



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18204.3—2025

代替 GB/T 18204.3—2013

## 公共场所卫生检验方法 第 3 部分：空气微生物指标

Examination methods for public places—  
Part 3: Airborne microorganism indicators

2025-05-30 发布

2025-12-01 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布



## 目 次

前言 .....	III
引言 .....	IV
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 细菌总数 .....	2
5 真菌总数 .....	4
6 $\beta$ -溶血性链球菌 .....	7
7 嗜肺军团菌 .....	9
附录 A (规范性) 现场采样检测布点要求 .....	17
参考文献 .....	19





## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 GB/T 18204《公共场所卫生检验方法》的第 3 部分。GB/T 18204 已经发布了以下部分：

- 第 1 部分：物理性指标；
- 第 2 部分：化学性指标；
- 第 3 部分：空气微生物指标；
- 第 4 部分：公共用品用具微生物指标；
- 第 5 部分：集中空调通风系统；
- 第 6 部分：卫生监测技术规范。

本文件代替 GB/T 18204.3—2013《公共场所卫生检验方法 第 3 部分：空气微生物》，与 GB/T 18204.3—2013 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了“范围”(见第 1 章,2013 年版的第 1 章)；
- b) 更改了“撞击法”“自然沉降法”的术语和定义(见 3.5、3.6,2013 年版的 2.5、2.6)；
- c) 增加了“细菌总数”样品的保存和运输、结果计算、质量控制(见 4.1.4.4、4.1.6.1、4.1.7 和 4.2.4.4、4.2.6.1、4.2.7)；
- d) 增加了“真菌总数”样品的保存和运输、结果计算、质量控制(见 5.1.4.4、5.1.6.1、5.1.7 和 5.2.4.4、5.2.6.1、5.2.7)；
- e) 增加了“ $\beta$ -溶血性链球菌”样品的保存和运输、革兰氏染色镜检、触媒试验等生化鉴定、结果计算、质量控制(见 6.4.4、6.5.3~6.5.5、6.6.1、6.7)；
- f) 增加了“嗜肺军团菌”样品的保存和运输、生化鉴定、血清型鉴定、质量控制(见 7.1.4.4、7.1.5.6、7.1.5.7、7.1.6、7.1.7)；
- g) 增加了“嗜肺军团菌”的荧光聚合酶链(PCR)快速检测法(见 7.2)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家疾病预防控制局提出并归口。

本文件起草单位：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、常州市疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：姚孝元、唐宋、李霞、丁理、丁震、周连、余淑苑、丁培、毛怡心、石晓路、谈立峰、马恺。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2000 年首次发布为 GB/T 18204.1—2000《公共场所空气微生物检验方法 细菌总数测定》；
- 2013 年第一次修订，标准编号改为 GB/T 18204.3—2013，代替 GB/T 18204.1—2000，部分代替 GB/T 17220—1998《公共场所卫生监测技术规范》中空气微生物采样要求；
- 本次为第二次修订。



# 公共场所卫生检验方法

## 第3部分：空气微生物指标

### 1 范围

本文件描述了公共场所空气中细菌总数、真菌总数、 $\beta$ -溶血性链球菌和嗜肺军团菌的现场采样与检验方法。

本文件适用于公共场所中空气微生物指标的测定,其他场所参照执行。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 4789.28 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**细菌总数 total bacterial count**

在营养琼脂培养基上经  $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 48 h 所生长发育的嗜中温性需氧和兼性厌氧菌落的总数。

#### 3.2

**真菌总数 total fungal count**

在沙氏琼脂培养基上经  $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、3 d~5 d 培养所形成的菌落数。

#### 3.3

**$\beta$ -溶血性链球菌  $\beta$ -hemolytic streptococcus**

能产生溶血素,血平板上在菌落周围形成界限分明、完全透明的溶血环( $\beta$ -型溶血)的化脓(或 A 群)链球菌和无乳(或 B 群)链球菌。

[来源:GB 4789.11—2014,2.2,有修改]

#### 3.4

**嗜肺军团菌 *Legionella pneumophila***

两端钝圆,有鞭毛,无芽孢和荚膜的革兰氏阴性杆菌,具有在含有 L-半胱氨酸和三价铁盐缓冲液的活性炭-酵母提取液培养基上生长的特性,经生化试验和血清学试验鉴定确认的一种具有致病性的军团菌,是引起军团菌病的主要菌型。

[来源:GB/T 40392—2021,3.2,有修改]

### 3.5

#### 撞击法 impacting method

采用撞击式空气微生物采样器,使空气通过惯性撞击,从而将悬浮在空气中的微生物采集到采样介质上的采样方法。

### 3.6

#### 自然沉降法 natural sinking method

将培养基平板暴露在空气中,微生物依靠重力作用自然沉降到平板上的采样方法。

## 4 细菌总数

### 4.1 撞击法

#### 4.1.1 原理

采用撞击式空气微生物采样器,使空气通过狭缝或小孔产生高速气流,将悬浮在空气中的微生物采集到营养琼脂平板上,经  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、48 h 培养后得到细菌菌落数。

#### 4.1.2 仪器和耗材

本方法中使用的主要仪器和耗材如下:

- 六级筛孔撞击式微生物采样器;
- 高压蒸汽灭菌器;
- 恒温培养箱: $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- 无菌平皿:直径为 90 mm;
- pH 计或精密 pH 试纸。

#### 4.1.3 营养琼脂培养基

##### 4.1.3.1 成分

蛋白胨 10.0 g,牛肉浸膏 3.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 20.0 g,纯水 1 000 mL。也可采用符合 GB 4789.28 要求的成品培养基。纯水水质应符合 GB/T 6682 三级水或以上的要求。

##### 4.1.3.2 制法

将蛋白胨、牛肉浸膏、氯化钠溶于纯水中,校正 pH 为  $7.4\pm 0.2$ ,加入琼脂, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,15 min 高压灭菌。待冷却到  $45\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  时,以无菌操作每皿倾注 15 mL 培养基于平皿中,冷却后制成平板备用。

