

【论著】

一种复方苯扎氯铵卫生湿巾的 杀菌效果和毒性观察

刁慧敏, 辛及娣, 吴纳新, 蔡 标

(安徽省医学科学研究院, 安徽合肥 230061)

摘要 目的 观察一种复方苯扎氯铵卫生湿巾的杀菌效果和毒性。**方法** 采用载体定量杀菌试验和动物毒性评价试验,对一种含100 mg/L苯扎氯铵与500 mg/L茶树精油卫生湿巾的杀菌效果及安全性进行实验室评价。**结果** 将实验指标菌直接污染在卫生湿巾片上作用10 min,对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀灭率依次为98.41%、99.23%和96.54%;作用20 min,对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌杀灭率均达到100%,对白色念珠菌杀灭率为99.32%。用该卫生湿巾擦拭物体表面和人体前臂皮肤,可以清除大肠埃希菌和白色念珠菌对数值均>3.0。该卫生湿巾对豚鼠皮肤无刺激性。**结论** 该卫生湿巾具有很好的杀菌效果,对豚鼠皮肤无刺激。

关键词 苯扎氯铵;卫生湿巾;杀菌效果;皮肤刺激性

中图分类号:R187.2

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)01-0018-03

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.01.007

The germicidal efficacy and toxicity of a kind of compound benzalkonium chloride wet tissue

DIAO Hui-min, XIN Ji-di, WU Na-xin, CAI Biao

(The Medical Science Institute of Anhui Province, Hefei Anhui 230061, China)

Abstract Objective To study the germicidal efficacy and toxicity of a kind of compound benzalkonium chloride wet tissue. **Methods** Carrier quantitative germicidal test, field simulation test, stability test and skin irritancy test were carried out to observe its germicidal efficacy and toxicity. **Results** The wet tissue impregnation solution was consisted of 100 mg/L benzalkonium chloride and 500 mg/L tea tree essential oil. All the experimental bacteria were directly contaminated on the wet tissue. The killing rates of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* was 98.41%, 99.23%, 96.54% respectively after 10 min, and the killing rates of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* was 100%, 100%, 99.32% respectively after 20 min. The average killing logarithm values of *Escherichia coli* and *Candida albicans* was >3.00, after wipe test on the contamination table and skin. The rate of skin irritancy test on guinea pigs skin was 0. **Conclusion** The compound benzalkonium chloride wet tissue has excellent germicidal efficacy, and is non-irritative to skin.

Key words benzalkonium chloride; wet tissue; germicidal efficacy; skin irritancy test

目前,依据《卫生湿巾卫生要求规定》^[1],在湿巾上浸渍消毒剂可制备具有杀菌效果的卫生湿巾。该产品作为卫生用品纳入市场监管。此类湿巾可以在产品说明书里描述其杀菌能力,被广泛用于医疗机构乃至居家日常物体表面清洁^[2]。目前市面上各类湿巾产品质量良莠不齐,存在诸如扩大杀菌作用范围、储存时间短等问题。本研究选用苯扎氯铵与某些中草药提取物组成复方季铵盐作为浸渍液,制作卫生湿巾并进行了实验室杀菌和动物皮肤

刺激性实验和模拟现场消毒实验。

1 材料与方法

1.1 材料

湿巾由无纺布浸渍复方苯扎氯铵液体制作而成,产成品为密封包装。该复方制剂含100 mg/L苯扎氯铵、500 mg/L茶树油精和500 mg/L洋甘菊提取液。试验菌为金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、大肠埃希菌(8099)和白色念珠菌(ATCC 10231),由安徽省艾浮地艾空气检测站提供。实验动物为体重250~300 g健康豚鼠,由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,合格证号为201713718。

1.2 方法

1.2.1 试验菌悬液与载体制备 将试验菌经过纯

[基金项目] 安徽省“十三五”医疗卫生重点专科建设项目“病原微生物实验室”(皖卫科教[2017]30号)

