

# 消毒知识及技术操作规范讲义

北京市卫生防疫站消毒科

1988. 9

# 目 录

第一章 消毒及其有关基本概念	1
第一节 基本概念	1
一 消毒和消毒剂	1
二 灭菌和灭菌剂	1
三 防腐和防腐剂	1
四 保存	1
五 杀微生物剂	1
六 杀菌剂	2
七 杀真菌剂	2
八 杀病毒剂	2
九 杀芽孢剂	2
十 清洁法	2
十一 杀菌效果和杀灭率	2
十二 杀灭指数	2
十三 K 值	2
十四 D 值	2
第二节 消毒方法	3
一 物理消毒法	3
二 化学消毒法	3
第三节 影响消毒效果的因素	4
一 消毒剂方面的因素	4
二 环境因素	4
三 微生物方面的因素	5
第四节 消毒的机理	5
一 对细胞壁的作用	5
二 对细胞浆膜的作用	5
三 对细胞内各种成分的作用	5
第二章 热力消毒和灭菌	6
一 热杀灭微生物的机理	6
二 热对微生物的杀灭作用	6
三 微生物热灭活的影响因素	7
四 热力消毒和灭菌的方法	8
五 热力消毒和灭菌效果的测定	12
第三章 紫外线辐射消毒	13
一 紫外光源	13
二 紫外线灭活微生物的机理	13
三 影响紫外线消毒作用的因素	13
四 紫外线使用范围及条件	15

五	辐射剂量和时间.....	16
六	紫外线灯消毒与灭菌的实际应用.....	16
七	消毒效果监测方法.....	17
八	注意事项.....	17
<b>第四章</b>	<b>常用各类消毒剂.....</b>	<b>18</b>
一	醛类消毒剂.....	18
二	常用含氯消毒剂.....	20
三	烷基化气体消毒剂：环氧乙烷.....	23
四	乙醇.....	26
五	过氧化酸.....	26
六	过氧化氢.....	27
七	煤酚皂溶液（来苏儿）.....	28
八	碘酊.....	28
九	碘状.....	28
<b>第五章</b>	<b>微生物污染监测技术规范.....</b>	<b>29</b>
一	物体表面和医护人员手细菌污染的监测.....	29
二	空气中细菌含量的监测.....	29
三	消毒剂使用过程中染菌量的监测.....	29
四	沙门氏菌污染监测.....	30
五	大肠菌群污染监测.....	30
六	化脓菌监测.....	31
<b>第六章</b>	<b>压力蒸汽灭菌操作规范.....</b>	<b>33</b>
一	灭菌前准备.....	33
二	灭菌操作.....	35
三	灭菌后处理.....	37
四	质量监测和控制.....	37
五	质量监控用的仪表和指示剂.....	39
六	设备的维护保养.....	40
七	撤回处理.....	40
<b>第七章</b>	<b>紫外线消毒技术规范.....</b>	<b>40</b>
一	紫外线的一般要求.....	40
二	消毒效果监测方法.....	41
<b>第八章</b>	<b>消毒剂实验技术规范.....</b>	<b>43</b>
一	通则.....	43
二	定性消毒试验.....	46
三	定量消毒试验进行活菌.....	46
四	载体消毒试验.....	47
五	气体消毒试验.....	47
六	影响消毒效果有关因素的实验.....	47
七	现场消毒试验.....	49

# 第一章 消毒及其有关基本概念

## 第一节 基本概念

### 一、消毒和消毒剂：

#### (一) 消毒：

消毒是指清除或杀灭外环境中的病原微生物及其它有害微生物。这里所说的“外环境”，最初仅指无生命的表面和物体。但近年来，一般将清除或杀灭体表皮肤粘膜及表浅体腔的有害微生物亦称为消毒，在对“消毒”一词的含义的理解上，有两点需要强调：一是消毒是针对病原微生物和其他有害微生物的，并不要求消除或杀灭所有微生物；二是消毒是相对的而不是绝对的，它只要求将有害微生物的数量减少到无害的程度，而并不要求把所有有害微生物全部杀灭。

按照消毒的目的，可将消毒分为两类：

#### 1. 疫源地消毒

##### ①随时消毒：

②终末消毒：是指传染源离开疫源地后对疫源地进行的最后一次消毒，需要进行终末消毒的有霍乱、伤寒、副伤寒、细菌性痢疾、病毒性肝炎、脊髓灰质炎、肺结核、炭疽等。这些疾病的病原体在外环境中的抵抗力都比较强，所以需要进行终末消毒。

2. 预防性消毒：没有明确的传染源存在，对可能受到病原微生物或其他有害微生物污染的场所和物品进行的消毒，称为预防性消毒。例如：医院非传染病区、门诊部、办公室、医疗器械、公用物品的消毒、公共场所、交通工具、饮水消毒、餐具消毒等，均为预防性消毒。

#### (二) 消毒剂：

按照惯例，用于杀灭无生命物体上微生物的化学药物，称为消毒剂，但从广义上讲，一些用于杀灭皮肤粘膜上微生物的药品有时亦称为消毒剂。

#### 二、灭菌和灭菌剂：

灭菌：用物理或化学的方法消除或杀灭一切活的微生物，包括致病性微生物和非致病性微生物，称为灭菌。

灭菌剂：是指能杀灭一切微生物（包括细菌繁殖体、芽胞、真菌、病毒等）的药物。医学上常用的灭菌剂有环氧乙烷、甲醛、戊二醛、乙型丙内酯、过氧乙酸等。从广义上讲，灭菌剂亦包括那些能达到同样作用的物理方法，例如：热力灭菌、电离辐射灭菌、紫外线灭菌、过滤除菌等。一般来说，既能杀灭繁殖体又能杀灭芽胞的药物或物理因子，才能称为灭菌剂。

