

柠檬酸与热力协同杀灭医院常见感染菌的效果研究

张丽蓉 邓金花 宋金武 黄报亮 广东环凯微生物科技有限公司 (广东广州 510663)

文章编号: 1006-6586(2017)23-0150-03

中图分类号: R187

文献标识码: A

内容提要: 目的: 观察柠檬酸消毒液与不同热力协同杀灭医用常见感染菌的效果, 为血液透析机及其他耐热医疗设备的消毒提供更全面的依据。方法: 采用载体浸泡定量杀菌实验方法, 对柠檬酸消毒液与不同热力协同作用对医院常见感染菌的杀菌效果进行比较。结果: 将含 8850mg/L 的柠檬酸消毒液分别加温至 50°C 作用 30min 和加温至 60°C 作用 10min, 对肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、乙型溶血性链球菌和粪肠球菌的平均杀灭对数值均 >3.00, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值分别为 1.94 和 1.33。将含 8850mg/L 的柠檬酸消毒液加温至 70°C 作用 30min, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值为 5.96。将含 8850mg/L 的柠檬酸消毒液加温至 80°C 作用 10min, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值为 5.94。结论: 柠檬酸消毒液加温至 50°C 时, 对医院常见感染菌具有良好的协同杀灭作用, 加温至 70°C 时, 对枯草杆菌黑色变种芽孢具有良好的协同杀灭作用。

关键词: 柠檬酸 热力 载体定量法 杀菌效果

Study on Combined Killing Common Nosocomial Infectious Bacteria Effect of Citric Acid and Heat

ZHANG Li-rong DENG Jin-hua SONG Jin-wu HUANG Bao-liang Guangdong Huankai Microbial Sci.&Tech. Co., Ltd. (Guangdong Guangzhou 510663)

Abstract: *Objective:* To study the sterilizing effect of citric acid disinfectant and different heat in the killing of common nosocomial infectious bacteria, provides a more comprehensive basis for practical disinfection of hemodialysis machine and other heat-resistant medical equipment. *Methods:* The carrier immersion quantitative germicidal method was used to comparison of the sterilizing effects of citric acid disinfectant and different heat in the killing of common nosocomial infectious bacteria. *Results:* The average killing logarithm values of *Klebsiella Pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pyogenes* and *Enterococcus faecalis* spores to citric acid disinfectant with the concentration of 8850mg/L for 30min when heated to 50°C or for 10min when heated to 60°C were higher than 3.00, the average killing logarithm values of *Bacillus subtilis var.niger* were 1.94 and 1.33. The average killing logarithm values of *Bacillus subtilis var.niger* spores to citric acid disinfectant with the concentration of 8850mg/L for 30min when heated to 70°C was 5.96, The average killing logarithm values of *Bacillus subtilis var. niger* spores to citric acid disinfectant with the concentration of 8850mg/L for 10min when heated to 80°C was 5.94. *Conclusion:* When heat up to 50°C, citric acid disinfectant has good synergistic effect on common nosocomial infectious bacteria; heat up to 70°C, it has good synergistic effect on *Bacillus subtilis var.niger*.

Key words: citric acid, heat, carrier quantitative method, sterilizing effect

DOI:10.15971/j.cnki.cmdi.2017.23.073

近年来,血液透析引起的感染常有报道,究其原因仍然是血液透析机与透析器消毒不到位,故透析治疗结束后进行有效的管路消毒显得尤为重要^[1]。由于目前广泛使用的碳酸氢钠透析液在管路中会产生钙的沉淀,而柠檬酸具有很好的溶解作用,同时柠檬酸为食品添加剂或医药化工原料,毒性低,无刺激性,所以近年来将其与热力协同用于血液透析机管路消毒也逐渐广泛,其主要杀菌效果可靠、稳定性好、腐蚀性小、使用安全等,可用于耐热器械的清洗、脱钙和消毒^[2,3]。但目前对柠檬酸消毒液与热力协同杀菌作用的研究比较多的是固定在 80°C 和在血液透析机上的消毒,对其他

热力温度下和医疗设备的消毒研究比较少。本研究旨在比较柠檬酸消毒液在不同热力协同作用下对医院常见感染菌的杀菌效果,为血液透析机的实际消毒提供更全面的依据,同时为其他耐热医疗器械的消毒提供可行性的参考。现将结果报告如下。

