

【论 著】

一种复方双链季铵盐消毒剂 消毒效果和毒性观察

蔡 标,戴陈伟,王 超,陈 童,刁慧敏,辛及娣,江杨帆,李 舜

(安徽省医学科学研究院,安徽合肥 230061)

摘要 目的 观察由 150 mg/L 双癸基二甲基氯化铵与金银花提取物复配的复方双链季铵盐消毒剂消毒效果、稳定性及其毒性,为实际使用提供试验依据。**方法** 采用悬液定量杀菌试验、手消毒现场试验和动物毒性实验,对该消毒剂的消毒性能和安全性进行评估。**结果** 该消毒剂作用 3 min 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的杀灭对数值均 >5.0,作用 3 min 对白色念珠菌杀灭对数值 >4.0,杀菌效果可维持 24 个月;对 30 人次受试者擦拭消毒 1 min 后,手表面自然菌的平均杀灭对数值 >1.0;对豚鼠完整皮肤无刺激,对小鼠毒性为实际无毒级。**结论** 该消毒剂用于人体手部皮肤的消毒安全有效。

关键词 双链季铵盐;消毒剂;消毒;安全性评价

中图分类号:R187.1

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)03-0161-03

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.03.001

Study on disinfection efficacy and toxicity of a compound double-chain quaternary ammonium salt disinfectant

CAI Biao, DAI Chen-wei, WANG Chao, CHEN Tong, DIAO Hui-min, XIN Ji-di, JIANG Yang-fan, LI Shun

(Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei Anhui 230061, China)

Abstract Objective To observe the disinfection efficacy, stability and toxicity of a compound double chain quaternary ammonium salt disinfectant composed of 150 mg/l didecyl dimethylammonium chloride and flos lonicerae extract to provide the basis for the actual use. **Methods** Neutralizer suspension quantitative identification test, suspension quantitative germicidal test, hand disinfection onsite trail and animal test were carried out to evaluate the disinfection efficacy and safety. **Results** The killing logarithm values of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* exposed to this disinfectant solution for 3 min respectively were all above 5.00. The killing logarithm value of *Candida albicans* was above 4.0. The bactericidal effect could be maintained for 24 months. Double chain quaternary ammonium salt was used for 30 people's hand surface for 1 min, and the killing logarithm values of the natural bacteria on the surface of the hands were more than 1.0. The disinfectant solution was non-irritating to the intact skin of guinea pigs, and the toxicity to mice was an actual non-toxic level. **Conclusion** The disinfectant can be safely and effectively used for disinfecting the skin of human hands.

Key words double-chain quaternary ammonium salt; disinfectant; disinfection; security evaluation

消毒剂按照对微生物的杀灭能力分为高效消毒剂、中效消毒剂和低效消毒剂^[1]。为了获得消毒效果更好、安全级别更高的消毒剂,目前复方消毒剂的

研发已成应用研究热点。双癸基二甲基氯化铵^[2,3]是目前使用较多的消毒剂之一,其杀菌谱较广,但对皮肤有轻微的刺激。有研究表明,将中药如金银花^[4-6]等与之进行复配,可减少消毒剂对皮肤的刺激作用。本试验通过观察一种以双癸基二甲基氯化铵与金银花提取物为主要原料的复配消毒剂的消毒效果、稳定性及安全性,为该复配消毒剂的现场应用提供实验依据。

〔基金项目〕 安徽省“十三五”医疗卫生重点专科建设项目(皖卫科教[2017]30号);2018年安徽省卫生计生委科研计划项目(2018YK005)

〔作者简介〕 蔡标(1981-),男,安徽亳州人,硕士,副研究员,从事微生物及流行病学研究工作。

1 材料与方法

1.1 材料

受试消毒剂为以金银花提取物和双癸基二甲基氯化铵为主要成分的无色澄清透明液体,其中金银花提取物含量为 50 mg/L,双癸基二甲基氯化铵含量为 150 mg/L。该消毒剂溶液的 pH 值为 3.9。试验菌株为大肠杆菌(ATCC 8099)、金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、白色念珠菌(ATCC 10231)和铜绿假单胞菌(ATCC 15442),均由国内某公司提供。中和剂为含 3 g/L 卵磷脂、20 g/L 吐温-80 和 50 ml/L 小牛血清的 PBS 溶液,试验前按 2002 年版《消毒技术规范》^[1]要求鉴定合格后备用。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液制备 分别取大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌纯培养的典型菌落接种普通营养琼脂培养基斜面。将白色念珠菌接种于沙堡琼脂培养基斜面。4 种培养基均于 37 ℃ 培养 24 h。用胰蛋白胨生理盐水(TPS)洗脱斜面培养物,稀释为细菌量为 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ cfu/ml(白色念珠菌为 $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$ cfu/ml)的悬液备用。

