



应用过氧化氢发生器对实验动物屏障环境及 设施消毒效果的观察

杨 文 陈健茂 李红兵 郎多勇 冉林武

(宁夏医科大学实验动物中心 银川 750004)

【摘要】 目的 观察过氧化氢(H_2O_2)蒸汽对屏障环境内表面、台面以及空气的消毒效果。方法 用 BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器将浓度为 30% 的 H_2O_2 液体分别按 6 mL/m^3 、 9 mL/m^3 和 12 mL/m^3 的用量进行汽化熏蒸处理,作用 60 min 检测屏障环境空气落下菌数和表面细菌数。结果 6 mL/m^3 用量能够杀灭二更、清洁走廊、洁存间、次清洁走廊和缓冲间等空气落下菌较少区域的空气细菌; 9 mL/m^3 用量可以完全杀灭动物饲养室的空气细菌,但不能完全杀死动物饲养室内表面细菌;而 12 mL/m^3 用量可以完全杀死动物饲养室内表面细菌。结论 H_2O_2 蒸汽消毒适合屏障环境微生物的控制,操作简单,效果明显。

【关键词】 过氧化氢蒸汽; 实验动物; 屏障环境; 消毒

【中图分类号】 Q95-331 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2013)10-0076-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2013.010.017

Observation on sterilization effects of hydrogen peroxide vapor in laboratory animal barrier environment

YANG Wen, CHEN Jian-mao, LI Hong-bing, LANG Duo-yong, RAN Lin-wu
(Laboratory Animal Center, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

【Abstract】 Objective To observe the sterilization effects of hydrogen peroxide vapor on hard surface and air in laboratory animal barrier environment. **Methods** BIOQUELL Z sterilizer continuously sprayed 30% hydrogen peroxide vapor by 6 mL/m^3 , 9 mL/m^3 and 12 mL/m^3 for 60 min at different areas in laboratory animal barrier environment. The numbers of falling bacteria and bacteria on the surface in barrier environment were detected. **Results** The falling bacteria in second changing rooms, clean corridor, storage room, dirt corridor and buffer room were killed completely by amount of $6\text{ mL/m}^3\text{ H}_2\text{O}_2$, and the falling bacteria in animal feeding room were killed completely by amount of $9\text{ mL/m}^3\text{ H}_2\text{O}_2$, but the bacteria on the surface in barrier environment were not completely killed. The bacteria on the surface in barrier environment were completely killed by amount of $12\text{ mL/m}^3\text{ H}_2\text{O}_2$. **Conclusion** Hydrogen peroxide vapor has very good sterilization effects on laboratory animal barrier environment and housing facilities.

【Key words】 Hydrogen Peroxide Vapor; Laboratory Animal; Barrier Environment; Sterilization

目前,用于屏障环境内空气和表面消毒的方法
主要有:乙醇擦拭,过氧乙酸擦拭,含氯消毒剂擦拭

以及紫外灯照射等方法^[1-2]。这些常规方法副作用
和损坏性明显,而且消毒不彻底。过氧化氢(H_2O_2)

[基金项目]宁夏科技攻关项目“宁夏地区 SPF 级常用实验动物种群建立及规范化饲养模式研究”。

[作者简介]杨文(1962-),女,教授,研究方向:实验动物科研与管理。

[通讯作者]冉林武(1979-),男,讲师,博士,研究方向:人类疾病动物模型。

因具有氧化还原作用而具有杀菌效果,可根除细菌、病毒、真菌和芽孢,是一种广谱微生物消毒和灭菌方式,而且易分解、对环境无毒^[3]。因此,本研究旨在观察 H₂O₂ 蒸汽对屏障环境内表面、台面以及空气的消毒效果。现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 仪器设备与试剂

BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器(依科曼有限公司);生化培养箱(SPX-158),超净工作台(SW-CJ-2F),直径 9 cm 的玻璃培养皿,营养琼脂粉(上海生化科技有限公司),30% 过氧化氢(上海广诺化学科技有限公司)。

1.2 试验场所

宁夏医科大学实验动物中心屏障环境设施,面积约 600 m²,三走廊结构。动物实验区共 12 间动物实验室,为全新风模式。辅助功能区域包括二更、清洁走廊、洁存室、次清洁走廊、缓冲间等。饲养室顶部进风,四角回风,配有 30 W 石英紫外灯管(254 nm)。环境条件为:温度(22 ± 2)℃,湿度(50 ± 20)%,通风换气次数为 15 次/h 左右,相邻房间梯度压差 15 ~ 20 Pa。

