

Research on Dynamic Monitoring of Air Microorganisms in Clean Environment and Traceability of Pollution Sources

Zhengjia Wu Fu Liao Tao Ling

Hubei Pulin Standard Technical Service Co., Ltd., Wuhan, Hubei, 430000, China

Abstract

A clean environment is crucial for key fields such as pharmaceutical manufacturing and food production, and microbial contamination in the air is one of the core factors affecting its cleanliness. This article aims to systematically explore the dynamic monitoring technology and pollution source tracing methods of microorganisms in clean air environments. The article first elaborates on the necessity of dynamic monitoring and analyzes in detail the principles and application characteristics of mainstream monitoring technologies such as active and passive sampling; Secondly, the methodology of pollution source tracing based on microbial species identification, concentration gradient analysis, and air flow field simulation was emphasized; Finally, prospects were proposed for building a comprehensive management system that integrates real-time monitoring, data analysis, and intelligent warning. Research has shown that implementing systematic dynamic monitoring combined with effective traceability methods is a key strategy for accurately assessing the level of microbial control in clean environments, identifying pollution risks in a timely manner, and implementing source control, which is of great significance for ensuring product quality and production safety.

Keywords

clean environment; Airborne microorganisms; Dynamic monitoring; Pollution source tracing; Bioaerosols

洁净环境空气微生物动态监测与污染源追溯方法研究

吴正家 廖赋 凌涛

湖北省普林标准技术服务有限公司, 中国·湖北 武汉 430000

摘 要

洁净环境对于医药制造、食品生产等关键领域至关重要, 空气中的微生物污染是影响其洁净度的核心因素之一。本文旨在系统探讨洁净环境空气中微生物的动态监测技术与污染源追溯方法。文章首先阐述了动态监测的必要性, 并详细分析了主动与被动采样等主流监测技术的原理与应用特点; 其次, 重点论述了基于微生物种类鉴定、浓度梯度分析与空气流场模拟相结合的污染源追溯方法学; 最后, 对构建集成了实时监测、数据分析与智能预警的综合管理体系提出了展望。研究表明, 实施系统性的动态监测并结合有效的追溯手段, 是精准评估洁净环境微生物控制水平、及时识别污染风险并实施源头控制的关键策略, 对保障产品质量与生产安全具有重大意义。

关键词

洁净环境; 空气微生物; 动态监测; 污染源追溯; 生物气溶胶

1 引言

伴随现代工业和医疗技术的迅猛进步, 生产与操作环境的洁净度标准愈发严格。洁净室及相关受控区域利用高效空气过滤系统等方法, 把空气中悬浮粒子控制到极低程度, 微生物作为有活性的特殊颗粒, 其出现不仅可能造成产品污染, 更可能直接引发感染, 进而导致生产失败, 引发巨大经济损失与潜在安全危机。以往微生物监测多依靠静态的沉降菌法, 此方法虽操作简便, 却有滞后、捕获效率差且难以体现动态活动下实际污染状况的弊端。实施连续且动态的空气

微生物监测, 且在检测到超标情况时能迅速、精准地追踪到污染源头, 已成为洁净环境微生物控制领域急需深入探究的关键课题。本文会围绕动态监测方法、污染源追溯技术以及综合管理体系构建这三方面展开系统论述, 以给提升洁净环境微生物控制水平提供理论依据和方法指引。

2 空气微生物动态监测技术

动态监测意味着在不严重影响洁净环境正常生产操作的基础上, 开展连续或频繁间断的微生物采样与分析, 进而实时或近乎实时地展现空气中微生物的污染状况及其变化态势。

2.1 主动空气采样技术

主动采样作为环境微生物动态监测的主要可靠技术方法, 运行原理是借助内置抽气泵, 按照恒定且已知的流速主

【作者简介】吴正家(1988-), 男, 中国湖北武汉人, 本科, 工程师, 从事质量检测研究。

动吸入特定体积的待测空气，让气流中的微生物颗粒因惯性撞击并留在固体培养基平板或液体收集介质中。在各类采样器中，按撞击原理设计的裂隙式和离心式采样器应用极为普遍，它们不但采集效率极高，可高效捕捉不同粒径的微生物气溶胶，而且拥有出色的定量分析能力，可直接算出单位体积空气中活菌数量，为后续分析奠定稳定基础。

该方法的突出优点是能精准测定并算出空气中微生物的浓度，一般用 CFU/m³（每立方米菌落形成单位）作单位，还能马上把采集到微生物的平板移到培养箱里进行孵育和鉴定。这不但大幅缩短了检测所需时间，而且为实时衡量洁净室、医院手术室、食品车间等关键环境的微生物含量和污染状况提供了直接、有效的数据依据。由于具有极高的可靠性和标准化特点，主动撞击采样法被 ISO 14698 等诸多国际标准列为核心推荐方法，是当前环境微生物监测领域普遍认可的金标准。

