



中华人民共和国国家标准

GB/T 31713—2015

抗菌纺织品安全性卫生要求

Hygienic requirement for safety of antibacterial textiles

2015-06-02 发布

2016-01-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前　　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会提出并归口。

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。

本标准参加起草单位：武汉市疾病预防控制中心、中国航天员科研训练中心、武汉纺织大学、解放军总后勤部军需装备研究所、武警后勤装备研究所、解放军总医院第一附属医院、解放军总后军代局质检处、广东省微生物研究所。

本标准主要起草人：金银龙、王俊起、郑华英、邹海清、熊德鑫、白树民、李毅民、应波、王友斌、潘力军、蔡诗文、张流波、易长海、张建春、黄纪明、满向东、刘俊卿、陈仪本、胡权、欧阳友生、刘宝钢、治洪、王芳、刘天纵、陈光。

抗菌纺织品安全性卫生要求

1 范围

本标准规定了抗菌纺织品安全性的卫生要求。

本标准适用于经抗菌剂添加改性或后整理制成的各类抗菌纺织产品。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 7919 化妆品安全性评价程序和方法

GB 18401 国家纺织产品基本安全技术规范

GB/T 18885 生态纺织品技术要求

GB/T 20944(所有部分) 纺织品 抗菌性能的评价

FZ/T 73023—2006 抗菌针织品

消毒技术规范 卫生部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抗菌纺织品 antibacterial textiles

添加抗菌剂改性或后整理制成的各类抗菌纺织产品。

3.2

抗菌纺织品安全性 safety of antibacterial textiles

人们穿着或使用的抗菌纺织用品,不得有损害人体健康的副作用。

3.3

皮肤正常菌群 normal flora of skin

长期栖居在人体皮肤上的正常菌群与人相互依存,构成了相对恒定的皮肤微生态体系,以其菌群优势对沾染在皮肤上的致病微生物起到自净拮抗作用。

3.4

抗菌物质溶出性 solubility of antibacterial agent

依据抗菌纺织品中溶出的抗菌物质对革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌和真菌3种标准菌株的最大抑菌圈宽度大小,将抗菌纺织品分为非溶出性、微溶出性、中度溶出性和高溶出性。

4 安全性卫生要求

4.1 抗菌纺织品使用的抗菌剂应经卫生安全性评价;用于抗菌纺织品添加改性或后整理的抗菌剂,安全性应符合《消毒技术规范》的要求。

4.2 抗菌纺织品应首先满足卫生安全性要求;其功能性和其他基本要求应符合 GB 18401、GB/T 18885、GB/T 20944 和 FZ/T 73023 的规定。

4.3 抗菌纺织品的抗菌物质应为非溶出性或微溶出性。经抗菌物质溶出性检测,其抑菌圈宽度(D)应 $\leqslant 5\text{ mm}$ 。

4.4 抗菌纺织品对人体健康不应产生损害作用,对人体皮肤无刺激性和致敏作用。动物皮肤刺激试验结果应为无刺激性,动物皮肤变态反应试验结果应为阴性。

4.5 抗菌纺织品对黏膜不应产生刺激性。阴道黏膜刺激性试验结果应为无刺激性。

4.6 抗菌纺织品应无致畸、致突变、致癌作用物质释放,遗传毒性试验(至少应包括 1 项基因突变试验和 1 项染色体畸变试验)检测结果应为阴性。

4.7 与人体皮肤直接接触的抗菌纺织品,对人体皮肤正常菌群不应产生影响作用。特殊行业需要贴身穿着抗菌纺织品连续 3 个月或以上时,需经皮肤正常菌群影响检测。经 30 例志愿人群连续试验穿着 72 h 后,试验组与对照组的皮肤正常菌群各菌种检测结果的平均值不应有显著性差异(统计学检验 $P > 0.05$)。

4.8 不应使用抗菌纺织品制作 3 周岁以内婴幼儿的用品。

4.9 由抗菌纺织品制作的妇女贴身用品应有忌用标志:

- a) 内裤——孕妇忌用;
- b) 内衣、文胸——哺乳期妇女忌用。

4.10 抗菌纺织品产品的标签应注明采用抗菌剂的名称、生产企业、产地、批号、忌用范围等内容。

5 检测指标与方法

5.1 抗菌物质溶出性

5.1.1 抗菌纺织品的抗菌物质溶出性,应按附录 A 检测。

5.1.2 抗菌物质溶出性的判定,依据抗菌物质对革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌和真菌 3 种标准菌株的最大抑菌圈宽度(D)大小判定,见表 1。

表 1 抗菌物质溶出性结果的判定

| 抑菌圈宽度 D mm | 抗菌物质溶出性 |
|------------------------|---------|
| $\leqslant 1$ | 非溶出性 |
| $>1 \sim \leqslant 5$ | 微溶出性 |
| $>5 \sim \leqslant 10$ | 中度溶出性 |
| >10 | 高溶出性 |

5.2 毒理学指标

5.2.1 抗菌纺织品应经过动物急性皮肤(1 次与多次)刺激试验、皮肤变态反应试验检测。检测方法参照 GB 7919 执行。

5.2.2 对于可能与黏膜接触的抗菌纺织品,应进行阴道黏膜刺激试验。检测方法参照《消毒技术规范》执行。

5.2.3 应用不同抗菌剂或应用同种抗菌剂而生产工艺流程不同的抗菌纺织品,应进行遗传毒理学检测,其检测内容应包括 1 项基因突变试验和 1 项染色体畸变试验,若其中 1 项试验结果阳性,则应补充

相应试验证实其安全可靠。检测方法参照 GB 7919 执行。

5.2.4 抗菌纺织品在安全性检测之前,需经标准洗涤 1 次后进行。标准洗涤方法参照 FZ/T 73023—2006 的附录 C 执行。

5.3 皮肤菌群

5.3.1 皮肤正常菌群的检测指标菌:丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、在厌氧条件下可生长的葡萄球菌。

5.3.2 检测方法参照附录 B、附录 C、附录 D(包括在厌氧条件下可生长的葡萄球菌)执行。

附录 A
(规范性附录)
抗菌物质的溶出性测试方法

A.1 设备和材料

A.1.1 试样准备

A.1.1.1 试样均应按 FZ/T 73023—2006 附录 B、附录 C 要求进行一次洗涤后测试。

A.1.1.2 分别取已洗涤一次的标准空白试样、抗菌纺织品试样的不同部位 $1.5\text{ cm} \times 1.5\text{ cm}$ 的试样各 3 块, 在 103 kPa 、 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min , 备用。标准空白试样按 FZ/T 73023—2006 附录 A 标准空白样执行。

A.1.1.3 试验菌株:革兰氏阳性菌:金黄色葡萄球菌(ATCC 6538);革兰氏阴性菌:大肠杆菌(8099 或 ATCC 25922)或肺炎杆菌(ATCC 4352)任选一种;真菌:白色念珠菌(ATCC 10231)。

A.1.2 菌液制备

A.1.2.1 细菌菌液:无菌操作条件下,用接种环从 3~10 代的菌种试管斜面上取菌,营养琼脂培养基上划线, $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $20\text{ h} \sim 24\text{ h}$ 。用接种环挑取典型菌落,接种到 10 mL 营养肉汤管中, $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 130 r/min 、振荡培养 $18\text{ h} \sim 20\text{ h}$, 制成菌悬液。测定活菌数应达到 $1 \times 10^8\text{ CFU/mL} \sim 5 \times 10^9\text{ CFU/mL}$ 。菌液应即时制备,不宜在冰箱内保存。

A.1.2.2 真菌菌液:无菌操作条件下,用接种环从 3~10 代的菌种保存管中取菌,转种另一支沙氏琼脂培养基试管斜面, $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $18\text{ h} \sim 24\text{ h}$ 。向新鲜培养物加 5 mL 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液,洗下菌苔,用吸管将菌液移至另一只无菌试管中,振摇 80 次,使其均匀,测定活菌数应达到 $1 \times 10^8\text{ CFU/mL} \sim 5 \times 10^8\text{ CFU/mL}$ 。

