



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4609—2016

出入境集装箱消毒效果评价方法

Evaluating method of disinfecting efficacy for entry-exit containers

2016-08-23 发布

2017-03-01 实施



中 华 人 民 共 和 国
国家质量监督检验检疫总局 发 布

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：中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、中华人民共和国河北出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：杨庆贵、朱光耀、朱国强、罗岚、薄景信、田玲玲、杨国平、殷竹君、孙立新、聂维忠、陆永昌。

出入境集装箱消毒效果评价方法

1 范围

本标准规定了出入境集装箱表面消毒、空气消毒效果的检测及评价方法。

本标准适用于出入境普通集装箱、冷藏集装箱、圆罐式集装箱、框架集装箱、空运集装箱、火车集装箱预防性消毒效果(表面消毒、空气消毒)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。

SN/T 1253 出入境集装箱及其货物消毒规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

预防性消毒 preventive disinfection

未发现传染源的情况下,对有可能被病原微生物污染的物品、场所等进行的消毒处理。

4 评价对象

主要包括已进行消毒处理的出入境集装箱及其货物的空气及表面。

5 方法

5.1 中和试验

为了准确评价消毒剂对微生物的杀灭作用,在进行消毒效果评价前,应选择能及时中止消毒剂的杀微生物作用,而本身及其与消毒剂的中和产物(反应产物)对微生物无抑制或杀灭作用,且对培养基无不良影响的中和剂进行中和效果试验。

中和剂中和效果试验见附录 A。

5.2 集装箱物体表面消毒效果评价

5.2.1 要求

5.2.1.1 随机在拟消毒的集装箱表面(包括集装箱表面、台面、门等)用规格板标定 2 块相邻的面积各为 25 cm² 的区块,一块作为消毒前对照区供消毒前采样,一块作为消毒后对照区供消毒后采样。

注:阳性对照组和试验组需在相邻的区域。

5.2.1.2 将无菌棉拭在含中和剂的 10 mL 稀释细菌培养液试管中浸湿,于管壁上挤干,对消毒前对照

区块涂抹采样,横竖往返各 8 次。采样后,以无菌操作方式将棉拭采样端剪入原稀释液试管内,电动混匀器振荡 20 s 或在手掌振打 200 次,做适当稀释后,作为阳性对照组样本。

注:棉拭涂抹采样时,需尽量使棉拭的大小、用力的均匀、吸取采样液的量、洗菌时敲打的轻重等保持一致。

5.2.1.3 按规定程序及消毒剂说明书中的方法和剂量对集装箱表面进行消毒,消毒作用至设定时间,具体方法见 SN/T 1253。

5.2.1.4 按照 5.2.1.1 程序对消毒后对照区涂抹采样,作为试验组样本。

5.2.1.5 现场样本应及时送实验室检测。如无法及时送检,室温存放不超过 2 h,4 ℃ 冰箱存放不超过 4 h。

5.2.1.6 将阳性对照组和试验组样本,分别取 1.0 mL,以琼脂倾注法接种平皿,每个样本接种 2 个平皿,置 37 ℃ 恒温培养箱中培养 48 h,每日观察并记录最终结果。

注:在现场试验中,在两个平行的平板中如有一个平板可数清菌落数时,即可按该平板菌落数计算结果。如两个平行的平板均可数清菌落数时,按两个平板菌落数平均值计算结果。如两个平板均有大面积霉菌生长而无法数清菌落时,需重新进行试验。

5.2.1.7 将本次试验未用完的同批次中和剂溶液、稀释液、棉拭、培养基等分别设阴性对照。

5.2.1.8 计算杀灭对数值。杀灭对数值的计算按式(1)进行:

$$\text{杀灭对数值} = \text{阳性对照活菌浓度的对数值} - \text{试验组活菌浓度对数值} \dots\dots\dots(1)$$

5.2.2 判定

阴性对照组应无菌生长,阳性对照组应有较多细菌生长,消毒样本的平均杀灭对数值 ≥ 1.00 ,判定为消毒合格。其余为不合格。

5.3 集装箱空气消毒效果评价

5.3.1 要求

5.3.1.1 选择有代表性的集装箱进行空气消毒效果观察。

注:集装箱消毒试验现场需尽量防止日光直射。

5.3.1.2 消毒前用六级筛孔空气撞击式采样器进行空气中自然菌采样。采样时采样器置集装箱内 1.0 m 高处。集装箱底面积大于 10 m² 者,每增加 10 m² 增设一个采样点。多个采样点时取平均值作为消毒前样本(阳性对照)。