#### 三、防腐和防腐剂：

防腐：杀灭或抑制活组织上微生物的生长繁殖，以防止其感染。

防腐剂：是指用于破坏或抑制活组织上微生物，以防止其感染的化学药物。一种药物如果不能杀灭微生物仅能抑制其生长繁殖，则不能称为消毒剂，但可以作为防腐剂。大多数防腐剂在一般情况下是杀菌的，但在另一些情况下则仅有抑菌作用，这取决于使用的浓度，PH、温度、微生物的种类等因素。

#### 四、保存：

用化学或物理因子防止物质的生物学腐败，称为保存。

#### 五、杀微生物剂：

能够破坏微生物，尤其是致病性微生物的药物，称为杀微生物剂。这类药物基本上无杀灭芽胞的能力，但可用于活组织和无生命的表面。

#### 六、杀菌剂：

指杀灭细菌的药物，可以杀灭致病菌，但基本上不包括杀灭细菌芽孢。用于无生命的表面和有生命的组织。

#### 七、杀真菌剂

指杀灭真菌的化合物。可以应用于有生命的活组织和无生命的表面。亦可杀灭真菌孢子。

#### 八、杀病毒剂：

指破坏或灭活病毒的药物，特别指用于活组织的药物。

#### 九、杀芽胞剂：

指杀灭芽孢的药物，尤其是指杀灭细菌芽孢和真菌孢子，一般是用于无生命的物体。因为芽孢比繁殖体型微生物的抵抗力强，所以杀芽胞剂是灭菌剂。

#### 十、清洁法：

是指将物体上细菌污染的数量，降低到公共卫生规定的安全水平以下的方法。常指清洁无生命物体。例如，餐具、茶具、奶房用具。主要清洁操作，有时清洗和抗菌结合。

#### 十一、杀菌效果和杀灭率：

两者都用于表示消毒效果，但表达的方式不同。GE（杀菌效果）用消毒后菌数比消毒前（或对照组）菌数减少的对数值表示；杀灭率（KR）用消毒过程中杀灭微生物的百分率表示。

$$GE = \log N_c - \log N_D$$

$$KR = \frac{N_c - N_D}{N_c} \times 100\% \quad N_c: \text{消毒前(或对照组)菌数} \\ N_D: \text{消毒后菌数。}$$

类似的指标还有：

清除率：指清除掉微生物的百分率。

阻留率：指过滤除菌时、微生物被阻留的百分率。

衰亡率：指微生物自然死亡的百分率。

消亡率：指空气中微生物沉降与死亡和占有原有微生物数的百分率。

#### 十二、杀灭指数：(KI)

是指消毒后微生物的减少程度。 $KI = N_c/ND$

#### 十三、K值：

K值表示消毒的速度。在处理消毒试验数据时，将存活微生物的对数值与消毒作用的时间相对应作图，往往可得到一条直线，此直线的斜率即为该消毒方法的速度常数（K值）。K值越大，表示消毒的速度越快。

$$K = -\frac{I}{t} \lg \frac{N_0}{N_t}$$

式中：t：消毒作用的时间。

N<sub>0</sub>：消毒前微生物数。

N<sub>t</sub>：消毒到t时间时存活微生物数。

#### 十四、D值：

指杀灭90%微生物所需要的时间。若某消毒方法的D值为10，则表示作用10分钟，杀灭率可达到90%。D值越大、消灭微生物的速度越慢，D值为K值的倒数。

## 第二节 消毒方法

### 一、物理消毒法：

用物理因素杀灭或清除病原微生物及其它有害微生物，称为物理消毒法。常用的物理消毒法有以下几种：

1. 自然净化：污染于大气、地面、物体表面和地面水体的病原微生物，不经人工消毒亦可以逐步达到无害，这是靠大自然的净化作用，有关因素为日晒、雨淋、风吹、干燥、温度、湿度、空气中杀菌性化合物、水的稀释作用，PH的变化，水中微生物的拮抗作用等。自然净化不属于人工消毒，但消毒学上是可以利用的。

2. 机械除菌：是用机械的方法从物品表面、水、空气、人畜体表除掉污染的有害微生物。虽然不能将病原微生物杀灭，但可大大减少其数量，减少受感染的机会。常用的方法有冲洗、刷、擦、抹、扫、铲除，通风和过滤。这些方法具有简单、方便、实用、廉价的优点。

3. 热力灭菌。

4. 辐射灭菌：包括紫外线灭菌和电离辐射灭菌。

5. 超声波消毒：超声波对各种微生物都有一定的破坏作用，但单独应用消毒效果不可靠，故常与其他消毒方法伍用，起增效作用。

6. 微波消毒：可杀灭各种微生物，用于医药工业上的灭菌和医疗物品的灭菌。

### 二、化学消毒法：

使用化学消毒剂进行消毒，称为化学消毒法。

(一) 理想的化学消毒剂的条件：理想的化学消毒剂应具备下述条件：1. 杀菌谱广2. 有效浓度低3. 作用速度快4. 性质稳定5. 易溶于水6. 可在低温下使用7. 不易受有机物、酸、碱及其他物理、化学因素的影响8. 对物品无腐蚀性9. 无色、无味、无臭，消毒后易于除去残留药物。10. 毒性低，不易燃烧爆炸，使用无危险性11. 价格低廉12. 易于运输，可以大量供应。