2.2 被动空气采样技术

沉降菌法是一种凭借空气微生物自然沉降特性的传统监测方法，该方法把装有固体培养基的培养皿在监测点位放置一段时间，让空气中的微生物颗粒因自身重力缓慢沉降并附着到培养基表面。它的最大优点是操作极为简便，无需电力或抽气设备，而且成本很低，可用于大范围布点筛查^[1]。该方法的采集效率与结果可靠性受多种因素所限：微生物颗粒粒径直接影响沉降速率，空气湍流或通风情况会对沉降过程造成干扰，而且暴露时间的长短会明显影响菌落计数，故而难以精确且可重复地对空气微生物浓度进行定量分析。

由于它非定量的特点以及捕集效率不高，在系统的动态空气监测体系中，被动采样一般不单独用作定量评价方法，而是作为主动采样技术的有益补充。它的主要用途是评估特定关键区域（例如操作台面、洁净工作区附近）潜在的微生物沉降风险，显示的是在一定时间内表面可能积聚的生物污染水平，并非空气中原本的微生物浓度。在实际运用时，被动采样更多用于监测趋势、开展环境卫生审查以及初步识别风险点，需将其结果与主动采样数据进行综合评判，共同搭建起全面的环境微生物监测网络。

2.3 在线监测与快速检测技术

为突破传统培养法耗时久（一般需 48 - 72 小时孵育）这一固有弊端，近年基于光学和分子技术的快速空气微生物监测方法快速进步^[2]。在线实时监测系统借助激光诱导荧光（LIF）或粒子计数等物理原理，能在数秒内识别并统计空气中有生物活性的气溶胶颗粒，达成名副其实的连续在线监测与即时污染预警。此类设备尤其契合洁净环境、生物安全实验室和高风险生产区域的需求，极大增强了过程控制的及时性与风险应对能力。

通过 ATP 生物发光技术与 qPCR（定量聚合酶链式反应）等分子生物学方法的快速检测技术，持续拓展了空气微生物监测的范围。ATP 法可在几分钟内体现可培养与不可培养微

生物的总生物量，而 qPCR 技术借助扩增特异性基因片段，能在数小时内开展病原菌的定性和定量分析，大大促进了污染事件的应急调查与溯源工作。现阶段这些高新技术依旧面临着定量结果与传统培养法存在系统性差异、设备和试剂费用贵、操作复杂程度高等挑战，故而多应用于补充性快速筛查与研究场景，还未完全替代传统方法的标准地位。

3 微生物污染源追溯方法

若动态监测察觉到微生物污染水平出现异常，或是检测出特定致病菌、指示菌，快速且准确地追溯污染源是实施有效干预的必要前提，污染源追溯属于多维度、系统性的分析流程。

3.1 微生物种类鉴定与同源性分析

精准鉴定监测样本中分离出的微生物菌落，是追溯污染源的首个环节，也是搭建完整证据链的根基。传统方法主要凭借观察菌落的形态学特征，这些基础方法至今仍有参考意义。现代分子生物学技术显著增强了鉴定的分辨率与精确性，比如通过对 16S rRNA（针对细菌）或 ITS（针对真菌）区域进行测序，可在几小时内实现属甚至种水平的分类鉴定；如脉冲场凝胶电泳（PFGE）和全基因组测序（WGS）这类高分辨分型技术，能进一步提供菌株层面的基因特征信息，为后续深入对比打好根基。

明确菌株种类身份后，溯源工作的重点是对不同点位（例如不同车间、设备表面或空气样本）所分离出的菌株进行同源性分析^[3]。对菌株基因型进行比对，如开展基于 WGS 或 PFGE 条带模式的聚类分析，若多个位置的菌株基因型高度相似，表明这些微生物源自同一克隆群体，是存在共同的污染源。这种基因层面的高度同源性可突破空间限制，构建不同样本间的微观联系，为污染溯源提供极具说服力的分子证据，以此精准指引干预方法的落实，阻断污染传播路径。

3.2 浓度梯度与时空分布分析

把各采样点的微生物浓度数据和地理位置信息关联起来，绘制空间分布图，是识别与追溯污染源的关键可视化方法。离污染源越近的位置，空气中所捕获的微生物浓度往往越高，在图中往往呈现为显著的“热点”区域，剖析不同位置在不同时间段（如不同班次、不同日期）的浓度起伏，可进一步推导污染物的扩散动态和主导传播走向。若部分区域一直呈现异常高浓度值，抑或其浓度峰值总是先于周边区域显现，那么该区域很可能就是污染核心排放点，可当作溯源调查中的首要怀疑对象。

