

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.1.2

常见消毒剂对塞内卡病毒杀灭作用的比较研究

齐志涛,王娥娥,张云星,郝苏云,路 荣,方建国,高艳华,张燕红,陈九连*

(金宇保灵生物制品有限公司,呼和浩特 010100)

[收稿日期] 2020-05-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 01-0007-08 [中图分类号] S852.65

[摘 要] 为比较常见消毒方法对塞内卡病毒的杀灭作用,开展了不同浓度苯酚溶液、复方甲酚皂消毒液、柠檬酸溶液、NaOH 溶液、百毒杀消毒液、新洁尔灭消毒液、84 消毒液以及 75% 酒精和紫外线,与 SVA 作用 10 min、30 min 和 60 min 杀灭效果的研究。结果显示,5.0% 的苯酚溶液作用 10 min,0.5% 以上的 NaOH 作用 10 min,低于 1:200 浓度的 84 消毒液作用 30 min、75% 酒精作用 60 min 以及紫外线照射 30 min 以上,均可将 SVA 完全杀灭,而复方甲酚皂消毒液、柠檬酸溶液、百毒杀消毒液、新洁尔灭消毒液不能有效杀灭 SVA。5.0% 苯酚溶液、0.5% 以上的 NaOH 溶液、1:200 以下稀释的 84 消毒液、75% 酒精及紫外线对 SVA 杀灭作用较强。

[关键词] 塞内卡病毒;杀灭作用;消毒剂

Comparison of Disinfectants and Ultraviolet Efficacy against Senecavirus A

QI Zhi-tao, WANG E-e, ZHANG Yun-xing, HAO Su-yun, LU rong, FANG Jian-guo,

GAO Yan-hua, ZHANG Yan-hong, CHEN Jiu-lian*

(Jinyu Baoling Biopharmaceutical Co., Ltd., Hohhot, Inner Mongolia, China 010010)

Corresponding author: Chen Jiu-lian, E-mail: chenjiulian@jinyubaoling.com.cn

Abstract: To explore the efficacy against Senecavirus of disinfectant, the study was designed to evaluate the efficacy against SVA of eight disinfectants, including different concentrations of phenol solution, cresol soap disinfectant, citric acid solution, sodium hydroxide solution, the Pesto, bromogeramine disinfectant, 84 disinfectant, 75% alcohol and ultraviolet. Eight disinfectants reacted with Senecavirus for 10 min, 30 min and 60 min respectively to evaluate their disinfection effect. The results show that the SVA can be inactivated completely by 5.0% phenol solution for 10 minutes, 0.5% sodium hydroxide for 10 minutes, 84 disinfectant with a dilution of less than 1:200 for 30 minutes, 75% alcohol for 60 minutes, and ultraviolet irradiation for more than 30 minutes. However, the disinfectant of cresol soap, citric acid solution, the poison disinfectant, bromogeramine cannot kill the SVA effectively.

Key words: Senecavirus; killing effect; disinfectant

作者简介: 齐志涛, 兽医硕士, 从事动物疫苗研发相关研究。

通讯作者: 陈九连。E-mail: chenjiulian@jinyubaoling.com.cn。

塞内卡病毒 (Senecavirus A, SVA) 是近年来新发现的一种主要引起猪水疱样病变的病毒。早在 1988 年即在美国猪群中开始流行传播, 并且一直在猪群中循环^[1]。我国 2015 年首次在广东发现 SVA 的存在^[2], 此后, 在我国福建、河南等多地相继检出 SVA。猪感染后常表现为鼻端及蹄冠发生水疱、溃烂, 发病特征与口蹄疫、猪水泡病、水泡性口炎极为相似, 临床上难以区分。在感染猪群中, 母猪最易感, 发病率高达 70% ~ 90%, 其次是仔猪, 发病率达 70%, 1 ~ 4 日龄仔猪感染后死亡率达 15% ~ 30%^[3]。虽然 SVA 危害性不及口蹄疫病毒, 但由于感染后的发病特征类似于口蹄疫, 从而在一定程度上影响了猪的上市及交易。我国农业农村部 2018 年发布了《农业农村部办公厅关于做好 SVA 病防治工作的通知》, 可见对该疫病的重视程度。目前尚无商品化疫苗可预防该疫病, 而环境与圈舍消毒则是最为有效、实用的防范措施, 国外学者的研究发现过氧化氢^[4]、酚类消毒剂、漂白粉能有效杀灭该病毒, 国内尚无此方面的研究。为切实开展相关研究, 为疫病防控提供数据支持, 维护养猪业生产及猪肉产品质量安全, 本文研究了 8 种常用消毒剂 and 紫外线对 SVA 的杀灭作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验毒株及细胞 毒株: SVA CH/ZZ/2016 株; 细胞: PK-15 细胞 (猪肾细胞), 由金宇保灵生物药品有限公司兽用疫苗国家工程实验室保存。

