

# 团 体 标 准

T/SAEPI 005—2020

## 空气净化器及类似功能产品除病毒性能试验方法

Measurement of virus removal activity of indoor air cleaner and similar products

2020-6-10 发布

2020-07-20 实施

上海市环境保护工业行业协会  
上海市环境保护工业行业协会空气净化设备专业委员会

发布

---

## 目 次

前言.....	II
引言.....	III
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原理.....	2
5 试剂和材料.....	2
6 仪器设备.....	6
7 试验方法.....	7
8 去除率计算 .....	10
9 报告.....	11
附录A（规范性附录） 环境试验舱.....	12
附录B（资料性附录） EMEM培养基配方表.....	14

---

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由空气净化器行业联盟提出并归口。

本标准主要起草单位：广东省微生物分析检测中心、飞利浦（中国）投资有限公司、莱克电气股份有限公司、大金（中国）投资有限公司、北京亚都环保科技有限公司、博露雅迹（上海）商贸有限公司、珠海格力电器股份有限公司、上海市计量测量技术研究院、威凯检测技术有限公司、广州市微生物研究所、上海奔腾电工有限公司、苏州贝昂科技有限公司、上海爱启环境技术工程有限公司、宁波天瑞电器有限公司、宁波威霖住宅设施有限公司、东莞市净诺环境科技股份有限公司、曼胡默尔滤清器（上海）有限公司、苏州工业园区安泽汶环保技术有限公司、青岛华世洁环保科技有限公司、深圳市得志科技有限公司、弘丰塑料制品（深圳）有限公司、深圳喀尔木环保材料有限公司、上海吉若奥净化科技有限公司、上海市环境保护工业行业协会。

本标准主要起草人：孙廷丽、黎玉莲、周少璐、张志强、郭诚、罗俊华、王小慧、杨军、杨颖、顾闻哲、徐燕君、万分龙、黄继仿、冉宏宇、段海宁、赵家伟、禹安平、陈瑞、高峰、秦玲、毛宏焕、凌广、李峰、李崇朝、黄涛、王康。

本标准为首次发布。

全国团体标准

---

## 引 言

随着生活水平提高和技术的进步，室内空气净化器及类似功能产品的研发和应用得到了长足进展，涌现出了许多功能性的产品，许多产品都宣称具有抗病毒性能。对此类产品的性能的测试，是目前行业内比较迫切的需求，但由于目前尚没有统一规范的标准方法，不能满足企业的需求。

本标准提供了空气净化器及类似功能产品除病毒性能的检测方法，为各方面如消费者、生产者、零售商等提供了一个客观的方式来正确的判断产品的除病毒性能。

使用本标准进行检测的空气净化器及类似功能产品的臭氧浓度和紫外泄漏应满足GB 4706.45和GB 21551.3规定的要求。

全国团体标准信息平台

# 室内空气净化器及类似功能产品除病毒性能测试方法

警告—使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验。本标准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。实验室应满足GB 19489要求，试验应在BSL-2或以上安全级别的生物安全实验室中操作，并确保实验室生物安全，实验过程中产生的废弃物，按生物危害废弃物处理，以保证操作人员的安全。

## 1 范围

本标准规定了室内空气净化器及类似功能产品除病毒性能的测试方法。

本标准适用于具有除病毒功能的室内及车载等使用的空气净化器及其类似功能的产品(具有空气净化和除菌功能的产品，如空调、空气消毒机等)。

本标准不适用于风道式空气净化装置及其它类似的空气净化新风机。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 18801 空气净化器

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

YY 0569 生物安全柜

人间传染的病原微生物名录(卫科教发[2006]15号)

## 3 术语和定义

以下术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### **空气净化器 air cleaner**

对空气中的颗粒物、气态污染物、微生物等一种或多种污染物具有一定去除能力的电器。

### 3.2

#### **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，通常由蛋白质和一种类型的核酸(DNA或RNA)组成。

### 3.3

#### **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。其规格参见附录 A。

### 3.4

#### **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。

### 3.5

#### **除病毒率 virus removal rate**

在规定空间内，由于产品的运行，导致空气中病毒气溶胶浓度降低的百分率。

## 4 原理

本试验方法的基本原理是在密闭试验舱内发生病毒气溶胶，在被测产品的除病毒功能运行特定时间后，采集产品试验舱内和对照试验舱内的空气，计数存活的病毒的数量，比较病毒的减少程度。

