

最终报告 2010/968i

**普境安对耐甲氧西林
金黄色葡萄球菌的抗菌活性的影响研究**

研究项目: 2010/968 SAM

合同号: PARA2010002003

委托方: EUROFINS PRODUCT TESTING A/S DK
SMEDESKOVVEJ 38
DK 8464-GALTEN (DENMARK)

检测物质: 普境安 (G046-0001)

研究总监: L. Brambilla 博士

发布于 2010 年 10 月 25 日

未经书面批准, 本测试报告不得部分复制

(备注: 此文件仅为中文翻译文件, 签名请参考英文原文)

目录

目录	2
摘要	3
介绍	4
参考文献	4
归档	4
试验流程	4
试验物质	5
送检样品	5
试验报告 2010/968——耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗菌活性的评估（委托方提供的方法）	6
试验步骤	6
分析有效准则	8
结果	9
误差	9
结论	9
附件	9

摘要

根据委托方提供的协议, 对试验物质普境安 (G046-0001) 进行了试验, 检测其对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌活性的影响。

为了达到这一目的, 在下列条件下, 将耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株 ATCC 33592 暴露于试验物质中:

- 最终浓度: 纯 (0.310g/载体)
- 接触时间: 30 分钟-8 小时-24 小时
- 温度: 室温 (20-25°C)

检测是在纸质载体上进行的。、、

消毒后, 使 2x2cm 的方格纸被耐甲氧西林金黄色葡萄球菌沾染, 然后将其放置在无菌的培养皿中 (每个培养皿中有 3 个载体)。一组方格纸用试验物质进行处理, 一组没有进行处理作为对照组。

在不同的接触时间 (30 分钟、8 小时、24 小时) 后, 将 3 个接触检测物质的方格纸从每个培养皿中取出, 并对微生物存活菌落计数进行化验。

对未经处理的对照组进行相同的程序。

该试验是在潮湿环境下进行的, 以模拟可能的环境使用条件。

详情请参考试验报告 2010/968。

37°C ± 1°C 的条件下, 48 小时培养期之后, 结果表示为 *杀灭百分比 (杀灭%)* 和 *抑制百分比 (抑制%)*, 如下表所示。

接触时间	平均杀灭 %	平均抑制 %
30 分钟	99.006	98.991
8 小时	>99.999	>99.993
24 小时	>99.999	>99.994

在收集到的结果的基础上, 按照分析有效标准, 在试验物质普境安 (G046-0001) 30 分钟的接触后, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 的活性与零时间点相比减少 >99%, ; 8 小时的接触后, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 的活性与零时间点相比减少 >99.99%, 与委托方的规定方法一致。

检测物质普境安 (G046-0001) 30 分钟的接触后, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 活性与每个接触时间相比抑制率 >90%; 8 小时的接触后, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 活性与每个接触时间相比抑制率 >99.99%, 与委托方的规定方法一致。

介绍

这项研究是根据委托方提供的协议, EUROFINS PRODUCT TESTING A/S DK 代表执行试验, 以评估耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗菌功效。

这项研究是在 Test Facility Eurofins Biolab S.r.l. of Vimodrone (美国密歇根州) 和 B. Buoizzi n. 2 (意大利) 完成。

试验	开始	结束	研究人员
抗菌活性	2010. 10. 21	2010. 10. 23	C. Meroni

在这个报告中:

- 剂量表示为 100 毫升 (ml) 水 (%) 中检测物质的毫升 (ml) 数
- 在每毫升检测溶液中的微生物数量, 计作每毫升菌落形成单位 (cfu/ml)

参考文献

1. Jennifer Dunham, B.S. Microchem Laboratory, Inc. - The antimicrobial Activity of Stalosan-F and Various Competitive Products in Moist Conditions Using S. aureus Test 2 (Project ID Numbers 050405-1, 050412-2) - April 21, 2005.
2. EN 13697 August 2001 - Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative test for not porous surfaces for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements without mechanical action (phase 2/step2).

归档

这项研究计划、所有的原始数据、最后的报告, 以及一些可能的评论, 这些资料在试验结束后, 将被保存在生物试验设备公司的档案中 10 年。

检测物质的对照样本将不会保留。

委托方在起草合同时, 可以要求延长其全部或部分物质的保护时间或者将其归还。

程序

试验中使用的程序在生物试验设备公司的程序手册中有记载。

检测物质

这种检测物质由一种用于为动物圈舍清洁和除臭的产品组成。

名称	环境改良产品 (G046-0001)
稳定性	未提供
成分	未提供

送检样品

分析样品（装在塑料袋里的棕色粉末状的试验物质）

批号	未提供
生产日期	未提供
有效日期	未提供
检测报告——UD 编号：M1318-003v1.0	未提供
接收编号	EUITVI-11886
接收日期	2010. 10. 11
认证编号	10.1403-S

检测物质的特征描述由客户负责。

试验报告 2010/968——普境安对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗菌活性的评估（委托方提供的方法）

