

前 言

本标准全文强制。

GB 15979—1995《一次性使用卫生用品卫生标准》自 1996 年发布以来,使生产企业明确了卫生要求 and 目标,管理部门也有了监督监测依据,对推动该行业的健康发展与卫生水平的提高起到了积极作用。与此同时,随着产品种类与材料的发展,该标准有一些地方需要完善。因此提出修订本标准。

本标准自实施之日起代替 GB 15979—1995。

本标准的附录 A 至附录 G 为标准的附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出。

本标准负责起草单位:上海市疾病预防控制中心;参加起草单位:宝洁(中国)有限公司、强生(中国)有限公司。

本标准主要起草人:沈伟、卢敏、杨宏平、周密、潘希和、刘育京。

中华人民共和国国家标准

一次性使用卫生用品卫生标准

GB 15979—2002

Hygienic standard for disposable sanitary products

代替 GB 15979—1995

1 范围

本标准规定了一次性使用卫生用品的产品和生产环境卫生标准、消毒效果生物监测评价标准和相应检验方法,以及原材料与产品生产、消毒、贮存、运输过程卫生要求和产品标识要求。

在本标准中,一次性使用卫生用品是指:

本标准适用于国内从事一次性使用卫生用品的生产与销售的部门、单位或个人,也适用于经销进口一次性使用卫生用品的部门、单位或个人。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB 15981—1995 消毒与灭菌效果的评价方法与标准

3 定义

本标准采用下列定义。

一次性使用卫生用品

使用一次后即丢弃的、与人体直接或间接接触的、并为达到人体生理卫生或卫生保健(抗菌或抑菌)目的而使用的各种日常生活用品,产品性状可以是固体也可以是液体。例如,一次性使用手套或指套(不包括医用手套或指套)、纸巾、湿巾、卫生湿巾、电话膜、帽子、口罩、内裤、妇女经期卫生用品(包括卫生护垫)、尿布等排泄物卫生用品(不包括皱纹卫生纸等厕所用纸)、避孕套等,在本标准中统称为“卫生用品”。

4 产品卫生指标

4.1 外观必须整洁,符合该卫生用品固有性状,不得有异常气味与异物。

4.2 不得对皮肤与粘膜产生不良刺激与过敏反应及其他损害作用。

4.3 产品须符合表1中微生物学指标。

表 1

产品种类	微生物指标				
	初始污染菌 ¹⁾ cfu/g	细菌菌落总数 cfu/g 或 cfu/mL	大肠菌群	致病性化脓菌 ²⁾	真菌菌落总数 cfu/g 或 cfu/mL
手套或指套、纸巾、湿巾、帽子、内裤、电话膜		≤200	不得检出	不得检出	≤100

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2002-03-05 批准

2002-09-01 实施

表 1(完)

产品种类	微生物指标				
	初始污染菌 ¹⁾ cfu/g	细菌菌落总数 cfu/g 或 cfu/mL	大肠菌群	致病性化脓菌 ²⁾	真菌菌落总数 cfu/g 或 cfu/mL
抗菌(或抑菌)液体产品		≤200	不得检出	不得检出	≤100
卫生湿巾		≤20	不得检出	不得检出	不得检出
口罩					
普通级		≤200	不得检出	不得检出	≤100
消毒级	≤10 000	≤20	不得检出	不得检出	不得检出
妇女经期卫生用品					
普通级		≤200	不得检出	不得检出	≤100
消毒级	≤10 000	≤20	不得检出	不得检出	不得检出
尿布等排泄物卫生用品					
普通级		≤200	不得检出	不得检出	≤100
消毒级	≤10 000	≤20	不得检出	不得检出	不得检出
避孕套		≤20	不得检出	不得检出	不得检出

1) 如初始污染菌超过表内数值,应相应提高杀灭指数,使达到本标准规定的细菌与真菌限值。
2) 致病性化脓菌指绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌与溶血性链球菌。

4.4 卫生湿巾除必须达到表 1 中的微生物学标准外,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀灭率须 ≥90%,如需标明对真菌的作用,还须对白色念珠菌的杀灭率 ≥90%,其杀菌作用在室温下至少须保持 1 年。

4.5 抗菌(或抑菌)产品除必须达到表 1 中的同类同级产品微生物学标准外,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率须 ≥50%(溶出性)或 >26%(非溶出性),如需标明对真菌的作用,还须白色念珠菌的抑菌率 ≥50%(溶出性)或 >26%(非溶出性),其抑菌作用在室温下至少须保持 1 年。

