



# 团 体 标 准

T/CSBM 0059—2025

## 涂层抗菌黏附性能试验方法

Testing method for antibacterial adhesion properties of coating

2025-09-16 发布

2026-03-01 实施

中国生物材料学会 发 布  
中国标准出版社 出 版

## 前 言

本文件按照 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国生物材料学会提出。

本文件由中国生物材料学会标准工作委员会归口。

本文件起草单位：江苏百赛飞生物科技有限公司、百因特表界面检验检测技术(苏州)有限公司、苏州工业园区生物材料表界面工程研究院、山东省医疗器械和药品包装检验研究院、四川大学。

本文件主要起草人：李丹、陈益平、方菁崑、陈红、乔云倩、梁洁。

## 引 言

随着生物医用材料的广泛使用,黏附和定植在医疗器械材料表面的致病菌所引发的感染问题成为全球范围内对患者健康威胁最大的隐患之一,严重危及社会公共卫生安全。全身抗生素治疗是治疗医疗器械材料所致相关感染的一种常见方法。然而,由于缺乏对医疗器械材料表面引起感染的针对性,抗生素的治疗效果并不理想,且增加抗生素的剂量会导致细胞毒性、副作用和抗生素耐药性的风险。因此,设计构建具有抗细菌黏附功能的表面涂层,能抵抗细菌的黏附、定植和生长,从而降低或抑制感染发生的概率,具有重要的临床意义。

带抗细菌黏附涂层医疗器械的开发和产业发展广泛而迅速,目前已有多款产品注册上市。但是,目前尚没有涂层抗细菌黏附性能试验方法的相关标准可供参考,仅能引用其他行业或领域的抗菌标准。然而,对于导尿管、引流管和中心静脉导管等这种尺寸较小的管状器械,这些标准中的制样和评价方法具有很大的不适用性。评价方法的缺失导致企业无法有效和真实地评价产品的抗细菌黏附性能,因此,建立涂层抗细菌黏附性能的试验方法十分有必要。

# 涂层抗细菌黏附性能试验方法

## 1 范围

本文件描述了涂层抗细菌黏附性能试验方法。  
本文件适用于通过强结合力均匀固定在器械表面的抗细菌黏附涂层。  
本文件适用于带抗细菌黏附涂层的医用导管,其他种类或形状的产品参照使用。  
本文件不适用于具有杀菌或抑菌特性机理的涂层,以及能从表面快速洗脱或释放的涂层。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- YY/T 0331 脱脂棉纱布、脱脂棉粘胶混纺纱布的性能要求和试验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**细菌黏附 bacterial adherence**

细菌通过物理或化学作用与材料表面发生紧密结合的现象。

注:靠液体作用游离在材料表面,能通过简单的清洗被轻易去除的细菌不属此类。

### 3.2

**抗细菌黏附涂层 coating that resist bacterial adhesion**

通过一定的强结合力均匀涂覆在器械表面,能够抵抗细菌黏附在材料表面上功能的物质,该物质不以杀菌或抑菌机理发挥作用。

### 3.3

**抗细菌黏附性能 ability to resist bacterial adhesion**

涂层具有抑制或降低细菌黏附在器械表面的能力。

[来源:ASTM E3371-22,3.2.2]

### 3.4

**抗细菌黏附率 rate of resistance to bacterial adhesion**

带涂层样品相较于无涂层的同种材料对照样品表面黏附细菌数量的减少率。

## 4 原理

样品与含有营养成分的菌液在适当的条件下接触孵育一定时间后,用无菌 PBS 缓冲液涮洗掉样品表面非黏附的细菌,然后对表面黏附的细菌进行擦拭回收,涡旋洗脱后进行培养计数。评价方式为计算

抗细菌黏附率,即涂层样品相较于无涂层的同种材料样品表面黏附细菌数量的减少率,用%表示。

## 5 试验方法

### 5.1 试验菌种

试验使用的菌种需从国际或国家菌种保藏中心获得。试验推荐使用如下细菌:

- a) 革兰氏阳性菌:金黄色葡萄球菌[ATCC 6538、ATCC 25923、CMCC(B)26 003等];
- b) 革兰氏阴性菌:大肠埃希氏菌[ATCC 25922、8099、CMCC(B)44 102等]。

也可根据产品用途,选用其他种类的细菌或真菌,但应选取适宜的菌液制备和培养条件,并在报告中予以说明。

### 5.2 试验器材

#### 5.2.1 试验试剂

胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA)、胰酪大豆胨液体培养基(TSB)、1/20 的 TSB(磷酸盐缓冲液(PBS)稀释)、蒸馏水或去离子水(符合 GB/T 6682 要求)、0.03 mol/L PBS 缓冲液。

#### 5.2.2 试验材料

一次性无菌接种环、剪刀、无菌镊子、医用不锈钢止血钳、无菌脱脂棉纱布(符合 YY/T 0331 的要求,单层 5 cm×7 cm,共 4 层)、带螺盖无菌试管、移液枪等。

#### 5.2.3 试验设备

II 级生物安全柜、高压蒸汽灭菌器、旋涡混合器、恒温培养箱、恒温摇床等。

### 5.3 试验步骤

#### 5.3.1 菌液制备

取保存的菌种以划线法接种到 TSA 平板上,(35±1)℃下培养 18 h~24 h。使用无菌接种环,从平板中挑取典型菌落转移至 TSB 中,并在(35±1)℃下培养 18 h~24 h。之后将细菌分散到 1/20 TSB 中,调节浓度至  $2.5 \times 10^5$  CFU/mL~ $10 \times 10^5$  CFU/mL,即为试验用菌液。此新鲜菌液应在 4 h 内使用。

#### 5.3.2 样品处理

无菌操作,取带涂层样品和无涂层对照样品管身均匀部分(为方便细菌回收操作,建议取样长度不低于 5 cm),置入装有试验用菌液的无菌试管中。将试管固定于 37℃的恒温摇床上,60 r/min 孵育 24 h。每种试验材料应至少准备 3 组平行样品。在相同处理条件下进行不加样品的空白组试验。

注 1:对照样品的选择除表面无涂层外,与带涂层试验样品完全一致,试验条件也需保持一致(如取样长度、试验用菌液等)。

注 2:制备涂层样品时,只取带有涂层部位的样品表面,且后续仅回收涂层部位表面黏附的细菌。如无特殊要求,尽量减少切割样品,尽量保证整段置于试管中孵育,且孵育过程中需保证菌悬液全程浸没和接触试验样品。

注 3:如验证涂层产品的长效抗细菌黏附性能,孵育时长的选择和效果的评价方式根据临床用途和试验目的设定和验证。

5.3.3 细菌回收

孵育结束后,取出样品转移至装有新鲜 PBS 缓冲液的无菌试管中,在 40 r/min 摇床上清洗 30 s,以洗去样品表面非黏附的细菌。清洗结束后,取出样品置于新的 PBS 缓冲液无菌试管中轻轻缓慢上下提拉涮洗 2 次,保证样品表面无菌液残留。提出样品保持悬空,轻轻甩动后用纱布吸走样品底端液滴。

将无菌脱脂棉纱布用无菌 PBS 缓冲液浸湿后,轻轻挤压以去除多余的液体,保证湿润即可。然后立即用手拿着纱布沿着样品垂直方向,从上到下进行旋转擦拭,样品沿圆周方向旋转一定角度后,继续用纱布沿垂直方向进行上下擦拭,直至擦拭完样品所有区域,应保证相邻擦拭区域有一定的重叠,避免出现擦拭死角。翻转样品,调整止血钳夹住样品的另一端,另取 1 块同样干净纱布,连续重复上述操作。

注 1: 每次擦拭前均需调整纱布到干净区域或对纱布进行折叠处理,保证管身每处区域均都能被干净区域的纱布所擦拭,每块纱布的擦拭次数不低于 8 次。擦拭施加的压力以样品轻微变形但不破损为宜。

