

食品微生物二级生物安全实验室建设研究

金丽琼, 杨静* (甘肃省分析测试中心, 甘肃兰州 730000)

摘要 简要阐述了生物安全实验室的定义及建立生物安全实验室的必要性。通过从微生物二级生物安全实验室(P2实验室)环境设计, 内部质量控制即检验人员的素质、实验室环境和设备的质量控制、培养基和试剂的质量控制、标准菌株的保藏, 外部质量评估3个方面对食品中微生物检验实验室的建设进行了探讨。并通过对建设生物安全实验室依据的标准及技术规范进行归纳、整理、解读, 以期能对我国生物安全实验室的建设和管理提供参考。

关键词 质量控制; 微生物; 二级生物安全; 实验室

中图分类号 TS201.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)04-0080-03

Study on the Construction of Secondary Biosafety Laboratory of Food Microbiology

JIN Li-qiong, YANG Jing* (Analysis and Research Center of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract The meaning and necessity of establishing biosafety laboratory was elaborated. The construction of P2 laboratory was discussed from three aspects including the design of P2 lab environment; control of internal quality (quality of inspection personnel, laboratory environment and equipment, media and reagents, standard strain storage); external quality evaluation. By classification, summarization, and interpretation of applicable laws, regulations on biosafety laboratory construction, the aim was to provide reference for the construction and management of Chinese biosafety laboratory.

Key words Quality control; Microorganism; Secondary biosafety; Laboratory

随着经济的全球化发展, 食品安全问题日益突出, 食品安全已成为世界各国政府关注的重要问题之一。食品安全中微生物污染是涉及较广、影响较大、问题较多、不易控制的一类污染, 而致病菌是影响食品安全要素中危害最大的一类。为有效控制致病菌危害, 不仅需要建立从源头治理到最终消费的有效监控体系, 而且还要加强对致病菌的检测。由于微生物具有特殊的生物学特性, 对致病菌的检测必须在特定的食品微生物实验室内进行, 才能保证其检测结果的可靠性, 因此食品微生物二级生物安全实验室(P2实验室)的设计与建设对保证食品微生物检测数据的可靠性尤其重要。

食品P2实验室设计建设和配套设施的科学性、合理性, 不仅影响食品微生物检验数据的准确性、可靠性、科学性, 直接关系到食品卫生日常监督的科学性、权威性以及食源性疾病预防与控制的有效性, 而且关系到食品微生物的检测质量^[1]。因此, 针对当前食品P2实验室对微生物检测指标, 特别是对致病菌的检测需求, 以及对实验检测人员及环境保护的要求, 避免污染等严峻形势, 食品微生物检测P2实验室建设的研究势在必行。

1 P2实验室的设计

P2实验室是指生物实验室安全等级的一种分类级别。在微生物检测实验室当中, P2实验室是使用最为广泛的生物安全等级实验室之一, 其等级有P1、P2、P3、P4, 按照实验室的使用要求来选择建设相应等级的实验室。根据国标GB 50346—2011《生物安全实验室建筑技术规范》的要求, 对P2实验室做出以下技术指标的规定(静态): ①洁净度, 无要求; ②最小换气次数, 可开窗通风; ③与室外方向相邻相通房间

的压差, 无要求; ④温度18~27℃; ⑤相对湿度30%~70%; ⑥噪声≤60dB(A); ⑦最低照度300 lx^[2]。

P2实验室设计所涉及的主要内容包括: 实验室送排风系统、空调系统、压力显示报警系统、风量自动控制系统、配电系统、电子连锁、照明系统和室内墙体、地面装修与改造等。

1.1 设计依据 P2实验室的设计主要依据如下: GB 19489—2004《实验室生物安全通用要求》, GB J50073—2001《洁净厂房设计规范》, GB 50346—2004《生物安全实验室建筑技术规范》, JGJ71—90《洁净室施工及验收规范》, GB 50243—2002《通风与空调工程施工及验收规范》。

1.2 设计与结构要求 P2实验室的建设可以共用已有的建筑物, 与建筑物其他部分可以相通, 但是应该设有可自动关闭的带锁的门, 因此P2实验室大多数是在原有建筑物内进行改建而成。由于微生物实验的特殊性, 总体布局和各区域的安排应符合实验流程的要求, 尽量减少往返或迂回, 降低对样品污染和对人员与环境的危害^[3]。门口应设有生物安全标识, 只有相关人员才能进入。P2实验室布局设计应满足检测需要, 一般设计包括: 1间局部百级的细菌检测室, 1间真菌检测室, 1间致病菌检测室, 1间霉菌培养室, 1间细菌培养室, 1间微生物仪器鉴定室, 1间菌种保存室, 1间洗刷消毒室。

