

能灭（过硫酸氢钾复合物粉）消毒剂灭杀细菌实验

试验报告

委托单位：山东能洁动保科技有限公司

检测单位：中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

报告日期：2025 年 6 月 26 日

1 杀菌试验

1.1 中和剂的鉴定

试验选取 2 株鸭疫里默氏菌、2 株沙门氏菌、1 株金黄色葡萄球菌作为供试菌株，试验温度为(20±1)℃。试验采用悬液定量杀菌的方法进行，消毒液采用试验最低稀释度 1:400，中和剂选用 0.5%（质量分数）硫代硫酸钠溶液，有机干扰物牛血清白蛋白的浓度为 0.3%，消毒液与菌株作用时间设为 5min。试验分为 6 组（表 1），结果评判标准为：

1) 第 1 组无菌或有少量菌生长；2) 第 2 与第 1 组细菌量接近或稍多，但显著少于第 3、第 4 和第 5 组；3) 第 3、第 4 和第 5 组间细菌数量误差率≤15%；4) 第 6 组无细菌生长。由此表明所选中和剂为适宜。

表 1 中和剂鉴定的组别
Table 1 Groups identified as neutralizers

组别	类目
Group	Category
1	(0.4mL 消毒剂+0.05mL 菌悬液+0.05mL 有机干扰物) +4.5 mL PBS
2	(0.4mL 消毒剂+0.05mL 菌悬液+0.05mL 有机干扰物) +4.5 mL 中和剂
3	(0.4mL PBS+0.05mL 菌悬液+0.05mL 有机干扰物) +4.5 mL 中和剂
4	(0.4mL 消毒剂+4.5mL 中和剂)+0.05 mL 菌悬液+0.05mL 有机干扰物
5	4.9mL PBS+0.05 mL 菌悬液+0.05mL 有机干扰物
6	中和剂+PBS

表 2 用于杀菌试验的中和剂鉴定结果
Table 2 Neutralizer identification results of bactericidal assay

组别	鸭疫里默氏菌 537	鸭疫里默氏菌 538	沙门氏菌 Sm6	沙门氏菌	金黄色葡萄球菌 041
Group	质量浓度 (CFU·mL ⁻¹)	质量浓度 (CFU·mL ⁻¹)	质量浓度 (CFU·mL ⁻¹)	CVCC527 质量浓度 (CFU·mL ⁻¹)	质量浓度 (CFU·mL ⁻¹)
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	(5±2) ×10 ⁴
3	(1.7±0.1) ×10 ⁴	(1.22±0.1) ×10 ⁵	(1.12±0.1) ×10 ⁵	(9±1) ×10 ⁶	(4±2) ×10 ⁵
4	(1.21±0.1) ×10 ⁵	(1.27±0.1) ×10 ⁵	(1.13±0.1) ×10 ⁵	(8±1) ×10 ⁶	(3±2) ×10 ⁵
5	(1.4±0.1) ×10 ⁵	(1.29±0.1) ×10 ⁵	(1.01±0.1) ×10 ⁵	(7±1) ×10 ⁶	(2±2) ×10 ⁵
6	0	0	0	0	0

实验结果：结合表 2 与 1.1 中结果评判标准可知，0.5%(质量分数)硫代硫酸钠溶液能有效中和过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液的残留作用，且中和剂和中和产物对三种细菌的正常生长无影响。由此判定所选中和剂为适宜。

1.2 定性杀菌

活化的鸭疫里默氏菌 537、沙门氏菌 Sm6、金黄色葡萄球菌 041 株菌体分别用 PBS 稀释成 $5\times10^5\sim5\times10^6\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

取 10 支试管排放在试管架上，每管加无菌蒸馏水 2.5mL，于第 1 管加入稀释度为 1:200 的过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液 2.5mL，混匀后，从第 1 管取 2.5mL 至第 2 管，以此类推至第 9 管，取 2.5mL 弃去，第 10 管不加消毒液作为阳性对照组。每管加入稀释的菌悬液 2.5mL，于 20℃水浴中分别作用至规定时间（5、10、15、30、60min），从每管中取 0.5mL 混合液加入 4.5mL 中和剂中和 10min，随后取 0.5mL 反应液加入 4.5mL 液体培养基中，于适宜温度下培养。

