



生物实验室

常用消毒剂对布鲁氏菌疫苗株的灭菌效果评估

冯宇 王芳 丁家波 蒋卉*

中国兽医药品监察所 北京 102600

摘要:【背景】布鲁氏菌是一种重要的人畜共患胞内寄生菌,是引起动物和人发生布鲁氏菌病(布病)的病原体。高效消毒剂杀灭环境中的布鲁氏菌是防控布病的关键措施。【目的】评价市面上常用消毒剂对布鲁氏菌的灭菌效果及差异。【方法】选用市面上9种不同类型的常用消毒剂,以高、中、低3种不同使用浓度分别研究其对牛种、羊种和猪种布鲁氏菌的杀灭效果。同时根据消毒剂的有效浓度通过最小抑菌浓度实验确定各消毒剂的最小抑菌浓度。【结果】除苯酚外,其余8种消毒剂,包括聚维酮碘、癸甲溴铵、苯扎溴铵、戊二醛、复合季铵盐、乙醇和2种商品化消毒剂等在推荐使用浓度下5 min内均能完全杀灭布鲁氏菌,碘酸制剂在0.1%低使用浓度下细菌存活率为0.000 039%–0.000 095%。苯酚按0.5%的推荐剂量,作用5 min后细菌存活率为0.000 144%–0.000 183%,20 min后,细菌存活率为0.000 138%–0.000 193%;按1%的使用剂量作用5 min后,猪种布鲁氏菌存活率为0.000 125%,作用20 min后的存活率下降至0.000 038%。最小抑菌浓度研究结果表明,季铵盐类消毒剂其最小抑菌浓度大致在0.015 63%–0.031 25%之间,其余消毒剂的最小抑菌浓度结果与消毒剂最低推荐使用浓度基本一致。研究同时发现,不同种属布鲁氏菌对同一消毒剂的敏感性也存在一定差异。【结论】研究结果为生产实践中科学选择布鲁氏菌消毒剂提供了借鉴。

关键词: 布鲁氏菌, 消毒剂, 灭菌效果

Sterilization effect of common disinfectants on vaccine strains of *Brucella*

FENG Yu WANG Fang DING Jiabo JIANG Hui*

China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 102600, China

Abstract: [Background] *Brucella* is an important intracellular bacterium to cause brucellosis in animals and humans. The key measure to prevent and control brucellosis is to choose high effective disinfectant to remove *Brucella* from the environment. [Objective] To evaluate the sterilization effect of common disinfectants on *Brucella*. [Methods] Nine common commercial disinfectants with high, medium and low concentrations were selected to study their sterilization effect on *Brucella abortus*, *melitensis* and *suis*. At the same time, according to the effective concentration of disinfectants, we determined the minimum inhibitory concentration (MIC) of each disinfectant. [Results] Except for phenol, the other eight

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (2016YFD0500903)

*Corresponding author: Tel: 86-10-61255331; E-mail: 15011216921@163.com

Received: 29-06-2020; Accepted: 27-09-2020; Published online: 09-12-2020

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0500903)

*通信作者: Tel: 010-61255331; E-mail: 15011216921@163.com

收稿日期: 2020-06-29; 接受日期: 2020-09-27; 网络首发日期: 2020-12-09

disinfectants, including povidone iodine, decamethonium bromide, benzalkonium bromide, glutaraldehyde, compound quaternary ammonium salt, ethanol and two commercial disinfectants, could completely eliminate *Brucella* within 5 minutes. The bacterial survival rate of iodate acid preparation at low concentration (0.1%) was 0.000 039%–0.000 095%. For phenol, the bacterial survival rate was 0.000 144%–0.000 183% in 5 minutes and 0.000 138%–0.000 193% in 20 minutes at the recommended concentration of 0.5%. The bacterial survival rate of *Brucella suis* was 0.000 125% in 5 minutes and decreased to 0.000 038% in 20 minutes at the concentration of 1%. MIC results showed that the MIC of quaternary ammonium disinfectants ranged from 0.015 63% to 0.031 25%, and the MIC results of other disinfectants were basically consistent with the minimum recommended concentration of disinfectants. At the same time, it was found that different species of *Brucella* had different sensitivity to the same disinfectant. [Conclusion] This study provides reference for disinfectant usage scientifically and reasonably in practice.