[作者简介] 刁慧敏(1981-),女,安徽合肥人,本科,助理研究员,从事微生物消毒学研究工作。

化培养,取单个典型菌落接种于营养琼脂培养基斜面(白色念珠菌接种于用沙堡琼脂培养基斜面),于 36 ℃ 培养 24 h。用 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)将斜面上培养物洗下,用 PBS 配成含菌量为 5×10^6 cfu/ml ~ 5×10^7 cfu/ml 试验菌悬液。从密封包装内取出卫生湿巾裁剪成大小为 2.0 cm × 3.0 cm 的样片,阳性对照样片为与湿巾相同不含抗菌成分的无纺布,灭菌备用。

1.2.2 中和剂鉴定试验^[3] 试验菌选金黄色葡萄球菌和白色念珠菌为代表,试验设平行 6 组,按载体定量中和剂鉴定实验程序进行。试验结果判定,以第 1 组无菌生长或有少量试验菌生长,第 2 组菌数较第 1 组多但较第 3、4、5 组少,第 3、4、5 组生长菌数的组间误差率不超过 15%,第 6 组无菌生长时,表明所选的中和剂及其浓度适宜。试验重复 3 次,每次试验结果应一致。

1.2.3 载体定量杀菌试验^[3] 将载体样片(含阳性对照组样片)分别平放于无菌平皿内,分别在每个样片上滴加 100 μl 试验菌悬液,均匀涂布,立即计时。作用至设定时间,用无菌镊将样片投入到装有 5 ml 中和剂的试管中,充分混匀中和作用 10 min。经充分振荡洗脱,取 0.5 ml 样液,用琼脂倾注法进行活菌计数。计算杀菌率,试验重复 3 次。

1.2.4 消毒模拟现场鉴定试验 选择常用木质台面和工作人员手前臂皮肤,分别进行物体表面和皮肤模拟现场杀菌试验。在物体表面和皮肤上标示出 5.0 cm × 5.0 cm 面积,然后取大肠埃希菌和白色念珠菌的菌悬液 100 μl 涂抹法污染在标示面上,待其晾干。用卫生湿巾在各个试验标示面上横竖往返 5 次擦拭。消毒后,用无菌棉拭沾湿采样液作涂抹法采样,将采样棉拭子头无菌剪入含 5 ml 中和剂试管中。经充分振荡洗脱后,取洗脱液进行活菌计数培养,计算杀灭对数值。每项试验连续重复 30 份,计算平均杀灭对数值。

1.3 杀菌稳定性试验

取密封包装的卫生湿巾,放置温度为 37 ℃(相对湿度大于 75%)恒温箱内 90 d,观察放置后的卫生湿巾有无颜色,气味变化和细菌生长等,再进行载体定量杀菌试验,计算杀菌率。评价标准:杀菌率 ≥ 90%,具有稳定的杀菌作用,产品有效期可定为 2 年。

1.4 皮肤刺激试验^[3]

选取皮肤完好的健康豚鼠 3 只,雄性 2 只和雌性 1 只。试验前 24 h 将豚鼠背部脊柱两侧的毛分别剪去约 3 cm × 3 cm,将湿巾样片贴在一侧脱毛区,再用一层无刺激的塑料膜覆盖后用胶布固定,右侧脱毛区作为空白对照。4 h 后揭开湿巾样片,用温水清洗去除残留物。每天敷贴一次,连续 14 d。

在每次敷贴后 24 h 观察左右两块皮肤局部的反应,并进行刺激反应评分。评价标准:皮肤刺激指数 < 0.5,刺激强度级别为无刺激性。

2 结果

2.1 中和剂鉴定试验结果

经 3 次重复试验结果表明,用含 20 g/L 吐温 80 + 3 g/L 卵磷脂的 0.03 mol/L 的 PBS 溶液作为中和剂,可有效中和该湿巾样片对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀灭作用,且该中和剂和中和产物对培养基和试验菌生长无影响(表 1)。