4.6 任何经环氧乙烷消毒的卫生用品出厂时,环氧乙烷残留量必须 ≤250 μg/g。

5 生产环境卫生指标

5.1 装配与包装车间空气中细菌菌落总数应 ≤2 500 cfu/m³。

5.2 工作台表面细菌菌落总数应 ≤20 cfu/cm²。

5.3 工人手表面细菌菌落总数应 ≤300 cfu/只手,并不得检出致病菌。

6 消毒效果生物监测评价

6.1 环氧乙烷消毒:对枯草杆菌黑色变种芽胞(ATCC 9372)的杀灭指数应 ≥10³。

6.2 电离辐射消毒:对短小杆菌芽胞 E6d(ATCC 27142)的杀灭指数应 ≥10³。

6.3 压力蒸汽消毒:对嗜热脂肪杆菌芽胞(ATCC 7953)的杀灭指数应 ≥10³。

7 测试方法

7.1 产品测试方法

7.1.1 产品外观:目测,应符合本标准 3.1 的规定。

7.1.2 产品毒理学测试方法:见附录 A。

7.1.3 产品微生物检测方法:见附录 B。

7.1.4 产品杀菌性能、抑菌性能与稳定性测试方法:见附录 C。

7.1.5 产品环氧乙烷残留量测试方法:见附录 D。

7.2 生产环境采样与测试方法:见附录 E。

7.3 消毒效果生物监测评价方法:见附录 F。

8 原材料卫生要求

8.1 原材料应无毒、无害、无污染;原材料包装应清洁,清楚标明内含物的名称、生产单位、生产日期或生产批号;影响卫生质量的原材料应不裸露;有特殊要求的原材料应标明保存条件和保质期。

8.2 对影响产品卫生质量的原材料应有相应检验报告或证明材料,必要时需进行微生物监控和采取相应措施。

8.3 禁止使用废弃的卫生用品作原材料或半成品。

9 生产环境与过程卫生要求

9.1 生产区周围环境应整洁,无垃圾,无蚊、蝇等害虫孳生地。

9.2 生产区应有足够空间满足生产需要,布局必须符合生产工艺要求,分隔合理,人、物分流,产品流程中无逆向与交叉。原料进入与成品出去应有防污染措施和严格的操作规程,减少生产环境微生物污染。

9.3 生产区内应配置有效的防尘、防虫、防鼠设施,地面、墙面、工作台面应平整、光滑、不起尘、便于除尘与清洗消毒,有充足的照明与空气消毒或净化措施,以保证生产环境满足本标准第 5 章的规定。

9.4 配置必需的生产和质检设备,有完整的生产和质检记录,切实保证产品卫生质量。

9.5 生产过程中使用易燃、易爆物品或产生有害物质的,必须具备相应安全防护措施,符合国家有关标准或规定。

9.6 原材料和成品应分开堆放,待检、合格、不合格原材料和成品应严格分开堆放并设明显标志。仓库内应干燥、清洁、通风,设防虫、防鼠设施与垫仓板,符合产品保存条件。

9.7 进入生产区要换工作衣和工作鞋,戴工作帽,直接接触裸装产品的人员需戴口罩,清洗和消毒双手或戴手套;生产区前应相应设有更衣室、洗手池、消毒池与缓冲区。

9.8 从事卫生用品生产的人员应保持个人卫生,不得留指甲,工作时不得戴手饰,长发应卷在工作帽内。痢疾、伤寒、病毒性肝炎、活动性肺结核、尖锐湿疣、淋病及化脓性或渗出性皮肤病患者或病原携带者不得参与直接与产品接触的生产活动。

9.9 从事卫生用品生产的人员应在上岗前及定期(每年一次)进行健康检查与卫生知识(包括生产卫生、个人卫生、有关标准与规范)培训,合格者方可上岗。

10 消毒过程要求

10.1 消毒级产品最终消毒必须采用环氧乙烷、电离辐射或压力蒸汽等有效消毒方法。所用消毒设备必须符合有关卫生标准。

10.2 根据产品卫生标准、初始污染菌与消毒效果生物监测评价标准制定消毒程序、技术参数、工作制度,经验证后严格按照既定的消毒工艺操作。该消毒程序、技术参数或影响消毒效果的原材料或生产工艺发生变化后应重新验证确定消毒工艺。

10.3 每次消毒过程必须进行相应的工艺(物理)和化学指示剂监测,每月用相应的生物指示剂监测,只有当工艺监测、化学监测、生物监测达到规定要求时,被消毒物品才能出厂。

10.4 产品经消毒处理后,外观与性能应与消毒处理前无明显可见的差异。

11 包装、运输与贮存要求

11.1 执行卫生用品运输或贮存的单位或个人,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。

11.2 直接与产品接触的包装材料必须无毒、无害、清洁,产品的所有包装材料必须具有足够的密封性和牢固性以达到保证产品在正常的运输与贮存条件下不受污染的目的。

12 产品标识要求

12.1 产品标识应符合《中华人民共和国产品质量法》的规定,并在产品包装上标明执行的卫生标准号以及生产日期和保质期(有效期)或生产批号和限定使用日期。

12.2 消毒级产品还应在销售包装上注明“消毒级”字样以及消毒日期和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”字样以及消毒单位与地址、消毒方法、消毒日期和有效期或消毒批号和限定使用日期。

附 录 A
(标准的附录)
产品毒理学测试方法

A1 各类产品毒理学测试指标

当原材料、生产工艺等发生变化可能影响产品毒性时,应按表 A1 根据不同产品种类提供有效的(经政府认定的第三方)成品毒理学测试报告。

表 A1

产 品 种 类	皮肤刺激试验	阴道粘膜刺激试验	皮肤变态反应试验
手套或指套、内裤	✓		✓
抗菌(或抑菌)液体产品	✓	根据用途选择 ¹⁾	✓
湿巾、卫生湿巾	✓	根据用途选择 ¹⁾	根据材料选择
口罩	✓		
妇女经期卫生用品		✓	✓
尿布等排泄物卫生用品	✓		✓
避孕套		✓	✓
1) 用于阴道粘膜的产品须做阴道粘膜刺激试验,但无须做皮肤刺激试验。			

