

ICS 11.080.99
CCS G 70



中华人民共和国国家标准

GB/T 21510—2024
代替 GB/T 21510—2008

纳米无机材料抗菌性能 检测方法及评价

Antimicrobial property testing and evaluation methods for nano-inorganic
materials

2024-07-24 发布

2025-02-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

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/T 21510—2008《纳米无机材料抗菌性能检测方法》，与 GB/T 21510—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了范围中性能评价的内容（见第1章，2008年版的第1章）；
 - b) 更改了规范性引用文件（见第2章，2008年版的第2章）；
 - c) 更改了术语和定义（见第3章，2008年版的第3章）；
 - d) 更改了试验方法中试验步骤的表述（见4.1，2008年版的第4章）；
 - e) 增加了检测结果计算中活性值的评价，即“计算抗菌对数值”（见4.3.3）；
 - f) 增加了抗菌性能评价（见第5章）；
 - g) 更改了粉体纳米无机材料抗菌性能的试验方法中每样液平行接种平皿数量（见A.3.2.4，2008年版的A.3.2.4）；
 - h) 更改了粉体纳米无机材料抗菌性能的试验方法中细菌培养和白色念珠菌培养时间（见A.3.2.8，2008年版的A.3.2.8）；
 - i) 更改了粉体纳米无机材料抗菌性能的试验方法中的菌落计数方法（见A.3.2.8，2008年版的A.3.2.8）；
 - j) 增加了“含有纳米无机材料抗菌组分的多孔性材料抗菌性能试验方法 吸收法”（见附录D）。
- 请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院提出。

本文件由全国纳米技术标准化技术委员会纳米材料分技术委员会（SAC/TC 279/SC 1）归口。

本文件起草单位：中国科学院过程工程研究所、广东省科学院微生物研究所（广东省微生物分析检测中心）、安徽中科大禹科技有限公司、北京艾斯尔科技有限公司、中国科学院深圳先进技术研究院、广东省华微检测股份有限公司、冶金工业信息标准研究院、小米通讯技术有限公司、河南省安克林滤业有限公司、中国科学院兰州化学物理研究所、江西悦安新材料股份有限公司、中国科学技术大学、江苏集萃先进纤维材料研究所有限公司、江西赣大材料技术研究有限公司、金塑企业集团(上海)有限公司、中星(广州)纳米材料有限公司、中关村汇智抗菌新材料产业技术创新联盟。

本文件主要起草人：陈运法、张婧坤、谢小保、吴征威、魏国、高明、赵培静、田子健、马晓聪、李瑞乐、康玉茹、李博、吴镇江、李倩、汪嵘、谢友能、周家良、张维旭、张迎增、吴忠棉、曾和平、李家成、杜平、曾雅晶、丁呈彪、喻学锋、孙梦寒、王萍丽。

本文件于2008年首次发布，本次为第一次修订。

纳米无机材料抗菌性能 检测方法及其评价

1 范围

本文件规定了纳米无机材料抗菌性能的试验方法、抗菌性能评价、检测报告和安全操作要求。

本文件适用于具有抗菌功能的纳米无机材料，以及以纳米无机材料为抗菌组分（结构单元）的制品，如纤维、织物、塑料、涂料和陶瓷等。其他材料的抗菌性能检测及评价也可参照本文件执行。

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 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 30544（所有部分） 纳米科技 术语

3 术语和定义

GB/T 30544（所有部分）界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抗菌 **antibacterial**