1. 材料与方法

1.1 一般材料

实验用柠檬酸消毒液由广东环凯微生物科技有限公司提

收稿日期: 2017-09-25

作者简介: 张丽蓉, 助理工程师, 从事微生物安全监测与控制产品的研究工作; 邓金花, 通讯作者。

基金项目: 广州市科技项目(201610010172)。

供,实验时,用无菌标准硬水配制成不同浓度液体,现配现用。

实验指示菌为肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella Pneumoniae*) (CMCC 46117), 鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) (ATCC 19606)、乙型溶血性链球菌 (*Streptococcus pyogens*) (ATCC 21059)、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) (ATCC 29212) 和枯草杆菌黑色变种芽孢 (*Bacillus subtilis var.niger*) (ATCC 9372), 均由广东省微生物菌种保藏中心提供。

染菌载体用灭菌的不锈钢圆片。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液制备

将各实验菌种经过分离培养,取典型菌落接种营养琼脂培养基斜面,培养24h,用其新鲜斜面培养物配制实验菌悬液。枯草杆菌黑色变种芽孢经纯化分离单个菌落,用营养肉汤进行增菌培养,按照2002版《消毒技术规范》^[4]中规定的细菌芽孢培养程序,制备出细菌芽孢悬液,用含1000mg/L胰蛋白胨生理盐水(TPS)将芽孢悬液稀释配制成含菌量为 $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^8$ cfu/mL。

1.2.2 菌片制备

取1.2.1制备的菌悬液10 μ L分别滴染于无菌脱脂不锈钢圆片上,置37 $^{\circ}$ C温箱内干燥备用。

1.2.3 中和剂鉴定实验

实验菌以肺炎克雷伯菌和枯草杆菌黑色变种芽孢为代表,实验设6组,按照2002版《消毒技术规范》中规定的中和剂鉴定实验程序进行实验。结果,以第1组无菌生长或菌数远少于第2组;第2组菌数超过5cfu/mL;第3、4、5组菌数为 $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^8$ cfu/mL,且组间菌落数误差小于15%;第6组不长菌,表明所选中和剂及其浓度适宜。实验重复2次。

1.2.4 载体浸泡定量杀菌实验

在50 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C、70 $^{\circ}$ C和80 $^{\circ}$ C水浴条件下进行,按1片菌片5mL的用量,将柠檬酸溶液加入无菌小平皿中(阳性对照用稀释液),加入预先制备的菌片,待菌药相互作用至各预定时间,用无菌镊子将菌片分别移入装有5.0mL中和剂的试管中,中和作用10min,振摇洗脱,使中和作用充分。吸取1.0mL样液用倾注法接种,待培养基凝固后置于37 $^{\circ}$ C培养,观察结果(对细菌繁殖体培养24-48h观察最终结果,对枯草杆菌黑色变种芽孢培养72h观察最终结果),计数平板菌落数,计算平均杀灭对数值。实验重复3次。

2. 结果

2.1 中和剂鉴定实验结果

结果表明,用含10g/L吐温80 $^{\circ}$ C组成的磷酸盐缓冲液

拓展人脉 赢得商机



迈阿密, 佛罗里达
通往拉美
加勒比和全世界的大门

医疗设备制药原料
和医疗无菌包装博览会

2018年10月23-24日
美国 佛罗里达州 迈阿密

媒体赞助商



参会/展览联系方式: 网站: www.ImmexLS.com
电子邮件: Ian@immexls.com
电话: (941)320-3216

中国代理负责人
姜萍萍: 18621105577

www.ImmexLS.com
ian@immexls.com



(PBS) 作为中和剂, 可有效中和柠檬酸最高实验浓度溶液对肺炎克雷伯菌和枯草杆菌黑色变种芽孢的残余作用, 且中和剂和中和产物对实验菌及培养基均无影响 (表 1)。

2.2 载体浸泡定量杀菌实验

载体实验表明, 将浓度为 8850mg/L 柠檬酸溶液加温至 50°C 作用 30min 和加温至 60°C 作用 10min, 对肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、乙型溶血性链球菌和粪肠球菌的平均杀灭对数值均 >3, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值为 1.94 和 1.33。将含 8850mg/L 的柠檬酸溶液加温至 70°C 作用 30min, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值为 5.96。将含 8850mg/L 的柠檬酸溶液加温至 80°C 作用 10min, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值为 5.94 (表 2)。