A2 试验方法

皮肤刺激试验、阴道粘膜刺激试验和皮肤变态反应试验方法按卫生部《消毒技术规范》(第三版)第一分册《实验技术规范》(1999)中的“消毒剂毒理学实验技术”中相应的试验方法进行。

固体产品的样品制备方法按照 A3 进行。

注

- 1 用于皮肤刺激试验中的空白对照应为:生理盐水和斑贴纸。
- 2 在皮肤变态反应中,致敏处理和激发处理所用的剂量保持一致。

A3 样品制备

A3.1 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的产品。对于干的产品,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。湿的产品,如湿巾,则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。

A3.2 阴道粘膜刺激试验

A3.2.1 干的产品(如妇女经期卫生用品)

以横断方式剪取足够量的产品,按 1 g/10 mL 的比例加入灭菌生理盐水,密封于萃取容器中搅拌后置于 37℃±1℃下放置 24 h。冷却到室温,搅拌后析取样液备检。

A3.2.2 湿的产品(如卫生湿巾)

在进行阴道粘膜刺激试验的当天,挤出湿巾里的添加液作为试样。

A4 判定标准

以卫生部《消毒技术规范》(第三版)第一分册《实验技术规范》(1999)中“毒理学试验结果的最终判

定”的相应部分作为试验结果判定原则。

附 录 B

(标准的附录)

产品微生物检测方法

B1 产品采集与样品处理

于同一批号的三个运输包装中至少抽取 12 个最小销售包装样品,1/4 样品用于检测,1/4 样品用于留样,另 1/2 样品(可就地封存)必要时用于复检。抽样的最小销售包装不应有破裂,检验前不得启开。

在 100 级净化条件下用无菌方法打开用于检测的至少 3 个包装,从每个包装中取样,准确称取 10 g ± 1 g 样品。剪碎后加入到 200 mL 灭菌生理盐水中,充分混匀,得到一个生理盐水样液。液体产品用原液直接做样液。

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。

B2 细菌菌落总数与初始污染菌检测方法

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。

B2.1 操作步骤

待上述生理盐水样液自然沉降后取上清液作菌落计数。共接种 5 个平皿,每个平皿中加入 1 mL 样液,然后用冷却至 45℃ 左右的熔化的营养琼脂培养基 15~20 mL 倒入每个平皿内混合均匀。待琼脂凝固后翻转平皿置 35℃ ± 2℃ 培养 48 h 后,计算平板上的菌落数。

B2.2 结果报告

菌落呈片状生长的平板不宜采用;计数符合要求的平板上的菌落,按式(B1)计算结果:

$$X_1 = A \times \frac{K}{5} \quad \dots\dots\dots (B1)$$

式中: X_1 ——细菌菌落总数,cfu/g 或 cfu/mL;

A ——5 块营养琼脂培养基平板上的细菌菌落总数;

K ——稀释度。

当菌落数在 100 以内,按实有数报告,大于 100 时采用二位有效数字。

如果样品菌落总数超过本标准的规定,按 B2.3 进行复检和结果报告。

B2.3 复检方法

将留存的复检样品依前法复测 2 次,2 次结果平均值都达到本标准的规定,则判定被检样品合格;其中有任何 1 次结果平均值超过本标准规定,则判定被检样品不合格。

B3 大肠菌群检测方法

B3.1 操作步骤

取样液 5 mL 接种 50 mL 乳糖胆盐发酵管,置 35℃ ± 2℃ 培养 24 h,如不产酸也不产气,则报告为大肠菌群阴性。

如产酸产气,则划线接种伊红美蓝琼脂平板,置 35℃ ± 2℃ 培养 18~24 h,观察平板上菌落形态。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。

取疑似菌落 1~2 个作革兰氏染色镜检,同时接种乳糖发酵管,置 35℃ ± 2℃ 培养 24 h,观察产气

情况。

B3.2 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,在伊红美蓝平板上有典型大肠菌落,革兰氏染色为阴性无芽胞杆菌,可报告被检样品检出大肠杆菌。

B4 绿脓杆菌检测方法

B4.1 操作步骤

取样液 5 mL,加入到 50 mL SCDLP 培养液中,充分混匀,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 h。如有绿脓杆菌生长,培养液表面呈现一层薄菌膜,培养液常呈黄绿色或蓝绿色。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板,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 h,观察菌落特征。绿脓杆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,其他菌不长。

取可疑菌落涂片作革兰氏染色,镜检为革兰氏阴性菌者应进行下列试验:

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。

绿脓菌素试验:取 2~3 个可疑菌落,分别接种在绿脓菌素测定用培养基斜面, $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,加入三氯甲烷 3~5 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 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。

硝酸盐还原产气试验:挑取被检菌落纯培养物接种在硝酸盐胨水培养基中,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,培养基小倒管中有气者即为阳性。

明胶液化试验:取可疑菌落纯培养物,穿刺接种在明胶培养基内,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,取出放于 $4 \sim 10^{\circ}\text{C}$,如仍呈液态为阳性,凝固者为阴性。

