

中华人民共和国国家标准

GB/T 27405—2008

实验室质量控制规范 食品微生物检测

Criterion on quality control of laboratories—
Microbiological testing of food

2008-05-04 发布

2008-10-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

前言	I
引言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 管理要求	2
4.1 组织	2
4.2 管理体系	3
4.3 文件控制	3
4.4 质量及技术记录	4
4.5 服务客户	4
4.6 投诉处理	5
4.7 不符合工作控制	5
4.8 纠正措施	5
4.9 预防措施	5
4.10 内部审核	5
4.11 管理评审	6
4.12 持续改进	6
5 技术要求	6
5.1 人员	6
5.2 设施和环境条件	6
5.3 设备	8
5.4 试剂和培养基	10
5.5 标准物质和标准培养物	11
6 过程控制要求	12
6.1 合同评审	12
6.2 分包	12
6.3 检测方法的确认和验证	12
6.4 测量不确定度	13
6.5 取样	13
6.6 样品处置和确认	13
6.7 污染废物的处理	14
6.8 检测报告	14
7 内部质量控制和外部质量评估	14
7.1 内部质量控制	14
7.2 外部质量评估	15
附录 A(规范性附录) 标准培养物的一般性使用	16
附录 B(资料性附录) 微生物无菌室基本要求及管理	17
附录 C(资料性附录) 设备的校准、维护和性能验证	18
附录 D(资料性附录) 微生物实验室消毒处理方法	21

前 言

本标准是实验室质量控制规范系列标准之一,其目前包括以下标准:

- GB/T 27401《实验室质量控制规范 动物检疫》;
- GB/T 27402《实验室质量控制规范 植物检疫》;
- GB/T 27403《实验室质量控制规范 食品分子生物学检测》;
- GB/T 27404《实验室质量控制规范 食品理化检测》;
- GB/T 27405《实验室质量控制规范 食品微生物检测》;
- GB/T 27406《实验室质量控制规范 食品毒理学检测》。

请注意本标准的某些内容有可能涉及专利。本标准的发布机构不应承担识别这些专利的责任。

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B、附录 C 和附录 D 为资料性附录。

本标准由全国认证认可标准化技术委员会(SAC/TC 261)提出并归口。

本标准由中国合格评定国家认可中心负责起草。

本标准起草单位:中国合格评定国家认可中心、中华人民共和国山东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:雷质文、刘学惠、昃向君、张明霞、姜英辉、贾俊涛、刘云国、周烈、赵丽青、房保海、王东、林修光、吴兴海、马维兴。

引 言

本标准的编制主要以 GB/T 27025《检测和校准实验室能力的通用要求》为基础,同时吸收了 GB/T 19001—2000《质量管理体系 要求》的内容,参考了相关国际专业组织的文件、国内外行业标准和专业文献中适用的内容,并充分融合了国内相关实验室的管理经验。

本标准旨在规范、指导和帮助相关实验室,使其满足 GB/T 27025 和本专业领域质量控制的具体要求。

食品微生物检测是指按照一定的检测程序和质量控制措施,确定单位样品中某种或某类微生物的数量或存在状况。本标准适用于从事食品、食品添加剂、动物饲料、食品加工机械、食品包装以及食品加工环境样品等微生物检测实验室的质量控制,对食品微生物检测实验室进行认可的机构可将本标准作为参考。

建议相关实验室在使用本标准前,应熟悉和掌握 GB/T 27025 的相关内容。

实验室质量控制规范

食品微生物检测

1 范围

本标准规定了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、内部质量控制和外部质量评估的要求。

本标准适用于食品、食品添加剂、动物饲料、食品加工机械、食品包装材料以及食品加工环境样品等微生物检测实验室的质量控制,实验室认可机构可参考使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 14925 实验动物 环境及设施

GB 15981 消毒与灭菌效果的评价方法与标准

GB/T 18202 室内空气中臭氧卫生标准

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范

SN/T 1538.1 培养基制备指南 第1部分:实验室培养基制备质量保证通则(ISO/TS 11133-1:2000,MOD)

SN/T 1538.2 培养基制备指南 第2部分:培养基性能测试实用指南(ISO/TS 11133-2:2003,MOD)

ISO 7218 食品和动物饲料微生物学——微生物检验通则(Microbiology of food and animal feeding stuffs—General rules for microbiological examinations)

ISO 16140 食品和动物饲料微生物学——可替代方法确认规程(Microbiology of food and animal feeding stuffs—Protocol for the validation of alternative methods)

ISO 18593 食品和动物饲料微生物学——使用接触平板和棉拭子的表面取样技术水平方法(Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs)

EA-04/10 微生物实验室认可(Accreditation in microbiological laboratories)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

实验室最高管理者 top management of laboratory

在最高层指挥和控制实验室的一个人或一组人。

3.2

实验室管理层 management personnel of laboratory

在实验室最高管理者领导下负责管理实验室活动的人员。

3.3

实验室能力 laboratory capability

实验室进行相应检测所需的物质、环境、信息资源、人员、技术和专业知识。

3.4

样品 sample

取自某一整体的一个或多个部分,旨在提供该整体的相关信息,通常作为判断该整体的基础。

3.5

标准方法 reference method

国际、区域、国家或行业发布的、经过严格确认的、公认的方法。

3.6

可替代方法 alternative method

用来检测某一特定产品中某种目标微生物的与相关标准方法等效的方法。

3.7

阴性偏差 negative deviation

标准方法得出阳性结果,而可替代方法却得出未经证实的阴性结果,如果后者被证明为阳性,这种偏离便是一个假阴性。

3.8

阳性偏差 positive deviation

标准方法得出阴性结果,而可替代方法却得出未经证实的阳性结果,如果后者被证明为阴性,这种偏离便是一个假阳性。

3.9

标准培养物 reference cultures

标准菌株、标准储备菌株和工作菌株的统称。

3.10

标准菌株 reference strain

至少定义到属或种水平的菌株。按其特征进行分类和描述,有明确的来源。

3.11

标准储备菌株 reference stocks

标准菌株经过一代转接后获得的同种菌株。

3.12

工作菌株 working cultures

由标准储备菌株转接后获得的同种菌株。

3.13

判定限 limit of determination

进行定量微生物检测时,在特定评估方法规定的实验条件下,可引起特定变化的微生物的最小量。

3.14

检出限 limit of detection

进行定性微生物检测时,能检测到但无法给出精确数值的微生物的最小量。

3.15

特异性 specificity

阴性菌株数或所确认菌落数与可疑检出物的比例。

4 管理要求

4.1 组织

4.1.1 食品微生物检测实验室或其所在组织应具有明确的法律地位。实验室一般为独立法人,非独立

法人的实验室需经上级法人授权。

4.1.2 实验室检测服务应能满足客户的工作需要。

4.1.3 实验室在其固定场所内部或外部的其他场所开展工作时,均应遵守本标准中的相关规定。

4.1.4 实验室最高管理者应负责管理体系的设计、建立、维持及改进,至少包括以下方面:

- a) 为实验室配置足够人员并为所有人员提供履行其职责所需的权力和资源;
- b) 制定政策和程序,以避免实验室和其人员介入任何可能会降低其判断能力、技术、诚实性和公正性的活动;
- c) 制定政策和程序,确保客户机密信息得到保护;
- d) 明确实验室的组织和管理结构,以及实验室与其他相关组织的关系;
- e) 规定所有人员的职责、权力和相互关系;
- f) 成立技术管理层并赋予相应职责和权力,负责技术运作和资源供应(技术管理层负责人也称作技术负责人);任命质量负责人,由其全面负责管理体系运作;
- g) 由熟悉检验目的、程序、操作和结果评价的人员,对实验室的其他人员按其经验、能力和职责进行相应的培训和监督,最高管理者直接任命和管理质量监督员;
- h) 指定关键人员的代理人,在一些小型实验室里,可由一个人承担多项职责。