由于所采用的病毒类型的不同，试验方法分为流感病毒试验法和噬菌体试验法两种。这两种试验方法的基本原理一致。实验时，空气中病毒气溶胶可以来源于动物或人致病性病毒，也可以来源于噬菌体。这两类病毒的感染方式及宿主不同，从而导致其悬液制备及计数方式的不同。本标准的各使用方可以根据需要来决定使用何种病毒，并根据所用的病毒的类型来决定使用何种实验方法，但报告中应标识所使用的方法及病毒种类，并根据所使用的病毒种类来宣称产品的功能。

## 5 试剂和材料

### 5.1 测试病毒

试验时，根据方法选用规定的病毒或噬菌体。为确保实验室生物安全，不宜使用《人间传染的病原微生物名录》中规定的一类及二类高致病性病毒。

#### 5.1.1 流感病毒试验法

甲型流感病毒 (H1N1): A/PR/8/34: TC adapted ATCC VR-1469,  
宿主: MDCK细胞 (狗肾上皮细胞) ATCC CCL-34。

也可以选择其他毒株进行试验，如甲型流感病毒H3N2、冠状病毒229E、肠道病毒EV71等，同时选择相应的病毒宿主细胞。

#### 5.1.2 噬菌体法

噬菌体φX174 (ATCC13706-B1)，宿主: 大肠埃希氏菌*E. coli* (ATCC 13706)；  
噬菌体MS2 (ATCC15597-B1)，宿主: 大肠埃希氏菌*E. coli* (ATCC 15597)；  
可以根据需要选用上述其中一种噬菌体进行实验。

### 5.2 试剂和培养基

此处使用的试剂和材料需满足生物学实验要求，即对病毒及宿主细胞无毒无害。实验室可以选用按照下列配方制备试剂，也可以按照所操作的病毒及宿主的情况自行购买适用的等效商品化试剂。

#### 5.2.1 水

所用的水应为符合GB/T 6682规定的三级水。

### 5.2.2 最低必需培养基 (EMEM)

在市场上可买到。配方见附录 B。如果市售配方不能满足需要，可根据配方表添加。

### 5.2.3 7.5%碳酸氢钠 (NaHCO<sub>3</sub>) 溶液

碳酸氢钠 (NaHCO <sub>3</sub> )	75 g
无菌水	1000 mL

溶解分装备用。

### 5.2.4 福尔马林溶液

37%的甲醛溶液	100 mL
无菌水	900 mL

混匀备用。

### 5.2.5 亚甲基蓝溶液

亚甲基蓝	0.375 g
氢氧化钠溶液 (1 Mol/L NaOH溶液)	62.5 μL
三级水	1000 mL

上述成分溶解并搅拌均匀。

### 5.2.6 灭活胎牛血清: FBS

把低温贮藏的胎牛血清放37°C水浴融化后置56°C水浴30 min，分装并于 -20°C冰箱里保存。

使用前，37°C水浴融化。

### 5.2.7 生长培养基

硫酸卡那霉素	60 mg
最低必需培养基	9.53 g
三级水定容至	1000 mL
用0.22μm的滤器除菌	
7.5% NaHCO <sub>3</sub>	15 mL
灭活的胎牛血清	100 mL

混匀使用。

### 5.2.8 维持培养基

硫酸卡那霉素	60 mg
最低必需培养基	9.53 g
三级水定容至	1000 mL
用0.22μm的滤器除菌	
7.5% NaHCO <sub>3</sub> 溶液	15 mL

混匀使用。

### 5.2.9 双倍浓度的维持培养基

硫酸卡那霉素	120 mg
最低必需培养基	19.06 g
三级水定容至	1000 mL
用0.22μm的滤器除菌	

### 5.2.10 0.01 mol/L 磷酸缓冲液 (PBS)

氯化钠 (NaCl)	8 g
氯化钾 (KCL)	0.2 g
十二水磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	2.9 g
磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.2 g
三级水定容至	1000 mL

