**** T/ CECS ×××-202×

中国工程建设标准化协会标准

**村镇污染治理设施及场所生物气溶胶**

**采样与分析标准**

Standard for sampling and analysis of bioaerosol in pollution control facilities and sites of rural areas

**(征求意见稿)**

（提交反馈意见时，请将有关专利连同支持性文件一并附上）

**XXX出版社**

**中国工程建设标准化协会标准**

**村镇污染治理设施及场所生物气溶胶**

**采样与分析标准**

Standard for sampling and analysis of bioaerosol in pollution control facilities and sites of rural areas

T/CECS ×××-202×

主编单位：中国科学院生态环境研究中心

批准部门：中国工程建设标准化协会

施行日期：202×年××月××日

XXX出版社

202×　北京

# 前 言

根据中国工程建设标准化协会《关于印发<2023年第一批协会标准制订、修订计划>的通知》（建标协字〔2023〕10号）的要求，编制组经深入调查研究，认真实践并总结经验，参考国内外相关标准，在广泛征求意见的基础上，制订本标准。

本标准共分7章和1个附录。主要内容包括:总则、术语、基本规定、采样点布设、样本采集与保存、样本分析、质量控制等。

本标准的某些内容可能直接或间接涉及专利，本标准的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由中国工程建设标准化协会村镇人居环境专业委员会归口管理，由中国科学院生态环境研究中心负责具体技术内容的解释。执行过程中，如有意见或建议，请反馈给中国科学院生态环境研究中心（地址：北京市海淀区双清路18号，邮政编码：100085，邮箱：yphan@rcees.ac.cn）。

主 编 单 位：中国科学院生态环境研究中心

参 编 单 位：

主要起草人：

主要审查人：

# 目 次

[1 总 则 (1](#_Toc169122926))

[2 术 语 (2](#_Toc169122927))

[3 基本规定 (4](#_Toc169122928))

[4 采样点布设 (5](#_Toc169122929))

[4.1 一般规定 (5](#_Toc169122930))

[4.2 村镇生活污水处理设施及场所采样点布设 (5](#_Toc169122931))

[4.3 村镇生活垃圾处理设施及场所采样点布设 (5](#_Toc169122932))

[4.4 村镇分散畜禽粪污处理设施及场所采样点布设 (6](#_Toc169122933))

[4.5 村镇卫生厕所设施采样点布设 (6](#_Toc169122934))

[5样本采集与保存 (7](#_Toc169122935))

[5.1 采样方法分类与选择 (7](#_Toc169122936))

[5.2 采样器分类与选择 (8](#_Toc169122937))

[5.3 采样辅助材料准备 (8](#_Toc169122938))

[5.4 采样程序 (9](#_Toc169122939))

[5.5 样本保存与运输 (11](#_Toc169122940))

[6样本分析 (12](#_Toc169122941))

[6.1 样本预处理 (12](#_Toc169122942))

[6.2 气溶胶样本定性分析 (12](#_Toc169122943))

[6.3 气溶胶样本定量分析 (13](#_Toc169122944))

[7质量控制 (15](#_Toc169122945))

[7.1 采样过程质量控制 (15](#_Toc169122946))

[7.2 分析过程质量控制 (15](#_Toc169122947))

[附录A采样记录表 (17](#_Toc169122948))

[用词说明 (19](#_Toc169122949))

[引用标准名录 (20](#_Toc169122950))

附：[条文说明 (21](#_Toc169122951))

# Contents

[1 General provisions (1](#_Toc169122926))

[2 Terms (2](#_Toc169122927))

[3 Basic requirements (4](#_Toc169122928))

[4 Sampling point deployment (5](#_Toc169122929))

[4.1 Ordinary provision (5](#_Toc169122930))

[4.2 Sampling point layout for village and town domestic sewage treatment facilities and sites (5](#_Toc169122931))

[4.3 Sampling point layout for village and town domestic waste treatment facilities and sites (5](#_Toc169122932))

[4.4 Sampling point layout for village and town dispersed livestock and poultry manure treatment facilities and sites (6](#_Toc169122933))

[4.5 Sampling point layout for village and town sanitary toilet facilities (6](#_Toc169122934))

[5 Collection and preservation of bioaerosol samples (7](#_Toc169122935))

[5.1 Classification and selection of sampling methods (7](#_Toc169122936))

[5.2 Classification and selection of samplers (8](#_Toc169122937))

[5.3 Preparation of sampling auxiliary materials (8](#_Toc169122938))

[5.4 Sampling procedures (9](#_Toc169122939))

[5.5 Sample preservation and transportation (11](#_Toc169122940))

[6 Bioaerosol sample analysis (12](#_Toc169122941))

[6.1 Sample pretreatment (12](#_Toc169122942))

[6.2 Qualitative analysis of aerosol samples (12](#_Toc169122943))

[6.3 Quantitative analysis of aerosol samples (13](#_Toc169122944))

[7 Quality control of bioaerosol sampling and analysis (15](#_Toc169122945))

[7.1 Quality control of the sampling process (15](#_Toc169122946))

[7.2 Quality control of the analysis process (15](#_Toc169122947))

Appendix A Sampling record table [(17](#_Toc169122948))

Explanation of wording [(19](#_Toc169122949))

List of quoted standards [(20](#_Toc169122950))

Addition: Explanation of provisions  [(21](#_Toc169122951))

