

手术衣和手术单阻湿态微生物穿透试验性能监视研究

王文庆 吴平 侯丽 王昕 黄经春

山东省医疗器械产品质量检验中心（济南 250101）

在人们的个人防护意识大大提高的今天，手术过程中的交叉感染控制日益受到人们的关注。研究发现，手术室中的交叉感染大多是由于来源于病人或医护人员皮肤的微生物穿透手术衣或手术单等屏障材料造成的^[1]。手术衣和手术单的阻微生物穿透性能越来越受到重视。在我国尽快建立手术衣和手术单的阻微生物穿透性评价的试验方法，已经成为业内人士关注的焦点。

手术衣、手术单阻微生物穿透性能是指材料阻止微生物从一面向另一面穿过的能力。临床中微生物所处的状态包括干态和湿态两种情况。干态穿透是指像人体皮屑这类可能携带微生物的颗粒物穿过手术衣和手术单的非关键区域（在空气中会传播到开放的手术区域）^[2]；湿态穿透是指手术中可能携带致病菌的体液在压力和摩擦等综合作用下穿过手术衣和手术单的关键区域（直接到达被防护的对象）^[3]。本文只涉及对后者评价方法的研究。

我们在建立了符合国际标准要求的阻湿态微生物穿透性能的检验手段之后，对阻湿态微生物穿透试验的国际标准 ISO 22610 的试验方法开展了验证。通过多次的探索研究和验证，最终通过了阻湿态微生物性能监视试验，现将最终开展的性能监视试验情况报告如下：

1 试验仪器及原理

1.1 仪器

试验采用国际标准 ISO22610 推荐的德国 schuett-biotec 公司的仪器，如图 1 所示。该仪器有一个电驱动、电子计时器控制、转速为 60r/min 的转盘。转盘上可安装一个 14cm 直径的琼脂培养皿。带有试验指的平衡杆被一个转速为 5.60r/min 的偏心轴所引导，可使重力为 $3 \pm 0.02\text{N}$ 的试验指从转盘的中心向周边作侧向的往复运动。在一个试验周期内，两个运动的叠加，能使试验指的作用轨迹均匀布满整个圆盘表面。总重量为 $800 \pm 1\text{g}$ 的内外钢环在试验中用以夹持供试材料并对材料施加标准的绷紧力。仪器还附带一个直径 9cm，高 4cm 的圆柱体，用于在三层材料的固定过程中提供平整的表面和统一的绷紧度。



图 1 RULLA II 湿态阻菌仪

1. 配重 2. 带试验指的平衡杆 3. 测力计附着点 4. 不锈钢试验指 5. 培养皿
6. 内外钢环 7. 偏心轴 8. 转盘 9. 电子计时器 10. 球状轴承

1.2 仪器的工作原理

仪器工作原理如图 2 所示。用钢环将三层材料（试验材料在下，菌片居中，高密度聚乙烯膜在最上面）卡在一起，将此环套件置于转盘上的琼脂培养皿上，试验指以能在整个培养皿表面上移动的方式使材料受到压力和摩擦的综合作用，以此模拟在实际应用过程中屏障材料可能发生的受力和湿态条件下的微生物穿透。菌片上的微生物穿透试验材料后会迁移到琼脂培养基表面，通过对琼脂培养皿的培养和菌落计数，可对试验材料的穿透性能进行定量评价。

