(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112710516 A
(43)申请公布日 2021.04.27

(21)申请号 202011471286.3

(22)申请日 2020.12.15

(71)申请人 山东省食品药品检验研究院
地址 250000 山东省济南市高新区新泺大街2749号

(72)发明人 丁勃 何昭允 邢晟 沈振 胡德福 李军

(74)专利代理机构 北京邦中知识产权代理有限公司 11827
代理人 方岩 张君

(51)Int.Cl.
G01N 1/24(2006.01)

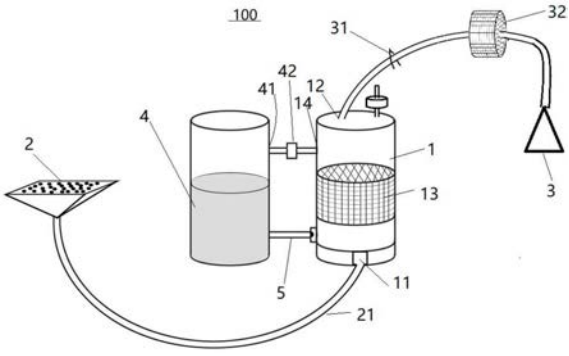
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

(54)发明名称

微生物采集器、微生物采样系统及采样方法

(57)摘要

本申请涉及一种微生物采集器、微生物采样系统及采样方法。微生物采集器包括：采集罐，内部为空腔，采集罐包括进气口和出气口，空腔内部设置微生物过滤网，进气口和出气口分别位于微生物过滤网的两侧；采样头，连接采集罐的进气口，采样头用于采集洁净区回风口过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息；气泵，连接采集罐的出气口。本申请的微生物采集器在回风口处进行采样，检测结果可用于洁净环境监测、消毒控制和药品监管部门的监督检查。



CN 112710516 A

1.一种微生物采集器,其特征在于,包括:

采集罐,内部为空腔,所述采集罐包括进气口和出气口,所述空腔内部设置微生物过滤网,所述进气口和出气口分别位于所述微生物过滤网的两侧;

采样头,连接所述采集罐的进气口,所述采样头用于采集洁净区的回风口过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息,并通过气体送入所述采集罐;

气泵,连接所述采集罐的出气口。

2.根据权利要求1所述的微生物采集器,其特征在于,还包括液体培养基罐,所述液体培养基罐包括出液口;所述采集罐包括进液口,所述液体培养基罐的出液口通过控制阀连接所述采集罐的进液口。

3.根据权利要求2所述的微生物采集器,其特征在于,所述液体培养基罐的外壁通过固定杆连接所述采集罐的外壁。

4.根据权利要求1所述的微生物采集器,其特征在于,所述采集罐上设置提取口,所述提取口用于提取所述微生物过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息。

5.根据权利要求1所述的微生物采集器,其特征在于,所述采集罐的出气口与所述气泵的连接管路上设置气体控制开关。

6.一种微生物采样系统,其特征在于,包括:

权利要求1～5任一项所述的微生物采集器;

壳体,所述微生物采集器设置于所述壳体上;

控制模块,设置于所述壳体上,所述气泵连接所述控制模块;

电源模块,设置于所述壳体上,所述电源模块连接所述控制模块。

7.根据权利要求6所述的微生物采样系统,其特征在于,还包括回风口过滤网,所述回风口过滤网设置于洁净区的回风口处,所述回风口过滤网包括:第一滤网层、第二滤网层和静电网层,所述静电网层设置于所述第一滤网层和第二滤网层之间。

8.一种微生物采样方法,其特征在于,包括:

将采样头放置在洁净区的回风口处,采集回风口过滤网上附着的微生物和/或微生物遗传信息;

采样的气体进入采集罐中,经过微生物过滤网后排出所述采集罐,所述微生物过滤网吸附采样气体中的微生物和/或微生物遗传信息;