# 1 总 则

**1.0.1**为规范村镇污染治理设施及场所生物气溶胶样本的采集与分析，促进治理工作有效实施和精细化管理，制订本标准。

**1.0.2**本标准适用于村镇污染治理设施及场所生物气溶胶的采样与分析。

**1.0.3**村镇污染治理设施及场所生物气溶胶样本的采集与分析除应符合本标准的规定外，尚应符合国家现行有关标准和现行中国工程建设标准化协会有关标准的规定。

# 2 术 语

**2.0.1**村镇污染 pollution in villages and towns

村镇居民在日常生活中产生的污染。

**2.0.2**村镇生活污水domestic sewage from villages and towns

村镇居民日常生活中产生的污水，包括洗衣、洗菜、沐浴等未经处理直接排放的污水。

**2.0.3**村镇生活垃圾domestic waste in villages and towns

在村镇地区居民日常生活中产生的固体废弃物，包括厨余垃圾、塑料、纸张、玻璃、金属、布料、陶瓷、树叶、树枝等。

**2.0.4**村镇分散养殖畜禽粪污manure pollution from decentralized livestock and poultry farming in villages and towns

在村镇地区，家庭或小规模养殖场分散养殖畜禽（如猪、牛、羊、鸡等）过程中产生的粪便和尿液等废弃物。

**2.0.5**村镇公共厕所粪污feces of public toiletsin villages and towns in villages and towns

在村镇区域公共厕所产生的人类排泄物，包括固态的粪便和液态的尿液。

**2.0.6**村镇污染治理设施及场所pollution control facilities and places in villages and towns

针对村镇污染设计建造的用于处理和解决污染问题的设施和场所。

**2.0.7**细菌生物气溶胶bacterial bioaerosol

能在空气中漂浮并携带细菌的微小颗粒或液滴。

**2.0.8**真菌生物气溶胶fungal bioaerosol

空气中由真菌细胞或孢子构成的微小颗粒或液滴，它们可以通过空气传播并在环境中生长和繁殖。

**2.0.9**病毒生物气溶胶virus bioaerosol

空气中含有病毒的微小颗粒或液滴，这些病毒可以是独立存在的病毒颗粒或与其他物质（如细胞碎片、蛋白质等）结合的形式。

**2.0.10**采样介质sampling medium

在收集和测量空气中的微生物气溶胶（例如细菌、真菌、病毒等）时使用的材料。

**2.0.11**生物传感器 biosensor

将生物分子的相互作用或生物学响应转化为可检测信号的分析设备。

**2.0.12**微粒计数器 particle counter

用于检测和计数空气、液体或其他介质中的微小颗粒物（如灰尘、污染物、细菌、病毒、颗粒等）的仪器。

**2.0.13**荧光基因标记技术 fluorescent gene marker

利用荧光蛋白质或荧光分子来标记特定基因或蛋白质的方法。

**2.0.14**免疫测定 immunoassay

利用抗体和抗原之间的高度特异性结合反应来检测和量化抗原（目标分子）或抗体的生物化学测试方法。

**2.0.15**菌落形成单位 colony forming units

从一个原始的微生物细胞或细胞团出发，能够在固体培养基上生长为一个可见的菌落。

**2.0.16**噬菌斑形成单位 plaque forming units

在特定条件下，能在宿主细胞层上形成一个可见清除区（噬菌斑）的病毒粒子的数量。

**2.0.17**正孔校正法positive hole correction method

根据设备已知或标定的误差，调整测量数据，以便更准却地反应实际的粒子尺寸分布。

**2.0.18**阳性控制样本positive control samples

已知包含被测目标的样本，用于确认实验的操作能够成功检出目标微生物或基因。

**2.0.19**阴性控制样本negative control samples

不包含待测目标的样本，主要用来检测实验中的污染或其他假阳性的来源。

# 3 基本规定

**3.0.1** 采样点布设时，应根据采样目的、环境特点和污染治理设施运行情况，在不同村镇污染治理设施及场所设置采样点并确定采样点数量。

**3.0.2** 采样前，应确定采样器类型、配件、辅助器材及其数量，对采样器材进行无菌处理，考虑气象条件确定采样时间，明确周围环境状况。

**3.0.3** 安全防护时，应穿戴手套、口罩、实验服或防护服等安全防护措施。

**3.0.4** 采样设备选择时，应考虑采样流量、采样时间、采样效率等因素。同时应符合现行国家标准《颗粒 生物气溶胶采样器 技术条件》GB/T 39990-2021中5的要求。

**3.0.5** 采样过程操作时，应确定点位状况，抽气速度和采样时间，同时记录环境条件，应用附录A中表A.1和表A.2进行记录。

**3.0.6** 样本数量和采样方法，应满足每个采样点采集三组样品，测定结果之差不大于20%；连续运行设备应在设备不同位置进行采样；间断运行设备应在设备运行前、中、后采集样本。

**3.0.7** 样本保存和运输过程中，应使用密闭、防漏的容器进行包装，并正确标注样本的信息，如采集日期、采集地点、样本类型等。

**3.0.8** 样本分析应包括定性分析和定量分析。

# 4 采样点布设

**4.1 一般规定**

**4.1.1**确定样本采样点前，应充分调研村镇污染治理设施及场所的处理流程、使用和运行情况、污染点源位置，污染物的产生和扩散规律、排放频度、持续时间等，并应充分了解采样点的卫生状况和环境条件等。

**4.1.2**采样点附近50 m范围内不应有炉窑、小烟囱、建筑工地、停车场等局地污染源。除进行交通污染监测外，采样装置距公路边应大于20 m，距绿色乔木或灌木绿化带的距离应大于15 m。

**4.1.3**应根据当地主导风向确定采样点，在设施及场所上风向或村庄空旷区域设置空白对照。

**4.1.4**同一区域多点位采样过程中应保持采样点设置条件一致，采样高度应根据潜在生物气溶胶逸散点源情况和需求进行调整，采样设备可固定于支架上或置于平稳表面。

**4.2** **村镇生活污水处理设施及场所采样点布设**

**4.2.1**村镇生活污水收集池应在贴近水面区域进行样本采集。

**4.2.2**村镇生活污水明渠收集系统应在贴近用户排水管处、污水流经道路时贴近水面区域以及污水收集点贴近水箅子处进行样本采集。

**4.2.3**单户、联户型生活污水处理设施应在贴近设施出水口处、通风口处以及设施操作区域进行样本采集。

**4.2.4**小型集中式生活污水处理站应在贴近处理站进水口和出水口处、运输管道及泵站（包括收集和分配污水管道以及泵站）周边区域，以及在格栅间、曝气池、沉淀池和污泥脱水间等关键处理区域内部选取贴近处理污水、污泥的设备设施进行样本采集。

**4.3 村镇生活垃圾处理设施及场所采样点布设**

**4.3.1**村镇生活垃圾收集与储存区域，样本采集点位应紧靠垃圾箱（桶）或垃圾堆放区域进行。需注意垃圾箱（桶），采集点应设置贴近其开口处。

**4.3.2**村镇生活垃圾运输设施及场所应在垃圾转运车辆的驾驶室内以及装卸垃圾区域紧邻车厢位置处设置采样点位。垃圾中转站内部操作区以及车辆进出口处也应设置生物气溶胶采样点位，采样高度应距地面1.5m。

**4.4 村镇分散畜禽粪污处理设施及场所采样点布设**

**4.4.1**村镇分散畜禽粪污处理设施及场所应在紧邻粪污进料点、存储区域、排放点设置采样点位。

