

ICS 11.080

CCS C 59

DB 4201

武汉市地方标准

DB 4201/T 662—2022

托幼机构消毒卫生规范

Hygienic regulation for disinfection in nursery

2022 - 07 - 07 发布

2022 - 08 - 07 实施

武汉市市场监督管理局 发布

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 缩略语	2
5 卫生管理要求	3
6 消毒要求	5
7 卫生指标	5
8 检验方法	6
附录 A（资料性） 托幼机构常见传染病密切接触者医学观察要求	7
附录 B（资料性） 托幼机构常见污染对象的消毒方法	8
附录 C（资料性） 托幼机构消毒用品及个人防护用品储备清单	13
附录 D（规范性） 托幼机构消毒采样检测方法	14
参考文献	23

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由武汉市卫生健康委提出并归口。

本文件主要起草单位：武汉市疾病预防控制中心、武汉市教育科学研究院、武汉市直属机关育才幼儿园、武汉市妇幼保健院。

本文件主要起草人：许慧琼、刘尔男、汤佳、侯莉、张艳。

托幼机构消毒卫生规范

1 范围

本文件规定了托幼机构消毒卫生管理要求、消毒要求、卫生指标及检验方法。
本文件适用于各级各类托幼机构。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.5 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB 5750 生活饮用水标准检验方法
- GB 15979 一次性使用卫生用品卫生标准
- GB 19193 疫源地消毒总则
- GB 19258 紫外线杀菌灯
- GB 27948 空气消毒剂通用要求
- GB 27950 手消毒剂通用要求
- GB 27952 普通物体表面消毒剂通用要求
- GB 27953 疫源地消毒剂通用要求
- GB 28232 臭氧消毒器卫生要求
- GB 28235 紫外线消毒器卫生要求
- GB/T 30690 小型压力蒸汽灭菌器灭菌效果监测方法和评价要求
- 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 313-2019 医务人员手卫生规范
- WS 394 公共场所集中空调通风系统卫生规范
- WS/T 396 公共场所集中空调通风系统清洗消毒规范
- WS/T 466-2014 消毒专业名词术语
- WS/T 648 空气消毒机通用卫生要求
- WS/T 774 新冠肺炎疫情期间现场消毒评价标准
- WS/T 797 现场消毒评价标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

托幼机构 nursery

招收0-6岁儿童的各级各类托儿所、幼儿园。

3.2

预防性消毒 preventive disinfection

对托幼机构内可能受到病原微生物污染的场所和物品进行的消毒。

[来源：WS/T 466-2014, 4.49, 有修改]

3.3

疫源地消毒 disinfection for infectious focus

对托幼机构内存在或曾经存在传染源病原微生物污染的场所和物品进行的消毒。

[来源：WS/T 466-2014, 4.48, 有修改]

3.4

随时消毒 concurrent disinfection

托幼机构内有传染源存在时对病原微生物污染场所和物品进行及时的消毒。

[来源：WS/T 466-2014, 4.31, 有修改]

3.5

终末消毒 terminal disinfection

传染源离开托幼机构后，对托幼机构内传染源病原微生物污染的场所和物品进行的一次彻底消毒。

[来源：WS/T 466-2014, 4.55, 有修改]

3.6

物体表面 surface of object

学龄前儿童在托幼机构能够接触到的相关物体表面以及环境表面，日常监测以玩具、桌面、床栏、洗手水龙头等儿童高频接触物体表面/部位为重点。

3.7

速干手消毒剂 alcohol-based hand rub

含有醇类和护肤成分的手消毒剂。

[来源：WS/T 313-2019, 3.7.1]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

BGLB: 煌绿乳糖胆盐 (Brilliant Green Lactose Bile)

BS: 亚硫酸铋 (Bismuth Sulfite)

COVID-19: 新型冠状病毒肺炎 (Corona Virus Disease 2019)

HE: 琼脂 (Hektoen Enteric)

KCN: 氰化钾

LST: 月桂基硫酸盐胰蛋白胨 (Lauryl Sulfate Tryptose)

ONPG: 邻硝基酚 β -D半乳糖苷 (O-Nitrophenol β -D Galactoside)

SC: 亚硒酸盐胱氨酸 (Selenite Cystine)

TTB: 四硫磺酸钠煌绿 (Sodium Tetrathiosulfonate Brilliant Green)

TSI: 三糖铁 (Trisaccharide Iron)

XLD: 木糖赖氨酸脱氧胆盐 (Xylose Lysine Deoxycholate)

5 卫生管理要求

5.1 制度管理

托幼机构应参照《托儿所幼儿园卫生保健工作规范》相关要求，结合本机构实际情况建立各项规章制度，包括卫生室/保健室管理制度、传染病及突发公共卫生事件应急处置制度和预案、晨午检制度、因病缺课病因追查和登记制度、健康检查制度、预防性消毒和隔离制度等，严格按照制度要求开展托幼机构内清洁及消毒工作。

5.2 组织管理

5.2.1 托幼机构的法人代表或负责人是本机构卫生保健工作的第一责任人。各机构应确定一名园长(主任)分管卫生防病、消毒隔离工作。

5.2.2 托幼机构应独立设置卫生室或保健室，其中卫生室按规定应取得医疗机构相应资质。

5.2.3 卫生室或保健室应配备有专职或者兼职卫生保健人员，并按照每收托 150 名儿童至少设 1 名专职卫生保健人员的比例配备卫生保健人员，收托 150 名以下儿童的至少配备 1 名专(兼)职卫生保健人员。卫生保健人员主要包括医生、护士、保健员，其中医生、护士应按规定分别取得卫生行政部门颁发的相关资质。

5.3 人员职责

5.3.1 分管园长(主任)定期督促检查卫生防病、消毒隔离落实情况。卫生保健人员负责本机构卫生防病、消毒隔离工作，督促、指导及其卫生防病知识的宣传等工作，并定期向园长(主任)汇报。

5.3.2 分管园长(主任)应经过区级及以上卫生保健管理培训，卫生保健人员每两年至少参加一次市、区级及以上组织的有关传染病防控、消毒隔离知识培训班或学术讲座。卫生保健人员每月应对本机构内保育员、炊事员举办有关传染病防控、消毒隔离知识学习讲座。

5.4 布局及设施设备

5.4.1 新(改、扩)建托幼机构时，在建筑布局上应充分考虑活动室、教室和寝室等场所的空气流通，必要时配置机械通风或空气消毒设备。

5.4.2 每个班应独立设置卫生间，班级间不共用；每个班应配备流动水洗手设施，洗手水龙头数量应不少于 6 个；托幼机构儿童严格实行一人二巾(餐巾、擦手巾)，餐(饮)具不应共用，毛巾与墙壁、两巾之间及茶杯之间放置的最近距离应不低于 10 cm。

5.4.3 食堂应设置餐(饮)具集中清洗消毒间并配备消毒和保洁设施；生、熟食砧板、刀具分开。

5.4.4 卫生室或保健室应配备必要的消毒隔离物品，如儿童观察床、工作服、一次性使用医用外科口罩、消毒药品、紫外线灯或其它空气消毒装置，以及消毒压舌板或一次性使用医用棉签、体温监测设备、手电筒等晨午检用品；应配备流动水洗手设施；卫生室应配备压力蒸汽灭菌器。