采用化学或物理等方法杀灭细菌、真菌等微生物和/或妨碍其生长繁殖及其活性的过程。

3.2

纳米无机材料 **nano-inorganic materials**

三维空间尺度至少有一维处于纳米量级（1 nm~100 nm）的无机材料。

4 试验方法

4.1 试验步骤

4.1.1 粉体纳米无机材料抗菌性能的试验按附录 A 规定的方法进行。

4.1.2 含有纳米无机材料抗菌组分的非多孔性制品表面抗菌性能的试验按附录 B 或附录 C 规定的方法进行。

4.1.3 含有纳米无机材料抗菌组分的多孔性制品抗菌性能的试验按附录 B 或附录 D 规定的方法进行。

4.2 试验数据处理

将各平板菌落数乘以稀释倍数，即为样本实际回收菌落数。

4.3 检测结果计算

4.3.1 计算菌落数

将各平板菌落数乘以稀释倍数，即为样本实际回收菌数。

4.3.2 计算抗菌率

抗菌率 R 的计算按式 (1) 进行。

$$R = \frac{A - B}{A} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

R —— 抗菌率；

A —— 对照样品与受试菌接触一定时间后平均回收菌数，单位为菌落形成单位每毫升 (cfu/mL)；

B —— 试验样品与受试菌接触一定时间后平均回收菌数，单位为菌落形成单位每毫升 (cfu/mL)。

4.3.3 计算抗菌对数值

抗菌对数值的计算按式 (2) 进行。

$$\text{抗菌对数值} = \lg A - \lg B \quad \dots\dots\dots (2)$$

5 抗菌性能评价

以纳米无机材料为抗菌组分 (结构单元) 的制品抗菌性能评价应符合以下规定，并注明菌种。

- a) 抗菌对数值不小于2或抗菌率不小于99%，样品具有良好的抗菌效果。当 $1 \leq \text{抗菌对数值} < 2$ 或 $90\% \leq \text{抗菌率} < 99\%$ ，样品具有抗菌效果。
- b) 若产品宣称具有抗真菌功能，则需进行白色念珠菌测试。

6 检测报告

检测报告包括以下内容：

- a) 受试样本名称、状态、加入量；
- b) 检测方法；
- c) 受试菌株；
- d) 接触时间；
- e) 检测日期；
- f) 检测结果，平均抗菌率应为各次试验抗菌率的算数平均值，抗菌率保留小数点后一位；
- g) 检测人员；
- h) 送检单位；
- i) 生产单位。

7 安全操作要求

- 7.1 微生物试验操作均应在生物安全柜中进行。
- 7.2 菌液滴染样片时，勿溢出片外。
- 7.3 振荡前应将振荡摇床上的三角烧瓶固定牢，以免碰破。
- 7.4 称量粉末样品时，操作人员应佩戴口罩，做好个人防护。



附录 A

(规范性)

粉体纳米无机材料抗菌性能试验方法 振荡法

A.1 适用性

本试验方法适用于测定粉体纳米无机材料的抗菌性能。

A.2 试验设备和材料

A.2.1 试验设备

A₂型二级生物安全柜、恒温振荡培养箱(300 r/min)、恒温培养箱(37℃±2℃)、压力蒸汽灭菌锅(压力103 kPa, 温度121℃)、电热恒温干烤箱(0℃~250℃)、冷藏冰箱(2℃~8℃)、微波炉(输出功率≥700 W)、天平(分度值0.001 g)。

A.2.2 试验器材

三角烧瓶(容量为500 mL、250 mL、150 mL)、平皿(直径为90 mm)、试管(18 mm×180 mm)、量筒(100 mL)、吸管(10 mL、5 mL、1 mL)、酒精灯、试管架等。

A.2.3 培养基及试剂

A.2.3.1 普通营养肉汤培养基

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL

调pH至7.2~7.4, 高压蒸汽灭菌121℃, 20 min。

用途: 用于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌增菌的培养。

A.2.3.2 普通营养琼脂培养基

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

调pH至7.2~7.4, 高压蒸汽灭菌121℃, 20 min。

用途: 用于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的培养。

A.2.3.3 沙堡氏琼脂培养基

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

调pH至5.4~5.8, 高压蒸汽灭菌115℃, 30 min。

用途：用于白色念珠菌的培养。

A.2.3.4 含 0.1% (质量分数) 吐温-80 的磷酸盐缓冲液 [PBS, 0.03 mol/L, pH (7.2 ~ 7.4)]

磷酸氢二钠 (分析纯) (Na_2HPO_4 , 无水)	2.83 g
磷酸二氢钾 (分析纯) (KH_2PO_4)	1.36 g
非离子表面活性剂吐温-80 (分析纯)	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL

高压蒸汽灭菌 121 °C, 20 min。

用途：用于菌液和试验样本的稀释。

A.2.4 试验用标准菌种

A.2.4.1 试验用细菌标准菌种：革兰氏阳性菌为金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538, 革兰氏阴性菌为大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 8099/ATCC 25922 或肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*) ATCC 4352。试验用真菌标准菌种：白色念珠菌 (*Candida albicans*) ATCC 10231。

