

DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20221732

· 论 著 ·

用金黄色葡萄球菌气溶胶评价输液器进气器件细菌截留能力

王文庆^{1,4}, 国宪虎^{1,4}, 方良艳^{1,4}, 张庆^{2,4}, 万敏^{3,4}

(1. 山东省医疗器械和药品包装检验研究院微生物室, 山东 济南 250101; 2. 山东省医疗器械和药品包装检验研究院物理室, 山东 济南 250101; 3. 山东省医疗器械和药品包装检验研究院, 山东 济南 250101; 4. 国家药品监督管理局医用卫生材料及生物防护器械质量评价重点实验室, 山东 济南 250101)

[摘要] **目的** 设计气溶胶细菌截留试验系统, 利用金黄色葡萄球菌气溶胶评价输液器进气器件空气过滤器的细菌截留能力。**方法** 将金黄色葡萄球菌混悬液稀释至 10^8 CFU/mL, 利用气溶胶细菌截留试验系统生成气溶胶, 对阳性对照支路以及 5 个生产厂家(A~E)的 75 个空气过滤器进行测试, 采用薄膜过滤法收集液体撞击采样器的采样液, 观察是否有菌生长并进行计数。**结果** 测试结束后, 阳性对照支路和 5 个生产厂家 A~D 的 12 个批次 60 个样品的支路收集液均无菌生长, 符合要求; 生产厂家 E 3 个批次的 15 个样品支路收集液菌落数均 >100 CFU, 不符合要求。生产厂家 E 的空气过滤器材质为玻璃纤维, 孔径为 $5\ \mu\text{m}$ 。**结论** 试验设计的气溶胶细菌截留试验系统成功截留输液器进气器件空气过滤器细菌。

[关键词] 输液器; 进气器件; 空气过滤器; 细菌截留能力; 气溶胶

[中图分类号] R185

Evaluation of bacterial retention capacity of air inlet filters of infusion device using challenging aerosol of *Staphylococcus aureus*

WANG Wen-qing^{1,4}, GUO Xian-hu^{1,4}, FANG Liang-yan^{1,4}, ZHANG Qing^{2,4}, WAN Min^{3,4}

(1. Microbe Inspection Department, Shandong Institute of Medical Device and Pharmaceutical Packaging Inspection, Jinan 250101, China; 2. Physical Inspection Department, Shandong Institute of Medical Device and Pharmaceutical Packaging Inspection, Jinan 250101, China; 3. Shandong Institute of Medical Device and Pharmaceutical Packaging Inspection, Jinan 250101, China; 4. Key Laboratory for Quality Evaluation of Medical Materials and Biological Protective Devices, National Medical Products Administration, Jinan 250101, China)

[Abstract] **Objective** To design an aerosol bacterial retention testing to evaluate bacterial retention capacity of air inlet filter of infusion device using challenging aerosol of *Staphylococcus aureus*. **Methods** *Staphylococcus aureus* suspension was diluted to 10^8 CFU/mL, aerosol was produced by aerosol bacterial retention testing system, positive control branch and 75 air filters from 5 manufacturers (A-E) were tested, membrane filtration method was adopted to collect liquid specimen in the liquid impact sampler, bacteria growth and count was observed. **Results** After the testing, the collected fluid of positive control branch and 60 specimens from 12 batches of 5 manufacturers (A-D) were without bacteria growth and met the requirements; bacterial colonies of 15 specimens from 3 branches of manufacturer E was >100 CFU, which did not meet the requirements. The air filter of manufacturer E was made of glass fiber with a pore diameter of $5\ \mu\text{m}$. **Conclusion** The designed aerosol bacterial retention testing system can successfully retain the bacteria in the air inlet filter of infusion devices.

[Key words] infusion set; air inlet device; air filter; bacterial retention capacity; aerosol

[收稿日期] 2021-08-02

[作者简介] 王文庆(1980-), 男(汉族), 山东省潍坊市人, 高级工程师, 主要从事医疗器械质量评价和相关标准化、科研研究。

[通信作者] 王文庆 E-mail: 22741688@qq.com

静脉输液是临床上常见的治疗手段,研究^[1]显示,超过 90% 的住院患者需要静脉输液治疗。静脉输液治疗为患者带来益处的同时,也存在细菌感染的风险及隐患^[2]。研究^[3]表明,部分输液污染可来自空气中的微生物,故为降低感染风险,GB 8368—2018《一次性使用输液器 重力输液式》国家标准提出,需要对输液器的进气器件增加空气过滤器,阻止输液环境中的微生物进入输液瓶,从而阻止细菌进入人体内^[4]。尽管该标准提出增加空气过滤器的要求,但目前并没有提供空气过滤器细菌截留能力的具体评价方法,在医疗器械行业中也鲜有相关评价方法的报道。

