

中 华 人 民 共 和 国 卫 生 行 业 标 准

WS/T 797—2022

现场消毒评价标准

Standard for evaluating the efficacy of disinfection on site

2022 - 1 - 24 发布

2022 - 6 - 1 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发 布

前 言

本标准由国家卫生健康标准委员会消毒标准专业委员会负责技术审查和技术咨询,由中国疾病预防控制中心负责协调性和格式审查,由国家卫生健康委疾病预防控制局负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位:山东省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所、江苏省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:崔树玉、杨彬、刘雷、张流波、孙文魁、沈瑾、刘峰、王金强、杨志、徐燕。

现场消毒评价标准

1 范围

本标准规定了现场消毒评价原则和现场消毒效果评价方法。

本标准适用于传染病疫源地处理、突发公共卫生事件处置和重大活动卫生保障中环境、物品等的消毒效果评价。

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标准必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB/T 5750.2 生活饮用水标准检验方法 水样的采集和保存

GB/T 5750.12 生活饮用水标准检验方法 微生物指标

GB 18466 医疗机构水污染物排放标准

GB 19193 疫源地消毒总则

WS 628 消毒产品卫生安全评价技术要求

WS/T 683 消毒试验用微生物要求

消毒技术规范（2002年版）卫生部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

现场消毒 disinfection on site

发生传染病流行、突发公共卫生事件或重大活动卫生保障时对现场环境和物品等进行的消毒。

3.2

目标微生物 target microorganism

在现场消毒时应杀灭的某特定病原微生物。

3.3

指示微生物 indicator microorganism

具有确定的抗力并代表某类微生物、可供现场模拟评价使用的人工污染微生物。

4 现场消毒评价原则

4.1 现场消毒评价的内容包括现场消毒过程评价和现场消毒效果评价。进行现场消毒效果评价前，应首先进行现场消毒过程评价。

4.2 现场消毒过程评价的内容包括消毒方案、消毒产品、消毒工作程序、个人防护。消毒方案制定应根据消毒范围、消毒对象选择合理的消毒方法和消毒产品。使用的消毒产品符合 WS 628 等标准要求，在产品有效期内按照说明书规定的方法使用。消毒工作程序符合 GB 19193 要求。根据病原微生物的危害程度和传播途径选择个人防护装备。

4.3 现场消毒效果评价包括现场评价和现场模拟评价。对重大活动卫生保障和目标微生物明确的传染病疫源地、突发公共卫生事件进行现场消毒效果评价时，首选现场评价；对目标微生物无法检测、不明原因的传染病疫源地及突发公共卫生事件、风险等级较高的污染如炭疽杆菌、新冠肺炎病毒等进行消毒效果评价时选择现场模拟评价。

4.4 现场评价是以检测消毒对象上自然菌的存在数量或（和）目标微生物是否存在作为判定依据；现场模拟评价是以检测指示微生物是否存在或存在的数量作为判定依据。

4.5 物体表面现场模拟评价根据病原微生物对消毒因子的抗力选择相应的指示微生物。选择大肠杆菌（*Escherichia coli*）8099、金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）ATCC 6538 作为亲脂病毒、细菌繁殖体的指示微生物；选择白色念珠菌（*Candida albicans*）ATCC 10231 作为致病性真菌的指示微生物；选择龟分枝杆菌脓肿亚种（*Mycobacterium chelonae subsp. Abscessus*）CMCC 93326 或 ATCC 19977 作为亲水病毒、人结核分枝杆菌的指示微生物；选择枯草杆菌黑色变种芽孢（*Bacillus subtilis var. niger*）ATCC 9372 作为细菌芽孢的指示微生物；当发生未知病原微生物及不明原因传染病时，选择枯草杆菌黑色变种芽孢（*Bacillus subtilis var. niger*）ATCC 9372 作为指示微生物。物体表面现场模拟评价已选择抗力强的指示微生物进行评价时不再选择抗力弱的指示微生物，除非有特殊要求。

