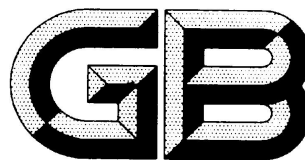


ICS 11.080

CCS C 50



中华人民共和国国家标准

GB 15979—20XX

代替 GB 15979—2002

一次性使用卫生用品卫生要求

Hygienic requirements for disposable sanitary products

(征求意见稿)

20XX – XX – XX 发布

20XX – XX – XX 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.....	I
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原材料卫生要求.....	2
5 生产过程卫生要求.....	3
6 产品卫生要求.....	3
7 检测方法.....	5
8 包装、运输和贮存.....	6
9 标识.....	6
附录 A （规范性附录） 生产环境卫生要求检测方法.....	8
附录 B （规范性附录） 消毒效果检测评价方法.....	10
附录 C （规范性附录） 产品环氧乙烷残留量检测方法.....	11
附录 D （规范性附录） 产品杀菌性能、抑菌性能与稳定性检测方法.....	14
附录 E （规范性附录） 产品毒理学试验方法.....	29
附录 F （规范性附录） 产品微生物检测方法.....	31

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。

本文件代替 GB 15979-2002《一次性使用卫生用品卫生标准》，与GB 15979-2002相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 文件名称更改为《一次性使用卫生用品卫生要求》；
- b) 在范围中修改了适用范围，增加了不适用情况（见第1章）；
- c) 增加了在本文件中引用到的规范性文件（见第2章）；
- d) 对一次性使用卫生用品定义进行了调整（见3.1），并增加了卫生湿巾、生产车间和高吸水材料的定义（见3.2、3.3、3.4）；
- e) 在原材料卫生要求中增加了禁用物质（见4.3）和生产用水要求（见4.4）；
- f) 将生产环境卫生指标（见2002年版的第5章）、消毒效果生物监测评价（见2002年版的第6章）与产品卫生指标中初始污染菌（见2002年版的4.3）合并调整为生产过程卫生要求（见第5章），删除生产环境与过程卫生要求以及消毒过程要求（见2002年版的第9、10章）；
- g) 在产品卫生要求中增加了理化指标（见6.2）；毒理学试验项目和毒理学指标要求（见2002年版的附录A）从附录调整到正文（见6.3）；调整了卫生栓（内置棉条）、抗菌剂及抑菌剂的微生物学指标（见6.4，2002年版的4.3）；
- h) 在检测方法中增加了相关产品理化指标的检测方法（见7.2）；
- i) 附录A“生产环境卫生要求检测方法”中增加了空气采样器法（见A.1.1）；对附录C“产品环氧乙烷残留量检测方法”进行了更新、优化（见附录C）；附录D“产品杀菌性能、抑菌性能与稳定性检测方法”中调整了样品采集数量（见D.1，2002年版的C1），增加了部分抗（抑）菌试验方法（见附录D，2002年版的附录C），调整了杀菌和抑菌作用时间（见附录D，2002年版的附录C）；附录E“产品毒理学试验方法”中增加了眼刺激试验样品处理方法（见E.2.2）；附录F“产品微生物检测方法”中调整了真菌检测方法（见F.8、F.9，2002年版的B7、B8）；删除了附录G“培养基与试剂制备”（见2002年版的附录G）。

本文件由中华人民共和国国家卫生健康委员会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件及所代替文件的历次版本发布情况为：

——1996年首次发布为GB 15979-1995，2002年第一次修订；

——本次为第二次修订。

一次性使用卫生用品卫生要求

1 范围

本文件规定了一次性使用卫生用品的原材料卫生要求、生产过程卫生要求、产品卫生要求、检测方法、包装、运输和贮存以及标识要求。

本文件适用于在中国境内销售和使用的**一次性使用卫生用品**。

本文件不适用于用于物体表面的卫生湿巾。

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/T 191 包装储运图示标志
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB/T 8939 卫生巾（护垫）
- GB 15981-1995 消毒与灭菌效果的评价方法与标准
- GB/T 26367 胍类消毒剂卫生标准
- GB/T 26369 季铵盐类消毒剂卫生标准
- GB/T 27741 纸和纸板 可迁移性荧光增白剂的测定
- GB/T 27947 酚类消毒剂卫生要求
- GB/T 38496 消毒剂安全性毒理学评价程序和方法
- GB 38598 消毒产品标签说明书通用要求
- GB 50073 净化厂房设计规范
- 消毒技术规范（2002年版） [卫生部（卫法监发〔2002〕282号）]
- 中华人民共和国药典（2020年版）
- 化妆品安全技术规范 国家食品药品监督管理总局
- 消毒产品生产企业卫生规范 卫生部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

一次性使用卫生用品 disposable sanitary products

本文件指与人体直接接触的，为达到人体生理卫生或抗菌、抑菌目的的一次性使用日常生活用品。主要包括：妇女经期卫生用品、排泄物卫生用品和卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂等其他卫生用品。

3.2

卫生湿巾 hygiene wet wipes

以非织造布、织物、木浆复合布、木浆纸等为载体，适量添加生产用水和杀菌成分等原材料，对处理对象（如手、皮肤、黏膜及普通物体表面）具有清洁杀菌作用的湿巾。本文件指与手、皮肤或（和）黏膜直接接触的卫生湿巾。

[来源：WS 575-2017，3.2，有修改]

3.3

抗菌剂 antibacterial agent

直接接触人体完整皮肤或黏膜（不包括用于人体足部、眼睛、指甲、腋部、头皮、头发、鼻黏膜、肛肠等特定部位），具有一定杀菌（细菌和酵母菌）作用，但不以治疗疾病或者改善皮肤、黏膜的症状为目的的使用状态为液体的制剂（油剂除外），用于手的还包含凝胶制剂。

3.4

抑菌剂 bacteriostasis agent

直接接触人体完整皮肤或黏膜（不包括用于人体足部、眼睛、指甲、腋部、头皮、头发、鼻黏膜、肛肠等特定部位），具有一定抑菌（细菌和酵母菌）作用，但不以治疗疾病或者改善皮肤、黏膜的症状为目的的使用状态为液体的制剂（油剂除外），用于手的还包含凝胶制剂。

3.5

生产车间 production workshop

生产加工一次性使用卫生用品的场所，包括配料间（区）、制作加工间（区）、分（灌）装间（区）、内包装间（区）等。其中，分装企业生产车间包括分（灌）装间（区）、内包装间（区）等。

[来源：《消毒产品生产企业卫生规范》（2009年版），第十二条，有修改]

3.6

高吸水材料 super absorbent materials

能够吸收自身质量数百倍至上千倍液态水，吸收后具有保水和贮水能力的高分子化合物。本文件指由高分子化合物、纸浆和无纺布等构成的吸收体。

4 原材料卫生要求

4.1 原材料应符合消毒产品相关规范和标准的要求，无毒、无害。原材料包装应清楚标明内含物的名称、生产单位、生产日期或生产批号；有特殊要求的原材料应标明贮存条件和保质期。

4.2 不应使用废弃或使用过的一次性使用卫生用品作原材料或半成品。

4.3 原材料中不得添加下列禁用物质：

- a) 抗菌剂、抑菌剂中不应添加列入《中华人民共和国药典》的药品及其同名原料（消毒防腐药、中药和抑菌剂除外，也不包括药用辅料和纯化水）；以微生物、细胞、动物或人源组织和体液等为起始原材料，用生物学技术制成，用于预防、治疗和诊断人类疾病的制剂，如疫苗、血液制品、生物技术药物、微生态制剂、免疫调节剂、诊断制品、蛋白质、肽等（酶除外）；列入《化妆品安全技术规范》（碘除外）的禁用化学物质；国家卫生健康行政部门规定的其他禁止使用的物质及其他对人体健康有明确危害的物质。
- b) 卫生湿巾和其他具有抗（抑）菌功能的一次性使用卫生用品不应添加抗菌药物、抗真菌药物、抗病毒药物、激素类药物及其同名原料等和国家卫生健康行政部门规定的其他禁止使用的物质及其他对人体健康有明确危害的物质。
- c) 非织造布、织物或其他原材料不应添加可迁移性荧光增白剂等禁用成分。

4.4 根据产品工艺规程选用符合相应产品质量标准的生产用水。卫生湿巾、抗菌剂和抑菌剂的生产用水应符合《中华人民共和国药典》中纯化水要求，其他一次性使用卫生用品的生产用水应符合 GB 5749 和企业相关规范的要求，并保证产品使用安全、有效。

5 生产过程卫生要求

5.1 原辅料的购入、贮存、发放、使用应满足产品质量控制要求并符合管理制度规定。

5.2 生产环境卫生指标应符合以下要求：

- a) 抗菌剂、抑菌剂生产车间空气应符合《消毒产品生产企业卫生规范》的要求，净化车间应符合 GB 50073 的要求；其他一次性使用卫生用品生产车间空气中菌落总数 $\leq 2\ 500$ CFU/m³（空气采样器法）或 ≤ 16 CFU/（皿 \cdot 5 min）（平皿暴露法）。
- b) 直接接触未包装产品的工作台表面菌落总数 ≤ 20 CFU/cm²。
- c) 直接接触未包装产品的工人手表面菌落总数 ≤ 300 CFU/只手（套）。

5.3 消毒级一次性使用卫生用品初始污染菌应 $\leq 10\ 000$ CFU/g 或 CFU/mL。

5.4 对用于消毒级一次性使用卫生用品的消毒方法应进行消毒效果检测，并应符合以下要求：

- a) 环氧乙烷消毒：对枯草杆菌黑色变种（ATCC 9372）芽孢的杀灭对数值 ≥ 3.00 ；
- b) 电离辐射消毒：对短小杆菌 E601（ATCC 27142）芽孢的杀灭对数值 ≥ 3.00 ；
- c) 压力蒸汽消毒：对嗜热脂肪杆菌（ATCC 7953）芽孢的杀灭对数值 ≥ 3.00 。

6 产品卫生要求

6.1 感官要求

外观应整洁，符合产品固有性状，不应有掉毛、掉屑现象，不应有异常气味与异物。

6.2 理化要求

6.2.1 理化指标应符合表 1 要求。

表 1 理化指标要求

项 目	指 标	适用范围
-----	-----	------

pH	标识均值±1 以内	标识 pH 值的卫生用品
可迁移性荧光增白剂	不得检出	含纸的卫生用品
铅（以 Pb 计）	≤10 mg/kg 或 mg/L	卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂等卫生用品
砷（以 As 计）	≤2 mg/kg 或 mg/L	卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂等卫生用品
汞	≤1 mg/kg 或 mg/L	卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂等卫生用品
环氧乙烷残留量	消毒后≤250 μg/g；上市时≤10 μg/g	仅经环氧乙烷消毒的卫生用品
有效成分稳定性	有效期≥1 年	卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂及其他具有抗（抑）菌效果 的卫生用品

6.2.2 卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂和其他含有抗（抑）菌成分的一次性使用卫生用品有效成分含量应符合产品标签说明书标注的含量，其中用于手、皮肤、黏膜的产品，限用物质使用浓度应符合表 2 的要求。

表 2 限用物质使用浓度要求

使用对象	葡萄糖酸氯己定或醋酸氯己定 g/L 或 g/kg	2,4,4'-三氯-2'-羟基二苯醚 g/L 或 g/kg	苯扎溴铵或苯扎氯铵 g/L 或 g/kg	国家规定的其他限用物质
手、皮肤	≤45.0	≤20.0	≤5.0	符合
黏膜	≤5.0	≤3.5	≤2.0	符合