#### 4.1.4 采样

4.1.4.1 采样点:应符合附录 A 中 A.1 的要求。

4.1.4.2 采样环境条件:采样时关闭门窗 15 min~30 min,在难以关闭门窗的公共场所(如商场、候车室等)采样时,应保持当时的环境状态。记录室内空调等设备运行状况、门窗状况、人员数量、温湿度及天气状况等。

4.1.4.3 采样方法:应无菌操作,将营养琼脂平板逐级装入六级筛孔撞击式微生物采样器,以  $28.3\text{ L}/\text{min}$  流量采集 5 min~15 min。采样器使用应按照说明书要求进行。

4.1.4.4 样品的保存和运输:将采集后的平板储存于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  的环境,并于 4 h 内返回实验室进行培养。

#### 4.1.5 检验步骤

将采集后的营养琼脂平板倒置于 36 °C ± 1 °C 培养箱中培养 48 h ± 2 h, 菌落计数。

#### 4.1.6 检验结果

##### 4.1.6.1 结果计算

公共场所空气中细菌总数浓度按公式(1)计算。计算得出的细菌总数的值应四舍五入到整数。

$$C = \frac{\sum_{i=1}^6 N_i \times 1\,000}{v \times t} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$C$  ——细菌总数浓度,单位为菌落形成单位每立方米(CFU/m<sup>3</sup>);

$N_i$  ——每级平板菌落数,单位为菌落形成单位(CFU);

$v$  ——采样流量,单位为升每分(L/min);

$t$  ——采样时间,单位为分(min);

$i$  ——平板数量。

##### 4.1.6.2 结果报告

一个区域空气中细菌总数的测定结果按该区域全部采样点中细菌总数测定值的最大值报告,检验结果以菌落形成单位每立方米(CFU/m<sup>3</sup>)表示。

#### 4.1.7 质量控制

4.1.7.1 每批培养基平板配置后应做无菌检查,可每批选定 3 块平板,按 4.1.5 的步骤培养观察,结果应无菌落生长。

4.1.7.2 采样器应定期在负载条件下用检定/校准合格的流量计进行校准,相对偏差不应超过 5%;在采样前应对采样系统的气密性进行检查,不应漏气;如喷孔有塞物,可用中性洗涤剂温水或超声波清洗撞击器;若喷孔发生阻塞,可用高压气流或配备的细针清除。采样前应用 75% 医用酒精棉擦拭采样头,待酒精挥发后采样。

4.1.7.3 在采样开始前,确保所用试剂和材料为无菌状态,操作过程和样品运输中应无菌操作,避免人为污染。

4.1.7.4 为避免运输和保存过程中的污染,应同时进行现场空白对照试验,每次或每个区域取一个对照平板,与采样平板同法操作但不需暴露采样,然后与采样后的平板一起放入培养箱培养,结果应无菌落生长。如空白对照有菌生长,则本批次样品作废,需重新采样检测。

4.1.7.5 实验人员个体防护和检测废弃物的处理应按照 GB 19489 执行。

#### 4.2 自然沉降法

##### 4.2.1 原理

将营养琼脂平板暴露在空气中,微生物依靠重力作用自然沉降到平板上,经 36 °C ± 1 °C、48 h 培养后得到细菌菌落数。

##### 4.2.2 仪器和耗材

本方法中使用的仪器和耗材如下:

- 高压蒸汽灭菌器；
- 恒温培养箱： $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；
- 采样支架；
- 无菌平皿：直径为 90 mm；
- pH 计或精密 pH 试纸。

#### 4.2.3 营养琼脂培养基

应符合 4.1.3 的要求。

#### 4.2.4 采样

4.2.4.1 采样点：应符合 A.2 的要求。

4.2.4.2 采样环境条件：应符合 4.1.4.2 的要求。

4.2.4.3 采样方法：应无菌操作，将营养琼脂平板置于采样点处，打开皿盖，暴露 5 min 后盖上皿盖。

4.2.4.4 样品的保存和运输：应符合 4.1.4.4 的要求。

#### 4.2.5 检验步骤

应符合 4.1.5 的要求。

#### 4.2.6 检验结果

##### 4.2.6.1 结果计算

计数每块平板上生长的菌落数。

##### 4.2.6.2 结果报告

一个区域空气中细菌总数的测定结果按该区域全部采样点中细菌总数测定值的平均值报告，检验结果以菌落形成单位每平皿(CFU/皿)表示，计算得出的细菌总数的值应四舍五入到整数。

#### 4.2.7 质量控制

应符合 4.1.7.1~4.1.7.5 的要求。

### 5 真菌总数

#### 5.1 撞击法

##### 5.1.1 原理

采用撞击式空气微生物采样器，使空气通过狭缝或小孔产生高速气流，从而将悬浮在空气中的微生物采集到沙氏琼脂平板上，经  $28\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、3 d~5 d 培养后得到真菌菌落数。

##### 5.1.2 仪器和耗材

本方法中使用的仪器和耗材如下：

- 六级筛孔撞击式微生物采样器；
- 高压蒸汽灭菌器；

- 真菌培养箱:28℃±1℃;
- 无菌平皿:直径为90 mm;
- pH计或精密pH试纸。

### 5.1.3 沙氏琼脂培养基

#### 5.1.3.1 成分

蛋白胨 10.0 g,葡萄糖 40.0 g,琼脂 20.0 g,纯水 1 000 mL。也可采用符合 GB 4789.28 要求的成品培养基。

#### 5.1.3.2 制法

将蛋白胨和葡萄糖溶解于纯水,调整 pH 为 5.6±0.2,分装于玻璃容器中,经 115℃ 高压蒸汽灭菌 15 min。待冷却到 45℃~50℃ 时,以无菌操作每皿倾注 15 mL 培养基于平皿中,冷却后制成沙氏琼脂平板备用。