**4.4.2**应在畜禽养殖舍内的不同位置设置多个采样点，主要包括饲养区域和工作区域内部以及紧邻通风口和排气口处。

**4.5 村镇卫生厕所设施采样点布设**

**4.5.1**村镇卫生厕所设施中旱厕和水冲厕应选择紧邻马桶、坑位、尿斗、洗手池和垃圾桶处设置采样点位。

**4.5.2**应在村镇卫生厕所设施区域内部、人员进出入口处、以及紧邻通风口和排气口处设置采样点位。

# 5样本采集与保存

**5.1 采样方法分类与选择**

**5.1.1** 生物气溶胶采样方法可以根据采样技术原理、采样设备类型及采样目的和应用场景进行分类，包括主动采样与被动采样，室内采样与室外采样、以及短期采样与长期采样、健康风险评估采样与污染源识别采样等。

**5.1.2** 采样方法可分为以下类别：

**1** 重力沉降式采样：收集气溶胶中大颗粒的方法，用于评估室内和室外空气质量。

**2** 撞击式采样：采集易在人体呼吸道沉积的粒子，用于分析与呼吸系统感染相关的致病微生物。

**3** 冲击式采样：采集多种微生物，包括可培养和不可培养的微生物，用于全面反映气溶胶中微生物的种群结构。

**4**过滤式采样：采集不同大小颗粒物，常用的材料有玻璃纤维、聚氯乙烯、纤维素等。

**5** 离心式采样：使气体以高速旋转所产生的离心力将生物气溶胶粒子与气流分开并撞击到固体介质表面上或富集到液体介质里的采集方式。

**6** 静电收集式采样：采集带电敏感或较小粒径的微生物，通过静电场将微生物颗粒与空气流分离并沉积在静电板上。

**7** 冷凝式采样：采集较小粒径的微生物，主要应用于病毒气溶胶的收集，通过冷却器中的冷凝作用将微生物粒子捕获。

**8** 紫外光诱导荧光式采样：基于米氏散射法和紫外光诱导荧光（UV-LIF）法激发产生的荧光特性可判别悬浮颗粒物的粒径和浓度变化，主要应用于长期采样。

**5.1.3** 采样方法的选择应符合下列规定：

**1** 细菌气溶胶采样方法：包括撞击式、冲击式、过滤式、离心式、静电收集式和紫外光诱导荧光式等方法。

**2** 真菌气溶胶采样方法：包括重力沉降式、撞击式、冲击式、过滤式、离心式和紫外光诱导荧光式等方法。

**3** 病毒气溶胶采样方法：包括冲击式、过滤式、离心式（液体介质）、静电收集式、撞击式和冷凝式等方法。

**5.2 采样器分类与选择**

**5.2.1**选择采样器时应根据采样点类型、所需采集微生物的种类、活性、捕获介质及捕获率，选择适宜的采样器。

**5.2.2**采样器的分类应符合下列规定：

**1**重力沉降式采样器：利用重力作用使空气中的生物粒子颗粒自然沉降到收集介质表面上，用于测量空气中微生物粒子的沉降量。

**2** 撞击式采样器：通过加速作用将生物气溶胶粒子采集到固体或液体介质表面，分为固体撞击式和液体撞击式。

**3** 冲击式采样器：利用气流对液体的冲击、清洗或雾化原理采集微生物粒子，适用于高浓度的气溶胶采样。

**4** 过滤式采样器：利用过滤材料将空气中的生物气溶胶颗粒捕集在过滤器上，受滤材性能影响较大。

**5** 离心式采样器：利用离心力将生物气溶胶粒子与气流分开并撞击到固体或液体介质表面，适用于较小粒径微生物采集。

**6** 静电收集式采样器：通过产生电场，使空气中的气溶胶颗粒带电并被吸附到带有相反电荷的收集表面上，从而进行采样。适用于微粒的高效收集和特定污染物的监测。

**7**冷凝式采样器：通过冷却空气，使生物气溶胶颗粒在冷凝过程中凝结成液滴，然后收集这些液滴进行分析。适用于细小颗粒的采集。

**8** 紫外光诱导荧光式采样器：适用于实时和连续检测村镇环境中生物气溶胶粒径和浓度变化。

**5.3 采样辅助材料准备**

**5.3.1** 采样辅助材料应包括采样过程中所需的无菌采样介质、容器、器材等。

**5.3.2**采样介质应符合下列规定：

**1** 采样介质应符合现行国家标准《颗粒 生物气溶胶采样和分析 通则》GB/T 38517-2020中4.5.2的要求。

**2** 微生物气溶胶采样介质应经灭菌处理以保持无菌状态。

**3** 应依据采样方法和目标微生物的不同，选择固体或液体采样介质。

**4** 选择采样介质时应根据是否需要监测气溶胶粒子中的生物成分活性进行决定。

**5.3.3**样品包装器材应符合下列规定：

**1** 普通生物气溶胶采集样品的包装器材，应确保其具备良好的密封性、使用安全性材质、具有抗压和抗摔能力，保持温度稳定，并提供标签与记录空间以记录关键的样本信息。

**2** 包装设计需支持简便的处理操作，应确保采样与分析人员的安全，同时遵循相关环境和运输法规标准，尤其是对于潜在感染性或危险样本的特殊包装要求。

**5.3.4**人员防护装备应符合下列规定：

**1** 采集生物气溶胶样品时，采样人员应按照《医药工业洁净室（区）浮游菌的测试方法》GB/T 16293-2010和《医药工业洁净室（区）沉降菌的测试方法》GB/T 16294-2010等国家相关标准穿戴个人防护用品，如实验服、口罩、手套等。

**2** 进行采样前，应接受安全操作的培训，并根据当地环境及生物气溶胶类型，调整防护级别和装备选择。

**5.3.5**消毒灭菌器材应符合下列规定：

**1** 采样人员应按照《颗粒 生物气溶胶采样和分析 通则》GB/T 38517-2020中的要求选择消毒剂，并进行采样前和采样后的消毒。

**2** 村镇内采样使用的可能沾染病原微生物的废弃物应经过灭菌处理后，投入指定地点进行进一步处理。

**5.4 采样程序**

**5.4.1** 村镇污染治理设施及场所生物气溶胶样本的采样程序应包括采样前准备，采样器核查，采样点设置，采样时间设定，对照设置，采样过程，样品包装和运输，采样记录。

**5.4.2** 采样前准备应符合下列规定：

**1**采样前，应制定详细计划，包括采样的具体位置、时间、频次、采样方法和采样量等。

**2**根据采样计划，应准备必要的采样工具（如采集管、过滤器、泵等），并确保所有器材均已消毒灭菌，同时携带必要的消毒灭菌器材。

**3**参与人员应配备个人防护装备，包括口罩、防护眼镜或面罩、长袖防护服或实验室大褂、丁腈或乳胶手套、必要时的头套和鞋套。检查并确认所有装备完好无损。

**4** 采样前，应确保所有采样人员都经过采样方法、个人防护、现场安全和紧急应对措施的培训。

**5.4.3** 采样器核查应符合下列规定：

**1**采样器及其配件应无损坏，检查所有连接部位是否紧固。

**2**对采样器的功能应进行测试，包括但不限于流量控制、时间设置、采样量控制等，以确认设备能够正常运作。如果可能，应进行一个短暂的测试采集，以验证设备的实际运行状况。

**3**对采样器的流量计等关键组件应进行校准，以确保采样数据的准确性。根据制造商的建议和行业标准定期进行校准。

**5.4.4** 采样点设置时，应根据生物气溶胶的来源位置，采样当日的环境条件等，设置采样点位置及数量。

**5.4.5**采样时间设定应符合下列规定：

**1**村镇环境较为洁净，为保证采样的高效性，村镇污染治理设施及场所在采样时应延长时间。

**2**采样器采样时间设定时，宜符合表5.4.5的规定。

**表5.4.5 采样器采样时间设定**

|  |  |
| --- | --- |
| 采样器名称 | 采样时间设定 |
| 重力沉降式采样器 | ≤ 24 h |
| 撞击式采样器 | ≤ 20 min |
| 冲击式采样器 | ≤ 40 min |
| 过滤式采样器 | ≤ 30 min |
| 离心式采样器 | ≤ 15 min |
| 静电收集式采样器 | ≤ 20 min |
| 冷凝式采样器 | ≤ 24 h |

