



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3229—2012

食品消毒剂 and 防腐剂杀菌效果评价方法

Evaluation of bactericidal activity of disinfection and antisepsis in food

2012-10-23 发布

2013-05-01 实施



中 华 人 民 共 和 国
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局 发 布

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
食品消毒剂 and 防腐剂杀菌效果评价方法
SN/T 3229—2012

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100013)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)
总编室:(010)64275323

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 40 千字
2013 年 3 月第一版 2013 年 3 月第一次印刷
印数 1—1 600

*

书号: 155066 • 2-24732

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国山东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：姜英辉、房保海、祝素珍、马维兴、张健、张吉、唐静、李正义、赵丽青、贾俊涛、刘云国、雷质文。

食品消毒剂和防腐剂杀菌效果评价方法

1 范围

本标准规定了在硬水中形成均一的、物理性状稳定溶液的化学消毒剂和防腐剂产品的杀菌效果试验方法和基本要求。

本标准适用于食品的化学消毒剂和防腐剂产品杀菌效果的评价,也可供工业、家庭和公共场所使用化学消毒剂和防腐剂产品杀菌效果的评价时参考。

本标准不适用于医用和除手之外的活体组织消毒使用的化学消毒剂和防腐剂产品杀菌效果的评价。

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 4789.2—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
SN/T 2660 食品微生物实验室菌种保藏方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

化学消毒剂和(或)防腐剂产品 **product(for chemical disinfection and/or antisepsis)**
用于化学消毒或防腐的化学试剂。

3.2

杀菌剂 **bactericide**
在一定浓度下能够杀死细菌繁殖体的消毒剂和防腐剂产品。

3.3

杀菌能力 **bacteridial activity**
在本文件规定的条件下,消毒剂和防腐剂产品能够使参考菌株铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌和小肠肠球菌的活菌数量下降至少 10^5 的能力。

3.4

清洁条件 **clean conditions**
典型的表面条件为经过充分的清洁和(或)已知表面含有极少量的有机或无机物。

3.5

非清洁条件 **dirty conditions**
典型的表面条件为已知或可能含有有机或无机物。

4 总则

4.1 根据消毒剂和防腐剂产品的实际应用情况,用硬水稀释消毒剂和防腐剂产品。按照测试方法的要

求,模拟清洁条件(0.3 g/L 牛血清白蛋白)或非清洁条件(3 g/L 牛血清白蛋白),在给定的测试条件下(20 °C, 5 min, 选择 4 种参考菌株),消毒剂 and 防腐剂产品应能使活菌数量至少下降 10^5 。

4.2 采用以下 4 种试验菌株评价杀菌能力:铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌和小肠肠球菌。

4.3 建议实际使用时采用试验中确定的被测试产品的杀菌浓度。

4.4 考虑到消毒剂和防腐剂产品在特定条件下的使用,应按 5.5.1 给出的要求,测定其他特定条件下(如:时间、温度、其他菌株和干扰物质)的杀菌能力。

5 试验方法

5.1 材料和试剂

5.1.1 试验菌株

使用以下 4 种菌株进行杀菌能力的评价:

- 铜绿假单胞菌 ATCC 15442¹⁾;
- 大肠埃希氏菌 ATCC 10536;
- 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538;
- 小肠肠球菌 ATCC 10541。

如果有特殊应用,还可增选其他菌株,例如:

- 鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 13311;
- 短乳杆菌 DSM 6235;
- 阴沟肠杆菌 DSM 6234。

其他培养物菌株号的相关信息参见附录 A。

如果使用其他菌株,应在最适培养条件下(温度、时间和好氧)培养,并在报告中注明。

如果选择的其他菌株不是上述菌株,应对接种的适宜浓度进行验证。如果使用的其他菌株没有在保藏机构经过分类鉴定,应对其鉴定特征进行描述。此外,其他菌株应在测试实验室或国家保藏机构保藏 5 年。

5.1.2 培养基和试剂

5.1.2.1 概述

试剂应为分析纯或满足微生物学要求。

注:为提高重现性,推荐使用商业性脱水培养基用于培养基的制备,并严格遵循制造商的使用说明。

5.1.2.2 水

水应为新制备的蒸馏水而不是去离子水,不含有毒或抑制细菌生长的物质。

采用高压灭菌法对水进行消毒。

5.1.2.3 胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)

见 B.1。

1) ATCC 15422, ATCC 10536, ATCC 6538 和 ATCC 8043 是由美国典型培养物保藏中心提供的菌株编号。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该菌株名称的认可。如果其他的等效菌株具有相同的效果,则可使用这些等效菌株。

5.1.2.4 稀释液

见 B.2。

5.1.2.5 中和剂

对中和剂进行验证应符合附录 C 的规定,中和剂应灭菌。适用于某些产品的中和剂信息参见附录 D。

5.1.2.6 淋洗液(用于膜过滤)

淋洗液应无菌,与过滤膜有相容性,在附录 C 所给出的试验条件下,淋洗液可通过滤膜。适用于某些产品的淋洗液信息参见附录 E。

5.1.2.7 用于稀释消毒剂和防腐剂的硬水

见 B.3。

5.1.2.8 干扰物质

5.1.2.8.1 总则

应详细描述干扰物质的离子组成(pH,钙或镁的硬度)和化学组成(矿物质、蛋白质、糖类、脂肪、清洁剂等)。根据产品的使用环境和条件选择干扰物质。干扰物质应保证无菌,并制备成试验浓度的10倍浓缩液。干扰物质的组成、制备和灭菌方法应在试验报告中加以描述。

5.1.2.8.2 干扰物质的组成

见 B.4。

5.2 设备和器具

5.2.1 概述

采用以下方法对试验用玻璃器具和仪器设备进行灭菌,无菌产品除外:

- a) 高压灭菌,121℃灭菌至少15 min;
- b) 干热灭菌,180℃灭菌至少30 min,170℃灭菌至少1 h,160℃灭菌至少2 h。

5.2.2 常用²⁾和特殊的器具和设备

5.2.2.1 灭菌设备

- a) 灭菌器:湿热灭菌,温度可达到121℃并维持至少15 min;
- b) 干燥箱:干热灭菌,温度可达到180℃。

5.2.2.2 水浴锅:20℃±1℃,45℃±1℃和其他试验温度±1℃。

5.2.2.3 培养箱:36℃±1℃或37℃±1℃。

5.2.2.4 pH计:25℃时的测量精度为0.1 pH。

5.2.2.5 秒表。

5.2.2.6 旋涡混合器。

5.2.2.7 膜过滤器(如果使用):应和试验的消毒剂和防腐剂产品有相容性,过滤瓶容积至少为50 mL,

2) 可采用一次性器具代替可重复使用的玻璃器具。

滤膜的最适直径为 47 mm~50 mm,孔径为 0.45 μm 。真空装置可以提供稳定的流速。为了使微生物在膜上均匀分布并防止过滤时间过长,可设定采用 100 mL 淋洗液,淋洗 20 s~40 s。

5.2.2.8 容器:具有合适容积的试管或三角瓶。

5.2.2.9 刻度移液管:规格为 10 mL,1 mL 和 0.1 mL。

5.2.2.10 培养皿:90 mm~100 mm。

5.2.2.11 玻璃珠:直径 3 mm~4 mm。

5.2.2.12 容量瓶。

5.2.2.13 机械摇床。

5.3 细菌菌悬液和试验溶液的制备

5.3.1 细菌菌悬液

5.3.1.1 试验菌株的储备菌株

储备菌株的保存遵照 SN/T 2660 的有关要求进行。

5.3.1.2 试验菌株的工作菌株

制备工作菌株(见 5.1.1)。将储备菌株(见 5.3.1.1)划线 TSA 斜面,培养 18 h~24 h 制备次代培养物,采用同样的方法从次代培养物制备第 2 代次代培养物,以及制备第 3 代次代培养物。由于时间原因无法准备第 2 代次代培养物时,可使用已在培养箱内培养 48 h 的次代培养物,进行传代培养。在此情况下,可进一步进行 24 h 的传代培养。不要制备和使用第 4 代次代培养物。对于其他菌株,应记录并在报告中说明培养和制备菌悬液的任何方法偏离。

注:第 2 代和第 3 代次代培养物为工作菌株。

5.3.1.3 试验用菌悬液

在 100 mL 的三角瓶中加入 10 mL 稀释液(见 5.1.2.4)和 5g 的玻璃珠。转移 1 环工作菌株(见 5.3.1.2)至稀释液中。将接种环浸入稀释液并在瓶壁上研磨,使细胞转移至稀释液中。用机械摇床振摇 3 min。从三角瓶中吸取悬浮液至试管中,用稀释液将细胞浓度稀释到 1.5×10^8 CFU/mL~ 5×10^8 CFU/mL,并计数细胞数量。将菌悬液放于 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴中,2 h 内使用。将试验用菌悬液稀释至 10^{-6} 和 10^{-7} ,进行计数。混合均匀后,每个稀释度取 1.0 mL 至培养皿中,加入融化后冷却至 $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 TSA 12 mL~15 mL。每个稀释度采用两个培养皿作平行样。

5.3.1.4 试验用菌悬液的计数

将培养皿放在 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (或 $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)培养 24 h,弃去无法计数的平板后,计数平板上的菌落数量。将培养皿继续培养 24 h,重新计数平板上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数量 V_c ,根据 5.5.1.1 给出的方法计算试验用菌悬液(N)的细胞数量(CFU/mL)。

5.3.2 消毒剂 and 防腐剂产品试验溶液

5.3.2.1 使用硬水制备消毒剂 and 防腐剂产品的试验溶液

使用无菌硬水(见 5.1.2.7)制备消毒剂 and 防腐剂产品的试验溶液。制备 3 个不同的浓度,其中一个浓度为消毒活性范围,一个浓度为无消毒活性范围。配制的浓度为测试所需浓度的 1.25 倍。

对于固体产品,称取至少 $1\text{ g} \pm 10\text{ mg}$ 产品,用硬水在容量瓶中稀释定容,并根据体积/体积比使用

容量瓶进行连续的稀释。

对于液体产品,根据体积/体积比使用容量瓶用硬水进行稀释。

5.3.2.2 即时使用的消毒剂 and 防腐剂产品

对于即时使用的产品,采用蒸馏水(见 5.1.2.2)制备稀释溶液。

5.3.2.3 试验溶液要求

当采用硬水对消毒剂和防腐剂产品进行稀释时,应获得物理状态均匀、稳定的制备液。消毒剂和防腐剂产品试验溶液及其稀释液应即制即用,并在 60 min 内使用。如果消毒剂和防腐剂产品不稳定,应缩短存放时间。

产品浓度应为试验报告中所记录的浓度,并以质量体积比或容积比的方式记录试验浓度。

5.4 步骤

5.4.1 测试条件的选择

根据产品的实际应用选择如下的试验作用温度、时间和干扰物质:

- a) 温度: $\theta\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - 试验温度为 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
 - 其他温度可选择 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- b) 时间: $t\text{ min}$
 - 试验作用时间为 $5\text{ min}\pm 10\text{ s}$;
 - 其他作用时间可选择 $1\text{ min}\pm 10\text{ s}$, $15\text{ min}\pm 10\text{ s}$, $30\text{ min}\pm 10\text{ s}$ 或 $60\text{ min}\pm 10\text{ s}$ 。
- c) 菌株:
 - 见 5.1.1 所述。
- d) 干扰物质:
 - 根据实际应用,测试用的干扰物质为牛血清蛋白溶液(见 B.4.1),在清洁条件下浓度为 0.3 g/L , 非清洁条件下浓度为 3 g/L ;
 - 其他要求的情况可以采用 5.1.2.8 所给出的干扰物质进行测试。根据消毒剂和防腐剂特定使用范围可以选择这些干扰物质。

在采用的试验条件下,消毒剂和防腐剂产品不应形成沉淀物。

应对每一个所选择的试验条件(θ 、 t 、菌株和干扰物)进行验证,验证应符合附录 C 的规定。

5.4.2 评定消毒剂和防腐剂杀菌效果的试验程序

5.4.2.1 概述

选用稀释中和方法时,采用下面的程序确定合适的中和剂,对使用的中和剂进行稀释-中和方法的验证。如果选用的中和剂无效,可选用其他的中和剂,例如同时含有 30 g/L 吐温 80, 30 g/L 皂角苷, 1 g/L 组氨酸, 3 g/L 卵磷脂, 5 g/L 硫代硫酸钠的稀释液溶液或含有上述物质的 0.0025 mol/L 的磷酸盐溶液。如果以上的中和剂经验证是无效的,可采用膜过滤方法代替稀释-中和方法。对每一个测试菌株和选择的测试条件(见 5.4.1),都应进行消毒剂和防腐剂的杀菌效果的钝化和(或)抑菌效果的验证。

5.4.2.2 稀释-中和方法

5.4.2.2.1 概述

试验之前,将所有的试剂(消毒剂和防腐剂产品试验溶液、试验用菌悬液、干扰物质)置于温度为

$\theta^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴中备用。中和剂和水(见 5.1.2.2)的温度维持在 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

5.4.2.2.2 杀菌效果试验

取 1.0 mL 干扰物质先加入无菌试管中,再加入 1.0 mL 浓度为 $1.5 \times 10^8 \text{ CFU/mL} \sim 5 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$ 试验用菌悬液(见 5.3.1.3),加入时,应小心操作,避免接触试管顶部。迅速用旋涡混合器混匀并立即计时。放入 $\theta^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 $2 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 后,加入一定浓度的消毒剂和防腐剂产品溶液 8.0 mL,迅速用旋涡混合器混匀并立即计时。于 $\theta^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的水浴中作用 $t \pm 10 \text{ s}$ 。作用时间结束前再次用旋涡混合器混匀,反应结束后吸取 1.0 mL 试验混合物和 1.0 mL 水(5.1.2.2)加入装有 8.0 mL 中和剂的试管中,用旋涡混合器混匀并置于 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的水浴中。中和反应 $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 后,立即吸取 1.0 mL 试验样液(中和剂、消毒剂和防腐剂产品溶液、干扰物质和试验用菌悬液)加入到培养皿中进行菌落计数。同时做平行样。特殊情况下,可在 TSA 中加入中和剂(参见附录 D)。采用上述程序测定其他消毒剂和防腐剂产品试验浓度和其他试验菌株制备的试验用菌悬液。

5.4.2.2.3 试验样液的计数

将培养皿放在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (或 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数 V_c ,根据 5.5.1.2 给出的方法计算试验样液(N_a)的细胞数量(CFU/mL)。试验样液细胞计数的稀释因子为 10^{-1} 。

5.4.2.3 膜过滤方法

5.4.2.3.1 概述

试验之前,将所有的试剂(消毒剂和防腐剂产品试验溶液、试验用菌悬液、干扰物质)置于温度为 $\theta^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴中备用。淋洗液的温度维持在 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

5.4.2.3.2 杀菌效果试验

取 1.0 mL 干扰物质先加入无菌试管中,再加入 1.0 mL 浓度为 $1.5 \times 10^8 \text{ CFU/mL} \sim 5 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$ 试验用菌悬液(见 5.3.1.3)。迅速用旋涡混合器混匀并立即计时。放入 $\theta^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 $2 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 后,加入 8.0 mL 的一定浓度的消毒剂和防腐剂溶液,迅速用旋涡混合器混匀并立即计时。于 $\theta^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的水浴中作用 $t \pm 10 \text{ s}$ 。作用时间结束前再次用旋涡混合器混匀,待反应结束后吸取 0.1 mL 试验混合物加入盛有 50 mL 淋洗液(见 5.1.2.6)的膜过滤设备,立即过滤。转移和过滤的时间不应超过 1 min,如果超过 1 min,应在试验报告中加以记录。至少用 150 mL 且不超过 500 mL 的淋洗液进行淋洗。如果淋洗液不是水,最后用 50 mL 的水(见 5.1.2.2)洗涤。将滤膜转移到 TSA 平板的表面,同时作平行样。特殊情况下,可在 TSA 中加入中和剂(参见附录 D)。采用上述程序测定其他消毒剂和防腐剂产品试验浓度和其他试验菌株制备的试验用菌悬液。

注:将滤膜转移到 TSA 平板上时,应注意将过滤面朝上,并避免滤膜和琼脂表面之间产生气泡。

5.4.2.3.3 试验样液的计数

将培养皿放在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (或 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) 培养 24 h。计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。对于每个平板确定最高的菌落数量 V_c ,根据 5.5.1.2 给出的方法计算试验样液(N_a)的细胞数量(CFU/mL)。