Keywords: *Brucella*, disinfectant, sterilization effect

布鲁氏菌病(简称布病)是由布鲁氏菌(*Brucella*)引起的以流产和发热为特征的人兽共患病,严重威胁人和多种动物的健康安全。布鲁氏菌不但对动物的繁殖和生产性能具有严重危害,而且可以感染人,如该病未能及时治疗,转为慢性感染后将引起多种并发症,造成严重的公共卫生问题。布鲁氏菌可在患病动物机体内长期存在,并随着流产的发生或乳汁分泌,持续将病原菌排出体外,从而污染环境,对健康动物和饲养管理人员的健康构成威胁^[1]。加强对饲养环境的消毒是养殖场防控布病的常用方法。

疫苗免疫是有效预防和控制动物布病的重要措施。布鲁氏菌归属于根瘤菌目布鲁氏菌科布鲁氏菌属,布鲁氏菌属根据生化特性和寄主偏好的差异,主要包括6个较为常见的种型,即羊种布鲁氏菌(*B. melitensis*)、牛种布鲁氏菌(*B. abortus*)、猪种布鲁氏菌(*B. suis*)、犬种布鲁氏菌(*B. canis*)、绵羊附睾种布鲁氏菌(*B. ovis*)与沙林鼠种布鲁氏菌(*B. neotomae*),并划分为19个生物型^[1]。此外,近年来新发现了6个新的布鲁氏菌变种,包括鳍种布鲁氏菌(*B. pinnipedialis*)、鲸种布鲁氏菌(*B. ceti*)、田鼠型布鲁氏菌(*B. microti*)、人源布鲁氏菌(*B. inopinata*, 又名意外布鲁氏菌)、狒狒种布鲁氏菌(*B. papionis*)和赤狐种布鲁氏菌(*B. vulpis*),其中前4种感染人和动物的能力最强^[1]。目前我国广

泛使用的动物布病疫苗包括3种,分别为猪种布鲁氏菌活疫苗(S2株)、牛种布鲁氏菌活疫苗(A19株)和羊种布鲁氏菌活疫苗(M5株)。上述3种疫苗均为弱毒活疫苗,但对人仍具有一定的感染性^[2],在疫苗生产和使用时存在一定的生物安全风险,因此,减少相关从业者感染布鲁氏菌的关键就是要及时做好消毒灭菌工作。

选择高效消毒剂杀灭环境中的布鲁氏菌对临床布病防控和布病疫苗的生产使用均具有重要的现实意义。目前市面上流通和使用较为广泛的消毒剂主要包括碘制剂、季铵盐类制剂、醇类制剂、醛类制剂和酚类制剂等几大类,各种类型的消毒剂因其作用原理的差异,使用方式和使用范围也不尽相同。布鲁氏菌对消毒剂的抵抗力相对较弱,大多数消毒剂均能有效杀灭布鲁氏菌。有研究表明,猪种布鲁氏菌对聚维酮碘的敏感性最高,其次为戊二醛与季铵盐类混合液,而二氯异氰尿酸钠对其灭菌作用不甚理想^[3]。另外也有研究证实戊二醛复方消毒液对于布鲁氏菌具有良好的灭菌能力^[4]。但是,现有研究均主要集中在对单一菌株或单一消毒剂的效果评价方面,缺少对多种类型消毒剂以及不同种属布病灭菌效果的综合评价。

