



中国疾病预防控制中心

环境与健康相关产品安全所

NIEH, China CDC

消毒实验室技术

中国疾病预防控制中心环境所

李 涛

Litao@nieh.chinacdc.cn



消毒试验

消毒效果检验

消毒产品理化检验

消毒产品毒理学实验

实验室试验

模拟现场试验

现场试验

ICS 11.080
C 50

中华人民共和国

ICS 11.080
C 59

中华人民共和国卫

消毒产品卫生安全评价

Technical requirements for the hygiene and
disinfectant products

消毒试验用

Requirements of microorga

ICS 11.080
CCS C 59

WS

中华人民共和国卫生行业标准

XX/T XXXX—XXXX

消毒产品检测方法

Test methods of disinfection products

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

报批稿



- ▶ **一、指示菌株**
- ▶ **二、残留消毒剂的去除方法**
- ▶ **三、培养基**
- ▶ **四、染菌载体**
- ▶ **五、现场实验的评价**
- ▶ **六、无菌操作、生物安全要求**

一、指示菌株

- ▶ 金黄色葡萄球菌(ATCC 6538) → 细菌繁殖体中化脓性球菌的代表
- ▶ 大肠杆菌(8099) → 细菌繁殖体中肠道菌的代表
- ▶ 铜绿假单胞菌(ATCC 15442) → 医院感染中最常分离的细菌繁殖体的代表
- ▶ 白色葡萄球菌(8032) → 空气中细菌的代表
- ▶ 白色念珠菌(ATCC 10231)、黑曲霉菌(ATCC 16404) → 致病性真菌的代表
- ▶ 龟分枝杆菌脓肿亚种(ATCC 93326) → 人结核分枝杆菌的代表
- ▶ 枯草杆菌黑色变种芽孢(ATCC 9372) → 细菌芽孢的代表
- ▶ 脊髓灰质炎病毒- I 型疫苗株 → 病毒的代表

微生物抵抗力由高到低的顺序

朊病毒

细菌芽孢（炭疽杆菌芽孢、枯草杆菌芽孢等）

分枝杆菌（结核分枝杆菌、龟分枝杆菌等）

亲水病毒（没有脂质包膜的病毒，脊髓灰质炎病毒等）

真菌

细菌繁殖体

亲脂病毒（有脂质包膜的病毒，乙型肝炎病毒等）



▶ 二、残留消毒剂的去除方法



▶ 残留消毒剂的去除方法

1、化学中和法（中和剂法）

2、过滤冲洗法



目的

消毒剂的消毒效果试验时，在达到规定的消毒时间时，应立即终止消毒作用
可去除残留消毒剂对微生物的杀灭和抑制作用

原则要求

应有效去除残留的消毒剂或消毒剂的影响
对试验微生物无害，不减少其回收菌量
不破坏培养基的营养成份，不影响其透明度



▶ 过滤冲洗法

多用于难以找到适宜中和剂的消毒效果试验。

其操作要点如下：

- ▶ a) 微孔滤膜、滤器灭菌后备用；
- ▶ b) 初次过滤后，应使用对微生物无害的稀释液进行冲洗，以洗净消毒剂为准；
- ▶ c) 冲洗、滤净后，以无菌操作法取出微孔滤膜，进行随后的培养检测。



中和剂选择试验分组

第 1 组：中和剂组：中和剂 + 菌悬液（或菌片）

第 2 组：中产组：（消毒剂 + 中和剂）+ 菌悬液（或菌片）

第 3 组：阳性对照：稀释液 + 菌悬液（或菌片）

第 4 组：阴性对照：稀释液 + 中和剂 + 培养基



菌悬液与等量的有机干扰物混合后的浓度

- ▶ 悬液试验菌量： 2.5×10^3 CFU/mL $\sim$ 1.5×10^4 CFU/mL
- ▶ 载体试验菌量： 2.5×10^2 CFU/片 $\sim$ 1.5×10^3 CFU/片



