



Virucidal effekt af surt elektrolyseret vand (ECA) mod afrikansk svinepestvirus og fugleinfluenzavirus

[Chae Hong RHEE](#) , <sup>1</sup> [Soohee KIM](#) , <sup>1</sup> [Young Eun KANG](#) , <sup>1</sup> [Bokhee HAN](#) , <sup>1</sup> [Sang-Ji SEO](#) , <sup>1</sup> [Young Wook KIM](#) , <sup>1</sup> [Moon HER](#) , <sup>1</sup> og [Wooseog JEONG](#) <sup>1,\*</sup>

[Forfatteroplysninger](#) [Artikelnoter](#) [Copyright](#) og [licensoplysninger](#) [Ansvarsfraskrivelse](#)

Denne artikel er blevet [citeret af](#) andre artikler i PMC.

## Abstrakt

Denne undersøgelse evaluerede den virucidale virkning af surt elektrolyseret vand (ECA) mod afrikansk svinepestvirus (ASFV) og aviær influenzavirus (AIV), ifølge Animal and Plant Quarantine Agency (APQA) retningslinjer for effektivitetstest af veterinære desinfektionsmidler. ECA (pH 5,0-6,5) blev fremstillet under anvendelse af en kommercielt tilgængelig "Electrolyzed Water Generator" med en fri klor koncentration (FAC) på 5-140 ppm, og dens effektivitet til at reducere titeren af ASFV og AIV blev testet i en suspension under lav - og høj organisk tilsmudsning. Under lave organiske tilsmudsningsforhold var ECA med FAC  $\geq 40$  ppm effektiv mod ASFV; under høje organiske tilsmudsningsforhold var ECA med FAC  $\geq 80$  ppm effektiv mod ASFV. Under lave organiske tilsmudsningsforhold var ECA med FAC  $\geq 60$  ppm effektiv mod AIV; under høje organiske tilsmudsningsforhold var ECA med FAC  $\geq 100$  ppm effektiv mod AIV. Den virucidale effekt af ECA syntes at være afhængig af FAC og tilstedeværelsen af organisk snavs. Baseret på disse data anbefaler vi følgende minimums-FAC'er i ECA-behandling til rutinemæssig desinfektion i veterinærområdet under lav- og højniveau organiske tilsmudsningsforhold: for ASFV, 50 ppm og 100 ppm; og for AIV henholdsvis 75 ppm og 125 ppm. Som konklusion understreger de virucidale virkninger af ECA mod ASFV og AIV dets potentielle anvendelighed som et desinfektionsmiddel, og vi foreslår, at man overvejer organiske tilsmudsningsforhold, mens man bruger ECA til at implementere effektive kontrolforanstaltninger til feltanvendelser. Baseret på disse data anbefaler vi følgende minimums-FAC'er i ECA-behandling til rutinemæssig desinfektion i veterinærområdet under lav- og højniveau organiske tilsmudsningsforhold: for ASFV, 50 ppm og 100 ppm; og for AIV henholdsvis 75 ppm og 125 ppm. Som konklusion understreger de virucidale virkninger af ECA mod ASFV og AIV dets potentielle anvendelighed som et desinfektionsmiddel, og vi foreslår, at man overvejer organiske tilsmudsningsforhold, mens man bruger ECA til at implementere effektive kontrolforanstaltninger til feltanvendelser.

**Nøgleord:** surt elektrolyseret vand, afrikansk svinepestvirus, aviær influenzavirus, desinfektion, virucidal effekt

I Sydkorea blev afrikansk svinepestvirus (ASFV) først påvist på en farm fra far til ende, og det forårsagede udbrud af afrikansk svinepest (ASF) i 2019 [ 16 ]. Derudover er der blevet identificeret en kontinuerligt udviklende højpågen aviær influenzavirus (AIV) siden det første udbrud af H5N1 højpågen aviær influenza (AI) i 2003 [ 14 ]. Fremkomsten af smitsomme dyresygdomsvira har haft ødelæggende økonomiske konsekvenser. Mellem 2013 og 2016 blev cirka 48 millioner husdyr dræbt i Korea i et forsøg på at forhindre spredning af AI [ 8 ].

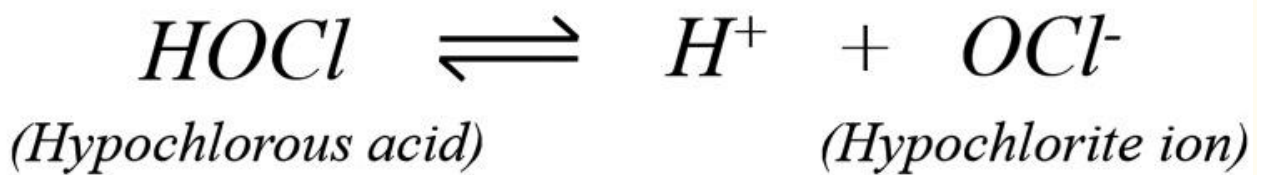
ASFV og AIV er patogener, indkapslede vira, som er yderst skadelige for svine- og fjerkræindustrien. De spredes via direkte kontakt med inficerede dyr og er i stand til at spredes via miljøet, herunder ved kontakt med materialer, der er forurenet med virusholdigt materiale. I øjeblikket er der ingen tilstrækkelig vellykkede sygdomsbekæmpelsesforanstaltninger mod ASFV og AIV, og masseudslagning af inficerede dyr og dyr, der kan have haft kontakt med dem, er en væsentlig strategi, da forebyggelse og bekæmpelse i høj grad er afhængig af effektiv biosikkerhed [ 12 , 13 , 18 , 19 , 33 ]. Desinfektion er en vigtig strategi for at reducere risikoen for at forurene miljøer, og desinfektionsmidler er vigtige værktøjer til biosikkerhedsprogrammer [ 5 , 12 ].