6.3 毒理学安全性要求

6.3.1 妇女经期卫生用品、排泄物卫生用品以及卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂应进行毒理学试验。当原材料、生产工艺等发生变化可能影响产品毒性时，应按要求重新进行产品毒理学试验。

6.3.2 毒理学试验应按表 3 进行，指标符合表 4 要求。

表 3 毒理学试验项目

产品种类 ^a	毒理学试验项目			
	皮肤刺激试验 ^b	眼刺激试验	阴道黏膜刺激试验 ^c	皮肤变态反应试验
妇女经期卫生用品	-	-	+	+
排泄物卫生用品	+	-	-	+
卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂	仅接触手	+	-	-
	仅接触皮肤	+	-	-
	仅接触口腔黏膜	-	+	-
	仅接触阴道黏膜	-	-	+
	接触皮肤和口腔黏膜	-	+	-
	接触皮肤和阴道黏膜	-	-	+
接触皮肤、口腔和阴道黏膜	-	+	+	± ^d

<p>^a 其他一次性使用卫生用品参照执行。</p> <p>^b 使用过程中多次接触皮肤的应进行多次完整皮肤刺激试验；标注使用后及时清洗的应进行暴露时间 2 h 的急性一次完整皮肤刺激试验。</p> <p>^c 标注用于阴道黏膜偶尔使用或间隔数日使用的应进行一次阴道黏膜刺激试验，连续使用的应进行多次阴道黏膜刺激试验。</p> <p>^d 抗菌剂和抑菌剂应进行皮肤变态反应试验，卫生湿巾根据材料选择。</p>
--

表 4 毒理学指标要求

项 目	要 求
皮肤刺激试验	无刺激性或轻刺激性 ^a
眼刺激试验	无刺激性或轻刺激性 ^b
阴道黏膜刺激试验	无刺激或极轻刺激
皮肤变态反应试验	未见或极轻度 ^c
^{a, b, c} 适用于婴儿的一次性使用卫生用品皮肤刺激试验和眼刺激试验应无刺激性，未见皮肤变态反应。	

6.4 微生物学指标

微生物学指标应符合表5的要求。

表 5 微生物学指标要求

产品种类 ^a	微生物学指标		
	细菌菌落总数 CFU/g 或 CFU /mL	特定微生物 ^b 及其 他致病微生物 ^c	真菌菌落总数 CFU/g 或 CFU/ mL
妇女经期卫生用品			
普通级			
卫生栓（内置棉条）	≤100	不得检出	≤20
其他妇女经期卫生用品	≤200	不得检出	≤100
消毒级	≤20	不得检出	不得检出
排泄物卫生用品			
普通级	≤200	不得检出	≤100
消毒级	≤20	不得检出	不得检出
卫生湿巾、抗菌剂、抑菌剂	≤20	不得检出	不得检出
<p>^a 其他一次性使用卫生用品参照执行。</p> <p>^b 特定微生物指大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌。</p> <p>^c 怀疑发生相关感染时，进行相应目标致病微生物检测。</p>			

6.5 卫生湿巾除应符合表 5 中的微生物学指标要求外，对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀菌率应≥90%；如标明对致病性酵母菌有杀菌作用，对白色念珠菌的杀菌率应≥90%；如标明对其他微生物有杀灭作用，对相应微生物的杀菌率应≥90%。

6.6 具有抗菌功能的一次性使用卫生用品除应符合表 5 中的同类同级产品微生物学指标要求外, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀菌率应 $\geq 90\%$ (振荡烧瓶试验方法杀菌率应 $> 26\%$); 如标明对致病性酵母菌或其他微生物有杀灭作用, 对白色念珠菌或相应微生物的杀菌率应达到上述要求。

6.7 具有抑菌功能的一次性使用卫生用品除应符合表 5 中的同类同级产品微生物学指标要求外, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率应 $\geq 50\%$ (高吸水材料抑菌率应 $\geq 99\%$) 或抑菌环直径大于 7.0 mm; 如标明对致病性酵母菌或其他微生物有抑菌作用, 对白色念珠菌或相应微生物的抑菌率或抑菌环应达到上述要求。

7 检测方法

7.1 生产过程卫生要求检测方法

7.1.1 生产环境卫生要求检测方法见附录 A。

7.1.2 消毒效果检测评价方法见附录 B。

7.2 产品卫生要求检验方法

7.2.1 产品外观采用目测、鼻嗅的方法进行测定。

7.2.2 卫生巾、卫生护垫等吸水产品 pH 按 GB/T 8939 的方法进行测定, 其他产品 pH 按相应标准或《消毒技术规范》(2002 年版) 的方法进行测定。

7.2.3 可迁移性荧光增白剂的检测按 GB/T 27741 的方法进行测定。

7.2.4 铅、砷、汞的检测按《化妆品安全技术规范》的方法进行测定。

7.2.5 产品环氧乙烷残留量测试方法见附录 C。

7.2.6 产品杀菌性能、抑菌性能与稳定性测试方法见附录 D。

7.2.7 葡萄糖酸氯己定、醋酸氯己定按照 GB/T 26367 及国家有关标准中规定的方法进行测定; 2,4,4'-三氯-2'-羟基二苯醚按照 GB/T 27947 及国家有关标准中规定的方法进行测定; 苯扎溴铵、苯扎氯铵按 GB/T 26369 及国家有关标准中规定的方法进行测定; 其他有效成分含量按照《消毒技术规范》(2002 年版) 及国家有关标准中规定的方法进行测定; 无法使用化学测定法的不测定。

7.2.8 产品毒理学试验方法见附录 E。

7.2.9 产品微生物检测方法见附录 F。

8 包装、运输和贮存

8.1 无外包装影响卫生质量的原材料应有包装; 直接与产品接触的包装材料应无毒、无害、清洁; 包装材料应保证产品在正常运输与贮存条件下不受污染。包装储运图示标志应符合 GB/T 191 要求。

8.2 承担产品运输或贮存(销售)的单位或个人, 应严格按照生产者提供的运输与贮存要求进行运输或贮存。

9 标识

- 9.1 产品标签说明书应符合 GB 38598 的有关要求。
- 9.2 消毒级产品还应在销售包装上注明“消毒级”字样、消毒日期、有效期或消毒批号和限定使用日期，在运输包装上标明“消毒级”字样、消毒单位与地址、消毒方法、消毒日期、有效期或消毒批号和限定使用日期。
- 9.3 原材料中如有限用物质应在包装上标识。

附录 A
(规范性附录)
生产环境卫生要求检测方法

A.1 空气采样与测试方法

A.1.1 样品采集

室内面积 $\leq 30\text{ m}^2$ ，在对角线上设里、中、外三点，里、外点位置距墙1.0 m；室内面积 $> 30\text{ m}^2$ ，设东、西、南、北、中5个采样点，周围4个采样点距墙1.0 m。生产企业也可以根据实际生产线的布局自行增加培养基放置位置。

空气采样器法：可选择六级撞击式空气采样器或其他经验证的空气采样器。采样时，将采样器置于室内中央0.8 m~1.5 m高度，按采样器使用说明书操作，且每次采样时间不应超过30 min。

平皿暴露法：采样时，将含营养琼脂培养基的平皿（直径9 cm）置采样点（0.8 m~1.5 m高度），无菌操作打开平皿盖，扣放于平皿旁，使平皿在空气中暴露5 min后盖上平皿盖，及时送检。

空气采样首选空气采样器法。

A.1.2 菌落总数检测

在采样前将准备好的营养琼脂培养基置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18 h~24 h，取出检查有无污染，将污染培养基剔除。

将已采集的培养皿在4 h内送实验室，于 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养48 h观察结果，计数平皿上菌落数。

平皿暴露法按平均每皿的菌落数报告：CFU/（皿·5 min）。

空气采样器法菌落总数计算见式（A.1）：

$$Y = \frac{\sum n}{v \times t} \times 1000 \dots\dots\dots \text{(A.1)}$$

式中：

Y ——空气中菌落总数，单位为每立方米菌落形成单位（CFU/ m^3 ）；

n ——各平皿上菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

v ——采样速率，单位为升每分钟（L/min）；

t ——采样时间，单位为分钟（min）；

1 000——换算系数。

A.2 工作台表面与工人手表面采样与测试方法

A.2.1 样品采集

A.2.1.1 工作台：将经灭菌的内径为5.0 cm×5.0 cm的灭菌规格板放在被检物体表面，用一支浸有灭菌生理盐水的棉签在其内横竖往返涂抹各5次，然后剪去手接触部分棉棒，以无菌方式将棉签放入含10.0 mL灭菌生理盐水（或相应中和剂）的采样管内送检。

A. 2. 1. 2 工人手（套）：被检人五指并拢，用一支浸湿生理盐水的棉签在右手指曲面，从指根到指端来回涂擦2次，然后剪去手接触部分棉棒，将棉签放入含10.0 mL灭菌生理盐水（或相应中和剂）的采样管内送检。

A. 2. 2 菌落总数检测

将已采集的样品在4 h内送实验室，每支采样管充分混匀后取1.0 mL样液，放入灭菌平皿内，倾注营养琼脂培养基，每个样品平行接种两块平皿，置36 ℃±1 ℃培养48 h，计数平皿上菌落数。

工作台表面菌落总数计算见式(A. 2)：

$$Y_1 = \frac{Y_0}{S} \times 10 \dots\dots\dots (A. 2)$$

式中：

Y_1 ——工作台表面菌落总数，单位为每平方厘米菌落形成单位（CFU/cm²）；

Y_0 ——平皿上平均菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

S ——采样面积，单位为平方厘米（cm²）；

10——稀释倍数。

工人手菌落总数计算见式(A. 3)：

$$Y_2 = Y_0 \times 10 \dots\dots\dots (A. 3)$$

式中：

Y_2 ——工人手表面菌落总数，单位为每只手（套）菌落形成单位[CFU/只手（套）]；

Y_0 ——平皿上平均菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）；

10——稀释倍数。

附 录 B
(规范性附录)
消毒效果检测评价方法

B.1 环氧乙烷消毒

B.1.1 环氧乙烷消毒效果评价用生物指示菌为枯草杆菌黑色变种(ATCC 9372)芽孢。在菌量为 5.0×10^5 CFU/片~ 5.0×10^6 CFU/片、环氧乙烷浓度为600 mg/L \pm 30 mg/L、作用温度为54 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C、相对湿度为(60 \pm 10)%条件下,其杀灭90%微生物所需时间(D值)应为2.6 min~5.8 min,存活时间(ST) \geq 7.5 min,杀灭时间 \leq 58 min。

B.1.2 每次测试至少布放10片生物指示剂,放置于最难杀灭处。消毒完毕,取出指示菌片接种营养肉汤培养液做定性检测或接种营养琼脂培养基做定量检测,将未处理阳性对照菌片做相同接种,两者均置36 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C培养。阳性对照应在24 h内有菌生长。定性培养样品如连续观察7 d(或按使用说明书中的培养时间)全部无菌生长,可报告生物指示剂培养结果为阴性,消毒合格。定量培养样品与阳性对照相比杀灭对数值 \geq 3.00也可报告为消毒合格。

