

臭氧对空气中 IBV 冠状病毒的杀灭效果的研究^{*}

洪波¹ 王品虹¹ 纪义国² 熊祥云² 汪笑宇¹ 张立斌¹

(1 中国海洋大学; 2 青岛市胸科医院, 青岛 266003)

摘要: 本文利用强氧化剂臭氧 O₃ 对空气中的冠状病毒进行杀灭试验。经不同臭氧浓度、湿度、温度处理灭活的冠状病毒于 10 日龄鸡胚培养一代, 进行对流免疫电泳试验检测。结果表明, 臭氧浓度在高于 20.3 mg/m³, 作用时间超过 15 min 时就可将病毒完全杀灭。湿度和温度对臭氧的杀毒效果也有显著影响, 即湿度越大灭活效果越好, 温度越高杀毒效果越明显。

关键词: 臭氧; 冠状病毒; 杀灭实验

中图分类号: R183.3; R187

文章编号: 1001-1862(2003)06-861-04

我国自 2003 年初爆发非典型性肺炎以来, 对冠状病毒的研究也更加深入和全面。同时, 如何有效的切断 SARS 病毒的传播, 防止病人对医护人员及其他人的感染, 也是 1 个亟待解决的问题。目前, 生活中和医院里用于冠状病毒消毒的试剂, 主要为甲醛溶液和次氯酸盐溶液, 也有使用四氧乙酸的。以上消毒液的杀毒效果较好, 但都有严重的缺陷。首先, 杀菌消毒速度慢; 其次, 对环境产生二次污染, 且后果严重。同时残留在空气中和物体表面的药物有强烈的腐蚀性, 对人的呼吸道和鼻黏膜产生强烈的刺激和损伤, 在使用和推广上受到一定的限制^[1]。关于消毒剂的选择, 必须兼顾杀毒和不污染环境以及无有害残留等几个方面的问题。

臭氧 (O₃, ozone) 是氧 (O₂) 的同素异形体, 为暗蓝色气体, 在 1840 年由德国的 Schorbein C. 发现并命名。该气体是 1 种强氧化剂, 在消毒学上属于过氧化物类消毒剂, 同时具有使用方便、刺激性低、作用快速、杀灭病原种类多、不污染环境等特点。欧洲在 100 多年前既有用臭氧消毒饮水者, 随后又有用于空气消毒的报告。

近年来臭氧的产生方法和途径有了较大的发展, 如化学法、电解法、无声放电法和紫外线等, 使其在消毒方面的应用已日渐广泛, 不仅用于饮水、空气消毒, 也用于物体表面的消毒, 不但能用其气体消毒, 也可制成臭氧水进行消毒^[2]。臭氧具有广泛杀灭微生物的作用, 包括金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无色杆菌等各种细菌, 以及枯草杆菌黑色芽孢和变种芽孢等各类细胞芽孢。同时对真菌和各种病毒, 如乙肝、甲肝、流感病毒等都有杀灭作用^[3]。随着消毒技术的日臻完善, 臭氧将在医疗、畜牧、水产等方面得到更大的应用。

本文选择冠状病毒科冠状病毒属的代表种——鸡传染性支气管炎病毒 (IBV)^[3] 为实验对象, 对不同浓度臭氧对空气中 IBV 的杀灭效果进行试验。以期对消灭 SARS 的研究提供重要参考。

* 青岛市“病房负压集中灭菌消毒系统”项目 (03-1-ny-19) 资助

收稿日期: 2003-08-28; 修订日期: 2003-10-10

洪波, 男, 1960 年出生, 高工, E-mail: hongbc@ouc.edu.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料 IBV 由农业部动物检疫所易邦生物公司提供,为鸡胚培养的尿囊腔液病毒,其半数发病量为 10^8 mL,接种量为 10^{-2} mL IBV 标准抗原和无病毒尿囊腔液均由大连三仪生物公司提供。臭氧发生器由安丘市臭氧发生器制造厂生产,臭氧发生量为 5mg/h 气溶胶发生器购于北京博医康实验仪器公司,喷雾粒径 90% 以上为 30~ 40 μ m,最大不超过 50 μ m 试验用 1m³ 的气雾柜由本测试中心制作,内设有调温、调湿装置、通风设备以及喷样、采样传递窗口。试验前消毒灭菌 采样器置于气雾柜底部中央处