Klorbaserede desinfektionsmidler, såsom natriumhypoklorit, er meget udbredt på grund af deres høje effektivitet og lave omkostninger. Som desinfektionsmiddel er klor en stærk oxidant og bruges til at bekæmpe et bredt spektrum af bakterier og vira i den kliniske, landbrugs- og fødevarerindustri [ 4 , 11 , 25 , 27 , 28 , 29 ]. En fælles bekymring er dog, at det er potentielt giftigt, ætsende og flygtigt og efterlader giftige rester [ 1 , 10 , 27 ]. Fremskridt inden for teknologi har muliggjort produktion i stor skala af stabilt kloreret vand gennem elektrolyse af fortyndet saltopløsning, som også omtales som "elektrolyseret vand (ECA)" eller "elektrokemisk aktiveret (ECA) vand" [ 4 , 25 , 30 ].

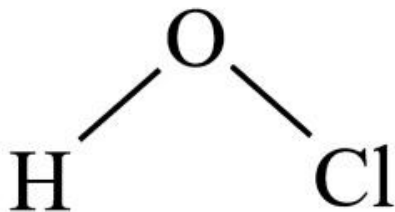
Navnlig har talrige undersøgelser vist fordelene ved sur ECA; disse omfatter bredspektret antimikrobiel aktivitet, ikke-miljømæssige farer, reduceret korrosion, ikke-toksicitet, lave omkostninger og let produktion på stedet, hvilket indikerer dets anvendelighed og biokompatibilitet som et desinfektionsmiddel [ 9 , 10 , 17 , 22 , 25 , 29 ].

Hypoklorsyre (HOCl) er en form for frit klor og en aktiv komponent i ECA. ECA dannes ved at lede et vandigt salt (NaCl) eller en syreopløsning (HCl) gennem en elektrolysecelle, hvor elektrolysereaktionen finder sted. Den vandige saltopløsning tilføres elektrolysecellen, og den efterfølgende producerede klorion elektrolyseres til klor, som igen reagerer med vand for at danne HOCl. Som vist i [Fig. 1](#) HOCl dissocieres yderligere til hypokloritioner ( $\text{OCl}^-$ ), som også omtales som frit klor, og hydrogenioner ( $\text{H}^+$ ). Reaktionen er reversibel og pH-afhængig [20]. Disse tre arter eksisterer i ligevægt, og opløsningens pH dikterer de fremherskende klorarter; udissoiceret HOCl dominerer ved lavere pH, hvorimod dissoiceret  $\text{OCl}^-$  dominerer ved højere pH [20]. ECA anses for at have en pH på 5,0-6,8 og indeholder HOCl som den dominerende art (ca. 95%), hvilket er en mere effektiv og stærkere oxidant end  $\text{OCl}^-$  [1, 10, 20, 30].

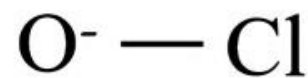
(1)



(2)

*(Hypochlorous acid)*

(3)

*(Hypochlorite ion)*[Fig. 1.](#)

Den vigtigste kemiske reaktion i elektrolyse og strukturer af frit klor. (1) Forholdet mellem Hypoklorsyre (HOCl) og hypokloritioner ( $\text{OCl}^-$ ) varierer afhængigt af pH. Reaktionen er reversibel, og begge arter omtales som frit klor. (2) Strukturformel for HOCl. (3) Strukturformel for  $\text{OCl}^-$ .

I Sydkorea er de anvendte desinfektionsmidler og deres effektive koncentrationer officielt godkendt, når de er testet i henhold til Animal and Plant Quarantine Agency (APQA) retningslinjer for effektivitetstestning af veterinære desinfektionsmidler. Da den kritiske evaluering af den specifikke effektivitet og toksicitet af ECA på ASFV og AIV mangler, havde vi til formål at evaluere den virucidale effekt af ECA mod ASFV og AIV i henhold til APQA-retningslinjerne. Derudover sigtede vi på at optimere dens effektive frie klorkoncentration (FAC) under forskellige organiske tilsmudsningforhold for at bekræfte den virucidale effekt.

## MATERIALER OG METODER

---

### Forberedelse af behandlingsopløsningen

ECA blev fremstillet ved hjælp af en kommercielt tilgængelig "Electrolyzed Water Generator" (HAS-1560; Enputech Co., Ltd., Gyeonggi-do, Korea) i vores laboratorium. Efter producentens anvisninger blev et medfølgende elektrolysemiddel og postevand (temperatur 15–25°C, hårdhed ≤80 ppm) samtidig pumpet ind i generatoren ved 4,0–12,0 l/min med en strøm på 50 A. ECA med FAC blev opnået ved at modulering af flowhastigheden gennem generatoren, og den blev justeret til pH 5,0–6,5. FAC blev målt ved hjælp af en frit klor og klor ultra-high range meter (HI 96771; Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA), og pH blev målt ved hjælp af et pH-meter (Seven Compact; Mettler Toledo, Columbus, OH, USA) iht. til producentens anvisninger. De fungerende ECA'er blev forberedt på brugsdagen og opbevaret ved 4°C indtil brug.

### Virus og kulturer

ASFV-stamme BA71V (KVCC VR1900048) og lavpatogen aviær influenzavirus (LPAIV) H9N2-stamme A/kylling/Korea/MS96/1996 (KVCC VR 1100013) blev leveret af Korean Veterinary Culture Collection (KVCC, Gyeongs, Korea). ASFV'et blev opformeret og titreret under anvendelse af en Vero-cellelinje (Korean Cell Line Bank [KCLB] nr. 10081) leveret af KCLB (Seoul, Korea). Vero-celler blev opretholdt og opformeret i et Dulbecco's modificeret Eagle's medium (DMEM) (Corning Inc., Corning, NY, USA) suppleret med 10% føtalt bovint serum (FBS) (Corning Inc.), 1% MEM ikke-essentielle aminosyrer (NEAA) (Gibco, Grand Island, NY, USA) og 0,1 % gentamicinsulfatopløsning (GS) (Corning Inc.). ASFV-infektion blev identificeret ved den cytopatiske effekt (CPE) efter 5 dages infektion. LPAIV'et blev formeret og titreret under anvendelse af 9 til 11 dage gamle embryonerede hønseæg [32](#) ].

