

# 一种戊二醛复方消毒剂杀灭微生物效果观察

李新武 李秋丽 李 涛 孙守宏 袁洽劼

**摘要** 本文观察了一种戊二醛复方消毒剂对微生物的杀灭效果,结果表明,在试验温度为20℃,试验用菌悬液中加入10%小牛血清的条件下,该消毒剂2.00%的稀释液作用2分钟可杀灭99.99%的金黄色葡萄球菌,1.00%的稀释液作用2分钟可杀灭99.99%的大肠杆菌,原液作用35分钟可破坏HBsAg的抗原性;在加热50℃条件下,原液作用35分钟,50.00%的稀释液作用45分钟可100%杀灭枯草杆菌黑色变种芽胞。在对该消毒剂的有效抑菌、杀菌和根据能量试验确定的应用浓度比较时发现,杀菌浓度比抑菌浓度高4倍,应用浓度比杀菌浓度高5倍,此结果提示,在消毒试验中,选择适当的中和剂十分重要;消毒剂的实际应用浓度应根据能量试验的结果来确定。

**关键词** 戊二醛 消毒 灭菌

**Experimental Observation on Microbicidal Activity of a Complex Glutaraldehyde Disinfectant** Li Xin-wu, Li Qiu-li, Li Tao, et al. Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 100021

**Abstract** The microbicidal activity of a complex glutaraldehyde disinfectant was observed. The result showed that when the temperature of the test was 20℃ and 10% calf serum were added to the bacterial suspensions 2% diluted solution of the disinfectant for a two-minute contact could kill 99.99% of *Staphylococcus aureus*, and 1% diluted solution for two minutes could kill 99.99% of *E. coli*. The undiluted disinfectant with five-minute contact time could destroy the antigenicity of HBsAg. The undiluted disinfectant with thirty-five minute contact and 50% diluted solution with forty-five minute contact time could completely kill the spores of *Bacillus subtilis* var. niger under 50℃. It was discovered that the germicidal concentration of the disinfectant was four times as high as the inhibition concentration and the used concentration determined with capacity test was four times higher than as germicidal concentration when the three concentrations were compared. This result indicated that selection of suitable inactivator was very important. The practical concentration of disinfectant should be decided under the basis of the result from capacity test.

**Key words** Glutaraldehyde Disinfection Sterilization

近年来,国内外研制戊二醛复方消毒剂取得了一定进展<sup>[1~3]</sup>,但因各种处方由不同添加剂、增效剂和表面活性剂复配而成,故杀菌活性和灭活病毒作用亦有明显差异,为了克服戊二醛杀菌速度慢的缺点,本研究采用2种消毒药,加上非离子表面活性剂与戊二醛制成复方消毒剂,以加快杀菌速度,并与国外现用的戊二醛类消毒剂进行了比较。

## 材料与方法

### 一、材料:

1. 消毒剂:迅克消毒剂,中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所消毒研究室研制,主要成分:0.50%戊二醛、醋酸洗必泰、乙醇、非离子表面活性剂等。

2. 美国DK消毒剂:主要成分:2.00%戊二醛等。

3. 中和剂:中和剂A:3.00%甘氨酸,

0.40%卵磷脂, 3.00%吐温-80, 0.03mol/L PBS 溶液, 适用于迅克消毒剂定量杀菌试验。中和剂 B: 0.75%甘氨酸, 0.10%卵磷脂, 0.75%吐温-80, 10.00%小牛血清, 0.02mol/L PBS 溶液, 适用于迅克消毒剂 HBsAg 抗原性破坏试验。中和剂 C: 1.00%甘氨酸, 0.50%卵磷脂, 2.00%吐温-80, 0.03mol/L PBS 溶液, 适用于 DK 消毒剂定量杀菌试验。中和剂 D: 2.00%甘氨酸, 0.30%卵磷脂, 2.00%吐温-80, 10.00%小牛血清, 0.02mol/L PBS 溶液, 适用于 DK 消毒剂对 HBsAg 抗原性破坏试验。以上中和剂在用于消毒试验前均做过中和剂选择试验, 并且证明上述中和剂均能有效的终止消毒剂的作用, 且对实验菌无抑制作用, 对培养基和 HBsAg 抗原性破坏试验检测系统无不良影响。

