ICS 13.060.30
Z 60

中华人民共和国国家标准

GB 18466—2005
代替 GB 18466—2001
部分代替 GB 8978—1996

医疗机构水污染物排放标准

Discharge standard of water pollutants for medical organization

2005-07-27 发布　　2006-01-01 实施

国家环境保护总局
国家质量监督检验检疫总局　发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
医疗机构水污染物排放标准
GB 18466—2005
*
中国环境科学出版社出版发行
（100062 北京崇文区广渠门内大街16号）
网址：http：//www. cesp. cn
电子信箱：bianji4@ cesp. cn
电话：010—67112738 传真：010—67112738
印刷厂印刷
版权专有 违者必究
*
2005年9月第 1 版 开本 880×1230 1/16
2005年9月第1次印刷 印张 2. 25
印数 1—4 000 字数 75千字
统一书号：1380209. 028
定价：24. 00元

国家环境保护总局
公　　告

2005 年　第 35 号

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》，加强对医疗机构污水、污水处理站废气、污泥排放的控制和管理，预防和控制传染病的发生和流行，保障人体健康，加强环境管理，现批准《医疗机构水污染物排放标准》为国家污染物排放标准，并由我局和国家质量监督检验检疫总局联合发布。

标准编号、名称如下：

GB 18466—2005　医疗机构水污染物排放标准

本标准自实施之日起，代替《污水综合排放标准》（GB 8978—1996）中有关医疗机构水污染物排放标准部分，并取代《医疗机构污水排放要求》（GB 18466—2001）。

上述标准为强制性标准，由中国环境科学出版社出版，自 2006 年 1 月 1 日起实施。

标准信息可在国家环境保护总局网站（www. sepa. gov. cn）和中国环境标准网站（www. es. org. cn）上查询。

特此公告。

2005 年 7 月 27 日

目　　次

前言 …… ⅳ
1　范围 …… 1
2　规范性引用文件 …… 1
3　术语和定义 …… 1
4　技术内容 …… 1
4.1　污水排放要求 …… 1
4.2　废气排放要求 …… 4
4.3　污泥控制与处置 …… 4
5　处理工艺与消毒要求 …… 4
6　取样与监测 …… 5
6.1　污水取样与监测 …… 5
6.2　大气取样与监测 …… 6
6.3　污泥取样与监测 …… 6
7　标准的实施与监督 …… 7
附录A（规范性附录）　医疗机构污水和污泥中粪大肠菌群的检验方法 …… 8
附录B（规范性附录）　医疗机构污水和污泥中沙门氏菌的检验方法 …… 15
附录C（规范性附录）　医疗机构污水及污泥中志贺氏菌的检验方法 …… 19
附录D（标准的附录）　医疗机构污泥中蛔虫卵的检验方法 …… 22
附录E（规范性附录）　医疗机构污水和污泥中结核杆菌的检验方法 …… 24
附录F（规范性附录）　医疗机构污水污染物（COD、BOD、SS）单位排放负荷计算方法 …… 27

前　　言

为贯彻《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》、《中华人民共和国传染病防治法》，加强对医疗机构污水、污水处理站废气、污泥排放的控制和管理，预防和控制传染病的发生和流行，保障人体健康，维护良好的生态环境，制定本标准。

本标准规定了医疗机构污水及污水处理站产生的废气和污泥的污染物控制项目及其排放限值、处理工艺与消毒要求、取样与监测和标准的实施与监督等。

本标准自实施之日起，代替 GB 8978—1996《污水综合排放标准》中有关医疗机构水污染物排放标准部分，并取代 GB 18466—2001《医疗机构污水排放要求》。新、扩、改医疗机构自本标准实施之日起按本标准实施管理，现有医疗机构在 2007 年 12 月 31 日前达到本标准要求。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E 和附录 F 为规范性附录。

本标准为首次发布。

本标准由国家环境保护总局科技标准司提出并归口。

本标准委托北京市环境保护科学研究院和中国疾病预防控制中心起草。

本标准由国家环境保护总局 2005 年 7 月 27 日批准。

本标准 2006 年 1 月 1 日起实施。

本标准由国家环境保护总局负责解释。

医疗机构水污染物排放标准

1 范围

本标准规定了医疗机构污水、污水处理站产生的废气、污泥的污染物控制项目及其排放和控制限值、处理工艺和消毒要求、取样与监测和标准的实施与监督。

本标准适用于医疗机构污水、污水处理站产生污泥及废气排放的控制，医疗机构建设项目的环境影响评价、环境保护设施设计、竣工验收及验收后的排放管理。当医疗机构的办公区、非医疗生活区等污水与病区污水合流收集时，其综合污水排放均执行本标准。建有分流污水收集系统的医疗机构，其非病区生活区污水排放执行 GB 8978 的相关规定。

