



中华人民共和国卫生行业标准

WS 394—2012

公共场所集中空调通风系统卫生规范

Hygienic specification of central air conditioning ventilation system in
public buildings

2012-09-19 发布

2013-04-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由卫生部环境卫生标准专业委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准负责起草单位：中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所、江苏省疾病预防控制中心、深圳市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：姚孝元、金银龙、刘凡、王俊起、戴自祝、张秀珍、于淑苑、孙波、金鑫、王艳、朱文玲、韩旭。

公共场所集中空调通风系统卫生规范

1 范围

本标准规定了公共场所集中空调通风系统(以下简称集中空调系统)的设计、质量、检验和管理等卫生要求。

本标准适用于公共场所使用的集中空调系统,其他场所集中空调系统可参照执行。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

新风量 air change flow

单位时间内由集中空调系统进入室内的室外空气的量,单位为 $\text{m}^3/(\text{h} \cdot \text{人})$ 。

2.2

可吸入颗粒物 inhalable particle matter

悬浮在空气中,空气动力学当量直径小于等于 $10\ \mu\text{m}$,能够进入人体喉部以下呼吸道的颗粒状物质,简称 PM_{10} 。

2.3

风管表面积尘量 duct surface dust

集中空调风管内表面单位面积灰尘的量,单位为 g/m^2 。

3 设计卫生要求

3.1 集中空调系统新风量的设计应符合表 1 的要求。

表 1 新风量要求

场所名称	新风量 $\text{m}^3/(\text{h} \cdot \text{人})$
宾馆、饭店、旅店、招待所、候诊室、理发店、美容店、游泳场(馆)、博物馆、美术馆、图书馆、游艺厅(室)、舞厅等	≥ 30
饭馆、咖啡馆、酒吧、茶座、影剧院、录像厅(室)、音乐厅、公共浴室、体育场(馆)、展览馆、商场(店)、书店、候车(机、船)室、公共交通工具等	≥ 20

3.2 集中空调系统送风温度的设计宜使公共浴室的更衣室、休息室冬季室内温度达到 $25\ ^\circ\text{C}$,其他公共场所所在 $16\ ^\circ\text{C} \sim 20\ ^\circ\text{C}$ 之间;夏季室内温度在 $26\ ^\circ\text{C} \sim 28\ ^\circ\text{C}$ 之间。

3.3 集中空调系统送风湿度的设计宜使游泳场(馆)相对湿度不大于 80% ,其他公共场所相对湿度在 $40\% \sim 65\%$ 之间。

3.4 集中空调系统送风风速的设计宜使宾馆、旅店、招待所、咖啡馆、酒吧、茶座、理发店、美容店及公共

浴室的更衣室、休息室风速不大于 0.3 m/s。其他公共场所风速不大于 0.5 m/s。

3.5 对有睡眠、休憩需求的公共场所,集中空调系统运行所产生的噪声对场所室内环境造成的影响不得高于设备设施关闭状态时室内环境噪声值 5 dB(A 计权)。

3.6 集中空调系统应具备下列设施:

- a) 应急关闭回风和新风的装置;
- b) 控制空调系统分区域运行的装置;
- c) 供风管系统清洗、消毒用的可开闭窗口,或便于拆卸的不小于 300 mm×250 mm 的风口。

3.7 集中空调系统宜设置去除送风中微生物、颗粒物和气态污染物的空气净化消毒装置。

3.8 集中空调系统的新风应直接取自室外,不应从机房、楼道及天棚吊顶等处间接吸取新风。

3.9 集中空调系统的新风口应设置防护网和初效过滤器,并符合以下要求:

- a) 设置在室外空气清洁的地点,远离开放式冷却塔和其他污染源;
- b) 低于排风口;
- c) 进风口的下缘距室外地坪不宜小于 2 m,当设在绿化地带时,不宜小于 1 m;
- d) 进排风不应短路。

3.10 集中空调系统的送风口和回风口应设置防虫媒装置,设备冷凝水管道应设置水封。

3.11 集中空调系统加湿方式宜选用蒸汽加湿,选用自来水喷雾或冷水蒸发的加湿方式应有控制军团菌繁殖措施。

3.12 集中空调系统开放式冷却塔应符合下列要求:

- a) 开放式冷却塔的設置应远离人员聚集区域、建筑物新风取风口或自然通风口,不应设置在新风口的上风向,宜设置冷却水系统持续消毒装置;
- b) 开放式冷却塔应设置有效的除雾器和加注消毒剂的入口;
- c) 开放式冷却塔水池内侧应平滑,排水口应设在塔池的底部。

3.13 集中空调系统风管内表面应当光滑,易于清理。制作风管的材料不得释放有毒有害物质,宜使用耐腐蚀的金属材料;采用非金属材料制作风管时,必须保证风管的坚固及严密性,具有承受机械清洗设备工作冲击的强度。

