

医院感染教材

(六)

消毒与监测技术部分实验室操作程序

全国医院感染监控管理培训基地
湖南医科大学附属湘雅医院感染科

一九九五年四月

目 录

医用压力蒸气灭菌	1
预真空压力蒸气灭菌	10
紫外线消毒技术	12
常用消毒剂应用技术	17
1、漂白粉	17
2、二氯异氰尿酸钠	20
3、“84”消毒液	21
4、碘 酊	23
5、碘 伏	24
6、过氧乙酸	25
7、过氧化氢	28
8、臭 氧	29
9、甲 醛	31
10、戊二醛	35
11、环氧乙烷	37
12、乙醇	42
13、醋酸洗必泰	43
14、新洁尔灭	44
消毒药剂鉴定技术	46
1、实验材料及条件	46
2、定性消毒试验	49
3、定量消毒试验	50
4、载体消毒试验	50
5、乙型肝炎表面抗原试验	53
6、现场或模拟现场消毒试验	56
7、稳定性试验	57

8、物品损坏试验	58
微生物污染监测技术	59
部分有关医院感染实验操作程序	68
1、药物敏感试验试管法 (MIC 及 MBC 的测定)	68
2、宿主血清凝集试验	69
3、噬菌体分型	71
4、绿脓杆菌血清分型	73
5、绿脓杆菌菌素分型 (方法一)	73
6、绿脓杆菌菌素分型 (方法二)	75
7、表皮葡萄球菌粘质 (Slime) 生成实验	75
8、萤试验	78
β - 内酰胺酸测定	80
痰液的定量细菌培养	81

I、医用压力蒸气灭菌

本灭菌方法应在国家批准合格的压力蒸气灭菌器中进行，适用于医疗卫生工作中对棉布、金属、陶瓷、搪瓷、玻璃、橡胶、耐热塑料等制品与水溶液制剂的灭菌。油剂、膏剂、粉剂等类物品不宜本法处理。

目前、国内常用压力蒸气灭菌法可分为下排气法与预真空法两大类，其操作程序与注意事项不完全一致。为此，本规范将两者分开叙述。

一、原理：

压力蒸气灭菌必须使蒸气顺利进入灭菌器柜室与拟灭菌物品中，并将原有冷空气排出，始可获得理想效果。本方法从灭菌器柜室上部通入蒸气，将冷空气由下排气口推出，而后增压升温进行灭菌。

二、设备与蒸气

(一)手提式压力蒸气灭菌器：主体与盖用铝合金铸造，内有消毒桶一个，容积约18L。使用压力最高不超过137.30kPa(1.4kg/cm²)。其盖上的金属软管可通至消毒桶底层，为将底层空气引向上方排出的关键部件，应妥加保护。

(二)立式压力蒸气灭菌器：结构与手提式灭菌器基本相似，但较高大。消毒桶容积约48L。使用压力最高不超过137.30kPa(1.4kg/cm²)。盖上无排气用金属软管，在下方开有排气口以排除冷空气。

(三)卧式压力蒸气灭菌器：柜壁为双层，夹层中亦可通入蒸气进行预热。多固定安装于规定场所。安装时，应注意勿将排气管道与下水道焊接，否则冷却时可将污水回抽入柜室中。灭菌器柜室容积大，一般在0.3~1.0m³，亦有大至10m³以上者。使用压力最高不超过137.30kPa(1.4kg/cm²)。可接外源蒸气。使用中应注意保护排气口的温度计和阻气器(又称疏水器)，以较好控制空气的排除。

目前，国内部分产品装有电子程序控制器，可使灭菌按既定程序自动进行。

(四)蒸气：所用蒸气均应为以清水加热后形成的饱和蒸气。使用外源蒸气时，为保证输入的蒸气为洁净的饱和蒸气，管道系统应以保温材料包裹，并设滤器以除去蒸气中的污物，设水气分离器排去蒸气中的冷凝水雾，设减压阀使蒸气按所需压力进入灭菌器。在灭菌时，尚应防止灭菌器内蒸气过热。

三、灭菌前准备

(一)清除污染：在压力蒸气灭菌中，微生物污染的量愈少，灭菌效果愈容易得到保证。所以，物品事先应选用适宜方法处理，尽量去除污染。对反复使用的医疗器材，用前灭菌时应按下列要求进行清洗。

