

中华人民共和国国家标准

GB/T 23164—2008

地毯抗微生物活性测定

Antimicrobial activity assessment of carpets

2008-12-30 发布

2009-09-01 实施

数码防伪

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

本标准修改采用美国 AATCC 174—2007《地毯抗微生物活性测定》。

本标准与 AATCC 174—2007 相比主要差异为：

——增加了一种可替代和选择的菌种：大肠杆菌 ATCC 29522；

——删除了 AATCC 174—2007 中第 27 章的“注释与参考”。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国地毯标准化技术委员会归口。

本标准负责起草单位：中国工艺美术协会地毯专业委员会。

本标准主要参加起草单位：天津市东方蓝宝地毯研究中心。

本标准主要起草人：张玉芬、李孝文、陈贵生、刘畅。

地毯抗微生物活性测定

1 范围

本标准规定了地毯产品抗微生物活性的测定方法。

本标准适用于新地毯的抗微生物活性的测定。

本标准亦适用于评估洗涤程序对有关地毯抗微生物活性(由相关方达成一致)效果的影响。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

活性 activity

抗微生物剂的效力。

2.2

抗菌剂 antibacterial agent

能够杀死细菌(杀菌剂)或者抑制细菌活性、生长或繁殖(抑菌剂)的化学药品。

2.3

抗真菌剂 antifungal agent

能够杀死或抑制真菌生长的化学药品。

2.4

抗微生物剂 antimicrobial agent

能杀死或抑制微生物生长的化学药品。

2.5

抗菌性 bacterial resistance

纺织品中抵抗可见细菌繁殖和由此伴随产生气味的能力。

2.6

防霉性 mildew resistance

纺织品材料暴露在适合微生物繁殖的条件下时,抵抗不可见真菌繁殖和由此伴随产生的讨厌的、发霉的气味的能力。

2.7

防腐性 rot resistance

纺织品材料抵抗因真菌在其表面和里面繁殖而导致降解的能力。

2.8

抑菌区 zone of inhibition

在琼脂培养基表面培养,将试样的边缘直接与琼脂表面接触后明显没有微生物生长的区域。抑菌区是试样上的抗微生物试剂扩散的结果。

3 安全预防措施

注意:本安全预防措施仅供参考。这些措施有助于测试过程,但未包含所有内容。在本测试方法中,使用者有责任在处理材料时采用安全和正确的技术,同时需向制造商咨询有关材料的详尽信息,如材料的安全参数和其他建议。

- 3.1 本测试只能由受过训练的专业人员完成。
- 3.2 本测试中所用的某些微生物会引起过敏或致病,因此应采取一切必要的合理预防措施来消除对试验人员以及相关环境中人员的危害。
- 3.3 应遵守良好的实验室规定。在所有的实验室区域内应佩戴安全眼镜。
- 3.4 必须谨慎使用所有化学试剂。
- 3.5 应在实验室附近安装洗眼或安全淋浴装置,以便于紧急情况下使用。
- 3.6 所有带有细菌的样品和测试材料,必须经过消毒灭菌后才能处理。
- 3.7 在这个过程中使用的化学药品暴露量不得超过有关规定。

4 试验方法

4.1 地毯抗菌活性的定性评价(单条划线法)

4.1.1 原理

测试地毯试样,包括相应的未经抗菌整理的相同材质的地毯控制样(控制样作为参照对比试样,如果有的话,但不是必须的),紧密地贴在营养琼脂上,营养琼脂预先用细菌培养物划线接种。经过培养后,测试样下面以及周围细菌未能生长的空白区域显示出试样的抗菌活性。应使用标准菌株进行接种,代表性的菌种是金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性)和肺炎杆菌(革兰氏阴性)。

4.1.2 测试菌种

- a) 金黄色葡萄球菌, ATCC 6538。
- b) 肺炎杆菌 ATCC 4352 或大肠杆菌 ATCC 29522。

注:也可选用同类的菌种。

4.1.3 培养基

适合的肉汤和/或琼脂培养基是营养肉汤、大豆胰蛋白胨和脑心浸液(BHI)。

a) 营养肉汤:

