

## 综述

## 乙型肝炎病毒消毒方法研究进展

华西医科大学肝炎研究室 陈可跃 周思亮

乙型病毒性肝炎的防治是一个急待解决的问题。在医疗卫生单位各种物品的乙型肝炎病毒(HBV)污染可达6.3~14.8%〔1〕。由于医疗器械的污染造成HBV感染也时有报道〔2〕。因此,搞好HBV的消毒处理对控制HBV感染流行有十分重要的意义。

## 一、HBV对理化因子的抵抗力需要重新认识:

1973年WHO推荐用10 000ppm次氯酸作为HBV消毒剂〔3〕,美国牙科协会则规定牙科器械必须用高压灭菌或者高效芽胞消毒剂处理〔4〕。这是由于当时认为HBV对理化因子有较强的抵抗力,能耐受100℃3分钟,2%酚8天,0.5%甲醛7天、pH2.7 3小时,而70~90%酒精、异丙醇和季铵盐类化合物对HBV无效〔5~8〕。然而,这些结论都是基于以HBsAg抗原性的消失作为HBV感染性的灭活指标而得出的。

近年来随着消毒效果评价方法的观念更新,不少学者用常用消毒剂、热力及电离辐射等多种消毒方法对HBV进行处理,发现HBV对理化因子的抵抗力不同于以前的认识,实际上多种常规消毒方法均可灭活HBV的感染性(附表)。

二、评价HBV消毒效果的合理指标:以往评价各种理化因素的消毒效果时,常以HBsAg抗原性的消失作为HBV传染性消失的指标〔13~16〕。实际上HBsAg的免疫原性对理化因子有较强的抵抗力,但这种抵抗力并不等同于HBV的感染活性对外界理化因素的抵抗力〔17〕。破坏微生物的抗原性所需的理化因子强度比消除其感染性可能大很多倍,所以用HBsAg抗原性的破坏作为对HBV消毒效果的评价指标可能要求过高。近年来,国内外学者努力寻找新的安全可靠的指标来衡量对HBV的消毒效果(附表)。

1.动物直接感染实验:由于黑猩猩对HBV易感,故黑猩猩感染实验可作为判断HBV灭活的直接证据。Howard认为不能以HBsAg的破坏来推测HBV传染性的灭活,只有经黑猩猩的感染实验才能确定〔18〕。黑猩猩在静脉接种HBV后,经过一定潜伏期,血中可有多种HBV的血清学标志物出现,如抗-HBc IgM、

抗-HBs和HBsAg,肝脏活组织检查有异常组织学改变。而接种已消毒灭活的HBV,则6个月内无任何症状或血清学标志物产生〔19〕。Kobayashi和Bond等人用黑猩猩作实验,观察发现,多种普通理化方法均能达到使HBV丧失感染性的目的〔9~11,20〕。

黑猩猩实验其结果固然客观、可靠,但是黑猩猩来源困难,成本亦高,不能大量重复实验。有人用小白鼠作为HBV经消毒剂处理后接种的动物模型〔21,22〕。不过,因小白鼠并非HBV的易感动物,仅能从其血清抗-HBs出现情况来判断对HBsAg抗原性的影响,仍不能确切地反映出HBV是否灭活。尚有待进一步研究。

2.电镜观察消毒后病毒颗粒的变化:Schulster等用电镜观察HBV的破坏情况。发现Dane颗粒在不同理化因子作用后发生形态上的改变,如颗粒减少、外形皱缩、电子密度增加,甚至完全消失〔13,23~25〕。然而,虽然电镜下可以观察到HBV形态改变,但某种程度的形态学变化尚不足以确切反映其生物学活性——感染力是否受到影响。

3.HBV DNA和DNAP的灭活:完整HBV核内有DNA基因组及内源性DNA多聚酶(DNAP)。二者是HBV复制必不可少的。Will用四种不同来源的克隆HBV DNA首尾连接后,通过肝内直接注射接种黑猩猩,7周后出现典型急性肝炎表现,证明HBV DNA有感染性〔26〕。还有人用结构改变后的HBV DNA(二聚体、三聚体或缺少部分基因组)肝内注射,也可发生HBV感染。

Feimen用动物实验证实在HBV DNA、HBsAg和HBeAg三项指标中,只有HBV DNA浓度与HBV感染水平一致〔27〕。Nath用不同方法处理HBV DNAP,发现将其灭活所需的处理强度低于灭活HBsAg的最小有效量〔12,18〕。从病毒生物学观点而言,HBV DNA或DNAP被破坏都可导致HBV复制终止而达到HBV的有效灭活。虽然用DNA和DNAP的灭活作为对HBV消毒效果的衡量指标较之HBsAg灭活



