

· 专题报道之七 ·

不同常用消毒剂对 HIV 消毒效果评价*

陈路瑶¹, 吴守丽^{2,3,4}, 林立旺¹, 颜莘莘^{2,3,4}, 严延生^{2,3,4}

摘要:目的 观察各类常用消毒剂对人类免疫缺陷病毒(HIV)的消毒效果。方法 采用核酸定量法及病毒细胞培养法,对存在于全血或血浆中的 HIV 进行消毒试验。结果 核酸定量法试验结果,含有效氯 3 000 mg/L 含氯消毒剂作用 5 min、有效碘含量为 100 mg/L 碘伏作用 1 min、75% 酒精作用 1 min 对血浆中的 HIV 灭活对数值 > 4.00,有效含量 5 000 mg/L 过氧乙酸作用 20 min 对全血及血浆中的 HIV 灭活对数值均 ≤ 2.00;对于存在于全血中的 HIV 含氯消毒剂的杀灭能力受到影响较大,碘伏类消毒剂也需增加较大剂量;病毒细胞培养法试验结果,有效氯 100 mg/L 含氯消毒剂作用 3 min、有效含量 100 mg/L 过氧乙酸作用 3 min、有效碘含量 50 mg/L 碘伏作用 1 min、75% 的酒精作用 30 s、0.05% 戊二醛作用 5 min,对 HIV 的灭活对数值均 > 4.00。结论 核酸定量法与病毒灭活试验结果差异较大,前者是反映病毒灭活的间接指标,可用于快速筛选试验;后者是反映病毒灭活的直接指标,可作为最终判定。

关键词: 消毒剂;人类免疫缺陷病毒(HIV);核酸定量;细胞培养

中图分类号:R 187+.2 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2013)08-1111-04 DOI:10.11847/zgggws2013-29-08-06

Evaluation on disinfection effect of conventional disinfectants on HIV

CHEN Lu-yao*, WU Shou-li, LIN Li-wang, et al (*Departemnt of Disinfection and Disinsection, Fujian Provincial Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou, Fujian Province 350001, China)

Abstract: Objective To evaluate disinfection efficacy of conventional disinfectants against human immunodeficiency virus(HIV). **Methods** Two methods(nucleic acid quantification and cell culture)were used in testing of disinfectant against HIV in blood or plasma. **Results** The nucleic acid quantification test showed that the log inactivation value for HIV in plasma exceeded 4.00 in the case of HIV exposed to available chlorine of 3 000 mg/L for 5 min, available iodine of 100 mg/L for 1 min or 75% alcohol for 1 min. But for the exposure of peracetic acid 5 000 mg/L for 1 min, the log inactivation value did not exceed 2.00. For the HIV in blood, the concentration of available chlorine and iodine should be increased for effective disinfection. The cell culture test showed that the log inactivation value exceeded 4.00 in case of HIV exposed to 100 mg/L available chlorine or peracetic acid for 3 min, available iodine 100 mg/L for 1 min, 75% alcohol for 30 s, and 0.05% glutataldehyde for 5 min. **Conclusion** There are differences in disinfection effect between the two methods. As an indirect indicator of inactivation, nucleic acid quantification could be used in the quick screening test while culture is a direct indicator which could be considered as the ultimate determination.

Key words: disinfectant; human immunodeficiency virus(HIV); nucleic acid quantification; cell culture

艾滋病是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染引起的一种病死率极高的恶性传染病,目前在中国艾滋病病例数每年以 10%~30% 的速度增长^[1],而在全球范围内尚无有效治愈艾滋病的方法。因此,做好艾滋病的预防工作是人类应对艾滋病挑战最有效最科学的对策^[2]。针对可能被 HIV 污染的血液、体液、分泌物、排泄物及其他物品,确定有效、快速的消毒剂及合理的消毒方法,可有效切断 HIV 传播,对预防艾滋病起重要作用。本研究选取几种常用消毒剂,在实验室中分