4 卫生质量要求

4.1 集中空调系统新风量应符合表 1 的要求。

4.2 集中空调系统冷却水和冷凝水中不得检出嗜肺军团菌。

4.3 集中空调系统送风质量应符合表 2 的要求。

表 2 送风卫生指标

项 目	指 标
PM ₁₀	≤0.15 mg/m ³
细菌总数	≤500 CFU/m ³
真菌总数	≤500 CFU/m ³
β-溶血性链球菌	不得检出
嗜肺军团菌 (不作为许可的必检项目)	不得检出

4.4 集中空调系统风管内表面卫生指标应符合表 3 的要求。

表 3 风管内表面卫生指标

项 目	指 标
积尘量	$\leq 20 \text{ g/m}^2$
细菌总数	$\leq 100 \text{ CFU/cm}^2$
真菌总数	$\leq 100 \text{ CFU/cm}^2$

5 卫生管理要求

5.1 应建立集中空调系统卫生档案,主要包括以下内容:

- a) 集中空调系统竣工图;
- b) 卫生学检测或评价报告书;
- c) 经常性卫生检查及维护记录;
- d) 清洗、消毒及其资料记录;
- e) 空调故障、事故及其他特殊情况记录。

5.2 应定期对集中空调系统进行检查、检测和维护。

5.3 应定期对集中空调系统下列部位进行清洗:

- a) 开放式冷却塔每年清洗不少于一次;
- b) 空气净化过滤材料应当每六个月清洗或更换一次;
- c) 空气处理机组、表冷器、加热(湿)器、冷凝水盘等每年清洗一次。

5.4 集中空调系统出现下列情况时,应对相关部位进行清洗消毒:

- a) 冷却水、冷凝水中检出嗜肺军团菌;
- b) 送风质量不符合表 2 要求的;
- c) 风管内表面积尘量、细菌总数、真菌总数有不符合表 3 要求的。

5.5 应制定集中空调系统预防空气传播性疾病的应急预案,主要包括以下内容:

- a) 集中空调系统进行应急处理的责任人;
- b) 不同送风区域隔离控制措施、最大新风量或全新风运行方案、空调系统的清洗、消毒方法等;
- c) 集中空调系统停用后应采取的其他通风与调温措施等。

5.6 当空气传播性疾病暴发流行时,符合下列条件之一的集中空调系统方可继续运行:

- a) 采用全新风方式运行的;
- b) 装有空气净化消毒装置,并保证该装置有效运行的;
- c) 风机盘管加新风的空调系统,能确保各房间独立通风的。

5.7 当空气传播性疾病暴发流行时,应每周对运行的集中空调系统的开放式冷却塔、过滤网、过滤器、净化器、风口、空气处理机组、表冷器、加热(湿)器、冷凝水盘等设备或部件进行清洗、消毒或者更换。

6 卫生检测要求

6.1 检测样本量

6.1.1 抽样比例不应少于空气处理机组对应的风管系统总数量的 5%;不同类型的集中空调系统,每类至少抽 1 套。

6.1.2 每套应选择 2 个~5 个代表性部位。

6.1.3 集中空调系统的冷却水和冷凝水分别不应少于 1 个部位。

6.2 检验方法

6.2.1 集中空调系统新风量检测方法见附录 A。

6.2.2 集中空调系统冷却水、冷凝水中嗜肺军团菌检验方法见附录 B。

6.2.3 集中空调送风中可吸入颗粒物检测方法见附录 C。

6.2.4 集中空调送风中细菌总数检验方法见附录 D。

6.2.5 集中空调送风中真菌总数检验方法见附录 E。

6.2.6 集中空调送风中 β -溶血性链球菌检验方法见附录 F。

6.2.7 集中空调送风中嗜肺军团菌检验方法见附录 G。

6.2.8 集中空调风管内表面积尘量检验方法见附录 H。

6.2.9 集中空调风管内表面微生物检验方法见附录 I。

6.3 检验结果判定

当检测结果为下列情况之一的,判定该套集中空调系统不符合卫生质量要求:

- a) 冷却水或冷凝水中有嗜肺军团菌检出的;
- b) 新风量检测结果不符合表 1 要求的;
- c) 单个风口送风中细菌总数、真菌总数、 β -溶血性链球菌、嗜肺军团菌检测结果有不符表 2 要求的;
- d) 抽取的各个风口送风中 PM_{10} 的平均值不符合表 2 要求的;
- e) 风管内表面积尘中细菌总数、真菌总数检测结果有不符表 3 要求的;
- f) 风管内表面各采样点积尘量检测结果的平均值不符合表 3 要求的。

附录 A
(规范性附录)
集中空调系统新风量检测方法

A.1 总则

本附录规定了用风管法测定集中空调系统的新风量,即直接在新风管上测定新风量的方法。

A.2 原理

在机械通风系统处于正常运行或规定的工况条件下,通过测量新风管某一断面的面积及该断面的平均风速,计算出该断面的新风量。如果一套系统有多个新风管,每个新风管均要测定风量,全部新风管风量之和即为该套系统的总新风量,根据系统服务区域内的人数,便可得出新风量结果。