(二) 消毒剂的作用水平：各种消毒剂可按其作用水平分为高、中、低三类。

1. 高水平消毒剂：可以杀灭一切微生物，包括细菌繁殖体、细菌芽孢、真菌、结核杆菌、亲水病毒，亲脂病毒。这类消毒剂可以用作灭菌剂，例如甲醛、戊二醛、过氧乙酸、环氧乙烷、有机汞化合物等。

2. 中等水平消毒剂：除不能杀灭细菌芽孢之外，可杀灭其他各种微生物。例如乙醇，酚，含氯消毒剂、碘消毒剂等。

3. 低效消毒剂：可杀灭细菌繁殖体，真菌和亲脂病毒，但不能杀灭细菌芽孢、结核杆菌和亲水病毒。例如新洁尔灭、洗必太等。

### (三) 消毒剂的种类：

目前使用的消毒剂有数十种，按其化学结构可以分为下述十余类：

1. 醛类：包括甲醛、戊二醛。醛类消毒剂是高效消毒剂，其气体和液体均有强大的杀微生物作用。

2. 烷基化气体消毒剂：主要的烷基化气体消毒剂有环氧乙烷、环氧丙烷、乙型丙内酯、和溴化甲烷。这类消毒剂亦是高水平消毒剂，可杀灭各种微生物，用于工业灭菌和医学消毒及灭菌。

3. 含氯化合物：用于消毒的含氯化合物种类很多，主要有：漂白粉、次氯酸钙、二氧化氯、液氯、二氯异氰尿酸钠、氯胺T。这类消毒剂为中等水平消毒剂。常用于水的消毒，在医院消毒和疫源地消毒中也常应用。

4. 含碘化合物：常用的含碘消毒剂有：游离碘、碘仿等。大多数为中效消毒剂，少数为低效，常用于皮肤粘膜消毒。

5. 酚类：包括酚（又称石炭酸）、甲酚、氯甲酚、六氯双酚、煤酚皂溶液（来苏儿）。这类消毒剂大多有中等水平的消毒作用，可杀灭繁殖体型微生物，但不能杀灭芽胞，常用于浸泡消毒和皮肤粘膜的消毒。

6. 醇类：用于消毒的醇类化合物有：乙醇、甲醇、异丙醇、醇类消毒剂为中效消毒剂，可杀灭繁殖体型微生物，但不能杀灭芽胞。这类消毒剂作用比较快，常用于皮肤消毒和物品表面消毒；在医院常规消毒中应用广泛。

7. 季铵盐类化合物：这类化合物是阳离子表面活性剂，用于消毒的有：新洁尔灭、度米芬、消毒净。这类化合物对细菌繁殖体有广谱杀灭作用，且作用快而强，毒性亦较小。但属于低效消毒剂，不能杀灭结核杆菌、细菌芽胞和亲脂性病毒。常用于皮肤粘膜和外环境表面的消毒。

8. 酸类和酯类：常用的有：乳酸、醋酸、水杨酸，苯甲酸。这类化合物虽有杀菌或杀真菌作用，属于低效消毒剂。

9. 过氧化物类：常用的有三种：过氧乙酸、过氧化氢、臭氧，均为高效消毒剂。

10. 二胍类：是一类低效消毒剂。虽对细菌繁殖体杀菌作用强大，但不能杀灭细菌芽胞、分枝杆菌和病毒。用于皮肤粘膜消毒，亦可消毒物体表面。常用的有洗必太。

11. 金属制剂：用于消毒的金属类消毒剂有：汞盐、氯化汞铵、氯化汞、有机汞类等。这些化合物多用于皮肤粘膜的消毒和防腐。

### 第三节 影响消毒效果的因素

#### 一、消毒剂方面的因素：

##### （一）消毒剂的种类：

针对所要杀灭的微生物特点，选择合适的消毒剂是消毒工作成败的关键。如果要杀灭细菌芽孢或肝炎病毒，则必须选择高效的化学消毒剂或能达到灭菌的物理消毒法，才能取得可靠的消毒效果。

##### （二）消毒剂的配方

正确的方剂是有效地使用消毒剂的关键。

##### （三）消毒剂的浓度：

一般来说，随着消毒剂浓度的增加，消毒作用加强。但各种消毒剂受浓度影响的程度不同。

#### 二、环境因素：

##### （一）温度：

消毒速度一般随温度的升高而加快，但温度的变化对各种消毒剂影响的大小不同。一般来说，如果温度按等差级数增加，则杀菌速度按几何级数增加。测定温度对消毒效果的影响常用温度系数Q或Q<sub>10</sub>值。

##### （二）环境PH：

PH的改变可以从两方面影响杀菌作用：一是对消毒剂的作用，可以改变其溶解度、离解程度和分子结构。二是对微生物的影响，微生物能生长的PH范围是6~8，PH过高或过低对

微生物的生长均有影响。

### (三) 有机物：

有机物常以下述形式出现：血清、血液、脓液、痰液、泥土、食物残渣、粪便、奶石（干燥的乳渣）、培养基成份等。有机物的存在可以干扰消毒剂的杀微生物作用，其原因是：

1. 有机物在微生物的表面形成一层保护层，妨碍消毒剂与微生物的接触，或延迟消毒剂的作用，以致于微生物逐渐产生对药物的适应性。

2. 有机物和消毒剂作用形成溶解度比原来更低或杀菌作用比原来更弱的化合物。当不溶性化合物形成后，又能与细菌的其它物质一起对微生物起机械保护作用。

3. 一部分消毒剂与有机物发生了作用，则对微生物的作用浓度降低。

4. 有机物可中和一部分消毒剂。

### (四) 表面活性剂和金属离子。

### (五) 湿度：

湿度对许多气体消毒剂的作用有显著的影响。这种影响来自两方面：一是消毒物品的湿度，它直接影响到微生物的含水量。用环氧乙烷消毒时，若细菌含水量太多，则需要延长消毒时间；细菌含水量太少时，消毒效果亦明显降低；完全脱水的细菌用环氧乙烷无法将其杀灭。二是消毒环境的相对湿度。每种气体消毒剂都有其适宜的相对湿度（RH范围）。

