|  |  |
| --- | --- |
| ICS  | 13.060 |
| CCS  | C 51 |

中华人民共和国国家标准

GB/T 18204.5—XXXX

代替 GB/T18204.5—2013



公共场所卫生检验方法第5部分：集中空调通风系统

Examination methods for public places —

Part 5: Central air conditioning ventilation system

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

`

目次

[前言 II](#_Toc93991963)

[1 范围 1](#_Toc93991964)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc93991965)

[3 术语和定义 1](#_Toc93991966)

[4 嗜肺军团菌 2](#_Toc93991967)

[5 细菌总数 8](#_Toc93991968)

[6 真菌总数 9](#_Toc93991969)

[7 空调送风中β-溶血性链球菌 10](#_Toc93991970)

[8 新风量 11](#_Toc93991971)

[9 空调送风中可吸入颗粒物PM10 11](#_Toc93991972)

[10 空调风管内表面积尘量 13](#_Toc93991973)

[11 空调系统空气净化消毒装置 14](#_Toc93991974)

1. 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。

GB/T 18204《公共场所卫生检验方法》分为以下部分：

——第1部分：物理因素；

——第2部分：化学污染物；

——第3部分：空气微生物；

——第4部分：公共用品用具微生物；

——第5部分：集中空调通风系统；

——第6部分：卫生监测技术规范。

本文件代替GB/T 18204.5—2013《公共场所卫生检验方法 第5部分：集中空调通风系统》；与GB/T 18204.5—2013相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

1. 调整了适用范围（见第1章，2013版的第1章）；
2. 补充了规范性引用文件（见第2章，2013版的第2章）；
3. 增加了术语和定义“细菌总数”、“真菌总数”、“β-溶血性链球菌”、“嗜肺军团菌”（见3.1、3.2、3.3、3.4）；
4. 增加了嗜肺军团菌的定量检验方法和荧光PCR检测方法（见4.2）；
5. 删除了空调风管内表面微生物（见2013版本第11章）。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国国家卫生健康委员会提出并归口。

本文件起草单位：中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所、内蒙古自治区综合疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心、江苏省疾病预防控制中心、深圳市疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：姚孝元、潘力军、高昇、王哲、丁震、余淑苑、张伟、李韵谱、郑磊、闫旭。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2013年首次发布为GB/T 18204.5-2013；

——本次为第一次修订。

公共场所卫生检验方法

第5部分：集中空调通风系统

* 1. 范围

本文件规定了公共场所集中空调通风系统中嗜肺军团菌、细菌总数、真菌总数、β-溶血性链球菌、新风量、空调送风中可吸入颗粒物（PM10）、空调风管内表面积尘量的检验方法以及空气净化消毒装置的评价方法。

本文件适用于公共场所集中空调通风系统，其他场所使用的集中空调通风系统可参照执行。

* 1. 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/T 18204.1 公共场所卫生检验方法 第1部分：物理因素

GB/T 18204.2 公共场所卫生检验方法 第2部分：化学污染物

GB/T 18883 室内空气质量标准

GB/T 34012 通风系统用空气净化装置

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

细菌总数 total bacterial count

以36 ℃±1 ℃、48 h培养在集中空调通风系统中采集的营养琼脂培养基平板样品，计数培养后生长菌落的总数。

真菌总数 total fungi count

以28 ℃±1 ℃、5 d培养在集中空调通风系统中采集的沙氏琼脂培养基平板样品，计数培养后生长菌落的总数。

β-溶血性链球菌 *β-hemolytic streptococcus*

以36 ℃ ±1 ℃、24 h～48 h培养能够产生β型溶血的化脓（或A群）链球菌（*Streptococcus pyogenes*）和无乳（或B群）链球菌(*Streptococcus agalactiae*)。

嗜肺军团菌 *Legionella pneumophila*

一种兼性细胞内致病菌，在阿米巴体内寄生，可感染人巨噬细胞，在其胞内繁殖和杀死人巨噬细胞，是引起军团菌病的主要病原体。目前已知有3个亚种，16个血清型，血清型1型是引起社区获得性肺炎和医院感染性肺炎的重要病原体。

* 1. 嗜肺军团菌
		1. 培养法
			1. 原理

样品经培养在GVPC琼脂平板上生成典型菌落，并在BCYE琼脂平板上生长而在BCYE-CYE琼脂平板不生长，进一步经生化实验和血清学实验鉴定确认的菌落为嗜肺军团菌。

* + - 1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

1. 滤膜过滤器（滤膜孔径0.22 μm～0.45 μm）；
2. CO2培养箱：36 ℃±1 ℃；
3. 紫外灯：波长360 nm±2 nm；
4. 电子天平(精度0.001g)；
5. 水浴箱；
6. 涡旋振荡器；
7. 真空泵；
8. 离心机；
9. 微生物气溶胶采样器（采样流量100 L/min）或液体冲击式微生物气溶胶采样器（采样流量7 L/min～15 L/min）。
	* + 1. 培养基和试剂
				1. 缓冲活性炭酵母浸膏（buffered charcoal yeast extract，简称BCYE）琼脂培养基