A.3 仪器

- A.3.1 标准皮托管: $K_p=0.99\pm0.01$,或 S 型皮托管 $K_p=0.84\pm0.01$ 。
- A.3.2 微压计:精确度不低于 2%,最小读数不大于 1 Pa。
- A.3.3 热电风速仪:最小读数不大于 0.1 m/s。
- A.3.4 玻璃液体温度计或电阻温度计:最小读数不大于 1℃。

A.4 测点要求

- A.4.1 检测点所在的断面应选在气流平稳的直管段,避开弯头和断面急剧变化的部位。
- A.4.2 圆形风管测点位置和数量:将风管分成适当数量的等面积同心环,测点选在各环面积中心线与垂直的两条直径线的交点上,圆形风管测点数见表 A.1。直径小于 0.3 m、流速分布比较均匀的风管,可取风管中心一点作为测点。气流分布对称和比较均匀的风管,可只取一个方向的测点进行检测。

表 A.1 圆形风管测点数

风管直径 m	环数 个	测点数(两个方向共计)
≤1	1~2	4~8
>1~2	2~3	8~12
>2~3	3~4	12~16

- A.4.3 矩形风管测点位置和数量:将风管断面分成适当数量的等面积矩形(最好为正方形),各矩形中心即为测点。矩形风管测点数见表 A.2。

表 A.2 矩形风管测点数

风管断面面积 m ²	等面积矩形数 个	测点数 个
≤1	2×2	4
>1~4	3×3	9
>4~9	3×4	12
>9~16	4×4	16

A.5 测量步骤

A.5.1 测量风管检测断面面积(F),按表 A.1 或表 A.2 分环(分块)确定检测点。

A.5.2 皮托管法测定新风量测量步骤如下:

- a) 检查微压计显示是否正常,微压计与皮托管连接是否漏气;
- b) 将皮托管全压出口与微压计正压端连接,静压管出口与微压计负压端连接;
- c) 将皮托管插入风管内,在各测点上使皮托管的全压测孔对着气流方向,偏差不得超过 10°,测量出各点动压(P_d)。重复测量一次,取算术平均值;
- d) 将玻璃液体温度计或电阻温度计插入风管中心点处,封闭测孔待温度稳定后读数,测量出新风温度(t);
- e) 调查机械通风服务区域内设计人流量和实际最大人流量。

A.5.3 风速计法测定新风量测量步骤如下:

- a) 按照热电风速仪使用说明书调整仪器;
- b) 将风速仪放入新风管内测量各测点风速,以全部测点风速算术平均值作为平均风速;
- c) 将玻璃液体温度计或电阻温度计插入风管中心点处,封闭测孔待温度稳定后读数,测量出新风温度(t);
- d) 调查机械通风服务区域内设计人流量和实际最大人流量。

A.5.4 按要求对仪器进行期间核查和使用前校准。

A.6 结果计算

A.6.1 皮托管法测量新风量的计算见式(A.1):

$$Q = \frac{\sum_{i=1}^n (3\,600 \times F \times 0.076 \times K_p \times \sqrt{273+t} \times \sqrt{P_d})}{P} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

Q ——新风量,单位为立方米每人小时[m³/(h·人)];

F ——新风管测量断面面积,单位为平方米(m²);

K_p ——皮托管系数;

t ——新风温度,单位为摄氏度(°C);

P_d ——新风动压值,单位为帕(Pa);

n ——一个机械通风系统内新风管的数量;

P ——服务区人数,取设计人流量与实际最大人流量 2 个数中的高值,单位为人。

A.6.2 风速计法测量新风量的计算见式(A.2):

$$Q = \frac{\sum_{i=1}^n (3\,600 \times F \times \bar{V})}{P} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

Q ——新风量,单位为立方米每人小时 $[\text{m}^3/(\text{人} \cdot \text{h})]$;

F ——新风管测量断面面积,单位为平方米(m^2);

\bar{V} ——新风管中空气的平均速度,单位为米每秒(m/s);

n ——一个系统内新风管的数量;

P ——服务区人数,取设计人流量与实际最大人流量 2 个数中的高值,单位为人。

A.6.3 换气次数的计算见式(A.3):

$$A = \frac{Q \times P}{V} \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

A ——换气次数,单位为次每小时(次/h);

Q ——新风量,单位为立方米每人小时 $[\text{m}^3/(\text{人} \cdot \text{h})]$;

P ——服务区人数;

V ——室内空气体积,单位为立方米(m^3)。

A.7 测量范围

皮托管法测量新风管风速范围为 $2 \text{ m/s} \sim 30 \text{ m/s}$,电风速计法测量新风管风速范围为 $0.1 \text{ m/s} \sim 10 \text{ m/s}$ 。

附录 B

(规范性附录)

集中空调系统冷却水、冷凝水中嗜肺军团菌检验方法

B.1 总则

本附录规定了用培养法定性测定集中空调系统冷却水、冷凝水及其形成的沉积物、软泥等样品中的嗜肺军团菌,其他洗浴水、温泉水、景观水等样品中的嗜肺军团菌测定可参照执行。

B.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

B.2.1

嗜肺军团菌 *legionella pneumophila*

样品经培养在 GVPC 琼脂平板上生成典型菌落,并在 BCYE 琼脂平板上生长而在 L-半光氨酸缺失的 BCYE 琼脂平板不生长,进一步经生化实验和血清学实验鉴定确认的菌落。