2 规范性引用文件

下列标准和本标准表 5、表 6 所列分析方法标准及规范所含条文在本标准中被引用即构成为本标准的条文，与本标准同效。当上述标准和规范被修订时，应使用其最新版本。

GB 8978 污水综合排放标准

GB 3838 地表水环境质量标准

GB 3097 海水水质标准

GB 16297 大气污染物综合排放标准

HJ/T 55 大气污染物无组织排放监测技术导则

HJ/T 91 地表水和污水检测技术规范

3 术语和定义

本标准采用下列定义。

3.1 医疗机构 medical organization

指从事疾病诊断、治疗活动的医院、卫生院、疗养院、门诊部、诊所、卫生急救站等。

3.2 医疗机构污水 medical organization wastewater

指医疗机构门诊、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 污泥 sludge

指医疗机构污水处理过程中产生的栅渣、沉淀污泥和化粪池污泥。

3.4 废气 waste gas

指医疗机构污水处理过程中产生的有害气体。

4 技术内容

4.1 污水排放要求

4.1.1 传染病和结核病医疗机构污水排放一律执行表 1 的规定。

4.1.2 县级及县级以上或 20 张床位及以上的综合医疗机构和其他医疗机构污水排放执行表 2 的规定。直接或间接排入地表水体和海域的污水执行排放标准，排入终端已建有正常运行城镇二级污水处理厂的下水道的污水，执行预处理标准。

表1 传染病、结核病医疗机构水污染物排放限值（日均值）

序号	控制项目	标准值
1	粪大肠菌群数/（MPN/L）	100
2	肠道致病菌	不得检出
3	肠道病毒	不得检出
4	结核杆菌	不得检出
5	pH	6～9
6	化学需氧量（COD） 浓度/（mg/L） 最高允许排放负荷/［g/（床位·d）］	 60 60
7	生化需氧量（BOD） 浓度/（mg/L） 最高允许排放负荷/［g/（床位·d）］	 20 20
8	悬浮物（SS） 浓度/（mg/L） 最高允许排放负荷［g/（床位·d）］	 20 20
9	氨氮/（mg/L）	15
10	动植物油/（mg/L）	5
11	石油类/（mg/L）	5
12	阴离子表面活性剂/（mg/L）	5
13	色度/（稀释倍数）	30
14	挥发酚/（mg/L）	0.5
15	总氰化物/（mg/L）	0.5
16	总汞/（mg/L）	0.05
17	总镉/（mg/L）	0.1
18	总铬/（mg/L）	1.5
19	六价铬/（mg/L）	0.5
20	总砷/（mg/L）	0.5
21	总铅/（mg/L）	1.0
22	总银/（mg/L）	0.5
23	总α/（Bq/L）	1
24	总β/（Bq/L）	10
25	总余氯[1),2)]/（mg/L） （直接排入水体的要求）	0.5

注：1）采用含氯消毒剂消毒的工艺控制要求为：消毒接触池的接触时间≥1.5 h，接触池出口总余氯6.5～10 mg/L。

2）采用其他消毒剂对总余氯不做要求。

表2 综合医疗机构和其他医疗机构水污染物排放限值（日均值）

序号	控 制 项 目	排放标准	预处理标准
1	粪大肠菌群数/（MPN/L）	500	5 000
2	肠道致病菌	不得检出	—
3	肠道病毒	不得检出	—
4	pH	6～9	6～9
5	化学需氧量（COD） 浓度/（mg/L） 最高允许排放负荷/［g/（床位·d）］	 60 60	 250 250
6	生化需氧量（BOD） 浓度/（mg/L） 最高允许排放负荷/［g/（床位·d）］	 20 20	 100 100
7	悬浮物（SS） 浓度/（mg/L） 最高允许排放负荷/［g/（床位·d）］	 20 20	 60 60
8	氨氮/（mg/L）	15	—
9	动植物油/（mg/L）	5	20
10	石油类/（mg/L）	5	20
11	阴离子表面活性剂/（mg/L）	5	10
12	色度/（稀释倍数）	30	—
13	挥发酚/（mg/L）	0.5	1.0
14	总氰化物/（mg/L）	0.5	0.5
15	总汞/（mg/L）	0.05	0.05
16	总镉/（mg/L）	0.1	0.1
17	总铬/（mg/L）	1.5	1.5
18	六价铬/（mg/L）	0.5	0.5
19	总砷/（mg/L）	0.5	0.5
20	总铅/（mg/L）	1.0	1.0
21	总银/（mg/L）	0.5	0.5
22	总α/（Bq/L）	1	1
23	总β/（Bq/L）	10	10
24	总余氯[1),2)]/（mg/L）	0.5	—

注：1）采用含氯消毒剂消毒的工艺控制要求为：
排放标准：消毒接触池接触时间≥1 h，接触池出口总余氯3～10 mg/L。
预处理标准：消毒接触池接触时间≥1 h，接触池出口总余氯2～8 mg/L。
2）采用其他消毒剂对总余氯不做要求。

4.1.3 县级以下或20张床位以下的综合医疗机构和其他所有医疗机构污水经消毒处理后方可排放。

4.1.4 禁止向GB 3838 Ⅰ、Ⅱ类水域和Ⅲ类水域的饮用水保护区和游泳区，GB 3097 一、二类海域直接排放医疗机构污水。

4.1.5 带传染病房的综合医疗机构，应将传染病房污水与非传染病房污水分开。传染病房的污水、粪便经过消毒后方可与其他污水合并处理。

4.1.6 采用含氯消毒剂进行消毒的医疗机构污水，若直接排入地表水体和海域，应进行脱氯处理，使总余氯小于0.5 mg/L。

4.2 废气排放要求

4.2.1 污水处理站排出的废气应进行除臭除味处理，保证污水处理站周边空气中污染物达到表3要求。

表3 污水处理站周边大气污染物最高允许浓度

序号	控制项目	标准值
1	氨/（mg/m^3）	1.0
2	硫化氢/（mg/m^3）	0.03
3	臭气浓度（无量纲）	10
4	氯气/（mg/m^3）	0.1
5	甲烷（指处理站内最高体积百分数/%）	1

