技术方法

动物笼具和垫料蒸汽灭菌条件的优化

陈　霆,张丽芳,金迎春,邓　巍,丛　喆*

(中国医学科学院,北京协和医学院,医学实验动物研究所,卫生部人类疾病比较医学重点实验室,
国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室,北京　100021)

【摘要】 **目的**　评估几种动物笼具和动物垫料的高压灭菌效果,为安全操作提供依据。**方法**　分别用三种方法高压动物笼具和垫料,用压力蒸汽灭菌化学指示卡和嗜热脂肪芽孢杆菌(ATCC 7953)3M™压力蒸汽灭菌生物指示剂做为指示高压灭菌效果的指标。**结果**　整包垫料高压,垫料干燥效果不好;直接分装到笼具中高压,灭菌效果不稳定;垫料整包高压后,分装到笼具中再次高压,灭菌效果好,垫料干燥。**结论**　单独高压整包垫料,之后将垫料按实际使用量铺放在笼具里进行再次灭菌的方法效果最好,且垫料干燥。

【关键词】 屏障设施;高压灭菌;垫料;笼具
【中图分类号】R-33　【文献标识码】A　【文章编号】1671-7856(2017) 03-0081-03
doi: 10.3969.j.issn.1671 -7856. 2017.03.015

Optimization of steam sterilization conditions for animal cages and beddings

CHEN Ting, ZHANG Li-fang, JIN Ying-chun, DENG Wei, CONG Zhe*
(Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health; Institute of Medical Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Peking Union Medicine College, Beijing 100021, China)

【**Abstract**】 **Objective**　To evaluate the autoclave sterilization effect on several kinds of animal cages and animal bedding, and provide the basis for safe sterilization operation. **Methods**　Beddings and cages were sterilized with three different methods separately, and chemical indicator cards and biological indicator (Bacillus steatothermophilus) in (ATCC-7953) 3M™pressure-steam sterilization were used to indicate the sterilization effects. **Results**　The beddings were not completely dried when it was sterilized in whole package. The sterilization quality was unstable while the beddings were autoclaved after divided into separate cages. The best sterilization effect and dry beddings were obtained if the whole package was autoclaved at first and then divided into separate cages and sterilized again. **Conclusions**　The results of this study demonstrate that dry beddings and best sterilization effect can be achieved by whole package autoclaved at first followed by sterilization of the bedding material divided into separate cages.

【**Key words**】 Barrier facility; Autoclave; Bedding material; Cages

[基金项目]十二五科技重大专项(2012ZX10001001 -001, 2012ZX10001001 -002);卫生行业科研专项(课题编号:201302006)
[作者简介]陈霆,男。E-mail: andychen8533@126.com。
[通讯作者]丛喆,副主任技师。E-mail: congz@cnilas.org

动物笼具和垫料需要经过灭菌后传递到工作区域[1]。这是实验活动中非常重要的一个环节。由于高压物品情况复杂，有些物品体积过大，过于致密，有些因材质问题不能耐受足够的时长，都会造成灭菌不彻底，形成隐患[2]。本研究针对几种常见的动物笼具和垫料高压方法进行了统一测试，以期对各种方法的高压效果进行正确的评估，为动物笼具和垫料的高压提供参考，保证设施和动物安全使用。

1 材料和方法

1.1 实验材料

压力灭菌设备使用新华牌脉动真空压力灭菌器。化学指示卡使用四环牌 121℃压力蒸汽灭菌指示卡，生物指示剂使用 3M™公司嗜热脂肪芽孢杆菌（ATCC 7953）。高压物品主要有商品化实验动物玉米芯垫料（垫料厚度不宜超过 15 cm，长度不宜超过 50 cm。）[3-5]和实验动物笼具。所有高压物品装载量不可超过内柜容积的 80%。[6]

1.2 实验分组

第一组：将商品化实验动物垫料和动物笼具，使用不同的灭菌程序进行实验。其中垫料使用 132℃ 15 min，抽真空 3 次，干燥 5 min 程序；动物笼具使用 121℃灭菌 6 min，抽真空 1 次，干燥 3 min 程序；将动物笼具 6 盒一摞放在高压专用的布袋内。所有高压物品装载量不可超过内柜容积的 80%。

第二组：将动物垫料按实际使用量铺放在笼具里，将动物笼具 6 盒一摞放在高压专用的布袋内送入压力容器进行灭菌。121℃ 6 min，抽真空 1 次，干燥 3 min。

第三组：首先将整包垫料进行灭菌，132℃ 15 min，抽真空 3 次，干燥 5 min。之后将垫料按实际使用量铺放在笼具里，将动物笼具 6 盒一摞放在高压专用的布袋内送入压力容器进行再次高压，121℃ 6 min，抽真空 1 次，干燥 3 min（见表 1）。

1.3 实验方法

将待灭菌动物垫料或动物笼具装入高压灭菌器中，物品中心放入压力蒸汽灭菌化学指示卡和生物指示剂，按操作规范放置于压力蒸汽灭菌器内，并留有空隙[7]。根据各自灭菌参数要求，进行压力蒸汽灭菌处理。

1.4 结果判定

高压灭菌后，首先观察并且记录化学指示卡的变色程度是否均匀；其次将灭菌的生物指示剂与未灭菌的同批号对照管，压碎内管放入培养箱经 56℃培养 48 h，观察结果。结果判定，要求化学指示剂色块变色符合标准色，其变色程度均匀；生物指示剂培养后无菌生长，且对照管生长正常，可判定灭菌通过。

