

微生物教学实验室中不同有效成分洗手/消毒液对手卫生效果的比较分析

修皓¹ 徐炳轩¹ 刘瑜² 刘峻豪³ 姚星宇¹ 吴坤艺¹ 权云帆^{1*}

(1. 海南医科大学热带医学院, 海南海口 571199; 2. 上海千麦博米乐医学检验所有限公司, 上海 201100; 3. 四川省泸州市合江县健欣兴康医院, 四川 泸州 646200)

摘要: **目的** 评估不同手部抑菌消毒产品对微生物实验室操作人员手部清洁的效果。 **方法** 微生物实验室工作人员分别使用含有不同主要抑菌成分的洗手液/消毒液对手部进行消毒处理, 对消毒前后培养出的菌落样本进行菌落种类计数、革兰染色和生化、药敏鉴定, 并对检验结果进行整合、对比和分析。 **结果** 在所研究的实验条件下, 主要成分为63%–75%(V/V)乙醇和0.45%–0.55%(W/N)醋酸氯己定的品牌8对大多数细菌有着良好的消毒效果; 主要抑菌成分为0.18%–0.22%(W/W)对氯间二甲苯酚的品牌6和0.18%–0.22%(W/W)吡罗克酮乙醇胺盐的品牌7的消毒效果相对较差。含0.27%–0.33%(W/W)水杨酸的品牌5和含0.32%–0.38%(W/W)水杨酸的品牌1对特定菌种有较好的消毒效果; 含0.000126%–0.000154%(W/W)银离子的品牌2效果较一般, 而无抑菌成分的洗手液对大多数菌种皆无明显抑制作用。 **结论** 在所研究的微生物实验室条件下, 主要成分为63%–75%(V/V)乙醇和0.45%–0.55%(W/N)醋酸氯己定的免洗消毒液抑菌效果最好, 不同品牌洗手液的效果均不如免洗消毒液, 且洗手/消毒程序不影响免洗消毒液的抑菌效果。

关键词: 手卫生; 洗手液; 抑菌效果

中图分类号: Q93-3

文献标识码: B

文章编号: 3006-0036(2024)05-0001-05

DOI: 10.12462/FMR.issn3006-0036.2024.05.001

Comparative Analysis of Hand Sanitizer with Different Active Ingredients in Hand Hygiene Effect in Microbiology Teaching Lab

Hao Xiu¹, Bingxuan Xu¹, Yu Liu², Junhao Liu³, Xingyu Yao¹, Kunyi Wu¹, Yunfan Quan^{1*}

(1. School of Tropical Medicine, Hainan Medical University, Haikou, Hainan 571199; 2 Shanghai Qianmai Bomile Medical Laboratory Co., Ltd., Shanghai 201100; 3. Jianxin Xingkang Hospital, Luzhou, Sichuan 646200)

Abstract: **Objectives** This study was aimed to evaluate the effect of different antibacterial hand disinfection products on hand cleaning of microbiology laboratory operators. **Methods** The microbiology laboratory operators used hand sanitizer/disinfectant containing different main antibacterial components to wash hands respectively. The fingers were touched on the media and then, the media was cultured at 37°C for overnight. The species of the bacterial colony were counted. Bacterial colonies before and after disinfection were carried out gram staining and drug sensitivity identification. **Results** The results showed that under the experimental conditions, brand 8 with the main components of 63%–75% (V/V) ethanol and 0.45%–0.55% (W/N) chlorhexidine acetate had a good disinfection effect on most bacteria; brand 6 containing 0.18%–0.22% (W/W) of chloro-m-xylenol and brand 7 containing 0.18%–0.22% (W/W) of piroxone ethanolamine salt had relatively poor disinfection effect. Brand 5 containing 0.27%–0.33% (W/W) salicylic acid and brand 1 containing 0.32%–0.38% (W/W) salicylic acid had better disinfection effect on specific bacteria. Brand 2 containing 0.000126% to 0.000154% (W/W) silver ions was less effective, while hand sanitizers without antibacterial ingredients had no significant inhibitory effect on most strains. **Conclusion** Under the conditions of the microbiology laboratory, sanitizer with the main components of 63–75% (V/V) ethanol and 0.45%–0.55% (W/N) chlorhexidine acetate had the best bacteriostatic effect, and the effect of different brands of hand sanitizer was inferior to that of sanitizer, and the hand-washing/disinfection procedures did not affect the bacteriostatic effect of sanitizer.