42℃ 生长试验:取可疑培养物,接种在普通琼脂斜面培养基上,置 42°C 培养 24~48 h,有绿脓杆菌生长为阳性。

B4.2 结果报告

被检样品经增菌分离培养后,证实为革兰氏阴性杆菌,氧化酶及绿脓杆菌试验均为阳性者,即可报告被检样品中检出绿脓杆菌。如绿脓菌素试验阴性而液化明胶、硝酸盐还原产气和 42°C 生长试验三者皆为阳性时,仍可报告被检样品中检出绿脓杆菌。

B5 金黄色葡萄球菌检测方法

B5.1 操作步骤

取样液 5 mL,加入到 50 mL SCDLP 培养液中,充分混匀,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h。

自上述增菌液中取 1~2 接种环,划线接种在血琼脂培养基上,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 24~48 h。在血琼脂平板上该菌菌落呈金黄色,大而突起,圆形,不透明,表面光滑,周围有溶血圈。

挑取典型菌落,涂片作革兰氏染色镜检,金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性球菌,排列成葡萄状,无芽胞与荚膜。镜检符合上述情况,应进行下列试验:

甘露醇发酵试验:取上述菌落接种甘露醇培养液,置 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,发酵甘露醇产酸者为阳性。

血浆凝固酶试验:玻片法:取清洁干燥载玻片,一端滴加一滴生理盐水,另一端滴加一滴兔血浆,挑取菌落分别与生理盐水和血浆混合,5 min 如血浆内出现团块或颗粒状凝块,而盐水滴仍呈均匀混浊无凝固则为阳性,如两者均无凝固则为阴性。凡盐水滴与血浆滴均有凝固现象,再进行试管凝固酶试验;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 35℃±2℃温箱或水浴中,每半小时观察一次,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。

B5.2 结果报告

凡在琼脂平板上有可疑菌落生长,镜检为革兰氏阳性葡萄球菌,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。

B6 溶血性链球菌检测方法

B6.1 操作步骤

取样液 5 mL 加入到 50 mL 葡萄糖肉汤,35℃±2℃培养 24 h。

将培养物划线接种血琼脂平板,35℃±2℃培养 24 h 观察菌落特征。溶血性链球菌在血平板上为灰白色,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。

挑取典型菌落作涂片革兰氏染色镜检,应为革兰氏阳性,呈链状排列的球菌。镜检符合上述情况,应进行下列试验:

链激酶试验:吸取草酸钾血浆 0.2 mL(0.01 g 草酸钾加 5 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 35℃±2℃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。

杆菌肽敏感试验:将被检菌液涂于血平板上,用灭菌镊子取每片含 0.04 单位杆菌肽的纸片放在平板表面上,同时以已知阳性菌株作对照,在 35℃±2℃下放置 18~24 h,有抑菌带者为阳性。

B6.2 结果报告

镜检革兰氏阳性链状排列球菌,血平板上呈现溶血圈,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。

B7 真菌菌落总数检测方法

B7.1 操作步骤

待上述生理盐水样液自然沉降后取上清液作真菌计数。共接种 5 个平皿,每个平皿中加入 1 mL 样液,然后用冷却至 45℃左右的熔化的沙氏琼脂培养基 15~25 mL 倒入每个平皿内混合均匀,琼脂凝固后翻转平皿置 25℃±2℃培养 7 天,分别于 3、5、7 天观察,计算平板上的菌落数,如果发现菌落蔓延,以前一次的菌落计数为准。

B7.2 结果报告

菌落呈片状生长的平板不宜采用;计数符合要求的平板上的菌落,按式(B2)计算结果:

$$X_2 = B \times \frac{K}{5} \quad \dots\dots\dots (B2)$$

式中: X_2 ——真菌菌落总数,cfu/g 或 cfu/mL;

B ——5 块沙氏琼脂培养基平板上的真菌菌落总数;

K ——稀释度。

当菌落数在 100 以内,按实有数报告,大于 100 时采用二位有效数字。

如果样品菌落总数超过本标准的规定,按 B7.3 进行复检和结果报告。

B7.3 复检方法

将留存的复检样品依前法复测 2 次,2 次结果都达到本标准的规定,则判定被检样品合格;其中有任何 1 次结果超过本标准规定,则判定被检样品不合格。

B8 真菌定性检测方法**B8.1 操作步骤**

取样液 5 mL 加入到 50 mL 沙氏培养基中, 25℃±2℃培养 7 天, 逐日观察有无真菌生长。

B8.2 结果报告

培养管混浊应转种沙氏琼脂培养基, 证实有真菌生长, 可报告被检样品检出真菌。

附 录 C

(标准的附录)

产品杀菌性能、抑菌性能与稳定性测试方法**C1 样品采集**

为使样品具有良好的代表性, 应于同一批号三个运输包装中至少随机抽取 20 件最小销售包装样品, 其中 5 件留样, 5 件做抑菌或杀菌性能测试, 10 件做稳定性测试。

C2 试验菌与菌液制备**C2.1 试验菌**

C2.1.1 细菌: 金黄色葡萄球菌(ATCC 6538), 大肠杆菌(8099 或 ATCC 25922)。

C2.1.2 酵母菌: 白色念珠菌(ATCC 10231)。

菌液制备: 取菌株第 3~14 代的营养琼脂培养基斜面新鲜培养物(18~24 h), 用 5 mL 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(以下简称 PBS)洗下菌苔, 使菌悬浮均匀后用上述 PBS 稀释至所需浓度。