成分

酵母浸膏10.0 g，活性炭2.0 g，琼脂15.0 g，α-酮戊二酸单钾盐0.4 g，N-2酰胺基-2胺基乙烷磺酸（ACES）10.0 g，氢氧化钾2.8 g，焦磷酸铁0.25 g，L半胱氨酸盐酸盐0.4 g；蒸馏水1 000 mL。

制法

L-半胱氨酸和焦磷酸铁的溶解

分别用10 mL水溶解0.4 g L-半胱氨酸盐酸盐和0.25 g焦磷酸铁，再用孔径为0.22 μm的滤膜过滤除菌，储存于无菌容器中，于-20 ℃保存不超过3个月。

ACES缓冲液

将ACES颗粒加人到500 mL水中，于45 ℃～50 ℃水浴溶解。另取480 mL水溶解氢氧化钾，轻摇溶解，将两种溶液混匀。

最终调节

将溶解好的980 mL ACES缓冲液中加入活性炭、酵母浸膏和α-酮戊二酸单钾盐。用0.1 mol/L KOH溶液或0.1 mol/L H2SO4溶液调节pH值至6.8±0.2。加入琼脂混合均匀后于121 ℃±1 ℃高压蒸气灭菌

15 min。灭菌后用冷水浴冷却至50 ℃左右加入溶解好的L-半胱氨酸盐酸盐溶液和焦磷酸铁溶液,混匀。

每皿倾注20 mL培养基于直径为90 mm的平皿中制备平板。在室温为25 ℃时，培养基最终pH值为 6.8±0.2。

让平皿上的多余水分干燥，在2 ℃～8 ℃下于密封容器中避光储存1个月。

* + - * 1. L-半胱氨酸缺失的BCYE培养基(BCYE-Cys培养基)

除不加L-半胱氨酸盐酸盐外,制备方法同BCYE培养基。

* + - * 1. 甘氨酸-万古霉素-多黏霉素B-放线菌酮(Glycine vancomycin polymyxomycin B cycloheximide，简称GVPC）培养基
1. 此培养基是在BCYE的基础上再加入三种抗生素及甘氨酸。

GVPC添加剂

甘氨酸0.3 g/L，硫酸多粘菌素B80000 IU/L，万古霉素0.001 g/L，放线菌酮0.08 g/L。

警告:放线菌酮具有肝毒性，在对粉末状化学制品进行操作时应戴手套和防尘口罩。

制法

抗生素添加剂的制备

取适量的多粘菌素B(一般为200 mg)溶解于100 mL水中，使其浓度为14545 IU/mL。混均后进行膜过滤除菌。用无菌管进行分装，每管5.5 mL，于-25 ℃～-15 ℃保存。使用时放至室温后再用。

取20 mg万古霉素盐酸盐溶解于20 mL水中，混匀后进行膜过滤除菌。用无菌管进行分装。每管1 mL，于-25 ℃～-15 ℃保存。使用时放至室温后再用。

取2 g放线菌酮溶解于100 mL水中，混匀后进行膜过滤除菌。用无菌管进行分装，每管4 mL，于 -25 ℃～-15 ℃保存。使用时放至室温后再用。

以上抗生素添加剂冷冻保存最长时间为6个月。

GVPC培养基的制备

按照4.1.3.1.2的制备方法进行配制，在加入a-酮戊二酸单钾盐后，再加入3 g甘氨酸后调节pH值为6.8±0.2。

在加入溶解后的L-半胱氨酸和焦磷酸铁后，再加入三种抗生素添加剂混匀。

* + - * 1. 马尿酸盐生化反应管

成分

马尿酸钠10.0 g，氯化钠8.5 g，磷酸氢二钠 8.98 g，磷酸二氢钠 2.71 g，蒸馏水1 000 mL。

制法

称取10.0 g马尿酸钠、8.5 g氯化钠、8.98 g磷酸氢二钠和2.71 g磷酸二氢钠溶于1 000 mL蒸馏水中，过滤除菌。无菌分装，每管0.4 mL，储存于-20 ℃。

* + - * 1. 硝酸盐生化反应管

甲液

称取0.8 g对氨基苯磺酸溶于100 mL乙酸溶液[c(CH3COOH)=2.5 mol/L]中。

乙液

称取0.5 g甲萘酸溶于100 mL乙酸溶液[c(CH3COOH)=2.5 mol/L]中。

* + - * 1. 尿素生化反应管

成分

蛋白胨1.0 g，葡萄糖1.0 g，氯化钠5.0 g，磷酸氢二钾2.0 g，酚红（0.4 %）3 mL，琼脂20 g，尿素溶液（20 %）200 mL ，蒸馏水1 000 mL。

制法

将除尿素和琼脂以外的成分配好，并校正pH值，加入琼脂，加热溶化并分装烧瓶，于121 ℃±1 ℃高压灭菌15 min。冷却至50 ℃～55 ℃，加入经除菌过滤的尿素溶液。尿素的最终浓度应为2 %，最终 pH值应为7.2±0.1。分装于灭菌试管内放成斜面备用。

