

苯扎溴铵消毒液杀菌试验观察

王艳萍 (江阴职业技术学院化学纺织工程系, 江苏江阴 214405)

摘要 [目的]探讨苯扎溴铵消毒液对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、绿脓杆菌的杀菌效果。[方法]采用工作液直接接种法进行试验观察。[结果]苯扎溴铵对大肠埃希菌、绿脓杆菌基本无杀菌作用,对金黄色葡萄球菌有良好的杀菌效果,且应选择浓度 $\geq 0.10\%$ 的苯扎溴铵作用10 min以上具有完全杀菌效力。[结论]苯扎溴铵浓度 $\geq 0.10\%$ 时,适用于对金黄色葡萄球菌消毒。

关键词 苯扎溴铵;杀菌作用;金黄色葡萄球菌

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)20-06530-02

Observation on Germicidal Efficacy of Benzalkonium Bromide Disinfectant Solution

WANG Yan-ping (Chemistry & Textile Engineering Department, Jiangyin Polytechnic College, Jiangyin, Jiangsu 214405)

Abstract [Objective] The research aimed to know the germicidal efficacy of benzalkonium bromide disinfectant solution on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. [Method] Working fluid direct inoculation method was carried out for experimental observation. [Result] Benzalkonium bromide had no germicidal effect on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, but it had a efficacious effect on *Staphylococcus aureus*. For *Staphylococcus aureus*, the concentrations of benzalkonium bromide should be more than 0.10% and it was used for more than 10 minutes to complete germicidal efficacy. [Conclusion] Benzalkonium bromide concentrations that was more than 0.10% could be used for the disinfection of *Staphylococcus aureus*.

Key words Benzalkonium bromide; Germicidal effect; *Staphylococcus aureus*

苯扎溴铵为最常用的表面活性剂之一,具有洁净、杀菌、消毒的作用。不同浓度稀释液可用于外科手术前洗手、皮肤消毒和霉菌感染、黏膜消毒、创口感染的洗涤消毒^[1],具有高效、毒性小、可溶于水、不受水硬度影响、使用方便、成本低等优点。实验室对消毒剂杀菌效力的测定方法通常参照美国政府农业化学师友会(AOAC)制定的消毒剂效力测定方法。标准验证消毒剂效力的方法有载体试验法、表面试验法、工作液直接接种法3种^[2]。该研究将采用工作液直接接种法进行苯扎溴铵的效力验证。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 试验用菌种。有金黄色葡萄球菌(CMCC 26003)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、绿脓杆菌(ATCC 15442)3种。

1.1.2 培养基和稀释剂。有营养琼脂培养基、营养肉汤培养基、0.9%无菌氯化钠、pH 7.0 氯化钠-蛋白胨缓冲液。营养肉汤培养基按干粉培养基说明书配制、分装,于121℃高压蒸汽灭菌后备用^[3]。取氯化钠9.0 g,加纯化水溶解至1 000 ml,过滤,分装至试管中,于121℃,20 min 高压蒸汽灭菌后备用。取磷酸二氢钾3.56 g、磷酸氢二钠7.23 g、氯化钠4.3 g、蛋白胨1 g,加纯化水1 000 ml^[4],然后加热溶解,过滤,分装至试管中,于121℃,20 min 高压蒸汽灭菌后备用^[5],制得pH 7.0 氯化钠-蛋白胨缓冲液。

1.1.3 试验菌悬液的制备。将未用的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、绿脓杆菌储存于冰箱中,在试验前1 d取出,接种于营养琼脂斜面,置于32.5℃培养箱中培养24 h,取出营养琼脂斜面用无菌接种环刮出3种试验菌,分别放入营养肉汤

中,摇匀,放入30~35℃培养箱中培养24 h。取出培养好的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、绿脓杆菌的营养肉汤培养物1 ml,用浓度0.9%无菌氯化钠溶液10倍稀释至 $10^{-5} \sim 10^{-7}$,浓度达50~100 CFU/ml,经活菌计数后备用。