为了系统研究常用消毒剂对布鲁氏菌的杀菌效果,本研究分别选择了猪种、牛种和羊种3个不同种属的布鲁氏菌疫苗株为代表,研究不同消

毒剂以不同作用浓度和经不同作用时间的杀灭情况,同时通过最小抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)实验对不同消毒剂进行最小抑菌浓度测定,以期布病疫苗生产企业和疫苗使用人员在选择消毒剂时提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

猪种布鲁氏菌 S2 株、牛种布鲁氏菌 A19 株和羊种布鲁氏菌 M5 株均由本实验室保存。

1.1.2 主要试剂和仪器及培养基

选用目前在生产使用环节中使用较为广泛的 8 种消毒剂和 1 个商品化表面消毒剂,其中,碘制剂(聚维酮碘,批号 191018,有效期至 2021 年 10 月)、季铵盐类[癸甲溴铵(批号 190909,有效期至 2021 年 9 月)和苯扎溴铵(批号 190906,有效期至 2021 年 9 月)]、醛类(戊二醛,批号 190427,有效期至 2021 年 4 月)等消毒剂,济南深蓝动物保健品有限公司;商品化碘酸制剂(批号 90263,有效期至 2021 年 12 月)和戊二醛癸甲氯铵溶液(批号 91782,有效期至 2021 年 4 月),硕腾(上海)企业

管理有限公司;表面消毒剂[商品名“久洁灵”,有效成分为可固化复合季铵盐类(批号 1900819HL,有效期至 2020 年 8 月)],施洁尔科技有限公司;醇类(乙醇)、酚类(苯酚)均为分析纯试剂。上述消毒剂均由本实验室按使用浓度用灭菌去离子水配制。

37 °C 恒温培养箱,日本三洋仪器设备有限公司;水平摇床, IKA 仪器设备有限公司。

胰酪大豆胨液体培养基(30 g/L) (TSB)和胰酪大豆胨琼脂培养基(45 g/L) (TSA)^[5], BD 公司。

1.2 方法

1.2.1 消毒剂不同使用浓度的配制

根据消毒剂使用说明书及相关文献[6],用灭菌去离子水分别配制各消毒剂 3 个不同试验浓度溶液(表 1)。

1.2.2 菌种的培养与计数

冻干菌种用生理盐水复溶后接种于 TSB 培养基中, 37 °C、180 r/min 振荡培养 72 h 后按菌落计数方法^[5]涂布于 TSA 培养基中, 37 °C 培养 72 h 后计算菌液中活菌数,使用 TSB 稀释至 1×10^{11} CFU/mL 后备用。

表 1 配制的各消毒剂使用浓度列表

Table 1 List of concentration of each disinfectant

消毒剂名称 Name of disinfectant	使用浓度 Concentration (%)		
	低浓度 Low concentration	推荐浓度 Recommend concentration	高浓度 High concentration
碘酸制剂(商品化) Iodate acid	0.1	0.5	1.0
戊二醛癸甲氯铵溶液(商品化) Glutaraldehyde decamethonium chloride	1:190	1:100	1:35
戊二醛 Glutaraldehyde	2.0	10.0	20.0
聚维酮碘 Povidone iodine	0.1	1.0	10.0
癸甲溴铵 Decamethonium bromide	0.5	1.0	5.0
苯扎溴铵 Bnzalkonium bromide	0.5	1.0	5.0
苯酚 Phenol	0.5	1.0	5.0
乙醇 Ethanol	75	/	/
复合季铵盐 Compound quaternary ammonium salt	0.1	0.2	/

注: /: 本实验选用消毒剂无此浓度

Note: /: The concentration of disinfectant used in this experiment did not have this concentration