### Virusdræbende effektivitetsassays

Forsøgene blev udført i henhold til APQA-retningslinjerne for effektivitetstest af veterinære desinfektionsmidler [ [3](#) ], og blev udført i tre eksemplarer.

### Fremstilling af viruspodestof

Virus blev blandet 1:19 med hvert passende fortyndingsmiddel under følgende betingelser:

- Til forholdene med lavt niveau af organisk tilsmudsning (LS) brugte vi hårdt vand (CureBio, Seoul, Korea) som virusfortynder
- Til de høje organiske tilsmudsningsforhold (HS) brugte vi hårdt vand indeholdende 5 % FBS som virusfortynder

Til viruskontrolltilstanden brugte vi hårdt vand uden desinfektionsmiddel. Derudover blev hårdt vand brugt i stedet for virus-fortynderblandingen som kontrol til bestemmelse af toksiciteten forårsaget af ECA ([tabel 1](#)).

Tabel 1.

**Behandlingsgrupper til bestemmelse af desinficerende effektive fortyndingsfaktorer**
**Sammensætning af hver behandlingsgruppe**

Behandling	Hårdt vand	Tilsmudsning	Desinfektionsmiddel	Virus
Lavt organisk snavs	+	-	+	+
Økologisk snavs på højt niveau	+	+	+	+
Virus kontrol	+	-	-	+
Desinficerende toksicitetskontrol	+	-	+	-

+, tilstedeværelse; -, fravær.

**Virus-desinfektionsreaktion**

Viruspodestoffet blev blandet i et forhold på 1:1 med ECA indeholdende 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120 og 140 ppm frit klor. Efterfølgende blev virus-ECA-blandingerne inkuberet ved 4°C i 30 minutter (hvirvlet hvert 10. minut) og yderligere fortyndet med en tilsvarende mængde DMEM indeholdende 10% FBS for ASFV-blandingerne og fosfatbufret saltvand (PBS) (Corning Inc. ) indeholdende 10 % FBS for LPAIV-blandingerne for at standse ECA-aktivitet.

**Virucidal effekt mod ASFV**

Blandingen af ECA-behandlet ASFV blev seriefortyndet 10 gange i mikrotiterplader med DMEM indeholdende 2% FBS, 1% NEAA og 0,1% GS op til  $10^{-7}$ . Alikvoter på 0,1 ml af de fortyndede og ufortyndede blandinger blev overført til seks brønde på en mikrotiterplade indeholdende Vero-cellekulturer, og den virus-inducerede cytopatiske effekt (CPE) blev evalueret efter 5 dages inkubation. Den virale titer blev beregnet ved hjælp af Spearman-Karber-metoden [ 24 ] og blev udtrykt som 50 % vævskultur infektiøs dosis pr. 0,1 ml (TCID<sub>50</sub> /0,1 ml) i log-enheder. Alle virale eksperimenter blev udført i et biosikkerhedsniveau 3 (BSL-3) anlæg ved APQA i Sydkorea.

**Virucidal effekt mod AIV**

Blandingen af ECA-behandlet AIV blev seriefortyndet 10 gange i PBS indeholdende 1% GS op til  $10^{-5}$ . Fem embryonerede kyllingeæg (10-dages embryoner) blev inokuleret i allantoishulen med 0,2 ml af de fortyndede og ufortyndede blandinger og blev inkuberet ved 37°C i 5 dage. Til viruskontrol blev 0,2 ml af den fortyndede blanding begyndende med  $10^{-3}$  podet i fem embryonerede hønseæg. Allantoisvæsken blev høstet fra de embryonerede hønseæg, og virustiteren blev bestemt ved hjælp af HA-assayet som beskrevet i OIE-manualen [ 32 ]. Viral titer blev beregnet ved hjælp af Spearman-Karber-metoden [ 24 ] og udtrykt som 50 % ægsinfektionsdosis pr. 0,2 ml (EID<sub>50</sub> /0,2 ml) i log-enheder.

**Inaktiveringsanalyse**

Inaktiveringseffektivitet mod vira blev bestemt ved at trække titeren opnået fra ECA-behandlingen fra titeren af den tilsvarende viruskontrol i log-enheder. Den endelige virale titer blev bestemt som medianværdien af triplikaterne inden for et 20 % ( $\pm 10$  %) fejlområde. Hvis forskellen var  $\geq 4$  log, hvilket indikerer en mere end 10.000 gange reduktion af virustiteren, blev den tilsvarende FAC for ECA anset for at være en effektiv koncentration mod virussen. Baseret på undersøgelsesdataene blev en anbefalet koncentration foreslået som

forebyggende foranstaltning til feltanvendelse, som blev beregnet som 125 % af den tilsvarende effektive koncentration som beskrevet i APQA-retningslinjer for effektivitetstest af veterinære desinfektionsmidler [ 3 ].

#### Eksperimentelle kontrolforanstaltninger

Det var afgørende, at den minimale post-eksponering/neutraliseringstiter for viruskontrolgruppen var mindst  $2 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> /ml eller EID<sub>50</sub> /ml for at muliggøre målinger af mere end 4 log reduktion i titer ved ECA-behandling. Det var også vigtigt at verificere, at ECA i sig selv var fri for toksiske virkninger på celler og embryoner.