分装后, 121°C、103 kPa、15 min高压灭菌。

## 5.2.11 从牛胰腺分离的胰蛋白酶和 PBS 溶液

### 5.2.11.1 胰蛋白酶母液

0.01 mol/L PBS溶液	100 mL
从牛胰腺分离到的胰蛋白酶	1.0 g

溶解并用振荡器振荡2 h混匀, 用0.22 $\mu\text{m}$ 滤器过滤除菌。分装后置-80°C保存。

### 5.2.11.2 胰蛋白酶溶液

0.01 mol/L PBS (-)	9 mL
胰蛋白酶母液	1 mL

溶解混匀, 分装好于-20°C保存。使用前, 37°C水浴溶解。

## 5.2.12 胰蛋白酶-EDTA 溶液

0.01 mol/L PBS (-)	1000 mL
胰蛋白酶	2.5 g
硫酸卡那霉素	0.1 g
硫酸链霉素	0.1 g
两性霉素B	2 mg
EDTA	0.014 mol

溶解混匀后, 用0.22  $\mu\text{m}$ 滤器过滤除菌。将溶液分装并保存在低于-20 °C的冰箱, 使用前, 在37°C水浴锅溶解。

胰蛋白酶EDTA溶液可以购买。使用前确认好产品的成分。

## 5.2.13 DEAE-葡聚糖溶液

DEAE-葡聚糖	20 g
三级水	1000 mL

溶解后, 使用0.22  $\mu\text{m}$ 滤器过滤除菌。

## 5.2.14 琼脂培养基

分别配制溶液A和溶液B, 使用前混匀。

### 5.2.14.1 溶液 A

双倍浓度的维持培养基	1000 mL
DEAE-葡聚糖溶液	10 mL
7.5% $\text{Na}_2\text{HCO}_3$ 溶液	40 mL
胰蛋白酶	3.0 mL (仅对流感病毒)。

使用前先置37°C水浴。

### 5.2.14.2 溶液 B。

琼脂粉	15 g
三级水	1000ml

用高压锅 (7.1) 121°C、103 kPa、15 min高压灭菌。

使用前置50°C水浴锅温浴。



### 5.2.15 TCID<sub>50</sub> 法用维持培养基

维持培养基	1000 mL
胰蛋白酶溶液	3 mL

使用前混匀备用。

### 5.2.16 底层营养琼脂培养基

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g
三级水	1000 mL

除琼脂外其它成份溶解于蒸馏水中，调 pH 至 7.2~7.4，加入琼脂，加热溶解，分装，于121℃ 压力蒸汽灭菌 20min 备用。

### 5.2.17 上层营养琼脂培养基

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
2.5 mol/L CaCl <sub>2</sub> 溶液	10 mL
琼脂	6 g
三级水	1000 mL

除琼脂外其它成份溶解于蒸馏水中，调 pH 至 7.2~7.4，加入琼脂，加热溶解，分装，于121℃ 压力蒸汽灭菌 20min 备用。

### 5.2.18 营养肉汤培养基

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	5 g
三级水	1000 mL

将各成分溶解于蒸馏水中，调 pH 至 7.2~7.4，分装，于 121℃ 压力蒸汽灭菌 20min 备用。

## 6 仪器设备

### 6.1 试验舱

6.1.1 除车用空气净化器除病毒性能试验时可根据其说明书中的使用要求选择采用 3 m<sup>3</sup> 试验舱外，其他产品均采用 30 m<sup>3</sup> 试验舱进行试验。试验舱的基本要求参照规范性附录 A。

6.1.2 试验舱的环境温度：20℃~25℃；环境湿度：50% RH~70% RH；

6.1.3 进行病毒检验时，还应满足如下实验条件：

采用相邻的一对试验舱，二者所处环境（包括温湿度、洁净度、光照、密封性及通风条件等）应

一致，并在实验过程中保持稳定。试验舱内设立独立的空气循环系统，经过滤净化后舱内空气洁净度应达到万级以上。实验室开始实验前通过自动控制阀使试验舱完全密闭，试验舱、试验舱外操作间及实验室环境之间形成梯度负压，保证气流由环境向试验舱的单向流动，防止病毒气溶胶外泄。