1.2 试验方法

1.2.1 臭氧消毒

(1) 将病毒原液用 0.9% 生理盐水稀释成浓度为 2% 的病毒液。用气溶胶发生器喷入气雾柜内。保持温度为 21 $^{\circ}$ C,湿度为 70%。打开臭氧发生器,使试验空间中臭氧浓度分别为 20.3mg/m³, 13.6mg/m³, 6.5mg/m³。对每个浓度的臭氧都分别作用 0min, 5min, 15min, 20min, 30min, 40min 后取样,待检测

(2) 臭氧作用浓度均为 20.3mg/m³,湿度为 70% 保持不变,调节柜内温度分别为 15 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ C, 30 $^{\circ}$ C。对每个温度都分别作用 0min, 5min, 15min, 20min, 30min, 40min 后取样,待检测

(3) 臭氧作用浓度均为 20.3mg/m³,温度为 28 $^{\circ}$ C 保持不变,调节柜内湿度分别为 30%, 50%, 70%。对每个湿度都分别作用 0min, 5min, 15min, 20min, 30min, 40min 后取样,待检测

1.2.2 灭活病毒检测 臭氧灭活后的病毒样品接种于 10 日龄鸡胚培养一代,取尿囊腔液进行对流免疫电泳检测 (CIE)。阳性对照为处理 0min 的 IBV 病毒,阴性对照为无病毒尿囊腔液

1.2.2.1 配制缓冲液和制备琼脂板^[5] 首先配制 pH 为 8.6, $\mu = 0.075$ 的巴比妥缓冲液 (巴比妥钠 15.45g, 巴比妥 2.76g 加蒸馏水至 1000mL), 然后取优质琼脂粉 1.0g, 加到 100mL 缓冲液中,煮沸,凉至 56 $^{\circ}$ C 左右,浇在 7.5cm \times 7.5cm 的洁净玻璃板上,凝固后打孔,孔径 2mm,孔距 5mm

1.2.2.2 CIE 试验操作方法^[5] 用滴管分别吸取抗原和抗体,直接加到琼脂板的相应孔内,将加好样品的琼脂板放入电泳槽内,两端用滤纸与缓冲液搭桥,电泳时抗原接负极,抗体接正极,电流按板宽计算 2~ 4mA/cm,电泳 30~ 40min 后观察结果

2 结果

2.1 臭氧浓度对 IBV 的作用效果 温度为 28 $^{\circ}$ C,湿度为 70%。出现沉淀线为阳性,用“+”表示,无沉淀线为阴性用“-”表示 试验结果见表 1

表 1 臭氧浓度梯度试验检测结果

Table 1 Effect of ozone density on the survival of IB virus

臭氧浓度 Ozone density (mg/m ³)	作用时间 Treatment time (min)					
	0	5	15	20	30	40
6.5	+	+	+	+	+	-
13.6	+	+	+	+	-	-
20.3	+	+	-	-	-	-

由试验结果可以看出,臭氧浓度是影响臭氧杀毒效率的重要因素。浓度越高,杀死病毒所需要的时间越短,臭氧杀毒的效率越高。

2.2 温度对臭氧消毒效果的影响 湿度为 70%,臭氧浓度为 20.3 mg/m^3 试验结果见表 2

表 2 温度梯度试验检测结果

Table 2 Effect of temperature on the sterilize efficiency of ozone

温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	作用时间 Treatment time (min)					
	0	5	15	20	30	40
10	+	+	+	+	+	-
20	+	+	+	-	-	-
30	+	+	-	-	-	-

由试验结果可以看出,温度对臭氧杀毒的作用效果有一定的影响。温度越高臭氧杀毒的效果越好,即较低浓度的臭氧和较少的作用时间就能将病毒完全杀灭。

2.3 湿度对臭氧消毒作用的影响 温度为 28°C ,臭氧浓度为 20.3 mg/m^3 试验结果见表 3

表 3 湿度梯度试验检测结果

Table 3 Effect of humidity on the sterilize efficiency of ozone

湿度 Humidity (%)	作用时间 Treatment time (min)					
	0	5	15	20	30	40
30	+	+	+	+	-	-
50	+	+	-	-	-	-
70	+	+	-	-	-	-