1、凡曾接触过病原微生物的医疗器械、布单与衣物等，应先以化学消毒剂进行消毒，然后按常规清洗。

2、常规清洗时，先用洗涤剂溶液浸泡擦洗，去除物品上的油污、血垢等污染，然后用流水冲净。注射器的外管和内芯，以及具有关节、齿槽和缝隙等器械和其他物品，应尽可能张开或拆卸，以进行彻底洗刷。

3、有条件的可在专用的洗净消毒柜中用高速蒸气流冲洗、消毒。

4、物品洗涤后，应擦干或晾干。

5、清除污染后的物品，需尽快包装好，以免再遭受污染。

6、清除污染前、后物品的盛器和运送工具，应严格区分，并有明显标志。两者不得混用，以防交叉污染。

7、盛器与运送工具应每日清洗和消毒。当遭受意外污染时，应立即进行清洗消毒。

(二)包装

1、为防止灭菌后再污染，物品需经包装后始可进行灭菌处理。

2、包装可使用双层平纹细布或抗湿纸。新棉布应洗涤去浆后再使用。

3、使用容器盛装时，应既可阻挡外界微生物侵入，又具有良好的蒸气穿透性。例如，装放敷料的贮槽，特制的注射器灭菌盒等，市售铝饭盒与搪瓷盒，无论加盖与否，均不得用于装放注射器或外科器械进行灭菌。

4、反复使用的包装材料或容器，应经清洗后始可再次使用。

5、盘、盆、碗等器皿类物品，尽量单个包装。包装时应将盖打开，若必须多个包装在一起时，所用器皿的开口应朝向一个方向。摆放时，器皿间用吸湿毛巾或纱布隔开，以利蒸气渗入。

6、注射器包装时，管芯应抽出。导管类物品，应先用蒸馏水润湿，以利热的穿透。输液器包装时，应将盖打开。输液导管可缠绕于输液瓶上，以防扭结、挤压而影响蒸气与空气的置换。

7、物品包装，捆扎以不致松动散开为度，不宜过紧，最好用化学指示胶带贴封，也可用线绳捆扎，但不宜使用别针、大头针等封包，包的体积不应超过 $30 \times 30 \times 25 \text{cm}^3$ 。

8、物品包装后应即进行灭菌处理，因故不能立即处理，需存放于洁净干燥的柜橱中。

(三) 装放

1、灭菌器柜室内，装放拟灭菌物品不应过挤，其总体积不应超过柜室容积的 30%。

2、各类物品热穿透的难易，以及所需灭菌温度和作用时间等均可不同，故应尽量将同类物品装放一起灭菌。若必须将不同类物品装放一起，则应以能达到灭菌物品所需的温度和时间为准。

3、物品装放时，上下左右均应互相间隔一定距离以利蒸气与空气相互置换。在大型灭菌器，物品应放于柜室或推车上的铁丝网搁架上。无搁架的中、小型灭菌器，可将物品放于铁丝篮筐中再叠放。

4、物品包的摆放，应使盘、盆、碗等处于竖立的位置；纤维织物应使折叠的方向与水平面成垂直状态；玻璃瓶、玻璃管等，应开口向下或侧放，以利蒸气进入和空气排出。

5、装物品的启闭式筛孔容器，如贮槽、注射器灭菌盒等，应将筛孔的盖板打开。双侧筛孔应处于上下位置，以使蒸气由上方进入，空气由下方排出。容器与容器上下间应留有空隙，以防筛孔堵闭。

6、布类和金属类物品同时灭菌，应将金属类物品包放在下面，以使两者受热基本一致，并防金属类物品灭菌中产生的冷凝水弄湿布包。此外，难于灭菌的大包应放在上层，较易灭菌的小包放在下层。

