中华人民共和国国家标中华人民共和国国家标准

医院污水排放标准ＧＢＪ４８—８３（试行）

中华人民共和国国家标准

医院污水排放标准

ＧＢＪ４８—８３

（试行）

主编部门：中华人民共和国卫生部

批准部门：中华人民共和国国家经济委员会

中华人民共和国卫生部

试行日期：１９８３年６月１日

关于颁发《医院污水排放标准》的通知

经基〔１９８３〕３７号

根据原国家建委（７８）建发设字第５６２号和卫生部（７７）卫科字第２４０号通知的要求，由卫生部会同有关单位共同编制的《医院污水排放标准》，已经有关部门会审。现批准《医院污水排放标准》ＧＢＪ４８—８３为国家标准，自一九八三年六月一日起试行。

本标准由卫生部负责管理，其具体解释等工作由中国医学科学院卫生研究所负责。

国家经济委员会

卫生部

一九八三年一月十二日

编制说明

本标准是根据原国家建委（７８）建发设字５６２号和卫生部（７７）卫科字第２４０号文下达的制订医院污水排放标准的任务，由我部委托中国医学科学院卫生研究所主持，会同有关省、市卫生防疫站、医学院校、科研与建筑设计等有关单位编制而成。

遵循我国“ 预防为主 ”的卫生工作方针和《中华人民共和国环境保护法（试行）》，为防止医院排放带有病原体的污水污染环境，危害人体健康，特制订本标准。

在编制过程中，曾对部分省、市、自治区医院污水的情况进行重点调查，各课题组参照国内外有关的标准、文献，还进行了必要的科学试验，并向全国有关单位广泛征求意见，经多次讨论修改，由全国卫生标准技术委员会环境卫生分委员会会同有关部门审核定稿。

