



Q/MXSW

重庆梦享生物技术合伙企业（有限合伙）
企业标准

Q/MXSW 9—2024

过氧乙酸消毒液在猪用隔离器的使用规范

Guidelines for the utilization of peracetic acid disinfectant in pig isolators

2024—04—24 发布

2024—05—01 实施

重庆梦享生物技术合伙企业（有限合伙）发布



前言

本标准按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本标准起草单位：重庆市畜牧科学院、国家生猪技术创新中心、重庆梦享生物技术合伙企业（有限合伙）。

本标准主要起草人：孙静、葛良鹏、刘作华、王娟、丁玉春

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年04月24日 10点26分

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年04月24日 10点26分



过氧乙酸消毒液在猪用隔离器的使用规范

1 范围

本标准规定了过氧乙酸消毒液在猪用隔离器的使用浓度以及针对不同物品外表面灭菌的消毒方法和评价标准。

本标准适用于无菌猪、悉生猪、无特定病原体（SPF）猪培育用的无菌子宫剥离器、无菌运输隔离器和无菌饲养隔离器的内表面和动物实验过程中各类物品外表面的消毒效果评价。

2 规范性文件

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅所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 38504-2020 喷雾消毒效果评价方法

T/CALAS 72-2019

DB 50/T 1043-2020

DB 50/T 1044-2020

3 术语和定义

下列术语、定义适用于本标准。

3.1 猪用隔离器

包括无菌子宫剥离器、运输隔离器和饲养隔离器。

3.2 无菌子宫剥离器

适用于无菌子宫切除术获取无菌级或无特定病原体级的新生仔猪。无菌状态下，结扎并脱离母体的子宫经无菌子宫剥离器的消毒渡槽，进入子宫剥离器内操作平台，在平台上切开子宫表面并获取得到新生仔猪。

3.3 运输隔离器

与无菌子宫剥离器对接，可用于无菌级或无特定病原级新生仔猪的转移；单独使用时，也适用于灭菌物品的转运。

3.4 饲养隔离器

正压时，适用于无菌级、无特定病原体级猪的饲养，控制外源微生物扩散到隔离器内部区域；负压时，适用于猪感染性动物实验，控制感染源扩散到隔离器外部区域。

3.5 菌落形成单位 colony forming unit; CFU

在活菌培养计数时，由单个菌体或聚集成团的多个菌体在固体培养基上生长繁殖形成的集落，以其表达活菌的数量。



4 过氧乙酸消毒液

4.1 过氧乙酸消毒产品选择

所用过氧乙酸消毒产品应符合国家相关卫生标准、规范要求、卫生安全评价合格。宜选择浓度为15%-16% (150000mg/L-160000mg/L) 的质保期内的过氧乙酸消毒商品。

4.2 过氧乙酸工作液

将质保期内的正常保存的过氧乙酸消毒产品配置成工作浓度为0.05% (500mg/L) 过氧乙酸消毒液进行无菌猪隔离器的消毒。0.05%的过氧乙酸消毒液应现配现用。

5 待消毒物品类型

根据无菌猪饲养和实验需求，转入无菌猪隔离器的物品主要包括袋装奶粉 (250g/袋)、袋装饲料 (2kg/袋)、带盖玻璃丝口瓶 (容量 1L)、袋装灭菌脱脂纱布 (800cm \times 84cm)、一次性无菌肛拭子 (符合医疗器械 ISO13485 质量管理体系认证)、杆秤 (5kg 量程)。

6 消毒评价原则

6.1 杀灭微生物指标

猪用隔离器杀灭微生物指标见表 1。

表1 无菌猪隔离器消毒杀灭微生物指标

使用范围	使用对象	指示菌株	杀灭对数值
隔离器内物体表面消毒	袋装奶粉、饲料	大肠埃希氏菌ATCC25922	≥ 6.00
	带盖玻璃丝口瓶	金黄色葡萄球菌ATCC25923	≥ 6.00
	灭菌脱脂纱布、杆秤	铜绿假单胞菌ATCC27853	≥ 6.00
	一次性无菌拭子	萎缩芽孢杆菌ATCC9372	≥ 6.00
对指示微生物做杀灭试验时，杀灭对数值 ≥ 6.00 ，或杀灭率达到100%。			

6.2 无菌猪隔离器内物体表面喷雾消毒的试验方法

对物体表面的指示菌杀灭对数值 ≥ 6.00 ，或达到灭菌效果，相应的目标微生物不得检出。操作方法见附录A。

7 评价方法

采样方法和活菌培养计数方法见附录A。

7.1 评价规定

活菌培养计数用的检测重复数不少于30个平皿，且任一平皿上均无菌落生长时 (即CFU=0)，则判定为消毒合格。



附录A (规范性附录)