7、物品，尤其是纤维织物，在放置时应避免与灭菌柜室四壁接触，以防吸入较多的冷凝水。

(四) 设备检查：每日工作前应对灭菌器进行常规检查，内容包括以下各项。

1、检查门框与橡胶垫圈有无损坏，是否平整。

2、检查门的锁扣是否灵活、有效。对手提式与立式压力蒸气灭菌器，应检查

主体与顶盖有无因伤引起裂缝和变形。

3、压力表在蒸气排尽时是否停留在零位。

4、通蒸气入夹层，见有无冷凝水与气体排出，阻气器是否在达到规定温度时自动关闭。

5、由柜室排气口倒入500ml水，查有无阻塞。

6、关好门，通蒸气，查是否漏气。

7、在通蒸气情况下，检查蒸气调节开关和控制阀是否灵活、准确。

8、检查压力表与温度计所标示的状况是否吻合，检查排气口温度计是否完好。

9、检查安全阀是否在蒸气压力达到规定的安全限度（一般高于灭菌所需压力10%左右）时被冲开。对焊封式安全阀，不进行实压试验。检查有无管道堵塞、变形等情况即可。

10、对有自动电子程序控制装置的灭菌器，使用前应检查规定的程序是否符合于遂行灭菌处理的要求。

四、灭菌处理

（一）手提式压力蒸气灭菌器的使用应按下列步骤进行：（1）在主体内加入适量清水（重复使用时，应将水量补足，水变混浊需更换）；（2）将拟灭菌物品随同盛装的消毒桶放入主体内；（3）将顶盖上的排气软管插于消毒桶内壁的方管中（无软管，或软管锈蚀破裂的灭菌器不得使用）；（4）盖好顶盖，拧紧，勿使漏气；置灭菌器于火源上加热，并打开顶盖上的排气阀，放出冷空气（水沸腾后排气10~15分钟）；（5）关闭排气阀，使蒸气压上升到规定要求，并维持规定时间（规定的压力和时间，根据拟灭菌物品性质与有关情况确定）；（6）达到规定时间后，对需干燥的物品，立即打开排气阀，排出蒸气。待压力恢复到零时，自然冷却至60℃后开盖取物；（7）对液体类物品，不要打开排气阀，而应将热源去除，待自然冷却，压力恢复至零，温度降到60℃以下后开盖取物，以防突然减压液体剧烈沸腾，或容器爆破。

（二）立式压力蒸气灭菌器的使用应按下列步骤进行：（1）在主体内加入适量清水（重复使用时，应将水量补足，水变混浊需更换）；（2）将拟灭菌物品放入消毒桶内；（3）盖好顶盖，拧紧，勿使漏气；（4）在灭菌器下部加热，使水沸腾；（5）打开位于灭菌器侧面下方的排气阀，放出冷空气（水沸腾后排气10~15分钟）；（6）关闭

排气阀，使蒸汽压力上升至规定要求，并维持到规定时间（规定的压力和时间，根据拟灭菌物品性质与有关情况确定）；（7）达到规定时间后，对需干燥的物品，立即打开排气阀，排出蒸气，待压力恢复到零时，自然冷却至 60℃ 后开盖取物；（8）对液体类物品，不要打开排气阀，而应将热源去除，待自然冷却，压力恢复至零，温度降到 60℃ 以下后开盖取物。

（三）卧式压力蒸汽灭菌器的使用应按下列步骤进行：（1）将拟灭菌物品放入灭菌器柜室内；（2）关闭柜门并扣紧；（3）打开进气阀，将蒸气引入夹层进行预热，夹层冷空气经阻气器自动排出；（4）夹层达到预定温度后，打开柜室进气阀，将蒸气引入柜室，柜室内冷空气经柜室阻气器自动排出；（5）待柜室达到规定的压力与温度时，调节进气阀，使保持恒定至规定时间；（6）对需干燥物品，灭菌后将蒸气控制阀转至“干燥”位置，蒸气被抽出，柜室内呈负压，待压力表指针下降至 $-81.33 \sim -73.33 \text{ kPa}$ ($-0.82 \sim -0.75 \text{ kg/cm}^2$) 时（约抽 20 分钟），物品即达干燥要求；（7）对液体类物品，应待自然或人工降温至 60℃ 后再开门取物（见 1.1.4.5）。不得使用快速排出蒸气法，以防突然减压，液体剧烈沸腾或容器爆破。

（四）自动控制式压力蒸汽灭菌器的使用：在放好物品、关妥柜门后，应根据物品类别按动相应开关，以使按要求程序自动进行灭菌。灭菌时，必须利用附设仪表记录温度与时间以备查。操作要求应严格遵照厂家说明书进行。

