

# 新型生物指示剂在紫外线消毒方面的应用

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 祝庆荃 何来英 袁洽勤

**提要** 用一种可穿透紫外线的可溶性菌膜作为生物指示剂,检查紫外线的消毒效果。当紫外线剂量为 $12000\mu\text{w}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ 时可杀灭99.9%以上金黄色葡萄球菌;  $50000\mu\text{w}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ 可杀灭99.9%以上枯草杆菌芽孢。并且证明杀菌效力不完全取决于紫外线强度的高低,而照射剂量的大小在消毒效果中起关键作用。应用时根据不同消毒对象,调节照射时间,计算所需照射剂量,即可达到保证消毒质量的目的。应用新型生物指示剂检查紫外线消毒效果除简化操作程序外,还可以提高细菌回收的准确度及试验的重复性。

**关键词** 生物指示剂 紫外线 消毒

生物学检测方法对于确认消毒、灭菌处理的彻底与否具有重要意义。由于紫外线的穿透能力极低,在监测其消毒效果时,一般采用表面光洁的物体,如不锈钢、玻璃等作指示菌的载体,为了简化操作程序,使回收活菌数更为准确的反映消毒因子的杀菌效力,我们采用一种可穿透紫外线的可溶性菌膜作为生物指示剂,以检查紫外线的消毒效果。

## 材料与方法

一、试验菌株:用金黄色葡萄球菌ATCC 6538和枯草杆菌芽孢黑色变种ATCC 9372两种菌株制备菌膜,每片含菌量分别为 $1.0\sim 2.0\times 10^6$ 繁殖体和 $3.0\sim 7.0\times 10^6$ 芽孢。

二、紫外线灯:ZSZ30瓦紫外线杀菌灯为北京照明器材二厂生产,悬挂于室内。

北京半导体设备一厂生产洁净工作台内安装的普通紫外线灯,功率30瓦,发射紫外线中心波长为 $2537\text{\AA}$ 。

三、紫外线测强仪:上海顾村电光仪器厂生产的UVR<sub>254</sub>型紫外线测强仪。

四、试验方法:染菌载体制备方法见文献<sup>[1]</sup>,将染菌载体分别置不同强度的紫外线下照射不同时间后,放入含无菌生理盐水4.5ml

试管中,振摇1分钟菌膜全部溶化后,取原液或适当稀释液0.2ml接种于普通琼脂平板上,每个稀释度接种两块平皿,放 $37^\circ\text{C}$ 温箱培养24~48小时,计数菌落,每个试验重复三次以上。

五、照射剂量的计算:根据所需紫外线强度,调节与被照射物距离。

照射剂量( $\mu\text{w}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ ) = 紫外线强度( $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ ) × 照射时间(S)。

## 结果与讨论

本试验所用微生物指示菌系国际上作为消毒指示菌的通用菌株。对理化因子具有一定的抵抗力<sup>[1]</sup>,可以作为同类微生物的代表菌株,所用金黄色葡萄球菌,代表一般呼吸道病原菌和创伤感染菌。枯草杆菌芽孢代表致病性芽孢菌。病毒对紫外线的抵抗力介于细菌繁殖体和芽孢之间,能杀灭芽孢的紫外线剂量亦可灭活病毒<sup>[2]</sup>。

一、紫外线对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌芽孢的杀灭作用:悬挂于室内的ZSZ30瓦紫外线灯,剂量为 $6000\mu\text{w}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ 对金黄色葡萄球菌的杀灭率为98~99%;  $12000\mu\text{w}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ 杀灭率在99.9%以上。固定在洁净工作台内的

普通紫外线灯，剂量只需  $6000\mu w \cdot s/cm^2$  杀灭率即可达99.9%以上。照射剂量为  $40000\mu w \cdot s/cm^2$  对枯草杆菌芽孢杀灭率为98~99%；