提取所述采集罐中的微生物和/或微生物遗传信息进行检测分析,确定微生物的种类。

9.根据权利要求8所述的微生物采样方法,其特征在于,所述提取所述采集罐中的微生物进行分析包括:向所述采集罐中注入液体培养基,培养后提取所述采集罐中的液体培养物进行分析。

10.根据权利要求8所述的微生物采样方法,其特征在于,所述提取所述采集罐中的微生物进行分析包括:通过提取口提取所述微生物过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息。

11.根据权利要求8所述的微生物采样方法,其特征在于,在洁净区内设置多个回风口采样点。

12.根据权利要求8所述的微生物采样方法,其特征在于,一回风口处设置多个取样位置。

微生物采集器、微生物采样系统及采样方法

技术领域

[0001] 本申请涉及微生物采样领域，具体涉及一种微生物采集器、微生物采样系统及采样方法。

背景技术

[0002] 环境监控对药品生产至关重要，关键区域微生物监测、污染微生物鉴定、菌株库的建立又是重中之重，可用于指导消毒、过程监控、风险评估和污染产品溯源等等。

[0003] 由于净化空间普遍面积较大，污染微生物符合统计学珀松分布，也可能在一定时间或空间内呈现超标或爆发。单次或数次验证性检测，提取到的微生物种类、数量都极其有限，对洁净区污染风险评估的作用较小。目前，亟需解决如何能通过一次检测，对一段时间内，洁净区可能出现的微生物种群进行有效分析的问题。

发明内容

[0004] 基于上述背景技术的问题，本申请提供了一种微生物采集器、微生物采样系统及采样方法，在回风口处进行微生物的采集，为微生物的分析提供支撑。

[0005] 本申请的一个实施例提供一种微生物采集器，包括：采集罐，内部为空腔，所述采集罐包括进气口和出气口，所述空腔内部设置微生物过滤网，所述进气口和出气口分别位于所述微生物过滤网的两侧；采样头，连接所述采集罐的进气口，所述采样头用于采集洁净区回风口过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息，并通过气体送入所述采集罐；气泵，连接所述采集罐的出气口。

[0006] 根据本申请的一些实施例，所述的微生物采集器还包括液体培养基罐，所述液体培养基罐包括出液口；所述采集罐包括进液口，所述液体培养基罐的出液口通过控制阀连接所述采集罐的进液口。

[0007] 根据本申请的一些实施例，所述液体培养基罐的外壁通过固定杆连接所述采集罐的外壁。

[0008] 根据本申请的一些实施例，所述采集罐上设置提取口，所述提取口用于提取所述微生物过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息。

[0009] 根据本申请的一些实施例，所述采集罐的出气口与所述气泵的连接管路上设置气体控制开关。

[0010] 本申请的一个实施例提供一种微生物采样系统，包括：如上所述的微生物采集器；壳体，所述微生物采集器设置于所述壳体上；控制模块，设置于所述壳体上，所述气泵连接所述控制模块；电源模块，设置于所述壳体上，所述电源模块连接所述控制模块。

[0011] 根据本申请的一些实施例，所述的微生物采样系统还包括回风口过滤网，所述回风口过滤网设置于洁净区的回风口处，所述回风口过滤网包括：第一滤网层、第二滤网层和静电网层，所述静电网层设置于所述第一滤网层和第二滤网层之间。

[0012] 本申请的一个实施例提供一种微生物采样方法，包括：将采样头放置在洁净区的

回风口处，采集回风口过滤网上附着的微生物和/或微生物遗传信息；采样的气体进入采集罐中，经过微生物过滤网后排出所述采集罐，所述微生物过滤网吸附采样气体中的微生物和/或微生物遗传信息；提取所述采集罐中的微生物和/或微生物遗传信息进行分析，确定微生物的种属及菌群结构。

[0013] 根据本申请的一些实施例，所述提取所述采集罐中的微生物进行分析包括：向所述采集罐中注入液体培养基，培养后提取所述采集罐中的液体培养物进行分析。

[0014] 根据本申请的一些实施例，所述提取所述采集罐中的微生物进行分析包括：通过提取口提取所述微生物过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息。