1.1.2 主要试剂 消毒剂: 分析纯苯酚 (天津市大茂化学试剂厂), 常用消毒浓度为 2% ~ 5%; 新洁尔灭消毒液 (山东安杰高科消毒科技有限公司), 苯扎溴铵含量为 2.7% ~ 3.3%, 推荐稀释比例 (原液: 水) 为 1:4; 84 消毒液 (山东利尔康医疗科技股份有限公司), 一般物体表面消毒推荐稀释比例 (原液: 水) 为 1:100 ~ 1:200, 百毒杀 (上海派斯德生化有限公司), 圈舍器械消毒推荐使用浓度为 0.02% ~ 0.05%; NaOH (天津市北联精细化学品开发有限公司), 常用消毒浓度为 2% ~ 5%; 柠檬酸 (天津市申泰化学试剂有限公司), 口蹄疫疫苗生产车间常

用消毒浓度为 0.2%; 复方甲酚皂消毒液 (山东利尔康医疗科技股份有限公司), 推荐稀释比例 (原液: 水) 为 1:2; 75% 酒精消毒液 (山东利尔康医疗科技股份有限公司);

中和剂: 百毒杀、新洁尔灭消毒液、84 消毒液的中和剂为含有 5.0 g/L 硫代硫酸钠的 PBS 溶液; 苯酚、复方甲酚皂消毒液的中和剂为含有 3% 吐温-80 + 3% 卵磷脂的 PBS 溶液; 柠檬酸溶液的中和剂为 0.75% NaHCO₃ 溶液; NaOH 溶液的中和剂为 0.5% HCl 溶液^[5]。

标准硬水: 硬度为 342 mg/L, 由 CaCl₂ 0.034 g, MgCl₂ · 6H₂O 0.139 g, 加蒸馏水至 1.0 L 配制而成。

其他: 0.04 mol/L PH 为 7.4 的 PBS。

1.1.3 仪器设备 二级生物安全柜 (香港力申发展有限公司)、水浴锅 (常州智博瑞仪器制造有限公司 HH-420)、二氧化碳培养箱 (Thermo Fisher 14291)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验用毒株病毒滴度测定 将 SVA CH/ZZ/2016 株病毒液用 DMEM 培养基进行 10 倍系列倍比稀释 ($10^1 \sim 10^8$), 分别接种于单层 PK-15 贴壁细胞 (96 孔细胞培养板), 每个稀释度接种 4 孔, 置于 37 °C, 含 5% CO₂ 培养箱中培养, 以 Reed-Muench 法计算病毒的半数细胞感染量 (TCID₅₀)。

1.2.2 消毒剂、中和剂、中和产物对细胞的影响 根据卫生部 2002 版《消毒技术规范》^[6], 评价中和剂、消毒剂及中和产物对细胞生长状况的影响, 共设立 6 组试验:

第 1 组为消毒剂 (正式试验的最高浓度), 分别取消毒剂 1.0 mL (用标准硬水分别配制 5.0% 苯酚溶液、5.0% 柠檬酸溶液、2% NaOH 溶液、0.5% 百毒杀、1:200 稀释的 84 消毒液、1:2 稀释的复方甲酚皂消毒液、1:4 稀释的新洁尔灭溶液以及未稀释的 75% 酒精) 接种单层 PK-15 细胞, 补维持液 9.0 mL, 置 37 °C 二氧化碳培养箱中培养, 48 h 观察细胞生长情况。

第 2 组为中和剂, 分别取 1.0 mL 含 5.0 g/L 硫代硫酸钠的 PBS 溶液、含 3% 吐温-80 + 3% 卵磷脂

的 PBS 溶液、0.75% NaHCO_3 溶液和 0.5% HCl 溶液接种单层 PK-15 细胞,补维持液 9.0 mL,置 37 °C 二氧化碳培养箱中培养,48 h 观察细胞生长情况。

第 3 组为中和产物,分别取消毒剂(5.0% 苯酚溶液、5.0% 柠檬酸溶液、2% NaOH 溶液、0.5% 百毒杀、1:200 稀释的 84 消毒液、1:2 稀释的复方甲酚皂消毒液、1:4 稀释的新洁尔灭溶液)与适量相对应中和剂混合,作用 10 min 后混合液即为中和产物,分别取中和产物 1.0 mL 接种单层 PK-15 细胞,补维持液 9.0 mL,置 37 °C 二氧化碳培养箱中培养,48 h 观察细胞生长情况。