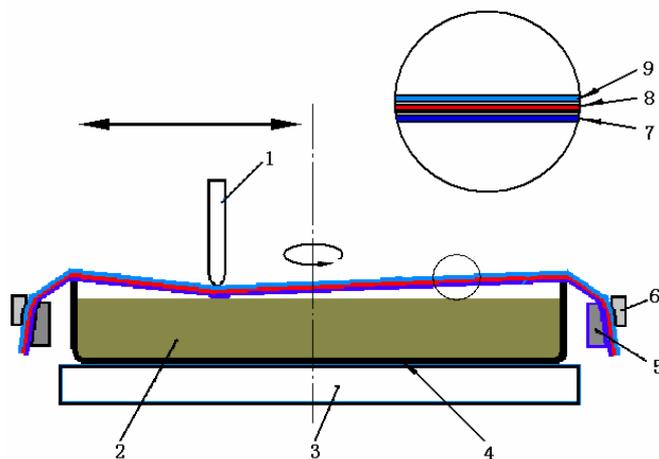


图2 试验原理图

1. 试验指 2. 营养琼脂 3. 转盘 4. 培养皿 5. 内钢环 6. 外钢环 7. 试验材料
8. 菌片（染菌面朝下） 9. 高密度聚乙烯膜

2 试剂与材料

- 2.1 直径为 14cm 的一次性无菌培养皿，用于制备营养琼脂培养皿。
2.2 载菌材料，25 cm×25cm，是一种可浸湿的 30μm 厚的专用聚氨酯（PU）膜，贴附在纸上。使用前将其夹在滤纸片中间放入纸质灭菌袋中进行 121℃ 蒸汽灭菌。
2.3 高密度聚乙烯（HDPE）膜，25 cm×25cm，厚度约 10μm，密度为 $(950 \pm 2) \text{ kg/m}^3$ ，质量流率（190℃，5kg）为 0.027g/min，用于隔离试验指。
2.4 对照材料（标准样品），25 cm×25cm，由 135g/m^2 的微丝聚酯纤维组成，按 ISO6330 或 ISO15797 相应的洗涤处理洗涤三次，环氧乙烷灭菌备用。该材料是阻湿态微生物穿透试验的标准性能材料，专用于实验室性能监视试验。

注：本研究中以对照材料代替试验材料进行试验；以上材料均由仪器供应商提供。

- 2.5 白纸和复写纸。
2.6 金黄色葡萄球菌 ATCC29213。

3 性能监视试验方法

性能监视试验用于评价实验室性能，包括如下两项试验。

3.1 用复写纸检查仪器性能的方法

将一个 14cm 培养皿底面朝上放在转盘上，用内外钢环将一层白纸、一层复写纸和一层 HDPE 膜按顺序组装在一起，将环套件放在培养皿上，试验指放在 HDPE 膜上开机运行 15min，取出白纸，检查实验指在整个培养皿表面是否留下均匀连贯的接触印记。

3.2 用对照材料检查实验精确性的方法

（1）琼脂培养皿的制备

在试验开始前 $24 \pm 4\text{h}$ ，取 6 个一次性无菌培养皿，注入营养琼脂至离皿口 $3 \pm 0.2\text{mm}$ 处，在水的上方贮存，以使琼脂的质量损失最小。试验开始前将每一培养皿除盖室温干燥 20min，

使琼脂表面无冷凝水。

(2) 菌片的制备

制备浓度为 1×10^4 cfu/mL $\sim 4 \times 10^4$ cfu/mL 的金黄色葡萄球菌 ATCC29213 菌悬液。取 1mL 菌液均匀涂布在载菌材料片的可浸湿聚酯膜面，置 56°C 干燥约 30min，当日使用。

(3) 材料应用

将圆柱体放在内环的中央，将对照材料覆盖内环和圆柱体，然后将菌片染菌面向下放在试样上，最后在上面覆盖一层 HDPE 膜，向下推紧外环，使三层材料牢固地夹在两个钢环之间。

(4) 试验过程

调节仪器控制杆上的配重，使实验指施加到琼脂上的力为 $3 \pm 0.02\text{N}$ 。

将第一个琼脂培养皿除盖放在仪器转盘上，将环套件放在培养皿上，将实验指放在皿口内侧的 HDPE 膜上，使仪器运行 15min。

然后取下第一个培养皿并放上皿盖，马上将第二个培养皿和环套件放在转盘上，对后面的四个培养皿用同一个环套件执行上述程序。

五个培养皿完成试验后，取下菌片弃去，将对照材料反转，上面朝下用 HDPE 膜覆盖，在第六个培养皿上操作 15min，完成试验。

操作完成后，将各培养皿加盖置 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 48h。编号为 1~6。