1.2 方法

1.2.1 消毒剂的配置。将苯扎溴铵消毒剂用经灭菌的纯化水稀释成下列不同浓度,即0.05%、0.08%、0.10%、0.12%、0.15%、0.20%。

1.2.2 浓度0.10%苯扎溴铵消毒液杀菌试验。取灭菌试管,先加入1 ml 试验菌悬液,再加入1 ml 浓度0.10%苯扎溴铵消毒液,混匀,立即开始用秒表记录时间,5 min 时移植入营养肉汤培养液中。其余10、15 min 组的操作同上,但应注意加菌液与接种移植时要严格掌握时间,不超过规定时间 ± 5 s。然后,将3组培养液置于32.5℃培养48 h,观察结果。若培养液呈浑浊者,则为阳性,表示有菌生长,记为“+”号;若培养液呈澄清透明者,表示无菌生长,则为阴性,记为“-”号。同时,做平行试验。

1.2.3 不同浓度的苯扎溴铵消毒液杀菌试验。取灭菌的试管,先加入1 ml 营养肉汤培养基,再加入1 ml “1.2.1”中不同浓度的苯扎溴铵消毒液,最后加入0.1 ml 金黄色葡萄球菌的菌悬液,混和均匀。将试管置于32.5℃培养48 h后,观察结果。若培养后呈澄清状态,则表明该管无菌生长;若培养后呈现浑浊状态,则表明该管有菌生长。从无菌生长的试管中找出最低消毒剂浓度的试管,即为最低抑菌浓度。

2 结果与分析

2.1 苯扎溴铵消毒液杀菌试验 分别对3种试验菌在每个时间段验证6株。从表1可以看出,当苯扎溴铵消毒剂对大肠杆菌作用5、10、15 min 时,分别只有1、1、3株显示抑菌作用;对绿脓杆菌作用5、10、15 min 时,分别只有0、1、2株显示抑菌作用;对金黄色葡萄球菌作用5、10、15 min 时,分别有2、6、6株显示抑菌作用。由此可知,苯扎溴铵消毒剂对大肠杆菌

和绿脓杆菌均没有显示出抑菌效果,对金色葡萄球菌显示出抑菌效果。苯扎溴铵消毒剂作用于金黄色葡萄球菌的时间为 5 min 时,灭菌率达 33.3%;作用 10、15 min 时,苯扎溴铵消毒剂对金黄色葡萄球菌有完全的杀菌效果。所以,苯扎溴铵消毒剂对金黄色葡萄球菌作用时间为 10 min 以上时具有完全的杀菌效果。

表 1 苯扎溴铵消毒液杀菌试验结果

菌种	作用时间 min	试验菌株号					
		1	2	3	4	5	6
金色葡萄球菌	5	+	-	+	+	-	+
	10	-	-	-	-	-	-
	15	-	-	-	-	-	-
大肠杆菌	5	+	+	+	-	+	+
	10	+	+	+	+	-	+
	15	+	-	+	-	+	-
绿脓杆菌	5	+	+	+	+	+	+
	10	-	+	+	+	+	+
	15	+	+	-	+	-	+

注:“+”号表示有菌生长;“-”号表示无菌生长。

2.2 不同浓度的苯扎溴铵消毒液杀菌试验 从表 2 可以看出,试验共测金黄色葡萄球菌 9 株。当苯扎溴铵消毒液浓度 $\leq 0.05\%$ 时,不能杀灭金黄色葡萄球菌;当苯扎溴铵消毒液浓度为 0.08% 时,有 5 株金黄色葡萄球菌有耐药性;当苯扎溴铵消毒液浓度为 0.10% 时,还有 1 株金黄色葡萄球菌有耐药性;当苯扎溴铵消毒液浓度 $\geq 0.12\%$ 时,所有菌株都被杀灭。所以,当用苯扎溴铵消毒液杀灭金黄色葡萄球菌时,选择浓度大于 0.10% 时可杀灭全部菌株。