制药行业中有评价空气过滤器细菌截留能力的方法,包括液体细菌截留试验、气溶胶细菌截留试验和气溶胶病毒截留试验^[5]。由于输液器中使用的空气过滤器一般是有效过滤面积特别小的膜式过滤器,与制药行业中的空气过滤器在用途和结构上完全不一致,因此无法直接采用制药行业空气过滤器的评价方法。本研究借鉴制药行业空气过滤器的评价模式,模拟输液器进气器件的临床使用情况,设计开发气溶胶细菌截留试验系统及其试验方法,将金黄色葡萄球菌混悬液气溶胶化对样品进行气溶胶挑战,对可能穿透的细菌用收集液进行收集,并进行细菌计数分析,以此评价输液器进气器件的气溶胶细菌截留能力,现将研究结果报告如下。

1 材料与方 法

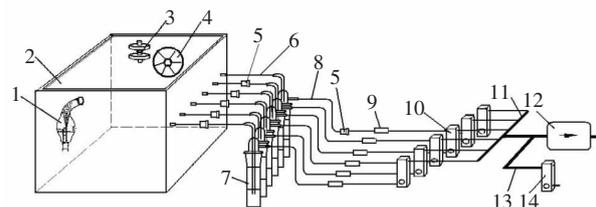
1.1 材 料

主要材料包括预制胰酪大豆胨琼脂(TSA,广东环凯微生物科技有限公司)培养基平板、胰酪大豆胨液体(TSB,广东环凯微生物科技有限公司)培养基、0.9% 无菌氯化钠溶液(山东华鲁制药有限公司)、分析薄膜(孔径 0.45 μm、直径约 47 mm);仪器设备包括气溶胶细菌截留试验系统(见图 1)、生物安全柜(Nuair NU-437-600S)、立式高压蒸汽灭菌器(SYSTEC VE-75)、低温培养箱(MMM FRIOCELL 400L)等;试验菌种为金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)。选取 5 个生产厂家(A~E)的空气过滤器(分为一体式和分体式),每个生产厂家选取 3 个批次,每批次选取 5 个样品,共 75 个样品进行测试。

1.2 方 法

1.2.1 细菌挑战混悬液制备

从 TSA 中挑取金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 接种到 TSB 中,(36±1)℃



1:微生物气溶胶发生器;2:气溶胶室;3:装有空气过滤器的通气口;4:风扇;5:样品挑战组件;6:阳性对照支路(进气管路);7:液体撞击采样器;8:抽吸管路;9:终端过滤器;10:带有调节阀的浮子流量计(用以调节和指示各路流量);11:六支路管;12:负压泵;13:气体平衡管道;14:带有调节阀的浮子流量计(用以调节总流量)。

图 1 气溶胶截留试验系统示意图

Figure 1 Schematic diagram of aerosol retention testing system

下培养 18~24 h。用 0.9% 无菌氯化钠溶液稀释至 10^8 CFU/mL。

1.2.2 样品挑战试验

挑战试验前,样品挑战组件及液体撞击采样器在 121℃ 下灭菌 15 min,并以无菌操作的方式连接试验管路、装入供试空气过滤器、加入细菌挑战混悬液等。启动微生物气溶胶发生器,向气溶胶室内喷射金黄色葡萄球菌气溶胶,同时打开风扇。3 min 后启动负压泵,调节各支路流量至 50 mL/min,同时观察各液体撞击采样器的气泡逸出情况;3 min 后关闭微生物气溶胶发生器,27 min 后关闭负压泵。

1.2.3 细菌计数

每次取下阳性对照支路上的液体撞击采样器,用 0.9% 无菌氯化钠溶液对阳性对照支路收集液进行 10 倍梯度稀释,采用薄膜过滤法过滤稀释后的收集液,并将薄膜放置 TSA 培养基平板上,在(36±1)℃ 下培养 18~24 h 后观察是否有菌生长并进行计数。每次取下 5 个样品挑战支路上的液体撞击采样器,采用薄膜过滤法过滤样品挑战支路收集液,并将薄膜放置 TSA 培养基平板上,在(36±1)℃ 下培养 18~24 h 后观察是否有菌生长并进行计数。