评价规定

- ▶ 1、第 1、2 和 3 组有相似量试验菌生长，
悬液试验作用体系中菌量在 50 CFU/mL~300 CFU/mL 之间
载体试验菌量在 50 CFU/片~300 CFU/片 之间
其组间菌落数误差率应不超过 15%
- ▶ 2、第4组无菌生长，否则应更换试剂，重新试验
- ▶ 3、试验重复 3 次，每次试验均应符合以上条件



▶ 三、培养基





- ▶ 胰蛋白胨大豆琼脂培养基(TSA)——菌落计数
- ▶ 胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)——载体滴染法染菌
- ▶ 普通营养琼脂、营养肉汤培养基——菌悬液制备
- ▶ 无菌检验用培养基：需氧-厌氧菌培养基
无菌试验用真菌培养基



▶ 真菌培养基：

白色念珠菌 ATCC 10231 沙堡琼脂培养基

黑曲霉菌 ATCC 16404 麦芽浸膏琼脂培养基

▶ 病毒培养液：细胞培养液、细胞维持液（2%血清）、
细胞生长液（10%血清）

▶ 其他：分支杆菌干燥培养基等

培养温度 培养时间

细菌繁殖体 芽孢

- 细菌繁殖体 36 °C ± 1 °C 培养 48 h
- 枯黑芽胞应 36 °C ± 1 °C 培养 72 h
- 嗜热脂肪杆菌芽孢的培养温度为 56 °C ± 2 °C

真菌

- 白色念珠菌 36 °C ± 1 °C，培养 72 h
- 黑曲霉菌 30 °C ± 1 °C 恒温培养箱中培养 72 h

无菌试验

- 需氧-厌氧菌培养基放置 30 °C ~ 35 °C 温箱中培养 5 d
- 真菌培养基放置 20 °C ~ 25 °C 温箱中培养 7 d



▶ 四、染菌载体

试验方法 选择

▶ 悬液定量试验

实验室试验以
悬液定量试验为主

▶ 载体定量试验

(对不适宜用悬液定量试验
评价的消毒剂)

粘稠的消毒剂
冲洗用消毒剂
原液使用的消毒剂



有机干扰物

菌悬液
配制

悬液定量试验

3.0% (30g/L) 牛
血清白蛋白

不经过清洗或者较
脏的消毒对象的消
毒剂

0.3% (3.0g/L) 牛
血清白蛋白

经过清洗或者较清
洁的消毒对象的消
毒剂

载体浸泡
杀菌试验

胰蛋白胍大豆肉汤
培养基 (TSB)



载体浸泡杀菌试验的染菌量

- ▶ 用**TSB**将菌液稀释成浓度约为 5×10^8 CFU/mL
- ▶ 每个菌片（载体）的回收菌量
应为 1×10^6 CFU/片 $\sim 5 \times 10^6$ CFU/片。