其余 3 组为对照组,分别取标准硬水、PBS 和细胞维持液对照组各 1.0 mL,接种单层 PK-15 细胞,补维持液 9.0 mL,置 37 °C 二氧化碳培养箱中培养,48 h 观察细胞生长情况。

1.2.3 中和剂中和效果鉴定、中和剂及中和产物对 SVA TCID_{50} 的影响 根据卫生部 2002 版《消毒技术规范》^[6],评价中和剂的中和作用,以及中和剂、中和产物对病毒滴度的影响,试验共设立 6 组:

第 1 组为消毒剂 + 病毒液,分别取消毒剂 5.0 mL(用标准硬水分别配制 10% 苯酚溶液、10% 柠檬酸溶液、4% NaOH 溶液、1% 百毒杀、1:100 稀释的 84 消毒液、1:2 稀释的新洁尔灭溶液以及未稀释的复方甲酚皂消毒液)与 5.0 mL SVA 病毒液混合,另取 9.0 mL 75% 酒精与 1.0 mL SVA 病毒液混合,于 20 °C 水浴作用 60 min,取样测定 TCID_{50} ;

第 2 组为(消毒剂 + 病毒液) + 中和剂,分别取消毒剂 5.0 mL(用标准硬水分别配制 10% 苯酚溶液、10% 柠檬酸溶液、4% NaOH 溶液、1% 百毒杀、1:100 稀释的 84 消毒液、1:2 稀释的新洁尔灭溶液以及未稀释的复方甲酚皂消毒液)与 5.0 mL SVA 病毒液混合,另取 4.5 mL 75% 酒精与 0.5 mL SVA 病毒液混合,于 20 °C 水浴作用 60 min 取出混合液 0.1 mL,加 0.9 mL 相应中和剂室温作用 5 min,75% 酒精试验组加 0.9 mL 维持液稀释即可,分别取样测定 TCID_{50} ;

第 3 组为中和产物(消毒剂 + 中和剂) + 病毒液,分别取消毒剂 1.0 mL(用标准硬水分别配制

10% 苯酚溶液、10% 柠檬酸溶液、4% NaOH 溶液、1% 百毒杀、1:100 稀释的 84 消毒液、1:2 稀释的新洁尔灭溶液以及未稀释的复方甲酚皂消毒液)加入 9.0 mL 相应中和剂室温作用 5 min,分别取混合液 5.0 mL 与等量 SVA 病毒液混合,20 °C 水浴作用 60 min,取样测定 TCID_{50} ;

第 4 组为(标准硬水 + 病毒液) + 中和剂,取标准硬水 5.0 mL 与等量 SVA 病毒液混合,于 20 °C 水浴作用 60 min 后取 4.0 mL 均分 4 份,每份 1.0 mL,分别加入 4 种中和剂 9.0 mL 作用 5 min,取样测定 TCID_{50} ;

第 5 组为(标准硬水 + 病毒液) + PBS,取标准硬水 5.0 mL 与等量 SVA 病毒液混合,于 20 °C 水浴作用 60 min 后取 1.0 mL,加入 1.0 mL PBS 作用 5 min,取样测定 TCID_{50} ;

第 6 组为标准硬水 + PBS 不接毒组,取标准硬水 5.0 mL 与等量 PBS 混合,于 20 °C 水浴作用 60 min 后取样测定 TCID_{50} 。

1.2.4 SVA 杀灭试验 用标准硬水将所有消毒剂配制为双倍试验浓度,即 4.0%、10.0% 的苯酚溶液,复方甲酚皂原液及 1:2 稀释液,0.4%、4.0%、10.0% 柠檬酸溶液,1.0%、2.0%、4.0%、10.0% NaOH 溶液,0.04%、0.1%、0.4%、1.0% 百毒杀,1:2、1:4 稀释的新洁尔灭,1:50、1:100、1:200、1:400 稀释的 84 消毒液,分别吸取 5.0 mL 上述消毒剂及 5.0 mL 标准硬水置于 15 mL 离心管内,于 20 °C 水浴中作用 5 min,分别加入 5.0 mL SVA 病毒液,另取 9.0 mL 75% 酒精加入 1.0 mL SVA 病毒液,立即混匀于 20 °C 水浴中作用至试验规定时间(10 min、30 min、60 min),立即取出 0.1 mL 混合液,加入 0.9 mL 相应中和剂混匀,75% 酒精组及标准硬水组加入 0.9 mL 细胞维持液,作用 10 min 后测定 TCID_{50} 。如此试验重复 3 次,计算各组平均灭活对数值。

取 SVA 病毒液 5.0 mL 加 5.0 mL 细胞维持液混匀,吸取 2.5 mL 平铺于底面积为 12.56 cm^2 的平皿中,平皿开盖置于生物安全柜中用紫外线照射,照射强度为 90 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$,同时设立同等条件下遮挡

