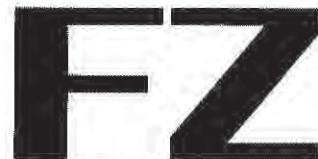


ICS 59.080.30
W 63



中华人民共和国纺织行业标准

FZ/T 73023—2006

抗菌针织品

Antibacterial knitwear

2006-03-07 发布

2006-08-01 实施



中华人民共和国国家发展和改革委员会 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 产品分类及品种规格	1
5 要求	2
6 试验方法	2
7 检验规则	3
8 包装和标志	3
附录 A (规范性附录) 标准空白样	4
附录 B (规范性附录) 标准洗涤剂	5
附录 C (规范性附录) 抗菌织物试样洗涤试验方法	6
附录 D (规范性附录) 抗菌织物测试方法	7
附录 E (规范性附录) 抗菌物质的溶出性测试方法 晕圈法	14

前　　言

本标准用于天然纤维、化学纤维以及混纺纤维制成的抗菌针织品的质量评价。

本标准是在消化吸收国外最新研究成果并结合国内专家学者经验的基础上,通过国内多家测试机构大量的实验验证而制定。

本标准将抗菌针织品按耐洗涤次数及考核菌种不同分为 A 级、AA 级、AAA 级三个抗菌级别,其中 A 级产品耐洗涤次数考核指标为 10 次、考核菌种为金黄色葡萄球菌,并规定了相应的抑菌率考核指标;AA 级产品耐洗涤次数考核指标为 20 次、AAA 级产品耐洗涤次数考核指标 50 次,考核菌种为金黄色葡萄球菌、大肠杆菌(或肺炎杆菌)、白色念珠菌,特殊情况下另行增加考核菌种,并规定了相应的抑菌率考核指标。

参照 GB 7919《化妆品安全性评价程序和方法》及 GB 18401《国家纺织产品基本安全技术规范》,本标准规定了抗菌针织品及所用抗菌物质的安全性的考核要求。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E 均为规范性附录。

本标准由中国针织工业协会提出。

本标准由全国纺织品标准化技术委员会针织品分会归口。

本标准负责起草单位:深圳市北岳海威化工有限公司、武汉市疾病预防控制中心、中国人民解放军总装备部航天医学工程研究所、广东省微生物分析检测中心、中国针织工业协会。

本标准参加起草单位:上海三枪集团有限公司、江苏 AB 集团有限公司、北京李宁体育用品有限公司、上海帕兰朵高级服饰有限公司、浙江浪莎袜业有限公司。

本标准主要起草人:邹海清、王俊起、王友斌、郑华英、白树民、欧阳友生、李晓聪。

抗 菌 针 织 品

1 范围

本标准规定了抗菌针织品的要求、试验方法、检验规则及包装、标志。

本标准适用于天然纤维、化学纤维以及混纺纤维制成的抗菌针织品。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 4856 针棉织品包装

GB 5296.4 消费品使用说明 纺织品和服装使用说明

GB 7919 化妆品安全性评价程序和方法

GB/T 8629—2001 纺织品 试验用家庭洗涤及干燥程序

GB 18401—2003 国家纺织产品基本安全技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

抗菌纤维 antibacterial fiber

含有抗菌物质且具有抗菌功能的化学纤维。

3.2

抗菌整理 antibacterial finish

运用抗菌物质对纺织品进行处理，使其具有抗菌功能的染整加工过程。

3.3

抗菌整理剂 antibacterial finishing agent

用作纺织品抗菌整理的抗菌物质。按其在织物纤维上的溶出特性可分为两大类：溶出型抗菌整理剂与非溶出型抗菌整理剂。

3.4

抗菌针织品 antibacterial knitwear

经过抗菌整理或含有抗菌纤维，能够抑制织物上的细菌、真菌生长、繁殖或使其失去活性功能的针织品。

4 产品分类及品种规格

4.1 按纤维原料，可将产品分为天然纤维、化学纤维以及混纺纤维针织品。

4.2 按产品结构，可将产品分为局部镶嵌或贴补抗菌织物的针织品、整体由抗菌织物构成的针织品。

4.3 按产品用途，可将产品分为针织内衣、内裤、运动衣、T恤衫、袜子、帽子、文胸、腹带、泳装等针织品以及各种针织面料。

4.4 各类产品的品种规格按相应针织品正在使用的国家标准或行业标准规定执行。

5 要求

抗菌针织品的要求分为内在质量、外观质量、抗菌效果及安全性四个方面。

5.1 内在质量及外观质量

应符合相应针织品正在使用的国家标准或行业标准。

5.2 抗菌效果

5.2.1 试验标准菌株：

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)或大肠杆菌(ATCC 25922)、肺炎杆菌(ATCC 4352)；

真菌：白色念珠菌(ATCC 10231)。

5.2.2 抗菌针织品按耐水洗次数及考核菌种的不同分为A级、AA级及AAA级三个抗菌级别。对测试菌种的抑菌率指标要求见表1。表1的抑菌率指标应在本标准附录A、附录B、附录C中规定的标准空白样¹⁾、标准洗涤剂¹⁾和抗菌织物试样洗涤方法条件下,用本标准附录D中规定的试验方法测试。

表1 抗菌针织品的抑菌率指标

抗菌级别	水洗次数	抑菌率/ (%)		
		金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	白色念珠菌
A级	10	≥99	不考核	不考核
AA级	20	≥80	≥70	≥60
AAA级	50	≥80	≥70	≥60