* + - * 1. 明胶生化反应管

成分

牛肉膏粉3.0 g，明胶120.0 g，蒸馏水1 000 mL。

制法

将牛肉膏粉3.0 g，明胶120.0 g加入1 000 mL蒸馏水，搅拌加热煮沸至完全溶解，分装试管，于121 ℃±1 ℃高压灭菌10min，取出后迅速冷却，使其凝固，最终pH值应为6.9±0.1。

* + - * 1. 采样吸收液

称取12 g酵母浸膏加蒸馏水至1000mL，121 ℃下高压灭菌15 min，分装于灭菌后的离心管中备用。

* + - * 1. 氧化酶试剂

称取1.0 g四甲基对苯二胺盐酸盐溶于100 mL蒸馏水中，备用。

* + - * 1. 酸缓冲液

盐酸溶液[c(HCl)=0.2 mol/L]

将17.4 mL浓盐酸加入1 000 mL蒸馏水中。

氯化钾溶液[c(KCl)=0.2 mol/L]

将14.9 g氯化钾溶解于1 000 mL蒸馏水中。

酸缓冲液

取3.9 mL盐酸溶液[c(HCl)=0.2 mol/L]和25 mL氯化钾溶液[c(KCl)=0.2 mol/L]，混匀后，用1 mol/L氢氧化钾调节pH值到2.2±0.2，置于具塞的玻璃瓶中,该溶液在室温下避光放置不超过1个月。

* + - * 1. 硫代硫酸钠溶液[*c*(Na2S2O3) =0.1 mol/L]

称取16.0 g无水硫代硫酸钠和0.2 g无水碳酸钠，溶于1 000mL蒸馏水中，缓缓煮沸10 min，冷却。

* + - 1. 采样
				1. 冷却水和冷凝水样品

采集冷却水和冷凝水样品按以下要求进行。

1. 将采样广口瓶（500 mL）用前灭菌。
2. 每瓶中加入硫代硫酸钠溶液[*c*(Na2S2O3)=0.1 mol/L]（4.1.3.11）0.3 mL～0.5 mL，中和样品中的氧化剂。
3. 水样采集位置：冷却水采样点设置在距塔壁20 cm、液面下10 cm处，冷凝水采样点设置在排水管或冷凝水盘处。
4. 每个采样点依无菌操作取水样约500 mL。
5. 采集的样品2 d内送达实验室，不必冷冻，但要避光和防止受热，室温下贮存不得超过15 d。
	* + - 1. 空气样品

采集空气样品按以下要求进行。

1. 采样点：每套空调系统选择3个～5个送风口进行检测，每个风口设置1个测点，一般设在送风口下方15 cm～20 cm、水平方向向外50 cm～100 cm处。
2. 将采样吸收液（4.1.3.8）20 mL倒入微生物气溶胶采样器中，然后用吸管加入矿物油1 滴～2 滴。
3. 每个气溶胶样品采集空气体积1 m3～2 m3。
4. 采集的样品不必冷冻，但要避光和防止受热，4 h内送实验室检验。
	* + 1. 检验步骤

样品检测步骤按以下操作进行。

1. 样品的沉淀或离心：如有杂质可静置沉淀或1 000 r/min离心1 min去除。
2. 样品的过滤：将经沉淀或离心的样品通过滤膜孔径为0.22 μm～0.45 μm的滤膜过滤器进行过滤，无菌操作取下滤膜剪碎置于15 mL灭菌水中，在涡旋振荡器充分振荡洗脱，备用。
3. 样品的热处理：取1 mL洗脱样品，置50 ℃水浴箱中加热30 min。
4. 样品的酸处理：取1 mL洗脱样品，加入1 mL 酸缓冲液（4.1.3.10），轻轻摇匀，放置5 min。
5. 样品的接种：取洗脱样品、热处理样品及酸处理样品各0.1 mL，分别接种GVPC琼脂平板，用L型涂布棒均匀涂布。
6. 样品的培养：将接种平板放置温度为36 ℃±1 ℃，CO2浓度为5 %培养箱中，等平板干了再倒置培养。无CO2培养箱可釆用烛缸培养法。孵育10 d，注意保湿（在培养箱里放置一盆水或湿纸巾）。
7. 菌落观察：嗜肺军团菌生长缓慢，易被其它菌掩盖，从孵育第3天开始每天观察。嗜肺军团菌的菌落颜色多样，通常呈白色、灰色、蓝色或紫色，也能显深褐色、灰绿色、深红色；菌落整齐，表面光滑，呈典型毛玻璃状，在紫外灯下，部分菌落有荧光。为了避免嗜肺军团菌的死亡，不能将平板长时间暴露在紫外灯下，宜在数秒内完成。
8. 菌落验证：在GVPC培养基上2 d内生长的菌落均不是嗜肺军团菌。从GVPC培养基上选择3 d～10 d内生长的疑似嗜肺军团菌菌落分别接种到BCYE和BCYE-Cys两块培养基上进行培养。将疑似菌落在含5 %CO2的培养箱中36 ℃±1 ℃培养2 d。凡在BCYE上生长而在BCYE-Cys上不生长的被确认为嗜肺军团菌菌落，记录每个平板的结果。
9. 嗜肺军团菌的鉴定：应进行生化培养与血清学实验确定嗜肺军团菌血清型。生化培养：氧化酶（－/弱+），硝酸盐还原（－），尿素酶（－），明胶液化（＋），水解马尿酸。血清学实验：用嗜肺军团菌诊断血清进行分型。
	* + 1. 嗜肺军团菌的计数
				1. 冷却水和冷凝水样品