### 5.1.4 采样

5.1.4.1 采样布点:应符合 A.1 的要求。

5.1.4.2 采样环境条件:应符合 4.1.4.2 的要求。

5.1.4.3 采样方法:应无菌操作,将沙氏琼脂平板逐级装入六级筛孔撞击式微生物采样器,以 28.3 L/min 流量采集 5 min~15 min,采样器使用按照说明书要求进行。

5.1.4.4 样品的保存和运输:应符合 4.1.4.4 的要求。

### 5.1.5 检验步骤

将采集真菌后的沙氏琼脂平板倒置于 28℃±1℃ 的真菌培养箱中培养,第 3 天开始观察真菌生长情况,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。

### 5.1.6 检验结果

#### 5.1.6.1 结果计算

公共场所内空气中真菌总数浓度按公式(2)计算。计算得出的真菌总数的值应四舍五入到整数。

$$C = \frac{\sum_{i=1}^6 N_i \times 1\,000}{v \times t} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$C$  ——真菌总数浓度,单位为菌落形成单位每立方米(CFU/m<sup>3</sup>);

$N_i$  ——每级平板菌落数,单位为菌落形成单位(CFU);

$v$  ——采样流量,单位为升每分(L/min);

$t$  ——采样时间,单位为分(min);

$i$  ——平板数量。

#### 5.1.6.2 结果报告

一个区域空气中真菌总数的测定结果按该区域全部采样点中真菌总数测定值的最大值报告,检验结果以菌落形成单位每立方米(CFU/m<sup>3</sup>)表示。

### 5.1.7 质量控制

5.1.7.1 每批培养基平板配置后应做无菌检查,可每批选定 3 块平板,按 5.1.5 的步骤培养观察,结果应无菌落生长。

5.1.7.2 其他质量控制应符合 4.1.7.2~4.1.7.5 的要求。

## 5.2 自然沉降法

### 5.2.1 原理

将沙氏琼脂平板暴露在空气中,微生物依靠重力作用自然沉降到平板上,经实验室培养后得到真菌总数。

### 5.2.2 仪器和耗材

本方法中使用的仪器和耗材如下:

- 高压蒸汽灭菌器;
- 真菌培养箱:28 °C ±1 °C;
- 采样支架;
- 无菌平皿:直径为 90 mm;
- pH 计或精密 pH 试纸。



### 5.2.3 沙氏琼脂培养基

应符合 5.1.3 的要求。

### 5.2.4 采样

5.2.4.1 采样点:应符合 A.2 的要求。

5.2.4.2 采样环境条件:应符合 4.1.4.2 的要求。

5.2.4.3 采样方法:应无菌操作,将沙氏琼脂平板置于采样点处,打开皿盖,暴露 5 min 后盖上皿盖。

5.2.4.4 样品运输和保存:应符合 4.1.4.4 的要求。

### 5.2.5 检验步骤

应符合 5.1.5 的要求。

### 5.2.6 检验结果

#### 5.2.6.1 结果计算

计数每块平板上生长的真菌菌落数。

#### 5.2.6.2 结果报告

一个区域空气中真菌总数的测定结果按该区域全部采样点中真菌总数测定值的平均值报告,检验结果以菌落形成单位每平皿(CFU/皿)表示,计算得出的真菌总数的值应四舍五入到整数。

### 5.2.7 质量控制

应符合 5.1.7.1 和 4.1.7.3~4.1.7.5 的要求。

## 6 $\beta$ -溶血性链球菌

### 6.1 原理

采用撞击式空气微生物采样器,使空气通过狭缝或小孔产生高速气流,从而将悬浮在空气中的微生物采集到血琼脂平板上,经  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,培养 18 h~24 h 后计数和生化鉴定,得到  $\beta$ -溶血性链球菌菌落数。

### 6.2 仪器和耗材

本方法中使用的仪器和耗材如下:

- 六级筛孔撞击式微生物采样器;
- 高压蒸汽灭菌器;
- 恒温培养箱: $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- 普通显微镜:10 倍~100 倍;
- 电子天平;
- pH 计或精密 pH 试纸。

### 6.3 培养基和试剂

#### 6.3.1 血琼脂平板

##### 6.3.1.1 成分

蛋白胨 10.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 20.0 g,脱纤维羊血 50 mL~100 mL,纯水 1 000 mL。也可采用符合 GB 4789.28 要求的成品培养基。

##### 6.3.1.2 制法

脱纤维羊血:在无菌操作条件下,将羊血加入盛有灭菌玻璃珠的容器中,振摇 10 min 左右,静置后除去附有血纤维的玻璃珠即可。

将蛋白胨、氯化钠、琼脂加热溶化于纯水中,校正 pH 为  $7.5\pm 0.1$ , $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,15 min 灭菌。待冷却至  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  左右,以无菌操作加入无菌脱纤维羊血,摇匀后每皿倾注 15 mL 培养基于平皿中,制成血琼脂平板备用。

#### 6.3.2 革兰氏染色液

##### 6.3.2.1 结晶紫染色液

###### 6.3.2.1.1 成分

结晶紫 1.0 g,95%(体积分数)乙醇 20 mL,1%草酸铵水溶液 80 mL。

###### 6.3.2.1.2 制法

将结晶紫完全溶解于乙醇中,然后与草酸铵溶液混合。

##### 6.3.2.2 革兰氏碘液

###### 6.3.2.2.1 成分

碘 1.0 g,碘化钾 2.0 g,纯水 300 mL。

#### 6.3.2.2.2 制法

将碘与碘化钾先进行混合,加入少许纯水充分振摇,待完全溶解后,再加纯水至 300 mL。

#### 6.3.2.3 沙黄复染液

##### 6.3.2.3.1 成分

沙黄 0.25 g,95%(体积分数)乙醇 10 mL,纯水 90 mL。

##### 6.3.2.3.2 制法

将沙黄溶解于乙醇中,然后用纯水稀释。

#### 6.3.2.4 染色方法

将涂片在酒精灯火焰上固定,滴加结晶紫染色液,染 1 min,水洗,滴加革兰氏碘液,作用 1 min,水洗,滴加 95%(体积分数)乙醇脱色,约 15 s~30 s,直至染色液被洗掉,不要过分脱色,水洗,滴加复染液,复染 1 min,水洗后进行干燥,镜检。