试验步骤

1. 分析系统

微生物

对以下物质进行检测:

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC 33592

保存

细菌菌株是被冻结状态; 在使用之前, 将其转移到混有绵羊血液的胰蛋白胨大豆琼脂培养基中, 并放置在 $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的冰箱里保存。

准备细菌悬浊液

这种细菌菌株连续两次转移到混有绵羊血液的胰蛋白胨大豆琼脂培养基中, 并在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的微需氧环境下孵育 48 小时。

在试验开始后的两个小时内, 用玻璃珠将最终的悬浮培养液稀释, 悬浮液被稀释到 $1.5 \times 10^8 - 5.0 \times 10^8$ cfu/ml 的浓度。

菌落数量取决于计数。

2. 培养基和试剂

胰酶大豆琼脂 (TSA)

稀释剂

胰蛋白胨		
消化酪蛋白	1.0g	MERCK
氯化钠	8.5g	MERCK
适量蒸馏水	1000ml	

注入无菌水 (WFI)

中和剂

选用以下中和剂:

卵磷脂	3g	MERCK
聚山梨醇酯 80	30g	MERCK
硫代硫酸钠	5g	MERCK

Eurofins Biolab S.r.l.

Società con Socio unico sottoposta

a direzione e coordinamento della società

Eurofins Scientific Italia S.r.l.

parte di Eurofins Scientific Group

<http://pharma.eurofins.com/>

Via Bruno Buozzi, 2

20090 Vimodrone (MI) - Italia

Tel. + 39-022507151

Fax + 39-0225071599

biolab@eurofins.com

www.eurofins.it

www.biolab.it

C.SOC. € 100.000 i.v.

P. IVA 00762140960

C.F. 03765750157

REA MI 966696

D-U-N-S 429117112

CIT005 4-385

组氨酸	1g	MERCK
皂素	30g	SIGMA
适量胰蛋白胨处理过的水	1000ml	

3. 设备

微生物实验室标准设备:

干热灭菌烘箱	MEMMERT
蒸汽高压灭菌器	FEDEGAR I
培养箱	MEMMERT
酸度计	BECKMAN
涡流搅拌机	VELP
精密计时器	ARBORE
微量吸液管	GILSON
培养皿 90mm	GHIARONI
正方形纸片 (2×2cm)	GHIARONI

4. 试验设计

试验温度

试验温度设定为室温 (20–25°C)

试验条件

在以下条件下对试验物质进行试验:

- 浓度: 纯 (0.310g/载体)
- 接触时间: 30 分钟–8 小时–24 小时

载体

用方格纸 (2×2cm) 进行试验

5. 执行分析

分析

灭菌后, 在 2×2cm 的方格纸上沾染 0.05ml 1.5×10^8 – 5.0×10^8 cfu/ml 的悬浊液, 然后将其放置于无菌的培养皿中 (每个培养皿中有 3 个载体)。

一组方格纸 (3 个培养皿、9 个载体) 用在最终浓度 0.310 g/培养皿对培养皿表面均匀分布的检测物质进行处理。

另一组 (4 个培养皿、12 个载体) 不处理, 作为对照组。

在不同的暴露时间里 (30 分钟, 8 小时, 24 小时), 将 3 个暴露过后的方格型检测物质从每个培养皿中取出, 并转移到一个有 10ml 缓冲剂和 5g 玻璃珠的试管中。为了从载体上取下细菌, 将试管放入涡旋振荡仪中振荡。

经过 5 分钟的稀释, 混合物被稀释了 10 倍, 取每个稀释液 0.5ml 转移到混有去纤维蛋白羊血胰酶大豆琼脂 (TSA) 的表面。

将这些培养皿放在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的微需氧培养箱中培养 48 小时。

对未经处理的对照组进行相同的程序, 包括零时间点, 以评估在不同接触时间下存活的 cfu 数量。

在培养期结束时, 测定每板培养皿的载体数量并乘以适当的稀释因子以确定每种载体的存活 cfu 的数量。

所有的检测都是在潮湿环境下进行的, 以模拟可能的环境使用条件。

中和反应可行性的验证

将两个 $2 \times 2\text{cm}$ 的无菌方格纸放入无菌的离子水里浸泡大约 60 秒。然后, 将这些载体放在无菌的培养皿中, 并迅速撒上检测物质。

将每个方格纸转移到含有 10ml 中和剂和 5g 玻璃珠的试管中。为了从载体上取下细菌, 将试管放入涡旋振荡仪中振荡。

经过 5 分钟的中和时间后, 混合物被稀释了 10 倍, 每支试管都接种了大约 1000cfu/ml 的试验菌株; 取每个稀释液 0.5ml 转移到混有去纤维蛋白羊血的胰酶大豆琼脂 (TSA) 表面。

将这些培养皿放在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的微需氧环境下培养 48 小时。

与此同时, 在两支含有 10ml 中和剂的试管中接种大约 1000cfu/ml 的试验菌株; 取每份悬浊液 0.5ml 转移到混有去纤维蛋白羊血的胰酶大豆琼脂 (TSA) 表面。

