

【论著】

邻苯二甲醛对细菌芽孢和分枝杆菌杀灭效果研究

魏兰芬, 潘协商, 赵永信, 李 晔, 蔡 冉, 朱一凡

(浙江省疾病预防控制中心, 浙江杭州 310051)

摘要 目的 观察某邻苯二甲醛消毒液对细菌芽孢和分枝杆菌的杀灭效果及连续使用稳定性。**方法** 采用悬液定量杀菌试验, 对该邻苯二甲醛消毒液杀灭枯草杆菌黑色变种芽孢和龟分枝杆菌脓肿亚种的效果进行观察。**结果** 浓度为 4 800 mg/L 的该消毒液作用 14 h, 对龟分枝杆菌脓肿亚种作用 5 min 杀灭对数值为 4.60; 浓度为 3 000 mg/L 的该邻苯二甲醛消毒液的稀释液作用 14 h, 对悬液内枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭对数值为 7.65, 杀灭对数值为 4.02, 作用 5 min 对龟分枝杆菌脓肿亚种的杀灭对数值仅为 2.88。该消毒液经医疗器械浸泡连续使用 14 d 的稳定性实验结果证明, 杀菌效果不变。该消毒液在内镜清洗机内连续使用 14 d 共处理 80 条模拟内镜后, 杀菌效果未达到高效消毒要求。**结论** 该邻苯二甲醛消毒液所设定的剂量不适用于医疗器械的高水平消毒。

关键词 邻苯二甲醛; 枯草杆菌黑色变种芽孢; 龟分枝杆菌脓肿亚种; 杀菌效果

中图分类号: R187.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-7658(2019)01-0001-03

DOI: 10.11726/j.issn.1001-7658.2019.01.001

Study on disinfection effect of Ortho-phthalaldehyde on bacteria spores and mycobacterium

WEI Lan-fen, PAN Xie-shang, ZHAO Yong-xin, LI Ye, CAI Ran, ZHU Yi-fan

(Zhejiang Provincial Center for Disease Prevention and Control, Hangzhou Zhejiang 310051, China)

Abstract Objective To study the disinfection effect of Ortho-phthalaldehyde (OPA) on bacteria spores and mycobacterium, and to evaluate the stability of the OPA during continuous use. **Methods** The germicidal effect of OPA on *Bacillus subtilis* var. niger spores and *Mycobacterium chelonae* subsp. abscessus were evaluated by suspension quantitative bactericidal test. **Results** When using 4 800 mg/L OPA to treat *B. subtilis* var. niger spores for fourteen hours and *M. chelonae* subsp. abscessus for 5 mins, the killing log value was 7.65 and 4.60 respectively. When using 3 000 mg/L OPA to treat *B. subtilis* var. niger spores for 14 hours and *M. chelonae* subsp. abscessus for 5 mins, the killing log value was 4.02 and 2.88 respectively. The germicidal effect of OPA was stable when continuously being used for immersion of instruments for 14 days. While the germicidal effect could not reach high level disinfection effect when continuously being used in endoscopic cleaning machine for 14 days, with the total number of treated endoscope of 80 strips. **Conclusion** The working concentration offered by manufacturer is not appropriate for high level disinfection of medical instrument.

Key words Ortho-phthalaldehyde (OPA); *Bacillus subtilis* var. niger spores; *Mycobacterium chelonae* subsp. abscessus; germicidal effect.

近年来, 邻苯二甲醛在内镜消毒领域的使用越来越普遍。该消毒液通常含邻苯二甲醛 5 000 mg/L ~ 6 000 mg/L, 多数产品均标示为“具有高水平消毒作用、可杀灭细菌芽孢、以最低使用浓度不低于 3 000 mg/L、可连续使用 14 d 为使用限期”。为观察邻苯二甲醛消毒液实际杀菌效果和连续使用稳定性以及最低有效浓度, 本研究选择某具有代表性的邻苯二甲醛消毒液产品, 以枯草杆菌黑色变种芽孢和龟分枝杆菌脓肿亚种为指标菌进行了实验室杀菌效果和

连续使用稳定性以及最低有效浓度等指标研究。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用消毒剂为邻苯二甲醛消毒剂(国内产品), 产品为浅蓝色透明液体, 标签标示浓度为 5 000 mg/L ~ 6 000 mg/L, 可杀灭细菌芽孢、分枝杆菌、连续使用 ≤ 14 d、最低有效含量 ≥ 3 000 mg/L; 有效期 24 个月。经气相色谱法测定, 该邻苯二甲醛含量为 5 960 mg/L, pH 值 7.48。