4.6 生活饮用水现场模拟评价选择大肠杆菌（*Escherichia coli*）8099 作为指示微生物。

4.7 根据现场消毒评价对象选择合适的微生物种类进行评价，见表 1。

4.8 现场消毒效果评价应记录地点或对象、采样时间、数量、采样者、样本编号、名称、检验指标及依据、检验结果及判定等信息。

表1 评价对象及微生物种类

现场消毒分类	评价对象	微生物种类	评价指标
重大活动卫生保障	物体表面	自然菌	杀灭率 $\geq 90\%$
	空气		
	生活饮用水		
传染病疫源地、 突发公共卫生事件	物体表面	自然菌	杀灭率 $\geq 90\%$
		大肠杆菌8099、金黄色葡萄球菌ATCC 6538、白色念珠菌ATCC 10231、龟分枝	杀灭对数值 ≥ 3.00

现场消毒分类	评价对象	微生物种类	评价指标
		杆菌脓肿亚种CMCC 93326 或ATCC 19977、枯草杆菌 黑色变种芽孢ATCC 9372	
	生活饮用水	自然菌	杀灭率≥90%
		大肠杆菌8099	0/100mL
	空气	自然菌	杀灭率≥90%
	排泄物、呕吐物		
	污水、污泥	按照GB 18466执行	
注1：评价指标除满足以上要求外，还应符合相应标准。			
注2：传染病疫源地、突发公共卫生事件不得检出目标微生物。			

5 现场消毒效果评价方法

5.1 现场评价

5.1.1 物体表面采样及检测方法

5.1.1.1 试验器材

磷酸盐缓冲液（PBS，0.03mol/L，pH7.2）、采样液（在PBS中加入相应中和剂）、中和剂（经鉴定试验合格者）、无菌棉签、无菌规格板（5.0cm×5.0cm）、胰蛋白胨大豆琼脂培养基等。

5.1.1.2 布点要求

以桌面、地面、墙面、床头柜、便器、门把手等高频率接触物体表面为重点采样对象，在消毒因子难以达到的地方如抽屉、地毯、墙角等可增加采样点，每类采样对象采集样本不少于2个。消毒前、后采样点应成对设置，不得在同一区域内进行。采样总数不少于30个。

5.1.1.3 采样方法

5.1.1.3.1 消毒前采样：用无菌规格板放在被检物体表面，用浸有采样液的棉签1支，在规格板内横竖往返均匀涂擦各5次，并随之转动棉签，以无菌操作方式将棉签采样端剪入盛有10mL无菌采样液的试管内。不适宜用规格板的小型物体表面（如儿童玩具、门把手、热水瓶把等）可按件采样。

5.1.1.3.2 消毒后采样：消毒至设定时间后，在消毒前采样点附近类似部位或同类物体进行，其步骤和方法同消毒前采样。

5.1.1.4 菌落计数

消毒前、后样本于4h内送实验室进行检测。将采样管在混匀器上振荡20s或用力振打80次，吸取1.0mL待检样品接种于无菌平皿，每一样本接种2个平皿，加入已溶化的45℃~48℃的胰蛋白胨大豆琼脂培养基15mL~18mL，边倾注边摇匀，待琼脂凝固，置36℃±1℃，培养48h，记录菌落数，计算杀灭率。

5.1.1.5 结果计算

按式(1)计算杀灭率：

$$K = \frac{V_0 - V_1}{V_0} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

K —杀灭率

V_0 —消毒前样本平均菌落数（CFU/每样本）

V_1 —消毒后样本平均菌落数（CFU/每样本）

5.1.2 空气采样及检测方法

5.1.2.1 试验器材

营养琼脂培养基、含相应中和剂（经鉴定合格）的营养琼脂培养基等。

5.1.2.2 采样方法

5.1.2.2.1 消毒前采样：将拟消毒房间的门窗关好，在无人条件下静止 10min 后，室内面积 $\leq 30\text{m}^2$ ，在对角线内、中、外 3 点各放置一个无菌营养琼脂平板，高度为 0.8m~1.5m，内、外部位应距墙壁 $\geq 1\text{m}$ ，打开平板盖，暴露一定时间后盖好。各平板应做好标记。如室内面积 $> 30\text{m}^2$ ，每增加 10m^2 增设 1 个点。采样点应避开通风口、通风道等。

