

医疗污染物排放标准

Discharge standard of medical pollutants

2006-01-04 发布

2006-01-10 实施

山东省环境保护局 发布
山东省质量技术监督局

前 言

本标准的全部技术内容为强制性。

为了贯彻《中华人民共和国环境保护法》、《中华人民共和国水污染防治法》《中华人民共和国海洋环境保护法》、《中华人民共和国大气污染防治法》、《中华人民共和国固体废物污染环境防治法》、《中华人民共和国传染病防治法》以及《医疗废物管理条例》，促进医疗废物处置系统的建设和管理，加强医疗卫生机构废物的排放控制，保障人民身体健康，维护良好的生态环境。特制定本地方标准。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 为规范性附录。

本标准由山东省环境保护局提出。

本标准委托济南市环境工程设计院、济南市环保局直属分局起草。

本标准主要起草人：张成志、高旭光、迟智香、张建国、周蓬、徐志浩

本标准于 2006 年 1 月 4 日首次发布。

本标准由山东省环境保护局负责解释。

医疗污染物排放标准

1 范围

本标准规定了山东省医疗卫生机构医疗污水排放和医疗废物处置（控制）的污染物限值。

本标准适用于山东省医疗卫生机构医疗污水排放和医疗废物处置（控制）的管理，也适用于兽医医院的污水和医疗废物的排放管理。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

- GB 3097 海水水质标准
- GB 3838 地表水环境质量标准
- GB 5085.3 危险废物鉴别标准 浸出毒性鉴别
- GB 15981 消毒与灭菌效果的评价方法与标准
- GB 15982 医院消毒卫生标准
- GB 18466 医疗机构水污染物排放标准
- GB 18484 危险废物焚烧污染控制标准
- GB 18598 危险废物填埋污染控制标准
- GB 18918 城镇污水处理厂污染物排放标准
- GB 19218 医疗废物焚烧炉技术要求(试行)
- HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范
- 《医疗废物集中处置技术规范（试行）》（环发[2003]206号）

3 术语及定义

下列术语及定义适用于本标准。

3.1

医疗卫生机构

从事与医疗、预防、保健以及其他相关活动的，由各级卫生行政主管部门负责管理或监管的单位。

3.2

医疗污水

医疗机构门诊、病房、手术室、各类检验室、病理解剖室、放射室、洗衣房、太平间等处排出的诊疗、生活及粪便污水。当医疗机构其他污水与上述污水混合排出时一律视为医疗机构污水。

3.3

医疗废物

医疗卫生机构在医疗、预防、保健以及其他相关活动中产生的具有直接或者间接感染性、毒性以及其他危害性的废物。具体分类名录依照《国家危险废物名录》和国务院卫生行政主管部门和环境保护行政主管部门共同制定的《医疗废物分类目录》执行。

3.4

医疗废物集中处置中心

具有环境保护行政主管部门颁发的医疗废物处置资格的区域性医疗废物集中处置单位。

4 技术内容

4.1 水污染物排放标准

4.1.1 处理要求

4.1.1.1 医疗卫生机构应将传染病房的污水与其他污水分别收集。传染病医院(包括设传染病房的综合性医院)应设专用化粪池,进行预消毒处理。

4.1.1.2 医疗卫生机构的各种特殊排水,如含重金属废水、含油废水、洗印废水等应单独收集,分别采取不同的预处理措施后排入医疗污水处理系统。

4.1.1.3 同位素治疗和诊断产生的放射性废水,必须单独收集处理。

4.1.1.4 医疗污水不得排入 GB 3838 中的 I、II 类水域和 III 类水域的集中式生活饮用水地表水源地二级保护区、游泳区以及 GB 3097 中的一、二类海域。

4.1.2 排放要求

4.1.2.1 根据水污染物的来源及性质,将水污染物控制项目分为必测项目和选测项目两类。必测项目为环境保护行政主管部门为了保护水环境,在日常监测过程中必须监测的水污染物控制项目,主要包括影响水环境和污水处理系统一般处理工艺可以去除的基本控制项目及部分一类污染物,共 15 项。选测项目为地方环境保护行政主管部门根据当地医疗卫生机构的污染状况及水环境保护状况对污水排放可以选择监测的控制项目,共计 4 项。

4.1.2.2 必测项目必须执行。选测项目由县级及其以上人民政府环境保护行政主管部门根据当地医疗卫生机构的具体情况和水环境质量要求选择控制。

4.1.3 标准分级

根据医疗卫生机构排入地表水域环境功能和保护目标,将必测项目的常规污染物标准值分为一级标准、二级标准、三级标准、四级标准。一类重金属污染物和选测项目不分级。

4.1.3.1 排入 GB3838 III 类水域中除集中式生活饮用水地表水源地二级保护区及游泳区之外的区域,执行一级标准。

4.1.3.2 排入 GB3838 IV、V 类水域或排入 GB3097 中三类海域以及排入未设置城镇污水处理厂的城镇污水排放系统的医疗污水,执行二级标准。

4.1.3.3 排入设置城镇污水处理厂的城镇污水排放系统的医疗污水,执行三级标准。

4.1.3.4 床位小于 20 床以及不设床位的医疗卫生机构产生的医疗污水,应当设消毒处理设施,执行四级标准。

4.1.3.5 传染病爆发期间,应当根据环境保护行政主管部门和医疗卫生行政主管部门的要求执行应急处置措施要求。

4.1.4 标准值

4.1.4.1 医疗卫生机构水污染物排放,必测项目执行表 1 和表 2 的规定。

4.1.4.2 选测项目按表 3 的规定执行。

表1 一类污染物最高允许排放浓度(日均值)

单位为毫克每升

序 号	污 染 物	最高允许排放浓度
1	总汞	0.05
2	总砷	0.5

表2 基本控制项目最高允许排放浓度（日均值）

单位为毫克每升

序号	基本控制项目	一级标准	二级标准	三级标准	四级标准
1	粪大肠菌群数（MPN/L）	50	100	500	5000
2	肠道致病菌	不得检出	不得检出	—	—
3	肠道病毒	不得检出	不得检出	—	—
4	结核杆菌	不得检出	不得检出	—	—
5	化学需氧量（COD _{Cr} ）	40	60	120	—
6	生化需氧量（BOD ₅ ）	10	20	30	—
7	悬浮物（SS） ^a	10(5)	20	60	—
8	动植物油	1.0	5	15	—
9	挥发酚	0.1	0.5	0.5	—
10	氨氮 ^b	5(8)	15(20)	25(30)	—
11	磷酸盐(以P计)	0.5	0.5	1.0	—
12	余氯 ^c	0.5	0.5	8	—
13	pH	6～9			
^a 括号内为用于冲洗地面及洗车用水水质指标。					
^b 括号外数值为水温＞12℃时的控制指标，括号内数值为水温≤12℃时的控制指标。					
^c 消毒接触池接触时间≥1h，接触池出口总余氯3mg/l～10mg/l。					