紫外线的对照组。作用至试验规定时间(10 min、30 min、60 min),立即取出 0.1 mL,加入 0.9 mL 细胞维持液混匀,测定 TCID₅₀。如此试验重复 3 次,计算各组平均灭活对数值。

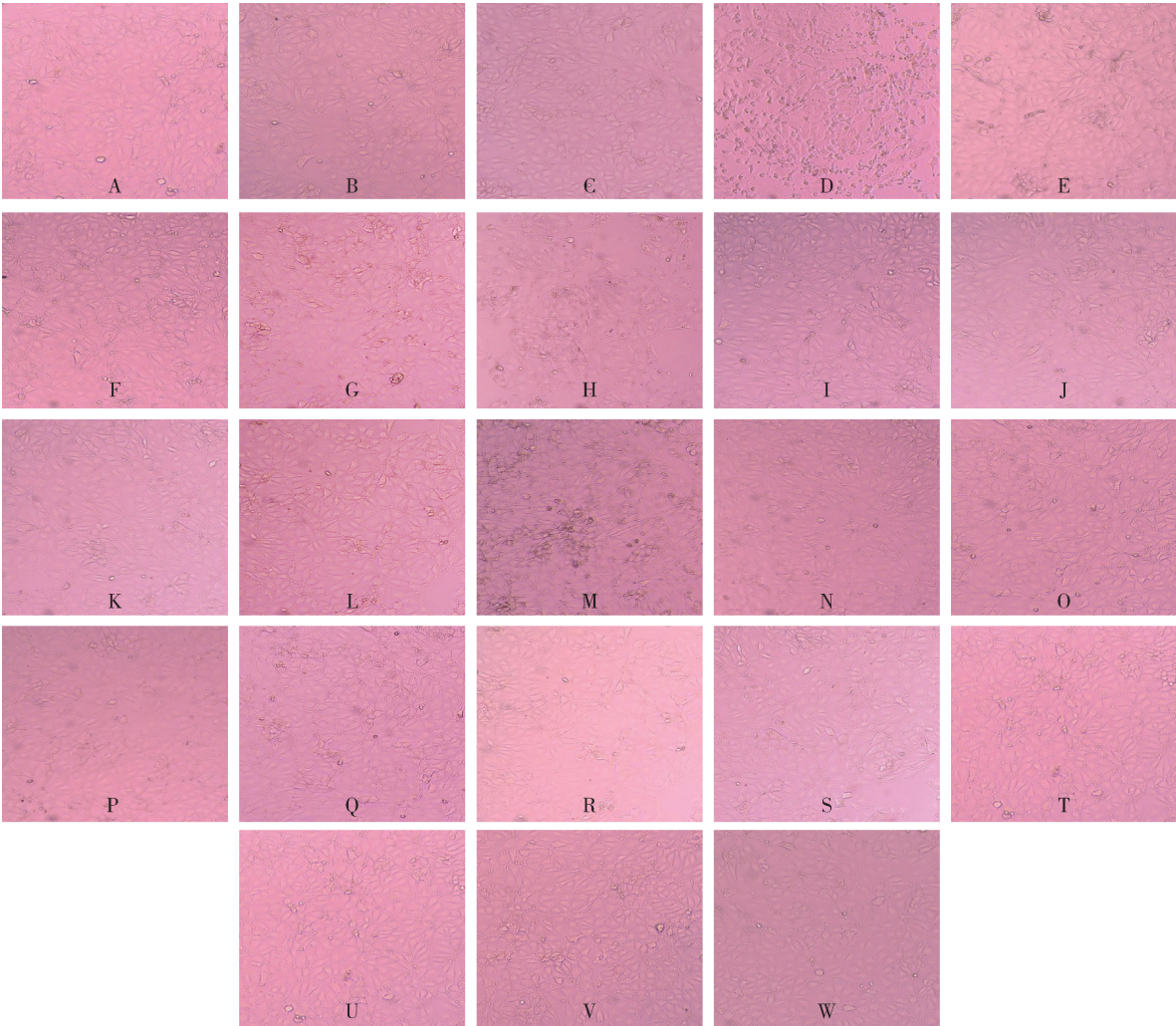
1.2.5 平均灭活对数值的计算及对比: 设阳性(病毒)对照组 TCID₅₀ 为 N₀, 试验(消毒)组 TCID₅₀ N_x, 平均灭活对数值 = log No - log Nx^[6], 对比各种消毒剂对 SVA 的杀灭效果。