表 1 卫生湿巾中和剂鉴定试验结果

组序	平均回收菌数(cfu/ml)	
	金黄色葡萄球菌	白色念珠菌
1	0	0
2	230	160
3	37 500	43 700
4	41 200	40 300
5	38 600	39 200
6	0	0

2.2 载体浸泡定量杀菌试验结果

将试验指标菌直接污染在卫生湿巾片上作用 10 min,对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀灭率依次为 98.41%、99.23% 和 96.54%;作用 20 min,对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌杀灭率均达到 100%,对白色念珠菌杀灭率为 99.32%(表 2)。

表 2 卫生湿巾对不同微生物的杀灭效果

试验菌	阳性对照 平均回收菌数 (cfu/ml)	作用不同时间(min)的杀菌率(%)			
		2	5	10	20
大肠埃希菌	45 800	90.42	92.63	98.41	100.00
金黄色葡萄球菌	61 800	91.27	93.84	99.23	100.00
白色念珠菌	38 400	90.13	92.16	96.54	99.32

2.3 模拟现场消毒试验结果

该卫生湿巾擦拭物体表面和人体前臂皮肤,可以清除大肠埃希菌和白色念珠菌对数值均 > 3.0(表 3)。

表 3 卫生湿巾对物体表面的模拟消毒效果

试验菌	阳性对照平均 回收菌数(cfu/ml)	平均杀灭对数值	
		桌面	皮肤
大肠埃希菌	873 000	3.65	3.48
白色念珠菌	625 000	3.24	3.37

2.4 稳定性试验结果

将该卫生湿巾密封包装置于温度为 37 ℃ 恒温箱存放 3 个月,外观检查未发现该卫生湿巾有不良气味、其他外观色泽和湿润度与放置前基本没有变化。载体定量杀

菌试验证明,该卫生湿巾对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌杀灭率与保存前基本一致(表4)。

表4 卫生湿巾保存稳定性实验结果

试验菌	阳性对照平均回收菌数 (cfu/ml)	作用不同时间(min)的杀菌率(%)			
		2	5	10	20
大肠埃希菌	51 200	90.24	91.82	99.07	100.00
金黄色葡萄球菌	48 300	90.83	92.56	99.47	100.00
白色念珠菌	39 600	90.32	93.18	95.37	98.72

2.5 多次皮肤刺激试验结果

用该卫生湿巾与豚鼠的多次接触试验后,未见皮肤红斑和水肿形成,对动物的皮肤刺激反应平均指数为0。结果提示,该卫生湿巾对豚鼠皮肤无刺激性。

3 讨论

苯扎氯铵为阳离子表面活性剂,系广谱杀菌剂,能改变细胞浆膜通透性,使菌体胞浆物质外渗,阻碍其代谢而起杀灭作用,因此在卫生湿巾制作中多数使用季铵盐类消毒剂^[4-6]。茶树精油和洋甘菊提取物都是近年发展较快,以及日用品中应用较多的天然植物成分,其广谱抗菌抗炎的生物活性已经被诸多科学研究所证实,可用于治疗各种皮肤感染,也可直接用于处理各种开放性伤口^[7]。该湿巾主要有效成分为苯扎氯铵、茶树精油和洋甘菊提取物,可以联合作用起到杀菌及保护修护皮肤的作用^[8,9]。试验结果表明,该卫生湿巾对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌分别作用2 min以上的杀菌率均>90%,对