## RESULTATER

### Bestemmelse af den effektive koncentration af ECA mod ASFV

Titeren af ASFV blev målt efter at virussen var inkuberet med ECA. ASFV-induceret CPE blev observeret efter 5 dages infektion, og virustitrene blev sammenlignet med kontrolvirustitre under de tilsvarende organiske tilsmudsningbetingelser. Tabel 2 viser logreduktionsværdierne opnået under de to separate forsøgsbetingelser, LS og HS. Under LS-forhold udviste ECA-behandlinger på 20 ppm eller lavere FAC ikke tilstrækkelig virucidal effekt mod ASFV til at opfylde 4-log-reduktionen, mens en  $\geq 4,3$ -log-reduktion blev opnået med 40 og 60 ppm FAC. Under HS-betingelser blev en 4,6-log-reduktion opnået med en ECA-behandling på 80 ppm FAC, og en højere FAC genererede en  $\geq 4,8$ -log-reduktion for denne virus.

Tabel 2.

### Virucidal effekt af surt elektrolyseret vand ECA under lav- og højniveau organiske tilsmudsningforhold mod afrikansk svinepestvirus

Frit klor koncentration (ppm)	Eksperimenter	Lavt organisk snavs			Økologisk snavs på højt niveau		
		Virustiter (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /0,1 ml)	Logreduktion	Medianværdi	Virustiter (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /0,1 ml)	Logreduktion	Medianværdi
Styring	1	4.7			5.3		
	2	4.8	-	-	5.0	-	-
	3	5.2			5.3		
5	1	4.3	0,4				
	2	4.5	0,3	0,4			
	3	4,0	1.2				
10	1	3.3	1.4				Ikke udført
	2	3.9	0,9	1.4			
	3	3.2	2.0				

Frit klor koncentration (ppm)	Eksperimenter	Lavt organisk snavs			Økologisk snavs på højt niveau		
		Virustiter (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /0,1 ml)	Logreduktion	Medianværdi	Virustiter (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /0,1 ml)	Logreduktion	Medianværdi
20	1	3.3	1.4				
	2	3.8	1.0	1.4			
	3	2.3	2.9				
40	1	≤0,5	≥4,2				
	2	≤0,5	≥4,3	≥4,3			
	3	≤0,5	≥4,7				
60	1	≤0,5	≥4,2		2.0	3.3	
	2	≤0,5	≥4,3	≥4,3	1.8	3.2	3.3
	3	≤0,5	≥4,7		1.3	4,0	
80	1				0,7	4.6	
	2				≤0,5	≥4,5	4.6
	3				≤0,5	≥4,8	
100	1				≤0,5	≥4,8	
	2				≤0,5	≥4,5	≥4,8
	3				≤0,5	≥4,8	
Ikke udført							
120	1				≤0,5	≥4,8	
	2				≤0,5	≥4,5	≥4,8
	3				≤0,5	≥4,8	
140	1				≤0,5	≥4,8	
	2				≤0,5	≥4,5	≥4,8
	3				≤0,5	≥4,8	

TCID<sub>50</sub>, 50 % vævskultur infektiøs dosis.

Bestemmelse af den effektive koncentration af ECA mod AIV

Titeren af AIV blev målt efter at virussen var inkuberet med ECA. HA-assayet blev udført efter 5 dages infektion for at bestemme titerværdierne, og de virale titere blev sammenlignet med kontrolvirustitere under de tilsvarende organiske tilsmudsningbetingelser. [Tabel 3](#) viser logreduktionsværdierne opnået under de to

separate forsøgsbetingelser, LS og HS. Under LS-forhold var reduktionen begrænset til 3,4 logs med ECA på 40 ppm FAC; dog blev der opnået en 4,4-log reduktion med ECA-behandlingen på 60 ppm FAC, og en højere FAC genererede en  $\geq 5,2$ -log reduktion for denne virus. Under HS-forhold viste ECA-behandlinger med 80 ppm eller lavere FAC utilstrækkelig virucidal effekt mod AIV til at opfylde 4-log-reduktionen, mens en  $\geq 4,2$ -log-reduktion blev opnået med 100 og 120 ppm FAC.

Tabel 3.

### Virucidal effekt af surt elektrolyseret vand ECA under lav- og højniveau organiske tilsmudsningforhold mod fugleinfluenzavirus

Frit klor koncentration (ppm)	Eksperimenter	Lavt organisk snavs			Økologisk snavs på højt niveau		
		Virustiter (log <sub>10</sub> EID <sub>50</sub> /0,2 ml)	Logreduktion	Medianværdi	Virustiter (log <sub>10</sub> EID <sub>50</sub> /0,2 ml)	Logreduktion	Medianværdi
Styring	1	6.7			6.9		
	2	5.7	-	-	6.1	-	-
	3	5.3			6.3		
40	1	3.3	3.4		5.5	1.4	
	2	1.9	3.8	3.4	5.1	1.0	1.4
	3	1.9	3.4		4.9	1.4	
60	1	1.7	5,0		4.7	2.2	
	2	1.3	4.4	4.4	4.7	1.4	1.8
	3	0,9	4.4		4.5	1.8	
80	1	$\leq 0,5$	$\geq 6,2$		2.7	4.2	
	2	$\leq 0,5$	$\geq 5,2$	$\geq 5,2$	3.7	2.4	2.6
	3	$\leq 0,5$	$\geq 4,8$		3.7	2.6	
100	1	$\leq 0,5$	$\geq 6,2$		2.3	4.6	
	2	$\leq 0,5$	$\geq 5,2$	$\geq 5,2$	2.3	3.8	4.2
	3	$\leq 0,5$	$\geq 4,8$		2.1	4.2	
120	1	$\leq 0,5$	$\geq 6,2$		1.9	5,0	
	2	$\leq 0,5$	$\geq 5,2$	$\geq 5,2$	1.1	5,0	5,0
	3	$\leq 0,5$	$\geq 4,8$		0,9	5.4	

EID<sub>50</sub>, 50 % ægsmittende dosis.