[0015] 根据本申请的一些实施例，在洁净区内设置多个采样点。

[0016] 根据本申请的一些实施例，一回风口处设置多个取样位置。

[0017] 本申请的微生物采集器、微生物采样系统及采样方法，在回风口处采集过滤网上附着的微生物，通过回风口菌群结构分析，可较准确的提供洁净区的微生物污染情况，为风险评估和污染产品溯源等提供数据支持，为监管提供有力的技术支撑，对企业自建菌种库起到指导作用。

附图说明

[0018] 为了更清楚地说明本申请的技术方案，下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本申请的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，还可以根据这些附图获得其他的附图，而并不超出本申请要求保护的范围。

[0019] 图1是本申请实施例微生物采集器的示意图；

[0020] 图2是本申请实施例采样头的示意图；

[0021] 图3是本申请实施例另一种微生物采集器的示意图；

[0022] 图4是本申请实施例微生物采样系统的示意图；

[0023] 图5是本申请实施例回风口过滤网的示意图；

[0024] 图6是本申请实施例采样点的示意图；

[0025] 图7是本申请实施例一种回风口取样位置的示意图；

[0026] 图8是本申请实施例另一种回风口取样位置的示意图。

具体实施方式

[0027] 下面结合本申请实施例中的附图，对本申请的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例是本申请的一部分实施例，而不是全部实施例。基于本申请中的实施例，本领域技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本申请保护的范围。

[0028] 实施例1

[0029] 如图1所示，本申请实施例提供一种微生物采集器100。微生物采集器100包括：采集罐1、采样头2和气泵3。采样头2用于采集气体，采集的气体进入采集罐1中，工作人员由采集罐1中提取微生物进行分析，气泵3为气体的流动提供动力。

[0030] 采集罐1的内部为密闭的空腔，采集罐1包括进气口11和出气口12。空腔内部设置

微生物过滤网13，微生物过滤网13用于由气体中吸附微生物和/或微生物遗传信息。微生物遗传信息包括微生物的DNA或RNA等。本实施例的微生物过滤网13的材质选用已有的材质(即可，如聚丙烯和玻璃纤维混合，孔径20-50um。进气口11和出气口12分别位于微生物过滤网13的两侧，使得采集罐1中流动的气体必须经过微生物过滤网13，便于微生物过滤网13吸附气体中的微生物。本实施例中，进气口11位于采集罐1的底部，出气口12位于采集罐1的顶部。

[0031] 采样头2连接采集罐1的进气口11。采样头2用于采集洁净区回风过滤网上的微生物和/或微生物遗传信息，并通过气体送入采集罐1。本实施例的采样头2通过软管连接采集罐1的进气口11。

[0032] 回风口作为洁净区内所有循环空气的唯一出口，几乎富集了洁净区空气中可能浮游的所有微生物。即便微生物死亡，也会留下完整的遗传信息。因此，可以通过采集回风口富集的微生物和/或微生物遗传信息，再利用16S、ITS等通用引物进行基因扩增，或采用宏基因组测序、痕量基因分析等方法，分析微生物种类、优势种群等信息，便于对洁净区内微生物污染情况做出合理判断。

[0033] 例如：葡萄球菌属丰富，则人源污染风险高；微球菌丰富，则净化系统运行效能可能降低；孢子丰富，则环境湿度控制有问题；阴性杆菌丰富，则水系统可能受到污染；芽孢丰富，则消毒清洁方案需要调整，非终端灭菌产品污染风险增加。

[0034] 气泵3连接采集罐1的出气口12。气泵3为气体的流动提供动力，本实施例的气泵3通过软管连接采集罐1，实现气泵3和采集罐1的柔性连接。

[0035] 本申请的微生物采集器100通过采样头2在回风口处采集气体，气体通入采集罐1后，经过微生物过滤网13吸附气体中的微生物或物生物遗传信息，通过回风口菌群结构分析，可较准确的提供洁净区的微生物污染情况，为风险评估和污染产品溯源等提供数据支持，为监管提供有力的技术支撑，可对企业自建菌种库起到指导作用。

