

中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

医院消毒卫生标准

Hygienic standard for disinfection in hospitals

GB 15982—2012代替GB 15982-1995

2012-6-29发布

2012-11-1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.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 医院消毒卫生标准.....	3
5 医院消毒管理要求.....	4
附录 A（规范性附录） 采样及检查方法.....	7
附录 B（规范性附录） 试剂和培养基.....	12

前 言

本标准的全部技术内容为强制性。

本标准代替 GB 15982-1995《医院消毒卫生标准》。本标准与GB 15982-1995 比较，主要变化如下：

- 修改了标准的适用范围（见第1章，1995 年版的第1章）；
- 修改了规范性引用文件（见第2章，1995 年版的第2章）；
- 修改了术语，增加了消毒产品，医疗器材和高度、中度、低度危险性器材，灭菌和高水平、中水平、低水平消毒，多重耐药菌的定义（见第3章，1995 年版的第3章）；
- 修改了各类环境空气、物体表面、医护人员手卫生标准（见4.1 和4.2，1995 年版的4.1）；
- 修改了医疗用品卫生标准（见4.3，1995 年版的4.2）；
- 修改了使用中消毒液卫生标准（见4.6，1995 年版的4.3）；
- 删除了无菌器械保存液卫生标准（见1995 年版的4.3.2）；
- 增加了治疗用水、防护用品、消毒剂和消毒器械、疫点（区）消毒的卫生要求（见4.4、4.5、4.6、4.7 和4.9）；
- 修改了污物处理卫生标准和污水排放标准（见4.8，1995 年版的4.4 和4.5）；
- 增加了医院消毒管理要求（见5）；
- 修改了原附录A“采样及检查方法”（见附录A，1995 年版的附录A）；
- 修改了空气采样及检查方法（见A2，1995 年版的A1）；
- 修改了医疗用品采样及检查方法（见A5，1995 年版的A5）；
- 增加了治疗用水、紫外线灯、消毒器械、医院污水检查方法，疫点（区）消毒效果检测方法和大肠菌群检查方法（见A7、A8、A9、A10、A11、A12）；
- 删除了原附录B“本标准用词说明”（见1995 年版的附录B）；
- 增加了新附录B“试剂和培养基”（见附录B）。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中华人民共和国卫生部负责解释。

本标准起草单位：浙江省疾病预防控制中心、北京市疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心、北京大学第一医院、北京长江脉医药科技有限公司、杭州朗索医用消毒剂有限公司、上海利康消毒高科技有限公司、强生（上海）医疗器材有限公司、上海九誉生物科技有限公司、北京创新世纪生化科技发展有限公司、卫生部卫生监督中心、上海市疾病预防控制中心、江苏省疾病预防控制中心、武汉市疾病预防控制中心、福建省疾病预防控制中心、浙江兴昌风机有限公司。

本标准主要起草人：胡国庆、邓小虹、张流波、李六亿、乔宏、戴彦臻、孙建生、卞雪莲、谷京宇、沈伟、徐燕、梁建生、林立旺、陈楚晖、任银萍、王志、王一鸣。

本标准所替代标准的历次版本发布情况为：—— GB15982-199

医院消毒卫生标准

1 范围

本文件规定了医院消毒卫生标准、医院消毒管理要求以及检查方法。

本文件适用于各级各类医疗机构。各级疾病预防控制机构和采供血机构参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所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。

GB 4789.3 食品卫生微生物学检验 大肠菌群计数

GB 4789.4 食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验

GB/T 4789.11 食品卫生微生物学检验 溶血性链球菌检验

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB 7918.4 化妆品微生物标准检验方法 绿脓杆菌

GB 7918.5 化妆品微生物标准检验方法 金黄色葡萄球菌

GB 18466 医疗机构水污染物排放标准

GB 19082 医用一次性防护服技术要求

GB 19083 医用防护口罩技术要求

GB 19193 疫源地消毒总则

GB 19258 紫外线杀菌灯

GB 50333 医院洁净手术部建筑技术规范

WS 310.1 医院消毒供应中心 第1部分：管理规范

WS 310.2 医院消毒供应中心 第2部分：清洗消毒及灭菌技术操作规范

WS 310.3 医院消毒供应中心 第3部分：清洗消毒及灭菌效果监测标准

WS/T 311 医院隔离技术规范

WS/T 313 医务人员手卫生规范

YY 0469 医用外科口罩技术要求

YY 0572 血液透析和相关治疗用水

消毒技术规范 中华人民共和国卫生部

医院污水处理技术指南 国家环境保护总局

中华人民共和国药典 中华人民共和国卫生部

医疗卫生机构医疗废物管理办法 中华人民共和国卫生部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 消毒产品 disinfection product