### 6.2 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。

### 6.3 空气微生物采样器

液体撞击式微生物采样器，对空气中微生物的捕获率大于95%。

### 6.4 二氧化碳培养箱

控温范围 室温置50  $^{\circ}\text{C}$ ，准确度1  $^{\circ}\text{C}$ ，可维持5%的二氧化碳浓度。

### 6.5 高压蒸汽灭菌锅

控温范围 105  $^{\circ}\text{C}$ ~128  $^{\circ}\text{C}$ ，准确度1  $^{\circ}\text{C}$ ；控压范围50 kPa~300 kPa，压力精度5 kPa。

### 6.6 干热灭菌箱

控温范围 50  $^{\circ}\text{C}$ ~200  $^{\circ}\text{C}$ ，准确度2  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 6.7 离心机

控速范围 500 r/min~10000 r/min，准确度1%。

### 6.8 生物安全柜

应为符合YY 0569规定的II级及以上生物安全柜。

### 6.9 倒置显微镜

用于培养细胞的观察。

### 6.10 冰箱

控温范围2  $^{\circ}\text{C}$ ~8  $^{\circ}\text{C}$ ，- (20 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ ，- (80 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 6.11 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。

### 6.12 水浴锅

控温范围：25  $^{\circ}\text{C}$ ~55  $^{\circ}\text{C}$ ，准确度1  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 6.13 细胞培养板

经 $\gamma$ -射线灭菌的6孔及96孔细胞培养板。

### 6.14 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。

### 6.15 生化培养箱

控温范围20  $^{\circ}\text{C}$ ~50  $^{\circ}\text{C}$ ，准确度1  $^{\circ}\text{C}$

### 6.16 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。

## 7 试验方法

### 7.1 流感病毒试验法

#### 7.1.1 宿主细胞和病毒悬液的制备

本部分规定了从低温中复苏宿主细胞、宿主细胞传代培养及测试用病毒悬液的制备流程。试验中，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。具体的步骤如下：

a) 从低温中复苏细胞

将低温储存的宿主细胞置37℃水浴，使其迅速融化。在离心后的细胞中加入适量生长培养基，轻轻吹匀，混匀后转入细胞培养瓶，置CO<sub>2</sub>培养箱（37℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>），培养（24±2）h。然后，用显微镜观察细胞是否贴壁。若细胞长满，进行下一步操作，若没有，继续放入培养箱培养。弃掉细胞瓶内剩余的培养基。加入适量新生长培养基到上面培养过的细胞瓶中。将细胞瓶放进CO<sub>2</sub>培养箱（37℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>），培养（48±2）h。用显微镜观察细胞瓶内细胞，确定细胞是否全部贴壁。若细胞尚未长满，重复上述步骤直至细胞长满。然后，按照宿主细胞传代培养的步骤开始连续传代。

b) 宿主细胞传代培养

在确定细胞长满后弃掉细胞瓶中剩余的培养基。加入PBS缓冲液3 mL~5 mL，冲洗细胞瓶底部的细胞表面，重复洗2~3次。冲洗完毕后，在细胞瓶内加入1 mL 胰蛋白酶EDTA溶液，覆盖细胞表面，对细胞进行消化，使细胞从细胞瓶上分离下来。消化完毕后，加2 mL~5 mL维持生长培养基到细胞瓶中，用移液器温和吹打培养基以充分混匀，避免破坏细胞。准备一个新的有通气帽盖的细胞瓶，用移液器吸取消化下来的适量细胞悬液加入到细胞瓶中。然后按细胞瓶规格补足适量新生长培养基。盖上细胞瓶的盖子并放入CO<sub>2</sub>培养箱（37℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>）培养，并定时观察细胞形态及生长情况。细胞传代培养后，将细胞按照病毒感染实验要求，在6孔或96孔板内接种细胞，以用于蚀斑试验或TCID<sub>50</sub>试验。

