

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 10015—2024

内镜灭菌效果评价方法

Evaluation method of endoscopic sterilization effect

2024 - 10 - 11 发布

2025 - 03 - 01 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 评价内容与方法	2
5 注意事项	4

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。

本文件由国家疾病预防控制标准委员会消毒标准专业委员会提出，国家疾病预防控制局归口。

本文件起草单位：江苏省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所、南京市卫生健康委员会、上海市疾病预防控制中心、山东省疾病预防控制中心、浙江省疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：徐燕、王嵬、吴晓松、范晶晶、沈瑾、王晓蕾、周楠、朱仁义、杨彬、陆烨。

内镜灭菌效果评价方法

1 范围

本文件规定了内镜灭菌剂和/或内镜自动清洗消毒机灭菌效果的评价内容和试验方法。
本文件适用于内镜灭菌剂和/或内镜自动清洗消毒机对软式内镜灭菌时的效果评价。

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 27955 过氧化氢气体等离子体低温灭菌器卫生要求
GB/T 38497 内镜消毒效果评价方法
GB/T 38502 消毒剂实验室杀菌效果检验方法
WS/T 649 医用低温蒸汽甲醛灭菌器卫生要求
WS/T 683 消毒试验用微生物要求
YY 0503 环氧乙烷灭菌器

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

内镜 endoscope

一种具有图像传感器、光学镜头、光源照明、机械装置等，通过自然孔道或者为医疗目的而创建的
外科切口进入人体腔内的诊疗设备。

3.2

内镜灭菌剂 endoscope sterilant

可杀灭一切微生物（包括细菌芽胞）使其达到灭菌要求的用于内镜灭菌的消毒剂。

3.3

内镜自动清洗消毒机 automated washer-disinfector for endoscope

对软式内镜进行清洗和消毒/灭菌的自动化设备。

注：本标准中内镜自动清洗消毒机是可用于处理能浸在水或水溶液中的不耐热的软式内镜。某些不能浸在水中的器械部件的处理按照器械制造商的操作要求进行。

3.4

模拟内镜 simulated endoscope

模拟临床诊疗内镜的试验器材，材质为聚四氟乙烯管，用于评价内镜灭菌剂和内镜自动清洗消毒机
对内镜的灭菌效果。

注：模拟内镜为一次性使用。

3.5

特殊结构模拟内镜 special structure simulation endoscope

附加了止血钳齿段（将医用止血钳截断，取其由轴至齿端部分）的模拟内镜。

注：用于模拟十二指肠镜等特殊结构的内镜。

4 评价内容与方法

4.1 评价内容与要求

4.1.1 内镜灭菌剂

内镜灭菌剂应做实验室试验和模拟现场试验（浸泡灭菌程序）。

4.1.2 内镜自动清洗消毒机

自产灭菌因子的内镜自动清洗消毒机，应做实验室试验和模拟现场试验（机械自动清洗灭菌程序）。

外带灭菌剂的内镜自动清洗消毒机，灭菌剂应符合我国消毒产品管理相关规定并完成备案。按照灭菌剂量进行模拟现场试验（机械自动清洗灭菌程序）。

4.2 试验方法

4.2.1 实验室试验

4.2.1.1 试验器材

- a) 试验菌株：枯草杆菌黑色变种芽胞 ATCC 9372，符合 WS/T 683 中 3.5.1 的要求。
- b) 中和剂肉汤、培养基、恒温培养箱、II级生物安全柜、胰蛋白胨大豆肉汤培养基（TSB）等。
- c) 载体：聚四氟乙烯管（外径 6 mm，内径 4 mm，长度 30 mm）经脱脂处理压力蒸汽灭菌后备用，符合 GB/T 38497 中 6.2.1.4 的要求。聚四氟乙烯管载体一次性使用。

4.2.1.2 中和剂鉴定试验

按照 GB/T 38502 规定进行。

4.2.1.3 灭菌试验

按照 GB/T 38502 载体浸泡定性灭菌试验规定进行。

4.2.2 模拟现场试验

4.2.2.1 试验器材

- a) 试验菌株：枯草杆菌黑色变种芽胞 ATCC 9372，符合 WS/T 683 中 3.5.1 的要求。
- b) 中和剂肉汤、培养基、恒温培养箱、II级生物安全柜、胰蛋白胨大豆肉汤培养基（TSB）等。
- c) 模拟内镜：聚四氟乙烯管（外径 10 mm，内径 6 mm，总长度 2000 mm）分别在 50 mm、1000 mm、1950 mm 处剪断，共分为 4 截，符合 GB/T 38497 中 6.2.1.3 的要求。其内壁能与载体外壁紧密相套连接。十二指肠镜等有特殊结构的内镜，需在模拟内镜 2000 mm 端处固定止血钳齿段。模拟内镜为一次性使用。
- d) 载体：聚四氟乙烯管（外径 6 mm，内径 4 mm，长度 30 mm）及止血钳齿段，经脱脂处理压力蒸汽灭菌后备用。聚四氟乙烯管载体一次性使用。

4.2.2.2 实验步骤

4.2.2.2.1 染菌载体的制备

取 0.02 mL 芽胞液滴染于聚四氟乙烯管载体内壁，涂抹均匀，置 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱或室温干燥备用。取 0.02 mL 芽胞液滴染于止血钳齿段，涂抹均匀，置 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱或室温干燥备用。