B.2 电离辐射消毒

B.2.1 电离辐射消毒效果评价用生物指示菌为短小杆菌E601(ATCC 27142)芽孢,在菌量为 5.0×10^5 CFU/片~ 5.0×10^6 CFU/片时,其杀灭90%微生物所需剂量 D_{10} 值应为1.7 kGy。

B.2.2 每次测试至少选5箱产品,每箱布放3片生物指示剂,置于最小剂量处。消毒完毕,取出指示菌片接种营养肉汤培养液做定性检测或接种营养琼脂培养基做定量检测,将未处理阳性对照菌片做相同接种,两者均置36 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C培养。阳性对照应在24 h内有菌生长。定性培养样品如连续观察7 d(或按使用说明书中的培养时间)全部无菌生长,可报告生物指示剂培养阴性,消毒合格。定量培养样品与阳性对照相比杀灭对数值 \geq 3.00也可报告消毒合格。

B.3 压力蒸汽消毒

按GB 15981-1995中“第一篇 压力蒸汽灭菌效果评价方法与标准”的规定执行。

附 录 C
(规范性附录)
产品环氧乙烷残留量检测方法

C.1 检测目的

通过检测确定产品消毒后启用时间。

当新产品或原材料、消毒工艺改变可能影响产品理化性能时应予测试。

C.2 样品采集

于环氧乙烷消毒后，立即从同一消毒批号的3个运输包装中随机抽取一定量最小销售包装样品，采样量至少应满足试验所需（平行测试2次）规定的量，并留一定量样品在需要复测时备用。

分别于环氧乙烷消毒后24 h及以后每隔数天进行残留量测定，直至残留量降至6.2.1所规定的标准值以下。

C.3 仪器与试剂

C.3.1 仪器

C.3.1.1 气相色谱仪，配有火焰离子化检测器（FID）。

C.3.1.2 分析天平，精确到0.1 mg。

C.3.1.3 机械振荡器。

C.3.1.4 冰箱：能使样品保存在2℃~8℃之间。

C.3.1.5 气体调节器：用于开、关环氧乙烷气瓶。

C.3.1.6 气密性注射器：容量为1.0 mL、10.0 mL、50 mL、100 mL，用于标准气体配制及把标准气体注入液相色谱。

C.3.1.7 微量注射器：容量为10 μL，用于向气相色谱仪中注入浸提溶液。

C.3.1.8 平底螺盖瓶：体积能够容纳样品及浸提溶液，具有聚四氟乙烯（PTFE）衬垫的硅橡胶塞，用于样品浸提。

C.3.2 试剂

C.3.2.1 环氧乙烷：装在适当的气瓶中的有证标准气体。

C.3.2.2 水：纯度适合于气相色谱。

C.3.2.3 载气和辅助气体。

C.3.2.4 载气：高纯氮气（99.999%）。

C.3.2.5 辅助气体：氢气、空气。

C.4 操作步骤

C.4.1 标准气体配制

用100 mL气密性注射器抽取环氧乙烷饱和气（重复放空2次，以排除原有空气），塞上橡皮头，用10 mL气密性注射器抽取上述100 mL气密性注射器中纯环氧乙烷标准气10 mL，用空气稀释到100 mL（可将10 mL标准气注入到已有90 mL氮气的带橡皮塞头的气密性注射器中来完成）。用同样的方法根据需要再逐级稀释，配制4~5个浓度的标准气体。根据环氧乙烷的纯度、稀释倍数和室温，计算出环氧乙烷标准气体的配制浓度。

稀释后标准气体浓度计算公式见式（C.1）：

$$c = \frac{44 \times 10^6 \times p}{22.4 \times 10^3 \times k} \times \frac{273}{273 + t} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中：

c ——标准气体浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

p ——纯度；

k ——稀释倍数；

t ——室温，单位为摄氏度（ $^{\circ}\text{C}$ ）；

44——环氧乙烷相对分子质量，单位为克每摩尔（ g/mol ）；

273——绝对温度换算常数；

22.4——气体常数，单位为升每摩尔（ L/mol ）。

C.4.2 样品处理

至少取2个最小包装产品，将其剪碎，随机精确称取0.5 g~2.0 g，放入适当体积的平底螺盖瓶中，加入2.0 mL~5.0 mL去离子水，确保样品完全浸没于浸提溶液中，加盖密封后充分摇匀，放置4h或振荡30 min待用。如被检样品为吸水树脂材料产品，可适当增加去离子水量，以确保至少可吸出2 mL样品浸提溶液。如果检测不能马上进行，则将浸提溶液从样品中分离出来，密封于有聚四氟乙烯衬垫的瓶中盖紧。任何盛有标准溶液或浸提液的管瓶，其顶端空间应少于总体积的10%，浸提溶液可在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中暂时贮存，并于浸提当天检测。

C.4.3 分析

待仪器稳定后，在同样条件下，环氧乙烷标准气体各进样1.0 mL，待分析样品（样品浸提溶液）各进样1.0 μL ，每一样液平行作2次测定。

根据保留时间定性，根据峰面积（或峰高）进行定量计算，取平均值。

C.4.4 仪器操作参考条件

C.4.4.1 色谱柱：极性石英毛细管色谱柱（固定相为聚乙二醇），或其他等效色谱柱。

C.4.4.2 柱温：90 $^{\circ}\text{C}$ 。

C.4.4.3 进样口温度：220 $^{\circ}\text{C}$ 。

C.4.4.4 载气：高纯氮气。

C.4.4.5 载气流量：5.0 mL/min。

C.4.4.6 检测器温度：230 $^{\circ}\text{C}$ 。

C.4.4.7 氢气流量：40 mL/min。

C.4.4.8 空气流量：400 mL/min。

C.4.5 计算

以所进环氧乙烷标准气的微克数对所得峰面积（或峰高）作环氧乙烷工作曲线。

以样品中环氧乙烷对应的峰面积（或峰高）在工作曲线上求得环氧乙烷的量 A （ μg ），并以式（C.2）求得产品中环氧乙烷的残留量。

$$X = \frac{A}{\frac{m}{V_{\text{萃}}} \times V_{\text{进}}} \dots\dots\dots (C.2)$$

式中：

X ——产品中环氧乙烷残留量，单位为微克每克（ $\mu\text{g/g}$ ）；

A ——从工作曲线中所查得之环氧乙烷量，单位为微克（ μg ）；

m ——所取样品量，单位为克（ g ）；

$V_{\text{萃}}$ ——萃取液体积，单位为毫升（ mL ）；

$V_{\text{进}}$ ——进样量，单位为毫升（ mL ）。

附 录 D (规范性附录)

产品杀菌性能、抑菌性能与稳定性检测方法

D.1 样品采集

于同一批号3个运输包装中至少抽取6件最小销售包装样品（若样品数量不能满足实验所需，则应相应增加采样数量），其中1/3样品用于抑菌、抗菌或杀菌性能测试，2/3样品用于留样；如需做稳定性测试，样品数量再作相应增加。

D.2 试验方法选择原则

D.2.1 卫生湿巾选择杀菌性能试验。

D.2.2 液体抗菌剂选择杀菌性能试验，含有可溶性抗菌成分的纺织品选择浸渍抗菌试验。含有不可溶性抗菌成分的纺织品、无纺布、纤维等，经鉴别不含可溶性抗菌成分后，采用烧瓶振荡试验。

D.2.3 液体抑菌剂选择抑菌性能试验，湿巾类或其他自身含有抑菌成分的产品选择载体抑菌试验，含有溶出性抑菌成分的产品选择抑菌环试验，含有可溶性抑菌成分的纺织品选择浸渍抑菌试验，含高吸水材料的产品选择高吸水材料抑菌性能试验。

D.3 试验材料

D.3.1 试验菌

D.3.1.1 试验菌种类

细菌：大肠杆菌(8099或CICC 10899)或大肠杆菌(ATCC 25922)，
金黄色葡萄球菌(ATCC 6538 或 ATCC 25923)；
真菌：白色念珠菌(ATCC 10231)；
根据产品特定用途所需用的其他菌株。

D.3.1.2 试验菌悬液制备

取冷冻条件下保存的菌种（冻干管、甘油管或磁珠），在无菌操作下打开，加入适量营养肉汤，轻柔吹吸数次，使菌种融化分散。取含5.0 mL~10.0 mL营养肉汤培养基试管，滴入少许菌种悬液，36 ℃ ± 1 ℃ 培养18 h~24 h。用接种环取第1代培养的菌悬液，划线接种于营养琼脂培养基平皿上，36 ℃ ± 1 ℃ 培养18 h~24 h。挑取上述第2代培养物中典型菌落，接种于营养琼脂斜面，36 ℃ ± 1 ℃ 培养18 h~24 h即为第3代培养物。取菌株第3代~6代的营养琼脂培养基（真菌为沙堡弱琼脂培养基）新鲜斜面培养物（18 h~24 h），用5.0 mL 0.03 mol/L磷酸盐缓冲液（简称PBS）洗下菌苔，使菌悬浮均匀后用PBS稀释至所需浓度（浸渍抑菌实验使用肉汤对培养液进行稀释）。

D.3.2 试验器材

- D. 3.2.1 培养基：细菌培养用营养琼脂培养基，真菌培养用沙堡弱琼脂培养基；营养肉汤培养基，沙堡弱液体培养基。
- D. 3.2.2 稀释液：0.03 mol/L PBS，pH 7.2。
- D. 3.2.3 中和剂（PBS配制）。
- D. 3.2.4 载体：32支纱/cm×32支纱/cm脱脂白平纹布片（长×宽=20 mm×30 mm），经压力蒸汽灭菌烘干后使用。
- D. 3.2.5 计时器。
- D. 3.2.6 电子天平。
- D. 3.2.7 振荡摇床。
- D. 3.2.8 2 000 r/min涡旋震荡器。
- D. 3.2.9 恒温水浴箱。
- D. 3.2.10 36 °C培养箱。
- D. 3.2.11 37 °C、35 °C~40 °C、40 °C~45 °C和54 °C恒温箱。
- D. 3.2.12 II级生物安全柜。

D. 4 卫生湿巾杀菌性能试验

D. 4.1 适用范围

适用于添加有杀菌成分的卫生湿巾或可溶性抗菌物质的载体类产品的抗菌性能效果的鉴定。

D. 4.2 中和剂鉴定试验

D. 4.2.1 试验菌种：

根据产品杀灭微生物类别，选择对其敏感度较高的细菌，如宣称对真菌有杀灭作用，需增加白色念珠菌；当用其他特定微生物进行杀菌试验时，应以该特定微生物进行中和剂鉴定试验。

D. 4.2.2 中和剂试验分组：

- 第1组：5.0 mL中和剂+染菌对照片；
 第2组：（样片+5.0 mL中和剂）+染菌对照片；
 第3组：5.0 mL PBS+染菌对照片；
 第4组：同批次PBS 0.5 mL+中和剂0.5 mL+培养基。

D. 4.2.3 中和剂试验评价规定如下：

- 第1组、第2组和第3组有相似量试验菌生长，并在 1.0×10^4 CFU/片~ 5.0×10^4 CFU/片之间，其组间菌落数误差率应不超过15%；
- 第4组无菌生长；
- 连续3次试验均符合以上要求判定为合格。

D. 4.3 试验步骤

对照样片应与试验样片同等材质、同等大小但不含杀菌成分，且经灭菌处理；将100 μL试验菌悬液滴于对照样片上，回收菌数应为 1.0×10^4 CFU/片~ 5.0×10^4 CFU/片。

