

ICS 11.080
C 59



中华人民共和国国家标准

GB 27951—2011

皮肤消毒剂卫生要求

Hygiene requirements for skin disinfectant

2011-12-30 发布

2012-05-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的全部技术内容为强制性。

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准负责起草单位：山东省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心、深圳市疾病预防控制中心。

本标准参与起草单位：福伟科技有限公司、深圳市安多福实业发展有限公司、济南鑫永泰实业有限公司、山东利尔康消毒科技有限责任公司、山东新华医疗器械股份有限公司。

本标准主要起草人：崔树玉、孙启华、张流波、格里申·亚历山大、谢永军、朱汉泉、李永强、温宪芹、李爱萍、赵克义、刘文杰、王超、朱子犁、吴刚。

皮肤消毒剂卫生要求

1 范围

本标准规定了皮肤消毒剂的技术要求、试验方法、使用方法、标签和说明书以及使用注意事项。
本标准适用于完整皮肤和破损皮肤消毒的消毒剂,不适用于手消毒剂。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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/T 601 化学试剂滴定分析用标准溶液制备

GB/T 6680 液体化工产品采样通则

GB 15603 常用化学危险品贮存通则

GB 15982 医院消毒卫生标准

中华人民共和国药典

消毒技术规范 卫生部

化妆品卫生规范 卫生部

消毒产品标签说明书管理规范 卫生部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

皮肤消毒 skin disinfection

杀灭或清除人体皮肤上的病原微生物,并达到消毒要求。

3.2

皮肤消毒剂 skin disinfectant

用于人体皮肤上消毒的制剂。

3.3

完整皮肤 intact skin

人体表面的正常无损伤的皮肤。

3.4

破损皮肤 damaged skin

人体表面有损伤的皮肤。

4 技术要求

4.1 有效成分的种类

4.1.1 完整皮肤常用消毒剂的种类

醇类、碘类、胍类、季胺盐类、酚类、过氧化物类等。

4.1.2 破损皮肤常用消毒剂的种类

季胺盐类、胍类消毒剂以及过氧化氢、碘伏、三氯羟基二苯醚、酸性氧化电位水等。

4.2 原料要求

4.2.1 原料

应符合《中华人民共和国药典》、国家及行业标准等有关规定。

4.2.2 生产用水

应符合《中华人民共和国药典》中纯化水的要求。

4.2.3 禁用物质

各种处方药成分如抗生素、抗真菌药物、激素等和卫生行政部门规定的禁用物质。

4.3 产品质量要求

4.3.1 感官性状

消毒剂应均匀不分层,无沉淀和悬浮物,无异味。

4.3.2 理化指标

4.3.2.1 消毒剂的有效成分含量、pH 值应符合产品质量的相关标准。

4.3.2.2 有效成分与杂质限量 葡萄糖酸氯己定或醋酸氯己定有效总量 $<45\text{ g/L}$,三氯羟基二苯醚消毒剂有效总量 $<20\text{ g/L}$,苯扎溴胺或苯扎氯胺消毒剂有效总量 $<5\text{ g/L}$ 。铅 $<40\text{ mg/L}$ 、汞 $<1\text{ mg/L}$ 、砷 $<10\text{ mg/L}$ 。

4.3.3 微生物指标

4.3.3.1 杀灭微生物指标 应符合表 1 的要求。

表 1 杀灭微生物指标

项 目	指 标	
	作用时间 min	杀灭对数值
金黄色葡萄球菌杀灭试验	≤ 5.0	≥ 5.00
铜绿假单胞菌杀灭试验	≤ 5.0	≥ 5.00
白色念珠菌杀灭试验	≤ 5.0	≥ 4.00
现场试验(自然菌)	≤ 5.0	≥ 1.0

注：注射或穿刺部位皮肤消毒时间 $\leq 1\text{ min}$ 。

4.3.3.2 微生物污染指标 完整皮肤消毒剂菌落总数 $\leq 10\text{ CFU/mL(g)}$,霉菌和酵母菌 $\leq 10\text{ CFU/mL(g)}$,不得检出致病菌;破损皮肤的消毒剂应无菌。