每天观察培养基状况，以培养基出现混浊代表有菌生长，若未见混浊，继续观察至第 7 天，若仍不混浊方可代表无菌生长。

结果评判：以试管中无菌生长的最低消毒液浓度为该作用时间下最低杀菌有效浓度，以该试管中无菌生长的最短时间为该浓度杀菌最快有效时间。

试验结果：由表 3 可知，过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液与鸭疫里默氏菌作用 5min 所需的最低杀菌有效浓度为 400 倍稀释；当作用时间延长至 10、15min 时，对鸭疫里默氏菌的最低杀菌有效浓度均为 800 倍稀释；当作用时间延长至 30、60min 时，对鸭疫里默氏菌的最低杀菌有效浓度均为 1600 倍稀释。过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液与沙门氏菌作用 5min 所需的最低杀菌有效浓度为 200 倍稀释；当作用时间延长至 10、15、30、60min 时，对沙门氏菌的最低杀菌有效浓度分别降低至 400、800、1600、3200 倍稀释。过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液与金黄色葡萄球菌分别作用 5min、10min、15min 所需的最低杀菌有效浓度均为 200 倍稀释；当作用时间延长至 30min、60min 时，对金黄色葡萄球菌的最低杀菌有效浓度均为 400 倍稀释。

表 3 过硫酸氢钾复合物粉（能灭）定性杀菌试验
Table 2 Qualitative suspension test of compound peroxymonosulphate powder

菌种 Bacteria	最低杀菌有效稀释度 Minimal bactericidal effective concentration				
	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min
鸭疫里默氏菌 Riemerella anatipestifer 537	1:400	1:800	1:800	1:1600	1:1600
沙门氏菌 Salmonella Sm6	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
金黄色葡萄球菌 S. aureus 041	1:200	1:200	1:200	1:400	1:400

1.3 定量杀菌

1.3.1 单菌株摸索稀释度和作用时间

活化的鸭疫里默氏菌 537 和 538 菌株、沙门氏菌 Sm6 和 CVCC527 菌株、金黄色葡萄球菌 041 菌株分别用 PBS 稀释成 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

取 0.5mL 菌悬液, 加入 0.5mL 有机干扰物质, 混匀, 然后分别加入不同稀释度消毒液 4.0mL 中 (200、400、800、1600、3200), 于 20°C 水浴中作用至规定时间 (5、10、15、20、30min), 随后取 0.1mL 反应液加入 0.9mL 中和剂中和 10min, 分别取 0.1mL 混合液稀释点板接种于琼脂平板进行活菌计数。以 PBS 代替消毒液, 进行上述步骤, 作为对照组。

结果判定: 杀菌率 = (对照组活菌数 - 消毒后活菌数) / 对照组活菌数 $\times 100\%$ 。

试验结果: 试验前采用平板活菌计数法测出沙门氏菌、鸭疫里默氏菌、金黄色葡萄球菌的原始细菌数为 $10^7 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

如图 1 和图 2 所示, 当过硫酸氢钾复合物粉 (能灭) 消毒液稀释度在 1:200 至 1:3200 稀释度范围内, 作用 5min 均可完全杀灭鸭疫里默氏菌。