注:试验中同时设置试验组与对照组。两组条件尽量保持一致。消毒前、后的环境条件亦尽量保持一致,所采样本需尽快进行微生物检验。记录试验过程中的温度和相对湿度,以便分析对比。

5.3.1.3 按规定程序及消毒剂说明书中的方法和剂量对集装箱内空气进行消毒,消毒作用至设定时间。

5.3.1.4 按照 5.3.1.2 程序对消毒后集装箱内空气采样,作为试验组样本。

5.3.1.5 将消毒前样本(阳性对照样本)和试验组样本送实验室置 37 ℃ 恒温培养箱中培养 48 h,每日观察并记录最终结果。

5.3.1.6 试验采样完成后,应将未用的同批培养基,与上述试验样本同时进行培养,作为阴性对照。

注:阴性对照组若有菌生长,表明所用培养基有污染,试验无效,更换培养基后重新进行。

5.3.1.7 按所得自然菌消亡率(自然衰亡和消毒处理中杀菌的综合效果)做出验证结论。自然菌消亡率的计算按式(2)进行:

$$\text{自然菌消亡率} = (\text{消毒前样本平均菌数} - \text{消毒后样本平均菌数}) / \text{消毒前样本平均菌数} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

5.3.2 判定

集装箱空气消毒后,自然菌消亡率 $\geq 90\%$ 者为合格。其余为不合格。

6 记录

现场记录由现场采集人员直接现场填写；其余部分检测结果由检测实验室填写并出具报告。记录表格参见附录 B。

7 资料整理分析

试验结束后，对所有资料进行收集整理分析。

附 录 A
(资料性附录)
中和剂中和效果试验

A.1 培养基及试剂

A.1.1 营养琼脂培养基

主要成分(g/L):蛋白胨 10.00 g;牛肉浸出粉 5.00 g;氯化钠 5.00 g;琼脂 12.00 g;

制法:称取含有以上主要成分的营养琼脂培养基 32 g 溶于 1 000 mL 蒸馏水中,加热溶解后分装,121 °C、20 min 高压蒸汽灭菌后备用。

A.1.2 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.2~7.6,下称 PBS)

成分:磷酸氢二钠	2.84 g
磷酸二氢钾	1.36 g
蒸馏水	1 000.00 mL

制法:将磷酸氢二钠和磷酸二氢钾溶解于蒸馏水中,pH 7.2~7.6,分装,经 121 °C、20 min 高压蒸汽灭菌后备用。

A.1.3 中和剂

卵磷脂、吐温-80、硫代硫酸钠等中和剂应注明生产厂家和批号。

A.2 器材

所用器材包括锥形烧瓶、平皿(直径 9 cm)、量筒、无菌试管、无菌刻度吸管(1.0 mL、5.0 mL、10.0 mL)、酒精灯、pH 计或精密 pH 试纸、菌落计数器、恒温培养箱、冰箱。

A.3 中和效果试验操作方法

A.3.1 指示菌悬液配制

用 PBS 将指示菌制成 5×10^5 CFU/mL~ 5×10^6 CFU/mL 悬液。

A.3.2 消毒剂抑杀指示菌最低有效浓度测定

将消毒剂用灭菌蒸馏水配制成 3 种不同浓度,在不加中和剂的情况下,测定该消毒剂 10 min 抑杀 99.9%以上指示菌的最低有效浓度。

A.3.3 中和剂种类及浓度的确定

A.3.3.1 中和剂选择试验

取消毒剂 10 min 抑杀指示菌的最低有效浓度与待选择中和剂进行试验,选出中和剂种类并依据等当量中和原则,调整中和剂浓度,选出试验浓度的消毒剂使用中和剂的尝试。在中和剂选择试验时,先将 1 mL 消毒剂与 9 mL 中和剂溶液混合,制成中和产物溶液,再按表 A.1 分组进行。