表3 选测项目最高允许排放浓度（日均值）

单位为毫克每升

序 号	污 染 物	最高允许排放浓度
1	氟化物	10
2	氯化物	250
3	甲醛类	1.0
4	总有机碳(TOC)	30

4.1.4.3 污水处理过程中产生的废气按照GB18466执行

4.1.5 取样与监测

4.1.5.1 水质取样在污水处理站处理工艺末端排放口。其中一类污染物的取样按照 HJ/T 91 执行。

4.1.5.2 检测取样频率为至少每2h 一次，取24h 混合样，以日均值计。

4.1.5.3 监测分析方法按表4 或国家环境保护总局认定的替代方法、等效方法执行。

表4 水污染物监测分析方法

序号	控制项目	测定方法	测定下限 (mg/l)	方法来源
1	总汞	冷原子吸收分光光度法	0.0001	GB7468
		双硫脲分光光度法	0.002	GB7469
2	总砷	二乙基二硫代氨基甲酸银分光光度法	0.007	GB7485
3	粪大肠菌群数	多管发酵法	—	附录A
4	沙门氏菌	—	—	附录B
5	志贺氏菌	—	—	附录C
6	结核杆菌	—	—	附录D
7	化学需氧量 (COD _{Cr})	重铬酸盐法	30	GB11914
8	BOD ₅	稀释与接种法	2	GB7488
		微生物传感器快速测定法	1	HJ/T86
9	悬浮物 (SS)	重量法	—	GB11901
10	动植物油	红外分光光度法	0.1	GB/T16488
11	挥发酚	4-氨基安替比林分光光度法	0.002	GB7490
12	总氮 (以N计)	碱性过硫酸钾-消解紫外分光光度法	0.05	GB11894
13	磷酸盐 (以P计)	钼酸铵分光光度法	0.01	GB11893
14	pH	玻璃电极法	—	GB6920
15	F ⁻	离子选择电极法	0.05	GB7484
		茜素磺酸锆目视比色法	—	GB7482
		氟试剂分光光度法	—	GB7483
16	氯化物	硝酸银滴定法	—	GB11896
17	甲醛	乙酰丙酮分光光度法	0.05	GB13197
18	TOC	非红外吸收法	0.5	GB13183
19	余氯	N,N-二乙基-1,4-苯二胺滴定法	—	GB11897
		N,N-二乙基-1,4-苯二胺分光光度法	—	GB11898

4.2 医疗废物控制标准

4.2.1 医疗卫生机构不得将医疗废物随意弃置。

4.2.2 医疗卫生机构应将医疗废物与生活垃圾分开收集；医疗废物应进行无害化集中处置，生活垃圾按城市生活垃圾处理原则进行处理。

4.2.3 医疗卫生机构应对医疗废物进行分类，并采用《医疗废物集中处置技术规范（试行）》中要求的容器、转运器械进行包装、转运，包装、转运期间应注意防护措施。

4.2.4 医疗卫生机构应设置医疗废物的暂存场所。具有100张床位以上的医疗卫生机构应建立专门的医疗废物暂存库房，暂存库房必须满足《医疗废物集中处置技术规范（试行）》中关于暂存库房的设计要求；具有100张床位以下的医疗卫生机构及门诊、部、所应设立专门的医疗废物暂存场所，并满足《医疗废物集中处置技术规范（试行）》中暂存场所的要求。

4.2.5 医疗废物可以根据当地情况采用表 5 的处置方法进行处置。

表5 医疗废物处置方法

序号	医疗废物种类	医疗废物处置方法	备注
1	病理性废物（包括人体组织、死胎、器官、肢体和动物尸体、血液、体液）	火化或焚烧	按国家有关法律法规处置
2	感染性废物（包括传染病人手术或尸解后的废弃物，如污染的材料和仪器；来自传染病房的废弃物，如排泄物、手术或感染伤口的敷料、严重污染的衣物；传染病人血透析中产生的废弃物；实验室感染的动物；传染病人或动物接触过的任何其他设备和材料；实验室所用的菌落及病原株培养基和保菌液；使用过的一次性注射器、输液器、输血器等废弃物）	焚烧或消毒	
3	锋利物（锐器）（包括针头、手术刀、解剖刀、针管、手术锯、玻璃制品等易对人体造成损伤的废物）	焚烧	
4	药物性废物（包括过期、被淘汰、压碎或污染的药品、疫苗、血清）	焚烧	
5	遗传病毒性废弃物（包括已明确的抑制细胞的药物，化学或放射治疗病人的呕吐物、尿或粪便。如苯、环孢霉素、环磷酰胺等）	焚烧	对环磷酰胺、异环磷酰胺、硫酸长春新碱等可采用化学降解法或封存或使之自动失效
6	化学性废弃物（包括在诊断、试验、清洁、管理、消毒过程中产生的，具有毒性、腐蚀性、易燃性、反应性或遗传毒性的物质。如甲醛、摄影用剂、有机化合物等）	焚烧或化学处理	对于一般的化学废弃物，如糖、氨基酸和特定的盐类可按城市生活垃圾进行处置或排入下水道。
7	低放射性废物（包括诊断或治疗用的棉签、注射器、输液器等）	焚烧	
8	污水处理过程中产生的污泥	焚烧	

4.2.6 医疗废物进行无害化处置的技术要求

4.2.6.1 采用高温热处理技术要求

按GB19218执行。

4.2.6.2 高温蒸汽灭菌

按GB15982执行

4.2.6.3 其他处理技术

采用微波处理法、化学消毒法、电热去活技术（EDT）等其它经环境保护行政主管部门及卫生行政主管部门认可的医疗废物处理技术时，污染物的排放应当达到环境保护行政主管部门及卫生行政主管部门的要求。