纳入卫生部《消毒产品分类目录》，用于医院消毒的消毒剂、消毒器械和卫生用品。

3.2 医疗器材 medical device/health care product

用于诊断、治疗、护理、支持、替代的器械、器具和物品的总称。根据使用中造成感染的危险程度，分高度危险性医疗器材、中度危险性医疗器材和低度危险性医疗器材。

3.2.1 高度危险性医疗器材 critical device/ items

进入正常无菌组织、脉管系统或有无菌体液（如血液）流过，一旦被微生物污染将导致极高感染危险的器材。

3.2.2 中度危险性医疗器材 semi-critical device/ items

直接或间接接触黏膜的器材。

3.2.3 低度危险性医疗器材 no-critical device/ items

仅与完整皮肤接触而不与黏膜接触的器材。

3.3 灭菌 sterilization

杀灭或清除医疗器材上一切微生物的处理。灭菌的无菌保证水平应达到 10^{-6} 。

3.4 高水平消毒 high-level disinfection

杀灭各种细菌繁殖体、病毒、真菌及其孢子和绝大多数细菌芽孢的消毒处理。

3.5 中水平消毒 intermediate-level disinfection

杀灭除细菌芽孢以外的各种病原微生物的消毒处理。

3.6 低水平消毒 low-level disinfection

仅能杀灭细菌繁殖体（分枝杆菌除外）和亲脂性病毒的消毒处理。

3.7 多重耐药菌 Multidrug-Resistant Organism/MDRO

对临床使用的三类或三类以上抗菌药物同时呈现耐药的细菌。常见多重耐药菌包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）、耐万古霉素肠球菌（VRE）、产超广谱 β -内酰胺酶（ESBLs）细菌、耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌科细菌（CRE）（如产I型新德里金属 β -内酰胺酶[NDM-1]或产碳青霉烯酶[KPC]的肠杆菌科细菌）、耐碳青霉烯类抗菌药物鲍曼不动杆菌（CR-AB）、多重耐药/泛耐药铜绿假单胞菌（MDR/PDR-PA）和多重耐药结核分枝杆菌等。

4 医院消毒卫生标准

4.1 各类环境空气、物体表面

4.1.1 菌落总数应符合表1 要求。

I 类环境为采用空气洁净技术的诊疗场所，分洁净手术部和其他洁净场所。

II 类环境为非洁净手术部（室）；产房；导管室；血液病病区、烧伤病区等保护性隔离病区；重症监护病区；新生儿室等。

III 类环境为母婴同室；消毒供应中心的检查包装灭菌区和无菌物品存放区；血液透析中心（室）；其他普通住院病区等。

IV 类环境为普通门（急）诊及其检查、治疗（注射、换药等）室；感染性疾病科门诊和病区。

表 1 各类环境空气、物体表面菌落总数卫生标准

环境类别	空气	物体表面	
	cfu/皿	cfu/m ³	cfu/cm ²
I 类洁净手术部环境其他洁净场所符合 GB 50333 要求	≤4.0 （30 min）	≤150	≤ 5.0
II 类环境	≤4.0 （15 min）	—	≤ 5.0
III 类环境	≤4.0 （ 5 min）	—	≤ 10.0
IV 类环境	≤4.0 （ 5 min）	—	≤ 10.0

注1：cfu/皿为平板暴露法，cfu/m³ 为空气采样器法。

注2：平板暴露法检测时的平板暴露时间。

4.1.2怀疑医院感染暴发或疑似暴发与医院环境有关,应进行目标微生物检测。

4.2 医务人员手

4.2.1 卫生手消毒后医务人员手表面的菌落总数应≤10cfu/cm²。

4.2.2 外科手消毒后医务人员手表面的菌落总数应≤ 5cfu/cm²。

4.3 医疗器材

4.3.1 高度危险性医疗器材应无菌。

4.3.2 中度危险性医疗器材的菌落总数应≤20cfu/件（cfu/g 或cfu/100cm²），不得检出致病性微生物。

4.3.3 低度危险性医疗器材的菌落总数应≤200cfu/件（cfu/g或cfu/100cm²），不得检出致病性微生物。

4.4 治疗用水

血液透析相关治疗用水应符合YY 0572 要求；其他治疗用水应符合相应卫生标准。

4.5 防护用品

医用防护口罩、外科口罩和一次性防护服等防护用品应符合GB 19083、YY 0469和GB 19082要求。

4.6 消毒剂

4.6.1 灭菌剂、皮肤黏膜消毒剂应使用符合《中华人民共和国药典》的纯化水或无菌水配制，其他消毒剂的配制用水应符合GB 5749 要求。

4.6.2 使用中消毒液的有效浓度应符合使用要求；连续使用的消毒液每天使用前应进行有效浓度的监测。

4.6.3 灭菌用消毒液的菌落总数应为0cfu/mL；皮肤黏膜消毒液的菌落总数应符合相应标准要求；其他使用中消毒液的菌落总数应 ≤ 100 cfu/mL，不得检出致病性微生物。