$50000\mu w \cdot s/cm^2$  可达99.9% (表1) 与文献报道相符<sup>[2]</sup>。

表 1 不同剂量及强度紫外线对金黄色葡萄球菌杀灭率的比较

光源位置	照射剂量 ( $\mu w \cdot s/cm^2$ )	紫外线强度 ( $\mu w/cm^2$ ) 杀灭率 (%)								平均 杀灭率 $\bar{X} \pm SD$	P值
		20	30	40	50	60	70	80	100		
悬挂式	12000	99.9259	99.9440	99.9700				99.9680		99.9519	<0.01
		$\pm 0.03$	$\pm 0.01$	$\pm 0.04$				$\pm 0.06$		$\pm 0.02$	
	6000	98.7626	98.1887	98.8526				99.5619		98.8415	
		$\pm 0.62$	$\pm 0.40$	$\pm 0.46$				$\pm 0.20$		$\pm 0.56$	
洁净工作台内	16000	99.9493	99.9782	99.9303	99.9465					99.9587	>0.05
		$\pm 0.03$	$\pm 0.005$	$\pm 0.003$	$\pm 0.04$					$\pm 0.01$	
	12000	99.9875	99.9862	99.9837	99.9725	99.9488	99.9188		99.9500	99.9639	>0.05
		$\pm 0.005$	$\pm 0.07$	$\pm 0.02$	$\pm 0.01$	$\pm 0.03$	$\pm 0.10$		$\pm 0.06$	$\pm 0.03$	
	6000	99.9843	99.9251	99.9862						99.9850	>0.05
		$\pm 0.02$	$\pm 0.05$	$\pm 0.01$						$\pm 0.001$	
3000	99.7309	99.7488	99.7238						99.7344	<0.001	
	$\pm 0.25$	$\pm 0.22$	$\pm 0.25$						$\pm 0.012$		

注：未照射对照菌膜  $1.2 \sim 1.7 \times 10^6$ /片

根据张泽申对上海10所医院57支紫外线灯照射强度及使用情况调查的结果表明，使用紫外线的剂量均在  $20000\mu w \cdot s/cm^2$  以上，高者达  $25\text{万}\mu w \cdot s/cm^2$ ，照射剂量大于  $5\text{万}\mu w \cdot s/cm^2$  的占90%<sup>[3]</sup>，从我们实验和文献报道<sup>[2,4]</sup> 结果来看，对杀灭枯草芽孢只需  $4 \sim 5\text{万}\mu w \cdot s/cm^2$ ，只有霉菌孢子才需要超过  $15\text{万}\mu w \cdot s/cm^2$ 。照射剂量过大，时间过长，影响了紫外线灯管使用寿命，降低其杀灭效果，产生的大量臭氧对人体也有损害。

二、不同强度紫外线的杀菌作用：紫外线对微生物的杀灭作用随紫外线强弱和微生物种类而异。我们用同一照射剂量分别用不同强度紫外线对金黄色葡萄球菌和枯草杆菌芽孢进行消毒试验，说明杀菌效力不完全取决于紫外线强度高低，而照射剂量大小在消毒效果中起关键作用。剂量在  $12000\mu w \cdot s/cm^2$  时，照射强度无论是20、30、40或  $80\mu w/cm^2$  对金黄色葡萄球菌的杀灭率无差异，均可达99.9% (表2) 即使杀灭99.9%以上枯草杆菌芽孢，也只

需强度  $30\mu w/cm^2$ ，剂量在  $5\text{万}\mu w \cdot s/cm^2$ 。

表 2 不同剂量及强度下紫外线的杀菌作用比较

	剂量 ( $\mu w \cdot s/cm^2$ )	强度 ( $\mu w/cm^2$ )	平均杀灭率%	P值
			$\bar{X} \pm SD$	
ATCC 6538	40000	20	$98.9516 \pm 0.60$	<0.05
		40	$99.4701 \pm 0.51$	>0.05
		80	$99.6900 \pm 0.02$	>0.05
	50000*	20	$99.7311 \pm 0.07$	<0.001
		30	$99.9225 \pm 0.01$	>0.1
		40	$99.9246 \pm 0.02$	>0.05
ATCC 9372	12000**	20	$99.9694 \pm 0.03$	>0.5
		30	$99.9440 \pm 0.01$	>0.5
		40	$99.9644 \pm 0.06$	>0.5
		80	$99.9680 \pm 0.06$	>0.5
		80	$99.9492 \pm 0.03$	>0.05