4.2.2.2.2 染菌模拟内镜的制备

将染菌聚四氟乙烯管分别连接在模拟内镜 50 mm、1000 mm、1950 mm 处，连接处用封口膜密封。特殊结构模拟内镜需在试验前将染菌止血钳齿段固定在模拟内镜 2000 mm 的末端上再进行试验。

4.2.2.2.3 模拟灭菌程序

a) 浸泡灭菌程序

将染菌模拟内镜完全浸没在灭菌剂中，染菌模拟内镜一端与蠕动泵连接，以0.1 L/min~0.2 L/min的流速，按灭菌剂使用说明书规定0.5倍最短作用时间、最低作用浓度、最低温度进行流动浸泡灭菌。

b) 机械自动清洗灭菌程序

将染菌模拟内镜装入内镜自动清洗消毒机内规定的位置，按使用说明书规定0.5倍最短作用时间、最低作用浓度、最低温度进行模拟内镜自动清洗灭菌。

4.2.2.2.4 定性试验

a) 模拟内镜

模拟灭菌程序结束后，无菌操作法将模拟内镜中的染菌聚四氟乙烯管取出，分别置于含有10.0 mL相应中和剂肉汤的试管内，振荡1 min或在手掌上振敲200次，置36℃±1℃培养箱中定性培养7 d，观察最终结果，作为实验组。

以标准硬水代替灭菌剂，将2个染菌聚四氟乙烯管放入20.0 mL标准硬水中，作用至设定时间，然后与试验组载体同法接种、培养、观察结果，作为阳性对照组。

另取2个染菌聚四氟乙烯管，分别置于含有10.0 mL中和剂肉汤的试管内。振荡1 min或在手掌上振敲200次，用稀释液做10倍系列稀释，选适宜稀释度的悬液，分别吸取1.0 mL接种平皿，每份样本接种两个平皿进行活菌培养计数。培养72 h计数菌落数，作为阳性对照组，其菌量应为 1×10^6 CFU/样本~ 5×10^6 CFU/样本。

试验结束后，将用过的同批次中和剂、采样液和稀释液接种培养基，进行培养，另将未用过的同批次培养基亦放入恒温箱内培养，作为阴性对照。

试验重复5次。

b) 特殊结构模拟内镜

用于评价十二指肠镜的灭菌效果时，模拟灭菌程序结束后，无菌操作法将特殊结构模拟内镜上染菌止血钳齿段取出，置于含有10.0 mL中和剂肉汤的试管内，振荡1 min或在手掌上振敲200次，置37℃培养箱中定性培养7 d，观察最终结果，作为实验组。

以标准硬水代替灭菌剂，将2个染菌止血钳放入20.0 mL标准硬水中，作用至设定时间，然后与试验组载体同法接种、培养、观察结果，作为阳性对照组。

另取2个染菌止血钳齿段，分别置于含有10.0 mL中和剂肉汤的试管内。振荡1 min或在手掌上振敲200次，用稀释液做10倍系列稀释，选适宜稀释度的悬液，分别吸取1.0 mL接种平皿，每份样本接种两个平皿进行活菌培养计数。培养72 h计数菌落数，作为阳性对照组，其菌量应为 1×10^6 CFU/样本~ 5×10^6 CFU/样本。

试验结束后，将用过的同批次中和剂、采样液和稀释液接种培养基，进行培养，另将未用过的同批次培养基亦放入恒温箱内培养，作为阴性对照。

特殊结构模拟内镜中的染菌聚四氟乙烯管的处理步骤同4.2.2.2.4 a)。

试验重复5次。

4.3 结果评判

4.3.1 实验室试验

按说明书中灭菌时间的0.5倍作用时间、最低作用浓度进行灭菌试验，阳性对照组均有菌生长且菌数符合要求，阴性对照组均无菌生长，5次试验均无菌生长，判为灭菌合格。有菌生长者，肉汤培养基呈轻度浑浊，有皱褶状菌膜，轻轻振摇可见絮状沉淀，无菌生长者肉汤清澈透明。

4.3.2 模拟现场试验

按说明书中灭菌时间的0.5倍作用时间、最低作用浓度、最低温度下进行模拟内镜灭菌试验，阳性对照组均有菌生长且菌数符合要求，阴性对照组均无菌生长，5次试验均无菌生长，判为灭菌合格。有菌生长者，肉汤培养基呈轻度浑浊，有皱褶状菌膜，轻轻振摇可见絮状沉淀，无菌生长者肉汤清澈透明。

5 注意事项

- 5.1 医用低温蒸汽甲醛灭菌器按 WS/T 649 中附录 B 的要求进行测定。
 - 5.2 过氧化氢气体等离子体低温灭菌器按 GB 27955 中附录 A 进行测定。
 - 5.3 环氧乙烷灭菌器按 YY 0503 要求进行测定。
 - 5.4 上述模拟内镜的尺寸无法代表所灭菌的细长管腔内镜时，可根据内镜实际尺寸，选用更细的模拟内镜进行试验。
 - 5.5 内镜灭菌剂不能重复使用。
-