4.2.7 无害化处置后的医疗废物应达到的排放标准

4.2.7.1 采用焚烧法处置医疗废物，其焚烧炉排放气体的排放限值不应高于 GB18484 规定的限值。检测方法按 GB18484 执行。

4.2.7.2 采用焚烧法处置医疗废物，其焚烧残留物中的含菌量应为零。

4.2.7.3 医疗废物焚烧过程中除尘设备收集到的飞灰必须密闭收集贮存，并按照 GB18598 固化填埋处理；焚烧产生的炉渣可以送生活垃圾填埋场填埋处理；其他烟气净化装置产生的固体废物按 GB 5085.3 进行鉴别，并确定是否属于危险废物，如属于危险废物，按危险废物处置，否则可以送生活垃圾填埋场填埋处理，无法进行鉴别实验的，按危险废物处置。

4.2.7.4 采用高温蒸汽灭菌法处置医疗废物产生的固体废物将其粉碎后按城市生活垃圾进行处置。

4.2.7.5 采用高温蒸汽灭菌法处置医疗废物，生物指示剂应选择耐热的嗜热性脂肪杆菌芽孢 (*Bacillus stearothermophilus* spores)，检测方法按 GB 15981 执行。

4.2.7.6 每批医疗废物进行高温蒸汽灭菌处置需用化学检测方法对灭菌效果进行检测，可采用化学指示管（卡）检测方法或化学指示胶带检测法，检测需将化学指示管（卡）放入灭菌室内灭菌效果最难保证的空间位置，或将化学指示胶带粘贴于每一待灭菌物品包外，经一个灭菌周期后，观察所放置的指示管（卡）或胶带的性状或颜色，如果均变至规定的条件，判为灭菌合格；若未达到规定的条件，则灭菌过程不合格。

5 标准的实施与监督

本标准由县级以上人民政府环境保护行政主管部门负责监督实施。

附 录 A

(规范性附录)

医疗污水中粪大肠菌群的检验方法

A.1 仪器和设备

A.1.1 高压蒸汽灭菌器

A.1.2 干燥灭菌箱

A.1.3 培养箱: 37℃

A.1.4 恒温水浴箱

A.1.5 电炉

A.1.6 天平

A.1.7 灭菌平皿

A.1.8 灭菌刻度吸管

A.1.9 酒精灯

A.2 培养基和试剂

A.2.1 乳糖胆盐培养液

A.2.1.1 成分

蛋白胨	20g
猪胆盐(或牛、羊胆盐)	5g
乳糖	5g
0.4%溴甲酚紫水溶液	2.5mL
蒸馏水	1000mL

A.2.1.2 制法

将蛋白胨、猪胆盐及乳糖溶解于1000mL 蒸馏水中, 调整pH 到7.4, 加入指示剂, 充分混匀, 分装于内有倒管的试管中。115℃下灭菌20min。贮存于冷暗处备用。

A.2.2 三倍浓度乳糖胆盐培养液

A.2.2.1 成分

蛋白胨	60g
猪胆盐(或牛、羊胆盐)	15g
乳糖	15g
0.4%溴甲酚紫水溶液	7.5mL
蒸馏水	1000mL

A.2.2.2 制法

制法同附录A.2.1.2。

A.2.3 伊红美兰培养基(EMB 培养基)

A.2.3.1 成分

蛋白胨	10g
乳糖	10g
磷酸氢二钾	2g
琼脂	20g
2%伊红水溶液	20mL
0.5%美蓝水溶液	13mL

蒸馏水	1000mL
-----	--------

A. 2. 3. 2 制法

将琼脂加到900mL 蒸馏水中，加热溶解，然后加入磷酸氢二钾和蛋白胨，混匀使溶解，再加入蒸馏水补足至1000mL，调整pH 至7.2~7.4。趁热用脱脂棉和砂布过滤，再加入乳糖，混匀，定量分装于烧瓶内，115℃灭菌20min。作为储备培养基贮存于冷暗处备用。

临用时，加热融化储备培养基，待冷至60℃左右，根据烧瓶内培养基的容量，加入一定量的已灭菌的2%伊红水溶液和0.5%美蓝水溶液，充分摇匀（防止产生气泡）。倾注平皿备用。

A. 2. 4 乳糖蛋白胨培养液**A. 2. 4. 1 成分**

蛋白胨	10g
牛肉膏	3g
乳糖	5g
氯化钠	5g
1.6%溴甲酚紫乙醇溶液	1mL
蒸馏水	1000mL

A. 2. 4. 2 制法

将蛋白胨、牛肉膏、乳糖及氯化钠加热溶解于1000mL 蒸馏水中，调整pH 到7.2~7.4，加入1.6%溴甲酚紫乙醇溶液1mL，充分混匀，分装于内有倒管的试管中。115℃下灭菌20min。贮存于冷暗处备用。

A. 2. 5 革兰氏染色液**A. 2. 5. 1 结晶紫染色液**

结晶紫	1g
95%乙醇溶液	20mL
1%草酸铵水溶液	1000mL

将结晶紫溶于乙醇中，然后与草酸铵水溶液混合。

A. 2. 5. 2 革兰氏碘液

碘	1g
碘化钾	2g
蒸馏水	300mL

将碘与碘化钾混合，加入蒸馏水少许，充分摇匀，待完全溶解，再加入蒸馏水至300mL。

A. 2. 5. 3 脱色液

95%乙醇

A. 2. 5. 4 沙黄复染液

沙黄	1g
95%乙醇	2g
蒸馏水	90mL

将沙黄溶于95%乙醇中，然后用蒸馏水稀释。

A. 2. 6 染色法

染色的基本步骤为：

- 涂片：在载玻片上滴加一滴生理盐水，用灭菌的接种环取菌落少许，与生理盐水混匀，涂布成薄膜；
- 干燥：在室温中使自然干燥；
- 固定：将涂片迅速通过火焰2~3次，以载玻片反面接触皮肤，热而不烫为度；
- 染色：滴加结晶紫染色液，染色1min，水洗；
- 媒染：滴加革兰氏碘液，作用1min，水洗；

- f) 脱色：滴加 95%乙醇脱色，约 30s，水洗；
- g) 复染：滴加复染液，复染 1min，水洗。革兰氏阳性菌染色后呈紫色，革兰氏阴性菌染色后呈红色。亦可用 1：10 稀释的石炭酸复红染色液作复染剂，复染时间为 10s。