[0036] 如图2所示，一种可选的方案中，采样头2的形状与回风口相配合，可根据回风口的高度、深度、缝隙大小等，选择不同的采样头。例如，第一种采样头2a具有较长的握持部，第二种采样头2b的端部为喇叭状，第三种采样头2c具有L型的输送管，本领域技术人员也可根据需求选择其他形状的采样头2。

[0037] 根据本申请一种可选的技术方案，微生物采集器100还包括液体培养基罐4。液体培养基罐4包括出液口41，采集罐1包括进液口14，液体培养基罐的出液口41通过控制阀42连接采集罐的进液口14。液体培养基罐4内存储有液体培养用的液体培养基，当采集罐1中的微生物需通过培养后再提取时，打开控制阀42，将液体培养基罐4中的液体培养基输送至采集罐1中对微生物进行培养。使用微生物采集器100时，可将液体培养基罐4和采集罐1均水平放置，液体培养基罐4位于采集罐1的上方，打开控制阀42后，液体培养基罐4中的液体培养基通过重力作用流入采集罐1中。

[0038] 根据培养的条件完成培养后，可利用接种针提取采集罐1中的液体培养物，划线接种或涂布，分离培养物中的单菌落，采用生化或分子生物学方法进行菌种的鉴定分析。也可采用框架图测序的方法对培养物中的微生物进行分类测序，确定所采集的微生物的种属。

[0039] 一种可选的方案中，液体培养基罐4的外壁通过固定杆5连接采集罐1的外壁。通过固定杆5实现液体培养基罐4和采集罐1的固定连接。本实施例中，固定杆5的数量为两个，其

中一个固定杆5为空心管，空心管用于液体培养基罐的出液口41和采集罐的进液口14的连接。空心管上设置控制阀42，打开控制阀42后，液体培养基罐4中的液体培养基通过空心管进入采集罐1。

[0040] 如图3所示，根据本申请一种可选的技术方案，采集罐1上设置提取口15。采用非培养法提取微生物时，采集罐内的微生物不需要进行培养即可提取。微生物过滤网13完成微生物和/或微生物遗传信息的吸附后，打开提取口15，通过提取口15提取微生物过滤网13上的微生物和/或微生物遗传信息。

[0041] 由微生物过滤网13上提取微生物或微生物遗传信息后，通过构建测序文库和进行高通量测序来获得宏组学数据。

[0042] 获得微生物组数据后，首先进行质量控制，包括去除测序和建库过程中人为添加的引物、接头以及测序过程中产生的低质量序列等。采用比对宿主基因组的方式去除宿主序列。获得的纯净序列再比对至参考数据库或从头组装的参考基因集，定量为特征表，根据序列注释类型可将特征表分为物种或功能基因组成表。根据获得的宏基因组数据鉴定结果分析环境样品中含有的微生物种类分布以及丰度。

[0043] 根据本申请一种可选的技术方案，采集罐的出气口12与气泵3的连接管路上设置气体控制开关31。采集罐1完成为微生物的采集后，通过气体控制开关31关闭采集罐的出气口12与气泵3的连接管路，避免外部气体对采集罐1内微生物的干扰。如果采集罐的出气口12与气泵3的连接管路为软管，气体控制开关31可选择软管夹。可选地，在采集罐的出气口12与气泵3的连接管路上设置气体过滤网，以避免杂质进行气泵3，影响气泵3的运行。

[0044] 实施例2

[0045] 如图4所示，本实施例提供一种微生物采样系统。微生物采样系统包括：如上所述的微生物采集器100、壳体200、控制模块300和电源模块400。壳体200对微生物采集器100、控制模块300和电源模块400起到保护作用。

[0046] 壳体200上设置卡槽201。微生物采集器100设置于壳体200上。具体的，采集罐1通过卡扣可拆卸的设置于卡槽201中，气泵3设置于壳体200内。需要由采集罐1中进行微生物和/或微生物的信息提取时，将采集罐1由壳体200上拆卸下来，便于提取的进行。