5.2.3 对肺炎杆菌(ATCC 4352),可由供需双方根据产品用途另行商定洗涤次数及抑菌率指标。若无约定,则参照大肠杆菌在相同洗涤次数的抑菌率指标执行。

5.2.4 根据产品用途可增加或采用另外的测试菌种,由供需双方另行商定洗涤次数及抑菌率指标,但在报告书中应注明试验方法。

5.2.5 用户可根据产品的性能,选择本标准附录D中的一种试验方法,测试抑菌率。

5.3 安全性

5.3.1 抗菌针织品所应用的抗菌物质必须经相关部门批准;具有有资质单位的检测报告(抗菌物质化学含量检测方法、急性口服毒性、皮肤刺激性、眼刺激性、致突变性以及与其产品要求相对应的试验报告);抗菌物质生产厂家提供的使用说明,按厂家的功能宣传,应该出示与其功能宣传相对应的试验内容的检测报告。

5.3.2 抗菌针织品所应用的抗菌物质的溶出物对皮肤的刺激性及致过敏性,按GB 7919做人体斑贴试验为阴性。

5.3.3 抗菌针织品应符合GB 18401—2003的要求。

5.3.4 抗菌针织品所应用的抗菌物质的溶出性指标:抗菌织物洗涤一次后,抑菌圈宽度 $D \leqslant 5$ mm。

6 试验方法

6.1 内在质量及外观质量检验

各类抗菌针织品的内在质量及外观质量的试验方法,按相应针织品正在使用的国家标准或行业标准规定执行。

6.2 抗菌效果检验

6.2.1 按本标准附录D中的奎因法、吸收法或振荡法检验。

1) 标准洗涤剂及标准空白样由国家授权的机构或单位统一发放。

6.2.2 A 级产品仲裁检验方法按本标准附录 D 中的吸收法执行。

6.2.3 AA 级产品及 AAA 级产品仲裁检验方法按本标准附录 D 中的振荡法执行。

6.3 抗菌针织品所应用的抗菌物质的溶出性检验

按本标准附录 E 所示晕圈法执行。

7 检验规则

7.1 各类抗菌针织品的抽样数量及规则,除按相应针织品正在使用的国家标准或行业标准执行外,在抽样中,再随机抽取约 200 g 抗菌织物样品用于抗菌效果检测及抗菌物质的溶出性检测。

7.2 各类抗菌针织品的内在质量及外观质量,按相应针织品正在使用的国家标准或行业标准进行评价。

7.3 各类抗菌针织品按 GB 18401—2003 中的规定,评价是否符合要求。

7.4 由国家具有资质的单位出具的相关检测报告,评价抗菌针织品所应用的抗菌物质。

7.5 由国家具有资质的单位出具的人体斑贴试验的检测报告,评价抗菌针织品所用的抗菌物质的溶出物对皮肤的刺激性及致过敏性。

7.6 随机抽取的抗菌织物样品,按本标准表 1 规定的抑菌率指标,评价抗菌效果。

7.7 随机抽取的抗菌织物样品,按本标准 5.3.4 规定的指标,评价抗菌物质的溶出性。

7.8 所评价产品的各项指标全部符合 7.2、7.3、7.4、7.5、7.6 及 7.7 规定者,判定该产品为合格品;若有任一条不符合要求,则判定该产品为不合格品。

7.9 本检验规则如有未尽事宜,可由行业归口部门另订补充细则。

8 包装和标志

8.1 各类抗菌针织品包装按 GB/T 4856 执行。

8.2 各类抗菌针织品标志按 GB 5296.4 执行。

8.2.1 在各类抗菌针织品包装上应附有产品使用说明书形式的产品标志。在使用说明书中,应在显著位置标明产品的抗菌级别;应说明产品的抗菌性能、特点及使用注意事项等内容;仅在局部镶拼或贴补抗菌织物的产品应指明其部位。

8.2.2 各类抗菌针织品可在产品或包装的显著位置标注抗菌标志,也可以用吊牌形式在产品上悬挂特定的抗菌标志。

附录 A
(规范性附录)
标准空白样

A.1 标准空白样是十分重要的测试基准物,为便于比较,应采用统一的标准空白样。

A.2 标准空白样按下列工艺制备

纯棉针织坯布→煮炼(NaOH 15 g/L~20 g/L, 100℃, 浸比 1:6, 3 h)→水洗→酸洗→水洗→中和→水洗→漂白(H_2O_2 3 g/L~4 g/L, 100℃, pH 10.5~11, 浸比 1:6, 3 h)→热水洗(60℃~80℃)→水洗→烘干→检验。

注:上述工艺为工厂常用的常压漂白工艺,织物上的杂质及油污必须充分去除,使其具有良好的外观及吸水性。一般情况下,用此工艺制备的织物,往往还要按附录 C 所示洗涤方法,不加洗涤剂,对其进行 5 次~10 次洗涤后,才能得到合格的标准空白样。

A.3 检验方法

按本标准附录 D 中的吸收法做细菌生长试验,接种培养 18 h 后应可以达到生长活菌数 $M_b > 10^7$ cfu/片,否则不合格,不能作为标准空白样。



附录 B
(规范性附录)
标准洗涤剂

B.1 提示

本标准洗涤剂,参照 GB/T 8629—2001 的附录 A 所规定的 AATCC 1993 标准洗涤剂 WOB 无磷配方制定。

B.2 成分	比例/(%)
直链烷基苯磺酸钠(LAS)	18.00
固体硅铝酸钠	25.00
碳酸钠	18.00
固体硅酸钠	0.50
硫酸钠	22.13
聚乙二醇	2.76
聚丙烯酸钠	3.50
有机硅消泡剂	0.04
水分	10.00
杂质	0.07
总和	100

注:按上述配方制成的粉状洗涤剂不够均匀,可再另加 40 份蒸馏水或去离子水将各组分充分溶解,加热并混匀,制成约为上述配方 71% 浓度的浆状物,使用时用量增加 1.4 倍,配制量至少 1 L。

附录 C
(规范性附录)
抗菌织物试样洗涤试验方法

C. 1 提示

为了正确评价织物抗菌性能的耐久性,需要规范的洗涤试验方法,才可使后续的抗菌性能测试结果具有良好的可比性。本方法参照日本标准 JIS L 0217 的 103 方法及 GB/T 8629 制定。

