

氧化电位水对 HBsAg 破坏效果的试验及临床观察

高哲平 尹炜玲 韩呈武 张京 靳维声 李雪清

【摘要】 目的 观察氧化电位水(EOW)在胃镜消毒中对乙型肝炎表面抗原(HBsAg)抗原性的破坏效果。方法 模拟现场试验用 EOW 与人工污染的胃液作用 1 min, 观察其对 HBsAg 的破坏作用, 以 PBS 作为对照组。现场试验以 HBsAg 阳性病人用后的污染胃镜, 作为消毒前对照, 经去有机物处理及 EOW 浸泡 1 min, 胃镜表面涂抹采样, 用 ELISA 检测 HBsAg。结果 人工污染胃液(HBsAg 平均 S/N 值为 42.16)加入胃液量 100 倍的 EOW 作用 1 min 后, HBsAg 检测为阴性, 对照组仍为阳性。临床污染胃镜(HBsAg 平均 S/N 值为 5.99)经清洁、消毒后 HBsAg 检测为阴性。结论 在清除有机物后, 氧化电位水可有效的破坏污染胃镜 HBsAg 的抗原性。

【关键词】 氧化电位水; 消毒; 乙型肝炎表面抗原

Observation on the effect of disinfection to HBsAg by electrolyzed oxidizing water GAO Zheping, YIN Weiling, HAN Chengwu, et al. Nosocomial Infection Department China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

【Abstract】 Objective Observation on the effect of disinfection on gastroscope, contaminated by hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the electrolyzed oxidizing water (EOW). **Methods** Contaminated gastric juice and serum was added to EOW for 1 minute. Positive control samples were treated with PBS instead of EOW in the same way. Gastrosopes used for hepatitis patients were immersed in the EOW for 1 minute after cleaning. Samples were collected before and after treatment. ELISA was used to test HBsAg. **Results** With mixed samples (average S/N = 42.16) of EOW, HBsAg became negative when diluted in 100 times. However, the HBsAg of positive control samples remained positive. After cleaning the gastroscope (average S/N = 5.99) immersed in EOW, HBsAg became negative. **Conclusion** EOW was effective in destroying HBsAg which could be used for gastroscope disinfection.

【Key words】 Electrolyzed oxidizing water (EOW); Disinfection; HBsAg

乙型肝炎病毒(HBV)感染途径主要是血液及其污染物的接触传播, 临床上纤维胃镜的消毒不彻底亦可导致交叉感染, 为避免其发生, 必须对胃镜进行严格规范的清洁、消毒。中日友好医院试用氧化电位水(EOW)进行胃镜消毒, 曾报道^[1]EOW 对胃镜污染菌的杀灭效果, 现报告其对 HBsAg 破坏效果的试验及临床观察结果。

材料与方法

1. 材料 :EOW 采用西日本株式会社 SUNTECH-1000 氧化电位水生成机, 经电解含 0.05% 氯化钠的软化水于阳极生成, 该水氧化还原电位 $> 1\ 100\ \text{mV}$, $\text{pH} < 2.7$, 有效氯含量 $40 \sim 50\ \text{mg/L}$, 于使用前制备。清洁剂是将阳极产生的

“酸性水”与阴极产生的“碱性水”等量混合, $\text{pH} 7.0$ 。中和剂为含 20% 小牛血清、0.5% 硫代硫酸钠的 PBS 溶液。0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, $\text{pH} 7.2$)。21 例病人 HBsAg 阳性血清由本院病毒室提供。酶联免疫吸附试验试剂盒, 灵敏度为 $1.0\ \text{ng/ml}$ (由华美生物工程公司生产), 批号: 990199。检测采用 SORIN 全自动酶标分析仪。

2. 方法 :实验室及临床标本均用 ELISA 检测, 依照 GB15981-1995 规定程序操作^[5]。

(1) 模拟现场实验室观察(EOW 对人工污染胃液的破坏试验):

试验组 :将 21 例 HBsAg 阳性血清分别与正常胃液混合制成污染胃液(污染胃液), 取污染胃液 $20\ \mu\text{l}$ 用成倍液量的 EOW 作用 1 min 后, 取 $0.5\ \text{ml}$ 加入至等量中和剂中, 作用 10 min。

对照组 :每例均以同等倍数 PBS 作为对照, 稀

释倍数与试验组相同。试验重复 4 次,共 21 例。

(2)现场消毒试验 随机抽检乙肝五项异常者共 18 例,HBsAg 阳性病人用后的胃镜为试验对象。行胃镜检查后用吸管及无菌棉拭子涂抹胃镜表面,将黏液置于 5 ml 试管中作为消毒前采样;清洁、消毒在两槽内进行,第一槽为清洁剂,以软海绵块擦洗镜身表面 3~4 遍,以负压吸引冲洗腔内 3~5 次,并用毛刷刷洗活检通路;第二槽为新制备的 EOW 约 2 000 ml,浸泡胃镜插入部使腔内充满 EOW,1 min 后以含中和剂的棉拭子做消毒后涂抹采样。

