

DB42

湖北省地方标准

DB42/T XXXX-2025

高等级病原微生物实验室

第3部分：消毒灭菌监测与评价要求

High-level pathogenic microorganism laboratories

Part 3: Requirements for disinfection and sterilization surveillance and
evaluation

（征求意见稿）

（本草案完成时间：2025年2月11日）

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

湖北省市场监督管理局 发布

目 次

前 言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 基本要求	2
5 监测与评价时机	2
6 监测与评价方式	3
7 监测与评价方法	4
8 质量控制和记录	5
9 注意事项	5
10 标准实施与评价	5
附录 A（规范性）物体表面消毒效果评价	7
附录 B（资料性）湖北省地方标准实施信息及意见反馈表	9

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。

本文件是DB42/T ****《高等级病原微生物实验室》的第1部分。DB42/T ****由以下4部分组成：

- 第1部分：消毒技术规范；
- 第2部分：感染性废物处置规范；
- 第3部分：消毒灭菌监测与评价要求；
- 第4部分：个人防护规范。

本文件由湖北省卫生健康委员会提出并归口。

本文件起草单位：湖北省疾病预防控制中心、中国科学院武汉病毒研究所、武汉生物制品研究所有限责任公司。

本文件主要起草人：

本文件实施应用中的疑问，可咨询湖北省卫生健康委员会，联系电话：***，邮箱：***；对本文件的有关修改意见建议请反馈至湖北省疾病预防控制中心，联系电话：***，邮箱：***。

高等级病原微生物实验室 第3部分：消毒灭菌监测与评价要求

1 范围

本文件规定了高等级病原微生物实验室消毒灭菌效果监测与评价的基本要求，监测与评价的时机，方式和方法，质量控制和记录，注意事项及标准实施与评价。

本文件适用于生物安全三级实验室和生物安全四级实验室。

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 18281.1 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第1部分：通则
GB 19489 实验室生物安全通用要求
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
RB/T 199 实验室设备生物安全性能评价技术规范
WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则
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 466 消毒专业名词术语
WS/T 774 新冠肺炎疫情期间现场消毒评价标准
WS/T 775 新型冠状病毒消毒效果实验室评价标准
WS/T 797 现场消毒评价标准
WS/T 10009 消毒产品检测方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

消毒灭菌监测 disinfection and sterilization monitoring

为保障消毒灭菌效果，对其重要环节、参数及全过程进行长期、连续、系统性的观察和检测。

3.2

消毒灭菌效果评价 disinfection and sterilization effect evaluation

通过检测消毒前后活性微生物的下降率，或灭菌后的无菌状态，评价消毒灭菌工作质量是否符合要求。

3.3

目标微生物 target microorganism

对实验室消毒时，应杀灭的某种特定病原微生物。

[来源：WS/T 797-2022，3.2，有修改]

3.4

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。

[来源：WS/T 797-2022，3.3]

3.5

自含式生物指示物 self-contained biological indicator

初级包装中含有试验微生物恢复生长所需培养基的生物指示物。

[来源：GB 18281.1-2015，3.17]

3.6

化学指示物 chemical indicator

根据暴露于某种灭菌(消毒)程序所产生的化学或物理变化,在一个或多个预定程序参数上显现变化的指示器材。

[来源：WS/T 466-2014，5.13]

3.7

B-D 测试装置 B-D test device

将B-D测试纸与作为负载的包装整合在一起可直接用于B-D测试的指示装置。

4 基本要求

- 4.1 实验室应制定消毒灭菌监测评价相关程序文件,包括人员培训、操作流程、设备管理和记录等环节。
- 4.2 消毒灭菌监测评价工作应由指定人员负责。
- 4.3 监测评价人员应具备消毒及微生物检验检测专业技能。
- 4.4 监测评价项目包括物理监测、化学监测和生物监测。
- 4.5 监测评价结果出现不合格时,应分析原因并及时处理,直至结果符合要求。

5 监测与评价时机

5.1 消毒灭菌监测

对使用的消毒剂或消毒灭菌设备,应定期监测其关键的化学或物理指标。

对需要配制的或使用时间较长的化学消毒剂,可在配制后或使用中定期监测有效成分浓度;紫外线灯应定期监测辐照强度;压力蒸汽灭菌器及气(汽)体消毒等特殊设备按7.2执行。