1.2.4 结果判定

阳性对照支路金黄色葡萄球菌总数应 $>10^4$ CFU,否则试验无效。每 5 个样品挑战支路收集液均无菌生长,判为符合要求,否则不符合要求。

2 结 果

2.1 气溶胶细菌截留能力情况

共选取 5 个生产厂家(A~E)15 个批次 75 个样品进行测试,结果显

示,生产厂家 A~D 12 个批次 60 个样品的支路收集液均无菌生长,符合要求;生产厂家 E 3 个批次

15 个样品的支路收集液菌落数均 >100 CFU,不符合要求。见表 1。

表 1 空气过滤器样品气溶胶挑战试验结果
Table 1 Aerosol challenge testing results of air filter specimens

生产厂家	生产批号	样本类型	样本 1(CFU)	样本 2(CFU)	样本 3(CFU)	样本 4(CFU)	样本 5(CFU)	阳性对照(CFU)
A	A1	一体式	0	0	0	0	0	1.6 × 10 ⁴
	A2		0	0	0	0	0	1.3 × 10 ⁴
	A3		0	0	0	0	0	1.3 × 10 ⁴
B	B1	一体式	0	0	0	0	0	1.2 × 10 ⁴
	B2		0	0	0	0	0	1.3 × 10 ⁴
	B3		0	0	0	0	0	1.2 × 10 ⁴
C	C1	一体式	0	0	0	0	0	1.2 × 10 ⁴
	C2		0	0	0	0	0	1.3 × 10 ⁴
	C3		0	0	0	0	0	1.3 × 10 ⁴
D	D1	分体式	0	0	0	0	0	1.4 × 10 ⁴
	D2		0	0	0	0	0	1.3 × 10 ⁴
	D3		0	0	0	0	0	1.2 × 10 ⁴
E	E1	分体式	>100	>100	>100	>100	>100	1.3 × 10 ⁴
	E2		>100	>100	>100	>100	>100	1.4 × 10 ⁴
	E3		>100	>100	>100	>100	>100	1.4 × 10 ⁴

2.2 样品滤膜材质与孔径 生产厂家 A~E 的空气过滤器的材质分别为聚四氟乙烯、聚偏氟乙烯、聚丙烯、聚四氟乙烯、玻璃纤维,孔径分别为 0.22、0.22、2、2、5 μm。

3 讨论

研究检测 5 个生产厂家的典型空气过滤器,结果显示,生产厂家 A~D 的样品均符合要求,而生产厂家 E 的样品不符合要求,进一步分析发现厂家 E 的样品滤膜材质为玻璃纤维,孔径为 5 μm,不适用于输液器进气器件的空气过滤器;A~D 厂家样品材质种类各异,但其孔径偏小(均 <2.5 μm),检测符合要求,适合用于输液器进气器件的空气过滤器。

试验系统使用人工制备的气溶胶而非自然污染的气溶胶,增加了检测条件的可控性和检测结果的重复性和再现性。试验系统采用的 Collison 喷雾器激发的气溶胶能模拟普通空气环境中微生物状态^[6]。Collison 喷雾器是被广泛认可的对液体或者混悬液进行气溶胶化的技术,目前广泛应用于空气生物学^[7]、气溶胶研究^[8]、生物安全柜测试^[9]以及过滤器评价^[10]等。Collison 喷雾器激发的气溶胶颗粒的质量中值

粒径为 2.5 μm。据报道,空气中与疾病有关的带菌粒子直径一般为 4~20 μm^[11]。故认为进气器件的空气过滤器能拦截 2.5 μm 的气溶胶颗粒,可以有效拦截空气中的微生物气溶胶。

本试验中使用金黄色葡萄球菌作为挑战微生物是基于以下考虑:(1)金黄色葡萄球菌是临床血源性感染常见菌之一^[12];(2)在防护服、口罩、手套等细菌挑战试验中也普遍采用金黄色葡萄球菌^[13-15];(3)金黄色葡萄球菌容易获得且有明显的生长特征,易识别。

本次试验方法设计采用高于临床水平的试验参数。首先,试验方法规定 50 mL/min 的测试流量和 30 min 的测试时间,相应地,试样共经受 1 500 mL 的测试总气流量,三项挑战参数均严于临床;其次,由于试验方法规定的挑战水平为不低于 10⁴ CFU,也就是说,1 500 mL 的挑战总气流量中含有不低于 10⁴ CFU 的微生物数量,相当于每 1 m³ 环境空气中含有不低于 10⁷ CFU 的微生物数量,远高于普通临床输液环境中的微生物浓度^[16-17]。

为保证试验的有效性,本试验系统在使用前应进行试验系统确认,保证挑战水平达到 10⁴ CFU,并保证 6 个支路挑战水平具有一致性。经过多次试验研究,发现菌悬液的浓度达到 10⁸ CFU/mL 时,试

