

【论著】

不同清洗剂对消化内镜生物膜的清除效果研究

倪朝荣,朱子福,吴跃进,凌颖

(温州市疾病预防控制中心,浙江温州 325000)

摘要 目的 观察不同清洗剂对消化内镜生物膜的清除效果。方法 采用细菌定量检测法和残留蛋白检测法,对不同清洗剂清除模拟内镜管腔人工生物膜的效果进行观察与评价。结果 用全效多酶清洗剂、无酶清洗剂和生物膜清洗剂等3组清洗剂清洗后,用细菌培养法检测生物膜清除率依次分别为93.54%、96.01%和99.29%;用残留蛋白检测法检测清除率分别为83.72%、90.35%和95.74%;3组清除率差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 本研究3组清洗剂对模拟内镜管腔人工生物膜清除效果,以生物膜专用清洗剂清除效果最好。

关键词 清洗剂;消化内镜;生物膜;清洗效果

中图分类号:R187.3

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)02-0084-03

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.02.002

Study on cleaning effect of biofilm in digestive endoscope by different cleaning agents

NI Chao-rong, ZHU Zi-fu, WU Yue-jin, LING Ying

(Wenzhou Center for Disease Control and Prevention, Wenzhou Zhejiang 325000, China)

Abstract Objective To study the cleaning effect for digestive endoscope biofilm by different cleaning agents. **Methods** The cleaning effect of the biofilm model of endoscope with different cleaning agents were observed and evaluated by means of the bacterial culture and protein quantitative method. **Results** Using multiple enzymes cleaning agent, no-enzyme cleaning agent and biofilm cleaning agent, the eliminating rates of the bacterial biofilms by means of the bacterial culture were 93.54%, 96.01% and 99.29% respectively. The eliminating rates of the bacterial biofilms by means of the protein quantitative were 83.72%, 90.35% and 95.74% respectively, with statistical significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** The cleaning effect of biofilm cleaning agent was the best among the three cleaning agents on the biofilm model of endoscope.

Key words cleaning agent; digestive endoscope; biofilm; cleaning effect

消化内镜是诊断和治疗消化道疾病的重要工具,在临床上应用越来越广泛。消化内镜作为一种侵入性器械,容易受到患者组织、体液和血液等污染,同时由于其结构复杂、材质特殊,清洗消毒比较困难,因而成为医源性感染的潜在危险因素之一^[1]。目前普遍认为生物膜是导致内镜感染的一个重要因素^[2,3],生物膜的清除效果直接影响内镜消毒的质量。本研究通过建立模拟内镜管腔人工生物膜模型和临床内镜标本相结合的方式,比较不同清洗剂对生物膜的清除效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

清洗剂品种包括生物膜专用清洗剂、EnzyCare2

全效多酶清洗剂、Intercept 无酶清洗剂。

检测仪器用 BT-112D 型 ATP 生物荧光检测仪及其配套的采样拭子和反应试剂;其他试剂还有 BCA 蛋白检测试剂盒、LB 肉汤培养基及琼脂等,均为国内市售品。

实验用大肠埃希菌(ATCC 25922),由中国药品生物制品检定所提供。

模拟内镜管腔用直径为 4 mm 的聚四氟乙烯管,清洗器材包括超声波振动器、内镜专用毛刷、蠕动泵等。

1.2 建立人工生物膜模型

1.2.1 细菌悬液的制备 取少量大肠埃希菌菌株接种到营养琼脂斜面,于 37 °C 培养 24 h,用无菌营养肉汤洗菌,并用其配制成 10^6 cfu/ml 的菌悬液。取 2 ml 的菌悬液加入到含 200 ml 营养肉汤的三角烧瓶中,使其菌液浓度达到 100 cfu/ml 备用。

〔基金项目〕 温州市公益性社会发展科技项目(Y20160468)

〔作者简介〕 倪朝荣(1982-),男,浙江平阳人,本科,主管医师,从事消毒和传染病防控工作。

1.2.2 生物膜模型制备 用带有通气孔(过滤层 0.22 mm)的塞子将烧瓶塞住,将另一根软管通过通气孔置于营养肉汤液面上,通过蠕动泵和聚四氟乙烯管相连接组成管道系统。在 37 ℃ 的条件下,用蠕动泵以 10 ml/min 的流量下循环流动,每日 4 h。每日更换 LB 肉汤培养基,连续培养 5 d。第 6 d 用 500 ml 无菌生理盐水以 10 ml/min 的流速冲洗管腔。培养后的聚四氟乙烯管每 20 cm 截取 2 cm 的小段,作为生物膜标本备用。

1.2.3 清洗试验 依照产品说明书配制适宜浓度的清洗剂稀释液,参考 WS 507-2016《软式内镜清洗消毒技术规范》规定的清洗流程,将人工生物膜管标本浸泡于不同的清洗剂中,每组清洗剂均浸泡 3 min,并用内镜专用毛刷在管腔内壁连续刷洗 5 次,最后用无菌水冲洗管腔内残留的清洗剂,吹干后待检。