4.1.5 实验室最高管理者、技术负责人、质量负责人应有任命文件。

4.2 管理体系

4.2.1 政策、计划、程序、指导书和操作规程等均应形成文件,传达至所有相关人员,并保证相关人员熟悉、理解并执行。

4.2.2 管理体系应包括内部质量控制和外部质量评估工作。

4.2.3 最高管理者应主持制定并授权发布质量方针、目标和承诺,形成文件并写入质量手册(不论何种称谓)。最高管理者或质量负责人应向全体员工宣贯质量方针和目标。质量方针、目标和承诺应简明清晰,便于有关人员即时获得,并至少包括以下内容:

- a) 实验室提供的服务范围;
- b) 对服务标准的承诺;
- c) 阐明实验室的质量管理水平和技术目标;
- d) 对相关人员熟悉、理解、执行管理体系的要求;
- e) 实验室在职业行为、检验质量以及遵守管理体系和相关法规政策方面的承诺。

4.2.4 质量手册应对管理体系及文件结构进行描述;质量手册中还应规定各重要岗位人员的职责。

4.3 文件控制

4.3.1 实验室应制定并实施专门的程序文件,以满足文件控制的要求,应将文件备份存档。这些受控文件可使用纸张或无纸化媒介,并应遵循国家、地区和当地的规定。

4.3.2 实施的文件控制程序应确保:

- a) 向实验室人员发布的管理体系相关文件在发布前得到授权人员的审批;
- b) 建立在用文件名称、有效性状态和发放情况的记录,此记录也称作文件控制记录;
- c) 在相应场所,只使用现行的、经过确认的文件版本;
- d) 应定期对文件进行评审,必要时修订,并经授权人员批准;
- e) 无效或已废止的文件应立即从所有使用地点撤离,或进行适当标注,以防止误用;
- f) 如果实验室允许在文件再版之前对文件进行手写修改,则应确定修改的程序和权限,修改之处应有清晰的标注、签名并注明日期,修订的文件应尽快正式发布;
- g) 应制定程序描述如何更改和控制计算机系统中运行或保存的文件。

4.3.3 管理体系相关文件均应有唯一性标识,包括:

- a) 标题、文件号及发布日期;

- b) 修订日期或修订号,版本标识;
- c) 页码和页数(如适用);
- d) 发布机构;
- e) 来源的标识;
- f) 文件分发号(如果适用)。

4.4 质量及技术记录

4.4.1 实验室应建立并实施一套对质量及技术记录进行识别、采集、索引、查取、存放、维护以及安全处理的程序。

4.4.2 所有质量及技术记录均应清晰明确,便于检索,并应符合有关规定。应提供一个适宜的存放环境,以适当的形式进行存放,以防损毁、破坏、泄密、丢失或被盗用。

4.4.3 实验室应明确规定各种质量及技术记录的保存期。保存期限应根据检验的性质或每个记录的具体情况而定,并应符合有关法律法规的要求。

质量及技术记录可包括:

- a) 检验申请表、委托书或采样记录;
- b) 检验结果和报告;
- c) 仪器打印出的结果;
- d) 试验计划;
- e) 原始工作记录簿(记录单);
- f) 试验数据统计记录;
- g) 质量控制记录;
- h) 投诉及所采取的措施记录;
- i) 内部及外部审核记录;
- j) 能力验证或实验室间的比对记录;
- k) 质量改进记录;
- l) 仪器使用及维护记录,包括内部及外部的校准记录;
- m) 无菌室等关键区域的环境监控记录(见 5.2.2 并参见附录 B);
- n) 外部服务供应的有关记录;
- o) 设备、耗材的验收记录;
- p) 差错或事故记录及应对措施;
- q) 人员培训及能力记录。

4.4.4 当记录中出现错误时,每一个错误应划改,并将正确值填写在其旁边,应能识别出更改前内容。记录的所有改动应有改动人的签名或签名缩写。电子存储的记录也应采取同等措施,以避免原始数据的丢失或改动。

4.5 服务客户

4.5.1 实验室应授权资深人员为客户提供适当的送检前专业咨询服务。

4.5.2 实验室中经授权的专业人员,在客户的要求下,可就选择何种检验及服务提供建议,包括检验项目、检测方法、所需样品情况等。实验室应明确客户的要求,并在确保实验室及其他客户机密的情况下,允许客户进入实验室监视与其工作有关的操作。

4.5.3 适当情况下,实验室中经授权的专业技术人员可以就实验结果提供解释。

4.5.4 实验室应将检测过程中的任何延误和主要偏离通知客户。

4.5.5 实验室应向客户征求反馈意见,无论是正面的还是负面的。应使用和分析这些意见,并应用于改进管理体系、检测活动及服务水平。实验室应保留完整的反馈意见及采取相应措施的记录,该反馈意见及其相应措施可作为管理评审的输入之一[见 4.11.2h)]。

4.6 投诉处理

实验室应有政策和程序处理来自客户或其他方面的投诉,方式应多样、多渠道。实验室应保存投诉以及针对投诉所开展的调查和纠正措施的记录。客户投诉及处理情况应作为管理评审的输入之一[见4.11.2h)]。

4.7 不符合工作控制

4.7.1 实验室应有专门的程序和规定,以识别、控制检验过程中的不符合工作。这些程序和规定应保证:

- a) 指定专人负责处理不符合工作问题;
- b) 明确规定应采取的措施;
- c) 考虑不符合工作可能产生的影响,必要时通知客户;
- d) 必要时终止检验,不外发报告;
- e) 立即纠正,必要时采取纠正措施;
- f) 若检验结果已向外发布,应考虑是否需要收回,或以适当方式善后;
- g) 指定专人有权中(终)止检验和批准恢复检验工作;
- h) 记录每一次出现的不符合工作并归档保存,应定期评审这些记录,以发现趋势并采取预防措施(见4.9)。

4.7.2 实验室应制定并实施相关程序,规定如何审核、发布存在不符合工作时的检测报告,并保存这些工作记录。

4.8 纠正措施

4.8.1 纠正措施程序应包括一个调查过程以确定问题产生的根本或潜在原因。纠正措施应与问题的严重性及其带来风险的大小相适应,以避免资源浪费。

4.8.2 如所采取的纠正措施涉及某项变更时,应将这些变更形成文件并发布给有关人员执行。

4.8.3 应监控每一纠正措施的结果,以确定这些措施是否有效。

4.8.4 如果对不符合工作的调查分析表明管理体系可能存在问题,则实验室应进行旨在解决存在问题的管理体系附加审核或管理评审。应对纠正措施的结果进行评审。

4.9 预防措施

实验室应制定专门的程序用以发现潜在不符合工作并预防其发生:

- a) 应确定包括技术方面和相关管理体系方面的潜在不符合项和所需的改进。如需采取预防措施,应制定、执行和监控这些措施,以减少类似不符合项发生的可能性并借机改进。
- b) 预防措施程序应包括措施启动和控制。预防措施还可能涉及数据分析、趋势和风险分析等。
- c) 应定期对所有的运行程序进行评审,以发现潜在不符合工作,提出质量技术方面的改进意见,制定改进措施的方案并实施,将有关文件资料和记录归档保存。
- d) 评审结束并执行相应措施后,实验室应通过对相关方面跟踪监控或重点审核的方式评价上述措施的有效性。
- e) 应对预防措施实施的结果进行分析判断,包括管理体系是否需要改动和如何更改等内容。