计数每个培养皿中金黄色葡萄球菌菌落数（培养皿中心 15mm 半径区域内的菌落数不计）。

(5) 结果表征

国际标准 ISO22610 规定，以对照材料为试验样品进行试验，1 至 5 号培养皿的累积穿透率 $R_{\text{CUM}5}$ 须在 0.70~0.96 范围内。

1 至 5 号培养皿累积穿透率， $R_{\text{CUM}1}$ ， \dots ， $R_{\text{CUM}5}$ 可按如下公式计算：

$$R_{\text{CUM}1} = \frac{X_1}{T}$$

$$R_{\text{CUM}2} = \frac{(X_1 + X_2)}{T}$$

$$R_{\text{CUM}3} = \frac{(X_1 + X_2 + X_3)}{T}$$

$$R_{\text{CUM}4} = \frac{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)}{T}$$

$$R_{\text{CUM}5} = \frac{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5)}{T}$$

其中 T 为估计的挑战菌总数，按下式计算：

$$T = X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + Z$$

Z 为 5 个琼脂培养皿试验后，在第 6 个琼脂培养皿上测得留在对照材料上的菌落数； X_1 ， X_2 ， \dots ， X_5 为前 5 个琼脂培养皿上各自的菌落数。

4 实验结果

4.1 复写纸印记

实验结果如图 3 所示。

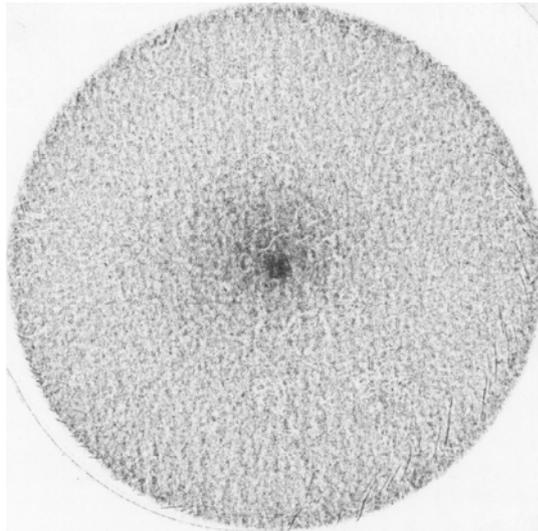


图3 试验指接触印记结果

从图中可以看出，整个圆形区域中，除去中间部位外，印记非常均匀。中间部分颜色较深，这是该仪器工作原理的必然结果。

4.2 对照材料实验数据

1至6号培养皿的培养结果（ X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 和 Z ）如图4所示。

各培养皿菌落计数结果见表1。

表1 1~6号培养皿菌落数（不包括培养皿中心15mm半径区域内的菌落数）

培养皿编号	1号 (X_1)	2号 (X_2)	3号 (X_3)	4号 (X_4)	5号 (X_5)	6号 (Z)	挑战菌总数(T)
菌落数(个)	277	48	19	14	3	82	443