（五）液体类物品的灭菌：在加热阶段的处理与其他物品要求相同。但在降温减压时绝不可操之过急，特别在大批量处理时（如生产输液制剂时的灭菌），否则可发生爆炸以至伤人事故。为减少事故发生，应作到下列要求：（1）事先检查拟灭菌液体类物品的包装，将有破损或裂纹者剔除；（2）搬运与装放时，动作轻缓，防止碰伤容器；（3）容器内液体装量不得超过 80%；（4）不得使用排气法或抽真空法减压降温；（5）在自然降温时，海拔 1000m 以下地区，待柜室压力降至零，温度降到 80℃ 时（海拔 1000m 以上地区应下降至 60℃），方可将门打开约 10mm 缝隙，经 10 分钟左右再全开门；（6）灭菌物品需完全冷却后再从搁架上取下；（7）沸点低于水的液体，不得用常法进行压力蒸汽灭菌。

用于液体类物品灭菌的速冷式或压力平衡式压力蒸汽灭菌器的使用，应严格遵

照厂家说明书进行。

(六) 灭菌温度与时间

1、灭菌应按物品特性，在确保不使受损害情况下，选用适当温度进行。常用温度有 115°C 、 121°C 、 126°C 。温度过高可促使物品氧化损坏。

2、灭菌时间系指：当灭菌器柜室达到规定温度后为达到灭菌要求所需的持续时间。灭菌时间由以下3部分组成：(1) 热穿透时间，指物品中心达到规定温度所需的时间；(2) 热死亡时间，指微生物经某种温度作用被杀灭所需的时间，一般以细菌芽胞的热死亡时间为准；(3) 安全时间，为使灭菌得到确切保证所需增加的时间，一般为热死亡时间的50%。灭菌时间中变动较大的是热穿透时间。该时间可随物品的种类、包装、装放等不同而异。在确定灭菌时间时应对此加以注意。

3、医院常用医疗器材灭菌时间的确定，在合理包装和装放的情况下，可参考表1。

表1 各种物品在下排气压力蒸气灭菌时所需的灭菌时间

物 品	灭 菌 时 间 (分)	
	121°C	126°C
器 械 包	25	15
敷 料 包	30	20
贮槽装敷料	45	30
瓶装耐热药液 (500ml)	20	15
瓶装琼脂培养基 (500ml)	30	25
桶装废弃物 (桶高 25cm, 直径 28cm, 无盖)	60	55

注：器械包与敷料包体积不超过 $30 \times 30 \times 25\text{cm}$

对不耐热的输液制剂，如葡萄糖盐水等，玻璃瓶装的可用 115°C 灭菌 30 分钟；塑料袋装的可用 109°C 灭菌 45 分钟。

4、对不需预处理的物品或无法按规定要求包装、装放的物品，灭菌时间应根据实测结果确定。

5、灭菌时间的计算：应由柜室间温度与压力达到规定时始、灭菌半途，蒸气压力下降，或停气，应在恢复温度与压力后，重新开始。化学与生物指示剂亦应更换新的。

五、灭菌后处理：

灭菌后物品，按正常情况已属无菌，从灭菌器中取出应仔细检点放置，以免再度污染。

(一)物品取出，随即检查包装的完整性，若有破损不可作为无菌物品使用。

(二)取出的物品包，水分含量一般不得超过3%(手感干燥)。超过者应列为湿包，不可作为无菌物品使用。有明显水渍者亦不可作为无菌物品使用。

(三)物品用化学胶带贴封或其中放有化学指示剂者，应检查是否符合达到已灭菌色泽或状态。未达到或有疑点者，不可作为无菌物品使用。

(四)启闭式容器，在取出时应将筛孔关闭。

(五)取出的物品，掉落在地，或误放不洁之处，或沾有水液，均应视为受到污染，不可作为无菌物品使用。

(六)取出的灭菌合格物品，不得与未灭菌物品混放。

(七)凡属合格物品包，应标以灭菌批号、合格标志与失效日期。

(八)每批灭菌处理完成后，应按流水号登册，记录灭菌物品种类与数量、灭菌温度、作用时间、灭菌日期、失效日期与操作者等。有温度、时间记录装置的，应将记录纸归档备查。

(九)运送无菌物品的工具应每日清洗和消毒并保持清洁干燥。当遭受意外污染时，应立即进行清洗和消毒。物品应顺序摆放，并加防尘罩，以防再污染。

(十)灭菌合格物品应放在无菌物品贮存室内，该室应可关闭并经清洁与消毒处理，专室专用，限制无关人员出入。

(十一)灭菌后物品可用洁净透明塑料袋包好，置放柜橱内。柜橱应由不易吸潮及表面光洁的材料制成。表面应涂以不易刺蚀脱落的涂料，使之易于清洁和消毒。物品应贮放在离地高于20cm，离顶不少于50cm，离墙远于5cm处，以减少来自地面、屋顶与墙壁的污染。