4.10 内部审核

4.10.1 为验证实验室的检验及相关工作与管理体系的符合性,应定期(至少每年一次)对管理体系各要素的执行情况进行审核,即内部审核,内部审核应包含管理体系的所有要素和所有相关部门及人员。

4.10.2 应由质量负责人或指定有资格的人员负责对内部审核进行策划、组织并实施,只要资源允许,审核人员应与被审核的工作无直接关联。应制定内部审核的程序文件,其中包括人员职责、频次、依据、工作流程、采用方法以及所需的相关文件。

4.10.3 审核中如果发现不符合工作,实验室应进行纠正,必要时制定适当的纠正措施,要求相关部门在约定时间内完成整改,并指定专人负责跟踪审核,验证整改的有效性。如果审核发现的问题可能影响

到已发出的检测结果,应书面通知客户。

4.10.4 审核结果要以文件形式发布至各相关部门和人员。

4.10.5 审核结果及整改跟踪验证情况应予以记录,并作为管理评审的输入之一[见 4.11.2e)]。

4.11 管理评审

4.11.1 实验室应对管理体系及其他相关工作进行评审,以确保得到管理体系持续适用和有效运行所需要的资源保证等外部条件,并及时进行必要的变动或改进。管理评审应至少每 12 个月一次。

4.11.2 管理评审由最高管理者主持。管理评审至少应考虑以下几方面:

- a) 上次管理评审时提出改进的执行情况;
- b) 近期内部审核的结果;
- c) 所采取的纠正措施、预防措施及其他改进建议;
- d) 管理或监督人员的报告;
- e) 外部评审和参加能力验证、实验室间比对的结果;
- f) 承担的工作量及类型的变化,财务情况;
- g) 检验服务质量,包括来自客户、内部员工以及其他方面的投诉或相关信息;
- h) 人员培训及有效性评价;
- i) 内部质量控制结果报告;
- j) 对供应商和服务商的评价;
- k) 政策和程序的适用性分析;
- l) 质量方针的适宜性及质量目标达标分析。

4.11.3 管理评审结果应包括对管理体系适宜性做出评价,以及影响管理体系适宜性、充分性和有效性问题的解决方案,并跟踪解决方案实施情况。

4.11.4 管理评审结果应向相关人员通报,并将文件和记录归档。

4.12 持续改进

4.12.1 实验室应通过满足关于检测质量和客户的要求,持续改进实验室的管理体系。

4.12.2 实验室应通过实施质量方针、质量目标、数据分析、沟通、管理评审、内部审核、能力验证、预防和纠正措施、客户投诉处理等方式,持续改进管理体系的有效性。

4.12.3 实验室应建立质量指示系统,用于监控、评价检验工作的效果。如该指标评价结果表明有改进的可能性,应予以考虑,以使实验室工作质量得到持续改进。

5 技术要求

5.1 人员

5.1.1 实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测。

5.1.2 如果实验室检测结果报告中包含意见和解释,那么授权的签署意见和解释的人员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。

5.1.3 实验室的管理层应保证所有人员接受胜任工作所必需的设备操作、微生物检测技能和实验室生物安全等方面的培训,并有针对性对所有级别检测人员的继续教育计划。

5.1.4 实验室应通过参加内部质量控制、能力验证或使用标准菌株等方法客观评估检测人员的能力,必要时对其进行再培训并重新评估。当使用一种非经常使用的方法或技术时,在检测前确认微生物检测人员的操作技能是十分必要的。

5.2 设施和环境条件

5.2.1 设施

5.2.1.1 实验室应具有进行微生物检测所需的适宜、充分的设施条件,包括检测设施(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、清洁间、储存室、文档室等)。特殊设备要在特

定环境下放置和操作。

依据所检测微生物的不同等级,实验室应对授权进入工作区域的人员采取严格限制措施,并明确告知有关人员以下内容:

- a) 特殊区域的特定用途;
- b) 特殊工作区域的限制措施;
- c) 采取这些限制措施的原因;
- d) 合理的控制水平。

5.2.1.2 应根据具体检测活动(如检测种类和数量等),有效分隔不相容的业务活动。应采取措施将交叉污染的风险降低到最小。为达到这一目标可采取以下措施:

- a) 实验室的建设应符合 GB 19489 的规定,符合“无回路”原则;
- b) 在时间或空间上有效隔离各种检测活动;
- c) 为确保检测样品的完整性(如使用密封容器),操作时应按照规定的程序,并采取预处理措施。

5.2.1.3 按照良好操作规范,应考虑以下清楚标识的隔离场地或明确指定的区域:

- a) 样品接收和储藏区;
- b) 样品前处理区(如应在被隔离的区域处理极易被严重污染的粉状产品);
- c) 样品的微生物检测(包括培养)和可疑致病菌的鉴定区;
- d) 标准菌株和其他菌株的储藏区;
- e) 培养基和化学试剂储藏区(培养基与化学试剂分开存放,危险品和有毒药品应设有专柜保存);
- f) 培养基和器材的准备和灭菌区;
- g) 无菌区;
- h) 清洁间;
- i) 污染物处理区;
- j) 急救区;
- k) 行政区;
- l) 文档处理区;
- m) 更衣室;
- n) 仓库;
- o) 休息室。

5.2.1.4 在分子生物学实验室,应限定在某个工作区域使用吸管、吸管头、离心管、试管等。

5.2.1.5 应保证工作区洁净无尘,空间应与微生物检测需要及实验室内部整体布局相称。实验室空间应符合 GB 19489 和 GB 50346 的相关规定。

5.2.1.6 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。

5.2.1.7 可通过以下途径减少污染:

- a) 表面光滑的墙、天花板、地面和桌椅(光滑程度应取决于对其清洁的难易程度);
- b) 地面、墙壁、天花板连接处应有弧,地面应防滑;
- c) 当进行检测时,应关闭门窗;
- d) 遮阳板应安装到室外,如果无法在室外安装,应保证能够方便地清洁遮阳板;
- e) 除非密闭包装装修,液体运输管路不应在工作区上方穿过;
- f) 换气系统中应有空气过滤装置;
- g) 独立的洗手池,非手动控制效果更好,最好在实验室的门附近;
- h) 不使用粗糙而裸露的木块;
- i) 固定设备和室内装置的木质表面应密闭包裹;

- j) 试验可能低度污染空气时,作业区应装备一台层流生物安全柜;
- k) 储存设施和设备的摆放应易于清洗;
- l) 只将检测必需的橱柜、文件或其他物品放在实验室内。

5.2.1.8 理想的天花板应具有光滑表面并附带充足的照明。如果无法实现,实验室应有书面材料来证明已有效控制了任何导致污染的风险,同时具备有效的防治污染措施,如清洗表面和检查程序。

5.2.1.9 实验室工作人员应清楚潜在的容易发生污染的检测区域,并证明已经采取清洁措施。

5.2.2 环境监测

5.2.2.1 实验室应制定合理的环境监测程序(见 ISO 18593 并参见附录 D)。

5.2.2.2 对环境监测结果进行数据分析(见 ISO 18593 和 ISO 7218)。设定不同工作区域可接受的背景菌落数量,并且有文件化的程序来处理背景菌落总数超标情况。

5.2.3 卫生

5.2.3.1 制定清洁实验室固定装置、设备及表面等的文件化程序,所制定的程序应考虑环境监测结果和交叉污染发生的概率。

5.2.3.2 应有有害微生物发生污染时的处理程序。

5.2.3.3 采取以下措施防止房间内洁净度降低:

- a) 提供足够的储存空间;
- b) 尽可能减少在实验室进行文件处理;
- c) 禁止把植物和个人物品带入实验室工作区域。

5.2.3.4 根据所检测的微生物危害等级的不同,在实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。这对分子生物学实验室和危害等级Ⅱ级以上实验室尤其重要。

