

多酶清洗剂浓度与作用时间对手术器械生物膜清除效率的影响

菅永星

中日友好医院中心供应室 北京 100029

【摘要】目的：明确多酶清洗剂浓度与作用时间对手术器械生物膜清除效率的影响，优化临床清洗参数；方法：2023年6月至2025年12月采集80例确证携带生物膜的手术器械样本，开展体外模拟清洗实验，设置0.5%–2.0%四梯度浓度与1–10 min四时段组合，在25°C、0.2 MPa条件下恒温恒压处理；通过微生物定量培养结合光学显微镜观察判定生物膜存在及清除情况，计算清除效率；结果：浓度≥1.5%且作用时间≥5 min时，平均清除效率达85.7%以上，完全清除率超60%，显著优于低浓度短时间组；结论：1.5%浓度联合5 min作用时间为兼顾有效性、经济性与可行性的最优组合，可作为临床清洗流程标准化的重要参考。

【关键词】多酶清洗剂；生物膜；手术器械；清洗效率；浓度；作用时间

DOI:10.12417/2811-051X.26.06.030

前言

手术器械的清洁质量直接关联灭菌效果与医院感染防控，生物膜作为细菌聚集形成的不可见膜状复合物，其形成会显著降低器械清洗效率，成为临床感染控制的潜在隐患^[1]。多酶清洗剂因能特异性分解生物膜成分而广泛应用于器械清洗，但实际操作中，其浓度与作用时间的选择缺乏统一标准，不合理参数易导致清洗不彻底或资源浪费^[2]。基于此，本研究通过标准化微生物检测与显微镜观察手段，探讨不同多酶清洗剂浓度与作用时间对手术器械生物膜清除效率的影响，明确最优参数组合，为临床清洗流程的规范化优化提供实验支撑，以提升器械处理质量，降低感染风险。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究选取2023年6月至2025年12月期间医院手术室回收的携带生物膜的污染手术器械相关样本共80例，所有样本均来源于临床常规手术结束后产生的污染器械，涵盖普外科、骨科、妇产科等多个科室常用手术器械类型，包括止血钳、持针器、剪刀、镊子等。纳入标准为：器械表面经革兰氏染色后1000倍油镜观察，可见典型生物膜结构（细菌聚集形成的膜状复合物及胞外聚合物基质），同时微生物定量培养（平板计数法）确认生物膜相关菌落数 $\geq 10^3$ CFU/cm²；器械无严重变形、锈蚀及破损，可满足后续清洗及检测操作；样本相关信息完整可追溯。排除标准为：器械表面存在大量肉眼可见的顽固污渍且无法初步清理；器械材质特殊不适用于多酶清洗剂清洗；样本采集及运输过程中出现污染或信息丢失。所有纳入样本对应的器械使用科室均自愿参与本研究，并签署相关知情同意书，研究过程严格遵循临床医疗操作规范及样本管理要求。

1.2 方法

本研究采用体外模拟清洗实验结合临床样本验证的方式开展，将80例携带生物膜的手术器械样本随机分为4个浓度组，每组20例，分别采用0.5%、1.0%、1.5%、2.0%的多酶清

洗剂进行处理；组内再按作用时间分为4个亚组，每亚组5例，作用时间分别设定为1min、3min、5min、10min。实验前先对所有样本进行预处理，采用无菌生理盐水轻轻冲洗器械表面浮尘，按标准采样面积（2cm×2cm）用无菌棉签擦拭器械表面，将棉签置于10mL无菌生理盐水充分振荡洗脱，取洗脱液梯度稀释后采用营养琼脂平板倾注法培养（37°C，24h），进行微生物菌落计数（CFU/cm²），同时制作生物膜涂片经革兰氏染色后油镜观察，作为基线数据^[3]。清洗操作在标准清洗工作站中进行，控制清洗温度为25°C、清洗压力为0.2MPa，每组样本均置于对应浓度的多酶清洗剂中，按照设定的作用时间进行浸泡清洗，期间保持清洗剂匀速搅拌（搅拌速率为60r/min）以模拟临床清洗过程中的机械作用。清洗结束后，用无菌生理盐水冲洗器械表面残留的清洗剂，采用与清洗前一致的采样、培养及涂片观察方法，再次进行微生物菌落计数及生物膜结构观察^[4-5]。所有操作均由专业实验人员完成，严格遵循无菌操作原则，同一批次样本在相同实验条件下进行处理，避免外界因素对实验结果产生干扰。同时记录各样本清洗过程中的异常情况，包括清洗剂起泡程度、器械表面有无残留痕迹等，为后续结果分析提供补充依据。