本标准分总则、排放标准、设计要求与管理要求等四章和附录一，检验方法。

在试行本标准的过程中，请各单位注意积累资料，总结经验，如发现有需要修改和补充之处，请将意见和有关资料寄送中国医学科学院卫生研究所，并抄送我部，以便修订时参考。

卫生部

一九八三年一月

目录

第一章总则

第二章排放标准

第三章设计要求

第四章管理要求

附录一医院污水、污泥检验方法

附录二本标准用词说明

第一章总则

第１．０．１条为贯彻“预防为主”的卫生工作方针和《中华人民共和国环境保护法（试行）》。防止医院排放带有病原体的污水污染环境，危害人体健康，特制订本标准。

第１．０．２条本标准适用于县及县以上综合医院，以及肠道传染病和结核病的专科医院、疗养院、其它有关的医疗卫生机构（以下简称医院）。

第１．０．３条新建、扩建、改建的医院，必须按照本标准的规定，将污水的处理设施，与主体工程同时设计、同时施工、同时使用。

现有医院应积极采取行之有效的措施，限期达到本标准的要求。

第二章排放标准

第２．０．１条医院污水经处理与消毒后，应达到下列标准：

一、连续三次各取样５００毫升进行检验，不得检出肠道致病菌和结核杆菌。

二、总大肠菌群数每升不得大于５００个。

第２．０．２条当采用氯化法消毒时，接触时间和接触池出水中的余氯含量，应符合表２·０２的要求：

第２．０．３条污水处理构筑物中的污泥，必须经过无害化处理，污泥排放时应达到下列标准：

一、蛔虫卵死亡率大于９５％；

二、粪大肠菌值不小于１０－２；

三、每１０克污泥（原检样中），不得检出肠道致病菌和结核杆菌。

第２．０．４条当污泥采用高温堆肥法进行无害化处理时，堆肥的温度必须大于５０℃，并应持续５天以上。

第２．０．５条无上、下水道设备或集中式污水处理构筑物的医院，对有传染性的粪便，必须进行单独消毒或其它无害化处理。

第２．０．６条医院污水经处理和消毒后，其所含的污染物质与有害物质的含量应符合现行的有关标准的要求。

第三章设计要求

第３．０．１条医院应设置集中式污水处理构筑物。严禁采用渗井、渗坑排放污水。

第３．０．２条医院职工生活区和行政区的污水，应与病区的污水分流。

第３．０．３条医院污水处理构筑物的位置，宜设在医院建筑物当地夏季最小频率风向的上风侧，与周围建筑物之间宜设绿化防护地带。

第３．０．４条处理构筑物的设计，应满足下列要求：

一、采取防腐蚀、防渗漏措施；

二、确保处理效果，安全耐用；

三、操作方便，便于消毒和清掏，有利于操作人员的劳动保护。

第３．０．５条氯化法消毒系统的设计，应满足下列要求：

一、备有发生故障时的应急设施；

二、使用液态氯时，应有安全设施，严禁直接以钢瓶向污水中投加氯气。

第四章管理要求

第４．０．１条医院必须对污水、污泥严加管理。未经消毒或无害化处理，不准任意排放、清掏，用作农肥。

第４．０．２条医院污水处理设施应定期维修，保证正常运转，当处理设备发生故障时，必须采取适当措施，确保污水仍能按标准要求排放。

第４．０．３条医院污水处理设施，应配备管理人员和检验人员。

第４．０．４条医院污水的监测，应符合下列要求：

一、余氯：连续式消毒，每日至少监测二次，间歇式消毒，每次排放之前监测；

二、总大肠菌群数：每两周至少监测一次；

三、传染病和结核病医院，应根据需要增测致病菌。

第４．０．５条各级卫生防疫部门，应对辖区内医院的污水、污泥处理情况，进行经常性卫生监督，每年抽查不得少于二次。

第４．０．６条污水、污泥的检验方法，应符合附录一的规定。

附录一医院污水、污泥检验方法

一污水总余氯的测定方法

一、原理：采用碘滴定法。用碘标准溶液反滴定（与余氯反应后）过量的硫代硫酸钠标准溶液。

二、试剂：

１、０．００５６４Ｎ硫代硫酸钠标准溶液。

（1）先配制约０.１Ｎ硫代硫酸钠溶液——称取约２５克分析纯硫代硫酸钠（$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$）溶于煮沸放冷的蒸馏水中,稀释至１０００毫升,加入０.４克氢氧化钠或０．２克无水碳酸钠，储存于棕色瓶内，可保存数月。

（2）标定：称取０．１５００克干燥的分析纯碘酸钾（KIO_3）放于２５０毫升锥形瓶内，加入１００毫升蒸馏水，加热溶解后，加入３克碘化钾和１０毫升冰醋酸，静置５分钟，自滴定管加约０．１Ｎ硫代硫酸钠溶液，不断振荡锥形瓶，直至颜色变为淡黄色；加入１毫升淀粉溶液，继续用硫代硫酸钠溶液滴至刚变为无色为止，记录总用量（如滴定完毕，放置若干时间后，锥形瓶内溶液因接触空气氧化又显蓝色。可不必再滴定）。

（3）计算：

（4）配制0．00564N硫代硫酸钠标准溶液：用除去二氧化碳的蒸馏水，将上面标定后的0．1N硫代硫酸钠溶液稀释。

2、5%碘化钾溶液

溶解50克分析纯碘化钾于少量新煮沸放冷的蒸馏水中，再稀释至1000毫升，盛于棕色带玻璃塞瓶中，最好冷藏。如发现溶液颜色变黄，应予重配。

3、醋酸盐缓冲液

pH＝4称取146克无水醋酸钠或243克三水醋酸钠于蒸馏水中，加480克冰醋酸，用蒸馏水稀释至1000毫升。

4、0．1N碘溶液

溶解40克分析纯碘化钾于25毫升蒸馏水中，加入13克分析纯碘片，不断搅拌到溶解为止。移入1000毫升容量瓶中，加水至刻度，混匀，待标定。

5、0．1000N亚砷酸钠标准溶液

称取预先在干燥器内经浓硫酸干燥的分析纯三氧化二砷（As_2O_3）2．4728克于300毫升烧杯中，加入20毫升1N氢氧化钠溶液，搅拌使溶解（注意As_2O_3剧毒！）。加1N盐酸或硫酸中和过量的氢氧化钠，直至溶液接近中性为止（采用pH试纸）。将配好

的亚砷酸钠溶液转入500毫升容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。

6、0．1N碘溶液的标定

准确量取40～50毫升0．1000N亚砷酸钠标准溶液于250毫升锥形瓶内。用待标定的0．1N碘溶液滴定，以淀粉作指示剂，滴至刚显淡蓝色为终点。如能在接近终点时向溶液中通入二氧化碳使之饱和，可得到很准确的滴定终点。