A.1.2.3 将 A.1.3.1 制备的细菌菌液(或 A.1.3.2 真菌菌液),用 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液 10 倍梯度稀释至 $10^5\text{ CFU/mL} \sim 10^6\text{ CFU/mL}$ 备用。

A.1.3 培养基制备

A.1.3.1 营养琼脂

A.1.3.1.1 成分:

- a) 蛋白胨: 10.0 g ;
- b) 氯化钠: 5.0 g ;
- c) 牛肉浸出粉: 3.0 g ;
- d) 酵母膏粉: 3.0 g ;
- e) 琼脂: 15.0 g ;
- f) 蒸馏水: $1\,000\text{ mL}$ 。

A.1.3.1.2 制法:将 A.1.3.1.1 中 a)~e) 各成分溶于 $1\,000\text{ mL}$ 蒸馏水中,调整 pH 为 7.2 ± 0.2 , $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min 。

A.1.3.1.3 制皿:冷却至约 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 营养琼脂培养基,灭菌平皿中倾入 $15\text{ mL} \sim 18\text{ mL}$,凝固翻转,培养箱无菌试验检测后备用。

A.1.3.2 沙氏琼脂

A.1.3.2.1 成分:

- a) 蛋白胨:10.0 g;
- b) 葡萄糖:40.0 g;
- c) 琼脂:20.0 g;
- d) 蒸馏水:1 000 mL。

A.1.3.2.2 制法:将 A.1.3.2.1 中 a)~c)各成分溶于 1 000 mL 蒸馏水中,调整 pH 5.6±0.2,116 ℃灭菌 20 min。

A.1.3.2.3 制皿:冷却至约 50 ℃沙氏琼脂培养基,灭菌平皿中倾入 15 mL~18 mL,凝固翻转,培养箱无菌试验检测后备用。

A.2 操作步骤

A.2.1 接种菌液

取 0.1 mL 待接种菌液,均匀平铺在平皿培养基表面,置室温 5 min。

A.2.2 贴试样

取备用试样平贴在含菌液的培养基上,用无菌镊子轻压样片,使其紧贴于培养基表面。每个平皿贴 1 块标准空白试样及 1 块抗菌织物试样。各样片边缘相距 1.5 cm 以上,距平皿边缘 1 cm,每次试验应作 3 个平行样。

A.2.3 培养

倒置平皿,放入培养箱中,金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 37 ℃±1 ℃培养 24 h±2 h,白色念珠菌 37 ℃±1 ℃培养 48 h±2 h。

A.3 报告

A.3.1 结果有效性判定

对照的标准空白试样,抑菌圈宽度 $D=0$,试样与培养基接触部分有菌生长,判定试验有效,否则判定试验无效,需重作试验。

A.3.2 测量

用游标卡尺测量抑菌圈外沿总宽度,取其平均值报告抑菌圈宽度。

A.3.3 报告

抑菌圈宽度 D : $D\leqslant 1$ mm 为非溶出性, $1 \text{ mm} < D \leqslant 5$ mm 为微溶出性, $5 \text{ mm} < D \leqslant 10$ mm 为中度溶出性, $D > 10$ mm 为溶出性。

附录 B
(规范性附录)
皮肤正常菌群检测采样方法

B.1 采样部位

腹股沟双侧,每侧 5 cm²,两侧共 10 cm²。

B.2 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液

B.2.1 成分

| | |
|--|----------|
| 无水磷酸氢二钠(Na ₂ HPO ₄) | 2.83 g |
| 磷酸二氢钾(KH ₂ PO ₄) | 1.36 g |
| 吐温-80(Tween 80) | 0.3 mL |
| L-半胱氨酸 | 0.4 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

B.2.2 制法

将各成分加到蒸馏水中,加热煮沸至完全溶解,无需调节 pH。分别取 10 mL 分装于玻璃试管中,121 °C 灭菌 15 min 备用。

B.3 采样方法

将无菌棉拭子在 10 mL 含 0.03% 吐温-80 的胱氨酸磷酸缓冲液试管内浸湿。采样者用左手大拇指和中指或食指绷紧采样部位使其毛囊暴露,右手持浸湿吐温-80 磷酸盐缓冲液的无菌棉拭子在毛囊暴露处皮肤稍用力向内顺时针转动棉签涂抹 20 次,采样部位应无剩余吐温-80 磷酸盐缓冲液,迅速将棉拭子送入试管内,折断杆柄并丢弃手持部分,棉拭子完全浸入该 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液管中。两侧采样方法相同,两只棉拭子放入同一试管中。