3 结论

苯扎溴铵为季铵盐阳离子表面活性广谱杀菌剂,能降低水溶液表面张力,改变细胞膜的通透性,使得细菌蛋白质变性。其分子结构中的疏水基因与亲水基因可分别渗入细胞浆膜的类脂质和蛋白质层,使细菌的通透性发生变化,导致细胞内物质流失而使细菌死亡。研究表明,在不了解消毒剂的性状、作用机理的情况下,不能随意使用消毒剂对细菌进行消毒,如苯扎溴铵消毒剂并不是对每种细菌都具有杀菌作用,只显示对金黄色葡萄球菌具有杀菌效果,苯扎溴铵浓度大于 0.10% 且作用时间大于 10 min 时杀菌效果良好。这为在今后的使用过程避免了盲目性。

表 2 不同浓度苯扎溴铵消毒液对金黄色葡萄球菌作用结果

苯扎溴 铵浓度	试验菌株号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.05	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.08	+	-	+	-	+	+	-	+	-
0.10	-	-	-	-	-	+	-	-	-
0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注:“+”号表示有菌生长;“-”号表示无菌生长。

参考文献

- [1] 彭义刚,王秀云,都国基. 苯扎溴铵消毒液抑菌试验及应用效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2006,23(5):397.
- [2] 马绪荣,苏德模. 药品微生物学检测手册[K]. 北京:科学出版社,2000.
- [3] 陈德源. 医学微生物学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,1996.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [5] 汪德福. 微生物检测验证技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2005.
- [6] ent cycling in a Douglas-fir ecosystem[J]. Canadian Journal of Forest Research,1983,13(2):219-232.
- [7] MEHARG A A,KILLHAM K A. A novel method of quantifying root exudation in the presence of soil microflora[J]. Plant and Soil,1991,133: 111-116.
- [8] BRANT J B,MYROLD D D. Root controls on soil microbial community structure in forest soils[J]. Oecologia,2006,148(4):650-659.
- [9] MCDONNELL M J,PICKETT S T A,Groffman P, et al. Ecosystem processes along the urban-to-rural gradient[J]. Urban Ecosystems,1997,1(1):21-36.
- [10] LEE K E,PANKHURST C E. Soil organisms and sustainable productivity[J]. Australian Journal of Soil Research,1992,30(6):855-892.
- [11] KAYE J P,MCCULLEY R L,BURKE I C. Carbon fluxes,nitrogen cycling,and soil microbial communities in adjacent urban,native and agricultural ecosystems[J]. Global Change Biology,2005,11(4):575-587.
- [12] TAKAHASHI T,AMANO Y,KUCHIMURA K, et al. Carbon content of soil in urban parks in Tokyo,Japan[J]. Landscape and Ecological Engineering,2008,4(2):139-142.

(上接第 6529 页)

- [160] PATAKI D E,XU T,LUO Y Q, et al. Inferring biogenic and anthropogenic carbon dioxide sources across an urban to rural gradient[J]. Oecologia,2007,152(2):307-322.
- [161] LORENZ K,LAL R. Biogeochemical C and N cycles in urban soils[J]. Environmental International,2009,35(1):1-8.
- [162] POUYAT R V,YESILONIS I D,NOWAK D J. Carbon storage by urban soils in the United States[J]. Journal of Environmental Quality,2006,35(4):1566-1575.
- [163] GRAYSTON S J,VAUGHAN D,JONES D. Rhizosphere carbon flow in trees,in comparison with annual plants; the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability[J]. Applied Soil Ecology,1997,5(1):29-56.
- [164] YOUNG I M. Biophysical interactions at the root \pm soil interface: a review[J]. Journal of Agricultural Science,1998,130(1):1-7.
- [165] FARRAR J,HAWES M,JONES D, et al. How roots control the flux of carbon to the rhizosphere[J]. Ecology,2003,84(4):827-837.
- [166] FOGEL R,HUNT G. Contribution of mycorrhizae and soil fungi to nutri-