

报告编号: XDJ-2021-023

试 验 报 告

委托单位: 山东能洁动保科技有限公司

试验单位: 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

国家非洲猪瘟专业实验室

联系电话: 0451-51051781

二〇二一年九月

声 明

1. 本报告仅对送检的样品在试验内容中的结果负责。
2. 本报告涂改、增删无效，未加盖单位印章无效。
3. 本报告和本机构的名称不得用于产品标签、广告、商业宣传和评优等。
4. 如对本报告有异议，请于收到报告之日起十五个工作日内以书面形式向检测机构提出异议。
5. 如有违背声明操作，将追究法律责任。

联系地址：哈尔滨市香坊区哈平路 678 号

邮政编码：150069

联系电话：0451-51051781

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

国家非洲猪瘟专业实验室



能灭杀灭非洲猪瘟病毒效果评价

本实验室对山东能洁动保科技有限公司委托能灭（过硫酸氢钾复合物粉）进行了体外灭活非洲猪瘟病毒（ASFV）的试验，现将试验结果报告如下：

1 材料与方法

1.1 受试消毒剂

受试消毒剂相关信息见表 1。

表 1 消毒剂相关信息

消毒剂名称	主要成分	规格	生产企业	生产批号
能灭 (过硫酸氢钾复合物粉)	过硫酸氢钾三盐复合物、有机酸、氯化钠等	有效氯不少于 10.0%	山东能洁动保科技有限公司	2021092001

1.2 非洲猪瘟病毒

以高致病性非洲猪瘟病毒 Pig/H LJ/2018 株为骨架，构建携带 GFP 标签感染性克隆病毒株，由本实验室鉴定和保存。

1.3 猪原代肺泡巨噬细胞（PAMs）

猪原代肺泡巨噬细胞分离于 30-40 天 SPF 猪，SPF 猪来源于哈尔滨兽医研究所实验动物基地，PAMs 用含 10%胎牛血清 1640 培养基于 5% CO₂ 中 37℃进行培养。

1.4 中和剂的配制

按照 0.5%胰蛋白胨、0.25%酵母提取物、1%D-葡萄糖、0.1%巯基乙酸钠、0.6%硫代硫酸钠、0.25%亚硫酸氢钠、0.7%卵磷脂、0.5%吐温 80 的成份，使用 PBS 溶液配制，完全溶解高压后备用。

1.5 消毒剂对细胞的毒性试验

将消毒剂倍比稀释后，接种到基本长满单层 PAMs 细胞培养板上，37℃ 5% CO₂ 温箱中培养 96 小时，每 24 小时观察细胞状态，确定消毒剂对细胞最大无毒浓度。

1.6 消毒剂对病毒杀灭试验

1.6.1 模拟浸泡消毒方式评价消毒剂对病毒杀灭效果

病毒与消毒剂 1:10 均匀混合，25℃分别作用 1 分钟、3 分钟、10 分钟和 20 分钟后；再加入中和剂 25℃作用 10 分钟，加入细胞维持液进行 10 倍稀释，加入已长满单层 PAMs 细胞培养板中，每个浓度重复 4 孔，同时设置中和剂对照组、阳性对照组和阴性对照组，37℃ 5% CO₂ 温箱中培养，每 24 小时观察细胞状态及病毒复制产生荧光情况，观察 96 小时后统计试验结果。

1.6.2 模拟喷雾消毒方式评价消毒剂对病毒杀灭效果

每个滤纸片加入 1×10^6 copies/mL 浓度 ASFV，其中 1 片接毒纸片直接加入细胞维持液中作为阳性对照，同时设未加毒的作为阴性对照，其余已加病毒纸片在距离 2-3cm 处喷洒消毒剂 2-3 次，25℃分别作用 1 分钟、3 分钟、10 分钟和 20 分钟后，将所有纸片放入细胞维持液中浸泡 10 分钟，然后旋涡震荡 10 秒，加入已长满单层 PAMs 细胞培养板中，每个浓度重复 4 孔，37℃ 5% CO₂ 温箱中培养，每 24 小时观察细胞状态及病毒复制产生荧光情况，观察 96 小时后统计试验结果。

1.6.3 结果判定标准

在阳性对照组孔内细胞荧光阳性率 90%以上，阴性对照组孔内无荧光信号成立前提下，若试验组孔内无荧光信号证明病毒被消毒剂完全灭活；若试验组孔内有明显荧光信号证明病毒未被消毒剂完全灭活。

2 结果

2.1 消毒剂对 PAMs 细胞的毒性试验

将 4 个试验浓度消毒剂用细胞维持液倍比稀释，接种到 PAMs 细胞上，37℃5% CO₂ 温箱中培养，每天观察细胞状态，消毒剂最大无毒浓度见表 2。

表 2 消毒剂最大无毒浓度

消毒剂浓度	1:100	1:200	1:400	1:800
稀释倍数	1:16	1:8	1:4	1:4

2.2 消毒剂对非洲猪瘟病毒杀灭作用

参考使用说明书、细胞毒性试验及具体试验方案，消毒剂在 25℃条件下采用四种不同浓度和三种不同作用时间对非洲猪瘟病毒灭活效果进行检测。结果判定标准为试验组无明显荧光信号，证明非洲猪瘟病毒被消毒剂完全灭活。结果见表 3 至表 8。

表 3 在 25℃条件下消毒剂浸泡方式与 ASFV 作用后荧光观察结果

消毒剂名称	消毒剂稀释浓度/作用时间															
能灭 过硫酸氢钾 复合物粉	1:100				1:200				1:400				1:800			
	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟
	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	有	无	无	无

表 4 在 25℃ 条件下消毒剂喷雾方式与 ASFV 作用后荧光观察结果

消毒剂名称	消毒剂稀释浓度/作用时间															
能灭 过硫酸氢钾 复合物粉	1:100				1:200				1:400				1:800			
	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟	1 分 钟	3 分 钟	10 分 钟	20 分 钟
	无	无	无	无	无	无	无	无	有	无	无	无	有	有	无	无

3 结论

3.1 浸泡消毒方式

在 25℃ 条件下，能灭（过硫酸氢钾复合物粉）1:100 浓度作用 1 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒；1:200 浓度作用 1 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒；1:400 浓度作用 1 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒，1:800 浓度作用 3 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒。

3.2 喷雾消毒方式

在 25℃ 条件下，能灭（过硫酸氢钾复合物粉）1:100 浓度作用 1 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒；1:200 浓度作用 1 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒；1:400 浓度作用 3 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒，1:800 浓度作用 10 分钟能完全灭活非洲猪瘟病毒。

本次试验结果仅对送检样品负责。

以下空白。

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

国家非洲猪瘟专业实验室

2021 年 09 月 24 日