4.3.4 安全性要求

皮肤消毒剂毒理学指标见表2。

表2 毒理学指标

项 目	判定指标
急性经口毒性试验	实际无毒或低毒
一次完整皮肤刺激试验	无刺激或轻度刺激
破损皮肤刺激试验 ^a	无刺激或轻度刺激
急性眼刺激试验 ^a	无刺激或轻度刺激
皮肤变态试验 ^b	未见或极轻度
致突变试验	阴性
^a 破损皮肤消毒剂,需做该试验。 ^b 估计消毒剂有致敏作用者,需做该试验。	

4.3.5 稳定性

原包装产品的有效期 ≥ 12 个月。

4.3.6 对使用中消毒剂的要求

开封后使用中的消毒剂感官性状、有效成分含量、pH等符合产品质量要求,菌落总数 ≤ 50 CFU/mL(g),霉菌和酵母菌 ≤ 10 CFU/mL(g)。应符合GB 15982的要求,不得检出致病菌(金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、乙型溶血性链球菌)。使用中破损皮肤消毒剂应符合出厂要求。

5 试验方法

5.1 感官性状检查

用目测方法检查消毒剂颜色、澄清度等。

5.2 理化指标的测定

5.2.1 pH值测定

按《消毒技术规范》有关方法进行测定。

5.2.2 有效成分含量

按《消毒技术规范》、GB 6680、GB/T 601等有关规定进行测定。

5.2.3 铅、汞、砷限量测定

按《化妆品卫生规范》有关方法进行测定。

5.2.4 稳定性试验

按《消毒技术规范》有关方法进行测定。

5.3 杀灭微生物试验

按《消毒技术规范》有关方法进行测定。

5.4 微生物污染鉴定

菌落总数、霉菌和酵母菌、致病菌和无菌检验见附录 A。

5.5 毒理学试验

按《消毒技术规范》有关方法进行测定。

6 使用方法

6.1 完整皮肤消毒

用消毒剂擦拭或揉搓消毒 2 次~3 次,作用 1 min~5 min 达到消毒效果。

6.2 破损皮肤消毒

用消毒剂涂擦或冲洗消毒,作用 1 min~5 min 达到消毒效果。

6.3 注射或穿刺部位皮肤消毒

用消毒剂擦拭消毒 2 次~3 次,作用 \leq 1 min 达到消毒效果。

7 标签和说明书

符合《消毒产品标签说明书管理规范》有关规定。

8 使用注意事项

- 8.1 避光、密封、防潮,置于阴凉、干燥处保存。
- 8.2 避免与拮抗药物同用。
- 8.3 过敏者慎用。
- 8.4 外用消毒剂,不得口服,置于儿童不易触及处。
- 8.5 使用碘类消毒剂消毒后,应脱碘。
- 8.6 储存应符合 GB 15603 的要求,易燃者,远离火源。
- 8.7 有效期内使用。

附录 A
(规范性附录)
微生物检验方法

A.1 菌落总数的测定

A.1.1 试验器材

- A.1.1.1 锥形瓶:250 mL。
- A.1.1.2 量筒:200 mL。
- A.1.1.3 高压灭菌器。
- A.1.1.4 100 级洁净室或 100 级层流超净工作台。
- A.1.1.5 试管:15 mm×150 mm。
- A.1.1.6 灭菌平皿:直径 9 cm。
- A.1.1.7 灭菌刻度吸管:10 mL、1 mL。
- A.1.1.8 酒精灯。
- A.1.1.9 恒温培养箱: $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- A.1.1.10 放大镜。
- A.1.1.11 生理盐水。
- A.1.1.12 普通营养琼脂培养基。
- A.1.1.13 中和剂。

A.1.2 方法

A.1.2.1 样品处理

用无菌吸管吸取消毒液 1.0 mL,加入到 9.0 mL 含相应中和剂的无菌生理盐水中,震荡 20 s 或振打 80 次,取 1:10 稀释液进行检测。

A.1.2.2 操作步骤

用灭菌吸管吸取 1:10 稀释的检液 2 mL,分别注入到两个灭菌平皿内,每皿 1 mL。另取 1 mL 注入到 9 mL 灭菌生理盐水试管中,并震荡 20 s 或振打 80 次,分混匀,制成 1:100 检液。吸取 2 mL,分别注入到两个灭菌平皿内,每皿 1 mL。如样品含菌量高,还可再继续稀释,每种稀释度应换 1 支吸管。将融化并冷至 $45\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的普通营养琼脂培养基倾注到平皿内,每皿约 15 mL,随即转动平皿,使样品与培养基充分混合均匀,待琼脂凝固后,翻转平皿,置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱内培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。另取一个不加样品的灭菌空平皿,加入约 15 mL 普通营养琼脂培养基,待琼脂凝固后,翻转平皿,置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱内培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$,为空白对照。

