

ICS 97.180

Y 69

CAQI

团 体 标 准

T/CAQI 8X—2020

---

# 具有消毒功能的车载空气净化器 技术要求和试验方法

Technical requirements and test methods of car air cleaner with disinfection function

(讨论稿)

2020 - XX - XX 发布

2020 - XX - XX 实施

中国质量检验协会 发布



## 前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则起草。  
请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由XXX提出。

本文件由中国质量检验协会空气净化设备专业委员会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：



# 具有消毒功能的车载空气净化器技术要求和试验方法

## 1 范围

本文件规定了车载空气消毒机（以下简称：车载消毒机）的术语和定义、分类、技术要求、试验方法、检验规则、标志、使用说明、包装、运输和贮存。

本文件适用于供汽车内使用的空气消毒机。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该注日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 191 包装储运图示标志

GB/T 2828.1-2012 计数抽样检验程序 第1部分：按接收质量限(AQL)检索的逐批检验抽样计划

GB/T 2829 周期检验计数抽样程序及表(适用于对过程稳定性的检验)

GB 4706.45 家用和类似用途电器的安全 空气净化器的特殊要求

GB/T 6388 运输包装收发货标志

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 9969 工业产品使用说明书 总则

GB/T 13306 标牌

GB/T 18801 空气净化器

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB 21551.3-2010 家用和类似用途电器的抗菌、除菌、净化功能 空气净化器的特殊要求

WS/T 648-2019 空气消毒机通用卫生要求

《消毒产品标签说明书管理规范》中华人民共和国卫生部（2005年版）卫监督发[2005]426号

## 3 术语和定义

WS/T 648界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**车载空气消毒机** vehicle mounted air disinfectant

利用物理、化学方法杀灭或去除车内空气中化学污染物，同时能达到消毒要求的车载空气净化器。

### 3.2

**消毒因子** disinfection factor

具有杀灭细菌、病毒、霉菌等功能的化学或物理因子。

## 4 分类

按消毒因子可分为4类:

- a) 物理因子型新风净化机
- b) 化学因子型新风净化机
- c) 其他因子的新风净化机
- d) 综合因子型新风净化机

## 5 技术要求

### 5.1 正常工作条件

正常工作条件如下:

- a) 环境相对湿度 45%~80%;
- b) 大气压力: 70 kPa~106 kPa;
- c) 环境温度: -40 °C~100 °C;
- d) 电源: 车载蓄电池供电或车载太阳能系统供电; 使用面积范围: 3 m<sup>3</sup>~6 m<sup>3</sup>。

### 5.2 外观与结构

- 5.2.1 外表面应平整光洁、色泽均匀。应无明显的凹痕、划伤、裂缝、变形、粗糙不平和其它损伤。表面涂层应均匀, 无起泡, 龟裂和脱落现象, 金属零部件不应有锈蚀及其它机械损伤。
- 5.2.2 如配有智能感应装置, 应能实时自动检测并显示空气品质、PM2.5、温湿度等数据。
- 5.2.3 主要部件应无害、无异味、不造成二次污染材料制作, 应坚固、耐用。
- 5.2.4 标牌、商标等应固定在车载消毒机的明显位置。各种标牌的固定位置应正确、牢固、平直、整齐, 并应清晰、耐久。表示产品功能的文字、符号、图形标志应标记清晰、准确。
- 5.2.5 车载消毒机的净化、过滤等材料应能够更换或再生, 其装置能够清洗或消毒。
- 5.2.6 内部关键件应采用耐老化、耐腐蚀的材料。

### 5.3 性能要求

应GB/T 18801相关规定

### 5.4 除菌性能

- 5.4.1 对白色葡萄球菌的杀灭率 $\geq 99.90\%$ ;
- 5.4.2 对空气的自然菌的消亡率 $\geq 90\%$ ;
- 5.4.3 单位时间内的杀菌率 $\geq 90\%$  (企业提供)
- 5.4.4 对其它菌种的抗菌 (除菌) 率应符合 GB 21551.3-2010 中 4.2.1 的规定。

### 5.5 消毒效果

- 5.5.1 甲型流感病毒 A/PR8/34 (H1N1) 杀灭率不小于 99.99%。
- 5.5.2 肠道病毒 EV71 (宿主细胞 Vero 细胞) 杀灭率不小于 99.99%。