[0047] 控制模块300设置于壳体200上，气泵3连接控制模块300。控制模块300控制气泵3的运行。可选地，控制模块300为触屏式控制器，便于工作人员的操作。控制模块300还可对控制阀42和气体控制开关31进行控制。电源模块400设置于壳体200上，电源模块400连接控制模块300。可选地，电源模块400为充电式电池。

[0048] 使用微生物采样系统时，将采集罐1设置于卡槽201中，将采样头2放置在回风口处，通过控制模块300启动气泵3，回风口处的气体进入采集罐1，气体中的微生物和微生物遗传信息被微生物过滤网吸附；待规定的采样时间或采样面积完成后，气泵3停止工作。由壳体200上取下采集罐1，根据需要，微生物培养后提取，或采用非培养的方式提取微生物和/或微生物遗传信息。

[0049] 如图5所示，根据本申请一种可选的技术方案，微生物采样系统还包括回风口过滤网500，回风口过滤网500设置于洁净区的回风口处。回风口过滤网500包括：第一滤网层501、第二滤网层502和静电网层503。静电网层503设置于第一滤网层501和第二滤网层502之间。静电网层503的材料为铝合金，通过导线与整个回风系统相连接。回风系统运行后，则

静电网层产生静电，有效吸附微生物。第一滤网层501和第二滤网层502的材质为：硅藻土(6-10％)、亚麻纤维(20-30％)、聚丙烯纤维(40-50％)、乙二醇(5-10％)、聚乳酸(10-20％)。

[0050] 可选地，回风口过滤网500固定在支撑框内，第一滤网层501、第二滤网层502和静电网层503均可由支撑框内单独抽出，便于微生物采集器100进行表面采样。设置回风口过滤网500，在不影响回风的情况下，大大增加对微生物的吸附作用。

[0051] 本实施例提供一种微生物采样方法，包括步骤：

[0052] S1、将采样头放置在洁净区的回风口处，启动气泵，进行回风口过滤网上附着微生物和/或微生物遗传信息的采样；

[0053] S2、采样的气体进入采集罐中，经过微生物过滤网后排出采集罐，微生物过滤网吸附采样气体中的微生物和/或微生物遗传信息；

[0054] S3、提取采集罐中的微生物进行分析，确定微生物的种类。

[0055] 根据本申请一种可选的技术方案，微生物过滤网完成微生物和/或微生物遗传信息的吸附后，步骤S3包括向采集罐中注入液体培养基，按照预设条件完成培养后，提取采集罐中的液体培养物进行分析。

[0056] 根据本申请一种可选的技术方案，微生物过滤网完成微生物和/或微生物遗传信息的吸附后，步骤S3包括通过提取口提取微生物过滤网上的微生物。

[0057] 对微生物和/或微生物遗传信息的分析包括采用采用生化或分子生物学方法及进行基因测序，以获得微生物种类、种群分布、变化趋势及丰度等信息。

[0058] 如图6所示，根据本申请一种可选的技术方案，在洁净区内设置多个采样点，使得采样结果更精确。以每50㎡设置一采样点，不足50㎡时仅设置一个采样点M1，根据洁净区的面积增加采样点M2、M3、M4、M2和M6。本实施例中，采样点的数量至多为六个，满足采样精度的同时避免工作人员劳动强度过大。

[0059] 如图7和图8所示，一回风口处设置多个取样位置。图7为回形回风口，图8为百叶窗式回风口。本实施例中，在一回风口处至少设置五个取样位置，分别为取样位置A、B、C、D、E。五个取样位置可在回风口均布，提高采样的准确度。

[0060] 本申请的微生物采集器、微生物采样系统及采样方法，采集洁净区如净化车间，回风口富集的环境微生物。采样完成后，采用培养或遗传信息分析的方法，检测微生物的种属、种群分布、变化趋势等信息，用于洁净环境监测、消毒控制和药品监管部门的监督检查。

