生物检验。应按要求根据相应的教育、培训、经验和(或)可证明的技能进行资格确认。检验员的基础知识和基本经历在评审中显得尤其突出。因为微生物检验是通过形态特征、生理生化反应特征、生态特征、血清学反应等来鉴定微生物的,这需要一个受过微生物方面专门培训,具有一定的理论基础,并且具有一定的检验经历的检验人员才能正确地检验食品中的微生物。

③检验室管理者应授权专门人员进行特殊类型的抽样、检测、发布检测报告、提出意见和解释,以及操作特殊类型的设备。授权的报告签发人应具有相关的工作经验和专业知识,包括有关法规和技术要求等。

(2)设施的要求:

①实验室环境不应影响检验结果的准确性。微生物检验室在选址时,要求周围环境条件良好,尽量避开容易污染以及嘈杂的环境,显微镜和检验操作光线要充足,因此检验室的窗户应尽量朝南,室内的照明灯要有足够明亮度。

②微生物检验室应保持整洁,工作台和地面要便于清洁,为了防止蚊蝇等,检

验室要安装纱窗。检验室的设备和辅助用具要根据工作顺序、清洁与污染的情况进行安排,防止交叉污染。典型的检验室应有检测设施(专用于微生物检测和相关活动)及辅助设施(大门、走廊、管理区、样品室、洗手间、储存室、文档室等)。某些检测设备可能需要特殊的环境条件。通过自然条件或换气装置或使用空调,保持良好的通风和适当的温度。使用空调时,应根据不同工作类别检查、维护和更换合适的过滤设备。

③食品微生物检验室要与准备室分开,两室的地面材料和墙面材料应便于清洗,桌面最好铺有胶皮垫或其他易清洗的材料。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。

④根据所检测的微生物危害等级的不同,在检验室内穿着相应的防护服(如果需要,包括保护头发、胡须、手和鞋等防护措施),离开工作区域时脱下防护服。当进行检测时,窗和门的张开程度应降低到最小,换气系统中应有空气过滤装置,禁止把植物和个人物品带入实验室工作区域。尽可能减少在检验室进行文件处理。

(3)设备的要求:

①食品微生物检验实验室一般应配备以下设备,如表 1.2 所示。

表 1.2 微生物检验实验室设备配置

设备类型	可选设备	用途
常规检验用品	滤器、培养皿、取样器具、接种环、酒精灯、镊子、剪刀、药匙、消毒棉球、硅胶(棉)塞、微量移液器、吸管、吸球、试管、微孔板、广口瓶、量筒、玻棒及 L 形玻棒等	采样、分析等常规操作
温控设备	电热恒温培养箱、生化培养箱、震荡培养箱、恒温恒湿培养箱等 干燥箱 冰箱、超低温冰箱	用于微生物培养 用于玻璃器皿的干热灭菌 用于样品、菌种及试剂的储存
测量器具	电子天平、温度计、计时器、酸度计等	用于常规分析操作
定容设备	微量移液器、自动分液器等 超净工作台、生物安全柜	用于常规分析操作 用于无菌操作
灭菌设备	高压灭菌锅	用于培养基等灭菌
其他设备	显微镜	用于微生物观察

②设备的安装和布局应便于操作,易于维护、清洁和校准。设备应达到规定的性能参数,并符合相关检测指标。无论何时,只要发现设备故障,应立即停止使

用,必要时检查对以前结果的影响。应定期验证和维护设备,以确保其处于良好工作状态。

③应根据使用频率在特定时间间隔内进行维护和性能验证,并保存相关记录。每台对检测质量有影响的设备应有使用记录本并放在设备附近。使用记录本的内容包括:设备名称、制造厂商、主机系列号或其他唯一性标识、设备到货日期及投入使用日期、当前放置地点、收到时的状态(新、旧、重新调试)、制造厂商的操作指南(复印件或其放置位置)。

④实验室设备应有日常性监控记录和使用记录,包括使用人、使用日期、运行状况等。

(4)培养基的配制和管理:

①对试剂的要求:检验室应有对试剂进行检查、接收、拒收和储存的程序,确保所用的试剂质量符合相关检测的需要。实验室工作人员应使用有证的国家或国际质控试剂,在初次使用和保存期限内验证并记录每一批对检测起决定性作用的试剂的适用性,不得使用未达到相关标准的试剂。

②检验室制备培养基原料(包括商业脱水配料和单独配方组分)应在适当的条件下储存,如低温、干燥和避光。所有的容器应密封,尤其是盛放脱水培养基的容器。不得使用结块或颜色发生改变的脱水培养基。除非试验方法有特殊要求,培养基、试剂及稀释剂配制用水应经蒸馏、去离子或反渗透处理水,培养基要求无菌、无干扰剂和抑制剂。

③培养基的管理:培养基是微生物检验的关键试验材料,微生物检验室必须对自配或购买的培养基的可靠性采用一定的方法进行鉴定,确保培养基的有效性。如果为自配的培养基则必须保存配制记录。

(5)标准物质和标准培养物:检验室可使用来自认可的国内或国外菌种收藏机构的标准菌株,或使用与标准菌株所有相关特性等效的商业派生菌株。将标准菌株传代培养一次,制得标准储备菌株,应同时进行纯度和生化检查。建议使用深度冰冻或冻干方法制备的标准储备菌株。标准储备菌株继代培养便是日常微生物检测所需工作菌株。一旦标准储备菌株被解冻,最好不要重新冷冻和再次使用。所有的标准培养物从储备菌株传代培养次数不得超过5次。