## 6 试验方法

### 6.1 试验仪器和设备

- 6.1.1 测量仪器和设备的准确度应符合表1的规定。

表 1 测量仪器和设备的准确度

测量参数	测量仪器和设备	单位	准确度
压力	微压计、电传感器	Pa	1.0
	大气压力计	kPa	0.2
风量	喷嘴组	%	2.0
漏风率	漏风量测量装置	%	1.0
电气特性	功率表	级	0.5
	电压表		
	电流表		
	频率表		
噪声	声级计	dB(A)	0.5
PM <sub>2.5</sub> 浓度	粉尘仪	mg/m <sup>3</sup>	0.001mg/m <sup>3</sup>
臭氧	臭氧测试仪	mg/m <sup>3</sup>	2%
紫外线泄漏量	紫外辐照计	μW/m <sup>2</sup>	0.1μW/m <sup>2</sup>

6.1.2 试验时的测量仪器和设备应在计量检定有效期内。

## 6.2 外观与结构

视检。

## 6.3 性能要求

按GB/T 18801方法测试。

## 6.4 除菌性能

在GB/T 18801-2015附录A的3m<sup>3</sup>试验舱进行试验，按GB 21551.3-2010中附录A的规定进行检测。

## 6.5 消毒效果

按附录A的规定进行。

## 7 检验规则

### 7.1 检验分类

检验分为出厂检验和型式检验两种。

### 7.2 型式试验

7.2.1 在下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 新产品试制鉴定时；
- b) 正式投产后，设计、工艺材料、元器件有较大改变，可能影响产品质量时；
- c) 停产1年以上，恢复生产时；

- d) 正常生产每年进行一次；
- e) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- f) 国家质量技术监督部门提出要求时。

7.2.2 型式检验为抽检，从出厂检验合格的产品中，按 GB/T 2829 规定抽取相应数量的产品进行型式检验。

7.2.3 型式检验项目：第 5 章全项和 8.1.1 标志。

7.2.4 型式检验判定：必须全部符合规定判为合格。如有一项目不合格，可重新抽取加倍数量的产品就该不合格项目进行复验，复验合格，该批产品判为合格；如仍有不合格，则该批产品判为不合格。

## 8 标志、使用说明包装、运输和贮存

### 8.1 标志

#### 8.1.1 产品标志

车载消毒机的铭牌应符合 GB/T 13306 的规定，车载消毒机应在其明显部位加贴铭牌，铭牌上至少包括下列内容：

- a) 制造单位名称；
- b) 产品型号和名称；
- c) 产品主要技术参数（包括：噪声、杀毒率等）、适用车型或机型；
- d) 尺寸、重量；
- e) 产品执行标准号；
- f) 制造日期或产品批号；
- g) 生产许可证编号；
- h) 卫生许可批件号；
- i) 注意事项。

#### 8.1.2 包装标志

产品外包装箱上应标注以下内容：

- a) 产品名称、型号；
- e) 制造厂名称、地址；
- f) 重量：净重、毛重；
- g) 体积（长×宽×高）；
- h) 执行标准号；
- i) 出厂年月/产品批号/产品编号；
- j) 符合 GB/T 6388 规定的收发货标志；
- k) 符合 GB/T 191 规定的包装储运图示标志等。

### 8.2 使用说明

产品出厂应附有使用说明书，使用说明书应符合 GB/T 9969 和《消毒产品标签说明书管理规范》的规定，并标注以下内容：

- a) 产品名称、规格；
- b) 产品参数；
- c) 安装、调试、操作；



- d) 维修、保养及故障处理说明;
- e) 运输、验收及贮存注意事项;
- f) 产品标准号;
- g) 产品合格证;
- h) 结构图;
- i) 执行标准;
- j) 随机文件清单。

### 8.3 包装、运输和贮存

#### 8.3.1 包装

8.3.1.1 车载消毒机应用牢固的包装箱包装，外包装标志应符合 GB/T 191 的规定，并有防潮、防震保护措施。

8.3.1.2 包装应保证车载消毒机在正常运输和保管条件下，不因受震、装卸、受潮和侵入灰尘而使过滤网等部件损伤，车载消毒机及附件在包装箱内应固定可靠，必要时加适当衬垫。