5.4.3 稀释-中和方法和膜过滤方法的验证

对稀释-中和方法和膜过滤方法,应对每一个试验菌株和试验条件进行验证并符合附录 C 的规定。

验证试验(见附录 C)可以与杀菌效果评定试验(见 5.4.2)同时进行,仅使用最高浓度的消毒剂和防腐剂产品,其他试验条件(如:试验用菌悬液、消毒剂和防腐剂产品溶液、中和剂或淋洗液、干扰物质和硬水)和杀菌效果评定试验的条件相同。

5.5 计算和结果的表达

5.5.1 菌落计数(CFU/mL)

5.5.1.1 试验用菌悬液

试验用菌悬液(见 5.3.1.4)菌落总数的计算规则是,仅对不超过 300 个菌落数的平板进行计算,其中至少有一个平板的菌落数要超过 15 个,其计算结果才是有效的。计算时应至少选取 1 对平板,选取的所有平板的菌落数都不应超过 300 个,且至少有一个平板的菌落数超过 15 个。如果两个稀释度的平板上的菌落数量都在此范围内,计算其加权平均值,如果仅一个稀释度在此范围内,计算其算术平均值。如果计算加权平均值,按照 GB 4789.2—2010 中的 7.1.2 规定执行。结果保留两位有效数字。如果最后一位数字小于 5 则舍去,即所拟保留的末位数字不变;如果最后一位数字大于 5 则进 1,即所拟保留的末位数字加 1;如果最后一位数字等于 5,则所拟保留的末位数字修约至最近的偶数。

5.5.1.2 试验步骤及其验证

使用下面的方法计数稀释-中和方法和膜过滤方法的杀菌试验(见 5.4.2.2.2 和 5.4.2.3.2)和验证试验(见 C.2,C.4.1 和 C.4.2)的活菌数量。选取不超过 300 CFU 的平板计数菌落总数。应计算两个平板上的菌落数量。至少有一个平板上的菌落数超过 15 个时,采用式(1)计算细胞数量:

细胞数量 = $\frac{c}{n \times d \times V}$ (1)

式中:

- c ——全部平板上的菌落总数之和;
- n ——用于计数的平板数量;
- d ——稀释因子。稀释-中和方法(见 5.4.2.2)和细菌菌悬液(见 C.2)稀释因子为 10^{-1} ;
- V ——样品体积。对于稀释-中和和验证步骤(见 5.4.2.2.3 和 C.4.1)以及细菌菌悬液(见 C.2)取样的体积为 1.0 mL。对于膜过滤试验和验证步骤(见 5.4.2.3.3 和 C.4.2),取样的体积为 0.1 mL。

如果所有平板上的菌落数量少于 15 CFU,记录试验样液的活菌数少于 1.5×10^2 CFU/mL ($<1.5 \times 10^2$ CFU/mL)。如果所有平板上的菌落数量超过 300 个,记录试验样液的活菌数大于 3×10^3 CFU/mL ($>3 \times 10^3$ CFU/mL)。

5.5.2 方法的确认

检查每个试验菌株:

- a) N 介于 1.5×10^8 CFU/mL~ 5×10^8 CFU/mL 之间;
- b) N_v 介于 6×10^2 CFU/mL~ 3×10^3 CFU/mL 之间;
- c) B 等于或大于 0.05 倍 N_v ;
- d) C 等于或大于 0.5 倍 B;
- e) A 等于或大于 0.05 倍 N_v 。

其中：
 N —— 试验用菌悬液的细胞数量 CFU/mL(见 5.3.1.4)；
 N_v —— 细菌菌悬液的细胞数量 CFU/mL(见 C.2)；
 B —— 中和剂毒性验证[见 C.4.1b)]或过滤对照[见 C.4.2b)]的细胞数量 CFU/mL；
 C —— 稀释-中和验证[见 C.4.1c)]或过滤试验对照[见 C.4.1c)]的细胞数量 CFU/mL；
 A —— 试验条件验证[见 C.4.1a)或 C.4.2a)]的细胞数量 CFU/mL。

5.5.3 结果的表达

5.5.3.1 记录每一个测试菌株的试验用菌悬液 N (CFU/mL)(见 5.3.1.4),以及消毒剂 and 防腐剂产品作用后的试验样液 N_a (CFU/mL)(见 5.4.2.2.3 或 5.4.2.3.3)。
5.5.3.2 记录中和反应(见附录 C)验证的细菌悬液 N_v (CFU/mL)。
5.5.3.3 记录稀释-中和方法验证(见 C.4.1)的中和剂毒性对照(B)和稀释中和对照(C)(CFU/mL)。
5.5.3.4 记录膜过滤方法验证(见 C.4.2)的过滤对照(B)和过滤试验对照(C)(CFU/mL)。
5.5.3.5 采用式(2)计算并记录每一个测试菌株和消毒剂 and 防腐剂产品的每一个试验浓度条件下细菌存活数量的下降：

$$R = \frac{N \times 10^{-1}}{N_a} \dots\dots\dots (2)$$

式中：
 R —— 细菌存活量的下降；
 N —— 试验用菌悬液的细胞数量,CFU/mL；
 N_a —— 试验样液的细胞数量,CFU/mL。

5.6 结论

用于一般目的消毒剂 and 防腐剂产品的杀菌效果试验:选择铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌和小肠肠球菌为试验菌株,在试验条件为 20 °C ± 1 °C,时间 5 min ± 10 s,以及清洁和非清洁的条件下,符合程序 5.5.1 和 5.5.2 要求,消毒剂 and 防腐剂产品在一定的浓度下能够使试验细菌数量下降至少 10⁵。用于特定目的消毒剂 and 防腐剂产品的杀菌效果试验:选择铜绿假单胞菌,大肠埃希氏菌,金黄色葡萄球菌和小肠肠球菌为试验菌株,如果需要,增加其他的试验菌株和试验条件: t min, θ °C 和干扰物质,符合程序 5.5.1 和 5.5.2 要求,消毒剂 and 防腐剂在一定的浓度下能够使试验细菌数量下降至少 10⁵。