4.7 消毒器械

4.7.1 使用中消毒器械的杀菌因子强度应符合使用要求。紫外线灯应符合GB 19258 要求，使用中紫外线灯（30W）的辐射照度值应 $\geq 70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。

4.7.2 工作环境中消毒器械产生的有害物浓度（强度）应符合相关规定。产生臭氧的消毒器械的工作环境的臭氧浓度应 $< 0.16\text{mg}/\text{m}^3$ 。环氧乙烷灭菌器工作环境的环氧乙烷浓度应 $< 2\text{mg}/\text{m}^3$ 。

4.8 污水处理

污水排放应符合GB 18466 要求。

4.9 疫点（区）消毒

消毒效果应符合GB 19193 要求。

5 医院消毒管理要求

5.1 建筑设计和工作流程应符合传染病防控和医院感染控制需要，消毒隔离设施配置应符合WS/T 311和《消毒技术规范》有关规定。

5.1.1 感染性疾病科、消毒供应中心（室）、手术部（室）、重症监护病区、血液透析中心（室）、新生儿室、内镜中心（室）和口腔科等重点部门的建筑布局和消毒隔离应符合相关规定。

5.1.2 洁净场所的设计、验收参照GB 50333 要求，竣工全性能监测应由有资质的第三方单位完成。

5.1.3 II类环境和门（急）诊、病区等诊疗场所应按WS/T 313 要求，配置合适的手卫生设施，提供满足需要的洗手清洁剂、手消毒剂以及干手设施等。

5.2 使用的消毒产品应符合国家有关法规、标准和规范等管理规定，并按照批准或规定的范围和方法使用。

5.2.1 含氯消毒液、过氧化氢消毒液等易挥发的消毒剂应现配现用；过氧乙酸、二氧化氯等二元、多元包装的消毒液活化后应立即使用。采用化学消毒、灭菌的医疗器材，使用前应用无菌水（高水平消毒的内镜可使用经过滤的生活饮用水）充分冲洗以去除残留。不应使用过期、失效的消毒剂。不应采用甲醛自然熏蒸方法消毒医疗器材。不应采用戊二醛熏蒸方法消毒、灭菌管腔类医疗器材。

5.2.2 灭菌器如需进行灭菌效果验证，应由省级以上卫生行政部门认定的消毒鉴定实验室进行检测。灭菌物品的无菌检查应（在100级洁净实验室）按《中华人民共和国药典》无菌检查法要求进行。使用消毒器械灭菌的消毒员应经培训合格后方可上岗。

5.3 重复使用医疗器材的清洗

清洗程序应按WS 310.2 执行。有特殊要求的传染病病原体污染的医疗器材应先消毒再清洗。

5.4 消毒灭菌方法的选择原则

5.4.1 高度危险性医疗器材使用前应灭菌。中度危险性医疗器材使用前应选择高水平消毒或中水平消毒。低度危险性器材使用前可选择中、低水平消毒或保持清洁。

5.4.2 耐湿、耐热的医疗器材应首选压力蒸汽灭菌；带管腔和/或带阀门的器材应采用经灭菌过程验证装置（PCD）确认的灭菌程序或外来器械供应商提供的灭菌方法。

5.4.3 玻璃器材、油剂和干粉类物品等应首选干热灭菌；其他方法应符合《消毒技术规范》规定。

5.4.4 不耐热、不耐湿的医疗器材应选择经国家卫生行政部门批准的低温灭菌方法。

5.4.5 重复使用的氧气湿化瓶、吸引瓶、婴儿暖箱水瓶、加温加湿罐等宜采用高水平消毒。

5.5 环境、物体表面消毒

5.5.1 环境、物体表面应保持清洁；当受到肉眼可见污染时应及时清洁、消毒。

5.5.2 对治疗车、床栏、床头柜、门把手、灯开关、水龙头等频繁接触的物体表面应每天清洁、消毒。

5.5.3 被病人血液、呕吐物、排泄物或病原微生物污染时，应根据具体情况，选择中水平以上消毒方法。对于少量（<10mL）的溅污，可先清洁再消毒；对于大量（>10mL）血液或体液的溅污，应先用吸湿材料去除可见的污染，然后