## 三、微生物方面的因素：

### (一) 微生物的类型：

不同类型的微生物对消毒剂的抵抗力不同，因此进行消毒时必须选择合适的消毒剂。

1. 革兰氏阳性菌：一般来说，G<sup>+</sup>菌比G<sup>-</sup>菌对消毒剂更敏感，这主要是由于细胞包膜的构成不同。G<sup>+</sup>菌胞壁的基本构成为肽聚糖，是一层很厚的纤维层，固定肽聚糖的是其它分子，例如磷壁酸和糖醛磷壁酸、类脂等。许多抗菌物质必须穿透外层和细胞浆膜以到达其作用位点。在G<sup>-</sup>菌存在一个由丰富类脂的包膜形成的阻止抗菌物质进入的栏栅，而在G<sup>+</sup>菌则无。

2. 革兰氏阴性菌：G<sup>-</sup>菌，尤其是大肠杆菌、克雷白氏菌、变形杆菌、粘质沙雷氏菌、绿脓杆菌是医院内感染的重要病原菌，它们对多种抗菌剂和消毒剂比G<sup>+</sup>菌抵抗力强。尤其是绿脓杆菌，它对消毒剂的抵抗力显著高于其他菌。

3. 分枝杆菌：分枝杆菌对消毒剂的抵抗力是中等的，介于细菌繁殖体和芽孢之间。分枝杆菌比其他细菌的抵抗力强，和其胞壁结构有很大关系。

4. 细菌芽孢：大多数消毒剂是不能杀灭细菌芽孢的。

5. 真菌：许多消毒剂具有抗菌和抗真菌作用。

6. 病毒：大多数消毒剂可以杀灭病毒。

### (二) 微生物的数量：

一般来说，污染的微生物数量越多，消毒越困难。

## 第四节 消毒的机理。

### 一、对细胞壁的作用。

### 二、对细胞浆膜的作用。

(一) 细胞内组分的漏出和胞膜通透性的改变。

(二) 对膜酶的干扰。

### 三、对细胞浆内各种成分的作用：

### (一) 对胞浆成份的不可逆凝集作用。

在高浓度消毒剂的作用下，可以发生这种严重的损伤。大多数消毒剂，例如酚类、汞类、洗必太等均有凝固胞浆蛋白的作用。

### (二) 对代谢和酶的作用。

### (三) 对核酸的作用。

有些消毒剂能影响核酸的生物合成和功能。

### (四) 对核糖体的作用。

## 第二章 热力消毒和灭菌

### 一、热杀灭微生物的机理。

#### (一) 对蛋白质的作用：

蛋白质是细菌的主要成份：

①蛋白质是细菌基本结构的组成部分。

②与细菌的能量、代谢、营养、解毒及稳定内环境密切有关的酶，亦是由蛋白质构成，因此、破坏了微生物的蛋白质、抑制了一种或多种酶的活性，即可导致微生物的死亡。

1. 干热对蛋白质破坏机理：主要是氧化作用，干燥的细胞不具备生命的功能，在缺乏水分的情况下，酶亦无活力，甚至内源性分解代谢也停止了，这样导致的微生物死亡是由于氧化作用。

2. 湿热杀灭微生物的基本原理：微生物受到热力的作用时，其蛋白质分子运动加速，互相撞击，可致连接肽链的肽键断裂，使其分子由有规律的紧密结构变成无秩序的，散漫结构，大量的疏水基暴露于分子表面，并互相结合成为较大的聚合体而凝固、沉淀。

#### (二) 对细胞壁和细胞膜的损伤：

细菌的胞壁和胞膜是热力的重要作用点。细菌可由于热损伤胞壁和胞膜而死亡。

#### (三) 对核酸的作用：

热可以灭活微生物的核酸。

### 二、热对微生物的杀灭作用：

热可以杀灭各种微生物，但不同种类的微生物对热的耐受力不同，细菌芽孢的抵抗力比其繁殖体抗热力强得多，而且热对同种微生物的不同发育阶段的杀灭作用不同，一般来说，在最适宜温度下培养的微生物和老的微生物抗力大，不易杀灭。这可能与较老的细菌含水量较少有关。在不同温度下培养的微生物对热的抵抗力也不同。热对各种微生物的杀灭作用见表1

表1. 热对不同抵抗力微生物的致死时间

抵抗力类型	微生物	热致死时间(分)				
		煮沸 100°C	高压蒸气 121°C	高压蒸气 130°C	干热 160°C	干热 180°C
弱	非芽胞菌 病毒 真菌和酵母菌 (包括孢子)	2	1	<1	3	<1
较弱	肝炎病毒 黄丝衣菌属(孢子) 产气荚膜杆菌(芽胞)	5	2	<1	4	
中等	腐败梭状杆菌(芽胞) 炭疽杆菌芽胞	10	3	<1	6	<1
高度	破伤风杆菌(芽胞)	60	5	1	12	2
特高	类脂嗜热杆菌芽胞 肉毒杆菌芽胞	500	12	2	30	5
	泥土嗜热杆菌芽胞	>500	25	4	60	16

### 三、微生物热灭活的影响因素:

#### (一) 影响微生物对热抵抗力的因素:

1. 微生物的种类: 不同种类的微生物或同种微生物不同的株, 对热的抵抗力有很大的差别。这种抗热力的大小是由遗传学决定的。因此, 用热杀灭不同种属微生物时, 需要选用合适的处理温度和时间。