#### 6.3.3 3%过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)溶液

吸取 100 mL 30%过氧化氢溶液,溶于 900 mL 纯水中,混匀,分装备用。

### 6.4 采样

6.4.1 采样布点:应符合 A.1 的要求。

6.4.2 采样环境条件:应符合 4.1.4.2 的要求。

6.4.3 采样方法:应无菌操作,将血琼脂平板逐级装入六级筛孔撞击式微生物采样器,以 28.3 L/min 流量采集 5 min~15 min,采样器使用按照说明书要求进行。

6.4.4 样品的保存和运输:应符合 4.1.4.4 的要求。

### 6.5 检验步骤

6.5.1 培养方法:采样后的血琼脂平板在 36 °C±1 °C 培养箱中培养 18 h~24 h。

6.5.2 菌落形态:培养后,在血琼脂平板上形成灰白色、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;菌落周围有明显的 2 mm~4 mm 界限分明、完全透明无色溶血环。

6.5.3 革兰氏染色镜检:挑取可疑菌落纯化后染色镜检。 $\beta$ -溶血性链球菌为革兰氏阳性无芽孢球菌,圆形或卵圆形,呈链状排列。

6.5.4 触酶试验:挑取可疑菌落于洁净的载玻片上,滴加适量的 3%过氧化氢溶液,立即产生气泡者为阳性, $\beta$ -溶血性链球菌为阴性。

6.5.5 其他检验:使用生化鉴定试剂盒或生化鉴定卡对可疑菌落进行鉴定。

6.5.6 综合以上实验结果,确定为  $\beta$ -溶血性链球菌。

### 6.6 检验结果

#### 6.6.1 结果计算

公共场所内空气中  $\beta$ -溶血性链球菌浓度按公式(3)计算。计算得出的  $\beta$ -溶血性链球菌的值应四舍五入到整数。

$$C = \frac{\sum_{i=1}^6 N_i \times 1\,000}{v \times t} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

- $C$  —— $\beta$ -溶血性链球菌浓度,单位为菌落形成单位每立方米(CFU/m<sup>3</sup>);  
 $N_i$  ——每级平板经生化鉴定为 $\beta$ -溶血性链球菌阳性的菌落数,单位为菌落形成单位(CFU);  
 $v$  ——采样流量,单位为升每分(L/min);  
 $t$  ——采样时间,单位为分(min);  
 $i$  ——平板数量。

## 6.6.2 结果报告

一个区域空气中 $\beta$ -溶血性链球菌的测定结果按该区域全部采样点中 $\beta$ -溶血性链球菌测定值中的最大值给出。在所有平板均无可疑菌落生长时报告该区域 $\beta$ -溶血性链球菌未检出。

## 6.7 质量控制

6.7.1 试验应设置阳性对照( $\beta$ -溶血性链球菌标准菌株 ATCC 21059 或其他等效标准菌株)和阴性对照(金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC 25923 或其他等效标准菌株)。

6.7.2 每批培养基平板配置后应做无菌检查,可每批选定 3 块平板,按 6.5.1 的步骤培养观察,结果应无菌落生长。

6.7.3 其他质量控制应符合 4.1.7.2~4.1.7.5 的要求。

## 7 嗜肺军团菌

### 7.1 培养法

#### 7.1.1 原理

利用惯性作用将悬浮的微生物采集到液体中,样品经培养在甘氨酸-万古霉素-多黏菌素 B-放线菌酮(Glycine vancomycin polymyxin B cycloheximide,简称 GVPC)培养基琼脂平板上生成典型菌落,并在缓冲活性炭酵母浸膏(Buffered charcoal yeast extract,简称 BCYE)琼脂平板上生长而在 L-半胱氨酸缺失的缓冲活性炭酵母浸膏(Buffered charcoal yeast extract agar without L-cys,简称 BCYE-Cys)培养基琼脂平板上不生长,经生化鉴定和血清学鉴定为嗜肺军团菌。

#### 7.1.2 仪器和耗材

本方法中使用的主要仪器和耗材如下：

- 微生物气溶胶采样器(采样流量 $\geq 100$  L/min)或液体冲击式微生物气溶胶采样器(采样流量 7 L/min~15 L/min);
- 离心管:容积 50 mL;
- 无菌平皿:直径为 90 mm;
- CO<sub>2</sub> 培养箱:36 °C $\pm$ 1 °C;
- 紫外线灯:波长 360 nm $\pm$ 2 nm;
- 涡旋振荡器;
- 普通光学显微镜;
- 水浴箱;

- 无菌接种环:直径 3 mm;
- 微量移液器:100  $\mu$ L、200  $\mu$ L;
- 高压蒸汽灭菌器;
- pH 计或精密 pH 试纸。

### 7.1.3 培养基和试剂

#### 7.1.3.1 BCYE 琼脂培养基

##### 7.1.3.1.1 成分

酵母浸膏 10.0 g,活性炭 2.0 g,琼脂 15.0 g, $\alpha$ -酮戊二酸单钾盐 0.4 g,*N*-(2-乙酰胺基)-2-氨基乙烷磺酸(ACES) 10.0 g,氢氧化钾 2.8 g,焦磷酸铁 0.25 g,L-半胱氨酸盐酸盐 0.4 g,纯水 1 000 mL。