5.2 消毒灭菌效果评价

对于消毒灭菌操作有下列情况之一时应进行效果评价:

- a) 终末消毒;
- b) 关键消毒对象或消毒设备的定期验证和评价;
- c) 首次采用新的消毒方法或消毒技术;
- d) 更换消毒剂种类、使用新的消毒设备、消毒设备维修或重新安装后;
- e) 其它关键因素发生变化时,如消毒场景、消毒对象、消毒方式等;
- f) 实验室有特定需求时。

6 监测与评价方式

6.1 物理监测

用于物理消毒灭菌设备的监测，如热力、辐照和紫外线等。压力蒸汽灭菌器可使用内置或外配检测仪对灭菌器的物理参数进行监测，如温度、压力和时间等。紫外线灯可使用紫外线强度指示卡或紫外辐照计对其辐照强度进行监测。

6.2 化学监测

用于化学消毒剂有效成分浓度的监测，宜优先选择有效的化学浓度指示卡或浓度检测设备等简单快速的方法，也可使用其它有效的标准方法监测。

6.3 生物监测

以检测微生物是否存在，或存在的数量作为判定依据的现场模拟评价方法。微生物的选择应根据消毒因子特性和实验室所操作病原微生物种类确定。可直接选用目标微生物，或选择抗力与目标微生物相当或更高、易于培养且符合实验室生物安全要求的指示微生物。选择抗力强的微生物进行评价后，不需要再用抗力弱的微生物，除非有特殊要求。

试验方法分为载体法和染菌法，可按附录A自行制备微生物载体，也可选用符合要求的商品化菌片或自含式生物指示物。

7 监测与评价方法

7.1 消毒对象监测与评价

7.1.1 一般物体表面

可选用载体法或染菌法对物体表面进行消毒效果评价。以污染风险较高的操作台面、仪器设备表面、门把手、按钮等为重点采样对象，并同时兼顾消毒因子难以达到的地方，每类采样对象不少于2个样本。

采样和检测评价方法按附录A执行。

7.1.2 复用型防护用品

可选用载体法或染菌法对防护眼（面）罩、正压送风式呼吸器、正压防护服等复用型防护用品进行消毒效果评价。正压防护服的采样点应包括头部、前胸、后背、腋下、手臂、裆部及鞋底等重点部位。

采样和检测评价方法参照附录A执行。

7.1.3 生物安全柜

应选用载体法对生物安全柜进行消毒效果评价。柜内采样点应设在操作台面、顶面、侧壁和集液槽等重点部位，排风高效过滤器采样点应设在排风高效过滤器的下游。

7.1.4 房间高效过滤器

应选用载体法对房间的高效过滤单元进行消毒效果评价。对排风高效过滤器消毒时，采样点应设在排风高效过滤器的下游；需要对送风高效过滤器消毒时，采样点应设在送风高效过滤器的下游。

7.1.5 独立通风笼具

应选用载体法对独立通风笼具进行消毒效果评价。采样点应设在送风、排风高效过滤器下游及笼具内部。

7.2 消毒灭菌设备监测与评价

7.2.1 紫外线灯

对于房间、生物安全柜、传递窗等处安装的紫外线灯，可用紫外线强度指示卡或紫外辐照计定期对其辐照强度进行监测，按产品说明书操作并判定结果，其辐照强度应不低于产品说明书注明的辐照度值。

必要时，可用载体法对其照射的物体表面进行消毒效果评价。

7.2.2 气（汽）体消毒设备

7.2.2.1 参数监测

每次消毒应监测并记录关键参数，如环境初始温/湿度条件、过氧化氢注入的速率、时间及用量等。应符合设备使用说明或实验室经验证后确定的参数。

7.2.2.2 化学监测

每次消毒应使用化学指示卡或浓度传感器监测消毒因子的空间浓度，化学指示卡可放置于空间内污染风险较高或消毒因子较难扩散到达的部位，如操作台面、仪器设备腔体等。经过一个消毒周期后，根据其颜色变化来判定其是否达到要求。

日常应定期监测设备配套使用的化学消毒剂的有效成分浓度。

7.2.2.3 生物监测

应使用嗜热脂肪杆菌（ATCC 7953或ATCC 12980）芽胞或枯草杆菌黑色变种（ATCC 9372）芽胞为指示微生物，不锈钢片为载体进行消毒效果评价。生物指示物应放置于空间内污染风险较高或消毒因子较难扩散到达的部位，如操作台面、仪器设备腔体等。