试验菌株为枯草杆菌黑色变种(ATCC 9372)芽孢和龟分枝杆菌脓肿亚种(ATCC 19977), 由国家菌

【作者简介】 魏兰芬(1967-), 女, 浙江杭州人, 本科, 主任技师, 从事消毒学研究工作。

种保藏中心提供冻干管。

中和剂为含 5 g/L 卵磷脂、50 g/L 吐温 - 80、10 g/L 甘氨酸和 1 g/L 胰蛋白胍生理盐水 (TPS), 按 2002 年版《消毒技术规范》^[1] 要求进行鉴定合格后备用(中和剂鉴定试验操作和结果省略)。

模拟医疗器械及染菌用载体:分别为手术剪、医用镊子、止血钳,染菌载体为 12.5 cm 止血钳的齿端部份,灭菌备用。模拟内镜体及染菌用载体:为聚四氟乙烯管(外径 12 mm,内径 6 mm,长度 1 000 mm)灭菌备用;染菌载体为聚四氟乙烯管(外径 6 mm,内径 4 mm,长度 40 mm)灭菌备用。

内镜清洗机:MLX - 600 型全自动内镜清洗消毒机(国内产品),采用同时处理 3 条模拟内镜的三通道工作模式。

1.2 方法

1.2.1 染菌载体制备^[1] 取 20 μl 胰蛋白胍大豆肉汤配制的芽孢悬液(含芽孢数 1×10^8 cfu/ml ~ 5×10^8 cfu/ml),滴染于模拟医疗器械和模拟内镜载体的表面内壁,涂抹均匀,置 37 ℃ 培养箱中至干燥,制成染菌载体冰箱保存备用。

1.2.2 杀菌试验^[1] 分别以消毒液原液和含邻苯二甲醛 3 000 mg/L 的稀释液作为受试液,20 ℃ 恒温条件下进行杀菌试验,实验时按设计浓度的 1.25 倍配制消毒液。载体法所用消毒液按实际作用浓度配制,在无菌平皿内按每个载体 5 ml 用量,将染菌载体置于消毒液内浸泡并计时,作用至设定时间,取出载体投入装有中和剂的试管内,经充分振荡洗脱,取洗脱液作活菌计数培养,同时作阳性对照组活菌计数,计算杀灭对数值。试验至少重复 3 次。

1.2.3 医疗器械模拟现场消毒效果检测 采用止血钳染菌载体浸泡试验,按产品含量标示区间要求,实验前以标准硬水将消毒剂稀释成邻苯二甲醛含量为 5 000 mg/L 和 3 000 mg/L 的溶液备用。按 1.2.2 的方法执行。

1.2.4 内镜模拟消毒效果检测^[2] 将模拟内镜体在 50 mm、500 mm 和 950 mm 处剪开,取 3 份染菌载体分别连接在各剪开处,再将模拟内镜体装放于内镜消毒机内规定的位置,按设定的消毒程序(含漂洗 2.0 min、酶洗 2.0 min、漂洗 2.0 min、吹干 30 s、消毒 5.0 min、末洗 2.0 min、酒精干燥 20 s)进行处理。处理完毕,将染菌载体取出分别置于含有 10 ml 中和剂溶液的试管内,充分洗脱后,以倾注法作残留菌回收计数。同时以室温下放置的染菌载体作阳性对照计数,以试验同批次的中和稀释液等设阴性对照。

1.2.5 医疗器械连续使用稳定性试验 连续使用 14 d 后检测邻苯二甲醛含量,然后取消毒液进行分

枝杆菌的悬液定量杀菌试验及医疗器械载体模拟消毒效果测试。

1.2.6 内镜消毒连续使用稳定性试验 连续使用 14 d 共计处理 80 条带染菌载体的模拟内镜后,检测邻苯二甲醛含量,再取消毒液进行细菌芽孢和分枝杆菌试管内悬液定量杀菌效果测试,同时对留存在清洗机内的液体进行内镜模拟消毒效果测试。