A.2.4.2 根据产品的使用要求，可选用其他菌种或菌株作为试验用菌，但所有菌种或菌株应由国际微生物菌种保藏中心或国家相应菌种保藏管理中心提供。

A.2.5 对照样本

二氧化硅粉末，要求粉末尺度不大于 100 nm，纯度为 98%~99%，不具有抗菌作用且对试验结果的判定无影响。

A.3 试验程序

A.3.1 菌种斜面的制备

A.3.1.1 菌种活化

取干菌种管，在无菌操作下打开，以毛细吸管加入适量营养肉汤，轻柔吹吸数次，使菌种融化分散。取含 5.0 mL~10.0 mL 营养肉汤的培养基试管，滴入少许菌种悬液，置 37 °C±1 °C 培养 18 h~24 h。

A.3.1.2 分离

用接种环取第一代培养的菌悬液，划线接种于营养琼脂培养基平板上，在 37 °C±1 °C 培养 18 h~24 h。

A.3.1.3 纯化

挑取上述第二代培养物中的典型菌落，接种于营养琼脂斜面，在 37 °C±1 °C 培养 18 h~24 h，即为第三代培养物。

A.3.1.4 菌种保藏

将菌种接种于营养琼脂培养基斜面上，在 37 °C±1 °C 培养 24 h 后，在 0 °C~5 °C 下保藏，一般不超过 1 个月转种 1 次。怀疑有污染时，应以菌落形态、革兰染色与生化试验等方法进行鉴定。

A.3.2 试验步骤

A.3.2.1 菌悬液的制备

取菌种第三代至第八代的营养琼脂培养基斜面 18 h~24 h 新鲜培养物，用 5.0 mL 吸管吸取 3.0 mL~

5.0 mL 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液加入斜面试管内，反复吸吹，洗下菌苔。将洗下的菌液移至另一试管中，用振荡器混匀后，用 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释至适宜浓度（约为 10^5 cfu/mL）。细菌繁殖体悬液应保存在 4℃ 冰箱内备用且保存不应超过 4 h。

A.3.2.2 对照组样液的制备

称取对照样本 $0.50\text{ g}\pm 0.05\text{ g}$ 粉末放入三角烧瓶中，加入 95 mL 含 0.1%（质量分数）吐温-80 的磷酸盐缓冲液，混匀后，再加入 5.0 mL 预制菌悬液。

A.3.2.3 试验组样液的制备

称取试验样本 $0.50\text{ g}\pm 0.05\text{ g}$ 粉末放入三角烧瓶中，加入 95 mL 含 0.1%（质量分数）吐温-80 的磷酸盐缓冲液，混匀后，再加入 5.0 mL 预制菌悬液。

A.3.2.4 对照样本“0”接触时间活菌计数

振荡前，将对照样液经适当稀释，吸取 1.0 mL 接种于灭菌平皿中，每样液平行接种 3 个平皿，倾注 45℃~55℃ 已溶化的营养琼脂培养基，待琼脂培养基凝固后翻转平板，将上述平板置于 37℃±1℃ 恒温培养箱中，做菌落计数。

A.3.2.5 振荡接触培养

将含对照样本和试验样本的三角烧瓶固定于恒温振荡培养箱的摇床上，在作用温度 37℃±1℃ 条件下，以 150 r/min 速度，检测样品需要稀释后使用的材料振荡接触 1 h~4 h，不需要稀释直接使用的材料振荡接触 4 h~24 h。

A.3.2.6 振荡接触一定时间后活菌计数

振荡后的对照样液和试验样液经适当稀释后，分别取 1.0 mL 的样液接种于灭菌平皿中，每样液平行接种 2 个平皿，倾注 45℃~55℃ 已溶化的营养琼脂培养基，待琼脂培养基凝固后翻转平板，将上述平板置于 37℃±1℃ 恒温培养箱中，做活菌培养计数。

A.3.2.7 阴性对照组

阴性对照组分别吸取试验同批次稀释液、培养基与试验样本一起放入 37℃±1℃ 恒温培养箱中培养。观察有无污染。

A.3.2.8 观察结果

对细菌培养 24 h~48 h 后观察最终结果，对白色念珠菌培养 48 h~72 h 后观察最终结果。菌落计数按 GB 4789.2 中菌落总数测定方法。

A.3.2.9 试验次数

以上试验重复 3 次。

A.4 试验要求

A.4.1 “0”接触时间对照组的菌落数应在 1×10^4 cfu/mL~ 5×10^4 cfu/mL。阴性对照应无菌生长。

A.4.2 对照样本不应有明显的抗菌作用。经振荡后对照组回收菌落数不应低于 1×10^3 cfu/mL，否则试验无效。

附录 B

(规范性)

