

WS/T 327—2011

第一组 取 0.4 mL 标准硬水于试管中,加入 4.5 mL 中和剂,混匀,置 20 °C±1 °C 的水浴中 5 min 后,加入 0.1 mL 菌悬液,混匀,作用 10 min 后,分别取 1.0 mL 接种两个平皿,做活菌培养计数。

第二组 取 0.4 mL 消毒剂于试管中,加入 4.5 mL 中和剂,混匀,置 20 °C±1 °C 的水浴中 5 min 后,加入 0.1 mL 菌悬液,混匀,作用 10 min 后,分别取 1.0 mL 接种两个平皿,做活菌培养计数。

第三组 取 0.4 mL 标准硬水于试管,加入 4.5 mL 稀释液,混匀,置 20 °C±1 °C 的水浴中 5 min 后,加入 0.1 mL 菌悬液,混匀,作用 10 min 后,分别取 1.0 mL 接种两个平皿,做活菌培养计数。

第四组 取标准硬水、稀释液、中和剂各 0.5 mL,接种于同一无菌平皿,倾倒入实验同批次的培养基 15 mL~20 mL,培养观察。

B.5.2 中和剂载体定量鉴定试验操作程序

根据试验分组,准备足量的试管和平皿,并依次进行编号。将菌悬液用等量适用浓度的有机干扰物稀释成 5×10^3 CFU/mL~ 1×10^4 CFU/mL,然后取 10 μ L 滴染无菌载体,于 37 °C 培养箱或室温自然干燥。

第一组 取 5.0 mL 中和剂于试管中,置 20 °C±1 °C 的水浴中 5 min 后,用无菌镊子取一片菌片放入试管中,作用 10 min。用电动混合器混合 10 s 或将试管振打 80 次,混匀,分别取 1.0 mL 接种两个平皿,做活菌培养计数。

第二组 取 5.0 mL 中和产物(以浸有消毒剂的载体置 5.0 mL 中和剂内,作用 10 min)于试管中,置 20 °C±1 °C 的水浴中 5 min 后,用无菌镊子取一片菌片放入试管中,作用 10 min。用电动混合器混合 10 s 或将试管振打 80 次,混匀,分别取 1.0 mL 接种两个平皿,做活菌培养计数。

第三组 取 5.0 mL 稀释液于试管中,置 20 °C±1 °C 的水浴中 5 min 后,用无菌镊子取一片菌片放入试管中,作用 10 min。用电动混合器混合 10 s 或将试管振打 80 次,混匀,分别取 1.0 mL 接种两个平皿,做活菌培养计数。

第四组 分别吸取稀释液和中和剂各 1.0 mL,接种于同一无菌平皿,倾倒入实验同批次的培养基 15 mL~20 mL,培养观察。

B.6 评价规定

B.6.1 第一、二、三组有相似菌量生长,悬液试验在 2.5×10^3 CFU/mL~ 1.5×10^4 CFU/mL,载体试验在 2.5×10^2 CFU/片~ 1.5×10^3 CFU/片,且组间菌落数误差率不应超过 15%。组间菌落数误差率(%)按式(B.1)计算:

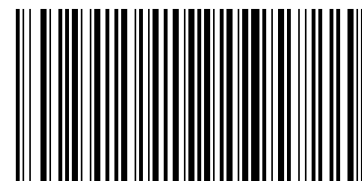
$$\text{组间菌落数误差率} = \frac{(3 \text{ 组间平均菌落数} - \text{各组菌落平均数}) \text{ 绝对值之和}}{3 \times 3 \text{ 组间平均菌落数}} \times 100\% \dots (\text{B.1})$$

