

【论 著】

一种三氯羟基二苯醚抗菌洗手液的消毒效果及毒性研究

蔡 标,戴陈伟,辛及娣,刁慧敏,陈 童
(安徽省医学科学研究院,安徽合肥 230061)

摘要 **目的** 观察一种以三氯羟基二苯醚为主要成分的抗菌洗手液的消毒效果及其毒性。**方法** 采用载体定量杀菌试验方法和动物试验方法,对该抗菌洗手液的消毒效果及安全性进行研究。**结果** 用浓度为 2 100 mg/L 三氯羟基二苯醚的该抗菌洗手液原液浸泡作用 1 min,对载体上金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌的杀灭对数均 >3.0。用该抗菌洗手液原液擦拭消毒 1 min,对手部自然菌的平均杀灭对数值为 1.89。该抗菌洗手液对小鼠急性口服 LD₅₀ 值 >5 000 mg/(kg·bw),对豚鼠完整皮肤刺激指数为 0。**结论** 该抗菌洗手液对细菌繁殖体和真菌均有很好的杀灭效果,属实际无毒级。

关键词 三氯羟基二苯醚;抗菌洗手液;杀菌效果;毒性

中图分类号: R187.1 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-7658(2019)05-0335-03 **DOI:** 10.11726/j.issn.1001-7658.2019.05.005

Study on disinfection effect and toxicity of a trichloro hydroxyl diphenyl ether anti-bacterial hand sanitizer

CAI Biao, DAI Chen-wei, XIN Ji-di, DIAO Hui-min, CHEN Tong
(Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei Anhui 230061, China)

Abstract **Objective** To observe the disinfection effect and toxicity of an antibacterial hand sanitizer containing trichloro hydroxyl diphenyl ether as the main component. **Methods** The carrier quantitative bactericidal test and animal experiment- were used to detect the disinfection effect and safety of the antibacterial hand sanitizer. **Results** The stock solution of the antibacterial hand sanitizer with a concentration of 2 100 mg/L trichloro hydroxyl diphenyl ether was applied for 1 min to kill *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* on the carriers, and the killing logarithmic values were all >3.0. The average killing logarithmic value of the natural bacteria in hands was 1.89 after be- ing wiped and disinfected with this sanitizer for 1 min. The acute oral LD₅₀ value of the sanitizer was >5 000 mg/(kg· bw) for mouse, and the irritation index was 0 for the complete skin of the guinea pig. **Conclusion** The antibacterial hand sanitizer has a good killing effect on bacterial propagule and fungi, and it is an actual non-toxic grade.

Key words trichloro hydroxyl diphenyl ether; antibacterial hand sanitizer; bactericidal effect; toxicity

许多病原菌是通过手部的接触进行传播,因此手的消毒是减少病原菌污染的最好方法。目前,市场销售较好的洗手液不仅具有去油污作用,同时多具有抗抑菌作用。具有抗菌作用的洗手液既要抗菌效果好,同时还需要作用时间短、对皮肤无刺激性等特点^[1]。抗菌洗手液的主要杀抑菌成分有碘伏、氯己定、乙醇、季铵盐类和三氯羟基二苯醚等,各自都存在优缺点。

本研究对一款以三氯羟基二苯醚为主要成分的抗菌洗手液的杀菌效果、现场手消毒效果和使用安全性等进行实验室和现场试验,为临床使用提供选择参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

该抗菌洗手液是以三氯羟基二苯醚为主要成分的绿色透明液体,其中三氯羟基二苯醚含量为 2 100 mg/L, pH 值 6.7。

试验菌株包括大肠杆菌(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),均源自中国医学微生物保藏中心。

〔基金项目〕 安徽省“十三五”医疗卫生重点专科(皖为科教[2017]30号);安徽省卫生计生委2018年委课题(2018YK005)

〔作者简介〕 蔡标(1981-),男,安徽亳州人,硕士,副研究员,从事病原微生物和流行病学的工作。

试验动物有体重 18 ~ 20 g SPF 级 ICR 小鼠;体重 280 ~ 300 g 健康豚鼠,均来自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,动物合格证号分别为 201819601 和 201819588。

1.2 杀菌试验方法

1.2.1 菌悬液及菌片的制备^[2] 分别取大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠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(白色念珠菌使用沙堡弱琼脂)37 ℃ 培养 24 h,用胰蛋白胨生理盐水(TPS)洗脱斜面培养物制备试验用菌悬液。各取试验用菌悬液 10 μl 滴加到 10 mm × 10 mm 的无菌全棉布片上,在生物安全柜内自然晾干制成菌片(回收菌数为 5.0 × 10⁵ ~ 5.0 × 10⁶ cfu/片)备用。