别对存在于全血或血浆中的 HIV 进行消毒试验,采用核酸定量及病毒培养 2 种指标观察消毒效果。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用病毒株和宿主细胞 病毒用 HIV-1 毒株 LWJ(福建省疾控中心确认并分离),该毒株可以在原代人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMCs)和传代人 T 淋巴细胞系(human T lymphocyte lines, MT4)上复制并导致细胞病变(cytopathic effect, CPE),为可持续传代、快/高复制、T 细胞噬性的 SI 毒株。宿主细胞用 MT4 细胞株作为 HIV-1 的测试细胞(厦门大学夏宁邵教授惠赠),用含 10% 胎牛血清的 RPMI1640(Roswell Park Memorial Institute)细胞培养基进行培养。

1.1.2 消毒剂 有效氯 5.0% 的含氯消毒剂(福州市康家卫生消毒制品厂);二元包装过氧乙酸(福州

* 基金项目:国家科技重大专项(2009ZX10004-502);福建省科技重大专项(2004YZ01-2);福建省自然科学基金(2009J01104)

作者单位:1. 福建省疾病预防控制中心消杀科,福州 350001; 2. 福建省疾病预防控制中心性病与艾滋病防治科; 3. 福建省人兽共患病研究重点实验室; 4. 福建医科大学公共卫生学院

作者简介:陈路瑶(1975-),女,回族,福建福州人,副主任技师,学士,主要从事消毒技术工作。

通讯作者:严延生, E-mail:yysh@fjcdc.com.cn

市仓山榕岚消毒剂厂),使用前应先按一定比例混合作用 24~48 h;有效碘为 0.3% 碘伏(福建省建瓯市立医院劳服公司);75% 酒精(福州市晋安区金星卫生药械制品厂);2% 强化戊二醛(福州市晋安区金星卫生药械制品厂)。

1.1.3 其他 病毒核酸提取试剂盒(台湾 Geneaid 公司),HIV-1 核酸定量检测试剂盒(深圳凯杰公司),HIV-1 P24 抗原检测试剂盒(荷兰生物梅里埃公司)。

1.2 方法

1.2.1 病毒悬液的制备 从液氮中取出冻存 HIV-1 毒种 LWJ,接种于含 10 mL MT4 细胞悬液(含细胞 $10^5 \sim 10^6$ 个/mL)培养瓶中。逐日观察细胞病变,培养 3~4 d 时,收获病毒上清。收获时,将培养液取出,1 500 r/min 离心 10 min,并将含病毒的上清液按每管 0.5 mL 分装于无菌离心管(1.5 mL)中,冷冻保存于 -80°C 备用。

1.2.2 消毒液的配制 (1)含氯消毒剂:以去离子水配制成有效氯含量为 5 000、3 000、2 000、1 000、500 mg/L 的溶液。(2)过氧乙酸:将 A 液和 B 液按 10:8 的比例混合,放置 48 h 后,测定含量,然后用去离子水配制成有效含量为 5 000、3 000、2 000、1 000、500 mg/L 的溶液。(3)碘伏:将原液为 0.3% 的碘伏消毒剂用去离子水配制成 1 000、500、100 mg/L 的溶液。(4)酒精:75% 酒精溶液,原液进行试验。(5)戊二醛:将活化后的戊二醛以去离子水配制成 0.5%、0.3%、0.1% 溶液。

1.2.3 中和剂的选用 参考 GB 15982-1995《医院消毒卫生标准》^[3] A6.2,选用相对应的等当量中和剂:含氯消毒剂、过氧乙酸及碘伏均选用含 0.1% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的含 1% 蛋白胨的生理盐水(tryptone physiology solution,TPS);酒精选用含 0.1% 吐温 80 的 TPS;戊二醛选用含 0.3% 甘氨酸的 TPS。经按《消毒技术规范》(2002 年版)^[4] 2.1.1.10.5 残留消毒剂化学中和法的鉴定试验,证实能够有效中和相对应消毒剂的消毒效果,并且对病毒及实验无不良影响。