再清洁和消毒。

5.5.4 人员流动频繁、拥挤的诊疗场所应每天在工作结束后进行清洁、消毒。感染性疾病科、重症监护病区、保护性隔离病区（如血液病病区、烧伤病区）、耐药菌及多重耐药菌污染的诊疗场所应做好随时消毒和终末消毒。

5.5.5 拖布（头）和抹布宜清洗、消毒，干燥后备用。推荐使用脱卸式拖头。

5.6 通风换气和空气消毒

5.6.1 应采用自然通风和/或机械通风保证诊疗场所的空气流通和换气次数；采用机械通风时，重症监护病房等重点部门宜采用“顶送风、下侧回风”，建立合理的气流组织。

5.6.2 呼吸道发热门诊及其隔离留观病室（区）、呼吸道传染病收治病区如采用集中空调通风系统的，应在通风系统安装空气消毒装置。未采用空气洁净技术的手术室、重症监护病区、保护性隔离病区（如血液病病区、烧伤病区）等场所宜在通风系统安装空气消毒装置。

5.6.3 空气消毒方法应遵循《消毒技术规范》规定。不宜常规采用化学喷雾进行空气消毒。

5.7 消毒供应中心（室）的建筑布局以及清洗、消毒灭菌和效果监测应执行WS 310 要求。

5.8 污水污物处理

5.8.1 医院污水处理设施的设计、建设和管理应符合GB 18466 和《医院污水处理技术指南》要求。

5.8.2 医疗废物的管理应符合《医疗废物管理条例》、《医疗卫生机构医疗废物管理办法》的要求。

5.9 疫点（区）消毒

应符合GB19193 要求。

附录 A (规范性附录)

采样及检查方法

A.1 采样和检查原则

A.1.1 采样后应尽快对样品进行相应指标的检测，送检时间不得超过4h；若样品保存于0℃~4℃时，送检时间不得超过24h。

A.1.2 不推荐医院常规开展灭菌物品的无菌检查，当流行病学调查怀疑医院感染事件与灭菌物品有关时，进行相应物品的无菌检查。常规监督检查可不进行致病性微生物检测，涉及疑似医院感染暴发、医院感染暴发调查或工作中怀疑微生物污染时，应进行目标微生物的检测。

A.1.3 可使用经验证的现场快速检测仪器进行环境、物体表面等微生物污染情况和医疗器材清洁度的监督筛查；也可用于医院清洗效果检查和清洗程序的评价和验证。

A.2 空气微生物污染检查方法

A.2.1 采样时间

I类环境在洁净系统自净后与从事医疗活动前采样；II、III、IV类环境在消毒或规定的通风换气后与从事医疗活动前采样。

A.2.2 检测方法

A.2.2.1 I类环境可选择平板暴露法和空气采样器法，参照GB50333《医院洁净手术部建筑技术规范》要求进行检测。空气采样器法可选择六级撞击式空气采样器或其他经验证的空气采样器。检测时将采样器置于室内中央0.8m~1.5m高度，按采样器使用说明书操作，每次采样时间不应超过30min。房间大于10m²者，每增加10m²增设一个采样点。

A.2.2.2 II、III、IV类环境采用平板暴露法：室内面积≤30m²，设内、中、外对角线3点，内、外点应距墙壁1m处；室内面积>30m²，设4角及中央5点，4角的布点部位应距墙壁1m处。将普通营养琼脂平皿(Φ90mm)放置各采样点，采样高度为距地面0.8m~1.5m；采样时将平皿盖打开，扣放于平皿旁，暴露规定时间（II类环境暴露15min，III、IV类环境暴露5min）后盖上平皿盖及时送检。

A.2.2.3 将送检平皿置36℃±1℃恒温箱培养48h，计数菌落数，必要时分离致病性微生物。

A.2.3 结果计算

A. 2. 3. 1 平板暴露法按平均每皿的菌落数报告： $\text{cfu}/(\text{皿} \cdot \text{暴露时间})$ 。

A. 2. 3. 2 空气采样器法计算公式：

$$\text{空气中菌落总数}(\text{cfu}/\text{m}^3) = \frac{\text{采样器各平皿菌落数之和}(\text{cfu}) * 1000 \dots (\text{A. 1})}{\text{采样速率}(\text{L}/\text{min}) * \text{采样时间}(\text{min})}$$

