

研 究 报 告

The research report

样品名称 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液

委托单位 深圳市能驭生态化工科技有限公司

报告编号 PT01012008


上海复旦复达科技有限公司

样品名称 Name of Sample	能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液		
样品编号 Sample Number	PT01012008	研究类别 Test Sort	委托实验
委托单位 Entrustment Company	深圳市能驭生态化工科技有限公司		
相关单位 Relative Customer	—		
到样日期 Date of Sample Received	5月1日	样品数量 Amount of Sample	1
样品状态描述 Description of Sample	液体		
检测依据和方法 Standards and Methods	实验室方法		
检验日期 Date of testing	5月7日至6月21日		
检验结论 Test Conclusion	本报告仅提供实测值。详见本报告检测结果汇总页。		
委托单位通讯资料 Entrustment company communicate data	—		
备注 Remarks	—		

 编制: 袁广翔

 签发: 陈楚强

 审核: 刘峰

 日期: 2021-06-21


能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液灭活新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 的效果检测

1 实验目的

测试送检能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液是否能够灭活新型冠状病毒 (SARS-CoV-2), 以及计算灭活病毒的效率。

2 送检样品和试剂

送检样品为一种能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液 (简称消毒液), 由深圳市能驭生态化工科技有限公司提供。

DE 中和剂: 购自于默克, 货号 D3435-500G, 称取 3.9 g DE 中和剂粉末溶于 100 mL 双蒸水, 高温高压灭菌后备用。

3 细胞及病毒

Vero E6 细胞: 非洲绿猴肾细胞, Vero E6 细胞的培养条件: 37°C, 5% CO₂ 加湿培养箱中培养。培养基使用含有 10%胎牛血清 (FBS)、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 的链霉素 (碧云天#C0222) 的 DMEM 培养基。细胞培养 2-3 天, 长满时传代。

病毒: 新型冠状病毒, SARS-CoV-2, 病毒原液滴度约为 1×10^8 TCID₅₀/mL,

病毒原液中的胎牛血清 (FBS) 浓度约为 2%。

4 实验原理

SARS-CoV-2 病毒感染 Vero E6 细胞后, 能在 Vero E6 细胞中大量快速复制, 并将子代病毒颗粒释放到细胞培养上清中, 培养 3 天后, 可观察到明显的细胞病变 (cytopathic effect, CPE), 由此可判断细胞培养孔中是否有 SARS-CoV-2 的复制, 然后计算出样品中病毒的 TCID₅₀ 值。

本实验方案根据《消毒技术规范 (2002)》设计。

5 实验过程

5.1 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液和 DE 中和剂的细胞毒性

5.1.1 将接种到细胞培养板中的 Vero E6 细胞去上清后加 100 μL 含 2% 胎牛血清的 DMEM 培养基。

5.1.2 将能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液或 DE 中和剂用含 2% 胎牛血清的 DMEM 培养基 2 倍梯度稀释后加入到细胞孔中, 将细胞培养板放入二氧化碳培养箱继续培养。

5.1.3 细胞培养 3 天后, 在显微镜下观察细胞的状态, 判断能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液或 DE 中和剂对细胞的毒性。