Keywords: hand hygiene; hand sanitizer; bacteriostatic effect

作者简介: 修皓, 硕士研究生, 助理研究员, 研究方向为微生物基因表达调控; 徐炳轩, 本科, 研究方向为微生物; 刘瑜, 本科, 检验士, 研究方向为微生物学; 刘峻豪, 本科, 研究方向为病原微生物; 姚星宇, 本科; 吴坤艺, 本科。通讯作者: 权云帆, 硕士研究生, 高级实验师, 研究方向为微生物学。

基金项目: 海南省教育厅项目(Hnky2024ZD-13); 海南省高等学校教育教学改革研究项目(Hnjg2021-67)

洗手液是一种用来清洁手部的护肤清洁液,通过以机械摩擦和表面活性剂的作用,配合水流或不需要水来清除手上的污垢和附着的细菌^[1]。随着新型表面活性剂、特殊功能活性成分、功能性助剂等技术的发展,洗手液已经从最初只要清洗干净向多功能发展^[2]。不同类型洗手/消毒液的有效成分有所差异,其抑菌机制也不同。市面上现售的洗手液主要有效成分有:水杨酸、吡罗克酮乙醇胺盐、对氯间二甲苯酚、银离子、醋酸氯己定和乙醇^[3-8]。研究证明,多数疾病是从“手入”的,很多病原体都是通过手送入口中,或通过手与鼻、眼等部位接触而侵入机体,因此洗手成为预防疾病

的有效途径。而对于经常与细菌、真菌、病毒等密切接触的微生物实验室人员来说,实验后的手部清洁更加成为至关重要的环节。为验证微生物教学实验室中洗手液/手消毒液对手部清洁效果的有效性,现使用实验室所提供的不同市售品牌及成分的洗手液及手消毒液,对实验人员使用其前后手指按压平板所接种的细菌进行培养及鉴定,以验证其抑菌效果,报道如下。

1 材料

1.1 洗手液/手消毒液(新购入)9种

每种洗手液/消毒液有效抑菌成分见表1。

表1 9种洗手液/消毒液主要有效抑菌成分

洗手液/消毒液品牌	主要有效抑菌成分
品牌1(野菊花清爽洗手液)	非抑菌型
品牌1(抑菌洗手液)	0.32%~0.38%(W/W)水杨酸
品牌2(抑菌滋润洗手液)	0.000126%~0.000154%(W/W)银离子
品牌3(抑菌洗手液)	对氯间二甲苯酚(浓度不详)
品牌4(氨基酸泡沫洗手液)	非抑菌型
品牌5(健康抑菌洗手液)	0.27%~0.33%(W/W)水杨酸
品牌6(健康抑菌洗手液)	0.18%~0.22%(W/W)对氯间二甲苯酚
品牌7(健康抑菌洗手液)	0.18%~0.22%(W/W)吡罗克酮乙醇胺盐
品牌8(免洗手消毒液)	63%~75%(V/V)乙醇和0.45%~0.55%(W/N)醋酸氯己定

1.2 材料及设备

试剂耗材:NA营养琼脂培养基购于江门市凯林贸易有限公司(中国)、快速革兰氏染色液购于珠海贝索生物技术有限公司(中国)、盐酸二甲基对苯二胺化学释放剂试纸(氧化酶试剂纸)购于杭州滨和微生物试剂有限公司(中国)、DL-96STAPH、DL-96STREP和DL-96E细菌生化及药敏鉴定板购于珠海迪尔生物工程股份有限公司(中国)、无菌纱布、洁净载玻片、洁净试管、接种环、酒精灯、3%过氧化氢溶液、兔血浆、无菌生理盐水。设备:恒温培养箱、生物安全柜、37℃水浴箱。