时空分布分析不仅可静态展现污染的空间聚集特性，还能动态剖析污染的迁移规律。对连续多期的监测数据进行叠加对比，可精准描绘出污染物随气流、人员活动或物料流动的扩散走向与影响范围，由此初步界定污染源的可能分布地带。尽管此方法，不能直接判定污染物的具体种属或者基

因型，但它能以较低成本迅速锁定关键嫌疑区域，极大缩减后续分子溯源或现场核查的目标范围，提升调查效率，是环境微生物监测与污染源中必不可少的宏观分析方法。

3.3 环境审计与气流模拟技术

从多维角度锁定污染源根本原因，追溯工作必须与系统、细致的环境现场审计紧密关联。审计范围需全方位涵盖可能引发微生物污染的所有环节，如排查设备与设施有无泄漏风险（如高效过滤器边框密封是否完好、生物安全柜或发酵罐内部正压能否有效保持），评判人员操作是否遵循无菌规范，审查物料传递与废弃物进出流程有无交叉污染隐患，以及核实卫生清洁与消毒程序的实际执行效果，这些实地检查常常能直接找出污染源的藏匿地点，或找出造成微生物滋生与扩散的关键控制点问题。

利用计算流体动力学（CFD）技术对洁净环境中的空气流场做数值模拟，可从理论角度提高溯源的科学性与精确性。CFD 模型可依据空间实际几何构造、送回风布局以及压差设定，以可视化方式模拟室内颗粒物（包括微生物气溶胶）的运动轨迹、滞留区域和扩散规律^[4]。对比模拟出的粒子分布和实际监测所得的浓度“热点”，可反向推导污染物最可能的释放位置及传播路径，进而为现场审计结论提供有力数据支撑与方向引导，实现经验判断与模型推演相融合的精准溯源。

4 综合监测与追溯管理体系的构建

有效的微生物控制不能仅依靠单一技术，而是要一套把技术、流程与管理充分融合的体系化方法。

4.1 监测网络的科学布点设计

结合洁净室等级、气流类型、设备布局 and 关键工艺特性，科学地规划动态监测点的位置与数量，恰当设置采样频率。监测网络应覆盖灌装区域、开放式产品接触点、人员活动密集区等风险较高的位置，并且包含有代表性的背景环境，达成空间与时间的全面覆盖，如实反映洁净环境当下状态，为污染控制提供精准数据依据。

4.2 数据集成与智能预警平台

创建一体化的信息化平台，汇聚来自不同源头的监测数据，包含主动与被动微生物采样、悬浮粒子、温湿度、压

差等各类参数。运用大数据分析构建环境基线模型并设定动态阈值，达成多参数趋势剖析、异常自动预警与可视化看板呈现^[5]。该平台作为监测与追溯的“中枢系统”，可实时识别环境异常，快速开启溯源调查程序，增强响应效能与决策的科学性。

4.3 标准化操作规程与应急响应机制

构建并严格落实动态监测标准作业程序（SOP）与污染事件应急响应流程，确定追溯启动条件、责任分配、调查流程（如补充采样、环境审计、微生物鉴定）以及纠偏方法执行与验证的规范。运用标准化与流程化的管理模式，保障污染事件出现时可迅速反应、系统排查、有效管控并实现闭环式管理，持续增强洁净环境保障效能。

5 总结

洁净环境下对空气微生物的控制是个动态且持续的进程。本研究全面阐述了以主动采样为核心的动态监测技术体系，突出了它在获取实时、定量数据上的核心意义。整合微生物鉴定、浓度分布分析和气流模拟等多维度数据的污染源追溯方式，是精确锁定污染源头、开展靶向干预的科学依据。借助搭建一个融合科学布点、智能预警和标准化流程的综合管理体系，可充分发挥技术与管理优势，达成对洁净环境微生物污染风险的预先警示、快速应对以及根源性治理，为高风险行业安全生产和产品质量筑牢可靠防线。后续研究能进一步聚焦开发速度更快、精度更高的在线监测技术和智能化程度更高的溯源算法模型。

参考文献

- [1] 忻运,王杰,魏佳鸣.洁净室污染控制方法的研究[J].中国医药工业杂志, 2024, 55(5):731-735.
- [2] 卓泽铭,杨贤飞,谷荀,等.微生物洁净空气量试验方法探索研究[J].日用电器, 2024(5):85-90.
- [3] 易欣,张少航,葛龙,等.好氧微生物抑制煤自燃机理研究现状及展望[J].洁净煤技术, 2023, 29(2):198-205.
- [4] 李颖,路凯旋,赖根生,等.基于磁珠和超滤的污水中新冠病毒的富集方法研究[J].环境与健康杂志, 2024, 41(5):440-444.
- [5] 贾睿琦,姚晨,赵庆林,等.医药工业洁净室(区)环境监测问题及改进方法[J].中文科技期刊数据库(引文版)医药卫生, 2023(5):4.