B.4 运输与保存要求

采集的样品应在 4 °C 保存,并在 2 h 内送试验室检测。

附录 C
(规范性附录)
表皮葡萄球菌检测方法

C.1 设备和材料**C.1.1 设备及耗材**

恒温培养箱($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)、冰箱($2^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$)、恒温水浴箱($37^{\circ}\text{C} \sim 65^{\circ}\text{C}$)、天平(感量 0.1 g)、均质器、振荡器、吸管(1 mL 与 10 mL)或可调微量移液器、吸头、培养皿(直径 90 mm)、接种环或涂布棒、pH计或精密pH试纸。

C.1.2 培养基和试剂**C.1.2.1 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液**

同B.2。

C.1.2.2 血琼脂平板**C.1.2.2.1 成分**

| | |
|-----|---------------|
| 蛋白胨 | 10.0 g |
| 牛肉膏 | 3.0 g |
| 氯化钠 | 5.0 g |
| 琼脂 | 15.0 g~20.0 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |
| pH | 7.2~7.4 |

C.1.2.2.2 制法

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入15%氢氧化钠溶液约 2 mL 调节pH至 $7.2 \sim 7.4$ 。加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化, 121°C 高压灭菌 15 min 。用时加热溶化琼脂,冷至 50°C ,每 100 mL 加入脱纤维羊血 $8\text{ mL} \sim 10\text{ mL}$ 摇匀后倾注平板。使用前在冰箱 4°C 储存。

C.1.2.3 Baird-Parker 琼脂平板**C.1.2.3.1 成分**

| | |
|--|---------------|
| 胰蛋白胨 | 10.0 g |
| 牛肉膏 | 5.0 g |
| 酵母膏 | 1.0 g |
| 丙酮酸钠 | 10.0 g |
| 甘氨酸 | 12.0 g |
| 六水合氯化锂($\text{LiCl} \cdot 6\text{ H}_2\text{O}$) | 5.0 g |
| 琼脂 | 20.0 g |
| 蒸馏水 | 950 mL |
| pH | 7.0 ± 0.2 |

C.1.2.3.2 卵黄亚碲酸钾增菌剂的配法

30%卵黄盐水 50 mL 与经过除菌过滤的 1% 亚碲酸钾溶液 10 mL 混合,保存于冰箱内。

C.1.2.3.3 制法

将各成分加到蒸馏水中,加热煮沸至完全溶解,冷却至 25 ℃,调节 pH。分装每瓶 95 mL,121 ℃高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50 ℃,每 95 mL 加入预热至 50 ℃的卵黄亚碲酸钾增菌剂 5 mL 摆匀后倾注平板。培养基应是致密不透明的。使用前在冰箱储存,储存时间不得超过 48 h。

C.1.2.4 革兰氏染色液

C.1.2.4.1 结晶紫染色液

C.1.2.4.1.1 成分

| | |
|----------|---------|
| 结晶紫 | 1.0 g |
| 95%乙醇 | 20.0 mL |
| 1%草酸铵水溶液 | 80.0 mL |

C.1.2.4.1.2 制法

将结晶紫完全溶解于乙醇中,然后与草酸铵溶液混合。

C.1.2.4.2 革兰氏碘液

C.1.2.4.2.1 成分

| | |
|-----|--------|
| 碘 | 1.0 g |
| 碘化钾 | 2.0 g |
| 蒸馏水 | 300 mL |

C.1.2.4.2.2 制法

将碘化钾先行混合,加入蒸馏水少许,待完全溶解后,再加碘充分振摇,补充蒸馏水至 300 mL。

C.1.2.4.3 沙黄复染液

C.1.2.4.3.1 成分

| | |
|-------|---------|
| 沙黄 | 0.25 g |
| 95%乙醇 | 10.0 mL |
| 蒸馏水 | 90.0 mL |

C.1.2.4.3.2 制法

将沙黄溶解于乙醇中,然后用蒸馏水稀释。

C.1.2.4.4 染色法

染色法试验步骤为:

- a) 涂片在火焰上固定,滴加结晶紫染液,染 1 min,水洗;
- b) 滴加革兰氏碘液,作用 1 min,水洗;

- c) 滴加 95% 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;
- d) 滴加复染液, 复染 1 min, 水洗、待干、镜检。

C.1.2.5 无菌生理盐水

C.1.2.5.1 成分

| | |
|-----|----------|
| 氯化钠 | 8.5 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

C.1.2.5.2 制法

称取 8.5 g 氯化钠溶于 1 000 mL 蒸馏水中, 121 °C 高压灭菌 15 min。

C.2 检验程序

检验程序见图 C.1。



图 C.1 检验程序

C.3 操作步骤

C.3.1 稀释

C.3.1.1 将装有采样拭子的 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液试管置 2 800 r/min~3 000 r/min 振荡器上震荡 1 min。

C.3.1.2 吸取 1 mL 样品置盛有 9 mL 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液无菌试管中, 充分混匀, 制成 1:10 的稀释液, 吸取 1:10 样品匀液 1 mL, 沿管壁缓慢注于另一盛有 9 mL 0.03% 吐温-80 半胱氨

酸磷酸盐缓冲液的试管中,制成 $1:100$ 的样品匀液。

C.3.2 接种

接种选择 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 3个稀释度的样液,分别各吸取 0.1 mL 样液滴入血平板、Baird-Parker平板,用灭菌L型、三角形玻棒,涂布整个平板,静置 10 min 。

C.3.3 培养

$37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养,血平板培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$,Baird-Parker平板培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。

C.3.4 菌落计数

血平板上计数直径 $2\text{ mm}\sim 3\text{ mm}$ 、圆形、光滑凸起、湿润、白色,周围可见溶血圈的菌落; Baird-Parker平板菌落直径为 $2\text{ mm}\sim 3\text{ mm}$ 、呈灰色到黑色、边缘较淡、周围有一混浊带、外层有一透明圈的菌落。

C.3.5 菌落计数

菌落形态、革兰染色与镜检的菌体形态、生化反应结果符合,计数平板上的菌落数。

C.4 报告

C.4.1 按计数结果计算不同试验组、不同穿着时间, 1 cm^2 表皮样品中检出的丙酸杆菌数量,按式(C.1)计算:

$$x = \frac{N \times n}{A} \quad \dots\dots\dots\dots \text{(C.1)}$$

式中:

x —— 1 cm^2 表皮样品中检出的丙酸杆菌数量,单位为菌落总数每平方厘米(CFU/cm 2);

N ——菌落数;

n ——稀释倍数;

A ——采样面积,单位为平方厘米(cm 2)。

C.4.2 30名抗菌纺织品受试者穿着 72 h 后,检出的表皮葡萄球菌数量与30名穿着未经抗菌处理的对照组,表皮葡萄球菌检出数量相比较,穿着者直接接触部位皮肤正常菌群平均数值与未经抗菌处理的对照组是否有统计学显著性差异。

C.4.3 检测穿着者直接接触部位皮肤表皮葡萄球菌的平均值均与未经抗菌处理的对照组表皮葡萄球菌的平均值在实验统计学上无有显著性差异为合格。

附录 D
(规范性附录)
丙酸杆菌检测方法
(包括在厌氧条件下可生长的葡萄球菌检测)

D.1 设备和材料

D.1.1 设备及耗材

恒温培养箱($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)，冰箱($2^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$)，恒温水浴箱($37^{\circ}\text{C} \sim 65^{\circ}\text{C}$)，智能厌氧系统与厌氧培养室(恒温 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，气体：二氧化碳5%、氢气5%、氮气90%)，天平(感量0.1 g)，振荡器，无菌吸管(1 mL与10 mL)或微量移液器，吸头，接种环或涂布棒，锥形瓶(容量100 mL、500 mL)，培养皿(直径90 mm)，pH计或精密pH试纸、全自动微生物分析系统，厌氧菌鉴定卡。