#### 2. 微生物的营养条件:

不同营养条件下生长的微生物的抗热力不同, 不同的培养基成份, 例如糖, 氨基酸, 脂肪酸, 阳离子, 磷酸盐等, 均可影响微生物的生长数量, 亦可影响微生物的抵抗能力。

#### 3. 生长温度的影响:

微生物生长环境的温度对其抗热力有明显的影响, 例如: 枯草杆菌芽孢5230株在37°C生长比在30°C生长的抗热力大。

#### 4. 菌龄和生长阶段:

一般认为: 成熟的微生物比未成熟的微生物抵抗力大。繁殖体型微生物在不同生长阶段对热的抵抗力亦不相同。

#### 5. 化学状况:

化学处理可以改变芽孢的抗热能力。细菌芽孢有一个可逆的阳离子转换系统。 $\text{Ca}^{2+}$ 离子可使芽孢的抗热力增强, 而水合氯离子可使芽孢的抵抗力降低。处于两种状态的芽孢之间对湿热的D值相差大于10倍。

#### (二) 微生物所处的环境:

1. 有机物的影响: 混在血清, 蛋白质, 糖等物质内的微生物对热的抵抗力增加。然而, 在某些情况下, 有些糖似乎可降低微生物对热的抵抗力。例如: 当有葡萄糖和果糖存在时, 枯草杆菌芽孢对干热D<sub>160</sub>值降低3倍。但是, 当存在蔗糖时, 同一种芽孢的D<sub>160</sub>值增加3倍。

2. 物体的表面性质: 污染在不同物体表面的微生物对热的抵抗力不同。例: 污染在3种不同载体上的微生物, 加热时其D值依次为: 沙>玻璃>纸。一般认为: 这种差别是由于不同表面性质使芽孢所处微环境的活性水不同所致。

#### (三) 加热环境的影响:

1. PH和离子环境：一些研究证明，介质液的PH缓冲成份，氯化钠，阳离子，溶液的类型等，对热力消毒均有一定影响。一般来说，磷酸盐缓冲能降低芽胞对湿热的抵抗力，但对菌株的影响程度不同。液体中的钙离子对细菌芽胞有提高抗湿热能力的作用。

## 2. 活性水和相对湿度：

活性水：是指微生物细胞或芽胞里面可利用的相对的水。是一个理论上的名称，不能直接测定。如果微生物细胞或芽胞的含水量是和周围环境的水分相平衡的话，则在理论上微生物的Aw等于外部的RH。一般认为微生物的抗热力在干热(Aw<1.0)比在湿热(Aw=1.0)时强。相对湿度：指实际水蒸汽的压力和在同一条件下饱和水蒸气压力之比。RH可用干湿球湿度计测定，一般用百分数表示，亦可用小数表示。RH指示微生物周围大气中水份的状况。RH越高灭菌效果越好。

3. 温度：温度表示热能的水平，是热力消毒和灭菌的主要因素。无论是干热还是湿热，均是随温度的升高，微生物灭活的速度加快。

4. 气压：气压直接影响着水及蒸气的温度，气压越高，水的沸点越高。故煮沸消毒时在高原上应适当延长灭菌时间。高压灭菌时，对微生物发生致死作用是热力而不是压力，但高压锅内的压力越大，蒸气的温度越高，杀菌作用的速度越快。不同压力下水蒸气的温度见表2

表2. 高压消毒时不同压力水蒸气的温度

高压灭菌器气压表上的压力		温度(°C)
磅/英寸 <sup>2</sup>	kg/cm <sup>2</sup>	
5	0.35	108.4
10	0.70	115.2
15	1.05	121.0
20	1.40	126.0
25	1.76	130.4
30	2.10	134.5
35.3	2.49	138.3
40.3	2.82	141.9

## 5. 被消毒物品的种类及大小：

物品的传热能力可影响消毒效果。例如：煮沸消毒金属制品，一般15分钟即可，而消毒衣服则需30分钟。密封瓶子中的油比水更难消毒，因为油不产生蒸气，与干热相似。

被消毒物品的大小，对热力消毒也有影响，过大的物品其内部不易达到消毒，故需要根据物品的种类和大小确定消毒的时间，见表3

表3. 不同种类和大小的物品用121°C蒸汽灭菌至少所需时间

物品	时间(分)	物品	时间(分)	烧瓶规格(ml)	时间(分)
试管(培养基)	6—8	面盆、餐具	15	125—250	8—10
敷料(一般大小)	30	输血用具	15—20	500	12
橡皮手套(棉花包)	15	空玻璃器	15—20	1,000—1,500	15
器械	10	(去塞倒置)		2,000—3,000	20

## 四、热力消毒和灭菌的方法：

### (一) 干热消毒和灭菌

1. 焚烧：适用于对病人的尸体，无用的衣物，纸张、垃圾、污染的杂草、地面等的灭菌，可

直接点燃或在焚烧炉内焚烧。

2. 烧灼：直接用火焰灭菌。适用于微生物实验室的接种针（环）、涂菌棒等不怕热的金属器材的灭菌。烧灼灭菌温度很高，效果可靠，但对灭菌器械有破坏性。

3. 干烤：干烤灭菌是在烤箱内进行的，适用于在高温下不损坏、不变质、不蒸发的物品的灭菌，例如玻璃制品、金属制品、陶瓷制品、油剂等。不适用对纤维织物、塑料制品等的灭菌。表4是一些物品干热灭菌的温度和时间。