C. 2 设备和材料

C. 2. 1 洗衣机:小型家用双桶(即洗衣桶、脱水桶)洗衣机,其波轮直径约 34 cm,转速约 290 r/min。市售各种型号家用双桶洗衣机的波轮尺寸及转速基本相同,选洗衣桶容积在 40 L~80 L 范围内的一种型号即可。

C. 2. 2 洗涤剂:本标准附录 B 所规定的洗涤剂。

C. 2. 3 陪洗织物:由若干块两层 100% 的涤纶针织物或涤棉混纺机织物组成,其单位面积质量约为试验织物单位面积质量的±25%,每块尺寸为(30 cm±3 cm)×(30 cm±3 cm),两层织物的边缘应缝合在一起。

C. 3 标准化的洗涤条件及程序

C. 3. 1 洗涤程序参照 GB/T 8629—2001 搅拌型洗衣机-B 型洗衣机的洗涤程序中 7B 程序,将洗涤时间改为 5 min,此程序相当于日本标准 JIS L 0217 的 103 方法。

C. 3. 2 在家用双桶洗衣机中加入本标准附录 B 所规定的洗涤剂 2 g/L 及自来水,浴比 1:30,水温 40℃±3℃,投入试样,洗涤 5 min。然后,于常温下用自来水清洗。

C. 3. 3 第一遍清洗 2 min,取出织物,脱水 30 s,然后,于常温下用自来水进行第二遍清洗。

C. 3. 4 第二遍清洗 2 min,取出织物,脱水 30 s。

C. 3. 5 上述 C. 3. 2, C. 3. 3, C. 3. 4 三步为一个循环,计为洗涤 1 次。重复这三个步骤,直到预定的洗涤次数。为防止残留的洗涤剂干扰抗菌测试,注意最后一次洗涤采用大量的自来水将其彻底清除,然后将织物脱水后烘干,即可用于抗菌性能测试。

C. 4 简化的洗涤条件及程序

C. 4. 1 下述试验过程相当于 5 次洗涤(以 10 g 布样为例)。实际试验应根据试样按比例增加水量及洗涤剂):

C. 4. 1. 1 准备试样(10 g)和陪洗织物(90 g)。

C. 4. 1. 2 加 3 L 自来水(40℃±3℃)和 6 g 洗涤剂于洗衣机中。

C. 4. 1. 3 加入上述织物试样和陪洗织物。

C. 4. 1. 4 洗涤 25 min,排水。

C. 4. 1. 5 以 3 L 自来水注洗 2 min,然后取出织物,离心脱水 1 min,取出。

C. 4. 1. 6 再以 3 L 自来水注洗 2 min,然后取出织物,离心脱水 1 min,取出。

C. 4. 2 上述 C. 4. 1. 2, C. 4. 1. 3, C. 4. 1. 4, C. 4. 1. 5, C. 4. 1. 6 这几个步骤为一个循环,计为洗涤 5 次。重复这几个步骤,直到预定的洗涤次数。为防止残留的洗涤剂干扰抗菌测试,注意最后一个循环采用大量的自来水将其彻底清除,然后将织物脱水后烘干,即可用于抗菌性能测试。

附录 D
(规范性附录)
抗菌织物测试方法

D.1 安全提示

本试验所采用的细菌都是能使人感染并致病的细菌,因此必须采用一切必要的预防措施,以免除对实验室人员和周围环境及有关人员的危害。试验应由在微生物检测技术方面训练有素且有经验的人员从事。并且,试验者应高度注意消毒及无菌操作,防止试样被杂菌污染。

D.2 仪器和试剂

D.2.1 仪器

- D.2.1.1 恒温振荡器(摇床),温控精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- D.2.1.2 生化培养箱,温控精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- D.2.1.3 高压蒸汽消毒器(简称灭菌锅)。
- D.2.1.4 天平,感量为 $\pm 0.01\text{ g}$ 。
- D.2.1.5 生物安全柜或 100 级层流超净工作台。
- D.2.1.6 5°C~10°C 玻璃门冷藏箱。
- D.2.1.7 保存菌种用冰箱。
- D.2.1.8 40~100 倍体式显微镜。
- D.2.1.9 涡流振动器。

D.2.2 器皿

- D.2.2.1 三角形烧瓶,容量为 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1 000 mL。
- D.2.2.2 生化培养皿(简称平皿),皿底直径为 9 cm。
- D.2.2.3 定量刻度吸管,容量为 0.2 mL, 0.5 mL, 1 mL 和 10 mL。
- D.2.2.4 试管, 15 mm×100 mm, 20 mm×100 mm。
- D.2.2.5 带密封盖的管形瓶, 直径 26 mm~30 mm, 容量为 30 mL~50 mL。
- D.2.2.6 酒精灯。
- D.2.2.7 4 mm 铂接种环。
- D.2.2.8 游标卡尺。

D.2.3 试剂

- D.2.3.1 蛋白胨,生化试剂。
- D.2.3.2 牛肉浸膏,生化试剂。
- D.2.3.3 琼脂,试剂级。
- D.2.3.4 葡萄糖,试剂级。
- D.2.3.5 氯化钠,分析纯。
- D.2.3.6 氢氧化钠,分析纯。
- D.2.3.7 磷酸氢二钠,分析纯。
- D.2.3.8 磷酸二氢钾,分析纯。
- D.2.3.9 吐温-80,分析纯。
- D.2.3.10 氯化三苯四氮唑(TTC),分析纯。

D.3 试验培养基溶液的配制

D.3.1 营养肉汤:精确称取3g牛肉膏和5g蛋白胨,加1000mL蒸馏水放到一只烧瓶中混和,彻底地溶解,再用0.1mol/L的氢氧化钠溶液将pH调至6.8±0.2(25℃)。如有需要,取其中一部分放到一支试管中,盖上棉塞,在103kPa,121℃灭菌15min。若不立刻使用,把它放在5℃~10℃的条件下保存。保存期不能超过一个月。