**5.4.6** 对照设置时，空白样品的数量应按照项目监测方法的标准规定执行，如方法标准中无规定，每个项目在同一批次内至少采集1个空白样品。

**5.4.7** 采样过程应符合下列规定：

**1**在村镇环境中操作时，应选择一个相对封闭和清洁的室内环境进行器材装配，以减少外界尘土和杂质的干扰。

**2**在装载采样介质前，应确保手部清洁或佩戴一次性手套，防止样品被直接接触污染。

**3**检查周围是否有树木或建筑物可能引起的自然或人为气流，应尽量在减少这类干扰的位置启动采样器。

**4**采样完成后，应仔细检查介质是否完好无缺，未被昆虫、动物或恶劣天气条件损坏。用预先准备的无菌封口袋或容器密封采样介质，并确保每个样品都清楚地标记，包括采样时间、地点等关键信息。

**5**在清理和检查采样器及附件时，应确保所有部件未受损并处于可再次使用的状态。记录所有相关信息，包括可能影响样品的任何特殊事件（如降雨或地区活动）。

**6**使用消毒剂彻底清洁设备，尤其是采样介质接触过的部分。应确保消毒后的设备存放在干燥、清洁的环境中，避免因存储不当引起的损坏或污染。

**5.5 样本保存与运输**

**5.5.1** 生物气溶胶样品采集完成后，应尽量在较短时间内运输至实验室进行分析，时间依据采集微生物的特性决定。

**5.5.2** 采集后的样本应在低温环境条件下保存和运输，应并避免其他干扰，如太阳辐射、干燥、潮湿、受热、粘尘等。

**5.5.3** 样本运输过程中，一次性平皿应保持采样面朝下，液体采集样本应保持容器口朝上，滤膜采集样本应保持采样面朝上。

**5.5.4** 样本运输过程中应记录各项参数，包括环境温湿度及运输时间。

**5.5.5** 样品在2~8℃条件下保存不应超过24 h，若长期保存应置-70℃以下，应避免反复冻融。

# 6 样本分析

**6.1 样本预处理**

**6.1.1** 采样膜预处理应符合下列规定：

**1**采样完成后，应保证在无菌条件下，将生物气溶胶的采样膜剪成碎片。

**2**将所述采样膜碎片转移到离心管中，应加入磷酸盐缓冲液或超纯水浸没所述采样膜碎片。

**3** 将所述离心管置于摇床振摇，应在经过超声波处理后得到混合液，完成预处理。

**6.1.2** 培养基预处理应符合下列规定：

**1**采样完成后，应利用封口膜对培养基进行密封，以避免外界环境对样本的污染和干扰。

**2**将培养基放置在恒温培养箱中以适当的温度孵育一定时间。应确保培养基中含有足够的养分和适当的温度，以促进微生物的生长和增殖。

**3**定期检查培养皿中的生长情况，应观察是否有微生物的生长，并记录相关数据。

**6.1.3**液体介质预处理应符合下列规定：

**1**采样完成后，应立即将采集到的样品冷藏（通常在4℃），以减缓微生物的代谢和死亡速度，保持样品的稳定性。

**2**通过离心或过滤的方法，应去除杂质或分离背景介质。

**3** 如果后续分析只需要核酸信息（不需要活细胞），应对样品进行灭活处理，防止样品在处理过程中的生物安全风险。

**6.2 气溶胶样本定性分析**

**6.2.1** 气溶胶样本定性分析是指对气溶胶样本中微生物种类进行分析，主要包括微生物学传统方法、分子生物学方法、生物分子技术、光谱学方法、免疫学方法。

**6.2.2** 微生物学传统方法应符合下列规定：

**1** 培养技术：在培养基上培养气溶胶样本，以分离及成长特定的微生物群。随后可以通过微生物的形态、生长特性和生化试验进行识别。

**2** 显微镜检查：使用光学显微镜或电子显微镜观察样本，识别微生物的形态特征。

**6.2.3**分子生物学方法应符合下列规定：

**1**聚合酶链反应（PCR）：提取样本中的DNA，使用特定的引物来扩增目标微生物的DNA序列，通过电泳分析确认微生物。

**2**实时定量PCR (qPCR) ：类似于PCR，但可以在过程中实时监测DNA复制过程，用于快速检测和定量特定微生物。

**3**基因测序技术：对气溶胶样品中的微生物进行全基因组或特定基因片段的测序，以进行更详细的物种识别和分类。

**6.2.4**生物分子技术应符合下列规定：

**1**基因芯片技术：利用预设计的微阵列芯片探针，可以同时检测多种微生物的存在。

**2**代谢组学和蛋白质组学技术：通过分析微生物的代谢产物或蛋白质表达，提供关于微生物种类和功能的信息。

**6.2.5**不破坏样品的情况下，应利用光谱分析确定微生物中的特定化合物来进行识别。

**6.3 气溶胶样本定量分析**

**6.3.1** 气溶胶样本定量分析是通过培养和增殖的方法对样本中微生物的量进行分析，主要采用微生物学方法、分子生物学方法、生物传感器、光学方法、免疫学方法。

**6.3.2** 通过将气溶胶采样器收集的样本接种到培养基上，计算经一定时间培养后的菌落数，以此推算气溶胶中微生物的浓度。结果通常应以菌落形成单位或噬菌斑形成单位来表示。

**6.3.3** 分子生物学方法应符合下列规定：

**1**实时定量PCR（qPCR）：利用特定的荧光标记引物，实时监测PCR扩增过程中的DNA量，可用于定量分析气溶胶样本中特定微生物的DNA含量。结果可以定量反映出微生物的相对或绝对浓度。

**2**数字PCR（dPCR）：通过将DNA样品分割成许多独立的反应单位，从而达到对每个单独PCR反应的定量，使得对低丰度样品的定量更为精确。

**6.3.4** 结合特异性抗体和传感器技术，可以定量检测空气中特定微生物的抗原。这类方法通常快速而灵敏，适用于现场快速检测。

**6.3.5** 光学方法应符合下列规定：

**1**微粒计数器：通过测量通过传感器的微粒数量，间接估计空气中微生物的总浓度。可以提供快速的微生物总量估计。

**2**荧光基因标记：将特定微生物标记以荧光基因，通过流式细胞术等技术定量分析标记微生物的数量，该方法可以提供特定微生物种群的准确浓度。

**6.3.6**通过利用抗原—抗体的特异性结合，并结合酶的催化反应产生的信号变化，定量分析样本中特定微生物的浓度。

# 7 质量控制

**7.1 采样过程质量控制**

**7.1.1**采样点位置后不应变动，以保证数据的连续性和可比性。

**7.1.2**每次采样前，应对采样系统的气密性进行检查，符合要求方可采样。

**7.1.3** 同一区域多点采样时，应确保各采样点样本采集同步进行，采样时间和采样频率均应相同。

**7.1.4**采样时应在正常工作状态和环境下进行，避免人为因素的干扰。

**7.1.5** 两台或两台以上采样器采样时，各采样器之间应保持一定距离，以防互相干扰。小流量采样器，仪器间距以1 m为宜。中流量TSP采样器的间距以2 m为宜。大流量采样器间距以3~4 m为宜。

**7.1.6** 在村镇污染治理设施及场所生物气溶胶样本时，每个采样点应采集三组样品，测定结果之差不大于20%。以确保结果准确性，减少随机误差。

**7.1.7** 采集样品时要时刻注意无菌操作，应避免在采样时污染样本，造成结果错误。

**7.2 分析过程质量控制**

**7.2.1**使用固体培养基对微生物进行培养时，应按照相应微生物的生长条件进行培养，并保证充足的培养时间。细菌培养时间应设为24~48h，培养箱温度需设定在35℃~37℃。真菌生长较慢，需要3d~7d，培养箱温度需设定在25℃~30℃之间。病毒需要宿主细胞进行繁殖，培养时间因病毒种类及其复制周期不同而异，通常为7~14d。病毒的培养温度通常与其宿主细胞的最佳生长温度相符，需设定在35℃~37°C。

