

文章编号: 1001-7658(2004)01-0027-01

【研究报告】

## 臭氧水对 SARS 病毒的灭活效果观察

张珈敏 郑从义 肖庚富 周元全<sup>1</sup> 高荣<sup>1</sup>

(武汉大学生命科学学院, 武汉 430072; 1 武汉大学化学与分子科学学院)

**摘要** 为了观察电解法产生的臭氧水对 SARS 病毒的灭活效果, 采用悬液灭活试验法进行了试验。结果, 以臭氧含量为 27.73 mg/L, 作用 4 min 可完全灭活 SARS 病毒; 以臭氧含量为 17.82 mg/L, 作用 4 min 和 4.86 mg/L 作用 10 min, 均可使 SARS 病毒的灭活率达 100%。结论, 电解法产生的臭氧水含臭氧量达到 4.86 mg/L 以上, 对悬液内 SARS 病毒具有很强的灭活效果。

**关键词** SARS 病毒; 臭氧水; 灭活作用

**中图分类号**: R187.2

**文献标识码**: B

### EXAMINATION OF THE EFFICACY OF OZONE SOLUTION DISINFECTANT IN INACTIVATING SARS VIRUS

ZHANG Jia-min, ZHENG Chong-yi, XIAO Geng-fu, ZHOU Yuan-quan<sup>1</sup>, GAO Rong<sup>1</sup>

(College of life Science, Wuhan University, Wuhan 430072; 1 College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, China)

**Abstract** Ozone solution disinfectant at different concentrations was tested for inactivation of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) virus. The results showed that the high concentration of 27.73 mg/L ozone could inactivate SARS virus in 4 min. The medium (17.82 mg/L) and low (4.86 mg/L) concentrations could also inactivate SARS virus with different speeds and efficacy.

**Key words** SARS virus; ozone solution disinfectant; inactivation efficacy

2003 年初, 在世界范围流行的传染性非典型肺炎, 又称为重症急性呼吸综合症 (Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS), 经世界卫生组织正式确认, 其病原体是一种新型冠状病毒<sup>[1,2]</sup>。鉴于对该病毒的感染机制, 流行病学特征均不甚明朗的条件下, 采取隔离传染源、阻断传播途径, 灭活可能沾污的病毒, 是控制疫情的有效途径。

武汉大学现代病毒学研究中心利用 P3 实验室条件, 以本中心分离的 SARS 病毒为材料, 对武汉康桥环保设备有限公司的电解式臭氧水消毒剂生成机现场生产的臭氧水进行了 SARS 病毒灭活试验。现将结果报告如下。

### 1 方法

#### 1.1 病毒悬液制备

1.1.1 宿主细胞培养 Vero E6 细胞用 DMEM 生长培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清), 常规传代培养, 细胞长至 90% 以上单层, 用于病毒感染和各项测试实验。

1.1.2 病毒增殖 SARS 病毒 (HB 株), 分离自湖北 SARS 病人血液材料, 在 Vero E6 细胞上传代。T-25 瓶 Vero E6 细胞长至单层, 弃上清, 加 1 ml 稀释的病毒液于 37℃ 吸附 2 h 后, 弃病毒液。加入 DMEM 维持培养基 (含 2% 胎牛血清), 常规条件培养, 细胞病变后, 进行冻融数次, 离心 2000 rpm 15 min 弃细胞碎片, 上清测定 TCID<sub>50</sub>, 分装, -80℃ 保存备用。

#### 1.2 中和剂鉴定试验

根据卫生部《消毒技术规范, 2002 年版》中 2.1.1.10.5 的技术规范设计试验, 采用细胞毒性试验 (MTT 法) 评估中和剂、消毒剂 and 中和产物的细胞毒性, 以残留病毒引起细胞病变的 TCID<sub>50</sub> 值评估病毒灭活作用。

经预备试验证明, 所用中和剂和中和产物对 Vero E6 细胞和 SARS 病毒生长和存活均无影响; 电解法生产的臭氧水对 Vero E6 细胞有毒性作用。在预备试验基础上, 按 (规范) 规定, 设计 6 组正式试验 (表 1)。

### 1.3 臭氧水对 SARS 病毒灭活试验

试验时, 往不同含量臭氧水中(阳性对照为无菌水)加入病毒悬液, 混匀作用至预定时间, 取混合样加到含中和剂的试管内。中和作用后取样接种 Vero E6 细胞瓶, 经培养后, 根据病变细胞, 计算  $TCID_{50}$ , 以病毒感染宿主细胞  $TCID_{50}$  对数值评估臭氧水消毒剂对 SARS 病毒灭活效果。