5.2.3.5 应准备足够数量的洗手设施和急救材料。

5.2.3.6 无菌室在使用前和使用后应进行消毒,并定期监测无菌室的消毒效果(参见附录 B 和附录 D)。

5.3 设备

5.3.1 总则

5.3.1.1 实验室应制定并实施设备维护、校准和性能验证的程序(参见附录 C)。

5.3.1.2 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。

5.3.1.3 每台设备均应有唯一性标识。

5.3.1.4 如果设备脱离实验室直接控制或被修理,恢复使用前应对其检查或校准,以确保其性能满足要求。

5.3.1.5 使用计算机或自动化设备收集、处理、记录、报告、存储或检索数据,应确保:

- a) 由使用者开发的计算机软件应被制定成足够详细的文件,并对其适用性进行适当验证;
- b) 制定并执行相应程序以随时保护数据和记录的完整性,防止无意的或未经授权者访问、修改或破坏;
- c) 应维护计算机和自动化设备,以确保其正常运转,并应提供相应的环境和操作条件。

5.3.1.6 为避免偶然发生的交叉污染,实验室的设备不应频繁移动。

5.3.2 维护

5.3.2.1 设备的安装和布局应便于操作,易于维护、清洁和校准。

5.3.2.2 应定期验证和维护设备,以确保其处于良好工作状态。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。

5.3.2.3 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。

5.3.2.4 应注意以下交叉污染：

- a) 一次性设备和重复使用的玻璃器皿应洁净无菌；
- b) 建议实验室使用专门处理污染物的高压灭菌锅。

5.3.2.5 以下设备需要清洁、维护，定期进行损坏检验，必要时进行灭菌：

- a) 一般设备：滤器、玻璃和塑料容器（瓶子、试管）、玻璃或塑料的带盖培养皿、取样器具、镍铬合金或一次性接种针或接种环等；
- b) 测量器具：温度计、计时器、天平、酸度计、菌落计数器等；
- c) 定容设备：吸管、自动分液器、微量移液器等；
- d) 其他设备：水浴锅、培养箱、超净工作台或生物安全柜、高压灭菌锅、均质器、冷藏箱、冷冻柜等。

5.3.3 校准和性能验证

5.3.3.1 总则

应制定影响检测结果的设备的校准和性能验证程序。实验室选择使用的校准服务应确保其测量可溯源至国际单位制(SI)；若测量无法溯源到SI单位或与之无关时，应能够溯源到诸如有证标准物质(参考物质)、约定的方法和(或)协议标准等。根据设备类型、以前的性能状况以及经验和实际需要，确定设备使用性能验证的频率。应在设备使用前确认其性能，使用后要记录。应定期维护以保证设备处于良好的工作状态。附录C规定了不同设备的校准、性能验证和维护办法。

5.3.3.2 测温装置

- a) 温度直接影响检测结果或对设备的正常运转有至关重要的作用时，相关的测温装置(如安装在培养箱和高压灭菌锅上的温度计、热电偶和铂电阻温度计等)应具有可靠的质量并进行校准以确保所需的准确度。
- b) 测温装置可以用来监控冰箱、低温冷冻柜、培养箱及水浴锅等设备的温度。应在使用前验证此类装置的性能。

5.3.3.3 培养箱、水浴锅和干热灭菌箱

- a) 首次安装使用时对温度的稳定性和一致性进行校准。
- b) 应确定并记录培养箱、水浴锅和干热灭菌箱的温度稳定性、温度分布的均匀性和达到平衡状态所需时间，尤其要注意其使用状况(如培养皿的位置、间距、高度和层叠数量)。
- c) 每次经维修和校准后，都应检查和记录最初确认设备时所记录的各项参数的稳定性。实验室应监测这些设备的运行温度，并保存记录。
- d) 应定期清洁和消毒内外壁。

5.3.3.4 高压灭菌锅(包括培养基制备仪)

以下列出了校准、验证和监控高压灭菌锅的一般性方法。定量检测相同批次内和不同批次间经过高压灭菌的物品的变化，也可以提供等效的质量保证。

- a) 高压灭菌锅的时间和温度指示的准确度应满足使用要求，不能仅依靠高压锅的压力表测定时间，应使用感应器控制和监控运转循环情况。
- b) 初始验证应包括实际应用每个运转循环和每一种装载状态时的性能。经过大型维修或调试(如更换温度调节器的探测仪或程序器、调整安装位置及工作循环)后或需要对培养基的质量进行控制时，应重复性能初始验证程序。应在每一批物品不同位置放置足够的温度感应器(置于充满水或培养基的容器中)以显示不同位置的温度。
- c) 在验证过程中，应提供基于加热分布图的清晰明了的操作说明。确定接受(拒绝)的标准和高压灭菌锅的使用记录，包括每个运转循环的温度和时间。
- d) 通过下列措施之一进行监控：应用热电偶和记录仪打印输出图表，或者直接观察和记录达到的最高温度及达到最高温度值的时间。除直接监控高压灭菌锅的温度外，还可使用化学或生物指示剂检查每个灭菌循环的运转效果。

- e) 应及时除锈和排水。

5.3.3.5 砝码和天平

砝码和天平应在规定时间间隔内进行校准和送检定。使用中可能造成污染时,应使用非腐蚀性消毒剂进行清洁和消毒。

5.3.3.6 定容设备

- a) 应对定容设备进行初始验证,以后应定期检查以确保其准确度。对于已经过校准或检定证明符合使用要求的玻璃器皿不必进行初始验证。应检查移取不同体积液体的准确度(如在体积可变设备的几个不同设置),测定反复移取液体所得的精密度。
- b) 对于单用途的一次性定容设备,应要求供应商具备保证产品质量稳定可靠的质量体系。对此类定容设备的稳定性进行初始验证后,应对其准确度进行随机抽查。必要时应对每批定容设备的适用性进行核查。

5.3.3.7 生物安全柜

应定期对生物安全柜进行校准和性能确认,校准和性能确认的方法和频率见 GB 50346。

5.3.3.8 其他设备

- a) 应定期或在使用前验证传导计、氧气表、pH 计和其他类似设备的性能。在适当的条件下储存验证用的缓冲液,并且标记有效期。
- b) 如果湿度对于检测结果很重要,则应对湿度计进行校准。
- c) 若所测量的时间对检测结果有影响时,应使用经过校准的定时器或计时器。
- d) 若检测过程中使用离心机,应评估离心力的危险程度。如果离心机是关键性的,则需要校准。

5.4 试剂和培养基

5.4.1 试剂

5.4.1.1 实验室应有对试剂进行检查、接收(拒收)和贮存的程序,确保所用的试剂质量符合相关检测的需要。应使用有证的国家或国际质控微生物(标准微生物),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。

5.4.1.2 应对试剂进行管理控制,包括全部相关试剂、质控材料以及校准品的批号、实验室接收日期以及这些材料投入使用的日期。

5.4.1.3 化学药品和培养基应分类存放,其中无机物可按酸、碱、盐分区存放。

5.4.2 实验室制备培养基

5.4.2.1 实验室培养基制备和使用等应按照 SN/T 1538.1 的要求执行。

5.4.2.2 应检查实验室内制备的培养基、稀释剂和其他悬浮液的适用性,检验方式有以下几种,可按 SN/T 1538.2 的定量程序评估目标微生物在培养基的复苏或存活力。

- a) 目标微生物的复苏或存活力的保持;
- b) 对非目标微生物的抑制;
- c) 生化(分离的和鉴定的)性质;
- d) 理化性质(例如 pH、体积)。

5.4.2.3 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。

5.4.2.4 要确定和验证已制备的培养基在适当的储存条件下的保存期限。

5.4.2.5 除非实验方法有特殊要求,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并无菌、无干扰剂和抑制剂,配制用水应满足下列参数:

- a) 电阻率在 25℃时应 $\geq 300\ 000\ \Omega \cdot \text{cm}$,建议每周检测一次;

b) 重金属(镉、铬、铜、镍、铅等) >0.05 mg/L,重金属总量 <10 mg/L,建议每年检测一次。

5.4.3 即用型培养基

5.4.3.1 在使用前需验证所有即用型或部分完成的培养基(包括稀释剂和其他悬浮液),应充分定量评估其对目标微生物的复苏或存活力以及对非目标微生物抑制的性能;应使用客观的标准对其品质(如感官和生化性质)进行评估。

5.4.3.2 作为培养基验证的一部分,实验室人员应充分了解制造商所提供的产品质量说明书,其中至少应包括以下几方面:

- a) 培养基的名称和组成成分,包括所有添加剂;
- b) 保存期限和验收标准;
- c) 储存条件;
- d) 产品特性(级别);
- e) 无菌检查;
- f) 目标和非目标对照微生物的生长状态的检查以及验收标准;
- g) 感官检测和验收标准;
- h) 说明书上的生产日期。

5.4.3.3 应验证每一批培养基,确保所接收的每批培养基满足质量要求。

5.4.4 标识

应标明所有试剂(包括储存液)、培养基、稀释剂和其他悬浮液名称,可行时应标明适用性、特性、浓度、储存条件、配制日期、有效期和(或)推荐的储存期限。负责微生物检测准备的试验人员可以通过记录加以识别。

5.5 标准物质和标准培养物

5.5.1 标准物质

标准物质和有证标准物质提供了测量中基本的可溯源性,其可用来:

- a) 证明结果的准确性;
- b) 校准设备;
- c) 监测实验室运转;
- d) 验证试验方法;
- e) 比较试验方法。

5.5.2 标准培养物

5.5.2.1 实验室应制定并实施特定程序管理和使用标准培养物。

5.5.2.2 实验室应通过标准培养物来验收培养基(包括试剂盒)、验证方法和评估实验操作。实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,确定试剂盒的性能和验证方法,并证实其可追溯性(见 SN/T 1538.2)。

5.5.2.3 将标准菌株传代培养一次,制得标准储备菌株,应同时进行确认试验(纯度和生化检查)。建议使用深度冰冻或冻干的方法制备标准储备菌株。标准储备菌株经继代培养获得日常微生物检测所需工作菌株(见附录 A)。一旦标准储备菌株被解冻,最好不要重新冷冻和再次使用。

5.5.2.4 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,除非标准方法中要求并规定,或实验室能够提供文件化证据证明其相关特性没有改变。

5.5.2.5 工作菌株不可代替标准菌株。标准菌株的商业派生菌株仅可用作工作菌株。

5.5.2.6 标准菌株如已老化、退化或变异、污染等,经确认试验不符合的或该菌种已无使用需要的,应及时销毁。

6 过程控制要求

6.1 合同评审

6.1.1 实验室应建立和维持合同评审程序,并确保:

- a) 充分明确包括所用方法在内的客户要求;
- b) 实验室有满足这些要求的能力和资源;
- c) 选择可满足合同要求的检验程序。

针对 b),应制定能力评审的方案,以证实实验室具备必要的人力、物力和信息资源,且实验室工作人员具有相应的专业技能与经验,以满足所从事检测项目的要求。该评审也可包括以前参加的用定值样品检测确定测量不确定度、检出限、置信区间等外部质量评估计划的结果。

6.1.2 应保存合同评审记录,包括任何重大的改动和相关讨论。

6.1.3 评审也应包括实验室所有分包出去的工作(见 6.2)。

6.1.4 对合同的任何偏离均应通知客户。

6.1.5 如果在工作已经开始后需要修改合同,应重新进行合同评审过程,并将修改内容通知所有相关人员。

6.2 分包

6.2.1 实验室应制定并实施分包实验室的评估和选择程序。实验室管理层应负责评估、选择、监控分包实验室的工作质量,确保分包实验室有能力进行所要求的检测。

6.2.2 实验室应与分包实验室签订协议并定期评审,以确保:

- a) 充分明确包括检验前以及检验后程序在内的各项要求,形成文件并易于理解;
- b) 分包实验室有能力满足各项要求且没有利益冲突;
- c) 选择的检验程序适合其预期用途;
- d) 明确规定对检测结果的解释责任。

6.2.3 实验室应对其所有分包实验室进行登记,并应记录所有已分包的样品。实验室应保留一份分包实验室出具的实验报告。

6.2.4 应由本实验室,而非分包实验室,负责确保将分包实验室的检测结果提供给客户。如果由本实验室出具报告,报告中应包括分包实验室所报告结果的所有必需要素,不得做出任何可能影响结果判定的改动。

然而,并不要求实验室按分包实验室的报告原字原样地出具检测报告,除非国家(地方)法律法规有此规定。实验室的负责人可根据客户的具体情况对检测结果做出附加的意见和解释,但应在报告中明确标识添加意见和解释的负责人。

6.3 检测方法的确认和验证

6.3.1 实验室应采用满足客户需要并适用于所进行的检测的方法,包括抽样的方法。当客户未指定所用方法时,实验室应优先选择以国际、区域或国家标准发布的检测方法,或选择由知名的技术组织或有关科学书籍和期刊公布的,或由设备制造商指定的方法。实验室制定的或采用的方法如能满足实验室的预期用途并经过验证,也可使用。

6.3.2 实验室应对非标准方法、实验室设计(制定)的方法、超出其预定范围使用的标准方法、扩充和修改过的标准方法进行确认。可替代方法的确认可参照 ISO 16140 进行。

检测方法的确认应反映出实际检测状况,可以通过使用自然污染产品或人工污染预定微生物的样品来实现。向基质中添加预定微生物只是简单模拟自然污染的状态,但这是目前唯一的最佳方法。需要确认的范围取决于所用方法及其预期应用范围。

6.3.2.1 对于定性微生物检测方法,应确认其特异性、阳性偏差、阴性偏差、判定限、培养基影响、重复性和再现性。

6.3.2.2 对于定量微生物检测方法,应确认其特异性、灵敏度、阳性偏差、阴性偏差、重复性、再现性以及规定的可变范围内的判定限。在检测不同种类的样品时,应考虑不同培养基的差异。应使用适当的统计方法评估检测结果。

6.3.3 实验室应保留所用商业检测系统(试剂盒)的确认数据。这些确认数据可通过合作试验获得,或由制造者提供,或交由第三方机构评估[如国际分析化学家协会(AOAC)、国际标准化组织(ISO)等]。如果没有确认数据或不完全适用,实验室有责任完成所用商业检测系统的确认。

6.3.4 如果需要证明一种改进方法与原始方法的等效性,应进行平行比较试验来证实。实验设计和结果分析在统计学上应是有效的。

6.3.5 在引入新的标准方法前,实验室应证实能够正确运用这些标准方法。

6.4 测量不确定度

6.4.1 检测实验室应具有并应用评定测量不确定度的程序。某些情况下,在微生物检测中无法严格地、从计量学和统计学上正确评估测量的不确定度,但应识别和证实不确定度各分量处于控制之中,并评估出它们对结果的影响程度。

6.4.2 微生物检测实验室应了解待检微生物的分布状况,分样时应予以考虑。但是,建议不把这种不确定度包括在内,除非委托人有这方面的要求。

6.4.3 不确定度概念不能直接用于定性检测结果,但应识别并证明个别的可变因素(如试剂的浓度等)处于控制之中。另外,对于判定限是一个重要的适用性指标的检测而言,应慎重评估有关接种量的不确定度及其重要性。实验室应意识到所进行的定性实验中出现假阳性和假阴性结果的概率。

