ICS 59.080.01
W 04

中华人民共和国国家标准

GB/T 20944.1—2007

纺织品　抗菌性能的评价
第1部分:琼脂平皿扩散法

Textiles—Evaluation for antibacterial activity—
Part 1:Agar diffusion plate method

2007-06-14 发布　　2008-01-01 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》包括如下3个部分：

——第1部分：琼脂平皿扩散法；

——第2部分：吸收法；

——第3部分：振荡法。

本部分为GB/T 20944的第1部分。

本部分参考了国际标准ISO 20645：2004《纺织织物——抗菌活性的测定——琼脂平皿扩散试验》。

本部分由中国纺织工业协会提出。

本部分由全国纺织品标准化技术委员会基础分会(SAC/TC 209/SC 1)归口。

本部分由国家棉纺织产品质量监督检验中心、北京洁尔爽高科技有限公司、深圳市康益保健用品有限公司、江苏AB集团有限责任公司、纺织工业标准化研究所负责起草。

本部分主要起草人：徐路、商成杰、张华、裴茹冰。

纺织品　抗菌性能的评价
第1部分:琼脂平皿扩散法

1　范围

GB/T 20944的本部分规定了采用琼脂平皿扩散法测定纺织品抗菌性能的定性试验和评价方法。

本部分适用于机织物、针织物、非织造织物和其他平面织物。纤维、纱线等可参照执行。

本部分不适用于抗菌剂在试验琼脂上完全不扩散的试样,也不适用于抗菌剂与琼脂起反应的试样。

本部分不涉及抗菌产品安全性的评价。

2　术语和定义

下列术语和定义适用于GB/T 20944的本部分。

2.1

抗菌性能　antibacterial activity

产品所具有的抑制细菌繁殖的性能。

2.2

抑菌带　zone of bacterial inhibition

琼脂培养基表面与试样接触的边界处无细菌繁殖的区域,即试样边缘附近没有细菌的环带。

3　安全预防措施

本方法需要使用细菌,并且具有促进细菌繁殖的条件,所以应在规定的试验环境下由经过培训的人员进行试验。

4　原理

平皿内注入两层琼脂培养基,下层为无菌培养基,上层为接种培养基。试样放在两层培养基上,培养一定时间后,根据培养基和试样接触处细菌繁殖的程度,定性评定试样的抗菌性能。

5　设备、培养基和试剂

5.1　设备

5.1.1　分光光度计,检测波长660 nm。

5.1.2　恒温培养箱:温度能保持在37℃±2℃。

5.1.3　水浴锅:温度能保持在45℃±2℃。

5.1.4　恒温调速摇瓶柜。

5.1.5　冰箱:温度能保持在2℃～8℃。

5.1.6　高压灭菌锅:温度能保持在121℃,压力能保持在103 kPa。

5.1.7　显微镜:放大倍数20倍,下光源照明。

5.1.8　平皿:玻璃或聚苯乙烯制,直径90 mm～100 mm或55 mm～60 mm。

5.1.9　微量移液器,最小刻度5 μL。

5.1.10　二级生物安全柜。

5.1.11　试管、烧瓶等实验室常用器具。

5.2 培养基和试剂

5.2.1 试剂

试验所用试剂应是分析纯的或适用于微生物试验用的。试验用水应是用于制备微生物培养基的分析级的纯水，可用蒸馏、离子交换或用反渗装置过滤等方法制取，应无毒和无抑菌物质。

5.2.2 培养基

营养肉汤和琼脂培养基采用下列组分，如有偏离应在试验报告中说明。

a) 营养肉汤

胰蛋白胨	15 g
植物蛋白胨	5 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后，pH 值为 7.2±0.2。

b) 琼脂培养基

胰蛋白胨	15 g
植物蛋白胨	5 g
氯化钠	5 g
琼脂粉	15 g
蒸馏水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后，pH 值为 7.2±0.2。