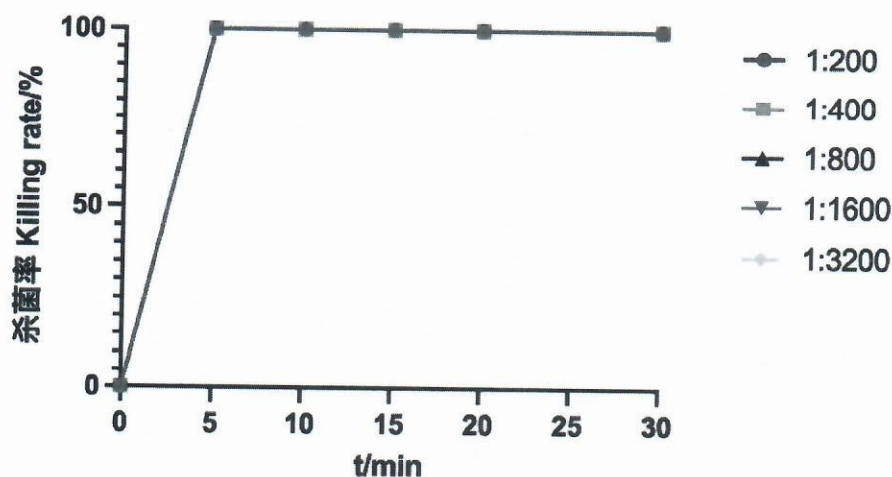


图 1 鸭疫里默氏菌 537 株悬液定量杀菌结果

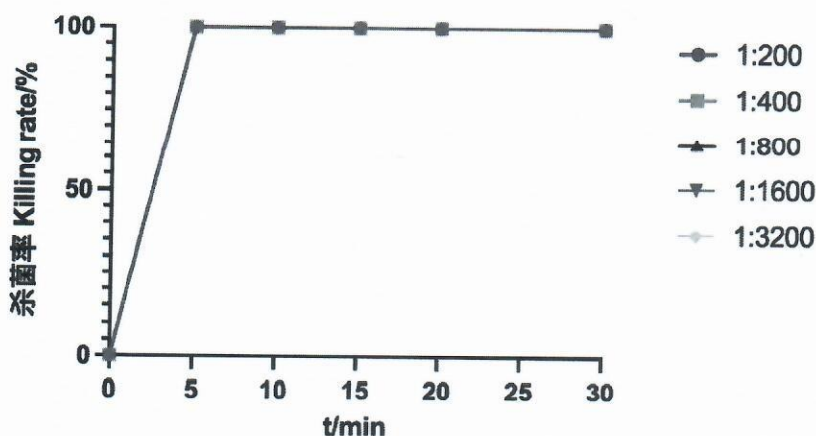


图2 鸭疫里默氏菌 538 株悬液定量杀菌结果

如图3和图4所示,当过硫酸氢钾复合物粉(能灭)消毒液稀释度小于1:1600时,作用5min可完全杀灭沙门氏菌,稀释度为1:3200时,作用5min时,杀菌率分别为55.128%、56.000%。作用10min时,杀菌率为94.6%、96%,作用15min时,可完全杀灭沙门氏菌。

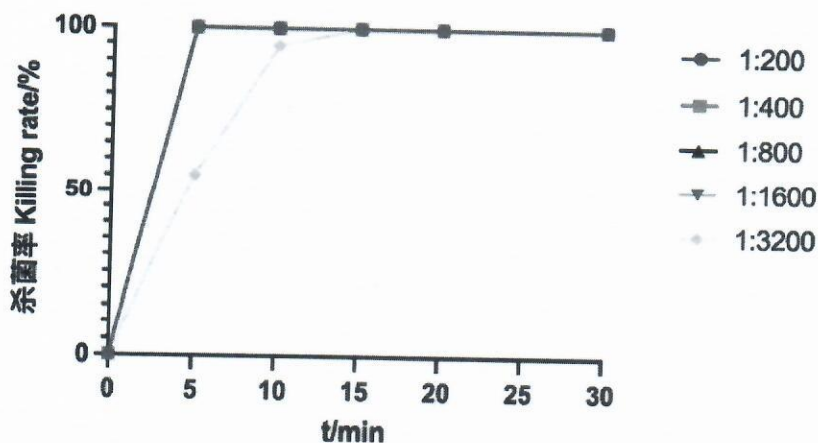


图3 沙门氏菌 Sm6 株悬液定量杀菌结果

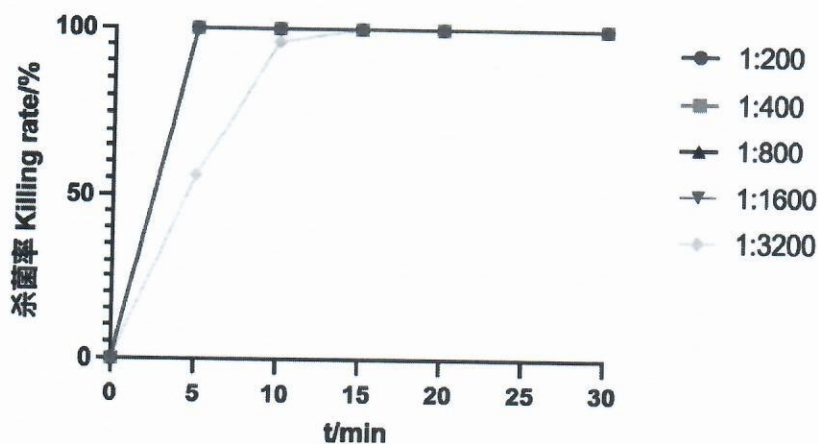


图4 沙门氏菌 CVCC527 株悬液定量杀菌结果

如图5所示,当过硫酸氢钾复合物粉(能灭)消毒液稀释度小于1:800时,作用5min可完全杀灭金黄色葡萄球菌,稀释度为1:1600时,作用10min可完全杀灭金黄色葡萄球菌;当稀释度提高至1:3200时,延长作用至30min仍未能杀灭金黄色葡萄球菌。

