**消毒剂对畜禽养殖圈舍表面模拟现场消毒（特定菌）试验报告（模板）**

**1 试验目的**

简要描述试验目的。

**2 试验依据**

本试验依据《兽用消毒剂鉴定技术规范》（农牧药字﹝1992﹞第101号）、《喷雾消毒效果评价方法》（GBT38504-2020）、《现场消毒评价标准》（WS/T 797-2022）、消毒剂技术规范（2002年版，卫生部）设计；本试验遵从《兽药临床试验质量管理规范》（农业部公告﹝2015﹞第2337号）实施。

**3 试验时间**

描述试验起止时间及各步骤实施时间。

**4 试验场所**

描述各主要试验的实施场所，如畜禽养殖场的地址等。

**5 试验人员**

列明试验参与人员及相应分工。

**6 总体试验**

描述试验总体思路，包括试验分组、菌株类型、消毒剂浓度水平、评价指标等试验设计信息。

**7 试验材料**

**7.1 试验药物**

**7.1.1 受试消毒剂**

提供受试消毒剂的产品名称、活性成分、含量规格、使用方法、批号、生产单位、生产日期、有效期、储存条件等。

**7.1.2 对照消毒剂**

提供1～2种对照消毒剂的产品名称、活性成分、含量规格、使用方法、批号、生产单位、生产日期、有效期、储存条件等。

**7.2 试验菌株**

提供菌株的名称及来源。

**7.3主要试剂****、仪器和耗材**

**7.2.1 中和剂**

提供中和剂（经中和剂鉴定试验鉴定合格）的种类、浓度等信息。

**7.2.2 缓冲液**

提供缓冲液配方并描述其制备方法。

**7.2.3 培养基与试剂**

提供名称、批号、生产单位等。

**7.2.4 仪器与耗材**

提供名称、型号（规格）、生产厂家等。

**8 特定细菌的模拟现场消毒试验**

**试验原则或要求**

（1）繁殖体选择用金黄色葡萄球菌（ATCC6538）与大肠杆菌（8099），有特定目标微生物的选择实验室实验中抵抗力最强的菌作为指示菌。

（2）试验重复3次。

**8.1场所准备**

在两个畜禽饲养场的4个以上动物圈舍进行消毒试验，该圈舍应一个月内未使用过任何消毒剂，圈舍平均面积不小于50m2。

消毒前对畜禽圈舍地面以自来水进行冲洗，1小时后进入正式试验阶段。

**8.2 试验分组**

描述试验分组，一般至少应5～6组（根据预试验及前期研究设计高、中、低3个浓度受试消毒剂试验组，1～2种具有可比性的同类或同效其他消毒剂对照组，以及不施消毒剂的试验组）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 序号 | 组别 | 稀释比例 |
| 1 | 受试消毒剂组（高浓度） |  |
| 2 | 受试消毒剂组（中浓度=推荐使用浓度） |  |
| 3 | 受试消毒剂组（低浓度） |  |
| 4 | 对照消毒剂1组（推荐使用浓度） |  |
| 5 | 对照消毒剂2组（推荐使用浓度） |  |
| 6 | 空白对照组（不施消毒剂试验组） |  |

**8.3 消毒及采样**

**8.3.1 染菌法**

（1）按照悬液定量试验中步骤配制菌悬液，使每一采样面积上回收菌量约为5×105CFU/cm2～5×106CFU/cm2。

（2）选择现场不同消毒对象（如地面、墙壁、饮水器、食槽等）较平的部位，于规格板中央空格（5×5cm2区块）内用无菌棉拭子沾以菌悬液均匀涂抹，待自然干燥后进行试验。每类消毒对象至少选3个区块（来自不同区域）用于消毒前采样，作为阳性对照组样本，即人工染菌但不进行现场消毒，另选所需数量的区块进行消毒，于消毒后一小时内的三个时相点分别采样，每组每类采样对象样本不少于3个（来自不同区域）。

（3）采样时，将无菌棉拭子用中和剂浸润后在染菌区块表面擦拭10次（横竖往返各5次，不断转换拭子擦拭面），以无菌方式将拭子棉花端剪入10ml采样液内，振荡混匀，用于活菌计数。

（4）将同批次未采样棉拭子以无菌方式将棉花端剪入10ml采样液内，振荡混匀，作为阴性对照组样本，用于活菌计数。

（5）现场样本应及时检测。室温存放不得超2h，4℃冰箱存放不得超过4h。

**8.3.2 载体法**

（1）按照载体定量试验中步骤制作菌片，使每个菌片的回收菌量为1×106CFU/片～5×106CFU/片。

（2）现场消毒：将预先制备的1片染菌载体置于无菌平皿内，布点于不同区域的消毒对象表面（如地面、墙壁、饮水器、食槽等）。按说明书推荐的方法进行消毒，于消毒后一小时内的三个时相点分别在不同的消毒对象表面进行采样，每组每类采样对象样本不少于3个（来自不同区域）。

（3）每类消毒对象另取不少于3个无菌平皿，分别放入1片预先制备的染菌载体，放置于与消毒现场温湿度相似的不同区域，不做任何消毒处理，作为消毒前样本（阳性对照组样本）。

（4）采样时，以无菌方式将载体分别移入含5ml中和剂试管中，振荡混匀，4h内送实验室。在混匀器上振荡20s或振打80次，使载体上的菌被洗脱进入中和剂中，至少放置10min后，用于活菌计数。

**8.4菌落计数**

将采样管在混匀器上振荡20s或振打80次，将菌洗脱，将洗液适当稀释后，吸取1.0ml待检样品，以琼脂倾注法接种于平皿，置36±1℃恒温培养48h，记录菌落数（CFU/皿），每个样本计数2次，每次2个平行，计算杀菌率或杀菌对数，以及平均杀菌率或杀菌对数。

杀菌率=×l00%

杀菌对数值（KL）＝阳性对照组平均活菌浓度的对数值（No）－消毒剂组活菌浓度对数值（Nx）

**8.5** **判定标准**

阴性对照组无菌生长，阳性对照组有较多细菌生长。平均杀菌率≥90%？或杀灭对数值≥3.00才评为该消毒液有效消毒浓度。当低于此指标时，则应提高消毒剂的浓度或延长作用时间，重新作试验。

**9 试验结果与分析**

以表格形式列出所有试验结果，并分析消毒效果。

**10 试验结论**

简明列出试验结论。

**11 试验质量控制**

**11.1 试验人员培训情况**

描述试验人员的培训内容。

**11.2 试验方案执行情况**

描述试验期间是否有任何偏离方案的情况。如有，详细列出，并分析对试验结果的影响。

**11.3 试验监查与协查情况**

描述试验期间的协查时间、次数、内容等。

**11.4 数据记录与存档情况**

简要描述试验数据的记录内容、存档地址等。

**12 不良事件发生情况**

描述试验期间是否有任何不良事件发生。如有，详细列出，并说明处置情况。

**13 参考文献**

规范列出本试验所涉及的参考文献。

**14 附图**

附受试/对照消毒剂实物图、受试/对照消毒剂检验报告复印件、试验场所及试验操作照片和视频等。

**15 附表**

附试验结果原始记录等。