1.3 屏障环境和设施细菌检测方法

1.3.1 空气落下菌的检测

检测方法按 GB/T14925-2001^[4]进行。具体方法如下:将普通营养琼脂经过高压灭菌器灭菌后倒入直径 9 cm 的一次性平皿内,4℃ 保存。采样时,每室设 4 角及中央 5 点,4 角的布点部位距墙壁 1 m 处,将普通营养琼脂平板(直径为 9 cm)放置于室内各采样点处,将平板盖打开,扣放平板旁,暴露 30 min,加盖,立即放于 37℃ 恒温箱内培 48 h 后,计算菌落数(CFU/皿)。于环境消毒处理前、后分别进行采样。

1.3.2 屏障环境和设施表面细菌的检测

采用拭子法^[5]检查屏障系统各个功能区域的墙壁、地面、饲养笼具等表面的细菌情况。主要包括:二更、清洁走廊、洁存间、动物实验室、次清洁走廊和缓冲间等。于环境消毒处理前、后分别进行采样。用 5 cm × 5 cm 的标准灭菌规格板,放在被检物体表面,连续采样 4 个。用无菌棉拭子在规格板内横竖往返涂擦,并随之转棉拭,剪去手接触部位,将棉拭子投入含 5 mL 生理盐水的试管内。将试管在振荡器上充分振荡,取 0.5 mL 样品接种于经灭菌的

营养琼脂平板(直径 9 cm)上,置 37℃ 培养 48 h,计数菌落数。表面细菌总数计算方法:细菌总数(CFU/cm²) = 平板上菌落数 × 稀释倍数 / 采样面积(cm²)。

1.4 BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器系统的准备和消毒

BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器系统主要由主设备和控制台组成,将主设备推进灭菌房间的中间,将控制台放在待灭菌房间的门外,用电缆将其与主设备连接,然后给主设备加注 H₂O₂ 液体,固定 H₂O₂ 液体输送流量,用手持式红外测距仪测量房间的体积,然后密闭门窗,在主控制台设置预热时间,汽化时间和密闭保持时间,启动灭菌周期。

H₂O₂ 不同用量对屏障环境和设施消毒的效果,对二更、清洁走廊、洁存间、动物实验室、次清洁走廊和缓冲间,分别以 6 mL/m³、9 mL/m³ 和 12 mL/m³ H₂O₂ 液体用量,将 H₂O₂ 原液经 BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器产生 H₂O₂ 蒸汽,密闭作用 60 min。采样检查屏障环境内空气落下菌和表面的细菌。

2 结果

2.1 不同用量的 H₂O₂ 对屏障环境内空气落下菌数的影响

由表 1 可见,将 H₂O₂ 原液以不同用量经 BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器产生 H₂O₂ 蒸汽, H₂O₂ 用量为 6 mL/m³ 对空气落下菌较少的区域,如二更、清洁走廊、洁存间、次清洁走廊和缓冲间,作用 60 min,可以完全杀灭空气中的落下菌; H₂O₂ 用量为 9 mL/m³ 以上,可以完全杀灭细菌数高的动物饲养室空气落下菌。

2.2 不同用量 H₂O₂ 对屏障环境内不同位置表面细菌数的影响

由表 2 可见,将 H₂O₂ 原液以不同用量经 BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器产生 H₂O₂ 蒸汽, H₂O₂ 用量为 6 mL/m³ 仅能杀灭细菌数少的环境内表面的细菌;用量为 9 mL/m³ 能杀灭绝大部分屏障环境内不同位置的表面细菌;而 H₂O₂ 用量为 12 mL/m³,能完全杀灭环境内不同位置表面的细菌。

3 讨论

实验动物屏障环境及设施在使用过程中,为了解决微生物的污染问题,保证动物质量,屏障环境

表 1 不同用量的 H_2O_2 对屏障环境内空气落下菌数的影响(CFU/皿)

Tab.1 Effects of different dosages of H_2O_2 on the number of air fall bacteria in laboratory animal barrier environment (CFU/plate)

地点 Site	消毒前 Before disinfection	H ₂ O ₂ 的剂量(mL/m ³) The dose of H ₂ O ₂		
		6	9	12
二更	2.00 ± 1.58	0	-	-
Second changing room				
清洁走廊 clean corridor	2.60 ± 1.14	0	-	-
洁存间 Storage room	1.40 ± 1.14	0	-	-
动物饲养室 1	13.50 ± 5.82	0.8 ± 0.75	-	-
Animal feeding room 1				
动物饲养室 2	14.40 ± 5.31	-	0	-
Animal feeding room 2				
动物饲养室 3	19.80 ± 6.34	-	-	0
Animal feeding room 3				
次清洁走廊 1	4.20 ± 1.48	0	-	-
Dirt corridor 1				
次清洁走廊 2	2.80 ± 1.71	0	-	-
Dirt corridor 2				
缓冲间 1 Buffer room 1	5.20 ± 1.64	0	-	-
缓冲间 2 Buffer room 2	3.50 ± 1.44	0	-	-

注 “-”代表未检测相应指标,下表同。

Noté “-” Data were not tested, the same in following tables.