**7.2.2**使用菌落形成单位（CFU）和噬菌斑形成单位（PFU）进行菌落计数时，应利用正孔校正法提高检测结果的准确性。

**7.2.3**使用显微镜进行微生物的定性分析之前，应定期校准和维护显微镜，确保其光学组件清晰无瑕，同时标准化样本制备过程。

**7.2.4**使用分子生物学方法进行微生物的定性或定量检测时，从样本预处理、DNA提取、PCR扩增到数据分析的每个步骤都应执行严格的控制措施。包括采用无菌技术、使用阳性和阴性控制样本以监测提取效率和污染、设计特异性高的引物与探针、实施内部标准以检验PCR过程的正确性。

**7.2.5**使用基因测序技术进行微生物检测时，采集和处理样本的步骤应保证样本不受污染，并确保DNA的完整性。同时需要通过测量DNA浓度和纯度来评估提取DNA的质量，并且在构建文库时确保符合测序平台的质量要求，包括检测文库的大小、浓度和纯度。

**7.2.6**使用基因芯片技术检测微生物时，需精心设计和验证探针的专一性，并在严格控制的环境中进行芯片制备，应确保探针的均匀固定和位置准确。样本采集和处理阶段，必须减少污染和样本降解，使用高效的DNA提取方法来保证DNA的纯度和完整性。杂交和洗涤过程需要标准化，优化条件以增强特异性和减少背景干扰。

**7.2.7**使用代谢组学和蛋白质组学技术进行微生物检测时，应严格控制污染和防止样本降解以保证样本的一致性和完整性。在抽提和富集阶段，应使用标准化的方法并在适当温度下快速操作防止代谢物或蛋白降解。

**7.2.8**使用光学方法检测微生物时，应定期校准和维护光学设备，并保持光学元件清洁。同时，需重复实验确保结果的一致性和重复性。

**7.2.9**使用生物传感器检测微生物时，应使用标准溶液或标准微生物菌株校准传感器，并检查及维护传感器的各个组成部分。在每次实验前均应使用已知浓度的内部控制样品来验证传感器性能，并监控实验环境（如温度和湿度）以避免影响传感器性能。

**7.2.10**在使用免疫学方法检测微生物时，应使用高质量、经验证的试剂和消耗品。确保抗体、底物、酶和其他化学品在有效期内并按推荐条件储存使用。同时对新批次的试剂进行验证测试，确保与之前批次的一致性和功能。

# 附录A 采样记录表

表A.1 村镇污染治理设施及场所生物气溶胶采样情况记录表

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样任务 |  | 采样地点 |  |
| 采样器名称型号 |  | 采样日期 |  |
| 采样器型号 |  | 采样记录人 |  |
| 样本编号 | 采样开始时间 | 采样结束时间 | 采样时间min | 采样器流量 m3/h | 采样实际气量L | 采样器温度℃ |
| 1 |  |  |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |  |  |
| 5 |  |  |  |  |  |  |
| 6 |  |  |  |  |  |  |
| 7 |  |  |  |  |  |  |
| 8 |  |  |  |  |  |  |
| 9 |  |  |  |  |  |  |

表A.2 村镇污染治理设施及场所生物气溶胶采集环境条件记录表

|  |  |
| --- | --- |
| 采样地点 |  |
| 采样日期 |  |
| 采样记录人 |  |
| 样本编号 | 环境温度（℃） | 环境湿度（%） | 风向 | 风速（m/s） | 太阳辐射强度（W/m2） | 空气污染物浓度（ppm） | 天气情况 | 备注（是否有降雨或扬尘） |
| 1 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 6 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 7 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 9 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 10 |  |  |  |  |  |  |  |  |

**用 词 说 明**

为便于在执行本标准条文时区别对待，对要求严格程度不同的用词说明如下：

**1** 表示很严格，非这样做不可的：

正面词采用“必须”，反面词采用“严禁”；

**2** 表示严格，在正常情况下均应这样做的：

正面词采用“应”，反面词采用“不应”或“不得”；

**3** 表示允许稍有选择，在条件许可时首先应这样做的：

正面词采用“宜”，反面词采用“不宜”；

**4** 表示有选择，在一定条件下可以这样做的，采用“可”。

**引用标准名录**

下列文件对本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件：

《医药工业洁净室（区）浮游菌的测试方法》GB/T 16293-2010

《医药工业洁净室（区）沉降菌的测试方法》GB/T 16294-2010

《颗粒 生物气溶胶采样和分析 通则》GB/T 38517-2020

《颗粒 生物气溶胶采样器 技术条件》GB/T 39990-2021

中国工程建设标准化协会标准

村镇污染治理设施及场所生物气溶胶采样与分析标准

T/CECS xxx－202x

条 文 说 明

# 制定说明

本标准《村镇污染治理设施及场所生物气溶胶采样与分析标准》编制过程中，编制组开展了纵向课题研究、项目调研、国内外相关标准及技术资料的检索，并对村镇污染治理设施及场所生物气溶胶的研究现状、发展趋势等内容进行系统分析，确定本标准的适用边界以及后续的可操作性，为标准的编制提供了可靠的软硬件基础，将有效保障标准质量水平。

为便于广大科研、技术和管理人员在使用本标准《村镇污染治理设施及场所生物气溶胶采样与分析标准》时能正确理解和执行条款规定，编制组按章、节、条顺序编制了本标准的条文说明，对条款规定的目的、依据以及执行中需注意的有关事项等进行了说明。本条文说明不具备与标准正文及附录同等的法律效力，仅供使用者作为理解和把握标准规定的参考。

# 目 次

[1 总 则 (24](#_Toc169122926))

[2 术 语 (25](#_Toc169122927))

[3 基本规定 (28](#_Toc169122928))

[4 采样点布设 (30](#_Toc169122929))

[4.1 一般规定 (30](#_Toc169122930))

[4.2 村镇生活污水处理设施及场所采样点布设 (30](#_Toc169122931))

[4.3 村镇生活垃圾处理设施及场所采样点布设 (31](#_Toc169122932))

[4.4 村镇分散畜禽粪污处理设施及场所采样点布设 (31](#_Toc169122933))

[4.5 村镇卫生厕所设施采样点布设 (31](#_Toc169122934))

[5样本采集与保存 (32](#_Toc169122935))

[5.1 采样方法分类与选择 (32](#_Toc169122936))

[5.2 采样器分类与选择 (33](#_Toc169122937))

[5.3 采样辅助材料准备 (33](#_Toc169122938))

[5.5 样本保存与运输 (34](#_Toc169122940))

[6样本分析 (35](#_Toc169122941))