1.2.2 中和剂鉴定试验^[2] 分别选择金黄色葡萄球菌和白色念珠菌作为代表菌株,依据 2002 年版《消毒技术规范》规定的载体定量杀菌试验程序进行中和剂鉴定试验。试验分为 6 组,在 20 ℃ 恒温条件下进行试验。试验结果判定,以第 1 组无菌落生长或者有少数菌落生长,第 2 组菌落数比第 1 组多,但比第 3、4、5 组少,第 3、4、5 组组间菌落数误差率 ≤ 15%,第 6 组无菌落生长,为所选中中和剂及浓度适宜,重复试验 3 次。

1.2.3 载体定量杀菌试验^[2] 采用载体定量杀菌试验法,在 20 ℃ 水浴中进行,首先对消毒液及相关试液进行恒温。在无菌平皿内按每片菌片 5 ml 用量分装消毒液,将染菌载体浸入洗手液中(对照组为稀释液)计时。作用至规定时间后,取出载体投到含有 5 ml 中和剂的试管中,充分振荡后作用 10 min,测定存活菌数,计算杀灭对数值。试验重复 3 次。

1.2.4 手消毒现场试验^[2] 志愿者选择单位工作人员,取 2 ml 抗菌洗手液置于志愿者手掌心,按照六步洗手法搓擦双手 1 min。采用无菌棉拭沾湿采样液在志愿者手指掌侧面作涂抹采样,将采样后棉拭头无菌剪入含 5 ml 中和剂试管内。经充分振荡洗脱,取洗脱液进行活菌计数培养,计算杀灭对数值。连续重复 30 人次。

1.3 动物试验方法

1.3.1 多次皮肤刺激试验 选取体重 280 ~ 300 g 皮肤完好的健康豚鼠 3 只,雄性 2 只,雌性 1 只。试验前 24 h 用脱毛剂将豚鼠背部脊柱两侧的毛分别脱去 3 cm × 3 cm 且不损伤皮肤,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,每次续给后 24 h

观察左右两块皮肤局部的反应,并进行刺激反应评分。

1.3.2 急性经口毒性试验 选取 18 ~ 20 g SPF 级 ICR 小鼠 20 只,雌雄各半。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 · kw) 体重灌胃给予受试物,连续观察 14 d,记录动物的中毒表现和死亡数及死亡时间,计算半数致死量(LD₅₀)。

2 结果

2.1 中和剂鉴定试验结果

试验结果表明,含 3 g/L 硫代硫酸钠、20 g/L 吐温 80、5 g/L 卵磷脂的 PBS 溶液可以有效中和该抗菌洗手液对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀菌作用,并且该中和剂和中和产物对培养基和试验菌的生长无影响,金黄色葡萄球菌第 3、4、5 组间菌落误差率为 3.3%,白色念珠菌第 3、4、5 组间菌落误差率为 0.3%,符合要求,详见表 1。

表 1 抗菌洗手液中中和剂鉴定试验结果		
组序	各菌平均回收数(cfu/片)	
	金黄色葡萄球菌	白色念珠菌
1	0	0
2	310	240
3	810 000	310 000
4	860 000	320 000
5	790 000	340 000
6	0	0

2.2 载体浸泡定量杀灭试验结果

3 次重复试验结果显示,用浓度为 2 100 mg/L 三氯羟基二苯醚的该抗菌洗手液原液浸泡作用 1 min,对载体上金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌的杀灭对数均 > 3.0(表 2)。结果提示,该抗菌洗手液对细菌繁殖体和真菌均具有良好的杀灭效果。

表 2 抗菌洗手液载体浸泡定量杀灭试验结果				
试验菌	对照组菌数 对数值	作用不同时间(min)的杀灭对数值		
		0.5	1.0	2.0
金黄色葡萄球菌	5.84	5.84	5.84	5.84
大肠杆菌	5.93	5.93	5.93	5.93
铜绿假单胞菌	5.66	5.66	5.66	5.66
白色念珠菌	5.26	5.26	5.26	5.26

2.3 手消毒现场试验结果

试验结果显示,用该抗菌洗手液原液 2 ml 对手进行擦拭消毒 1 min,试验组平均菌落数的对数值为 1.23,对照组平均菌落数的对数值为 3.53,对 30 人

次手表面皮肤上的自然菌杀灭对数值为 1.33 ~ 2.24,平均杀灭对数值为 1.89。对照组平均自然菌数范围为 405 ~ 14 100 cfu/手,试验组消毒后存活自然菌数范围为 0 ~ 90 cfu/手。

表 3 抗菌洗手液手消毒现场试验结果				
组别	采样人数	对照组平均菌数 (cfu/手)	试验组平均菌数 (cfu/手)	平均杀灭 对数值
1	10	8 524	69	2.11
2	10	3 316	85	1.64
3	10	3 241	41	1.88