取试验样片（大小20 mm ×30 mm，厚度应确保菌悬液被完全吸收不渗漏，如被测试样品厚度无法满足要求，可增加片数）和对照样片各1片分别置于无菌平皿内，用新鲜制备的菌悬液分别在每个试验

样片与对照样片上滴加100 μL，均匀涂布，开始计时，作用至说明书规定时间，用无菌镊子分别将试验样片和对照样片放入5.0 mL相应中和剂的试管内，充分混匀，进行10倍系列稀释，选择适宜稀释度，吸取1.0 mL接种平皿，每管接种2个平皿，将冷至40 °C~45 °C的融化营养琼脂培养（细菌）或沙堡弱琼脂培养基（真菌），倾注于已加入样液的平皿中，每平皿15 mL~20 mL，转动平皿，使其充分均匀，琼脂凝固后翻转平皿，36 °C±1 °C培养48 h（细菌）或72 h（真菌），进行活菌菌落计数。

重复试验3次，计算杀菌率。

D.4.4 计算公式

杀菌率计算见式（D.1）：

$$K = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D.1)$$

式中：

K ——杀菌率（%）；

N_c ——对照样片平均菌落数，单位为每片菌落形成单位（CFU/片）；

N_s ——被试样片平均菌落数，单位为每片菌落形成单位（CFU/片）。

误差率计算见式（D.2）：

$$E = \frac{\sum |X_m - X_n|}{3 \times X_m} \times 100\% \dots\dots\dots (D.2)$$

式中：

E ——组间菌落数误差率（%）；

X_m ——三组间菌落平均数，单位为每皿菌落形成单位（CFU/皿）；

X_n ——各组菌落平均数，单位为每皿菌落形成单位（CFU/皿）。

D.4.5 评价标准

各次杀菌率均≥90%，产品有杀菌作用。

卫生湿巾的最长杀菌作用时间不应超过5 min。

D.5 产品抗菌性能试验

D.5.1 抗菌剂杀菌性能试验

D.5.1.1 适用范围

适用于液体抗菌剂或卫生湿巾挤出液对微生物抗菌效果的测定。

D.5.1.2 中和剂鉴定试验

D.5.1.2.1 试验菌种：

根据产品杀灭微生物类别，选择对其敏感度较高的细菌，如宣称对真菌有杀灭作用，需增加白色念珠菌；当用其他特定微生物进行杀菌试验时，应以该特定微生物进行中和剂鉴定试验。

D.5.1.2.2 中和剂试验分组：

- 第1组：4.5 mL中和剂+0.45 mL硬水+0.05 mL菌悬液；
 第2组：（0.45 mL样液+4.5 mL中和剂）+0.05 mL菌悬液；
 第3组：4.95 mL PBS +0.05 mL菌悬液；
 第4组：同批次PBS 0.5 mL+中和剂 0.5mL+培养基。

D.5.1.2.3 中和剂试验评价规定：

- 第 1、2、3 组有相似量试验菌生长，并在 1.0×10^4 CFU/mL~ 5.0×10^4 CFU/mL 之间，其组间菌落数误差率[计算见式 (D.2)]应不超过 15%；
- 第 4 组无菌生长；
- 连续 3 次试验均符合以上要求判定为合格。

D.5.1.3 试验步骤

取新鲜制备的菌悬液0.5 mL滴加于4.5 mL样液内，混匀后开始计时，作用至说明书规定时间，用定量吸管吸取菌药混悬液0.5 mL放入4.5 mL含有中和剂的试管内，充分混匀，进行10倍系列稀释，选择适宜稀释度，分别吸取1.0 mL接种平皿，每管接种2个平皿，将冷至40 °C~45 °C的融化营养琼脂培养（细菌）或沙堡弱琼脂培养基（真菌），倾注于已加入样液的培养皿中，每平皿15 mL~20 mL，转动平皿，使其充分均匀，琼脂凝固后翻转平皿，36 °C±1 °C培养48 h（细菌）或72 h（真菌），进行活菌菌落计数。试验同时用稀释液代替试样，进行平行试验，作为阳性对照，回收菌数为 1.0×10^4 CFU/mL~ 5.0×10^4 CFU/mL。

重复试验3次，计算杀菌率。

D.5.1.4 计算公式

杀菌率计算见式 (D.3)：

$$K = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D.3)$$

式中：

K ——杀菌率（%）；

N_c ——对照样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

N_s ——被试样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）。

D.5.1.5 评价标准

说明书规定时间的各次杀菌率均 $\geq 90\%$ ，判有抗菌作用；说明书规定时间的各次杀菌率均 $\geq 99\%$ ，判有较强抗菌作用。

抗菌剂的最长杀菌作用时间不应超过5 min。

D.5.2 载体浸泡定量杀菌试验

D.5.2.1 适用范围

适用于黏稠状（半固体）抗菌产品如抗菌洗手液、抗菌沐浴露、抗菌凝胶、膏状抗菌产品等对微生物抗菌效果的鉴定。

D.5.2.2 染菌载体制备

取试验菌24h新鲜斜面培养物用PBS洗下，用PBS稀释至约 5.0×10^6 CFU/mL~ 5.0×10^7 CFU/mL制成菌悬液备用。用微量移液器滴染10 μ L菌悬液于灭菌载体上，35 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C烘干或室温晾干备用。

D.5.2.3 中和剂鉴定试验

D.5.2.3.1 试验分组

- 第1组：5.0 mL中和剂 + 染菌载体 \rightarrow 培养；
 第2组：（含抗菌剂的载体 + 5.0 mL中和剂）+ 染菌载体 \rightarrow 培养；
 第3组：5.0 mL稀释液 + 染菌载体 \rightarrow 培养；
 第4组：稀释液 + 中和剂 + 培养基 \rightarrow 培养。

D.5.2.3.2 试验步骤

根据试验分组，准备试管和平皿，依次进行编号。

第1组：取5.0 mL中和剂于无菌平皿中，置20 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C水浴5 min，加入1片染菌载体，作用10 min，取出菌片放入5.0 mL中和剂试管内，作用10 min后，置涡旋振荡器上振荡1 min或在手掌上用力振打80次，将试验菌洗下，用中和剂做10倍系列稀释后，选择适宜稀释度，分别吸取1.0 mL接种于2个平皿中，做活菌培养计数。

第2组：取5.0 mL中和剂于无菌平皿内，加入1片沾有抗菌样品的载体，混匀，置20 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C水浴作用10 min制成中和产物。再用无菌镊子取1片染菌载体，浸于中和产物中作用10 min后，用无菌镊子取出染菌载体移入含5.0 mL中和产物试管中，作用10 min，振荡，将试验菌洗下，用中和产物做10倍系列稀释，选适宜稀释度分别吸取1.0 mL接种于2个平皿中，做活菌培养计数。

第3组：取5.0 mL PBS于无菌平皿中，置20 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C水浴5 min，加入1片染菌载体，作用10 min，取出菌片放入5.0 mL PBS试管内，作用10 min后，振荡，将试验菌洗下，用PBS做10倍系列稀释，选适宜稀释度分别吸取1.0 mL接种于2个平皿中，做活菌培养计数。

第4组：分别吸取稀释液（PBS）与中和剂各1.0 mL于同一无菌平皿内，倒入同批次的培养基15 mL~20 mL，培养观察。

D.5.2.3.3 结果判定

第1、2和3组有相似量试验菌生长，且菌量在 1.0×10^4 CFU/片~ 9.0×10^4 CFU/片。计算组间菌落数误差率[计算见式（D.2）]，其组间菌落数误差率应不超过15%。第4组无菌生长，否则，说明试剂有污染，应更换无污染试剂重新进行试验。试验3次，每次试验均应符合以上要求。

D.5.2.4 试验步骤

按5.0 g/片的量称取抗菌样品于无菌平皿内，置20 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C水浴5 min，用无菌镊子取染菌载体，使载体完全浸没于抗菌样品中，立即计时。

待染菌载体与抗菌剂相互作用至各预定时间（以说明书规定时间为T，时间分别为0.5T，T，1.5T），分别取染菌载体加入5.0 mL中和剂试管中，混匀。

经中和剂作用10 min后，振荡，将试验菌洗下，分别吸取1.0 mL样液，按活菌培养计数方法测定存活菌数，每管样液接种2个平皿。如平板上生长的菌落数较多时，可用PBS进行系列10倍稀释后，再进行活菌培养计数。

取与试验样品同质材料不含抗菌成分的对照样品代替抗菌样品浸泡2片染菌载体，进行平行试验，作为阳性对照。阳性对照回收菌量为 1.0×10^4 CFU/片~ 9.0×10^4 CFU/片。取同批次稀释液、中和剂、培养基作阴性对照。

所有试验样品和对照样品均在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养，细菌繁殖体培养48 h观察结果；白色念珠菌培养72 h观察结果。重复试验3次，计算杀菌率。

D.5.2.5 杀菌率计算

杀菌率计算见式（D.4）：

$$K = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D.4)$$

式中：

K ——杀菌率（%）；

N_c ——对照样品平均菌落数，单位为每片菌落形成单位（CFU/片）；

N_s ——被试样品平均菌落数，单位为每片菌落形成单位（CFU/片）。

D.5.2.6 评价标准

说明书规定时间的杀菌率 $\geq 90\%$ ，判有抗菌作用；说明书规定时间的杀菌率 $\geq 99\%$ ，判有较强抗菌作用。

D.5.3 浸渍杀菌试验

D.5.3.1 适用范围

适用于抗菌毛巾、抗菌棉袜、抗菌棉布等含有溶出性抗菌材料的抗菌织物对微生物抗菌效果的试验。

D.5.3.2 试样和菌悬液制备

D.5.3.2.1 试样

在距试样布边10.0 cm以上、离布端1.0 m以上部位，剪取直径为5.0 cm的圆形试样若干，取3份试样分别装于3个锥形瓶中，盖好瓶口备用（需用试样数量要根据纤维类别及织物织法而定，以能吸收1.0 mL菌悬液且锥形瓶中不留残液为度）。另同法剪取与试样相同材质但不含抑菌剂对照织物若干，取2份分别装于2个锥形瓶中，盖好瓶口， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌15 min备用。

D.5.3.2.2 菌悬液的制备

用接种环将保存的菌种以划线法接种到营养琼脂平皿， $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18 h~24 h，取典型的菌落移种到含肉汤培养基的锥形瓶中， $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h，用肉汤对培养液进行系列稀释，使菌悬液的含菌量为 $1.0\times 10^5\text{ CFU/mL}\sim 5.0\times 10^5\text{ CFU/mL}$ 。

D.5.3.3 试验步骤

分别取1.0 mL菌悬液加入2份准备好的锥形瓶内试样和1份对照织物上，确保其均匀分布，且锥形瓶中不留多余液，封好瓶口，以防蒸发，造成细菌死亡。

分别在一个盛有已接种菌悬液的试样和对照织物的锥形瓶中加入100 mL中和剂，置涡旋振荡器上振荡1 min洗涤细菌，取1.0 mL进行10倍系列稀释，选适当稀释度以倾注法接种平皿，作为“0”接触时间样品和对照织物上的细菌数。