实验室分别取 50 μ l 待检液,用 ELISA 检测。记录所测样本 A(吸光度,旧称 OD 值),计算 S/N 比值(试验组 A 值/阴性对照组 A 值),S/N < 2.1 为 HBsAg 抗原性破坏的标准。另设胃镜污染物、PBS、中和剂、中和产物对照以检测其对系统灵敏度有无影响。

结 果

1. 模拟现场实验室观察:

(1)经系统检测试剂盒灵敏度结果为 1 ng/ml。

(2)预试验以倍比稀释法检测 EOW 及 PBS 对污染胃液中 HBsAg 抗原性的破坏作用(表 1),使用相当于污染胃液 80 倍的 EOW,HBsAg 检测为阴性,而同等倍数 PBS 对照组为阳性。

(3)人工污染胃液(S/N 值为 26.18~60.00)加入污染胃液量 80 倍的 EOW 处理后,21 例标本中 17 例 HBsAg 检测为阴性,另有 4 例 HBsAg 仍为阳性,同等倍数 PBS 对照组均为阳性(表 2)。将此 4 例标本加入污染胃液量 100 倍的 EOW 作用后,HBsAg 检测均为阴性(表 3)。

表1 不同倍数 EOW 对人工污染胃液的作用

分 组	EOW 倍数									
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
EOW 组	+	+	+	+	+	±	±	-	-	-
PBS 对照组	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注 阴性对照吸光度(A)值为 0.05,下同

2. 现场试验结果:血液检测乙肝五项异常者共 18 例,其中 15 例 HBsAg 阳性病人污染的胃镜,消毒前检测 HBsAg 均阳性(S/N 值为 3.30~19.20,阳性检出率为 83.33%),消毒后采样 HBsAg 检测均为阴性(表 4)。

经检测胃镜污染物、PBS、中和剂、中和产物对系统灵敏度无影响。

表2 人工污染胃液与 80 倍 EOW 作用结果

序号	胃液 + 血清		80 倍 EOW 处理后		80 倍 PBS 对照	
	A 值	S/N	A 值	S/N	A 值	S/N
1	1.100	22.00	0.097	1.94	0.282	5.64
2	2.014	40.28	0.073	1.46	1.178	23.56
3	1.411	28.22	0.015	0.30	0.538	10.76
4	2.082	41.64	0.019	0.38	0.374	7.48
5	2.234	44.68	0.06	1.20	0.95	19.00
6	2.120	42.40	0.058	1.16	0.157	3.14
7	1.388	27.76	0.019	0.38	0.212	4.24
8	1.856	37.12	0.009	0.18	0.756	15.12
9	1.599	31.98	0.016	0.32	0.223	4.46
10	2.428	48.56	0.069	1.38	0.229	4.58
11	2.723	54.46	0.001	0.02	0.964	19.28
12	2.561	51.22	0.013	0.26	0.478	9.56
13	2.634	52.68	0.007	0.14	0.776	15.52
14	2.671	53.42	0.009	0.18	0.507	10.14
15	2.745	54.90	0.004	0.08	1.480	29.60
16	3.000	60.00	0.052	1.04	1.660	33.20
17	2.666	53.32	0.006	0.12	1.691	33.82
18*	1.672	33.44	0.327	6.54*	1.385	27.70
19*	1.309	26.18	0.139	2.78*	0.394	7.88
20*	2.459	49.18	0.243	4.86*	0.743	14.86
21*	1.593	31.86	0.247	4.94*	1.216	24.32
平均	2.108	42.16				

注:阴性对照 A 值为 0.05,* 标本经 80 倍 EOW 作用后 S/N 值 > 2.1

表3 人工污染胃液与 100 倍的 EOW 作用结果

序号	胃液 + 血清		100 倍 EOW 处理后		100 倍 PBS 对照	
	A 值	S/N*	A 值	S/N*	A 值	S/N*
18	1.672	33.44	0.018	0.36	0.975	19.50
19	1.309	26.18	0.036	0.72	0.466	9.32
20	2.459	49.18	0.028	0.56	0.852	17.04
21	1.593	31.86	0.084	1.68	1.734	34.68

* S/N 样品 A 值/阴性对照 A 值

表4 EOW 对胃镜现场消毒试验

序号	EOW 消毒前		EOW 消毒后	
	A 值	S/N*	A 值	S/N*
1	0.205	4.10	0.055	1.10
2	0.166	3.32	0.061	1.22
3	0.268	5.36	0.034	0.68
4	0.300	6.00	0.083	1.66
5	0.214	4.28	0.049	0.98
6	0.196	3.92	0.054	1.08
7	0.498	9.96	0.070	1.40
8	0.234	4.68	0.053	1.06
9	0.307	6.14	0.047	0.94
10	0.186	3.72	0.039	0.78
11	0.197	3.94	0.050	1.00
12	0.354	7.08	0.018	0.36
13	0.960	19.2	0.030	0.60
14	0.206	4.12	0.038	0.76
15	0.205	4.10	0.041	0.82
平均	0.300	5.99	0.048	0.96