D.3.2 营养琼脂培养基:精确称取3g牛肉膏、5g蛋白胨和15g琼脂粉,加1000mL蒸馏水,放到一只烧瓶中混和,将烧瓶放于沸水浴中加热,充分地溶解,再用0.1mol/L氢氧化钠溶液将pH调至6.8±0.2,盖上棉塞,在103kPa,121℃灭菌15min。当稀释菌液时,把培养基的温度调整为45℃~46℃。若不立刻使用,把它放在5℃~10℃的条件下保存。保存期不能超过一个月。

D.3.3 沙氏琼脂培养基:精确称取40g葡萄糖、10g蛋白胨和20g琼脂粉,加1000mL蒸馏水,放到一只烧瓶中混和,将烧瓶放于沸水浴中加热,充分地溶解,再用0.1mol/L氢氧化钠溶液将pH调至5.6±0.2,盖上棉塞,在103kPa,121℃灭菌15min。当使用时,把培养基的温度调整为45℃~46℃。若不立刻使用,把它放在5℃~10℃的条件下保存。保存期不能超过一个月。

D.3.4 斜面培养基:向一支试管里面注入约10mL营养琼脂培养基(或沙氏琼脂培养基),盖上棉塞,在103kPa,121℃灭菌15min。灭菌后以与水平面大约15°的夹角放到无菌室中,使其凝固。当不立刻使用时,把它放在5℃~10℃条件下保存。当没有出现冷凝水时,可加热熔化它再一次凝固后使用。保存期不能超过一个月。

D.3.5 0.03mol/L PBS(磷酸盐)缓冲液:取磷酸氢二钠2.84g,磷酸二氢钾1.36g,蒸馏水1000mL,配成pH7.2~7.4的缓冲液。用250mL烧瓶分装后,在103kPa,121℃灭菌15min,备用。若不立刻使用,把它放在5℃~10℃的条件下保存。保存期不能超过一个月。

D.3.6 稀释用生理盐水:精确称取8.5g氯化钠,加1000mL蒸馏水,放到一只烧瓶中充分溶解。如有需要,取其中一部分放到试管中,在103kPa,121℃灭菌15min,备用。若不立刻使用,把它放在5℃~10℃的条件下保存。保存期不能超过一个月。

D.3.7 洗脱试样活菌用生理盐水:精确称取8.5g氯化钠,加1000mL蒸馏水,放到一只烧瓶中充分溶解,并加2g非离子表面活性剂吐温-80。如有需要,取其中一部分放入试管或三角形瓶中,在103kPa,121℃灭菌15min,备用。若不立刻使用,把它在5℃~10℃的条件下保存。保存期不能超过一个月。

D.4 试验菌种及菌种保存

D.4.1 试验标准菌株:金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、大肠杆菌(8099)、白色念珠菌(ATCC 10231)。

D.4.2 标准菌株的替代:可用大肠杆菌(ATCC 29522)或肺炎杆菌(ATCC 4352)代替大肠杆菌(8099)。

D.4.3 菌种转种及保存:储存的菌种每一个月应转种一次,转种次数不应超过10代。而且转种保存一个月或更长时间,不能用来下一次转种。菌种转种后放于5℃~10℃条件下保存。

D.5 接种菌液的制备

D.5.1 二步预培养程序制备细菌接种菌悬液:从3~10代的菌种试管斜面中取一接种环细菌,在平皿的营养琼脂培养基上划线,然后,在37℃±1℃,培养20h~24h。取营养肉汤20mL放入100mL三角形瓶中,用接种环从已培养20h~24h的平皿中挑一个典型的菌落,接种到营养肉汤中,在37℃±1℃,130r/min振荡培养18h~20h,即制成了接种菌悬液。此菌液用比浊法或稀释法测定,活菌数应达到 $1\times10^9\text{ cfu/mL}$ ~ $5\times10^9\text{ cfu/mL}$ 。此新鲜菌液不可放在冰箱内中保存,应在尽可能短的时间内进行后续的稀释接种操作,以保证接种菌的活性。

D.5.2 预培养程序制备白色念珠菌等真菌接种菌悬液：从3~10代的菌种中取一接种环，在另一支装有沙氏琼脂培养基试管斜面上划线，培养18 h~24 h，得新鲜培养物，再加5 mL 0.03 mol/L PBS缓冲液，反复吹吸，洗下新鲜菌苔，然后用5 mL吸管将洗液移至另一只无菌试管中，在手上振摇80次，使其均匀，即制成了接种菌悬液。此菌悬液用比浊法或稀释法测定，活菌数应达到 1×10^8 cfu/mL~ 5×10^8 cfu/mL。此新鲜菌液不可放在冰箱内中保存，应在尽可能短的时间内进行后续的稀释接种操作，以保证接种菌的活性。

D.6 抗菌织物的快速测试方法：奎因法

D.6.1 提示

本方法参照美国的Quinn Test法并作出适当改进，是一种比较简易和快速的测试方法，可用于细菌及部分真菌检测，适用于吸水性较好且颜色较浅的溶出型或非溶出型抗菌织物。未经抗菌处理织物试样是作为标准空白试样的参照物，如客户不能提供，则该试样的测试可省略。

D.6.2 试验准备

D.6.2.1 试样准备：各取抗菌织物试样、未经抗菌处理织物试样及由附录A制备的标准空白试样5~6块，试样尺寸为2.5 cm×2.5 cm，每种试样各用一块小纸片包好，在103 kPa、121℃灭菌15 min，备用。

D.6.2.2 接种菌液准备：将D.5.1制备的细菌悬液（或D.5.2真菌悬液），采用0.03 mol/L PBS溶液稀释，控制活菌数为 5×10^4 cfu/mL~ 1×10^5 cfu/mL（参考数值）。金黄色葡萄球菌上限，大肠杆菌及白色念珠菌取下限（活菌数太多培养后难以计数，太少培养后计数误差大）。对吸水性较差的试样，可在菌液中添加0.05%的非离子表面活性剂吐温-80，以利菌液吸收。若添加了表面活性剂，应在试验报告中注明。