将另一个装有已接种菌悬液试样的锥形瓶于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $20\text{ h}\pm 2\text{ h}$ ，加入100 mL中和剂，置涡旋振荡器上振荡1 min洗涤细菌，取1.0 mL进行10倍系列稀释，选适当稀释度以倾注法接种平皿，作为试验组。

阴性对照组：试样不接种菌悬液，在“0”接触时间加入100 mL中和剂，置涡旋振荡器上振荡1 min 取样，接种平皿。

阳性对照组：另取1个装有对照织物的锥形烧瓶，接种1.0 mL菌悬液后，在36 °C ± 1 °C培养20 h ± 2 h，加入100 mL PBS，置涡旋振荡器上振荡1 min洗涤细菌，取1.0 mL进行10倍系列稀释，选适当稀释度以倾注法接种平皿。

将阴性和阳性对照样品与试验组样品接种的平皿一并于36 °C ± 1 °C培养48 h，计数菌落数。试验3次。

产品对白色念珠菌等其他微生物抗菌效果的测试方法同上，选择相应的菌株。

D.5.3.4 杀菌率的计算

杀菌率计算见式 (D.5)：

$$K = \frac{N_t \text{ 或 } N_c \text{ 或 } [(N_t + N_c)/2] - N_s}{N_t \text{ 或 } N_c \text{ 或 } [(N_t + N_c)/2]} \times 100\% \dots\dots\dots (D.5)$$

式中：

K —— 杀菌率 (%)；

N_s —— 被试样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位 (CFU/mL)；

N_t —— “0”接触时间被试样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位 (CFU/mL)；

N_c —— “0”接触时间对照样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位 (CFU/mL)；

如果 N_t 和 N_c 差别较大时，取较大值；如果 N_t 和 N_c 差别不大时，取平均值。

D.5.3.5 评价标准

D.5.3.5.1 “0”接触时间对照织物的平均菌落数应在 1.0×10^3 CFU/mL ~ 5.0×10^3 CFU/mL。

D.5.3.5.2 阴性对照应无菌生长，阳性对照菌数比“0”接触时间的菌数明显增加。

D.5.3.5.3 各次试验的杀菌率均 $\geq 90\%$ ，即可认定该样品具有抗菌作用；各次杀菌率均 $\geq 99\%$ ，判有较强抗菌作用。

D.5.4 振荡烧瓶试验

D.5.4.1 适用范围

适用于对含非溶出性抗菌物质抗菌产品的抗菌性能检测。

注1：在进行振荡烧瓶试验前，需要鉴定其抗菌成分是否可溶出，如果有溶出性抗菌材料，参照可溶出抗菌材料检测，无溶出性抗菌材料，可选用振荡烧瓶法进行。

注2：非溶出性抗菌材料的鉴定：将样品置于无菌蒸馏水浸泡24 h，取浸泡液参照抗菌剂杀菌性能试验检验是否有抗菌效果。如果无抗菌效果，说明样品属非溶出性抗菌材料，进行振荡烧瓶试验。

D.5.4.2 试验步骤

D.5.4.2.1 将材料剪切成10 mm × 10 mm样片，称取0.75 g两份分别置入250 mL的锥形烧瓶中。

D.5.4.2.2 在上述锥形烧瓶中加入70 mL PBS和5.0 mL新鲜制备的菌悬液，使菌悬液在PBS中的浓度为 1.0×10^4 CFU/mL ~ 5.0×10^4 CFU/mL。

D.5.4.2.3 将锥形烧瓶固定于振荡摇床上，在20 °C ~ 25 °C条件下，以300 r/min振摇2 min，吸取1.0 mL作为试验组振荡前样液；继续振摇至1 h，吸取1.0 mL样液作为试验组振荡后样液。

D.5.4.2.4 用PBS对振荡前和振荡后样液进行适当稀释后，每个平皿加样液1.0 mL，以琼脂倾注法接种平皿，每个样液分别接种两个平皿，培养后进行活菌菌落计数。

D.5.4.2.5 同时设阴性对照样片组和不加样片组。阴性对照样片组的对照样片应与试验样片同等材质、同等大小但不含抑菌成分，且经灭菌处理；不加样片组分别取5.0 mL菌悬液和70 mL PBS加入250 mL三角烧瓶中，混匀，分别于振荡前和振荡后预定时间，各取1.0 mL菌悬液与PBS的混合液进行适当稀释，进行活菌菌落计数。

D.5.4.2.6 以试验同批次的稀释液、培养基分别设阴性对照。

D.5.4.2.7 重复试验3次。

D.5.4.3 计算公式

杀菌率见计算见式（D.6）：

$$K = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D.6)$$

式中：

K ——杀菌率（%）；

N_c ——样品振荡前平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

N_s ——样品振荡后平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）。

D.5.4.4 评价标准

D.5.4.4.1 各次试验阴性对照均应无菌生长。

D.5.4.4.2 不加样片组活菌计数在 1.0×10^4 CFU/mL~ 5.0×10^4 CFU/mL之间，且样品振荡前后平均菌落数差值在10%以内，试验有效。

D.5.4.4.3 各次试验中，试验样片杀菌率与对照样片杀菌率的差值>26%，产品具有抗菌作用。

D.5.4.4.4 抗菌纤维类产品的最长抗菌作用时间不应超过1h。

D.5.4.5 注意事项

D.5.4.5.1 振荡前应将振荡摇床上的锥形瓶固定牢，以免碰破。

D.5.4.5.2 试验中，在实验误差允许的范围内，如果试验样片和对照样片出现振荡后菌落数高于振荡前菌落数的情况，其杀菌率可按“0”计算。

D.6 产品抑菌性能试验

D.6.1 抑菌剂抑菌性能试验

D.6.1.1 适用范围

适用于液体抑菌剂对微生物抑菌效果的测定。

D.6.1.2 试验步骤

取新鲜制备的菌悬液0.5 mL滴加于4.5 mL样液内，混匀后开始计时，作用至预定时间，用定量吸管吸取菌药混悬液0.5 mL放入4.5 mL稀释液的试管内，充分混匀，分别吸取1.0 mL接种平皿，每管接种2个平皿，将冷至40℃~45℃的融化营养琼脂培养（细菌）或沙堡弱琼脂培养基（真菌），倾注于已加入样液的平皿中，每平皿15 mL~20 mL，转动平皿，使其充分均匀，琼脂凝固后翻转平皿，36℃±1℃

培养48 h（细菌）或72 h（真菌），进行活菌菌落计数。试验同时用稀释液代替试样，进行平行试验，作为阳性对照，回收菌数为 1.0×10^4 CFU/mL $\sim 5.0 \times 10^4$ CFU/mL。

试验3次，计算抑菌率。

D. 6. 1. 3 计算公式

抑菌率计算见式（D. 7）：

$$Y = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D. 7)$$

式中：

Y ——抑菌率（%）；

N_c ——对照样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

N_s ——被试样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）。

D. 6. 1. 4 评价标准

各次抑菌率均为50% \sim 90%，产品有抑菌作用；各次抑菌率均 $>90\%$ ，产品有较强抑菌作用。

抑菌剂的最长抑菌作用时间不应超过5 min。

D. 6. 1. 5 注意事项

若由原液接种的平皿上菌落数 >300 CFU或难以计数时，才需进行10倍系列稀释，选择适宜稀释度平皿作活菌菌落计数。

D. 6. 2 载体浸泡定量抑菌试验

D. 6. 2. 1 适用范围

适用于膏体或半固体凝胶类、黏稠状抑菌产品对微生物抑菌效果的测定。

D. 6. 2. 2 试验步骤

取试验菌24 h新鲜斜面培养物用PBS洗下，用PBS稀释至约 5.0×10^6 CFU/mL $\sim 5.0 \times 10^7$ CFU/mL制成菌悬液备用。用微量移液器滴染10 μ L菌悬液于灭菌载体上，35 $^{\circ}$ C ± 1 $^{\circ}$ C烘干或室温晾干备用。

按5.0 g/片的量称取样品于无菌平皿内，置20 $^{\circ}$ C ± 1 $^{\circ}$ C水浴5 min，用无菌镊子取染菌载体，使载体完全浸没于样品中，立即计时。待染菌载体与样品相互作用至说明书的规定时间，分别取染菌载体加入5.0 mL PBS试管中，混匀，振荡，将试验菌洗下，分别吸取1.0 mL样液，按活菌培养计数方法测定存活菌数，每管样液接种2个平皿。如平板上生长的菌落数较多时，可用PBS进行10倍系列稀释后，再进行活菌培养计数。取10.0 g与试验样品同质材料不含抑菌成分的对照样品浸泡2片染菌载体进行平行试验，作为阳性对照。阳性对照回收菌量为 1.0×10^4 CFU/片 $\sim 9.0 \times 10^4$ CFU/片。取同批次PBS、培养基作阴性对照。所有试验样品和对照样品接种平皿均在36 $^{\circ}$ C ± 1 $^{\circ}$ C培养，细菌繁殖体培养48 h观察结果；白色念珠菌培养72 h观察结果。重复试验3次，计算抑菌率。

D. 6. 2. 3 计算公式

抑菌率计算见式（D. 8）：

$$Y = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D. 8)$$

式中：

Y ——抑菌率（%）；

N_c ——对照样品平均菌落数，单位为每片菌落形成单位（CFU/片）；

N_s ——试验样品平均菌落数，单位为每片菌落形成单位（CFU/片）。

D. 6. 2. 4 评价标准

抑菌率为50%~90%，判有抑菌作用；抑菌率 \geq 90%，判有较强抑菌作用。

D. 6. 3 抑菌环试验

D. 6. 3. 1 适用范围

适用于含溶出性抑菌物质，或可制成直径为5.0 mm片状物的固体抑菌产品的抑菌效果鉴定；也可用于鉴别抑菌产品中是否含有可溶性抑菌物质。

D. 6. 3. 2 载体和器材

D. 6. 3. 2. 1 液体材料试验载体：5.0 mm直径圆形新华一号定性滤纸片，经压力蒸汽灭菌处理后，置120℃烘干2 h，保存备用。

D. 6. 3. 2. 2 微量移液器：5.0 μ L~50 μ L，可调式。

D. 6. 3. 2. 3 游标卡尺。

D. 6. 3. 3 操作步骤

D. 6. 3. 3. 1 试验样片的制备：对液体材料，取无菌并干燥的滤纸片。每片滴加产品实际使用浓度的溶液5.0 μ L，然后将滤纸片平放于清洁的无菌平皿内，开盖置37℃恒温箱中烤干，或置室温下自然干燥后备用。对固体材料，可直接制成直径为5.0 mm、厚度不超过4.0 mm的圆片（块），每4片（块）一组。

D. 6. 3. 3. 2 阴性对照样片的制备：对液体材料，取无菌干燥滤纸片，每片滴加无菌蒸馏水5.0 μ L，干燥后备用。对固体材料，对照样片应与试验样片同等材质、同等大小但不含抑菌成分。

D. 6. 3. 3. 3 试验菌的接种：用无菌棉拭子蘸取浓度为 5.0×10^5 CFU/mL~ 5.0×10^6 CFU/mL新鲜制备的试验菌悬液，在适宜的培养基平板表面均匀涂抹3次。每涂抹1次，平板应转动60°，最后将棉拭子绕平板边缘涂抹一周。盖好平皿，置室温干燥5 min。