A.1.2.3 结果报告

先用肉眼观察,点数菌落数,然后再用放大 5 倍~10 倍的放大镜检查,以防遗漏。记下各平皿的菌落数后,求出同一稀释度各平皿生长的平均菌落数。判定结果时,应选取菌落数在 30 个~300 个范围内的平皿计数,乘以稀释度报告 1 mL(1 g)消毒剂中所含菌落的总数(CFU),以 CFU/mL(g)表示。若所有的稀释度均无菌生长,报告数为 $<10\text{ CFU/mL(g)}$ 。

A.2 霉菌和酵母菌的检测方法

A.2.1 试验器材

- A.2.1.1 培养箱:28℃±2℃。
- A.2.1.2 振荡器。
- A.2.1.3 天平。
- A.2.1.4 锥形瓶,250 mL。
- A.2.1.5 试管:15 mm×150 mm。
- A.2.1.6 平皿:直径9 cm。
- A.2.1.7 吸管:1 mL、10 mL。
- A.2.1.8 量筒:200 mL。
- A.2.1.9 酒精灯。
- A.2.1.10 高压灭菌器。
- A.2.1.11 沙堡罗琼脂培养基。
- A.2.1.12 生理盐水。

A.2.2 方法

- A.2.2.1 样品处理:见 A.1.2.1。
- A.2.2.2 操作步骤:取1:10、1:100、1:1000的检液各1 mL分别注入灭菌平皿内,每个稀释度各用2个平皿,注入融化并冷至45℃±1℃左右的沙堡罗琼脂培养基,充分摇匀。凝固后,翻转平板,置28℃±1℃培养72 h±2 h,计数平板内生长的霉菌和酵母菌数。若有霉菌蔓延生长,为避免影响其他霉菌和酵母菌的计数时,于48 h±2 h应及时将此平板取出计数。另取一个不加样品的灭菌空平皿,加入约15 mL沙堡罗琼脂培养基,待琼脂凝固后,翻转平皿,置28℃±1℃培养72 h±2 h,为空白对照。
- A.2.2.3 结果报告:先点数每个平板上生长的霉菌和酵母菌菌落数,求出每个稀释度的平均菌落数。判定结果时,应选取菌落数在5个~50个范围内的平皿计数,乘以稀释倍数即为每毫升(或每克)消毒剂中所含的霉菌和酵母菌数。以CFU/mL(g)表示。若所有的稀释度均无菌生长,报告数为<10 CFU/mL(g)。

A.3 致病菌的检测方法

A.3.1 金黄色葡萄球菌的检测方法

A.3.1.1 试验器材

- A.3.1.1.1 显微镜。
- A.3.1.1.2 恒温培养箱:36℃±1℃。
- A.3.1.1.3 离心机。
- A.3.1.1.4 灭菌吸管:1 mL、10 mL。
- A.3.1.1.5 灭菌试管:15 mm×150 mm。
- A.3.1.1.6 载玻片。
- A.3.1.1.7 酒精灯。
- A.3.1.1.8 7.5%的氯化钠肉汤。
- A.3.1.1.9 血琼脂培养基。

A. 3. 1. 1. 10 甘露醇发酵培养基。

A. 3. 1. 1. 11 兔(人)血浆。

A. 3. 1. 2 试验步骤

A. 3. 1. 2. 1 样品处理

见 A. 1. 2. 1。

A. 3. 1. 2. 2 增菌培养

取 1 : 10 稀释的样品 10mL 接种到 2 倍浓缩 10 mL 7.5% 氯化钠肉汤中, 置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 。

A. 3. 1. 2. 3 分离培养

自上述增菌培养液中, 取 1~2 接种环, 划线接种在血琼脂培养基, 置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h} \sim 48\text{ h}$ 。本菌在血琼脂平板上菌落呈金黄色, 大而突起, 圆形, 不透明, 表面光滑, 周围有溶血圈。挑取单个菌落分纯在血琼脂平板上, 置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 。