1.2.3 灭菌效果验证

参考已公布的行业标准^[6]及郭新彪等^[7]的报道进行灭菌效果试验。具体操作如下:将已稀释至相同浓度的3个布鲁氏菌疫苗株,分别在灭菌离心管中加入0.1 mL菌液(含活菌数 1×10^{10} CFU),同时加入0.9 mL表1中不同浓度的消毒液,菌液与消毒液充分混匀后,放入水平摇床100 r/min分别室温孵育5 min和20 min。孵育结束后分别各取0.1 mL(含活菌数 1×10^9 CFU)进行10倍梯度稀释,取不同稀释度的菌液涂布于TSA平板中,培养72 h后观察并计算结果。

1.2.4 消毒剂最小抑菌浓度实验

根据灭菌效果验证的相关实验结果,将各布鲁氏菌疫苗株完全灭菌的浓度作为MIC实验的起始浓度。在此浓度下使用TSB培养基对消毒剂进行梯度系列稀释并加入到96孔细胞培养板中,每

孔0.1 mL;同时设对照组,对照组内加入0.1 mL TSB培养基。将上述3个疫苗株菌液稀释至 1×10^7 CFU/mL,分别加入到添加消毒剂的96孔板中,每孔0.1 mL(含活菌数为 1×10^6 CFU)。振荡混匀后置于37 °C恒温培养箱中培养,培养72 h使用酶标仪读取 OD_{600} 结果,判定其最小抑菌浓度。

2 结果与分析

2.1 常用消毒剂灭菌效果

活菌计数结果(表2)显示,商品化碘酸制剂在0.1%使用浓度下未能完全清除牛种和羊种布病活疫苗;0.5%苯酚溶液对不同布鲁氏菌杀灭效果最差,作用5 min与作用20 min的存活菌数并无明显差异;其余消毒剂在高、中、低3种不同使用浓度下5 min内均能对布病活疫苗起完全的杀灭作用。

表2 常用消毒剂对不同种属布病活疫苗灭菌效果

Table 2 Sterilization effect of common disinfectants on different species of live brucellosis vaccines

消毒剂种类 Type of disinfectant	使用浓度 Concentration	活菌计数结果 Viable count results (CFU/0.1 mL)					
		5 min			20 min		
		S2	A19	M5	S2	A19	M5
聚维酮碘 Povidone iodine	0.1%	0	0	0	0	0	0
	1.0%	0	0	0	0	0	0
	10.0%	0	0	0	0	0	0
碘酸制剂 Iodate acid	0.1%	0	952	990	0	392	546
	0.5%	0	0	0	0	0	0
	1.0%	0	0	0	0	0	0
戊二醛 Glutaraldehyde	2.0%	0	0	0	0	0	0
	10.0%	0	0	0	0	0	0
	20.0%	0	0	0	0	0	0
戊二醛癸甲氯铵溶液 Glutaraldehyde decamethonium chloride	1:190	0	0	0	0	0	0
	1:100	0	0	0	0	0	0
	1:35	0	0	0	0	0	0
癸甲溴铵 Decamethonium bromide	0.5%	0	0	0	0	0	0
	1.0%	0	0	0	0	0	0
	5.0%	0	0	0	0	0	0
苯扎溴铵 Bnzalkonium bromide	0.5%	0	0	0	0	0	0
	1.0%	0	0	0	0	0	0
	5.0%	0	0	0	0	0	0
苯酚 Phenol	0.5%	1 641	1 834	1 442	1 388	1 936	1 609
	1.0%	1 254	0	0	38	0	0
	5.0%	0	0	0	0	0	0
复合季铵盐 Compound quaternary ammonium salt	0.1%	0	0	0	0	0	0
	0.2%	0	0	0	0	0	0
乙醇 Ethanol	75.0%	0	0	0	0	0	0

2.2 碘酸制剂在不同时间对牛种和羊种布鲁氏菌的影响

在本研究中评价了商品化碘酸制剂对布鲁氏菌的杀菌作用(图 1), 研究结果显示其对猪种布鲁氏菌的灭菌效果良好, 在最低推荐使用浓度下对牛种和羊种布鲁氏菌的消毒灭菌效果较差, 而且在不同作用时间下灭菌效果存在显著性差异。由此可以推测, 碘酸制剂可以通过延长消毒时间或提高消毒剂使用浓度等方法达到有效杀灭布鲁氏菌的目的。