D. 6. 3. 3. 4 样片贴放：每次试验贴放1个染菌平板，每个平板贴放4片试验样片，1片阴性对照样片，共5片。用无菌镊子取样片贴放于平板表面，阴性对照样片贴于平板中心位置，试验样片贴于四周。各样片中心之间相距25 mm以上，与平板的周缘相距15 mm以上。贴放好后，用无菌镊子轻压样片，使其紧贴于平板表面。盖好平皿，置36℃ \pm 1℃培养箱，培养16 h~18 h测量结果。用游标卡尺测量抑菌环的直径（包括贴片）并记录。试验3次（共12个样片）。

测量抑菌环时，应选均匀而完全无菌生长的抑菌环进行。测量其直径应以抑菌环外沿为界。

D. 6. 3. 4 评价标准

D. 6. 3. 4. 1 抑菌作用的判断：抑菌环直径大于7.0 mm者，判为有抑菌作用；抑菌环直径小于或等于7.0 mm者，判为无抑菌作用。

D. 6. 3. 4. 2 重复试验3次（共12个样片）均有抑菌作用结果者，判为有抑菌作用。

D. 6. 3. 4. 3 阴性对照组应无抑菌环产生。否则试验无效。

D. 6. 3. 5 注意事项

D. 6. 3. 5. 1 每次试验均应设置阴性对照，不可省略，在报告中亦应将对照组的结果列出。

D. 6. 3. 5. 2 接种用细菌悬液的浓度应符合要求。

D. 6. 3. 5. 3 应保持琼脂浓度的准确性，否则可影响抑菌环的大小。

D. 6. 3. 5. 4 培养时间不得超过18 h。培养过久，部分细菌可恢复生长，抑菌环变小。

D. 6. 3. 5. 5 抑菌环直径可受抑菌剂的量、抑菌性能和干湿度影响。故抑菌剂滤纸片应在试验当天制备。

D. 6. 4 浸渍抑菌试验

D. 6. 4. 1 适用范围

适用于溶出性抑菌织物（如抑菌毛巾、内衣等）抑菌效果的测定。

D. 6. 4. 2 试样和菌悬液制备

D. 6. 4. 2. 1 试样

在距试样布边10.0 cm以上、离布端1.0 m以上部位，剪取直径为5.0 cm的圆形试样若干，取3份试样分别装于3个锥形瓶中，盖好瓶口备用（需用试样数量要根据纤维类别及织物织法而定，以能吸收1.0 mL菌悬液且锥形瓶中不留残液为度）。另同法剪取与试样相同材质但不含抑菌剂对照织物若干，取2份分别装于2个锥形瓶中，盖好瓶口，121 °C灭菌15 min备用。

D. 6. 4. 2. 2 菌悬液的制备

用接种环将保存的菌种以划线法接种到营养琼脂平皿，36 °C±1 °C培养18 h~24 h，取典型的菌落移种到含肉汤培养基的锥形瓶中，36 °C±1 °C培养24 h，用肉汤对培养液进行系列稀释，使菌悬液的含菌量为 1.0×10^5 CFU/mL~ 5.0×10^5 CFU/mL。

D. 6. 4. 3 试验步骤

分别取1.0 mL菌悬液加入2份准备好的锥形瓶内试样和1份对照织物上，确保其均匀分布，且锥形瓶中不留多余液，封好瓶口，以防蒸发造成细菌死亡。分别在一个盛有已接种菌悬液的试样和对照织物的锥形瓶中加入100 mL PBS，置涡旋振荡器上振荡1 min洗涤细菌，分别吸取1.0 mL样液或10倍系列稀释液接种2个平皿，作为“0”接触时间样本和对照织物上的细菌数。

将另一个装有已接种菌悬液试样的锥形瓶于36 °C±1 °C培养20 h±2 h，加入100 mL PBS，置涡旋振荡器上振荡1 min洗涤细菌，分别吸取1.0 mL样液或10倍系列稀释液接种2个平皿，作为试验组。

阴性对照组，试样不接种菌悬液，在“0”接触时间加入100 mL PBS，置涡旋振荡器上振荡1min取样，接种平皿。

阳性对照组，另取1个装有对照织物的锥形烧瓶，接种1.0 mL菌悬液后，在36 °C±1 °C培养20 h±2 h，加入100 mL PBS，置涡旋振荡器上振荡1 min洗涤细菌，分别吸取1.0 mL样液或10倍系列稀释液接种2个平皿。将阴性和阳性对照样品与试验组样品接种的平皿一并于36 °C±1 °C培养48 h，计数菌落数。重复试验3次，计算抑菌率。

D. 6. 4. 4 计算抑菌率

抑菌率计算见式（D.9）：

$$Y = \frac{N_t \text{ 或 } N_c \text{ 或 } [(N_t + N_c)/2] - N_s}{N_t \text{ 或 } N_c \text{ 或 } [(N_t + N_c)/2]} \times 100\% \dots\dots\dots (D. 9)$$

式中：

Y ——抑菌率（%）；

N_s ——被试样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

N_t ——“0”接触时间被试样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

N_c ——“0”接触时间对照样品平均菌落数，单位为每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

如果 N_t 和 N_c 差别较大时，取较大值；如果 N_t 和 N_c 差别不大时，取平均值。

D. 6. 4. 5 评价标准

D. 6. 4. 5. 1 “0”接触时间对照织物的平均回收菌量应为 1.0×10^3 CFU/mL~ 5.0×10^3 CFU/mL。

D. 6. 4. 5. 2 阴性对照应无菌生长，阳性对照菌数比“0”接触时间的菌数明显增加。

D. 6. 4. 5. 3 各次试验的抑菌率均 $\geq 50\%$ ，即可判定该样品具有抑菌作用。

D. 6. 5 高吸水材料抑菌性能试验

D. 6. 5. 1 适用范围

本试验方法适用于含有非溶出性高吸水材料抑菌产品抑菌效果的测定。

注：在进行本试验前，需要鉴定其抑菌成分是否可溶出。

非溶出性抑菌材料的鉴定：将样品置于无菌蒸馏水浸泡24h，取浸泡液参照抑菌剂抑菌性能试验检验是否有抑菌效果。如果无抑菌效果，说明样品属非溶出性抑菌材料，可进行高吸水材料抑菌性能试验。

D. 6. 5. 2 试样制备

将10 cm×30 cm大小的食品级尼龙布（250目）用封口机做成10 cm×15 cm的尼龙布袋，作为测定吸液量备用。

测试样品选取产品的抑菌层。对照样品应与测试样品选自相同部位，同等材质、同等大小但不含抑菌成分。

D. 6. 5. 3 吸液量的测定

取测试样品和对照样品分别剪成5.0 mm×5.0 mm的大小，各称重 $1.0 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ ，分别放入预制的尼龙布袋中。分别将含有测试样品、对照样品的尼龙布袋以及不含样品的空尼龙布袋称重后放入肉汤培养液中，浸泡30 min（注意去除气泡）后，吊起尼龙布袋20 min后分别称重。测试样品、对照样品以及空的尼龙布袋分别测定三次吸液量取平均值。吸液量测定步骤见图D. 1。

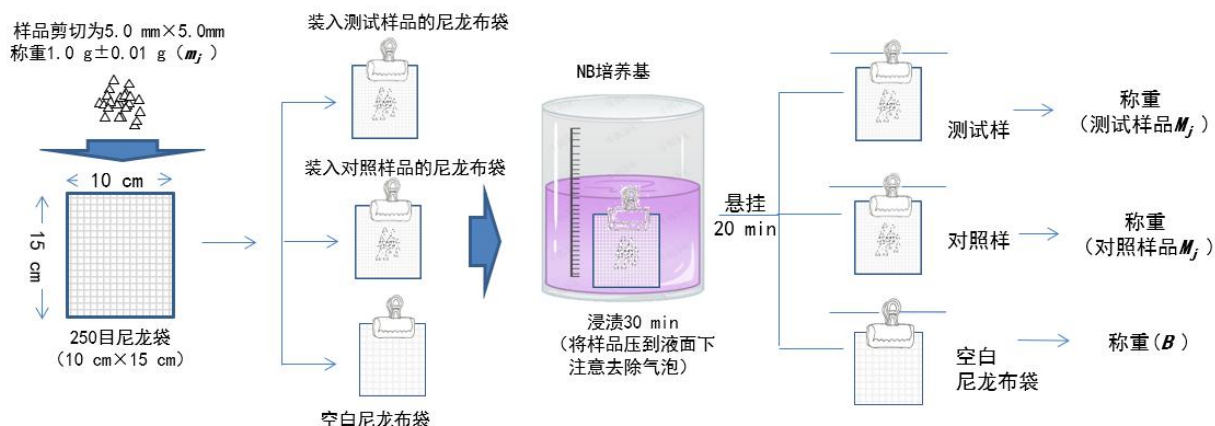


图 D.1 吸液量测定步骤

吸液量计算见式 (D.10) 及 (D.11)：

$$S_j = (M_j - B) - m_j \dots\dots\dots (D.10)$$

$$V = \frac{S_1 + S_2 + S_3}{3} \dots\dots\dots (D.11)$$

式中：

S_j ——各个样品所吸收的肉汤培养液质量，单位为克 (g)；

M_j ——吸收后的含有吸水样品的尼龙布袋的质量，单位为克 (g)；

m_j ——吸收前样品的质量，单位为克 (g)；

B ——吸收后尼龙布袋的质量，单位为克 (g)；

V ——样品平均吸液量，单位为克 (g)。

D.6.5.4 试验步骤

菌悬液制备过程：用5.0 mL肉汤洗下菌苔，使菌悬液均匀后使用肉汤稀释至所需浓度 (1.0×10^3 CFU/mL ~ 1.0×10^4 CFU/mL)。

取测试和对照样品 $0.2 \text{ g} \pm 0.002 \text{ g}$ 分别放入玻璃试管中，根据D.6.5.3算出的测试和对照样品的吸液量进行换算，分别向测试及对照样品中轻轻地滴入相应的菌悬液 (1.0×10^3 CFU/mL ~ 1.0×10^4 CFU/mL) (接种菌悬液不应接触到玻璃试管壁)。静置15 min让样品充分吸收菌悬液后，轻轻地盖上试管盖 (请勿振荡)， $36 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养24 h。培养后的对照样、测试样以及“0”培养时间的对照样和测试样中，分别加入相应吸液量2倍的含2%吐温80的0.85%生理盐水，分别充分震荡后 (在振荡器上振荡5次，每次5 s)，进行10倍系列稀释，选择适宜稀释度，吸取1.0 mL接种平皿，每管接种2个平皿，每皿用凉至 $40 \text{ }^\circ\text{C} \sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$ 的营养琼脂培养基 (细菌) 或沙堡弱琼脂培养基 (真菌) 15 mL ~ 20 mL 做倾注，转动平皿，使其充分均匀，琼脂凝固后翻转平皿， $36 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养48 h (细菌) 或72 h (真菌)，进行活菌菌落计数。试验3次，计算抑菌活性值。抑菌性能试验步骤见图D.2。