##### 7.1.3.1.2 制法

###### 7.1.3.1.2.1 L-半胱氨酸和焦磷酸铁的溶解

分别用 10 mL 纯水溶解 0.4 g L-半胱氨酸盐酸盐和 0.25 g 焦磷酸铁,再用孔径为 0.22  $\mu$ m 的滤膜过滤除菌,储存于无菌容器中,于-20  $^{\circ}$ C 保存不超过 3 个月。

###### 7.1.3.1.2.2 ACES 缓冲液的配制

将 10.0 g ACES 颗粒加入 500 mL 纯水中,于 45  $^{\circ}$ C~50  $^{\circ}$ C 水浴溶解。另取 480 mL 纯水溶解 2.8 g 氢氧化钾,轻摇溶解,将两种溶液混匀。

###### 7.1.3.1.2.3 最终调节

将溶解好的 980 mL ACES 缓冲液中加入活性炭、酵母浸膏和  $\alpha$ -酮戊二酸单钾盐。用 0.1 mol/L KOH 溶液或 0.1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液调节 pH 至 6.8 $\pm$ 0.2。加入琼脂混合均匀后于 121  $^{\circ}$ C 高压蒸气灭菌 15 min。灭菌后用水浴冷却至 50  $^{\circ}$ C 左右加入溶解好的 L-半胱氨酸盐酸盐溶液和焦磷酸铁溶液,混匀。每皿倾注 20 mL 培养基于直径为 90 mm 的平皿中制备平板。在室温为 25  $^{\circ}$ C 时,培养基最终 pH 为 6.8 $\pm$ 0.2。让平皿上的多余水分干燥,在 2  $^{\circ}$ C~8  $^{\circ}$ C 下于密封容器中避光储存 1 个月。

#### 7.1.3.2 BCYE-Cys 培养基

除不加 L-半胱氨酸盐酸盐外,制备方法同 BCYE 培养基平板。

#### 7.1.3.3 GVPC 培养基

注:此培养基是在 BCYE 的基础上再加入三种抗生素及甘氨酸。

##### 7.1.3.3.1 GVPC 添加剂

甘氨酸 0.3 g/L,硫酸多黏菌素 B 80 000 IU/L,万古霉素 0.001 g/L,放线菌酮 0.08 g/L。

警告:放线菌酮具有肝毒性,在对粉末状化学制品进行操作时应戴手套和防尘口罩。

##### 7.1.3.3.2 GVPC 添加剂的制备

取适量的硫酸多黏菌素 B(一般为 200 mg)溶解于 100 mL 纯水中,使其浓度为 14 545 IU/mL。混匀后进行膜过滤除菌。用无菌管进行分装,每管 5.5 mL,于-25  $^{\circ}$ C~-15  $^{\circ}$ C 保存。使用时放至室温后再用。

取 20 mg 万古霉素盐酸盐溶解于 20 mL 纯水中,混匀后进行膜过滤除菌。用无菌管进行分装。每管 1 mL,于  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。使用时放至室温后再用。

取 2 g 放线菌酮溶解于 100 mL 纯水中,混匀后进行膜过滤除菌。用无菌管进行分装,每管 4 mL,于  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。使用时放至室温后再用。

以上抗生素添加剂冷冻保存最长时间为 6 个月。

#### 7.1.3.3.3 GVPC 培养基的制备

按照 BCYE 培养基的制备方法进行配制,在加入  $\alpha$ -酮戊二酸单钾盐后,再加入 3 g 甘氨酸后调节 pH 为  $6.8\pm 0.2$ 。

在加入溶解后的 L-半胱氨酸和焦磷酸铁后,再加入三种抗生素添加剂,混匀。

#### 7.1.3.4 革兰氏染色液

应符合 6.3.2 的要求。

#### 7.1.3.5 马尿酸盐生化反应管

##### 7.1.3.5.1 成分

马尿酸钠 10.0 g,氯化钠 8.5 g,磷酸氢二钠 8.98 g,磷酸二氢钠 2.71 g,纯水 1 000 mL。

##### 7.1.3.5.2 制法

称取上述成分,溶于 1 000 mL 纯水中,过滤除菌。无菌分装,每管 0.4 mL,储存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

#### 7.1.3.6 硝酸盐生化反应管

##### 7.1.3.6.1 甲液

称取 0.8 g 对氨基苯磺酸溶于 100 mL 乙酸溶液 [ $c(\text{CH}_3\text{COOH})=2.5\text{ mol/L}$ ] 中。

##### 7.1.3.6.2 乙液

称取 0.5 g 甲萘酸溶于 100 mL 乙酸溶液 [ $c(\text{CH}_3\text{COOH})=2.5\text{ mol/L}$ ] 中。

#### 7.1.3.7 尿素生化反应管

##### 7.1.3.7.1 成分

蛋白胨 1.0 g,葡萄糖 1.0 g,氯化钠 5.0 g,磷酸氢二钾 2.0 g,酚红(0.4%) 3 mL,琼脂 20 g,尿素溶液(20%) 200 mL,纯水 1 000 mL。

##### 7.1.3.7.2 制法

将除尿素和琼脂以外的成分配好,并校正 pH 值,加入琼脂,加热溶化并分装烧瓶,于  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  高压灭菌 15 min。冷却至  $50\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,加入经除菌过滤的尿素溶液。尿素的最终浓度应为 2%,最终 pH 应为  $7.2\pm 0.1$ 。分装于灭菌试管内放成斜面备用。

#### 7.1.3.8 明胶生化反应管



##### 7.1.3.8.1 成分

牛肉膏粉 3.0 g,明胶 120.0 g,纯水 1 000 mL。

#### 7.1.3.8.2 制法

将牛肉膏粉 3.0 g,明胶 120.0 g 加入 1 000 mL 纯水中,搅拌加热煮沸至完全溶解,分装试管,于 121 °C 高压灭菌 10 min,取出后迅速冷却,使其凝固,最终 pH 应为  $6.9 \pm 0.1$ 。

