

【论著】

邻苯二甲醛与苯扎溴铵协同杀菌作用研究

董小峰, 蒋丽娟, 张晓玲, 雷毅

(陕西省疾病预防控制中心, 陕西西安 710054)

摘要 目的 观察邻苯二甲醛与苯扎溴铵协同杀菌作用,以提高邻苯二甲醛杀灭效果。**方法** 采用悬液定量杀菌试验方法,对邻苯二甲醛与苯扎溴铵协同杀菌效果进行观察。**结果** 浓度为5 000 mg/L邻苯二甲醛单方消毒液作用2 min,对悬液内金黄色葡萄球菌的杀灭对数值可达5.0以上;作用120 min,对枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭对数值为2.25。用5 000 mg/L邻苯二甲醛与3 500 mg/L苯扎溴铵复配的消毒液作用20 min,对悬液内枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭对数值可达5.0以上。**结论** 苯扎溴铵协同可明显提高邻苯二甲醛的杀菌效果。

关键词 邻苯二甲醛;苯扎溴铵;协同作用;杀菌效果

中图分类号:R187.1

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)04-0244-03

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.04.002

Study on the synergistic bactericidal effect of orthophthalaldehyde and benzalkonium bromide

DONG Xiao-feng, JIANG Li-juan, ZHANG Xiao-ling, LEI Yi

(Shaanxi Provincial Center for Disease Prevention and Control, Xi'an Shaanxi 710054, China)

Abstract Objective To observe the synergistic bactericidal effect of orthophthalaldehyde and benzalkonium bromide, in order to improve the germicidal ability of orthophthalaldehyde. **Method** Suspension quantitative germicidal test was used to observe the synergistic germicidal efficacy of orthophthalaldehyde and benzalkonium bromide. **Results** When the concentration of orthophthalaldehyde was 5 000 mg/L for 2 minutes, the killing logarithm value of *Staphylococcus aureus* in suspension was more than 5.0, the killing log value of *Bacillus subtilis var. niger* spores was 2.25 for 120 minutes. The killing log value of *Bacillus subtilis var. niger* spores in suspension was above 5.0 when 5 000 mg/L orthophthalaldehyde was mixed with and 3 500 mg/L benzalkonium bromide for 20 minutes. **Conclusion** The synergistic effect of benzalkonium bromide can obviously improve the bactericidal efficacy of orthophthalaldehyde.

Key words orthophthalaldehyde; benzalkonium bromide; synergistic effect; germicidal efficacy

邻苯二甲醛是一种高效醛类消毒剂,腐蚀性低,刺激性小,适用于多种医疗器械的高效消毒,现已在消化内镜消毒中获得广泛应用。邻苯二甲醛作为单方消毒剂,其对细菌芽孢杀灭速度较慢,很难满足内镜高效消毒的要求。为提高邻苯二甲醛的杀菌效果,本研究以低效消毒剂苯扎溴铵作为增效成分与邻苯二甲醛复配,并在试验室对复配邻苯二甲醛消毒液杀菌效果进行了观察,同时与单方邻苯二甲醛消毒液作平行比较。现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用邻苯二甲醛消毒液有效含量为5 000 mg/L,原液无色透明,pH值为5.5;苯扎溴铵为国内市售品。在邻苯二甲醛消毒液内加入浓度为3 500 mg/L苯扎溴铵,组成复配消毒液,pH值为9.3。

试验菌种为金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)和枯草杆菌黑色变种(ATCC 9372)芽孢,由中国菌种保藏中心提供;培养细菌用试剂和培养基等均为国内市售品。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液制备 取金黄色葡萄球菌分纯的单个典型菌落接种普通营养琼脂培养基斜面,培养后

[作者简介] 董小峰(1974-),男,陕西西安人,硕士,副主任医师,从事消毒剂、消毒器械实验室鉴定及医院院内感染控制工作。

制备菌悬液,含菌量约 5×10^8 cfu/ml。枯草杆菌黑色变种细菌依据 2002 年版《消毒技术规范》^[1] 规定的操作方法和条件,培养制备细菌芽孢,试验用芽孢悬液含菌量约 5×10^8 cfu/ml,备用。试验时,将菌悬液与有机干扰物(30 g/L 小牛血清白蛋白)以 1 : 1 体积混合。

1.2.2 中和剂鉴定试验 试验在 20 ℃ 水域条件下进行,将菌悬液与消毒液以及中和剂均恒温,依据 2002 年版《消毒技术规范》^[1] 规定的悬液定量试验程序进行中和剂鉴定试验。设计 6 组试验。结果判定,第 1 组不长菌或仅有极少数试验菌,第 2 组有较第 1 组为多,第 3、4、5 组长菌数接近,且组间菌落数误差率 $\leq 15\%$,第 6 组不长菌。试验重复 3 次结果一致,提示所选中和剂及其使用浓度适宜。