附表 各种HBV消毒的评定指标

评定指标	消毒方法	效果
黑猩猩实验	500ppm次氯酸钠	无感染性(10)
	2%戊二醛	
	70%异丙醇	
	80ppm碘仿	
	0.1%戊二醛	无感染性(9)
	80%酒精	
	98℃、2'	
	103℃、9'或65℃、10hr	
电镜观察	含氯消毒剂Kirbychlor	HBV颗粒破裂(13)
	5600ppm次氯酸钠, 25℃, 3'	HBV颗粒消失(23)
	1000mg/L电解氯 10'	HBV颗粒减少(24)
	0.5%过氧乙酸 2'	存少量散在颗粒
	100℃湿热 10'	难以找到颗粒
DNA灭活	0.1%高锰酸钾2'	DNA灭活(25)
	21.5KGy钴-60辐照	DNA灭活(29)
	有效氯800mg/L, 26℃, 10'	DNA灭活(33)
DNAP灭活	60%乙醇 4℃, 10'	DNAP灭活(28)
	0.5%次氯酸钠 1'	DNAP灭活
	60℃ 60'	DNAP灭活(28)
	0.3%漂白粉精 15'	DNAP灭活(12)
	3%氯胺T 15'	DNAP灭活
	2.5碘酒 15'	DNAP灭活
	2%戊二醛 15'	DNAP灭活
	5%石炭酸 15'	DNAP灭活
	5%来苏尔 10'	DNAP灭活
	0.5%过氧乙酸 10'	DNAP灭活
	2%盐酸 15'	DNAP灭活
	0.1%新洁尔灭 30'	DNAP灭活
	2%红汞 15'	DNAP灭活
	75%酒精 30'	DNAP灭活
3%H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10'	DNAP灭活	
0.1%高锰酸钾 5'	DNAP灭活	

和黑猩猩实验更为优越,但目前对此尚有争议,需进行更为深入的研究。

三、消毒HBV的可行方法:从附表可看出,HBV对多种常用消毒方法都是敏感的。对于各种耐热物品,热力消毒安全可靠且简便易行。若干常用化学消毒剂,如含氯制剂、过氧乙酸、碘制剂、戊二醛等对HBV灭活作用确切、配制容易、使用方便、易于推广。但它们各自也有不足之处。如过氧乙酸和含氯制剂的化

学性质不够稳定、刺激性强、对金属器械有腐蚀作用,且易受pH、有机物的影响。戊二醛是WHO推荐的被HBV污染器械的消毒剂,对金属无腐蚀作用,国外广泛用于内窥镜的消毒。惟其价格较高,限制了使用范围。电离辐射是利用γ射线、伦琴射线或电子辐射能穿透物品、杀死其中微生物的低温消毒方法。优点是效果较确实,可用于不耐高温的物品(塑料制品、疫苗、抗生素等),且适于大规模消毒。但可使纺织纤维失去张力及某些药品发生色泽或化学变化,所需设备费用亦高,国内尚难以广泛使用(30)。

目前对HBV消毒可随具体情况选用:

1. 氯制剂: 3%漂白粉精,含有效氯250ppm的二氯异氰尿酸钠和氯化磷酸三钠等,室温15分钟,用于清洁器皿和餐具(25)。

2. 氧化剂: 0.2~0.5%过氧乙酸, 15%过氧化氢,室温作用10~30',作为餐具、外科移植物的消毒剂(25)。

3. 烷化剂: 2%戊二醛用于手术器械、内窥镜消毒。1%甲醛用于血液制品消毒(25,31)。

4. 碘制剂: 1%碘酒25℃作用15'以上,用于消毒体温表、导管、牙科器械。应注意密闭以免碘升华,消毒后应清除表面粘有的碘液。有条件时选用碘伏(有效碘200ppm)效果更好(25,31)。

但是,仍有些问题尚待研究解决:

1. 医务人员手的消毒是杜绝HBV医源性感染的重要问题。戴手套并不能完全防止HBV感染(32)。从实用角度考虑,洗手消毒时间又不能太长。目前尚无快速而确实可靠的消毒方法。作为现行措施,可先用物理方法(肥皂、流动水)尽量减少手部皮肤沾染的HBV感染物,再用0.1~0.5%过氧乙酸或含200ppm有效碘的碘伏泡手1~2分钟(31,32)。

2. 内窥镜的快速有效消毒亦是一个急待解决的问题。由于纤维内窥镜的阀门和狭窄管道等特殊结构,不能常规用高压灭菌消毒,多数光纤镜也不能整套浸入消毒液。国外主要采用戊二醛、聚烯吡酮碘清洗消毒或环氧乙烷蒸气消毒。前者成本高,有难闻气味且可能引起过敏反应。后者需要时间长(>2小时)且残留气体不易排除,无法适应门诊大量内窥镜检查工作的要求。

参 考 文 献

1. 张勇. 医疗卫生单位乙型肝炎表面抗原污染状况调查. 消毒与灭菌 1986; 3(3): 128.