5.7 试验报告

试验报告应至少包括以下的内容：

- a) 实验室的有关信息。
- b) 样品的有关信息：
 - 1) 消毒剂 and 防腐剂产品名称；
 - 2) 批号；
 - 3) 生产商；
 - 4) 到货日期；
 - 5) 使用的推荐稀释剂；
 - 6) 活性物质和其浓度(如果有)。
- c) 测试方法和其验证：
 - 1) 如果使用中和-稀释方法,应给出中和剂验证的全部信息；

- 2) 如果使用膜过滤方法,应给出详细的操作步骤。
- d) 试验条件:
 - 1) 试验周期;
 - 2) 试验过程中使用的消毒剂 and 防腐剂稀释液;
 - 3) 消毒剂和防腐剂产品的试验浓度;
 - 4) 消毒剂和防腐剂溶液的外观;
 - 5) 作用时间;
 - 6) 试验温度;
 - 7) 干扰物质;
 - 8) 混合物的稳定性(干扰物质和消毒剂和防腐剂在硬水中的稀释液);
 - 9) 培养温度;
 - 10) 中和剂或淋洗液;
 - 11) 所使用细菌菌株的确认。
- e) 试验结果:
 - 1) 验证试验;
 - 2) 杀菌效果的评价(见表 F.1)。
- f) 结论。
- g) 地点、日期和签名。

注:测试报告的举例可参照附录 F。

附录 A
(资料性附录)
标准菌种

A.1 铜绿假单胞菌

ATCC	15 442
CIP	103 467
DSM	939
NCIMB	10 421

A.2 大肠埃希氏菌

ATCC	10 536
CIP	54.127
DSM	682
NCTC	10 418
NCIMB	8 879

A.3 金黄色葡萄球菌

ATCC	6 538
CIP	4.83
DSM	799
NCTC	10 788
NCIMB	9 518

A.4 小肠肠球菌

ATCC	8 043
CIP	58.55
DSM	20 160
NCIMB	8 191

A.5 鼠伤寒沙门氏菌

ATCC	13 311
CIP	5 858
NCTC	74

A.6 短乳杆菌

DSM	6 235
CIP	103 474

A.7 阴沟肠杆菌

DSM	6 234
CIP	104 674

附 录 B
(规范性附录)
培养基和试剂

B.1 胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)

用于细菌培养和计数。

胰蛋白胨	15.0 g
大豆蛋白胨	5.0 g
NaCl	5.0 g
琼脂	15.0 g
水	1 000 mL

高压灭菌。灭菌后的 pH 在 20 °C 时为 7.2 ± 0.2 。

B.2 稀释液

胰蛋白胨氯化钠溶液：

胰蛋白胨	1.0 g
NaCl	8.5 g
水	1 000 mL

高压灭菌。灭菌后的 pH 在 20 °C 时为 7.0 ± 0.2 。

B.3 硬水

硬水用于稀释消毒剂和防腐剂产品，配制如下：

- 溶液 A：用水溶解 19.84 g 无水 $MgCl_2$ 和 46.24 g 无水 $CaCl_2$ ，稀释至 1 000 mL；
- 溶液 B：用水溶解 35.02 g $NaHCO_3$ ，稀释至 1 000 mL。

将 6.0 mL 的溶液 A 和 600 mL 水加入 1 000 mL 的容量瓶中，再加入 8.0 mL 的溶液 B，用水稀释至 1 000 mL。采用最大有效孔径为 $0.45 \mu m$ 过滤膜过滤除菌。使用前调整 pH 为 7.0 ± 0.2 。

在 4 °C ~ 8 °C 条件下，硬水可保存 1 个月。

注：当制备 3 种浓度的产品测试液时，消毒剂和防腐剂产品用硬水稀释后，最终每个试管中的硬度不同。在任何一种条件下，每个试管中的最终硬度 $CaCO_3$ 低于 300 mg/kg。

B.4 干扰物质

B.4.1 牛血清白蛋白溶液

牛血清白蛋白溶液的制备方法如下：

- a) 用于清洁条件下的制备方法：
 - 将 0.30 g 牛血清白蛋白溶解于 100 mL 水中；
 - 采用膜过滤方法除菌。

牛血清白蛋白在测试条件下的终浓度为 0.3 g/L。

- b) 用于非清洁条件下的制备方法：
——将 3.0 g 牛血清白蛋白溶解于 100 mL 水中；
——采用膜过滤方法除菌。

牛血清白蛋白在测试条件下的终浓度为 3 g/L。

此外,也可以选择其他的干扰物质。

B. 4.2 乳(乳制品等)

脱脂乳,确保不含有抗生素或添加物,每升水中添加 100 g 乳粉的比例制成还原乳,制备方法:
制备体积分数为 10.0% 的还原乳溶液,105 °C ± 3 °C 灭菌 30 min(或者 121 °C ± 3 °C 灭菌 5 min)。
还原乳在试验条件下的终浓度为 1.0%。

B. 4.3 酵母提取物(发酵产品等)

制备方法如下：
——制备 100 g/L 的溶液,用 NaOH 调节 pH 至 7.0 ± 0.2；
——高压灭菌。
酵母提取物在试验条件下的终浓度为 10 g/L。