[0061] 以上对本申请实施例进行了详细介绍。本文中应用了具体个例对本申请的原理及实施方式进行了阐述，以上实施例的说明仅用于帮助理解本申请的技术方案及其核心思想。因此，本领域技术人员依据本申请的思想，基于本申请的具体实施方式及应用范围上做出的改变或变形之处，都属于本申请保护的范围。综上所述，本说明书内容不应理解为对本申请的限制。

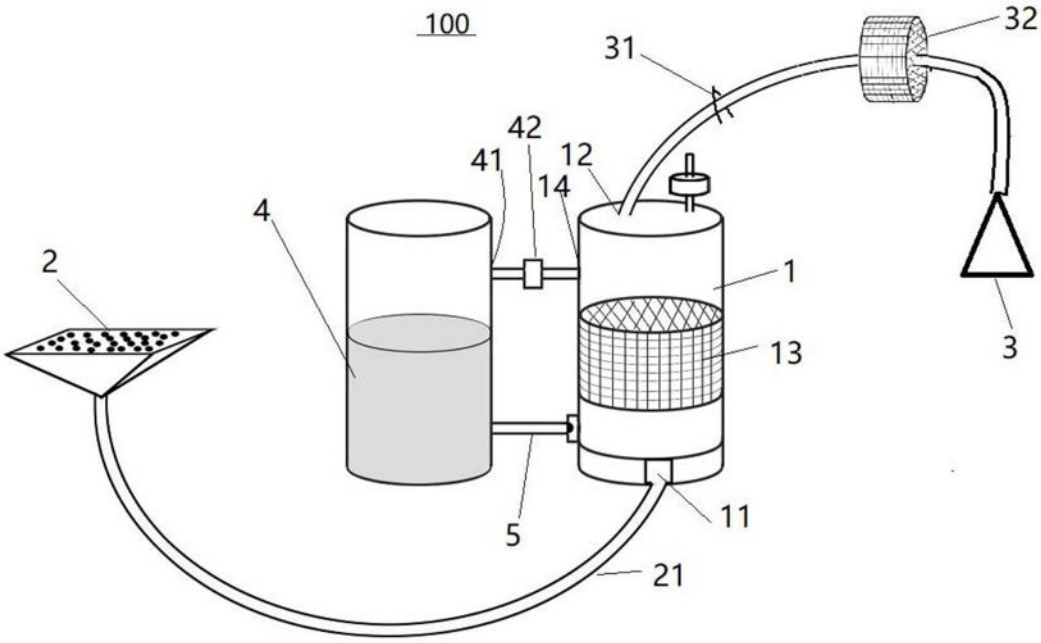