浓缩牛肉汁	3 g;
蛋白胨	5 g;
蒸馏水	1 000 mL。

- b) 加热煮沸使各个组分分散。用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值为 6.8(如果是准备好的脱水培养基,可以省略这一步)。
- c) 分装 10 mL 于普通微生物培养管(125 mm×17 mm)中,盖上塞子,在 103 kPa 下灭菌 15 min。
- d) 营养琼脂的制备:加 1.5% 的微生物培养琼脂于营养肉汤中。加热至煮沸,测 pH 值,用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值到 7.0~7.2。分装 15 mL 于普通微生物培养管中,盖上塞子,在 103 kPa 下灭菌 15 min。

4.1.4 测试菌种培养基的维护

4.1.4.1 用 4 mm 的接种环,每天将培养基转接到营养肉汤中,但不超过两周。每两个星期从存贮的培养物中重新转接一次。在 37 °C±2 °C 培养。

4.1.4.2 贮存的培养基用营养琼脂斜面维护。在 5 °C±1 °C 保存,一个月往新的琼脂上转接一次。

4.1.5 试样

4.1.5.1 用手剪或金属模具剪切试样(未灭菌)。试样可以剪成任何需要的尺寸。推荐将试样剪成 25 mm×50 mm 大小。

4.1.5.2 如果可能,应检测不含抗菌剂,使用相同工艺和材质的地毯试样作为对照。但是,这对本测试的有效性并不是必需的。

4.1.6 测试程序

4.1.6.1 如果想要得到测试耐久性的数据,地毯试样应该在洗涤前后进行测试,并采用有关双方达成

一致的洗涤方法。

4.1.6.2 将已灭菌的冷却到 $45\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的营养琼脂倒入直径 100 mm 的平底培养皿中,每个培养皿中倒入 $15.0\text{ mL}\pm 2.0\text{ mL}$ 培养琼脂,待冷却凝固后用于接种。

4.1.6.3 准备接种物。取 $1.0\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 经 24 h 培养的肉汤培养物加入装有 $9.0\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 灭菌蒸馏水的试管或小锥形瓶中搅拌,使之充分混合。

4.1.6.4 用 4 mm 接种环装满稀释好的接种物,转移到灭菌琼脂表面,在琼脂板的中间划一条长约 75 mm 长的种菌划线,划线时不要划破琼脂表面。

4.1.6.5 横向沿接种线轻轻将试样挤压,以确保其与琼脂表面紧密接触。为易于操作,也可用生物移片器或压舌片将试样压紧在琼脂表面,生物移片器或压舌片应先用火焰灼烧灭菌,并马上在空气中冷却后使用。分别使用单独的琼脂平板测试地毯的表面纤维和背衬。

4.1.6.6 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中培养 18 h~24 h。

4.1.7 评定与报告

4.1.7.1 观察经过培养的平板,确定试样下接种线上细菌生长被抑制的情况以及试样边缘以外清洁的抑菌区上的情况。试样周围抑菌区的宽度按式(1)计算:

$$W = \frac{T - D}{2} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

W——抑菌区的宽度,单位为毫米(mm);

T——试样及抑菌区总的宽度,单位为毫米(mm);

D——试样的宽度,单位为毫米(mm)。

4.1.7.2 为了建立可接受的抗菌活性,在接触区域中的试样下面不应有菌落存在。

4.1.7.3 抑菌区域的宽度尺寸不能作为抗菌活性的定量评价标准。

4.1.7.4 报告地毯洗涤前后的测试结果,洗涤次数由协商确定。

4.1.7.5 结果报告应注明抑菌区和试样下面细菌的生长情况。

4.1.8 精确度和偏差

本方法不会获得数据信息,所以精确度和偏差的描述不适用。

4.2 地毯抗菌活性的定量测定

4.2.1 原理

4.2.1.1 本测试方法提供了抗菌活性等级定量评定的程序。

4.2.1.2 在待测试的地毯上接种测试菌种。培养后,用已知量的溶液,通过震荡,将细菌从样品上洗涤下来,测定这个洗涤液中所含的细菌数量,从而计算出测试样使细菌减少的百分含量。