冷却水和冷凝水样品中嗜肺军团菌的计数以每毫升的菌落数X 计，单位为菌落形成单位每毫升（CFU/mL），按公式（2）计算：

 ()

式中：

*a* —— GVPC培养基上疑似嗜肺军团菌的菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

*N1* —— 确认的嗜肺军团菌菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

*N* —— 培养基上挑取的疑似嗜肺军团菌菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

*Vc* —— 量取的无菌水的体积的数值，单位为毫升（mL）(*VC* = 15.0)

*V* —— 接种的原液的体积的数值，单位为毫升（mL）(原液、热处理样品：*V*=0.1；酸处理样品：*V*=0.05)

*Vtot*—— 过滤水样的体积的数值，单位为毫升（mL）。

* + - * 1. 空气样品

空气样品中嗜肺军团菌的计数以每立方米样品中的菌落数X 计，单位为菌落形成单位每毫升（CFU/m3），按公式（4）计算：

 ×20 ()

式中：

*a* —— GVPC培养基上疑似嗜肺军团菌的菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

*N1* —— 确认的嗜肺军团菌菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

*N* —— 培养基上挑取的疑似嗜肺军团菌菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

*Vc* —— 量取的无菌水的体积的数值，单位为毫升（mL）(*VC* = 15.0)；

*V* —— 接种的原液的体积的数值，单位为毫升（mL）(原液、热处理样品：*V*=0.1；酸处理样品：*V*=0.05)；

*Va*—— 采集的空气体积，单位为立方米（m3）。

* + - * 1. 结果计算

分别对未经处理、热处理和酸处理样品接种后培养出的嗜肺军团菌的数量按照公式(1)或公式(2)进行计算取结果的最大值作为该样品中嗜肺军团菌的数量X，此数值为此份样品中嗜肺军团菌的最大可能数。

* + - 1. 结果报告

经检测，冷却水、冷凝水或空气样品中未见嗜肺军团菌可疑菌落生长时，在检测报告中注明“未检出嗜肺军团菌”，并注明检测水样或空气样品体积。

经检测并确认存在嗜肺军团菌时，在检测报告中注明“检出嗜肺军团菌”，并给出嗜肺军团菌的数量（CFU/mL或CFU/m3）。

* + 1. 荧光PCR检测
			1. 适用范围

针对嗜肺军团菌高度保守区域设计特异性引物和探针，在反应体系中含嗜肺军团菌基因组模板的情况下，PCR反应得以进行并释放荧光信号。利用仪器对PCR过程中相应通道的信号强度进行实时监测和输出，实现检测结果的定性分析。适用于嗜肺军团菌的初筛和可疑菌落的快速鉴定。

* + - 1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

1. 荧光PCR仪；
2. 离心机；
3. 移液器。
	* + 1. 引物

上游引物 5’-GAAAATAAAGTAAAAGGGGAAGCC-3’

下游引物 5’-ATCAATCAGACGACCAGTGTATTC-3’

探针：5’-FAM-AGGCGTTGTTGTATTGCCAAGTGGTT-TAMRA-3’

* + - 1. 检验步骤
				1. 核酸提取

冷却水、冷凝水或空气样本

冷却水和冷凝水样品采集方法见4.1.4.1；空气样本采集方法见4.1.4.2。

吸取样本1 mL加入到1.5 mL无菌离心管，12 000 rpm 离心5 min后弃上清液，保留沉淀，加入DNA提取液50 µL将沉淀悬浮后，100 ℃煮沸5 min，12 000 rpm 离心2 min取上清液于干净的离心管中进行PCR检测。

可疑菌落

用接种环挑取单个菌落于50 µL DNA提取液中振荡混匀，100 ℃煮沸5min，12 000 rpm 离心2 min取上清液于干净的离心管中进行PCR检测。

* + - * 1. 荧光定量 PCR 反应体系制备

荧光PCR扩增体系（25 µL）：其中PCR反应体系10 µL，上、下游引物(10 µmol/L)各1.25 µL，探针(10 µmol/L)0.625 µL，模板5 µL，无核酸酶的去离子水补足体积至25 µL。

* + - * 1. 扩增

扩增条件：50 ℃尿嘧啶-N-糖基化酶（UNG酶）处理2 min，95 ℃预变性3 min；然后95 ℃变性5 s，55 ℃退火延伸60 s，检测荧光信号，进行40个循环。