B.3 仪器和设备

- B.3.1 平皿: $\phi 90$ mm。
- B.3.2 CO₂ 培养箱: 35 °C ~ 37 °C。
- B.3.3 紫外灯: 波长 360 nm \pm 2 nm。
- B.3.4 滤膜过滤器。
- B.3.5 滤膜: 孔径 0.22 μ m ~ 0.45 μ m。
- B.3.6 真空泵。
- B.3.7 离心机。
- B.3.8 涡旋振荡器。
- B.3.9 普通光学显微镜、荧光显微镜。
- B.3.10 水浴箱。
- B.3.11 广口采样瓶: 玻璃或聚乙烯材料,磨口,容积 500 mL。

B.4 培养基和试剂

- B.4.1 GVPC 琼脂平板。
- B.4.2 BCYE 琼脂平板。
- B.4.3 BCYE-CYE 琼脂平板。
- B.4.4 革兰氏染色液。
- B.4.5 马尿酸盐生化反应管。
- B.4.6 军团菌分型血清试剂。

B.5 采样

B.5.1 将广口采样瓶(B.3.11)用前灭菌。

B.5.2 每瓶中加入 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液($c=0.1\text{ mol/L}$)0.3 mL~0.5 mL,中和样品中的氧化物。

B.5.3 水样采集位置:冷却水采样点设置在距塔壁 20 cm、液面下 10 cm 处,冷凝水采样点设置在排水管或冷凝水盘处。

B.5.4 每个采样点依无菌操作取水样约 500 mL。

B.5.5 采集的样品 2 d 内送达实验室,不必冷冻,但要避光和防止受热,室温下贮存不得超过 15 d。

B.6 检验步骤

B.6.1 样品的沉淀或离心:如有杂质可静置沉淀或 1 000 r/min 离心 1 min 去除。

B.6.2 样品的过滤:将经沉淀或离心的样品通过滤膜(B.3.5)过滤,取下滤膜置于 15 mL 灭菌水中,充分洗脱,备用。

B.6.3 样品的热处理:取 1 mL 洗脱样品,置 50 °C 水浴(B.3.10)加热 30 min。

B.6.4 样品的酸处理:取 5 mL 洗脱样品,调 pH 至 2.2,轻轻摇匀,放置 5 min。

B.6.5 样品的接种:取洗脱样品(B.6.2)、热处理样品(B.6.3)及酸处理样品(B.6.4)各 0.1 mL,分别接种 GVPC 平板(B.4.1)。

B.6.6 样品的培养:将接种平板静置于 CO_2 培养箱(B.3.2)中,温度为 35 °C~37 °C, CO_2 浓度为 2.5%。无 CO_2 培养箱可采用烛缸培养法。观察到有培养物生成时,反转平板,孵育 10 d,注意保湿。

B.6.7 菌落观察:军团菌生长缓慢,易被其他菌掩盖,从孵育第 3 天开始每天在显微镜(B.3.9)上观察。军团菌的菌落颜色多样,通常呈白色、灰色、蓝色或紫色,也能显深褐色、灰绿色、深红色;菌落整齐,表面光滑,呈典型毛玻璃状,在紫外灯下,部分菌落有荧光。

B.6.8 菌落验证:从平皿上挑取 2 个可疑菌落,接种 BCYE 琼脂平板(B.4.2)和 L-半光氨酸缺失的 BCYE 琼脂平板(B.4.3),35 °C~37 °C 培养 2 d,凡在 BCYE 琼脂平板上生长而在 L-半光氨酸缺失的 BCYE 琼脂平板不生长的则为军团菌菌落。

B.6.9 菌型确定:应进行生化培养与血清学实验确定嗜肺军团菌。生化培养:氧化酶(一/弱+),硝酸盐还原(一),尿素酶(一),明胶液化(+),水解马尿酸。血清学实验:用嗜肺军团菌诊断血清进行分型。

附录 C
(规范性附录)

集中空调送风中可吸入颗粒物(PM₁₀)检测方法

C.1 总则

本附录规定了用光散射式粉尘仪测定集中空调系统送风中可吸入颗粒物 PM₁₀ 的质量浓度,测量范围 0.001 mg/m³~10 mg/m³。

C.2 原理

当光照射在空气中悬浮的颗粒物上时,产生散射光。在颗粒物性质一定的条件下,颗粒物的散射光强度与其质量浓度成正比。通过测量散射光强度,应用质量浓度转换系数 K 值,求得颗粒物质量浓度。

C.3 仪器

颗粒物捕集性能:捕集效率为 50% 时所对应的颗粒物空气动力学直径 D_{a50} 为 $10\ \mu\text{m} \pm 0.5\ \mu\text{m}$,捕集效率曲线的几何标准差 σ_g 为 1.5 ± 0.1 。