D.1.2 培养基和试剂

D.1.2.1 0.03%吐温-80半胱氨酸磷酸盐缓冲液

同B.2。

D.1.2.2 厌氧琼脂平皿

D.1.2.2.1 成分

| | |
|-----------------------------------|----------|
| 蛋白胨 | 15.0 g |
| 酵母粉 | 5.0 g |
| 大豆胨 | 5.0 g |
| 牛肉粉 | 5.0 g |
| 葡萄糖 | 5.0 g |
| 氯化钠 | 3.0 g |
| 可溶性淀粉 | 0.5 g |
| L-半胱氨酸 | 2.5 g |
| 磷酸二氢钾(KH_2PO_4) | 0.005 g |
| 维生素K ₁ | 0.001 g |
| 琼脂 | 1.5 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |
| pH | 6.8~7.0 |

D.1.2.2.2 制法

将各成分加到蒸馏水中，加热煮沸至完全溶解，调节pH。分装锥形瓶，115 °C高压灭菌15 min。临用时加热溶化琼脂，冷至50 °C，每100 mL加入无菌脱纤维羊血8 mL~10 mL，多粘菌素B(25万单位/支)25 μL，0.5%甲硝唑(灭滴灵)80 μL摇匀后倾注平板。使用前在冰箱储存。

D.1.2.3 营养琼脂平皿

D.1.2.3.1 成分

| | |
|-----|------|
| 蛋白胨 | 12 g |
|-----|------|

| | |
|------|----------|
| 氯化钠 | 5 g |
| 牛肉膏粉 | 3 g |
| 酵母膏粉 | 3 g |
| 琼脂 | 12 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |
| pH | 7.2±0.2 |