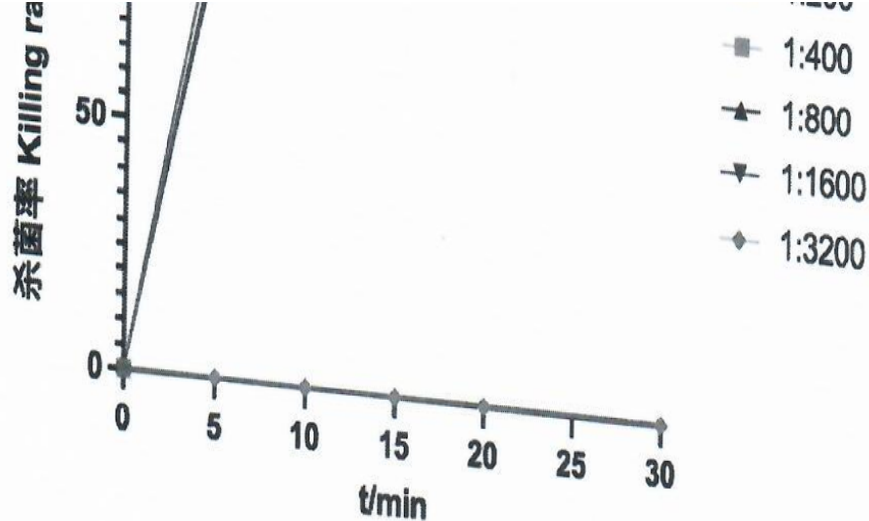


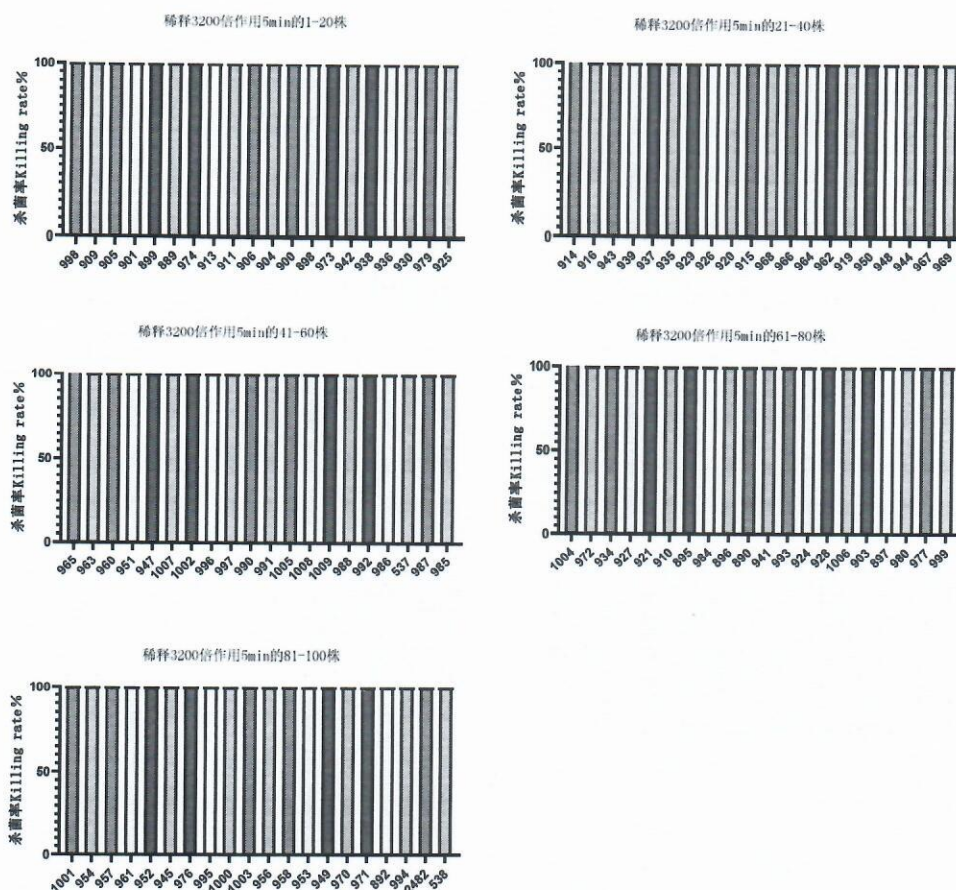
图5 金黄色葡萄球菌 041 株悬液定量杀菌结果

1.4 对鸭疫里默氏菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌多菌株杀灭结果

1.4.1 对多株鸭疫里默氏菌的杀灭结果

将 100 株鸭疫里默氏菌 (998、909、905、901、899、889、974、913、911、906、904、900、898、973、942、938、936、930、979、925、914、916、943、939、937、935、929、926、920、915、968、966、964、962、919、950、948、944、967、969、965、963、960、951、947、1007、1002、996、997、990、991、1005、1008、1009、988、992、986、537、987、985、1004、972、934、927、921、910、895、894、896、890、941、993、924、928、1006、903、897、980、977、999、1001、954、957、961、952、945、976、995、1000、1003、956、958、953、949、970、971、892、994、2482、538) 用 PBS 稀释成 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。选择能达到 100% 杀灭的最小稀释度和作用时间, 进行杀菌试验, 即: 取 0.5mL 菌悬液, 加入 0.5mL 有机干扰物质, 混匀, 然后分别加入对应稀释度 1:3200 消毒液 4.0mL 中, 于 20°C 水浴中作用至规定时间 15min, 随后取 0.1mL 反应液加入 0.9mL 中和剂中和 10min, 分别取 0.2mL 混合液接种于琼脂平板进行活菌计数。以 PBS 代替消毒液, 进行上述步骤, 作为对照组。