7、0．0282N碘标准溶液

将25克分析纯碘化钾放入1000毫升容量瓶中，加入少量蒸馏水使之溶解。准确加入标定后的0．1N碘标准溶液，用蒸馏水稀释至刻度。所需加入标定后

的０．１Ｎ碘标准溶液的体积，按下式计算：

为了测定更准确，最好每天用０．１０００Ｎ亚砷酸钠标准溶液按上述操作标定一次（预计用去５～１０毫升０．１０００Ｎ亚砷酸钠溶液即可）。

此溶液应盛于棕色玻璃磨口瓶中，存放时避免阳光直射，不可接触橡胶制品。

８、１％淀粉溶液

称取０．５克可溶性淀粉于２００毫升烧杯内，加少量蒸馏水调成糊状，加入刚煮沸的蒸馏水１００毫升。冷却后，加入０．１３克水杨酸作保存剂。

三、步骤：

１．污水水样中余氯小于１０毫克燉升时，取２００毫升污水样；

余氯多时，应按比例减少水样体积。

２．将２００毫升污水样加入５００毫升锥形瓶中。加入５００毫升０．００５６４Ｎ硫代硫酸钠标准溶液，１毫升５％碘化钾溶液和１毫升醋酸盐缓冲液，使ｐＨ保持在３．５～４．２之间。用０．０２８２Ｎ碘标准溶液滴定，接近终点前，加入１毫升淀粉溶液，滴至刚显淡蓝色为终点（混匀后蓝色不应消失）。把最后１滴碘液的体积（约为０．０５毫升）从读数中减去。２００毫升污水样消耗１毫升０．００５６４Ｎ硫代硫酸钠溶液时，相当于存在１毫克燉升余氯，故余氯在５毫克/升时，需用５毫升试剂；余氯在１０毫克/升时，应加入１０毫升试剂。污水中余氯更高时，就按比例增加试剂。碘滴定法测得的余氯为总余氯，并按下式计算：

二污水总大肠菌群的检验方法

一、采样方法

用采水器或其他灭菌容器采取污水样１０００毫升，放入灭菌瓶内，如果是经加氯处理的污水，需加１．５％硫代硫酸钠５毫升中和余氯。

二、检验方法

总大肠菌群系指一群需氧及兼性厌氧的革兰氏阴性无芽孢杆菌在３７℃恒温箱内，培养２４小时，能使乳糖发酵产酸产气。总大肠菌群数系指每升污水中，所含的总大肠菌群的数目。

（一）初发酵试验：以无菌操作将各盛有３倍浓缩乳糖蛋白胨培养液５毫升的５支发酵管内，各接种污水样１０毫升，将各盛有单料乳糖蛋白胨培养液约１０毫升５支的发酵管内，各接种污水样１毫升，再将各盛有单料乳糖蛋白脏培养液约１０毫升的５支发酵管内，各接种１：１０稀释的污水样１毫升（相当于原污水样０．１毫升)。将此１５支管已接种的发酵管置于３７℃恒温箱内，培养２４小时。

（二）平板分离：经培养２４小时后，将产酸产气及只产酸不产气的发酵管，分别接种于伊红美兰培养基或品红亚硫酸钠培养基上，置３７℃恒温箱培养１８～２４小时，挑选符合下列特征的菌落，取菌落的一小部分，进行涂片、革兰氏染色、镜检。

１．伊红美兰培养基上的菌落色泽：

（１）深紫黑色，具有金属光泽的菌落；

（２）紫黑色，不带或略带金属光泽的菌落；

（３）淡紫红色、中心色较深的菌落。

２．品红亚硫酸钠培养基上的菌落色泽：

（１）紫红色，具有金属光泽的菌落；

（２）深红色，不带或略带金属光泽的菌落；

（３）淡红色，中心色较深的菌落。

（三）复发酵试验：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个接种于一支单料乳糖发酵管内，然后置于３７℃恒温箱内，培养２４小时，产酸产气者（包括小量产气）即证实有大肠菌群存在。

根据证实有大肠菌群存在的阳性管数，查对总大肠菌群近似数（ＭｐＮ）检索表（附表１·１）即是每升污水中的大肠菌群数。此ＭＰＮ表中所列数值系指１００毫升水样中的细菌数，因此需将表中的数值再乘１０、为每１０００毫升水中的细菌数。举例：某一污水样接种１０毫升的５支管中有５管为阳性；接种１毫升的５支管中有２管为阳性；接种１：１０稀释水样１毫升（即原污水样０．１毫升）的５支管皆为阴性，即结果为５、２、０，查附表１·１得知１００毫升污水中总大肠菌群数为４９个,即１０００毫升污水中总大肠菌群数为４９×１０＝４９０个。

三沙门氏菌属和志贺氏菌属的检验方法

甲、污水

一、样品处理

水样５００毫升，加入灭菌的１０％无水碳酸钠溶液２毫升，混合后，再加入灭菌的１０％硫酸铁溶液１．７５毫升，混合均匀。静置１小时，倾去上清液（沉淀物约为４０毫升左右)。进行沙门氏菌属和志贺氏菌属培养。

二、增菌培养

１．沙门氏菌属：吸取样品处理后的沉淀物２０毫升，加于２０毫升双料亚硒酸盐（ＳＦ）增菌液内，也可加于亚硒酸盐甘露醇（ＳＦＭ）或氯化镁孔雀绿（ＭＭ）增菌液内。置于３７℃或４１℃恒温箱；培养２４小时。