c) 检测病毒的准备

在细胞瓶中准备好宿主细胞。将冷冻的病毒放入（36±1）℃水浴，使其迅速解冻，并将其转移倒一个新的试管中，用维持培养基将其稀释到10<sup>3</sup> PFU/mL（或TCID<sub>50</sub>/mL）~10<sup>4</sup> PFU/mL（或TCID<sub>50</sub>/mL）。接种1 mL稀释好的病毒液到细胞瓶中的细胞表面，使其覆盖均匀。将细胞瓶放入CO<sub>2</sub>培养箱（34℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>），培养1 h使病毒吸附入细胞。补足适量维持培养基至细胞瓶，并将细胞瓶放入CO<sub>2</sub>培养箱（34℃±1℃，5% CO<sub>2</sub>）培养1d~3d，增殖流感病毒。逐日观察细胞病变，判断流感病毒的增殖情况。若细胞已发生3/4病变后，将含有病变细胞及病毒的培养液放入离心管中，于（4±1）℃，1000 g离心15 min。离心后，取上清，即得到流感病毒液。按适当体积将病毒液分装，置-（80±2）℃保存。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/mL（或TCID<sub>50</sub>/mL），若滴度低于10<sup>7</sup> PFU/mL（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（36±1）℃水浴，使其迅速解冻。解冻后即进行检测用的病毒悬液，若不立即使用，可暂存于2℃~8℃冰箱。

实验室可以根据实验技术能力和经验，选择其它文献报道的有效的病毒培养和制备方法。

### 7.1.2 产品除病毒实验步骤

a) 准备好试验用试剂和用品，需要无菌的，应提前灭菌备用。确定试验的记录文件，包括试验日期、时间、环境温湿度条件等。

b) 将待检验的产品按要求放置于试验舱内。把产品调节到试验的工作状态，检验运转正常，然后关闭产品。将使用的器材一次放入试验舱内，将门关闭。此后，一切操作和仪器设备的操作均在舱外通过带有密封袖套的窗口或摇控器进行。直至试验结束，方可将门打开。

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1 min~5min。要求试验舱内空气中各阳性对照病毒数应在 $5.0 \times 10^5$  PFU/m<sup>3</sup> (或TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup>) ~  $5.0 \times 10^7$  PFU/m<sup>3</sup> (或TCID<sub>50</sub>/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≤1 h。

g) 样机作用至预定的第一个时间(说明书规定时间的0.5倍),即刻对试验组和对照组试验舱同时进行采样;继续作用至第二个预定时间(说明书规定的时间),停止运行,再次按前述方法进行采样。采样高度为0.8 m~1.2 m,采样时间1 min~5 min。

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),每次均分别计算其除病毒率。

### 7.1.3 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。

#### 7.1.3.1 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,弃掉旧的培养基。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。采样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。

培养时间及温度可以随测试病毒的种类进行改变。

b) 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:

- 1) 如果不同稀释度中的一个出现了6~60,则取6~60进行计算;
- 2) 如果原液的空斑数<6,则取原液孔上的空斑作为测试的PFU;
- 3) 如果原液的空斑数<1,包括0,则以1计算测试的PFU。

#### 7.1.3.2 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,弃掉旧的培养基。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0.1mL,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 °C±1 °C，5% CO<sub>2</sub>）培养4d~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。

## 7.2 噬菌体试验法

### 7.2.1 宿主及噬菌体悬液的制备

按以下步骤制备宿主细胞悬液及噬菌体悬液。

#### a) 宿主菌制备：

活化噬菌体宿主细菌两次，待菌种生长至对数期后，使用PBS将其制备成10<sup>9</sup> CFU/mL的菌悬液。

#### b) 噬菌体悬液的制备：

活化宿主菌，挑取典型菌落接种到10 mL NB液体培养基中，（37±1）°C、150 r/min振荡培养16 h~20 h，再取1 mL菌悬液接种到100 mL NB液体培养基中，（37±1）°C、150 r/min培养4 h。接种1 mL噬菌体母液至培养好的菌悬液中，剧烈振荡，（37±1）°C培养18 h~24 h。培养结束后，加入2 mL氯仿，剧烈振荡10 min，将培养液分装至合适的离心管中，8000 r/min离心5 min，取上清液，用0.22 μm孔径的薄膜过滤，得到噬菌体悬液；测噬菌体效价后存放室温或2 °C~8 °C冰箱备用，需长期保存的噬菌体放置-（80±2）°C。