1.2.2 消毒效果检测 悬液定量杀菌试验采用试管内悬液定量杀菌试验法^[1]。手消毒现场试验按 2002 年版《消毒技术规范》^[1]的要求,以 2 ml/(次·手)用量对受试人员右手进行擦拭消毒共 30 人次,擦拭后作用时间为 1 min。以未经擦拭处理的左手为对照。根据擦拭后表面自然菌减少的对数值判定现场消毒效果。采用加速试验法进行消毒剂杀菌效果稳定性试验。将消毒剂在 37 ℃、相对湿度 75% 环境中保存 9 d 后,同前测试其试管内定量杀菌效果。

1.2.3 消毒剂安全性评价 ①多次皮肤刺激试验:选取皮肤完好的 2 只雄性和 1 只雌性健康豚鼠进行试验。豚鼠由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,合格证号 201819588,体重 250 g~300 g。试验前 24 h 用脱毛剂将豚鼠背部脊柱两侧面积为

3 cm×3 cm 的毛剃去,暴露完整皮肤。将消毒液滴在同样大小的 2 层纱布上,并敷贴在左侧皮肤表面,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。敷贴 4 h 后用温水清洗去除残留受试物。每天给药 1 次,连续给药 14 d。每次给药后 24 h 观察左右两块皮肤局部的反应,并进行刺激反应评分。②急性经口毒性试验 选取 20 只 SPF 级 ICR 小鼠,其中雌性 10 只、雄性 10 只,体重 18 g~22 g,由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,合格证号 201819601。试验前对小鼠进行隔夜禁食,不限饮水,小鼠称重后按照最大容量 0.2 ml/(10 g·bw)灌胃受试物,连续观察 14 d。记录动物的中毒表现、死亡数及死亡时间。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析,组间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 悬液定量杀菌试验结果

3 次重复试验结果表明,该消毒液作用 3 min,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的平均杀灭对数值均 > 5.0 ;对白色念珠菌作用 3 min,平均杀灭对数值均 > 4.0 。消毒剂经 37 ℃ 存放 90 d 后,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌及白色念珠菌的杀灭作用,与存放前相比对数值差异无统计学意义($P > 0.05$),表明该消毒剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌及白色念珠菌杀灭效果稳定,并且消毒作用可持续 24 个月,详见表 1。

2.2 消毒剂对手消毒现场试验结果

取该消毒液原液 2 ml 对受试者手部擦拭后 1 min,对 30 人次手表面自然菌的杀灭对数值为 1.18~1.51,平均灭除对数值为 1.35;处理后手表面的残留菌数为 0~1 cfu/cm²。

表 1 悬液定量杀菌试验结果

细菌名称	消毒剂存放时间(d)	作用不同时间(min)的杀灭对数值			对照组平均杀灭对数值	F 值	P 值
		1.5	3.0	4.5			
金黄色葡萄球菌	0	6.56(5.94~7.51)	7.53(7.51~7.54)	7.53(7.51~7.54)	7.53	0.506	0.767
	90	7.39(7.34~7.44)	7.39(7.38~7.44)	7.39(7.38~7.44)	7.39		
大肠杆菌	0	7.10(6.40~7.48)	7.44(7.40~7.48)	7.44(7.40~7.48)	7.44	1.192	0.369
	90	7.36(7.30~7.41)	7.36(7.30~7.41)	7.36(7.30~7.41)	7.36		
铜绿假单胞菌	0	7.24(7.18~7.28)	7.24(7.18~7.28)	7.24(7.18~7.28)	7.24	2.024	0.147
	90	7.06(6.27~7.46)	7.39(7.27~7.46)	7.39(7.27~7.46)	7.39		
白色念珠菌	0	5.94(4.92~6.48)	6.43(6.40~6.48)	6.43(6.40~6.48)	6.43	1.032	0.442
	90	6.29(6.20~6.36)	6.29(6.20~6.36)	6.29(6.20~6.36)	6.29		

注:消毒作用后残留菌 < 10 cfu/ml 时,试验组的杀灭对数值与阳性对照一致。

2.3 安全性评价结果

对 3 只豚鼠进行多次皮肤刺激试验均未出现皮肤红斑和水肿现象,判断该消毒液对豚鼠的皮肤刺激反应平均指数为 0,该消毒液对皮肤无刺激性反应。急性经口毒性试验结果表明,按照 0.2 ml/10 g 体重剂量灌胃对 20 只小鼠进行给药,观察 14 d,受试小鼠无死亡;处死小鼠后对进行尸体解剖,并对组织器官进行观察,结果也均未见异常表现,表明该消毒剂属实际无毒。