[6.1 样本预处理 (35](#_Toc169122942))

[7质量控制 (36](#_Toc169122945))

[7.1 采样过程质量控制 (36](#_Toc169122946))

# 1 总 则

**1.0.1**本标准旨在确保村镇区域内污染源治理设施和场所的生物气溶胶样本采集和分析工作符合科学规范，促进村镇污染治理工作的有效实施和精细化管理。通过标准化的生物气溶胶采集和分析方法，有助于监测和评估村镇污染治理效果，提供科学依据支持相关政策的制定和实施。

**1.0.2**通过明确采样方法、分析流程和质量控制措施，本标准有助于提高采样数据的准确性和可比性，为村镇污染治理工作提供科学依据。同时，标准化的采样和分析程序也有助于降低操作人员的风险暴露，提高工作效率，保障人员健康和安全。

# 2 术 语

**2.0.1** 主要包括但不限于生活污水、生活垃圾、分散畜禽养殖产生的粪污以及公共厕所排放的粪污等对环境造成的污染。不包括村镇工业生产、规模化畜禽养殖等造成的污染。村镇工业生产和规模化畜禽养殖因其规模较大，涉及的化学物质、废弃物和其他排放物通常远超普通家庭和小规模活动。由于这些大规模活动对环境的影响更为显著，因此需要采用更专业的环保技术和管理策略来控制其污染。本标准不包括村镇工业生产和规模化畜禽养殖等因素。

**2.0.2** 村镇生活污水主要来源于居民的日常活动，其成分较为简单，主要是有机物如食物残渣、油脂、洗涤剂、人体排泄物等。

**2.0.3** 村镇生活垃圾主要来源于居民日常活动，涵盖了各种不同类型的废弃物。厨余垃圾是日常饮食中产生的有机废物，如食物残渣、果皮等；塑料、纸张、玻璃、金属和布料则是日常消费品的包装或使用后的废弃物；陶瓷、树叶和树枝则是家庭用品和院落清理时产生的。

**2.0.4** 一般来说，家庭或小规模养殖场养殖数量相对较少，例如每户养殖的生猪不超过几十头，鸡不超过几百只，场地面积较小，通常不超过几亩地，位于农户自有的宅基地或农田内。经营方式主要依赖家庭成员进行管理，基础设施较为简陋，设备投入和技术水平较低。产品主要用于家庭自用或在当地市场销售，销售渠道单一，市场规模有限。

**2.0.5** 公共厕所通常被用于服务更广泛的公众，包括非常住居民和路人，因此，其使用频率及污染潜力比家用厕所要大得多。由于公共厕所面向的是整个村镇或流动人口，因此它们的维护和污染控制直接影响到村镇公共卫生和环境卫生。

**2.0.6村镇生活污水治理设施及场所：**包含村镇生活污水收集池、明渠收集模式、单户或连户型生活污水处理设施、小型集中式生活污水处理站。

**村镇生活垃圾治理设施及场所：**包含垃圾箱（桶）、垃圾堆、垃圾转运车辆和垃圾中转站。

**村镇分散养殖畜禽粪污治理设施及场所：**包含堆肥场、沼气池、微型处理设施等。

**村镇卫生厕所设施：** 包含旱厕和水冲厕所中的设施（不包括居民家室内卫生厕所设施），主要有厕位、尿斗、洗手盆、垃圾桶等。

村镇污染治理设施及场所不包括集中式城镇污水处理厂、垃圾填埋场、规模化畜禽养殖场等设施和场所。集中式城镇污水处理厂、垃圾填埋场、规模化畜禽养殖场等设施和场所通常针对的是更大规模的城市或工业领域的需求，其设计、管理及技术要求和村镇污染治理的环境与目标有明显不同。例如，集中式城镇污水处理厂和垃圾填埋场通常设计用来服务较大的城市居民区或整个城镇，处理的污水和垃圾量远超于一般村镇的规模。这些设施因规模大和技术复杂，其管理和运行需要专业化的技术和相对高额的资金投入。

**2.0.7**细菌生物气溶胶能够长时间悬浮在空气中，并在一定条件下通过呼吸道侵入人体，造成感染和疾病。

**2.0.8**真菌生物气溶胶通常通过环境因素和人的活动等方式散布在空气中，并且能够在合适的湿度和温度条件下迅速繁殖。由于真菌孢子具有较强的耐受性和扩散能力，它们能引起过敏反应、呼吸道感染等健康问题。

**2.0.9**病毒生物气溶胶体积非常小，能够通过吸入进入人体呼吸道，导致感染和疾病。

**2.0.10**固体介质包括各种固体营养琼脂、半固体营养琼脂和各种滤膜。液体介质包括灭菌水、缓冲生理盐水、磷酸缓冲液、营养液等。

**2.0.11**生物传感器利用生物识别元件（如酶、抗体、核酸等）与目标分子特异性结合产生的反应，并通过物理或化学传感器将该反应转化为可测量的电信号、光信号或其他类型的信号。生物传感器广泛应用于医疗诊断、环境监测、食品安全和生物技术等领域，用于快速、准确地检测和分析各种生物样本中的特定物质或生物活性。

**2.0.12**微粒计数器通过光散射、电阻变化或其他原理，捕捉并分析微粒的数量和大小分布，提供有关颗粒物浓度和分布的信息。微粒计数器广泛应用于环境监测、工业生产、洁净室管理、医疗卫生等领域，用于确保空气或液体的纯净度和安全性。

**2.0.13**荧光基因标记技术通过将编码荧光蛋白质的基因与目标基因融合，使目标基因的表达产物在细胞中发出荧光。荧光标记可以通过显微镜等设备直接观察，使研究人员能够在活细胞或组织中实时追踪和定位特定基因或蛋白质的动态变化。荧光基因标记技术广泛应用于细胞生物学、分子生物学、遗传学等研究领域，用于研究基因表达、蛋白质相互作用、细胞分化和发育等生物过程。

**2.0.14**通过将目标分子（抗原）与特定抗体结合，免疫测定能够识别并定量分析生物样本中的特定物质。这种方法广泛应用于医学诊断、食品安全检测、环境监测等领域，用于检测疾病标志物、病毒、细菌、毒素和其他生物分子。常见的免疫测定方法包括酶联免疫吸附测定（ELISA）、放射免疫测定（RIA）和荧光免疫测定（FIA）等。

**2.0.15**菌落形成单位通常用来表示样本中活性（可生长）微生物的数量。

**2.0.16**每个噬菌斑通常由一个能够感染细胞并在其周围形成病毒复制区的单独病毒粒子产生。

**2.0.17**正孔校正法方法通常需要校正因子或校正曲线，这些因子或曲线来自设备的校准数据，说明了设备对不同尺寸粒子的响应变化。

**2.0.18**使用阳性控制样本可以验证检测方法的有效性和灵敏度，确保实验结果的准确性和可靠性。如果阳性控制样本没有产生预期的结果，说明实验操作或检测方法可能存在问题，需要进行调整或排查。阳性控制样本在病原检测、基因检测和其他生物学实验中起到重要的验证作用。