5.1.2.2.2 消毒后采样：空气消毒达到规定的时间后，在消毒前采样的相同位置上，另放一组加相应中和剂的营养琼脂平板。放置方法和暴露时间与消毒前采样相同。同时取 2 个未经采样的相同平板作为阴性对照。

5.1.2.3 结果计算

按式(1)计算杀灭率。

5.1.2.4 注意事项

消毒前空气自然菌平均菌落数 $\leq 10\text{CFU}/(\text{皿} \cdot 10\text{min})$ 时，可不计算杀灭率，消毒后空气自然菌平均菌落数 $\leq 4\text{CFU}/(\text{皿} \cdot 10\text{min})$ ，判为消毒合格。

5.1.3 生活饮用水采样及检测方法

消毒前、后按GB/T 5750.2、GB/T 5750.12采样和检验，消毒后水样检验时加相应的中和剂，按式(1)计算杀灭率。

5.1.4 污水、污泥采样及检测方法

按照GB 18466执行。

5.1.5 排泄物、呕吐物采样及检测方法

按照《消毒技术规范》（2002 年版）4.7.4.2“排泄物、呕吐物的检测方法”执行。

5.2 物体表面现场模拟评价

5.2.1 菌悬液与载体的制备

5.2.1.1 菌悬液的制备

细菌繁殖体及枯草杆菌黑色变种芽孢ATCC 9372、龟分枝杆菌脓肿亚种CMCC 93326或ATCC 19977、白色念珠菌ATCC 10231悬液制备分别按照《消毒技术规范》(2002年版)2.1.1.2.3、2.1.1.8.3、2.1.1.9.3和WS/T 683执行。染菌法阳性对照组回收菌量应为 $5 \times 10^5 \text{CFU}/\text{cm}^2 \sim 5 \times 10^6 \text{CFU}/\text{cm}^2$ 。

5.2.1.2 载体的制备

按照《消毒技术规范》(2002年版)2.1.1.2.4和WS/T 683所示方法制备。载体应根据消毒对象及消毒因子的特性选择,可选用金属片、玻璃片、棉布片等载体进行染菌,每个菌片的回收菌数应为 $1 \times 10^6 \text{CFU}/\text{片} \sim 5 \times 10^6 \text{CFU}/\text{片}$ 。

5.2.2 方法选择

可选择染菌法或(和)载体法。

5.2.3 布点要求

根据现场情况,选择桌面、地面、墙壁及墙角、书橱、床底、屋顶、抽屉等消毒因子难以到达的地方布点。

5.2.4 试验器材

磷酸盐缓冲液(PBS, 0.03mol/L, pH7.2)、稀释液(含0.1%吐温80的PBS溶液)、中和剂、培养基(营养琼脂培养基、胰蛋白胨大豆琼脂培养基、分枝杆菌干燥培养基、沙堡葡萄糖琼脂,麦芽浸膏琼脂等)、无菌棉签、无菌规格板(5.0cm×5.0cm)、无菌平皿等。

5.2.5 试验方法

5.2.5.1 染菌法

5.2.5.1.1 试验步骤

5.2.5.1.1.1 现场消毒组:现场消毒效果评价人员按照生物安全防护级别采取相应的防护措施后进入拟消毒现场,按照布点要求选择现场物体表面较平的部位,于规格板中央空格内用无菌棉签沾以菌悬液均匀涂抹现场实物表面,并予以暗号标记,待自然干燥后由消毒人员进行现场消毒。每类物体布点不少于2个,总布点数量不少于30个。

5.2.5.1.1.2 阳性对照组:另选择与消毒现场相似的环境,与消毒前采样环境对应类别物体另行选择区块人工染菌自然干燥,不进行现场消毒,每类物体至少选择2个阳性对照。

5.2.5.1.2 采样及检测方法

消毒完成后,用无菌棉签于含10mL中和剂试管中沾湿,分别对现场消毒组和阳性对照组布点区块进行涂抹采样,每区块横竖往返各5次,以无菌操作方式将棉签采样端剪入原中和剂试管内,振荡混匀,于4h内送实验室进行检测。采样管在混匀器上振荡20s或用力振打80次进一步混匀,适当稀释后,吸取1.0mL接种平皿,每个样本接种2个平皿,加入已溶化的45℃~48℃的相应培养基15mL~18mL,边倾注边摇匀,待琼脂凝固,置36℃±1℃培养,大肠杆菌和白色念珠菌培养48h、龟分枝杆菌脓肿亚种培养1周、细菌芽孢培养72h,计数存活菌落数(CFU/皿)。