8.3.1.3 车载消毒机及其附件以固定数量装入包装箱中，包装应有可靠的防碰撞措施。

8.3.1.4 包装箱内应附有以下文件：

- a) 产品合格证;
- b) 使用说明书;
- c) 产品保修卡;
- d) 零配件清单。

#### 8.3.2 运输

8.3.2.1 车载消毒机应采用箱式或遮篷运输，在运输和装卸过程中，应轻拿轻放，防止碰撞、划伤、重压和损坏产品及附件，防止暴晒和雨雪淋袭，严格隔绝有毒物品污染。

8.3.2.2 运输收发标志应符合 GB/T 6388 的规定。

#### 8.3.3 贮存

8.3.3.1 车载消毒机包装、装箱后，应存放在干燥、通风，无腐蚀性气体的库房内，室内无酸、碱、盐及腐蚀性、爆炸性气体，不受灰尘雨雪的侵蚀。

8.3.3.2 包装好的车载消毒机应放置在周围空气温度在 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}\sim+55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，通风、干燥、不受雨雪侵蚀的条件下贮存。贮存期不超过 2 年。

**附录 A**  
**(规范性附录)**  
**杀病毒效果要求和试验方法**

**A.1 范围**

本附录规定了宣称对甲型流感病毒、肠道病毒EV71、冠状病毒具有杀灭功能的车载消毒机的要求和  
方法。

本附录适用于宣称对甲型流感病毒、肠道病毒EV71、冠状病毒具有杀灭功能的车载消毒机。  
宣称杀灭其它病毒的车载消毒机可参考本附录的方法。

**A.2 术语和定义**

**A.2.1**

**病毒 virus**

没有细胞结构、只能在宿主细胞内进行复制的微生物或遗传单元，由蛋白质外壳和内部的遗传物质  
(DNA或RNA)组成。病毒不能独立生存，必须生活在其他生物的细胞内，一旦离开活细胞壳就不表现任  
何生命活动迹象。

**A.2.2**

**试验舱 test chamber**

用于测定产品对空气中目标污染物去除能力的限定空间装置，规定了形状、尺寸和换气次数等基本  
条件。其规格参见GB/T 18801-2015附录A的3m<sup>3</sup>试验舱。

**A.2.3**

**自然衰亡 natural decay**

在规定空间内，由于沉降、附聚、失活等非人为因素，导致空气中目标污染物浓度的降低。

**A.2.4**

**病毒杀灭率 virus removal rate**

在规定空间内，由于产品的运行，导致病毒气溶胶浓度降低的百分率。

**A.3 测试条件**

注：使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验，实验室应满足GB 19489要求。本文件并未指出所有可能的  
安全问题，使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

**A.3.1 试验环境**

如无特殊说明，试验应符合下列一般条件：

- a) 试验环境温度 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，环境湿度为相对湿度 $(50 \pm 10)\%$ ，无外界气流，无强烈阳光和  
其他辐射作用的室内进行；
- b) 电压和频率波动范围不得超过额定值的 $\pm 1\%$ ；
- c) 试验用水为GB/T 6682中规定的三级及以上用水。

### A.3.2 试验仪器设备

试验用仪器仪表的性能、精度、量程应满足被测量的要求。

- a) 电工仪表其精度应不低于 0.5 级，出厂试验应不低于 1.0 级；
- b) 测量温度用的仪表不确定度应在  $\pm 0.5$  °C 以内；
- c) 测量时间用的仪表不确定度应在  $\pm 0.5\%$  以内
- d) 水量计以升 (L) 计，精确至 0.01 L；
- e) 压力计以帕 (Pa) 计，精确至 0.02 MPa；
- f) 试验舱：符合附录 A 相关要求；
- g) 倒置显微镜；
- h) 离心机：控速范围 500 r/min~10000 r/min，准确度 1%；
- i) 二级气溶胶发生器：用于喷雾发生病毒气溶胶，喷出的气溶胶微粒的直径 90% 以上应在 0.1  $\mu\text{m}$ ~10  $\mu\text{m}$  之间；
- j) 二氧化碳培养箱：控温范围 室温置 50 °C，准确度 1 °C，可维持 5% 的二氧化碳浓度；
- k) 高压蒸汽灭菌锅：温范围 105 °C~128 °C，准确度 1 °C；控压范围 50 kPa~300 kPa，压力精度 5 kPa；
- l) 干热灭菌箱：温范围 50 °C~200 °C，准确度 2 °C；
- m) 生物安全柜：应为符合 YY 0569 规定的 II 级及以上生物安全柜；
- n) 冰箱：控温范围 2 °C~8 °C， $-(20\pm 2)$  °C， $-(80\pm 2)$  °C；
- o) 可调移液器：量程：10  $\mu\text{L}$ ~100 $\mu\text{L}$ ，100  $\mu\text{L}$ ~1000  $\mu\text{L}$ ，1 mL~5 mL。
- p) 水浴锅：控温范围：25 °C~55 °C，准确度 1 °C。
- q) 细胞培养板：经  $\gamma$ -射线灭菌的 6 孔及 96 孔细胞培养板。
- r) 细胞瓶：经  $\gamma$ -射线灭菌后具有一定培养面积和带滤膜瓶盖的细胞培养瓶，瓶盖可拧紧。用于贴壁细胞培养。瓶盖的滤膜用 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜来交换空气。
- s) 生化培养箱：控温范围 20 °C~50 °C，准确度 1 °C
- t) 培养皿、试管、锥形瓶等其它微生物学试验耗材：微生物培养和实验的各个规格。