#### Virucidal effekt af ECA mod ASFV og AIV

De effektive og anbefalede koncentrationer mod de virus, der er undersøgt i denne undersøgelse, er opsummeret i [Tabel 4](#). Som vist i [Tabeller 2 og 3](#), var effektiviteten af ECA i denne undersøgelse afhængig af FAC, og tilstedeværelsen af HS reducerede effektiviteten af ECA, hvilket krævede højere effektive koncentrationer. De effektive FAC'er af ECA mod ASFV under LS- og HS-betingelser var henholdsvis 40 ppm og 80 ppm, mens dem mod AIV var henholdsvis 60 ppm og 100 ppm. Baseret på disse resultater anbefaler vi at bruge ECA med



følgende FAC, som er foreslåede koncentrationer, der angiver 125 % af de tilsvarende effektive koncentrationer som beskrevet i APQA-retningslinjerne for effektivitetstestning af veterinære desinfektionsmidler til rutinemæssige veterinære feltanvendelser afhængigt af organiske tilsmudsningsforhold: ASFV, 50 ppm og 100 ppm, og for AIV, 75 ppm og 125 ppm under henholdsvis LS- og HS-forhold. Ingen af ECA's FAC viste toksicitet over for cellekulturer og embryoner (data ikke vist).

Tabel 4.

#### Sammenfatning af virucidal effekt af surt elektrolyseret vand ECA undersøgt i denne undersøgelse

Betingelser	ASFV		AIV	
	Frit klor koncentration (ppm)			
	Effektiv	Anbefalede	Effektiv	Anbefalede
Lavt organisk snavs	40	50	60	75
Økologisk snavs på højt niveau	80	100	100	125

ASFV, afrikansk svinepestvirus; AIV, fugleinfluenzavirus.

## DISKUSSION

Desinfektion er afgørende for at stoppe yderligere spredning af sygdom under udbrud og for at rense kontaminerede landbrugs- og veterinærfaciliteter, især i landbrugsmiljøer. Adskillige kemiske stoffer er generelt accepteret som desinfektionsmidler til inaktivering af indkapslede vira. FAO-anbefalede desinfektionsmidler, der er effektive mod kappekapslede vira, der tilhører OIE kategori A, herunder ASFV og AIV, er grupper af detergenter, oxidationsmidler, alkalier og glutaraldehyd [ 7 ]. Blandt dem er natriumhypoklorit det mest udbredte klorbaserede oxiderende desinfektionsmiddel, og mange undersøgelser har bekræftet, at dets virucidale virkning er det vigtigste aktive stof i desinfektionsmidler mod ASFV og AIV [ 7, 13, 18, 19, 35 ]. Nylige undersøgelser har dog antydnet, at HOCl er mere reaktivt end hypoklorit, selvom begge er stærke oxidationsmidler [ 30 ].

Her sigtede vi på at evaluere effektiviteten af ECA (pH 5,0-6,5) som et desinfektionsmiddel mod ASFV og AIV. Vi udførte forsøg i henhold til APQA-retningslinjerne [ 3 ]. Forøgelse af FAC af ECA øgede effektiviteten af ECA på vira, hvilket indikerer, at den virucidale effekt af ECA udelukkende var afhængig af FAC i opløsningen.

Det overvejende aktive oxidationsmiddel i ECA ved pH 5,0-6,8 anses for at være HOCl. Adskillige tidligere undersøgelser, der undersøgte den generelle effekt af HOCl, rapporterede dets gunstige antimikrobielle virkninger mod en lang række bakterier, svampe og vira, herunder mund- og klovsygevirus og AIV [ 4, 9, 10, 15, 25, 26, 29, 30, 31 ]. Så vidt vi ved, er dette den første undersøgelse til at undersøge den virucidale effekt af ECA på ASFV. I denne undersøgelse, under LS-forhold, resulterede ECA med FAC'er  $\geq 40$  ppm og  $\geq 60$  ppm i en  $\geq 4$ -log reduktion mod henholdsvis ASFV og AIV. Under HS-forhold resulterede ECA med FAC'er  $\geq 80$  ppm og  $\geq 100$  ppm i en  $\geq 4$ -log reduktion mod henholdsvis ASFV og AIV. I overensstemmelse med vores resultater har tidligere undersøgelser også observeret en signifikant reduktion i AIV af ECA. Tamaki *et al.* [ 29 ] rapporterede, at ECA (pH 6,4) indeholdende ca. 40 ppm FAC viste virucidale virkninger mod AIV. Hakim *et al.* [ 9 ] rapporterede også den virucidale evne af ECA (pH 6) indeholdende 50 ppm FAC ( $\geq 5,2$ -log-reduktion) og højere effektivitet ved behandling med 100 og 200 ppm FAC (henholdsvis 5,3- og 5,5-log-reduktion). I deres

undersøgelser mistede alle opløsninger desinfektionseffektiviteten for reaktioner i nærværelse af organisk snavs. Kim *et al.* [ 15 ] observerede lignende niveauer af effektivitet af ECA (pH 4,0-6,5). Desuden udførte de den samme test, som blev brugt i denne undersøgelse, og deres resultater viste også virucidale effekter mod AIV ved hjælp af metoden i APQA-retningslinjerne. De observerede, at ECA med en FAC  $\geq 100$  ppm resulterede i en 3-log reduktion mod AIV under HS-betingelser, og 120 ppm FAC viste toksicitet over for embryoner. En mulig årsag til forskellen i den detaljerede effektive FAC kan tilskrives forskellen i pH-værdier af ECA og/eller initiale titere af vira inden for visse områder. Det er blevet rapporteret, at sænkning af pH i ECA øger det virucidale potentiale af ECA [ 21 , 29 ]. Yilmaz *et al.* [ 34 ] rapporterede, at den indledende virale titer i høj grad påvirker resultaterne af en desinfektionstest, og en høj initialtiter kan påvirke resultaterne til ulempe for de testede desinfektionsmidler.