2 结果与分析

2.1 试验用毒株病毒滴度测定 经测定,试验用

SVA 病毒液 TCID₅₀ 为 10^{-7.0}/0.1 mL。

2.2 消毒剂、中和剂及中和产物对细胞生长状况的影响 结果如图 1 所示,除百毒杀组(H 所示)细胞出现稍许变圆、漂浮、数量减少以外,其他各组消毒剂均未对细胞生长产生明显影响;5.0 g/L 硫代硫酸钠的 PBS 组(M 所示)细胞出现少量变圆、漂浮的情况,其他中和剂实验组细胞生长未见异常;各中和产物对细胞生长未造成显著影响;由消毒剂或中和剂造成的细胞异常生长与 SVA 引起的细胞病变有明显区别。



注:图 A~C 分别为细胞维持液、PBS、标准硬水对细胞生长影响的情况;图 D 细胞病变;图 E~L 分别为消毒剂苯酚溶液、复方甲酚皂溶液、NaOH 溶液、百毒杀溶液、新洁尔灭溶液、84 消毒液、75% 酒精及柠檬酸溶液对细胞生长影响情况;图 M~P 分别为中和剂 5.0 g/L 硫代硫酸钠的 PBS、3% 吐温-80+3% 卵磷脂的 PBS、0.75% 碳酸氢钠溶液及 0.5% HCl 溶液对细胞生长影响情况;图 Q~W 分别为苯酚、复方甲酚皂、柠檬酸、NaOH、百毒杀、新洁尔灭和 84 消毒液与相应中和剂的中和产物对细胞生长影响情况。

图 1 消毒剂、中和剂及中和产物对 PK-15 细胞生长状况的影响

Fig 1 Effects of disinfectants, neutralizers and neutralized products on the growth of PK-15 cells

2.3 中和剂中和和效果鉴定、中和剂及中和产物对 SVA TCID₅₀的影响 表 1、表 2 结果显示,第 1 组试验中苯酚组、NaOH 组和 84 消毒液组 TCID₅₀检测结果为 0,其他消毒剂组均不低于 5.50;第 2 组试验中,苯酚组 TCID₅₀为 2.50,NaOH 组和 84 消毒液组 TCID₅₀为 2.00,其他消毒剂组为 5.50;第 3、4、5 组测定结果相同,TCID₅₀在 5.00 ~ 5.50 之间;第 6 组细胞生长未见异常。结果表明,试验中所用中和剂均可中和相应消毒剂的消毒作用,中和剂及中和产物均不影响病毒滴度。

2.4 SVA 杀灭试验结果 以下结果为不同消毒剂对 SVA 的平均灭活对数值,灭活对数值越大,表明灭活效果越强。

2.4.1 不同浓度苯酚溶液对 SVA 杀灭试验结果 表 3 结果显示,浓度为 5.0% 的苯酚溶液与 SVA

作用时间至少为 10 min 时,对其灭活对数值为 5.50,表明 SVA 被完全杀灭;当苯酚浓度为 2.0% 时,与 SVA 作用 60 min 灭活对数值为 3.00,表明病毒未完全杀灭。

2.4.2 不同浓度复方甲酚皂溶液对 SVA 杀灭试验结果 表 4 结果显示,以 1:2 和 1:4 稀释的复方甲酚皂消毒剂,与 SVA 作用 60 min 时,灭活对数值分别为 0.75 和 0.25,表明病毒未被杀灭。

2.4.3 不同浓度柠檬酸溶液对 SVA 杀灭试验结果 表 5 结果显示,浓度为 0.2% 与 2.0% 的柠檬酸溶液与 SVA 作用 60 min 时,两种浓度消毒剂对病毒的平均灭活对数值为 0.75,浓度为 5.0% 的柠檬酸溶液与病毒作用 60 min 时,灭活对数值为 1.5,结果表明,试验所用浓度的柠檬酸溶液不能杀灭 SVA。

表 1 中和产物对病毒滴度的影响

Tab 1 Effect of neutralization product on SVA							
组别	各消毒剂组 TCID ₅₀ 对数值/log10						
	苯酚	甲酚皂	柠檬酸	NaOH	百毒杀	新洁尔灭	84
1	0	5.50 ± 0.20	5.50 ± 0	0	5.50 ± 0.20	5.50 ± 0	0
2	2.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	2.00 ± 0
3	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0

表 2 中和剂对病毒滴度的影响

Tab 2 Effect of neutralizer on SVA				
组别	各消毒剂组 TCID ₅₀ 对数值/log10			
	中和剂 1	中和剂 2	中和剂 3	中和剂 4
4	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0
5	5.50 ± 0.20	5.50 ± 0	5.50 ± 0.20	5.50 ± 0
6	0	0	0	0

表 3 苯酚对 SVA 杀灭试验结果

Tab 3 The result of phenol killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
2.0% 苯酚	1.50 ± 0.20	1.75 ± 0.20	3.00 ± 0
5.0% 苯酚	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0