* + - * 1. 结果判定

阳性：样本检测结果Ct值≤36，有明显指数增长。

可疑：样本检测结果Ct值在36～39范围。此时应对样本进行重复检测，如重复实验结果Ct值仍在36～39范围，有明显指数增长，则判定为阳性，否则为阴性。

阴性：样本检测结果Ct值＞39或无Ct值。

* 1. 细菌总数
		1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

——六级筛孔撞击式微生物采样器；

——高压蒸汽灭菌器；

——恒温培养箱；

1. 平皿：直径90 mm；
2. 采样规格板采样面积为25 cm2。
	* 1. 培养基平板
			1. 营养琼脂培养基成分

蛋白胨10 g，氯化钠5 g，肉膏5 g，琼脂20 g，蒸馏水1 000 mL。

* + - 1. 制法

将蛋白胨、氯化钠、肉膏溶于蒸馏水中，调整pH值为7.2～7.6，加入琼脂，121 ℃ 20 min灭菌后，待冷却至50 ℃左右，以无菌操作每皿倾注15 mL培养基于直径为90 mm的平皿中备用。

* + 1. 采样
			1. 送风样品

采集送风样品按以下要求进行。

1. 采样点：每套空调系统选择3个～5个送风口进行检测，每个风口设置1个测点，一般设在送风口下方15 cm～20 cm、水平方向向外50 cm～100 cm处。
2. 采样环境条件：采样时集中空调通风系统应正常运转且关闭门窗15 min～30 min以上，尽量减少人员活动幅度与频率，记录室内人员数量、温湿度与天气状况等。
3. 采样方法： 以无菌操作，使用六级筛孔撞击式微生物采样器以28.3 L/min流量采集

5 min～15 min。

* + - 1. 积尘样品

采集积尘样品按以下要求进行。

1. 采样点数量：每套空调系统至少选择6个采样点。
2. 采样点布置：在每套空调系统的风管中选择2个代表性采样断面，每个断面在风管内部的上表面、底面和侧面各设置1个采样点；如确实无法在风管中采样，可抽取该套系统全部送风口的3 %～5 %且不少于3个作为采样点。
3. 风管开孔：在风管采样时将维修孔、清洁孔挡板打开或现场开孔，在送风口采样时将风口格栅拆下。
4. 采样：在确定的位置、规定的面积内采集风管表面全部积尘，表面积尘较多时用刮拭法采样，积尘较少不适宜刮拭法时用擦拭法采样，并将积尘样品完好带出风管。
	* 1. 检验步骤
			1. 送风样品

将采样后的营养琼脂平皿倒扣放置温度为36 ℃±1 ℃培养箱中培养48 h，菌落计数。

* + - 1. 积尘样品

刮拭法采集的样品：将采集的积尘样品无菌操作称取1 g，加入到失水山梨醇单油酸酯聚氧乙烯醚（Tween-80）水溶液中，做10倍梯级稀释，取适宜稀释度1 mL倾注法接种平皿。

擦拭法采集的样品：将擦拭物无菌操作加入到Tween-80水溶液中，做10倍梯级稀释，取适宜稀释度1 mL倾注法接种平皿。将接种后的营养琼脂平皿倒扣放置温度为36 ℃±1 ℃培养箱中培养48 h，菌落计数。

* + 1. 结果报告
			1. 送风中细菌总数测定结果

记录结果并按稀释比与采气体积换算成CFU/m3（每立方米空气中菌落形成单位）。

空调系统送风中细菌总数测定结果：一个空调系统送风中细菌总数的测定结果按该系统全部检测的送风口细菌总数测定值中的最大值给出。

* + - 1. 风管内表面细菌总数测定结果

记录结果并按稀释比换算成CFU/25cm2。

空调系统风管内表面细菌总数测定结果：一个空调系统风管内表面细菌总数的测定结果按该系统全部检测的风管内表面细菌总数测定值中的最大值给出。

* 1. 真菌总数
		1. 仪器和设备

见5.2。

* + 1. 培养基平板
			1. 沙氏琼脂培养基成分

蛋白胨10 g，葡萄糖40 g，琼脂20 g，蒸馏水1 000 mL。

* + - 1. 制法

将蛋白胨、葡萄糖溶于蒸馏水中，调整pH值为5.5～6.0，加入琼脂，115 ℃，15 min灭菌后，待冷却至50 ℃左右，以无菌操作每皿倾注15 mL培养基于直径为90 mm的平皿中备用。

* + 1. 采样

见5.3.1。

* + 1. 检验步骤
			1. 送风样品

将采集真菌后的沙氏琼脂平皿倒扣置于28 ℃±1 ℃培养箱中培养5 d，逐日观察并于第5天记录结果。若真菌数量过多可于第3天计数结果，并记录培养时间。

* + - 1. 积尘样品

刮拭法采集的样品：将采集的积尘样品无菌操作称取1 g，加入到Tween-80水溶液中，做10倍梯级稀释，取适宜稀释度1 mL倾注法接种平皿。

擦拭法采集的样品：将擦拭物无菌操作加入到Tween-80水溶液中，做10倍梯级稀释，取适宜稀释度1 mL倾注法接种平皿。将接种后的营养琼脂平皿倒扣放置温度为28 ℃±1 ℃培养箱中培养5 d，逐日观察并于第5天记录结果。若真菌数量过多可于第3天计数结果，并记录培养时间。