\* 对照菌膜回收数为  $2.9 \sim 7.0 \times 10^6$ /片；

\*\* 对照菌膜回收数为  $1.0 \sim 1.7 \times 10^6$ /片

目前国内有人为了提高消毒物品的安全度，将紫外线强度订在不低于  $70\mu w/cm^2$  为出厂合格标准，有人并以此标准检查了医疗单位使用的大量紫外线灯，结果强度标准合格率均不

超过50%〔5,6〕。各地调查紫外线灯出厂时的强度,大部分也低于70μw/cm,有的仅30μw/cm<sup>2</sup>。今后除对低质产品严加控制,提高质量以外,对目前使用中不低于30μw/cm<sup>2</sup>的紫外线灯,根据不同消毒对象,调节照射时间,计算所需照射剂量,同样可以达到保证消毒质量的目的。

三、新型生物指示剂的应用:用可溶性基质制备的生物指示剂为半透明薄膜。测定从30~100μw/cm<sup>2</sup>(间距10μw/cm<sup>2</sup>)强度,紫外线在上层菌膜遮拦下的穿透率分别为百分之20、20、20、21、22、22、20和19。透过率没有随强度增加而增高的趋势。剂量为6万μw.s/cm<sup>2</sup>(强度60μw/cm<sup>2</sup>,照射时间为16分40秒)时,紫外线对上、下层菌膜的杀灭率见表3。紫外线对下层菌膜的杀灭率在90~94%之间,不同强度下紫外线穿透菌膜时杀灭率也是稳定的。说明上层菌膜表面和内部的细菌无疑均受到紫外线的作用,在杀菌效果活菌计数中存活下来的细菌确实是对紫外线有抵抗力者,排除了因载体本身的遮拦使菌膜内部和底层的细菌未直接暴露于紫外线下而存活下来,影响消毒试验结果的正确判断。

表3 紫外线透过菌膜对枯草杆菌芽孢的平均杀灭率(%)

上层菌膜平均杀灭率	下层菌膜平均杀灭率
99.9975(99.9956~99.9994)	94.4911(91.7642~97.2180)
99.9954(99.9905~100.00)	90.7478(87.3569~94.1386)
99.9651(99.8811~100.00)	92.0174(88.8244~95.2104)
99.9901(99.9594~100.00)	93.8034(92.4529~95.1540)

注:试验次数均为4次;括号内数字为杀灭率范围

由于菌膜溶于水,可减少加玻璃珠振荡水

洗过程,只要排除其他技术性误差,活菌回收结果可以得到极好的重复。

An Application of New Type Biological Indicator in Ultraviolet Disinfection Zhu Qingquan, et al., Institute of Epidemiological and Microbiology, Beijing

The detection of the effect of disinfection of ultraviolet by using a soluble bacteria film which could be passed through by ultraviolet as a biological indicator was carried out. When the dose of ultraviolet was 12000μw.s/cm<sup>2</sup>, more than 99.99% of *S. aureus* could be killed. When the dose was 50000μw.s/cm<sup>2</sup>, more than 99.9% *Subtilis varniger* could be killed. It was showed that the bactericidal ability was not completely depended on the degree of intensity of ultraviolet, the doses of UV light had a key role in the effect of disinfection.

In order to get the guarantee of quality of disinfection, one could also calculate the doses of UV light by adjusting the irradiated time according to the various objects.

The advantages of this new type biological indicator for detecting the effect of UV disinfection were to increase the degree of accuracy for recovery of bacteria and repeatability of experiments.

Key words Biological indicator Ultraviolet Disinfection

参 考 文 献

1. 祝庆荃,用于消毒监测的新型生物指示剂.中华流行病学杂志 1987; 8(4):228.
2. 吴德林.紫外线辐射消毒.薛广波主编.实用消毒学.北京:人民军医出版社,1986:165~179.
3. 张泽申.医院紫外线消毒现状调查.消毒工作通讯 1987; 7:3.
4. 薛广波.紫外线对微生物杀灭剂量的研究.消毒灭菌专辑 1986; 67~70.
5. 辽宁省卫生防疫站,等.辽宁省部分医院消毒监测报告.消毒与灭菌 1986; 3(3):170.
6. 张文庆,等.对丹东地区部分医院现用紫外线灯强度调查.消毒与灭菌 1986; 3(3):173.