(十二)物品应分类放置，顺序发放取用。超过有效期(炎热潮湿季节一般不超

过7日，寒冷干燥季节可延长到14日)的物品应立即停止发放。

六、灭菌效果监测：

对下排气压力蒸气灭菌的效果，可根据情况使用下列3种方法进行监测。

(一)工艺监测：又称程序监测，即按经过试验所确定的灭菌工艺和有关参数进行检查，以判断灭菌是否按照规定的条件进行。检查的主要项目有：物品的包装、物品的装放、排气情况、灭菌温度、灭菌时间等。此法应作为常规监测方法，每次灭菌时均应进行。

在手动操作灭菌时，每台灭菌器均应分别配备有必需的温度计和定时计。测定排气口温度所用的温度计，误差限于 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。控制灭菌时间的定时计，最小分度值不超过2分钟。温度计与定时计均应每半年校对一次。并作记录。

(二)化学指示剂监测：利用化学指示剂在一温度与作用时间条件下受热变色或变形的特点，以判断是否达到灭菌所需参数。化学指示剂既表达了达到的温度，又表达了作用的时间，是一种较好的指示剂。现用于下排气压力蒸气灭菌的化学指示剂有指示卡、指示管与指示胶带等。指示卡和指示管主要用于各物品包装的中心情况的监测；指示胶带除用于物品包装的表面情况的监测外，亦可用于对包装中心情况的监测。有条件的单位应将本法作为日常常规使用的监测手段。监测时应注意下列事项。

1、监测所用压力蒸气灭菌化学指示剂必须为经卫生部批准并发给卫生许可证者。所用指示剂不得超过产品规定的有效期。

2、用于 121°C 灭菌处理的化学指示剂，应在该温度作用20分钟时始表示出达到要求的标准变化。

3、用硫磺管、苯甲酸管与留点温度计测定的结果，因只表达所达到的温度，未表达作用时间的长短，故不作为灭菌合格的依据。

4、大手术包与敷料包应在每个包装中心放置指示剂。条件不具备的单位，可采用点状布置。即小型灭菌器选1个包装放入指示剂，置最底层中央；中型灭菌器选用3个包装放指示剂，上层中央放1个，下层前、后各放1个；大型灭菌器选5个包装放入指示剂，上层、中层的中央部位各放1个，下层前、中、后部位各放1个。

5、每次检测，只要有一个包中的化学指示剂未达到合格要求的变化，该次处

理的全部物品均应视为灭菌不合格。

(三)生物指示剂监测：利用对热耐受力较强的嗜热脂肪杆菌 (*Bacillus stearothermophilus* ATCC7953, SSIK 31)芽胞的死亡情况以判断灭菌是否成功。生物指示剂有芽胞悬液、芽胞菌片以及菌片与培养基混装的指示管。本法一般用于：①对新的包装容器、装放方式、排气方式与特殊物品灭菌工艺的确定；②新灭菌器灭菌效果的测定；③对日常使用的灭菌器进行定期(每季或每年半一次)检测。各地卫生防疫站对医院压力蒸气灭菌进行监测，应使本法。使用本法检测时注意下列事项。

1、所用生物指示剂芽胞含量应为 $5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8$ 个。指示剂中的芽胞，D值(减少90%所需的时间)应为1.3~1.9分钟，存活时间(即无死亡时间)大于或等于3.9分钟，死亡时间(即全部芽胞死亡所需作用时间)小于或等于19分钟。

