

医用防护服环氧乙烷快速灭菌方法研究与应用

何乐春^{①*} 谢朝珊^① 杨利^② 程琼莹^① 张和华^②

①重庆医疗器械质量检验中心 重庆 401147

②陆军军医大学大坪医院医学工程科 重庆 400042

[摘要] 目的: 通过环氧乙烷快速灭菌方法进行医用一次性防护服无菌试验, 探索防护服的最佳灭菌条件。**方法:** 选用 20 批次医用一次性防护服作为供试品, 采用薄膜过滤法进行无菌试验, 每批次为 1 组, 共计进行 20 组无菌试验。分析产品的包装、灭菌柜体积、环氧乙烷加入量、保温时长、灭菌温度、灭菌湿度以及灭菌时长对环氧乙烷灭菌效果的影响。**结果:** 在 20 组无菌试验中, 有 3 组供试品有菌生长, 17 组供试品无菌生长, 合格率为 85%。当环氧乙烷的灭菌浓度与灭菌温湿度为恒量时, 影响灭菌效果的主要因素为保温时长和灭菌时长。**结论:** 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情期间在满足无菌的条件下, 防护服的最佳灭菌条件是将保温时长和灭菌时长的较短值作为优选的灭菌参数, 能够为保障供应的防护用品节约宝贵时间。

[关键词] 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)环氧乙烷灭菌; 无菌试验; 医用一次性防护服

Research and application on rapid sterilization of ethylene oxide in medical protective clothing/HE Yue-chun, XIE Chao-shan, YANG Li, et al//China Medical Equipment,2020

[Abstract] Objective: To conduct the sterilization test of medical disposable protective clothing by the rapid sterilization method of ethylene oxide, and explore the best sterilization conditions of protective clothing. **Methods:** Twenty batches of medical disposable protective clothing were selected as test samples, and the sterility test was performed by membrane filtration method. Each batch was a group, and a total of 20 groups were tested for sterility. Analyze the effects of product packaging, sterilization cabinet volume, ethylene oxide addition amount, heat preservation time, sterilization temperature, sterilization humidity, and sterilization time on the sterilization effect of ethylene oxide. **Results:** Among the 20 groups of sterility tests, 3 groups of test products had bacterial growth, and 17 groups of test products grew germ-free, with a pass rate of 85%. When the sterilization concentration and temperature and humidity of ethylene oxide are constant, the main factors affecting the sterilization effect are the heat preservation time and the sterilization time. **Conclusion:** The best sterilization condition of protective clothing is to use the shorter value of heat preservation time and sterilization time as the optimal sterilization parameters under the condition that the aseptic conditions are satisfied during the epidemic period, which can save precious time for the protection of supplies.

[Key words] Ethylene oxide sterilization; sterility test; medical disposable protective clothing

[First-author's address] Chongqing Testing and Inspection Center for Medical Devices, Chongqing, 401147, China.

医用口罩及防护用品的灭菌消毒和质量控制, 在新型冠状病毒肺炎(COVID-19)防控中具有重要的临床意义。目前, 医疗器械行业常用的灭菌方式主要有干热灭菌、湿热灭菌、紫外线照射灭菌、辐射灭菌、环氧乙烷灭菌和臭氧灭菌 6 种, 且每种灭菌方式都有各自的适用范围和局限性^[1]。对于医用一次性防护服而言, 辐射灭菌和环氧乙烷灭菌是疫情期间采用的两种主要灭菌方式。但产品经辐射灭菌后的保存时间较短, 仅为 1 个月左右, 而环氧乙烷灭菌后产品的保

存时间较长，因此环氧乙烷灭菌在实际生产中应用更加广泛。本研究采用薄膜过滤法进行无菌试验，旨在探索防护服的最佳灭菌条件。

1 环氧乙烷快速灭菌方法

在影响环氧乙烷灭菌效果因素的研究中，目前主要考虑的是灭菌的温湿度、环氧乙烷浓度及灭菌时间。本研究试验另考虑了产品包装、灭菌柜体积、环氧乙烷加入量以及保温时长等参数。通过无菌试验，分析以上参数对环氧乙烷灭菌效果的影响，探索防护服的最佳灭菌条件。

1.1 仪器材料与方法

1.1.1 仪器设备

采用立式自动压力蒸汽灭菌器[致微(厦门)仪器有限公司];集菌仪(杭州泰林生物技术设备有限公司);LRH-150 生化培养箱(上海印溪仪器仪表有限公司);MCI-250 智能生化培养箱(广州万宝特种制冷设备有限公司)、电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.1.2 试验样品