C3 杀菌性能试验方法

该试验取样部位, 根据被试产品生产者的说明而确定。

C3.1 中和剂鉴定试验

进行杀菌性能测试必须通过以下中和剂鉴定试验。

C3.1.1 试验分组

- 1) 染菌样片+5 mL PBS。
- 2) 染菌样片+5 mL 中和剂。
- 3) 染菌对照片+5 mL 中和剂。
- 4) 样片+5 mL 中和剂+染菌对照片。
- 5) 染菌对照片+5 mL PBS。
- 6) 同批次 PBS。
- 7) 同批次中和剂。
- 8) 同批次培养基。

C3.1.2 评价规定

- 1) 第 1 组无试验菌, 或仅有极少数试验菌菌落生长。
- 2) 第 2 组有较第 1 组为多, 但较第 3、4、5 组为少的试验菌落生长, 并符合要求。
- 3) 第 3、4、5 组有相似量试验菌生长, 并在 $1 \times 10^4 \sim 9 \times 10^4$ cfu/片之间, 其组间菌落数误差率应不超过 15%。
- 4) 第 6~8 组无菌生长。
- 5) 连续 3 次试验取得合格评价。

C3.2 杀菌试验

C3.2.1 操作步骤

将试验菌 24 h 斜面培养物用 PBS 洗下,制成菌悬液(要求的浓度为:用 100 μL 滴于对照样片上,回收菌数为 $1 \times 10^4 \sim 9 \times 10^4$ cfu/片)。

取被试样片(2.0 cm $\times$ 3.0 cm)和对照样片(与试样同质材料,同等大小,但不含抗菌材料,且经灭菌处理)各 4 片,分成 4 组置于 4 个灭菌皿内。

取上述菌悬液,分别在每个被试样片和对照样片上滴加 100 μL ,均匀涂布,开始计时,作用 2、5、10、20 min,用无菌镊分别将样片投入含 5 mL 相应中和剂的试管内,充分混匀,作适当稀释,然后取其中 2~3 个稀释度,分别吸取 0.5 mL,置于两个平皿,用凉至 40~45 $^{\circ}\text{C}$ 的营养琼脂培养基(细菌)或沙氏琼脂培养基(酵母菌)15 mL 作倾注,转动平皿,使其充分均匀,琼脂凝固后翻转平板,35 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h(细菌)或 72 h(酵母菌),作活菌菌落计数。

试验重复 3 次,按式(C1)计算杀菌率:

$$X_3 = (A - B)/A \times 100\% \quad \dots\dots\dots (C1)$$

式中: X_3 ——杀菌率, %;

A ——对照样品平均菌落数;

B ——被试样品平均菌落数。

C3.2.2 评价标准

杀菌率 $\geq 90\%$, 产品有杀菌作用。

C4 溶出性抗(抑)菌产品抑菌性能试验方法

C4.1 操作步骤

将试验菌 24 h 斜面培养物用 PBS 洗下,制成菌悬液(要求的浓度为:用 100 μL 滴于对照样片上或 5 mL 样液内,回收菌数为 $1 \times 10^4 \sim 9 \times 10^4$ cfu/片或 mL)。

取被试样片(2.0 cm $\times$ 3.0 cm)或样液(5 mL)和对照样片或样液(与试样同质材料,同等大小,但不含抗菌材料,且经灭菌处理)各 4 片(置于灭菌皿内)或 4 管。

取上述菌悬液,分别在每个被试样片或样液和对照样片或样液上或内滴加 100 μL ,均匀涂布/混合,开始计时,作用 2、5、10、20 min,用无菌镊分别将样片或样液(0.5 mL)投入含 5 mL PBS 的试管内,充分混匀,作适当稀释,然后取其中 2~3 个稀释度,分别吸取 0.5 mL,置于两个平皿,用凉至 40~45 $^{\circ}\text{C}$ 的营养琼脂培养基(细菌)或沙氏琼脂培养基(酵母菌)15 mL 作倾注,转动平皿,使其充分均匀,琼脂凝固后翻转平板,35 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h(细菌)或 72 h(酵母菌),作活菌菌落计数。

试验重复 3 次,按式(C2)计算抑菌率:

$$X_4 = (A - B)/A \times 100\% \quad \dots\dots\dots (C2)$$

式中: X_4 ——抑菌率, %;

A ——对照样品平均菌落数;

B ——被试样品平均菌落数。

C4.2 评价标准

抑菌率 $\geq 50\% \sim 90\%$, 产品有抑菌作用, 抑菌率 $\geq 90\%$, 产品有较强抑菌作用。

C5 非溶出性抗(抑)菌产品抑菌性能试验方法

C5.1 操作步骤

称取被试样片(剪成 1.0 cm $\times$ 1.0 cm 大小)0.75 g 分装包好。

将 0.75 g 重样片放入一个 250 mL 的三角烧瓶中,分别加入 70 mL PBS 和 5 mL 菌悬液,使菌悬液在 PBS 中的浓度为 $1 \times 10^4 \sim 9 \times 10^4$ cfu/mL。