* + 1. 结果报告
			1. 送风中真菌总数测定结果

记录结果并按稀释比与采气体积换算成CFU/m3。

空调系统送风中真菌总数测定结果：一个空调系统送风中真菌总数的测定结果按该系统全部检测的送风口真菌总数测定值中的最大值给出。

6.6.2　风管内表面真菌总数测定结果：

记录结果并按稀释比换算成CFU/25cm2。

空调系统风管内表面真菌总数测定结果：一个空调系统风管内表面真菌总数的测定结果按该系统全部检测的风管内表面真菌总数测定值中的最大值给出。

* 1. 空调送风中β-溶血性链球菌
		1. 原理

以36 ℃±1 ℃、24 h～48 h培养集中空调通风系统送风中采集的血琼脂平板样品，计数在平板上形成的典型菌落的数量。

* + 1. 仪器和设备

见5.2。

* + 1. 血琼脂培养基
			1. 成分

蛋白胨10 g，氯化钠5 g，琼脂20 g，脱纤维羊血5 mL～10 mL，蒸馏水1 000 mL。

* + - 1. 制法

将蛋白胨、氯化钠、肉膏加热溶化于蒸馏水中，校正pH值为7.4～7.6，加入琼脂，121 ℃ 20 min灭菌。待冷却至50 ℃左右，以无菌操作加入脱纤维羊血，缓慢摇匀后以无菌操作倾入无菌平皿（每平皿约15 mL）。

* + 1. 采样

见5.3.1。

* + 1. 检验步骤
			1. 培养方法

采样后的血琼脂平板在36 ℃±1 ℃培养箱中培养24 h～48 h。

* + - 1. 结果观察

培养后，在血琼脂平板上形成呈灰白色、表面突起、直径0.5 mm～0.7 mm的细小菌落，菌落透明或半透明，表面光滑有乳光；镜检为革蓝氏阳性无芽孢球菌，圆形或卵圆形，呈链状排列，受培养与操作条件影响链的长度在4个～8个细胞至几十个细胞之间；菌落周围有明显的2 mm～4 mm界限分明、完全透明的无色溶血环。符合上述特征的菌落为β-溶血性链球菌。

* + 1. 结果报告

记录结果并按稀释比与采气体积换算成CFU/m3。

空调系统送风中β-溶血性链球菌测定结果：一个空调系统送风中β-溶血性链球菌的测定结果按该系统全部检测的送风中β-溶血性链球菌测定值中的最大值给出。

* 1. 新风量

集中空调通风系统新风量的测定采用GB/T 18204.1中的风管法。

* 1. 空调送风中可吸入颗粒物PM10
		1. 原理

当光照射在空气中悬浮的颗粒物上时，产生散射光。在颗粒物性质一定的条件下，颗粒物的散射光强度与其质量浓度成正比。通过测量散射光强度，应用质量浓度转换系数K值，求得颗粒物质量浓度。

* + 1. 仪器
			1. 光散射式粉尘仪

颗粒物捕集特性Da50 =10 μm ±0.5 μm，σg=1.5±0.1。

测量灵敏度：对于校正粒子，仪器计数1 CPM=0.001 mg/m3。

测量相对误差：对于校正粒子，测量相对误差小于±10 %。

测量范围：优于0.001 mg/m3~10 mg/m3。

仪器应内设出厂前已标定的具有光学稳定性的自校装置。

1. Da50为捕集效率为50%时所对应的颗粒物空气动力学直径；σg为捕集效率的几何标准差。
2. 校正粒子为平均粒径0.6 μm，几何标准偏差σ≤1.25的聚苯乙烯粒子。
3. CPM为每分钟脉冲计数值，相对浓度的一种表示方法。
	* + 1. 直接读数光散射式粉尘仪

使用可吸入颗粒物PM10质量浓度测量范围≥0.001 mg/m3，原理符合6.1要求，已内置转换系数，可直接读数的光散射式粉尘仪进行测量。

* + 1. 测定步骤
			1. 测点数量与位置

测点数量与位置按以下要求进行：

1. 每套空调系统选择3个～5个送风口进行检测。送风口面积小于0.1 m2的设置1个检测点，送风口面积在0.1 m2以上的设置3个检测点；
2. 风口设置1个测点的在送风口中心布置，设置3个测点的在送风口对角线四等分的3个等分点上布点；
3. 检测点位于送风口散流器下风方向15 cm～20 cm处。
	* + 1. 检测时间与频次

检测时间与频次要求如下：

1. 应在集中空调通风系统正常运转条件下进行检测；
2. 每个测点检测3次。
	* + 1. 仪器操作

仪器操作的具体要求如下：

1. 对粉尘仪光学系统进行自校准；
2. 根据送风中PM10浓度、仪器灵敏度、仪器测定范围确定仪器测定时间；
3. 按使用说明书操作仪器。
	* 1. 结果计算
			1. 数据转换

对于非质量浓度的计数值，按式（3）转换为PM10质量浓度。

 ()

式中：

*c* —— 可吸入颗粒物PM10的质量浓度，mg/m3；

*R*  —— 仪器计数值，计数/分（CPM）；

*K* —— 质量浓度转换系数，mg/(m3·CPM)。

1. 质量浓度转换系数K的确定见GB/T 18204.2附录B。
	* + 1. 送风口PM10浓度计算

第k个送风口PM10的质量浓度（ck）按式（4）计算。

 ()