A. 3 物体表面微生物污染检查方法

A. 3. 1 采样时间

潜在污染区、污染区消毒后采样。清洁区根据现场情况确定。

A. 3. 2 采样面积

被采表面 $<100\text{cm}^2$ ，取全部表面；被采表面 $\geq 100\text{cm}^2$ ，取 100cm^2 。

A. 3. 3 采样方法

用 $5\text{cm} \times 5\text{cm}$ 灭菌规格板放在被检物体表面，用浸有无菌 0.03mol/L 磷酸盐缓冲液或生理盐水采样液的棉拭子1支，在规格板内横竖往返各涂抹5次，并随之转动棉拭子，连续采样1~4个规格板面积，剪去手接触部分，将棉拭子放入装有 10mL 采样液的试管中送检。门把手等小型物体则采用棉拭子直接涂抹物体采样。若采样物体表面有消毒剂残留时，采样液应含相应中和剂。

A. 3. 4 检测方法

把采样管充分振荡后，取不同稀释倍数的洗脱液 1.0mL 接种平皿，将冷至 $40^\circ\text{C} \sim 45^\circ\text{C}$ 的融化营养琼脂培养基每皿倾注 $15\text{mL} \sim 20\text{mL}$ ， $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温箱培养 48h ，计数菌落数，必要时分离致病性微生物。

A. 3. 5 结果计算

$$\text{物体表面菌落总数}(\text{cfu}/\text{cm}^2) = \frac{\text{平均每皿菌落数} * \text{采样液稀释倍数} \dots (\text{A. 2})}{\text{采样面积}(\text{cm}^2)}$$

A. 4 医务人员手卫生检查方法

A. 4. 1 采样时间

采取手卫生后，在接触病人或从事医疗活动前采样。

A. 4. 2 采样方法

将浸有无菌 0.03mol/L 磷酸盐缓冲液或生理盐水采样液的棉拭子一支在双手指曲面从指跟到指端来回涂擦各两次（一只手涂擦面积约 30cm^2 ），并随之转动采样棉拭子，剪去手接触部位，将棉拭子放入装有 10mL 采样液的试管内送检。采样面积按平方厘米（ cm^2 ）计算。若采样时手上有消毒剂残留，采样液应含相应中和剂。

A. 4. 3 检测方法

把采样管充分振荡后，取不同稀释倍数的洗脱液 1.0mL 接种平皿，将冷至 $40^\circ\text{C} \sim 45^\circ\text{C}$ 的融化营养琼脂培养基每皿倾注 $15\text{mL} \sim 20\text{mL}$ ， $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温箱培养

48h，计数菌落数，必要时分离致病性微生物。

A. 4. 4 结果计算

医务人员手菌落总数 (cfu/cm²) = $\frac{\text{平均每皿菌落数} \times \text{采样液稀释倍数}}{30 \times 2}$... (A. 3)

A. 5 医疗器材检查方法

A. 5. 1 采样时间

在消毒或灭菌处理后，存放有效期内采样。

A. 5. 2 灭菌医疗器材的检查方法

A. 5. 2. 1 可用破坏性方法取样的，如一次性输液（血）器、注射器和注射针等参照《中华人民共和国药典》《无菌检查法》进行。对不能用破坏性方法取样的医疗器材，应在100级洁净实验室，用浸有无菌生理盐水采样液的棉拭子在被检物体表面涂抹，采样取全部表面或不少于100cm²；然后将除去手接触部分的棉拭子进行无菌检查。

A. 5. 2. 2 牙科手机：在100级洁净实验室，将每支手机分别置于含20mL~25mL采样液的无菌大试管（内径25mm）中，液面高度应大于4.0cm，于旋涡混合器上洗涤震荡30s以上，取洗脱液进行无菌检查。

A. 5. 3 消毒医疗器材的检查方法

A. 5. 3. 1 可整件放入无菌试管的，用洗脱液浸没后震荡30s以上，取洗脱液1.0mL接种平皿，将冷至40℃~45℃的融化营养琼脂培养基每皿倾注15mL~20mL，36℃±1℃恒温箱培养48h，计数菌落数（cfu/件），必要时分离致病性微生物。

A. 5. 3. 2 可用破坏性方法取样的，在100级超净工作台称取1g~10g样品，放入装有10mL采样液的试管内进行洗脱，取洗脱液1.0mL接种平皿，计数菌落数（cfu/g），必要时分离致病性微生物。对不能用破坏性方法取样的医疗器材，在100级超净工作台，用浸有无菌生理盐水采样液的棉拭子在被检物体表面涂抹采样，被采表面<100cm²，取全部表面，被采表面≥100cm²，取100cm²，然后将除去手接触部分的棉拭子进行洗脱，取洗脱液1.0mL接种平皿，将冷至40℃~45℃的融化营养琼脂培养基每皿倾注15mL~20mL，36℃±1℃恒温箱培养48h，计数菌落数（cfu/cm²），必要时分离致病性微生物。