### A.4 甲型流感病毒

#### A.4.1 杀灭率

甲型流感病毒 A/PR8/34 (H1N1) 杀灭率不小于 99.99%。

#### A.4.2 病毒的制备

##### A.4.2.1 制备要求

本节规定了甲型流感病毒 A/PR8/34 (H1N1)、宿主细胞 (MDCK 细胞) 传代培养及测试用病毒悬液的制备流程。其它病毒及宿主细胞制备流程，参照按本节规定的方法进行。不同病毒或细胞的培养温度、时间等参数可以根据需要进行调整。

甲型流感病毒 A/PR8/34 (H1N1) 的操作应在 BSL-2 级及以上级别试验室操作，其它病毒应在不小于其对应的试验室级别上操作。

##### A.4.2.2 制备步骤

- a) 从液氮中取出冻存的试验用宿主细胞，在 37℃温水中迅速融化，用毛细吸管移至于含有细胞维持液的细胞管内。吹吸数次，使混匀，立即离心（3000r/min，3min），去上清液。再加入适当的细胞维持液，吹吸数次，使混匀，同上离心后，转种于加有 10ml 完全培养基的培养瓶中。逐日观察细胞生长情况，在细胞长满单层时，用于消毒试验。
- b) 取出低温冻存的试验病毒毒种，37℃水浴融化，用细胞维持液作 10 倍稀释然后接种于已经长满单层细胞的细胞瓶内，置 37℃温箱中，使与细胞吸附、生长。逐日观察病变，待 3/4 细胞出现病变时，收获病毒，置-80℃保存。
- c) 将含有病毒及宿主细胞的培养液，在冰浴条件下，用超声波（或反复冻融）破碎宿主细胞，释放病毒。然后，尽快离心（6000r/min，15min）去除沉淀（主要为细胞破碎片），上清液即为所需的病毒悬液。按每管 1.0ml 分装与无菌离心管（1.5ml）中。4) 通过蚀斑或 TCID<sub>50</sub> 方法检测病毒滴度是否超过 10<sup>7</sup>PFU 或 TCID<sub>50</sub>/ml，若滴定度低于 10<sup>7</sup>PFU 或 TCID<sub>50</sub>/ml，则从头开始从新制备。使用前，将冷冻的病毒放入 37℃水浴，使其迅速解冻。解冻后即检测用的病毒悬液，若不立即使用，可暂存于 4℃冰箱。

#### A. 4. 3 测试步骤

- a) 准备好试验用试剂和用品，需要无菌的，应提前灭菌备用。
- b) 将待检验的产品按 GB/T 18801-2015 附录 A 的 A. 4 的要求放置于试验舱内，并将使用的器材一次放入试验舱内，将门关闭。
- c) 同时调节实验组和对照组试验舱的测试环境，使之保持一致。包括：打开操作间的送风装置，送入经过高效过滤器的循环风以维持操作间的压差，以防止试验舱中的微生物气溶胶外泄；开启高效空气过滤器，净化试验舱内空气，使其洁净度达到万级以上；启动温湿度控制装置，使室内温度和相对湿度达到规定状态。
- d) 关闭高效空气过滤器和湿度控制装置，将病毒悬液用 PBS 或维持培养基稀释成所需浓度。按照喷射装置装置设定的压力、、气体流量及喷射时间向试验空间中喷病毒悬液，边喷病毒悬液，边用风扇搅拌。喷染完毕，继续搅拌 5 min，然后静置 5min。
- e) 以细胞维持培养基或其它合适的液体为采样液，同时对试验组和对照组试验舱进行实验前病毒浓度采样，采样时间 1min~5min。要求试验舱内空气中各阳性对照病毒数应在 5.0×10<sup>5</sup>PFU/m<sup>3</sup>（或 TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>）~5.0×10<sup>7</sup>PFU/m<sup>3</sup>，否则试验无效。
- f) 待试验舱内的初始病毒数(t=0 min)测定后，开启被测样机，设定至规定状态，作用至预定时间后，关闭机器。作用时间应不大于 1 h。
- g) 样机作用至 1 小时，停止运行，即刻对试验组和对照组试验舱同时进行采样。采样高度为 0.8 m~1.2 m，采样时间 1 min~5 min。