2 结果

第一组两种物品分别使用设定好的操作程序，重复进行 3 次高压灭菌实验。每次灭菌后化学监测和生物监测全部通过。监测结果表明：化学指示卡变色符合标准色，其变色程度均匀，生物指示剂培养后无菌生长。但是商品化垫料组由于每个包装中装填过于密实导致干燥效果不佳，垫料比较潮湿。

第二组实验不分别高压垫料和笼具，而是将动物垫料按实际使用量铺放在笼具里，统一按 121℃ 6 min，抽真空 1 次，干燥 3 min 程序进行灭菌。结果显示化学指示卡变色均匀，但部分生物指示剂培养 48 h 后有菌生长。监测结果不合格，显示其并不能彻底达到灭菌效果。

第三组实验首先单独高压整包垫料，之后将垫料按实际使用量铺放在笼具里进行再次灭菌。最终所有结果全部合格。每次灭菌后化学监测和生物监测全部通过，且垫料干燥效果良好（见表 1）。

3 讨论

动物笼具和垫料的消毒灭菌是饲养合格实验动物的关键环节之一，同时也是保障屏障设施安全与正常运行的重要环节之一。从结果中看灭菌物品的数量、大小、以及包装方式都会影响到灭菌效果。第一组灭菌操作程序表明其灭菌条件可达到动物笼具和垫料灭菌要求，但是整包垫料的干燥效果较差，直接使用潮湿的垫料明显不符合动物福利的规定，另外后续储存自然晾干过程容易滋生细菌。第二组灭菌操作程序表明其灭菌条件表明不能全部达到灭菌效果，不能在实际应用中加以推广。第三组灭菌操作程序表明其灭菌条件可达到动物笼具和垫料灭菌要求，既首先将整包垫料先进行灭菌，之后将垫料铺放在笼具里进行再次灭菌。可以在实际工作中保证灭菌效果安全可靠。本次实验由于技术及其他原因只是对于高压灭菌的程序进行了初步的优化。对于后续的储存条件以及长时间储存后的检测，本次实验并未涉及。在实际

工作中以考虑,建议做到随用随灭,保证其使用 效果[8]。

表 1 化学指示卡与生物指示剂监测结果

Tab. 1 Results of monitoring using chemical indicator card and biological indicator

监测指标 Indexes	第 1 组 The first group	第 2 组 The second group	第 3 组 The third group
方法 Method	将垫料和动物笼具分别进行高压 The beddings and cages were sterilized separately	垫料按实际使用量铺放在笼具里直接进行高压 According to the actual use, beddings were directly put in the cages for autoclave sterilization	先将整包垫料进行灭菌,再按实际使用量铺放在笼具里进行二次高压 The whole package was autoclaved first ,and then divided into cages and sterilized again.
高压条件 Conditions	垫料:132 ℃灭菌 15 min,抽真空 3 次,干燥 5 min;动物笼具:121 ℃灭菌 6 min,干燥 3 min。 The sterilization condition of beddings was 132℃ for 15 min and drying for 5 min. The cages were sterilized at 121 ℃, 6 min, and then dried for 3 min.	121℃灭菌 6 min,干燥 3 min。 The sterilization condition was 121 ℃ 6 min	第 1 次高压:132 ℃灭菌 15 min,干燥 5 min;第二次高压:121 ℃灭菌 6 min,干燥 3 min。 The first sterilization condition was 132℃ 15 min, and then drying for 5 min. The second sterilization condition was 121℃ 6 min and drying 5 for min.
化学指示剂 Chemical indicator	变色均匀,测试合格 Evenly coloring, test qualified	变色均匀,测试合格 Evenly coloring, test qualified	变色均匀,测试合格 Evenly coloring, test qualified
生物指示剂 Biological indicator	合格 Qualified	部分生物指示剂培养 48 h 后有菌生长,结果判定不合格 After culture for 48 h, part of biological indicator bacteria had grown. The result was unqualified.	合格 Qualified
干燥效果 Drying effect	较差 Poor	良好 Good	良好 Good

参考文献:

[1] 《病原微生物实验室安全管理条例》. 中华人民共和国国务院令第 424 号,2004. 11. 12

[2] 李学勇,靳洪涛,刘欣. 实验动物屏障设施管理中的几个关键问题[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(1): 71 - 74.

[3] 张志,王晖. 啮齿类实验动物垫料的选择和消毒[J]. 动物科学与动物医学杂志, 2004, 12(21): 37.

[4] 蔡月花,刘军须,刘福英,等. 玉米秸作为大鼠垫料对其生长发育及繁殖性能的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2003, 13(5): 282 - 283.

[5] 刘福英,王春梅,刘军须,等. 5 种垫料物质的细胞毒性研究[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 13(6): 351 - 352.

[6] 蒋虹,乔红伟,张汉军,等. 动物生物安全实验室废料压力蒸汽灭菌可靠性[J]. 中国消毒学杂志, 2011, 28(1): 97 - 98.

[7] 果海青,尉效军,左风亭. 脉动真空压力灭菌器灭菌效能的评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2001, 11(3): 209.

[8] 恽时锋,朱虹. 在生命科学研究中影响动物实验结果的多因素分析[J]. 医学研究生学报, 2003, 16(5): 372.

〔修回日期〕2016 - 07 - 28