将这些培养皿放在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的微需氧环境下进行培养 48 小时。

6. 计算与结果的表达

孵育结束之后, 结果表示为杀灭百分比 (杀灭%) 和抑制百分比 (抑制%) :

$$\text{杀灭\%} = \left\{ \frac{S_0 - S}{S_0} \right\} \times 100$$

S = 接触检测物质后存活的 cfu

S_0 = 零时间点 cfu 初始数值 (对照组)

$$\text{抑制\%} = \left\{ \frac{ST - S}{ST} \right\} \times 100$$

S = 接触检测物质后存活的 cfu

ST = 在每个接触时间存活的 cfu (对照组)

分析有效准则

在对中反应可行性的验证中，必须在所有培养皿上出现相似数量的菌落才能进行有效的测定。

结果

中和与生存能力的验证

验证检测符合分析有效标准

分析

不同的接触时间下，平均杀灭百分比（杀灭%）和平均抑制百分比（抑制%）如下表所示。

接触时间	平均杀灭 %	平均抑制 %
30 分钟	99.006	98.991
8 小时	>99.999	>99.993
24 小时	>99.999	>99.994

误差

试验中没有发生任何偏差。

结论

在收集到的结果的基础上，按照分析有效标准，在试验物质普境安（G046-0001）30 分钟的接触后，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 的活性与零时间点相比减少>99%；8 小时的接触后，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 的活性与零时间点相比减少>99.99%，与委托方的规定方法一致。

检测物质普境安（G046-0001）30 分钟的接触后，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 活性与每个接触时间相比抑制率>90%；8 小时的接触后，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592 活性与每个接触时间相比抑制率>99.99%，与委托方的规定方法一致。

报告编号: 2010/968 SAMI
语言: 英语
页数: 10 / 11
打印时间: 2010 年 10 月 25 日

附件

附件	题目	页数
N. 1	RAW DATA EXPERIMENTATION 2010/968	1
Eurofins Biolab	1. Jennifer Dunham, B.S. Microchem Laboratory, Inc. - The antimicrobial Activity of Stalosan-F and Various Competitive Products in Moist Conditions Using S. aureus Test 2	
Project ID Numbers 050405-1, 050412-2	1/1	

研究认证: 2010/968 SAM

开始于: 21/10/10

样品认证: 10.1403-S

检测菌株计数

微生物检测	-7	-7	ufc/ml
耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592	49	46	4.8E+08

表格 n. 1: 验证试验计数 (ufc/载体)

微生物检测	-1	-1	-1	平均数
中和能力 (在产品存在情况下计数)				
耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592	40	30	36	35
生存能力 (在产品不存在情况下计数)				
	39	42	30	37

表格 n. 2: 微生物计数值 (ufc/载体)

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33592				2.38E+07		
接触时间	对照组			试验组		
	载体 1	载体 2	载体 3	载体 1	载体 2	载体 3
T ₀	9.9E+05	1.2E+06	1.2E+06	n. d	n. d	n. d
30 分钟	7.4E+05	1.4E+06	1.2E+06	2.6E+03	2.1E+03	2.9E+04
8 小时	3.0E+05	1.7E+05	2.1E+05	<1.5E+01	<1.5E+01	<1.5E+01
24 小时	2.4E+05	2.8E+05	2.2E+05	<1.5E+01	<1.5E+01	<1.5E+01

n. d: 不确定

表格 n. 3: 试验平均计数 (ufc/载体)

Eurofins Biolab S.r.l.
Società con Socio unico sottoposta
a direzione e coordinamento della società
Eurofins Scientific Italia S.r.l.
parte di Eurofins Scientific Group
<http://pharma.eurofins.com/>

Via Bruno Buozzi, 2
20090 Vimodrone (MI) - Italia
Tel. +39-022507151
Fax +39-0225071599
biolab@eurofins.com
www.eurofins.it www.biolab.it

C.SOC. € 100.000 i.v.
P. IVA 00762140960
C.F. 03765750157
REA MI 966696
D-U-N-S 429117112
CIT005 4-385

报告编号: 2010/968 SAMI
 语言: 英语
 页数: 11 / 11
 打印时间: 2010 年 10 月 25 日

接触时间	对照组	试验组
T ₀	1. 1E+06	n. d
30 分钟	1. 1E+06	1. 1E+04
8 小时	2. 3E+05	> 1. 5E+01
24 小时	2. 5E+05	> 1. 5E+01

n. d: 不确定

表格 n. 4: 不同的接触时间下, 平均杀灭百分比 (杀灭%) 和平均抑制百分比 (抑制%)

接触时间	平均杀灭 %	平均抑制 %
30 分钟	99. 006	98. 991
8 小时	> 99. 999	> 99. 993
24 小时	> 99. 999	> 99. 994

技术人员签字:

结束于: 23/10/10

批复人签字:

日期: 23/10/10

(备注: 此文件仅为中文翻译文件, 签名请参考英文原文)