注 2: 如导管内外表面均有涂层,外表面擦拭结束后剖开管身后再进行内表面细菌的擦拭回收操作。

注 3: 采用止血钳的目的是防止擦拭过程中样品受力脱落。样品夹持悬空时,不要接触桌面或其他物体表面,以防止表面黏附的细菌被蹭掉。

将收集细菌的 2 块无菌脱脂棉纱布分别投入两个装有一定体积 PBS 缓冲液的 50 mL 带螺盖无菌试管中。每个试管内加入缓冲液 10 mL~20 mL 为宜,保证纱布浸没且能给正常涡旋转动为宜。涡旋至少 1 min 以上,使细菌回收和分散至 PBS 缓冲液中。将第二次擦拭的纱布和洗脱液一起汇集到第一次擦拭的纱布洗脱液试管中,纱布不取出,充分混匀,记录汇合后洗脱液总体积。建议涡旋参数:转速 2 500 r/min,圆周直径 4.9 mm。

注 1: 如有需要,也能采用扫描电子显微镜(SEM)或荧光染料染色进行直观的定性观察样品表面黏附细菌的数量和状态。但需考虑样品的固定、脱水或染色过程对所黏附细菌状态的影响。

注 2: 如适宜,选择其他合适的擦拭材料,如植绒材质的拭子或纱布,但需保证能够对细菌进行充分的回收。

5.3.4 细菌计数

取洗脱液用 PBS 缓冲液适当稀释后,用 TSA 进行微生物计数(涂布法或倾注法),每个稀释度做两个培养皿,倒置培养皿,于(35±1)℃培养 24 h~48 h。

培养结束后,对培养皿中菌落数在 30 CFU~300 CFU 之间的菌落进行计数,并记录稀释倍数。若稀释液培养皿中菌落数小于 30 CFU,则对原液的培养皿直接计数。

6 试验结果

6.1 黏附的活菌数

按式(1)计算黏附在样品表面的活菌数量:

$$E = \frac{V_h \times C \times D}{V_t} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- E —— 黏附在样品表面的活菌数量,用 CFU 表示;
- V<sub>h</sub> —— 涡旋洗脱 PBS 缓冲液的体积,单位为毫升(mL);
- C —— 两个平皿的平均菌落数结果,用 CFU 表示;
- D —— 菌液涂板稀释的倍数;
- V<sub>t</sub> —— 用于最终涂板菌液的体积,单位为毫升(mL)。

## 6.2 抗细菌黏附率

按式(2)计算涂层样品的抗细菌黏附率  $R$ ：

$$R = \frac{E_{\text{对照}} - E_{\text{样品}}}{E_{\text{对照}}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$E_{\text{对照}}$ ——无涂层的同种对照样品表面黏附的平均活菌数量,用 CFU 表示；

$E_{\text{样品}}$ ——带涂层样品表面黏附的平均活菌数量,用 CFU 表示。

注：所有平行样组的抗细菌黏附率算术平均值作为涂层样品最终的测定结果。

## 7 试验结果的有效性

当以下给定的条件均得到满足时,试验才被认定为有效。反之,则试验无效,应重新进行试验。

- a) 空白组菌液孵育 24 h 后计数,细菌浓度应不低于  $10^7$  CFU/mL；
- b) 无涂层对照组中,各平行样表面黏附的活菌数量取以 10 为底的对数,其对数差值应小于 1.0。

## 8 试验报告

试验报告应包括但不限于以下内容：

- a) 样品的识别；
- b) 样品的取样信息,取样表面积或长度；
- c) 试验菌液的体积；
- d) 方法的描述；
- e) 试验结果的计算；
- f) 每个平行样组的抗细菌黏附率和算术平均值；
- g) 试验开始日期和试验报告日期；
- h) 任何偏离本文件以及任何替代过程的细节。

参 考 文 献

- [1] ASTM E3371-22 Standard Test Method for Measuring the Ability of a Synthetic Polymeric Material to Resist Bacterial Adherence.
-