B.6.2 第四组无菌生长。

B.6.3 连续 3 次取得合格评价的中和剂方可用于正式杀灭试验。

消毒剂杀灭分枝杆菌实验评价要求

Requirements of mycobactericidal evaluation
for disinfectant in laboratory



WS/T 327-2011

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-21583

定价: 16.00 元

2011-04-12 发布

2011-09-30 实施

中华人民共和国卫生部 发布

附录 B
(规范性附录)
中和剂鉴定试验方法

B.1 目的

确定所选中和剂是否适用于拟进行的分枝杆菌杀灭实验。

B.2 实验器材

- B.2.1 试验分枝杆菌悬液或分枝杆菌菌片。
- B.2.2 刻度吸管(0.1 mL、1.0 mL、5.0 mL)或移液器。
- B.2.3 平皿。
- B.2.4 恒温水浴箱。
- B.2.5 稀释液。
- B.2.6 分枝杆菌干燥培养基。
- B.2.7 电动混匀器。

B.3 试验设计原则

- B.3.1 试验中所用的消毒剂浓度应以杀菌试验中使用的最高浓度为准。
- B.3.2 所用实验方法应与杀菌试验方法一致,或用悬液或用载体定量试验。

B.4 实验分组

至少应平行进行以下各组试验:

- a) 中和剂+菌悬液(菌片)→培养
观察中和剂是否抑菌。
- b) (消毒剂+中和剂)+菌液或菌片→培养
观察中和产物和未被完全中和的残留消毒剂对试验分枝杆菌是否有抑菌作用。
- c) 稀释液+菌液或菌片→培养
作为菌悬液(菌片)阳性对照。
- d) 稀释液+中和剂→培养
作为试验材料阴性对照。

B.5 操作程序

B.5.1 中和剂悬液定量鉴定试验程序

根据试验分组,准备足量的试管和平皿,并依次进行编号。将菌悬液用等量适用浓度的有机干扰物稀释成 2.5×10^3 CFU/mL~ 1.5×10^4 CFU/mL,作为试验菌悬液。

中华人民共和国卫生
行业标准
消毒剂杀灭分枝杆菌实验评价要求
WS/T 327—2011

*

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 16 千字
2011年5月第一版 2011年5月第一次印刷

*

书号:155066·2-21583 定价 16.00 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

溶解后用微孔滤膜(孔径为 0.45 μm)滤过除菌,4℃冰箱保存。

- b) 对清洗过物品的消毒效果评价时:称取 3 g 牛血清白蛋白,溶于 1 000 mL 蒸馏水中,待完全溶解后用微孔滤膜(孔径为 0.45 μm)滤过除菌,4℃冰箱保存。

A.4 磷酸盐缓冲液(PBS,0.03 mol/L,pH7.2)

称取 2.83 g 无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)和 1.36 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4),加入到 1 000 mL 蒸馏水中,待完全溶解后,调 pH 至 7.2~7.4,于 121℃压力蒸汽灭菌 20 min。

A.5 0.1%胰蛋白胨生理盐水溶液(TPS)

称取 1.0 g 胰蛋白胨、8.5 g 氯化钠,用 950 mL 以上蒸馏水溶解,并调节 pH 值在 7.0 ± 0.2 ,补加蒸馏水至 1 000 mL,分装后,经 121℃压力蒸汽灭菌。

A.6 苏通(Sauton)综合液体培养基

A.6.1 成分

苏通综合液体培养基成分见表 A.2。

表 A.2 苏通综合液体培养基成分

成 分	用 量
KH_2PO_4	0.5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
柠檬酸铁铵	0.05 g
柠檬酸	2.0 g
甘油	60 mL
天冬素	4.0 g
蒸馏水	940 mL

A.6.2 制法

上述成分加热溶解后,用氨水调节 pH 至 7.2,过滤、分装,121℃灭菌 20 min,冰箱保存备用。

A.7 营养肉汤培养基

A.7.1 成分

蛋白胨	10.0 g	牛肉膏	3.0 g
氯化钠	5.0 g	蒸馏水	1 000 mL

A.7.2 制法

将各成分溶解于蒸馏水中,调 pH 至 7.2~7.4,分装,于 121℃灭菌 20 min 备用。

前 言

根据《中华人民共和国传染病防治法》制定本标准。

本标准为推荐性标准。

本标准的附录 A 和附录 B 为规范性附录。

本标准由卫生部消毒标准专业委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准负责起草单位:四川大学华西公共卫生学院、中国疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:张朝武、李新武、王国庆。