2.3 苯酚对不同种属布鲁氏菌的灭菌效果比较

苯酚灭菌结果表明(图 2), 在常规使用浓度(0.5%)下, 对猪、牛、羊种布鲁氏菌均不能起到有效的灭菌作用, 且在不同的作用时间内无显著性差异; 而在 1% 浓度下对牛种和羊种布鲁氏菌具有良好的杀灭作用, 但对猪种布鲁氏菌在作用 5 min 时灭菌效果不明显, 在 20 min 时仍不能完全杀灭猪种布鲁氏菌。因此, 如果使用苯酚作为消毒剂对环境或生产废弃物进行消毒灭菌, 应提高使用浓度; 但高浓度的苯酚具有较强的腐蚀性和刺激性, 是公认的致癌物, 应谨慎使用, 并完善消毒后废液处理措施, 防止环境污染。

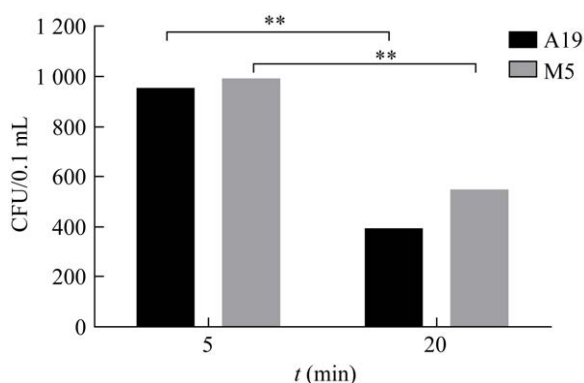


图 1 商品化碘酸制剂(0.1%)在不同灭菌时间下对布鲁氏菌灭菌效果的比较

Figure 1 Comparison of sterilization effect of commercial iodate preparation (0.1%) on *Brucella* in different sterilization time

Note: **: $P < 0.01$

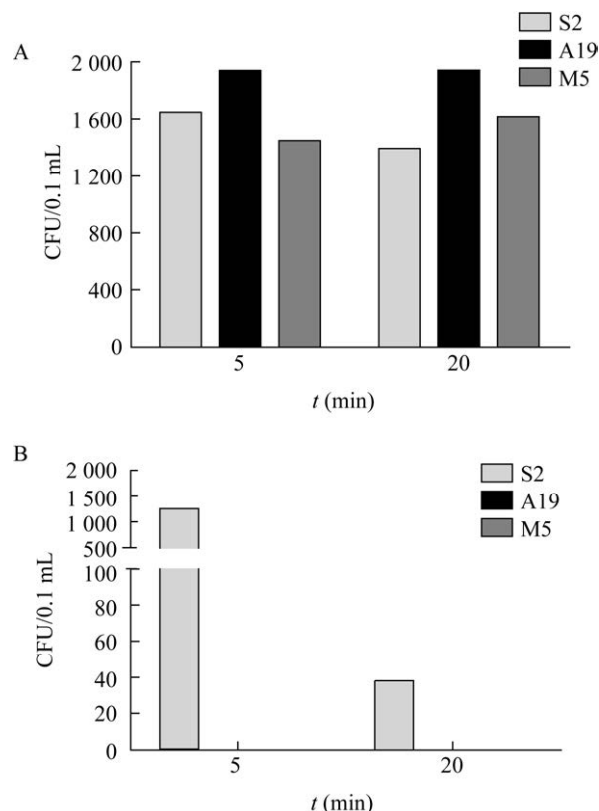


图 2 苯酚对布鲁氏菌灭菌效果的比较

Figure 2 Comparison of the sterilization effect of phenol on *Brucella*

注: A: 0.5% 苯酚对布鲁氏菌的灭菌效果; B: 1% 苯酚对布鲁氏菌的灭菌效果

Note: A: Sterilization effect of phenol on *Brucella* at 0.5%; B: Sterilization effect of phenol on *Brucella* at 1%