２．志贺氏菌属：吸取样品处理后的沉淀物２０毫升，加于２０毫升双料革兰氏阴性（ＧＮ）增菌液内，置于３７℃恒温箱，培养６小时。

三、平板分离

１．沙门氏菌属：取上述经培养的沙门氏菌用增菌培养液，接种沙门氏菌属——志贺氏菌属（ＳＳ）平板或海克托因（Ｈｅｋｔｏ－ｅｎ简称ＨＥ）平板，置于３７℃恒温箱培养２４小时。也可接种亚硫酸铋（ＢＳ）平板，置于３７℃恒温

箱，培养４８小时。

２．志贺氏菌属：取上述经培养的志贺氏菌用增菌培养液，接种ＳＳ平板或ＨＥ平板，置于３７℃恒温箱，培养２４小时。

四、挑选菌落

１．沙门氏菌属：挑取在ＳＳ平板上，呈无色透明或中间有黑心，直径１～２毫米的菌落；挑取在ＨＥ平板上，呈蓝绿色，有或无黑心，直径１～２毫米的菌落；挑取在ＢＳ平板上，呈黑色，培养基周围具有金属光泽的菌落。

２．志贺氏菌属：挑取在ＳＳ平板上，呈无色透明，直径１～１．５毫米的菌落，挑取在ＨＥ平板上，呈绿色的菌落。

３．每个平板最少挑取５个以上可疑肠道病原菌菌落，转种三糖铁或其他鉴别培养基中，置于３７℃恒温箱；培养１８～２４小时。

五、生化试验及血清学检验

１．沙门氏菌属：在三糖铁培养基中，如不发酵乳糖，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，先与沙门氏菌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，以确定其所属群别，然后用Ｈ因子血清，确定血清型。双相菌株应证实两相的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因子血清检查。

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，通常发酵葡萄糖、产气、均发酵甘露醇和麦芽糖（但猪伤寒沙门氏菌、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，通常产生硫代氢。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。

２．志贺氏菌属：在三糖铁培养基上，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。

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），一般不能分解乳糖及蔗糖，宋内氏志贺氏菌对乳糖及蔗糖迟缓发酵产酸。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、水杨素、Ｖ—Ｐ、枸橼酸盐、氰化钾等试验。志贺氏菌属均为阴性反应。

血清学检查：志贺氏菌属分为４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。

乙、污泥

一、样品处理

用灭菌匙称取污泥３０克，放入灭菌容器内，加入３００毫升灭菌水，充分混匀制成１：１０混悬液。

二、增菌培养

１．沙门氏菌属：吸取上述１：１０混悬液１００毫升，加于１００毫升双料亚硒酸盐（ＳＦ）增菌液内，也可加于亚硒酸盐甘露醇（ＳＦＭ）或氯化镁孔雀绿（ＭＭ）增菌液内。置于３７℃或４１℃恒温箱，培养２４小时。

２．志贺氏菌属：吸取上述１：１０混悬液１００毫升，加于双料革兰氏阴性（ＧＮ）１００毫升增菌液内。置于３７℃恒温箱，培养６小时。

三、平板分离、挑选菌落、生化试验及血清学检查均与污水样品检验方法相同。

四污泥粪大肠菌值的检验方法

一、初发酵试验：按图１所示将污泥稀释，分别将污泥样品接种于装有１０毫升乳糖胆盐培养液的内有倒管的试管中。再将已接种的四支试管置于４４℃恒温箱，培养２４小时。

二、平板分离：经培养２４小时后产酸产气及只产酸不产气的发酵管，分别划线接种于伊红美兰培养基或品红亚硫酸钠培养基上。置于３７℃恒温箱培养１８～２４小时。挑选符合下列特征菌落的一小部分。进行涂片，革兰氏染色，镜检。

１．伊红美兰培养基上的菌落色泽；

（１）深紫黑色，具有金属光泽的菌落；

（２）紫黑色，不带或略带金属光泽的菌落；

（３）淡紫红色，中心色较深的菌落；

２．品红亚硫酸钠培养基上的菌落色泽；

（１）紫红色，具有金属光泽的菌落；

（２）深红色，不带或略带金属光泽菌落；

（３）淡红色，中心色较深的菌落。

三、复发酵试验：上述涂片镜检的菌落如为革兰氏阴性无芽孢杆菌，则挑取该菌落的另一部分再接种于内有倒管的乳糖发酵管中每管可接种分离自同一初发酵管的最典型的菌落１～３个。置于４４℃恒温箱培养２４小时。有产酸产气者即证实有粪大肠菌群存在。按阳性管数查粪大肠菌值检索表（附表１．２）即得出每升（１０００克）粪大肠菌值。例如接种污泥量１克发酵管阳性（＋），０．１毫升发酵管阴性（－），０．０１毫升为阳性（＋），０．００１毫升为阴性（－）查附表１．２，当阳性，阴性管数为＋－＋－时，粪大肠菌值为０．１。