表 A.1 中和剂选择试验

组号	0.5 mL 菌液加于： (混匀后,作用 10 min)	取 0.5 mL 混匀液加入： (加入后总量为 5 mL)	作用 10 min 后,取原液或稀释液 0.5 mL 接种平板 (2 个/样本)
1	消毒剂 4.5 mL	PBS 4.5 mL	原液,×10
2	消毒剂 4.5 mL	中和剂 4.5 mL	原液,×10
3	中和产物 4.5 mL	PBS 4.5 mL	×100,×1 000
4	PBS 4.5 mL	PBS 4.5 mL	×100,×1 000
5	中和剂 4.5 mL	PBS 4.5 mL	×100,×1 000
6		PBS 5.0 mL	原液
注：倾注平板置 37 ℃培养 48 h,计数菌落数,按稀释倍数计算出回收菌数(CFU/mL)。			

A.3.3.2 中和试验结果报告方法

中和剂选择试验结果报告举例,见表 A.2。

表 A.2 中和试验结果举例

中和剂	各组回收菌落数/(CFU/mL)						3、4、5 组间 误差率/%
	1	2	3	4	5	6	
1%卵磷脂	0	708	4.67×10 ⁶	4.83×10 ⁶	4.11×10 ⁶	0	6.27
1%卵磷脂+0.1%吐温-80	0	794	5.81×10 ⁶	5.89×10 ⁶	5.78×10 ⁶	0	0.72
1%吐温-80	0	194	3.31×10 ⁶	5.31×10 ⁶	5.21×10 ⁶	0	18.17
0.5%硫代硫酸钠	0	132	3.20×10 ⁶	5.03×10 ⁶	5.18×10 ⁶	0	18.94

A.3.3.3 3、4、5 组间误差计算公式

3、4、5 组间误差计算见式(A.1)。

误差率 =
$$\frac{(|\text{三组均数} - 3\text{组菌数}| + |\text{三组均数} - 4\text{组菌数}| + |\text{三组均数} - 5\text{组菌数}|) \div 3}{\text{三组均数}} \times 100\%$$

.....(A.1)

A.3.3.4 判定标准

符合下列四项标准的中和剂,表明可消除消毒剂对指示菌的作用,中和剂及其与消毒剂的中和产物对指示菌无毒害,判定为该消毒剂的中和剂:3、4、5 组菌数相似,其误差率≤10%;6 组无菌生长;2 组菌数明显少于 3、4、5 组;1 组不长菌或明显少于 2 组。

A.3.3.5 中和剂浓度的选择

按 A.3.3.1 步骤进行,按 A.3.3.4 的标准判定。

附 录 B
(资料性附录)

出入境集装箱消毒效果评价记录表

出入境集装箱消毒效果评价记录表见表 B.1。

表 B.1 出入境集装箱消毒效果评价记录表

项目	记录情况	
试验人员		
试验日期及地点		
施药器械名称		
施药器械参数		
消毒药剂及剂型		
集装箱号		
集装箱容积及类型	()m ³ , (20/40)英尺, (空/重)箱药效	
空气消毒评价(对照)	样品编号及采样体积(L)	
	样品编号及采样体积(L)	
物表消毒评价(对照) 采样面积(25 cm ²)	样品编号及采样位置	
	样品编号及采样位置	
施药结束时间		
施药后作用时间(min)		
开箱时间		
空气消毒评价(用药后)	样品编号及采样体积(L)	
	样品编号及采样体积(L)	
物表消毒评价(用药后, 采样面积 25 cm ²)	样品编号及采样位置	
	样品编号及采样位置	
空气消毒评价(对照培养后)	样品编号、采样体积(L)及计数	
	样品编号、采样体积(L)及计数	
空气消毒评价(用药培养后)	样品编号、采样体积(L)及计数	
	样品编号、采样体积(L)及计数	
空气消毒评价(空皿对照培养后)		
空气消毒评价(自然菌消亡率)		
物表消毒评价(对照培养后) 采样位置: 编号:	采样后原液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 10 倍液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 100 倍液 1 mL 倾注培养计数	

表 B.1 (续)