1.2.3 细菌定量杀灭试验 ①试验分组:设计 2 组试验,邻苯二甲醛单方组和邻苯二甲醛与苯扎溴铵复配组,两组进行平行杀菌试验。②操作步骤:采用悬液定量杀菌试验方法,在 20 ℃ 水域条件下进行试验,首先对消毒液与菌悬液进行恒温。在无菌试管内加入菌悬液 0.5 ml 与 30 g/L 小牛血清白蛋白溶液 0.5 ml,再加入消毒液 4.0 ml(阳性对照用 TPS 替代消毒液),摇匀并计时。待作用至规定的时间,取 0.5 ml 菌药混合液加入到装有 4.5 ml 中和剂的试管内,混合均匀。中和作用 10 min,取样液做活菌计数培养,计算杀灭对数值。各组试验均重复 3 次。

2 结果

2.1 中和剂鉴定试验

经 3 次重复试验结果表明,含 10 g/L 甘氨酸的磷酸盐缓冲液(PBS)可以有效中和 5 000 mg/L 邻苯二甲醛单方消毒液残留作用,中和剂本身及其产物对培养基和试验菌均无不良影响(表 1)。

表 1 邻苯二甲醛单方消毒液中中和剂鉴定试验结果

组序	各组平均回收菌落数(cfu/ml)	
	金黄色葡萄球菌	枯草杆菌黑色变种芽孢
1	0	66 000
2	1 770	13 00 000
3	13 300 000	21 100 000
4	12 900 000	20 700 000
5	14 400 000	19 800 000
6	0	0

结果表明,用含 30 g/L 吐温 80 + 20 g/L 卵磷脂 + 10 g/L 甘氨酸组成的 PBS 可有效中和邻苯二甲醛与苯扎溴铵组成的复配消毒液对试验菌的残留作用,中和剂本身及其产物对培养基和试验菌均无不

良影响(表 2)。

表 2 复配邻苯二甲醛消毒液中中和剂鉴定试验结果

组序	各组平均回收菌落数(cfu/ml)	
	金黄色葡萄球菌	枯草杆菌黑色变种芽孢
1	0	0
2	113	802
3	20 400 000	18 900 000
4	20 200 000	180 000 00
5	18 900 000	17 400 000
6	0	0

2.2 杀菌试验结果

2.2.1 金黄色葡萄球菌杀灭效果 用 5 000 mg/L 邻苯二甲醛单方消毒液作用 2 min,对悬液内金黄色葡萄球菌杀灭对数值 > 5.0 ;用 10 倍稀释的复配邻苯二甲醛消毒液作用 1 min,对悬液内金黄色葡萄球菌杀灭对数值 > 5.0 (表 3)。

表 3 两种消毒液对金黄色葡萄球菌杀灭效果

消毒液类别	作用不同时间(min)的 杀灭对数值			阳性对照菌数 对数值
	1	2	3	
OPA 单方原液	3.89	> 5.00	7.23	7.23
OPA 复配 10 倍稀释	> 5.00	7.21	7.21	7.21

2.2.2 枯草杆菌黑色变种芽孢杀灭效果 用 5 000 mg/L 邻苯二甲醛单方消毒液对悬液内枯草杆菌黑色变种芽孢作用 120 min,杀灭对数值为 2.25;用 5 000 mg/L 邻苯二甲醛于 3 500 mg/L 苯扎溴铵复配消毒液作用 20 min,对悬液内枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭对数值可达 5.0 以上(表 4)。

表 4 两种消毒液对枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭效果

消毒液类别	作用不同时间(min)的 杀灭对数值			阳性对照菌数 对数值
	60	90	120	
邻苯二甲醛单方原液	0.21	1.13	2.25	7.25
邻苯二甲醛复配原液	4.37	> 5.00	7.25	7.25

3 讨论

邻苯二甲醛能够杀灭包括细菌芽孢在内的多种微生物,对金属的腐蚀性较低,所以多应用于医疗器械的浸泡消毒,以内镜高效消毒使用最多。邻苯二甲醛的消毒杀菌机理:邻苯二甲醛的醛基与蛋白质、氨基酸集团之间的交联作用;邻苯二甲醛的脂溶性特征使它很容易通过细胞膜进入菌体。

(下转第 249 页)

90% 时,作用后的病毒颗粒结构均遭到严重破坏,基本见不到完整的病毒颗粒。本研究所观察到的变化与国外研究报道的采用透射电镜研究消毒剂作用机理观察到的变化类似^[15]。

本研究中,透射电镜观察到的结果与病毒灭活试验结果起到了相互佐证的作用,因为病毒超微结构变化程度与乙醇浓度的提高和病毒灭活对数值呈现一致的渐进性变化。本研究不足之处在于透射电镜观察指标没有很好的量化标准,这将有待于进一步探索,以便更客观地做出研究结论。

参 考 文 献

- [1] 吕素玲. 食品及水样中诺如病毒富集方法的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(10):1518-1520.
- [2] 徐燕,王玲,周品众,等. 部分理化因子对肠道病毒灭活效果的研究[J]. 中国消毒学杂志,2008,25(6):587-589.
- [3] Kampf,Günter. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection[J]. J Hosp Infect,2018,98(4):331-338.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- [5] 刘波,刘红旗. 人诺如病毒最新研究进展[J]. 中国医药导报,2017,14(12):60-64.
- [6] 宋敬东,屈建国,鲁茁壮,等. 提高负染法透射电镜检测病毒灵敏度的制样方法及应用[J]. 病毒学报,2010,26(5):410-413.
- [7] World Health Organization. Essential Medicine. 19th WHO model list of essential medicine. Geneva:World Health Organization,2015.
- [8] Shaban-Nejad A, Mamiya H, Riazanov A, et al. From Cues to Nudge: A Knowledge-Based Framework for Surveillance of Healthcare-Associated Infections[J]. J Med Sys,2016,40(1):1-12.