验系统每个支路的挑战水平均能达到 10^4 CFU, 6 个支路检测结果的变异系数为 3.5%~12.7%。

本试验方法和试验系统适用于评价输液、输血器具中一体式和分体式进气器件的空气过滤器。由于本试验方法设计为定性试验,无法给出定量的过滤效率数据,故本方法仅作为评价空气过滤器是否适合作为输液、输血器具进气器件的基准要求,不能对空气过滤器的细菌截留能力进行分级、分类。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 王建荣. 输液治疗护理实践指南与实施细则[M]. 北京:人民军医出版社, 2009: 16-17.
Wang JR. Nursing practice guide and implementation rules for infusion therapy[M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2009: 16-17.
- [2] 孙红, 王蕾, 关欣, 等. 全国部分三级甲等医院静脉治疗护理现状分析[J]. 中华护理杂志, 2014, 49(10): 1232-1237.
Sun H, Wang L, Guan X, et al. A survey of the status of infusion therapy in tertiary hospitals in China[J]. Chinese Journal of Nursing, 2014, 49(10): 1232-1237.
- [3] 林梅娟, 熊少娟, 姚志红, 等. 消毒配药后的输液瓶口放置时间与污染的关系[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2010, 31(21): 3519-3520.
Lin MJ, Xiong SJ, Yao ZH, et al. The relationship between sterilization storage time of infusion bottle mouth after disinfected dispensing and pollution[J]. Journal of Qiqihar Medical University, 2010, 31(21): 3519-3520.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 一次性使用输液器—重力输液式: GB 8368-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Infusion sets for single use—gravity feed: GB 8368-2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.
- [5] PDA International Association for Pharmaceutical Science and Technology. Sterilizing filtration of gases. Technical report no. 40. Parenteral Drug Association[J]. PDA J Pharm Sci Technol, 2005, 58(1 Suppl TR40): 7-44.
- [6] May KR. The Collison nebulizer: description, performance and application[J]. J Aerosol Sci, 1973, 4(3): 235-238, IN1, 239-243.
- [7] Thomas RJ, Webber D, Hopkins R, et al. The cell membrane as a major site of damage during aerosolization of *Escherichia coli*[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(3): 920-925.
- [8] Ibrahim E, Harnish D, Kinney K, et al. An experimental investigation of the performance of a Collison nebulizer generating H1N1 influenza aerosols [J]. Biotechnol Biotechnol Equip, 2015, 29(6): 1142-1148.
- [9] Hino S, Sato H. Collison 6-jet nebulizer: choice for the certification test of the class II biological safety cabinet[J]. Jpn J Exp Med, 1984, 54(1): 29-38.
- [10] Hata M, Thongyen T, Bao L, et al. Development of a high-volume air sampler for nanoparticles[J]. Environ Sci Process Impacts, 2013, 15(2): 454-462.
- [11] 于玺华. 现代空气微生物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 7-8.
Yu XH. Modern air microbiology[M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2002: 7-8.
- [12] O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections[J]. Am J Infect Control, 2011, 39(4 Suppl 1): S1-S34.
- [13] British Standards Institution. Medical face masks—requirements and test methods: EN 14683-2014[S]. BSI Standards Limited, 2014.
- [14] ASTM International. Standard specification for performance of materials used in medical face masks: ASTM F2100-11(2018)[S]. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International, 2018.
- [15] International Organization for Standardization. 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: ISO 22610: 2018[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2018.
- [16] 尹湘毅, 张皖瑜, 丁艳, 等. 医院重点部门空气微生物含量的监测及分析[J]. 医学研究生学报, 2005, 18(11): 1031-1033.
Yin XY, Zhang WY, Ding Y, et al. Monitoring and analysis of air-microorganism content in important hospital departments[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2005, 18(11): 1031-1033.
- [17] 王伟, 石磊, 薛红, 等. 医院空气微生物分布情况调查[J]. 中国当代医药, 2012, 19(32): 101-102.
Wang W, Shi L, Xue H, et al. Survey of airborne microbes distribution in hospital[J]. China Modern Medicine, 2012, 19(32): 101-102.

(本文编辑:刘思娣、左双燕)

本文引用格式:王文庆, 国宪虎, 方良艳, 等. 用金黄色葡萄球菌气溶胶评价输液器进气器件细菌截留能力[J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21(2): 186-189. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221732.

Cite this article as: WANG Wen-qing, GUO Xian-hu, FANG Liang-yan, et al. Evaluation of bacterial retention capacity of air inlet filters of infusion device using challenging aerosol of *Staphylococcus aureus*[J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(2): 186-189. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221732.