注：采样时间可以视舱内污染物浓度确定。

- h) 采样完毕后，选择合适的方法计算每毫升样液中的病毒的含量。最后计算每立方空气中病毒的数量。
- i) 采样液和培养用的培养基应同时进行培养，作为阴性对照。阴性对照组不得出现病毒空斑、病变和杂菌，否则说明试验中有污染，试验无效，更换无菌器材重新进行。
- j) 试验完毕后，对试验舱空气进行消毒。打开紫外灯，消毒 30 min~60 min，然后用臭氧或其他消毒方法对空气净化器消毒 30 min。
- k) 空白对照组和试验组应同时进行测试，试验重复进行 3 次（每次试验间隔至少 1d），每次均分别计算其杀灭率。

#### A. 4. 4 病毒的计数

实验室可以根据自身的实验条件和实验技术，选择下面任意一种方法进行病毒的计数。

#### A. 4. 4. 1 噬斑法

- a) 按以下步骤进行试验：在 6 孔细胞培养板的每个孔内培养单层细胞，并用显微镜观察细胞的生长状态。当观察到长满的单层细胞时，弃掉生长培养基。加适量细胞维持培养基洗掉残留的生长培养基，重复洗 2 次。病毒液原液及每个梯度的稀释液均接种 2 孔用于测试，接种量 0.1mL。如果原液接种到第一个 2 孔，则接下来的 2 孔接种 1/10 稀释液，以此类推。最后一个 2 孔，接种双倍维持培养基，做阴性对照。把 6 孔板放入 CO<sub>2</sub> 培养箱（34℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>）孵育 1 h，以便让病毒吸附到细胞上。每隔 15 min 摇一下细胞板，让病毒悬液充分和细胞接触。取 2 mL~3 mL 维持培养基加到 6 孔板上，清洗表面，然后弃掉多余的培养基。加入 3 mL 琼脂培养基做蚀斑实验，盖上盖子并放室温 10min 左右让琼脂培养基凝固。待琼脂培养基凝固后，倒置细胞板，放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中（34℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>）培养 2 d~3 d。然后，从培养箱中把细胞板拿出来，放正，添加 3 mL 的福尔马林溶液以固定细胞，令其在室温下固定至少 1 h。弃掉琼脂培养基，添加 3 mL 亚甲基蓝溶液，室温下保持 15 min 对细胞染色。染色完毕，弃掉亚甲基蓝溶液，用水冲洗一下。确认细胞染色。计算斑的数量（白色斑点），取两个孔的平均值。
- b) 培养时间及温度可以随测试病毒的种类进行改变。
- c) 实验结束后，按以下步骤计算 PFU 值：从接种了不同稀释度病毒液的培养孔计数得到蚀斑的数量（空斑的数量宜在 60 个以内，超过 60 个时，空斑的边界将不清晰）。空斑的数量以每个稀释度上两个数据的平均值计。对合适的稀释度上的蚀斑进行计数，其空斑数量如下标准进行：
  - 如果不同稀释度中的一个出现了 6~60，则取 6~60 进行计算；
  - 如果原液的空斑数 < 6，则取原液孔上的空斑作为测试的 PFU；
  - 如果原液的空斑数 < 1，包括 0，则以 1 计算测试的 PFU。

#### A. 4. 4. 2 TCID<sub>50</sub> 法

在 96 孔细胞培养板的每个孔内培养单层细胞，并用显微镜观察细胞的生长状态。当观察到长满的单层细胞时，弃掉生长培养基。加 0.1 mL 细胞维持培养基洗细胞表面，重复洗 2 次。病毒原液及每个梯度的稀释液均接种 8 孔用于测试，接种量 0.1 mL，并以双倍维持培养基做阴性对照。把 96 孔板放二氧化碳培养箱（34℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>）孵育 1 h，以便让病毒吸附到细胞上。之后弃掉 96 孔板的上清液，取 0.1 mL 细胞维持培养基，洗板，弃掉多余的细胞维持培养基。加入 0.1 mL 细胞维持培养基后将 96 孔板放 CO<sub>2</sub> 培养箱（34℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>）培养 7 d。通过倒置显微镜观察细胞病变。确认细胞病变之后用 Behren 和 Karber 方法计算 TCID<sub>50</sub>，得到每毫升采样液中的病毒数量（TCID<sub>50</sub>/mL）。