2、检测时，生物指示剂应置于物品包装的中心部位。

3、对卧式灭菌器检测时，应使用标准试验包。标准试验包由3件平纹长袖手术衣、12条布巾、30块纱布敷料(每块 $10 \times 10\text{cm}$)组成，外用双层平纹细布包裹。每个包的中心部位置生物指示剂2个。测试时，对2层装灭菌柜室设3个点，上层中央部位1个点，下层前、后部位各1个点；对3层装灭菌柜室，设5个点，上层与中层的中部各1个点，下层前、中、后各1个点。

4、灭菌后，随物品取出生物指示剂，接种于溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨水培养基中，在55~60℃温箱中培养7天，观察最终结果。如有嗜热脂肪杆菌生长，培养基由紫色变为黄色。

5、溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨水培养基的配制方法为：①加蛋白胨10g，葡萄糖5g于1000ml蒸馏水中；②调pH至7.0~7.2；③加2%溴甲酚紫酒精溶液0.6ml；④置压力蒸气灭菌中，于115℃灭菌30分钟；⑤置冰箱(4℃)备用。

6、检查结果应作记录，包括：检验日期，灭菌器编号，灭菌温度，灭菌时间，指示剂来源、批号和有效期，培养温度，培养时间，观察结果与检验者。

7、每次检测，只要有一个菌片长菌，该次处理的全部物品均应视为灭菌不合格。

预真空压力蒸气灭菌

一、原理：

将灭菌器与拟灭菌物品中的空气先用抽气机抽出，而后送入蒸气进行灭菌，以加快处理速度，改进效果。本法因需抽负压，故不适用于对液体类物品的处理。

二、设备与蒸气

(一)预真空式压力蒸气灭菌器：以卧式压力蒸气灭菌器主体为基础，加强负压耐受力 and 密封性能，空气进气口设高效除菌滤器，并配以抽气机。抽气机可将柜室内压力一次抽成 $-99.33 \sim -98.66 \text{ kPa}$ (相当于抽负压至 $16 \sim 20 \text{ mmHg}$)，相当于抽除空气的 98%。一般还附设有自动电子程序控制装置与自动温湿度记录仪。

(二)脉动真空式压力蒸气灭菌器：结构与预真空式压力蒸气灭菌器相同，但抽气机性能只可将柜室压力抽成 $-93.33 \sim -90.66 \text{ kPa}$ (相当于抽负压至 $60 \sim 80 \text{ mmHg}$)。为此，需重复抽气三四次始可将空气抽到规定程度。其自动电子程序控制按相应要求设置。

(三)蒸气：与下排气压力蒸气灭菌相同(见 1.1.2.4)。

三、灭菌前准备：

在清除污染、包装、装放与设备检查等方面，与下排气压力蒸气灭菌的要求基本相同，但有下列相异。

(一)由于空气经抽气机抽出，形成负压较强，故在包装方面对空气排出和蒸气进入条件的要求可较下排气压力蒸气灭菌适当放宽。包装与容器只要不是密不透气即可。

(二)在物品装放方面，对蒸气与空气流通条件的要求，一般不可必考虑。总装量不得超过柜室容积的 90%，但亦不得少于柜室容积的 10%，以防止“小装量效应”而影响灭菌效果。“小装量效应”可用脉动法排气以克服。

(三)在设备检查方面，除下排气压力蒸气灭菌器所需项目外，应特别注意设备的密闭性与抽气机的效能。漏气量在达到规定真空度后，每分钟负压升高不应超过 -0.13 kPa (1 mmHg)。抽气机所形成的最低负压，在预真空压力蒸气灭菌时不得高于

-98.66kPa(20mmHg负压), 在脉动真空压力蒸气灭菌不得高于 -90.66kPa(80mmHg负压)。

四、灭菌处理

(一)预真空式压力蒸气灭菌器的使用应按下列步骤进行: (1)装放拟灭菌物品; (2)关妥柜门; (3)将蒸气通入夹层, 使压力达到107.88kPa(1.1kg/cm²), 进行预热; (4)开动抽气机, 抽除柜室内空气, 使压力降至-99.33~-98.66kPa(15~20mmHg负压); (5)停止抽气, 通蒸气入柜室; (6)待柜内压力达182.41~199.08kPa(1.86~2.03kg/cm²), 相当于132~134℃, 使保持恒定; (7)持续维持温度4~6分钟; (8)抽除柜室内蒸气, 使压力降至-95.99~-94.66kPa(40~50mmHg负压), 以干燥物品; (9)打开进气阀, 使空气经高效滤器进入柜室, (10)待柜室内外压力平衡、温度下降到60℃, 开门取物。