4.2.2 传染病和结核病医疗机构应对污水处理站排出的废气进行消毒处理。

4.3 污泥控制与处置

4.3.1 栅渣、化粪池和污水处理站污泥属危险废物，应按危险废物进行处理和处置。

4.3.2 污泥清掏前应进行监测，达到表4要求。

表4 医疗机构污泥控制标准

医疗机构类别	粪大肠菌群数/（MPN/g）	肠道致病菌	肠道病毒	结核杆菌	蛔虫卵死亡率/%
传染病医疗机构	≤100	不得检出	不得检出	—	>95
结核病医疗机构	≤100	—	—	不得检出	>95
综合医疗机构和其他医疗机构	≤100	—	—	—	>95

5 处理工艺与消毒要求

5.1 医疗机构病区和非病区的污水，传染病区和非传染病区的污水应分流，不得将固体传染性废物、各种化学废液弃置和倾倒排入下水道。

5.2 传染病医疗机构和综合医疗机构的传染病房应设专用化粪池，收集经消毒处理后的粪便排泄物等传染性废物。

5.3 化粪池应按最高日排水量设计，停留时间为24～36 h。清掏周期为180～360 d。

5.4 医疗机构的各种特殊排水应单独收集并进行处理后，再排入医院污水处理站。

5.4.1 低放射性废水应经衰变池处理。

5.4.2 洗相室废液应回收银，并对废液进行处理。

5.4.3 口腔科含汞废水应进行除汞处理。

5.4.4 检验室废水应根据使用化学品的性质单独收集，单独处理。

5.4.5 含油废水应设置隔油池处理。

5.5 传染病医疗机构和结核病医疗机构污水处理宜采用二级处理＋消毒工艺或深度处理＋消毒工艺。

5.6 综合医疗机构污水排放执行排放标准时，宜采用二级处理＋消毒工艺或深度处理＋消毒工艺；

执行预处理标准时宜采用一级处理或一级强化处理＋消毒工艺。

5.7 消毒剂应根据技术经济分析选用，通常使用的有：二氧化氯、次氯酸钠、液氯、紫外线和臭氧等。采用含氯消毒剂时按表1、表2要求设计。

5.7.1 采用紫外线消毒，污水悬浮物浓度应小于10 mg/L，照射剂量30～40 mJ/cm^2，照射接触时间应大于10 s或由试验确定。

5.7.2 采用臭氧消毒，污水悬浮物浓度应小于20 mg/L，臭氧用量应大于10 mg/L，接触时间应大于12 min或由试验确定。

6 取样与监测

6.1 污水取样与监测

6.1.1 应按规定设置科室处理设施排出口和单位污水外排口，并设置排放口标志。

6.1.2 表1第16～22项，表2第15～21项在科室处理设施排出口取样，总α、总β在衰变池出口取样监测。其他污染物的采样点一律设在排污单位的外排口。

6.1.2 医疗机构污水外排口处应设污水计量装置，并宜设污水比例采样器和在线监测设备。

6.1.3 监测频率

6.1.3.1 粪大肠菌群数每月监测不得少于1次。采用含氯消毒剂消毒时，接触池出口总余氯每日监测不得少于2次（采用间歇式消毒处理的，每次排放前监测）。

6.1.3.2 肠道致病菌主要监测沙门氏菌、志贺氏菌。沙门氏菌的监测，每季度不少于1次；志贺氏菌的监测，每年不少于2次。其他致病菌和肠道病毒按6.1.3.3规定进行监测。结核病医疗机构根据需要监测结核杆菌。

6.1.3.3 收治了传染病病人的医院应加强对肠道致病菌和肠道病毒的监测。同时收治的感染上同一种肠道致病菌或肠道病毒的甲类传染病病人数超过5人、或乙类传染病病人数超过10人、或丙类传染病病人数超过20人时，应及时监测该种传染病病原体。

6.1.3.4 理化指标监测频率：pH每日监测不少于2次，COD和SS每周监测1次，其他污染物每季度监测不少于1次。

6.1.3.5 采样频率：每4小时采样1次，一日至少采样3次，测定结果以日均值计。

6.1.4 监督性监测按HJ/T 91执行。

6.1.5 监测分析方法按表5和附录执行。

6.1.6 污染物单位排放负荷计算见附录F。

表5 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	粪大肠菌群数	多管发酵法		附录A
2	沙门氏菌			附录B
3	志贺氏菌			附录C
4	结核杆菌			附录E
5	总余氯	*N*，*N*－二乙基－1，4－苯二胺分光光度法 *N*，*N*－二乙基－1，4－苯二胺滴定法		GB 11898 GB 11897
6	化学需氧量（COD）	重铬酸盐法	30	GB 11914
7	生化需氧量（BOD）	稀释与接种法	2	GB 7488
8	悬浮物（SS）	重量法		GB 11901
9	氨氮	蒸馏和滴定法 比色法	0.2 0.05	GB 7478 GB 7479

