

试验报告

Stormøllen A/S

普境安对空肠弯曲杆菌抗菌活性的影响评估

2007 年 9 月

委托方: Stormøllen A/S
Ringsbjergvej 16
4682 Tureby

日期: 2007 年 10 月 1 日

检测实验室: Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S
Smedeskovvej 38, DK-8464 Galten

Inge Bondgaard
化学家

(备注: 此文件为中文翻译文件, 签名请参考英文原文件)

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

目录

目录	2
摘要	3
介绍	4
参考文献	5
归档	5
程序	5
试验物质	6
检测样品	6
空肠弯曲杆菌抗菌活性的评估	7
试验程序	8
分析有效准则	11
结论	11
误差	11
表格	12

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载，其部分内容仅被 Eurofins（欧陆集团）环境 A/S 书面认可。

摘要

根据委托方提供的协议, 对检测物质普境安进行了试验, 以确定其对空肠弯曲杆菌的抑制效果。

对以下微生物菌种进行检测:

空肠弯曲杆菌

ATCC 49349

消毒后, 使 2x2cm 的方格纸被空肠弯曲杆菌污染, 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)。一组方格纸用检测物质进行处理, 一组没有进行处理作为对照组。

在不同的暴露时间 (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。

培养一段时间后, 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。

暴露时间	平均杀灭 %	平均抑制 %
30 分钟	88.21	71.55
8 小时	99.99	99.93
24 小时	100.00	99.98

结果只对检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

介绍

根据委托方提供的协议, Stormøllen A/S 执行了该试验, 以评估抗菌活性。

这项研究在维莫德罗内 (美国密歇根州) Bruno Buozzi 街 2 号的 Eurofins (欧陆集团) 生物试验设备公司进行。

试验开始于 2007 年 9 月 21 日, 于 2007 年 9 月 24 日完成。

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

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。

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

试验物质

该检测物质包括一种用于为动物圈舍清洁和除臭的产品。

名称: 普境安

稳定性: 未提供

委托方提供产品成分: 未提供

检测样品

分析样品 (装在塑料袋里的棕色粉末状的试验物质)

批次: 未提供

生产日期: 未提供

有效日期: 未提供

检测证书: 未提供

认证编号: 07.20531 / 760700

接收编号: R04527.07

接收日期: 17/09/2007

检测物质的特征描述由客户负责。

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

760700_STORM ØLLEN_CHALLENGETEST_UK_DOC 打印日期: 01.10.07

6/13

普境安对空肠弯曲杆菌抗菌活性的影响评估

主要研究人员: L. Brambilla 博士

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载，其部分内容仅被 Eurofins（欧陆集团）环境 A/S 书面认可。

760700_STORM ØLLEN_CHALLENGETEST_UK_DOC 打印日期: 01.10.07

7/13

试验程序

1. 系统分析

1.1. 微生物

鉴定

对以下菌株进行检测:

空肠弯曲杆菌 ATCC 49349

来源

这种菌株从巴黎巴斯德研究所获得。

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 1.5×10^8 – 5.0×10^8 cfu/ml 的浓度。

菌落数量取决于计数。

2. 培养基和试剂

2.1. 胰蛋白胨大豆琼脂 (TSA) 和去纤维蛋白羊血

胰蛋白胨大豆琼脂	30g	MERCK
去纤维蛋白羊血	50ml	OXOID
适量蒸馏水	1000ml	

2.2. 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	

2.3. 缓冲剂

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

结果只对检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

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

2.4. 无菌水

3. 设备

微生物实验室标准设备:

—— 干热灭菌烘箱	MEMMERT
—— 蒸汽灭菌器	FEDEGAR I
—— 培养箱	MEMMERT
—— 酸度计	BECKMAN
—— 涡旋振荡仪	VELP
—— 计时器	ARBORE
—— 微量吸液管	GILSON
—— 微需氧设备	OXOID
—— 培养皿 90mm	TARGET
—— 方格纸 (2×2cm)	GHIARONI

4. 试验设计

4.1. 试验温度

试验温度设定为 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

4.2. 浓度

在以下浓度对检测物质进行检测:
相同浓度

4.3. 接触时间

接触时间如下:
30 分钟——8 小时——24 小时

4.4. 载体

用方格纸 (2×2cm) 进行检测。

5. 试验分析

5.1. 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。

结果只对检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

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。

5.2. 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. 计算与结论的表达

孵育一段时间之后，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 = 接触试验物质后存活的 cfu 数量

S_0 = 零时间点 cfu 初始数量（对照组）

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

S = 接触试验物质后存活的 cfu 数量

结果只对检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载，其部分内容仅被 Eurofins（欧陆集团）环境 A/S 书面认可。

ST = 在每个接触时间存活的 cfu 数量 (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。

结论

1. 中和反应可行性的验证

验证检测符合分析有效准则。

2. 分析 (表格 N. 2)

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	88. 21	71. 55
8 小时	99. 99	99. 93
24 小时	100. 00	99. 98

误差

试验中没有发生任何偏差。

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。

普境安对空肠弯曲杆菌抗菌活性影响的评估

表格

结果只对被检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载，其部分内容仅被 Eurofins（欧陆集团）环境 A/S 书面认可。

760700_STORM ØLLEN_CHALLENGETEST_UK_DOC 打印日期: 01.10.07

12/13

表格 N. 1: 验证试验

验证试验时的平均计数 (cfu/培养皿)

中和能力	活力
80.7	97.0

表格 N. 2: 分析

分析时的平均计数 (cfu/载体)

暴露时间	对照组	试验组
零时间点	4.67×10^6	//
30 分钟	1.93×10^6	5.50×10^5
8 小时	6.33×10^5	4.13×10^2
24 小时	5.73×10^5	1.33×10^2

结果只对检测的样本有效。

本报告仅可在其实体中复制或转载, 其部分内容仅被 Eurofins (欧陆集团) 环境 A/S 书面认可。