### 7.2.2 产品除噬菌体实验步骤

实验步骤同7.1.3。实验中采样液使用PBS溶液。

### 7.2.3 噬菌体的计数

噬菌体的计数采用双层平板法。试验时，将制备好的NA培养基倒入平板中，冷却后作为底层平板备用。宿主菌活化后制备成10<sup>9</sup> CFU/mL的菌悬液，菌悬液需新鲜制备，不能立即使用的，应放2 °C~8 °C保存，当天使用。将待计数的噬菌体悬液做十倍梯度稀释，制成不同梯度的稀释液，取合适稀释度的噬菌体悬液1 mL，加1 mL宿主菌悬液，再加入5 mL上层培养基，充分混匀，平铺于制备好的底层培养基平板上。每个稀释度做两个平行皿。待上层培养基凝固后，倒置平板，培养18 h~24 h后点数。噬菌体的数量取两个平行皿的平均数，并以该平均值乘以对应的稀释倍数作为每毫升采样液中的噬菌体数量（PFU/mL）。

## 8 去除率计算

### 8.1.1 每立方空间中病毒数量

按公式（1）进行计算

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

其中：

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）。

### 8.1.2 病毒去除率

病毒去除率按照式（2）进行计算：

---

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

其中：

$K_t$ —产品的除病毒率（%）；

$C_0$ —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，按照式（3）计算：

$$K_t = \frac{C_0' - C_t'}{C_0'} \times 100 \quad (3)$$

其中：

$C_0'$ —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>）；

## 9 报告

报告应至少包括以下内容：

- a) 试验是按本标准进行的；
  - b) 样品名称及型号；
  - c) 检测时样机的运行状态；
  - d) 测试条件：包括试验舱体积、试验舱温湿度；
  - e) 试验病毒及宿主名称、编号及试验舱内初始病毒浓度及最终病毒浓度；
  - f) 作用时间（min）和病毒去除率（%）；
  - g) 其它任何对本标准的偏离。
-

**附录 A**  
**(规范性附录)**  
**环境试验舱**

**A.1 环境试验舱的结构**

试验舱的结构参数及安全性设计要求见表A.1.

表A.1

项目	结构参数	
试验舱容积	30m <sup>3</sup>	3m <sup>3</sup>
实验舱内尺寸	3.5m×3.4m×2.5m, 允许±0.5m <sup>3</sup> 偏差	1.4m×1.4m×1.5m, 允许±0.1m <sup>3</sup> 偏差
框架	铝型材或不锈钢	
壁	用厚度为5mm以上浮法平板玻璃或厚度为0.8mm以上的不锈钢	
地板	用厚度为0.8mm以上的不锈钢	
顶板	不锈钢板或类似材料金属复合板	
密封材料	用硅胶条或玻璃密封胶	
搅拌风扇	直径约1.0m~1.5m, 三叶	直径约0.5m~1.0m, 三叶
循环风扇	500m <sup>3</sup> /h~700m <sup>3</sup> /h, 直径20cm, 安装位置: 离地1.5m, 离后墙0.4m	无
气密性	换气次数不大于0.05h <sup>-1</sup>	
混合度	80%	
试验舱相对压强	-20 KPa~-40KPa	
操作间相对压强	-10 KPa~-20KPa	
微生物杀灭装置	臭氧紫外灯	

**A.2 试验样机的置放要求**

**A.2.1 30 m<sup>3</sup> 试验舱**

a) 按照试验样机的类型放置: 地面型直接置于试验舱中心位置地面上, 桌面型和吸顶型置于试验舱中心位置高700 mm的台面上, 壁挂型置于试验舱中心位置, 使下沿距地面1800 mm。

b) 按出风口高低分类: 如无注明, 出风口小于700 mm的样机置于试验舱中心位置高700mm的台面上, 出风口高度大于或等于700 mm的, 置于试验舱中心位置地面之上。

