

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.12.003

· 论 著 ·

五种常用消毒剂对金黄色葡萄球菌的杀灭效果评价

董霞^{1,2}, 李培群², 罗东¹, 刘涛¹, 万腊根¹, 陈开森¹

(1 南昌大学第一附属医院, 江西 南昌 330006; 2 南昌大学公共卫生学院, 江西 南昌 330006)

[摘要] **目的** 研究医院常用消毒剂乙醇、三氯片、碘伏、戊二醛、爱护佳免洗手消毒剂对医院不同来源金黄色葡萄球菌的杀灭效果, 为有效控制医院感染提供科学依据。**方法** 收集南昌大学第一附属医院临床送检标本和医护人员手及医院内周边环境物体表面采集的标本分离的金黄色葡萄球菌共 48 株。通过消毒剂与细菌直接接触作用, 研究消毒剂在不同稀释浓度、不同作用时间、体外杀灭不同来源的金色葡萄球菌的效果。**结果** 常规使用消毒剂如 5 g/L 碘伏、20 g/L 戊二醛和爱护佳免洗手消毒剂(0.5% 葡萄糖酸氯己定 + 70% 乙醇) 常温下作用 5 min 对不同来源金黄色葡萄球菌的杀灭率为 100%; 70% 乙醇和 1 g/L 三氯片常温下作用 5 min 对不同来源金黄色葡萄球菌的杀灭率为 96.5%~99.8%; 但碘伏、戊二醛和免洗手消毒剂被高度稀释后即使提高作用时间但仍不能完全杀灭金黄色葡萄球菌。**结论** 该院常规使用消毒剂能满足临床杀菌效果, 但需要不断地监测消毒剂的有效浓度, 防止杀菌能力降低。

[关键词] 金黄色葡萄球菌; 消毒剂; 杀菌作用

[中图分类号] R187+.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)12-1116-04

Bactericidal efficacy of five kinds of disinfectant on *Staphylococcus aureus*

DONG Xia^{1,2}, LI Pei-qun², LUO Dong¹, LIU Tao¹, WAN La-gen¹, CHEN Kai-sen¹ (1 The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006; 2 School of Public Health, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective** To study the bactericidal efficacy of hospital commonly used disinfectants such as ethanol, 3" chlorine tablets, iodophor, glutaraldehyde, and avagard instant hand antiseptic on *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) from different sources of hospital, and provide scientific basis for effective control of healthcare-associated infection (HAI). **Methods** A total of 48 strains of *S. aureus* from inpatients, hands of health care workers, and environment surface in the First Affiliated Hospital of Nanchang University were collected. Disinfectant was directly contacted with bacteria, in vitro killing efficacy of disinfectant on *S. aureus* from different sources at different diluted concentrations, and different contact time were studied. **Results** The killing rate of 5g/L iodophor, 20g/L glutaraldehyde, and avagard instant hand antiseptic (0.5% chlorhexidine + 70% ethanol) to *S. aureus* with a 5-minute contact time was 100%; killing rates of 70% ethanol and 1g/L 3" chlorine tablets to *S. aureus* with a 5-minute contact time were 96.5% - 99.8%; but highly diluted iodophor, glutaraldehyde, and avagard instant hand antiseptic still could not completely kill *S. aureus* even the contact time was extended. **Conclusion** The routine use of disinfectants in the hospital can meet the clinical bactericidal efficacy, it is necessary to monitor concentration routinely, avoid decreasing sterilization ability.

[Key words] *Staphylococcus aureus*; disinfectant; bactericidal efficacy

[Chin J Infect Control, 2017, 16(12): 1116 - 1119]

[收稿日期] 2017-04-08

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81660555); 南昌大学大学生科技创新基金(2016213)