2 方法

2.1 不同有效成分洗手液抑菌效果评价

选取含不同有效抑菌成分洗手液进行手部清洁,分别在洗手前后进行细菌培养。手部清洁方式及时间:

(1)免洗消毒液消毒操作

洗手/消毒前用手指随意触摸实验室实验台面或窗帘,五根手指按压普通琼脂培养基,于37℃培养24h观察菌落生长情况及种类;用免洗消毒液对手部进行消毒后,五根手指按压普

通琼脂培养基,于37℃培养24h观察菌落生长情况及种类。

(2)洗手液洗手操作

洗手/消毒前操作与上述免洗消毒液消毒操作一致;重复手指随意触摸实验室实验台面或窗帘动作后,采用严格的7步法进行手部清洁,手部清洁时间按洗手液说明,流水冲洗干净后,右手五根手指按压普通琼脂培养基,于37℃培养24h观察菌落生长情况及种类。

(3)新开封洗手液用生理盐水稀释后直接进行细菌培养。

2.2 洗手液开封时间对抑菌效果的影响

新开封的抑菌洗手液置于某一特定的位置,开封的当天及第7、14天分别用严格的7步法,手部清洁时间按洗手液说明进行手部清洁,分别检测手部清洁前后手部细菌培养情况统计菌落种类。

2.3 手部清洁步骤对手部消毒效果的评价

(1)在进行实验前,首先通过五根手指随意触摸实验室的实验台面或窗帘,随后按压在普通琼脂培养基上,并在37℃条件下培养24小时,以观察菌落的生长情况和种类。

(2)使用自来水并遵循严格的7步洗手法进行手部清

洁,清洁时间依据洗手液说明,流水冲洗干净后,再次用五根手指按压培养基,同样条件下培养观察。

(3)更换不同的洗手液或消毒液,重复上述严格的清洁步骤,并在清洁后按压培养基进行培养观察,以比较不同清洁方法的效果。

2.4 洗手液/消毒液洗手前后细菌种属鉴定

在进行不同有效成分洗手液抑菌效果评价的同时,将洗手前后平板上所有不同种类的菌落(根据形态和颜色判断)进行活化培养后进行革兰染色,革兰染色阳性菌进行触酶实验和血浆凝固酶实验,再用DL-96STAPH或DL-96STREP细菌生化及药敏鉴定板对细菌的种属进行鉴定;革兰染色阴性菌则进行氧化酶实验,再用DL96-E或DL-96NE细菌生化及药敏鉴定板对细菌的种属进行鉴定。

3 结果

3.1 不同有效成分洗手液/消毒液抑菌/杀菌效果评价

采用标准的七步洗手法洗手/消毒后,根据培养菌落的形态及颜色对菌落种类进行统计,从而对9种不同有效成分洗手液/消毒液的抑菌/杀菌效果进行评价,结果显示(表2):品牌8杀菌效果最好,无论何种消毒方式均能有很好的消毒效果,都能完全清除手部上的细菌;其他品牌的洗手液抑菌效果有所差异,其中品牌5效果较好仅次于品牌8,能较好地清除和抑制细菌的生长;品牌1、品牌2、品牌3和品牌7这4种洗手液有一定的抑菌作用;而品牌1、品牌4和品牌6的洗手液仅能达到清洁手部的作用,并不能抑制手部细菌生长。

3.2 洗手液/消毒液开封时间对抑菌效果的影响

新开封的抑菌洗手液置于某一特定的位置,开封的当天及第7、14天分别用严格的7步法,手部清洁时间按洗手液说明进行手部清洁,分别检测手部清洁前后手部细菌培养情况统计菌落种类。表2结果显示,3次实验前后实验结果几乎一致,同样是品牌8杀菌效果最好,都能完全清除手部上的细菌;而品牌1、品牌4和品牌6的洗手液的抑菌效果不佳,仅能达到清洁手部的作用,并不能抑制手部细菌生长;其他品牌的洗手液有一定的抑菌作用。结果提示,只要保存环境相对稳定符合说明书上的条件,一定时间内并不影响洗手液/消毒液的使用效果。