含有纳米无机材料抗菌组分的多孔及非多孔性材料抗菌性能试验方法 振荡法

B.1 适用性

本试验方法适用于测定含有纳米无机材料抗菌组分的多孔及非多孔性材料（包括溶出性和非溶出性的纤维、织物、塑料粉体和微孔滤材等材料）的抗菌性能。

B.2 试验设备和材料

B.2.1 试验设备、试验器材和试验用标准菌种

试验设备、试验器材和试验用标准菌种的要求应符合 A.2.1~A.2.4 的规定。

B.2.2 对照样本

对照样本为纯棉平纹白布剪取的样片（32 支纱），样片本身不具有抗菌作用且对试验结果的判定无影响。试验前应进行脱脂处理：将纯棉平纹白布放在含洗涤剂的水中煮沸 30 min，用自来水漂洗 3 次；然后用蒸馏水煮沸 5 min 后，再漂洗、晾干、熨平；在剪开前，按制备样片的大小抽去经纬纱，再按抽纱痕剪开。

B.3 试验程序

B.3.1 菌种斜面的制备

菌种斜面的制备应符合 A.3.1 的规定。

B.3.2 试验步骤

B.3.2.1 根据试样选择灭菌方法。一般采用高压蒸汽灭菌，将试样装入适当的容器中，放入高压灭菌锅中消毒（121 ℃，103 kPa，20 min）。若试样不宜采用高压蒸汽灭菌，可采用高温湿热、干热或环氧乙烷等其他方法灭菌，但所用的灭菌方法不应影响抗菌性能和检测结果，并在报告中说明。

B.3.2.2 将抗菌织物样品剪成 10 mm×10 mm，抗菌塑料、微孔滤材、长丝、短纤、纱线按原状态采用，称取抗菌样本 1.00 g±0.05 g 放入三角烧瓶中，加入 95 mL 含 0.1%（质量分数）吐温-80 的磷酸盐缓冲溶液，混匀后，再加入 5.0 mL 预制菌悬液。

B.3.2.3 菌悬液的制备、对照组样液的制备、对照样本“0”接触时间活菌计数、振荡接触培养、振荡接触一定时间后活菌计数、阴性对照组、观察结果、试验次数等应符合 A.3.2.1、A.3.2.2、A.3.2.4~A.3.2.9 的规定。

B.4 试验要求

试验要求应符合 A.4 的规定。

附录 C

(规范性)

含有纳米无机材料抗菌组分的非多孔性材料抗菌性能试验方法 贴膜法

C.1 适用性

本试验方法适用于测定含有纳米无机材料抗菌组分的非多孔性材料（如塑料、陶瓷、漆膜、板材和金属等硬质表面材料）的抗菌性能。

C.2 试验设备和材料

C.2.1 试验设备

A₂型二级生物安全柜、恒温培养箱（37℃±2℃）、压力蒸汽灭菌器（压力103 kPa，温度121℃）、电热恒温干烤箱（0℃~250℃）、冷藏冰箱（2℃~8℃）、微波炉（输出功率≥700 W）、紫外灯（30 W、253.7 nm）。

C.2.2 试验器材

三角烧瓶（容量为500 mL、250 mL）、平皿（直径为90 mm）、试管（18 mm×180 mm）、量筒（100 mL）、吸管（10 mL、5 mL、1 mL）、移液管（精确度0.01 mL）、酒精灯、试管架、70%乙醇和聚乙烯薄膜等。

C.2.3 培养基及试剂和试验用标准菌种

培养基及试剂和试验用标准菌种应符合A.2.3和A.2.4的规定。

C.3 试验程序

C.3.1 菌种斜面的制备

菌种斜面的制备应符合A.3.1的规定。

C.3.2 试验步骤



C.3.2.1 覆盖膜的制备

覆盖膜采用聚乙烯薄膜，尺寸为(40±2) mm×(40±2) mm，厚度为0.05 mm~0.10 mm。若试验样本规格较小，可按其表面积减小该覆盖膜尺寸，以使菌悬液不溢出为适。