项目	记录情况	
物表消毒评价(对照培养后) 采样位置: 编号:	采样后原液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 10 倍液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 100 倍液 1 mL 倾注培养计数	
物表消毒评价(用药培养后) 采样位置: 编号:	采样后原液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 10 倍液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 100 倍液 1 mL 倾注培养计数	
物表消毒评价(用药培养后) 采样位置: 编号:	采样后原液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 10 倍液 1 mL 倾注培养计数	
	采样后稀释 100 倍液 1 mL 倾注培养计数	
物表消毒评价(空皿对照培养后)		
物表消毒评价(杀灭对数值)		
备注		

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
出入境集装箱消毒效果评价方法
SN/T 4609—2016

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

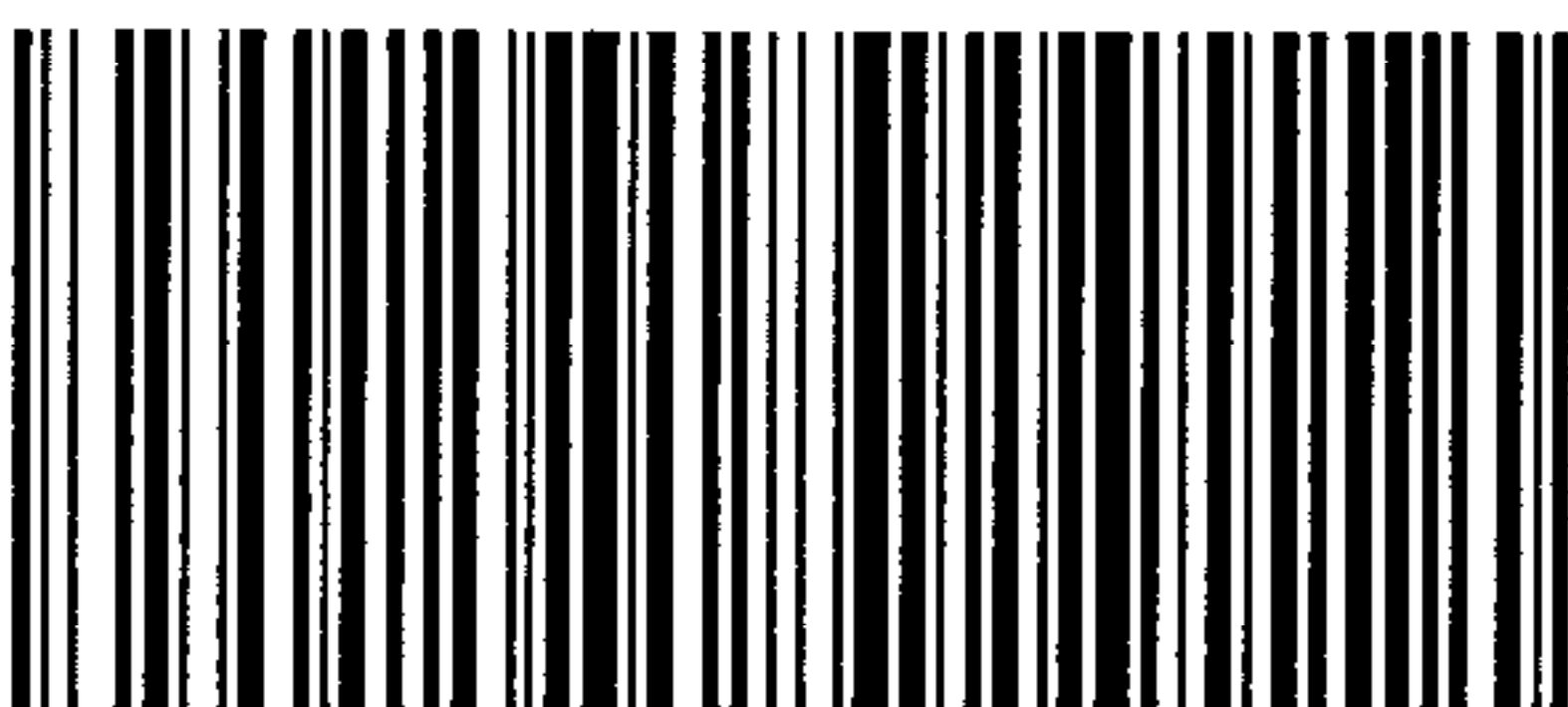
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 16 千字
2017年11月第一版 2017年11月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066 • 2-32244



SN/T 4609-2016