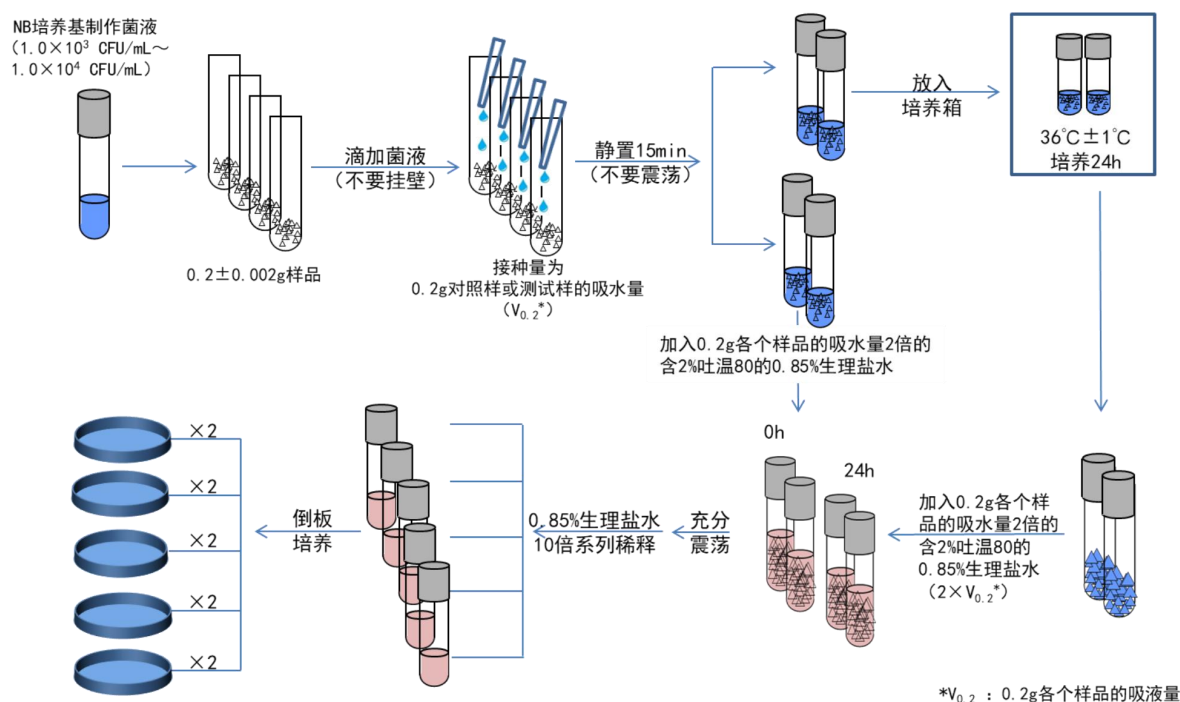


图 D. 2 抑菌性能试验步骤

D. 6. 5. 5 试验成立条件

测试样和对照样样品吸液量组内、组间误差[计算见式 (D. 2)]要求均在15%以内。

对照样“0”时回收菌量不少于 1.0×10^3 CFU/mL~ 1.0×10^4 CFU/mL, 且24 h的回收菌量比“0”时增加2 lg以上。

D. 6. 5. 6 计算公式

抑菌率计算见式 (D. 12) :

$$Y = \frac{N_c - N_s}{N_c} \times 100\% \dots\dots\dots (D. 12)$$

式中:

Y —— 抑菌率;

N_c —— 接触24 h后对照样品平均菌落数, 单位为每毫升菌落形成单位 (CFU/mL);

N_s —— 接触24 h后被试样品平均菌落数, 单位为每毫升菌落形成单位 (CFU/mL)。

D. 6. 5. 7 评价标准

各次试验抑菌率 $\geq 99\%$ 判断有抑菌作用。

D. 6. 5. 8 注意事项

吸取回收液接种培养时, 如混入吸水材料可能会影响试验结果, 应重新进行试验。

D. 7 稳定性测试方法

D. 7.1 测试条件

D. 7.1.1 室温留样：将原包装样品置 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下按产品使用说明规定的时间抽样进行抑菌、抗菌或杀菌性能测试。

D. 7.1.2 加速试验（微生物法）：将原包装样品置 $54\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内14 d或 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内90 d或 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内180 d或 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内270 d，保持相对湿度 $(75\pm 5)\%$ ，抽样进行抑菌、抗菌或杀菌性能测试。

D. 7.1.3 加速试验（化学测定法）：将原包装样品置 $54\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内14 d或 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内90 d或 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内180 d或 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内270 d，保持相对湿度 $(75\pm 5)\%$ ，于放置前、后分别测定抑菌、抗菌或杀菌有效成分含量。

D. 7.2 评价标准

D. 7.2.1 自然留样：其抑菌率或杀菌率达到规定的标准值，产品的抑菌、抗菌或杀菌作用有效期为自然留样时间。

D. 7.2.2 加速试验（微生物法）：经 $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加速试验，其抑菌率或杀菌率达到规定的标准值，产品的抑菌、抗菌或杀菌作用有效期室温条件下为1年。经 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加速试验，其抑菌率或杀菌率达到规定的标准值，产品的抑菌、抗菌或杀菌作用有效期室温条件下为2年。若经 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放180 d或 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放270 d，其抑菌率或杀菌率达到规定的标准值，产品的抑菌、抗菌或杀菌作用有效期室温条件下为3年。

D. 7.2.3 加速试验（化学测定法）：经 $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放14 d，有效成分下降率小于10%，且存放后有效成分含量均不低于产品企业标准规定含量的下限值，则贮存有效期可定为1年。若经 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放90 d，有效成分下降率小于10%，且存放后有效成分含量均不低于产品企业标准规定含量的下限值，则贮存有效期可定为2年。若经 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放180 d或 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放270 d，有效成分下降率小于10%，且存放后有效成分含量均不低于产品企业标准规定含量的下限值，则贮存有效期可定为3年。

D. 7.2.4 当加速试验抑菌率或杀菌率结果与化学测定法结果不一致时，以抑菌率或杀菌率结果作为判定依据。

附 录 E
(规范性附录)
产品毒理学试验方法

E.1 试验方法

皮肤刺激试验、眼刺激试验、阴道黏膜刺激试验和皮肤变态反应试验方法按GB/T 38496 和《消毒技术规范》(2002年版)中相应的试验方法进行。

固体产品的样品制备方法按照E.2进行。

注1: 用于皮肤刺激试验中的空白对照为: 生理盐水和斑贴纸。

注2: 在皮肤变态反应中, 诱导处理和激发处理所用的剂量保持一致。

E.2 样品制备

E.2.1 皮肤刺激试验和皮肤变态反应试验

以横断方式剪一块斑贴大小(2.5 cm×2.5 cm)的产品。干性产品, 如尿布、妇女经期卫生用品, 用生理盐水润湿后贴到皮肤上, 再用斑贴纸覆盖。湿性产品可以按要求裁剪合适的面积, 直接贴到皮肤上, 再用斑贴纸覆盖。

E.2.2 眼刺激试验

E.2.2.1 干性产品

以横断方式剪取足够重量的产品, 先测定产品的“吸收容量”, 即每克产品所吸收的浸提液总量; 以同样方式剪取同样重量的产品, 除产品的“吸收容量”外, 再按1.0 g/10.0 mL的比例加入灭菌生理盐水进行浸提, 密封于萃取容器中搅拌后置于37 °C±1 °C下24 h。冷却到室温, 搅拌后析取样液备检。

E.2.2.2 湿性产品

在进行眼刺激试验的当天, 挤出产品里的挤出液作为试样。

E.2.3 阴道黏膜刺激试验

E.2.3.1 干性产品

以横断方式剪取足够重量的产品, 先测定产品的“吸收容量”, 即每克产品所吸收的浸提液总量; 以同样方式剪取同样重量的产品, 除产品的“吸收容量”外, 再按1.0 g/10.0 mL的比例加入灭菌生理盐水进行浸提, 密封于萃取容器中搅拌后置于37 °C±1 °C下24 h。冷却到室温, 搅拌后析取样液备检。

E.2.3.2 湿性产品

在进行阴道黏膜刺激试验的当天, 挤出产品里的挤出液作为试样。

E.3 判定标准

以GB/T 38496和《消毒技术规范》（2002年版）的相应部分作为试验结果判定原则。

附录 F

（规范性附录）

产品微生物检测方法

F.1 检验规则

企业应按每个投料批次或结合产品特点和生产实际规定的产品批次确定微生物检验批次；细菌菌落总数和真菌菌落总数检验按确定的检验批次进行；必要时进行特定微生物检验。每个检验批次在生产线上至少随机抽取6个最小包装样品（采样量应至少能满足检验所需），1/3用于检验，2/3留样；必要时对库存产品进行抽检。不够数量全抽，但需要满足最低检测量的要求。

出厂检验应按照产品执行标准或质量控制程序所规定的指标进行，确保产品合格出厂。

当新产品定型投产，原材料、工艺、配方或设备变更影响产品主要性能时，或停产6个月以上恢复生产时，企业应进行型式检验；检验项目为全部微生物学指标。

F.2 产品采集与样品处理

于同一批号的3个运输包装中至少抽取6件最小销售包装样品（若样品数量不能满足实验所需，则应相应增加采样数量），其中1/3样品用于检测，2/3样品用于留样。抽样的最小销售包装不应有破裂，检验前不得开启。

在空气洁净度5级净化条件下用无菌方法打开用于检测的至少2个包装，从每个包装中取样，准确称取 $10.0 \text{ g} \pm 1.0 \text{ g}$ 样品。剪碎后加入到200 mL灭菌生理盐水或改良肉汤培养液（MLTBL，含中和剂）中，充分混匀，得到一个生理盐水或中和剂样液（若产品太轻，可称取 $2.5 \text{ g} \pm 0.2 \text{ g}$ 样品，加入50 mL灭菌生理盐水或中和剂中）。液体产品吸取10.0 mL原液直接作样液。

如被检样品具有抗菌作用，应选择适宜的中和剂中和，稀释梯度最高不超过1:100。无相应中和剂则选用薄膜过滤法去除样品中抗菌成分对微生物生长的影响，再按上述方法制备样液。

如被检样品含有大量吸水树脂材料而导致不能吸出足够样液时，稀释液量可按每次50 mL递增，直至能吸出足够测试用样液。在计算细菌菌落总数与真菌菌落总数时相应调整稀释度。

F.3 细菌菌落总数与初始污染菌检测方法

F.3.1 适用范围

本方法适用于产品初始污染菌与细菌菌落总数（以下统称为“细菌菌落总数”）检测。

F.3.2 操作步骤

按F.2得到的生理盐水或中和剂样液自然沉降后取上清液，如需要可进行10倍系列稀释。选择适宜的稀释度进行菌落计数。共接种2个平皿，每个平皿中加入2.0 mL样液，然后用冷却至 $40 \text{ }^{\circ}\text{C} \sim 45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右的熔化的营养琼脂培养基15 mL~20 mL倒入每个平皿内混合均匀。待琼脂凝固后翻转平皿置 $36 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养48 h，计算平皿上的菌落数。

F.3.3 菌落计数

菌落呈片状生长的平皿不宜采用,确保2块平皿符合计数要求并进行菌落计数,按式(F.1)计算结果:

$$A_t = \frac{A_0 \times K}{2 \times 2} \dots\dots\dots (F.1)$$

式中:

A_t ——细菌菌落总数,单位为每克菌落形成单位(CFU/g)或每毫升菌落形成单位(CFU/mL);

A_0 ——2块营养琼脂培养基平皿上的细菌菌落总数;

K ——稀释倍数;

2×2 ——2块平皿,每块平皿接种2.0 mL样液。

首先选取平均菌落数在30~300之间的平皿。当菌落数在100以内,按实有数报告,>100时采用二位有效数字;当2块营养琼脂培养基平皿上的细菌菌落总数<1时,应当报告细菌菌落总数<5 CFU/g或CFU/mL。

