



T060067

中性电解水对猪蓝耳病毒和伪狂犬病毒体外抑杀效果研究*

郝晓霞^{1,2**} 沈志强^{2***} 王金良² 李保明¹ 施正香¹
王朝元¹ 南松剑¹ 曹薇^{1***}

(1. 中国农业大学农业部设施农业工程重点开放实验室 北京 100083;

2. 山东省滨州畜牧兽医研究院 山东滨州 256600)

引言

猪繁殖与呼吸综合症病毒 (PRRSV) 俗称蓝耳病毒, 既可在同猪群间水平传播, 也可垂直传播, 且传染无季节性^[1,2]。伪狂犬病毒 (PRV) 具有感染动物种类多和致病性强的特点^[3]。两种病毒可致母猪繁殖障碍, 引起仔猪急性致死, 给养猪业带来严重危害。

国内外多采用接种疫苗和消毒相结合方式防治。目前, 我国畜牧养殖场通常采用物理手段与化学消毒剂相结合的方法处理外源病毒。但化学消毒剂的使用带来了药物残留和环境污染等问题^[3]。因此, 研究和开发广谱、健康、绿色环保消毒技术对发展无公害、绿色养殖业, 保障食品安全具有重要意义。

中性电解水 (NEW) 是稀食盐水或稀盐酸溶液在电场作用下电解而成的水溶液。其生产成本低, 无腐蚀性, 物理化学性质稳定, 具有与强酸性电解水同等的瞬时高效杀菌特性^[4-6]。本文主要研究中性电解水对猪蓝耳病毒和伪狂犬病毒的杀灭效果, 确定中性电解水杀灭此两种病毒的适宜技术指标。

1 材料与方法

1.1 试验材料和设备

猪蓝耳病毒 DY 株 (经典美洲型 PRRSV, $TCID_{50}=10^{6.0}$)、伪狂犬病毒 K-61 株 (PRV, $TCID_{50}=10^{4.9}$)、猴肾细胞 (Mark-145)、仓鼠肾细胞 (BHK-21), 细胞培养基 (含 6% 胎牛血清的 DMEM 细胞培养液)、细胞维持液 (含 3% 胎牛血清的 DMEM 细胞培养液)、中性电解水发生器等。

1.2 试验方法

将有效氯浓度为 30、50、70 和 90 mg/L 的中性电解水, 与病毒悬液以 9 : 1 的比例混合, 分别作用 5、10 和 15 min, 然后分别与细胞维持液 (中和剂) 以 1 : 9 的比例混合, 再用维持液 10 倍梯度稀释依次接种到长成单层细胞的细胞培养板中 (原培养液弃去), 即 PRRSV 混合液接种到 Mark-145 细胞中, PRV 混合液接种到 BHK-21 细胞中。每个试样接种四个孔, 每孔 0.1 mL。然后置 37℃、5% 的 CO₂ 培养箱中吸附 1 h, 之后吸弃标本液, 再加入 0.2 mL 细胞维持液, 置 CO₂ 培养箱中继续培养, 每天观察, 连续 5~7 d。对照组: 只加入 0.2 mL 细胞维持液作细胞对照, 用细胞维持液将病毒悬液 10 倍梯度稀释后作病毒对照。每组试验至少重复 3 次, 结果取平均值。试验均在室温下 (25 ± 2℃) 进行。

2 结果与讨论

1.2 Mark-145 细胞和 BHK-21 细胞对中性电解水的耐受性

*基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (30871957); 教育部高校博士点基金项目 (200800190031); 2007 年教育部新世纪优秀人才支持计划。
**作者简介: 郝晓霞 (1986—), 女, 山西太原人, 硕士研究生。研究方向: 农业生物环境工程。E-mail: xiaoxia6363@126.com。
***通讯作者: 曹薇 (1972—), 女, 江西九江人, 博士, 副教授, 博士生导师。主要从事农业生物环境工程方面的研究。北京市海淀区清华东路 17 号 中国农业大学 (东校区) 67 信箱, 100083。E-mail: caowei@cau.edu.cn。
沈志强 (1963—), 男, 山东荣成人, 博士, 研究员, 博士生导师。主要从事预防兽医学与兽医生物制品学领域的研发。E-mail: bzshenzq@163.com。



用pH 7.07~7.33, ORP 852-864 mV和有效氯浓度分别为30、50、70、90和120 mg/L的中性电解水处理Mark-145细胞和BHK-21细胞。结果表明,有效氯浓度为30~120 mg/L的中性电解水对Mark-145细胞和BHK-21细胞均无毒副作用。

2.2 中性电解水对猪蓝耳病毒 (PRRSV) 体外抑杀效果

中性电解水对 PRRSV 具有较强的体外抑杀效果,且随着有效氯浓度和作用时间的增加抑杀效果增强。当有效氯浓度为 30 mg/L 的中性电解水分别作用 5、10 和 15 min, PRRSV 半数感染量分别从 $10^{6.0}/0.1\text{ml}$ 降低为 $10^{3.2}$ 、 $10^{2.5}$ 和 $10^{1.7}/0.1\text{ mL}$, 杀灭率分别为 99.84、99.97 和 100%。有效氯浓度为 50 mg/L 的中性电解水处理 5 min 后, PRRSV 的半数感染量减少到 $10^{2.5}/0.1\text{mL}$, 杀灭率为 99.97%, 当处理时间达到 10 和 15 min 时,即可将半数感染量为 $10^{6.0}/0.1\text{mL}$ 的 PRRSV 完全杀灭。有效氯浓度大于或等于 70 mg/L 时,中性电解水可以完全杀灭 PRRSV,使其完全丧失感染细胞的活性,且抑杀效果与作用时间无关,杀菌率达到 100%。

2.3 中性电解水对伪狂犬病毒 (PRV) 的体外抑杀效果

当有效氯浓度为 30 mg/L 的中性电解水对 PRV 作用 5、10 和 15 min 时, PRV 半数感染量分别从 $10^{4.9}/0.1\text{mL}$ 下降为 $10^{3.5}$ 、 $10^{3.0}$ 和 $10^{2.8}/0.1\text{mL}$, 杀灭率达 96.02、98.74 和 99.21%。当有效氯浓度大于 50 mg/L, 作用时间超过 10 min, 中性电解水可以 100% 杀灭 PRV。

3 结论

有效氯浓度为 30~90 mg/L 的中性电解水对猪蓝耳病毒和伪狂犬病毒均有较好的杀灭效果,其有效氯浓度和作用时间是影响抑杀效果的重要因素,中性电解水对两种病毒的杀灭率均随着有效氯浓度和处理时间的增加而增强。中性电解水杀灭猪蓝耳病毒和伪狂犬病毒的适宜参数为有效氯浓度 50 mg/L, 处理时间 10 min, 此时,对两种病毒的杀灭率均为 100%, 病毒完全丧失了感染细胞的活性。此外,用低有效氯浓度的中性电解水处理或缩短作用时间也可达到杀灭部分病毒的目的。中性电解水对 Marc-145 和 BHK-21 两种宿主细胞均无毒副作用。本研究结果为中性电解水应用于养猪场的消毒提供了科学依据,特别适用于生态自然环保养猪场和无公害、绿色养猪场的消毒。

参考文献 (略)