A. 5. 3. 3 消毒后内镜：取清洗消毒后内镜，采用无菌注射器抽取50mL含相应中和剂的洗脱液，从活检口注入冲洗内镜管路，并全量收集（可使用蠕动泵）送检。将洗脱液充分混匀，取洗脱液1.0mL接种平皿，将冷至40℃~45℃的融化营养琼脂培养基每皿倾注15mL~20mL，36℃±1℃恒温箱培养48h，计数菌落数（cfu/件）。将剩余洗脱液在无菌条件下采用滤膜（0.45 μm）过滤浓缩，将滤膜接种于凝固的营养琼脂平板上（注意不要产生气泡），置 36℃±1℃温箱培

养 48h, 计数菌落数。

当滤膜法不可计数时: 菌落总数 (cfu/件) = m (cfu/平板) $\times 50 \cdots \cdots$ (A. 4)

式中: m 为两平行平板的平均菌落数。

当滤膜法可计数时: 菌落总数 (cfu/件) = m (cfu/平板) + mf (cfu/滤膜)。 (A. 5)

式中: m 为两平行平板的平均菌落数; mf 为滤膜上菌落数。

A. 6 消毒剂检查方法

A. 6. 1 消毒剂采样分库存消毒剂和使用中消毒液。

A. 6. 2 消毒剂有效成分含量检查方法

库存消毒剂的有效成分含量应依照《消毒技术规范》或产品企业标准进行检测; 使用中消毒液的有效浓度测定可用前述方法, 也可使用经国家卫生行政部门批准的消毒剂浓度试纸 (卡) 进行监测。

A. 6. 3 使用中消毒液染菌量检查方法

A. 6. 3. 1 用无菌吸管按无菌操作方法吸取 1. 0mL 被检消毒液, 加入 9mL 中和剂中混匀。醇类与酚类消毒剂用普通营养肉汤中和, 含氯消毒剂、含碘消毒剂和过氧化物消毒剂用含 0. 1% 硫代硫酸钠中和剂, 洗必泰、季铵盐类消毒剂用含 0. 3% 吐温 80 和 0. 3% 卵磷脂中和剂, 醛类消毒剂用含 0. 3% 甘氨酸中和剂, 含有表面活性剂的各种复方消毒剂可在中和剂中加入吐温 80 至 3%; 也可使用该消毒剂消毒效果检测的中和剂鉴定试验确定的中和剂。

A. 6. 3. 2 用无菌吸管吸取一定稀释比例的中和后混合液 1. 0mL 接种平皿, 将冷至 40℃~45℃ 的融化营养琼脂培养基每皿倾注 15mL~20mL, 36℃ $\pm$ 1℃ 恒温箱培养 72h, 计数菌落数; 必要时分离致病性微生物。

消毒液染菌量 (CFU/mL) = 平均每皿菌落数 $\times 10 \times$ 稀释倍数..... (A. 6)