1.2.4 消毒试验 (1)悬液定量杀灭试验操作程序:试验依据卫生部《消毒技术规范》(2002)版^[4] 进行。在核酸定量试验中,为了更有代表性,我们采用含有 HIV 的全血或血浆与消毒剂混合;在病毒灭活试验中,为了提高实验敏感性及可操作性,我们采用病毒悬液替代全血或血浆与消毒剂混合。待消毒剂作用至各预定时间,分别吸取病毒与消毒剂混合液 0.1 mL 加于 0.9 mL 经灭菌的中和剂中,混匀。中和作用 10 min。同时用稀释液代替消毒液,进行平行试验,作为阳性对照。(2)消毒效果测定和评价:

核酸定量试验:按照 Viral Nucleic Acid Extraction Kit II (Geneaid) 的操作步骤提取上述悬液中的病毒核酸,用 HIV-1 核酸定量检测试剂盒(深圳凯杰公司)进行 real-time RT-PCR,定量检测消毒前后 HIV-1 的核酸含量。病毒灭活试验:用细胞感染法测定消毒剂作用前后样本中 HIV 的量。以 P24 抗原阳性作为判断指标,确定各组病毒的感染滴度,计算消毒剂对 HIV 的灭活对数值。细胞感染法具体操作按照《消毒技术规范》(2002 年版)^[4] 2.1.1.10.8 进行。用无菌去离子水代替消毒剂进行平行试验,作为阳性对照;中和剂与消毒剂的中产物及中和剂对细胞毒性试验中,用中产物及中和剂代替消毒剂进行平行试验。培养第 14 d 时收集培养上清,进行 P24 抗原检测,结果判断参照 HIV-1 P24 抗原检测试剂盒。用终点稀释法计算病毒感染滴度,以半数细胞感染剂量(50% tissue culture infective dose,TCID₅₀)表示,TCID₅₀ 对数值 = 病变率高于 50% 组稀释度的对数值 + 距离比例。“病变率高于 50% 组”是指病变率超过 50% 的最低组,以下简称“高于 50% 组”;“病变率低于 50% 组”是指病变率低于 50% 的最高组,以下简称“低于 50% 组”。

距离比例 = $\frac{\text{高于 50\% 组的病变率} - 50}{\text{高于 50\% 组的病变率} - \text{低于 50\% 组的病变率}}$ ^[4]

1.2.5 评价标准 根据各种消毒剂的实际情况,将含氯消毒剂、过氧乙酸、碘伏、酒精的消毒试验分为血浆组及全血组,用核酸定量指标进行消毒效果的观察,而戊二醛仅用于对清洁的医疗器械消毒,因此只对存在于血浆中的 HIV 进行了戊二醛的灭活试验;同时用病毒悬液替代全血或血浆与消毒剂混合进行病毒灭活试验,用病毒的感染性 TCID₅₀ 来评价消毒效果。依据卫生部《消毒技术规范》(2002)版 2.1.1.10.8,消毒剂与病毒作用一定时间后,对病毒的灭活对数值 ≥ 4.00 ,可判定为达到消毒效果^[4]。

2 结果

2.1 核酸定量法试验结果

2.1.1 含氯消毒剂试验结果(表 1) 有效氯 3 000 mg/L 含氯消毒剂对存在于血浆中的 HIV 作用 5 min,灭活对数值 > 4.00 ,达到消毒效果,但对于存在于全血中的 HIV 的杀灭能力较差,有效氯含量为 5 000 mg/L 的浓度对病毒作用 20 min,杀灭对数值为 1.19,仍达不到消毒效果。

2.1.2 过氧乙酸试验结果(表 2) 有效含量 5 000 mg/L 过氧乙酸对全血及血浆中的 HIV 作用 20 min 灭活对数值分别为 2.00 和 1.41,均达不到消毒效果。