式中：

*cij* —— 第j个测点、第i次检测值；

*n* —— 测点个数。

* + - 1. 空调系统送风中PM10浓度测定结果

一个系统（a）送风中PM10的测定结果（*ca*）按该系统全部检测的送风口PM10质量浓度（*ck*）的算术平均值给出。

* 1. 空调风管内表面积尘量
		1. 原理

采集风管内表面规定面积的全部积尘，以称重方法得出风管内表面单位面积的积尘量，表示空调风管的污染程度。

* + 1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

1. 手工擦拭采样规格板：采样规格板面积为50 cm2或100 cm2，面积误差小于5 %；
2. 采样材料：无纺布或其它不易失重的材料；
3. 密封袋；
4. 必要的采样工具；
5. 分析天平（精度0.0001 g）；
6. 恒温箱；
7. 干燥器。
	* 1. 采样

采集样品按以下要求进行。

1. 采样点数量：手工擦拭采样每套空调系统至少选择6个采样点。
2. 采样点布置：手工擦拭采样在每套空调系统的风管中选择2个代表性采样断面，每个断面在风管的上表面、底面和侧面各设置1个采样点；如确实无法在风管中采样，可抽取该套系统全部送风口的3 %～5 %且不少于3个作为采样点。
3. 风管开孔：在风管采样时将维修孔、清洁孔挡板打开或现场开孔，在送风口采样时将风口格栅拆下。
4. 采样：在确定的位置、规定的面积内采集风管表面全部积尘，表面积尘较多时用刮拭法采样，积尘较少不适宜刮拭法时用擦拭法采样，并将积尘样品完好带出风管。
	* 1. 检验步骤

检验步骤按如下操作进行：

1. 将采样材料放在105 ℃ 恒温箱内，干燥2 h后放入干燥器内冷却4 h，或直接放入干燥器中存放24 h后，放入密封袋用天平称量出初质量。
2. 将采样后的积尘样品进行编号，并放回原密封袋中保管，送实验室。
3. 将样品按10.4 中a）处理、称量，得出终质量。
4. 各采样点的积尘样品终质量与初质量之差为各采样点的积尘质量。
	* 1. 结果计算

采样点积尘量：根据每个采样点积尘质量和采样面积换算成每平方厘米风管内表面的积尘量。

风管污染程度：取各个采样点积尘量的平均值为风管污染程度的测定结果，以g/cm2表示。

* 1. 空调系统空气净化消毒装置
		1. 臭氧

空气净化消毒装置释放的臭氧浓度的测定采用GB/T 34012附录E或GB/T 18204.2中的11.2靛蓝二磺酸钠分光光度法。

* + 1. 紫外线

空气净化消毒装置紫外线泄露量的测定采用GB/T 34012附录E规定的方法。

* + 1. 总挥发性有机物（TVOC）

空气净化消毒装置释放的TVOC浓度的测定采用GB/T 18883热解吸/毛细管气相色谱法。

* + 1. 可吸入颗粒物PM10

空气净化消毒装置释放的PM10浓度的测定采用GB/T 18204.2中5.2光散射法。

* + 1. 装置阻力（静压法）
			1. 原理

空气净化消毒装置在空气动力学实验风洞（实验室模拟空调系统正常运行状况）或在实际安装的现场条件下，分别测定装置入口处空气的静压（Psi）和出口处空气的静压（Ps0），通过计算得出装置阻力。

* + - 1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

1. 标准皮托管：系数0.99±0.01；
2. 倾斜式微压计或数字式微压计：最小读数≤1 Pa。
	* + 1. 测定步骤

测定步骤按如下操作进行。

1. 仪器连接：将皮托管的静压出口与微压计负压端连接，微压计正压端与大气连通。
2. 测定条件：实验室测定时，根据净化消毒装置的不同功能（风口净化、风管净化、机组净化），将空气动力学实验风洞的风量分别调整为装置断面通过风速为高、中、低三种条件；在现场测定时，空调系统正常运行条件。
3. 静压的测定：将皮托管插入风管内，皮托管的全压测孔朝向气流方向，读出静压值。
	* + 1. 结果计算

将装置前后静压测定值代入式（5）可得出装置在不同风速条件下的阻力（△P）。

  ()

式中：

*Psi*  —— 装置前测定断面空气平均静压，单位为帕（Pa）；

*Ps0*  —— 装置后测定断面空气平均静压，单位为帕（Pa）；

∑△*h* —— 装置前测定断面到装置入口及装置出口到后测定断面的管道阻力之和，单位为帕（Pa）。

* + 1. 颗粒物净化效率
			1. 原理

在空气动力学实验风洞的空气净化消毒装置前段发生一定浓度的单分散相颗粒物条件下，或在实际安装的现场条件下，使用光散射法分别测定装置入口和出口处管道空气中PM10颗粒物浓度，通过计算得出装置的颗粒物一次净化效率。

* + - 1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

1. 空气动力学实验风洞：风速范围：1 m/s～8 m/s；风速稳定性：±10 %设定值；
2. 标准粒子发生器：颗粒物粒径范围0.5 μ～8 μm，粒径几何标准差≤1.1 μm，颗粒物浓度范围0.5 mg/m3～1.5 mg/m3，浓度稳定性±10 %；
3. 光散射粉尘仪（见9.2.1）。
	* + 1. 测定步骤