5.2.5.1.3 结果计算

按式(2)计算杀灭对数值:

$$K_L = N_0 - N_1 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

K_L —杀灭对数值

N_0 —消毒前样本平均菌落数对数值

N_1 —消毒后样本平均菌落数对数值

5.2.5.2 载体法

5.2.5.2.1 试验步骤

5.2.5.2.1.1 现场消毒组: 现场消毒效果评价人员按照生物安全防护级别采取相应的防护措施后进入消毒现场, 将预先制备的 1 片染菌载体置于无菌平皿内, 按照布点要求布点于消毒现场, 布点数不少于 30 个, 由现场消毒人员进行消毒。

5.2.5.2.1.2 阳性对照组: 另取 4 个无菌平皿, 分别放入 1 片预先制备的染菌载体, 放置于与消毒现场温湿度相似的环境中, 不做任何消毒处理, 作为阳性对照组。

5.2.5.2.2 采样及检测方法

消毒工作结束后, 用无菌方式将现场消毒组和阳性对照组的载体分别取出移入含 5.0mL 中和剂试管中, 于 4h 内送实验室进行检测。在混匀器上振荡 20s 或用力振打 80 次, 使载体上的菌被洗脱进入中和剂中, 再放置 10min 以上, 按照 5.2.5.1.2 的方法计数存活菌落数。

5.2.5.2.3 结果计算

按式(2)计算杀灭对数值。

5.3 生活饮用水现场模拟评价

5.3.1 试验器材

大肠杆菌(8099)、微孔滤膜滤器和滤膜(滤膜孔径为 $0.45\mu\text{m}$)、抽滤水泵或气泵、恒温水浴箱、品红亚硫酸钠培养基、中和剂(经鉴定合格)。

5.3.2 试验步骤

5.3.2.1 取 $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18h~24h 的新鲜大肠杆菌斜面, 用稀释液洗下菌苔, 适当稀释配制成试验用大肠杆菌悬液。

5.3.2.2 分别取拟消毒水样 3 份, 每份 500mL, 加入大肠杆菌悬液, 混匀, 制备染菌水样。每份取适量水样进行过滤, 滤完后, 再抽气 5s, 关闭滤器阀门, 用无菌镊子夹取滤膜边缘, 移放在品红亚硫酸钠培养基平板上。滤膜的细菌截留面朝上, 滤膜与培养基完全紧贴。将平板倒置, 放于 $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, 培养 48h, 计数滤膜上生长的大肠杆菌数, 应在 $5\times 10^2\text{CFU}/100\text{mL}\sim 2\times 10^3\text{CFU}/100\text{mL}$ 。

5.3.2.3 在3份染菌水样中分别加入消毒剂，迅速混匀，使其达到拟消毒浓度。消毒至规定时间，每份水样分别移取2份，每份100mL，分别注入装有相应中和剂的无菌三角烧瓶中，以终止消毒作用。然后进行抽滤，方法同消毒前，计数滤膜上生长的大肠杆菌数。

5.3.3 结果报告

消毒后每100mL水样中大肠杆菌数（CFU）。

5.4 注意事项

5.4.1 现场评价时，若消毒前采样菌落计数较少导致无法计算杀灭率，应采用现场模拟评价。

5.4.2 发生高致病性传染病时现场模拟评价宜选择载体法，采样时不宜将平皿带出消毒现场，可用无菌镊子将载体直接取出移入试管中进行计数存活菌数，试管架、试管框等现场实验器材底部可铺垫一次性使用的无菌用品，带出现场后立即对所有器材进行消毒。

5.4.3 现场消毒效果评价采样及现场消毒人员应严格按照生物安全防护级别做好个人防护。试验操作应根据有关规定做好防护措施，并在相应生物安全级别的实验室内进行，避免污染环境或感染操作者。