1.2.7 评价标准 对悬液中细菌芽孢杀灭对数值 ≥ 5.00 ,对龟分枝杆菌脓肿亚种杀灭对数值 ≥ 4.00 ^[1];对载体细菌芽孢和龟分枝杆菌脓肿亚种杀灭对数值 ≥ 3.00 ^[1];结合内镜清洗机处理(含清洗、消毒、漂洗等步骤),对模拟内镜载体细菌芽孢消除对数值 ≥ 3.00 ^[2];连续使用一定时间后消毒液,杀菌效果符合上述要求,有效成份含量不低于标示最低值,为合格。

2 结果

2.1 悬液定量杀菌试验结果

经 3 次测试结果显示,浓度为 4 800 mg/L 的该消毒液作用 14 h,对悬液内的枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭对数值为 7.65,对龟分枝杆菌脓肿亚种作用 5 min 杀灭对数值为 4.60;浓度为 3 000 mg/L 的该邻苯二甲醛消毒液的稀释液作用 14 h,对悬液内枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭对数值为 4.02,作用 5 min 对龟分枝杆菌脓肿亚种的杀灭对数值仅为 2.88(表 1 和表 2)。

表 1 邻苯二甲醛消毒液对细菌芽孢的杀灭效果

试验方法	作用浓度 (mg/L)	作用不同时间(h)杀灭对数值			阳性对照菌数对数值
		7.0	14.0	21.0	
悬液法	4 800	2.26	7.65	7.65	7.65
	3 000	1.81	4.02	7.65	7.65
器械连续使用两周	3 800	2.15	7.60	7.60	7.60
内镜连续使用两周	2 600	1.71	3.38	7.57	7.57

表 2 邻苯二甲醛对龟分枝杆菌脓肿亚种的杀灭效果

试验方法	作用浓度 (mg/L)	作用不同时间(min)杀灭对数值			阳性对照菌数对数值
		2.5	5.0	7.5	
悬液法	4 800	2.94	4.60	7.55	7.55
	3 000	2.56	2.88	3.12	7.55
器械连续使用两周	3 800	2.60	4.48	7.68	7.68
内镜连续使用两周	2 600	0.93	2.09	3.07	7.49

2.2 对医疗器械的模拟消毒效果

用浓度为 5 000 mg/L 邻苯二甲醛消毒液浸泡作用 14 h,30 件止血钳载体上的枯草杆菌黑色变种芽孢的残留数均小于 10 cfu/件;经 14 d 连续使用

后,实际作用浓度降为 4 700 mg/L,浸泡作用 14 h 止血钳载体上残留菌数为 <10 cfu/件 ~ 25 cfu/件,杀灭对数值均为 5.16 ~ 5.56。用浓度为 3 000 mg/L 邻苯二甲醛消毒液浸泡作用 14 h,30 件止血钳载体上的枯草杆菌黑色变种芽孢的残留数为 410 cfu/件 ~ 3 150 cfu/件,杀灭对数值均值及范围分别为 3.44、3.03 ~ 3.92(表 3)。

表 3 邻苯二甲醛消毒液对医疗器械的模拟消毒效果

试验方法	作用浓度 (mg/L)	作用 14 h 的杀灭效果		阳性对照 菌数对数值
		杀灭对数 均值及范围	残留菌数 (cfu/件)	
载体浸泡	5 000	6.56(6.56)	<10	6.56
	3 000	3.44(3.03 ~ 3.92)	410 ~ 3 150	6.53
器械浸泡 连续两周	4 700	5.63(5.16 ~ 6.56)	<10 ~ 25	6.56

2.3 模拟内镜的模拟消毒效果

将浓度为 5 000 mg/L 的邻苯二甲醛消毒液置于内镜清洗机内,按消毒机使用程序运行(消毒程序运行 5.0 min),连续运行 14 d 共计 80 条带染菌载体的模拟内镜,最终检测邻苯二甲醛浓度为 3 200 mg/L,对 9 条模拟内镜中的染菌载体进行检测,枯草杆菌黑色变种芽孢清除对数值范围为 3.41 ~ 4.32 和 3.06 ~ 4.17,载体残留菌数分为 285 cfu/件 ~ 3 600 cfu/件。