C.3.2.2 对照样本

对照样本用卫生级高密度聚乙烯（HDPE）注塑成型，标准尺寸为(50±2) mm×(50±2) mm，厚度为不大于5 mm，要求其本身不具有抗菌作用且对试验结果的判定无影响。

C.3.2.3 试验组样本的制备

将试验样本制成标准尺寸为(50±2) mm×(50±2) mm，若试验样本规格较小，应不小于20 mm×20 mm。

C.3.2.4 样品的预处理

取对照样品和受检样品，用70%乙醇溶液擦拭其表面，5 min后用无菌蒸馏水冲洗，自然干燥。若

GB/T 21510—2024

不适于消毒剂处理的样本，可根据样品特性直接用无菌蒸馏水冲洗或采用其他方法消毒，但不应影响其抗菌性能和干扰检测结果。

C.3.2.5 制备菌悬液

取菌种第三代至第八代的营养琼脂培养基斜面 18 h~24 h 新鲜培养物，用 5.0 mL 吸管吸取 3.0 mL~5.0 mL 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液加入斜面试管内，反复吸吹，洗下菌苔。将洗下的菌液移至另一试管中，用振荡器混匀后，用 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释至适宜浓度（约为 10⁵ cfu/mL）。细菌繁殖体悬液应保存在 4℃ 冰箱内备用且保存不应超过 4 h。

C.3.2.6 接种菌液

将对照样品和受检样品分别放入灭菌平皿中，吸取 0.2 mL~0.5 mL 试验菌液分别滴加在对照样品和受检样品表面，每个样品做 3 个平行样。用灭菌镊子夹起覆盖膜分别盖在样品表面并且要铺平，不应有气泡，使菌液均匀接触样品，盖好平皿，在 37℃±1℃、相对湿度 90% 条件下接触培养 16 h~24 h。若检验的样品采用的是光触媒类抗菌剂，应根据样本试验要求，在恒温培养箱中安装光源。

C.3.2.7 菌落计数

经接触培养 16 h~24 h 的样品，分别加入 20 mL 洗脱液，反复洗脱 3 次样品及覆盖膜，将洗脱液移入三角烧瓶中，摇匀后经适当稀释，每样液平行接种 2 个平皿，倾注 45℃~55℃ 已溶化的营养琼脂培养基，待琼脂培养基凝固后翻转平板，将上述平板置于 37℃±1℃ 恒温培养箱中，做活菌培养计数。

C.3.2.8 阴性对照组

阴性对照组应符合 A.3.2.7 的规定。

C.3.2.9 观察结果

观察结果应符合 A.3.2.8 的规定。

C.4 试验要求

C.4.1 “0” 接触时间对照组的菌落数应在 1×10⁴ cfu/mL~5×10⁴ cfu/mL。阴性对照应无菌生长。

C.4.2 同一对照样品的 3 个平行活菌数值要符合以下要求：

$$\frac{\text{最高对数值} - \text{最低对数值}}{\text{平均对数值}} \leq 0.3$$

C.4.3 对照样本不应有明显的抗菌作用。经接触一定时间后对照组回收菌落数不应低于 1×10³ cfu/mL，否则试验无效。

附录 D

(规范性)

含有纳米无机材料抗菌组分的多孔性材料抗菌性能试验方法 吸收法

D.1 适用性

本试验方法适用于测定含有纳米无机材料抗菌组分的多孔性制品（如织物、棉絮、羽绒、纱线、地毯或类似结构制品）的抗菌性能。

D.2 试验设备和材料

D.2.1 试验设备

二级生物安全柜、恒温培养箱（ $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）、水浴（ $46\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及 $70\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）压力蒸汽灭菌器（压力 103 kPa ，温度 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）、电热恒温干烤箱（ $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）、冷藏冰箱（ $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）、微波炉（输出功率 $\geq 700\text{ W}$ ）、漩涡式振荡器。

D.2.2 试验器材

三角烧瓶（容量为 500 mL 、 250 mL ）、平皿（直径为 90 mm ）、玻璃瓶（平底圆柱形， 30 mL ）、试管（ $18\text{ mm}\times 180\text{ mm}$ ）、量筒（ 100 mL ）、吸管（ 10 mL 、 5 mL 、 1 mL ）、移液管（精确度 0.01 mL ）、酒精灯、试管架、 70% 乙醇、铝箔等。