A.3 检验程序

检验程序见图 A.1。

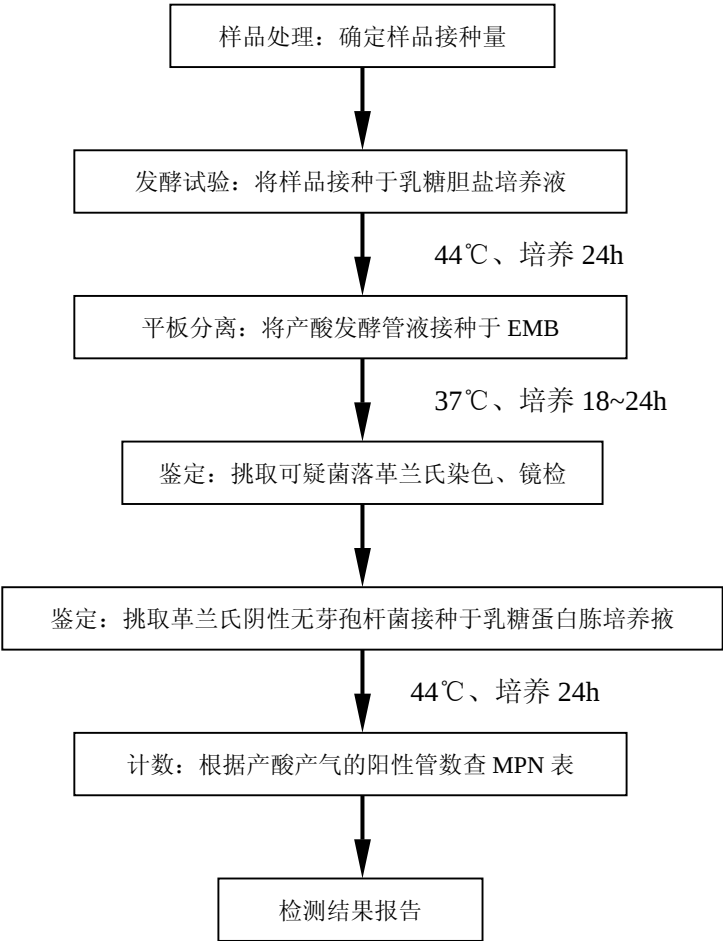


图 A.1 污水中粪大肠菌群检验程序

A.4 操作步骤

A.4.1 样品准备

污水样品应至少取200mL，使用前应充分混匀。若样品为经过氯消毒的污水，应在采样后立即用5%硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

根据预计的污水样品中粪大肠菌群数确定污水样品接种量。粪大肠菌群数量相对较少的接种量一般为10mL、1mL、0.1mL。粪大肠菌群数较多时接种量为1mL、0.1mL、0.01mL 或0.1mL、0.01mL、0.001mL 等。

接种量少于1mL 时，水样应制成稀释样品后供发酵试验使用。接种量为0.1mL、0.01mL时，取稀释比分别为1:10、1:100。其它接种量的稀释比依此类推。

1:10 稀释样品的制作方法为：吸取1mL 水样，注入到盛有9mL 灭菌水的试管中，混匀，制成1:10 稀释样品。因此，取1mL1:10 稀释样品，等于取0.1mL 污水样品。其它稀释比的稀释样品同法制作。

A.4.2 发酵试验

将样品接种于装有乳糖胆盐培养液的试管（内有小倒管）中，44℃培养24h。样品接种体积以及管内乳糖胆盐培养液的浓度与体积根据以下条件确定：取三个接种量、每个接种量的样品分别接种于5个试管内，共需15个试管。试管内乳糖胆盐培养液的浓度与体积应根据接种量确定。若接种量为10mL，吸取10mL样品接种于装有5mL三倍浓度乳糖胆盐培养液的试管内；若接种量为1mL时，吸取1mL样品接种于装有10mL普通浓度乳糖胆盐培养液的试管内；若接种量少于1mL时，吸取1mL稀释样品接种于装有10mL普通浓度乳糖胆盐培养液的试管内。

A.4.3 平板分离

大肠杆菌分解乳糖产酸时培养液变色、产气时小倒管内出现气泡。经24h培养后，将产酸的试管内培养液分别划线接种于EMB培养基上。置于37℃培养箱中，培养18h~24h。

A.4.4 鉴定

挑选可疑粪大肠菌群菌落，进行革兰氏染色和镜检。可疑菌落有：

- a) 深紫黑色，具有金属光泽的菌落；
- b) 紫黑色，不带或略带金属光泽的菌落；
- c) 淡紫红色，中心色较深的菌落。

上述涂片镜检的菌落如为革兰氏阴性无芽孢杆菌，则挑取上述典型菌落1~3个接种于盛有5mL乳糖蛋白胨培养液倒管和倒管的试管内，置于44℃培养箱中培养24h。产酸产气试管为粪大肠菌群阳性管。

A.5 计数

根据证实有粪大肠菌群存在的阳性管数，查表A.1可得100mL污水中粪大肠菌群MPN值。

由于表A.1是按一定的三个10倍浓度差接种量设计的（接种量为10mL、1mL和0.1mL），当采用其他三个10倍浓度差接种量时，需要修正表内MPN值，具体方法如下：

表内所列污水最大接种量增加10倍时表内MPN值相应降低10倍；污水最大接种量减少10倍时表内MPN值相应增加10倍。如污水接种量改为1mL、0.1mL和0.01mL时，表A内MPN值相应增加10倍。其它三个10倍浓度差接种量的MPN值相应类推。

由于表A.1内MPN值的单位为每100mL污水样品中MPN值，而污水以1L为报告单位，因此需将查表A.1得到的MPN值乘上10，换算成1L污水样品中的MPN值。

表 A.1 污水中粪大肠菌群最可能数（MPN）检索表

（污水样品接种量为 5 份 10ml 水样，5 份 1ml 水样和 0.1ml 水样）

阳性管数				阳性管数				阳性管数			
接种	接种	接种	每	接种	接种	接种	每	接种	接种	接种	每
100m	10ml	0.1ml	100ml	100m	10ml	0.1ml	100ml	100m	10ml	0.1ml	100ml
1水样	水样	水样	水样中	1水样	水样	水样	水样中	1水样	水样	水样	水样中
			MPN				MPN				MPN
0	0	0	0	2	0	0	5	4	0	0	13
0	0	1	2	2	0	1	7	4	0	1	17
0	0	2	4	2	0	2	9	4	0	2	21
0	0	3	5	2	0	3	12	4	0	3	25
0	0	4	7	2	0	4	14	4	0	4	30
0	0	5	9	2	0	5	16	4	0	5	36
0	1	0	2	2	1	0	7	4	1	0	17
0	1	1	4	2	1	1	9	4	1	1	21
0	1	2	5	2	1	2	12	4	1	2	26