续表

序号	控制项目	测 定 方 法	测定下限/（mg/L）	方法来源
10	动植物油	红外光度法	0.1	GB/T 16488
11	石油类	红外光度法	0.1	GB/T 16488
12	阴离子表面活性剂	亚甲蓝分光光度法	0.05	GB 7494
13	色度	稀释倍数法		GB 11903
14	pH 值	玻璃电极法		GB 6920
15	总汞	冷吸收分光光度法	0.0001	GB 7468
		双硫腙分光光度法	0.002	GB 7469
16	挥发酚	蒸馏后 4－氨基安替比林分光光度法	0.002	GB 7490
17	总氰化物	硝酸银滴定法	0.25	GB 7486
		异烟酸－吡唑啉酮比色法	0.004	GB 7486
		吡啶－巴比妥酸比色法	0.002	GB 7486
18	总镉	原子吸收分光光度法（螯合萃取法）	0.001	GB 7475
		双硫腙分光光度法	0.001	GB 7471
19	总铬	高锰酸钾氧化－二苯碳酰二肼分光光度法	0.004	GB 7466
20	六价铬	二苯碳酰二肼分光光度法	0.004	GB 7467
21	总砷	二乙基二硫代氨基甲酸银分光光度法	0.007	GB 7485
22	总铅	原子吸收分光光度法（螯合萃取法）	0.01	GB 7475
		双硫腙分光光度法	0.01	GB 7470
23	总银	原子吸收分光光度法	0.03	GB/T 15555.2
		镉试剂 2B 分光光度法	0.01	GB 11908
24	总 α	厚源法	0.05 Bq/L	EJ/T 1075
25	总 β	蒸发法		EJ/T 900

6.2 大气取样与监测

6.2.1 污水处理站大气监测点的布置方法与采样方法按 GB 16297 中附录 C 和 HJ/T 55 的有关规定执行。

6.2.2 采样频率，每 2 小时采样一次，共采集 4 次，取其最大测定值。每季度监测一次。

6.2.3 监测分析方法按表 6 执行。

表 6 大气污染物监测分析方法

序号	控 制 项 目	测 定 方 法	方法来源
1	氨	次氯酸钠－水杨酸分光光度法	GB/T 14679
2	硫化氢	气相色谱法	GB/T 14678
3	臭气浓度（无量纲）	三点比较式臭袋法	GB/T 14675
4	氯气	甲基橙分光光度法	HJ/T 30
5	甲烷	气相色谱法	CJ/T 3037

6.3 污泥取样与监测

6.3.1 取样方法，采用多点取样，样品应有代表性，样品重量不小于 1 kg。清掏前监测。

6.3.2 监测分析方法见附录A、附录B、附录C、附录D和附录E。

7 标准的实施与监督

7.1 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。

7.2 省、自治区、直辖市人民政府对执行本标准不能达到本地区环境功能要求时，可以根据总量控制要求和环境影响评价结果制定严于本标准的地方污染物排放标准。

附 录 A
（规范性附录）
医疗机构污水和污泥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	20 g
猪胆盐（或牛、羊胆盐）	5 g
乳糖	5 g
0.4%溴甲酚紫水溶液	2.5 ml
蒸馏水	1 000 ml

A.2.1.2 制法

将蛋白胨、猪胆盐及乳糖溶解于1 000 ml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 ℃灭菌20 min。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	60 g
猪胆盐（或牛、羊胆盐）	15 g
乳糖	15 g
0.4%溴甲酚紫水溶液	7.5 ml
蒸馏水	1 000ml

A.2.2.2 制法

制法同附录A2.1.2。

A.2.3 伊红亚甲基蓝培养基（EMB培养基）

A.2.3.1 成分

蛋白胨	10 g
乳糖	10 g
磷酸氢二钾	2 g
琼脂	20 g

2% 伊红水溶液	20 ml
0.5% 美蓝水溶液	13 ml
蒸馏水	1 000 ml

A.2.3.2 制法

将琼脂加到 900 ml 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 1 000 ml，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 20 min，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	10 g
牛肉膏	3 g
乳糖	5 g
氯化钠	5 g
1.6% 溴甲酚紫乙醇溶液	1 ml
蒸馏水	1 000 ml

A.2.4.2 制法

将蛋白胨、牛肉膏、乳糖及氯化钠加热溶解于 1 000 ml 蒸馏水中，调整 pH 到 7.2～7.4，加入 1.6% 溴甲酚紫乙醇溶液 1 ml，充分混匀，分装于内有倒管的试管中。115 ℃灭菌 20 min。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	1 g
95% 乙醇溶液	20 ml
1% 草酸铵水溶液	1 000 ml

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	1 g
碘化钾	2 g
蒸馏水	300 ml

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 300 ml。

A.2.5.3 脱色液

95% 乙醇。

A.2.5.4 沙黄复染液

沙黄	1 g
95% 乙醇	2 g
蒸馏水	90 ml

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：1）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；2）干燥：在室温中使自然干燥；3）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；4）染色：滴加结晶紫染色液，染色 1 min，水洗；5）

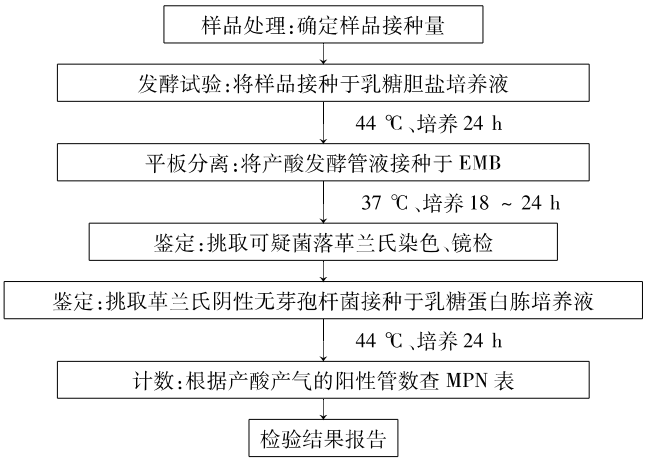
媒染：滴加革兰氏碘液，作用1 min，水洗；6）脱色：滴加95%乙醇脱色，约30 s，水洗；7）复染：滴加复染液，复染1 min，水洗。

