

ICS 59.080.01
W 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 20944.3—2008

纺织品 抗菌性能的评价 第 3 部分：振荡法

Textiles—Evaluation for antibacterial activity—
Part 3: Shake flask method

2008-04-29 发布

2008-12-01 实施

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

GB/T 20944《纺织品 抗菌性能的评价》分为三个部分：

第1部分：抗菌性能测试法

—
—
本
本
本
本
织科学
限公司
本
本

上海市纺
卫生材料有

王智。

纺织品 抗菌性能的评价

第3部分:振荡法

1 范围

GB/T 20944 的本部分规定了采用振荡法测定纺织品抗菌性能的定量试验和评价方法。

本部分适用于羽绒、纤维、纱线、织物,以及特殊形状的制品等各类纺织产品,尤其适用于非溶出型抗菌纺织产品。

本部分不涉及抗菌产品安全性的评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 20944 的本部分的引用而成为本部分的条款。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部分,然而,鼓励根据本部分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部分。

GB/T 12490 纺织品 色牢度试验 耐家庭和商业洗涤色牢度(GB/T 12490—2007,ISO 105-C06:1994,MOD)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于 GB/T 20944 的本部分。

3.1

抗菌性能 antibacterial activity

纺织品所具有的能抑制织物上的细菌生长繁殖的性能。

3.2

对对照样 control fabric

用于验证试验微生物生长条件的、不经任何处理的 100% 棉织物。

注:已被证明采用色牢度试验用的棉标准贴衬织物,经高温蒸煮和蒸馏水洗涤后作为对对照样是合适的。

4 安全预防措施

安全须知:本试验所采用的试验菌能使人感染致病,应采取一切必要的预防措施,免除对人员和环境的危害,试验应由经过培训的人员进行。

5 原理

将试样与对对照样分别装入一定浓度的试验菌液的三角烧瓶中,在规定的温度下振荡一定时间,测定三角烧瓶内菌液在振荡前及振荡一定时间后的活菌浓度,计算抑菌率,以此评价试样的抗菌效果。

6 试验器具

6.1 分光光度计:检测波长 475 nm 或 660 nm 适合于测试试验菌液的浓度。

6.2 恒温培养箱:温控精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

6.3 水浴锅:温度能保持在 $46^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

6.4 恒温振荡器(摇床):温度精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

- 6.5 冰箱:温度能保持在 5℃~10℃。
- 6.6 玻璃门冷藏箱:温度能保持在 5℃~10℃。
- 6.7 高压灭菌锅:温度能保持在 121℃,压力能保持在 103 kPa。
- 6.8 带塞三角烧瓶:容量为 250 mL。
- 6.9 培养皿:直径 90 mm。
- 6.10 旋涡式振荡器。
- 6.11 二级生物安全柜
- 6.12 试

7 培养:

试验

注:夏

7.1 营:

7.2 营:

7.3 沙:

7.4 0.0

8 试验

8.1 菌种

革兰氏阳性细菌:金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538);

革兰氏阴性细菌:大肠杆菌 *Escherichia coli* (8099 或 ATCC 11229、ATCC 8739、ATCC 29522 三者中的一种),或肺炎克雷白氏菌 *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352),根据需要选一种;

白色念珠菌 *Candida albicans* (ATCC 10231)。

注 1:可使用加入世界菌种保藏联合会(WFCC)的菌种保藏机构提供的、与上述菌种等效的试验菌。

注 2:如果需要,可采用其他的试验菌种,培养基成分、培养温度和培养方法应根据要求调整。

8.2 菌种转种及保存

冻干菌激活后接种斜面试管培养,然后贮存于冰箱(5℃~10℃),作为保存菌。每个月应转种一次,转种后放于冰箱(5℃~10℃)保存,转种次数不应超过10代。若转种后保存时间超过一个月,不能用于下一次转种。

8.3 标识

对每个菌种应标注如下信息:

- 供应冻干菌的菌种保藏机构名称;
- 冻干菌的名称和编号;
- 冻干菌的批号;
- 冻干菌激活日期;
- 保存菌的贮藏日期;
- 保存菌的实验室编号。

9 试验菌液的准备

9.1 细菌菌液的培养和准备

9.1.1 两步预培养程序制备细菌悬液

从3代~10代的细菌保存菌种(8.2)试管斜面中取一接种环细菌,在营养琼脂平板(7.2)上划线。于37℃±1℃,培养18 h~24 h。用接种环从平板中挑出典型的菌落,接种于20 mL营养肉汤(7.1)中。37℃±1℃,130 r/min,振荡培养18 h~24 h,即制成了细菌悬液。菌液含量采用分光光度计法或稀释法测定,活菌数应达到 1×10^8 CFU/mL~ 5×10^9 CFU/mL。此新鲜菌液应在4 h内尽快使用,以保证接种菌的活性。