P2实验室主洁净实验室自成一区, 安排在整体实验室的靠边角落处, 这也是P2实验室的核心区域。P2实验室限制外来人员的出入, 有洁净要求的房间设置在人员干扰较少的地方, 辅助房间设计在外部。由于需要考虑微生物实验的操作流程, 检测室与洗刷消毒室和培养室相邻, 方便人流与物流的分离。为了控制人员的出入, 只设有一个门进入微生物实验室主洁净区, 操作人员进入人流走廊后进入准备间, 并从准备间分别经过一更、缓冲进入操作区; 经过更衣、风淋、缓冲进入局部百级实验室。物流则通过传递窗实现。

基金项目 甘肃省省青年科技基金计划项目(1506RJYA135)。
作者简介 金丽琼(1984—), 女, 甘肃临夏人, 助理研究员, 硕士, 从事食品微生物检验研究。*通讯作者, 副研究员, 从事食品检测研究。

收稿日期 2016-12-07

1.3 装饰要求 实验室主体框架以彩钢板与玻璃隔断为主。外部实验室可以设有外窗进行自然通风,但是外窗应设置防虫纱窗;踢脚与墙面齐平或略缩进 2~3 mm;地面与墙面的相交位置及其他围护结构的相交位置,需要用半径不小于 30 mm 的圆弧来处理;顶棚的材料应该有利于清洁消毒、耐腐蚀、不起尘、不开裂、光滑防水,表面涂层应该具有抗静电性能;检测实验室地面用环氧树脂材料铺设,具有无缝隙、耐腐蚀、平整、容易清洗的特征。检测实验室设置观察窗和门锁。当实验室有压力要求时,实验室的门应该开向相对压力要求高的房间。缓冲间的门应该可以单向锁定。生物安全实验室的入口应标示生物安全防护级别、操作的致病性生物因子、实验室负责人姓名、紧急联络方式等信息,同时标出国际通用生物危险符号。生物危险符号按图 1 绘制,颜色应为黑色,背景为黄色。

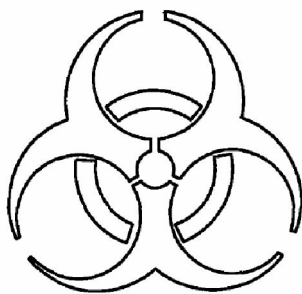


图 1 国际通用生物危险符号

Fig.1 Universal biological hazard symbol

1.4 净化要求 为满足 P2 实验室温湿度要求,应配备净化空调通风系统。净化空调系统能够做到控制实验室内部温度、湿度、尘埃、细菌、有害气体的浓度和气流分布,保证实验室人员所需风量和室内合理的气流流向,并能维持整个微生物实验室合适的梯度压力和定向流动,全面实现“无菌环境保障体系”的目的,减少实验过程中一切潜在的感染危险。

1.5 其他设备 互锁式传递窗:不仅保证了实验室物流的安全性,而且保证了室外和室内空气的隔绝,方便实验人员的物品传递。互锁式传递窗内的紫外灯可将污染过的物品在拿出实验室前进行消毒。微压差表:可显示室内外压差量,按照要求控制压差。实验室出口处应设置洗手装置及紧急冲眼装置。排水:含菌污水应经高温高压消毒或化学消毒后排放至市政污水排放公用系统。

2 P2 实验室的质量控制

由于食品微生物检测的特殊性,同时也为了保证食品微生物检测的质量,保证检测结果的真实、准确,人们需要对检测过程进行质量控制。实验室质量控制是指为将分析测试结果的误差控制在允许限度内所采取的控制措施,包括实验室内质量控制和实验室内质量控制 2 部分内容。

2.1 内部质量控制 实验室内部质量控制是指为将分析测试结果的误差控制在允许限度范围内必须采取的控制措施。其目的在于监督与记录实验室的检测过程,为评价检验结果是否可靠以及查找和排除检测环节中不合规原因提供可靠的依据^[4]。实验室内质量控制是实验室分析人员对检测过

程进行自我控制的过程,是食品微生物检验质量控制的基础和核心,也是做好实验室内质量评价的前提。实验室内质量控制主要包括仪器设备的质量控制、平行样品的分析、加标样分析以及使用的质量控制等。

2.1.1 人员要求。相应岗位的人员应具备微生物检测相关专业的基础知识,或经过国家认可的相关培训机构的培训,获得相应的技术能力证明(证书及证件)。微生物检验室由相应技术能力较强和经验丰富的人员负责室内的技术工作。微生物检验人员需要定期进行检测技术的培训,不断更新检测技术,避免误操作对检验人员带来的危害。另外,还要不断学习新标准,避免因对新标准的误解而影响检测结果的准确性。定期对全体人员进行微生物污染防治知识培训,提高检测人员的安全防护意识,远离污染区域,做好安全防护措施。