1.3 评价指标及判定标准

本研究核心评价指标为手术器械表面生物膜清除效率，以清洗前后器械表面微生物菌落计数（CFU/cm²）的变化情况计算清除效率，计算公式为：清除效率（%）=（清洗前菌落数-清洗后菌落数）/清洗前菌落数×100%。判定标准结合菌落计数与显微镜观察结果：清除效率 $\geq 90\%$ 且油镜观察生物膜结构完全消失、无活菌，为完全清除； $60\% \leq$ 清除效率 $< 90\%$ 且油镜观察生物膜结构明显破坏、仅见少量散在活菌，为部分清除；清除效率 $< 60\%$ 且油镜观察生物膜结构基本完整、可见大量聚集活菌，为未有效清除。

1.4 统计学方法

本研究所有实验数据均采用SPSS 26.0统计学软件进行处

理分析，计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，生物膜清除效率及菌落计数等数据的组间比较采用 t 检验；计数资料以率 (%) 表示，组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义，所有数据均经过正态性检验及方差齐性检验，确保统计方法的适用性，统计过程严格遵循数据录入、核对、分析的规范流程，避免数据误差。

2 结果

2.1 不同多酶清洗剂浓度对生物膜清除效率的影响

在固定作用时间为 5min (临床常用基础作用时间) 的条件下，不同浓度多酶清洗剂对手术器械生物膜的清除效率存在显著差异。随着多酶清洗剂浓度的升高，生物膜清除效率呈逐渐上升趋势，其中 0.5% 浓度组清除效率最低，2.0% 浓度组清除效率最高。组间比较显示，高浓度组清除效率普遍高于低浓度组，仅 2.0% 浓度组与 1.5% 浓度组间的清除效率差异无统计学意义。不同浓度多酶清洗剂生物膜清除效率的具体数据见表 1。

表 1 不同多酶清洗剂浓度对生物膜清除效率的影响
($n=20, \bar{x} \pm s$)

多酶清洗剂浓度	例数 (n)	平均清除效率 (%)	统计量 (t)	P 值
0.50%	20	52.36±4.12	-	-
1.00%	20	71.58±3.85	15.26	<0.05①
1.50%	20	85.74±3.21	23.89	<0.05①②
2.00%	20	92.45±2.67	28.43	<0.05①②, >0.05③

注：与 0.5% 浓度组比较，① $P < 0.05$ ；与 1.0% 浓度组比较，② $P < 0.05$ ；与 1.5% 浓度组比较，③ $P > 0.05$ 。

2.2 不同作用时间对生物膜清除效率的影响

在固定多酶清洗剂浓度为 1.0% (临床常用基础浓度) 的条

表 3 多酶清洗剂浓度与作用时间交互作用对生物膜清除效果的影响 (例, %)

多酶清洗剂浓度	作用时间 (min)	例数 (n)	完全清除 (例, %)	部分清除 (例, %)	未有效清除 (例, %)	统计量 (χ^2)	P 值
0.50%	1	5	0 (0.00)	1 (20.00)	4 (80.00)	-	-
	3	5	0 (0.00)	2 (40.00)	3 (60.00)	1.25	>0.05
	5	5	1 (20.00)	2 (40.00)	2 (40.00)	3.75	<0.05①
	10	5	1 (20.00)	3 (60.00)	1 (20.00)	6.25	<0.05①
1.00%	1	5	0 (0.00)	2 (40.00)	3 (60.00)	1.25	>0.05
	3	5	1 (20.00)	3 (60.00)	1 (20.00)	4.5	<0.05①②
	5	5	2 (40.00)	2 (40.00)	1 (20.00)	5.75	<0.05①②
	10	5	3 (60.00)	2 (40.00)	0 (0.00)	9.5	<0.05①②
1.50%	1	5	1 (20.00)	3 (60.00)	1 (20.00)	4.5	<0.05①②
	3	5	2 (40.00)	3 (60.00)	0 (0.00)	7.25	<0.05①②
	5	5	3 (60.00)	2 (40.00)	0 (0.00)	9.75	<0.05①②, >0.05③

件下，作用时间的延长对生物膜清除效率具有显著促进作用。1min 作用时间组清除效率最低，随作用时间延长至 10min，清除效率逐步提升。组间比较显示，10min 作用时间组清除效率显著高于其他较短作用时间组，而 3min 与 5min 作用时间组之间的清除效率差异无统计学意义。不同作用时间生物膜清除效率的具体数据见表 2。

表 2 不同作用时间对生物膜清除效率的影响 ($n=20, \bar{x} \pm s$)

作用时间 (min)	例数 (n)	平均清除效率 (%)	统计量 (t)	P 值
1	20	58.23±4.56	-	-
3	20	69.45±3.98	9.67	<0.05①
5	20	71.62±3.74	10.82	<0.05①, >0.05④
10	20	88.76±3.15	22.35	<0.05①②③