9.1.2 细菌接种菌液的准备

用吸管从细菌悬液(9.1.1)中吸取1 mL~3 mL(参见7.4)加入含有45 mL 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)的试管中,充分混匀。由此步骤调整接种活菌数目,大肠杆菌菌取下限,金黄色葡萄球菌取上限。吸取1 mL移入另一支装有9 mL营养肉汤(7.1)的试管中,充分混匀。吸取5 mL移入装有9 mL 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)的试管中,充分混匀。吸取5 mL移入含有45 mL 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)的三角烧瓶中。充分混匀,稀释至活菌数目 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。此接种菌液应在4 h内尽快使用,以保持接种菌的活性。

9.2 白色念珠菌菌液的培养和准备

9.2.1 两步预培养程序制备白色念珠菌接种菌悬液

从3代~10代的白色念珠菌保存菌种(8.2)试管斜面中取一接种环,在沙氏琼脂平板(7.3)上划线,于37℃±1℃,培养18 h~24 h。用接种环从平板中挑出典型的菌落,接种于沙氏琼脂培养基(7.3)试管斜面,37℃±1℃,培养18 h~24 h,得新鲜培养物,再往此试管中加入5 mL 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)。反复吹吸,洗下新鲜菌苔。然后用5 mL吸管将洗脱液移至另一支无菌试管中,用旋涡式振荡器混合20 s或在上手振摇80次,使其充分混匀,即制成了接种菌悬液。此菌悬液含量采用分光光度计法或稀释法测定,活菌数应达到 1×10^8 CFU/mL~ 5×10^8 CFU/mL。此新鲜菌液应在4 h内尽快使用,以保证接种菌的活性。

9.2.2 白色念珠菌接种菌液的准备

用吸管从白色念珠菌悬液(9.2.1)中吸取2 mL~4 mL,移入装有9 mL 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)的试管中,进行10倍系列稀释操作,充分混匀。吸取5 mL移入装有45 mL 0.03 mol/L PBS缓

冲液(7.4)的三角烧瓶中,充分混匀。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(可在此三角烧瓶中适量加入直径 2 mm~3 mm 的小玻璃球振摇,以利撞碎结块的菌团,使接种菌液更均匀)。此接种菌液应在 4 h 内尽快使用,以保持接种菌的活性。

10 试样的准备

10.1 样品洗涤

试
洗涤方

注明采用的

10.1.1

从
A1M 进
0.2%,
次,每
个程序

的试验条件
洗涤剂浓度
水中清洗两
次,最后一

10.1.2

从
无磷标
增加水
机洗涤
取出织
试,最后

1993 WOB
试样按比例
剂 12 g,开
水洗 2 min,
抗菌性能测

10.2

将
样,用小
未

作为一份试

10.3

将
若
结果;对

性能和检测

11 试

11.1

准备 9 个 250 mL 三角烧瓶。在其中 3 个烧瓶中各加入对照样 $0.75 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$, 3 个烧瓶中各加入抗菌织物试样 $0.75 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$, 另 3 个烧瓶不加试样作为空白对照。然后在每个烧瓶中各加入 $70 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ 0.03 mol/L PBS 缓冲液(7.4)。

若需要,可另增加 3 个三角烧瓶,各装入 $0.75 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$ 未经抗菌处理织物试样,并各加入 $70 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ 0.03 mol/L PBS 缓冲液(7.4),以考察未经抗菌处理织物试样的相关性能。

注:空白对照用于观察试验菌的接种浓度,并观察试验菌在试验期内的活性,防止因其自身的衰减获得虚高的试验结果。

11.2 “0”接触时间制样

用吸管往 3 个对照样烧瓶和 3 个对照烧瓶中各加入 5 mL 接种菌液(9.1.2 或 9.2.2)。盖好瓶塞,

放在恒温振荡器上,在 $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$,以 $250\text{ r/min}\sim 300\text{ r/min}$,振荡 $1\text{ min}\pm 5\text{ s}$,然后进行下一步“0”接触时间取样。