A. 3. 1. 2. 4 染色镜检

挑取分纯菌落, 涂片, 进行革兰染色, 镜检。金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌, 排列成葡萄状, 无芽孢, 无荚膜, 致病性葡萄球菌, 菌体较小, 直径约为 $0.5\text{ }\mu\text{m} \sim 1\text{ }\mu\text{m}$ 。

A. 3. 1. 2. 5 甘露醇发酵试验

取上述可疑菌落接种于甘露醇培养基, 于 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h , 发酵甘露醇产酸者为阳性。

A. 3. 1. 2. 6 血浆凝固试验

吸取 1 : 4 新鲜血浆 0.5 mL, 放入灭菌小试管中, 加入待检菌 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 肉汤培养物 0.5 mL。混匀, 放 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱或恒温水浴中, 每 30 min 观察一次, 6 h 之内如呈现凝块即为阳性。同时以已知血浆凝固酶阳性和阴性菌株肉汤培养物及肉汤培养基各 0.5 mL, 分别加入灭菌 1 : 4 血浆 0.5 mL, 混匀, 作为对照。

A. 3. 1. 3 结果报告

凡在上述选择平板上有可疑菌落生长, 经染色镜检, 证明为革兰阳性葡萄球菌, 并能发酵甘露醇产酸, 血浆凝固酶试验阳性者, 可报告检出金黄色葡萄球菌。

A. 3. 2 铜绿假单胞菌的检测方法

A. 3. 2. 1 试验器材

A. 3. 2. 1. 1 培养箱: $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

A. 3. 2. 1. 2 锥形瓶: 250 mL。

A. 3. 2. 1. 3 试管: 15 mm × 150 mm。

A. 3. 2. 1. 4 灭菌平皿: 直径 90 mm。

A. 3. 2. 1. 5 灭菌刻度吸管: 10 mL、1 mL。

A. 3. 2. 1. 6 显微镜。

A. 3. 2. 1. 7 载玻片。

- A. 3.2.1.8 接种针、接种环。
- A. 3.2.1.9 电磁炉。
- A. 3.2.1.10 高压灭菌器。
- A. 3.2.1.11 普通肉汤。
- A. 3.2.1.12 十六烷基三甲基溴化铵培养基。
- A. 3.2.1.13 绿脓菌素测定用培养基。
- A. 3.2.1.14 明胶培养基。
- A. 3.2.1.15 硝酸盐蛋白胨水培养基。
- A. 3.2.1.16 普通琼脂斜面培养基。
- A. 3.2.1.17 1%二甲基对苯二胺试液。

A. 3.2.2 试验步骤

A. 3.2.2.1 样品处理:见 A. 1.2.1。

A. 3.2.2.2 增菌培养:取 1:10 稀释的样品 10 mL 接种到 2 倍浓缩 10 mL 普通肉汤中。置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。如有铜绿假单胞菌生长,培养液表面多有一层薄菌膜,培养液常呈黄绿色或蓝绿色。

A. 3.2.2.3 分离培养:从培养液的薄膜处挑取培养物,划线接种在十六烷基三甲基溴化铵琼脂平板上,置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。铜绿假单胞菌在该培养基上,其菌落扁平无定型,向周边扩散或略有蔓延,表面湿润,菌落呈灰白色,菌落周围培养基常扩散有水溶性绿色色素。

A. 3.2.2.4 染色镜检:挑取可疑菌落,涂片,革兰染色,镜检为革兰阴性者应进行氧化酶试验。

A. 3.2.2.5 氧化酶试验:取一小块洁净的白色滤纸片放在灭菌平皿内,用无菌玻璃棒挑取铜绿假单胞菌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,在 15 s~30 s 之内,出现粉红色或紫红色时,为氧化酶试验阳性;若培养物不变色,为氧化酶试验阴性。

A. 3.2.2.6 绿脓菌素试验:取可疑菌落 2 个~3 个,分别接种在绿脓菌素测定培养基上,置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$,加入氯仿 3 mL~5 mL,充分振荡使培养物中的绿脓菌素溶解于氯仿液内,待氯仿提取液呈蓝色时,用吸管将氯仿移到另一试管中并加入 1 mol/L 的盐酸 1 mL 左右,振荡后,静置片刻。如上层盐酸液内出现粉红色到紫红色时为阳性,表示被检物中有绿脓菌素存在。