表 1 含氯消毒剂对 HIV 核酸灭活对数值

HIV 存 在环境	作用时间 (min)	不同有效氯含量(mg/L)对 HIV 核酸灭活对数值					阳性对照 组对数值
		5 000	3 000	2 000	1 000	500	
血浆	5	>4.00	>4.00	1.54	1.20	1.26	5.60
	10	>4.00	>4.00	2.03	1.29	1.27	
	15	>4.00	>4.00	1.47	1.26	1.26	
	20	>4.00	>4.00	1.14	1.51	1.52	
全血	5	1.56	1.41	<1.00	<1.00	<1.00	5.60
	10	1.54	<1.00	1.36	<1.00	<1.00	
	15	1.37	1.75	1.76	<1.00	<1.00	
	20	1.19	1.64	2.27	<1.00	<1.00	

表 2 过氧乙酸对 HIV 核酸灭活对数值

HIV 存 在环境	作用时间 (min)	不同过氧乙酸有效含量(mg/L)对 HIV 核酸灭活对数值					阳性对照 组对数值
		5 000	3 000	2 000	1 000	500	
血浆	5	<1.00	1.61	<1.00	<1.00	<1.00	5.79
	10	<1.00	2.20	<1.00	<1.00	<1.00	
	15	1.71	2.04	<1.00	<1.00	<1.00	
	20	2.00	2.13	<1.00	<1.00	<1.00	
全血	5	1.08	<1.00	1.74	<1.00	1.38	5.67
	10	1.20	<1.00	2.17	<1.00	1.41	
	15	1.49	1.28	1.79	<1.00	1.04	
	20	1.41	1.44	1.93	<1.00	<1.00	

2.1.3 碘伏试验结果(表 3) 有效碘含量为 100 mg/L 碘伏对存在于血浆中的 HIV 作用 1 min, 灭活对数值 >4.00, 达到消毒效果, 但对于存在于全血中的 HIV, 需有效碘含量 500 mg/L 的浓度对病毒作用 1 min, 灭活对数值 >4.00, 达到消毒要求。

表 3 碘伏对 HIV 核酸灭活对数值

HIV 存 在环境	作用时间 (min)	不同有效碘含量(mg/L)对 HIV 核酸灭活对数值			阳性对照 组对数值
		1 000	500	100	
血浆	1	>4.00	>4.00	>4.00	5.59
	3	>4.00	>4.00	>4.00	
	5	>4.00	>4.00	>4.00	
	10	>4.00	>4.00	>4.00	
全血	1	>4.00	>4.00	1.03	5.79
	3	>4.00	>4.00	1.38	
	5	>4.00	>4.00	1.47	
	10	>4.00	>4.00	<1.00	

2.1.4 酒精及戊二醛试验结果 75% 酒精对全血及血浆中的 HIV 作用 1 min, 灭活对数值 >4.00, 达到消毒要求。0.1% 戊二醛对存在于血浆中的 HIV 作用 5 min, 灭活对数值 >4.00, 达到消毒要求。

2.2 病毒灭活试验结果 含有效氯 100 mg/L 含氯消毒剂作用 3 min、有效含量 100 mg/L 过氧乙酸作用 3 min、有效碘含量 50 mg/L 碘伏作用 1 min、