1.2.4 清洗效果评价 将清洗好的生物膜管放入含有灭菌磷酸盐缓冲液的 PE 管中浸没,于超声波清洗器中清洗 6.5 min 后,震荡 2 min,使生物膜从管壁材料上剥离,分别进行细菌定量法和残留蛋白监测法。①细菌定量检测法:吸取 1 ml 洗脱液做 10 倍系列稀释,选取适当稀释度接种营养琼脂平板,置于 37 ℃ 恒温培养箱培养 48 h,进行菌落计数。②残留蛋白检测法:吸取 0.1 ml 洗脱液与 2 ml BCA 反应液混合,60 ℃ 加热 30 min,冷却后测量 560 nm 吸光值。试验重复 5 次。

1.3 临床内镜清洗试验

选择某医疗机构临床使用中的胃镜 60 件,根据 3 种清洗剂随机分成 3 组,每组 20 件。清洗方法是按照 WS 507-2016《软式内镜清洗消毒技术规范》规定的内镜预处理、测漏、清洗和漂洗等程序进行全程序运行清洗。内镜清洗前后分别采样,用 50 ml 无菌生理盐水从内镜活检孔注入,蓝盖瓶在出口处收集洗脱液。取洗脱液 50 μl,加入裂解液 50 μl,震荡混合,待作用 30 s 后加入荧光素酶液 400 μl,用 ATP 生物荧光检测仪检测相对光单位值(RLU)计算清除率。

1.4 统计分析

采用 Excel 2016 软件进行数据录入,SPSS 17.0 软件进行统计学分析,数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 *t* 检验、方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模拟内镜生物膜清除效果

通过细菌计数法和残留蛋白法检测,清洗前 3 组人工模拟内镜生物膜细菌总数和 OD_{560 nm} 吸光

值差异均无统计学意义($P > 0.05$);全效多酶清洗剂、无酶清洗剂和生物膜清洗剂等 3 组清洗剂清洗后,用细菌培养法检测生物膜清除率依次分别为 93.54%、96.01% 和 99.29%;用残留蛋白检测法检测清除率分别为 83.72%、90.35% 和 95.74%,3 组清除率差异均有统计学意义($P < 0.05$),以生物膜专用清洗剂清除效果最好(表 1)。

表 1 3 种清洗剂对模拟内镜管腔生物膜清除效果比较

清洗剂组	细菌定量法检测结果 (cfu/ml)			残留蛋白检测结果 (OD 值)		
	清洗前	清洗后	清除率 (%)	清洗前	清洗后	清除率 (%)
全效多酶清洗剂	1.89×10^7	1.22×10^6	93.54	4.79	0.78	83.72
无酶清洗剂	1.86×10^7	7.43×10^5	96.01	4.87	0.47	90.35
生物膜专用清洗剂	1.97×10^7	1.39×10^5	99.29	4.93	0.21	95.74

2.2 临床内镜清洗效果比较

清洗前 3 组内镜用 ATP 生物荧光法检测 RLU 值接近,差异无统计学意义($P > 0.05$);用全效多酶清洗剂、无酶清洗剂和生物膜清洗剂等 3 组清洗剂对临床使用中内镜清洗后,采用 ATP 生物荧光法检测 RLU 值计算 3 组清洗剂对生物膜清除率依次分别为 69.33%、77.09% 和 85.94%,仍以生物膜专用清洗剂清除率最高(表 2),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 3 种清洗剂对临床使用中内镜管腔清洗效果比较

清洗剂组	清洗件数	检测 RLU 值		清除率 (%)
		清洗前	清洗后	
全效多酶清洗剂	20	12 238	3 753	69.33
无酶清洗剂	20	11 716	2 684	77.09
生物膜专用清洗剂	20	12 098	1 701	85.94

3 讨论

消化内镜检查和治疗在医疗机构中越来越普遍,内镜检查属于侵入性操作,会对腔道黏膜造成不同程度的损伤,尤其是活检时需穿破黏膜,接触血液及组织,内镜携带的病原菌则有可能留在腔道、血液及组织中,引发感染^[4]。有文献报告,内镜检查引起的感染率约为 0.8%^[5]。由于内镜存在管腔多、结构复杂、活动关节多及管腔小等特点,使用过的内镜很容易残留黏液、血液等有机物,而残留的这些有机物会阻碍内镜中的微生物与消毒灭菌因子进行有效地接触,容易形成生物膜,进而影响内镜的灭菌效果^[6]。有研究表明,由生物膜引发的临床细菌感染占感染率的 60% 以上^[7]。生物膜一旦形成,就难以用普通清洗方法去除,并在内镜反复使用、处理的循

环过程中逐渐累积,当生物膜累积到一定厚度,内镜内的细菌就会很难被杀灭,进而影响到内镜清洗灭菌的质量^[8]。多个扫描电镜试验中也发现临床使用中的内镜管腔生物膜生长现象十分普遍^[9]。