图1

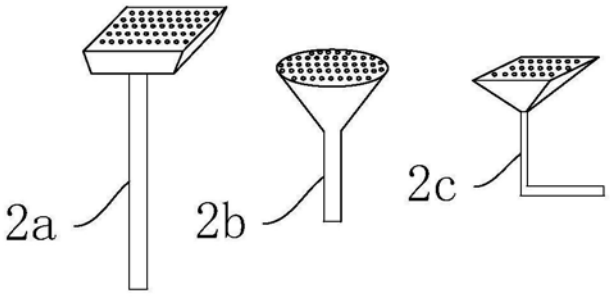


图2

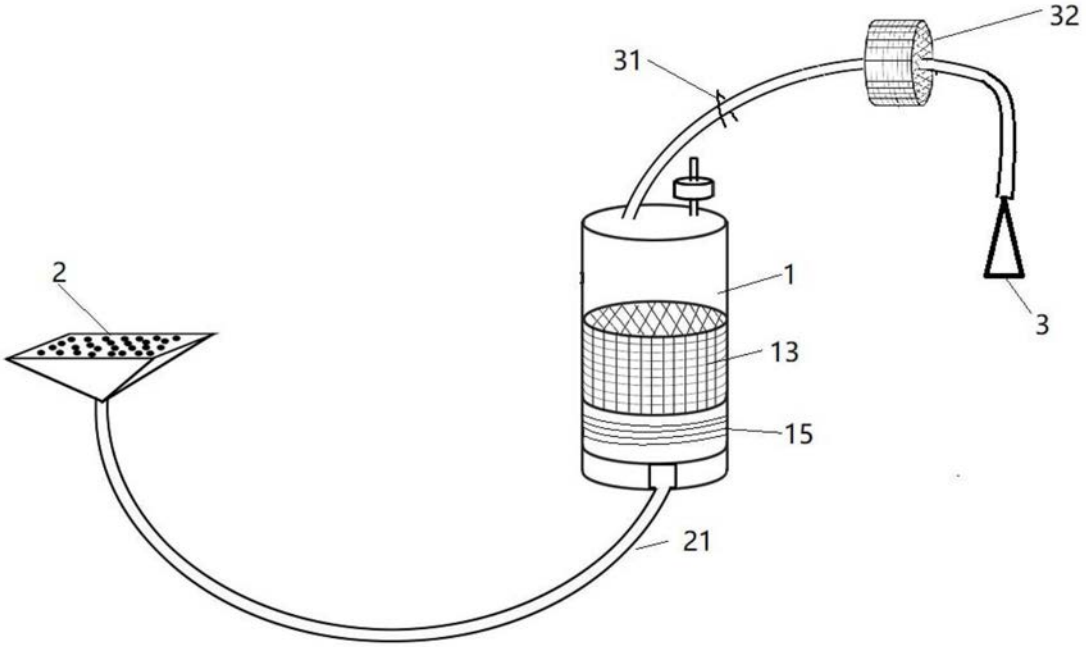


图3

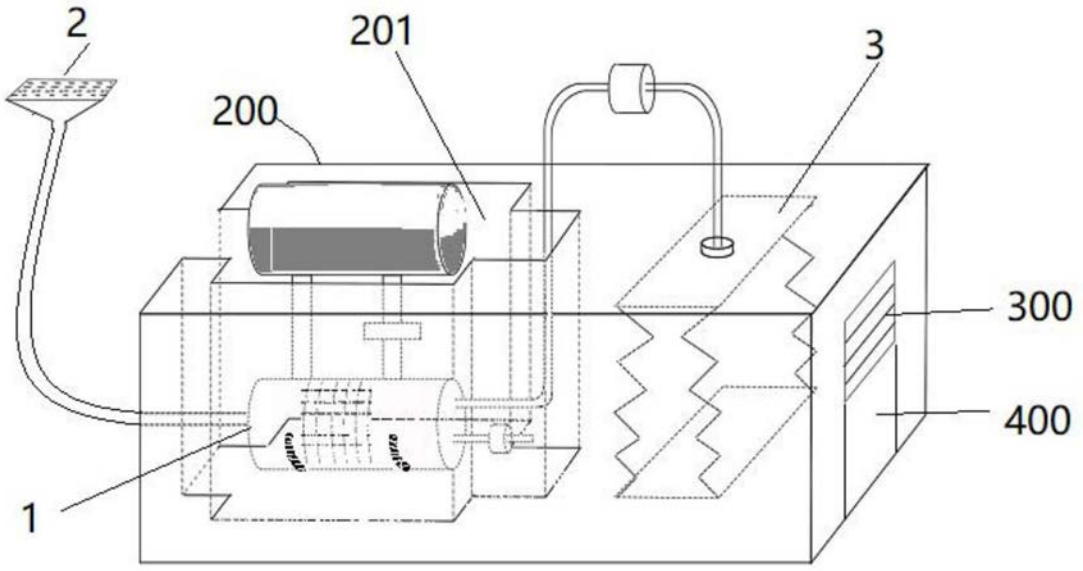


图4

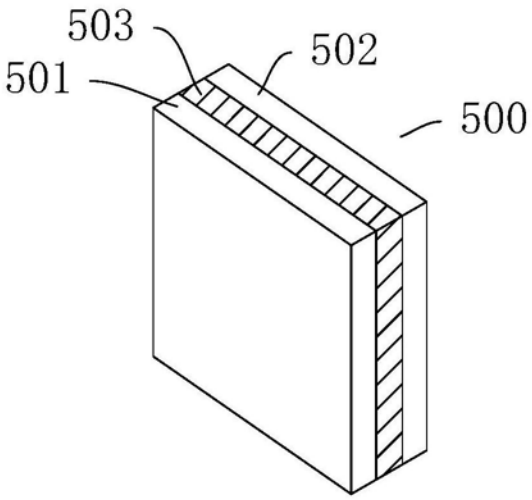

503
502
501
500

图5