5.4.5 当托幼机构发现疑似传染病病例时，应当及时设立临时隔离观察室。临时隔离观察室用品应专用并配备独立卫生间及以下物品：儿童观察床、一次性使用医用外科口罩、隔离服(两件)、体温监测设备、消毒压舌板或一次性使用医用棉签、面盆、毛巾、洗手液或肥皂、清洁用具、消毒药械等物品。

5.4.6 托幼机构提供的饮用水或饮水设施应符合国家相关文件要求。

5.4.7 托幼机构应按规定配备必要的有害生物防制设施。室外排水沟安装防蚊闸或其它防蚊设施；食堂、餐厅入口安装防蝇帘或风幕机，门(窗)缝隙小于 6 mm，用于通风的窗和通风口设置网眼小于 6 mm × 6 mm 的金属筛网，室内安装粘捕式灭蝇灯，排水沟对外的出口安装缝隙小于 10 mm 的篦子，食堂、

食品库房进出口设置防鼠挡板；活动室、教室、卧室等应安装有纱窗纱门；室外放置的陶罐和废弃轮胎应作打孔处理或用防雨布遮盖。

5.5 传染病管理卫生要求

5.5.1 当托幼机构内未发生传染病疫情时，托幼机构应适时开展预防性消毒工作；当托幼机构内发生传染病疫情时，应按照 GB 19193 进行随时消毒和终末消毒。在传染病流行季节，应增加消毒频次，加强物体表面及环境消毒，并使用手消毒剂加强人员手卫生；教室（活动室）、卧室及临时隔离观察室每天增加 1 次空气消毒，同时加强通风换气。

5.5.2 托幼机构发现传染病或疑似传染病病例时，做好发病登记，及时按规定向属地疾病预防控制机构和教育主管部门报告，并做好随时消毒和终末消毒处理及消毒隔离措施工作记录。发生传染病突发公共卫生事件时，应在属地疾病预防控制机构或社区卫生服务中心/乡镇卫生院的指导下及时开展消毒隔离工作。

5.5.3 发现传染病后，托幼机构对与患者接触过的儿童及工作人员应按不同病种进行医学观察，并做好相关场所和物品的随时消毒。传染病患儿在家休息时，班级老师应每天向家长了解患儿情况，并进行缺勤记录。在医学观察期内，托幼机构不接收新儿童，本机构内的儿童及保教人员不混班、不串班，日常生活用品应与其它班级分开消毒和存放，并做好保洁工作；医学观察期满后，未出现相关症状者方可解除隔离。常见传染病的医学观察可参照附录 A 执行。

5.5.4 患传染病的工作人员和儿童待隔离期满痊愈后，经医疗机构（有传染病相关科室）证明，在本机构卫生室或保健室办理相关返园手续，方可回园（所）或班。隔离期相关卫生要求按国家、省市卫生健康主管部门实时发布的有关文件执行。

5.5.5 儿童离园（所）一个月以上或外出（离本市）返回时，应询问家长有无传染病接触史。有传染病接触史的，在医学观察期满后，方可回园（所）。儿童离园（所）三个月以上，应重新按照入园（所）检查项目进行健康检查，合格者方可入园（所）。

5.5.6 工作人员及儿童家中发现传染患者时，应及时报告本机构卫生保健人员，以便采取相应的必要消毒隔离措施。

5.5.7 使用符合国家文件或规定的消毒器械和消毒剂，如紫外线消毒器、臭氧消毒器、空气消毒机应分别符合 GB 28235、GB 28232、WS/T 648 的要求，空气、手、普通物体表面消毒剂应分别符合 GB 27948、GB 27950、GB 27952 的要求。消毒剂、消毒器械的使用，应严格按照产品使用说明书规定的适用范围和使用方法，并在有效期内使用。预防性消毒可选用季铵盐类、双胍类、含氯消毒剂等；疫源地消毒使用的消毒剂应符合 GB 27953 要求。卫生保健人员根据本机构保育员工作情况定期对配制好的消毒液进行浓度监测。

5.5.8 托幼机构的在岗工作人员应每年进行一次健康检查，取得“托幼机构工作人员健康合格证”后方可上岗。患有流感、活动性肺结核、甲肝、戊肝、痢疾、伤寒、淋病、梅毒和滴虫性阴道炎等急慢性传染病（包括疑似患者、病原携带者）、化脓性或渗出性皮肤病，以及有发热、腹泻等症状的保教和炊事人员，应立即离岗，治愈后须持医疗机构出具的诊断证明，方可回园（所）工作。

5.5.9 使用后的一次性医疗用品应参照《医疗废物管理条例》要求处置，禁止作为教（玩）具使用。

5.5.10 托幼机构内的食堂应参照《食品安全法》等有关法律法规和规章的要求，取得相应资质。保持室内外环境整洁，定期开展灭鼠、灭蚊、灭蝇、灭蟑螂等除害工作，达到国家相关病媒生物密度控制水平。冷链食品应索取外包装等消毒相关证明，入库时做好外包装消毒。其他相关消毒工作按本文件和国家标准规定要求执行。

6 消毒要求

6.1 预防性消毒

托幼机构日常应做好室内空气、手、环境物体表面、餐（饮）具、饮水用具、织物、卫生洁具、污染物（呕吐物、排泄物等）、医疗器械、垃圾存放点、戏水池等的预防性消毒，消毒方法可参照附录B执行。

6.2 疫源地消毒

6.2.1 当托幼机构内发现有传染源存在时应遵循“三分开、六消毒”原则做好随时消毒；当传染源离开托幼机构后应对污染的场所和物品按照 GB 19193 要求开展终末消毒。

注：“三分开”包括患者居室、饮食、生活用具分开；“六消毒”包括患者的分泌物或排泄物、生活用具、双手、衣服和被单、患者居室环境以及生活污水污物。

6.2.2 根据传染病的流行病学特点，结合实际工作情况，确定疫源地消毒重点。经呼吸道途径传播的传染病疫源地消毒重点包括室内空气、环境物体表面、手等，并暂停使用集中空调通风系统；经消化道传播的传染病疫源地消毒重点包括环境物体表面、餐（饮）具、呕吐物、排泄物、手、饮用水等，并暂停使用戏水池；经接触传播的传染病疫源地消毒重点包括手、环境物体表面等，并暂停使用戏水池。

6.2.3 疫源地消毒剂的使用按照 GB 27953 执行，常用消毒剂使用方法可参照附录 B 执行。

6.3 个人防护

6.3.1 预防性消毒采取一级防护，可穿戴工作服、一次性工作帽、长袖橡胶手套、一次性医用外科口罩、工作鞋或胶靴，必要时加穿防水靴套、防水围裙或防水隔离衣。疫源地消毒采取二级防护，可穿戴工作服、一次性工作帽、一次性乳胶/丁腈手套和长袖橡胶手套、医用一次性防护服、颗粒物防护口罩（无呼气阀）或医用防护口罩、护目镜、工作鞋或胶靴，必要时加穿防水靴套、防水围裙或防水隔离衣。