商品化菌片或自含式生物指示物按产品说明书的要求，培养至规定时间后判定结果。

7.2.3 压力蒸汽灭菌器

7.2.3.1 参数监测

每次灭菌应观察并打印温度、压力和时间等物理参数。灭菌温度范围的实测值不低于设定值、且不高于设定值3℃，灭菌室内任意2点差值不得超过2℃，灭菌时间实测值不低于设定值。

7.2.3.2 化学监测

每包待灭菌物品外应粘贴化学指示胶带，经过一个灭菌周期后，根据其颜色变化来区分已灭菌和未灭菌物品。

每次灭菌均应放置化学指示卡，根据其颜色变化判定灭菌过程是否符合要求。化学指示物变色达标则为合格；变色不达标则为不合格。

7.2.3.3 生物监测

应至少每6个月进行一次灭菌效果监测，将生物指示物放置于灭菌器最难灭菌的部位。必要时，应模拟灭菌器常用的、有代表性的灭菌物品和包装方式，将生物指示物放置于包内最难灭菌的部位进行灭菌效果验证。

自含式生物指示物按产品说明书的要求，培养至规定时间后，实验组和阳性对照组颜色变化均符合产品说明书规定，则本次灭菌合格；反之不合格。

7.2.3.4 B-D 测试

预真空（包括脉动真空）式压力蒸汽灭菌器应至少每3个月进行一次B-D测试，用于监测灭菌过程中冷空气的排除情况。B-D测试装置应放置于灭菌室排气口的上方，按产品说明书确定灭菌参数，灭菌器应空载运行。

B-D测试纸完全均匀一致变色为合格；变色不均匀则为不合格。

7.2.4 化学喷淋设备

应每次对化学喷淋设备的运行程序进行监测，如消毒剂喷淋时间、消毒暴露时间及水冲洗时间等。对所使用的消毒剂应每批次进行浓度监测。应至少每年对所运行的程序进行一次消毒效果评价，可选用染菌法或载体法，评价对象应包括所消毒的正压防护服表面及化学喷淋舱体侧壁。

8 质量控制和记录

8.1 化学消毒后生物监测，采样液应含有相应的中和剂（中和剂鉴定试验参照WS/T 10009）。

8.2 采样后应尽快对样本进行检测，待检时间不得超过4h。

8.3 应对消毒灭菌监测与评价活动进行记录，并存档。

8.4 消毒灭菌监测活动记录应包括设备运行参数、主要操作及监测结果等。

8.5 消毒效果评价记录应包括样本名称、来源、数量、编号、采样日期、采样者、检测项目及依据、检验结果及符合性评价、检测者及审核者等关键内容。

9 注意事项

9.1 采样人员应按照相应实验室生物安全防护级别做好个人防护，按要求对带出的样本包装表面进行消毒，检测人员根据风险评估在相应级别的生物安全实验室进行实验操作。

9.2 若指示微生物为病毒，消毒效果评价方法可参照WS/T 775。

9.3 微生物核酸无法指示其存活与否，核酸检测结果不可用于消毒效果评价。

10 标准实施与评价

- 10.1 实施单位应结合实际制定实施方案，包括人员组织、物资配置、培训宣贯等方面。
- 10.2 实施方案应遵循系统性、有效性和持续性原则，内容包括标准实施的范围、方式、内容、步骤、预期目标和要求等。
- 10.3 培训宣贯应针对生物安全实验室管理、运维及实操等岗位人员，通过研讨会、培训班、网络课程等方式进行宣传 and 解读，并对人员定期进行考核评价。
- 10.4 行业主管部门应建立标准监测机制，包括标准的实际应用领域与应用效果，关注其与现有国家标准、行业标准或地方标准的匹配性。
- 10.5 标准主管部门应开展标准实施效果评价分析，包括标准实施的效果以及实施过程中的问题、定期收集处理意见建议。适时向专业标准化技术委员会和标准归口单位反馈情况，提出标准推广、修改、补充、完善或者废止等意见建议。
- 10.6 标准实施信息及意见反馈表相关示例见附录C。

附录 A

(规范性)