- [9] Moura,ML, Fenley JC, Baraldi, MM, et al. Translational research in hand hygiene compliance[J]. Current Treatment Options Infect Dis,2015,7(1):14-27.
- [10] 陈昭斌,张朝武. 脊髓灰质炎病毒在消毒学研究与评价中的应用[J]. 现代预防医学,2008,35(4):614-616.
- [11] 陈昭斌. 消毒学检验[M]. 四川成都:四川大学出版社,2017. 157-158.
- [12] Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, et al. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids[J]. Science, 2016,353(6306):1387-1393.
- [13] 赖建辉,周建明,李静媚,等. 三种流感病毒检测方法的比较[J]. 中国热带医学,2014,14(12):1510-1512.
- [14] Broadhurst MJ, Brooks TJ, Pollock NR. Diagnosis of Ebola Virus Disease: Past, Present, and Future. [J]. Clin Microbiol Revi, 2016,29(4):773-793.
- [15] Kampf G, Ostermeyer C, Werner HP, et al. Efficacy of hand rubs with a low alcohol concentration listed as effective by a national hospital hygiene society in Europe[J]. Antimicrob Resist Infect Control,2013,2(1):19.
- [16] Kampf,Günter. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection[J]. J Hosp Infect,2018,98(4):331-338.
- [17] Standards S. DIN EN 14476 Chemical disinfectants and antiseptics - virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine - test method and requirements (phase 2, Step 1) [S]. 2006.
- [18] Park GW, Collins N, Barclay L, et al. Strain-Specific Virolysis Patterns of Human Noroviruses in Response to Alcohols[J]. PLoS One,2016,11(6):e0157787.
- [19] 陈倩,陈雯杰. 二溴海因对 MS2 噬菌体和脊髓灰质炎病毒型疫苗株杀灭效果研究[J]. 中国消毒学杂志,2018,35(3):161-164.

(收稿日期:2019-01-03)

(上接第 245 页)

近年来,关于邻苯二甲醛的消毒效果报道很多,但结果却有差异。有学者报道,2 800 mg/L 邻苯二甲醛作用 2.5 min,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的杀灭对数值均 >5;5 600 mg/L 邻苯二甲醛作用 5 min,对消化内镜模拟管腔内铜绿假单胞菌的杀灭对数值 >5^[2]。张天宝等对市售 4 种邻苯二甲醛进行细菌芽孢杀灭试验,其中有 3 种作用 300 min,杀灭对数值仍然达不到高效消毒要求^[3]。

本研究中,5 000 mg/L 邻苯二甲醛对金黄色葡萄球菌作用 2 min,杀灭对数值 >5,与 3 500 mg/L 苯扎溴铵复配后,10 倍稀释液作用 1 min 也可使杀灭对数值 >5,二者都有良好协同杀菌效果;但浓度为 5 000 mg/L 单方邻苯二甲醛作用 120 min,对枯草杆菌黑色变种芽孢杀灭对数值仅为 2.25,当其与 3 500 mg/L 苯扎溴铵复配后,作用 20 min 对枯草杆菌黑色变种芽孢杀灭对数值 >5。结果提示,苯扎溴铵复配可以明显提高邻苯二甲醛的杀芽孢效果,国内已有类似的研究报道^[4]。

苯扎溴铵为季铵盐类化合物,是阳离子表面活性剂,属低效消毒剂,其增强邻苯二甲醛杀菌作用的原理可能是:苯扎溴铵附着在菌体表面,改变细胞壁、膜的通透性,并改变细胞的渗透压。它使邻苯二甲醛更易于进入细胞内并作用于细胞内容物,导致变性和破坏,从而增强邻苯二甲醛的杀菌活性。研究还表明,邻苯二甲醛与复配液不同的 pH 值也可能是杀菌效果不同的原因之一。另外,复配液的稳定性、金属腐蚀性和毒理学特性尚需进一步观察。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- [2] 王玲,徐燕,张伟,等. 邻苯二甲醛对消化内镜模拟现场消毒效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2017,34(1):9-11.
- [3] 张天宝,肖远志,王延辉,等. 复方戊二醛与邻苯二甲醛消毒剂对细菌芽孢杀灭效果的研究[J]. 中国消毒学杂志,2016,33(4):301-304.
- [4] 林立旺,许能锋,陈菁,等. 复方邻苯二甲醛的研制及消毒性能观察[J]. 中国消毒学杂志,2007,24(1):21-25.

(收稿日期:2018-11-06)