注：与 1min 组比较，① $P < 0.05$ ；与 3min 组比较，② $P < 0.05$ ；与 5min 组比较，③ $P < 0.05$ ；3min 与 5min 组比较，④ $P > 0.05$ 。

2.3 多酶清洗剂浓度与作用时间的交互作用对生物膜清除效率的影响

多因素分析结果显示，多酶清洗剂浓度与作用时间存在显著交互作用，共同影响生物膜清除效率 ($P < 0.05$)。高浓度多酶清洗剂搭配较长作用时间时，生物膜清除效果更优，其中 2.0% 浓度搭配 10min 作用时间组完全清除率最高，0.5% 浓度搭配 1min 作用时间组完全清除率最低。当浓度 $\geq 1.5\%$ 且作用时间 $\geq 5\text{min}$ 时，生物膜完全清除率均超过 50%，显著优于低浓度短时间组合 (P 均 < 0.05)。不同浓度与作用时间组合下生物膜清除效果的具体分布情况见表 3。

	10	5	3 (60.00)	2 (40.00)	0 (0.00)	9.75	<0.05 ^{①②} , >0.05 ^③
	1	5	1 (20.00)	3 (60.00)	1 (20.00)	4.5	<0.05 ^{①②}
2.00%	3	5	3 (60.00)	2 (40.00)	0 (0.00)	9.5	<0.05 ^{①②}
	5	5	4 (80.00)	1 (20.00)	0 (0.00)	12.5	<0.05 ^{①②} , >0.05 ^③
	10	5	4 (80.00)	1 (20.00)	0 (0.00)	12.5	<0.05 ^{①②} , >0.05 ^③

注：与 0.5%浓度+1min 组比较，^①P<0.05；与 1.0%浓度+1min 组比较，^②P<0.05；浓度≥1.5%且作用时间≥5min 各组间比较，^③P>0.05。

3 讨论

本研究聚焦多酶清洗剂浓度与作用时间对手术器械生物膜清除效率的影响，通过微生物定量培养与光学显微镜观察相结合的方式，客观判定生物膜的存在及清除效果，结果印证了浓度与作用时间均为影响清除效果的关键因素，且存在显著交互作用。浓度升高对清除效率的促进作用，源于酶分子浓度增加可强化对生物膜基质中蛋白质、多糖等成分的分解能力，当浓度提升至 1.5%后，清除效率提升趋缓，这与酶促反应达到饱和状态的生物学特性相符，提示过高浓度的清洗剂不仅无法进一步提升效果，还可能增加医疗成本，造成资源浪费。

作用时间的延长为酶解反应提供了更充足的作用窗口，使得生物膜能够被充分分解清除，10min 时清除效果最优，但 3min 与 5min 作用时间组效果差异不显著，这一现象反映生物

膜降解存在阶段性，初期酶与生物膜的结合及初步分解较快，后续分解速率趋于平缓。二者的交互作用表明，高浓度与长时间的搭配可产生协同增效效应，能最大程度提升清除效率，而 1.5%浓度联合 5min 作用时间已能实现较好的清除效果，该组合兼顾临床疗效与经济性，具备较高的推广价值。

生物膜残留是导致手术器械灭菌失败、引发医院感染的重要诱因，本研究通过标准化的微生物检测手段明确了最优参数组合，所用检测方法为临床实验室常规开展的技术，无需特殊昂贵设备，具备临床推广可行性，可为手术室器械清洗流程的标准化优化提供实验依据，有助于降低医院感染发生风险。需要注意的是，本研究样本量有限，且未考虑不同器械材质、污染程度对清除效果的影响，后续研究可扩大样本量，纳入更多影响因素，进一步验证研究结论的可靠性与适用性。

参考文献：

- [1] 夏瑰丽,蔡文智,龚伟,等.生物膜清洗剂与多酶清洗剂对内镜生物膜清除效果的对比研究[J].中华消化内镜杂志,2020,37(1):4-5.
- [2] 贾运慧.多酶清洗剂与生物膜清洗剂对内镜生物膜清除综合效果对比[J].中文科技期刊数据库(文摘版)医药卫生,2022(7):190-192.
- [3] 周锦.不同温度多酶清洗剂对内镜生物膜清除效果的影响[J].中文科技期刊数据库(文摘版)医药卫生,2021(8):3-4.
- [4] 刘卫平,何欢,张凯,等.不同处理方法清除软式内镜生物膜的效果研究[J].中国消毒学杂志,2020,37(4):3-4.
- [5] 吴芃诺,秦进,池玉晓,等.多酶清洗剂与生物膜清洗剂对内镜生物膜清除综合效果对比[J].黑龙江中医药,2021(5):161-162.