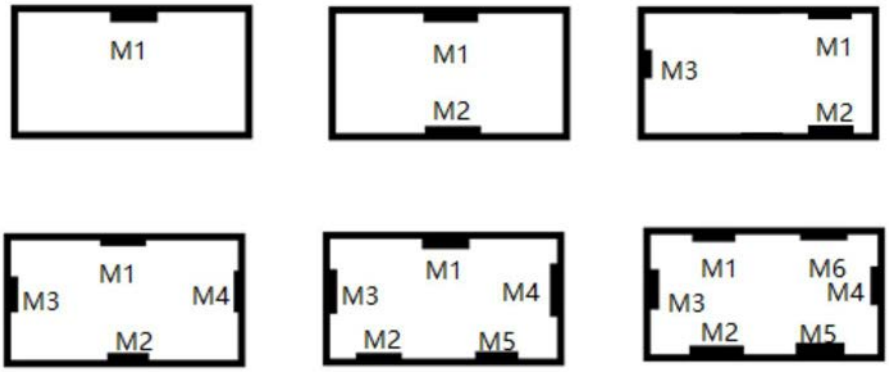

M1
M1
M2
M3
M1
M2
M1
M3
M4
M2
M1
M3
M4
M2
M5
M1
M6
M3
M4
M2
M5

图6

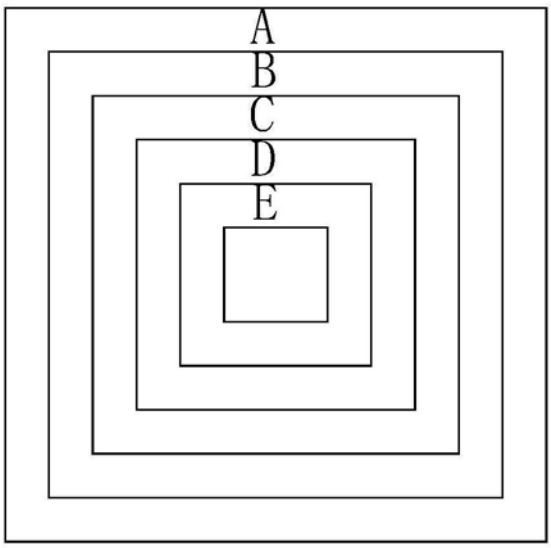

A
B
C
D
E

图7

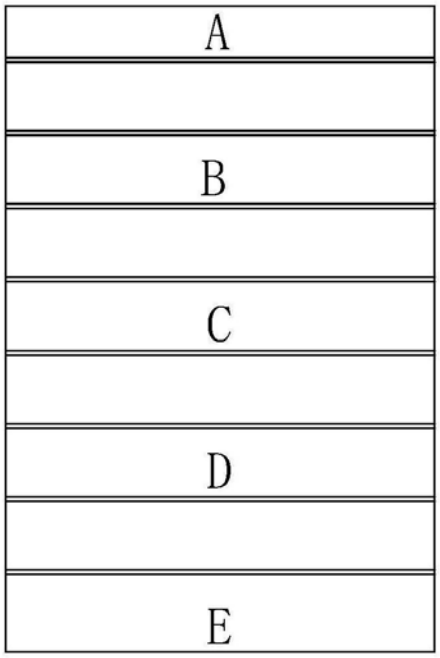


图8