4.2.2 测试菌种

见 4.1.2。

4.2.3 培养基

见 4.1.3。

4.2.4 测试菌种培养基的维护

见 4.1.4。

4.2.5 试样

4.2.5.1 将待测地毯剪成直径约 48 mm 的圆片试样,将圆片试样放入 250 mL 带磨口塞的广口玻璃瓶中。地毯圆片应平铺在广口瓶底部。

4.2.5.2 用一个没有经接种处理的地毯确定地毯上的自带微生物含量。

4.2.5.3 测试前不要将地毯样品灭菌。

4.2.6 测试程序

4.2.6.1 如果想得到测试耐久性数据,地毯应在洗涤前后进行测试,并采用供需双方达成一致的洗涤方法。

4.2.6.2 用培养了 18 h~24 h,菌种浓度为 1×10^5 CFU~ 2×10^5 CFU(菌落生成单位)的肉汤细菌接种体,取 0.1 mL~0.5 mL 到预浸湿的地毯纤维上。测试菌种的稀释物可使用已灭菌的 0.85% 的生理盐水。如果在接触期间需要保持稳定的状态,也可用合适的灭菌缓冲液。但是如果要在地毯使用时的条件下进行测试,则用肉汤作为稀释媒介。地毯圆片可以预先浸入已灭菌的去离子水中或含有 0.05% 无杀菌渗透剂的水中预浸湿,然后用滤纸快速吸干。

4.2.6.3 用灭菌的移液管均匀地对地毯纤维接种,然后将接种的试样放入广口玻璃瓶。拧紧广口瓶盖,防止蒸发。

4.2.6.4 接种完后(0 接触时间)马上向广口瓶中加入 100 mL \pm 0.1 mL 的中和剂。中和剂含有能够中和特定抗菌地毯的成分,并能调节 pH 值为 6~8。

4.2.6.5 剧烈震动广口瓶 1 min,进行梯度稀释,然后涂在营养琼脂(或其他合适的)平板(涂两个平行样)上。一般稀释 10^0 、 10^1 和 10^2 比较合适。

4.2.6.6 将另外装有接种地毯圆片的广口瓶在 37 °C \pm 2 °C 条件下培养 6 h~24 h,也可不同的时间(例如 1 h 或 6 h),以获得在此接触期内试样表现出来的抗菌活性。

4.2.6.7 培养后,向装有整理过的地毯圆片广口瓶中加入 100 mL \pm 0.1 mL 中,剧烈震动 1 min,进行梯度稀释,然后涂在营养琼脂(或其他合适的)平板(涂两个平行样)上。对于整理过的测试样一般稀释 10^0 、 10^1 和 10^2 比较合适。对于未经抗菌整理的相同材质的控制试样(如果有的话,但不是必需的),需要根据培养时间的不同,稀释成不同的倍数。

4.2.6.8 所有的琼脂平板在 37 °C \pm 2 °C 的条件下培养 24 h。

4.2.7 评定和报告

4.2.7.1 报告每个试样所含的细菌数,而不是报告每毫升中和溶液中所含的细菌数。当稀释倍数为 10^0 ,菌数为 0 时,则在报告中表示为“少于 100”。

用下列公式之一计算测试样品处理后细菌的减少率:

$$R = \frac{B-A}{B} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$R = \frac{C-A}{C} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(3)$$

$$R = \frac{D-A}{D} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

R——细菌减少率, %;

A——在广口瓶中接种,并经过接触期培养后的经抗菌整理地毯上恢复的细菌数;

B——在广口瓶中接种后立即洗脱(0 接触时间)的,经抗菌整理地毯上的洗脱的细菌数;

C——在广口瓶接种后立即洗脱(0 接触时间)的,未经抗菌整理地毯对照样上洗脱的细菌数,如果 B 和 C 不同,取其较大值;如果 B 和 C 没有明显的不同,则取它们的平均值 $(B+C)/2$;