**2.0.19**使用阴性控制样本可以帮助识别和排除由于试剂、设备或操作引起的非特异性反应，从而确保实验结果的准确性。如果阴性控制样本显示出阳性结果，说明实验过程中可能存在污染或其他误差，需要进行进一步的排查和修正。阴性控制样本在病原检测、基因检测和其他生物学实验中是确保结果可靠性的重要工具。

# 3 基本规定

**3.0.1**  根据采样目的、环境特点和污染治理设施的运行情况设置采样点可以确保采样数据的代表性和实用性，使得采样结果更加准确、有效。

采样目的：明确采样的具体目的能指导采样点的选取，因不同的研究目的可能需要关注不同类型的污染源或受影响区域。例如，若是评估某个设施或场所对周边空气质量的影响，采样点就应布设在设施或场所的下风向位置。

环境特点：环境特点包括地形、气象条件和人口分布等，都会影响污染物的传播和稳定程度。合理的采样点布局应考虑这些环境因素，以减少外界因素对采样结果的干扰，确保采样数据能真实反映该区域的空气质量状态。

污染治理设施的运行情况：污染治理设施的运行状况直接影响到周围空气的质量和环境的安全性。因此点位布设时，考虑污染治理设施的运行情况可以评估设施对周围环境的影响程度。

**3.0.2**  村镇污染治理设施及场所生物气溶胶样本采集前需要根据采样任务和计划确定采样器类型、配件、辅助器材及其相应的数量，采样器具需要进行灭菌处理。选定采样时间需综合考虑气象条件，如温度、湿度和风速等环境参数。同时还需要了解采样点周围的环境状况，包括附近的农作物种植、养殖、污水排放等相关信息。

**3.0.3**  安全防护措施旨在减少实验人员接触有害物质、病原体或其他危险因素的风险，确保工作环境的安全。例如，手套可以防止皮肤直接接触有害物质，口罩可以防止吸入有害气体或微生物，实验服和防护服则提供了全身的防护，防止污染物沾染衣物或皮肤。

**3.0.4**  在生物气溶胶采样过程中，选择合适的采样设备是关键，需综合考量采样流量、时间及效率。采样流量需要保证足够的空气通过采样头，以避免颗粒破碎或损失，而适宜的采样时间则能够根据环境气溶胶浓度和研究目标调整，以增强检测低浓度气溶胶的能力但防止样品过饱和。同时，高采样效率的设备可以确保收集到足够数量和质量的气溶胶样本，适应特定粒径的生物气溶胶分析需求。

**3.0.5**  适当的抽气速度和采样时间能够有效避免样品过载，确保采集到的样本真实反映环境中的状态，从而提高数据分析的准确性。为保证采样的高效性，村镇污染治理设施及场所在采样时需要加大采样流量和延长时间。例如在使用大流量采样器时，采样流量一般控制在100 L/min，时间控制在8h，以保证空气中的待测微生物能完全地进入采样器中，被吸收或阻留下来，也便于下一步的分离测定。采样过程时需要记录采样时的环境条件包括温湿度、太阳辐射、风速等，以判断环境因素对采集和分析结果的干扰。

**3.0.6**  在连续运行设备的环境中，生物气溶胶的分布可能因为空气流动、设备运行状态和环境条件的变化而在空间上呈现不均匀性。在设备的不同位置采样可以了解生物气溶胶在整个环境中的分布情况。

对于间断运行的设备，其启动和关闭的过程可能会导致生物气溶胶的浓度和物种组成发生显著变化，因此在不同的运行阶段进行采样可以揭示出这些变化。

**3.0.8**  病原微生物是直接威胁人类健康的微生物，其存在和扩散可能导致各种传染病的发生。通过对病原微生物的检测和筛查，可以评估生物气溶胶对人类健康的潜在风险。

# 4 采样点布设

**4.1 一般规定**

**4.1.1**充分调研能够确保选定的采样点能够准确反映实际的污染情况，避免数据偏差；了解污染物的产生、扩散和排放规律，能够选择具有代表性的采样点，使得采样结果更具有普遍性和说服力；了解治理设施的处理流程和运行情况，有助于判断污染物在不同处理阶段的变化情况，确保采样能够有效反映不同环节的污染水平；考察采样点的环境条件和卫生状况，可以避免因外部因素影响采样结果，保证采样点选择的合理性和科学性；

**4.1.2**局地污染源如炉窑、小烟囱、建筑工地、停车场等可能因为扬尘或污染物产生对村镇污染治理设施及场所生物气溶胶的采集与分析结果造成影响。绿化带对于生物气溶胶可能有一定的过滤及截留作用。

**4.1.3**村庄空旷区域指没有建筑物、人口稀少或无人居住的地方。

**4.1.4**保持采样点设置条件一致可以确保不同点位之间的数据具有可比性，便于进行有效的比较和分析；根据潜在生物气溶胶逸散点源情况和需求调整采样高度，可以更准确地捕捉到目标污染物的真实浓度和分布情况；将采样设备固定在支架上或置于平稳表面，可以减少外部环境对采样的干扰，保证采样过程的稳定性和数据的准确性。

**4.2 生活污水处理设施及场所采样点布设**

**4.2.1**贴近水面区域进行样本采集可以确保数据代表性更强，能够反映当前状态和整体特征。

**4.2.2**贴近用户排水管处的采样能够反映初始生物气溶胶的特征信息；在污水流经道路时贴近水面区域采样可以捕捉因车辆和行人活动搅动产生的气溶胶，反映污水在流动过程中的变化及空气中生物气溶胶的扩散情况；在污水收集点贴近水箅子处采样则有助于了解污水集中汇集后生物气溶胶的特征信息。

**4.2.3**通风口是污水处理过程中排放有害气体和生物气溶胶的主要通道。在通风口处进行采样，可以监测生物气溶胶的浓度、粒径和物种组成等信息，评估其对操作人员和周边居民健康的潜在风险。

**4.2.4**污水运输管道和泵站可能存在污水泄露或外界污染源进入的情况，设置采样点位可以更准确了解污水处理过程中生物气溶胶的变化情况。

**4.3 村镇生活垃圾处理设施及场所采样点布设**

**4.3.1**垃圾箱（桶）和垃圾堆放区域是垃圾处理过程中污染物最集中的地方，特别是在垃圾箱（桶）开口处，污染物容易扩散。贴近开口处进行采样，可以准确捕捉到垃圾分解和堆积过程中产生的生物气溶胶，评估其对空气质量和公共健康的影响。

**4.3.2**垃圾中转站内部操作区以及车辆进出口处采样高度设置为距地面1.5m，是因为这个高度接近成年人的呼吸带，能够更好地反映人员在该区域活动时可能吸入的污染物浓度，从而为评估健康风险和制定相应的防护措施提供科学依据。

**4.4 村镇分散畜禽粪污处理设施及场所采样点布设**

**4.4.1**粪污进料点、存储区域和排放点是生物气溶胶产生的主要源头。这些点位会释放大量的微生物和有机物，可能对环境和人群健康构成威胁。在这些关键点设置采样点位，可以有效监测和评估生物气溶胶的释放情况。

**4.5 村镇卫生厕所设施采样点布设**

**4.5.1**马桶、坑位、尿斗和垃圾桶是粪便、尿液和其他废物的集中处，容易产生和释放生物气溶胶。通风口则是空气流通的主要路径，可能会带动气溶胶的扩散。在这些关键点设置采样点位，可以有效监测和评估生物气溶胶的释放情况。

# 5样本采集与保存

**5.1 采样方法分类与选择**

**5.1.2**为了在不同应用场景中实现精确、高效的生物气溶胶采集和成分分析，采样方法的针对性和精确性至关重要。

**1**适于收集较大颗粒的气溶胶，广泛应用于室内和室外空气质量评估，可初步评估环境空气中可培养微生物的数量和群落结构。将固体培养基放置于空气环境中，借助气溶胶中微生物的自身重力沉降收集微生物。该方法由于被动采集，误差大，收集效率低，易受颗粒质量、沉降速度、温度、气流和微生物是否可培养等因素影响，难以准确反映空间环境中的微生物总量。