表 A. 1 (续)

阳性管数				每	阳性管数				每	阳性管数				每
接种 100m l 水样	接种 10ml 水样	接种 0.1ml 水样	100ml 水样中 MPN		接种 100m l 水样	接种 10ml 水样	接种 0.1ml 水样	100ml 水样中 MPN		接种 100m l 水样	接种 10ml 水样	接种 0.1ml 水样	100ml 水样中 MPN	
0	1	3	7		2	1	3	14		4	1	3	31	
0	1	4	9		2	1	4	17		4	1	4	36	
0	1	5	11		2	1	5	19		4	1	5	42	
0	2	0	4		2	2	0	9		4	2	0	22	
0	2	1	6		2	2	1	12		4	2	1	26	
0	2	2	7		2	2	2	14		4	2	2	32	
0	2	3	9		2	2	3	17		4	2	3	38	
0	2	4	11		2	2	4	19		4	2	4	44	
0	2	5	13		2	2	5	22		4	2	5	50	
0	3	0	6		2	3	0	12		4	3	0	27	
0	3	1	7		2	3	1	14		4	3	1	33	
0	3	2	9		2	3	2	17		4	3	2	39	
0	3	3	11		2	3	3	20		4	3	3	45	
0	3	4	13		2	3	4	22		4	3	4	52	
0	3	5	15		2	3	5	25		4	3	5	59	
0	4	0	8		2	4	0	15		4	4	0	34	
0	4	1	9		2	4	1	17		4	4	1	40	
0	4	2	11		2	4	2	20		4	4	2	47	
0	4	3	13		2	4	3	23		4	4	3	54	
0	4	4	15		2	4	4	25		4	4	4	62	
0	4	5	17		2	4	5	28		4	4	5	69	
0	5	0	9		2	5	0	17		4	5	0	41	
0	5	1	11		2	5	1	20		4	5	1	48	
0	5	2	13		2	5	2	23		4	5	2	56	
0	5	3	15		2	5	3	26		4	5	3	64	
0	5	4	17		2	5	4	29		4	5	4	72	
0	5	5	19		2	5	5	32		4	5	5	81	
1	0	0	2		3	0	0	8		5	0	0	23	
1	0	1	4		3	0	1	11		5	0	1	31	
1	0	2	6		3	0	2	13		5	0	2	43	
1	0	3	8		3	0	3	16		5	0	3	58	
1	0	4	10		3	0	4	20		5	0	4	76	
1	0	5	12		3	0	5	23		5	0	5	95	
1	1	0	4		3	1	0	11		5	1	0	33	
1	1	1	6		3	1	1	14		5	1	1	46	
1	1	2	8		3	1	2	17		5	1	2	63	
1	1	3	10		3	1	3	20		5	1	3	84	

表 A. 1 (续)

阳性管数				每	阳性管数				每	阳性管数				每
接种 100ml 1 水样	接种 10ml 水样	接种 0.1ml 水样	100ml 水样中 MPN		接种 100ml 1 水样	接种 10ml 水样	接种 0.1ml 水样	100ml 水样中 MPN		接种 100ml 1 水样	接种 10ml 水样	接种 0.1ml 水样	100ml 水样中 MPN	
1	1	4	12		3	1	4	23		5	1	4	110	
1	1	5	14		3	1	5	27		5	1	5	130	
1	2	0	6		3	2	0	14		5	2	0	49	
1	2	1	8		3	2	1	17		5	2	1	70	
1	2	2	10		3	2	2	20		5	2	2	94	
1	2	3	12		3	2	3	24		5	2	3	120	
1	2	4	15		3	2	4	27		5	2	4	150	
1	2	5	17		3	2	5	31		5	2	5	180	
1	3	0	8		3	3	0	17		5	3	0	79	
1	3	1	10		3	3	1	21		5	3	1	110	
1	3	2	12		3	3	2	24		5	3	2	140	
1	3	3	15		3	3	3	28		5	3	3	180	
1	3	4	17		3	3	4	32		5	3	4	210	
1	3	5	19		3	3	5	36		5	3	5	250	
1	4	0	11		3	4	0	21		5	4	0	130	
1	4	1	13		3	4	1	24		5	4	1	170	
1	4	2	15		3	4	2	28		5	4	2	220	
1	4	3	17		3	4	3	32		5	4	3	280	
1	4	4	19		3	4	4	36		5	4	4	350	
1	4	5	22		3	4	5	40		5	4	5	430	
1	5	0	13		3	5	0	25		5	5	0	240	
1	5	1	15		3	5	1	29		5	5	1	350	
1	5	2	17		3	5	2	32		5	5	2	540	
1	5	3	19		3	5	3	37		5	5	3	920	
1	5	4	22		3	5	4	41		5	5	4	1600	
1	5	5	24		3	5	5	45		5	5	5	>1600	

附 录 B

(规范性附录)

医疗污水中沙门氏菌的检验

B.1 仪器和设备

- B.1.1 高压蒸汽灭菌器
- B.1.2 干燥灭菌箱
- B.1.3 培养箱
- B.1.4 恒温水浴箱
- B.1.5 电炉
- B.1.6 天平
- B.1.7 灭菌平皿
- B.1.8 灭菌刻度吸管
- B.1.9 酒精灯

B.2 培养基和试剂

B.2.1 亚硒酸盐增菌液(SF 增菌液)

B.2.1.1 成分

胰蛋白胨(或多价胨)	10g
磷酸氢二钠(Na ₂ HPO ₃)	16g
磷酸二氢钠(NaH ₂ PO ₃)	2.5g
乳 糖	4g
亚硒酸氢钠	4g
蒸馏水	1000mL

B.2.1.2 制法

除亚硒酸氢钠外，将以上各成分放入蒸馏水中，加热溶化。再加入亚硒酸氢钠，待完全溶解后，调整pH 到7.0~7.1，分装于三角烧杯内。121℃下灭菌15min 备用。

B.2.2 二倍浓度亚硒酸盐增菌液(二倍浓度SF 增菌液)