表 4 不同浓度甲酚皂溶液对 SVA 杀灭试验结果

Tab 4 The result of cresol soap killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
1:2 甲酚皂	0	0.50 ± 0	0.75 ± 0.20
1:4 甲酚皂	0.25 ± 0.20	0.25 ± 0	0.25 ± 0.20

表 5 柠檬酸溶液对 SVA 杀灭试验结果

Tab 5 The result of citric acid killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
0.2% 柠檬酸	0	0.50 ± 0.20	0.75 ± 0.20
2.0% 柠檬酸	0.50 ± 0.20	0.50 ± 0	0.75 ± 0.20
5.0% 柠檬酸	0.25 ± 0.20	0.75 ± 0	1.50 ± 0.20

2.4.4 不同浓度 NaOH 溶液对 SVA 杀灭试验结果表 6 结果显示,用浓度为 0.5%、1.0%、2.0% 和 5.0% 的 NaOH 溶液,分别与 SVA 作用至少 10 min 时,各组灭活对数值均为 5.50,表明该病毒被完全杀灭。

2.4.5 不同浓度百毒杀溶液对 SVA 杀灭试验结果表 7 结果显示,浓度为 0.02% 的百毒杀与 SVA 作用 60 min 时,灭活对数值为 0.50;同样作用 60 min,百毒杀浓度为 0.05% 及 0.2% 时,灭活对数值为 0.75,百毒杀浓度为 0.5% 时,灭活对数值为 1.00,表明病毒未被杀灭。

2.4.6 不同浓度新洁尔灭溶液对 SVA 杀灭试验结果表 8 结果显示,以 1:4 比例稀释的新洁尔灭消毒液与 SVA 作用 60 min,平均灭活对数值为 1.00;1:8 稀释组平均灭活对数值为 0.50,表明 SVA 未被杀灭。

表 6 NaOH 对 SVA 杀灭试验结果

Tab 6 The result of NaOH killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
0.5% NaOH	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0
1.0% NaOH	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0
2.0% NaOH	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0
5.0% NaOH	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0

表 7 百毒杀对 SVA 杀灭试验结果

Tab 7 The result of Pesto killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
0.02% 百毒杀	0	0	0.50 ± 0.20
0.05% 百毒杀	0	0.25 ± 0.20	0.75 ± 0.20
0.2% 百毒杀	0	0.50 ± 0.20	0.75 ± 0.20
0.5% 百毒杀	0	0.75 ± 0	1.00 ± 0.20

表 8 新洁尔灭对 SVA 杀灭试验结果

Tab 8 The result of Decamethylammonium Bromide disinfectant killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
1:4 新洁尔灭	0.75 ± 0	1.00 ± 0.20	1.00 ± 0
1:8 新洁尔灭	0.50 ± 0.20	0.50 ± 0	0.50 ± 0

2.4.7 不同浓度 84 消毒液对 SVA 杀灭试验结果表 9 结果显示,以 1:100、1:200 比例稀释的 84 消毒液与 SVA 作用 10 min,对病毒平均灭活对数值为 5.50,表明病毒被完全杀灭,以 1:400、1:800 比例稀释的 84 消毒液对 SVA 作用 60 min,平均灭活对数值为 1.00,表明病毒未被完全杀灭。

表 9 84 消毒液对 SVA 杀灭试验结果

消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
1:100 的 84 消毒液	5.50 ± 0	5.50 ± 0	5.50 ± 0
1:200 的 84 消毒液	5.25 ± 0.20	5.50 ± 0	5.50 ± 0
1:400 的 84 消毒液	0.50 ± 0	0.75 ± 0	1.00 ± 0
1:800 的 84 消毒液	0.50 ± 0	0.50 ± 0	1.00 ± 0.20

表 10 75% 酒精、紫外线对 SVA 杀灭试验结果

Tab 10 The result of 75% alcohol and ultraviolet light killing test on SVA			
消毒剂	不同作用时间/min 对病毒平均灭活对数值/log10		
	10	30	60
75% 酒精	3.50 ± 0.20	5.00 ± 0	5.50 ± 0
紫外线	4.25 ± 0.20	5.50 ± 0	5.50 ± 0
标准硬水	0	0	0