**2**适于采集空气中易沉着在人体呼吸道中的粒子，广泛用于分析和鉴定与获得性呼吸系统感染有关的致病微生物。该方法利用惯性作用，通过喷嘴、喷口或裂隙的加速作用把生物气溶胶粒子采集到固体介质表面。

**3**适于采集和检测包括可培养微生物和不可培养微生物在内的多种微生物，检测微生物气溶胶范围较广，能更全面反映气溶胶中微生物的种群结构。该方法能够使具有足够大惯性的生物气溶胶粒子撞击液体并进入液体介质中。

**4**适于采集和检测空气中不同粒径大小的颗粒物。当空气以一定速度穿过多孔滤膜时，微生物粒子被拦截并滞留在滤膜上。该方法对空气湿度、滤膜材质等要求较高，常见的滤膜材料包括玻璃纤维、聚氯乙烯、纤维素等，可捕获粒径在0.1-6.0 μm范围内的微生物气溶胶粒子。

**5**使气体以高速旋转所产生的离心力将生物气溶胶粒子与气流分开并撞击到固体介质表面上或富集到液体介质里的采集方式。

**6**适于采集气溶胶中带电敏感或较小粒径的微生物。微生物气溶胶通过静电采集器时首先在静电场入口处被带上电荷，在电场的作用下颗粒与空气流分离并沉积在静电板上。静电捕获时需防止微生物RNA或蛋白质由电晕电离空气产生活性氧造成的损伤等。

**7**适于采集较小粒径的微生物，可实现微生物气溶胶遗传物质的高效率、高保真回收，多应用于病毒气溶胶的收集。微生物气溶胶粒子经加湿器潮湿化和升温后注入冷却器，含有过饱和蒸汽的粒子充当凝结核凝结于冷却器表面。冷凝采集器的升温区与冷凝区温差越大捕获的微生物总量越多，但高温可能会造成微生物细胞的损伤。

**8**空气中的悬浮微生物因含有色氨酸、还原型辅酶I（即NADH）、核黄素等有机代谢物，在短波长激发光的激发下，会产生本征荧光。因此基于米氏散射法和紫外光诱导荧光（UV-LIF）法激发产生的荧光特性即可判别悬浮颗粒物的粒径和浓度变化。

**5.1.3** 标准考虑了各种微生物的特性及其在空气中的存在形式，从而选择最适合的采样方法。通过针对性地使用不同采样方法，可以提高采样的效率和准确性，全面采集不同类型和大小的微生物颗粒，确保采样结果的代表性和完整性。

**1**定性分析可选择撞击式采样、冲击式采样、过滤式采样、离心式采样、静电收集式采样等方法。定量分析可选择重力沉降式采样、撞击式采样、冲击式采样、离心式采样、静电收集式采样、紫外光诱导荧光式采样。其中，重力沉降式采样仅限于洁净环境或外界干扰小的环境采样。

**2**定性分析可选择重力沉降式采样、撞击式采样、冲击式采样、过滤式采样、离心式采样等方法。定量分析可选择重力沉降式采样、冲击式采样、过滤式采样、离心式采样、静电收集式采样等方法、紫外光诱导荧光式采样。

**3**定性分析可选择冲击式采样、过滤式采样、离心式采样（液体介质）、静电收集式采样、撞击式采样、冷凝式采样等方法。定量分析可选择重力沉降式采样、冲击式采样、过滤式采样、离心式采样、静电收集式采样、冷凝式采样等方法。选择撞击式采样时，需在琼脂表面涂抹一层薄的水溶性粘质层。

**5.2 采样器分类与选择**

**5.2.2**不同类型的采样器基于各自的原理和设计，适用于不同的应用场景和微生物粒子特性。

**2**固体撞击式适合大颗粒物采集，但时间不宜过长；液体撞击式适合小颗粒微生物采集，但收集效率受影响较大。

**4**采样时阻力大，采样时间越长效率越低。

**5.3 采样辅助材料准备**

**5.3.2** 采样介质的选择是后续分析可靠性和代表性的基础。

**2**微生物气溶胶采样介质的灭菌方法主要包括高压蒸汽灭菌、干热灭菌、紫外线灭菌、滤器灭菌、化学灭菌和气体灭菌。

**3**液体采样介质通常具有良好的溶解和均匀混合能力，固体采样介质则具有良好的捕捉和保持微生物的能力。

**4**如果需要考虑生物活性，需要选择能够支持生物生长的介质，如固体或半固体培养基、富含营养的液体介质或中性液体等。这些介质有助于维持并测定生物成分的活性。反之，如果监测的重点是采样效率而不涉及生物活性，那么可以选择多种介质，包括固体或半固体培养基、含营养液体、中性液体以及滤膜等，这些介质主要用于有效捕获气溶胶粒子。

**5.5 样本保存与运输**

**5.5.1** 样本采集后，放入密闭的自封袋内，一个采样点对应一个自封袋，于保温箱中加冰、密封，24 h内送回实验室。

**5.5.2** 样品长期低温保存时，冻融不应超过三次。

# 6样本分析

**6.1 样本预处理**

**6.1.1** 采样膜预处理应符合以下规定，可以提高样本预处理的效率和可靠性，从而支持准确的科学研究和有效的环境监测。

**1**无菌消毒方法一般采用高温蒸汽灭菌法或化学消毒剂法。

**2** 磷酸盐缓冲液具有较好的稳定性和无毒性，在生物学实验中被广泛应用。 在样本预处理时提取液（磷酸盐缓冲液或超纯水）的量需要保证样本充分浸入。

**3**转速范围一般设定在100-300 rpm（每分钟转数），但这个参数需要根据具体的设备型号和生产厂家的推荐来调整。

# 7质量控制

**7.1 采样过程质量控制**

**7.1.2** 气路气密性的检查方式为：将真空压力表及三通阀门接于待测采样器进气口，启动待测采样器并缓慢关闭三通阀门进气口，当真空压力表指示上升都大于5 kPa时，关闭采样器电源，同时完全关闭三通阀门进气口并迅速夹死抽气泵入口气管，1 min时记录真空压力表的读数值（F），计算压力变化|ΔF|=|F-5|，单位为kPa。若采样器为多路采样气路，需要分别检查各气路的气密性。

**7.1.7** 每次更换培养皿、滤膜或采样头时，需要在佩戴一次性手套的同时对手进行消毒，以保证无菌操作。