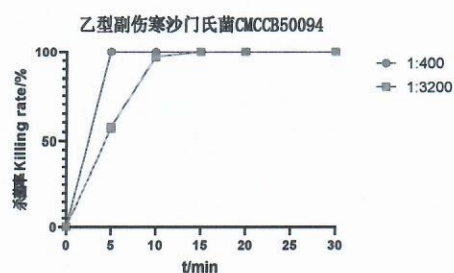
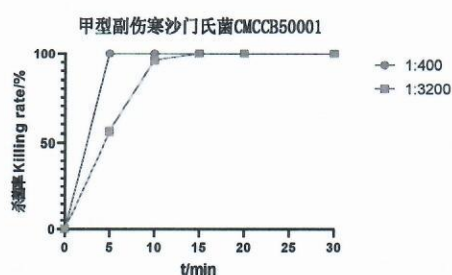
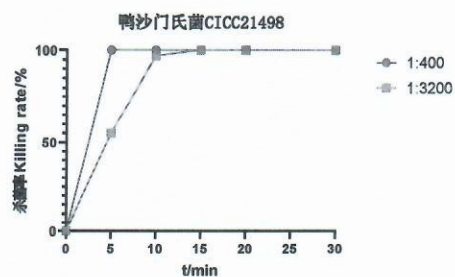
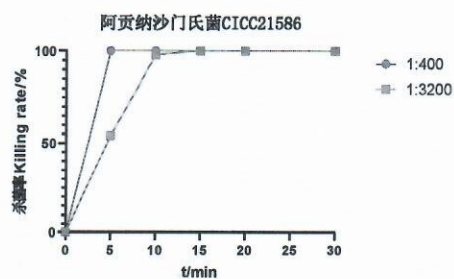
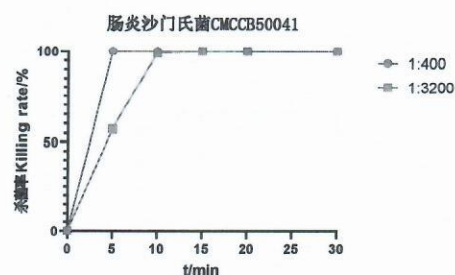
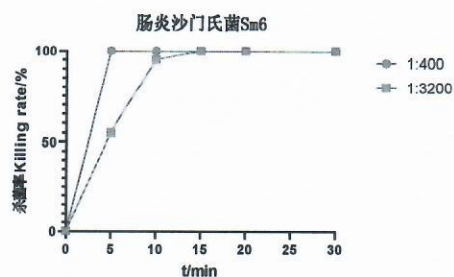
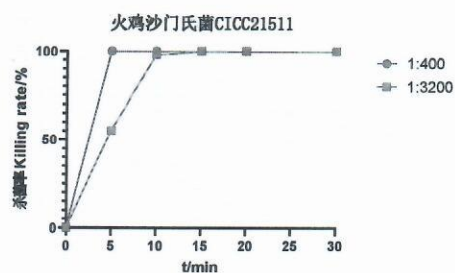
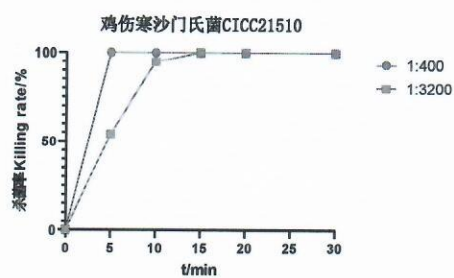
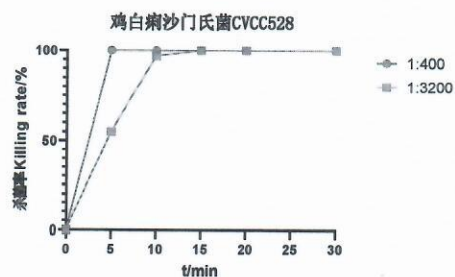
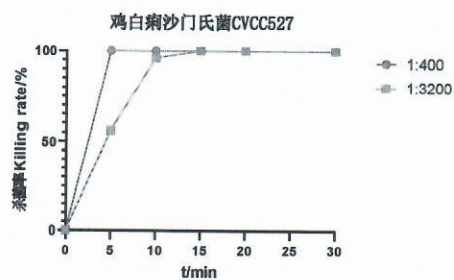
试验结果: 当过硫酸氢钾复合物粉 (能灭) 消毒液稀释度 1:3200 时作用 5min 对所有鸭疫里默氏菌试验菌株均可全部杀灭。