6.3.2 个人防护用品及消毒用品储备可参照附录 C 执行。

7 卫生指标

7.1 日常监测卫生指标应符合表 1 规定。

表1 日常监测卫生指标卫生标准

对象	卫生指标	卫生标准	监测频次
室内空气	细菌菌落总数 (CFU/皿·5min)	≤4	1次/学期
手表面	细菌菌落总数 (CFU/cm ²)	≤10	1次/学期
	大肠菌群 (发酵法)	不得检出	
物体表面	细菌菌落总数 (CFU/cm ²)	≤10	1次/学期
餐（饮）具	大肠菌群 (发酵法)	不得检出	1次/学期
	沙门氏菌	不得检出	
使用中紫外线灯 (30 W)	辐照强度 (μW/cm ²)	≥70	1次/学期
使用中消毒液	有效成分含量 (mg/L)	符合产品说明书的规定	1次/学期

表1 日常监测卫生指标卫生标准（续）

对象	卫生指标		卫生标准	监测频次
使用中消毒液	染菌量（CFU/mL）	皮肤黏膜	≤10	1次/学期
		其它（非灭菌用）	≤100	
压力蒸汽灭菌器	灭菌效果	化学监测	化学指示物颜色或形态等变化达到终点要求	每包监测
		生物监测	阳性对照组培养阳性，阴性对照组培养阴性，试验组培养阴性	1次/周
戏水池	菌落总数（CFU/mL）		≤1 000	1次/学期
	大肠菌群（MPN/100 mL或CFU/100 mL）		不得检出	
	游离性余氯（mg/L）		0.3~0.5	

注：生活饮用水应符合GB 5749的要求。

7.2 托幼机构的日常监测可委托有资质的检测机构或各级疾病预防控制机构进行采样检测。监测量根据托幼机构实际情况，每次每类监测对象不少于10件；幼儿总数小于等于300人时，每次监测总件数不少于10件；幼儿总数大于300人时，每增加300人每次监测总件数增加5件，每次最多监测20件。

7.3 托幼机构发生传染病疫情时，疫源地消毒效果应达到GB 19193、WS/T 797的要求，其卫生要求符合表2规定。特殊传染病（如COVID-19等）符合国家制定的相应标准（如WS/T 774）。

表2 疫源地消毒合格判定标准

消毒类型	对象	指标	卫生标准
随时消毒	物体表面、空气	自然菌的杀灭率（%）	≥90
终末消毒	物体表面	自然菌的杀灭率（%）	≥90
		指示微生物	杀灭对数值≥3.00
	空气	自然菌的杀灭率（%）	≥90
	排泄物、分泌物、被病原微生物污染的血液等	病原微生物 目标微生物	不得检出 不得检出

注1：物体表面指示微生物的选择参照WS/T 797执行。
注2：必要时开展相应病原微生物或目标微生物检测。
注3：物体表面以地面、墙面、桌面、床扶手、便器、门把手、按钮等为重点采样对象，每类采样对象不少于2个样本，样本总数不少于30个。
注4：消毒前空气自然菌平均菌落数≤10 CFU/（皿·10min），可不计算杀灭率，消毒后空气自然菌平均菌落数≤4 CFU/（皿·10min），判为消毒合格。

8 检验方法

日常监测儿童戏水池和生活饮用水的采样及检验方法按照GB 5750执行，疫源地消毒物体表面指示微生物的采样及检测方法参照WS/T 797执行，其它指标的采样及检验方法按照附录D执行。

附 录 A
(资料性)

托幼机构常见传染病密切接触者医学观察要求

表A.1 托幼机构常见传染病密切接触者医学观察要求

疾病种类	病 名	医学观察内容	密切接触者医学观察期
呼吸道 传染病	流行性感冒	注意观察儿童有发热、头痛、咽痛、鼻塞、流涕、全身酸痛。	7天
	麻 疹	注意儿童上呼吸道卡他症状，口腔粘膜斑和皮疹。	21天
	水 痘	注意观察儿童有无皮疹。	21天
	流行性腮腺炎	注意观察儿童有无发热、单侧或双侧腮腺肿痛。	21天
	流行性脑脊髓膜炎	注意儿童的体温和咽部粘膜有无炎症，皮肤及口腔粘膜有无出血等。	7天
	猩红热	注意观察儿童有无发热、咽扁桃体内假膜、鼻涕带血、精神萎靡，并做好记录。	7天
消化道 传染病	手足口病	注意观察儿童有无发热，手、足、口、臀部有无皮疹。	10天
	感染性腹泻（诺如病毒）	注意观察儿童呕吐、腹泻次数，做好记录。当同班级出现多例患者时，对密切接触者严密观察。	3天
	细菌性痢疾	①注意观察儿童大便次数及形状，做好记录。对大便异常者，可在园（所）内暂作隔离，及时就医做大便检查培养。 ②同班级出现续发确诊患者时，对班内密切接触的儿童、保教人员须进行带菌检查。	7天
	病毒性肝炎（甲肝）	注意观察儿童精神、食欲和小便颜色等有无异常，做好记录。	6周
	病毒性肝炎（戊肝）		9周
其它	急性出血性结膜炎	注意观察儿童有无畏光、流泪、眼红、眼睑肿胀、剧烈眼疼等，并做好记录。	2天
注：密切接触者医学观察期为推荐时间。			

附录 B (资料性)

托幼机构常见污染对象的消毒方法

B.1 预防性消毒方法

B.1.1 室内空气

B.1.1.1 首选开窗通风换气，促进空气流通；通风条件不良的宜采用机械排风加强通风换气；每周空气消毒1~2次。每日通风3次，每次30 min以上，在外界温度适宜、空气质量较好的条件下，应持续开窗通风，冬季通风时注意保暖。

B.1.1.2 不宜通风的，每日应对室内空气消毒不少于2次。

B.1.1.3 空气消毒可使用紫外线灯，安装量应不少于 1.5 W/m^3 ，吊装高度为1.8 m~2.2 m，无人状态下使用，照射时间不少于30 min，做好累计照射时间记录，累计照射时间 $<1000 \text{ h}$ ，紫外线灯应符合GB 19258要求，有条件的定期监测紫外线辐射照度；也可使用符合WS/T 648要求的空气消毒机，应遵循产品使用说明书，在规定的空间内正确安装、使用及维护保养。

B.1.1.4 在呼吸道传染病流行季节，每日适当增加开窗或消毒频次。

B.1.1.5 如使用集中空调系统，应定期对空调系统清洗消毒，卫生要求符合WS 394，其清洗消毒参照WS/T 396执行。

B.1.1.6 如使用分体式空调，宜每月重点对过滤网和散热片清洗消毒2~3次，可用有效氯 250 mg/L ~ 500 mg/L 的含氯消毒液或 100 mg/L ~ 250 mg/L 的二氧化氯消毒液进行喷洒或浸泡消毒，作用15 min~30 min后用清水洗净。