6.5 取样

6.5.1 一般情况下,检测实验室不负责抽取实验所需的原始样品。如果需要负责取样,应在保证质量的情况下进行。

6.5.2 为保持样品完整性,应询问(或了解)并记录运输和储存样品的条件。必要时,应有从取样到送达实验室的运输和储存记录档案。收到样品后,应根据有关标准和(或)国家(国际)规范尽快对样品进行检测。

6.5.3 应由经过培训合格的人员使用无菌工具无菌操作取样,监测和记录取样地点的环境状况(如空气污染度、温度等),并记录取样时间。

6.6 样品处置和确认

6.6.1 微生物对储存和运输中诸如温度或持续时间等因素较敏感,所以实验室在接收样品时应检查并记录样品状况。

6.6.2 实验室应有样品传递、储存、处置和识别管理程序。如果样品数量不足,或因外观不整、温度不适、包装破损导致样品状态不佳,或标识缺失,实验室应在决定检测或拒绝接受样品前与客户沟通。在任何情况下,样品的状况应在检测报告中体现。

6.6.3 实验室尤其应记录以下相关信息:

- a) 样品接收日期,及时间(如果需要);
- b) 所接收样品状况,及温度(如果需要);
- c) 取样信息(取样日期和取样条件等)。

6.6.4 为减少待验样品中微生物种群的变化,待验样品应在合适的条件下储存。应明确规定和记录储存条件。

6.6.5 样品的包装和标签可能被严重污染,应仔细搬运和储存样品以避免污染的扩散。

6.6.6 在检测前,应根据有关的国家或国际标准,或根据已被确认的实验室内部方法,尽快制备试验所需样品。制备试验所需样品时要考虑微生物的不均匀分布。按 ISO 7218 执行。

6.6.7 如果客户在送交样品时或检测前没有特殊要求,实验室一般不保留样品。如果要保留样品,应按照既定的保留样品管理程序进行。

6.6.8 已知有严重污染的实验室样品,在弃置之前应对其进行去污染处理(参见附录 D)。

6.7 污染废物的处理

实验室应制定污染废物处理程序以减小其污染检测环境或设施的可能性。

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。

6.8 检测报告

6.8.1 实验室应准确、清晰、明确和客观地报告每一项或一系列检测的结果,并符合检测方法中规定的要求。

除非实验室有充分的理由,否则每份检测报告应至少包括下列信息:

- a) 标题(如检测报告);
- b) 实验室的名称和地址,进行检测的地点(如果与实验室的地址不同);
- c) 检测报告的唯一性标识(如系列号)和每一页上的标识,以确保能够识别该页是属于检测报告的一部分,以及表明检测报告结束的清晰标识;
- d) 客户的名称和地址;
- e) 所用方法的识别;
- f) 检测样品的描述、状态和明确的标识;
- g) 对结果的有效性和应用至关重要的检测样品的接收日期和进行检测的日期;
- h) 如与结果的有效性和应用相关时,实验室或其他机构所用的抽样计划和程序的说明;
- i) 带有测量单位的检测结果;
- j) 检测人和检测报告审核人的姓名、签字或等效标识;
- k) 必要时,仅与被检测物品有关的声明。

6.8.2 对于定量检测,按 ISO 7218 进行计算,结果应报告为“在规定的单位样品中检测到多少菌落形成单位(CFU)[或最近似值(MPN)]或小于目标微生物判定限”。

6.8.3 对于定性检测,按 ISO 7218 和相关检测标准进行证实,结果应报告为“在规定的单位样品中检出或未检出目标微生物”。

6.8.4 在检测报告上列出检测结果的不确定度时,应把任何局限性(特别是当评估并不包括微生物在样品中分布的不确定度分量时)明确告诉客户。

6.8.5 当实验室需要对来自分包实验室的检测结果进行转录时,应有程序验证所有转录内容正确无误。

6.8.6 实验室应有关于更改报告的书面政策和程序。

6.8.7 应制定政策及程序,确保检测结果只能送达被授权的接收者。

7 内部质量控制和外部质量评估

7.1 内部质量控制

7.1.1 内部质量控制是由实验室对其所承担工作进行连续评估的所有程序组成,其主要目的是确保每个工作日检测结果的连贯性及其与特定标准的一致性。

7.1.2 实验室应制定周期性检查程序以证实检测可变性(例如检测者之间的差异和设备或材料之间的差异等)处于控制之下,该程序应覆盖实验室的所有检测项目和所用检测人员。该程序应包括但不限于以下方法:

- a) 使用添加已知水平的标准培养物(包括目标微生物和背景微生物)的样品;
- b) 使用标准物质(包括能力验证样品);
- c) 平行试验;
- d) 检测结果的平行评估。