B.2.2.1 成分

除蒸馏水改为500mL 外，其它成分同附录B.2.1.1。

B.2.2.2 制法

制法同附录B.2.1.2。

B.2.3 SS 培养基

B.2.3.1 基础培养基

B.2.3.1.1 成分

牛肉膏	5g
示胨	5g
三号胆盐	3.5g
琼脂	17g
蒸馏水	1000mL

B.2.3.1.2 制法

将牛肉膏、示胨和胆盐溶解于400mL 蒸馏水中。将琼脂加到600mL 蒸馏水中，煮沸使其溶解。再将二者混合，121℃下灭菌15min，保存备用。

B.2.3.2 完成培养基**B.2.3.2.1 成分**

基础培养基	1000mL
乳糖	10g
柠檬酸钠	8.5g
硫代硫酸钠	8.5g
10%柠檬酸铁溶液	10mL
1%中性红溶液	2.5mL
0.1%煌绿溶液	0.33mL

B.2.3.2.2 制法

加热溶化基础培养基，按比例加入除中性红和煌绿溶液以外的各成分，充分混合均匀，调整pH 到7.0，加入中性红和煌绿溶液，倾注平板。

制好的培养基宜当日使用，或保存于冰箱内于18h 内使用。煌绿溶液配好后应在10天以内使用。

B.2.4 亚硫酸铋琼脂培养基（BS 培养基）**B.2.4.1 基础培养基****B.2.4.1.1 成分**

蛋白胨	10g
牛肉膏	5g
氯化钠	5g
琼脂	20g
蒸馏水	1000mL

B.2.4.1.2 制法

加热溶解各成分，按每份100mL 的量分装于250mL 三角瓶中，121℃下灭菌20min 备用。

B.2.4.2 亚硫酸铋贮备液**B.2.4.2.1 成分**

柠檬酸铋铵	2g
亚硫酸钠	20g
磷酸氯二钠	10g
葡萄糖	10g
蒸馏水	200mL

B.2.4.2.2 制法

将柠檬酸铋铵溶解于50mL 沸水中，同时将亚硫酸钠溶解于100mL 沸水中，混合两液并煮沸3min，趁热加入磷酸氯二钠搅拌至溶解。冷却后，加入剩余的50mL 葡萄糖水溶液，贮存于冰箱中。

B.2.4.3 柠檬酸铁煌绿贮备液**B.2.4.3.1 成分**

柠檬酸铁	2g
煌绿（1%水溶液）	25mL
蒸馏水	200mL

B.2.4.3.2 制法

将上述成分溶解于水中，盛于已灭菌的玻璃瓶内，贮存于冰箱。

B.2.4.4 完成培养基**B.2.4.4.1 成分**

基础培养基	100mL
亚硫酸铋贮备液	20mL

柠檬酸铁煌绿贮备液 4.5mL

B.2.4.4.2 制法

加热融化基础培养基并冷却至50℃，同时分别加热亚硫酸铋贮备液和柠檬酸铁煌绿贮备液至50℃。在无菌操作下将后者加入到前者去，充分混合，无菌倾入已灭菌的培养皿中。

B.2.5 三糖铁琼脂培养基（TSI 培养基）

B.2.5.1 成分

蛋白胨	20g
牛肉膏	5g
乳糖	10g
蔗糖	10g
葡萄糖	1g
氯化钠	5g
硫酸亚铁铵	0.2g
硫代硫酸钠	0.2g
琼脂	12g
酚红	0.025g
蒸馏水	1000mL

B.2.5.2 制法

将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中，调pH 到7.4。加入琼脂，加热煮沸，再加入0.2%酚红水溶液12.5mL，摇匀。分装试管，装量宜多些，以便得到较高的底层。121℃下灭菌15min。放置高层斜面备用。

B.2.6 沙门氏菌诊断血清

B.3 检验程序

检验程序见图B.1。

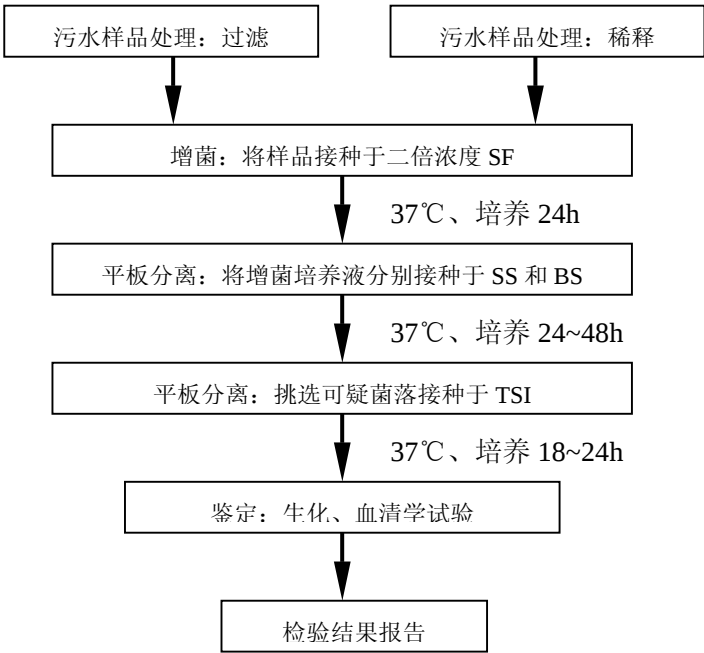


图 B.1 污水中沙门氏菌检验程序

B.4 操作步骤

B.4.1 样品处理和增菌

取200mL 污水，用灭菌滤膜进行抽滤。用100mL 二倍浓度SF 增菌液把滤膜上截留的杂质洗脱到灭菌三角烧瓶内，充分摇匀，置于37℃恒温培养箱，增菌培养12~24h。

若样品为经过氯消毒的污水，应在采样后立即用5%硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

B.4.2 平板分离

取上述增菌培养液，分别接种于SS 培养基平板和BS 培养基平板，置于37℃培养箱中，培养24 h~48h。观察各平板上生长的菌落形态。

挑取在SS 培养基平板上呈无色透明或中间有黑心，直径1~2mm 的菌落；挑取在BS 培养基平板上呈黑色的菌落或灰绿色的可疑肠道病原菌菌落。每个平板最少挑取5 个菌落，接种于TSI 培养基中，置于37℃培养箱中，培养18h~24h。

B.4.3 鉴定

B.4.3.1 血清学试验

在TSI 培养基中，如不发酵乳糖，发酵葡萄糖产酸产气或只产酸不产气，一般产生硫化氢，有动力者，先与沙门氏A-F 群O多价血清作玻片凝集，凡与多价O血清凝集者，再与O因子血清凝集，以确定所属群别，然后用H 因子血清，确定血清型。双向菌株应证实两相的H 抗原，有Vi 抗原的菌型(伤寒和丙型副伤寒沙门氏菌)应用Vi 因子血清检验。