APQA-retningslinjerne klassificerer desinfektionsgenstandene efter niveauet af organisk snavsindhold. Generelt klassificeres staldgulve, snavs, kadavere, dyretransportkøretøjer og dyretransportudstyr som genstande med høje niveauer af organisk tilsmudsning; husdyrstalde, dyredrikkevand, husdyroverflader, apparater, dambrug og almindelige transportkøretøjer er klassificeret som genstande med lave niveauer af organisk tilsmudsning [ 3 ]. Desinfektionsmidler skal være effektive under snavsede forhold; derfor brugte denne undersøgelse FBS som organisk tilsmudsning til at simulere snavsede forhold. Det er blevet påvist, at øget eksponering for organisk snavs nedsætter FAC, hvilket resulterer i en reduktion i de virucidale virkninger af klorbaserede desinfektionsmidler, herunder ECA [ 1 , 9 , 10 , 30 ]. Dette skyldes, at HOCl reduceres ved at reagere med nitrogenforbindelser i organisk snavs til dannelselse af kloraminer, før det interagerer med enhver virus, der måtte være til stede [ 6 , 30 ].

For at evaluere den virucidale effektivitet af ECA i nærvær af underliggende organisk tilsmudsning i reaktionen, udførte vi en evaluering under forskellige organiske tilsmudsningsforhold. Vores resultater viste en reduktion i de virucidale virkninger forårsaget af proteinbelastning (organisk snavs) og var i overensstemmelse med dem, der blev rapporteret af tidligere undersøgelser, hvor nedsat desinfektionseffektivitet blev observeret i vira udsat for organisk tilsmudsning [ 6 , 9 , 10 , 29 , 30 , 34 ]. Derfor blev det bekræftet, at der kræves en højeffektiv koncentration af frit klor i ECA for at desinficere vira i nærværelse af høj organisk tilsmudsning.

Som forventet viste ECA i denne undersøgelse ved pH 5,0-6,5 virucidale effekt (som desinfektionsmidler) mod ASFV og AIV. Desuden var dens virucidale virkning afhængig af FAC i reaktionen. Det er dog blevet rapporteret, at den virucidale virkning af meget surt ECA (pH  $\leq 2,5$ ) ikke krævede tilstedeværelse af frit klor [ 29 ]. I vores undersøgelse blev der ikke observeret nogen relevant toksicitet af nogen testet ECA, hvilket bekræfter dens høje biokompatibilitet.

ECA er blevet betragtet som et nyt desinfektionsmiddel i de senere år og anvendt på forskellige områder, herunder kliniske omgivelser, landbrug og fødevarerindustri, husdyrforvaltning og andre områder. I betragtning af den store miljøbelastning af kemiske desinfektionsmidler til kontrol og forebyggelse af infektionssygdomme, er det værd at bemærke, at desinfektion med ECA har gunstige økologiske egenskaber; det vender tilbage til normalt vand eller fortyndet saltvand efter brug, hvilket ikke kræver håndtering af giftig affaldsbortskaffelse [ 2 , 4 , 29 ]. Den største fordel ved ECA er enkelheden i produktion og anvendelse. Det er et desinfektionsmiddel, der kan fremstilles på stedet og dermed undgå problemer forbundet med håndtering af farligt klor, herunder transport og opbevaring [ 23 ]. Derudover er ECA omkostningseffektiv, fordi elektricitetsafgifterne, omkostningerne til kemiske salte og vand er de største driftsudgifter, der er forbundet med driften af ECA-produktionssystemet, udover den indledende investering af udstyr [ 23 ]. Ifølge data fra ECA-generatorproducenten i denne undersøgelse muliggør brug af ECA som et desinfektionsmiddel betydelige omkostningsbesparelser på desinfektion med næsten 80 procent årligt. Det omfatter udgifter til indkøb af elektrolysemiddel, bortskaffelse af genereret spildevand. Rahman *et al.* [ 23 ] rapporterede også omkostningseffektivitet af ECA i forhold til dets modstykke glutaraldehyd.

Som konklusion understreger den virucidale virkning af ECA mod ASFV og AIV dets potentielle anvendelighed som et desinfektionsmiddel. Flere miljøfaktorer såsom temperatur, kontakttid og proteinbelastning har vist sig at styre effektiviteten af desinfektionsmidler i markanvendelser [ 9 , 23 , 35]. Effektiviteten af de fleste desinfektionsmidler er negativt påvirket af proteinbelastning, lav temperatur og kort kontakttid. Betydningen af faktorerne er allerede blevet anerkendt i APQA-retningslinjerne ved at kræve 4°C og 30 min som obligatoriske og -10, -5 og 10°C og 1, 5 og 15 min som valgfrie testbetingelser afhængigt af karakteristikaene af desinfektionsmidler og desinfektionsgenstande til officiel godkendelse. Derfor foreslår vi at overveje de mulige desinfektionsbetingelser for ECA for at implementere effektive kontrolforanstaltninger i feltanvendelser. Desuden understreger dette nødvendigheden af fremtidige undersøgelser for at etablere effektivitetsprofilerne for nyligt introducerede desinfektionsmidler.

INTERESSEKONFLIKT. Enputech Co., Ltd. leverede "Electrolyzed Water Generator", der blev brugt i denne undersøgelse. Ingen af forfatterne har andre økonomiske eller personlige relationer, der på upassende vis kan påvirke eller påvirke indholdet af papiret.