试验用载体的选择

无特殊要求的情况下，载体定量试验以**布片**为载体

消毒试验用微生物要求

Requirements of microorganism for disinfection test

载体根据**消毒对象**选择相应的材料，

手术器械 → 不锈钢片，物体表面 → 棉布片，
非金属管腔 → 聚四氟乙烯片（管），光滑表面 → 玻璃片等

评价气体、雾化等消毒方式时 → **不可使用**布片和滤纸片等有吸附能力的载体，菌片一般用金属载体。



实验室灭菌
试验

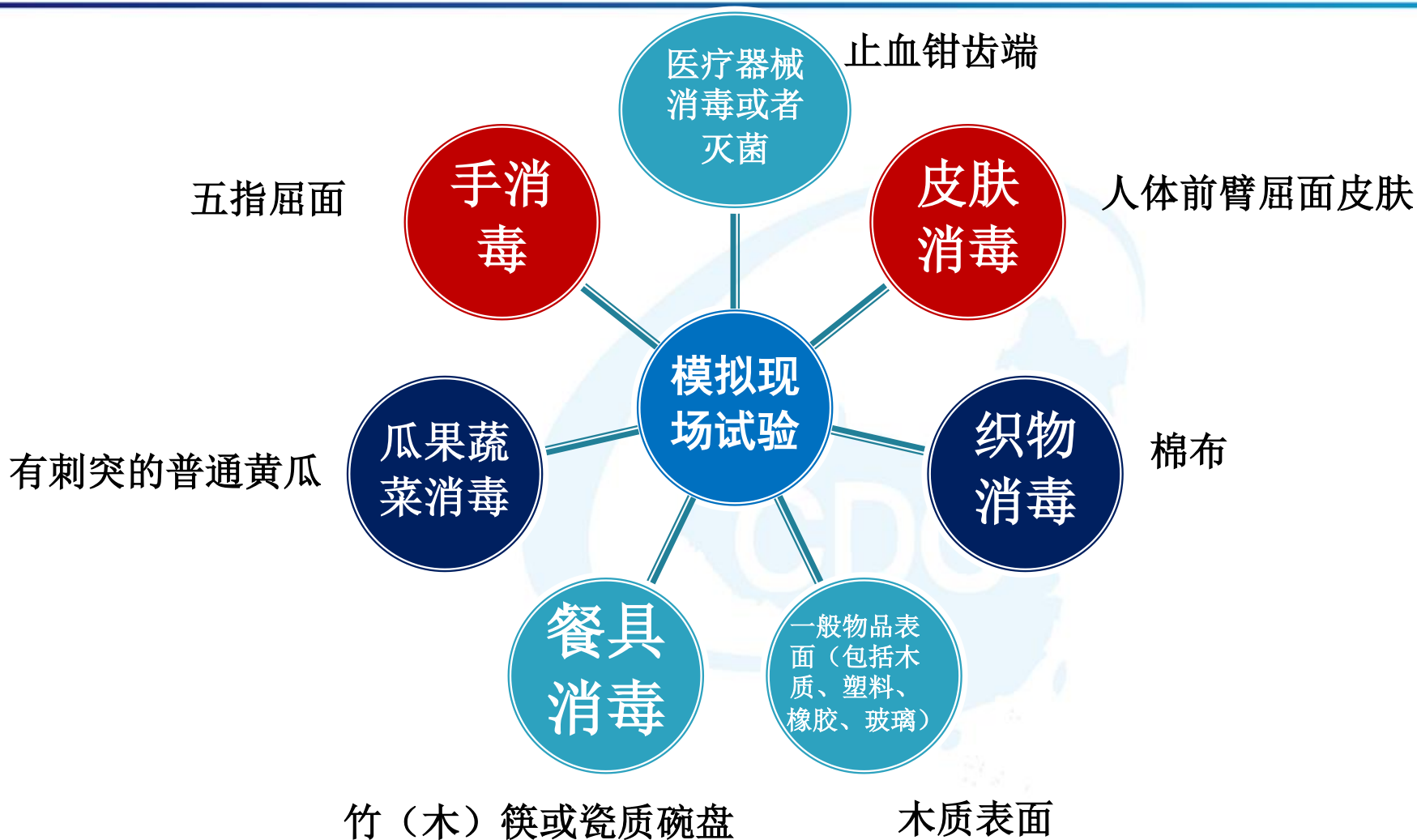
载体定性试
验

普通医疗器械的灭
菌以不锈钢片为载
体

特殊用途的可以选
用玻璃片、聚四氟
乙烯片（管）等



模拟现场试验



消毒对象原则上是在类似物品中最难达到消毒合格者



▶ 五、现场实验的评价



现场实验

消毒剂对手现场消毒效果鉴定试验

消毒剂对皮肤现场消毒效果鉴定试验

消毒剂对硬质物体表面现场消毒效果鉴定试验

消毒剂对瓜果蔬菜现场消毒效果鉴定试验

其他表面消毒



实验要求

- ▶ 1、自然菌
- ▶ 2、采样位置
- ▶ 3、样本量： ≥ 30 个样本



现场试验评价规定

- ▶ 消毒后的**平均**杀灭率 $\geq 90\%$ ，判定为消毒合格
- ▶ 阴性对照组应无菌生长

手现场消毒

- ▶ 30 人次手上自然菌的平均杀灭率 $\geq 90\%$ ，判定为消毒合格。
- ▶ 外科手消毒评价时，30 人次手上自然菌的平均杀灭率 $\geq 90\%$ ，且每人次的残留菌量 < 150 CFU/每手，可判定消毒合格。