D.6.2.3 半固体培养基准备：将1份营养琼脂培养基（或沙氏琼脂培养基）溶解于3份的蒸馏水内，即制成了半固体培养基，分装烧瓶，封口，在103 kPa、121℃灭菌15 min，备用。在营养琼脂培养基配制的半固体培养基中加入1/100000的氯化三苯四氮唑（TTC）染色剂，则细菌菌落为红色，十分便于观察。注意染色剂应在半固体培养基冷却至60℃左右时加入，随用随配，温度太高或放置时间太长染色剂会变质不稳定。在沙氏琼脂培养基配制的半固体培养基中不必加入TTC染色剂，因其不能使白色念珠菌等真菌染色。

D.6.3 试验操作

D.6.3.1 接种：在已消毒的空平皿里，分别放上抗菌织物试样、未经抗菌处理织物试样及标准空白试样，吸取已准备好的菌液0.1 mL，至少分5个点均匀地涂抹在每块试样上，应尽量使菌液吸收在布内。

D.6.3.2 干燥：在无杂菌污染的条件下，于37℃左右置于生化培养箱内，放置干燥1 h~3 h。注意，要让试样上已接种的菌液完全干透后，才可进行下一步的贴培养基操作，否则菌种可能会溢出试样外生长，造成计数误差。

D.6.3.3 贴试样：将营养琼脂培养基（或沙氏琼脂培养基）注入平皿内约15 mL，冷却。再将已干燥好的试样平贴在培养基上，用无菌镊子轻压样片，使其紧贴于培养基表面。每个平皿内可贴一块标准空白试样、一块抗菌织物试样及未经抗菌处理织物试样。每次试验做两个平皿的平行样。

D.6.3.4 覆盖半固体培养基：用吸管吸取半固体培养基0.3 mL~0.5 mL，将试样均匀覆盖，盖好平皿。

D.6.3.5 培养计数：将平皿倒置，放入培养箱中培养。金黄色葡萄球菌、大肠杆菌37℃±1℃培养24 h~36 h，即可用低倍显微镜观察菌落，计数。白色念珠菌培养温度37℃±1℃，应在24 h~36 h用低倍显微镜观察菌落，初步计数，48 h精确计数（72 h后往往长成片难以计数了）。其他菌种根据其特点确定培养温度及时间。当试样的菌落数为200时已难以准确读数，可将试样上1/4区域的菌落数数出，然后再乘以4倍得出菌落数。

D. 6.3.6 为降低误差,对同一试样至少应作三次平行测试,取平均值报告抑菌率。

D.6.4 试样抑菌率计算

试样抑菌率按式(D-1)计算。

$$Y = \frac{X_b - X_e}{X_e} \times 100\% \quad \dots \dots \dots \text{(D. 1)}$$

武中。

γ —抑菌率, %;

X_1 —标准空白试样菌落数平均值；

X_1 —抗菌织物试样或未经抗菌处理织物试样菌落数平均值。

D.6.5 试验有效性判断

当标准空白试样菌落数平均值 $200 \geq X_b \geq 50$ 时, 判定试验有效, 否则判定为无效, 要重新进行试验。

D.7 抗菌织物测试方法:吸收法

D. 7.1 提示

本方法参照日本标准 JIS L1902 及美国纺织化学家和染色家协会标准 AATCC 100 中的定量试验方法并作出适当改进,适用于溶出型抗菌织物,或吸水性较好且洗涤次数较少的非溶出型抗菌织物。未经抗菌处理织物试样是作为标准空白试样的参照物,如客户不能提供,则该试样的测试可省略。

D.7.2 试验准备

D.7.2.1 试样准备:精确称取 $0.4\text{ g}\pm0.05\text{ g}$,边长约 18 mm 的正方形叠起来作为一个试样。准备2个按附录A制备的标准空白试样,1个抗菌织物试样。另取1个未经抗菌处理织物试样,作阳性对照。做样时应小心,避免污染。

注1：2个标准空白布试样，其中1个用于“0”接触时间测试接种菌数量，另1个用于18 h 培养后测试生长菌数量。

D.7.2.2 试样灭菌：将试样分别放入管形瓶中，把管形瓶放入到一个网状金属篮子里，在篮子上面盖一层铝箔，并且各个管形瓶口用铝箔扎起来，把篮子放到灭菌锅里保持 103 kPa、121℃ 灭菌 15 min，让它自然冷却到 100℃，立即从灭菌锅里拿出来，拿走篮子上的铝箔，放到超净工作台上晾干 1 h，注意扎紧管形瓶口的铝箔，不让其松散。

注2：如果试样容易卷曲，取 $0.4\text{ g}\pm 0.05\text{ g}$ 试样，叠成约18 mm的正方形，用一段玻璃棒压在试样的上面，把它放入管形瓶里灭菌，或者做成 $0.4\text{ g}\pm 0.05\text{ g}$ 约18 mm的正方形，在其一端或两端用细线把它固定好，灭菌。