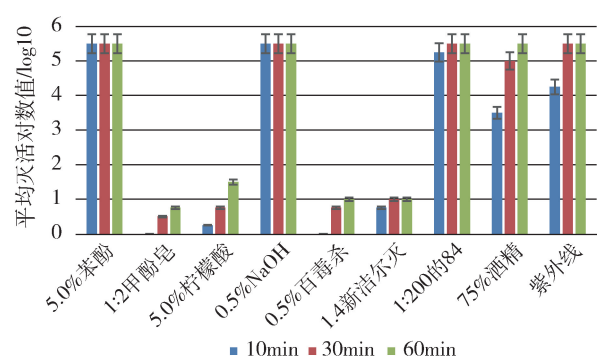


图 2 不同消毒剂对 SVA 杀灭效果的对比

Fig 2 Comparison of different disinfectants killing effect on SVA

2.4.8 75% 酒精、紫外线对 SVA 杀灭试验结果 75% 酒精与 SVA 作用 10 min 时,平均灭活对数值

为 3.50, 作用 30 min 时, 灭活对数值为 5.00, 当作用 60 min 时, 平均灭活对数值为 5.50, 表明 75% 酒精作用 60 min 可将 SVA 完全杀灭; 在紫外线照射作用 10 min 时, 对 SVA 的平均灭活对数值为 4.25; 照射 30 min 时, 平均灭活对数值为 5.50, 表明 SVA 被完全杀灭; 紫外线对照组平均灭活对数值为 0, 表明毒价未降低; 标准硬水与 SVA 作用 60 min 平均灭活对数值为 0, 表明标准硬水对 SVA 无杀灭作用, 上述试验成立。

2.5 不同消毒剂对 SVA 杀灭效果的对比 选取上述结果中消毒剂对 SVA 最佳杀灭浓度, 以及完全杀灭病毒的最低浓度数据进行对比分析, 结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 5.0% 苯酚溶液、0.5% NaOH 溶液对 SVA 杀灭效果最好, 均可在 10 min 杀灭病毒; 其次为 1:200 稀释的 84 消毒液, 作用 30 min 即可将 SVA 完全杀灭; 紫外线对病毒杀灭作用比 1:200 的 84 消毒液稍弱, 但也能在 30 min 杀灭 SVA; 75% 酒精对 SVA 杀灭作用不及前几种消毒剂, 需要 60 min 才能杀灭; 其他消毒剂, 包括 1:2 复方甲酚皂消毒液、5.0% 柠檬酸溶液、0.5% 百毒杀及 1:4 新洁尔灭溶液对 SVA 杀灭作用弱, 60 min 内不能杀灭病毒。

3 讨论与结论

选取 8 种常见消毒剂和紫外线, 设置不同浓度和作用时间, 评估对 SVA 的杀灭效果。结果表明, 5.0% 的苯酚溶液、0.5% 以上的 NaOH 溶液、低于 1:200 浓度的 84 消毒液、75% 酒精以及紫外线对 SVA 有较强的杀灭作用, 其他消毒剂对 SVA 杀灭作用较弱甚至无作用。

临床上常用 1.0% ~ 5.0% 的苯酚溶液对医疗器械及排泄物进行消毒^[7], 有研究表明, 苯酚类消毒剂也适用于洁净室的常规清洁消毒。Azad Singh 等^[8]的研究发现, 使用推荐浓度的酚醛类消毒剂在 25 °C 和 4 °C 的温度下, 能杀灭物体表面 82.41% 的 SVA, 研究证明, 5.0% 的苯酚溶液对 SVA 有较强杀灭作用, 且苯酚浓度符合国标^[9]。因此, 开展 SVA 相关研究的实验室, 可以参考用 5.0% 的苯酚溶液

处理某些试验器械及废弃物, 以保证实验室生物安全; 复方甲酚皂消毒剂与苯酚同属于酚类消毒剂, 但使用推荐浓度对 SVA 杀灭作用远远不及苯酚溶液。

NaOH 价格低廉、消毒作用强。养殖场在实际生产过程中, 通常用 2.0% ~ 5.0% 的 NaOH 溶液, 对空舍、车辆及人员鞋底进行消毒。依据本研究结果, 用 0.5% 的 NaOH 溶液作用 10 min 即可有效杀灭 SVA, 远低于通常使用浓度, 为猪场对 SVA 病的预防提供了重要的理论依据。0.2% 浓度柠檬酸溶液对口蹄疫病毒具有良好的消毒效果, 但 0.2%、2.0% 和 5.0% 三种浓度柠檬酸溶液对 SVA 均无明显杀灭作用。研究结果提示, SVA 与口蹄疫在发病临床症状极为相似, 但病原理化特性差异较大, 适合口蹄疫病毒的消毒剂或消毒方法可能并不完全适用于 SVA。

百毒杀主要成分是溴化二甲基二癸基羟铵, 畜舍、器具消毒推荐使用浓度为 0.015% ~ 0.05%。本研究发现, 以推荐浓度对 SVA 进行消毒, 效果极其微弱, 甚至 10 倍推荐浓度的百毒杀对 SVA 作用也不显著。新洁尔灭与百毒杀同属于季铵盐类消毒剂, 推荐使用浓度 (1:4 稀释, 苯扎溴铵含量约 0.6%) 对 SVA 杀灭效果也不理想, 可见生产中不适合用百毒杀和新洁尔灭对 SVA 进行消毒。