4. 试验菌株: 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538, 大肠杆菌 ATCC 25922, 枯草杆菌黑色变种芽胞 ATCC 9372。这些菌株试验前分别用 1.00%蛋白胨 0.03mol/L PBS 溶液配制成浓度为  $10^7$ cfu/ml 的菌或芽胞悬液。

5. 试验用乙型肝炎 (乙肝) 表面抗原 (HBsAg): 试验前测得灵敏度为 2.00ng/ml, 试验时用 5%小牛血清 0.02mol/L PBS 溶液配制成浓度为 100.00 $\mu$ g/ml 的 HBsAg 悬液。

6. 能量试验用菌液: 用含 1.00%小牛血清标准硬水 (硬度为 342mg/L) 溶液配制成浓度为  $10^6 \sim 10^7$ cfu/ml 的菌悬液。

## 二、方法:

1. 定量抑菌试验: 操作步骤见卫生部 1991 年编《消毒技术规范》。

2. 定量杀菌试验: 操作步骤见卫生部 1991 年编《消毒技术规范》。

3. 能量试验: 操作步骤见参考文献 [4]。

4. HBsAg 的抗原性破坏试验: 取 20 $\mu$ l HBsAg 悬液滴染 1.5cm 直径的不锈钢载体, 然后放入 37 $^{\circ}$ C 温箱 30 分钟待干备用。取消毒液 50 $\mu$ l 覆盖于染有 HBsAg 的载体

上, 在室温条件下作用至规定时间, 将载体移入含 1ml 中和剂的试管内, 振荡混匀, 作用 10 分钟以上, 应用 ELISA 法测定残留 HBsAg 量。ELISA 检测方法参照 HBsAg 检测试剂盒使用说明书进行。

## 结 果

一、迅克消毒剂对细菌繁殖体的抑菌效果: 在试验温度为 20 $^{\circ}$ C 的条件下, 应用该消毒剂 0.25%的稀释液, 对金黄色葡萄球菌作用 5 分钟, 0.50%的稀释液作用 2 分钟, 平均抑菌率可达 99.99%, 0.50%的稀释液作用 10 分钟, 1.00%的稀释液作用 2 分钟, 平均抑菌率可达 100.00%; 应用该消毒剂 0.25%的稀释液对大肠杆菌作用 2 分钟, 平均抑菌率为 99.94%, 0.50%的稀释液作用 2 分钟, 平均抑菌率为 100.00%。

二、迅克消毒剂对细菌繁殖体的杀灭效果: 在试验温度为 20 $^{\circ}$ C, 菌悬液含 10.00%的小牛血清的条件下, 应用该消毒剂 2.00%的稀释液对金黄色葡萄球菌作用 2 分钟, 平均杀灭率为 99.99%, 应用 1.00%的稀释液对大肠杆菌作用 2 分钟, 平均杀灭率为 99.99%。

三、迅克消毒剂对 HBsAg 抗原性的破坏效果: 在室温 (16~18 $^{\circ}$ C) 的条件下, 应用其原液对 HBsAg 作用 5 分钟, 50.00%的稀释液作用 10 分钟, 可破坏 HBsAg 的抗原性 (表 1)。

四、迅克消毒剂对细菌繁殖体能量试验结果: 在 20 $^{\circ}$ C 条件下, 该消毒剂对金黄色葡萄球菌的应用浓度为 5.00%, 对大肠杆菌的应用浓度为 2.50%。

五、迅克消毒剂对细菌繁殖体的有效抑菌浓度、杀菌浓度及应用浓度之间的比较: 在试验温度为 20 $^{\circ}$ C 条件下, 该消毒剂与金黄色葡萄球菌 (金葡菌) 作用 5 分钟, 其有效抑菌、杀菌浓度 [指平均杀 (抑) 菌率大于 99.90%] 及应用浓度分别为 0.25%、1.00% 及 5.00%, 三者之间有明显差别, 对大肠杆