选用 20 批次医用一次性防护服作为供试品，每批次为 1 组，共计进行 20 组无菌试验。样品为重庆上坤医疗器械有限公司生产的医用一次性防护服(型号/规格：连体式/175)，采用环氧乙烷快速灭菌方法进行灭菌,见表 1。

表 1 20 批次试验样品信息

样品 编号	生产日期 (年/月/日)	包装	灭菌柜 体积(m ³)	保温 时长(h)	环氧乙烷 加入量(kg)	灭菌 温度(°C)	灭菌 湿度(%)	灭菌 时长(h)
1	2020/02/03	塑料袋	3	1	2.4	50	45	8
2	2020/02/10	塑料袋	3	1	2.4	50	45	8
3	2020/02/03	塑料袋	3	1	2.4	50	45	13
4	2020/02/10	塑料袋	6	3	4.8	52	63	13
5	2020/02/03	塑料袋	3	12	2.4	52	45	12
6	2020/02/10	塑料袋	3	12	2.4	52	45	15
7	2020/02/10	塑料袋	6	6	4.8	52	63	13
8	2020/02/10	塑料袋	3	6	2.4	52	45	13
9	2020/02/19	纸塑	3	5	2.4	52	45	10
10	2020/02/19	纸塑	3	5	2.4	52	45	10
11	2020/02/19	纸塑	3	8	2.4	52	45	12
12	2020/02/19	纸塑	3	8	2.4	52	45	12
13	2020/02/19	纸塑	3	7	2.4	52	45	12
14	2020/02/19	纸塑	12	5	9.6	52	63	10
15	2020/02/10	塑料袋	12	5	9.6	52	63	15
16	2020/02/20	纸塑	3	7	2.4	52	45	11
17	2020/02/20	纸塑	6	10	4.8	52	63	10
18	2020/02/20	纸塑	3	8	2.4	52	45	10
19	2020/02/20	纸塑	6	10	4.8	52	63	9
20	2020/02/20	纸塑	12	10	9.6	52	63	10

1.1.3 耗材

硫乙醇酸盐流体培养基、胰酪大豆胨液体培养基以及胰酪大豆胨琼脂培养基均来源于青岛高科技工业园海博生物技术有限公司，0.9%无菌氯化钠溶液，集菌器。

1.1.4 质控菌株

对照菌为金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26003(中国食品药品检定研究院生产)。

1.2 试验过程

1.2.1 对照菌液制备

取对照菌[金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26003]1 白金耳，接种于 10 ml 胰酪大豆胨液体培养基内，经 30~35 °C 培养 24 h 后，用 0.9% 无菌氯化钠溶液 10 倍梯度稀释至每毫升含菌数 < 100 cfu 的菌悬液备用。

1.2.2 无菌试验

用 20 批次医用一次性防护服分别进行无菌试验。将每批次防护服分别取 3 套，无菌剪取每套防护服的帽子、袖口及前胸收集到无菌烧杯中，用 0.9% 无菌氯化钠溶液 500 mL 冲洗数次。每批次进行 1 组无菌试验，共计 20 组无菌试验。

1.2.3 质量控制

实验人员严格按照重庆上坤医疗器械有限公司的《医用一次性防护服产品技术要求》《中华人民共和国药典(2015 年版 四部)》相关文件进行实验操作，每组试验均带阴性、阳性及供试品阳性对照。阴性、阳性及供试品阳性对照结果均在控，则该组试验有效，反之，则无效。

2 结果

通过 14 d 的试验，20 组试验质量均在控，阳性对照均有菌生长，阴性对照均无菌生长，供试品阳性对照均有菌生长。样品编号为“1”、“2”和“17”的供试品出现有菌生长的情况，其余 17 组供试品无菌生长，合格率为 85%。试验结果见表 2。

表 2 14 d 无菌试验结果观察信息

样品编号	质量控制	阴性及阳性结果
1	在控	+
2	在控	+
3	在控	-
4	在控	-
5	在控	-
6	在控	-
7	在控	-
8	在控	-
9	在控	-
10	在控	-
11	在控	-
12	在控	-
13	在控	-
14	在控	-
15	在控	-
16	在控	-
17	在控	+
18	在控	-
19	在控	-
20	在控	-

注：表中“+”为有菌生长；“-”为无菌生长

2.1 产品包装

本次试验中包装材料对无菌的结果未见明显影响。

2.2 灭菌柜体积和环氧乙烷加入量

当灭菌柜体积分别为 3 m³、6 m³ 及 12 m³ 时,对应的环氧乙烷加入量分别为 2.4 kg、4.8 kg 和 9.6 kg,由此可知,该厂家在进行 20 批次医用一次性防护服灭菌时,均采用相同的环氧乙烷灭菌浓度,即环氧乙烷浓度均为 800 mg/L,各样品浓度参数相同,即灭菌柜体积和环氧乙烷加入量对环氧乙烷灭菌效果无影响。