D.1.2.3.2 制法

取 D.1.2.3.1 成分加入蒸馏水中, 溶解后煮沸, 调节 pH 为 7.2 ± 0.2 。121 ℃ 灭菌 15 min。

D.1.2.4 革兰氏染色液

同 C.1.2.4。

D.2 检验程序

检验程序见图 D.1。

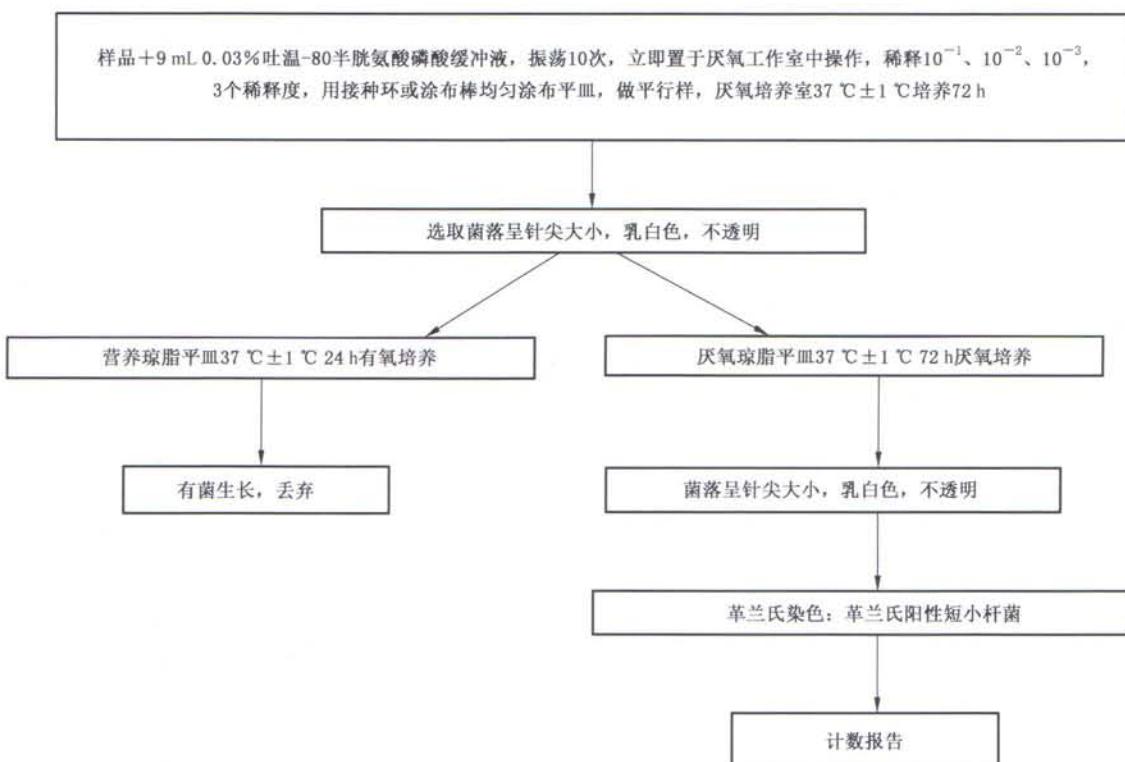


图 D.1 检验程序

D.3 操作步骤

D.3.1 稀释

D.3.1.1 将装有采样拭子的 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液试管置 2 800 r/min~3 000 r/min

振荡器上震荡 30 s。

D.3.1.2 立即置厌氧条件下,吸取 1 mL 样品置盛有 9 mL 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液无菌试管中,混匀,制成 1:10 的稀释液,吸取 1:10 样品匀液 1 mL,沿管壁缓慢注入另一盛有 9 mL 0.03% 吐温-80 半胱氨酸磷酸盐缓冲液的试管中,制成 1:100 的样品匀液。

D.3.2 接种

接种选择 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 3 个稀释度的样液,分别各吸取 0.1 mL 样液滴入厌氧琼脂平皿,用灭菌 L 型、三角形玻棒,涂布整个平板,做平行样,静置 10 min。

D.3.3 分离培养

D.3.3.1 置厌氧培养室培养 72 h,如无厌氧培养室,也可用智能厌氧系统。

D.3.3.2 丙酸杆菌培养 72 h,在厌氧琼脂平皿上形成直径约为 0.5 mm,颜色呈乳白色,不透明突起,较湿润、用接种针容易挑起的可疑菌落。将菌落分别接种营养琼斯平皿和厌氧琼脂平皿,进行耐氧试验。营养琼脂平皿,置普通温箱 37 ℃±1 ℃ 进行培养 24 h,如有菌生长弃去;如无菌生长,则继续观察厌氧培养琼脂平皿菌落生长情况。

D.3.3.3 厌氧琼脂平皿置厌氧培养室 37 ℃±1 ℃ 培养 72 h,如仍有 D.3.2.2 描述菌落生长,挑取上述菌落进行革兰氏染色镜检及生化鉴定试验。

D.3.3.4 染色镜检:丙酸杆菌为革兰氏阳性短杆菌,排列呈多形态,X、Y、V 状,无芽孢、荚膜。

D.3.3.5 在厌氧琼脂平皿上,在厌氧条件下可生长的葡萄球菌菌落为 0.5 mm~1.0 mm、颜色呈白色、乳白色、透明、不透明突起或扁平、较湿润的可疑菌落。染色镜检该菌菌体为革兰氏阳性球菌,多个菌体可呈堆状排列。

D.4 菌落计数

菌体形态、革兰染色与镜检的菌体形态符合,计数平板上的菌落数。丙酸杆菌与在厌氧条件下可生长的葡萄球菌应分别计数。

D.5 报告

D.5.1 按计数结果计算不同试验组、不同穿着时间,1 cm² 表皮样品中检出的丙酸杆菌数量计算见式(C.1)。

D.5.2 30 名抗菌纺织品受试者穿着 72 h 后,检出的丙酸杆菌数量与 30 名穿着未经抗菌处理的对照组,丙酸杆菌检出数量相比较,穿着者直接接触部位皮肤正常菌群平均数值与未经抗菌处理的对照组是否有显著性差异。

D.5.3 按 D.5.2 的要求比较在厌氧条件下可生长的葡萄球菌试验组与对照组是否存在统计学显著性差异。

D.5.4 检测穿着者直接接触部位皮肤丙酸杆菌、在厌氧条件下可生长的葡萄球菌的平均值均与未经抗菌处理的对照组丙酸杆菌、在厌氧条件下可生长的葡萄球菌的平均值在实验统计学上无有显著性差异为合格。