测量灵敏度:对于校正粒子,仪器 1 个计数/min=0.001 mg/m³。

测量相对误差:对于校正粒子测量相对误差小于 $\pm 10\%$ 。

测量范围:0.001 mg/m³~10 mg/m³ 以上。

仪器应内设出厂前已标定的具有光学稳定性的自校装置。

注:校正粒子为平均粒径 $0.6\ \mu\text{m}$,几何标准偏差 $\sigma \leq 1.25$ 的聚苯乙烯粒子。

C.4 测量步骤

C.4.1 检测点数量与位置

C.4.1.1 每套空调系统选择 3 个~5 个送风口进行检测。送风口面积小于 $0.1\ \text{m}^2$ 的设置 1 个检测点,送风口面积在 $0.1\ \text{m}^2$ 以上的设置 3 个检测点。

C.4.1.2 风口设置 1 个检测点的在送风口中心布置,设置 3 个检测点的在送风口对角线四等分的 3 个等分点上布点。

C.4.1.3 检测点位于送风口散流器下风方向 15 cm~20 cm 处。

C.4.2 检测时间与频次

C.4.2.1 应在集中空调系统正常运转条件下进行检测。

C.4.2.2 每个检测点检测 3 次。

C.4.3 仪器操作

C.4.3.1 对粉尘仪光学系统进行自校准。

C.4.3.2 根据送风中 PM₁₀ 浓度、仪器灵敏度、仪器测定范围确定仪器测定时间。

C.4.3.3 按使用说明书操作仪器。

C.5 结果计算

C.5.1 数据转换

对于非质量浓度的计数值,按式(C.1)转换为 PM_{10} 质量浓度:

$$c = R \cdot K \quad \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

c ——可吸入颗粒物 PM_{10} 的质量浓度,单位为毫克每立方米(mg/m^3);

R ——仪器每分钟计数值,单位为个每分钟(个/min);

K ——质量浓度转换系数。

C.5.2 送风口 PM_{10} 浓度计算

第 k 个送风口 PM_{10} 的质量浓度(c_k)按式(C.2)计算:

$$c_k = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 c_{ij} \right) \quad \dots\dots\dots (C.2)$$

式中:

c_{ij} ——第 j 个测点、第 i 次检测值;

n ——测点个数。

C.5.3 集中空调系统送风中 PM_{10} 浓度测定结果

一个系统(a)送风中 PM_{10} 的测定结果(c_a)按该系统全部检测的送风口 PM_{10} 质量浓度(c_k)的算术平均值给出。

附录 D

(规范性附录)

集中空调送风中细菌总数检验方法

D.1 总则

本附录规定了用培养法测定集中空调系统送风中的细菌总数。

D.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

D.2.1

细菌总数 total bacterial count

集中空调系统送风中采集的样品,计数在营养琼脂培养基上经 35℃~37℃、48 h 培养所生长发育的嗜中温性需氧和兼性厌氧菌落的总数。

D.3 仪器和设备

D.3.1 六级筛孔撞击式微生物采样器。

D.3.2 高压蒸汽灭菌器。

D.3.3 恒温培养箱。

D.3.4 平皿:φ90 mm。

D.4 培养基

D.4.1 营养琼脂培养基成分:

蛋白胨	10 g
氯化钠	5 g
肉膏	5 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

D.4.2 制法:将蛋白胨、氯化钠、肉膏溶于蒸馏水中,校正 pH 为 7.2~7.6,加入琼脂,121℃,20 min 灭菌备用。

D.5 采样

D.5.1 采样点:每套空调系统选择 3 个~5 个送风口进行检测,每个风口设置 1 个检测点,一般设在送风口下方 15 cm~20 cm、水平方向向外 50 cm~100 cm 处。

D.5.2 采样环境条件:采样时集中空调系统必须在正常运转条件下,并关闭门窗 15 min~30 min 以

上,尽量减少人员活动幅度与频率,记录室内人员数量、温湿度与天气状况等。

D.5.3 采样方法:以无菌操作,使用撞击式微生物采样器(D.3.1)以 28.3 L/min 流量采集 5 min~15 min。

D.6 检验步骤

将采集细菌后的营养琼脂平皿置 35℃~37℃培养 48 h,菌落计数。

D.7 结果报告

D.7.1 送风口细菌总数测定结果:菌落计数,记录结果并按稀释比与采气体积换算成 CFU/m³(空气中菌落形成单位每立方米)。

D.7.2 集中空调系统送风中细菌总数测定结果:一个系统送风中细菌总数的测定结果按该系统全部检测的送风口细菌总数测定值中的最大值给出。

附 录 E
(规范性附录)
集中空调送风中真菌总数检验方法

E.1 总则

本附录规定了用培养法测定集中空调系统送风中的真菌总数。

E.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

E.2.1

真菌总数 **total fungi count**

集中空调系统送风中采集的样品,计数在沙氏琼脂培养基上经 28 ℃、5 d 培养所形成的菌落数。

E.3 仪器和设备

见 D.3。

E.4 培养基

E.4.1 沙氏琼脂培养基成分:

蛋白胨	10 g
葡萄糖	40 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

E.4.2 制法:将蛋白胨、葡萄糖溶于蒸馏水中,校正 pH 为 5.5~6.0,加入琼脂,115 ℃,15 min 灭菌备用。

E.5 采样

见 D.5。

E.6 检验步骤

将采集真菌后的沙氏琼脂培养基平皿置 28 ℃培养 5 d,逐日观察并于第 5 天记录结果。若真菌数量过多可于第 3 天计数结果,并记录培养时间。

E.7 结果报告

E.7.1 送风口真菌总数测定结果:菌落计数,记录结果并按稀释比与采气体积换算成 CFU/m³(空气中菌落形成单位每立方米)。

E.7.2 集中空调系统送风中真菌总数测定结果:一个系统送风中真菌总数的测定结果按该系统全部检测的送风口真菌总数测定值中的最大值给出。

附录 F

(规范性附录)

集中空调送风中 β -溶血性链球菌检验方法

F.1 总则

本附录规定了用培养法测定集中空调系统送风中的 β -溶血性链球菌。

F.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

F.2.1

β -溶血性链球菌 β -hemolytic streptococcus

集中空调系统送风中采集的样品,经 35℃~37℃、24 h~48 h 培养,在血琼脂平板上形成的典型菌落。

F.3 仪器和设备

见 D.3。

F.4 培养基

F.4.1 血琼脂平板成分:

蛋白胨	10 g
氯化钠	5 g
琼脂	20 g
脱纤维羊血	5 mL~10 mL
蒸馏水	1 000 mL

F.4.2 制法:将蛋白胨、氯化钠、肉膏加热溶化于蒸馏水中,校正 pH 为 7.4~7.6,加入琼脂,121℃ 20 min 灭菌。待冷却至 50℃左右,以无菌操作加入脱纤维羊血,摇匀倾皿。

F.5 采样

见 D.5。

F.6 检验步骤

F.6.1 培养方法:采样后的血琼脂平板在 35℃~37℃下培养 24 h~48 h。

F.6.2 结果观察:培养后,在血琼脂平板上形成呈灰白色、表面突起、直径 0.5 mm~0.7 mm 的细小菌落,菌落透明或半透明,表面光滑有乳光;镜检为革蓝氏阳性无芽孢球菌,圆形或卵圆形,呈链状排列,受培养与操作条件影响链的长度在 4 个~8 个细胞至几十个细胞之间;菌落周围有明显的 2 mm~4 mm

界限分明、完全透明的无色溶血环。符合上述特征的菌落为 β -溶血性链球菌。

F.7 结果报告

F.7.1 送风口 β -溶血性链球菌测定结果:菌落计数,记录结果并按稀释比与采气体积换算成 CFU/m³ (空气中菌落形成单位每立方米)。

F.7.2 集中空调系统送风中 β -溶血性链球菌测定结果:一个系统送风中 β -溶血性链球菌的测定结果按该系统全部检测的送风口 β -溶血性链球菌测定值中的最大值给出。

附录 G

(规范性附录)

集中空调送风中嗜肺军团菌检验方法

G.1 总则

本附录规定了用液体冲击法测定集中空调系统送风中的嗜肺军团菌。

G.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

G.2.1

嗜肺军团菌 *legionella pneumophila*

样品经培养在 GVPG 琼脂平板上生成典型菌落,并在 BCYE 琼脂平板上生长而在 L-半光氨酸缺失的 BCYE 琼脂平板不生长,进一步经生化实验和血清学实验鉴定确认的菌落。

G.3 仪器和设备

G.3.1 微生物气溶胶浓缩器:采样流量 ≥ 100 L/min.,对于直径 $3.0\ \mu\text{m}$ 以上粒子其捕集效率 $\geq 80\%$ 或浓缩比 ≥ 8 。

G.3.2 液体冲击式微生物气溶胶采样器:采样流量 $7\ \text{L/min} \sim 15\ \text{L/min}$.,对于 $0.5\ \mu\text{m}$ 粒子的捕集效率 $\geq 90\%$ 。

G.3.3 离心管:容积 $50\ \text{mL}$ 。

G.3.4 平皿: $\phi 90\ \text{mm}$ 。

G.3.5 CO_2 培养箱: $35\ ^\circ\text{C} \sim 37\ ^\circ\text{C}$ 。

G.3.6 紫外灯:波长 $360\ \text{nm} \pm 2\ \text{nm}$ 。

G.3.7 涡旋振荡器。

G.3.8 普通光学显微镜、荧光显微镜。

G.3.9 水浴箱。

G.4 试剂和培养基

G.4.1 采样吸收液 1-GVPC 液体培养基

G.4.1.1 GVPC 添加剂成分:

多粘菌素 B 硫酸盐	10 mg
万古霉素	0.5 mg
放线菌酮	80 mg

G.4.1.2 BCYE 添加剂成分:

α -酮戊二酸	1.0 g
N-2 酰氨基-2 氨基乙烷磺酸(ACES)	10.0 g

氢氧化钾	2.88 g
L-半胱氨酸盐酸盐	0.4 g
焦磷酸铁	0.25 g

G.4.1.3 吸收液成分:

活性炭	2 g
酵母浸出粉	10 g
GVPC 添加剂	见 G.4.1.1
BCYE 添加剂	见 G.4.1.2
蒸馏水	1 000 mL

G.4.1.4 制法:将活性炭、酵母浸出粉加水至 1 000 mL,121 °C 下高压灭菌 15 min,加入 GVPC 添加剂(G.4.1.1)和 BCYE 添加剂(G.4.1.2),分装于灭菌后的离心管(G.3.3)中备用。

G.4.2 采样吸收液 2-酵母提取液

G.4.2.1 吸收液成分:

酵母浸出粉	12 g
蒸馏水	1 000 mL

G.4.2.2 制法:将酵母浸出粉加水至 1 000 mL,121 °C 下高压灭菌 15 min,分装于灭菌后的离心管(G.3.3)中备用。

G.4.3 盐酸氯化钾溶液[$c(\text{HCl} \cdot \text{KCl}) = 0.01 \text{ mol/L}$]

G.4.3.1 成分:

盐酸(0.2 mol/L)	3.9 mL
氯化钾(0.2 mol/L)	25 mL

G.4.3.2 制法:将上述成分混合,用 1 mol/L 氢氧化钠调整 $\text{pH} = 2.2 \pm 0.2$,121 °C 下高压灭菌 15 min 备用。

G.4.4 其他试剂

G.4.4.1 GVPC 琼脂平板。

G.4.4.2 BCYE 琼脂平板。

G.4.4.3 BCYE-CYE 琼脂平板。

G.4.4.4 革兰氏染色液。

G.4.4.5 马尿酸盐生化反应管。

G.4.4.6 军团菌分型血清试剂。

G.5 采样

G.5.1 采样点:每套空调系统选择 3 个~5 个送风口进行检测,每个风口设置 1 个测点,一般设在送风口下方 15 cm~20 cm、水平方向向外 50 cm~100 cm 处。

G.5.2 将采样吸收液 1(G.4.1)20 mL 倒入微生物气溶胶采样器(G.3.2)中,然后用吸管加入矿物油 1 滴~2 滴。

G.5.3 将微生物气溶胶浓缩器(G.3.1)与微生物气溶胶采样器(G.3.2)连接,按照微生物气溶胶浓缩器和微生物气溶胶采样器的流量要求调整主流量和浓缩流量。

G.5.4 按浓缩器和采样器说明书操作,每个气溶胶样品采集空气量 $1 \text{ m}^3 \sim 2 \text{ m}^3$ 。

G.5.5 将采样吸收液 2(G.4.2)20 mL 倒入微生物气溶胶采样器(G.3.2)中,然后用吸管加入矿物油 1 滴~2 滴;在相同采样点重复 G.5.3~G.5.4 步骤。

G.5.6 采集的样品不必冷冻,但要避光和防止受热,4 h 内送实验室检验。

G.6 检验步骤

G.6.1 样品的酸处理:对采样后的吸收液 1(G.4.1)和吸收液 2(G.4.2)原液各取 1 mL,分别加入盐酸氯化钾溶液(G.4.3)充分混合,调 pH 至 2.2,静置 15 min。

G.6.2 样品的接种:在酸处理后的 2 种样品(G.6.1)中分别加入 1 mol/L 氢氧化钾溶液,中和至 pH 为 6.9,各取悬液 0.2 mL~0.3 mL 分别接种 GVPC 平板(G.4.4)。

G.6.3 样品的培养:将接种平板静置于浓度为 5%、温度为 35 °C~37 °C 的 CO₂ 培养箱(G.3.5)中,孵育 10 d。

G.6.4 菌落观察:从孵育第 3 天开始观察菌落。军团菌的菌落颜色多样,通常呈白色、灰色、蓝色或紫色,也能显深褐色、灰绿色、深红色;菌落整齐,表面光滑,呈典型毛玻璃状,在紫外灯下,部分菌落有荧光。

G.6.5 菌落验证:从平皿上挑取 2 个可疑菌落,接种 BCYE 琼脂平板(G.4.5)和 L-半光氨酸缺失的 BCYE 琼脂平板(G.4.6),35 °C~37 °C 培养 2 d,凡在 BCYE 琼脂平板上生长而在 L-半光氨酸缺失的 BCYE 琼脂平板不生长的则为军团菌菌落。

G.6.6 菌型确定:应进行生化培养与血清学实验确定嗜肺军团菌。生化培养:氧化酶(—/弱+),硝酸盐还原(—),尿素酶(—),明胶液化(+),水解马尿酸。血清学实验:用嗜肺军团菌诊断血清进行分型。

G.7 结果报告

G.7.1 采样点测定结果:两种采样吸收液中至少有一种吸收液培养出嗜肺军团菌,即为该采样点嗜肺军团菌阳性。

G.7.2 一套系统测定结果:一套系统中任意一个采样点嗜肺军团菌检测阳性,即该空调系统送风中嗜肺军团菌的测定结果为阳性。

附录 H

(规范性附录)