将三角烧瓶固定于振荡摇床上,以 300 r/min 振摇 1 h。

取 0.5 mL 振摇后的样液,或用 PBS 做适当稀释后的样液,以琼脂倾注法接种平皿,进行菌落计数。

同时设对照样片组和不加样片组,对照样片组的对照样片与被试样片同样大小但不含抗菌成分,其他操作程序均与被试样片组相同,不加样片组分别取 5 mL 菌悬液和 70 mL PBS 加入一个 250 mL 三角烧瓶中,混匀,分别于 0 时间和振荡 1 h 后,各取 0.5 mL 菌悬液与 PBS 的混合液做适当稀释,然后进行菌落计数。

试验重复 3 次,按式(C3)计算抑菌率:

$$X_5 = (A - B)/A \times 100\% \quad \dots\dots\dots (C3)$$

式中: X_5 ——抑菌率, %;

A ——被试样品振荡前平均菌落数;

B ——被试样品振荡后平均菌落数。

C5.2 评价标准

不加样片组的菌落数在 $1 \times 10^4 \sim 9 \times 10^4$ 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;被试样片组抑菌率与对照样片组抑菌率的差值 $> 26\%$,产品具有抗菌作用。

C6 稳定性测试方法

C6.1 测试条件

C6.1.1 自然留样:将原包装样品置室温下至少 1 年,每半年进行抑菌或杀菌性能测试。

C6.1.2 加速试验:将原包装样品置 $54 \sim 57^\circ\text{C}$ 恒温箱内 14 天或 $37 \sim 40^\circ\text{C}$ 恒温箱内 3 个月,保持相对湿度 $> 75\%$,进行抑菌或杀菌性能测试。

C6.2 评价标准

产品经自然留样,其杀菌率或抑菌率达到附录 C3 或附录 C4、附录 C5 中规定的标准值,产品的杀菌或抑菌作用在室温下的保持时间即为自然留样时间。

产品经 54°C 加速试验,其杀菌率或抑菌率达到附录 C3 或附录 C4、附录 C5 中规定的标准值,产品的杀菌或抑菌作用在室温下至少保持一年。

产品经 37°C 加速试验,其杀菌率或抑菌率达到附录 C3 或附录 C4、附录 C5 中规定的标准值,产品的杀菌或抑菌作用在室温下至少保持二年。

附 录 D

(标准的附录)

产品环氧乙烷残留量测试方法

D1 测试目的

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。

D2 样品采集

环氧乙烷消毒后,立即从同一消毒批号的三个大包装中随机抽取一定量小包装样品,采样量至少应满足规定所需测定次数的量(留一定量在必要时进行复测用)。

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,直至残留量降至本标准 4.6 所规定的标准值以下。

D3 仪器与操作条件

仪器:气相色谱仪,氢焰检测器(FID)。

柱:Chromosorb 101 HP60~80 目;玻璃柱长 2 m, ϕ 3 mm。柱温:120℃。

检测器:150℃。

气化器:150℃。

载气量:氮气:35 mL/min。

氢气:35 mL/min。

空气:350 mL/min。

柱前压约为 108 kPa。

D4 操作步骤**D4.1 标准配制**

用 100 mL 玻璃针筒从纯环氧乙烷小钢瓶中抽取环氧乙烷标准气(重复放空二次,以排除原有空气),塞上橡皮头,用 10 mL 针筒抽取上述 100 mL 针筒中纯环氧乙烷标准气 10 mL,用氮气稀释到 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针筒中来完成)。用同样的方法根据需要再逐级稀释 2~3 次(稀释 1 000~10 000 倍),作三个浓度的标准气体。按环氧乙烷小钢瓶中环氧乙烷的纯度、稀释倍数和室温计算出最后标准气中的环氧乙烷浓度。

计算公式如下:

$$c = \frac{44 \times 10^6}{22.4 \times 10^3 \times k} \times \frac{273}{273 + t} \quad \dots\dots\dots (D1)$$

式中: c ——标准气体浓度, $\mu\text{g/mL}$;

k ——稀释倍数;

t ——室温,℃。

D4.2 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 2 g,放入萃取容器中,加入 5 mL 去离子水,充分摇匀,放置 4 h 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 样液。

D4.3 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(水溶液)各进样 2 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。

D4.4 计算

以所进环氧乙烷标准气的微克(μg)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 $A(\mu\text{g})$,并以式(D2)求得产品中环氧乙烷的残留量。

$$X = \frac{A}{\frac{m}{V_{(\text{萃})}} \times V_{(\text{进})}} \quad \dots\dots\dots (D2)$$

式中: X ——产品中环氧乙烷残留量, $\mu\text{g/g}$;

A ——从工作曲线中所查得环氧乙烷量, μg ;

m ——所取样品量, g;

$V_{(\text{萃})}$ ——萃取液体积, mL;

$V_{(进)}$ ——进样量, mL。

附 录 E
(标准的附录)
生产环境采样与测试方法

E1 空气采样与测试方法

E1.1 样品采集

在动态下进行。

室内面积不超过 30 m², 在对角线上设里、中、外三点, 里、外点位置距墙 1 m; 室内面积超过 30 m², 设东、西、南、北、中 5 点, 周围 4 点距墙 1 m。