#### 7.1.3.9 采样吸收液

称取 12.0 g 酵母浸膏加纯水至 1 000 mL,121 °C 下高压灭菌 15 min,分装于灭菌后的离心管中备用。

#### 7.1.3.10 氧化酶试剂

称取 1.0 g 四甲基对苯二胺盐酸盐溶于 100 mL 纯水中,备用。

#### 7.1.3.11 酸缓冲液

##### 7.1.3.11.1 盐酸溶液 [ $c(\text{HCl}) = 0.2 \text{ mol/L}$ ]

将 17.4 mL 浓盐酸加入 1 000 mL 纯水中。

##### 7.1.3.11.2 氯化钾溶液 [ $c(\text{KCl}) = 0.2 \text{ mol/L}$ ]

将 14.9 g 氯化钾溶解于 1 000 mL 纯水中。

##### 7.1.3.11.3 酸缓冲液的配制

取 3.9 mL 盐酸溶液 [ $c(\text{HCl}) = 0.2 \text{ mol/L}$ ] 和 25 mL 氯化钾溶液 [ $c(\text{KCl}) = 0.2 \text{ mol/L}$ ],混匀后,用 1 mol/L 氢氧化钾调节,并用精密 pH 试纸或者 pH 计测量最终 pH 为  $2.2 \pm 0.2$ ,置于具塞的玻璃瓶中,该溶液在室温下避光放置不超过 1 个月。

#### 7.1.3.12 5%(水合)茛三酮溶液

将 1.75 g(水合)茛三酮,溶解于 25 mL 丙酮和 25 mL 丁醇混合液中。该溶液避光冷藏,最多不超过 7 d。

#### 7.1.3.13 嗜肺军团菌诊断血清

可选用商品化嗜肺军团菌诊断血清。

### 7.1.4 采样

7.1.4.1 采样点:应符合 A.1 的要求。

7.1.4.2 采样环境条件:应符合 4.1.4.2 的要求。

7.1.4.3 采样方法:将 20 mL 采样吸收液倒入气溶胶采样器中,按照采样器说明书操作,每个气溶胶样品采集空气量为  $2 \text{ m}^3$ 。重复使用同一气溶胶采样器采集不同点空气样本时,应避免交叉污染。

7.1.4.4 样品的保存和运输:采集的样品不应冷冻,但应避光和防止受热,4 h 内送实验室检验。

### 7.1.5 检验步骤

#### 7.1.5.1 样品的处理

样品热处理:取 1 mL 样品,置  $50 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温水浴箱中加热 30 min。

样品酸处理:取 1 mL 样品,加入 1 mL 酸缓冲液,轻轻摇匀,放置 5 min。

样品原液;样品不经过任何处理。

#### 7.1.5.2 样品的接种

取样品原液、热处理样品及酸处理样品各 0.2 mL,分别接种 GVPC 琼脂平板,用 L 型涂布棒均匀涂布。琼脂平板静置于生物安全柜中,待表面水分完全吸收后,再盖上平皿盖。

#### 7.1.5.3 样品的培养

将接种平板倒置于温度为  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{CO}_2$  浓度(体积分数)为 5%的培养箱中,培养 10 d。无  $\text{CO}_2$  培养箱可采用烛缸培养法。培养期间注意保湿(可在培养箱里放置一盆水或湿纸巾)。

#### 7.1.5.4 菌落观察

嗜肺军团菌生长缓慢,易被其他杂菌掩盖,从孵育第 2 天开始每天观察,在 GVPC 琼脂平板上 2 d 内出现的菌落均不是嗜肺军团菌,可进行标记,以免日后混淆。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;菌落边缘整齐,表面光滑,呈典型毛玻璃状,在紫外灯下,部分菌落有荧光。为了避免嗜肺军团菌的死亡,不能将平板长时间暴露在紫外灯下。

#### 7.1.5.5 菌落初筛

从 GVPC 培养基上选择第 3 天~第 10 天内生长的可疑菌落分别划线接种于 BCYE 和 BCYE-Cys 两种培养基平板上,倒置于  $\text{CO}_2$  浓度(体积分数)为 5%的二氧化碳培养箱中, $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 2 d。如果有不同类型的疑似军团菌菌落,则每种类型应至少选择 3 个疑似菌落进行培养验证。在 BCYE 上生长而在 BCYE-Cys 平板上不生长的则为军团菌菌落,记录每个平板的结果。对军团菌菌落进行生化鉴定。

#### 7.1.5.6 生化鉴定

7.1.5.6.1 细菌染色:对菌落进行革兰氏染色镜检,观察细菌形态及颜色。如果菌体呈紫色,为革兰氏阳性菌;菌体呈红色,为革兰氏阴性菌。

7.1.5.6.2 氧化酶试验:使用铂/铈接种环或玻璃棒,挑取待测菌落于滤纸上,加 1 滴氧化酶试剂。如果在 30 s 内出现紫罗兰色或深蓝色为阳性;2 min 不变色为阴性。

7.1.5.6.3 硝酸盐还原试验:将待测菌接种到硝酸盐培养基上,于  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 1 d~3 d,加入甲液和乙液各 1 滴,观察结果。立刻或数分钟内显红色为阳性,培养基颜色无变化为阴性。

7.1.5.6.4 尿素酶试验:将待检菌以较大量穿刺接种在尿素琼脂培养基上,于  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 2 h、24 h,分别观察结果。培养基变为红色为阳性,颜色不变为阴性。

7.1.5.6.5 明胶液化试验:将待测菌穿刺接种在明胶培养基内,于  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 24 h $\pm$ 2 h,取出放置于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱内 10 min~30 min 后再观察结果。仍呈溶解状或表面溶解时即为明胶液化试验阳性,凝固不溶者为阴性。

7.1.5.6.6 马尿酸水解试验:挑取待测菌落,加到盛有 0.4 mL 1%马尿酸钠的试管中制成菌悬液。混合均匀后于  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴中温育或  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养箱中培养 24 h。沿着试管壁缓缓加入 0.2 mL 茚三酮溶液,于  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴中温育或  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养箱中放置 10 min 后观察结果。15 min 内溶液出现蓝紫色变化则为阳性,溶液无颜色变化或 15 min 之后出现蓝紫色变化为阴性。试验时为了避免假阴性需用标准菌株做阳性对照。