D—— $(B+C)/2$ 。

4.2.7.2 如果没有未经抗菌整理的控制地毯样,可用式(5)计算,该公式适用于可能影响测试的各种背景微生物:

$$B_g = \frac{(B-E) - (A-F)}{B-E} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中:

B_g ——背景细菌;

E——从未接种的整理地毯试样上洗脱下来的初始细菌数(存在背景菌数);

F——未接种的经预湿处理的测试地毯样,放入广口瓶中经过接触期培养后洗脱所得菌数(接触期培养后存在背景菌数)。

4.2.7.3 测试样合格的技术指标应由有关各方协商一致确定。

4.2.7.4 报告中写明所用的稀释溶液。

4.2.7.5 报告地毯洗涤前后的测试结果,洗涤次数由供需双方协商确定。

4.2.8 精确度和偏差

实验室内标准平板计数法的精确度:

a) 不同的实验者间偏差 18%;

b) 同一实验者偏差 8%。

4.3 地毯材料抗真菌活性评定(地毯材料的防霉防腐)

4.3.1 原理

地毯经过普通真菌在琼脂培养基上生长,对地毯进行评定。

4.3.2 试样

从样品上裁剪直径为 $38.0\text{ mm} \pm 1.0\text{ mm}$ 的圆片。如果考虑了抑菌区预期的尺寸,也可以采用其他形状和尺寸。

4.3.3 测试程序

4.3.3.1 如果需要得到测试耐久性的数据,根据有关方面认可的方法在地毯洗涤前后进行测试,并采用有关双方达成一致的洗涤方法。

4.3.3.2 真菌:黑曲霉,ATCC 6275 或同类的菌种。

4.3.3.3 培养基:沙氏葡萄糖琼脂。

4.3.3.4 接种体:从一支在沙氏葡萄糖琼脂上生长成熟的(培养了 7 d~14 d),长满孢子的黑曲霉的斜面刮下一些碎屑,将碎屑加入到已灭菌的锥形瓶,瓶中装有 $50\text{ mL} \pm 2\text{ mL}$ 已灭菌的水和玻璃珠。剧烈震荡,形成孢子悬浮液。借助血球计或彼得罗夫-霍瑟计数器,用无菌去离子水将接种体稀释到每毫升含 100 万个孢子。

4.3.3.5 培养:将 $1.0\text{ mL} \pm 0.1\text{ mL}$ 接种体分布在琼脂表面,将地毯圆片浸入灭菌的去离子水或含有 0.05% 非离子润湿剂的水中,预浸湿地毯纤维,然后用滤纸快速吸干。用灭菌移液管吸取 0.2 mL 真菌孢子接种体,均匀分散在每个圆片上,将各个地毯试样分别绒面朝上和绒面朝下放入单独的培养皿中进行接种,接种的平板在 $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d,也可以培养更长的时间,以确定抗真菌活性。

4.3.4 评定和报告

4.3.4.1 对于试样绒头朝下,背面朝上的平板,观察并测量绒头纤维产生的抑菌区尺寸(mm),并记录背面真菌的生长情况。

4.3.4.2 对于另一块试样背面朝下,绒头朝上的平板,观察并测量背面产生的抑菌区尺寸(mm),并记录绒头一面真菌生长情况。

4.3.4.3 评定方案

观察试样上的真菌生长情况:

a) 无真菌生长(如果存在抑菌区,报告其尺寸,单位为毫米);

b) 显微镜可见(只有在显微镜下才能看见真菌生长);

c) 肉眼可见(肉眼能看到真菌生长)。

4.3.5 精确度和偏差

由于本方法不会产生数据信息,所以精确度和偏差的描述不适用。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
地 毯 抗 微 生 物 活 性 测 定
GB/T 23164—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

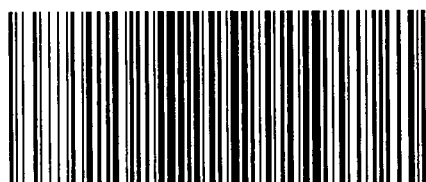
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 11 千字
2009年4月第一版 2009年4月第一次印刷

*

书号: 155066·1-36503 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 23164—2008