菌, 上述三种浓度依次为 0.13%、0.50% 及 2.50%, 亦存在明显差别。

表 1 迅克消毒剂对 HBsAg 抗原性的破坏效果\*

药物浓度 (%)	作用不同时间 (分) 平均 OD 值及 S/N 值				对照		
	5	10	15	20	阴性	阳性	
100.00	OD	0.004	0.004	0.004	0.005	0.003	1.057
	S/N	1.333	1.333	1.333	1.500		352.333
50.00	OD	0.014	0.006	0.006	0.005	0.003	1.195
	S/N	4.242	1.818	1.818	1.152		362.121
25.00	OD	0.329	0.121	0.056	0.033	0.004	1.268
	S/N	82.250	30.250	14.150	8.250		317.000

\* S/N < 2.100 为阴性, 即可破坏 HBsAg 的抗原性。

六、迅克消毒剂与 DK 消毒剂消毒效果的比较: 通过表 2 可以看出, 迅克消毒剂对细菌繁殖体作用 5 分钟时的有效杀菌浓度低于 DK 消毒剂, 其原液作用 5 分钟可破坏 HBsAg 的抗原性 (S/N=1.33), 而 DK 消毒液原液作用 6 小时不能完全破坏 HBsAg 的抗原性 (S/N=40.00), 前者明显优于后者。能量试验结果表明, 迅克消毒剂的有效应用浓度高于 DK 消毒剂, 这与 DK 消毒剂中戊二醛的浓度高于迅克消毒剂有关。

表 2 迅克与 DK 消毒剂对微生物作用 5 分钟有效浓度 (%) 的比较

试验方法	试验微生物	迅克消毒剂	DK 消毒剂
定量杀菌试验	金 葡 菌	1.00	1.00
	大肠杆菌	0.50	1.00
能量试验	金 葡 菌	5.00	1.00
	大肠杆菌	2.50	1.00
HBsAg 抗原性破坏试验	HBsAg	100.00	无效

七、迅克消毒剂对枯草杆菌黑色变种芽胞的杀灭效果: 在室温 20℃ 条件下, 该消毒剂对枯草杆菌黑色变种芽胞作用 60 和 80 分钟, 其平均杀灭率分别为 99.43% 和 99.99%。为了提高该消毒剂对芽胞的杀灭效果, 缩短作用时间, 采用了提高作用温度的方法, 结果表明, 在 50℃ 条件下, 该消毒剂对芽胞的杀灭效果明显加强, 原液作用 35 分

钟, 50.00% 稀释液作用 45 分钟, 其平均杀灭率均为 100.00%, 可达到灭菌。

### 讨 论

1. 自 1962 年 Peper 等<sup>[1]</sup>在双醛化合物中发现戊二醛有明显的杀芽胞活性以来, 许多科学家对戊二醛的理化特性、杀菌活性、杀菌机理和毒性进行了多方面的研究, 证明戊二醛具有杀菌谱广、高效、刺激性小、腐蚀性小、低毒安全、易溶于水和稳定性好等优点, 在化学消毒剂发展史上被称为第三个里程碑<sup>[2,3]</sup>, 世界卫生组织推荐其为肝炎病毒污染物的消毒剂, 至今其应用范围已日趋扩大。迅克消毒剂就是以戊二醛为主的复方消毒剂, 该消毒剂在 20℃ 条件下 2 分钟可杀灭金黄色葡萄球菌和大肠杆菌, 5 分钟可破坏 HBsAg。在 50℃ 条件下, 作用 35 分钟可完全杀灭枯草杆菌黑色变种芽胞, 并具有清除油污的作用, 可用于医院注射、手术部位的皮肤消毒、一般诊疗器具消毒, 尤其是口腔科器具、传染病房医护人员和病人手消毒。在加热 50℃ 的条件下可用于医院急需用手术器械的灭菌。在日常生活中可用于手和各种物体表面的清洁消毒, 以预防各种细菌性传染病和病毒性肝炎。