革兰氏阳性菌染色后呈紫色，革兰氏阴性菌染色后呈红色。

注：亦可用1∶10稀释的石炭酸复红染色液做复染剂，复染时间为10 s。

A.3 检验程序

检验程序见图A1。



图A1 污水、污泥中粪大肠菌群检验程序

A.4 操作步骤

A.4.1 样品准备

A.4.1.1 污水

污水样品应至少取200 ml，使用前应充分混匀。

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10、1、0.1 ml。粪大肠菌群数较多时接种量为1、0.1、0.01 ml或0.1、0.01、0.001 ml等。

接种量少于1 ml时，水样应制成稀释样品后供发酵试验使用。接种量为0.1、0.01 ml时，取稀释比分别为1∶10、1∶100。其他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1 ml水样，注入到盛有9 ml灭菌水的试管中，混匀，制成1∶10稀释样品。因此，取1 ml 1∶10稀释样品，等于取0.1 ml污水样品。其他稀释比的稀释样品同法制作。

注1：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。

A.4.1.2 污泥

污泥样品应至少取200 g，使用前应充分混匀。

根据预计的污泥样品中粪大肠菌群数量确定污泥样品接种量。粪大肠菌群数量相对较少的污泥样品接种量一般为0.1、0.01、0.001 g。粪大肠菌群数量较多时接种量为0.01、0.001、0.000 1 g或0.001、0.000 1、0.000 01 g等。

污泥样品应制成稀释样品后供发酵试验使用。接种量0.1、0.01、0.001 g的稀释样品制作方法如下：取20 g污泥样品，加入到三角烧瓶中，加灭菌水使成200 ml，混匀，制成1∶10稀释样品。吸取1∶10稀释样品1 ml，注入到盛有9 ml灭菌水的试管中，混匀，制成1∶100稀释样品。按同法制成1∶1 000稀释样品。接种1 ml 1∶10、1∶100、1∶1 000稀释样品等于接种0.1、0.01、0.001 g污泥样品。

注1：若样品为经过氯消毒的污泥，应在采样后立即用5%硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

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 24 h。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：

样品为污水时，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 10 ml，吸取 10 ml 样品接种于装有 5 ml 三倍浓度乳糖胆盐培养液的试管内；若接种量为 1 ml 时，吸取 1 ml 样品接种于装有 10 ml 普通浓度乳糖胆盐培养液的试管内；若接种量少于 1 ml 时，吸取 1 ml 稀释样品接种于装有 10 ml 普通浓度乳糖胆盐培养液的试管内。

样品为污泥时，取三个接种量，每个接种量的稀释样品分别接种于 3 个试管内，共需 9 个试管。9 个试管中，各装有 10 ml 乳糖胆盐培养液。各个试管接种稀释样品体积均为 1 ml。

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 24 h 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 18～24 h。

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：1）深紫黑色，具有金属光泽的菌落；2）紫黑色，不带或略带金屑光泽的菌落；3）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 5 ml 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 24 h。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 或 A.2 可得 100 ml 污水或 1 g 污泥中粪大肠菌群 MPN 值。

由于表 A.1 和表 A.2 是按一定的三个 10 倍浓度差接种量设计的（污水接种量为 10、1 和 0.1 ml，污泥接种量为 0.1、0.01 和 0.001 g），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（污泥）最大接种量增加 10 倍时表内 MPN 值相应降低 10 倍；污水（污泥）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 1、0.1 和 0.01 ml 时，表 A.1 内 MPN 值相应增加 10 倍。其他的三个 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 100 ml 污水样品中 MPN 值，而污水以 1 L 为报告单位，因此，需将查表 A.1 得到的 MPN 值乘上 10，换算成 1 L 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 10 ml 水样，5 份 1 ml 水样和 5 份 0.1 ml 水样）

阳性管数			每	阳性管数			每	阳性管数			每
接种 100 ml 水样	接种 10 ml 水样	接种 0.1 ml 水样	100 ml 水样中 MPN	接种 100 ml 水样	接种 10 ml 水样	接种 0.1 ml 水样	100 ml 水样中 MPN	接种 100 ml 水样	接种 10 ml 水样	接种 0.1 ml 水样	100 ml 水样中 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

续表

阳性管数			每	阳性管数			每	阳性管数			每
接种 100 ml 水样	接种 10 ml 水样	接种 0.1 ml 水样	100 ml 水样中 MPN	接种 100 ml 水样	接种 10 ml 水样	接种 0.1 ml 水样	100 ml 水样中 MPN	接种 100 ml 水样	接种 10 ml 水样	接种 0.1 ml 水样	100 ml 水样中 MPN
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	6	2	1	2	12	4	1	2	26
0	1	3	7	2	1	3	14	1	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

续表

阳性管数			每100 ml水样中MPN	阳性管数			每100 ml水样中MPN	阳性管数			每100 ml水样中MPN
接种100 ml水样	接种10 ml水样	接种0.1 ml水样		接种100 ml水样	接种10 ml水样	接种0.1 ml水样		接种100 ml水样	接种10 ml水样	接种0.1 ml水样	
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
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	1 600
1	5	5	24	3	5	5	45	5	5	5	>1 600