2. George PK, et al. A large outbreak of acupuncture-associated hepatitis B. *Am J Epidemiol* 1988; 127 (3) : 591.
3. WHO. Tech Report Series. *Viral Hepatitis* 1973 : 512 : 35.
4. Council. Type B (serum) hepatitis and dental practice. *J Am Dent Assoc* 1976; 92 : 153.
5. Bond WW, et al. Virus hepatitis B; aspects of environmental control. *Health Lab Sci* 1977; 14 : 235.
6. Krugman S, et al. Hepatitis virus; effect of heat on the infectivity and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strains. *J Infect Dis* 1970; 122 : 432.
7. Cossart YE, et al. Epidemiology of serum hepatitis. *Brit Med Bull* 1972; 28 (2) : 156.
8. Gerin JL, et al. Biophysical properties of Australis antigen. *J Virol* 1969; 4 (57) : 763.
9. Kobayashi H, et al. Susceptibility of hepatitis B virus to disinfectants or heat. *J Clin Microbiol* 1984; 20 (2) : 214.
10. Bond WW, et al. Inactivation of hepatitis B virus by intermediate-to-high-level disinfectant chemicals. *J Clin Microbiol* 1983; 18(3) : 535.
11. Lelie PN, et al. Inactivation of  $10^{15}$  chimpanzee-infectious doses of hepatitis B virus during preparation of a heat-inactivated hepatitis B vaccine. *J Med Virol* 1987; 23 (3) : 289.
12. 赵世祯. 重新评价14种消毒剂对乙型肝炎病毒的灭活作用. *中国公共卫生* 1986; 2 : 53.
13. Hopkins R, et al. Evaluation of a new disinfectant on the antigenicity and morphology of hepatitis B surface antigen. *Med Lab Sci* 1981; 38 (4) : 419.
14. Bryan JA, et al. Hypochlorite solutions and viral hepatitis. *JAMA* 1974; 230 : 961.
15. Bond WW, et al. Control of hepatitis B virus in environmental contamination. *JAMA* 1975; 231 : 700.
16. Barker LF, et al. Some antigenic and physical properties of virus-like particles in serum of hepatitis patients. *J Immunol* 1969; 102 : 1529.
17. Imai M, et al. Antigenicity of reduced and alkylated Australia antigen. *J Immunol* 1974; 112 : 416.
18. Howard CR, et al. Chemically inactivation of hepatitis B virus; the effect of disinfectants on virus-associated DNA polymerase activity morphology and infectivity. *J Viro Meth* 1983; 7 (3) : 135.
19. 胡善联. 病毒性肝炎的新进展. 上海科技文献出版社, 1985; 51.
20. Prince AM, et al. Sterilization of hepatitis and HTLV-virus by exposure to Tri (n-Butyl) phosphate and sodium cholate. *Lancet* 1986; 1 : 706.
21. 胡善联. 肝炎消毒剂333灭活乙肝病毒效果的研究. *消毒与灭菌* 1986; 3 (2) : 59.
22. 刘希真. 过氧戊二酸对乙型肝炎表面抗原灭活效果的研究. *消毒与灭菌* 1987; 4 (1) : 11.
23. Schulster LM, et al. Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigen by sodium hypochlorite disinfection. *Appl Environ Microbiol* 1981; 42 (5) : 762.
24. 刘诗李. 乙型肝炎病毒灭活指标的探讨. *消毒与灭菌* 1987; 4 (2) : 69.
25. 赵世祯. 流行病学进展. 第五卷. 北京: 人民卫生出版社, 1988 : 203.
26. Will H, et al. Cloned HBV DNA causes hepatitis in chimpanzees. *Nature* 1982; 299 : 740.
27. Feinman SV, et al. Molecular hybridization methodology a sensitive indicator of hepatitis B virus infectivity. *Gastroenterology* 1983; 84(5) : 1371.
28. Nath N, et al. Inactivation of DNA-polymerase associated with hepatitis B virus. *J Med Virol* 1982; 10 (2) : 131.
29. 刘希真. 钴-60辐照灭活乙型肝炎病毒的研究. *消毒与灭菌* 1987; 4 (3) : 125.
30. 薛广波. 实用消毒学. 人民军医出版社, 1986.
31. James AC, et al. Selection for dental practice of chemical disinfectants and sterilants for hepatitis and AIDS. *Aust Dent J* 1987; 32(5) : 368.
32. Arthur LR, et al. Failure of gloves and other protective devices to prevent transmission of hepatitis B virus to oral surgeons. *JAMA* 1988; 259 (17) : 2558.
33. 徐云庆. 消毒剂对乙型肝炎病毒灭活效果的研究. *消毒与灭菌* 1988; 5 (4) : 190.

(1988年4月8日收稿, 1989年9月11日修回)