2.4 各消毒剂的 MIC 结果

MIC 实验结果(表 3)表明, 布鲁氏菌对季铵盐类消毒剂比较敏感, MIC 在 0.015 63%–0.031 25% 之间。碘制剂、碘酸制剂和戊二醛的抑菌浓度较高, 其中碘制剂和碘酸制剂的 MIC 与本文 2.1 节中的结果一致。戊二醛、苯酚的 MIC 系数与表 2 中的最低有效浓度结果相比降低 50%。

3 讨论与结论

布病作为重要的人畜共患病之一, 导致动物生产性能下降和生殖障碍, 人则表现为慢性、持续性感染, 出现弛张热、关节炎等症状, 影响正常的工作生活^[1]。给养殖业发展和公共卫生带来巨大挑

表 3 常用消毒剂对不同种属布鲁氏菌最小抑菌浓度的结果

Table 3 Minimum inhibitory concentration of common disinfectants against different species of *Brucella*

消毒剂名称 Name of disinfectant	最小抑菌浓度 MIC		
	猪种 <i>Brucella suis</i>	牛种 <i>Brucella abortus</i>	羊种 <i>Brucella melitensis</i>
聚维酮碘 Povidone iodine	0.1%	0.1%	0.1%
碘酸制剂 Iodate acid	0.25%	0.5%	0.5%
戊二醛 Glutaraldehyde	1.0%	0.25%	0.25%
戊二醛癸甲氯铵溶液 Glutaraldehyde decamethonium chloride	1:6 080	1:6 080	1:6 080
癸甲溴铵 Decamethonium bromide	0.031 25%	0.015 63%	0.015 63%
苯扎溴铵 Bnzalkonium bromide	0.031 25%	0.031 25%	0.015 63%
苯酚 Phenol	0.625%	0.312 5%	0.312 5%
复合季铵盐 Compound quaternary ammonium salt	0.015 63%	0.015 63%	0.015 63%

战。据国家卫生健康委员会公开的相关数据,我国在 21 世纪初布病出现反弹趋势,而每年人感染布病的新发病例数一直维持在 3 万例以上,成为严重威胁人类健康的重大隐患。动物在患病后持续向外排菌而导致的环境污染是引起人感染布病的主要原因,消毒灭菌成为防止人和其他健康动物感染布病的重要环节^[8]。根据目前相关研究资料发现,布鲁氏菌对不利环境和消毒剂都较为敏感,热处理和大多数消毒剂均能有效灭活布鲁氏菌^[9]。有研究指出,醛类、卤素类、季铵类、酚类、碱类等消毒剂在正常使用浓度下均能有效清除布鲁氏菌^[10],但未见针对多个种属布鲁氏菌灭菌效果的评估。

为加强试验的针对性和代表性,试验选用人畜最易感的 3 个种属的布鲁氏菌疫苗株,即猪种布鲁氏菌疫苗 S2、牛种布鲁氏菌疫苗株 A19 和羊种布鲁氏菌疫苗株 M5 作为研究对象,观察不同消毒剂的杀灭效果。多数企业在布病疫苗分装和冻干环节存在活疫苗暴露过程,常需要对相关环境加强消毒,选择疫苗株作为研究对象既具有一定代表性,又可有效降低试验过程中的生物安全风险。