集中空调风管内表面积尘量检验方法

H.1 总则

本附录规定了用称重法测定集中空调系统风管内表面的积尘量。

H.2 原理

采集风管内表面规定面积的全部积尘,以称重方法得出风管内表面单位面积的积尘量,表示风管的污染程度。

H.3 设备和器材

H.3.1 定量采样机器人或手工擦拭采样规格板:采样机器人采样面积为 50 cm^2 或 100 cm^2 ,采样精度为与标准方法的相对误差小于 20%;采样规格板面积为 50 cm^2 或 100 cm^2 ,面积误差小于 5%。

H.3.2 采样材料:无纺布或其他不易失重的材料。

H.3.3 密封袋。

H.3.4 必要的采样工具。

H.3.5 分析天平,精度 0.0001 g 。

H.3.6 恒温箱。

H.3.7 干燥器。

H.4 采样

H.4.1 采样点数量:机器人采样每套空调系统至少选择 3 个采样点,手工擦拭采样每套空调系统至少选择 6 个采样点。

H.4.2 采样点布置:机器人采样在每套空调系统的风管中(如送风管、回风管、新风管)选择 3 个代表性采样断面,每个断面设置 1 个采样点。手工擦拭采样在每套空调系统的风管中选择 2 个代表性采样断面,每个断面在风管的上面、底面和侧面各设置 1 个采样点;如确实无法在风管中采样,可抽取该套系统全部送风口的 3%~5%且不少于 3 个作为采样点。

H.4.3 风管开孔:在风管采样时将维修孔、清洁孔打开或现场开孔,在送风口采样时将风口拆下。

H.4.4 采样:使用定量采样机器人或手工法(H.3.1)在确定的位置、规定的面积内采集风管表面全部积尘,表面积尘较多时用刮拭法采样,积尘较少不适宜刮拭法时用擦拭法采样,并将积尘样品完好带出风管。

H.5 检验步骤

H.5.1 将采样材料(H.3.2)放在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内(H.3.6)干燥 2 h 后放入干燥器(H.3.7)内冷却 4 h,或直接放入干燥器中(H.3.7)存放 24 h 后,放入密封袋(H.3.3)用天平(H.3.5)称量出初重。

H. 5.2 将采样后的积尘样品进行编号,并放回原密封袋中保管,送实验室。

H. 5.3 将样品按 H. 5.1 处理、称量,得出终重。

H. 5.4 各采样点的积尘样品终重与初重之差为各采样点的积尘重量。

H. 6 结果计算

H. 6.1 采样点积尘量:根据每个采样点积尘重量和采样面积换算成每平方米风管内表面的积尘量。

H. 6.2 风管污染程度:取各个采样点积尘量的平均值为风管污染程度的测定结果,以 g/m^2 (风管内表面积尘的重量每平方米)表示。

附录 I

(规范性附录)

集中空调风管内表面微生物检验方法

I.1 总则

本附录规定了用培养法测定集中空调系统风管内表面的细菌总数和真菌总数。

I.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

I.2.1

细菌总数 total bacterial count

集中空调系统送风中采集的样品,计数在营养琼脂培养基上经 35℃~37℃、48 h 培养所生长发育的嗜中温性需氧和兼性厌氧菌落的总数。

I.2.2

真菌总数 total fungi count

集中空调系统送风中采集的样品,计数在沙氏琼脂培养基上经 28℃、5 d 培养所形成的菌落数。

I.3 仪器和设备

I.3.1 定量采样机器人或采样规格板:采样机器人采样面积为 50 cm² 或 100 cm²,采样精度为与标准方法的相对误差小于 20%;采样规格板面积为 25 cm²。

I.3.2 高压蒸汽灭菌器。

I.3.3 恒温培养箱。

I.3.4 平皿:φ90 mm。

I.4 培养基和试剂

I.4.1 营养琼脂培养基:成分与制法见 D.4。

I.4.2 沙氏琼脂培养基:成分与制法见 E.4。

I.4.3 吐温 80($\varphi=0.01\%$)。

I.5 采样

I.5.1 采样点数量:见 H.4.1。

I.5.2 采样点布置:见 H.4.2。

I.5.3 采样:使用定量采样机器人或人工法(I.3.1)在确定的位置、规定的面积内采样,表面积尘较多时用刮拭法采样,积尘较少不适宜刮拭法时用擦拭法采样。整个采样过程应无菌操作。

I.6 检验步骤

I.6.1 刮拭法采集的样品:将采集的积尘样品无菌操作称取 1 g,加入到吐温 80 水溶液(I.4.3)中,做 10 倍梯级稀释,取适宜稀释度 1 mL 倾注法接种平皿。

I.6.2 擦拭法采集的样品:将擦拭物无菌操作加入到吐温 80 水溶液(I.4.3)中,做 10 倍梯级稀释,取适宜稀释度 1 mL 倾注法接种平皿。

I.6.3 培养与计数:分别见 D.6 和 E.6。

I.7 结果报告

I.7.1 风管表面细菌总数、真菌总数测定结果:菌落计数,记录结果并按稀释比换算成 CFU/cm²。

I.7.2 集中空调系统风管表面微生物测定结果:一个系统风管表面细菌总数、真菌总数的测定结果分别按该系统全部检测的风管表面细菌总数、真菌总数测定值中的最大值给出。