2.3 保温时长

3 组试验结果均为无菌生长,可知在保温时长为变量时,选择保温时长较短值,能节约时间成本,见表 3。

表 3 保温时长的影响

分组编号	样品编号	包装	灭菌柜体积(m ³)	保温时长(h)	环氧乙烷加入量(kg)	灭菌温度(°C)	灭菌湿度(%)	灭菌时长(h)	14 d 试验结果观察
1	4	塑料袋	6	3	4.8	52	63	13	—
	7	塑料袋	6	6	4.8	52	63	13	—
2	14	纸塑	12	5	9.6	52	63	10	—
	20	纸塑	12	10	9.6	52	63	10	—
3	12	纸塑	3	8	2.4	52	45	12	—
	13	纸塑	3	7	2.4	52	45	12	—

注：“+”为有菌生长；“—”为无菌生长

2.4 灭菌温度

灭菌温度均为 50~52 °C,符合环氧乙烷灭菌温度要求,不同温度对无菌试验结果的影响可忽略。

2.5 灭菌相对湿度

灭菌相对湿度均为 45%和 63%,符合环氧乙烷灭菌湿度要求,不同湿度对无菌试验结果的影响可忽略。

2.6 灭菌时长

由第 1 组参数对比显示,在包装、灭菌柜体积、保温时长、环氧乙烷加入量以及灭菌温湿度都相同的情况下,灭菌时长为 8 h 时,有菌生长;灭菌时长为 13 h 时,无菌生长。在第 2 组、3 组和 4 组参数中,当其他条件为恒量,灭菌时长为变量时,无菌试验结果均为无菌生长,见表 4。

表 4 灭菌时长的影响

分组编号	样品编号	包装	灭菌柜体积(m ³)	保温时长(h)	环氧乙烷加入量(kg)	灭菌温度(°C)	灭菌湿度(%)	灭菌时长(h)	14 d 试验结果观察
1	1	塑料袋	3	1	2.4	50	45	8	+
	3	塑料袋	3	1	2.4	50	45	13	—
2	5	塑料袋	3	12	2.4	52	45	12	—
	6	塑料袋	3	12	2.4	52	45	15	—
3	13	纸塑	3	7	2.4	52	45	12	—
	16	纸塑	3	7	2.4	52	45	11	—
4	11	纸塑	3	8	2.4	52	45	12	—
	18	纸塑	3	8	2.4	52	45	10	—

注：表中“+”为有菌生长；“—”为无菌生长。

3 讨论

3.1 产品包装

不同的包装材料对环氧乙烷残留量会有明显的不同^[2]。低浓度的环氧乙烷对人体有刺激性作用，对皮肤、眼睛会产生一定的伤害，并且会伴有头痛、恶心及呕吐的症状发生^[3]。高浓度的环氧乙烷会发生爆炸，在对不同医疗产品的各种包装检测环氧乙烷残留量时发现，不同包装对环氧乙烷的残留量影响很大，纸质材料有利于环氧乙烷的挥发，能缩短灭菌后到使用的时间。塑料包装产品经环氧乙烷灭菌后，则需要更长的时间，才能使环氧乙烷残留量 $<10\text{ ug/g}$ ^[2]。同时，因纸塑包装由特殊材料制作而成，不仅美观、可透视，还具有细菌屏障作用，且灭菌后可保存时间至少半年以上^[4]。考虑到实际情况以及对产品使用人员的安全，目前通常使用纸塑包装。

3.2 灭菌柜体积和环氧乙烷加入量

众所周知，环氧乙烷灭菌符合一级动力学，即随着反应浓度的增加，化学反应速率呈线性提高。因此在对无菌产品进行灭菌条件设计时，环氧乙烷的灭菌浓度是其中重要的参数之一，即必需对灭菌柜体积与环氧乙烷的加入量这两个因素进行统一考虑，以计算其环氧乙烷的灭菌浓度对无菌结果的影响。但环氧乙烷的灭菌浓度存在着一定的浓度限度，当环氧乙烷浓度大于此限度时，灭菌反应服从零级动力学，即进一步提高环氧乙烷浓度对反应速率基本无影响^[5]。

查阅相关文献可知，当环氧乙烷气体浓度 $<300\text{ mg/L}$ 时，在实际的工艺时间内基本不会产生确实有效的、足够的环氧乙烷分子；而当浓度 $>1200\text{ mg/L}$ ，不但不能缩短工艺时间，反而增加工艺所需的气体量。综合考虑环氧乙烷的费用及残留量等因素，工艺常设计成较低的环氧乙烷灭菌浓度，即 $400\sim 800\text{ mg/L}$ 是目前常用浓度^[6]。