苯酚是目前使用较为广泛的消毒防腐剂之

一,其适用范围广泛且使用方便,不受蛋白质或有机物的阻碍而能渗透到深部组织中,常作为布病疫苗生产过程中消毒剂。2019 年底兰州布病抗体阳性事件暴露了布病疫苗生产环节存在排放的风险,特别是细菌发酵罐废液排放过程中的消毒不完全可能导致的巨大风险。按照常规生产工艺,不少布病疫苗生产企业对细菌发酵罐废液的消毒采用了 0.5% 苯酚溶液,本研究结果证实苯酚不能在短时间内充分杀灭布鲁氏菌,从而使排放到周围空气的废气中带有未灭活完全的布鲁氏菌疫苗株,提示该消毒剂应用于布病疫苗生产环节的潜在风险。另一方面,由于苯酚自身的挥发特性,在受热情况下会排放到生产车间相对密封的环境中,威胁生产人员健康。然而季铵盐类制剂、醛类制剂和碘制剂在不同浓度下均能有效清除布鲁氏菌,结合使用方便程度、对环境的污染以及对使用人员的安全等方面综合考虑,建议使用季铵盐类制剂作为实际生产环节中的常用消毒剂。表 2 统计结果显示,复合季铵盐类表面消毒剂的推荐使用浓度(0.2%)低于单一季铵盐类消毒剂的最低使用浓度(0.5%),而且在低于其本身使用浓度 50% (0.1%)的情况下仍能有效杀灭布鲁氏菌,说明季铵盐类消毒剂的联合使用可以在不影响灭菌效果

的情况下, 有效地降低消毒剂的使用浓度。根据 MIC 实验结果表明, 季铵盐类消毒剂对布鲁氏菌的消毒灭菌效果十分明显, 可以作为清除布鲁氏菌的常用消毒剂。

引起怀孕动物流产是布鲁氏菌感染动物的主要症状之一, 流产物中布鲁氏菌的含菌量较高^[11], 考虑到在实际使用时需要对流产组织污染的环境和样本进行消毒, 因此本研究选择了 1×10^{10} CFU/mL 高浓度作为起始浓度, 以避免较低浓度得出的消毒剂效果难以满足临床的实际需要。对于疫苗生产环节, 其疫苗株发酵后的活菌量也非常高, 所以同样考虑到该情况选择较高活菌数作为起始浓度; 但在使用时应考虑消毒剂的使用环境和消毒类型, 选择对消毒对象影响较小且效果良好的消毒剂。

本研究发现目前大多数消毒剂在正确的使用浓度下, 在短时间内均能对布鲁氏菌进行有效的彻底清除; 同时也发现, 商品化碘酸制剂在低浓度下的灭菌效果较差, 该消毒剂的有效成分为碘制剂、硫酸和磷酸的混合物。根据文献报道和本实验室研究, 布鲁氏菌对酸存在一定的抵抗力, 本实验室通过人工模拟低 pH 应激条件, 发现布鲁氏菌在低 pH 环境下仍能存活^[12-13], 这可能是碘酸制剂在低浓度时不能有效杀灭布鲁氏菌的原因之一。

在研究中同时发现, 不同种属的布鲁氏菌对消毒剂的敏感性也不尽相同, 推测与不同种属布鲁氏菌的脂多糖结构或外膜蛋白等有关, 但不同种属布鲁氏菌在外膜结构上究竟存在多大差异, 其对于相关消毒剂的耐受机制需要进一步研究。

已有研究证实特定病原菌已经产生针对消毒剂的耐药现象, 尤其是在医院、食品加工厂等经常使用消毒剂的特定场所中, 细菌耐药性更为严重^[14]。大肠杆菌、沙门氏菌等细菌产生耐药性的主要原因大多是因为携带耐药性质粒以及发生表型变化等^[15-16]。虽然尚无针对布鲁氏菌对消毒剂耐药性的报道, 但是科学合理地使用消毒剂, 例如穿插使用

