

【论著】

过氧化氢杀菌试验中泡沫的影响及
试验方法的研究

雷毅,董小峰,陈宝宝,聂守民,蒋丽娟,张晓玲

(陕西省疾病预防控制中心,陕西西安 710054)

摘要 目的 研究杀菌试验中产生的泡沫对过氧化氢消毒液杀菌效果的影响及其试验方法。**方法** 通过比较载体定量杀菌实验和悬液定量杀菌实验的方法,对实验中产生的泡沫影响过氧化氢消毒液杀菌的效果进行观察。**结果** 不锈钢片载体法定量杀菌试验中,过氧化氢消毒液能与目标细菌充分接触和作用,可以避免泡沫的影响,能准确评价常用浓度过氧化氢消毒液的杀菌性能。而布片、纸片载体可吸附大量气泡,悬液试验同样产生气泡影响试验效果。**结论** 针对某些易被触酶分解产生泡沫的过氧化氢消毒剂,采用不锈钢菌片浸泡定量杀菌试验法评估其杀菌效果。

关键词 过氧化氢;杀菌效果;泡沫;不锈钢片载体法

中图分类号:R187

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)02-0087-02

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.02.003

Study on the influence and elimination of foam in hydrogen peroxide germicidal test

LEI Yi, DONG Xiao-feng, CHEN Bao-bao, NIE Shou-min, JIANG Li-juan, ZHANG Xiao-ling

(Shaanxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Xi'an Shaanxi 710054, China)

Abstract Objective To study the influence of the foam on the germicidal effects of hydrogen peroxide and the method of elimination. **Methods** Carrier quantitative test and suspension quantitative test were used to observe the influence of foam on germicidal effect of hydrogen peroxide. **Results** By carrier quantitative germicidal test with the stainless steel as the carrier, the hydrogen peroxide could fully interact with the target bacteria, avoiding the effects of the foam, so that we could assess the antiseptic performance of hydrogen peroxide accurately. **Conclusion** For some hydrogen peroxide disinfectants which are easy to be dissociated by thixidase to produce foam, the quantitative germicidal test method of soaking stainless steel bacteria tablets could be used to evaluate its germicidal effect.

Key words hydrogen peroxide; germicidal effect; foam; stainless steel carrier

过氧化氢属氧化性高效消毒剂,可杀灭包括细菌芽孢在内的各种微生物^[1,2],分解产物为氧气和水。定量杀菌效果是评价消毒剂杀菌性能的常用方法,包括载体定量杀菌实验和悬液定量杀菌实验^[3],其中载体定量杀菌实验所用的载体包括布片、滤纸片和不锈钢片。在实际实验工作中发现,过氧化氢消毒液与某些细菌繁殖体菌悬液混合后会产生泡沫,从而影响杀菌效果。为观察杀菌实验中泡沫对过氧化氢消毒液影响,本研究载体杀菌实验中不同载体消除泡沫的作用,同时与悬液定量杀菌实验作平行比较观察。

1 材料与方法

1.1 试验材料

实验用过氧化氢消毒液原液含过氧化氢为

584 g/L与其他赋形剂组成液体制剂,为无色透明溶液,无不良气味,pH 值为 1.75。

实验指标菌为金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)和大肠杆菌(8099),均由中国微生物菌种保藏中心提供。

试剂主要包括中和剂(含 10 g/L 硫代硫酸钠 + 10 g/L 吐温 - 80 + 5 g/L 卵磷脂的磷酸盐缓冲液^[4-6],并按 2002 年版《消毒技术规范》规定的悬液定量实验程序进行了中和剂效果鉴定实验证明有效(实验操作略);30 g/L 牛血清白蛋白溶液(BSA);胰蛋白胍大豆肉汤培养基(TSB)、稀释液(TPS)、胰蛋白胍大豆琼脂培养基(TSA)和磷酸盐缓冲液(PBS)。

染菌载体包括规格为 10mm × 10mm 的布片和滤纸片以及直径为 12 mm 的不锈钢圆形片,灭菌后备用。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液及染菌载体制备 取标准菌株的典型菌落接种营养琼脂培养基新鲜培养物,经 37 °C 培养 24 h,用 TPS 洗下斜面上菌苔,转移到无菌试管

【作者简介】雷毅(1985-),男,陕西渭南人,硕士,主管技师,从事消毒检验及研究工作。

【通讯作者】张晓玲,Email:88668444@qq.com

中,经充分震荡混匀,用TPS稀释成含菌量为 1×10^8 cfu/ml ~ 5×10^8 cfu/ml,使用时与30 g/L的BSA等量混合备用。取各菌悬液10 μ l滴染于布片、滤纸片和不锈钢片载体上,自然晾干后备用,确保回收菌数为 1×10^6 ~ 5×10^6 cfu/片。

1.2.2 悬液定量杀菌试验 实验在20 $^{\circ}$ C水浴条件下进行,首先对消毒液和菌悬液恒温5 min。在无菌试管内加入1.25倍浓度的消毒液4 ml(阳性对照为TSP)再加入菌悬液1 ml,混匀并立即计时。作用至预定时间,吸取0.5 ml混合样液加入到含有4.5 ml中和剂的试管中,混匀中和作用10 min。然后直接混匀的样液以平板倾注法接种培养,作活菌计数,计算杀灭对数值。每组实验试验进行3次。