5.2 DE 中和剂的中和效果验证

5.2.1 不同浓度的 DE 中和剂与病毒液孵育 30 min 后, 取样测 TCID₅₀。

5.2.2 DE 中和剂与不同浓度的消毒剂混合 10 min 后, 加入病毒液孵育 30min 后, 取样测 TCID₅₀。

5.2.3 不同浓度的 DE 中和剂与消毒剂混匀 10 min 后, 加入病毒孵育 30min 后, 取样测 TCID₅₀。

5.2.4 病毒对照放置 30 min, 取样测 TCID₅₀。

5.2.5 取等量细胞培养液, 加入到细胞中, 作为阴性对照。

5.3 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液的病毒灭活效果验证

5.3.1 用去离子水将消毒液稀释到不同浓度, 与病毒液孵育 30 min 后, 取样测 TCID₅₀。

5.3.2 消毒液与病毒液孵育 30 min 后, 加入验证后 DE 中和剂混匀放置 10min, 取样测 TCID₅₀。

5.3.3 病毒对照放置 30 min, 取样测 TCID₅₀。

5.3.4 取等量细胞培养液, 加入到细胞中, 作为阴性对照。

5.4 病毒的 TCID₅₀ 测定

滴度测定采用最常用的 50% 组织培养感染剂量法检测病毒的 TCID₅₀。

5.4.1 将接种到细胞培养板中的 Vero E6 细胞去上清后加 100 μL 含 2%胎牛血清的 DMEM 培养基。

5.4.2 将 5.2 和 5.3 中收集的样品, 用感染培养基 10 倍梯度稀释, 共稀释 8 个浓度梯度。

5.4.3 将稀释好的病毒样品加入到 96 孔板的细胞孔中, 每孔 100 μL , 每个梯度 4 个复孔。将细胞放入培养箱中继续培养。

5.4.4 培养 3 天后, 显微镜下观察细胞病变 (CPE), 阳性细胞孔记为 “+”, 否则记为 “-”, 用 Karber 法计算样品中的病毒 TCID₅₀ 值。

6 检测结果

6.1 DE 中和剂鉴定结果

DE 中和剂可以有效中和稀释了 5 倍的能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液对新型冠状病毒的灭活作用。且 DE 中和剂及中和产物对新型冠状病毒没有灭活效果, 对 Vero E6 细胞没有毒性。以下实验均为稀释了 5 倍的能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液的病毒灭活结果, 如表 1 所示, 其中:

- ① 消毒液与病毒悬液孵育 30 分钟后, 取样测病毒 TCID₅₀ 值;
- ② 消毒液与病毒悬液孵育 30 分钟后, 加入 DE 中和剂孵育 10 分钟, 取样测病毒 TCID₅₀ 值;
- ③ DE 中和剂与病毒悬液孵育 30 分钟后, 取样测病毒 TCID₅₀ 值;
- ④ 消毒液与 DE 中和剂孵育 10 分钟后, 再与病毒悬液孵育 30 分钟, 取样测病毒 TCID₅₀ 值;

- ⑤ 病毒悬液加入上述实验等量的双蒸水后放置 30 分钟, 取样测病毒 TCID₅₀ 值, 作为病毒阳性对照;
- ⑥ 细胞阴性对照。

表 1 DE 中和剂鉴定结果

实验组别	病毒滴度对数值 lgTCID ₅₀ /mL	平均病毒总数 TCID ₅₀ /mL	平均灭活对数值 lgTCID ₅₀ /mL
①	≤2.2	≤1.58×10 ²	> 4
②	≤2.2	≤1.58×10 ²	> 4
③	7.29±0.09	1.93×10 ⁷	0
④	7.12±0.09	1.30×10 ⁷	0.17
⑤	7.29±0.09	1.93×10 ⁷	-
⑥	0	0	-

6.2 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液对新型冠状病毒的灭活效果

经过 3 次重复实验, 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液与 SARS-CoV-2 病毒液 100 μL 孵育 30 分钟, 实验结果见表 2。

表 2 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液对新型冠状病毒的灭活效果

样品名称	病毒滴度对数值 IgTCID ₅₀ /mL	平均病毒总数 TCID ₅₀ /mL	平均灭活对数值 IgTCID ₅₀ /mL	病毒灭活率%
能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液	≤2.2	≤1.58×10 ²	> 4	> 99.99
病毒对照	7.20±0.09	1.58×10 ⁷	-	-

经过 3 次重复实验, 能驭克肃™银离子皮肤黏膜消毒液与 SARS-CoV-2 病毒液 100 μL 孵育 30 分钟, 对 SARS-CoV-2 病毒的灭活率 > 99.99%。

报告结束

注 意 事 项

- 1、本报告无“复旦大学复达科技中心报告章”公章无效。
- 2、未经本单位书面批准，不得自行复制本报告。如确有需要，应持公函或介绍信申请复制。
- 3、对检验报告若有异议，应于收到本报告之日起 10 日内向本实验室提出，过期不予受理。
- 4、报告仅对来样负责，检测结束后样品原则上保留时间为 30 日。
- 5、本机构对委托单位技术文件、报告文本、合同文件等商业秘密履行保密义务。
- 6、不包含 CMA 资质认定标志的报告，检测数据和结果仅供参考用，不作为社会公正性数据。中英文报告内容以中文为准。