### Anerkendelser

---

Dette arbejde blev støttet af Animal and Plant Quarantine Agency (I-1543073-2020-22-01), Republikken Korea og Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture and Forestry (IPET) gennem Animal Disease Management Technology Udviklingsprogram, finansieret af Ministeriet for Landbrug, Fødevarer og Landdistrikter (MAFRA) (116098-03-3-HD020).

### REFERENCER

---

1. Abadias M., Usall J., Oliveira M., Alegre I., Viñas I.2008. Effektiviteten af neutralt elektrolyseret vand (NYT) til at reducere mikrobiel forurening på minimalt forarbejdede grøntsager . *Int. J. Food Microbiol.* 123 : 151-158. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.008 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
2. Al-Haq MI, Sugiyama J., Isobe S.2005. Anvendelser af elektrolyseret vand i landbruget og fødevarerindustrien . *Food Sci. Teknol. Res.* 11 : 135-150. doi: 10.3136/fstr.11.135 [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
3. Dyre- og plantekarantæneagentur (APQA). 2018. Retningslinjer for effekttestning af veterinære desinfektionsmidler. APQA-meddelelse 2018-16 (31. maj 2018) (på koreansk).
4. Bui VN, Nguyen KV, Pham NT, Bui AN, Dao TD, Nguyen TT, Nguyen HT, Trinh DQ, Inui K, Uchiumi H., Ogawa H., Imai K.2017. Potentiale af elektrolyseret vand til desinfektion af mund- og klovesygevirus . *J. Vet. Med. Sci.* 79 : 726-729. doi: 10.1292/jvms.16-0614 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
5. Chae WS, Cha CN, Yoo CY, Kim S., Lee HJ2018. Virucidale virkning af en desinfektionsopløsning sammensat af citronsyre, æblesyre og fosforsyre mod fugleinfluenzavirus . *J. Forrige. Dyr læge. Med.* 42 : 16-21. doi: 10.13041/jpvm.2018.42.1.16 [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
6. de Oliveira TML, Rehfeld IS, Coelho Guedes MI, Ferreira JMS, Kroon EG, Lobato ZIP2011. Vaccinia-virus modtagelighed for kemiske desinfektionsmidler . *Er. J. Trop. Med. Hyg.* 85 : 152-157. doi: 10.4269/ajtmh.2011.11-0144 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
7. Geering WA, Penrith ML, Nyakahuma D.2001. Manual om procedurer for sygdomsbekæmpelse ved udstempling: Del 3: Dekontamineringsprocedurer. FAO Animal Health Manual
12. <http://www.fao.org/3/Y0660E/Y0660E03.htm> # ch3 [tilgået den 10. november 2020].

8. Gyeonggi Research Institute (GRI).2017. Udstedelse & Analyse (nummer 272), 2017.03.29. <https://www.gri.re.kr/%ec%9d%b4%ec%8a%88-%ec%a7%84%eb%8b%a8/?ptype2=303&sc=&sv=&limit=10&searchcode=&pcode=&pageno=17> (på koreansk) [adgang den 10. november 2020].
9. Hakim H., Thammakarn C., Suguro A., Ishida Y., Kawamura A., Tamura M., Satoh K., Tsujimura M., Hasegawa T., Takehara K.2015. Evaluering af sprøjtede hypochlorsyreopløsninger for deres virucidale aktivitet mod fugleinfluenzavirus gennem in vitro-forsøg. *J. Vet. Med. Sci.* 77: 211-215. doi: 10.1292/jvms.14-0413 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
10. Hao XX, Li BM, Zhang Q., Lin BZ, Ge LP, Wang CY, Cao W.2013. Desinfektionseffektivitet af let surt elektrolyseret vand i svinestald. *J. Appl. Microbiol.* 115: 703-710. doi: 10.1111/jam.12274 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
11. Harada Y., Lekcharoensuk P., Furuta T., Taniguchi T.2015. Inaktivering af mund- og klovesygevirus med kommercielt tilgængelige desinfektions- og rengøringsmidler. *Biocontrol Sci.* 20 : 205-208. doi: 10.4265/bio.20.205 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
12. JuszkiEcaicz M., Walczak M., Woźniakowski G.2019. Karakteristika for udvalgte aktive stoffer anvendt i desinfektionsmidler og deres virucidale aktivitet mod ASFV. *J. Vet. Res. (Pulawy)* 63 : 17–25. doi: 10.2478/jvetres-2019-0006 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
13. JuszkiEcaicz M., Walczak M., Mazur-Panasiuk N., Woźniakowski G.2019. Virucidal effekt af udvalgte desinfektionsmidler mod afrikansk svinepestvirus (ASFV) - indledende undersøgelser. *Pol. J. Vet. Sci.* 22 : 777-780. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
14. Kang HM, Lee EK, Song BM, Jeong J., Choi JG, Jeong J., Moon OK, Yoon H., Cho Y., Kang YM, Lee HS, Lee YJ2015. Nye reassortante influenza A(H5N8)-vira blandt inokulerede tamænder og vildænder, Sydkorea, 2014 . *Emerg. Infect. Dis.* 21 : 298-304. doi: 10.3201/eid2102.141268 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
15. Kim JW, Yun DS, Lee HY, Jeong WS, Park SC2019. Etablering af optimale desinfektionsbetingelser for svag syre hypoklorholdig opløsning til forebyggelse af overførsel af fugleinfluenza og mund- og klovesygevirus. *koreansk J. Vet. Res.* 59 : 101-104. [ [Google Scholar](#) ]
16. Kim HJ, Cho KH, Lee SK, Kim DY, Nah JJ, Kim HJ, Kim HJ, Hwang JY, Sohn HJ, Choi JG, Kang HE, Kim YJ2020. Udbrud af afrikansk svinepest i Sydkorea, 2019. *Transbound. Emerg. Dis.* 67 : 473-475. doi: 10.1111/tbed.13483 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
17. Koide S., Takeda Ji, Shi J., Shono H., Atungulu GG2009. Desinfektionseffektivitet af let surt elektrolyseret vand på friskskåret kål. *Fødevarekontrol* 20 : 294-297. doi: 10.1016/j.foodcont.2008.05.019 [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
18. Krug PW, Larson CR, Eslami AC, Rodriguez LL2012. Desinfektion af mund- og klovsyge og afrikansk svinepestvirus med citronsyre og natriumhypoklorit på bærere af birketræ. *Dyrlæge. Microbiol.* 156 : 96-101. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.10.032 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
19. Krug PW, Lee LJ, Eslami AC, Larson CR, Rodriguez L.2011. Kemisk desinfektion af grænseoverskridende dyresygdomsvira med høj konsekvens på ikke-porøse overflader. *Biologicals* 39: 231-235. doi: 10.1016/j.biologicals.2011.06.016 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
20. LeChavallier MW, Au K. -K.2004. Vandbehandling og patogenkontrol: Proceseffektivitet til at opnå sikkert drikkevand. WHO IWA Publishing, s. 1-

107. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42796/9241562552.pdf> [åbnet den 10. november 2020].
21. Park H., Hung YC, Chung D.2004. Effekter af klor og pH på effektiviteten af elektrolyseret vand til inaktivering af *Escherichia coli* O157:H7 og *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 91 : 13-18. doi: 10.1016/S0168-1605(03)00334-9 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
22. Rahman SME, Ding T., Oh DH2010. Inaktiveringseffekt af nyudviklet lavkoncentration elektrolyseret vand og andre desinfektionsmidler mod mikroorganismer på spinat . *Food Control* 21 : 1383-1387. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.03.011 [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
23. Rahman SME, Khan I., Oh DH2016. Elektrolyseret vand som et nyt desinfektionsmiddel i fødevarerindustrien: nuværende tendenser og fremtidsperspektiver . *Kompr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 15 : 471-490. doi: 10.1111/1541-4337.12200 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
24. Ramakrishnan MA2016. Bestemmelse af 50 % slutpunktstiter ved hjælp af en simpel formel . *Verden J. Virol.* 5 : 85-86. doi: 10.5501/wjv.v5.i2.85 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
25. Severing AL, Rembe JD, Koester V., Stuermer EK2019. Sikkerheds- og effektivitetsprofiler for forskellige kommercielle natriumhypochlorit/hypochlorsyrling-opløsninger (NaClO/HClO): antimikrobiel virkning, cytotoxisk påvirkning og fysisk-kemiske parametre in vitro . *J. Antimikrob. Kemoth.* 74 : 365-372. doi: 10.1093/jac/dky432 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
26. Shin SP, Kim MS, Cho SH, Kim JH, Choresca CH, Jr., Han JE, Jun JW, Park SC2013. Antimikrobiel virkning af hypoklorsyre på patogene mikroorganismer . *J. Forrige. Dyr læge. Med.* 37 : 49-52. [ [Google Scholar](#) ]
27. Shirai J, Kanno T., Tsuchiya Y., Mitsubayashi S., Seki R.2000. Virkninger af desinfektionsmidler af klor, jod og kvaternære ammoniumforbindelser på flere eksotiske sygdomsvira . *J. Vet. Med. Sci.* 62 : 85-92. doi: 10.1292/jvms.62.85 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
28. Tagawa M., Yamaguchi T., Yokosuka O., Matsutani S., Maeda T., Saisho H.2000. Inaktivering af et hepadnavirus med elektrolyseret surt vand . *J. Antimikrob. Kemoth.* 46 : 363-368. doi: 10.1093/jac/46.3.363 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
29. Tamaki S., Bui VN, Ngo LH, Ogawa H., Imai K.2014. Virucidal effekt af surt elektrolyseret vand og neutralt elektrolyseret vand på fugleinflenzavirus . *Arch. Virol.* 159 : 405-412. doi: 10.1007/s00705-013-1840-2 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
30. Veasey S., Muriana PM2016. Evaluering af elektrolytisk genereret hypochlorsyre ('elektrolyseret vand') til rensning af kød- og kødkontaktoverflader . *Foods* 5 : 5. doi: 10.3390/foods5020042 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
31. Wang L., Bassiri M., Najafi R., Najafi K., Yang J., Khosrovi B., Hwong W., Barati E., Belisle B., Celeri C., Robson MC2007. Hypoklorsyre som et potentielt sårplejemiddel: del I. Stabiliseret hypoklorsyre: en komponent i det uorganiske armamentarium af medfødt immunitet . *J. Burns Sår* 6 : e5. [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
32. Verdensorganisationen for Dyresundhed (OIE).2019. Kapitel 3.3.4. Fugleinfluenza (infektion med fugleinflenzavirus). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019. [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.03.04\\_AI.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf) [åbnet den 10. november 2020].
33. Verdensorganisationen for Dyresundhed (OIE).2020. Opdatering om fugleinfluenza hos dyr (type H5 og H7). <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2020> [tilgået den 10. november 2020].

34. Yilmaz A., Kaleta EF2003. Evaluering af virucidal aktivitet af tre kommercielle desinfektionsmidler og myresyre under anvendelse af bovin enterovirus type 1 (ECBO virus), pattedyr orthoreovirus type 1 og bovin adenovirus type 1 . *Dyrlæge. J.* 166 : 67-78. doi: 10.1016/S1090-0233(02)00269-1 [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

35. Zou S., Guo J., Gao R., Dong L., Zhou J., Zhang Y., Dong J., Bo H., Qin K., Shu Y.2013. Inaktivering af det nye fugleinfluenza A (H7N9) virus under fysiske forhold eller behandling med kemiske agenser . *Virol. J.* 10 : 289. doi: 10.1186/1743-422X-10-289 [ [PMC gratis artikel](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]