3. 讨论

加热可以提高化学消毒剂的杀菌活性、可扩大杀菌谱、加快杀菌速度, 这已经得到多数研究证实^[5]。本研究结果表明, 将柠檬酸消毒液加温至 50°C 作用 30min 或 60°C 作用 10min, 对医院常见感染菌具有良好的协同杀灭作用, 且随温度升高杀灭医院常见感染菌的作用明显增强; 而要对枯草杆菌黑色变种芽孢具有良好的协同杀灭作用, 必须要加温到 60°C 作用 60min 或 70°C 作用 30min 或 80°C 作用 10min 才能得以实现。柠檬酸具有一定抗菌作用, 杀菌力较弱, 不可直接用作消毒剂, 但在加热条件下便能显示出较强的杀菌作用, 热力是促进柠檬酸杀菌效果的重要因素, 随着温度的升高, 微生物受到热力的作用, 活动加速且细胞外壳的通透性改变, 导致胞膜功能损伤而使小分子物质及降解的核糖体漏出, 柠檬酸消毒液的分子运动也会改变, 渗透性增高, 杀菌效果增强^[6,7]。

医疗水平的快速发展带来了医疗设备的不断推陈出新, 新的医疗设备不仅有新的功能, 也会采用新的材料、新的操作方法、新的结构, 而医院的设备消毒也需要有更加科学的方法。科学的消毒方法不仅能够达到良好的消毒效果而且可以保护设备的性能, 延长设备的使用寿命。所以综上所述,

表 1. 中和剂鉴定实验结果

组别	各组平均回收菌数 (cfu/mL)	
	肺炎克雷伯菌	枯草杆菌黑色变种芽孢
1	0	0
2	38	16
3	302 000 000	188 000 000
4	300 000 000	185 000 000
5	298 000 000	189 000 000
6	0	0

表 2. 柠檬酸与不同热力协同作用下杀菌实验效果

实验菌	作用温度 (°C)	作用不同时间 (min) 平均杀灭对数值				阳性对照组菌数对数值
		10	20	30	60	
肺炎克雷伯菌	50	1.94	2.96	3.81	5.38	6.04
	60	4.96	5.49	6.04	6.04	
	70	6.04	6.04	6.04	6.04	
	80	6.04	6.04	6.04	6.04	
鲍曼不动杆菌	50	1.75	2.87	3.70	5.04	6.13
	60	5.00	5.25	6.13	6.13	
	70	6.13	6.13	6.13	6.13	
	80	6.13	6.13	6.13	6.13	
乙型溶血性链球菌	50	1.92	2.94	3.97	5.29	5.96
	60	4.88	5.64	5.96	5.96	
	70	5.96	5.96	5.96	5.96	
	80	5.96	5.96	5.96	5.96	
粪肠球菌	50	2.03	2.98	4.04	5.37	6.09
	60	5.01	5.73	6.09	6.09	
	70	6.09	6.09	6.09	6.09	
	80	6.09	6.09	6.09	6.09	
枯草杆菌黑色变种芽孢	50	1.01	1.24	1.94	2.32	6.34
	60	1.33	1.98	2.65	3.42	
	70	2.34	2.95	5.96	6.14	
	80	5.94	6.14	6.34	6.34	

医院耐热医疗设备的消毒可以根据实际情况, 综合操作、保养、机器故障率、能耗等多方面因素, 选择科学的消毒方法, 以及合适的温度、时间等参数。

参考文献

- [1] 陈维, 宋金武, 邓金花, 等. 一种血液透析机消毒专用过氧乙酸的杀菌效果观察 [J]. 中国消毒学杂志, 2014,31(4):336.
- [2] 林秋蝉, 吴清平, 邓金花, 等. 比较两种方法测定柠檬酸与热力协同杀菌作用 [J]. 中国消毒学杂志, 2013,30(2):103.
- [3] 黎燕红, 麦志芹, 梁巧媚, 等. 血液透析机旁路应用三种消毒法的效果对比分析 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2016,26(9):99-100.
- [4] 卫生部卫生法制与监督司. 消毒技术规范 [S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002.
- [5] 宁培勇, 张磊, 丁津华, 等. 滤过式柠檬酸清洗棒对血液透析机消毒效果观察 [J]. 中国消毒学杂志, 2015,32(4):331.
- [6] Liu CY,Liao CH,Chen YC,et al.Changing epidemiology of nosocomial bloodstream infections in 11 teaching hospitals in Taiwan between 1993 and 2006[J].J Microbiol Immunol Infect,2010,43(5):416-429.
- [7] Kalantar-Zadeh K,Kilpatrick RD,McAllister CJ,et al.Hepatitis C virus and death risk in hemodialysis patients[J].J Am Soc Nephrol,2007,18(5):1584-1593.