3.3 手部清洁步骤对手部消毒效果的评价

一般手部清洁步骤是将洗手液直接滴加到手心揉搓后进行洗手,为探究洗手后的清洁效果是由于清水冲洗产生的还是由于洗手液的抑菌效果。本研究将洗手步骤进行了改进,在用洗手液洗手前先严格采用七步洗手法用流水对

表2 不同品牌洗手/消毒液洗手/消毒后菌落种类统计

实验编号	洗手液/消毒液	洗手/消毒前				洗手/消毒后			
		第1次	第2次	第3次	平均	第1次	第2次	第3次	平均
0	品牌8(免洗消毒液)	4	3	2	3	0	0	0	0
1	品牌1(野菊花清爽洗手液)	2	3	2	2	2	2	2	2
2	品牌1(抑菌洗手液)	3	3	3	3	2	1	2	2
3	品牌3(抑菌洗手液)	3	1	2	2	2	1	1	1
4	品牌2(抑菌滋润洗手液)	3	4	2	3	2	2	1	2
5	品牌8(免洗消毒液)(消毒前清水洗手)	2	5	3	3	1	0	0	0
6	品牌4(氨基酸泡沫洗手液)	2	3	2	2	2	2	2	2
7	品牌5(健康抑菌洗手液)	3	3	2	3	2	1	1	1
8	品牌6(健康抑菌洗手液)	3	2	2	2	2	2	2	2
9	品牌7(健康抑菌洗手液)	3	3	3	3	2	2	3	2

手部进行冲洗,然后统计菌落种类。随后再用洗手液严格采用七步洗手法对手部进行冲洗,统计菌落种类。结果显示(表3):单纯的流水冲洗一定程度上也能够达到清洁手部的效果,其中品牌8的消毒效果最好,品牌1、品牌3和品牌5这3种洗手液有一定的抑菌作用;其他品牌的洗手液则没有达到相应的抑菌效果。该结果与不同有效成分洗手液抑菌效果评价部分的结果基本一致。

3.4 不同有效成分洗手液/消毒液抑菌/杀菌种属鉴定

选取表2中第1次实验结果每种洗手液/消毒液洗手前平板上所有不同种菌落(霉菌除外)进行活化培养后,进行革兰氏染色、触酶实验(阳性菌做)、氧化酶实验(阴性菌做)和血浆凝固酶实验(阳性菌做),革兰阳性菌根据触酶实验结果选用DL-96STAPH或DL-96STREP细菌生化及药敏鉴定板和血浆凝固酶实验结果对细菌进行菌种鉴定,革兰阴性菌根据氧化酶实验结果选用DL-96E或DL-96NE细菌生化及药敏鉴定板对细菌进行菌种鉴定。结果显示见表4:24个菌落中20个为葡萄球菌属,其中包含金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、华纳葡萄球菌、溶血葡萄球菌、路邓葡萄球菌5

表3 洗手步骤改良后不同洗手液/消毒液洗手/消毒后菌落种类统计

实验编号	洗手液/消毒液	洗手(消毒)前	清水洗手后	洗手(消毒)后
0	品牌8免洗消毒液	2	1	0
1	品牌1(野菊花清爽洗手液)	2	2	2
2	品牌1(抑菌洗手液)	3	3	2
3	品牌3(抑菌洗手液)	2	2	1
4	品牌2(抑菌滋润洗手液)	2	1	1
5	品牌8免洗消毒液(消毒前清水洗手)	3	1	0
6	品牌4(氨基酸泡沫洗手液)	2	2	2
7	品牌5(健康抑菌洗手液)	2	2	1
8	品牌6(健康抑菌洗手液)	2	2	2
9	品牌7(健康抑菌洗手液)	3	3	3

种,以及一种微球菌属:藤黄微球菌。有1株为革兰氏阴性杆菌的臭鼻克雷伯菌,另有2株革兰氏阳性杆菌。这些菌种基本上都是常见条件致病菌,是生活中普遍存在的,但是在一个室内环境中同时出现如此多不同的条件致病菌也是不常见,由此可见微生物实验室是一个比较危险的潜在致病区域,平常实验结束后应做好卫生清洁和消杀工作。