[作者简介] 董霞(1993-), 女(汉族), 甘肃省白银市人, 医学生, 主要从事公共卫生管理研究。

[通信作者] 陈开森 E-mail: chenks100@126.com

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, SAU) 是临床上重要的病原菌,常可导致创面伤口、皮肤软组织及血流感染^[1-2]。该菌适应能力强,常可存在于人体体表及各类环境中,例如医院内的水、空气及物体表面等。由于消毒剂在手部、医疗器械、物体表面及空气清洁中的频繁使用,环境分离菌可对多种消毒剂产生抗性,表现为现有的消毒剂及消毒方法可能不能完全杀灭该类菌^[3-4],而 SAU 由于强的抵抗力及环境适应性,常和芽孢用于评价消毒剂的杀灭效果^[5]。消毒剂的使用已有相当长的历史,正如细菌对抗菌药物的耐药性一样,长时间接触同一种(类)消毒剂的细菌会对该类消毒剂产生抵抗力,即产生抗性。随着人类社会的发展以及人们健康意识的不断增强,消毒用品的使用越来越广泛,细菌对消毒剂的抗性也就越加严重,这已引起人们的广泛关注与重视^[6]。南昌大学第一附属医院根据不同的需要,常使用 5 种消毒剂,包括乙醇、碘伏、戊二醛、三氯片及爱护佳免洗手消毒剂。这些消毒剂能否很好地对医院环境内分离的 SAU 具有杀灭作用,目前并未见评价。为了观测常用消毒剂对医院环境内分离的 SAU,本研究通过收集环境及临床分离的 SAU,随后进行体外悬液定量杀菌试验,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌株 均来源于南昌大学第一附属医院,包括住院患者分离的 SAU 20 株,环境分离的 SAU 28 株。质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 来源于中国菌种保藏中心。

1.1.2 试验用消毒剂 乙醇(主要为 70%乙醇)、碘伏(主要成分为聚乙烯吡咯烷酮,碘浓度 5.0 g/L)、三氯片(主要成分为三氯异氰尿酸,有效氯 1 g/L)、20 g/L 戊二醛消毒剂及爱护佳免洗手消毒剂(0.5%葡萄糖酸氯己定 + 70.0%乙醇)。

1.2 试验方法

1.2.1 SAU 的鉴定 将临床或环境常规分离菌进行涂片,革兰染色为阳性球菌,呈葡萄状排列,触酶阳性。采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动细菌分析仪及对应鉴定卡对菌种鉴定。

1.2.2 菌悬液的制备 取分离的 SAU 接种到 LB 肉汤中,35℃ 震荡培养至对数生长期,制备浓度为 1×10^6 CFU/mL 的菌悬液^[7]。

1.2.3 中和剂鉴定试验 用金黄色葡萄球菌标准株 ATCC 25923 为试验菌,设计 6 组试验,按悬液定量杀菌试验程序进行中和剂鉴定试验。试验结果以第 1 组无菌生长或仅有极少数生长;第 2 组远较第 1 组为多,但较第 3、4、5 组生长菌数少,其组间差不超过两组回收菌数平均值的 10%;第 6 组无菌生长,表明所用中和剂及其浓度适宜。

1.2.4 悬液定量杀菌试验 将试验菌悬液(100 μ L/孔)和每种不同浓度(2 倍稀释、5 倍稀释、10 倍稀释)消毒剂(100 μ L/孔)置于 96 孔微孔板中,于 35℃ 作用不同时间(1、5、10 min)。取出混合液(20 μ L/孔)随后加入对应中和剂(180 μ L/孔),作用 10 min 后,取 0.2 mL 倾注 90 mm 平板上,用 L 棒划开进行活菌计数培养 48 h 后观察结果,阳性对照为加菌悬液的生理盐水组,重复 3 次取平均值,计算杀菌率^[7]。

1.3 统计分析 不同消毒剂对不同来源 SAU 的杀灭率采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 中和剂鉴定试验结果 经中和剂鉴定试验确定,乙醇的中和剂为 10 g/L 吐温 80 的磷酸盐缓冲液,碘伏的中和剂为 10 g/L 硫代硫酸钠 + 10 g/L 吐温 80 的磷酸盐缓冲液,戊二醛的中和剂为 10 g/L 甘氨酸 + 5.0 g/L 吐温 80 的磷酸盐缓冲液,三氯片的中和剂为 5.0 g/L 硫代硫酸钠 + 5.0 g/L 吐温 80 的营养肉汤,爱护佳免洗手消毒剂的中和剂为 20 g/L 卵磷脂 + 20 g/L 吐温 80 的磷酸盐缓冲液^[8]。

2.2 杀菌试验结果

2.2.1 5 种消毒剂不同作用时间对 SAU 的杀灭效果 以 70%乙醇、碘伏(5.0 g/L)、三氯片(有效氯 1 g/L)、20 g/L 戊二醛消毒剂及爱护佳免洗手消毒剂(0.5%葡萄糖酸氯己定 + 70%乙醇)作用 1 min,对金黄色葡萄球菌标准株杀灭率均为 100%。在上述相同浓度和作用时间条件下,各消毒剂对 28 株环境分离的 SAU 和 20 株临床分离的 SAU 的杀灭率均达到 90%以上。常规剂量作用 1 min 以上,该院常用的 3 种消毒剂(碘伏、戊二醛和爱护佳免洗手消毒剂)可完全杀灭不同来源的 48 株 SAU,但 70%乙醇及三氯片不能完全杀灭该菌,其中作用 5 min 时 SAU 的杀灭率达到 90%以上。70%~75%乙醇对除芽孢外的革兰阳性菌与阴性菌杀菌效果最好,所以临床及实验室长期将其作为皮肤等消毒剂的首选,但有结果表明 SAU 对 70%乙醇具有抗药性^[9],