表 A.2 污泥中粪大肠菌群最可能数（MPN）检索表

（污泥样品接种量为3份0.1 g泥样，3份0.01 g泥样和3份0.001 g泥样）

阳性管数			每1 g泥样中MPN	阳性管数			每1 g泥样中MPN	阳性管数			每1 g泥样中MPN
接种0.1 g污样管	接种0.01 g污样管	接种0.001 g污样管		接种0.1 g污样管	接种0.01 g污样管	接种0.001 g污样管		接种0.1 g污样管	接种0.01 g污样管	接种0.001 g污样管	
0	0	0	<3	1	2	0	11	3	0	0	23
0	0	1	3	1	2	1	15	3	0	1	39
0	0	2	6	1	2	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	2	3	24	3	0	3	95
0	1	0	3	1	3	0	16	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	3	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	3	2	24	3	1	2	120
0	1	3	12	1	3	3	29	3	1	3	160
0	2	0	6.2	2	0	0	9.1	3	2	0	93
0	2	1	9.3	2	0	1	14	3	2	1	150
0	2	2	12	2	0	2	20	3	2	2	210
0	2	3	16	2	0	3	26	3	2	3	290
0	3	0	9.4	2	1	0	15	3	3	0	240
0	3	1	13	2	1	1	20	3	3	1	460
0	3	2	16	2	1	2	27	3	3	2	1 100
0	3	3	19	2	1	3	34	3	3	3	>1 100
1	0	0	3.6	2	2	0	21				
1	0	1	7.2	2	2	1	28				
1	0	2	11	2	2	2	35				
1	0	3	15	2	2	3	42				
1	1	0	7.3	2	3	0	29				
1	1	1	11	2	3	1	36				
1	1	2	15	2	3	2	44				
1	1	3	19	2	3	3	53				

A.6 检验结果报告

根据粪大肠菌群MPN值，报告1 L污水或1 g污泥样品中粪大肠菌群MPN值。

附 录 B
（规范性附录）
医疗机构污水和污泥中沙门氏菌的检验方法

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）	10 g
磷酸氢二钠（Na_2HPO_3）	16 g
磷酸二氢钠（NaH_2PO_3）	2.5 g
乳糖	4 g
亚硒酸氢钠	4 g
蒸馏水	1 000 ml

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 ℃灭菌 15 min 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 500 ml 外，其他成分同附录 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	5 g
示胨	5 g
三号胆盐	3.5 g
琼脂	17 g
蒸馏水	1 000 ml

B.2.3.1.2 制法

将牛肉膏、示胨和胆盐溶解于400 ml蒸馏水中。将琼脂加到600 ml蒸馏水中，煮沸使其溶解。再将二者混合，121 ℃灭菌15 min，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	1 000 ml
乳糖	10 g
柠檬酸钠	8.5 g
硫代硫酸钠	8.5 g
10%柠檬酸铁溶液	10 ml
1%中性红溶液	2.5 ml
0.1%煌绿溶液	0.33 ml

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。

注：制好的培养基宜当日使用，或保存于冰箱内于18 h内使用。煌绿溶液配好后应在10d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	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	5 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 ml

B.2.4.1.2 制法

加热溶解各成分，按每份100 ml的量分装于250 ml三角瓶中，121 ℃灭菌20 min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	2 g
亚硫酸钠	20 g
磷酸氢二钠	10 g
葡萄糖	10 g
蒸馏水	200 ml

B.2.4.2.2 制法

将柠檬酸铋铵溶解于50 ml沸水中，同时将压硫酸钠溶解于100 ml沸水中，混合两液并煮沸3 min，趁热加入磷酸氢二钠搅拌至溶解。冷却后，加入剩余的50 ml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	2 g
煌绿（1%水溶液）	25 ml
蒸馏水	200 ml

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	100 ml
亚硫酸铋贮备液	20 ml
柠檬酸铁煌绿贮备液	4.5 ml

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	20 g
牛肉膏	5 g
乳糖	10 g
蔗糖	10 g
葡萄糖	1 g
氯化钠	5g
硫酸亚铁铵	0.2 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼脂	12 g
酚红	0.025 g
蒸馏水	1 000 ml

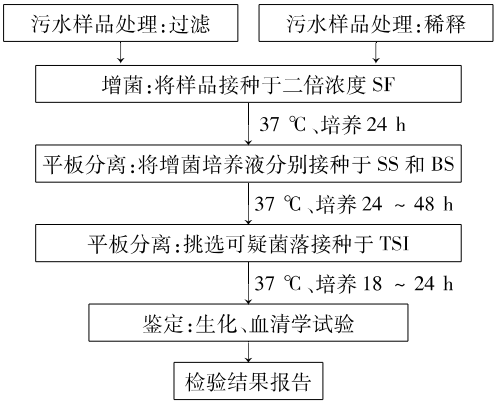
B.2.5.2 制法

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12.5 ml，摇匀。分装试管，装量宜多些，以便得到较高的底层。121 ℃灭菌15 min。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B1。



图B1 污水、污泥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

B.4.1.1 污水

取200 ml污水，用灭菌滤膜进行抽滤，用100 ml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，充公摇匀，置于37 ℃恒温培养箱，增菌培养12～24 h。

注：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.4.1.2 污泥

用灭菌匙称取污泥20 g，放入灭菌容器内，加入200 ml灭菌水，充分混匀，制成1∶10混悬液。吸取上述1∶10混悬液100 ml，加入到装有100 ml二倍浓度SF增菌液的已灭菌的三角烧瓶内，摇匀，置于37 ℃恒温培养箱，增菌培养24 h。