注3：如果是棉花或毛状物，放 $0.4\text{ g} \pm 0.05\text{ g}$ 到管形瓶里，压上一段玻璃棒，灭菌。

注4：如果是鉛線，把它们卷成 $0.4\text{ g} + 0.95\text{ g}$ 一束做成一個包狀，壓上一段玻璃棒，蓋著。

注5：如果是地梗或地蔓状物，剥剪下0.4 g±0.05 g，放到管形瓶里，压上一段玻璃棒，灭菌。

7.2.3 接种菌液的准备

→ 用吸管从量杯上倒

- a) 用接种于 D. 5.1 制备的细菌悬液平板计数 $0.5 \text{ mL}^{-1} \text{ mL}$ (参考数值。由此步骤调整接种活菌数目, 大肠杆菌取下限, 金黄色葡萄球菌取上限), 加入到装有 9 mL 营养肉汤的试管中, 充分混合均匀后吸取 1 mL, 加入到装有 9 mL 营养肉汤的试管中, 充分混合均匀后吸取 1 mL, 加入到装有 9 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液的试管中, 充分混合均匀后吸取 1 mL, 加入到装有 9 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液的试管中, 充分混合均匀。由此固定的四步稀释操作程序, 可将活菌数调整为 $0.7 \times 10^5 \text{ cfu/mL} \sim 1.5 \times 10^5 \text{ cfu/mL}$ (大肠杆菌取下限、金黄色葡萄球菌取上限), 用来对试样接种。此接种菌液中约含 1% 的营养肉汤, 用以提供试验菌的营养。此接种菌液不可放在冰箱里保存, 应尽快使用, 以保持接种菌的活性。
 - b) 用 0.03 mol/L PBS 缓冲液作为稀释液, 把 D. 5.2 制备的白色念珠菌悬液稀释成含活菌数 $1.0 \times 10^5 \text{ cfu/mL} \sim 1.3 \times 10^5 \text{ cfu/mL}$, 用来对试样接种。此接种菌液不可放在冰箱里保存, 应尽快使用, 以保持接种菌的活性。

D.7.3 试验操作

D.7.3.1 试样接种：用一支吸管精确地吸取已准备好的接种菌液 0.2 mL，接种到已准备好的试样上面，在试样上均匀地以几个点滴上接种菌液，并把管形瓶盖子扎紧。

注 6：当试样拒水、难于浸渍接种液时，可在接种菌液中另加入 0.05% 非离子表面活性剂。如果加了表面活性剂，应记载在试验报告里。

D.7.3.2 试样培养：培养管形瓶里已接种的试样（3 个标准空白试样、3 个抗菌织物试样及 3 个未经抗菌处理织物试样），在 37℃±1℃ 培养 18 h±1 h。

D.7.3.3 洗脱试样上的活菌：

- 标准空白试样接种后“0”接触时间洗脱。用于“0”接触时间测试接种菌数量的标准空白试样，接种后，立即向管形瓶中加入洗脱试样活菌用冰冷生理盐水 20 mL，扎紧管形瓶盖子，用手击打（30 次，幅度 30 cm）或振动器振荡（5 s、5 次），把试样上的活菌洗脱下来。
- 接种培养 18 h 后的试样活菌洗脱。分别向接种了试样菌，并培养 18 h±1 h 后的 9 个试样中加入洗脱试样活菌用冰冷生理盐水 20 mL，扎紧管形瓶盖，用手击打（30 次，幅度 30 cm）或振动器振荡（5 s、5 次），把每个试样上的活菌洗脱下来。

D.7.3.4 洗脱液稀释：用 1 mL 吸管精确地从管形瓶里吸取 1 mL±0.1 mL 洗脱液，放入装有稀释用冷生理盐水 9 mL±0.1 mL 的试管，摇匀，然后用另一支 1 mL 吸管吸取 1 mL，注入到另一支装有稀释用冷生理盐水 9 mL±0.1 mL 的试管，摇匀，重复这些步骤，用 10 倍稀释法准备一个稀释系列。

D.7.3.5 浇皿培养：从各个稀释度的试管中每次吸取 1 mL±0.1 mL，分别放到三个平皿中作平行样，每次换一支吸管。在平皿中加入营养琼脂培养基（或沙氏琼脂培养基）约 15 mL，室温凝固。倒置平皿，放入生化培养箱培养，温度 37℃±1℃，时间 24 h～48 h（白色念珠菌 48 h～72 h）。选择菌落数在 30～300 之间的合适稀释度的平皿计数。

注 7：标准空白试样接种“0”接触时间洗脱培养后，在 10⁻¹ 稀释度平皿中，平均菌落数应控制在 70～150 的范围，其中大肠杆菌宜控制在 70 左右，金黄色葡萄球菌宜控制在 150 左右，白色念珠菌宜控制在 110 左右，否则影响试验精度。

D.7.3.6 计算活菌数目：按照式(D.2)计算所获的活菌数目（保留两位有效数字）。

$$M = E \times N \times 20 \quad \text{.....(D.2)}$$

式中：

M——试样的活菌数，cfu/片；

E——菌落数（两个平皿中的平均数）；

N——稀释指数，N=10⁻¹，10⁰，……

20——生理盐水的体积，单位为毫升（mL）。

D.7.3.7 为降低误差，对同一试样至少应做三次平行测试，取其平均值报告抑菌率。

D.7.4 试样抗菌效果计算

试样抑菌率按式(D.3)计算。

$$Y = \frac{M_b - M_c}{M_b} \times 100\% \quad \text{.....(D.3)}$$

式中：

Y——抑菌率，%；

M_b——18 h 培养后标准空白试样的活菌数；

M_c——18 h 培养后抗菌织物试样或未经抗菌处理织物试样的活菌数。

D.7.5 试验有效性的判断

按照式(D.4)计算生长值 F，对于金黄色葡萄球菌及大肠杆菌，当 F≥1.5，对于白色念珠菌，当 F≥1.0 时，说明试验菌活性较强，试验可判定有效，否则判定为无效，要重新进行试验。

$$F = \lg M_b - \lg M_c \quad \text{.....(D.4)}$$

式中：

F ——生长值；

M_b ——18 h 培养后标准空白试样的活菌数；

M_0 ——“0”接触时间标准空白试样的活菌数。

D.8 抗菌织物测试方法：振荡法

D.8.1 提示

本方法参考美国标准 ASTM E 2149 所示振荡烧瓶法并作出适当改进，对于试样的吸水性要求不高，纤维状、粉末状、有毛或羽的衣物，凹凸不平的织物等任意形状的试料都能应用，尤其适用于非溶出型抗菌织物。未经抗菌处理的织物试样是作为标准空白试样的参照物，如客户不能提供，则该试样的测试可省略。