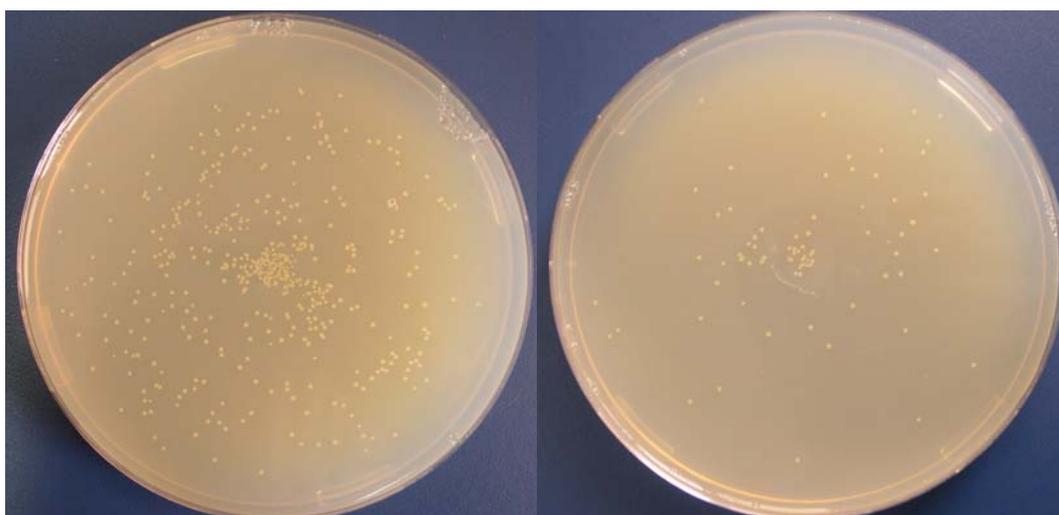


图 4-1 1号皿

图 4-2 2号皿

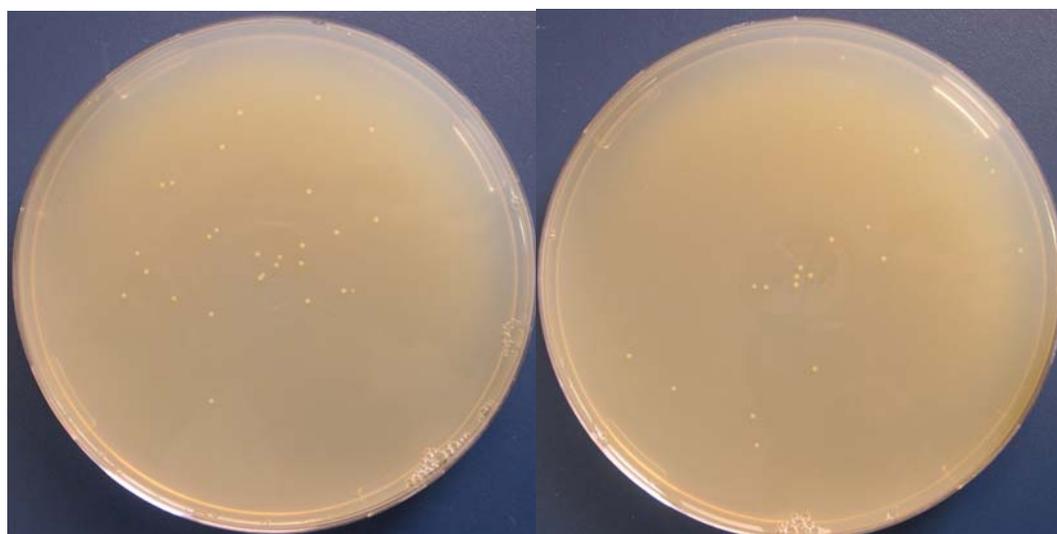


图 4-3 3号皿

图 4-4 4号皿

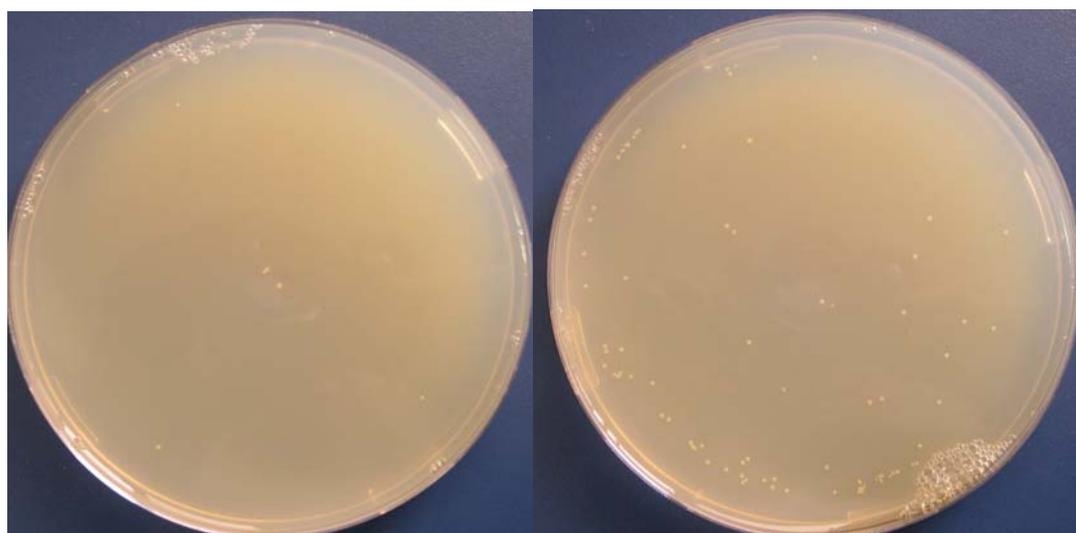


图 4-5 5号皿

图 4-6 6号皿

图 4 1~6号培养皿培养结果

5 结果讨论

5.1 从菌落计数的结果来看，1号培养皿对应的穿透数最大，对应的穿透率达到了63%。然后从1号到5号，穿透数逐渐减少，5号培养皿仅有数个菌落存在。根据结果表征中 R_{CUM5} 的计算公式，得到 $R_{CUM5}=0.81$ ，处于该标准样品标称的0.70-0.96范围之内。此结果说明，实验程序和操作满足试验要求，我们已具备对产品实施检验的条件。

5.2 受仪器设计原理的影响，试验中央区域的受压程度比其它区域的受压程度要大。两组性能监视结果都能反映出这一特点。在复写纸验证中，中央区域呈现出较深着色；而在对照材料的验证中，1~5号皿的中央区域比其他区域明显呈现出较多的菌落数，而6号皿则正好相反。这说明中央部位比其周围有更高的穿透率。这也正是国际标准中限定培养皿中心15mm半径区域内菌落数不予计数的原因。

5.3 在实验过程中，有如下几点还需要特别注意：

- (1) 制备菌片时，菌液一定要均匀涂布在PU膜面，即与纸贴在一起的那一面；
- (2) 制备琼脂培养基时，要严格保证注入营养琼脂至离皿口 $3\pm 0.2\text{mm}$ 处，并保证水平，以免引起实验误差；
- (3) 在对对照材料进行灭菌时要避免高温，因为高温会引起对照材料结构和孔径的变化，对对照材料的穿透性能产生影响；