表4 一些物品干热灭菌的温度和时间

物品	温度(℃)	维持时间(分)
眼科器械锋利的刀剪	150	60
注射油剂	150	120
甘油、液体石蜡	150	120
	160	60
凡士林、粉剂*	160	60
试管、吸管、平皿、注射器	160	60
	180	30
装在金属筒内的吸管	160	120

\*厚度<1.3cm

使用烤箱灭菌时，应注意下述事项：

①器械应洗净后再干烤，以防附着在表面的污物炭化。

②玻璃器皿干烤前亦应洗净并完全干燥。灭菌时勿与烤箱的底及壁直接接触，灭菌后应待温度降至40℃以下再打开烤箱，以防炸裂。

③物品包装不宜过大，安放的物品勿超过烤箱高度的2/3，物品之间应留有空间，以利于热空气对流。粉剂和油脂不宜太厚，以利热的穿透。

④灭菌过程中不得中途打开烤箱放入新的物品。

⑤棉织品、合成纤维、塑料制品、橡胶制品、导热性差的物品及其他在高温下易损坏的物品不可用干烤灭菌。

⑥灭菌时间从烤箱内温度达到要求温度时算起。

4. 红外线辐射灭菌：是干热的一种，红外线是0.77—1,000μm波长的电磁波，有较好的热效应，以1—10微米波长者最强。红外线的杀菌作用与干热相同。用红外线烤箱灭菌时需要的温度和时间亦同干热。

## （二）湿热消毒和灭菌：

1. 煮沸消毒：煮沸消毒是使用最早的消毒方法之一。方法简单、方便、经济、实用且效果亦比较可靠。在家庭和一些基层医疗卫生单位，煮沸消毒目前仍然是一种常用的消毒方法。煮沸消毒适用于消毒食具、食物、棉织品、金属及玻璃制品。塑料、毛皮、化学纤维织物等怕热物品则不能用煮沸消毒。煮沸消毒的杀菌能力比较强，一般水沸腾以后再煮5—15分钟即可达到消毒目的。当水温达到100℃时，几乎能立刻杀死细菌繁殖体、真菌、立克次氏体、螺旋体和病毒。细菌芽胞的抗煮沸能力比较强，有些芽胞需煮沸15分钟，有的需数小时才能将其杀灭。煮沸消毒时应注意下述事项：消毒时间应从水煮沸后算起；煮沸过程中不要加入

新的消毒物品，被消物品应全部浸入水中；消毒物品应保持清洁，消毒前可作冲洗；消毒注射器时，针筒、针心、针头都应拆开分放，碗、盘等不透水物品应垂直放置，以利水的对流；一次消毒物品不宜过多，一般应少于消毒器容量的 $3/4$ ，煮沸消毒棉织品时，应适当搅拌。

2. 流通蒸汽消毒法：是在常压下，用 $100^{\circ}\text{C}$ 左右的水蒸汽进行消毒。这种消毒方法常用食品消毒、食具消毒和其他一些不耐高热物品的消毒。流通蒸汽消毒的作用时间应从水沸腾后有蒸汽冒出时算起，维持时间同煮沸。消毒物品包装不宜过紧过大，食具应垂直放置，吸水物品不要浸湿放入。

3. 巴斯德消毒法：此法主要是广泛用于对牛奶的消毒，可杀灭牛奶中的布氏杆菌、沙门氏菌牛结核杆菌和溶血性链球菌，但不能杀灭细菌芽孢和嗜热性细菌。在医疗器械的消毒中，有时也用巴氏消毒法，主要用于消毒怕高温的物品，例如膀胱镜可浸泡于热水浴中， $75^{\circ}\text{C}$ 10分钟或 $80^{\circ}\text{C}$ 5分钟。

#### 4. 高压蒸汽灭菌：

##### (1) 常用的高压灭菌器及其使用方法：

a. 手提式高压灭菌器：是实验室、基层医疗、卫生、防疫单位和医院每室常用的小型高压蒸汽灭菌器，为下排气式，由铝合金材料制造，为单层圆筒，内有一个铝质的盛物桶，直径28cm，深28cm，容积约为18L。消毒器全重12Kg左右，使用压力 $<1.4\text{Kg/cm}^2$ 。该灭菌器的主要部件有：压力表1个，用以指示高压锅内的压力；排气阀一个，下接排气软管，伸至盛物桶的下部，用以排除冷空气；安全阀1个，当高压锅内的压力超过 $1.4\text{Kg/cm}^2$ 时，可自动开启排气。

b. 立式高压灭菌器：是一种老式高压锅，亦是下排气式。由双层钢板圆筒制成，两层之间可以盛水，盖上有安全阀和压力表，内有消毒桶，桶下部有排气阀，消毒桶容积为48L。高压锅一侧装有加水管道和放水龙头。可用于实验室、医院及卫生防疫机构的消毒和灭菌。使用时需加水16L左右，使用方法同手提式高压灭菌器。一般物品灭菌常用15磅/时 $^2$ 压力，在此压力温度为 $121^{\circ}\text{C}$ ，维持15分钟。

c. 卧式高压灭菌器：此种灭菌器的优点是，消毒物品的放入和取出比较方便。消毒物品不致于因堆放过高影响蒸汽流通，多使用外源蒸汽不会发生因加水过多而浸湿消毒物品。卧式高压灭菌器常用于医院、防疫站和消毒站，适用于处理大量消毒物品。

d. 程控预真空压力蒸汽灭菌器：是新型的蒸汽灭菌器，目前世界上先进国家多已用其取代了下排气式灭菌器。这种灭菌器的优点：灭菌时间短，对消毒物品损害轻微，在消毒物品摆放拥挤重叠情况下亦能达到灭菌，甚至有盖容器内的物品亦可灭菌，而且工作环境温度不高，消毒后的物品干燥等。整个灭菌过程采用程序控制，既节省人力又稳定可靠，缺点是价格较贵。发生故障时修理较困难。