A. 7 治疗用水检查方法

血液透析相关治疗用水按 YY0572 行检测。其他治疗用水参照相关标准执行。

A. 8 紫外线灯检查方法

A. 8. 1 紫外线灯采样 分库存紫外灯和使用中紫外线灯。

A. 8. 2 库存 (新启用) 紫外线灯辐射照度值检查 依照 GB 19258 进行。

A. 8. 3 使用中紫外线灯辐射照度值检查方法

A. 8. 3. 1 仪器法: 开启紫外线灯 5min 后, 将测定波长为 253. 7nm 的紫外线辐照计探头置于被检紫外线灯下垂直距离 1m 的中央处, 待仪表稳定后, 所示数据即为该紫外线灯的辐射照度值。

A. 8. 3. 2 指示卡法: 开启紫外线灯 5min 后, 将指示卡置紫外灯下垂直距离 1m 处, 有图案一面朝上, 照射 1min, 观察指示卡色块颜色, 将其与标准色块比较。

A. 8. 4 注意事项: 紫外线辐照计必须在计量部门检定的有效期内使用; 紫外线监

测指示卡应经国家卫生行政部门批准，并在有效期内使用。

A.9 消毒器械检查方法

A.9.1 杀菌因子强度测定：按《消毒技术规范》或企业标准规定方法进行检测。

A.9.2 工作环境有害物浓度（强度）测定：按《消毒技术规范》或相关标准规定的方法进行检测。

A.10 医院污水检查方法 按GB 18466 规定进行检测。

A.11 疫点（区）消毒效果检测方法 按GB 19193 规定进行检测。

A.12 大肠菌群检查方法 参照GB 4789.3 进行检测。

A.13 沙门菌检查方法 参照GB 4789.4 进行检测。

A.14 乙型溶血性链球菌检查方法 参照GB/T 4789.11 进行检测。

A.15 铜绿假单胞菌检查方法 参照GB 7918.4 进行检测。

A.16 金黄色葡萄球菌检查方法 参照GB 7918.5 进行检测。

A.17 其他目标微生物检查方法 参照相关检测方法进行。

附录 B（规范性附录）

试剂和培养基

B.1 0.03mol/L磷酸盐缓冲液(0.03mol/L PBS)

称取磷酸氢二钠2.84g，磷酸二氢钾1.36g，加入到1000mL蒸馏水中，待完全溶解后，调pH至7.2~7.4，于121℃压力蒸汽灭菌20min。

B.2 洗脱液

称取蛋白胨10.00g，氯化钠8.50g，吐温-80 1.0mL，加入到1000mL 0.03mol/L磷酸盐缓冲液液中，加热溶解后调pH至7.2~7.4，于121℃压力蒸汽灭菌20min。

B.3 生理盐水

称取氯化钠8.50g，溶解于1000mL蒸馏水中，于121℃压力蒸汽灭菌20min。

B.4 革兰染色液及染色方法

B.4.1 结晶紫染色液：

称取结晶紫1.00g，溶解于20mL 95%酒精中，然后与80mL 1%草酸铵水溶液混合。

B.4.2 革兰碘液：

称取碘1.00g，碘化钾2.00g，混合后加入蒸馏水少许，充分振摇，待完全溶解后，再加蒸馏水至300mL，混匀。

B.4.3 沙黄复染液：

称取沙黄0.25g，溶解于10mL 95%酒精溶液中，然后加入90mL蒸馏水，混匀。

B.4.4 染色法：

a) 将涂片在火焰上固定。

b) 滴加结晶紫染色液，作用1min，水洗。

c) 滴加革兰碘液，作用1min，水洗。

d) 酒精脱色30秒钟；或将酒精滴满整个涂片，立即倾去，再用酒精滴满整个涂片，脱色10秒钟。

e) 水洗，滴沙黄复染液，作用1min，水洗。

f) 待干镜检。

B.5 人(兔)血浆

取灭菌3.8%柠檬酸钠1份，加人(兔)全血4份，混匀静置，3000r/min 离心5min，取上清，弃血球。

B.6 普通营养琼脂培养基

B.6.1 成分: 蛋白胨 10g、牛肉膏 5g、氯化钠 5g、琼脂 15g、蒸馏水 1000mL。
B.6.2 制作方法: 除琼脂外其他成分溶解于蒸馏水中, 调pH至7.2~7.4, 加入琼脂, 加热溶解, 分装于 121℃压力蒸汽灭菌20min。

B.7 血琼脂培养基

B.7.1 成分: 营养琼脂 100 mL、脱纤维羊血(或兔血) 10 mL。

B.7.2 制作方法: 将营养琼脂加热融化待冷至50℃左右, 以无菌操作将10mL脱纤维血加入后摇匀, 倾注平皿, 置冰箱备用。

B.8 需-厌氧菌培养基

B.8.1 成分: 酪胨(胰酶水解) 15g、牛肉膏 3g、葡萄糖 5g、氯化钠 2.5g、L-胱氨酸 0.5g、硫乙醇酸钠 0.5g、酵母浸出粉 5g、新鲜配制的0.1%刃天青溶液 1.0mL或新配制的0.2%亚甲蓝溶液0.5mL、琼脂0.5g -0.7g、蒸馏水 1000mL。

B.8.2 制作方法: 除葡萄糖和刃天青溶液外, 取上述成分加入蒸馏水中, 微温溶解后, 调pH至弱碱性, 煮沸、滤清, 加入葡萄糖和刃天青溶液, 摇匀, 调pH至6.9~7.3, 分装后115℃压力蒸汽灭菌30min。

B.9 SCDLP液体培养基

B.9.1 成分: 酪蛋白胨 17g、大豆蛋白胨 3g、葡萄糖 2.5g、氯化钠 5g、磷酸氢二钾 2.5g、卵磷脂1g、吐温80 7g、蒸馏水 1000mL。

B.9.2 制作方法: 将各种成分混合(如无酪蛋白胨和大豆蛋白胨可用日本多肽代替), 加热溶解后, 调pH至7.2~7.3, 分装于121℃压力蒸汽灭菌20min, 摇匀, 冷至25℃使用。