A. 3.2.2.7 硝酸盐还原产气试验:挑取可疑的铜绿假单胞菌纯培养物,接种在硝酸盐蛋白胨水培养基中,置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$,观察结果。凡在硝酸盐蛋白胨水培养基内的小倒管中有气体者,即为阳性,表明该菌能还原硝酸盐,并将亚硝酸盐分解产生氮气。

A. 3.2.2.8 明胶液化试验:取铜绿假单胞菌可疑菌落的纯培养物,穿刺接种在明胶培养基内,置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$,取出放冰箱 10 min~30 min,如仍呈溶解状或表面溶解时即为明胶液化试验阳性;如凝固不溶者为阴性。

A. 3.2.2.9 42℃生长试验:挑取可疑的铜绿假单胞菌纯培养物,接种在普通琼脂斜面培养基上,放在 $42\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中,培养 24 h~48 h,铜绿假单胞菌能生长,为阳性,而同属的荧光假单胞菌则不能生长。

A. 3.2.3 结果报告

被检消毒剂经增菌分离培养后,证实为革兰阴性杆菌,氧化酶及绿脓菌素试验均为阳性者,即可报告被检样品中检出铜绿假单胞菌;如绿脓菌素试验阴性而液化明胶、硝酸盐还原产气和 42℃生长试验三者为阳性时,仍可报告被检样品中检出铜绿假单胞菌。

A.3.3 乙型溶血性链球菌的检测方法

A.3.3.1 试验器材

- A.3.3.1.1 培养箱:36℃±1℃。
- A.3.3.1.2 锥形瓶:250 mL。
- A.3.3.1.3 试管:15 mm×150 mm。
- A.3.3.1.4 灭菌平皿:直径 90 mm。
- A.3.3.1.5 灭菌刻度吸管:10 mL、1 mL。
- A.3.3.1.6 显微镜。
- A.3.3.1.7 载玻片。
- A.3.3.1.8 接种针、接种环。
- A.3.3.1.9 电磁炉。
- A.3.3.1.10 高压灭菌器。
- A.3.3.1.11 1%葡萄糖肉汤。
- A.3.3.1.12 血琼脂培养基。
- A.3.3.1.13 30% H_2O_2 。
- A.3.3.1.14 兔(人)血浆。
- A.3.3.1.15 生理盐水。
- A.3.3.1.16 0.25%氯化钙。

A.3.3.2 试验步骤

- A.3.3.2.1 样品处理:见 A.1.2.1。
- A.3.3.2.2 增菌培养:取 1:10 稀释的样品 10 mL 接种到 2 倍浓缩 10 mL 1%葡萄糖肉汤,置 36℃±1℃培养 18 h~24 h。
- A.3.3.2.3 分离培养:从培养液的薄膜处挑取培养物,划线接种在血平板上,置 36℃±1℃培养 18 h~24 h。乙型溶血性链球菌在血平板上菌落形态为灰白色、半透明或不透明、针尖状突起、表面光滑、边缘整齐、周围有 β 溶血圈。
- A.3.3.2.4 染色镜检:挑取可疑的菌落,涂片,革兰染色,镜下为革兰阳性、呈链状排列的球菌。
- A.3.3.2.5 触酶试验:用接种环挑取孵育 18 h~24 h 单个菌落的中心培养物放在洁净玻片上,用滴管在玻片的细菌上滴加 30% H_2O_2 (操作顺序不能颠倒,否则易出现假阳性)立刻观察有无冒泡,并记录结果,有气泡者为阳性,乙型溶血性链球菌呈阴性。
- A.3.3.2.6 链激酶试验:吸取草酸钾血浆 0.2 mL(0.02 g 草酸钾加 5 mL 人血浆混匀,经离心沉淀,吸取上清),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,放入 36℃±1℃水浴中,每 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的时间,如 2 h 内不溶化,移入孵箱观察 24 h 的结果,如全部溶化为阳性;24 h 仍不溶解者为阴性。
- A.3.3.2.7 杆菌肽敏感试验:将被检菌浓菌液涂于血平板上,用灭菌镊子取含 0.04 单位杆菌肽纸片放在平板表面上。同时以已知阳性菌株作对照,于 36℃±1℃培养 18 h~24 h,有抑菌带者为阳性。