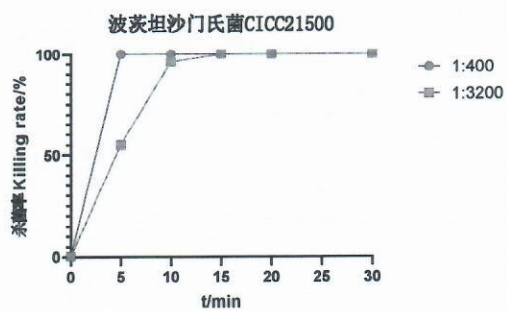
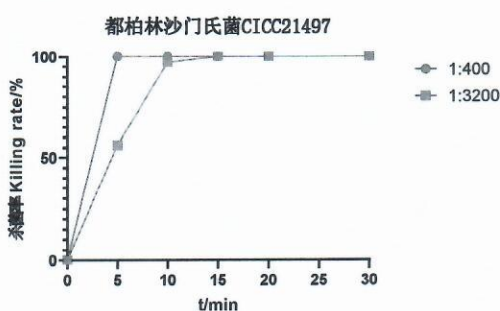
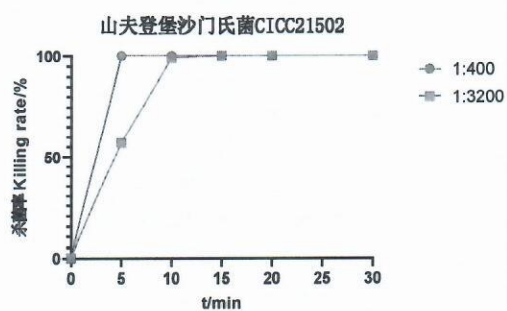
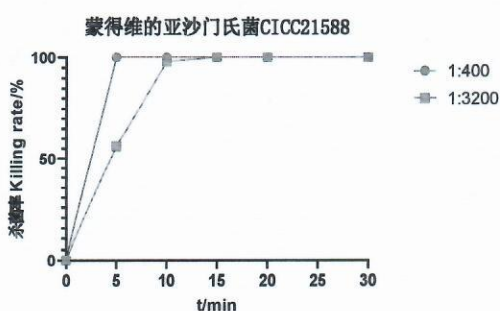
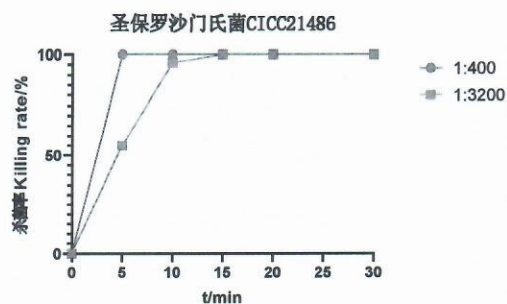
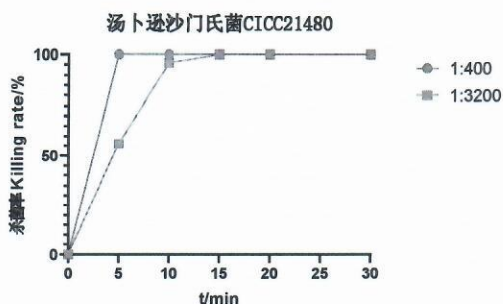
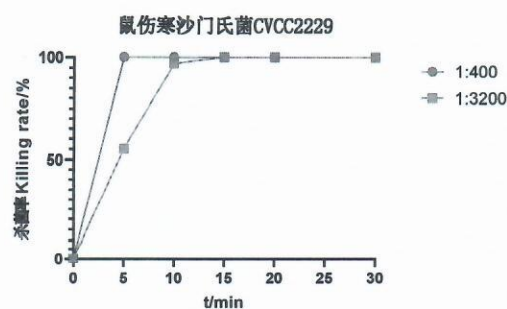
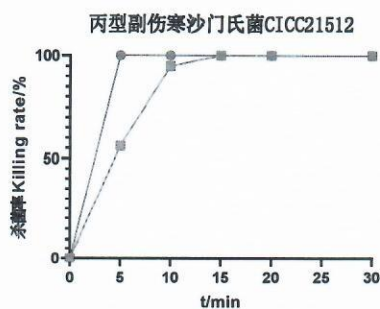