这些检查的时间间隔受到检验程序和实际检测次数影响。建议将实际检测与内部质量控制结合起

来,以便监控试验操作。

7.1.3 有些项目是很少进行检测的。这种情况下,内部质量控制程序也许并不合适,而一个与检测同时进行的验证程序或许更为适合。

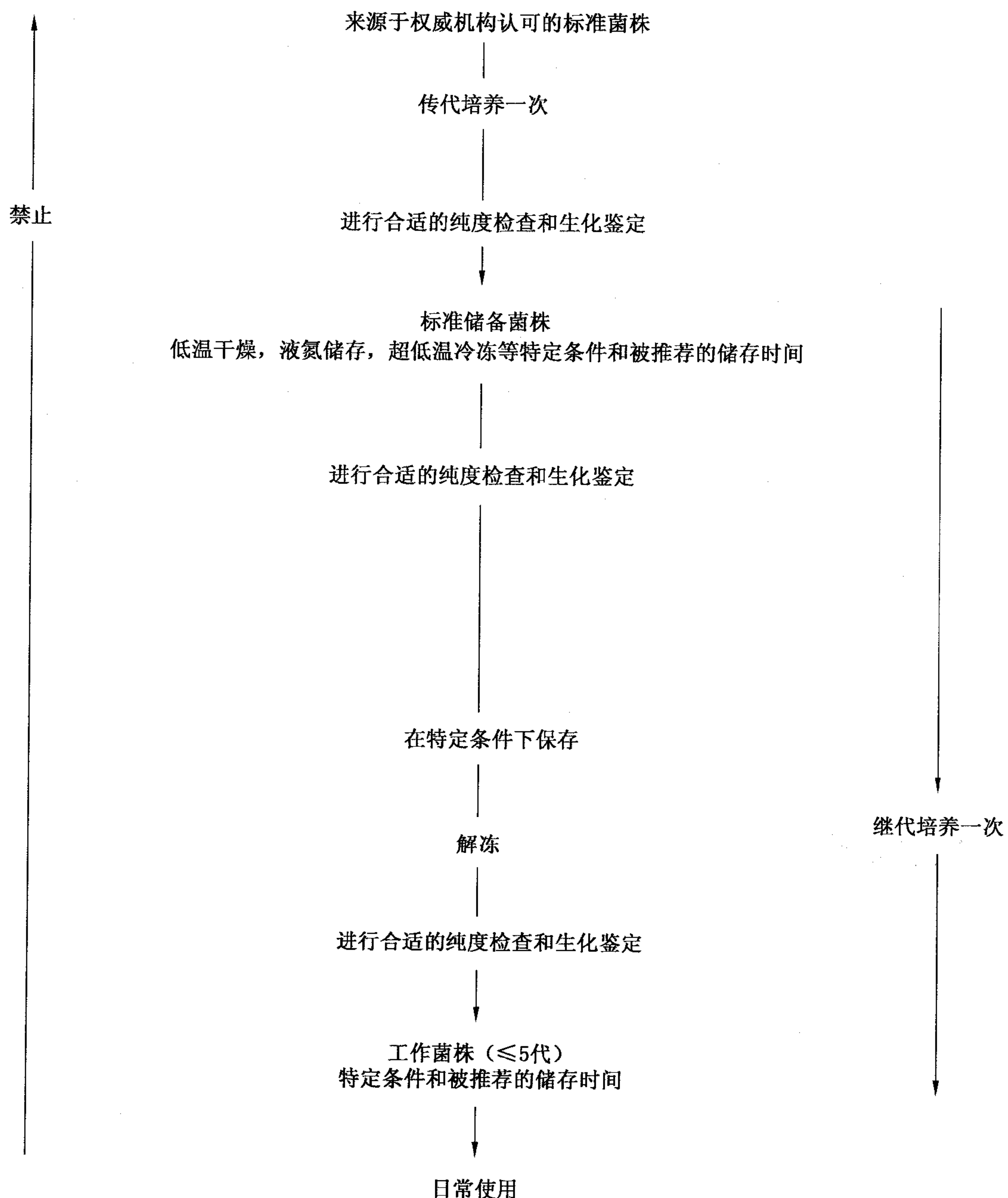
7.2 外部质量评估

7.2.1 实验室应尽可能参加与其检测范围相关的外部质量评估计划(如能力验证)和实验间比对试验。

7.2.2 实验室使用外部质量评估计划不仅可评定检测结果的偏差,还可以检查整个质量管理体系的有效性。

附录 A
(规范性附录)
标准培养物的一般性使用

标准培养物的一般性使用示意图见图 A.1。



注：上述过程的所有步骤均应文件化,并保留所有步骤的详实记录。

图 A.1 标准培养物的一般性使用示意图

附录 B**(资料性附录)****微生物无菌室基本要求及管理****B.1 无菌室的基本建设要求**

B.1.1 根据本实验室所涉及的生物安全等级,无菌室的设计和建设应符合 GB 50364 和 GB 19489 的相关要求。

B.1.2 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。

B.1.3 无菌室入口处应设置缓冲间,缓冲间内应安装非手动式开关的洗手盆,并可有毛巾。缓冲间应有足够的面积以保证操作人员更换工作服及鞋帽。

B.1.4 无菌室内工作台的高度约 80 cm,工作台应保持水平,工作台面应无渗漏,耐腐蚀,易于清洁、消毒。

B.1.5 无菌室内光照应分布均匀,工作台面的光照度应不低于 540 lx。

B.1.6 无菌室应具备适当的通风和温度调节的条件。无菌室的推荐温度为 20℃,相对湿度为 40%~60%。

B.1.7 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。

B.2 无菌室的管理

B.2.1 无菌室在使用前和使用后应进行有效的消毒,消毒方法参见附录 D。

B.2.2 无菌室的灭菌效果应至少每两周验证一次。

B.2.3 应制定清洁、消毒、灭菌、使用和应急处理程序。

B.2.4 应记录环境监测结果,并归档保存。

B.2.5 不符合规定时应立即停止使用。

附 录 C
(资料性附录)

设备的校准、维护和性能验证

C.1 总则

C.1.1 设备操作要求

实验室负责人应确保每位操作人员均按照说明书或设备操作指导书的要求进行操作。

C.1.2 设备手册

所有设备档案应按照易于检索的方式存档。包括设备手册、使用说明书、维修保养指南、购买时所附带的全部技术资料以及采购、验收的记录。还应该搜集设备使用记录、维修保养记录等。

C.1.3 设备记录

C.1.3.1 应详细记录与预期质量控制结果不一致的情况,附上所采取的纠正措施,由负责分析的人员验证并通知实验室负责人。实验室负责人应定期审核这些记录。

C.1.3.2 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。

C.1.3.3 有关设备的每个事件都应记录在案,包括日期、事件、采取的纠正措施、登记人的姓名等。

C.1.3.4 应保存所有设备最近三年的使用记录本和维护记录本。

C.2 设备的校准(见 ISO 7218 和 EA-04/10)

应根据需要、设备类型和以往的性能情况和相应的法规要求确定校准频率(见表 C.1)。

表 C.1 设备校准要求和频率

设备类型	要 求	推荐频率
参考玻璃温度计	完全可追溯性重新校准	每五年一次
	单点(如零点)核查	每年一次
参考热电偶	完全可追溯性重新校准	每三年一次
	用参考温度计核查	每年一次
工作温度计 和工作热电偶	在零点和(或)工作温度范围用参照温度计 核查	每年一次
天平	完全可追溯性校准	每年一次
校准砝码	完全可追溯性校准	每五年一次
核查砝码	用已校准砝码检查或立即在可追溯性校准的 天平上核查	每年一次
玻璃定容器具	重量分析法校准至所需公差	每年一次
显微镜	对镜台测微器进行可追溯性校准(若适合)	初次使用前
湿度计	可追溯性校准	每年一次
离心机	可追溯校准或用适宜的独立转速计核查	每年一次
压力表	可追溯性校准	每年一次

C.3 设备的性能验证

应根据需要、设备类型和以往的性能情况确定设备性能验证频率(见表 C.2)。

表 C.2 设备性能验证要求和频率

设备类型	要 求	推荐频率
温控设备(培养箱,水浴锅,冰箱、冷冻柜等)	a) 确定温度的稳定性和均匀性 b) 监测温度	a) 初次使用前,此后每两年一次和每次维修后 b) 每个工作日一次或每次使用前
干热灭菌箱	a) 确定温度的稳定性和均匀性 b) 监测温度	a) 初次使用前,此后每两年一次和每次维修后 b) 每次使用前
高压灭菌锅	a) 确定运转的特性 b) 监测温度和时间	a) 初次使用前,此后每两年一次和每次维修后 b) 每一次使用前
生物安全柜	a) 确定性能 b) 微生物监测 c) 气流监测	a) 初次使用前,此后每年一次和每次维修后 b) 每两周一次 c) 每次使用前
超净工作台	a) 确定性能 b) 使用无菌琼脂平板检测	a) 初次使用前,每次维修后 b) 每两周一次
定时器	对照国家时标核查	每年一次
显微镜	检查调准装置	每个工作日一次或每次使用前
pH 计	用至少两种适当的缓冲液调整	每个工作日一次或每次使用前
天平	清零检查,并称取核查砝码的重量	每个工作日一次或每次使用前
去离子器和反渗透装置	a) 检查传导率 b) 检查微生物污染	a) 每周一次 b) 每月一次
重量稀释机	a) 检查所分配部分的重量 b) 检查稀释比例	a) 每个工作日一次 b) 每个工作日一次
培养基分装器	检查所分配的量	a) 初次使用前 b) 每次调整或替换时
移液器(移液管)	检查所分配部分的准确性和精确度	有规律地(取决于使用频率和性质)
螺旋菌落接种仪	a) 对照传统方法确定其性能 b) 检查针突状况以及始端和终端 c) 检查所分配的量	a) 初次使用前,此后每年一次 b) 每个工作日一次或每次使用前 c) 每月一次
菌落计数器	对照手动计数器核查	每年一次
离心机	对照已校准的单独的转速计核查速度	每年一次
厌氧罐(厌氧培养箱)	用厌氧指示剂确认	每次使用时
无菌室或洁净室	使用诸如空气采样器、沉降平板、接触盘或棉拭子等方法监测空气和表面微生物污染	每两周一次