7.1.5.6.7 生化培养结果判定:染色镜检为革兰氏阴性无芽孢杆菌,且氧化酶(-/弱+),硝酸盐还原(-),尿素酶(-),明胶液化(+)和水解马尿酸(+),即可确定为嗜肺军团菌。

7.1.5.7 血清型鉴定

先挑取经生化实验判定为嗜肺军团菌的菌株用多价血清做玻片凝集试验,同时用生理盐水做对照,在生理盐水中自凝者为粗糙型菌株,不能分型。如阳性反应,再与相应的单价血清做玻片凝集试验,作出判断。

7.1.6 检验结果

7.1.6.1 结果计算

公共场所内空气中嗜肺军团菌浓度按公式(4)分别对原液、热处理和酸处理样品接种后培养出的嗜肺军团菌的数量进行计算,取最大值作为该样品中嗜肺军团菌的最大可能数。计算得出的嗜肺军团菌的值应四舍五入到整数。

$$C = \frac{\sum_{i=1}^k a_i \frac{n_i}{N_i} \times v}{v_a \times V} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

- C —— 嗜肺军团菌浓度,单位为菌落形成单位每立方米(CFU/m<sup>3</sup>);
- a<sub>i</sub> —— GVPC 培养基上某一类型疑似嗜肺军团菌的菌落数,单位为菌落形成单位(CFU);
- n<sub>i</sub> —— 该类型确认的嗜肺军团菌菌落数,单位为菌落形成单位(CFU);
- N<sub>i</sub> —— 培养基上挑取的该类型疑似嗜肺军团菌菌落数,单位为菌落形成单位(CFU);
- v —— 采样结束后的采样液体积,单位为毫升(mL);
- v<sub>a</sub> —— 接种液的体积,单位为毫升(mL)(原液、热处理样品:v<sub>a</sub>=0.2;酸处理样品:v<sub>a</sub>=0.1);
- V —— 采集的空气体积,单位为立方米(m<sup>3</sup>);
- k —— 疑似嗜肺军团菌的类型(i=1,2,3,⋯,k)。

7.1.6.2 结果报告

定性结果报告:一个区域中任意一个采样点嗜肺军团菌阳性,即该区域空气中嗜肺军团菌的测定结果为阳性。否则报告“未检出嗜肺军团菌”。

定量结果报告:一个区域空气中嗜肺军团菌的定量检测结果按该区域全部采样点中嗜肺军团菌测定值中的最大值给出。

7.1.7 质量控制

- 7.1.7.1 培养基和试剂应符合 GB 4789.28 的质量要求。对于购买的成品培养基,应在有效期内使用。
- 7.1.7.2 在采样开始前,确保所用试剂和材料为无菌状态,操作过程和样品运输中应无菌操作,避免人为污染。
- 7.1.7.3 应设置阳性对照(嗜肺军团菌标准菌株 ATCC 33152 或其他等效标准菌株)。
- 7.1.7.4 采样器应定期在负载条件下用检定/校准合格的流量计进行校准,相对偏差不应超过 5%,或按照采样器说明书要求进行校准。在采样前应对采样系统的气密性进行检查,不应漏气。
- 7.1.7.5 实验人员个体防护和检测废弃物的处理应按照 GB 19489 执行。因嗜肺军团菌是致病菌,实验操作人员应有二级生物安全防护实验室工作的实践经验。

7.2 荧光聚合酶链(PCR)快速检测法

7.2.1 原理

针对嗜肺军团菌 *mip* 基因高度保守区域设计特异性引物和探针,在反应体系中含嗜肺军团菌基因

组模板的情况下,聚合酶链反应(PCR)得以进行并释放荧光信号。利用仪器对 PCR 过程中相应通道的信号强度进行实时监测和输出,实现检测结果的定性分析。适用于嗜肺军团菌的初筛和可疑菌落的快速鉴定。

## 7.2.2 仪器和耗材

本方法中使用的主要仪器和耗材如下:

- 荧光 PCR 仪;
- 离心机:不小于 12 000 r/min;
- 移液器:10  $\mu\text{L}$ ~100  $\mu\text{L}$ 。



## 7.2.3 引物和探针

上游引物:5'-GAAAATAAAGTAAAAGGGGAAGCC-3'。

下游引物:5'-ATCAATCAGACGACCAGTGTATTC-3'。

探针:5'-FAM-AGGCGTTGTTGTATTGCCAAGTGGTT-TAMRA-3'。

## 7.2.4 采样

应符合 7.1.4 的要求。

## 7.2.5 检验步骤

### 7.2.5.1 样品前处理

**吸收液:**吸取采样后的吸收液 1 mL 加入 1.5 mL 无菌离心管,12 000 r/min 离心 5 min 后弃上清液,保留沉淀,加入 DNA 提取液 50  $\mu\text{L}$  将沉淀悬浮后,100  $^{\circ}\text{C}$  煮沸 5 min,12 000 r/min 离心 2 min,取上清液移至另一离心管中进行 PCR 检测。

**可疑菌落:**用接种环挑取单个可疑菌落于 DNA 提取液 50  $\mu\text{L}$  中振荡混匀,100  $^{\circ}\text{C}$  水浴煮沸 5 min,12 000 r/min 离心 2 min,取上清液转移至新的离心管中进行 PCR 检测。

### 7.2.5.2 荧光 PCR 检测

**荧光 PCR 扩增体系(25  $\mu\text{L}$ ):**其中 PCR 反应体系 10  $\mu\text{L}$ ,上、下游引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )各 1.25  $\mu\text{L}$ ,探针(10  $\mu\text{mol/L}$ ) 0.625  $\mu\text{L}$ ,模板 5  $\mu\text{L}$ ,无核酸酶的去离子水补足体积至 25  $\mu\text{L}$ 。