A.3.3.3 结果报告

被检消毒剂经增菌分离培养后,经证实为革兰阳性、呈链状排列的球菌,触酶阴性、链激酶试验阳性、对杆菌肽敏感者,即可报告为检出乙型溶血性链球菌。

A.3.4 无菌检验

A.3.4.1 试验器材

A.3.4.1.1 需氧-厌氧菌培养基。

A.3.4.1.2 无菌试验用真菌培养基(下简称真菌培养基)。

A.3.4.1.3 中和剂。

A.3.4.1.4 100级洁净室或100级层流超净工作台(下分别简称洁净室与超净台)。

A.3.4.2 采样前准备

A.3.4.2.1 采用平板尘降法检测洁净室或超净台内空气的含菌量:用 $\phi 9$ cm双平板暴露30 min对空气采样后进行培养。平均菌落数 ≤ 1.0 CFU/平板为合格。

A.3.4.2.2 需氧-厌氧培养基培养性能检查:接种1.0 mL含10个以下的藤黄微球菌[*Micrococcus Lutea*, CMCC(B)28001]菌悬液,置 $30^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后,应生长良好。另接种1.0 mL含50个以下的生孢梭菌[*Clostridium sporogenes*, CMCC(B)64941]菌悬液,置同样条件,亦应生长良好。

A.3.4.2.3 真菌培养基培养性能检验:接种1.0 mL含50 CFU以下的白色念珠菌[*Candida albicans*, CMCC(F)98001]菌悬液,置 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后应生长良好。

A.3.4.2.4 中和剂无菌检查:于无菌检查前3 d,向需氧-厌氧菌培养基与真菌培养基内各接种1.0 mL中和剂,分别置 $30^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 与 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 条件下,培养72 h后应无菌生长。

A.3.4.2.5 培养基无菌检查:于无菌检查3 d,将未种菌的需氧-厌氧菌培养基与真菌培养基分别置 $30^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 与 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 条件下,培养72 h后应无菌生长。

A.3.4.2.6 阳性对照菌悬液制备:于无菌试验前一天,取金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]普通琼脂斜面新鲜培养物1接种环,接种于需氧-厌氧菌培养基内,在 $30^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养16 h~18 h备用。用时以无菌生理盐水稀释至 $1:10^6$ 。

A.3.4.2.7 无菌室与试验台消毒:对无菌室地面与桌面以及试验台台面擦净消毒后,将无菌试验用的培养基、洗脱液、供试品及其他需用器材放妥。开启紫外线灯消毒1 h。

A.3.4.3 操作步骤

A.3.4.3.1 工作人员穿戴无菌隔离衣、帽、口罩、鞋后进入无菌室,用75%乙醇消毒双手。

A.3.4.3.2 将供试品外包装用75%乙醇擦拭消毒后放于试验台上。

A.3.4.3.3 样品处理:见A.1.2.1。

A.3.4.3.4 取 $1:10$ 稀释的样品7 mL分别接种到于需氧-厌氧培养管5管与真菌培养管2管,每管含培养基9 mL,在其中一支加有样本的需氧-厌氧菌培养管中接种1.0 mL金黄色葡萄球菌稀释悬液作为阳性对照。取需氧-厌氧培养管与真菌培养管各1支,打开盖(或塞)置试验台上,直至样本无菌检查试验完毕。盖上盖(或塞)与供试品一起培养,作为阴性对照。

A.3.4.3.5 将上述接种消毒剂稀释液后的需氧-厌氧菌培养管、阳性对照管与阴性对照管同时放入 $30^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内、连续培养5 d,逐日观察培养结果。将上述接种消毒剂稀释液后的真菌培养管、阳性对照管与阴性对照管同时放入 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内、连续培养7 d,逐日观察培养结果。阳性对照管应有菌生长,阴性对照应无菌生长,否则试验重做。

A.3.4.4 结果报告

A.3.4.4.1 当阳性和阴性对照管培养的结果符合要求,接种消毒剂的需氧-厌氧菌培养管及真菌培养管均呈澄清(或虽浑浊但经证明并非有菌生长者),判定供试品合格。

A.3.4.4.2 接种消毒剂的需氧-厌氧菌培养管及真菌培养管中有任何一管呈浑浊,并确认有菌生长时,应用同批样本进行复测。复测中,除阳性对照管外,其他各管均无菌生长,仍可判为合格,否则判定消毒剂不合格。