2. 在加温条件下, 戊二醛类消毒剂杀菌效果增强, 这与消毒剂中戊二醛单体的比例增加有关。German<sup>[2]</sup> (1980) 报道, 温度升

高,戊二醛溶液中 3 种水合体和 1 种聚合物与戊二醛单体间的动态平衡被破坏,戊二醛单体比例增加,杀菌作用增强。Craven 等<sup>[5]</sup>认为乙醇加热后可提高杀芽胞效果。Gorman 等<sup>[6]</sup>认为洗必泰溶于醇类中对芽胞的杀灭效果优于单剂的杀灭效果,这些报道与我们的结果是一致的。

3. 目前,我国以有机物保护试验的结果作为确定消毒剂使用浓度的参考。但我们在做能量试验时发现,迅克消毒剂应用能量试验确定的应用浓度是有机物保护试验所确定的应用浓度的 5 倍,这表明对有些消毒剂使用有机物保护试验来确定其使用浓度是不准确的,引起这一结果的原因可能与随着能量试验中小牛血清和菌体的不断增加,影响了乙醇和洗必泰的杀菌作用有关。而对于 DK 消毒剂,两种试验确定的应用浓度无明显差别,这是由于有机物对戊二醛单剂的生物活性影响较小所致<sup>[7,8]</sup>。根据以上结果,我们建议在编制消毒剂实际使用说明书时,应以能量试验作为确定使用浓度的依据。

## 参 考 文 献

- 1 Pepper RE, Chandler VL. Sporicidal Activity of Alkaline Alcoholic Saturated Di-aldehyde Solutions. *Appl Microbiol*, 1963, 11: 384.
- 2 Gorman SP, Scott EM. A Review Antimicrobial Activity Uses and Mechanism of Action of Glutaraldehyde. *J Appl Bacteriol*, 1980, 48: 161.
- 3 Russell AD. Glutaraldehyde: Current Status and Uses. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1994. 15.
- 4 Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ. *Practice of Disinfection Preservation and Sterillization*, Second Edition/ Edited by Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ, 1992.
- 5 Craven SE, Blankenship LC. Activation and Injury of *Clostridium Perfringens* Spores by Alcohols, *Applied and Environmental Microbiology*, Aug. 1985, 50: 249.
- 6 Gorman SP, Jones DS, Loftus AM. The Sporicidal Activity and Inactivation of Chlorhexidine Gluconate in Aqueous and Alcoholic Solution. *J Appl Bacteriol*, 1987, 63: 183.
- 7 Blough HA. Selective inactivation of biological activity of myxoviruses by Glutaraldehyde. *J Bacteriol*, 1996, 92: 266.
- 8 Snyder RW, Chearle EL. Alkaline Glutaraldehyde-An Effective Disinfectant. *Am J Hosp Phar*, 1965, 22: 321.

(收稿: 1996-04-20 修回: 1996-06-20)

## 184 例麻疹暴发流行调查报告

张小平<sup>1</sup> 陈秉尧<sup>2</sup> 张晓平<sup>2</sup>

1994 年 4 至 5 月张掖市发生麻疹暴发流行,波及 18 个乡和城区。发病共 184 例,发病率为 41.57/10 万,无死亡。梁家墩乡 4 月份发生首例病例,由于没有采取相应预防措施,以至造成疫情蔓延扩大,该乡发病达 87 例。本次麻疹暴发流行,最小年龄为 4 月龄,最大为 25 岁,8 月龄至 8 岁发病人数最多,达 144 例,占 78.26%;男、女性别发病无差异,而

且以散在儿童发病较多(114 例)。麻疹发生后逐个进行个案调查,接种疫苗 147 例,未接种和接种史不详者 24 例,尤其是未到免疫月龄也有发病,建议提前麻苗接种的起始月龄。分析本次麻疹暴发,由于冷藏保管接种技术不妥,疫苗效价降低,造成免疫成功率低或无效接种,使易感人群积累,导致暴发流行。大年龄儿童发病增多与免疫力降低有关。因此,目前仍应加强计划免疫工作管理,免疫程序要针对易感者的变化而变化,以达到控制和消除麻疹的目的。

(收稿: 1995-10-20 修回: 1995-12-08)

1 甘肃省张掖地区卫生防疫站 734000

2 张掖市卫生防疫站