2.1.2 标准菌株的质量控制。标准菌株是由国内或国际菌种保藏机构保藏的,遗传学特性得到确认和保证并可追溯的菌株。标准菌株是根据各种国际标准、国家标准、企业标准等,用来验收培养基、验证实验方法和评估实验操作。因此,实验室需要根据自己的能力范围,保存相关的标准菌株。

实验室在保存相关标准菌株之前,首先需要制定菌种申购、使用、保藏、领用、传代和存储等的相关制度,同时学习标准菌株标准化操作规程,保证标准菌株的合理保存,确保检测结果的溯源性和稳定性^[5]。另外,实验室还要建立完善的记录文件,记录信息包括菌(包括学名)、编号、来源、鉴定特征、鉴定时间、鉴定者、传代情况、最适培养基和培养条件、保藏方法等^[6-7]。对实验室保存的各类菌种,在接收和保藏过程中,为保证菌种质量而对鉴定结果进行核查,有污染或退化迹象时,要及时分离、纯化、复壮。每次检查要有详细的记录,要做到每一步实验有记录可查。

2.1.3 培养基的质量控制。培养基是微生物检测实验室主要的检测试剂,因此培养基的质量控制是保证微生物检验质量的基础。首先培养基的购买,必须选择国内外信誉较高的企业。其次负责验收的人员需要核实培养基的名称、规格、生产日期、保存日期、外观是否密封等。经验收后,试剂管理人员应及时对培养基进行分类存储,并建立培养基清单,清单应包括培养基的名称、规格型号、数量、企业名称、生产日期及保质期等。培养基应存放在干燥、通风处,需要冷藏的培养基和试剂应按要求冷藏存放^[8]。

培养基的配制和使用要严格按照国家标准规定进行操作。培养基的配制和使用也应该及时进行记录。培养基的配制记录包括培养基的名称、配制量、操作者、配制日期以及使用期限,并于包装上标明使用期限,定期做质量检查,以保证在有效期内使用。使用记录应包括培养基名称、使用量、操作者、使用日期等。

2.1.4 生物安全柜的质量控制。生物安全柜是为操作原代培养物、菌毒株以及诊断性标本等具有感染性的实验材料时,用来保护操作者、实验室环境以及实验材料,使其避免暴露于操作过程中可能产生的感染性气溶胶和溅出物而设计

的。为了保证生物安全柜使用的安全性、稳定性和有效性,同时保证实验环境的安全性,实验室需要定期对生物安全柜进行仪器鉴定,更换滤网,检测紫外线是否正常,确保生物安全柜的正常使用。同时,要做好生物安全柜的使用和维护记录。

2.1.5 实验室清洁。微生物实验室应制定合理、完善的卫生管理制度,来确保实验环境符合国家标准的要求规范。定期对微生物实验室操作环境进行清理与消毒。对废弃物采取合理处理后投入指定的容器内,或者经无害化处理后方可废弃。微生物实验室必须做好废弃物的处理,以防对环境和人员造成危害,以及引起病原微生物的传播。

微生物实验室常用并且需要监控的仪器包括:培养箱、干燥箱、高压灭菌锅、冰箱、温度计、紫外灯、显微镜、天平。同时做好各种仪器的维护和使用记录。

2.2 外部质量控制 实验室外部质量控制也叫实验室间质量控制,主要包括实验室间比对和能力验证。实验室间质量控制是对实验室检测能力和分析能力的综合判断,也是对实验室内质量控制效果的检验,更是发现系统误差和标准化实验室的比对^[9]。参加能力验证是证实实验室能力的有效手段,因此实验室可通过参加能力验证活动,证实实验室对程序和方法的有效控制,提高实验室可信度,改善实验室质量管理体系。参加实验室间比对是为了确定各实验室进行某些检测的能力,以及检测实验室的持续能力,有利于实验室技术水平的提高^[10]。

3 结论

随着经济全球化和人民生活水平的不断提高,食品安全问题已成为人们越来越关注的焦点,同时也成为食品

进出口贸易的首要问题。食品微生物检验是评价食品卫生质量、保证食品安全、预防和控制食源性疾病的重要手段之一,因此食品微生物检验数据的准确性,直接关系到食品卫生日常监督的科学性、权威性以及食源性疾病预防与控制的有效性^[11]。为了有效保证我国食品微生物检验的质量,提高食品微生物检验结果的可靠性,为质量监督工作提供有力的依据,不仅需要不断提高检验人员的专业技术、工作经验以及满足仪器设备要求以外,而且应该提高实验环境水平,加强对实验环境的管理,完善管理程序,同时进行实验室的质量控制,保证检测数据的准确性,确保人民食品的安全。