1.4.2 对多株沙门氏菌的杀灭结果

将 18 株沙门氏菌（鸡白痢沙门氏菌 CVCC527、鸡白痢沙门氏菌 CVCC528、鸡伤寒沙门氏菌 CICC21510、火鸡沙门氏菌 CICC21511、肠炎沙门氏菌 Sm6、肠炎沙门氏菌 CMCCB50041、阿贡纳沙门氏菌 CICC21586、鸭沙门氏菌 CICC21498、甲型副伤寒沙门氏菌 CMCCB50001、乙型副伤寒沙门氏菌 CMCCB50094、丙型副伤寒沙门氏菌 CICC21512、鼠伤寒沙门氏菌 CVCC2229、汤卜逊沙门氏菌 CICC21480、圣保罗沙门氏菌 CICC21486、蒙得维的亚沙门氏菌 CICC21588、山夫登堡沙门氏菌 CICC21502、都柏林沙门氏菌 CICC21497、波茨坦沙门氏菌 CICC21500）用 PBS 稀释成 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。选择能达到 100% 杀灭的最小稀释度和作用时间，进行杀菌试验，即：取 0.5mL 菌悬液，加入 0.5mL 有机干扰物质，混匀，然后分别加入对应稀释度 1:3200 消毒液 4.0mL 中，于 20℃ 水浴中作用至规定时间，随后取 0.1mL 反应液加入 0.9mL 中和剂中和 10min，分别取 0.2mL 混合液接种于琼脂平板进行活菌计数。以 PBS 代替消毒液，进行上述步骤，作为对照组。

试验结果：当过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液稀释度 1:400 时作用 5min 对所有沙门氏菌试验菌株均可全部杀灭；稀释度 1:3200 时作用 15min 对所有沙门氏菌试验菌株均可全部杀灭。



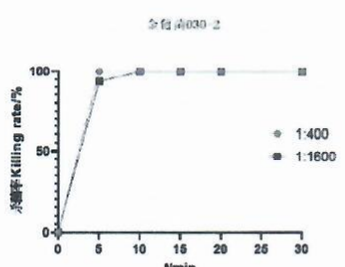
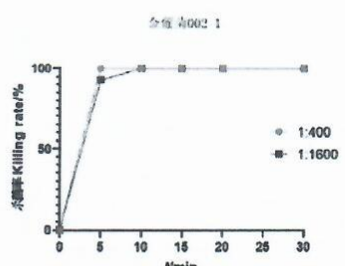
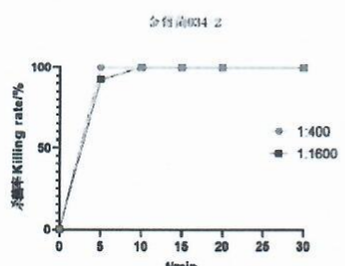
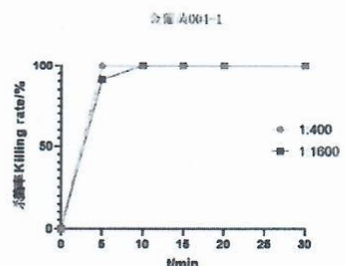
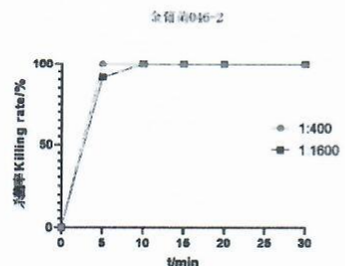
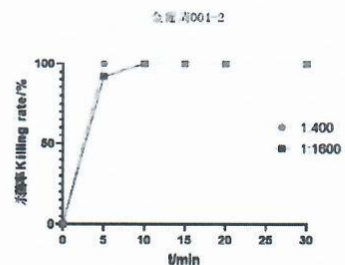
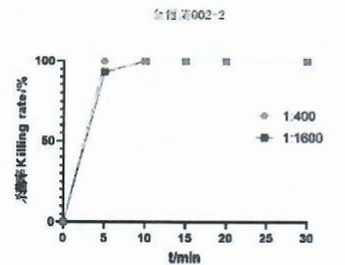
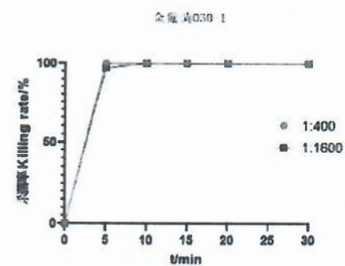
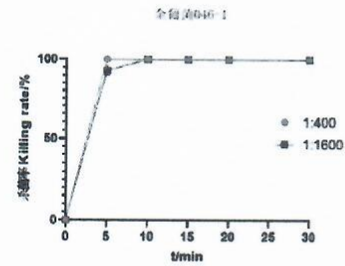