这与本次研究结果相符。即使乙醇及三氯片作用 5 min, 仍有部分 SAU 未被杀灭; 从标本的不同来源看, 环境分离的 28 株 SAU 抗乙醇及三氯片杀灭能力较强, 而临床分离的 20 株 SAU 低于前者。见表 1。

表 1 5 种消毒剂不同作用时间对 SAU 的杀灭效果

Table 1 Killing efficacy of 5 kinds of disinfectant on *S. aureus* at different contact time

消毒剂	作用时间 (min)	标准菌	环境分离菌	临床分离菌
		杀灭率(%)	杀灭率(%)	杀灭率(%)
70%乙醇	1	100.0	92.0	94.3
	5	100.0	96.6	98.6
	10	100.0	100.0	100.0
三氯片(1 g/L)	1	100.0	93.4	94.7
	5	100.0	96.5	99.8
	10	100.0	100.0	100.0
碘伏(5 g/L)	1	100.0	98.0	99.0
	5	100.0	100.0	100.0
	10	100.0	100.0	100.0
戊二醛(20 g/L)	1	100.0	100.0	100.0
	5	100.0	100.0	100.0
	10	100.0	100.0	100.0
爱护佳免洗手消毒剂(0.5%葡萄糖酸氯己定+70%乙醇)	1	100.0	100.0	100.0
	5	100.0	100.0	100.0
	10	100.0	100.0	100.0

2.2.2 3 种常用消毒剂稀释后对 SAU 的杀灭效果

当常用的碘伏、戊二醛及爱护佳免洗手消毒剂被不同程度稀释后, 其杀菌能力逐渐下降, 在对不同来源的 SAU 杀灭中表现为爱护佳免洗手消毒剂杀灭 SAU 能力强于戊二醛, 而戊二醛杀灭 SAU 能力强于碘伏。见表 2。

3 讨论

SAU 为医院最为常见的病原菌之一, 长期处于革兰阳性菌感染的首位^[10-11]。SAU 感染的来源包括患者局部定植菌的移位及 SAU 的传播。细菌在病区间的传播包括通过医务人员手、医疗器械、空气、物体表面等媒介。阻断细菌间传播除了正确的医疗操作外, 各种易存储细菌的环境的消毒也非常必要, 临床上根据需要常选择消毒能力不同的各类消毒剂进行处理。本研究发现环境分离 SAU 对低效消毒剂的抗性略大于临床菌株, 可能的原因是医院环境中常存在这些低浓度的消毒剂, 无形中促使环境 SAU 对消毒剂的抗性增大^[12]; 细菌对抗生素耐药可能与消毒剂耐药有关, 因为细菌基因的改变可获得抗性, 因而可能使细菌获得耐消毒剂基因从而抗性增加^[13], 研究证明, SAU 含有多种抗生素和消毒剂抗药性质粒, 并发现他们之间存在一定联系^[14-15]; 选择压力在细菌对消毒剂抗性中的作用不容忽视, 因为只要有消毒剂的存在, 细菌就会受到选择压力的作用, 此作用可产生抗性突变株。但整体而言, 常规剂量在有效的作用时间内足够杀灭环境来源 SAU 及临床分离 SAU, 提示目前该院常规使用浓度的消毒剂对医院感染的 SAU 能够有效杀灭。然而, 由于消毒剂产品的质量不过关或认为常规使用的消毒剂浓度降低时则杀菌能力降低, 杀菌能力受到影响, 故有必要固定时间内对常规使用的

表 2 3 种常用消毒剂稀释后对 SAU 的杀灭效果

Table 2 Killing efficacy of 3 kinds of diluted routine disinfectant on *S. aureus*