采样时, 将含营养琼脂培养基的平板(直径 9 cm)置采样点(约桌面高度), 打开平皿盖, 使平板在空气中暴露 5 min。

E1.2 细菌培养

在采样前将准备好的营养琼脂培养基置 35℃±2℃培养 24 h, 取出检查有无污染, 将污染培养基剔除。

将已采集的培养基在 6 h 内送实验室, 于 35℃±2℃培养 48 h 观察结果, 计数平板上细菌菌落数。

E1.3 菌落计算

$$y_1 = \frac{A \times 50\,000}{S_1 \times t} \quad \dots\dots\dots (E1)$$

式中: y_1 ——空气中细菌菌落总数, cfu/m³;

A ——平板上平均细菌菌落数;

S_1 ——平板面积, cm²;

t ——暴露时间, min。

E2 工作台表面与工人手表面采样与测试方法

E2.1 样品采集

工作台: 将经灭菌的内径为 5 cm×5 cm 的灭菌规格板放在被检物体表面, 用一浸有灭菌生理盐水的棉签在其内涂抹 10 次, 然后剪去手接触部分棉棒, 将棉签放入含 10 mL 灭菌生理盐水的采样管内送检。

工人手: 被检人五指并拢, 用一浸湿生理盐水的棉签在右手指曲面, 从指尖到指端来回涂擦 10 次, 然后剪去手接触部分棉棒, 将棉签放入含 10 mL 灭菌生理盐水的采样管内送检。

E2.2 细菌菌落总数检测

将已采集的样品在 6 h 内送实验室, 每支采样管充分混匀后取 1 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 35℃±2℃培养 48 h, 计数平板上细菌菌落数。

$$y_2 = \frac{A}{S_2} \times 10 \quad \dots\dots\dots (E2)$$

$$y_3 = A \times 10 \quad \dots\dots\dots (E3)$$

式中: y_2 ——工作台表面细菌菌落总数, cfu/cm²;

A ——平板上平均细菌菌落数;

S_2 ——采样面积, cm²;

y_3 ——工人手表面细菌菌落总数, cfu/只手。

E2.3 致病菌检测

按本标准附录 B 进行。

附 录 F

(标准的附录)

消毒效果生物监测评价方法**F1 环氧乙烷消毒**

F1.1 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芽胞(ATCC 9372)。在菌量为 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu/片、环氧乙烷浓度为 $600 \text{ mg/L} \pm 30 \text{ mg/L}$ 、作用温度为 $54^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 、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 $2.5 \sim 5.8 \text{ min}$,存活时间 $\geq 7.5 \text{ min}$,杀灭时间 $\leq 58 \text{ min}$ 。

F1.2 每次测试至少布放 10 片生物指示剂,放于最难杀灭处。消毒完毕,取出指示菌片接种营养肉汤培养液作定性检测或接种营养琼脂培养基作定量检测,将未处理阳性对照菌片作相同接种,两者均置 $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 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 天全部无菌生长,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灭活指数达到 10^3 也可报告消毒合格。

F2 电离辐射消毒

F2.1 电离辐射消毒效果评价用生物指示菌为短小杆菌芽胞 E601(ATCC 27142),在菌量为 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu/片时,其杀灭 90% 微生物所需剂量 D_{10} 值应为 1.7 kGy 。

F2.2 每次测试至少选 5 箱,每箱产品布放 3 片生物指示剂,置最小剂量处。消毒完毕,取出指示菌片接种营养肉汤培养液作定性检测或接种营养琼脂培养基作定量检测,将未处理阳性对照菌片作相同接种,两者均置 $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 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 天全部无菌生长,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灭活指数达到 10^3 也可报告消毒合格。

F3 压力蒸汽消毒

参照 GB 15981—1995 的规定执行。

附 录 G

(标准的附录)

培养基与试剂制备**G1 营养琼脂培养基**

成分:

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL

制法：除琼脂外其他成分溶解于蒸馏水中，调 pH 至 7.2~7.4，加入琼脂，加热溶解，分装试管，121℃灭菌 15 min 后备用。

G2 乳糖胆盐发酵管

成分：

蛋白胨	20 g
猪胆盐(或牛、羊胆盐)	5 g
乳糖	10 g
0.04%溴甲酚紫水溶液	25 mL
蒸馏水	加至 1 000 mL

制法：将蛋白胨、胆盐及乳糖溶于水中，校正 pH 至 7.4，加入指示剂，分装每管 50 mL，并放入一个小倒管，115℃灭菌 15 min，即得。

G3 乳糖发酵管

成分：

蛋白胨	20 g
乳糖	10 g
0.04%溴甲酚紫水溶液	25 mL
蒸馏水	加至 1 000 mL

制法：将蛋白胨及乳糖溶于水中，校正 pH 至 7.4，加入指示剂，分装每管 10 mL，并放入一个小倒管，115℃灭菌 15 min，即得。

G4 伊红美蓝琼脂(EMB)

成分：

蛋白胨	10 g
乳糖	10 g
磷酸氢二钾	2 g
琼脂	17 g
2%伊红 Y 溶液	20 mL
0.65%美蓝溶液	10 mL
蒸馏水	加至 1 000 mL

制法：将蛋白胨、磷酸盐和琼脂溶解于蒸馏水中，校正 pH 至 7.1，分装于烧瓶内，121℃灭菌 15 min 备用，临用时加入乳糖并加热溶化琼脂，冷至 55℃，加入伊红和美蓝溶液摇匀，倾注平板。