3.3 保温时长

在进行环氧乙烷灭菌前，应对整个灭菌环境与其中的产品进行适当保温及预热处理。经过预热处理的物品，在灭菌开始、灭菌过程中与灭菌结束时，其温度均高于未经预热处理的物品，这有利于环氧乙烷气体在整个灭菌柜内均匀分布，增强了环氧乙烷灭菌效果，但保温时长并不是越长越好^[7]。在紧急情况下，如疫情期间，为了节约时间成本，当其他参数为恒量时，可适当合理缩短保温时间。

3.4 灭菌温度

在一定的密闭空间内，温度的升高有利于提高环氧乙烷的灭菌效率，但超过一定的温度后，灭菌效率上升不明显，且过高的温度也可能对产品产生损害，故环氧乙烷灭菌温度通常为 $40\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[8]。

3.5 灭菌相对湿度

一定的湿度对环氧乙烷灭菌有着重要的作用，水能打开环氧乙烷的环氧基团使其与微生物发生作用，达到灭菌的目的。水也能够加速环氧乙烷的穿透，提高环氧乙烷穿透速率。同时，一定的湿度还可缩短被灭菌物品达到所设定温度的时间，通常比较理想的相对湿度范围是 $40\%\sim 80\%$ ，如 $<30\%$ ，则容易导致灭菌失败^[8]。但相对湿度也并非越高越好，因相对湿度过高会形成冷凝水，部分环氧乙烷可与冷凝水发生反应生成乙二醇，使环氧乙烷有效浓度下降，杀菌效果减弱^[9]。

3.6 灭菌时长

灭菌时长对无菌试验结果有一定影响。在包装、灭菌柜体积、保温时长、环氧乙烷加入量以及灭菌温湿度均相同的情况下，由于灭菌时长不同，造成无菌实验结果不同。分析第2组、3组和4组参数可知，当其他条件为恒量，灭菌时长为变量时，考虑到成本和时间，如果无菌试验结果为无菌生长，可选择灭菌时长较短的灭菌参数。

4 结论

产品包装对产品的影响主要体现在保存时间和安全性两方面，对无菌试验结果影响较小。

产品纸塑包装灭菌后因保存时间较长(至少半年以上)已成为一种比较常用的包装方式。同时,纸塑包装的产品比其他包装的产品对环氧乙烷的解析速度快,且残留量小,在安全性上,避免了因环氧乙烷过量对使用者造成一定程度的危害。

产品在进行环氧乙烷灭菌时,环氧乙烷浓度、环境温湿度应控制在一定的范围内,低于控制范围,达不到灭菌的目的;高于控制范围,会降低灭菌速率和效果,同时造成浪费。因此,考虑到灭菌速率、效果和灭菌成本,选择合适的环氧乙烷浓度和灭菌温湿度对整个灭菌过程具有重要意义。

当环氧乙烷的灭菌浓度与灭菌温湿度为恒量时,影响灭菌效果的主要因素为保温时长和灭菌时长。在满足无菌的要求后,可将保温时长和灭菌时长的较短值作为优选的灭菌参数,对产品进行灭菌,为保供应的防护用品节约宝贵时间,具有重要的现实意义和应用价值。

参考文献

- [1] 焦彦超.医疗器械产品常用灭菌方法[J].医药工程设计,2009,30(4):24-27.
- [2] 柴玉莲.包装对环氧乙烷残留量的影响[J].西藏科技,2013(3):13-15,22.
- [3] 卫维剑.浅谈环氧乙烷的危害及安全防护[J].化工管理,2015(15):5-6.
- [4] 邓立华.纸塑包装材料的临床应用体会[C].海口:中华护理学会全国第二届医院消毒供应中心护理学术交流暨专题讲座会议,2006:88-89.
- [5] 黄洁,蒋秀红.医疗器械环氧乙烷灭菌的主要考量因素[J].中国医疗器械信息,2013,19(8):23-27.
- [6] 李伟松.影响环氧乙烷灭菌效果的因素[J].医疗保健器具,2005(Z2):53-56.
- [7] 郑岚,董林,沈伟.预热处理对环氧乙烷灭菌温度影响的试验观察[J].中国消毒学杂志,2002,19(3):24-27.
- [8] 邹从霞.环氧乙烷灭菌原理及影响灭菌效果的因素[J].计量与测试技术,2018,45(8):65-66.
- [9] 姚楚水,王瑛,何玫,等.相对湿度对环氧乙烷杀菌效果的影响[J].消毒与灭菌,1987(3):132-136.

*通信作者: 59747443qq.com

作者简介: 何乐春,女,(1976-),本科学历,高级工程师,从事医疗器械质量检验工作。