C.4 设备的维护

应根据需要、设备类型和以往的性能情况确定设备的维护频率(见表 C.3)。

表 C.3 设备维护、清洁的要求和频率

设备类型	要 求	建议频率
培养箱、冰箱、 冰冻机、干热灭菌箱	清洁和消毒内表面	a) 每月一次 b) 必要时(如每3个月一次) c) 必要时(如每年一次)
水浴锅	倒空,清洁,消毒和再注水	每月一次,或使用消毒剂时每6个月一次
离心机	a) 检修 b) 清洁和消毒	a) 每年一次 b) 每次使用前
高压灭菌器	a) 检查衬垫,清洁和排空内室 b) 全面检修 c) 压力容器的安全检查	a) 按生产商推荐频率有规律进行 b) 每年一次或按生产商推荐进行 c) 每年
生物安全柜(超净工作台)	全面检修和机械检查	每年一次或按生产商推荐频率进行
显微镜	全面维修保养	每年一次
pH计	清洁电极	每次使用前
天平、重量稀释机	a) 清洁 b) 检修	a) 每次使用前 b) 每年一次
蒸馏锅	清洁和除垢	必要时(如每3个月一次)
去离子机和反渗透装置	更换柱体或滤膜	按生产商推荐频率进行
厌氧罐	清洁和消毒	每次使用后
培养基分装器、定容设备、 移液管和一般性辅助设备	必要时,去污染、清洁和灭菌	每次使用前
螺旋菌落接种仪	a) 检修 b) 去污染、清洁和灭菌	a) 每年一次 b) 每次使用前
实验室	a) 清洁和消毒工作区表面 b) 清洁地板,消毒洗涤槽 c) 清洁和消毒其他表面	a) 每个工作日一次以及使用期间 b) 每周一次 c) 每三个月一次

C.5 不正常的设备

C.5.1 任何设备,若出现过载或错误操作,或检测结果可疑,或设备缺陷,都应立即停用。

C.5.2 若有可能,不正常设备应放在指定地方,直至维修并经校准、确认和验证其性能符合要求后方可恢复使用。

C.5.3 实验室应评估由于该设备的不正常对以前的检测结果造成的影响。

附 录 D

(资料性附录)

微生物实验室消毒处理方法

D.1 无菌室

D.1.1 紫外线消毒

D.1.1.1 在室温 20℃~25℃时,220 V 30 W 紫外灯下方垂直位置 1.0 m 处的 253.7 nm 紫外线辐射强度应 $\geq 70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$,低于此值时应更换。适当数量的紫外灯,确保平均每立方米应不少于 1.5 W。

D.1.1.2 紫外线消毒时,无菌室内应保持清洁干燥。

D.1.1.3 在无人条件下,可采取紫外线消毒,作用时间应 $\geq 30 \text{ min}$ 。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。

D.1.1.4 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。

D.1.1.5 人员在关闭紫外灯至少 30 min 后方可入内作业。

D.1.1.6 按照 GB 15981 的规定,评价紫外线的消毒与杀菌效果。

D.1.2 臭氧消毒

D.1.2.1 封闭无菌室内,无人条件下,采用 20 mg/m³ 浓度的臭氧,作用时间应 $\geq 30 \text{ min}$ 。消毒后室内臭氧浓度 $\leq 0.2 \text{ mg}/\text{m}^3$ 时方可入内作业。

D.1.2.2 按照 GB/T 18202 的规定,检测室内臭氧的浓度。

D.1.3 无菌室空气灭菌效果验证方法(沉降法)

D.1.3.1 在消毒处理后与开展检验活动之前期间采样。

D.1.3.2 取样位点的选择应基于人员流量情况和做试验的频率。一般情况下,无菌室面积 $\leq 30 \text{ m}^2$ 时,从所设定的一条对角线上选取 3 点,即中心 1 点、两端各距墙 1 m 处各取 1 点;无菌室面积 $\geq 30 \text{ m}^2$ 时,选取东、南、西、北、中 5 点,其中东点、南点、西点、北点均距墙 1 m。

D.1.3.3 在所选位点,将平板计数琼脂平板(90 mm)或水化 3M Petrifilm™ 菌落总数测试片¹⁾置于距地面 80 cm 处,开盖暴露 15 min,然后,置于 36℃ $\pm 1^\circ\text{C}$ 恒温箱培养 48 h $\pm 1 \text{ h}$ 。如果侦查某目标细菌,则可用选择性琼脂平板(如 PDA 平板)或微生物测试片(如 3M Petrifilm™ 环境李斯特氏菌测试片¹⁾)。

D.1.3.4 确认平板上的菌落数,如大于所设定的风险值,应分析原因,并采取适当措施。

D.2 培养基和试剂

D.2.1 培养基通常应采用高压湿热灭菌法,121℃ 灭菌 15 min,特殊培养基按使用者的特殊要求进行灭菌(如含糖培养基,115℃ 灭菌 20 min)。

D.2.2 部分培养基(如嗜盐琼脂培养基、胆硫乳培养基等),只能煮沸灭菌。

D.2.3 对热敏感的培养基或添加物质,应采用膜过滤方法进行过滤除菌。

D.2.4 即用型试剂不需灭菌,应参见相关国际标准或供应商使用说明,直接使用。

D.3 器具和设备

D.3.1 湿热灭菌:采用高压灭菌器,121℃ 灭菌 20 min,适用于玻璃器皿、移液器吸头、塑料瓶等。按照

1) 由指定单位提供,并按其操作说明使用。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。

GB 15981 的规定,评价高压灭菌器的杀菌效果。

D.3.2 干热灭菌:采用干燥箱灭菌,160℃灭菌 2 h,180℃灭菌 1 h,适用于玻璃器皿,不锈钢器具等。

D.3.3 液体消毒剂消毒:使用适当浓度的自配或商业液体消毒剂(参见表 D.1)对工作台面、器具或设备表面进行消毒。可按照 GB 15981 的规定,评价自配或商业消毒剂的消毒效果;可按照 ISO 18593,监测工作台面、器具或设备表面的消毒效果。

表 D.1 某些消毒剂的特性(ISO 7218)

消毒剂	抗活性							被灭活					毒性		
	真菌	细菌		分枝杆菌	孢子	亲脂病毒 ^c	非亲脂病毒	蛋白质	天然物质	合成物质	硬水	去垢剂	皮肤	眼睛	肺
		G ⁺	G ⁻												
次氯酸盐	+	+++	+++	++	++	+	+	+++	+	+	+	C	+	+	+
乙醇	—	+++	+++	+++	—	+	V	+	+	+	+	—		+	
甲醛	+++	+++	+++	+++	+++ ^a	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+
戊二醛	+++	+++	+++	+++	+++ ^b	+	+	NA	+	+	+	NA	+++	+++	+++
碘载体	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+	+	+	A	+	+	—

注: +++, 良好; ++, 一般; +, 轻微; —, 零; V, 取决于病毒; C, 阳离子; A, 阴离子; NA, 不适用。

^a 40℃以上。
^b 20℃以上。
^c 亲脂病毒。

D.4 实验室废弃物

D.4.1 对于培养物及其污染的物品(如斜面、api20E 测试条、api20NE 测试条、生物鉴定管、血清学鉴定用载玻片、mini-VIDAS 测试条、用过的移液器吸头、细菌培养皿、注射器等),应使用适当浓度的自配或商业液体消毒剂(参见表 D.1)对处理后一定时间,或 121℃ 高压灭菌至少 30 min,或者其他有效处理措施。将处理物倒入特殊标识的垃圾袋内,直接送到指定地点。

D.4.2 对于实验动物尸体及相关废弃物,按照 GB 14925 的规定进行处理。

D.4.3 记录并保留废弃物和实验动物尸体处理的记录。