**扩增:**50  $^{\circ}\text{C}$  尿嘧啶-N-糖基化酶(UNG 酶)处理 2 min,95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min;然后 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 s,55  $^{\circ}\text{C}$  退火延伸 60 s,检测荧光信号,进行 40 个循环。

## 7.2.6 检测结果

### 7.2.6.1 结果判定

**阳性:**样本检测结果 Ct 值 $\leq$ 36,有明显指数增长。

**可疑:**样本检测结果 Ct 值在 36~39。此时应对样本进行重复检测,如重复实验结果 Ct 值仍在 36~39,有明显指数增长,则判定为阳性,否则为阴性。

**阴性:**样本检测结果 Ct 值 $>$ 39 或无 Ct 值。

如果使用商品化 PCR 试剂盒,应按照试剂盒说明书进行操作和结果判定。

### 7.2.6.2 结果报告

一个区域中任意一个采样点嗜肺军团菌荧光 PCR 检测初筛阳性,应按 7.1.5 进行培养鉴定为活菌

后再报告结果。任意采样点培养后的可疑菌落经荧光 PCR 检测为阳性,可判断该区域嗜肺军团菌阳性。

## 7.2.7 质量控制

### 7.2.7.1 试剂盒有效性判定

阳性对照:Ct 值 $\leq 36$ ,有明显指数增长。

阴性对照:Ct 值 $> 39$  或无 Ct 值,线形为直线或轻微斜线,无明显指数增长期和平台期。

### 7.2.7.2 其他质控要求

应符合 7.1.7 的要求。



## 附录 A

### (规范性)

### 现场采样检测布点要求

#### A.1 撞击法采样布点要求

##### A.1.1 采样点数量

宾馆、饭店、旅店、招待所等住宿场所：客房室内面积 $<50\text{ m}^2$ 的设置1个测点，客房室内面积 $50\text{ m}^2\sim 200\text{ m}^2$ 的设置2个测点，客房室内面积 $>200\text{ m}^2$ 的设置3个~5个测点。

影剧院、音乐厅、录像厅(室)等场所：座位数量 $<300$ 个的营业厅/室设置1个~2个测点，座位数量 $300$ 个~ $500$ 个的营业厅/室设置2个~3个测点，座位数量 $501$ 个~ $1\ 000$ 个的营业厅/室设置3个~4个测点，座位数量 $>1\ 000$ 个的营业厅/室设置5个测点。

游艺厅、歌舞厅等场所：营业面积 $<50\text{ m}^2$ 的场所设置1个测点；营业面积 $50\text{ m}^2\sim 200\text{ m}^2$ 的场所设置2个测点；营业面积 $>200\text{ m}^2$ 的场所设置3个~5个测点。

公共浴室、游泳馆等场所：营业面积 $<50\text{ m}^2$ 的场所设置1个测点；营业面积 $50\text{ m}^2\sim 200\text{ m}^2$ 的场所设置2个测点；营业面积 $>200\text{ m}^2$ 的场所设置3个~5个测点。场所营业面积应按不同功能区(如浴室、游泳池、更衣室、休息室等)分类计算，分别采样。

美容店、理(美)发店等场所：理(美)发店营业面积 $<50\text{ m}^2$ 时，场所设置1个测点；营业面积 $50\text{ m}^2\sim 200\text{ m}^2$ 时，场所设置2个测点；营业面积 $>200\text{ m}^2$ 时，场所设置3个~5个测点。

体育场(馆)：营业面积 $<1\ 000\text{ m}^2$ 的场所设置2个测点；营业面积 $1\ 000\text{ m}^2\sim 5\ 000\text{ m}^2$ 的场所设置3个测点；营业面积 $>5\ 000\text{ m}^2$ 的场所设置5个测点。

展览馆、博物馆、图书馆、美术馆、商场(店)、书店、候车(机、船)室、餐饮等场所：营业面积 $<200\text{ m}^2$ 的场所设置1个测点，营业面积 $200\text{ m}^2\sim 1\ 000\text{ m}^2$ 的场所设置2个测点，营业面积 $>1\ 000\text{ m}^2$ 的场所设置3个测点。

其他公共场所：根据相应行业场所特点参照上述要求进行布点；其他要求参照 GB/T 18204.6 的要求。

##### A.1.2 布点方式

采样点按均匀布点原则设置，室内1个采样点的设置在房屋的中心位置，多点采样时应按对角线或梅花式均匀布点。采样点应避开通风口、通风道和热源，离墙壁距离应 $>0.5\text{ m}$ ，离门窗距离应 $>1\text{ m}$ 。如同时采集其他指标空气样品，与其他采样器距离应 $>1\text{ m}$ 。

##### A.1.3 采样高度

采样点原则上应与成人的呼吸带的高度相一致，在距离地面 $1.2\text{ m}\sim 1.5\text{ m}$ 之间。

#### A.2 自然沉降法采样布点要求

##### A.2.1 采样点数量

室内面积 $<50\text{ m}^2$ 的设置3个测点，室内面积 $\geq 50\text{ m}^2$ 的设置5个测点。

### A.2.2 布点方式

采样点按均匀布点原则设置,应按对角线或梅花式均匀布点。采样点应避开通风口、通风道和热源,离墙壁距离应 $>0.5$  m,离门窗距离应 $>1$  m,如同时采集其他指标空气样品,与其他采样器距离应 $>1$  m。

### A.2.3 采样高度

应符合 A.1.3 的要求。



参 考 文 献

- [1] GB 4789.11—2014 食品安全国家标准 食品微生物学检验  $\beta$ 型溶血性链球菌检验
  - [2] GB/T 18204.6 公共场所卫生检验方法 第6部分:卫生监测技术规范
  - [3] GB/T 40392—2021 循环冷却水中军团菌的检测
- 