皮肤无刺激。在模拟现场消毒试验中的物体表面和皮肤表面对大肠埃希菌和白色念珠菌的杀灭对数值均>3.00,说明在擦拭各种物体时均能起到杀菌效果。稳定性试验也证明该卫生湿巾保存性能稳定。试验结果提示,复方苯扎氯铵卫生湿巾可以有效的杀灭细菌及真菌,稳定性好,对皮肤无刺激,方便携带,在日常生活和外出旅游时可以随时进行手部皮肤、桌面、碗筷餐具以及卫生洁具等的擦拭消毒。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 卫生湿巾卫生要求:WS 575-2017[S]. 2017.
- [2] 杨玉喜. 湿巾市场发展状况[J]. 日用化学品科学, 2013, 36(5):10-13.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- [4] 赵国玉,艾山江·哈得尔,杨丽,等. 消毒湿巾对马耳他布鲁菌杀灭效果的实验研究[J]. 中国消毒学杂志, 2018, 34(2):146-147.
- [5] 张廷轩,孙丽静,刘晓鹏. 一次性消毒湿巾与传统消毒方法对物体表面消毒效果的对比[J]. 中国消毒学杂志, 2017, 33(2):279-281.
- [6] 贾巍,傅虹,艾山江·哈得尔,等. 复合双链季铵盐消毒湿巾对B超探头的消毒效果研究[J]. 中国消毒学杂志, 2015, 31(2):950-951.
- [7] 栾爽,韩春晖,窦佳,等. 我国与国外药典中苯扎氯铵的质量控制标准及相关方法比较[J]. 中国药房, 2017, 28(6):831-834.
- [8] 黄德浩,吴伟超,吴国兴,等. 茶树精油抗炎抗菌功效的研究现状[J]. 今日药学, 2018, 28(3):211-215.
- [9] 袁艺,龙子江,杨俊杰. 洋甘菊挥发油抗炎作用的研究[J]. 药物生物技术, 2011, 18(1):52-55.

(收稿日期:2018-06-05)

(上接第17页)

结果显示,紫外线和汽化过氧化氢发生器按照正常的操作程序对实验室空气进行消毒都能达到良好的消毒效果,细菌消亡率均超过95%,汽化过氧化氢发生器的消毒效果更好,但差异无统计学意义。分别在消毒后正常工作的1 h、2 h、3 h对实验室空气进行采样,与消毒前进行对比,发现通过汽化过氧化氢发生器消毒后的实验室正常工作的1 h、2 h、3 h空气落下菌菌数量均远远小于消毒前,而通过紫外线消毒的实验室正常工作3 h,空气落下菌已经达到了消毒前的水平,由此说明汽化过氧化氢发生器对实验室空气消毒的持续效果优于紫外线。

汽化过氧化氢发生器是一种新型实验室消毒方法,其原理是通过汽化食品级过氧化氢达到对实验室进行消毒的目的,食品级过氧化氢几乎没有任何污染,对工作人员无毒无害,对实验室工作台消毒彻底、不留死角,对实验室工作台及实验仪器等不会造成损伤,同时汽化过氧化氢发生器能实现消毒过程

程序控制、操作简便、过氧化氢用量少^[6],使用过氧化氢发生器对实验室进行消毒时应尽量保持实验室的密闭,从而使消毒效果更好。

参考文献

- [1] 卢瞧. 评价紫外线、三氧消毒机、循环空气消毒机对门诊采血室的消毒效果[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(3):240-242.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- [3] 吕岫华,刘伟,刘巧丽,等. 病原微生物实验室生物安全[J]. 实验室研究与探索, 2012, 31(10):189-192.
- [4] 张弘,王丽,张双宅,等. 病原微生物实验室生物安全问题及建设发展现状[J]. 医学动物防制, 2014, 30(9):1062-1063.
- [5] 何玉芳,周晓红,胡薇薇,等. 二级生物安全实验室五常法管理模式探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(10):2504-2505.
- [6] 郭震. 病原微生物实验室几种常用空气消毒方法的研究[J]. 现代医药卫生, 2010, 26(10):1596-1597.
- [7] 帖金凤,王长德,陈金龙,等. 过氧化氢蒸汽对生物安全实验室灭菌效果观察[J]. 中国消毒学杂志, 2012, 29(6):463-465.

(收稿日期:2018-06-05)