培养时间及温度可以随测试病毒的种类进行改变。

#### A. 4. 5 杀灭率计算

##### A. 4. 5. 1 每立方空间中病毒数量

按公式 (A. 1) 进行计算

$$C = \frac{N \times V}{F \times t} \times 1000 \dots\dots\dots (A. 1)$$

式中：

- $C$ ——每立方空间中病毒的数量 (PFU/m<sup>3</sup>或TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>) ;
- $N$ ——每毫升采样液原液中病毒的数量 (PFU/mL或TCID<sub>50</sub>/mL) ;
- $V$ ——采样液体积 (mL) ;
- $F$ ——采样流量 (L/min) ;
- $t$ ——采样时间 (min) 。

#### A. 4. 5. 2 杀灭率计算方法

杀灭率按照公式 (A. 2) 进行计算:

$$K_t = \frac{C_0(1 - N_t) - C_t}{C_0(1 - N_t)} \times 100 \dots\dots\dots (A. 2)$$

式中:

- $K_t$ ——产品的杀病毒率 (%) ;
- $C_0$ ——为试验组在试验前的空气含病毒量 (PFU/m<sup>3</sup>或 TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>) ;
- $C_t$ ——为试验组在试验后的空气含病毒量 (PFU/m<sup>3</sup>或 TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>) ;
- $N_t$ ——对照组中空气中病毒的自然消亡率, 按照公式 (A. 3) 计算:

$$N_t = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \dots\dots\dots (A. 3)$$

式中:

- $C_0$ ——对照组在试验前的空气含病毒量 (PFU/m<sup>3</sup>或 TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>) ;
- $C_t$ ——对照组在试验后的空气含病毒量 (PFU/m<sup>3</sup>或 TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>) 。

### A. 5 肠道病毒

#### A. 5. 1 杀灭率

肠道病毒EV71 (宿主细胞Vero细胞) 不小于99. 99%。

#### A. 5. 2 病毒的制备

##### A. 5. 2. 1 制备要求

本节规定了肠道病毒EV71、宿主细胞 (Vero细胞) 传代培养及测试用病毒悬液的制备流程。其它病毒及宿主细胞制备流程, 参照按本节规定的方法进行。不同病毒或细胞的培养温度、时间等参数可以根据需要进行调整。

肠道病毒EV71的操作应在BSL-2级及以上级别试验室操作, 其它病毒应在不小于其对应的试验室级别上操作。

##### A. 5. 2. 2 制备步骤

- a) 从液氮中取出冻存的试验用宿主细胞, 在 37℃温水中迅速融化, 用毛细吸管移至于含有细胞维持液的细胞管内。吹吸数次, 使混匀, 立即离心 (3000r/min, 3min), 去上清液。再加入适当的细胞维持液, 吹吸数次, 使混匀, 同上离心后, 转种于加有 10ml 完全培养基的培养瓶中。逐日观察细胞生长情况, 在细胞长满单层时, 用于消毒试验。

- b) 取出低温冻存的试验病毒毒种，37℃水浴融化，用细胞维持液作10倍稀释然后接种于已经长满单层细胞的细胞瓶内，置37℃温箱中，使与细胞吸附、生长。逐日观察病变，待3/4细胞出现病变时，收获病毒，置-80℃保存。
- c) 将含有病毒及宿主细胞的培养液，在冰浴条件下，用超声波（或反复冻融）破碎宿主细胞，释放病毒。然后，尽快离心（6000r/min，15min）去除沉淀（主要为细胞破碎片），上清液即为所需的病毒悬液。按每管1.0ml分装与无菌离心管（1.5ml）中。4) 通过蚀斑或TCID<sub>50</sub>方法检测病毒滴度是否超过10<sup>7</sup>PFU或TCID<sub>50</sub>/ml，若滴定度低于10<sup>7</sup>PFU或TCID<sub>50</sub>/ml，则从头开始重新制备。使用前，将冷冻的病毒放入37℃水浴，使其迅速解冻。解冻后即作为检测用的病毒悬液，若不立即使用，可暂存于4℃冰箱。

### A. 5.3 测试步骤

同X. 4. 3的方法。

### A. 5.4 病毒的计数

同X. 4. 4的方法。

### A. 5.5 杀灭率计算

同X. 4. 5的计算方法。

---