75% 的酒精作用 30 s、0.05% 戊二醛作用 5 min, 对 HIV 的灭活对数值均 >4.00, 均达到消毒效果。

3 讨论

从以核酸定量为指标的消毒试验结果可以看出, 对于存在于血浆中的 HIV, 含氯消毒剂、碘伏、75% 酒精及戊二醛的灭活效果均较好, 但过氧乙酸的消毒效果不理想。而对于存在于全血中的 HIV, 几种消毒剂的灭活效果均有所下降, 多数消毒剂难于快速灭活病毒, 这是由于全血中含有大量的有机物, 这些有机物的存在, 消耗了大量的消毒剂有效成分, 尤其是有效氯及过氧化物, 从而使参与灭活病毒的消毒剂有效浓度大大降低。有研究报道, 酒精可以很快灭活存在于 10% 血清中的病毒, 而当血清增加到 100% 时, 灭活病毒所需的时间则延长很多^[5], 说明酒精渗入血清过程很缓慢。同样, 游离氯对 HIV 灭活所需剂量的不同主要取决于有机物的含量和种类。当试验体系中的血清从 10% 上升到 80% 时, 灭活 HIV 所需的有效氯含量则从 100 mg/L 上升到了 500 mg/L, 提示在进行消毒前去除所有有机物的存在, 因此仍应加大消毒剂浓度与用量, 如: 对污染环境的消毒处理; 对于污染物品及不宜用高浓度消毒剂处理者可采取消毒、清洁、再消毒的方式, 以确保消毒的安全及有效。碘伏的消毒效果理想, 可能是由于碘伏除了游离碘对 HIV 有杀灭作用外, 其中的表面活性剂对 HIV 也起到了协同作用。75% 酒精对全血及血浆中的 HIV 灭活效果均很好, 但是, 在对酒精进行的中和剂鉴定试验中, 发现中和产物对照组的核酸拷贝也有明显降低, 并且, 在有血液存在的情况下, 酒精有凝固表面蛋白质的作用, 这也可能是影响试验的原因之一。

在以 P24 抗原阳性作为判断指标, 用细胞感染法所进行的病毒灭活试验中, 大多消毒剂对 HIV 的消毒效果明显优于以核酸为指标的实验所得出的结果, 消毒剂杀灭 HIV 所需的有效浓度很低, 低于一般的细菌繁殖体。正如 Hernández 等^[6]报道的, HIV 的复制很大程度上依赖于用来提供病毒生长的细胞的活力。而化学物质(包括消毒剂、中和剂及中和产物等)对细胞的毒性将会影响实验结果的正确性。如果用于培养的细胞被上述化学物质杀死, 因此而产生的 HIV 复制的停止可以说是病毒灭活, 但实际上是细胞毒性导致的结果。因此, 本研究在试验中设置了对照组进行观察, 结果表明, 本研究所使用的消毒剂、中和剂及中和剂产物对细胞均无毒性。本结果中含氯消毒剂及酒精对 HIV 灭活所需

的剂量和时间与以往的各项报道^[5-6]基本一致。

众所周知,HIV 属亲脂病毒,其对各种消毒剂的抗力低于细菌繁殖体,属于抗力最弱的微生物,最易被各种消毒剂杀灭。在本研究中,以核酸定量为指标进行的病毒灭活试验却得出了不同结果,部分消毒剂“灭活”HIV 所需的浓度甚至超过了细菌芽胞。作为病毒灭活的一个间接指标,核酸定量方法虽然简单、便捷,但消毒剂使用浓度偏高,不能全面反映实际情况。虽然细胞培养所需时间长,试验条件要求高,操作复杂,但所检测的指标 P24 抗原是反映病毒是否具有传染性的一个直接指标^[5],以该方法所进行的病毒灭活试验,所得的结果更能符合实际,更能反映消毒剂对 HIV 作用的真实情况,因此,以病毒灭活试验作为消毒剂对 HIV 灭活效果的最终指标较为直观。

中国正处于艾滋病流行快速增长期^[7],艾滋病病人、HIV 感染者不断增多,由此导致的 HIV 职业接触感染呈逐年上升趋势^[7-8]。采取适合的消毒剂及合理的消毒方法,则可有效预防 HIV 传播。研究 HIV 对各种常用消毒剂的敏感性,则可对各种消毒剂的合理使用作出指导。本研究结果表明,HIV 对

多种消毒剂均敏感,因此医务工作者对未明确确定性的受检标本及患者排泄物,对生活中的可疑体液及其污染的桌面、台面、地面等,均应彻底消毒并清洁处理以防止 HIV 意外传播。必须指出的是,在有机物存在情况下,应加大消毒剂用量与浓度,消毒效果才更有保证。