3 讨论

双癸基二甲基氯化铵是双长链季铵盐的一种,为性质稳定的阳离子表面活性剂^[7],其含有的疏水基渗透到细菌的细胞类脂层,使得细菌的细胞壁和细胞膜的通透性发生改变,导致细菌的蛋白质或者酶发生变性,从而抑制细菌的细胞代谢过程,达到杀灭微生物的目的^[8]。

金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬及同属多种植物的干燥花蕾,别称忍冬^[9]。其提取物的化学成分复杂,其主要化学成分有绿原酸、异绿原酸、自果酸、咖啡酸和本犀草素等,其中绿原酸的羟基结构可以与自由基结合,具有超强的抗氧化作用,从而达到抗菌消炎作用^[10]。近年来有许多研究发现,金银花或金银花提取物绿原酸对肺炎链球菌、铜绿假单胞菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、无乳及化脓链球菌、大肠埃希菌和痢疾志贺菌等多种致病菌均有抑制作用,且对致病变形链球菌及放线粘杆菌等表现出较高的抗菌活性,对枯草杆菌和黑曲霉也有较好的抑制作用^[11-14]。

中药金银花具有抗菌消炎作用,其提取物无刺激性气味^[15-17]。本研究所用消毒剂由金银花提取物与双癸基二甲基氯化铵复配而成,悬液定量杀灭试验及稳定性试验结果显示该消毒液作用 3 min,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的平均杀灭对数值均 > 5.0;对白色念珠菌平均杀灭对数值均 > 4.0,表明该消毒剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌具有较好的杀灭效果,其杀菌效果的有效性可达 24 个月。消毒剂对手消毒现场试验、皮肤刺激试验和经口毒性测试结果显示,该消毒剂属实际无毒类,且对皮肤无刺激性,适用于手的消毒处理使用。

目前消毒剂更多的被用于试验台、手术室、生物

安全柜等物体表面的消毒,这些物体表面不仅存在细菌繁殖体和真菌,也有可能存在病毒以及一般消毒剂不能杀灭的芽孢,另外对物体表面进行消毒时不仅要求消毒剂能够有效地杀灭物体表面的微生物,并且需要持久的抑制微生物生长,从而达到较好的消毒效果。因此,该消毒剂对于病毒、芽孢的杀灭效果以及对微生物生长的持久抑制作用还有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.

[2] 詹先萍,邓招,周静. 复合季铵盐手消毒液术前手消毒应用效果观察[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(18):4456-4457,4460.

[3] 冯秀丽,许庆华,赵晓云,等. 金银花及其复方的体外抑菌活性与体内抗炎作用[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(1):35-39,62.

[4] 赵良忠,段林东,余有贵,等. 金银花抗菌物质的提取及其抑菌作用的研究[J]. 邵阳高等专科学校学报,2001,14(3):204-209.

[5] 顾丽娟. 复合季铵盐新型手部消毒剂使用效果[J]. 现代医药卫生,2016,32(4):629-631.

[6] 宋小锋,原增艳,许平辉. 金银花活性成分提取及其抗氧化和抑菌功效研究[J]. 日用化学工业,2012,42(2):123-125.

[7] 杨华明,易滨. 现代医院消毒学[M]. 北京:人民军医出版社,2002:144.

[8] 薛文青. 季铵盐类阳离子表面活性消毒剂研究进展[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(8):79-81.

[9] 贺志光. 中医学[M]. 北京:人民卫生出版社,1983:147.

[10] 林启寿. 中草药成分化学[M]. 北京:科学出版社,1977.

[11] 管仲莹,赵金明,林巧智. 金银花提取物抑菌作用的实验研究[J]. 中国现代医生,2009,47(15):150-151,153.

[12] 赵良忠,蒋贤育,段林东,等. 金银花水溶性抗菌物质的提取及其抑菌效果研究[J]. 中国生物制品学杂志,2006,19(2):201-203.

[13] 屈景年,莫运春,刘梦琴,等. 金银花中绿原酸一步提取法及绿原酸抗菌活性[J]. 化学世界,2005,46(3):167-169.

[14] 张红锋,白艳军,蓝宇淑,等. 中药金银花提取物的体外抑菌作用[J]. 华东师范大学学报:自然科学版,2000(1):107-110.

[15] 赵良忠,蒋贤育,段林东,等. 金银花水溶性抗菌物质的提取及其抑菌效果研究[J]. 中国生物制品学杂志,2006,19(2):201-203.

[16] 谢新芳,刘潭,冯格,等. 金银花叶提取物对奇异变形杆菌抑菌作用的研究[J]. 宜春学院学报,2017,39(12):21-24.

[17] 胡璇,李卫东,贾翎,等. 四倍体金银花药材体外抗菌抗病毒实验研究[J]. 中国现代中药,2015,17(11):1160-1163,1170.

(收稿日期:2018-09-28)