2.4 毒性试验结果

多次皮肤刺激试验结果表明,对 3 只豚鼠进行多次皮肤刺激试验中,均未出现皮肤红斑和水肿现象,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 · kw)灌胃量对 20 只小鼠进行给药,观察 14 d,无小鼠死亡,对处死小鼠进行尸体解剖并对组织器官进行观察,均未见异常;该抗菌洗手液对小鼠急性经口毒性 LD₅₀值 > 5 000 mg/(kg · bw),表明该消毒剂属实际无毒。

3 讨论

三氯羟基二苯醚俗称三氯生是一种具有很强的表面活性、溶于有机溶剂、对强酸强碱及热具有高度稳定性、杀菌普广、对皮肤无刺激性等特性的广谱抗菌剂^[3]。三氯羟基二苯醚广泛用于香皂、漱口水^[4]、头发定型水、化妆品等个人护理品,也用于皮肤消毒和洗手液等^[5-7],现在也被用于与皮肤接触

的医疗器械的快速消毒^[8,9],以及饮食行业、织物抗菌防臭处理等一系列产品。

本试验用抗菌洗手液 pH 值 6.7 接近中性,作用 0.5 min 可以完全杀灭载体上的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌等细菌繁殖体和白色念珠菌等真菌,并且对细菌繁殖体和真菌的杀灭稳定性较好。手消毒现场试验表明,该抗菌洗手液作用 1 min 可以很好地杀灭手部的自然菌,达到皮肤消毒要求。经口毒性试验结果显示属实际无毒类,且对皮肤无刺激性,适用于手的消毒处理使用。以上结果表明该抗菌洗手液杀菌速度快、杀菌效果稳定、对皮肤无刺激性,因此可以用于医疗卫生等行业工作人员以及普通家庭手和皮肤的消毒。

参考文献

[1] 王长德,蒋莉,帖金凤,等. 三氯羟基二苯醚醇消毒凝胶消毒性能的研究[J]. 中国消毒学杂志,2006,23(6):500-502.

[2] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.

[3] 米丽娟. 三氯生消毒相关性能研究进展[J]. 中国消毒学杂志,2016,33(1):76-79.

[4] 邱静. 一种漱口液杀菌性能研究[J]. 中国消毒学杂志,2008,25(2):148-149.

[5] 黄丽菊,陈如寿,饶林. 一种手消毒凝胶的杀菌效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2013,30(12):1127-1128.

[6] 李庆,张紫虹,杨美玲,等. 复方净手消毒凝露的消毒效果和毒性研究[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(4):799-802.

[7] 朱一凡,潘协商,许激,等. 复方免洗手消毒液的消毒性能及毒性观察[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(4):885-887.

[8] 周东顺,贾玉萍,朱健,等. 消毒超声耦合剂中和剂选择与消毒效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2014,31(5):454-458.

[9] 王宗春,刘红. 消毒型医用超声耦合剂的研究进展[J]. 中国消毒学杂志,2018,35(9):687-689.

(收稿日期:2018-12-29)

(上接第 334 页)

外来医疗器械灭菌参数检测时需要将温度探头放在多个可能的器械最难灭菌的部位进行测试,如果发生包内延迟,可以通过延长灭菌时间、优化灭菌程序保证灭菌质量安全。研究表明,如果器械出现升温延迟,延长灭菌暴露时间,可以达到预设的灭菌温度。升温延迟时间不会随着灭菌周期延长而变长。在不同周期,延长灭菌时间后,可以达到灭菌所需的温度。因此,我们需要思考如何针对这些器械设置更适合的灭菌程序,以保证器械的灭菌质量。

参考文献

[1] 杨祖顺,赵世文,段智泉,等. 压力蒸汽灭菌器灭菌延迟时间的研究[J]. 中国消毒学杂志,2012,29(8):682-684.

[2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 310.1-2016 医院消毒供应中心第 1 部分:管理规范[S]. 2016:1-8.

[3] Schierholz JM,Beuth J. Implant infections;a haven for opportunistic bacteria[J]. J Hosp Infect,2001,49(2):87-93.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 310.3-2016 医院消毒供应中心第 3 部分:清洗消毒及灭菌效果监测标准[S]. 2016:1-11.

[5] 杨月玲. 外来医疗器械及植入物清洗消毒和灭菌管理[J]. 中国卫生标准管理,2016,7(13):184-186.

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国标准化管理委员会. GB 8599-2008 大型蒸汽灭菌器技术要求自动控制型[S]. 2008:1-34.

[7] 阮丽芬,陈玉平. 两种 B-D 测试法用于新高压蒸汽灭菌器的监测效果比较[J]. 护理学报,2010,17(7A):66-68.

[8] 倪杰雄,陈婧卿. 医用高压灭菌器的类型及灭菌失败原因分析[J]. 中国卫生产业,2017,14(15):46-47.

(收稿日期:2018-10-06)