B.10 伊红美蓝培养基

B.10.1 成分: 蛋白胨 10g、乳糖 10g、磷酸二氢钾 2g、2%伊红溶液 2mL、0.65%美蓝溶液 1mL、琼脂 17g、蒸馏水 1000mL。

B.10.2 制作方法: 将蛋白胨、磷酸盐和琼脂溶解于蒸馏水中, 调pH至7.1, 分装后121℃压力蒸汽灭菌20min。临用时, 以无菌操作加入乳糖并加热溶化琼脂, 冷至50℃时, 加入伊红和美蓝溶液摇匀, 倾注平皿, 置 4℃冰箱备用。

B.11 0.5% 葡萄糖肉汤培养基

B.11.1 成分: 胨 10g、氯化钠 5g、葡萄糖 5g、肉浸液 1000mL。

B.11.2 制作方法: 取胨与氯化钠加入肉浸液内, 微温溶解后, 调pH至弱碱性, 煮沸, 加入葡萄糖溶解后, 摇匀, 滤清, 调pH至7.0~7.4, 分装, 于115℃压力蒸汽灭菌30min。

B.12 甘露醇培养基

B.12.1 成分: 蛋白胨 10g、牛肉膏 5g、氯化钠 5g、甘露醇 10g、0.2%溴麝香草酚蓝溶液 12mL、蒸馏水 1000mL。

B.12.2 将蛋白胨、氯化钠、牛肉膏加入蒸馏水中, 加热溶解, 调pH至7.4, 加入甘露醇和溴麝香草酚蓝混匀后, 分装, 于115℃压力蒸汽灭菌20min。

B.13 乳糖胆盐发酵管

B.13.1 成分: 蛋白胨 20g、猪胆盐(或牛、羊胆盐) 5g、乳糖 10g、0.04%溴甲酚紫水溶液 25mL、蒸馏水 1000mL。

B.13.2 制作方法: 将蛋白胨、胆盐及乳糖溶解于蒸馏水中, 调pH至7.4, 加入0.04%溴甲酚紫水溶液, 分装(每管10mL), 并放入一个发酵管, 于115℃压力蒸汽灭菌15min。

B.14 乳糖发酵管

B.14.1 成分: 蛋白胨20g、乳糖10g、0.04%溴甲酚紫水溶液25mL、蒸馏水 1000mL。

B.14.2 制作方法: 将蛋白胨及乳糖溶解于蒸馏水中, 调pH至7.4, 加入0.04%溴甲酚紫水溶液, 分装(每管10mL), 并放入一个发酵管, 于115℃压力蒸汽灭菌15min。

B.15 溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨水培养基

B.15.1 成分: 蛋白胨10g、葡萄糖5g、2%溴甲酚紫酒精溶液0.6mL、蒸馏水 1000mL。

B.15.2 制作方法: 将蛋白胨、葡萄糖溶解于蒸馏水中, 调pH至7.0~7.2, 加

入2%溴甲酚紫酒精溶液,摇匀后,分装(每管 5mL),并放入一个发酵管,于115℃压力蒸汽灭菌30min。置4℃冰箱备用。

B.16 绿脓菌素测定用培养基

B.16.1 胨 20g、氯化镁(无水) 1.4g、硫酸钾 10g、甘油 10mL、琼脂 18g~20g、蒸馏水 1000mL。

B.16.2 制作方法:取胨、氯化镁、硫酸钾加入水中,微温使溶解,调节pH值使灭菌后为7.2~7.4,分装于小试管,灭菌。

B.17 明胶培养基

B.17.1 胨 5g、明胶 120g、牛肉浸出粉 3g、蒸馏水 1000mL。

B.17.2 取上述各成分加入水中,浸泡约20min,随时搅拌,加热使溶解,调节pH值使灭菌后为7.2~7.4,分装于小试管,灭菌。

B.18 注意事项

B.18.1 双料乳糖胆盐发酵管除蒸馏水外,其它成分为乳糖胆盐发酵管的2倍;3倍浓缩乳糖胆盐发酵管除蒸馏水外,其它成分为乳糖胆盐发酵管的3倍。

B.18.2 培养基用的试管口和三角烧瓶口应用棉塞或硅胶制成的塞子,再用牛皮纸包好。

B.18.3 试剂与培养基配制好后应置清洁处保存,常温下不超过1个月。培养基推荐4℃冷藏保存。