(6)污染废物的处理:正确处理污染材料也许不会直接影响样品分析的质量,但检验室应制定方案来减小其污染检测环境或设施的可能性。所有污染废物应在121℃持续灭菌至少45 min。污染废物的最终弃置应符合国家、国际环境或健康安全规则(见GB 19489)。

3. 过程控制要求

(1)数据记录:检验过程中应即时、准确地记录观察到的现象、结果和数据等信息。一般情况下不能更改原始记录数据。特殊情况由于仪器等原因需要修改数据的,需要经过许可,做数据修改标记并签名方可生效。

(2)实验室应定期对实验用菌种、培养基、试剂等设置阳性对照、阴性对照和空白对照。

(3)实验室应对重要的检验设备(特别是自动化检验仪器)设置仪器比对。

(4)实验室应定期对实验人员进行技术考核和人员比对。

4. 结果控制要求

检验室应制定周期性检查程序以证实检测可变性(例如分析者之间的差异和设备或材料之间的差异等)处于控制之下,该程序应覆盖检验室的所有检验项目。检验室应尽可能参加与其检验范围相关的外部质量评估计划(如能力验证)和检验室对比试验。

5. 检验报告的要求

检验室应准确、清晰、明确和客观地报告每一项或一系列检验的结果,并符合检验方法中规定的要求。应制定政策及程序,确保检验结果只能送达被授权的接收者。

? 我们周围的环境、器具以及人体本身都有大量活的微生物存在,如何保证环境中的微生物不出现在待检样品中的微生物检验结果中?

微生物检验的核心是进行无菌操作,以保证环境中的微生物不进入样品中,从而保证结果的准确性。为了保证无菌操作,食品微生物检验需要在无菌室中进行,所有与待检样品接触的用具、材料都要经过灭菌或消毒。

(三) 无菌室设计与使用基本要求

1. 无菌室设计基本要求

(1)无菌室大小应能够满足检验工作的需要,内墙为浅色,墙面和地面应光滑,墙壁与地面、天花板连接处应呈凹弧形,无缝隙,无死角,易于清洁和消毒。

(2)无菌室入口处应设缓冲间,缓冲间有足够的面积以保证操作人员更换工作服及鞋帽。

(3)缓冲间及操作室内均应设置能达到空气消毒效果的紫外灯或其他适宜的消毒装置。

(4)用紫外线消毒物品表面时,应使照射表面受到紫外线的直接照射,且应达到足够的照射剂量。

(5) 无菌室关键操作点及超净工作台操作区的净化级别应为 100 级, 即平均菌落数 ≤ 1 个, 不小于 $0.5 \mu\text{m}$ 粒子数 ≤ 3.5 个/L。

2. 无菌室的使用与管理

(1) 无菌室应保持清洁整齐, 室内仅存放最必需的检验用具如酒精灯、酒精棉、火柴、镊子、接种针、接种环、玻璃铅笔等。

(2) 室内检验用具及桌凳等位置保持固定, 不随便移动。

(3) 每 2~3 周用 2% 石炭酸水溶液擦拭工作台、门、窗、桌、椅及地面, 然后用甲醛加热或喷雾灭菌, 最后紫外灯杀菌 0.5 h。

(4) 定期检查室内空气无菌状况, 细菌数应控制在 10 个以下, 发现不符合要求时, 应立即彻底消毒灭菌。无菌室无菌程度的测定方法: 取普通肉汤琼脂平板、改良马丁培养基平板各 3 个(平板直径均 90 mm), 置无菌室各工作位置上, 开盖暴露 15 min, 然后倒置进行培养, 测细菌总数应置 37°C 温箱培养 48 h, 测霉菌数则应置 27°C 温箱培养 5 d。细菌、霉菌总数均不得超过 15 个为合格。

(5) 无菌室在使用前和使用后应进行有效的消毒, 在无菌室无人时可采取紫外线消毒, 作用时间应 ≥ 30 min。室内温度 $< 20^{\circ}\text{C}$ 或 $> 40^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度大于 60% 时, 应适当延长照射时间。

(6) 进入无菌室前, 必须于缓冲间更换消毒过的工作服、工作帽及工作鞋。

(7) 操作应严格按照无菌操作规定进行, 操作中少说话, 不喧哗, 以保持环境的无菌状态。

(四) 器皿清洗及灭菌消毒要求

1. 器皿的清洗与包扎

(1) 新购置的玻璃器皿: 用 5% 氢氧化钠和 3% 稀酸分别浸泡 24 h, 清洗后使用。

(2) 用过的玻璃器皿: 凡被病原微生物污染过的玻璃器皿, 在洗涤前须进行严格的灭菌或消毒, 再用洗涤剂清洗, 然后用水反复清洗数次, 最后用蒸馏水冲洗 3 次, 倒置于干燥架上自然晾干或控干水分后放入烘箱中烘干。

(3) 包装: 吸管和移液管首先在管口塞入脱脂棉少许(不得过紧或过松), 用牛皮纸或报纸包扎后, 装入金属桶以干热方法灭菌; 玻璃平皿 9 个一摞用牛皮纸或报纸包裹后干热灭菌。

2. 消毒灭菌要求

微生物检验用器材及场所以及检测用到的玻璃器皿、金属用具及培养基等, 必须进行灭菌或消毒处理, 不同对象采用不同的处理方法。

(1) 湿热高压蒸汽灭菌: 稀释液、培养基等用高压杀菌锅进行湿热灭菌, 所有需