B. 4.4 蔗糖(饮料,不含酒精饮料)

配制 100 g/L 的蔗糖溶液,采用膜过滤除菌,在测试条件下的终浓度为 10 g/L。

B. 4.5 pH 5.0 和 pH 9.0 缓冲溶液

在试验报告中描述使用的缓冲液并记录其 pH。试验试管中的最终 pH 应为 5.0 ± 0.2 或 9.0 ± 0.2。

B. 4.6 十二烷基硫酸钠(化妆品领域等)

配制 50 g/L 的十二烷基硫酸钠溶液,高压灭菌,在试验条件下的终浓度为 5 g/L。

附录 C

(规范性附录)

稀释-中和和膜过滤方法的验证

C.1 原理

按照 C.4.1 选择消毒剂和防腐剂产品的中和剂。如果没有合适的中和剂,可按照 C.4.2 采用膜过滤方法。

C.2 细菌菌悬液的制备

制备细菌菌悬液:用稀释液(见 5.1.2.4)稀释试验用菌悬液(见 5.3.1.3),使细胞数量为 6×10^2 CFU/mL \sim 3×10^3 CFU/mL。细菌菌悬液的计数:将细菌菌悬液稀释 10 倍。旋涡混合器混匀。取上述已稀释 10 倍的菌悬液 1.0 mL 至培养皿中,同时做平行样,加入冷却至 $45^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的 TSA 12 mL \sim 15 mL。将培养皿放在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (或 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算细菌菌悬液(N_v)的细胞数量 CFU/mL(稀释因子为 10^{+1} ,体积为 1 mL)。

C.3 消毒剂和防腐剂试验溶液的准备

准备试验中所需要的最高浓度的消毒剂和防腐剂溶液,配制的浓度为待测浓度的 1.25 倍。

C.4 验证试验

C.4.1 稀释-中和方法

每一个试验条件(菌株、干扰物质、温度和作用时间)均采用以下的步骤:

试验之前,将所有的试剂(消毒剂和防腐剂试验溶液、稀释液、细菌菌悬液、干扰物质和硬水)置于温度为 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴中备用。中和剂和蒸馏水的温度维持在 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 。

a) 试验条件的验证(或确认在试验条件下无任何的致死效应)

将 1.0 mL 的干扰物质和 1.0 mL 按照 C.2 制备的 6×10^2 CFU/mL \sim 3×10^3 CFU/mL 细菌菌悬液加入无菌试管中。用旋涡混合器混合数秒,放入 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $2 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 后取出,加入 8.0 mL 硬水。立即计时,并用旋涡混合器混合数秒。放入 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $t \pm 10 \text{ s}$ 。在作用时间结束前立即再次混合。取 1.0 mL 的混合物加入到培养皿中,同时做平行样,并加入冷却至 $45^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的 TSA 12 mL \sim 15 mL。将培养皿放在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (或 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算试验条件验证(A)的细胞数量 CFU/mL。

b) 中和剂毒性验证

将 8.0 mL 的中和剂(见 5.1.2.5)和 1.0 mL 水(见 5.1.2.2)加入无菌试管中。加入 1.0 mL 按照

C.2 制备的 6×10^2 CFU/mL $\sim 3 \times 10^3$ CFU/mL 细菌菌悬液。立即计时并用旋涡混合器混合,放入 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 。在作用时间结束前立即再次混合。作用结束后,取 1.0 mL 的混合物加入到培养皿中,同时做平行样,并加入冷却至 $45^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的 TSA 12 mL ~ 15 mL。将培养皿放在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (或 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算中和剂毒性验证(B)的细胞数量 CFU/mL。

c) 稀释-中和方法验证

将 1.0 mL 干扰物质加入无菌试管中,加入 1.0 mL 的稀释液(见 5.1.2.4),然后再加入 8.0 mL 按照 C.3 制备的消毒剂 and 防腐剂产品稀释溶液,立即计时。放入 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $t \pm 10 \text{ s}$ 。然后取上述混合物 1.0 mL,加入装有 8.0 mL 预先恒温至 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 中和剂的试管中,并在此温度下反应 $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 后,加入 1.0 mL 按照 C.2 制备的 6×10^2 CFU/mL $\sim 3 \times 10^3$ CFU/mL 细菌菌悬液。用旋涡混合器迅速混匀并立即计时。放入 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $30 \text{ min} \pm 1 \text{ min}$ 。在作用时间结束前立即再次混合。作用结束后,取 1.0 mL 的混合物加入到培养皿中,同时做平行样,并加入冷却至 $45^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的 TSA 12 mL ~ 15 mL。将培养皿放在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (或 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算稀释-中和方法验证(C)的细胞数量 CFU/mL。

C.4.2 膜过滤方法

每一个试验条件(菌株、干扰物质、稀释液、温度和作用时间)均采用以下的步骤:

试验之前,将所有的试剂(消毒剂和防腐剂试验溶液、稀释液、细菌菌悬液、干扰物质和硬水)置于温度为 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴中备用。淋洗液的温度维持在 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 。

a) 试验条件的验证(或确认在试验条件下无任何的致死效应)

将 1.0 mL 的干扰物质和按照 C.2 制备的 6×10^2 CFU/mL $\sim 3 \times 10^3$ CFU/mL 细菌菌悬液 1.0 mL 加入无菌试管中。用旋涡混合器迅速混匀并立即计时。放入 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $2 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ 后取出,加入 8.0 mL 硬水。立即计时,并用旋涡混合器混合数秒。放入 $\theta^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中 $t \pm 10 \text{ s}$ 。在作用时间结束前立即再次混合。作用结束后,取 1.0 mL 混合物加入盛有 50 mL 淋洗液的膜过滤设备,过滤并用 50 mL 的水(见 5.1.2.2)淋洗,然后将滤膜转移到 TSA 平板的表面,同时作平行样。特殊情况下,可在 TSA 中加入中和剂(见附录 D)。