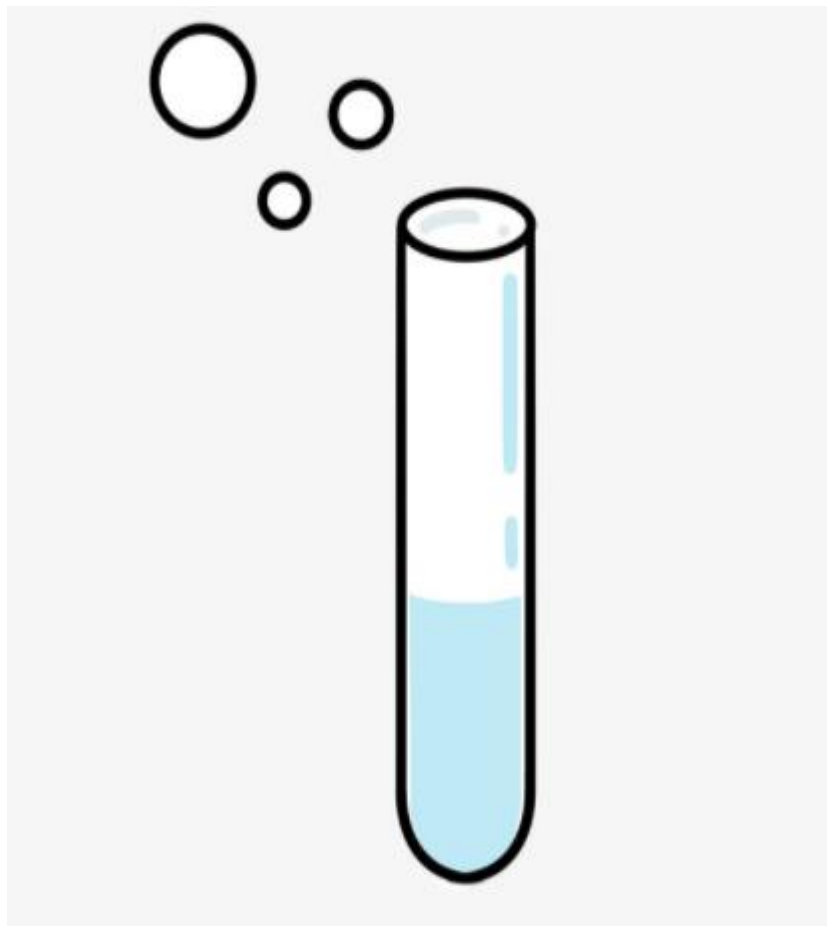


▶ 六、无菌操作 生物安全要求



中国疾病预防控制中心
环境与健康相关产品安全所
NIEH, China CDC

生物安全的重要性



开心快乐的宝贝
liba.com



与病原微生物实验室生物安全相关法律法规

- ▶ 《中华人民共和国生物安全法》——2021年4月15日实施

《中华人民共和国传染病防治法》

《病原微生物实验室生物安全管理条例》

GB 19489 《实验室 生物安全通用要求》

———实验室安全管理规定、医疗废物处置规定





试验用无菌器材

- ▶ 1、使用前：无菌器材和试剂，须**检查**容器或者包装是否完整，有破损者不得使用。
- ▶ 2、使用中：无菌器材和试剂不得长时间暴露于空气中。
- ▶ 3、**重复**使用的器材，使用后应当立即放入盛有消毒液的容器中。
- ▶ 4、**一次性**器材使用后：应当立即放入感染性废物收集袋中。

无菌操作要求

- 1、试验开始前，应当以湿式方法清洁台面和打扫室内地面。
- 2、实验人员应当穿戴工作服、防护鞋、口罩、帽子。对于大件产品进行无菌实验时，需正确穿戴好无菌隔离衣、鞋套、帽子和口罩，
- 3、无菌器材和试剂：高压/过滤
- 4、若不慎发生微生物培养物打碎或者试验微生物泄漏事故时，不论是否具有致病性，均应当立即停止手中工作，对污染区及可能波及的区域进行消毒处理。
- 5、全部试验结束后，应当对室内环境进行消毒处理。



中国疾病预防控制中心

环境与健康相关产品安全所

NIEH, China CDC



谢谢!