测定步骤按如下要求进行。

1. 风速条件：实验室测定时，按11.5.3中b）测定条件的要求调整空气动力学实验风洞的风量；现场测定时，空调系统正常运行条件。
2. 粒子条件：实验室测定时，利用标准粒子发生器在0.5 μ～8 μm范围内发生5种代表性粒径的单分散相标准粒子，发生粒子的浓度在3倍～10倍标准值范围内；现场测定时，为现场环境空气中的PM10颗粒物。
3. 检测点：在空气净化消毒装置上下游的实验风洞检测断面中心各设置一个检测点，在现场测定时净化装置上下游的风管检测断面各设置3个～5个检测点。
4. 检测时保证颗粒物等动力采样条件。
5. 使用两台光散射粉尘仪测定浓度时，两台仪器的型号和性能应相同。
6. 仪器稳定后读数，每个点测定3次。
7. 按使用说明书操作光散射粉尘仪。
	* + 1. 结果计算
				1. 现场评价

检测断面平均浓度：按式（6）分别计算空气净化消毒装置上下游检测断面PM10质量浓度*c1*和*c2*。

 ()

式中：

*ci*  —— i=1或2，分别为上下游PM10平均质量浓度，单位为毫克每立方米（mg/m3）；

*m* —— 检测断面上的测点数，m=3 个～5 个；

*n* —— 每个测点的测定次数，n=3次；

*ckj* —— 第j个测点第k次测定值，单位为毫克每立方米（mg/m3）。

PM10一次通过净化效率*η*按式（7）计算。

 ()

式中：

*η* —— PM10一次通过净化效率，单位为百分数（%）；

*c1* —— 空气净化消毒装置上游PM10平均质量浓度，单位为毫克每立方米（mg/m3）；

*c2* —— 空气净化消毒装置上游PM10平均质量浓度，单位为毫克每立方米（mg/m3）。

* + - * 1. 实验室评价

检测断面平均浓度：按式（8）分别计算空气净化消毒装置上下游检测断面某一粒径粒子的质量浓度*cd1*和*cd2*。

 ()

式中：

*cdi* —— i=1或2，分别为上下游粒径为d的粒子的质量浓度，单位为毫克每立方米（mg/m3）；

*n* —— 每个测点的测定次数，n=3次；

*ck* —— 第k次测定值，单位为毫克每立方米（mg/m3）。

粒径为d的粒子一次通过净化效率*ηd*按式（9）计算。

 ()

式中：

*ηd* —— 粒径为d的粒子一次通过净化效率，单位为百分数（%）；

*cd1* —— 上游粒径为d的粒子平均质量浓度，单位为毫克每立方米（mg/m3）；

*cd2* —— 下游粒径为d的粒子平均质量浓度，单位为毫克每立方米（mg/m3）。

PM10颗粒物一次通过净化效率*ηPM10*按式（8）计算。

 ()

式中：

*ηPM10* —— PM10颗粒物一次通过净化效率，单位为百分数（%）；

*cPM10* —— 环境中PM10粒度分布，单位为毫克每立方米（mg/m3）；

*η(d)* —— 净化装置分级效率回归方程对应的函数值，单位为百分数（%）；

*d* —— 粒子粒径，d=1 μm，2 μm……*P*；

*p* —— PM10颗粒物粒径范围。

* + 1. 微生物净化效率
			1. 原理

通过测定一定状态下空气中微生物数量在空气净化消毒装置前后的变化来计算净化或消毒效率，从而评价空气净化消毒装置的净化消毒效果。

* + - 1. 仪器和设备

本方法中使用的仪器和设备如下：

1. 六级筛孔撞击式微生物采样器；
2. 高压蒸汽灭菌器；
3. 恒温培养箱；
4. 平皿：直径90 mm；
5. 温度计；
6. 湿度计。
	* + 1. 营养琼脂培养基

成分与制法见5.2。

* + - 1. 检验步骤

检验步骤按如下要求进行。

1. 风速条件：见11.6.3中a)。
2. 采样点：在空气净化消毒装置前后的中间位置各设置一个采样点。
3. 分别将两台六级筛孔撞击式微生物采样器置于空气净化消毒装置的空气入口和出口，开启空气净化消毒装置，待运行稳定后，同时采集装置入口和出口的空气，流量为28.3 L/min，采样时间为5 min～15 min。
4. 采样结束后，将平板放入培养箱中培养，同时将同批次试验用培养基置培养箱中培养作为阴性对照，培养温度36 ℃±1 ℃，48 h记录结果。阴性对照组应无菌生长。
5. 重复采样3次。
	* + 1. 结果报告

微生物净化效率：按式（13）计算。

 ()

式中：

*C* —— 微生物净化效率，%；

*W0* —— 装置入口空气平均菌落数，CFU/m3；

*W1* —— 装置出口空气平均菌落数，CFU/m3。



联系人：闫旭

电话：01050930216

邮箱：yanxu@nieh.chinacdc.cn