**A.2.2 3 m<sup>3</sup>试验舱**

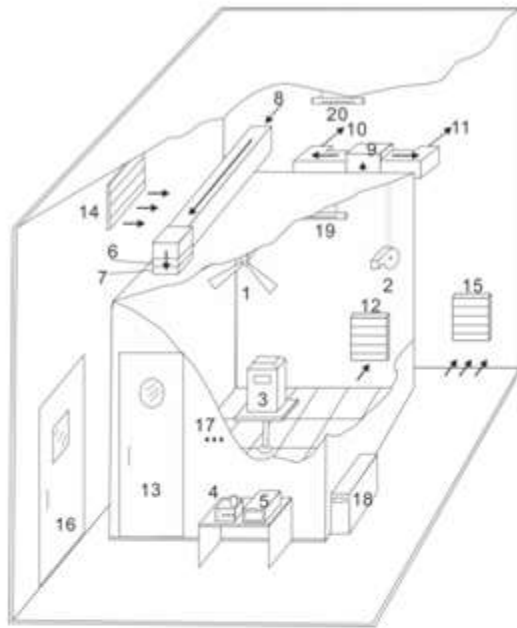
按出风口位置放置, 出风口小于400 mm的, 置于400 mm高的台面上, 出风口高度大于或等于400 mm的, 应放置于地面上。

**A.3 试验舱清洁**

试验不得连续进行, 应先清洁消毒试验舱, 再进行下次试验。

**A.4 试验舱结构示意图**

除3 m<sup>3</sup>试验舱不含循环风扇外, 其基本机构均与30m<sup>3</sup>试验舱一致, 参数均参照GB/T 18801。30 m<sup>3</sup>试验舱结构示意图见图A.1。



说明: ↵

1-搅拌风扇↵

2-循环风扇↵

3-试验样机↵

4-污染物检测装置↵

5-污染物发生装置↵

6-空气过滤器↵

7-试验舱供气阀↵

8-试验舱恒温恒湿空调送风(兼排风时送风)↵

9-风道换向阀(用于转换 10 和 11 两种回风路径)↵

10-试验舱恒温恒湿空调回风↵

11-试验舱向室外排风(含空气过滤器)↵

12-试验舱排风阀↵

13-试验舱门↵

14-外舱恒温空调进风口↵

15-外舱恒温空调回风口↵

16-外舱门↵

17-试验舱采样口及送样口↵

18-稳压电源↵

19-臭氧紫外灯↵

20-臭氧紫外灯↵

表 A.1 30 m<sup>3</sup> 试验舱示意图↵



**附录 B**  
**(资料性附录)**  
**EMEM 培养基配方表**

表B.1列出了EMEM的配方。EMEM可以在市场上购买。如果其配方中缺失了表B.1中的某些成分，可根据表B.1添加。

表B.1 EMEM 配方表

每1000mL水		mg
氨基酸	L-精氨酸盐酸盐L-Arginine HCl	126.40
	L-胱氨酸二盐酸盐L-Cystine 2HCl	31.20
	L-谷氨酰胺L-Glutamine	292.00
	L-组氨酸盐酸盐一水物/ Histidine HCl H <sub>2</sub> O	41.90
	L-异亮氨酸Isoleucine	52.50
	L-亮氨酸Leucine	52.50
	L-赖氨酸盐酸盐Lysine HCl	72.50
	L-蛋氨酸Methionine	15.00
	L-苯丙氨酸Phenylalanine	32.50
	L-苏氨酸Threonine	47.60
	L-色氨酸L-Tryptophan	10.00
	L-酪氨酸二钠二水物L-Tyrosine 2Na 2H <sub>2</sub> O	51.90
	L-缬氨酸L-Valine	46.80
维生素	氯化胆碱Choline Chloride	1.00
	D-泛酸钙D Calcium Pantothenate	1.00
	叶酸Folic Acid	1.00
	木糖醇Myo Inositol	2.00
	烟酰胺Nicotinamide	1.00
	盐酸吡哆辛Pyridoxine HCl	1.00
	核黄素Riboflavin	0.10
	盐酸硫胺Thiamine HCl	1.00
无机盐	氯化钙Calcium Chloride [CaCl <sub>2</sub> ]	200.00
	硫酸镁Magnesium Sulfate [MgSO <sub>4</sub> ]	97.70
	氯化钾Potassium Chloride [KCl]	400.00
	氯化钠Sodium Chloride [NaCl]	6 800.00
	一水磷酸四氢钠Sodium Phosphate Monobasic Monohydrate [NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O]	140
其它	D 葡萄糖Dextrose	1 000.00
	苯酚红钠盐Phenol Red Sodium Salt	10.00