注：若样品为经过氯消毒的污泥，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24～48 h。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1～2 mm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18～24 h。

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多价血清作玻璃片凝集，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）
医疗机构污水及污泥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）	20 g
葡萄糖	1 g
甘露醇	2 g
枸橼酸钠	5 g
去氧胆酸钠	0.5 g
磷酸氢二钾	16 g
磷酸二氢钾	2.5 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 ml

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 ℃灭菌 20 min。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 500 ml 外，其他成分同附录 C.2.1.1。

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 伊红亚甲基蓝琼脂培养基（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 C1。

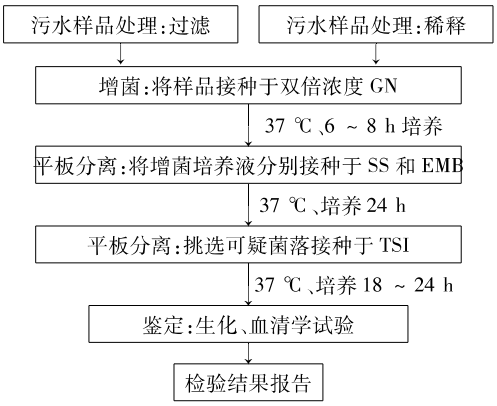


图 C1 污水、污泥中志贺氏菌检验程序

C.4 操作步骤

C.4.1 样品处理和增菌培养

C.4.1.1 污水

取 200 ml 污水，用灭菌滤膜进行抽滤。用 100 ml 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 ~ 8 h。

注：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。

C.4.1.2 污泥

取污泥 30 g，放入灭菌容器内，加入 300 ml 灭菌水，充分混匀制成 1∶ 10 混悬液。吸取上述 1∶ 10混悬液 100 ml，加入到装有 100 ml 二倍浓度 GN 增菌液的已灭菌的三角烧瓶内，搅匀，置于 37 ℃恒温培养箱中，增菌培养 6 ~ 8 h。

注：若样品为经过氯消毒的污泥，应在采样后立即用 5% 硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

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 24 h。

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 ~ 1.5 ml 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 ~ 24 h。

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、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
（标准的附录）
医疗机构污泥中蛔虫卵的检验方法

D.1 仪器和设备

D.1.1 离心机。
D.1.2 金属筛：60 目。
D.1.3 显微镜。
D.1.4 恒温培养箱。
D.1.5 高压蒸汽灭菌器。
D.1.6 冰箱。
D.1.7 振荡器。

D.2 培养基和试剂

D.2.1 3% 福尔马林溶液或 3% 盐酸溶液
D.2.2 饱和硝酸钠溶液（比重 1.38 ~ 1.40）或饱和氯化钠溶液
D.2.3 30% 次氯酸钠溶液

D.3 检验程序

蛔虫卵检验程序见图 D1。

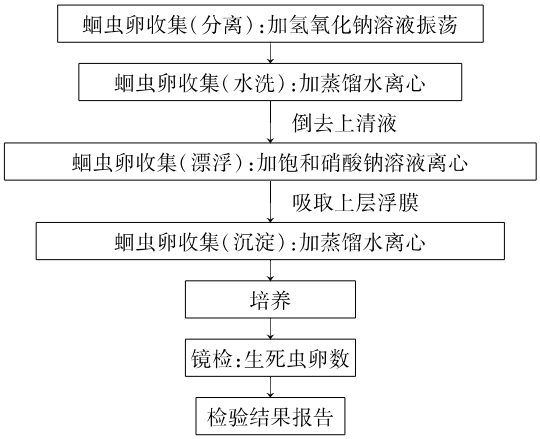


图 D1 污泥中蛔虫卵检验程序

D.4 操作步骤

D.4.1 采样及样品处理

样品采集后应立即送到实验室检验。若不能立即检验时，可在 100 g 污泥中加入 5 ml 3% 福尔马林或 3% 盐酸溶液，在 4 ~ 10 ℃ 冰箱内保存。若样品为经过氯消毒的污泥，应在现场取样后立即用 5% 硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

D.4.2 蛔虫卵收集

D.4.2.1 分离

将 100 g 污泥样品和 50 ml 5% 氢氧化钠溶液，分别注入三角烧杯内，置于振荡器上，以 200 ~

300 次/min 速度振荡 30 min，然后静置 30 min，以使蛔虫卵不再黏附在污泥上。

D.4.2.2 水洗

将上述样品分装在离心管内，以 2 000～2 500 r/min 的转速离心 5 min。倒去离心管上部的液体，加入容量为沉淀物 10 倍的蒸馏水，混匀，以 2 000～2 500 r/min 的转速离心 5 min，如此反复数次，直至沉淀物上面的液体接近透明。

D.4.2.3 漂浮

离心管内注入饱和硝酸钠溶液或饱和氯化钠溶液，搅匀，以 2 000～2 500 r/min 的转速离心 5 min。

注 1：由于蛔虫卵的相对密度小于饱和硝酸钠溶液和饱和氯化钠溶液的相对密度，管内绝大多数的蛔虫卵会浮聚在液面上。

注 2：氯化钠溶液投加量以大于沉淀物量 20 倍为宜。

注 3：根据污泥性状，可以调整离心转速或时间。

D.4.2.4 沉淀

反复吸取管中浮膜转移至另一离心管中，加入 10 倍水量的蒸馏水，搅匀，以 5 000 r/min 的转速离心 5 min，慢慢吸去上清液。

注：由于蛔虫卵比水的相对密度大，蛔虫卵将沉在管底内。

D.4.3 培养

在离心管中，加入 2～3 ml 无菌的生理盐水或自来水和几滴 3% 福尔马林溶液，摇匀，转移至试管或直接置于 24～26 ℃恒温箱，培养 20 d。培养中，若溶液量少于 2 ml 时，应及时补充生理盐水或自来水。