表 2 不同用量 H_2O_2 对屏障环境内不同位置表面细菌数的影响(CFU/cm²)

Tab.2 Effects of different dosages of H_2O_2 on the number of hard surface bacteria among different areas in laboratory animal barrier environment(CFU/cm²)

地点 Site	消毒前 Before disinfection	不同剂量 H ₂ O ₂ (mL/m ³) The dose of H ₂ O ₂		
		6	9	12
二更	0.56 ± 0.46	0	-	-
Second changing room				
清洁走廊 clean corridor	1.76 ± 0.61	0.24 ± 0.32	-	-
洁存间 Storage room	0.64 ± 0.54	0	-	-
动物饲养室 1	25.6 ± 7.77	1.20 ± 1.21	-	-
Animal feeding room 1				
动物饲养室 2	29.00 ± 6.89	-	0.24 ± 0.36	-
Animal feeding room 2				
动物饲养室 3	33.80 ± 5.26	-	-	0
Animal feeding room 3				
次清洁走廊 1	1.60 ± 1.17	0.24 ± 0.32	-	-
Dirt corridor 1				
次清洁走廊 2	2.00 ± 0.98	0.16 ± 0.19	-	-
Dirt corridor 2				
缓冲间 1 Buffer room 1	3.76 ± 2.52	1.12 ± 0.85	-	-
缓冲间 2 Buffer room 2	2.00 ± 0.89	1.42 ± 1.15	-	-

注 “-”代表未检测相应指标,下表同。

Noté “-” Data were not tested, the same in following tables.

及设施的消毒是必不可少的一个重要环节。消毒和灭菌方法兼顾到实验动物和工作人员的安全,用量少效果好,无残留,对环境无污染对病原菌不易产生耐药性,是选择比较理想的实验动物屏障环境及设施维持性用消毒剂的标准^[6]。

实验动物屏障环境及设施消毒,以往采多用紫外灯照射或用消毒液如过氧乙酸、过氧化氢和二氧化氯等进行喷雾消毒,但是存在消毒不彻底、消毒液使用量大和对屏障环境内仪器设备金属表面、台面和墙面的腐蚀等缺点^[7,8]。本实验使用 BIOQUELL Z 过氧化氢气体发生器产生 H_2O_2 蒸汽, H_2O_2 用量为 9 mL/m³ 以上可对屏障环境内空气落下菌和不同位置的表面细菌起到较好的杀灭作用。BIOQUELL Z 过氧化氢蒸汽发生器经专门设计,具有较好的物质相容性,对金属表面、台面、地面和墙面腐蚀性小,适用于屏障环境、生物安全柜、传递窗、动物笼交换站、隔离器和医疗器械等表面的消毒和灭菌,整个过程实现程序控制,操作简单。而且在消毒过程结束后,汽化 H_2O_2 极易被还原成水和氧气,与其他灭菌方式相比无危害性的残留物,对操作人员及环境没有危害。

参考文献:

- [1] 杨华明,易滨. 现代医院消毒学[M]. 北京:人民军医出版社,2008:522-531.
- [2] 任璐,谭德讲. 实验动物屏障环境中化学消毒剂的选用[J]. 中国比较医学杂志,2008,18:67-73.
- [3] 帖金凤,王长德,陈金龙,等. 过氧化氢蒸汽对生物安全实验室灭菌效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2012,29:463-465.
- [4] 中华人民共和国国家标准. 实验动物环境及设施[S]. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局发布,2001:3-10.
- [5] 孙俊,周明浩,徐燕,等. 消毒技术与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2003:346-347.
- [6] 张大维,郝国强,徐彩云,等. 实验动物屏障环境常用消毒药品皮肤刺激实验[J]. 中国比较医学杂志,2007,17:102-104.
- [7] 韩宏云,刘保群. 三种消毒方法对无菌间空气消毒效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2003,20:210-211.
- [8] 潘瑞辉,陈晓琴,谭建琪. 紫外线和百消净消毒液联合消毒动物实验室的效果观察[J]. 广西医学,2006,28:898-899.

(修回日期)2013-08-30