B.1.2 手

B.1.2.1 清洁操作前（如饮食、加工制作食品饮料、触摸口鼻和眼睛前等）、污染操作后（如咳嗽、打喷嚏用手捂口鼻后，大小便、接触或处理各种垃圾和污染物后等）、室外活动后、传染病流行期间触摸门把手和文体用品等各类高频接触的物体表面后，在流动水下，采用皂液按照“六步洗手法”洗手。幼儿以洗手为主，使用肥皂应保持肥皂干燥。

B.1.2.2 如手接触到污染物或传染病患者后，应在洗手后再使用手消毒剂，可选用含乙醇、季铵盐、氯己定或碘伏等消毒产品。

B.1.2.3 手消毒时首选速干手消毒剂，过敏人群可选用其它手消毒剂；针对某些对乙醇不敏感的肠道病毒感染时，如诺如病毒、柯萨奇病毒A16型、肠道病毒71型等，应选用产品使用说明书上注明能灭活病毒的手消毒剂；针对新型冠状病毒，不应选用胍类消毒剂，如氯己定，又名洗必泰，包括醋酸氯己定、葡萄糖酸氯己定和聚六亚甲基双胍等。

B.1.3 环境物体表面

B.1.3.1 经常接触的物体表面，如水龙头、洗手池、保健牌、杯架、桌椅、门把手、卫生间冲水按钮、楼梯扶手等每天清洗消毒一次，玩具、教具至少每周清洗消毒一次，餐桌每餐开餐前应“一清一消一清”。

B.1.3.2 可用 1000 mg/L 季铵盐消毒液擦拭、浸泡或冲洗消毒1 min~10 min，或常量喷雾消毒5 min~

10min, 也可用有效氯 250 mg/L 的含氯消毒液擦拭、喷洒或浸泡消毒 10min~30min; 纸质、毛绒类玩具和文体活动用品可置阳光下暴晒 4 h~8 h, 也可使用符合 GB 28232 要求的臭氧消毒器并按使用说明书进行消毒; 手机、电子玩具等小面积的表面可使用 70%~80% (体积比) 乙醇消毒, 自然干燥。当污染物中含有大量血液、呕吐物、排泄物等有机物时, 应先完全清除污染物再消毒。

B. 1. 3. 3 室内地面每天湿拖 1~2 次, 保持地面和墙面清洁。

B. 1. 4 餐(饮)具

B. 1. 4. 1 食堂用具每天第一次使用前和每次使用后均应清洗, 每天消毒一次, 餐(饮)具一人一餐一用一清洗消毒, 严格执行一洗二冲三消毒四保洁制度。

B. 1. 4. 2 餐(饮)具和盛放直接入口食品的容器应集中消毒, 优先采用煮沸消毒或流通蒸汽消毒 15min~30min。无法进行煮沸消毒或流通蒸汽消毒的可用食具消毒柜按产品使用说明书进行消毒, 或用有效氯 250 mg/L 的含氯消毒液浸泡 15min~30min 后用清水冲洗干净。

B. 1. 5 饮水用具消毒

B. 1. 5. 1 直饮水饮水机按产品说明书进行安装、使用和保养。

B. 1. 5. 2 盛装开水的容器应每天清洗、消毒, 可用流通蒸汽消毒 15 min~30 min; 也可用有效氯 250 mg/L 的含氯消毒液或 100 mg/L 的二氧化氯消毒液浸泡或擦拭消毒, 作用 15min~30min 后用清水洗净。

B. 1. 6 织物

B. 1. 6. 1 床上用品、擦手巾一人一套; 床上用品每月洗涤不少于 2 次, 必要时进行消毒; 擦手巾保持清洁, 每天清洗消毒 1 次; 餐巾一人一餐一用一洗涤消毒。

B. 1. 6. 2 耐热耐湿的织物首选煮沸消毒或流通蒸汽消毒 15 min~30 min; 不耐热的织物可用有效氯 250 mg/L 的含氯消毒液或 100 mg/L 的二氧化氯消毒液浸泡消毒, 作用 15min~30min 后用清水洗净; 被褥应经常曝晒。

B. 1. 7 卫生洁具

B. 1. 7. 1 便器每天消毒 1~2 次, 可用有效氯 500 mg/L 的含氯消毒液浸泡消毒 30min~60min, 清水冲洗后再供使用。

B. 1. 7. 2 不同场所的抹布、拖把应专用并有标记, 不应混用。用后及时清洗干净, 晾干备用, 必要时进行消毒处理。可用有效氯 500 mg/L 的含氯消毒液或 250 mg/L 的二氧化氯消毒液浸泡消毒, 作用 20 min~30 min 后再按常规程序洗涤、晾晒。

B. 1. 8 呕吐物、排泄物

B. 1. 8. 1 先用一次性吸水材料沾取有效氯 2 000 mg/L 的含氯消毒液完全覆盖污染物, 小心清除干净, 再用浸有含氯消毒液的拖把将污染区域及其周边擦拭消毒, 作用 30 min, 清除过程中避免接触污染物。

B. 1. 8. 2 可使用含过氧乙酸的一次性呕吐腹泻物应急处置包按照产品使用说明书进行处理。

B. 1. 9 医疗器械

B.1.9.1 重复使用的医疗器械，如体温监测设备、压舌板等每次使用后应进行清洗消毒。

B.1.9.2 一次性使用的医疗器械不应重复使用，并按医疗废物处置要求进行处置。

B.1.10 垃圾存放点

B.1.10.1 生活垃圾盛装容器内外表面每天消毒1次，垃圾存放点每天消毒不少于1次。

B.1.10.2 可用有效氯500 mg/L的含氯消毒液或250 mg/L的二氧化氯消毒液喷洒消毒，作用30min~60min。

B.1.11 戏水池

B.1.11.1 使用中的戏水池每日补充新水，定期换水，保持清洁无异味。

B.1.11.2 池水应每日消毒，保证池水水质处于良好卫生状况。

B.2 疫源地消毒方法

表B.1 托幼机构常见污染对象的疫源地消毒方法

污染对象	消毒浓度	消毒方式	用量	消毒时间
室内空气	3%过氧化氢	气溶胶喷雾	20 mL/m ³ ~30 mL/m ³	1 h以上
	5 000 mg/L过氧乙酸			
	500 mg/L二氧化氯			
物体表面	1 000 mg/L含氯消毒剂	喷洒、擦拭、浸泡	适量	30min以上
	500 mg/L二氧化氯			
地面、墙面	1 000 mg/L含氯消毒剂	喷洒	100 mL/m ² ~300 mL/m ²	30min以上
	500 mg/L二氧化氯			
餐（饮）具	煮沸或流通蒸汽	煮沸	100℃	30min以上
	500 mg/L含氯消毒剂	浸泡	适量	
	250 mg/L二氧化氯			
织物	煮沸或流通蒸汽	煮沸	100℃	30min以上
	500 mg/L含氯消毒剂	浸泡	适量	
	250 mg/L二氧化氯			
呕吐物、排泄物	5 000 mg/L~10 000 mg/L含氯消毒剂	覆盖 浸泡（专用容器收集）	足量	30min以上
手	0.5%碘伏	擦拭、揉搓	适量	1min~3min
	70%~80%（体积比）乙醇			
	速干手消毒剂			按说明书
<p>注1：其它符合要求的消毒剂也可按照产品说明书进行操作使用。</p> <p>注2：玩具、文体活动用品如不适用于上述物体表面或织物的消毒方法，可使用符合GB 28232要求的臭氧消毒器并按使用说明书进行消毒。</p>				