(二)脉动真空式压力蒸气灭菌器的使用 应按下列步骤进行: (1)装放拟灭菌物品; (2)关妥柜门; (3)将蒸气通入夹层, 使压力达到107.88kPa(1.1kg/cm²), 进行预热; (4)开动抽气机, 抽除柜室内空气, 使压力降至-93.33~-90.66kPa(60~80mmHg负压); (5)停止抽气, 通蒸气入柜室使压力回升至49.04kPa(0.5kg/cm²); (6)停止输入蒸气, 再开动抽气机抽气, 如此反复三四次; (7)最后一次输入蒸气, 使压力达182.41~199.08kPa(1.86~2.03kg/cm²), 相当于132~134℃, 保持恒定; (8)持续维持温度4~6分钟; (9)抽除柜室内蒸气, 当压力降至-93.33~-90.66kPa(60~80mmHg负压), 打开进气阀, 使空气经高效滤器进入柜室至内外压力平衡; (10)重复上述抽气进气操作一、二次; (11)待柜室内外压力平衡、温度下降到60℃, 开门取物。

(三)灭菌温度与时间: 预真空压力蒸气灭菌, 由于柜室内空气抽除较彻底, 物品氧化轻微, 故灭菌温度可提高至132~134℃。灭菌时, 因柜室有较大负压, 热穿透时间只需1分钟。细菌芽孢在132~134℃时的热死亡时间仅需3~4分钟。故而, 全部灭菌时间仅需4~6分钟。物品性质、包装方法与装放方式, 对所需灭菌时间的影响不明显。

五、灭菌后处理：

与下排气压力蒸气灭菌相同（见 1.1.5~1.1.5.12）。

六、灭菌效果监测：

对预真空压力蒸气灭菌的效果，可根据情况使用下列两种方法进行监测。

（一）工艺监测：方法同下排气压力蒸气灭菌。

（二）化学指示剂监测：方法与下排气压力蒸气灭菌基本相同（同下排气压力灭菌）。但除使用指示卡，指示管与指示胶带进行包内外灭菌温度和作用时间的监测外，还可进行 B-D(Bowie-Dick) 试验。

B-D 试验主要用于测定预真空压力蒸气灭菌时，柜室内在灭菌过程中有无残留的冷空气聚集点。试验可用专门的指示图或指示胶带十字交叉贴成“米”字形（23×30cm），放于试验包中央部位。灭菌处理后（134℃，3~3.5分钟），若有颜色未变至要求程度部位，即为冷空气聚集点，说明空气未排尽。

II、紫外线消毒技术

一、紫外线消毒灯

（一）根据波长可将紫外线分为 A 波、B 波、C 波和真空紫外线，消毒灭菌使用的紫外线是 C 波紫外线，其波长范围是 200~275nm，杀菌作用最强的波段是 250~270nm，消毒用的紫外线光源必须能够辐射较高强度的杀菌紫外线。

（二）制备紫外线消毒灯，应采用石英玻璃或其他对 C 波紫外线透过率高的玻璃，以期得到较强的紫外线辐射能量。

（三）紫外线消毒灯可以配用对紫外线反射系数高的材料（如抛光铝板）制成的反射罩。

（四）紫外线消毒灯的杀菌紫外线输出能量应不低于其功率的 18%，即功率为 10W 的紫外线消毒灯，辐射的 253.7nm 紫外线总能量应在 1.8W 以上，15W 者应在 2.7W 以上，30W 者应在 5.4W 以上，在当前缺乏理想的测量紫外线消毒灯的杀菌紫外线输出能量

的情况下，要求用于消毒的紫外线灯在电压为220V时，辐射的253.7nm紫外线强度不得低于 $70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ （普通30W直管紫外线灯在距灯管1米处测定，特殊紫外线灯在使用距离处测定，使用的紫外线测强仪必须是经过标定的）。

（五）紫外线灯使用过程中其辐射强度逐渐降低，故应经常测定消毒紫外线的强度，一旦降到要求的强度以下时，应及时更换。

（六）紫外线消毒灯的使用寿命，即由新灯的强度降低到 $70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 的时间（功率 $>30\text{W}$ 的灯），或降低到原来新灯强度的70%（功率 $\leq 30\text{W}$ 的灯）的时间，应不低于1000小时。