##### (2) 高压蒸汽灭菌的合理应用：

a. 高压灭菌器内空气的排出：高压灭菌器内蒸汽的温度不仅和压力有关，而且和蒸汽的饱和度有关。如果高压锅内的空气未完全排除，则蒸汽不能达到饱和，虽然磅表达到了灭菌压力，但蒸汽的温度却未达到要求的高度，结果导致灭菌的失败。在排除不同空气时，磅表压力和锅内温度的关系见表5。

表5. 高压蒸汽灭菌器内的压力和冷空气排出与温度的关系

表 压		排出不同程度冷空气时，高压锅内的温度（℃）				
磅/吋 <sup>2</sup>	kg/cm <sup>2</sup>	全排出	排出2/3	排出1/2	排出1/3	未排出
5	0.35	109	100	94	90	72
10	0.70	115	109	105	100	90
15	1.05	121	115	112	109	100
20	1.41	126	121	118	115	109
25	1.76	130	126	121	118	115
30	2.11	135	130	128	126	121

灭菌时高压锅内空气的存在还可影响蒸汽向消毒物品内部的穿透。饱和蒸汽可以穿到敷料包的中心部位，当空气未完全排除时，可形成包内温度低，包外温度高的情况，致使内部不能达到灭菌。

检查灭菌器内空气是否排净的方法是：在排气管的出口处接一皮管，将另一端插入冷水盆中若管内排出的气体在冷水中产生气泡，则表示尚未排净，仍需继续排气；若不产生气泡，则表示锅内的冷空气已基本排净。如果待灭菌器内有一定量的蒸汽之后再排气，则有利于空气的排净。在排气过程中，有时排气管道可被异物阻塞，此时可观察排气管道上的温度计指示温度与接磅表压力值推算的温度是否接近。由压力磅数换算温度的简易公式是：

$$\text{温度} (\text{°C}) = \text{磅表指示压力磅数} + 106$$

b. 合理计算灭菌时间：高压蒸汽灭菌的时间计算，应从灭菌器柜室内达到要求温度时算起，至灭菌完成为止。总时间包括：热力穿透时间，即从消毒柜内达到灭菌温度至消毒物品中心部位亦达到灭菌温度所需时间。时间的长短取决于消毒物品的性质、包装的大小、放置位置和高压锅内空气排空程度和灭菌器的种类。消毒维持时间：即杀灭微生物所需时间，一般用杀灭脂肪嗜热杆菌芽胞所需时间来表示。安全时间：一般为维持时间的一半。一般下排气式高压灭菌器所需时间为：115°C 30分钟，121°C 15分钟，126°C 10分钟，121°C~126°C 常用于医疗卫生和防疫工作中的灭菌。

c. 消毒物品的包装和容器要合适：消毒物品的包装不易过大，过紧，否则不利蒸汽的穿透。敷料包一般不应大于30×30×40cm<sup>3</sup>。盛装消毒物品的盛器应有孔，最好用铁丝框。

d. 消毒物品的合理布放：消毒物品过多或安放不当均可影响灭菌效果。一般来说，消毒物品的体积不应超过灭菌室容积的85%；安放消毒物品时应注意物品之间留有一定空隙，以利于蒸汽的流通；大敷料包应放在上层，以利于内部空气的排出和热蒸汽的穿透；空容器灭菌时应倒放，以利于冷空气的排出；垂直安放消毒物品可取得更好的灭菌效果；织物、器械放在一起灭菌时，织物放在上部，器械放在下面物品放入时，灭菌车应与灭菌室墙壁有一定距离，因壁上有许多冷凝水易产生湿包。

e. 控制加热速度：使用高压蒸汽灭菌时，灭菌时间是从柜室温度达到要求温度时开始计算的。如果加热太快，柜室温度很快达到了要求温度，而消毒物品内部达到要求温度则还需较长时间，因此，在规定的时间内往往达不到灭菌要求，所以必须控制加热速度，使柜室内温度逐渐上升。

f. 消毒物品的预处理：带有大量有机物的物品，应先洗涤，然后再用高压灭菌。

g. 防止蒸汽超高热：在一定压力下，若蒸汽的温度超过饱和状态下应达到的温度 $2^{\circ}\text{C}$ 以上，即成为超热蒸汽。例如在15磅时，应为 $121^{\circ}\text{C}$ 当超过 $123^{\circ}\text{C}$ 时，则成为超热蒸汽。超热蒸汽温度过高，但象热空气一样，遇到消毒物品时不能凝结成水，不能释放潜热，所以对灭菌不利。一般在下述情况下易产生超热蒸汽：①灭菌物品太干，灭菌时含水量低于5%；②洗涤后的物品没有保持相对湿度；③压力过高的蒸汽进入消毒室内；④使用外源蒸汽灭菌器时，灭菌器夹套的温度高于消毒柜室的温度；⑤灭菌时用压力高的蒸汽加热到要求温度，然后再降低压力；⑥蒸汽发生器内加水量少于产生蒸汽所需水量。

h. 注意安全操作：

注：灭菌后物品的干燥及湿包问题。

湿包：灭菌后的物品很热含有一定蒸气，遇冷马上收缩，产生冷凝水，造成湿包。湿包后吸引了细菌，穿透到灭菌物品中心位置，污染物品，因此，湿包被认为灭菌物品再污染。一般从灭菌室内取出的物品，重量不得大于3%，超过6%，认为湿包。例：送入灭菌物品10公斤，灭菌后物品重量不得大于： $10\text{公斤} + 10\text{公斤} \times 3\% = 10.30\text{kg}$ 。医院内为什么会出现湿包，①下排气设备有一个疏水伐及过滤器，发生阻塞，排水不顺畅；②汽源内带入水份过多；③灭菌器安装不合适，一般为前部略低（为下排气设备排水），如果前高后低，造成水的滞留，当打开门时，水分蒸发，蒸气进入敷料包内，造成湿包；④灭菌器前一般要求安装汽水分离包（作用提高蒸气质量），如果汽水分离包发生故障，也可造成湿包。