B.4.3.2 生化试验

应进行葡萄糖、甘露醇、麦芽糖、乳糖、蔗糖、靛基质、硫化氢、动力、尿素试验。沙门氏菌属中除伤寒沙门氏菌和鸡沙门氏菌不产气外，通过发酵葡萄糖、产气、均发酵甘露醇和麦芽糖(但猪沙门氏菌、雏沙门氏菌不发酵麦芽糖)，不分解乳糖、蔗糖，尿素酶和靛基质为阴性，通常产生硫化氢。除鸡、雏沙门氏菌和伤寒沙门氏菌的O 型菌株无动力外，通常均有动力。

如遇多价O血清不凝集而一般生化反应符合上述情况时，可加做侧金盏花醇、水杨素和氰化钾试验，沙门氏菌均为阴性。

B.5 检验结果报告

根据检验结果，报告一定体积的样品中存在或不存在沙门氏菌。

附 录 C

(规范性附录)

医疗污水中志贺氏菌的检验方法

C.1 仪器和设备

- C.1.1 高压蒸汽灭菌器
- C.1.2 干燥灭菌箱
- C.1.3 培养箱
- C.1.4 恒温水浴箱
- C.1.5 电炉
- C.1.6 天平
- C.1.7 灭菌平皿
- C.1.8 灭菌刻度吸管
- C.1.9 酒精灯

C.2 培养基和培养液

C.2.1 革兰氏阴性增菌液(GN 增菌液)

C.2.1.1 成分

胰蛋白胨(或多价胨)	20g
葡萄糖	1g
甘露醇	2g
枸橼酸钠	5g
去氧胆酸钠	0.5g
磷酸氢二钾	16g
磷酸二氢钾	2.5g
氯化钠	5g
蒸馏水	1000mL

C.2.1.2 制法

将以上各成分加入蒸馏水中溶化,调整pH 至7.0,煮沸过滤,115℃下灭菌20min。贮存于冷暗处备用。

C.2.2 二倍浓度革兰氏阴性增菌液(二倍浓度GN 增菌液)

C.2.2.1 成分

除蒸馏水改为500mL 外,其它成分同附录C2.1.1。

C.2.2.2 制法

制法同附录C.2.1.2。

C.2.3 SS 培养基

同附录B.2.3。

C.2.4 伊红美蓝琼脂培养基(EMB 培养基)

同附录A.2.3。

C.2.5 三糖铁琼脂(TSI 培养基)

同附录B.2.5。

C.2.6 志贺氏菌诊断血清

C.3 检验程序

检验程序见图C.1。

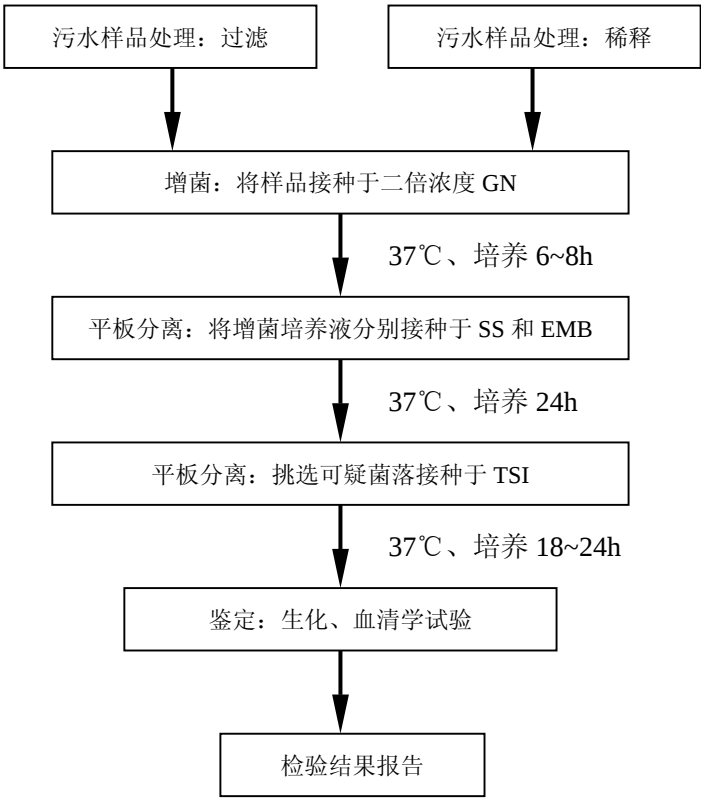


图 C.1 污水中志贺氏菌检验程序

C.4 操作步骤

C.4.1 样品处理和增菌培养

取200mL 污水，用灭菌滤膜进行抽滤。若样品为经过氯消毒的污水，应在采样后立即用5%硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。用100mL 二倍浓度GN 增菌液把滤膜上截留的杂质洗脱到已灭菌的三角烧瓶内，摇匀，置于37℃恒温培养箱，增菌培养6~8h。

C.4.2 分离

取上述增菌培养液，分别接种SS 培养基平板和EMB 培养基平板，置于37℃培养箱中培养24h。

挑取在SS 培养基平板和EMB 培养基平板上呈无色透明，直径1~1.5mL 的可疑肠道病原菌菌落。每个平板最少挑取5 个菌落，接种于TSI 培养基，置于37℃培养箱中培养18~24h。挑取在TSI 中，葡萄糖产酸不产气，无动力，不产生硫化氢，上层斜面乳糖不分解的菌株，可做血清学和生化试验。

C.4.3 鉴定

C.4.3.1 血清学试验

志贺氏菌属分为四个群，先与多价血清作玻璃片凝集试验，如为阳性，再分别与A、B、C、D 群血清凝集，并进一步与分型血清做玻璃片凝集，最后确定其血清型。

C.4.3.2 生化试验

应进行葡萄糖、甘露醇、麦芽糖、乳糖、蔗糖、靛基质、硫化氢、动力、尿素试验。志贺氏菌属能分解葡萄糖，但不产气(福氏志贺氏菌6型有时产生少量气体)，一般不能分解乳糖和蔗糖，宋内氏志贺氏菌对乳糖和蔗糖迟缓发酵产酸。志贺氏菌属均不产生硫化氢，不分解尿素，无动力。对甘露醇、麦芽糖的发酵及靛基质的产生，则因菌株不同而异。