五污泥蛔虫卵的检验方法

一、污泥样品的采集：

先把泥堆尽量划为四等份，而后在每份的中间，用铁锹或小铲各采污泥约５００

克。同时，在堆泥的中间也采５００克，一并放在塑料桶或搪瓷桶中。搅拌均匀，并挑去固体夹杂物，再从中取出５００克置于塑料袋或其他容器中，带回实验室。

二、污泥样品的处理：

将现场带回的样品，倒于烧杯中，如遇样品稍干且有结块时，可将其倒于搪瓷盘中，再行搅拌，同时用大镊子，一面搅拌，一面将硬块夹碎，去掉肉眼能看出的夹杂物，如腐烂的布条、草梗、小石块等。然后，将样品装入广口瓶中，贴上标签，标明样品号码、医院名称、采样日期和处理前或处理后的情况等。

三、污泥样品的检验

上述样品处理后，应立即进行检验，不能立即进行检验时，可适当加入约５—１０毫升３～５％福尔马林溶液或３％盐酸溶液，瓶口上放置一个适宜大小的表面皿。然后放于冰箱内，以防微生物的繁殖和抑制蛔虫卵的发育。

１．水洗

从已经处理过的５００克污泥样品中，称取１００克置于５００毫升锥形量杯中，加水约５００毫升。用玻璃棒搅拌后静置之。让其自然沉淀，经１～２小时后，倒去污泥上面的水，另换清水搅拌后，再让其自然沉淀，经半小时后，再倒去上面的水，另加清水，如此反复进行３～４次，直到污泥上面的水接近无色为止。

２．过滤

倒去沉淀上面的清水，用６０孔燉口寸金属筛子过滤于另一５００毫升锥形量杯中，弃去阻留在筛上的泥渣。沉淀２０～３０分钟后，倒去沉淀上面的液体、另加清水，如此反复水洗２～３次，最后倒去上清液，将沉淀物倒入１０毫升离心管中。经２５００转/分离心３分钟后，倒去上清液。

３．离心飘浮

管内注入饱和食盐水，经用玻璃棒搅匀后，离心３分钟，由于蛔虫卵比饱和盐水

的比重小，所以管中绝大多数的蛔虫卵均浮聚在液面。（注意：加入食盐水量不得少于沉淀物的２０倍)。

４．离心沉淀

用毛细吸管反复吸取管中斜面上的浮膜于另一离心管中。加入清水，经搅匀后，再行离心，虫卵比水的比重大，因而下沉于管底。然后小心倒去上清液。

５．培养

注入２～３毫升清水于管中，加几滴５％福尔马林溶液，置于２４～２６℃恒温箱中，培养１５～２０天。在培养过程中，清水不得少于０．５～１．０毫升。

６．镜检

样品经培养１５～２０天后取出。用毛细吸管吸去上面的清水，余下含虫卵的沉淀物。在一张干净的载玻片的中央滴一滴清水。用毛细吸管吸一小滴沉淀物于水中。涂匀后盖以盖玻片，在低倍镜下检查，必要时，再换以高倍镜。记录５００个以上死、活虫卵数。

查完一张片子而卵数不及５００个时，依同法作第二张涂片检查。涂片不宜太厚。否则视野模糊不清，影响观察。一般涂片厚度能以透过涂片尚能辩认报纸上的字迹为宜。而后在适宜的温度和湿度下。经过１５～２０天的培育。活蛔虫卵就会逐渐发育到幼虫期。而死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。故易于区别。

镜检时为达到较为快速而明显地辨认幼虫起见，可在载玻片上的滴一滴预先配好避光保存的３０％次氯酸钠溶液〔商品名为安替福明（ａｎｔｉｆｏｒｍｉｎ〕以代替清水作成涂片，置于显微镜下观察，可以看见被包在卵的最外层的蛋白质壳逐渐溶解，使卵内的幼虫一目了然。因此亦称此液为脱壳液。如遇沉淀物中渣子较多卵数较少时，可以直接注入几滴此脱壳液于离心管中，与沉淀物混合并搅匀之，而后吸一滴混合液于载玻片上，盖以盖玻片，直接镜检即可。此时视野格

外清晰。

在培养第１５～２０天未查见幼虫时，应继续培养到３０天（注意：加过脱壳液的样品，不能再继续培养)。

最后，就５００个以上的死、活蛔虫卵数，求出死卵的百分率。如此检验的全过程已告结束，可从冰箱中取出剩余的样品，处理之。

六结核杆菌的检验方法

甲、污水

一、集菌：

根据检验室条件，可以选用滤膜集菌法或离心集菌法。

１．滤膜集菌法：采用经煮沸消毒的醋酸纤维膜（孔径０．３～０．７微米）和特制的金属滤器，安装严密后抽滤，污水样５００毫升，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，用４％硫酸溶液反复冲洗，处置３０分钟后，收集洗液于离心管中，３０００转３０分钟离心，弃去上清液，沉淀物中加１毫升灭菌生理盐水混合均匀后，供接种用。