注:当将滤膜转移到 TSA 平板上时,应注意将过滤面朝上,并避免滤膜和琼脂表面之间产生气泡。

将培养皿放在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (或 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算试验条件验证(A)的细胞数量 CFU/mL。

b) 过滤步骤的验证

吸取按照 C.2 制备的 6×10^2 CFU/mL $\sim 3 \times 10^3$ CFU/mL 细菌菌悬液 0.1 mL,转移到盛有 50 mL 淋洗液的膜过滤设备。过滤并用 50 mL 的水(见 5.1.2.2)淋洗,然后将滤膜转移到 TSA 平板的表面,同时作平行样。

注:当将滤膜转移到 TSA 平板上时,应注意将过滤面朝上,并避免滤膜和琼脂表面之间产生气泡。

将培养皿放在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (或 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算过滤对照(B)的细胞数量 CFU/mL。

c) 过滤方法的验证

吸取 1.0 mL 的干扰物质加入无菌试管中。加入 1.0 mL 的稀释液,然后再加入 8.0 mL 按照 C.3 制备的消毒剂 and 防腐剂产品稀释液,用旋涡混合器迅速混匀。放入 $\theta\text{ }^{\circ}\text{C}\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 $t\pm10\text{ s}$ 。在作用时间结束前立即再次混合。作用结束后,各取 0.1 mL 混合物加入分别盛有 50 mL 淋洗液的膜过滤设备。过滤并用淋洗液淋洗滤膜,每次淋洗用量为 50 mL 或 100 mL,淋洗的总量控制在 150 mL~500 mL。在滤膜上加入 50 mL 淋洗液和 0.1 mL 按照 C.2 制备的 $6\times10^2\text{ CFU/mL}\sim3\times10^3\text{ CFU/mL}$ 细菌菌悬液。过滤并用 50 mL 的蒸馏水淋洗,然后将滤膜转移到 TSA 平板的表面。同时作平行样。

注:当将滤膜转移到 TSA 平板上时,应注意将过滤面朝上,并避免滤膜和琼脂表面之间产生气泡。

将培养皿放在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (或 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$)培养 24 h,计数每一个培养皿上的菌落数量,无法计数的平板不予计数。将培养皿继续培养 24 h,重新计数培养皿上的菌落数量,对那些成片生长的平板不予重新计数。每个平板确定最高的菌落数,根据 5.5.1.2 给出的方法计算过滤试验验证(C)的细胞数量 CFU/mL。

C.5 验证

检查试验结果是否符合 5.5.1.2 或 5.5.2 的相关要求。

附录 D
(资料性附录)
中和剂

- D.1 卵磷脂 3 g/L;聚山梨醇酯 80³⁾ 30 g/L;硫代硫酸钠 5 g/L;L-组氨酸 1 g/L;皂角苷 30 g/L 的稀释液(5.2.2.4)溶液或体积分数为 1%的 0.25 mol/L 磷酸盐溶液。
- D.2 0.25 mol/L 的磷酸盐溶液:
- | | |
|---------------------------------|---------|
| KH ₂ PO ₄ | 34 g; |
| 蒸馏水 | 500 mL; |
- 用 1 mol/L NaOH 调节 pH 至 7.2±0.2,蒸馏水定容至 1 000 mL;
高压灭菌,121 °C 灭菌 15 min。
- D.3 新鲜蛋黄稀释至体积分数为 5%或 0.5%。
- D.4 30 g/L 聚山梨醇酯 80;4 g/L 十二烷基硫酸钠;3 g/L 卵磷脂。
- D.5 体积分数为 5%的新鲜蛋黄;40 g/L 聚山梨醇酯 80。
- D.6 体积分数为 7%的脂肪醇环氧乙烷浓缩物;20 g/L 卵磷脂;体积分数为 4%的聚山梨醇酯 80。
- D.7 体积分数为 4%的脂肪醇环氧乙烷浓缩物;4 g/L 卵磷脂。
- D.8 30 g/L 聚山梨醇酯 80;卵磷脂 3 g/L,L-组氨酸 1 g/L。
- D.9 30 g/L 聚山梨醇酯 80;卵磷脂 3 g/L。
- D.10 磷脂乳化液(商品化)50 mg/mL。
- D.11 硫代乙醇酸钠 0.5 g/L 或 5 g/L。
- D.12 L-半胱氨酸 0.8 g/L 或 1.5 g/L。
- D.13 硫羟基丁二酸体积分数为 0.075%(NaOH 调节 pH 至 7)。
- D.14 硫代硫酸钠 5 g/L。
- D.15 过氧化氢酶或过氧化物酶:1 个单位酶在 25 °C,pH7 时每分钟催化 1 μmol 过氧化氢分解。
- D.16 聚山梨醇酯 80 30 g/L;皂角苷 30 g/L;L-组氨酸 1 g/L;L-半胱氨酸 1 g/L。

3) 分析纯,非水解。吐温 80 是可获得的此类产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。

附 录 E
(资料性附录)
淋 洗 液

- E.1 水(见 5.1.2.2)。
- E.2 稀释液(见 5.1.2.4)。
- E.3 体积分数为 0.1%聚山梨醇酯 80 水溶液。
- E.4 体积分数为 0.5%聚山梨醇酯 80 水溶液。
- E.5 体积分数为 0.5%聚山梨醇酯 80 水溶液和 0.7 g/L 卵磷脂。
- E.6 中和剂(见 5.1.2.5)。
- E.7 缓冲液。