- (4) 在对琼脂培养皿倒置培养前，应确保培养皿中心区域没有水迹，避免带菌水分从中心区域流到琼脂培养基的其它区域，影响试验结果；
- (5) 因为金黄色葡萄球菌为常见致病菌，所以实验过程中应避免引起人身伤害和环境污染。

结束语

通过开展本研究我们体会到，阻湿态微生物穿透试验方法的准确性受诸多因素的影响，按ISO22610标准规定的方法进行操作，有时候未必能确保得出准确的试验结果。试验人员定期对试验方法开展性能监视试验，对试验结果进行分析和总结，找到原因后予以纠正，是保证试验结果准确性的有效途径。

本试验的成功开展，为下一步我国手术衣、手术单阻湿态微生物穿透性能评价标准的制定奠定了基础。

参考文献：

- [1] YY/T 0506.1-2005《病人、医护人员和器械手术单、手术衣和洁净服 第1部分：制造厂、处理场和产品的通用要求》（修改采用EN13795-1，2002）
- [2] ISO 22612, 2005《Clothing for protection against infectious agents—Test method for resistance to dry microbial penetration》
- [3] EN ISO 22610, 2006《Surgical drapes, gowns and clean air suits, used as medical devices for patients, clinical staff and equipment—Test method to determine the resistance to wet bacterial penetration》