## 五、热力消毒和灭菌效果的测定：

### （一）高压灭菌器灭菌效果的测定：

1. 热电偶测试法：一般新式高压蒸汽灭菌器都带有热电偶和温度记录仪。使用时将热电偶的热敏电极插入消毒物品包内，通开电流的变化反应作用温度，可从温度记录仪上观察出温度上升情况，持续时间及下降情况，并且可以在温度记录纸上描绘出整个消毒过程的温度曲线。

2. 留点温度计：缺点是不能指示达到所指示温度的时间，已要求停止使用。

### 3. 化学指示剂：

4. 微生物学测试法：微生物学测试法是最可靠的检查方法，可以直接取得灭菌效果资料，但出结果比较慢，做起来比较麻烦。

①指示菌株：国际通用的热力灭菌试验代表菌株为脂肪嗜热杆菌芽胞，它的抗湿热能力是所有微生物中最强的。

②菌片制备和测试方法：后述。

### （二）干热灭菌效果的检查：

1. 热电偶和留点温度计：同高压蒸气灭菌。

2. 微生物测定法：可将菌液污染在刀片、金属片、玻璃片、手术器械上或注射器内，将菌片放入灭菌平皿或试管内，和消毒物品一同灭菌，灭菌后取出，接种培养液，于 $37^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养5天后观察结果。无菌生长者表示已达到灭菌。

### 第三章 紫外线辐射消毒

#### 一、紫外光源：

1. 消毒灭菌上使用的紫外线应是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。消毒紫外线光源辐射的紫外线中心波长必须在杀菌作用最强的波段内，低压汞蒸汽灯辐射的紫外线，中心波长是253.7nm，是良好的紫外线光源。

#### 2. 紫外线的穿透力：

紫外线对各种物质的穿透力不同。

① 固体物质：石英玻璃，可透过80%左右。

聚氯亚乙烯树脂膜（0.1mm） 60%

乙烯共聚脂膜（0.1mm）：40%

紫外线亦被表面吸收，不能进入物品深部，只作表面消毒。

② 空气：可传播，但尘埃可阻挡其通过。

③ 液体：可透过净水几十厘米，传播中逐渐减弱，水中溶解物可阻挡紫外线。

#### 3. 紫外光源类型：

A. 低压汞灯； z. 热阴极低压汞灯；

b. 冷阴极低压汞灯；

B. 高压汞灯：

汞蒸气压力：1千或几千大气压

功率：100~500W

C. 金属卤化物灯：

D. 无臭氧紫外线灯：

#### 二、紫外线灭活微生物的机理：

##### （一）紫外线对核酸的作用：

1. 对DNA作用：

2. 对RNA作用：

##### （二）对蛋白质作用：

##### （三）对糖类作用：

##### （四）对酶类作用：

#### 三、影响紫外线消毒作用的因素：

##### （一）微生物的类型：

微生物对u.v照射的相对抗性见表1。

（二）微生物的数量：微生物的数量越多，需要产生相同致死作用紫外线照射剂量也就越大。因此，消毒污染严重的物品需要加大照射剂量紫外线对各种微生物的杀灭剂量见表2。

（三）生长期或芽生期的差别：有些细菌在指数生长期的早期，对u.v敏感性明显减少，之后是明显增加，到最后则再减少。

（四）悬浮的类型：紫外线是一种低能量的电磁辐射，其能量仅有5ev，穿透力很差，特别是3,000

表1. 微生物对u.v照射的相对抗性

抗性水平	微生物种类
高度抗性	耐辐射微球菌属
	枯草杆菌
	芽孢
	橙黄八叠球菌
中等度抗性	球状微球菌属
	鼠伤寒沙门氏菌
	酵母菌属
	乳链球菌
低度抗性	牛痘病毒
	大肠杆菌
	金黄色葡萄球菌
	普通变形杆菌
	啤酒酵母菌
	大肠杆菌噬菌体T <sub>3</sub>

表2. 紫外线对各种微生物的杀灭剂量

微生物种类	不同杀灭率所需剂量(微瓦一秒厘米 <sup>2</sup> )		
	90%	99%	99.99%
流感病毒	1.000	2.000	>5000
大肠杆菌	3.000	6.000	12.000
贺氏痢疾杆菌	3.000	6.000	12.000
金黄色葡萄球菌	3.000	6.000	12.000
伤寒杆菌	4.000	8.000	16.000
结核杆菌	5.000	10.000	20.000
白喉杆菌	5.000	10.000	20.000
枯草杆菌芽孢	10.000	20.000	40.000
橙黄八叠球菌	15.000	30.000	60.000
黑曲霉孢子	150.000	300.000	600.000

Å以下波长的紫外线。当空气中含有尘粒800~900个/厘米<sup>3</sup>, 杀菌效能可降低20~30%, 空气尘埃能吸收紫外线, 而降低杀菌率, 见表3。

表3. 空气尘埃对紫外线杀灭破伤风杆菌芽孢的影响 (%)

暴露时间(分)	气雾(无尘埃)	有尘埃悬浮
4.5	37	/
7.5	53	29
15	61	/
20	97	60
45	97.8	83
60	/	90
90	99	95