或联合使用多种敏感消毒剂对于预防布鲁氏菌产生耐药性同样具有参考价值。

REFERENCES

- [1] Goonaratna C. Brucellosis in humans and animals[J]. Ceylon Medical Journal, 2006, 52(2): 66
- [2] Lalsiamthara J, Lee JH. Development and trial of vaccines against *Brucella*[J]. Journal of Veterinary Science, 2017, 18(S1): 281-290
- [3] Dong BM, Yang LM, Zhang HX, Lv SF, Li F. Study on the sensitivity of *Brucella suis* to four new kinds of disinfectants[J]. China Animal Health, 2017, 19(1): 75-78 (in Chinese)
董炳梅, 杨丽梅, 张含侠, 吕素芳, 李峰. 猪种布鲁氏菌对 4 种常用新型消毒剂敏感性的研究[J]. 中国动物保健, 2017, 19(1): 75-78
- [4] Qiu HY, Li YK. Experimental observation on bactericidal activity of compound glutaraldehyde disinfectant in *Brucella* spp.[J]. Endemic Diseases Bulletin, 2000, 15(1): 29-30 (in Chinese)
邱海燕, 李元凯. 戊二醛复方消毒液对布鲁氏菌杀灭效果的观察[J]. 地方病通报, 2000, 15(1): 29-30
- [5] Ministry of Health of the People's Republic of China. WS/T 367-2012 Regulation of disinfection technique in healthcare settings[S]. Beijing: China Standard Press, 2012 (in Chinese)
中华人民共和国卫生部. WS/T 367-2012 医疗机构消毒技术规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012
- [6] Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia. Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015 (in Chinese)
中国兽药典编委会. 中华人民共和国兽药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015
- [7] Guo XB, Liu JZ. Common Disinfectants and Disinfection Methods[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003 (in Chinese)
郭新彪, 刘君卓. 常用消毒剂和消毒方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003
- [8] Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 140(3/4): 392-398
- [9] Lu CP. Veterinary Microbiology[M]. 5th ed. Beijing: China Agricultural Press, 2013 (in Chinese)
陆承平. 兽医微生物学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2013
- [10] Wang Z, Bie PF, Cheng J, Wu QM, Lu L. *In vitro* evaluation of six chemical agents on smooth *Brucella*

- melitensis* strain[J]. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2015, 14: 16
- [11] Reguera JM, Alarcón A, Miralles F, Pachón J, Juárez C, Colmenero JD. *Brucella* endocarditis: clinical, diagnostic, and therapeutic approach[J]. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2003, 22(11): 647-650
- [12] Feng Y, Peng XW, Jiang H, Peng Y, Zhu LQ, Ding JB. Rough *Brucella* strain RM57 is attenuated and confers protection against *Brucella melitensis*[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 107: 270-275
- [13] Glowacka P, Żakowska D, Naylor K, Niemcewicz M, Bielawska-Drózd A. *Brucella* – virulence factors, pathogenesis and treatment[J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2018, 67(2): 151-161
- [14] Tian X, Shen J, Xi Y, Liu LJ, Fan Y, Wang GF. Bacterial contamination and drug resistance of disinfectants in medical institutions[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2010, 27(5): 600-603 (in Chinese)
- 田霞, 沈婕, 席韵, 刘丽军, 范烨, 王桂芳. 医疗机构使用中消毒剂细菌污染及耐药现状[J]. *中国消毒学杂志*, 2010, 27(5): 600-603
- [15] He XM. Antibiotic and disinfectant resistance of *Escherichia coli* isolated from animal-derived foods[D]. Ya'an: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- 何雪梅. 动物性食品源大肠杆菌对抗生素与消毒剂耐药性及 PFGE 分型研究[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2014
- [16] Zou LK, Wu GY, Cheng L, He XM, Guo LJ, Long M. Progress in research on the resistance of *Escherichia coli* to quaternary ammonium compounds (QACs)[J]. *Food Science*, 2014, 35(17): 338-345 (in Chinese)
- 邹立扣, 吴国艳, 程琳, 何雪梅, 郭丽娟, 龙梅. 季铵盐类消毒剂及大肠杆菌对其耐药性研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(17): 338-345