生物膜清洗剂中的去除分子一侧为亲生物膜端,可以与生物膜紧密结合,另一侧为近水端,可以与水进行紧密结合,在水不断流动的情况下就会带动分子运动,通过渗透对生物膜的菌落进行分离并瓦解,将生物膜从内镜上剥离,进而达到清洗杀菌效果^[10]。多酶清洗剂是一种含有蛋白水解酶等多种生物酶的清洗剂,可迅速、高效地分解各种黏附在器械表面的污物,如人体的脂肪、血液、黏液和胃液等,分离污物颗粒以提高清洗的效率^[11]。本研究通过内镜管腔生物膜模型和临床内镜标本清洗前后结果显示,生物膜清洗剂、无酶清洗剂和多酶清洗剂均对内镜有清洗灭菌效果,但生物膜清除剂的清除能力比无酶清洗剂和多酶清洗剂要高。本研究证明,细菌计数法、残留蛋白检测法和 ATP 生物荧光法之间存在正相关,三者对相同清洗方法清洗的器械进行检测,其结果基本一致,这 3 种检测方法也是常见的医疗器械清洗评价方法^[12]。在内镜管腔生物膜模型试验中,我们仅以单一的大肠埃希菌作为培育生物膜的菌种具有一定的局限性,临床内镜使用的过程中还受胃肠道分泌的消化液、黏液、食物残渣、血液及其他菌种的污染,这些因素都有利于生物膜的形成,但是大肠埃希菌是肠道正常菌群的主要组成部分,也是内镜清洗消毒后检测的主要细菌,因此具有一定的代表性。

综上所述,内镜清洗、消毒过程中引发医源性感染的危险因素较为复杂,清洗是内镜消毒与灭菌一个很重要的环节。临床上应重视和规范内镜的清

洗、消毒工作,严格按照 WS 507-2016《软式内镜清洗消毒技术规范》中清洗消毒流程对内镜进行处理,降低院内感染的风险,提高医疗质量和保障患者安全。

参 考 文 献

- [1] 孔金艳,唐平,张修礼,等. 82 所医疗机构消化内镜清洗消毒现状调查分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(18):2795-2797.
- [2] Nelson DB. Recent advances in epidemiology and prevention of gastrointestinal endoscopy related infections[J]. Curr Opin Infect Dis,2005,18(4):326-330.
- [3] Miner N,Harris V,Ebron T,et al. Sporicidal activity of disinfectants as one possible cause for bacteria in patient-ready endoscopes[J]. Gastroenterol Nurs,2007,30(4):285-290.
- [4] 赵晓慧. 内镜中心医院感染的危险因素分析及对策[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2013,27(3):226-227.
- [5] 李仙丽,吕新芝,汤得真. 消化内镜多酶清洗方法的改进[J]. 中国消毒学杂志,2012,29(5):459-460.
- [6] 李良芳,刘婉薇,郑悦,等. Matrix™ 生物膜专用清洗剂用于内镜清洗的效果观察[J]. 护理研究,2016,30(1):82-84.
- [7] 夏菁,王悦,常静. 一种新型生物膜清洗液清洗效果的临床研究[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(18):4258-4260.
- [8] 陈彦丽,史克利,陈焯,等. 生物膜特效清洗剂与全效酶对腰椎穿刺针清洗效果对比[J]. 中国消毒学杂志,2014,31(3):312-313.
- [9] 马苏,傅增军,丁文霞,等. 消化内镜腔细菌生物膜有效清除方法[J]. 中国消毒学杂志,2017,34(9):807-810.
- [10] 李铁军,张海燕,赵勇,等. 内镜器械应用生物膜清洗剂的清洗效果[J]. 中国医学装备,2016,13(3):22-24.
- [11] 苏爱莲,许少英,袁小玲,等. 不同温度鲁沃夫多酶溶液对手术器械清洗效果的影响[J]. 现代医院,2013,13(10):70-71.
- [12] 张流波,杨华明. 医学消毒学最新进展[M]. 北京:人民军医出版社,2015:183-186.

(收稿日期:2018-10-08)

(上接第 83 页)

- [2] 陆焯,陆龙喜,李晔,等. 汽化过氧化氢对不同空间消毒效果观察[J]. 中华医院感染学杂志,2015,25(11):2628.
- [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(6):463-465.
- [4] 蔡冉,陆焯,李晔,等. 汽化过氧化氢对不同材料表面的消毒效果比较[J]. 中国消毒学杂志,2016,33(7):616-618.
- [5] 孙志平,韩文东,丁悦娜,等. 过氧化氢干雾对生物安全柜微环境表面消毒效果的研究[J]. 微生物与感染,2013,8(4):220-226.

- [6] 宋大海. 过氧化氢干雾灭菌新技术探讨[J]. 中国制药装备,2013,12(35):33-34,50.
- [7] 郝丽梅,衣颖,吴金辉,等. 汽化过氧化氢在消毒领域中的应用研究[J]. 医疗卫生装备,2018,39(2):94.
- [8] 张文福. 汽化过氧化氢消毒技术及其在生物安全领域的应用[J]. 中国消毒学杂志,2017,34(10):962.
- [9] 付丽娟,刘万忠. 过氧化氢消毒灭菌技术及设备的研究新进展[J]. 中国药师,2017,20(2):341.

(收稿日期:2018-10-28)