## 2 结果

### 2.1 中和剂鉴定试验结果

经检测, 以含 5 g/L 硫代硫酸钠+含体积分数 10% 小牛血清的 PBS, 可有效中和含量为 27.73 mg/L 臭氧水对 SARS 病毒的残留作用, 并对 Vero E6 细胞无毒性作用(表 1)。

表 1 中和剂鉴定试验结果

试验组	各组 SARS 存活对数 ( $TCID_{50}$ /ml 的对数值)
消毒剂+病毒悬液	0.00
(消毒剂+病毒悬液)+中和剂	0.00*
中和剂+病毒悬液	6.45
(消毒剂+中和剂)+病毒悬液	6.13
病毒悬液+无菌水	6.74
无菌水+正常细胞	0.00

注: \* 此浓度臭氧水作用后已将 SARS 病毒全部灭活, 因此未检出存活病毒。第 6 组细胞生长完全正常。试验重复 3 次。

### 2.2 不同浓度臭氧水对 SARS 病毒灭活试验结果

检测结果, 该电解发生器产生的含量最高的臭氧水, 在常温下对悬液内 SARS 病毒作用 1 min, 可将其灭活 99.9%, 作用 4 min, 灭活率达到 100% (表 2)。

表 2 高浓度臭氧水对 SARS 病毒灭活效果

作用时间(min)	$TCID_{50}$ /ml(Log)	灭活率(%)
0	6.42	0.00
1	4.12	99.90
2	4.54	99.90
4	0.00	100.00
6	0.00	100.00

注: 试验温度 19℃。臭氧含量为 27.73 mg/L。

将臭氧水中臭氧含量降至 17.82 mg/L, 作用 1 min 对 SARS 病毒灭活率仅有 20.50%, 但作用 4 min, 亦可使 SARS 病毒灭活率达到 100% (表 3)。当含臭氧量下降到 4.86 mg/L, 作用 5 min 亦只能将 SARS 病毒灭活 71.45%, 将作用时间延长到 10 min, 对 SARS 病毒灭活率亦可达到

100%。

表 3 中浓度臭氧水对 SARS 病毒灭活效果

作用时间(min)	$TCID_{50}$ /ml(Log)	灭活率(%)
0	6.59	0.00
1	2.13	20.50
4	0.00	100.00
6	0.00	100.00
8	0.00	100.00

注: 试验温度为 19℃。臭氧含量为 17.82 mg/L。

## 3 讨论

本试验在方法学方面, 完全按照(消毒技术规范)2002 年版规定的方法和操作步骤执行。首先经过预备试验证明了中和剂及其中和产物对 SARS 病毒及其宿主 Vero E6 细胞均无抑制作用或细胞毒性。但在中和剂正式试验中, 使得第 2 组由于高浓度臭氧水对 SARS 病毒达到 100% 灭活, 因其滴度为 0; 但第 3、4、5 组接种的 SARS 病毒能在宿主细胞中正常增殖, 其  $TCID_{50}$  对数值均与正常对照一致且第 6 组细胞生长良好, 所以仍判定中和剂试验符合要求。

臭氧水作为消毒剂对其杀菌效果和灭活病毒的效果已有很多研究报道<sup>[3,4]</sup>, 但臭氧对 SARS 病毒的灭活效果研究尚未见文献报告。本研究结果显示, 电解法产生的臭氧水其臭氧含量从 4.86 mg/L~27.74mg/L, 作用 10~4 min 范围, 均可完全灭活悬液内 SARS 病毒。

所以, 本次试验的 KQ-301 型臭氧水消毒剂生成机和 KQ-301F 电解式臭氧水消毒剂生成机现场生产的臭氧水能在短时间内灭活 SARS 病毒。此臭氧生产系统适合在一定范围内污染物刷洗消毒, 特别是水体、餐饮具、水果蔬菜、家庭用具的消毒。

## 参考文献

- (1) Thomas G.K, Siazek D V M, Dean E, et al. A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome [J]. N ENGL J MED, 2003; 348(20): 1947.
- (2) 祝庆余, 秦鄂德, 王翠娥, 等. 非典型肺炎病例标本中新型冠状病毒的分离与鉴定 [J]. 中国生物工程杂志, 2003; 23(4): 106.
- (3) 李敬云, 鲍作义, 庄道民, 等. 一种复方消毒乳液对新型冠状病毒的杀灭效果 [J]. 中国消毒学杂志, 2003; 20(2): 116.
- (4) 张文福, 袁庆霞, 王芳, 等. 臭氧水对水疱性口炎病毒灭活效果的检测 [J]. 中国消毒学杂志, 1998; 15(2): 102.

(2003-07-31 收稿)