B.3 相关注意事项

- B.3.1 紫外线灯应妥善管理好灯管开关，注意安全使用；保持紫外线灯表面清洁，每周用70%~80%（体积比）乙醇擦拭一次，发现灯管表面有灰尘、油污时，应及时擦拭；紫外线灯消毒室内空气时，房间内应保持清洁干燥，减少尘埃和水雾，温度<20℃或>40℃，或相对湿度>60%，应适当延长照射时间。
- B.3.2 空气消毒机消毒时应关闭门窗，进风口、出风口不应有物品覆盖或遮挡，用湿布清洁机器时，应先切断电源，检修与维护应遵循产品的使用说明。
- B.3.3 室内空气终末消毒应采用气溶胶喷雾消毒法，喷雾前应将室内易腐蚀的物品盖好，如电子文体活动用品等。
- B.3.4 集中空调通风系统采用全新风方式运行时关闭空调加湿功能，确保新风直接取自室外、进风口清洁、出风口通畅。
- B.3.5 消毒后的餐（饮）具不应再用抹布擦抹，应存放在清洁密封的容器内备用，避免二次污染。
- B.3.6 采用化学消毒剂浸泡消毒方式时，被消毒物品应完全浸泡在消毒液中并加盖；采用煮沸消毒时，被消毒物品应完全浸泡在水中，待水沸腾后开始计时；采用流通蒸汽消毒时，待有蒸汽冒出后开始计时。
- B.3.7 使用乙醇消毒时应注意防火。
- B.3.8 含氯消毒剂对有色织物具有漂白作用，且不应与清洗剂合用。
- B.3.9 若发现有儿童或工作人员呕吐物、排泄物等明显污染物时应随时进行消毒处理。
- B.3.10 实施消毒时应穿戴必要的防护用品，消毒完毕后按要求脱去防护用品，并进行手卫生。

B.4 常用消毒剂溶液配制计算方法

B.4.1 公式计算法

B.4.1.1 固体制剂浓度配制计算

$$C = \frac{M}{V} \times 100\% \dots\dots\dots (B.1)$$

式中：C——拟配制浓度（mg/L）；

M——溶质有效含量重量（mg）；

V——溶液体积（L）。

示例1：

如用10%二氧化氯泡腾片（1g/片，有效含量100mg/片）配制1000mL（1L）的500mg/L二氧化氯溶液，则二氧化氯溶质重量为500mg/L × 1L=500mg，加药量为500mg / 100（mg/片）=5片，即配制1000mL的500mg/L二氧化氯溶液，需加10%二氧化氯泡腾片（1g/片，有效含量100mg/片）5片。

B.4.1.2 高浓度稀释成低浓度计算

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \dots\dots\dots (B.2)$$

式中：C₁——原药剂浓度（mg/L，%）；

V₁——原药剂（容）量（g，ml）；

C₂——为拟稀释浓度（mg/L，%）；

V_2 ——为稀释药剂（容）量（g, ml）。

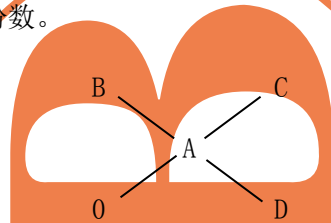
示例2:

现有 95%乙醇, 若需配制 1 000 mL 的 75%乙醇, 则 $V_1 = 75\% \times 1\,000\text{ mL} / 95\% = 789.5\text{ mL}$, 即配制 75%乙醇 1 000 mL, 需取 95%乙醇 789.5 mL, 加水稀释至 1 000 mL。

B. 4. 1. 3 浓度换算简便算法（交叉法则）

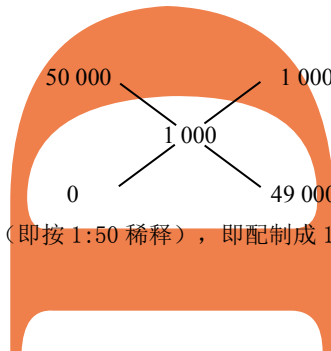
将已知浓度原溶液配制所需浓度溶液时, 先把所需溶液的浓度写在两条线的交叉点上(A), 将已知原溶液浓度写在左角上(B), 左下角为稀释用水中所含的消毒剂浓度(一般为0)。

将两条线上的两个数相减 $B-A=D$, $0-A=C$ 差数(绝对值)。C 即为配制该溶液所需原溶液的份数; D 即为配制该溶液所需加水的份数。



示例3:

用 5% 84 消毒剂原液(约 50 000 mg/L) 配制成 1 000 mg/L 溶液, 采用交叉法则计算如下:



5% 84 消毒剂原液 1 份, 加水 49 份(即按 1:50 稀释), 即配制成 1 000 mg/L 的含氯消毒液。

附 录 C

(资料性)

托幼机构消毒用品及个人防护用品储备清单

表C.1 托幼机构消毒用品及个人防护用品储备清单

种 类	品 类	备 注
消毒用品	速干手消毒剂	
	含氯消毒剂	如“84”、含氯消毒剂泡腾片、漂白粉等
	二氧化氯消毒剂	
	75%酒精	
	含碘消毒剂	如碘伏、碘酒等
	季铵盐类消毒剂	如复合季铵盐等
	量筒或量杯	
	喷壶或常量喷雾器	
	紫外线灯	
	空气消毒机	
	含氯消毒剂浓度测试纸	
	一次性呕吐腹泻物应急处置包	
	消毒湿巾	
	个人防护用品	工作服
一次性工作帽		预防性消毒
长袖橡胶手套		预防性消毒、疫源地消毒
一次性乳胶/丁腈手套		疫源地消毒
一次性医用外科口罩		预防性消毒
颗粒物防护口罩		疫源地消毒
医用防护口罩		疫源地消毒
护目镜或面屏		疫源地消毒
防水靴套		预防性消毒、疫源地消毒
防水围裙		预防性消毒、疫源地消毒
防水隔离衣		预防性消毒、疫源地消毒
工作鞋或胶靴	预防性消毒、疫源地消毒	

附录 D
(规范性)
托幼机构消毒采样检测方法

D.1 采样检测原则

D.1.1 采样时间为工作中随机采样。

D.1.2 微生物指标应在采样后4 h内尽快进行检测；如不能在4 h内检测，样品应保存于0℃~4℃条件下，并在24 h内进行检测。

D.1.3 微生物检测项目均应设空白对照。

D.1.4 疫源地消毒进行消毒合格判定时，自然菌的消亡率应在消毒前、后分别对同一对象用同一方法进行采样检测。

D.2 空气采样检测**D.2.1 采样方法**

室内面积≤30 m²，设内、中、外对角线3点，内、外点应距墙壁1 m处；室内面积>30 m²，每增加10 m²增设1个点。关闭门窗，将普通营养琼脂平皿（Φ90 mm）放置各采样点，采样高度为距地面0.8 m~1.5 m，采样点应避开通风口、通风道等；采样时将平皿盖打开，扣放于平皿旁，暴露10 min后盖上平皿盖送检。