参考文献

- [1] 陈春艳, 刘林勇, 陈建华. 浅谈如何有效提高食品微生物检验质量[J]. 科技与生活, 2010(17): 111.
- [2] 中华人民共和国建设部. 生物安全实验室建筑技术规范: GB 50346—2004[S]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2006.
- [3] 段永翔. 微生物实验室生物安全问题[J]. 现代预防医学, 2004, 31(5): 658—660.
- [4] 杨振华. 临床实验室质量管理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [5] 史玲. 细菌学检验的室内质量控制[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(4): 722.
- [6] 全国认证认可标准化技术委员会. 《实验室质量控制规范 食品微生物检测》理解与实施: GB/T 27405—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [7] 李志勇, 谢钧宪, 许龙岩, 等. 食品微生物检验的质量控制[J]. 检验检疫科学, 2004, 14(4): 5—9.
- [8] 黄薇, 蔡炯, 黄剑屏, 等. 疾病预防控制系统微生物实验室质量控制与评价[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(1): 134—136.
- [9] 赖秀云. 透过一株盲样考核菌株看微生物检测质量控制[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(2): 234—235.
- [10] 李贻汉, 蔡妙森, 王琳, 等. 卫生微生物检验的质量控制[J]. 中国卫生质量管理, 2008, 21(6): 125—127.
- [11] 鞠福龙, 杨光. 食品中微生物检验的质量控制[J]. 现代测量与实验室管理, 2010, 18(4): 63—64.

(上接第 32 页)

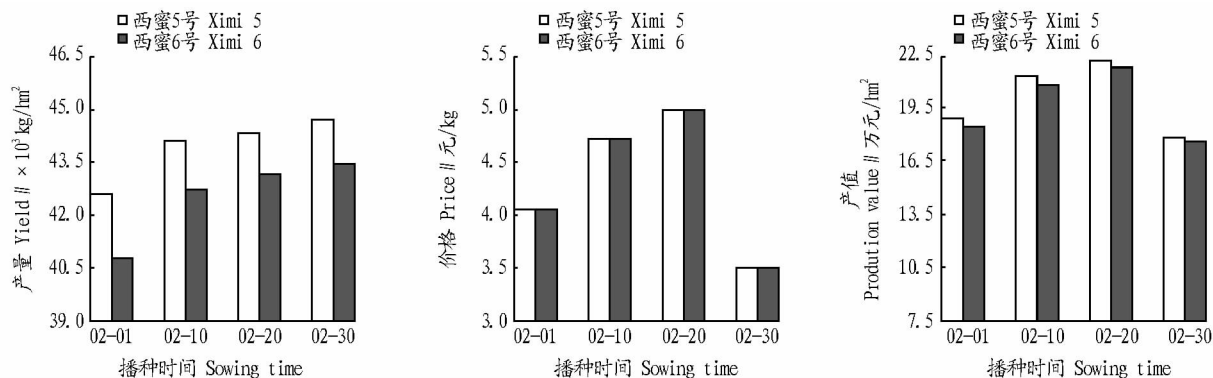


图 1 播种时间对不同网纹甜瓜品种产量、价格和产值的影响

Fig. 1 Effects of different sowing times on yield, price and production value of different varieties of netted melon

参考文献

- [1] 郝平琦, 问亚军, 董建平, 等. 渭南地区西甜瓜生产土肥状况调查与分析[J]. 西北园艺, 2010(5): 6—8.
- [2] 杨建强, 张显, 马建祥, 等. 陕西省西甜瓜生产现状与发展建议[J]. 北方园艺, 2006(1): 54—55.
- [3] 国家西甜瓜产业技术体系《中国蔬菜》编辑部. 全国甜瓜主要优势产区生产现状(二)[J]. 中国蔬菜, 2011(19): 14—17.

- [4] 高晶霞, 陈书霞, 程智慧, 等. 播期及整枝方式对设施厚皮甜瓜生长发育和产量的影响[J]. 北方园艺, 2010(3): 45—48.
- [5] 屈昌利, 张国龙, 窦宏涛, 等. 不同播种时间对陕西关中地区厚皮甜瓜产量和价格的影响[J]. 陕西农业科学, 2015(10): 59—60, 77.
- [6] 马育华. 田间试验和统计方法[M]. 北京: 农业出版社, 1995.
- [7] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002.