物体表面消毒效果评价

A.1 指示微生物制备

A.1.1 载体法

按照WS/T 10009制备菌片，每个菌片的回收菌量为 1×10^6 CFU/片 $\sim 5 \times 10^6$ CFU/片。可选择方形布片（1cm×1cm）、圆形金属片（Φ1.2cm）或其它与评价对象接近的材料作为染菌载体，使用气（汽）体消毒方式时，不可使用布片或纸片等有吸附能力的载体。

消毒前，按照7.1.2要求将菌片放置于现场，消毒达到规定时间后，用无菌镊子将菌片移入含有5mL相应中和剂的采样液中，混匀并中和10min。取2个未经消毒的同批菌片为阳性对照组。

A.1.2 染菌法

按照WS/T 10009制备菌悬液，每个阳性对照区块的回收菌量为 5×10^5 CFU/样本 $\sim 5 \times 10^6$ CFU/样本，不同材质的物体表面各需设置2个阳性对照。

消毒前，按照7.1.2要求选择现场物体表面较平的部位，用无菌棉签沾以菌悬液均匀涂抹于5cm×5cm规格板内的物体表面，并对染菌区块标识（至少另设2个阳性对照组区块），自然干燥后对试验区块进行消毒。达到规定时间后，用无菌棉签于含5mL中和剂的采样液中润湿，分别对试验区块和阳性对照组区块进行涂抹采样，每区块横竖往返各5次，将棉签采样端剪入原采样管内，混匀并中和10min。

A.2 检测方法

A.2.1 定量法

将采样管在混匀器上振荡20s，分别吸取1mL平行接种2个平皿，倾注15mL $\sim$ 18mL培养基（培养基按指示微生物种类选择），边倾注边摇匀，细菌繁殖体培养48h，细菌芽胞培养72h（培养温度按指示微生物种类设定），计数菌落数，计算杀灭率。

A.2.1 定性法

将定量法的采样管更换为10mL含相应中和剂的培养液（培养液按指示微生物种类选择），采样方法与定量法相同，采样后直接将采样管放入培养箱，细菌繁殖体培养48h，细菌芽胞培养72h（培养温度按指示微生物种类设定），观察培养基是否变浑浊或变色。

A.3 结果计算（定量法）

按公式（A.1）计算杀灭率：

$$X = \frac{A-B}{A} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

X—杀灭率（%）；

A—消毒前菌量或阳性对照组回收菌量（CFU/样本）；

B—消毒后菌量或试验组回收菌量（CFU/样本）。

A. 4 结果评价

A. 4. 1 定量法

所有试验组样本杀灭率均 $\geq 99.9\%$ ，且阳性对照回收菌量为 1×10^6 CFU/片 $\sim 5 \times 10^6$ CFU/片，判为消毒合格。

A. 4. 2 定性法

所有试验组样本培养液清澈透明或不变色，且阳性对照回收菌量为 5×10^5 CFU/样本 $\sim 5 \times 10^6$ CFU/样本判为消毒合格。

附录 B

(资料性)

湖北省地方标准实施信息及意见反馈表

标准名称及编号			
总体评价	适用性	该标准与当前所在地的产业或社会发展水平是否相匹配？	☐ 是 ☐ 否
	协调性	该标准的特色要求与其他强制性标准的主要技术指标、相关法律法规、部门规章或产业政策是否协调？	☐ 是 ☐ 否
	执行情况	标准执行单位或人员是否按照标准要求组织开展相关工作？	☐ 是 ☐ 否
实施信息	标准实施过程中是否存在阻力和障碍？		☐ 是 ☐ 否
	实施过程中存在的主要问题		
修改意见	总体意见	☐ 适用 ☐ 修改 ☐ 废止	
	具体修改意见	需修改章节： 具体修改意见：	
反馈渠道	☐ 标准化行政主管部门 ☐ 省直行业主管部门 ☐ 专业标准化技术委员会（工作组） ☐ 标准起草组（牵头起草单位）		
反馈人	姓名： 单位： 联系方式：		

填表说明：为及时掌握标准实施情况，了解地方标准实施过程中存在的问题，并为标准复审提供科学依据，特制定《湖北省地方标准实施信息及意见反馈表》。可根据实际情况在表格中对应方框打勾，有需要文字说明的反馈意见可在相应位置进行文字描述，也可另附页。