D.2.2 检测方法

将送检平皿置36℃±1℃恒温箱培养48 h，计数平板上细菌菌落数。

D.2.3 结果计算

按照公式（D.1）计算：

$$y_1 = \frac{\sum C}{N} \dots\dots\dots (D.1)$$

式中：y₁——空气中细菌菌落总数，CFU/皿·10min；

C——平板细菌菌落数，CFU；

N——采样平板数。

D.3 手表面采样检测**D.3.1 采样方法**

被检人双手五指并拢，用浸有无菌0.03 mol/L磷酸盐缓冲液或生理盐水采样液的棉拭子1支在双手指曲面从指根到指端来回涂擦各2次，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10 mL采样液的试管内送检。如被检人使用消毒剂，采样液中应含相应中和剂。一只手采样面积按30 cm²计。

D.3.2 细菌菌落总数检测**D.3.2.1 检测方法**

将采样管振荡80次，取不同稀释倍数的洗脱液1 mL接种无菌平皿内，每个样本平行接种两个平皿，将冷至40℃~45℃的熔化营养琼脂培养基每皿倾注15 mL~20 mL，36℃±1℃恒温箱培养48 h，计数平板上细菌菌落数。

D.3.2.2 结果计算

按照公式 (D.2) 计算：

$$y_2 = \frac{N \times k}{2 \times 30} \dots \dots \dots (D.2)$$

式中： y_2 ——手表面细菌菌落总数，CFU/cm²；

N ——平板细菌菌落数，CFU；

k ——稀释倍数。

D.3.3 大肠菌群检测

D.3.3.1 初发酵试验

取A.3.2.1的洗脱液5 mL加入45 mL双料LST肉汤内，36℃±1℃恒温箱培养24 h±2 h，观察倒管内是否有气泡产生，24 h±2 h产气者进行复发酵试验，如未产气则继续培养至48 h±2 h，产气者进行复发酵试验。未产气者为大肠菌群阴性。

D.3.3.2 复发酵试验

用接种环从产气的LST肉汤管中取培养物1环，移种于BGLB肉汤管中，36℃±1℃恒温箱培养48 h±2 h，观察产气情况。产气者为大肠菌群阳性。

D.3.3.3 结果报告

综合以上试验结果，报告检出或未检出大肠菌群。

D.4 物体表面采样检测

D.4.1 采样方法

将5 cm×5 cm灭菌规格板放在被检物体表面，用浸有无菌0.03 mol/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涂擦各五次，拭子与物体表面呈30°，并随之转动拭子，连续采样4个规格板面积，共100 cm²，剪去手接触部位，将棉拭子放入装有10 mL采样液的试管内送检。如被检物体表面使用消毒剂，采样液中应含相应中和剂。如被检物体表面积<100 cm²取全部面积，不规则物体则采用棉拭子直接涂擦物体采样，并对采样面积进行估算。

D.4.2 检测方法

将采样管振荡80次，取不同稀释倍数的洗脱液1 mL接种无菌平皿内，每个样本平行接种两个平皿，将冷至40℃~45℃的熔化营养琼脂培养基每皿倾注15 mL~20 mL，36℃±1℃恒温箱培养48 h，计数平板上细菌菌落数。

D.4.3 结果计算

按照公式 (D.3) 计算：

$$y_3 = \frac{N \times k}{S} \dots \dots \dots (D.3)$$

式中： y_3 ——物体表面细菌菌落总数，CFU/cm²；
 N ——平板平均细菌菌落数，CFU；
 k ——稀释倍数；
 S ——采样面积，cm²。

D.5 餐（饮）具采样检测

D.5.1 采样方法

筷子：以5根筷子为一件样品。将5根筷子的下段（进口端）5 cm处（长5 cm×周长2 cm×5根，50 cm²），置10 mL灭菌0.03 mol/L磷酸盐缓冲液或生理盐水大试管中，充分振荡20次后，移出筷子，视具体情况，5根筷子可分别振荡。或用浸有无菌0.03 mol/L磷酸盐缓冲液或生理盐水的棉拭子1支，分别在5根筷子的下段（进口端）5 cm处表面范围均匀涂擦3次后，剪去手接触部位，将棉拭子放入装有10 mL相应液体培养基的试管内送检。

其它餐（饮）具：用浸有0.03 mol/L磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水的棉拭子1支，分别在2个25 cm²（5 cm×5 cm）面积范围内往返均匀涂擦3次后，剪去手接触部位，将棉拭子放入装有10 mL相应液体培养基的试管内送检。

D.5.2 大肠菌群检测

D.5.2.1 初发酵试验

如为振荡采样，直接将采样后的10 mL液体全部加入90 mL双料LST肉汤内，如为棉拭子采样，直接将采样后的棉拭子置于10 mL LST肉汤内。36 ℃±1 ℃恒温箱培养24 h±2 h，观察倒管内是否有气泡产生，24 h±2 h产气者进行复发酵试验，如未产气则继续培养至48 h±2 h，产气者进行复发酵试验。未产气者为大肠菌群阴性。

D.5.2.2 复发酵试验

用接种环从产气的LST肉汤管中取培养物1环，移种于BGLB肉汤管中，36 ℃±1 ℃恒温箱培养48 h±2 h，观察产气情况。产气者为大肠菌群阳性。

D.5.2.3 结果报告

综合以上试验结果，报告每 50 cm² 检出或未检出大肠菌群。

D.5.3 沙门氏菌检测

D.5.3.1 前增菌

如为振荡采样，直接将采样后的10 mL液体全部加入90 mL缓冲蛋白胨水内，如为棉拭子采样，直接将采样后的棉拭子置于10 mL缓冲蛋白胨水内。36 ℃±1 ℃恒温箱培养18 h~24 h。

D.5.3.2 增菌

轻轻摇动培养过的样品混合物，移取1 mL，转种于10 mL TTB内，42 ℃±1 ℃恒温箱培养18 h~24 h。同时，另取1 mL，转种于10 mL SC 内，36 ℃±1 ℃恒温箱培养18 h~24 h。

D.5.3.3 分离

分别用接种环取增菌液1环，划线接种于一个BS琼脂平板和一个XLD琼脂平板（或HE琼脂平板或沙门氏菌属显色培养基平板）。36℃±1℃分别培养18 h~24 h（XLD琼脂平板、HE琼脂平板、沙门氏菌属显色培养基平板）或40 h~48 h（BS琼脂平板），观察各个平板上生长的菌落，各个平板上的菌落特征见表D.1。