11.3 “0”接触时间取样

用吸管在“0”接触时间制样的6个烧瓶中各吸取 $1\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 溶液,移入装有 $9\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)的试管中,充分混匀。用10倍稀释法再进行1次稀释,充分混匀。吸取 $1\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 移入灭菌的平皿,倾注营养琼脂培养基(7.2)或沙氏琼脂培养基(7.3)约 15 mL 。每个 10^2 稀释倍数的试管分别吸液制作两个平板作平行样。室温凝固,倒置平板, $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\sim 48\text{ h}$ (白色念珠菌 $48\text{ h}\sim 72\text{ h}$)。记录每个平板中的菌落数。

注:对照样接种“0”接触时间取样并倾注平板培养后,在此 10^2 稀释倍数平板中,金黄色葡萄球菌及大肠杆菌的平均菌落数宜控制在 $200\text{ CFU}\sim 250\text{ CFU}$ 的范围,白色念珠菌的平均菌落数宜控制在 $150\text{ CFU}\sim 200\text{ CFU}$ 的范围,否则影响试验精确度。

11.4 定时振荡接触

用吸管往3个抗菌织物试样烧瓶中各加入 5 mL 接种菌液(9.1.2或9.2.2),盖好瓶塞。已完成“0”接触时间取样且盖好瓶塞的另6个烧瓶不需再加接种液。再将此9个试样的烧瓶置于恒温振荡器上,在 $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$,以 150 r/min ,振荡 18 h 。

注:若另增加了3个未经抗菌处理织物试样,则在此试样烧瓶中也各加入 5 mL 接种菌液(9.1.2或9.2.2),并盖好瓶塞。与其他试样在相同条件振荡 18 h 。

11.5 稀释培养及菌落数的测定

到规定时间后,从每个烧瓶中吸取 $1\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 试液,移入装有 $9\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 0.03 mol/L PBS缓冲液(7.4)的试管中,充分混匀。用10倍稀释法系列稀释至合适稀释倍数。用吸管从每个稀释倍数的试管中分别吸取 $1\text{ mL}\pm 0.1\text{ mL}$ 移入灭菌的平皿,倾注营养琼脂培养基(7.2)或沙氏琼脂培养基(7.3)约 15 mL 。每个稀释倍数的试管分别吸液制作两个平板作平行样。室温凝固,倒置平板, $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 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 $30\text{ CFU}\sim 300\text{ CFU}$ 之间的合适稀释倍数的平板进行计数。若最小稀释倍数平板中的菌落数 <30 ,则按实际数量记录;若无菌落生长,则菌落数记为“ <1 ”。

两个平行平板的菌落数相差应在 15% 以内,否则此数据无效,应重作试验。

12 结果的计算及评价

12.1 活菌浓度的计算

根据两个平板得到的菌落数,按式(1)计算每个试样烧瓶内的活菌浓度(保留两位有效数)。

$$K = Z \times R \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

K ——每个试样烧瓶内的活菌浓度(CFU/mL);

Z ——两个平板菌落数的平均值;

R ——稀释倍数。

12.2 试验有效性的判断

根据式(2)计算试验菌的增长值 F 。对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌等细菌,当 F 大于或等于 1.5 ;对白色念珠菌,当 F 大于或等于 0.7 ,且对照烧瓶中的活菌浓度比接种时的活菌浓度增加时,试验判定为有效。否则试验无效,需重新进行试验。

$$F = \lg W_t - \lg W_0 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

F ——对照样的试验菌增长值;

W_t ——3个对照样 18 h 振荡接触后烧瓶内的活菌浓度的平均值(CFU/mL);

W_0 ——3 个对照样“0”接触时间烧瓶内的活菌浓度的平均值(CFU/mL)。

12.3 抑菌率的计算

振荡接触 18 h 后,比较对照样与抗菌织物(或未抗菌处理织物)试样烧瓶内的活菌浓度,按式(3)计算抑菌率(保留两位有效数)。

$$Y = \frac{W_t - Q_t}{W_t} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

式中
Y——
 W_t ——
 Q_t ——

的平均值

12.4 注

以 $Y \geq 0$ 为“ ≥ 0 ”

0 时,表示

12.5 注

对金
效果。

具有抗菌

13 试验

试验

- a)
- b)
- c)
- d)
- e)
- f)
- g)
- h)
- i)
- j)
- k)

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
纺织品 抗菌性能的评价
第 3 部分:振荡法
GB/T 20944.3—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 13 千字
2008年6月第一版 2008年6月第一次印刷

*
书号:155066·1-31591 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 20944.3-2008