２．离心集菌法：水样５００毫升，分装于５０毫升或２００毫升灭菌离心管中，３０００转３０分钟离心，同一份水样的沉淀物集中于试管内，加等量４％硫酸处理３０分钟，供接种用，如体积过大再次离心浓缩后接种。

二、接种：

上述集菌液全部接种于改良罗氏培养基或接种于小川氏培基上，每支培养管接种０．１毫升。

三、培养：

置３７℃恒温培养箱，培养８周，２周后开始观察结果，每周观察２次。

分离菌株罗氏培养基上呈淡黄色或无色，粗糙型菌落；作抗酸染色，阳性者作分离传代。菌型鉴别分离传代菌株如生长速度在二周以上，则需作菌型鉴别；应用

耐热触酶试验和传代培养于２８℃培养箱２～４周观察是否生长，用此两种方法即可进行初步鉴别。

四、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毫克菌量（５毫克燉升菌液，每只动物接种０．２毫升）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：

（一）材料

１．ｐＨ＝７．０磷酸缓冲液（M/１５）

２．１０％吐温（ＴＷｅｅｎ）８０水溶液加等量３０％H_2O_2。

（二）方法

１．取菌落３～５毫克分散于０．５毫升磷酸盐缓冲液中。

２．置６８℃水浴中２０分钟。

３．冷却后加吐温８０和H_2O_2混合液０．５毫升。

（三）结果

发生气泡为阳性，３０分钟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，其它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在２８℃培养能生长。

乙、污泥

一、样品处理：取污泥１０克加１００毫升蒸馏水冲洗、过滤（滤纸漏斗）再经玻璃漏斗Ｇ２，孔径１０～１５微米和Ｇ４，孔径３—４微米）抽滤，最后再经滤膜（孔径０．４５～７微米）抽滤。取下滤膜，用４％硫酸３毫升，充分振摇