如遇多价血清玻璃片凝集试验为阴性，而生化反应符合上述情况时，可加做肌醇、水杨酸、V-P、柠檬酸盐、氰化钾等试验。志贺氏菌属均为阴性反应。

C.5 检验结果报告

根据检验结果，报告一定体积的样品中存在或不存在志贺氏菌。

附 录 D

(规范性附录)

医疗污水中结核杆菌的检验方法

D.1 仪器和设备

- D.1.1 电炉
- D.1.2 恒温水浴箱
- D.1.3 高压蒸汽灭菌器
- D.1.4 滤菌器
- D.1.5 离心机
- D.1.6 恒温培养箱
- D.1.7 乙酸纤维膜：孔径为0.3~0.7 μm
- D.1.8 玻璃漏斗G2：孔径为10~15 μm
- D.1.9 玻璃漏斗G4：孔径为3~4 μm
- D.1.10 酒精灯

D.2 培养基和试剂

D.2.1 改良罗氏培养基

D.2.1.1 成分

磷酸二氢钾	2.4g
硫酸镁	0.24g
枸橼酸钠	0.6g
谷氨酸钠	1.2g
甘油	12mL
淀粉	30g
蒸馏水	600mL
鸡蛋液（包括蛋清和蛋黄）	1000mL
20%孔雀绿	20mL

D.2.1.2 制法

将磷酸二氢钾、硫酸镁、枸橼酸钠、谷氨酸钠、甘油及蒸馏水混合于烧杯内，放在沸水浴中加热溶解。加入淀粉继续加热1h，摇动使其溶解，待冷却至50℃加鸡蛋液及孔雀绿，溶解，混匀。制成斜面，保持温度90℃，灭菌1h。

D.2.2 小川氏培养基

D.2.2.1 成分

甲液：无水磷酸二氢钾	1g
味精	1g
蒸馏水	100mL
乙液：全蛋液	200mL
甘油	6mL
2%孔雀绿	6mL

D.2.2.2 制法

甲、乙两液混合分装试管内。制成斜面，保持温度90℃灭菌1h

D.2.3 pH 为7.0 的磷酸盐缓冲液(M / 15)

- D. 2. 4 10%吐温 (Tween) 80 水溶液加等量30%过氧化氢溶液
- D. 2. 5 4%硫酸溶液

D. 3 检验程序

结核杆菌检验程序见图D. 1。

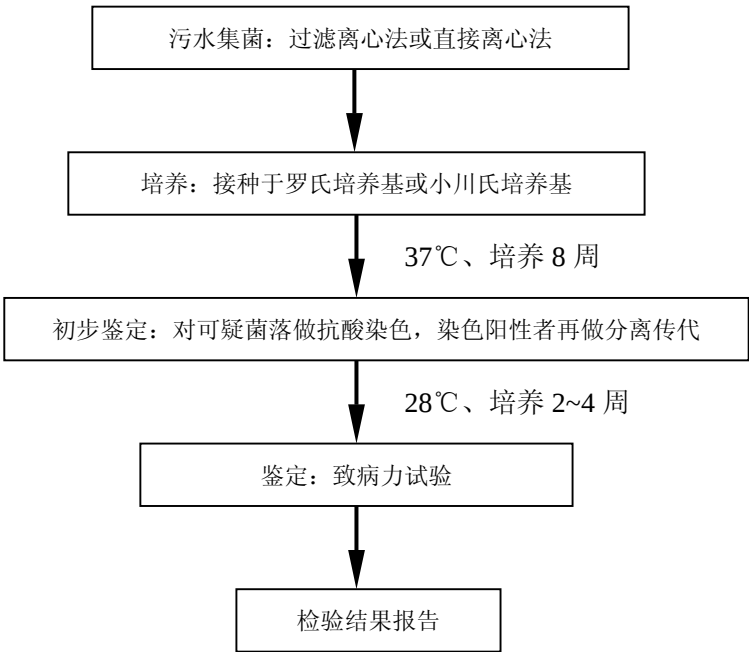


图 D. 1 污水中结核杆菌检验程序

D. 4 操作步骤

D. 4. 1 集菌

集菌可采用过滤离心法或直接离心法。

过滤离心法：用经煮沸消毒的乙酸纤维滤膜(孔径0. 3~0. 7 μ m)抽滤，安装严密后，取污水样500mL抽滤，根据悬浮物的多少，一份水样需更换数张滤膜，将同一份水样滤膜集中于小烧杯内。根据滤膜的多少用100~200mL4%硫酸溶液反复冲洗，静置30min 后，收集洗液于离心管中，3000转 / min，离心30min，弃去上清液，沉淀物中加1mL 灭菌生理盐水混合均匀后，供接种用。

直接离心法：水样500mL，分装于50mL 或200mL 灭菌离心管中，3000转 / min，离心30min。同一份水样的沉淀物集中于试管内，加等量4%硫酸处理30min，供接种用。如体积过大，再次离心浓缩后接种。

若样品为经过氯消毒的污水，应在采样后立即用5%硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

D. 4. 2 接种

全部接种于改良罗氏培养基或小川氏培养基培养管内斜面上，每支培养管接种0. 1mL。

D. 4. 3 培养

已接种的培养基置于37℃培养箱内培养。培养2 周后开始观察结果，每周观察2 次一般需要培养8周。

分离菌株：在罗氏培养基上呈淡黄色或无色的粗糙型菌落，作抗酸染色，阳性者作分离传代。分离传代菌株如生长速度在两周以上，则需作菌型鉴定；应用耐热触酶试验和传代培养于28℃培养2~4周，观察是否生长，用此方法即可进行初步鉴定。

D.4.4 致病力试验

耐热触酶反应阴性，28℃不生长之菌落为可疑结核杆菌。于小白鼠尾静脉接种1mg菌量(5mg/mL菌液，每只动物接种0.2mL)，死亡时观察病变或8周后解剖脏器发现典型结核病变者可确认为检出结核杆菌。其耐热触酶试验方法如下：

取菌落3~5mg分散于0.5mL磷酸盐缓冲液中，置68℃水浴中20min后取出。冷却后加吐温80h和过氧化氢溶液混合液0.5mL。

发生气泡为阳性，30min不产生气泡者为阴性。人型、牛型结核杆菌，胃分枝杆菌和海鱼分枝杆菌为阴性，其他非典型抗酸菌和非致病抗酸菌为阳性。人型、牛型结核杆菌在28℃培养不生长，胃分枝杆菌和海鱼分枝杆菌28℃培养能生长。

D.5 检验结果报告

根据检验结果，报告一定体积的样品中存在或不存在结核杆菌。