84 消毒液的主要成分是次氯酸钠, 是一种常见的含氯消毒剂。研究发现, 推荐浓度的 84 消毒液 (有效氯含量 700 ~ 100 mg/L) 对 SVA 杀灭作用强, 浓度低于 1:400 以下时, 对 SVA 杀灭效果明显降低; Azad Singh 等^[8]的研究发现, 稀释度为 1:20 的漂白粉在 10 ~ 15 min 内可杀灭物体表面 99% 以上的 SVA, 84 消毒液与漂白粉都属于次氯酸盐, 说明 SVA 对次氯酸盐较敏感, 临床上可用此类消毒剂杀灭猪场圈舍地面或排泄物中的 SVA。

研究发现 75% 酒精对 SVA 有一定杀灭作用, 但不能瞬间杀灭病毒, 作用时间需要 60 min 以上。酒精易挥发, 通常用喷洒或涂擦的方式对物体表面消毒, 喷洒或涂擦后浓度难以维持 60 min, 因此, 在实验室内不建议使用 75% 酒精处理 SVA。

紫外线对消毒物品损伤小,且不涉及药物残留及污染的问题,在口蹄疫生产车间常用于空气和操作台面消毒^[10]。本研究发现,SVA 经生物安全柜内的紫外线照射 30 min,即可被杀灭。此结果提示,在生产中可以用紫外线照射的方式对物体表面、无菌操作室及空气消毒,以防止 SVA 的散播。

参考文献:

- [1] Hales L M, Knowles N J, Reddy P S, *et al.* Complete genome sequence analysis of Seneca Valley virus -001, a novel oncolytic picornavirus[J]. J Gen Virol. 2008, 89(Pt 5): 1265 - 1275.
- [2] Wu Q, Zhao X, Bai Y, *et al.* The First Identification and Complete Genome of Senecavirus A Affecting Pig with Idiopathic Vesicular Disease in China[J]. Transbound Emerg Dis. 2017, 64(5): 1633 - 1640.
- [3] 刘存,刘畅,刘琪,等. A 型猪塞内卡病毒流行病学、致病性、诊断研究进展[J]. 养猪. 2020(01): 102 - 104.
Liu C, Liu Ch, Liu Q, *et al.* Research progress in epidemiology, pathogenicity and diagnosis of type A swine Seneca virus[J]. Pig. 2020(01): 102 - 104.
- [4] Hole K, Ahmadpour F, Krishnan J, *et al.* Efficacy of accelerated hydrogen peroxide((R)) disinfectant on foot - and - mouth disease virus, swine vesicular disease virus and Senecavirus A[J]. J Appl Microbiol. 2017, 122(3): 634 - 639.
- [5] 赵斌秀,张流波. 消毒剂消毒效果评价中残留物去除技术[J]. 中国消毒学杂志. 2016, 33(3): 271 - 276.
- Zhao B, Zhang L B. Residue removal technology in the evaluation of disinfectant disinfection effect[J]. Chinese Journal of Disinfection. 2016, 33(3): 271 - 276.
- [6] 卫生部卫生法制与监督司. 消毒技术规范[S].
Department of Hygiene Legal System and Supervision, Ministry of Health. Technical Specifications for Disinfection[S].
- [7] 赖燕菲,吴瑶,盛吉芳. 苯酚器械消毒液消毒效果的评价[J]. 中华流行病学杂志. 1999(06): 80.
Lai Yanfei, Wu Yao, Sheng Jifang. Evaluation of disinfection effect of phenol instrument disinfectant[J]. Chinese Journal of Epidemiology. 1999(06): 80.
- [8] Singh A, Mor S K, Aboubakr H, *et al.* Efficacy of three disinfectants against Senecavirus A on five surfaces and at two temperatures[J].
- [9] 魏兰芬,陆龙喜,徐浩行,等. 酚类消毒剂卫生要求(GB 27947 - 2011)解读[J]. 中国卫生标准管理. 2013, 4(4): 18 - 23.
Wei L F, Lu L X, Xu H X, *et al.* Interpretation of the sanitary requirements for phenolic disinfectants (GB 27947 - 2011)[J]. Chinese Health Standard Management. 2013, 4(4): 18 - 23.
- [10] 刘高远. 口蹄疫疫苗生产中消毒方式和消毒剂的应用[J]. 畜牧兽医科学(电子版). 2019(05): 12 - 13.
Liu G Y. Disinfection methods and application of disinfectants in the production of foot - and - mouth disease vaccine[J]. Animal Husbandry and Veterinary Science (Electronic Edition). 2019(05): 12 - 13.

(编辑:陈希)