无菌猪隔离器内物体表面喷雾消毒的试验方法

A.1 目的

用于鉴定喷雾消毒对人工污染于物体表面的细菌的杀灭作用,以验证该喷雾消毒对物体表面的消毒效果。

A.2 试剂或材料

A.2.1 试验菌株

大肠埃希氏菌ATCC25922、金黄色葡萄球菌ATCC25923、铜绿假单胞菌ATCC27853、萎缩芽孢杆菌ATCC9372,在上述规定的菌株基础上,标注对特定微生物有杀灭作用的,选该微生物进行杀灭试验。

A.2.2 试验试剂

A.2.2.1 磷酸盐缓冲液(PBS, 0.01mol/L, PH 7.2)(稀释液)。

A.2.2.2 标准硬水(硬度342mg/L)。

A.2.2.3 灭菌生理盐水

A.2.2.4 中和剂溶液(经A.5中和剂鉴定试验鉴定合格)。

A.2.2.5 胰蛋白胨大豆琼脂培养基(TSA)。

A.3 设备与耗材

A.3.1 电动混匀器。

A.3.2 恒温培养箱。

A.3.3 刻度吸管。

A.3.4 分光光度仪。

A.3.5 移液器及配套的塑料吸头。

A.3.6 试管。

A.3.7 平皿。

A.3.8 营养琼脂平板(含中和剂)。

A.3.9 灭菌规格板(一次性使用,中央留 $5.00\text{cm}\times 5.00\text{cm}$ 的空格作为采样部位)。

A.3.10 无菌棉拭子。

A.4 菌片(染菌载体)的制备程序

A.4.1 采用直径12mm、厚0.5mm的圆形金属片制作菌片。

A.4.2 金属片于染菌前,严格按照以下步骤进行脱脂处理:将载体放在含洗涤剂的水中煮沸30min,用自来水洗净;用蒸馏水煮沸10min,再用蒸馏水漂洗至PH呈中性,晾干备用。

A.4.3 载体经压力蒸汽灭菌后,使用滴染法染菌。

A.4.4 染菌用菌悬液:取第3代新鲜培养物,加入稀释液(一般用PBS)反复吹洗,洗下菌苔。随后,用5.0ml吸管将洗下的菌液移至另一无菌试管中,用电动混匀器混合20s,或在手掌上振打80次,以使细菌悬液均匀,然后加入等量的液体培养基,使用分光光度计调整菌液浓度,使菌液的浓度约为 $5\times 10^8\text{CFU/mL}$ 。

A.4.5 滴染法染菌时,将经灭菌的载体平铺于无菌平皿内,用移液器逐片滴加菌液10.0uL,必要时用接种环涂匀整个载体表面。置 $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱或室温干燥备用。

A.4.6 每个菌片(载体)的回收菌数应为 $1\times 10^6\text{CFU/片}$ - $5\times 10^6\text{CFU/片}$ 。

A.5 中和剂鉴定试验

A.5.1 中和剂载体定量鉴定试验操作程序



根据试验分组，准备足量试管和平皿，依次编号。各组分别用适宜大小容量的无菌定量吸管按以下程序吸取或添加试剂和试验样本。将适宜浓度的菌悬液用等量适合浓度的有机干扰物稀释作为试验菌悬液，载体试验用菌量应保证其回收菌量在 2.5×10^2 CFU/片- 1.5×10^3 CFU/片之间。

鉴定试验包括4组：

- a) 第1组：吸取中和剂5.0ml于无菌试管中，将其置 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴中5min后，用无菌镊子夹入1菌片，并使浸透于中和剂内，作用10min后，用电动混匀器混合20s，或将试管振打80次，混匀，分别吸取1.0ml接种于两个平皿中，置 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养48h，做活菌培养计数。
- b) 第2组：吸取中和产物溶液（按每片浸有消毒剂的载体加入含5.0ml中和剂的量制备中和产物）5.0ml于无菌试管内，将其置 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴5min中后，用无菌镊子夹入1菌片，并使浸透于中和产物溶液中，作用10min后，用电动混匀器混合20s，或将试管振打80次，混匀。分别吸取1.0ml接种于两个平皿中，置 $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养48h，做活菌培养计数。
- c) 第3组：吸取稀释液5.0ml于无菌试管内，将其置 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴5min后，用无菌镊子夹入1菌片，并使浸透于稀释液中，作用10min后，用电动混匀器混合20s，或将试管振打80次，混匀，分别吸取1.0ml接种于两个平皿中，置 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养48h，做活菌培养计数。
- d) 第4组：分别吸取稀释液与中和剂各1.0ml于无菌平皿内，倒入上述试验同批次的培养基15ml-20ml，置 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养48h，观察最终结果。

A.5.2 评价规定

试验结果符合一下全部条件，所测中和剂可判为合格：

- a) 第1组、第2组和第3组有相似量试验菌生长，载体回收菌量在 2.5×10^2 CFU/片- 1.5×10^3 CFU/片之间。其组间菌落数误差率不超过15%。第1组、第2组和第3组间菌落数误差率计算见式（A.2）：

$$P_z = \frac{\sum |X - X_i|}{\sum X_i} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