参考文献

- [1] 房思宁,蔡文德,杜晓红,等. AIDS/HIV 感染住院患者流行特征分析[J]. 中国公共卫生,2009,25(11):1376-1377.
- [2] 杨月乔. 中国艾滋病预防的重要性及对策[J]. 医学信息,2011(3):1158-1159.
- [3] 卫生部. GB 15982-1995 医院消毒卫生标准[S]. 北京:卫生部,1995.
- [4] 卫生部卫生法制与监督司. 消毒技术规范[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2002.
- [5] van Bueren J. Methodology for HIV disinfectant testing [J]. J Hosp Infect,1995,30(Suppl):383-388.
- [6] Hernández A, Belda FJ, Domínguez J, et al. Evaluation of the disinfectant effect of Solprogel against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) [J]. J Hosp Infect,1996,34(3):223-228.
- [7] 蒋景华,陈文光,章泽豹. 综合性医院对人类免疫缺陷病毒的职业防护[J]. 中国职业医学,2008,35(2):171-172.
- [8] 雷永良,庄杰. 血站 HBSAg、HIV、HCV、梅毒污染调查[J]. 中国消毒学杂志,2006,23(7):75.

收稿日期:2012-06-24

(郑新编辑 周欣琳校对)

• 专题报道之七 •

不同性传播感染 MSM 艾滋病高危行为对比分析*

于增照¹,李洋²,史同新¹,李秀芳³,张北川³,王燕飞⁴

摘要:目的 探讨男男性行为者(MSM)中近1年内曾患性传播感染(STI)者与未患STI者的艾滋病(AIDS)高危行为状况。**方法** 采用滚雪球法进行横断面调查;应用SPSS 13.0软件对9个城市2134名MSM进行匿名问卷分析,比较患STI者与未患STI者AIDS高危行为差异。**结果** 患STI者中累计同性肛交性伴数,近6个月同性肛交性伴数中位数分别为20.3个,均高于未患STI者的7.2个;近1年内,患STI者中有28.8%(95/330)曾参加群交,24.7%(81/328)向同性买性,44.1%(146/331)性交时出血,均高于未患STI者的17.0%(289/1697)、11.4%(189/1657)、24.4%(417/1706)($P=0.000$);患STI者中有67.3%(181/269)近1次同性肛交时使用安全套,低于未患STI者的76.9%(964/1253)($\chi^2=11.065,P=0.001$);患STI者艾滋病病毒(HIV)感染率为4.03%(14/347),明显高于未患STI者的1.96%(35/1787)($\chi^2=5.582,P=0.018$)。**结论** MSM中患STI者具有更多的AIDS高危行为,需加强对其进行健康干预。

关键词:男男性行为者(MSM);性传播感染(STI);艾滋病(AIDS);高危行为

中图分类号:R 75 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2013)08-1114-04 DOI:10.11847/zgggws2013-29-08-07

Prevalence of AIDS-related high risk behaviors among men who have sex with men with STI

YU Zeng-zhao*, LI Yang, SHI Tong-xin, et al (* Department of Dermatology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao, Shandong Province 266011, China)

Abstract: Objective To investigate the prevalence of AIDS-related high risk behaviors among men who have sex with men (MSM) ever infected by sexually transmitted disease (STI) within previous one year. **Methods** Snowball sampling and an anonymous questionnaire survey were adopted for a cross-sectional study to compare the differences in high

* 基金项目:国家“十一五”科技攻关课题(2004BA719A02)

作者单位:1. 青岛市市立医院皮肤科,山东 266011; 2. 青岛监狱医院; 3. 青岛大学医学院附属医院性病健康中心; 4. 威海四〇四医院皮肤科
作者简介:于增照(1975-),男,山东平度人,主治医师,硕士,主要从事皮肤病、艾滋病防治工作。