注：下面所列出的中和剂不是唯一的，其他的也可采用。

加入用于菌落计数的平板中的中和剂：

- 体积分数为 10%的溶液，含有 0.7 g/L 卵磷脂和体积分数为 5%聚山梨醇酯 80；
- 体积分数为 10%的溶液，含有 10 g/L 卵磷脂和体积分数为 5%聚山梨醇酯 80；
- 体积分数为 10%的溶液，体积分数为 1.5%新鲜鸡蛋黄和 5%聚山梨醇酯 80。

附 录 F
(资料性附录)
典型的试验报告举例

一般使用条件下的杀菌效果(用于清洁条件)

F.1 测试实验室信息。

F.2 样品确认：

消毒剂和防腐剂产品名称	Z
批号	91-71-51
生产商	* * *
到货日期	1991-02-11
储存条件	室温避光
使用的推荐稀释剂	饮用水
活性物质和其浓度(如果有)	没有说明

F.3 试验方法及其验证：

方法	稀释-中和法
中和剂	30 g/L 卵磷脂,高压灭菌

F.4 试验条件：

试验周期	1991-02-20~1991-03-12
试验中消毒剂和防腐剂稀释剂	灭菌硬水含 300 mg/kg CaCO ₃
消毒剂和防腐剂产品试验浓度	0.5;0.75,1%(体积分数)
消毒剂和防腐剂稀释液的外观	无色,澄清溶液
作用时间	$t=5\text{ min}\pm 10\text{ s}$
试验温度	$\theta=20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
干扰物	0.3 g/L 牛血清白蛋白
混合物的稳定性(干扰物和消毒剂和防腐剂在硬水中的稀释)	试验中无沉淀产生
培养温度	$37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
试验用菌种名称	铜绿假单胞菌 ATCC 15442 大肠埃希氏菌 ATCC 10536 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 小肠肠球菌 ATCC 10541

F.5 试验结果(见表 F.1)。

表 F.1 试验结果

试验菌种	验证试验				细菌试验 悬浮液	浓度/%			
	细菌悬 浮液 C.2	试验条件	中和剂毒 性验证或 过滤验证	稀释中和 验证或过 滤试验验证			0.50	0.75	1.00
铜绿 假单 胞菌 ATCC 15442	V _c :190; 250 N _v :2.2× 10 ³	V _c :190; 210 A:2.0× 10 ²	V _c :180; 200 B:1.9× 10 ²	V _c :200; 220 C:2.1× 10 ²	10 ⁻⁶ :231; 218 10 ⁻⁷ :20;15 N:2.2×10 ⁸	V _c N _a R	>300; >300 >3×10 ³ <10 ⁵	>300; >300 >3×10 ³ <10 ⁵	0;7 <1.5×10 ² >10 ⁵
大肠 埃希 氏菌 ATCC 10536	V _c :200; 220 N _v :2.1× 10 ³	V _c :185; 207 A:2.0× 10 ²	V _c :192; 210 B:2.0× 10 ²	V _c :191; 207 C:2.0× 10 ²	10 ⁻⁶ :194; 209 10 ⁻⁷ :27; 32 N:2.1×10 ⁸	V _c N _a R	>300; >300 >3×10 ³ <10 ⁵	22;28 2.5×10 ² 8.4×10 ¹	0;0 <1.5×10 ² >10 ⁵
金黄色 葡萄 球菌 ATCC 6538	V _c :215; 245 N _v :2.3× 10 ³	V _c :180; 218 A:2.0× 10 ²	V _c :198; 238 B:2.2× 10 ²	V _c :193; 217 C:2.1× 10 ²	10 ⁻⁶ :237; 212 10 ⁻⁷ :28; 29 N:2.3×10 ⁸	V _c N _a R	>300; >300 >3×10 ³ <10 ⁵	72;62 6.7×10 ² 3.4×10 ¹	0;0 <1.5×10 ² >10 ⁵
小肠肠 球菌 ATCC 10541	V _c :220; 260 N _v :2.4× 10 ³	V _c :202; 234 A:2.2× 10 ²	V _c :242; 284 B:2.6× 10 ²	V _c :230; 252 C:2.4× 10 ²	10 ⁻⁶ :247; 228 10 ⁻⁷ :25; 28 N:2.4×10 ⁸	V _c N _a R	>300; >300 >3×10 ³ <10 ⁵	>300; >300 >3×10 ³ <10 ⁵	12;16 <1.5×10 ² >10 ⁵
<p>注:</p> <p>V_c——活菌计数;</p> <p>N——试验用菌悬液的细胞数量 CFU/mL(见 5.3.1.4);</p> <p>N_v——细菌菌悬液的细胞数量 CFU/mL(见 C.2);</p> <p>R——细菌存活量的下降;</p> <p>N_a——试验样液的细胞数量 CFU/mL(见 5.4.2.2.3 或 5.4.2.3.3);</p> <p>A 为试验条件验证[见 C.4.1a)或 4.2a)]的细胞数量 CFU/mL;</p> <p>B 为中和剂毒性验证[见 C.4.1b)]或过滤步骤验证[见 C.4.2b)]的细胞数量 CFU/mL;</p> <p>C 为稀释-中和验证[见 C.4.1c)]或膜过滤方法验证[见 C.4.2c)]的细胞数量 CFU/mL。</p>									

F.6 结论:根据本方法,消毒剂 and 防腐剂产品 Z(批号为 91.71.51),稀释体积分数为 1%时,在 20℃硬水中,清洁条件下(0.3 g/L 牛血清白蛋白)作用 5 min,能够有效杀灭标准菌株铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、小肠肠球菌。

F.7 地点、时间和签名。

注:试验所用的产品名称、批号和生产商仅为举例所需而虚构的名称。