表 D.1 沙门氏菌属在不同选择性琼脂平板上的菌落特征

选择性琼脂平板	沙门氏菌
BS 琼脂	菌落为黑色有金属光泽、棕褐色或灰色，菌落周围培养基可呈黑色或棕色；有些菌株形成灰绿色的菌落，周围培养基不变。
HE 琼脂	蓝绿色或蓝色，多数菌落中心黑色或几乎全黑色；有些菌株为黄色，中心黑色或几乎全黑色。
XLD 琼脂	菌落呈粉红色，带或不带黑色中心，有些菌株可呈现大的带光泽的黑色中心，或呈现全部黑色的菌落；有些菌株为黄色菌落，带或不带黑色中心。
沙门氏菌属显色培养基	按照显色培养基的说明进行判定。

D.5.3.4 生化试验

自选择性琼脂平板上分别挑取2个以上典型或可疑菌落，接种TSI琼脂，先在斜面划线，再于底层穿刺；接种针不灭菌，直接接种赖氨酸脱羧酶试验培养基和营养琼脂平板，36℃±1℃培养18 h~24 h，必要时可延长至48 h。在TSI琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基内，沙门氏菌属的反应结果见表D.2。

表 D.2 沙门氏菌属在 TSI 琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基内的反应结果

斜面	三糖铁琼脂			赖氨酸脱羧酶试验培养基	初步判断
	底层	产气	硫化氢		
K	A	+ (-)	+ (-)	+	可疑沙门氏菌属
K	A	+ (-)	+ (-)	-	可疑沙门氏菌属
A	A	+ (-)	+ (-)	+	可疑沙门氏菌属
A	A	+/-	+/-	-	非沙门氏菌
K	K	+/-	+/-	+/-	非沙门氏菌

注：K：产碱；A：产酸；+：阳性；-：阴性；+（-）：多数阳性，少数阴性；+/-：阳性或阴性。

接种TSI琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基的同时，可直接接种蛋白胨水（供做靛基质试验）、尿素琼脂（pH7.2）、KCN培养基，也可在初步判断结果后从营养琼脂平板上挑取可疑菌落接种。于36℃±1℃培养18 h~24 h，必要时可延长至48 h，按表D.3判定结果。将已挑菌落的平板储存于2℃~5℃或室温至少保留24 h，以备必要时复查。

表 D.3 沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

反应序号	硫化氢 (H ₂ S)	靛基质	pH 7.2 尿素	氰化钾 (KCN)	赖氨酸脱羧酶
A1	+	-	-	-	+
A2	+	+	-	-	+
A3	-	-	-	-	+/-

注：+：阳性；-：阴性；+/-：阳性或阴性。

反应序号A1：典型反应判定为沙门氏菌属；如尿素、KCN 和赖氨酸脱羧酶3项中有1项异常，按表D. 4可判定为沙门氏菌； 如有2项异常为非沙门氏菌。

反应序号A2：补做甘露醇和山梨醇试验，沙门氏菌靛基质阳性变体两项试验结果均为阳性，但需要结合血清学鉴定结果进行判定。

反应序号A3：补做ONPG。ONPG阴性为沙门氏菌，同时赖氨酸脱羧酶阳性，甲型副伤寒沙门氏菌为赖氨酸脱羧酶阴性。

必要时按表D. 5进行沙门氏菌生化群的鉴别。

表 D. 4 沙门氏菌属生化反应初步鉴别表（补）

pH 7.2 尿素	氰化钾 (KCN)	赖氨酸脱羧酶	判定结果
—	—	—	甲型副伤寒沙门氏菌（要求血清学鉴定结果）
—	+	+	沙门氏菌IV或V（要求符合本群生化特性）
+	—	+	沙门氏菌个别变体（要求血清学鉴定结果）
注：+：阳性；—：阴性。			

表 D. 5 沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

项目	I	II	III	IV	V	VI
卫矛醇	+	+	—	—	+	—
山梨醇	+	+	+	+	+	—
水杨苷	—	—	—	+	—	—
ONPG	—	—	+	—	+	—
丙二酸盐	—	+	+	—	—	—
KCN	—	—	—	+	+	—
注：+：阳性；—：阴性。						

如选择生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统，可根据表D. 2的初步判断结果，从营养琼脂平板上挑取可疑菌落，用生理盐水制备成浊度适当的菌悬液，使用生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统进行鉴定。

D. 5. 3. 5 血清学鉴定

D. 5. 3. 5. 1 抗原的准备

一般采用1.2%~1.5%琼脂培养物作为玻片凝集试验用的抗原。

O血清不凝集时，将菌株接种在琼脂量较高的（如2%~3%）培养基上再检查；如果是由于Vi抗原的存在而阻止了O凝集反应时，可挑取菌苔于1 mL 生理盐水中做成浓菌液，于酒精灯火焰上煮沸后再检查。H抗原发育不良时，将菌株接种在0.55%~0.65%半固体琼脂平板的中央，待菌落蔓延生长时，在其边缘部分取菌检查；或将菌株通过装有0.3%~0.4%半固体琼脂的小玻管1次~2次，自远端取菌培养后再检查。

D. 5. 3. 5. 2 多价菌体抗原（O）鉴定

在玻片上划出2个约1 cm×2 cm的区域，挑取1环待测菌，各放1/2环于玻片上的每一区域上部，在其中一个区域下部加1滴多价菌体（O）抗血清，在另一区域下部加入1滴生理盐水，作为对照。再用无

菌的接种环或针分别将两个区域内的菌落研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合1 min，并对着黑暗背景进行观察，任何程度的凝集现象皆为阳性反应。

D.5.3.5.3 多价鞭毛抗原（H）鉴定

同多价菌体抗原（O）鉴定。

D.5.3.6 血清学分型（选做项目）

D.5.3.6.1 O抗原的鉴定

用A~F多价O血清做玻片凝集试验，同时用生理盐水做对照。在生理盐水中自凝者为粗糙形菌株，不能分型。

被A~F多价O血清凝集者，依次用04；03、010；07；08；09；02和011因子血清做凝集试验。根据试验结果，判定O群。被03、010血清凝集的菌株，再用010、015、034、019单因子血清做凝集试验，判定E1、E2、E3、E4各亚群，每一个O抗原成分的最后确定均应根据O单因子血清的检查结果，没有O单因子血清的要两个O复合因子血清进行核对。

不被A~F多价O血清凝集者，先用O种多价O血清检查，如有其中一种血清凝集，则用这种血清所包括的O群血清逐一检查，以确定O群。每种多价O血清所包括的O因子如下：

O多价 1 A, B, C, D, E, F, 群（并包括 6, 14 群）

O多价 2 13, 16, 17, 18, 21 群

O多价 3 28, 30, 35, 38, 39 群

O多价 4 40, 41, 42, 43 群

O多价 5 44, 45, 47, 48 群

O多价 6 50, 51, 52, 53 群

O多价 7 55, 56, 57, 58 群

O多价 8 59, 60, 61, 62 群

O多价 9 63, 65, 66, 67 群

D.5.3.6.2 H抗原的鉴定

属于A~F各O群的常见菌型，依次用表D.6所述H因子血清检查第1相和第2相的H抗原。

表 D.6 A~F 群常见菌型 H 抗原表

O群	第1相	第2相
A	a	无
B	g, f, s	无
B	i, b, d	2
C1	k, v, r, c	5, z15
C2	b, d, r	2, 5
D（不产气的）	d	无
D（产气的）	g, m, p, q	无
E1	h, v	6, w, x
E4	g, s, t	无
E4	i	