D.4.4 镜检

培养后，将样品静置 30 ml 后吸去试管内上层较浑浊的液体，加入约为沉淀物两倍量的蒸馏水或 30% 次氯酸钠溶液，混匀，在显微镜下计数死活蛔虫卵数。

注 1：活虫卵经过 20 d 的培养会逐渐发育到幼虫期，而死虫卵则在同一条件下仍然保持单细胞期或停留于某一发育阶段，故可以区别。

注 2：30% 次氯酸钠溶液能使虫卵最外层蛋白质壳逐渐溶解，便于在显微镜下清晰观察卵内的幼虫。

D.5 蛔虫卵死亡率计算

按下式计算蛔虫卵死亡率：

$$A = \frac{m}{m+n} \times 100$$

式中：A——蛔虫卵死亡率（%）；

m——死亡蛔虫卵数；

n——存活蛔虫卵数。

D.6 检验结果报告

根据检验结果，报告 100 g 污泥中蛔虫卵死亡率。

附 录 E
（规范性附录）
医疗机构污水和污泥中结核杆菌的检验方法

E.1 仪器和设备

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

E.2 培养基和试剂

E.2.1 改良罗氏培养基
E.2.1.1 成分

磷酸二氢钾	2.4 g
硫酸镁	0.24 g
枸橼酸镁	0.6 g
谷氨酸钠	1.2 g
甘油	12 ml
淀粉	30 g
蒸馏水	600 ml
鸡蛋液（包括蛋清和蛋黄）	1 000 ml
20%孔雀绿	20 ml

E.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1 h，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1 h。

E.2.2 小川氏培养基
E.2.2.1 成分

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

E.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1 h。

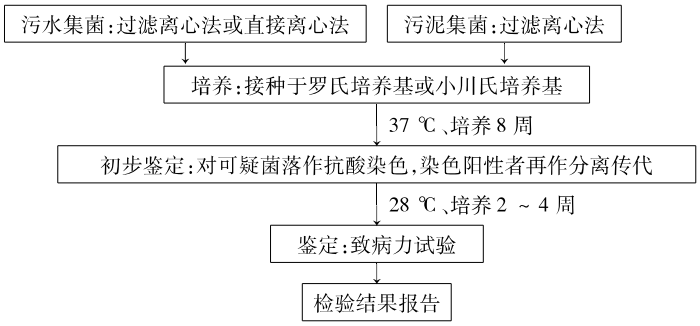
E.2.3 pH为7.0的磷酸盐缓冲液（1mol/L）。

E.2.4 10%吐温（Tween）80水溶液加等量30%过氧化氢溶液。

E.2.5 4%硫酸溶液。

E.3 检验程序

结核杆菌检验程序见图E1。



图E1 结核杆菌检验程序

E.4 操作步骤

E.4.1 集菌

污水集菌可采用过滤离心法或直接离心法，污泥集菌可采用过滤离心法。

E.4.1.1 污水样品

过滤离心法：用经煮沸消毒的乙酸纤维滤膜（孔径0.3～0.7 μm）抽滤，安装严密后，取污水样500 ml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100～200 ml 4%硫酸溶液反复冲洗，静置30 min后，收集洗液于离心管中，3 000 r/min，离心30 min，弃去上清液，沉淀物中加1 ml灭菌生理盐水混合均匀后，供接种用。

直接离心法：水样500 ml，分装于50 ml或200 ml灭菌离心管中，3 000 r/min，离心30 min。同一份水样的沉淀物集中于试管内，加等量4%硫酸处理30 min，供接种用。如体积过大，再次离心浓缩后接种。

注：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。

E.4.1.2 污泥样品

过滤离心法：取污泥10 g加100 ml蒸馏水冲洗过滤（滤纸漏斗），再经玻璃漏斗G2（孔径10～15 μm）和G4（孔径3～4 μm）抽滤，最后经滤膜（孔径0.45～0.7 μm）抽滤。取下滤膜，用4%硫酸3 ml，充分振摇冲洗30 min。

注：若样品为经过氯消毒的污泥，应在采样后立即用5%硫代硫酸钠溶液充分中和余氯。

E.4.2 接种

污水的集菌液：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0.1 ml。

污泥的集菌液：吸取两个0.1 ml，分别接种于改良罗氏培养基或小川氏培养基培养管内斜面上。

E.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。

E.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1 mg菌量（5 mg/ml菌液，每只动物接种0.2 ml），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3～5 mg分散于0.5 ml磷酸盐缓冲液中，置68 ℃水浴中20 min后取出．冷却后加吐温80 h和过氧化氢溶液混合液0.5 ml。

发生气泡为阳性，30 min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。

E.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。

附 录 F
（规范性附录）
医疗机构污水污染物（COD、BOD、SS）单位排放负荷计算方法

水污染物单位排放负荷计算公式：

$$L = C \times Q/N$$

式中：

L——水污染物单位排放负荷，g/（床·d）；

C——污染物排放浓度，mg/L；

Q——日排水量，m^3/d；

N——床位数，床。