F.3.4 结果报告

F.3.4.1 如经首次检测,样品细菌菌落总数符合本文件的规定,直接按检测结果报告。

F.3.4.2 如经首次检测,样品细菌菌落总数超过本文件的规定,应用留存的样品依前法复测2次,然后才能报告结果。当2次复测结果都达到本文件的规定,则判定被检样品合格,以2次合格结果的均值报告;其中有任何1次复测结果超过本文件规定,则判定被检样品不合格,以所有不合格结果的均值报告。

F.4 大肠菌群检测方法

F.4.1 操作步骤

F.4.1.1 增菌培养:取样液5.0 mL接种至50 mL乳糖胆盐发酵管内,置36℃±1℃培养18 h~24 h,如不产酸也不产气,则报告为大肠菌群阴性。

F.4.1.2 分离培养:如产酸产气,则划线接种伊红美蓝琼脂平皿,置36℃±1℃培养18 h~24 h,观察平皿上菌落形态。典型的大肠菌落为黑紫色或红紫色,圆形,边缘整齐,表面光滑湿润,常具有金属光泽,也有的呈紫黑色,不带或略带金属光泽,或粉红色,中心较深的菌落。

F.4.1.3 染色镜检与鉴定:取疑似菌落1~2个作革兰染色镜检,同时接种乳糖发酵管,置36℃±1℃培养18 h~24 h,观察产酸产气情况。

F.4.2 结果报告

凡乳糖胆盐发酵管产酸产气,乳糖发酵管产酸产气,在伊红美蓝平皿上有典型大肠菌群菌落,革兰染色为阴性无芽孢杆菌,可报告被检样品检出大肠菌群。

F.5 铜绿假单胞菌检测方法

F.5.1 操作步骤

F.5.1.1 增菌培养:取样液5.0 mL,加入到50 mL SCDLP培养液中,充分混匀,置36℃±1℃培养18 h~24 h。如有铜绿假单胞菌生长,培养液表面呈现一层薄菌膜,培养液常呈黄绿色或蓝绿色。

F.5.1.2 分离培养:从培养液的薄菌膜处挑取培养物,划线接种十六烷三甲基溴化铵琼脂平皿,置36℃±1℃培养18 h~24 h,观察菌落特征。铜绿假单胞菌在此培养基上生长良好,菌落扁平,边缘不整,菌落周围培养基略带粉红色;在缺乏十六烷三甲基溴化铵琼脂时也可用乙酰胺培养基进行分离,将菌悬

液划线接种于平皿上，放 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18 h~24 h，观察菌落特征。铜绿假单胞菌在此培养基上生长良好，菌落扁平，边缘不整，菌落周围培养基略带粉红色。

F. 5. 1. 3 染色镜检：取鉴定培养基上可疑菌落涂片作革兰染色，镜检为革兰阴性菌者还需进行下列试验。

F. 5. 1. 4 氧化酶试验：取一小块洁净的白色滤纸片放在灭菌平皿内，用无菌玻棒挑取鉴定培养基上可疑菌落涂在滤纸片上，然后在其上滴加一滴新配制的1%二甲基对苯二胺试液，30 s内出现粉红色或紫红色，为氧化酶试验阳性，不变色者为阴性。亦可使用商品化的氧化酶试纸或试剂进行检测。

F. 5. 1. 5 绿脓菌素试验：取鉴定培养基上2~3个可疑菌落，分别接种在绿脓菌素测定用培养基斜面， $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h，加入三氯甲烷3 mL~5 mL，充分振荡使培养物中可能存在的绿脓菌素溶解，待三氯甲烷呈蓝色时，用吸管移到另一试管中并加入1.0 mol/L的盐酸1 mL，振荡后静置片刻。如上层出现粉红色或紫红色即为阳性，表示有绿脓菌素存在。

F. 5. 1. 6 硝酸盐还原产气试验：取鉴定培养基上可疑菌落接种在硝酸盐胨水培养基中，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h，培养基小倒管中有气者即为阳性。

F. 5. 1. 7 明胶液化试验：取鉴定培养基上可疑菌落纯培养物，穿刺接种在明胶培养基内，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h，取出放于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，如仍呈液态为阳性，凝固者为阴性。

F. 5. 1. 8 42 °C生长试验：取鉴定培养基上可疑培养物，接种在普通琼脂斜面培养基上，置 $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h~48 h，有铜绿假单胞菌生长为阳性。

F. 5. 2 结果报告

被检样品经增菌分离培养后，证实为革兰阴性杆菌，氧化酶及绿脓菌素试验均为阳性者，即可报告被检样品中检出铜绿假单胞菌。如绿脓菌素试验阴性而液化明胶、硝酸盐还原产气和 $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 生长试验三者皆为阳性时，仍可报告被检样品中检出铜绿假单胞菌。

F. 6 金黄色葡萄球菌检测方法

F. 6. 1 操作步骤

F. 6. 1. 1 增菌培养：取样液5.0 mL，加入到50 mL SCDLP培养液中，充分混匀，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18 h~24 h。

F. 6. 1. 2 分离培养：自上述增菌悬液中取1~2接种环，划线接种在血琼脂培养基上，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h~48 h。在血琼脂平皿上典型菌落呈金黄色，大而突起，圆形，不透明，表面光滑，周围有溶血圈。在Baird Park培养基上为圆形，光滑，凸起，湿润，直径为2.0 mm~3.0 mm，颜色呈灰色到黑色，周围为一混浊带，在其外层有一透明带，用接种针接触菌落似有奶油树胶的软度。偶尔会遇到非脂肪溶解的类似菌落，但无混浊带及透明带。

F. 6. 1. 3 染色镜检：挑取典型菌落，涂片作革兰染色镜检，金黄色葡萄球菌为革兰阳性球菌，排列成葡萄状，无芽孢与荚膜。镜检符合上列情况，还需进行甘露醇发酵试验和血浆凝固酶试验。

F. 6. 1. 4 甘露醇发酵试验：取血琼脂平皿上典型菌落接种甘露醇培养液，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h，发酵甘露醇产酸者为阳性。

F. 6. 1. 5 血浆凝固酶试验（试管法）：吸取1:4新鲜血浆0.5 mL，放灭菌小试管中，加入等量待检菌24 h肉汤培养物0.5 mL，混匀，放 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温箱或水浴中，每30 min观察一次，24 h之内呈现凝块即为阳性。同时以已知血浆凝固酶阳性和阴性菌株肉汤培养物各0.5 mL作为阳性与阴性对照。

F. 6. 2 结果报告

凡在琼脂平皿上有可疑菌落生长，镜检为革兰阳性呈葡萄状排列的球菌，并能发酵甘露醇产酸，血浆凝固酶试验阳性者，可报告被检样品检出金黄色葡萄球菌。

F.7 溶血性链球菌检测方法

F.7.1 操作步骤

F.7.1.1 增菌培养：取样液5.0 mL加入到50 mL葡萄糖肉汤，36 °C ± 1 °C培养18 h~24 h。

F.7.1.2 分离培养：将培养物划线接种血琼脂平皿，36 °C ± 1 °C培养18 h~24h 观察菌落特征。溶血性链球菌在血琼脂平皿上为灰白色，半透明或不透明，针尖状突起，表面光滑，边缘整齐，周围有无色透明溶血圈。

F.7.1.3 染色镜检：挑取典型菌落作涂片革兰染色镜检，应为革兰阳性，呈链状排列的球菌。镜检符合上述情况，还需进行链激酶试验和杆菌肽敏感试验。

F.7.1.4 链激酶试验：吸取草酸钾血浆0.2 mL（0.01 g草酸钾加5.0 mL兔血浆混匀，经离心沉淀，吸取上清液），加入0.8 mL灭菌生理盐水，混匀后再加入待检菌24 h肉汤培养物0.5 mL和0.25%氯化钙0.25 mL，混匀，放36 °C ± 1 °C水浴中，2 min 观察一次（一般10 min内可凝固），待血浆凝固后继续观察并记录溶化时间。如2 h内不溶化，继续放置24 h观察，如凝块全部溶化为阳性，24 h仍不溶化为阴性。

F.7.1.5 杆菌肽敏感试验：将被检菌悬液涂于血琼脂平皿上，用灭菌镊子取每片含0.04单位杆菌肽的纸片放在平皿表面上，同时以已知阳性菌株作对照，在36 °C ± 1 °C下放置24 h~48 h，有抑菌带者为阳性。

F.7.2 结果报告

镜检革兰阳性链状排列球菌，血琼脂平皿上呈现溶血圈，链激酶和杆菌肽试验阳性，可报告被检样品检出溶血性链球菌。

F.8 真菌菌落总数检测方法

F.8.1 操作步骤

按F.2得到的生理盐水或中和剂样液自然沉降后取上清液，如需要可进行10倍系列稀释。选择适宜的稀释度进行真菌菌落计数。共接种2个平皿，每个平皿中加入2.0 mL样液，然后用冷却至40 °C~45 °C的熔化的沙堡弱琼脂培养基或改良沙堡弱琼脂培养基15 mL~20 mL倒入每个平皿内混合均匀，琼脂凝固后翻转平皿置25 °C ± 1 °C（沙堡弱琼脂培养基）或28 °C ± 1 °C（改良沙堡弱琼脂培养基）培养72 h，分别于第24 h、第48 h、第72 h观察，计算平皿上的菌落数，如果发现菌落蔓延，以前一次的菌落计数为准。

F.8.2 菌落计数

菌落呈片状生长的平皿不应采用；确保2块平皿符合计数要求并进行菌落计数，按式(F.2)计算结果：

$$B_t = \frac{B_0 \times K}{2 \times 2} \dots\dots\dots (F.2)$$

式中：

B_t ——真菌菌落总数，单位为每克菌落形成单位（CFU/g）或每毫升菌落形成单位（CFU/mL）；

B_0 ——2块沙堡弱琼脂培养基或改良沙堡弱琼脂培养基平皿上的真菌菌落总数；

K ——稀释倍数；

2×2——2块平皿，每块平皿接种2mL样液。

当菌落数≤100 CFU/mL时，按实际数报告；当>100 CFU/mL时采用二位有效数字；当2块沙堡弱琼脂培养基或改良沙堡弱琼脂培养基平皿上真菌菌落总数<1 CFU/mL时，应报告真菌菌落总数<5 CFU/g (CFU/mL)。

F.8.3 结果报告

F.8.3.1 如经首次检测，样品菌落总数符合本文件的规定，直接按检测结果报告。

F.8.3.2 如经首次检测，样品菌落总数超过本文件的规定，应用留存的备检样品依前法复测2次，然后才能报告结果。当2次复测结果都达到本文件的规定，则判定被检样品合格，以2次合格结果的均值报告；其中有任何1次复测结果超过本文件规定，则判定被检样品不合格，以所有不合格结果的均值报告。

F.9 真菌定性检测方法

F.9.1 操作步骤

取样液5.0 mL加入到50 mL沙堡弱液体培养基中，25℃±1℃培养72 h，逐日观察有无真菌生长。

F.9.2 结果报告

如培养管澄清，则说明无真菌生长，可报告被检样品未检出真菌；如培养管混浊，应转种沙堡弱琼脂培养基进行培养，证实有真菌生长，可报告被检样品检出真菌。