冲洗３０分钟。然后，将此酸性菌液以０．１毫升分别接种于改良罗氏培养基或小川式培养基，置于３７℃恒温箱培养８周，２周后开始观察结果，每周观察二次。

二、集菌：

１．滤膜集菌法：取污泥１０克，加１００毫升蒸馏水，混摇均匀，成为１：１０混悬液。其后的操作步骤同污水。

２．离心集菌法：取上述１：１０混悬液，分装于灭菌离心管中，３０００转燉分，３０分钟离心，操作步骤同污水。

关于培养基的制备，接种，培养以及致病力试验等均与污水的检验方法相同。

七培养基的制备

一、乳糖蛋白胨培养液

１．成分：

蛋白胨１０克

牛肉膏３克

乳糖５克

氯化钠５克

１．６％溴甲酚紫乙醇溶液１毫升

蒸馏水１０００毫升

２．制法：

（1）将蛋白胨、牛肉膏、乳糖及氯化钠加热溶解于１０００毫升蒸馏水中，调整ｐＨ为７．２～７．４。

（2）加入１．６％溴甲酚紫乙醇溶液１毫升，充分混匀，分装于有倒管的试管中。

（3）置于高压蒸气灭菌器中，以１１５℃灭菌２０分钟。

（４）贮存于冷暗处备用。

二、三倍浓缩乳糖蛋白胨培养液

按上述“乳糖蛋白胨培养液”浓缩３倍配制

三、品红亚硫酸钠培养基

１．成分：

蛋白胨１０克

乳糖１０克

磷酸氢二钾（Ｋ２ＨＰＯ４）３．５克

琼脂２０～３０克

蒸馏水１０００毫升

无水亚硫酸钠５克左右

５％碱性品红乙醇溶液２０毫升

２．储备培养基的制备：

（１）先将琼脂加到９００毫升蒸馏水中，加热溶解，然后加入磷酸氢二钾及蛋白胨，混匀使溶解，再以蒸馏水补足至１０００毫升，调整ｐＨ为７．２～７．４。

（２）趁热用脱脂棉或绒布过滤，再加入乳糖，混匀后，定量分装于烧瓶内，置于高压蒸气灭菌器中，以１１５℃灭菌２０分钟。

（３）贮存于冷暗处备用。

３．平皿培养基的制备：

（１）将上法制备的储备培养基，加热溶化。

（２）根据烧瓶内培养基的容量，用灭菌吸管按比例吸取一定量的５％碱性品红乙醇溶液，置于灭菌空试管中。

（３）根据烧瓶内培养基的容量。按比例称取所需要的无水亚硫酸钠，置于灭菌空试管内，加灭菌水少许，使溶解，再置于水浴中煮沸１０分钟。

（４）用灭菌吸管吸取已灭菌的亚硫酸钠溶液，滴加于碱性品红乙醇溶液内由深红色褪成淡粉色为止。

（５）将此亚硫酸钠与碱性品红的混合液全部加于已融化的储备培养基内，并充分混匀（防止产生气泡）。

（６）立即将此种培养基适量倾入于已灭菌的空平皿内，待其冷却凝固后置冰箱内备用。此种已制成的培养基于冰箱内保存亦不宜超过二周。如培养基已由淡红色变成深红色，则不能再用。

四、伊红美兰培养基

１．成分：

蛋白胨１０克

乳糖１０克

磷酸氢二钾２克

琼脂２０～３０克

蒸馏水１０００毫升

２％伊红水溶液２０毫升

０．５％美兰水溶液１３毫升

２．储备培养基的制备

（１）先将琼脂加至９００毫升蒸馏水中，加热溶解，然后加入磷酸氢二钾及蛋白胨，混匀使溶解，再以蒸馏水补足至１０００毫升，调正ｐＨ为７．２～７．４。

（２）趁热用脱脂棉或绒布过滤，再加入乳糖，混匀后定量分装于烧瓶内，置于高压蒸气灭菌器内，以１１５℃灭菌２０分钟。

（３）贮存于冷暗处备用。

３．平皿培养基的配制：

（１）将已制备的培养基加热融化。

（2）根据烧瓶内培养基的容量，用灭菌吸管按比例分别取一定量已灭菌的２％伊红水溶液及一定量已灭菌的０．５％美兰水溶液加入已融化的储备琼脂内，并充分混匀（防止产生气泡）。