P_z ——组间菌落数误差率，%；

X ——三组间菌落平均数；

X_i ——各组菌落平均数，单位为菌落形成单位每片（CFU/片）。

- b) 第4组无菌生长。否则，说明试剂有污染，应更换无污染的试剂重新进行试验。
- c) 试验重复3次，每次试验均应符合a)、b)的要求。

A.6 试验步骤

A.6.1 将奶粉、饲料、玻璃丝口瓶、纱布、杆秤、无菌拭子作为染菌对象。

A.6.2 染菌用菌悬液：将四种菌株接种在TSA培养基上，取第3代培养物，加入稀释液（一般用PBS）反复吹洗，洗下菌苔。随后，用5.0ml吸管将洗下的菌液移至另一无菌试管中，用电动混匀器混合20s，或在手掌上振打80次，以使细菌悬液均匀，然后加入等量的液体培养基，使用分光光度计调整菌液浓度，使菌液的浓度约为 5×10^8 CFU/mL。

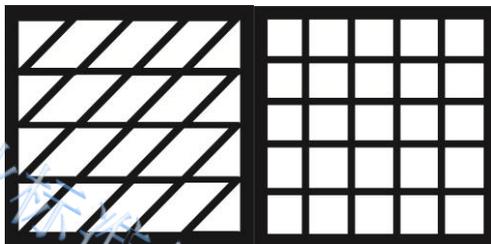
A.6.3 涂抹法染菌时，将适量的经灭菌的物品放于隔离器内，用无菌棉拭子沾取菌悬液并将其均匀涂抹于物体表面及隔离器传递筒内表面。待自然干燥后进行试验。

A.6.4 按试验设计的方法对传递筒内进行喷雾消毒。将无菌棉拭子在含10.0ml中和剂溶液试管中浸湿，于管壁上挤干，消毒作用至设定时间时，分别对染菌物体表面及传递筒内表面



进行涂抹取样，每区块横竖往返各8次，可采用“Z”字或“田”字形采样（见示例1）。采样后，以无菌操作方式将棉拭子采样端剪入原试管内，电动混匀器混合20s，或者在手掌上振敲200次，作为试验组样本。

示例1:



A. 6.5 将试验样本做适当稀释，选取适宜稀释度，分别取1.0ml，接种于平板上，每个样本接种三个平皿，置于36℃±1℃恒温培养箱中培养48h，观察最终结果。

A. 6.6 将每次试验未用完的同批次中和剂溶液、稀释液设为阴性对照。将消毒前菌悬液作为阳性对照。

A. 6.7 试验重复3次。计算各组的活菌浓度（CFU/mL），并换算为对数值（N），然后按式（A.1）

计算杀灭对数值：

$$KL=N_0-N_x \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

KL——杀灭对数值；

N₀——消毒前菌悬液平均活菌浓度的对数值；

N_x——试验组活菌浓度对数值；

计算杀灭对数值时，取小数点后两位值，可以进行数字修约。但是，如果消毒试验组平均生长菌落数小于1时，本标准规定此时的杀灭对数值，即大于或等于消毒前菌悬液平均活菌浓度的对数值（KL≥N₀）。

A. 6.8 评价规定：试验各次的30个样本的杀灭对数值大于等于6.00，或杀灭率达100%，可判定为消毒合格。

在杀菌试验中，每次均应设置阳性对照；试验中所使用的中和剂、稀释液和培养基等，各批次均应进行无菌检查，发现有菌生长，则全部试验应换用未污染试剂或培养基重做。

A. 7 物体表面的消毒杀菌效果

A. 7.1 对10包奶粉的消毒：0.05%过氧乙酸在喷雾1min，作用5min或喷雾2min，作用2min时，可对四种标准菌达到100%的杀灭。

A. 7.2 对8瓶1L灭菌带盖玻璃丝口瓶的消毒：0.05%过氧乙酸在喷雾1min，作用10min或喷雾2min，作用2min时，可对四种标准菌达到100%的杀灭。

A. 7.3 对10包饲料的消毒：0.05%过氧乙酸在喷雾1min，作用10min或喷雾2min，作用2min时，可对四种标准菌达到100%的杀灭。

A. 7.4 对纱布、杆秤、一次性无菌拭子的消毒：0.05%过氧乙酸在喷雾1min，作用5min时，可对四种标准菌达到100%的杀灭。

A. 8 注意事项

A. 8.1 棉拭涂抹采样较难标准化，宜使棉拭的大小，用力的均匀，吸取采样液的量，洗菌时敲打的轻重等先后一致。

A. 8.2 现场样本应及时检测。室温存放不得超过2h，4℃冰箱存放不得超过4h。