从以上的实验结果可以看出,湿度对臭氧杀毒的效果有较大的影响,特别是当湿度较大时,相同浓度的臭氧能在很短时间内将病毒灭活。这在臭氧对其他病毒和细菌的杀灭试验中也有类似结果,所以建议在使用臭氧来对空气进行消毒时,应喷入适量水汽溶胶,提高臭氧的杀毒效率^[3]。

3 讨论

臭氧是 1 种较理想的化学消毒剂,一定浓度的臭氧经适当的作用时间可以将 IBV 病毒彻底杀灭。同时,臭氧还可以灭活多种病毒,伍学洲报道,在 0.7 m^3 的无菌罩中乙型肝炎表面抗原经臭氧作用 20min 滴度可降低一半^[6]。史江报告,臭氧浓度 13.6 mg/m^3 作用 30min 使 HBSAg 破坏 99.9% 以上,使甲型肝炎病毒抗原 HA Ag 破坏 100%。Wolott 证明, 10.5 mg/m^3 的臭氧可灭活空气中的甲型流感病毒^[7]。同时,臭氧对空气中的金黄色葡萄菌、大肠杆菌、绿脓杆菌具有良好的杀灭作用。翟发林等报道,在 $(34 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 条件下, 5.5 mg/m^3 的臭氧作用可将 100mL 塑料瓶内滴染的枯草杆菌黑色变种芽孢全部消灭^[6]。根据臭氧对冠状病毒 IBV 的测试

结果,对于 SARS病毒的杀灭,这里推荐使用浓度为高于 $20.3\text{mg}/\text{m}^3$,作用时间 $> 40\text{min}$

曾有报道指出^[3],在较大湿度和较高温度下,病毒和细菌的自然衰亡率都明显增加。这就解释了,在潮湿高温的夏季,传染性病毒病不会大规模爆发,而在干燥寒冷的冬季和春季,则易爆发流感病毒和 SARS病毒病等呼吸道传染病。本实验结果也证明,在较大湿度 70% 和较高温度 30°C 下,臭氧作用时间和浓度都可以相对较小,就能有很好的杀毒效果,而温度较低和湿度较小的情况下,则需要较高浓度的臭氧和较长的作用时间才能杀死病毒。

参考文献:

- [1] 吴惠贤,魏文康.长效清消毒剂对鸡 NDY和 IBDV的消灭效果 [J]. 广东农业科学, 1997, 2: 47- 48
- [2] 王天星.臭氧消毒效果评价方法 [C]. 1997北京臭氧应用技术研讨会论文集. 北京:北京电子报社, 1997: 44- 51
- [3] 丁兰英.臭氧杀菌效果及其有关特性 [C]. 1997北京臭氧应用技术研讨会论文集. 北京:北京电子报社, 1997: 52- 62
- [4] 殷 震.动物病毒学 [M]. 北京:科学出版社, 1997: 673
- [5] 刘建文,李月辉.用对流免疫电泳试验检测鸡传染性法式囊病血清抗体 [J]. 动物科学与动物医学, 1999, 16 (1): 17- 18
- [6] 王 芳.臭氧消毒研究进展 [C]. 1997北京臭氧应用技术研讨会论文集. 北京:北京电子报社, 1997: 10- 14
- [7] 薛广波.臭氧消毒 [C]. 1997北京臭氧应用技术研讨会论文集. 北京:北京电子报社, 1997: 36- 43

Study on the Sterilize Efficiency of Ozone Acting on IB Virus in the Air

Hong Bo¹ Wang Pinhong¹ Ji Yigu² Xiong Xiangyun² Wang Xiaoyu¹ Zhang Libin¹

(1 *Ocean University of China*;

2 *Throat Hospital of Qingdao, Qingdao 266003, China*)

Abstract: In the experiments, ozone, as a kind of oxidizing agent, is used to kill IB virus, a representative type of coronary virus. The coronary virus with different treatments were cultivated in eggs of 10 days old and tested by means of CIE. The results showed that the ozone density is an important factor, which affects the lethal oxidizing impacts of ozone. When the density of ozone is larger than $20.3\text{mg}/\text{m}^3$ and the treating time more than 15min, the virus were put into inactivation completely. The humidity and temperature both affect the efficiency of ozone. The higher humidity and temperature, the more obvious sterilize efficiency.

Key words: ozone; coronary virus; sterilize experiment