G5 SCDLP 液体培养基

成分：

酪蛋白胨	17 g
大豆蛋白胨	3 g
氯化钠	5 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
卵磷脂	1 g
吐温 80	7 g

蒸馏水 1 000 mL

制法：将各种成分混合（如无酪蛋白胨和大豆蛋白胨可用日本多价胨代替），加热溶解，调 pH 至 7.2~7.3，分装，121℃灭菌 20 min，摇匀，避免吐温 80 沉于底部，冷至 25℃后使用。

G6 十六烷三甲基溴化铵培养液

成分：

牛肉膏	3 g
蛋白胨	10 g
氯化钠	5 g
十六烷三甲基溴化铵	0.3 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

制法：除琼脂外，上述各成分混合加热溶解，调 pH 至 7.4~7.6，然后加入琼脂，115℃灭菌 20 min，冷至 55℃左右，倾注平皿。

G7 绿脓菌素测定用培养基斜面

成分：

蛋白胨	20 g
氯化镁	1.4 g
硫酸钾	10 g
琼脂	18 g
甘油（化学纯）	10 g
蒸馏水	加至 1 000 mL

制法：将蛋白胨、氯化镁和硫酸钾加到蒸馏水中，加热溶解，调 pH 至 7.4，加入琼脂和甘油，加热溶解，分装试管，115℃灭菌 20 min，制成斜面备用。

G8 明胶培养基

成分：

牛肉膏	3 g
蛋白胨	5 g
明胶	120 g
蒸馏水	1 000 mL

制法：各成分加入蒸馏水中浸泡 20 min，加热搅拌溶解，调 pH 至 7.4，5 mL 分装于试管中，115℃灭菌 20 min，直立制成高层备用。

G9 硝酸盐蛋白胨水培养基

成分：

蛋白胨	10 g
酵母浸膏	3 g
硝酸钾	2 g
亚硝酸钠	0.5 g
蒸馏水	1 000 mL

制法：将蛋白胨与酵母浸膏加到蒸馏水中，加热溶解，调 pH 至 7.2，煮沸过滤后补足液量，加入硝酸

钾和亚硝酸钠溶解均匀,分装到加有小倒管的试管中,115℃灭菌 20 min 备用。

G10 血琼脂培养基

成分:

营养琼脂	100 mL
脱纤维羊血(或兔血)	10 mL

制法:将灭菌后的营养琼脂加热溶化,凉至 55℃左右,用无菌方法将 10 mL 脱纤维血加入后摇匀,倾注平皿置冰箱备用。

G11 甘露醇发酵培养基

成分:

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	5 g
甘露醇	10 g
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL

制法:将蛋白胨、氯化钠、牛肉膏加到蒸馏水中,加热溶解,调 pH 至 7.4,加入甘露醇和溴麝香草酚蓝混匀后,分装试管,115℃灭菌 20 min 备用。

G12 葡萄糖肉汤

成分:

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	5 g
葡萄糖	10 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:上述成分溶于蒸馏水中,调 pH 至 7.2~7.4,加热溶解,分装试管,121℃灭菌 15 min 后备用。

G13 兔血浆

制法:取灭菌 3.8%柠檬酸钠 1 份,兔全血 4 份,混匀静置,3 000 r/min 离心 5 min,取上清,弃血球。

G14 沙氏琼脂培养基

蛋白胨	10 g
葡萄糖	40 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

用 700 mL 蒸馏水将琼脂溶解,300 mL 蒸馏水将葡萄糖与蛋白胨溶解,混合上述两部分,摇匀后分装,115℃灭菌 15 min,即得。使用前,用过滤除菌方法加入 0.1 g/L 的氯霉素或者 0.03 g/L 的链霉素。

定性试验采用沙氏培养液,除不加琼脂外其他成分与制法同上。

G15 营养肉汤培养液

蛋白胨	10 g
-----	------

氯化钠	5 g
牛肉膏	3 g
蒸馏水	1 000 mL

调节 pH 使灭菌后为 7.2~7.4, 分装, 115℃ 灭菌 30 min, 即得。

G16 溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨水培养基

蛋白胨	10 g
葡萄糖	5 g
蒸馏水	1 000 mL

调节 pH 至 7.0~7.2, 加 2% 溴甲酚紫酒精溶液 0.6 mL, 115℃ 灭菌 30 min, 即得。

G17 革兰氏染色液

结晶紫染色液:

结晶紫	1 g
95%乙醇	20 mL
1%草酸铵水溶液	80 mL

将结晶紫溶解于乙醇中, 然后与草酸铵溶液混合。

革兰氏碘液:

碘	1 g
碘化钾	2 g
蒸馏水	300 mL

脱色剂

95%乙醇

复染液:

(1) 沙黄复染液:

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10 mL
蒸馏水	90 mL

将沙黄溶解于乙醇中, 然后用蒸馏水稀释。

(2) 稀石炭酸复红液:

称取碱性复红 10 g, 研细, 加 95%乙醇 100 mL, 放置过夜, 滤纸过滤。取该液 10 mL, 加 5%石炭酸水溶液 90 mL 混合, 即为石炭酸复红液。再取此液 10 mL, 加水 90 mL, 即为稀石炭酸复红液。

G18 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH7.2)

成分:

磷酸氢二钠	2.83 g
磷酸二氢钾	1.36 g
蒸馏水	1 000 mL