D.8.2 试验准备

D.8.2.1 试样的准备

D.8.2.1.1 取样：将抗菌织物试样、未经抗菌处理织物试样及由附录 A 制备的标准空白试样，在样品中部取样。

D.8.2.1.2 剪样：将所有试样分别剪成 0.5 cm 大小的碎片。

D.8.2.1.3 称样：用小称量杯称取抗菌织物试样、未经抗菌处理织物试样及标准空白试样 0.75 g±0.05 g 多份。将试样用小纸片包好，在 103 kPa、121℃ 灭菌 15 min，备用。

D.8.2.2 接种菌液的准备

a) 用吸管从 D.5.1 制备的细菌悬液中吸取 2 mL~3 mL（参考数值）。由此步骤调整接种活菌数目，大肠杆菌取下限、金黄色葡萄球菌取上限），加入到装有 9 mL 营养肉汤的试管中，充分混合均匀后吸取 1 mL，加入到另一支装有 9 mL 营养肉汤的试管中，充分混合均匀后吸取 1 mL，加入到装有 9 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液的试管中，充分混合均匀后吸取 5 mL，加入到装有 45 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液的三角瓶中。充分混合均匀，稀释至含活菌数目 3×10^5 cfu/mL~ 4×10^5 cfu/mL（由此固定的 4 次稀释程序，此接种菌液中含有微量的营养肉汤），用来对试样接种。此接种菌液不可放在冰箱里保存，应尽可能快地使用，以保持接种菌的活性。

注 8：由于不同的实验室所用的牛肉膏、蛋白胨的品位不同，上述的 4 次稀释程序准备的接种菌液的营养可能会稍多了一点（对于大肠杆菌尤为明显），其表现为振荡 18 h 后标准空白样长菌量与抗菌整理试样长菌量相差太小，拉不开差距。此时，宜采用另一种固定的 4 次稀释程序：用吸管从 D.5.1 制备的细菌悬液中吸取 2 mL~3 mL（参考数值）。由此步骤调整活菌数，大肠杆菌取下限、金黄色葡萄球菌取上限），加入到装有 9 mL 营养肉汤的试管中，充分混合均匀后吸取 1 mL，加入到另一支装有 9 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液的试管中，充分混合均匀后吸取 5 mL，加入到装有 45 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液的锥形瓶中。充分混合均匀，稀释至含活菌数目 3×10^5 cfu/mL~ 4×10^5 cfu/mL（此接种菌液中含有更微量的营养肉汤），用来对试样接种。（可事先做一下预试验，选取抑菌率测试效果好的一种固定的 4 次稀释程序制备试样接种的细菌液。）

b) 用吸管从 D.5.2 制备的白色念珠菌悬液中吸取 2 mL~4 mL，加入到 9 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液中，进行 10 倍系列稀释操作，充分混合均匀后吸取 5 mL，加入到 45 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液中，充分混合均匀稀释至含活菌数 2.5×10^5 cfu/mL~ 3×10^5 cfu/mL，用来对试样接种。此接种菌液不可放在冰箱里保存，应尽快使用，以保持接种菌的活性。

D.8.3 试验操作

D.8.3.1 准备 4 个 250 mL 三角形烧瓶，在其中一个烧瓶中加入标准空白试样 0.75 g±0.05 g，一个烧瓶中加入抗菌织物试样 0.75 g±0.05 g，一个烧瓶中加入未经抗菌处理织物试样 0.75 g±0.05 g，另一个烧瓶不加试样用于阳性对照，然后在每个烧瓶中加入 70 mL±0.1 mL 0.03 mol/L PBS 缓冲液。

D.8.3.2 “0”接触时间制样：用吸管往标准空白试样烧瓶及阳性对照烧瓶中各加入 5 mL 已准备好的

接种菌液。盖上烧瓶盖，放在往复式振荡器上，在 $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，以 $250 \text{ r/min} \sim 300 \text{ r/min}$ ，振荡 $1 \text{ min} \pm 5 \text{ s}$ ，然后作下一步“0”接触时间取样。

D.8.3.3 “0”接触时间取样：用吸管在“0”接触时间制样的两个烧瓶中分别吸取 $1 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ 溶液，移入装有 $9 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL } 0.03 \text{ mol/L PBS 缓冲液}$ 的试管中，摇匀。吸取 $1 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ 溶液移入另一支装有 $9 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL } 0.03 \text{ mol/L PBS 缓冲液}$ 的试管中，摇匀，再从试管中吸取 $1 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ 加入灭菌的平皿中，接着往每一平皿中倒入营养琼脂培养基(或沙氏琼脂培养基)约 15 mL ，室温凝固；倒置平皿， $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 $24 \text{ h} \sim 48 \text{ h}$ (白色念珠菌 $48 \text{ h} \sim 72 \text{ h}$)。各个试样浇注两个平皿作平行样。选择菌落数在 $30 \sim 300$ 之间的合适稀释度的平皿计数。

注9：标准空白试样接种“0”接触时间取样并浇皿培养后，在 10^{-2} 稀释度平皿中，金黄色葡萄球菌及大肠杆菌的平均菌落数宜控制在 $200 \sim 250$ 的范围，白色念珠菌的平均菌落数宜控制在 $150 \sim 200$ 的范围，否则影响试验精确度。

D.8.3.4 定时振荡接触：用吸管往抗菌织物试样及未经抗菌处理织物试样的烧瓶中各加入 5 mL 已准备好的接种菌液，盖好瓶盖。已完成“0”接触时间取样且盖好瓶盖的另两个烧瓶不需再加接种菌液。再将此4个试样的烧瓶置于往复式振荡器上，在 $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，以 150 r/min ，振荡 18 h 。