* S/N 样品 A 值/阴性对照 A 值

讨 论

1. 实验室观察结果分析: EOW 对含 HBsAg 的人工污染胃液的消毒效果, 由预试验结果可见(表 1) 污染胃液用 80 倍的 EOW 作用 1 min 检测为阴性, 对照组仍为阳性。结果提示当污染胃液中不断加大 EOW 的用量达到 80 倍时可破坏 HBsAg。由表 2 可见, 21 例标本中 17 例转为阴性结果, 另有 4 例 HBsAg 检测仍为阳性, 可能与胃镜污染物的有机物含量及 HBsAg 浓度的个体差异有关。由表 3 可见, 将此 4 例标本加入 100 倍 EOW 作用 1 min, HBsAg 检测均为阴性, PBS 对照组均为阳性。本试验结果提示 EOW 作用 1 min, 其用量为污染胃液的 100 倍时即可全部破坏 HBsAg, 而在实际应用中 EOW 用量要明显高于试验量, 以确保临床消毒效果。

2. 现场试验结果分析: 在模拟现场试验的基础上, 进行临床消毒效果检测。现场试验证明(表 4), 经彻底洗刷胃镜去有机物处理后用 EOW 2 000 ml (估计高于试验量的 20 倍) 浸泡 1 支胃镜, 消毒 1 min, HBsAg 检测均为阴性。据 1999 年日本第 6 届功能水研讨会关东医院内窥镜中心樱井幸弘报道, 以 PCR 法检测, 乙肝病毒阳性患者用后胃镜的洗净液 38 例中 5 例阳性, 而 EOW 组全部阴性。更证实了 EOW 可完全破坏 HBsAg。

病毒离开宿主细胞的存活能力是有限的, 但如吸附到局部微环境的颗粒物如细胞碎片或有机物上, 这种结合状态可能对病毒提供不被物理或化学因子灭活的保护。胃镜污染物中大量有机物可使消毒剂作用降低, 其中的蛋白质更可阻碍 HBV 与消毒剂接触, 影响消毒效果。任何消毒剂均受有机物影响, 一般含氯消毒剂需有效氯浓度 1 000 mg/L 才能达到消毒效果^[2, 3], 而 EOW 氧化还原电位 > 1 100 mV, pH < 2.7, 有效氯含量仅 40 ~ 50 mg/L, 即可破坏 HBsAg。其快速、有效的杀灭微生物的机理正在探

讨中, 目前认为是多因素共同作用的结果, 在高电位低 pH 环境下, 电解水溶液中 HClO 起主要作用, 其次 H_2O_2 、 OH^- 及新生态氧等多种活性离子也参与消毒作用^[1]。李新武等^[4]研究资料显示 EOW 在试验条件下作用 30 s, 可破坏 HBsAg 的抗原性。

本试验亦证明足量的新制备的 EOW 可以快速破坏 HBsAg 抗原性, 在临床应用中消毒前的彻底清洗, 胃镜腔内的刷洗环节至关重要, 还必须注意相关质控指标, 主要是有效氯浓度的检测, 凡低于 20 mg/L 不宜使用。EOW 与一般化学消毒剂不同, 不可稀释, 必须应用新制备的原液。临床应用应根据消毒对象、使用频率及所需达到的消毒效果决定用量和消毒时间。此方法较适用于病人之间污染胃镜的快速消毒, 终末消毒尚需进一步探讨, 目前仍以戊二醛为宜。

医院是病人及病原微生物集中的场所, 环境易被污染, 为防止交叉感染, 医院必须有严格的消毒隔离制度和环境消毒保洁制度。EOW 不同于化学消毒剂, 在杀灭微生物过程中很快氧化为普通水, 无化学毒害残留, 因此既可用于医疗器械消毒又可广泛应用于环境的清洁及消毒。

(参加临床检测工作者还有韩春丽、施光美, 特此致谢)

参 考 文 献

- 1 高哲平, 秦俊玲, 张京, 等. 氧化电位水对胃镜消毒效果的临床观察. 中华流行病学杂志, 1999, 20: 342-345.
- 2 屈汉庭. 金星消毒剂对纤维胃镜消毒处理的研究. 中国消毒学杂志, 1994, 11: 25-27.
- 3 周义新. 常用消毒剂对乙型肝炎表面抗原性的破坏作用. 中国消毒学杂志, 1994, 11: 80-82.
- 4 李新武, 孙守红, 李涛, 等. 不同厂家的生成机制的酸化电位水对微生物杀灭效果的研究. 中华流行病学杂志, 1999, 20: 351-353.
- 5 国家技术监督局. 中华人民共和国卫生部发布(GB15981-1995) 消毒与灭菌效果的评价方法与标准. 北京: 中国标准出版社, 1997. 11-12.

(收稿日期 2000-05-12)