D.2.3 培养基及试剂和试验用标准菌种

培养基及试剂和试验用标准菌种应符合 A.2.3 和 A.2.4 的规定。

D.3 试验程序

D.3.1 菌种斜面的制备

菌种斜面的制备应符合 A.3.1 的规定。

D.3.2 菌悬液的制备

菌悬液的制备应符合 A.3.1.2 的规定。

D.3.3 试验步骤

D.3.3.1 试样的制备

D.3.3.1.1 试样的质量及形状

称取 $0.40\text{ g}\pm 0.05\text{ g}$ 作为一个试样并剪成适当大小。分别取 6 个待测抗菌性能试样和 6 个对照样。

注： 3 个对照样和 3 个测试样是用于测定“ 0 ”时间的细菌数，剩下的 3 个对照样和 3 个测试样是用于 $18\text{ h}\sim 24\text{ h}$ 培养后测定细菌数。

D.3.3.1.2 试样的放置

将测试样品单独放置在玻璃小瓶里，根据试样的性质选择合适的放置方式。

- 若试样易卷曲或含有棉絮或羽绒，在试样上放置一个玻璃棒，或用线将其两边固定。
- 若试样是纱线，则将试样捆住并在上面放置一根玻璃棒。
- 地毯或者类似结构试样，剪取起绒的部分作为试样，并在上面放置一根玻璃棒。

若需要，测试样品可按照 ISO 6330 或其他适合的方式进行洗涤，洗涤完成之后，试样用水冲洗以去除洗涤剂。

D.3.3.2 试样的灭菌

若发现或怀疑试样有污染，用高压灭菌锅对试样进行灭菌。用铝箔包覆开口的玻璃瓶及瓶盖，将其放入高压灭菌锅中灭菌 15 min~20 min。从高压灭菌锅中取出玻璃瓶及瓶盖，去掉包覆的铝箔，在干净的工作台或其他没有污染风险的地方干燥 60 min 后盖上瓶盖。

D.3.3.3 接种菌液

分别用移液器准确取试验菌液 0.2 mL (D.3.2)，接种在每个小瓶内的试样上 (D.3.3.1.2)，确保菌液不要沾在瓶壁，盖紧瓶盖。

D.3.3.4 洗脱

在已接种试验菌液的 3 个对照样及 3 个测试样小瓶 (D.3.3.3) 中迅速加入 20 mL 营养肉汤培养基 (A.2.3.1) 或生理盐水，盖上瓶盖，手摇或用混合器振荡将细菌洗脱。

D.3.3.5 培养

将 6 个小瓶 (3 个对照样，3 个测试样) 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养 18 h~24 h。

D.3.3.6 培养后洗脱

在培养后 (D.3.3.5) 的各小瓶中，分别加入 20 mL 营养肉汤培养基或生理盐水，盖上瓶盖，手摇或用混合器振荡将细菌洗脱。

D.3.3.7 菌落计数

将洗脱后的对照样液和试验样液 (D.3.3.4 或 D.3.3.6) 经适当 10 倍梯度稀释后，分别取 1.0 mL 的样液接种于灭菌平皿中，每样液平行接种 2 个平皿，倾注 $45\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 已溶化的营养琼脂培养基，待琼脂培养基凝固后翻转平板，将上述平板置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18 h~24 h，做活菌培养计数用。

D.3.3.8 阴性对照组

阴性对照组应符合 A.3.2.7 的规定。

D.3.3.9 观察结果

观察结果应符合 A.3.2.8 的规定。

D.4 试验要求

D.4.1 “0”接触时间对照组的菌落数应在 $1\times 10^4\text{ cfu/mL}\sim 5\times 10^4\text{ cfu/mL}$ 。阴性对照应无菌生长。

D.4.2 同一对照样品的 3 个平行活菌数值要符合以下要求：

$$\frac{\text{最高对数值}-\text{最低对数值}}{\text{平均对数值}} \leq 0.3$$

D.4.3 对照样本不应有明显的抗菌作用。经接触一定时间后对照组回收菌落数不应低于 $1\times 10^3\text{ cfu/mL}$ ，否则试验无效。

GB/T 21510—2024

参 考 文 献

- [1] ISO 6330 Textiles—Domestic washing and drying procedures for textile testing