1.2.3 载体定量杀菌试验 试验确保在20 $^{\circ}$ C水浴条件下恒温5 min,按每菌片5.0 ml的量在无菌平皿内加入消毒液(阳性对照为TPS),逐片放入染菌载体,并使之浸没于消毒液中,并计时。作用至预定时间,将染菌载体取出分别移入含5.0 ml中和剂的试管中,中和作用10 min。经充分震荡洗脱,取洗脱液作倾注法接种培养,进行活菌计数,计算杀灭对数值。试验进行3次。

2 结果

2.1 实验中泡沫观察结果

2.1.1 悬液定量杀菌实验结果 实验发现,过氧化氢消毒液与金黄色葡萄球菌悬液混合后,立即产生大量泡沫,泡沫可从试管口溢出;消毒液与大肠杆菌悬液混合后,产生少量泡沫,两种菌产生的泡沫量不同,但所产生的泡沫均使吸管无法准确吸取0.5 ml菌药混合液,导致后续试验无法精确进行。

2.1.2 载体定量杀菌试验结果 实验发现,布片和滤纸片作为染菌载体,滴染金黄色葡萄球菌的布片和纸片载体浸没于浓度为30.0 g/L的过氧化氢消毒液后,立即产生大量气泡并且附着在布片、滤纸下表面,使载体漂浮在消毒液表层,不仅影响载体与消毒液接触面,也影响准确计时;滴染大肠杆菌的布片和纸片载体浸没于相同浓度的过氧化氢消毒液后,产生泡沫较少且速度较慢,测试的准确性可能会有一定的影响。而滴染有上述两种细菌的不锈钢片浸没于过氧化氢消毒液中基本无泡沫附着。

2.2 杀菌实验结果

选择不锈钢染菌片进行载体定量杀菌实验。结果显示,用浓度为30.0 g/L的过氧化氢消毒液作用30 min,对不锈钢载体上大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的杀灭对数值均 >3.00 (表1)。

3 讨论

作为一种自身保护机制,所有的需氧菌和大部

分兼性厌氧菌都携带有过氧化氢分解酶(触酶),金黄色葡萄球菌和大肠杆菌触酶试验均为阳性,菌体表面携带的过氧化氢酶能迅速分解消毒剂成分过氧化氢而产生气体物质,形成泡沫。泡沫阻碍消毒液与目标菌充分接触和作用,且影响液体的准确吸取,导致无法获取残留菌的真实数量,因而普通的悬液定量杀菌试验不能精确评价过氧化氢的杀菌能力,此与魏兰芬等报道的结果一致^[7]。

表1 过氧化氢消毒液对不锈钢载体上细菌杀灭效果

实验指标菌	作用不同时间(min)平均杀灭对数值			阳性对照菌数对数值
	15	30	45	
金黄色葡萄球菌	2.48	6.52	6.52	6.52
大肠杆菌	2.63	6.61	6.61	6.61

载体定量杀菌试验分为布片法、滤纸片法和不锈钢片法等。布片和滤纸片定量杀菌试验中发现,含有金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的菌片放入过氧化氢后,产生的气泡会附着在布片下面,使布片漂浮在消毒液液面,阻碍菌体与过氧化氢充分接触,同样影响杀菌试验的准确性。不锈钢片载体定量杀菌试验中,不锈钢载体产生的气泡几乎不附着在不锈钢片上,气泡漂浮到液面将气体释放到空气中,菌体与过氧化氢充分接触。我国2002年版《消毒技术规范》规定,不锈钢载体法仅用于灭菌剂的定性灭菌试验,但在实际使用中,过氧化氢作为消毒剂,常用于不锈钢餐具、医疗器械、物体表面等消毒,不锈钢片载体法的杀菌试验结果可满足金属等密度较大的材质实际使用要求。为了避免泡沫对过氧化氢定量杀菌能力的影响,针对细菌触酶容易发挥作用的过氧化氢消毒液,建议在实验室评价杀菌效果时,根据实际使用情况,采用不锈钢等密度较大材质制备的载体法,考虑微生物存在的触酶活性,实际使用剂量应在实验室有效剂量基础上,适当提高作用浓度或延长作用时间,以确保消毒效果。

参考文献

- [1] Boyce JM, Havill NL. Evaluation of a new hydrogen peroxide wipe disinfectant[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2013, 34(5): 521-523.
- [2] 薛广波. 现代消毒学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 369.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- [4] 徐燕, 谈智, 丁萍, 等. 紫外线与过氧化氢协同对乙型肝炎表面抗原的破坏作用[J]. 中国消毒学杂志, 1998, 15(3): 166-167.
- [5] 孙巍, 许欣, 裴晓芳. 一种复方过氧化氢消毒液性能观察[J]. 中国消毒学杂志, 2006, 23(3): 242-244.
- [6] 杨洪, 高文凤, 刘衡川. 过氧化氢消毒液的中和剂筛选试验研究[J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(2): 132-136.
- [7] 魏兰芬, 潘协商, 许激, 等. 泡沫对过氧化氢液体杀灭金黄色葡萄球菌效果的影响及消除[J]. 中国消毒学杂志, 2015, 32(6): 542-544.