（七）目前我国使用的紫外线消毒灯有下述几种。

1、普通热阴极低压汞紫外线消毒灯，灯管采用石英玻璃或其他对紫外线透过率高的玻璃制成，目前有功率为40W、30W、20W、15W等规格，要求出厂新灯辐射253.7nm紫外线的强度（在距离1米处测定，不加反射罩）为：功率 $\geq 30\text{W}$ 灯， $\geq 100 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ；功率 $\geq 20\text{W}$ 灯， $\geq 70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ；功率15W灯， $\geq 30 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。

由于这种灯在辐射253.7nm此外线的时候，也辐射一部分184.9nm紫外线，故可产生臭氧，要求臭氧产量为5~25mg/h。

2、高强度紫外线消毒灯，要求辐射253.7nm紫外线的强度（在距离1米处测定）为：功率 $\geq 30\text{W}$ 灯， $\geq 200 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ；10W灯， $\geq 60 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。

3、低臭氧紫外线消毒灯，也是热阴极低压汞灯；可为普通直管型或H型，由于灯管玻璃中含有可吸收波长 $<200\text{nm}$ 紫外线的氧化钛，故臭氧产量很低，要求臭氧产量 $<1\text{mg}/\text{h}$ 。

4、高臭氧紫外线消毒灯，由于采取了特殊的工艺，这种灯产生较大比例的波长184.9nm的紫外线，故臭氧产量较大（ $>25\text{mg}/\text{h}$ ）。

二、使用范围及条件

（一）紫外线可以杀灭各种微生物，包括细菌繁殖体、芽胞、分枝杆菌、病毒、真菌、立克次体和支原体等，凡被上述微生物污染的表面，水和空气均可采取紫外线消毒。

（二）紫外线辐射能量低，穿透力弱，仅能杀灭直接照射到的微生物，因此消毒

时必须使消毒部位充分暴露于紫外线下。

(三)紫外线消毒纸张、织物等粗糙表面时，要适当延长照射时间，且应使其两面均受到照射。

✓ (四)紫外线消毒的适宜温度范围是 $20 \sim 40^{\circ}\text{C}$ ，温度过高过低均会影响消毒效果，可适当延长消毒时间，用于空气消毒时，消毒环境的相对湿度应低于60%。否则应延长照射时间。

(五)用紫外线杀灭被有机物保护的微生物时，应加大照射剂量。空气和水中的悬浮粒子也可影响消毒效果，消毒时应予以注意。

三、使用方法

(一)对物体表面的消毒

1、照射方式：可采取悬吊式照射，移动式照射或紫外线消毒箱内照射。

2、照射剂量和时间：不同种类的微生物对紫外线的敏感性不同，用紫外线消毒时必须使用照射剂量达到杀灭目标微生物所需的照射剂量。

杀灭一般细菌繁殖体时，应使照射剂量达到 $20000 \mu\text{W} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$ ；杀灭细菌芽胞时应达到 $100000 \mu\text{W} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$ 。一般病毒对紫外线的抵抗力介于细菌繁殖体和芽胞之间，真菌孢子的抵抗力比细菌芽胞更强，常需要照射到 $600000 \mu\text{W} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$ ；在消毒的目标微生物不详或要杀灭多种病毒或细菌时，照射剂量不应低于 $100000 \mu\text{W} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$ 。

照射剂量是所用紫外线光源的辐射强度和照射时间的乘积。因此，根据紫外线光源的辐射强度，可以计算出需要照射的时间。例如，用 $70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 的紫外线灯消毒物体表面，选择的照射剂量 $100000 \mu\text{W} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$ ，则需照射的时间是： $100000 \mu\text{W} \cdot \text{s}/\text{cm}^2 / 70 \mu\text{W}/\text{cm}^2 = 1429 \text{秒} = 24 \text{分钟}$ 。因此要求：所用紫外线消毒灯的辐射强度不应小于 $70 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ，照射时间不应小于25分钟。所用紫外线光源强度高时可适当减少照射时间，消毒条件不理想时应适当延长照射时间。

3、效果标准：无论采取何种方法，要求按规定的时间消毒后，照射表面的自