

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	$\leq 5.0$	$\geq 5.00$
铜绿假单胞菌杀灭试验	$\leq 5.0$	$\geq 5.00$
白色念珠菌杀灭试验	$\leq 5.0$	$\geq 4.00$
现场试验(自然菌)	$\leq 5.0$	$\geq 1.0$

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 <sup>a</sup>	无刺激或轻度刺激
急性眼刺激试验 <sup>a</sup>	无刺激或轻度刺激
皮肤变态试验 <sup>b</sup>	未见或极轻度
致突变试验	阴性
<sup>a</sup> 破损皮肤消毒剂,需做该试验。 <sup>b</sup> 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 $\geq 12$ 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 $\leq 50$  CFU/mL(g),霉菌和酵母菌 $\leq 10$  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  $24\text{ h}$ , 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 $\beta$ 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 $\leq 1.0$  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。

---