1.4.3 对多株金黄色葡萄球菌的杀灭结果

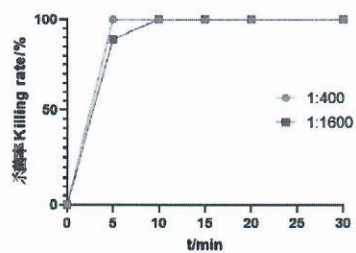
将 19 株金黄色葡萄球菌 (046-1、030-1、002-2、004-2、046-2、004-1、034-2、002-1、030-2、033-2、048-1、048-2、049-1、049-2、052-1、052-2、078-1、078-2、084-1) 用 PBS 稀释成 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。选择能达到 100% 杀灭的最小稀释度和作用时间, 进行杀菌试验, 即: 取 0.5mL 菌悬液, 加入 0.5mL 有机干扰物质, 混匀, 然后分别加入对应稀释度 1:1600 消毒液 4.0mL 中, 于 20°C 水浴中作用至规定时间, 随后取 0.1mL 反应液加入 0.9mL 中和剂中和 10min,

分别取 0.2mL 混合液接种于琼脂平板进行活菌计数。以 PBS 代替消毒液，进行上述步骤，作为对照组。

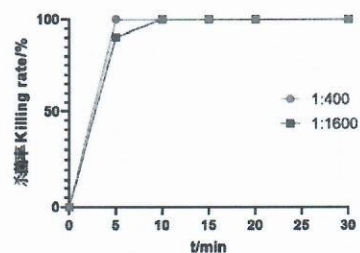
试验结果：当过硫酸氢钾复合物粉（能灭）消毒液稀释度 1:400 时作用 5min 对所有金黄色葡萄球菌试验菌株均可全部杀灭；稀释度 1:1600 时作用 10min 对所有金黄色葡萄球菌试验菌株均可全部杀灭。



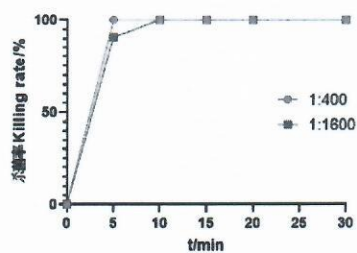
金葡菌033-2



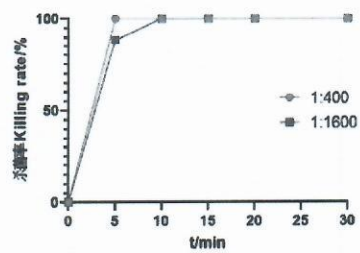
金葡菌048-1



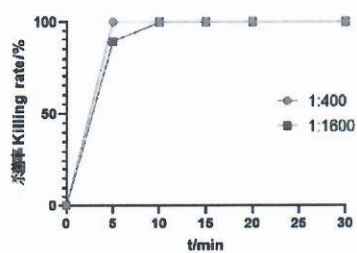
金甯崗048-2



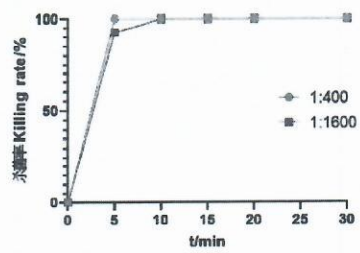
金龍崗049-1



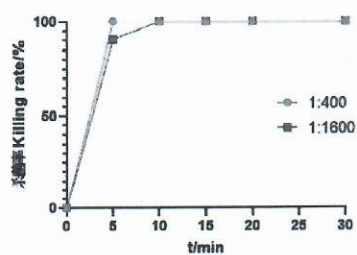
金蘭崗049-2



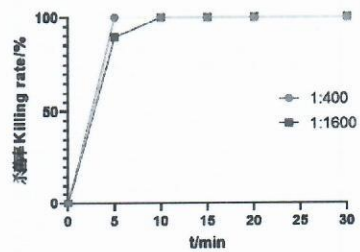
金葡菌052-1



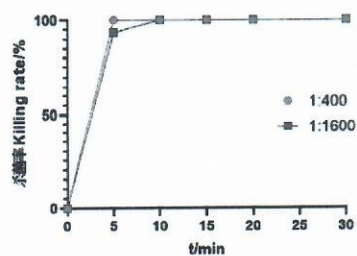
金葡菌052 2



金葡菌078-1



金龍崗078-2



金葡菌084-1