3 讨论

WS 507-2016《软式内镜清洗消毒技术规范》^[3]中将浓度为 5 000 mg/L ~ 6 000 mg/L 邻苯二甲醛作为内镜高水平消毒剂,消毒时间 ≥ 5 min; GB 30689-2014《内镜自动清洗机卫生要求》^[4]规定,配套用的消毒液,在说明书规定的最短作用时间、最低作用温度和浓度应全部满足以下要求:对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌杀灭对数值 ≥ 5.0 ,对白色念珠菌、黑曲霉孢子、脊髓灰质炎病毒和分枝杆菌的杀灭对数值应 ≥ 4.00 ;在一定时间内对细菌芽孢的杀灭对数值应 ≥ 5.0 。本研究结果显示,结合近 10 年来上市邻苯二甲醛消毒剂检测报告结果,多数被检邻苯二甲醛消毒剂产品所标示的最低使用浓度为 3 000 mg/L,对龟分枝杆菌脓肿亚种和黑曲霉孢子的杀菌效果未能满足要求,即便按照我国现行对中水平消毒剂的要求^[1,5],所标示的最低使用浓度 3 000 mg/L 作用 5 min 也不能满足达标要求。国内曾有类似的报道^[6,7],有的报告多进行杀灭细菌芽孢的实验,很少对分枝杆菌等目标微生物的杀菌效果予以观察。美国《医疗保健机构消毒灭菌指南》^[8]提到,5 000 mg/L 邻苯二甲醛作用 270 min,不能

有效杀灭芽孢,连续使用 14 d、经 50 个循环处理内镜后,液体中邻苯二甲醛含量仍在 3 000 mg/L 以上。国内研究结果提示^[9],浓度为 5 500 mg/L 的邻苯二甲醛消毒液与清洗机配套使用,各处理胃镜 102 次、肠镜 85 次,染菌量及消化内镜微生物学监测结果均为合格。魏兰芬等曾报道,某国产品牌邻苯二甲醛消毒液在模拟现场条件下,内镜消毒清洗机处理和手工处理均能达到规定的消毒要求,在消毒机运行累计 81 条胃镜,邻苯二甲醛消毒液仍保持在有效浓度范围^[10],但也未对其杀灭分枝杆菌的杀灭效果进行评估。

本研究结果显示,邻苯二甲醛消毒液与清洗机配套使用,14 d 累计处理 80 条模拟内镜后,邻苯二甲醛含量从 5 000 mg/L 降至 3 200 mg/L,此时消毒液对细菌芽孢和龟分枝杆菌脓肿亚种的杀灭效果已不能达标。结果提示,全自动内镜消毒机械去除污染菌的作用更为明显。

因此,本研究所用的邻苯二甲醛消毒液所设定的使用浓度和操作条件不适用于医疗器械的高水平消毒,仅适用于内镜等医疗器械的中水平消毒,且无法满足内镜清洗机连续使用 14 d 累计处理 80 条内镜的要求,其所标示的最低 3 000 mg/L 使用浓度缺乏科学依据;《内镜清洗消毒机消毒效果检验技术规范》^[2]中^[2]“内镜清洗消毒机模拟现场消毒时,在规定的时间内,3 次试验对各载体上人工污染的枯草杆菌黑色变种芽孢的消除对数值均 ≥ 3.00 时,可判为消毒合格”的判定标准^[2]的适用性也值得商榷。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 内镜清洗消毒机消毒效果检验技术规范(试行)[S]. 2003.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 软式内镜清洗消毒技术规范:WS 507-2016 [S]. 2016.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 内镜自动清洗消毒机卫生要求:GB 30689-2014 [S]. 2014.
- [5] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 医疗器械消毒剂卫生要求:GB/T 27949-2011 [S]. 2011.
- [6] 王玲,徐燕,张伟,等. 邻苯二甲醛对消化内镜模拟现场消毒效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2017,34(1):9-11.
- [7] 宋江南,陈贵秋,朱应凯,等. 复方邻苯二甲醛消毒剂性能的试验观察[J]. 中国消毒学杂志,2010,27(1):17-19,22.
- [8] William A, Rutala WA, Weber DJ, et al. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities[Z]. 2017;48-49.
- [9] 罗万军,徐润琳,王文娟,等. 消化内镜消毒中邻苯二甲醛更换频率的探讨[J]. 中国消毒学杂志,2018,35(4):249-251.
- [10] 魏兰芬,潘协商,钱文理,等. 邻苯二甲醛用于内镜现场消毒效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2014,31(6):562-564.