不常见的菌型，先用8种多价H血清检查，如有其中一种或两种血清凝集，则再用这一种或两种血清所包括的各种H因子血清逐一检查，以第1相和第2项的H抗原。8种多价H血清所包括的H因子如下：

H多价 1 a, b, c, d, i

H多价 2 eh, enx, enz₁₅, fg, gms, gpu, gp, gq, mt, gz₅₁

H多价 3 k, r, y, z, z₁₀, lv, lw, lz₁₃, lz₂₈, lz₄₀

H多价 4 1, 2; 1, 5; 1, 6; 1, 7; z₆

H多价 5 Z₄Z₂₃, Z₄Z₂₄, Z₄Z₃₂, Z₂₉, Z₃₅, Z₃₆, Z₃₈

H多价 6 Z₃₉, Z₄₁, Z₄₂, Z₄₄

H多价 7 Z₅₂, Z₅₃, Z₅₄, Z₅₅

H多价 8 Z₅₆, Z₅₇, Z₆₀, Z₆₁, Z₆₂

每一个H抗原成分的最后确定均应根据H单因子血清的检查结果，没有H单因子血清的要两个H复合因子血清进行核对。

检出第1相H抗原而未检出第2相H抗原的或检出第2相H抗原而未检出第1相H抗原的，可在琼脂斜面上移种1~2代后再检查。如仍只检出一个相的H抗原，要用位相变异的方法检查其另一个相。单相菌不必做位相变异检查。

位相变异试验方法如下：

小玻管法：将半固体管（每管约1 mL~2 mL）在酒精灯上溶化并冷至50℃，取已知相的H因子血清0.05 mL~0.1 mL，加入于溶化的半固体内，混匀后，用毛细吸管吸取分装于供位相变异试验的小玻管内，待凝固后，用接种针挑取待检菌，接种于一端。将小玻管平放在平皿内，并在其旁放一团湿棉花，以防琼脂中水分蒸发而干缩，每天检查结果，待另一相细菌解离后，可以从另一端挑取细菌进行检查。培养基内血清的浓度应有适当的比例，过高时细菌不能生长，过低时同一相细菌的动力不能抑制。一般按原血清1:200~1:800的量加入。

小倒管法：将两端开口的小玻管（下端开口要留一个缺口，不要平齐）放在半固体管内，小玻管的上端应高出培养基的表面，灭菌后备用。临用时在酒精灯上加热溶化，冷至50℃，挑取因子血清1环，加入小套管中的半固体内，略加搅动，使其混匀，待凝固后，将待检菌株接种于小套管中的半固体表层内，每天检查结果，待另一相细菌解离后，可从套管外的半固体表面取菌检查，或转种1%软琼脂斜面，于37℃培养后再做凝集试验。

简易平板法：将0.35%~0.4%半固体琼脂平板烘干表面水分，挑取因子血清1环，滴在半固体平板表面，放置片刻，待血清吸收到琼脂内，在血清部位的中央点种待检菌株，培养后，在形成蔓延生长的菌苔边缘取菌检查。

D.5.3.6.3 Vi 抗原的鉴定

用Vi因子血清检查。已知具有Vi抗原的菌型有：伤寒沙门氏菌，丙型副伤寒沙门氏菌，都柏林沙门氏菌。

D.5.3.6.4 菌型的判定

根据血清学分型鉴定的结果，按照有关沙门氏菌属抗原表判定菌型。

D.5.3.7 结果与报告

综合以上生化试验和血清学鉴定的结果，报告每50 cm²检出或未检出沙门氏菌。

D.6 使用中紫外线灯采样检测

D.6.1 指示卡法

开启紫外线灯5 min后,将指示卡置于被检紫外线灯下垂直距离1 m处,有图案一面朝上,照射1 min,观察指示卡色块的颜色,将其与标准色块比较。

D.6.2 仪器法

开启紫外线灯5 min后,将测定波长为253.7 nm的紫外线辐照计探头置于被检紫外线灯下垂直距离1 m的中央处,特殊紫外线灯在推荐使用的距离处测定,待仪表显示稳定后,所示数据即为该紫外线灯的辐照强度。

D.7 使用中消毒液采样检测

D.7.1 有效成分含量测定

可按照《消毒技术规范(2002年版)》或产品企业文件进行检测,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。

D.7.2 染菌量测定

D.7.2.1 采样方法

用无菌吸管按无菌操作方法吸取1.0 mL被检消毒液,加入9 mL中和剂中混匀。醇类消毒剂用普通营养肉汤中和;含氯、含碘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;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。

D.7.2.2 检测方法

用无菌吸管吸取一定稀释比例的中和后混合液1.0 mL接种平皿,每个样本平行接种两个平皿,将冷至40℃~45℃的熔化营养琼脂培养基每皿倾注15 mL~20 mL,36℃±1℃恒温箱培养72 h,计数平板上细菌菌落数。

D.7.2.3 结果计算

按照公式(D.4)计算:

$$y_4 = N \times 10 \times k \dots\dots\dots (D.4)$$

式中: y_4 ——使用中消毒液染菌量, CFU/mL;

N ——平板平均细菌菌落数, CFU;

k ——稀释倍数。

D.8 压力蒸汽灭菌器采样检测

D.8.1 化学监测

按照WS 310.3压力蒸汽灭菌化学监测法和GB/T 30690日常监测执行。

D.8.2 生物监测

按照WS 310.3压力蒸汽灭菌生物监测法和GB/T 30690日常监测执行。

D.9 疫源地消毒效果评价

D.9.1 自然菌的消亡率

D.9.1.1 采样方法

消毒前、后的空气、物体表面采样方法按照D.2.1、D.4.1执行。

D.9.1.2 检测方法

消毒前、后的空气、物体表面检测方法按照D.2.2、D.4.2执行。

D.9.1.3 结果计算

按照公式 (D.5) 计算：

$$y_5 = \frac{y_a - y_b}{y_a} \times 100\% \dots\dots\dots (D.5)$$

式中： y_5 ——自然菌的杀灭率，%；
 y_a ——消毒前的平均菌落数，CFU；
 y_b ——消毒后的平均菌落数，CFU。

D.9.2 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌的检测见《化妆品安全技术规范（2015年版）》第五部分的第五项。

D.9.3 大肠杆菌

按照GB 15979执行。

D.9.4 沙门氏菌

按照GB 4789.4执行。

D.9.5 志贺氏菌

按照GB 4789.5执行。

D.9.6 其他目标微生物

按照相关检测方法进行检测。

参 考 文 献

- [1] DB 4201/T 633 新型冠状病毒肺炎疫情防控 重点场所消毒技术指南
 - [2] 《医疗废物管理条例》
 - [3] 《食品安全法》
 - [4] 消毒技术规范（2002年版）
 - [5] 化妆品安全技术规范（2015年版）
 - [6] 卫妇社发（2012）35号 托儿所幼儿园卫生保健工作规范
-