（3）立即将此种培养基适量倾入于已灭菌的空平皿内，待其冷却凝固后，置冰箱内备用。

五、亚硒酸盐（ＳＦ）增菌液

１．成分：

胰蛋白胨（或多价胨）５克

磷酸氢二钠（Ｎａ２ＨＰＯ４）１６克

磷酸二氢钠（ＮａＨ２ＰＯ４）２．５克

乳糖４克

亚硒酸氢钠４克

蒸馏水５００毫升

２．制法：

（1）除亚硒酸氢钠外，将以上各成分放于蒸馏水中，加热溶化。

（2）再加入亚硒酸氢钠，待完全溶解后，调整ｐＨ为７．０～７．１。

（3）分装于阿诺氏器中灭菌１５分钟备用。

六、亚硒酸盐甘露醇（ＳＦＭ）增菌液

１．成分：

亚硒酸氢钠４克

磷酸氢二钠（Ｎａ２ＨＰＯ４）１６克

磷酸二氢钠（ＮａＨ２ＰＯ４）２．５克

甘露醇４克

胰蛋白胨（或多价胨）５克

蒸馏水１０００毫升

２．制法：

与亚硒酸盐（ＳＦ）增菌液配制方法相同。

七、氯化镁孔雀绿（ＭＭ）增菌液

１．成分：

甲液：

胰蛋白胨（或多价胨）５克

氯化钠８克

磷酸二氢钾（ＫＨ２ＰＯ４）１．６克

蒸馏水１０００毫升

乙液：

氯化镁（ＭｇＣｌ２·６Ｈ２Ｏ）４０克

蒸馏水１００毫升

丙液：

０．４%孔雀绿水溶液

２．制法：

用上述配制的甲液１００毫升，乙液１０毫升，丙液３毫升，混合分装，１１５℃２０分钟高压灭菌２０分钟。

八、革兰氏阴性（ＧＮ）增菌液

１．成分：

胰蛋白陈（或多价胨）２０克

葡萄糖１克

甘露醇２克

枸橼酸钠５克

去氧胆酸钠０．５克

磷酸氢二钾（Ｋ２ＨＰＯ４）４克

磷酸二氢钾（ＫＨ２ＰＯ４）１．５克

氯化钠５克

蒸馏水１０００毫升

２．制法：

（１）将以上各成分加入蒸馏水中溶化，用磷酸氢二钾调整ｐＨ至７．０，煮沸过滤，高压１１５℃灭菌２０分钟。

（２）贮存于冷暗处备用。

双料ＧＮ增菌液配制：除蒸馏水改为５００毫升外，其他成分不变。

九、沙门氏志贺氏菌属（ＳＳ）琼脂培养基：

十、海克托因（Ｈｅｋｔｏｅｎ）肠道（简称ＨＥ）琼脂培养基：

１．成分：

乳糖１２克

蔗糖１２克

水杨素２克

胆盐２０克

氯化钠５克

蛋白胨１２克

牛肉膏３克

琼脂２５克

蒸馏水１０００毫升

２．溶液制备

（１）溶液甲：

枸橼酸铁铵４克

硫代硫酸钠３４克

蒸馏水１００毫升

（2）溶液乙：

去氧胆酸钠１０克

蒸馏水１００毫升

（3）安氏指示剂：

成分：

酸性复红０．５克

蒸馏水１００毫升

氢氧化钠（ＩＮ）１６毫升

制法：

将酸性复红溶解于蒸馏水中，加入氢氧化钠溶液数小时后如复红退色不够。可再加１～２毫升氢氧化钠液（不同牌号的酸性复红，其色素含量相差很大)。此试剂保存时间长，效果更好。

３．制法

将培养基的ｐＨ调整至７．４煮沸不完全溶解，然后加入溶液甲与溶液乙各２０毫升，重新调整ｐＨ至７．５，加入０．４％溴麝香草酚兰（ＢＥＢ）乙醇溶液１６毫升和安示指示剂２０毫升，此培养基不需高压灭菌，经煮沸灭菌后即可倾注平板备用。

十一、亚硫酸铋（ＢＳ）琼脂培养基

１．成分：

牛肉膏５克

蛋白胨１０克

葡萄糖５克

磷酸氢二钠（Na_2HPO_4）４克

硫酸亚铁０．３克

亚硫酸铋指示剂８毫升

琼脂２５克

煌绿０．０２５克

蒸馏水１０００毫克

亚硫酸铋指示剂制备：

亚硫酸钠６克加入２５毫升水中使之溶解。另取枸橼酸铋铵２克加入２０毫升水中，使之溶解再将二者混合加热煮沸３分钟即成乳白色冷却备用。

２．制法：

将牛肉膏、蛋白胨、葡萄糖、磷酸氢二钠溶解于蒸馏水中。溶化后加入琼脂溶解，再加入硫酸铁混匀，冷却至６０℃。再加入亚硫酸铋指示剂混匀后再加入煌绿，此时煌绿颜色消失，制备平板供用。

十二、乳糖—胆盐培养基

１．成分：

乳糖５克

胆白胨２０克

猪胆盐（或牛胆盐）５克

１．６％溴甲酚紫酒精溶液０．６毫升蒸馏水１０００毫升

２．制法：

将蛋白胨，胆盐及乳糖溶于水中，调剪ｐＨ至７．４，加入指示剂，分装于试管，每管１０毫升，并放一个小倒管高压１１５℃１５分钟。三倍浓缩培养液：除蒸馏水外，其他成分均为三倍，制法同上，该培养基用于污泥中粪大肠菌群初发酵

检验，复发酵乳糖发酵管与污水总大肠菌群复发酵乳糖发酵管相同。

十三、改良罗氏培养基

１．成分：

磷酸二氢钾２．４克

硫酸镁０．２４克

枸橼酸镁０．６克

味精１．２克

甘油１２毫升

淀粉３０克

蒸馏水６００毫升

鸡蛋（包括蛋清和蛋黄）１０００毫升

２０%孔雀绿２０毫升

２．制法：

（1）将磷酸二氢钾、枸橼酸镁、味精、甘油及蒸馏水混合于烧杯内，放在沸水浴中加热溶解。

（2）加入淀粉继续加热一小时，摇动使其溶解，待冷却至５０℃加入蛋液及孔雀绿，溶解，充分混匀。

（3）置成斜面，保持温度９０℃一小时灭菌。

十四、小川氏培养基

１．成分：

甲液：无水磷酸二氢钾１克

味精１克

蒸馏水１００毫升

乙液：全蛋液２００毫升

甘油６毫升

２％孔雀绿６毫升

２．制法：

（１）甲乙两液混合分装试管内。

（２）置成斜面，保持温度９０℃一小时灭菌。

附录二本标准用词说明

一、执行本标准条文时，要求严格程度的用词，说明如下，以便在执行中区别对待：

１．表示很严格，非这样作不可的用词：

正面词采用：“ 必须 ”；

反面词采用：“ 严禁 ”。

２．表示严格，在正常情况下均应这样作的用词：

正面词采用 “ 应 ”；

反面词采用 “ 不应 ” 或 “ 不得 ”。

３．表示允许稍有选择，在条件许可时，首先应这样作的用词：

正面词采用 “ 宜 ” 或 “ 可 ”；

反面词采用 “ 不宜 ”。

二、条文中应按其他有关标准，规范执行的写法为“ 应按……执行 ”或“ 应符合……的规定 ”。非必须按所指定的标准，规范或其他规定执行的写法为 “ 可参照 ”。