注 1：建议使用现有商业化的脱水原料制备培养基，并严格按照相关产品制造商的使用说明操作。

注 2：营养肉汤和琼脂培养基配制后如不立即使用，5℃～10℃保存。配制超过一个月后不可使用。

6 试验细菌

应使用下列革兰氏阳性和其中一种革兰氏阴性菌种。

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

——肺炎克雷伯氏菌 *Klebsiella pneumoniae*(ATCC 4352) 革兰氏阴性；

——大肠杆菌 *Escherichia coli*(8099 或 ATCC 11229) 革兰氏阴性。

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细菌。

注 2：根据需要，可采用其他的试验菌种，培养基成分、培养温度和培养方法可根据需要调整。

7 试验菌液的制备

7.1 冻干菌的活化

将冻干菌融化分散在 5 mL 的营养肉汤中成悬浮状，在 37℃±2℃下培养 18 h～24 h。

用接种环取菌悬液以划线法接种到琼脂培养基平皿上，在 37℃±2℃下培养 18 h～24 h。

从培养皿上取典型菌落接种在琼脂培养基斜面试管内，在 37℃±2℃下培养 18 h～24 h。

将斜面试管贮存于冰箱内(5℃～10℃)，作为保存菌，保存期不超过一个月，每月传代一次，传代次数不超过 10 代。

7.2 试验菌液的制备

7.2.1 用接种环取保存菌，以划线法接种到琼脂培养基平皿上，37℃±2℃下培养 24 h。

注：该平皿在 5℃～10℃条件下保存，在 1 周内使用。

7.2.2 取营养肉汤 20 mL 放入 100 mL 的三角烧瓶内，用接种环取 7.2.1 平皿上的典型菌落接种在肉汤内培养。培养条件为：温度 37℃±2℃，振动频率 110 min^{-1}，时间 18 h～24 h。

7.2.3 用蒸馏水 20 倍稀释营养肉汤，用其调节培养后的菌浓度为 1×10^8 CFU/mL～5×10^8 CFU/mL，作

为试验菌液。采用分光光度计或适当的方法测定菌液浓度。

注：该试验菌液冰冷保存(3℃～4℃)，在4 h内使用。

8 试样的准备

8.1 试样

从样品上选取有代表性的试样，每种菌试验4块(正面2块，反面2块)圆形试样，直径为25 mm±5 mm。试样不应进行灭菌。

注1：短纤维、长绒毛织物可剪碎，在培养基上形成一厚层。为便于操作，可将一玻璃环先放在琼脂培养基上，填充试验材料后，再拿开。

注2：由于涂层织物不透气，可能会抑制细菌的生长。这种情况下，可将试样剪成小条，排放在培养基上，每条之间留有小空隙。

8.2 对照样

取1块与试样材质相同但未经抗菌整理的材料作为对照样，尺寸与试样相同。如果没有，则取不经任何处理的100%棉织物。

9 步骤

9.1 准备下层无菌培养基。向无菌平皿中倾注10 mL琼脂培养基，并使其凝结。

9.2 准备上层接种培养基。取45℃±2℃的琼脂培养基150 mL放入烧瓶，加入1 mL试验菌液。振荡烧瓶使细菌分布均匀，向9.1中的每个平皿中倾注5 mL，并使其凝结。接种过的琼脂培养皿应在1 h内使用。

9.3 用无菌镊子将试样和对照样分别放于平皿中央，均匀地按压在琼脂培养基上，直到试样和琼脂培养基之间很好地接触。

9.4 将试样放在琼脂培养基上后，立即放入37℃±2℃的培养箱中培养18 h～24 h，要确保在整个培养期中试样和琼脂培养基保持接触。

10 结果的计算和评价

10.1 每个试样至少测量3处，并按式(1)计算试样的抑菌带宽度。

$$H = (D - d)/2 \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中：

H——抑菌带宽度，单位为毫米(mm)；

D——抑菌带外径的平均值，单位为毫米(mm)；

d——试样直径，单位为毫米(mm)。

10.2 测定抑菌带后，用镊子将试样从琼脂培养基上移去，用显微镜检查试样下面接触区域的细菌繁殖情况。

10.3 根据细菌繁殖的有无和抑菌带的宽度，按表1评价每个试样的抗菌效果。

表1 抗菌效果评价

抑菌带宽度/mm	试样下面的细菌繁殖情况	描　　述	评　　价
>1	无	抑菌带大于1 mm，没有繁殖	效果好
0～1	无	抑菌带在1 mm之内，没有繁殖	
0	无	没有抑菌带，没有繁殖[a]	
0	轻微	没有抑菌带，仅有少量菌落，繁殖几乎被抑制	效果较好

表 1（续）

抑菌带宽度/mm	试样下面的细菌繁殖情况	描　　述	评　　价
0	中等	没有抑菌带，与对照样相比，繁殖减少[b]至一半	效果有限
0	大量	没有抑菌带，与对照样相比，繁殖没有减少或仅有轻微减少	没有效果

[a] 没有繁殖，即使没有抑菌带，也可认为抗菌效果好。因为活性物质的低扩散性阻止了抑菌带的形成。

[b] 细菌繁殖的减少是指菌落数量或菌落直径的减少。

10.4 当所有试样均满足表 1 中“效果好”的要求时，则认为该样品具有抗菌效果。

11 试验报告

试验报告应包括下列内容：

a) 试验是按本部分进行的；

b) 样品的描述；

c) 试样尺寸、数量和准备；

d) 对照样的描述；

e) 试验细菌名称及接种菌液浓度；

f) 试验结果（每种菌试验的抑菌带和细菌繁殖情况）；

g) 样品正反面抗菌效果的评价；

h) 试验人员和试验日期；

i) 任何偏离本部分的情况。