消毒剂	作用时间 (min)	不同稀释倍数标准菌株杀灭率(%)			不同稀释倍数环境菌杀灭率(%)			不同稀释倍数临床菌杀灭率(%)		
		2 倍	5 倍	10 倍	2 倍	5 倍	10 倍	2 倍	5 倍	10 倍
碘伏(5 g/L)	1	92.3	88.6	76.4	85.3	80.9	77.0	86.7	85.0	83.0
	5	96.7	93.4	81.4	87.0	82.7	80.2	90.0	86.7	85.1
	10	97.3	96.1	86.3	90.3	88.3	86.6	96.2	92.7	90.0
戊二醛(20 g/L)	1	98.9	87.1	71.6	80.9	71.3	60.1	86.7	76.7	66.5
	5	100.0	89.4	86.3	85.0	84.0	80.0	90.6	88.2	78.6
	10	100.0	92.1	99.1	96.7	93.5	87.6	100.0	99.3	98.0
爱护佳免洗手消毒剂(0.5%葡萄糖酸氯己定+70%乙醇)	1	100.0	95.4	88.4	95.0	94.0	72.3	95.0	92.6	88.6
	5	100.0	96.7	91.4	96.0	92.9	80.7	96.7	94.7	90.3
	10	100.0	99.1	95.7	100.0	97.3	93.6	100.0	98.3	94.7

消毒剂或新购消毒剂进行随机抽查,严格把控使用消毒剂产品的质量,为有效地发挥消毒剂在控制病原体医院感染中的作用。目前认为,消毒剂的滥用、处理方法不当及用量不足是消毒剂抗性产生的主要原因。因此,在应用消毒剂时,提倡科学、合理和有效使用是避免消毒剂抗性菌株形成的最重要途径。此外,细菌在长时间脱离接触某消毒剂后,对该药的抗性可能不会立刻消失,故对低效消毒剂最好几种交替使用^[16]。

综上所述,可通过进一步加强医院环境内的消毒从而控制医院感染减少其发生率,因而消毒剂的合理使用以及管理对控制医院感染显得尤为重要。

[参 考 文 献]

- [1] 王良兴,姚丹,余方友,等.皮肤及软组织化脓性金黄色葡萄球菌感染的耐药谱分析[J].中华医院感染学杂志,2011,21(5):1037-1039.
- [2] 杨玉琪,徐修礼,马越云,等.重症监护病房分离金黄色葡萄球菌的分子流行特征[J].中国感染控制杂志,2017,16(2):99-103.
- [3] 周凤莲,杨莉娜,余阳,等.常用消毒剂对部分多重耐药菌杀灭效果的观察[J].中国消毒学杂志,2013,30(9):808-810.
- [4] 胡瑛,文飞球,刘犇,等.新生儿、医务人员及环境分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的同源性[J].中国感染控制杂志,2017,16(2):142-145.
- [5] 常帅.医院感染病原菌对消毒剂耐药性的研究进展[J].中国消毒学杂志,2013,30(5):450-455.
- [6] 周庭权,黄文祥,贾蓓.细菌对消毒剂抗性的研究进展[J].国外医药(抗生素分册),2008,29(1):32-35.
- [7] 王珂,陈茜文,张力平.微孔板法评价碘伏的消毒效果研究[J].中国消毒学杂志,2016,33(9):853-855.
- [8] 杨莉娜,余克花,傅颖媛,等.四种消毒剂对两种临床感染菌的杀灭效果[J].中国消毒学杂志,2010,27(2):126-128.
- [9] 刘建玲.细菌对常用化学消毒剂耐药性探讨[J].延安大学学报(自然科学版),1999,18(1):65-67.
- [10] 黄艳芳,陈开森,余阳,等.2008—2014年南昌某医院金黄色葡萄球菌耐药谱及变化趋势[J].现代预防医学,2016,43(5):948-950.
- [11] 胡付品.2005—2014年CHINET中国细菌耐药性监测网5种重要临床分离菌的耐药性变迁[J].中国感染与化疗杂志,2017,17(1):93-99.
- [12] 潘引君,谢玲丽,任志华,等.临床不同来源金黄色葡萄球菌耐消毒剂抗力及相关基因分析[J].中国消毒学杂志,2015,32(5):448-451.
- [13] 徐简,葛洪,冯立民.监控细菌对消毒剂抗药的有关应用问题[J].中国公共卫生管理,2000,16(2):139-140.
- [14] al-Masaudi SB, Russell AD, Day MJ. Comparative sensitivity to antibiotics and biocides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from Saudi Arabia and Great Britain [J]. J Appl Bacteriol, 1991, 71(4): 331-338.
- [15] 雷新云,金正江.新生儿病房分离金黄色葡萄球菌耐药性及耐消毒剂基因检测[J].中国感染控制杂志,2015,14(7):447-449.
- [16] 王震宇.细菌对消毒剂抗性研究进展[J].中国消毒学杂志,2007,24(2):169-173.

(本文编辑:陈玉华)