D.8.3.5 稀释培养计数：到规定时间后，从每个烧瓶中用吸管吸取 $1 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ 试液，放入有 $9 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL } 0.03 \text{ mol/L PBS 缓冲液}$ 的试管中，摇匀。重复这些步骤，用 10 倍稀释法进行系列稀释。用新吸管从每个稀释度的试管中分别取 $1 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ ，放入两个平皿作平行样，再向每个平皿中倒入营养琼脂培养基(或沙氏琼脂培养基)约 15 mL ，室温凝固，倒置平皿， $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 $24 \text{ h} \sim 48 \text{ h}$ (白色念珠菌 $48 \text{ h} \sim 72 \text{ h}$)。选择菌落数在 $30 \sim 300$ 之间的合适稀释度的平皿计数。

D.8.3.6 记录结果，求出平均菌落数，即可按式(D.5)计算试样烧瓶内的活菌浓度(保留两位有效数字)：

$$W = Z \times N \quad \dots \dots \dots \quad (\text{D.5})$$

式中：

W ——试样烧瓶内的活菌浓度， cfu/mL ；

Z ——菌落数(两个平皿的平均值)；

N ——稀释指数， $N = 10^0, 10^1, 10^2, \dots$

D.8.3.7 为降低误差，对同一试样至少应作三次平行测试，取其平均值报告抑菌率。

D.8.4 试样的抗菌效果计算

在振荡接触时间较长的情况下，细菌已经过多代繁殖，在标准空白试样的烧瓶内细菌一般会大大超过接种时的数量，此时，由比较抗菌织物试样或未经抗菌处理织物试样与标准空白试样烧瓶内的活菌数的方式计算出抑菌率。

试样的抑菌率按式(D.6)计算。

$$Y = \frac{W_b - W_c}{W_b} \times 100\% \quad \dots \dots \dots \quad (\text{D.6})$$

式中：

Y ——抑菌率，%；

W_b ——标准空白试样振荡接触 18 h 后烧瓶内的活菌浓度；

W_c ——抗菌织物试样或未经抗菌处理织物试样振荡接触 18 h 后烧瓶内的活菌浓度。

D.8.5 试验有效性的判断

若对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌等细菌： $\lg W_b - \lg W_c \geq 1.0$ ，对白色念珠菌等真菌： $\lg W_b - \lg W_c \geq 0.5$ ，且阳性对照样与标准空白试样烧瓶中的活菌浓度接近，说明试验菌活性较强，试验可判定有效，否则判定为无效，要重新进行试验。(式中： W_b ——标准空白试样振荡接触 18 h 后烧瓶内的活菌浓度； W_c ——标准空白试样“0”接触时间烧瓶内的活菌浓度。)

附录 E
(规范性附录)

E. 1 提示

本方法适用于抗菌织物所用抗菌物质的溶出性测试,可用于判定试样是否为溶出型抗菌织物,还可为抗菌织物的安全性提供判定依据。为防止抗菌织物在加工过程中残留的浮离化学物质的干扰,用于试验的织物试样均应按本标准规范性附录C进行一次洗涤然后测试。

E.2 试验准备

E.2.1 试样准备：将已各洗涤一次的标准空白试样、抗菌织物试样，各取 $1.5\text{ cm} \times 1.5\text{ cm}$ 的试样 4~6 块。将试样用小纸片包好，在 103 kPa 、 121°C 灭菌 15 min ，备用。

E. 2.2 接种菌液准备：将 D. 5.1 制备的细菌悬液(或 D. 5.2 真菌悬液)，用 0.03 mol/L PBS 缓冲液稀释至活菌数为 1×10^5 cfu / mL~ 5×10^5 cfu / mL。注意接种浓度范围，太高或太低均会影响试验精度。

E. 2.3 琼脂培养基的准备:向已消毒的平皿中倒入营养琼脂培养基(或沙氏琼脂培养基)约 15 mL,室温凝固。根据试样数目准备好试验用的琼脂培养基平皿。

E.3 试验操作

E.3.1 试样接种：用无菌棉拭子蘸取接种菌液，在平皿的琼脂培养基表面均匀涂抹3次，每涂抹1次，平皿转动60°，最后将棉拭子绕平皿边缘涂抹一周。盖上盖，置室温干燥5 min。

E. 3. 2 贴试样: 将试样平贴在培养基上, 用无菌镊子轻压样片, 使其紧贴于培养基表面。每个平皿内可贴一块标准空白试样及一块抗菌织物试样。各样片边缘相距 1.5 cm 以上, 与平皿边缘也相隔 1.0 cm 以上, 每次试验作两个平皿的平行样。

E. 4 培养及测量

E. 4. 1 培养:倒置平皿,放人生化培养箱中培养。金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 16 h~18 h,白色念珠菌 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h~48 h。培养时间过长,部分细菌可恢复生长使抑菌圈变小。

E. 4.2 测量:用游标卡尺测量两个平皿中的抑菌圈外沿总宽度及试样总宽度,求出平均值。测量时,应选择均匀而完全无菌生长的抑菌圈进行。

E. 4.3 为降低误差,对同一试样,至少应做三次平行测试,取其平均值报告抑菌圈宽度。

E.5 抑菌圈密度计算

用式(E-1)计算抑菌圈宽度。

武中，

D—抑菌圈宽度,单位为毫米(mm);

T —抑菌圈外沿总宽度, 单位为毫米(mm);

R—试样总宽度, 单位为毫米(mm)。

E.6 试验有效性判断

阴性对照的标准空白试样，抑菌圈宽度 $D=0$ ，则判定试验有效，否则判定试验无效，需重做试验。

E.7 试样是否为溶出型抗菌织物的判断

若抗菌织物试样按附录 C 进行一次洗涤然后测试, 抑菌圈宽度 $D > 1 \text{ mm}$, 可判定为溶出型抗菌织物; 若抑菌圈宽度 $D \leq 1 \text{ mm}$, 则可判定为非溶出型抗菌织物。