4 讨论

市面上的洗手液种类繁多,有抑菌型的也有非抑菌型的,徐蕾等对广州市市面销售的362份洗手液的检验数据进行统计分析,发现不合格率达3.6%,主要问题为pH项目不合格、总有效物偏低、重金属铅超标^[9]。这些洗手液是否真的能够达到相应的效果,是否适用于微生物实验室,还有待我们进一步验证。

手部消毒液的效果肯定是要比洗手液好,但是不同的手部消毒程序是否对消毒效果有影响,我们应该怎样规范微生物实验室的消毒程序,这也值得我们去探索。本研究发现,即使完全按照使用说明采用严格的七步洗手法,洗手时间和方法也均满足使用说明上的条件,仍然有很多洗手液的实际抑菌效果并不理想。所使用的8种洗手液中,仅有

品牌1、品牌3和品牌5这3种抑菌洗手液有较好的抑菌作用。不同洗手液的主要抑菌成分也有所差异,市面上现售的洗手液主要有效成分有:水杨酸、吡罗克酮乙醇胺盐、对氯间二甲苯酚、银离子、醋酸氯己定和乙醇^[10]。不同抑菌有效成分的抑菌原理不一样,但不外乎于抑制细菌代谢、抑制细胞功能、影响蛋白合成和使蛋白质变性等^[11]。在研究的9种洗手液/消毒液中,抑菌效果最好的是主要成分为63%–75%(V/V)乙醇和0.45%–0.55%(W/N)醋酸氯己定的品牌8,研究结果与焦西斌的研究基本一致^[12]。其次是含0.27%–0.33%(W/W)水杨酸的品牌5和含0.32%–0.38%(W/W)水杨酸的品牌3。其他主要成分为0.000126%–0.000154%(W/W)银离子的抑菌洗手液抑菌效果相对较差,而非抑菌型洗手液则无明显抑菌作用。田秀芳等的研究同样证明,含酒精的免洗消毒液抑菌效果最好,仅从菌落数来看,各种洗手液的抑菌效果均不乐观。但本研究是从菌落种类数入手,来判断洗手液的抑菌效果,相比从菌落数来比较抑菌效果,更加客观。因为研究表明在手上的菌种基本上为葡萄球菌属,为正常情况的常驻菌,为条件致病菌,一般不致病。研究表明,医护人员手上常驻菌群中葡萄球菌属占比最大,本研究的地点为医学院校的微生物教学实验室,环境与医院类似,研究结果也与胡娟等的研究相符。另外,洗手液抑菌率测试标准中未对测试温度、配制样品的水硬度等条件作出明确规定,不同洗手液在这些方面的测试条件不尽相同,绝大部分研究在测试洗手液抑菌效果时是用的洗手液原液直接作用于细菌,但本研究是实际使用洗手液观察洗手后抑菌效果,并非使用的原液,故本研究并不说明这些品牌的洗手液没有抑菌作用,仅能反映在本微生物实验室条件下,这些品牌洗手液的抑菌效果差异。

综上所述,主要成分为63%–75%(V/V)乙醇和0.45%–0.55%(W/N)醋酸氯己定的消毒液是微生物实验室的首选消毒液,在抑菌方面各品牌的洗手液抑菌效果均不如63%–75%(V/V)乙醇和0.45%–0.55%(W/N)醋酸氯己定的消毒液,但洗手液不仅仅有抑菌作用,同时还有一定的护理作用。故,建议微生物实验室在配备免洗消毒液的同时也可选用含0.27%–0.38%(W/W)水杨酸的抑菌型洗手液,不建议在微生物实验室配备非抑菌型洗手液,此外,研究还发现传统的手动水龙头开关处会有细菌沉积,洗手结束后再用洁净的手去关水龙头会使原本洁净的手再次被细菌污染,从而存在感染致病菌的风险。建议教学微生物实验室安装感应式或脚踏式水龙头。

表4 菌落种属鉴定

实验编号	革兰染色结果	触酶实验结果	氧化酶实验结果	血浆凝固酶实验结果	鉴定版结果	细菌形态、颜色
0-1	G+ 球	阳性	/	阳性	金黄色葡萄球菌	/
0-2	G+ 球	阳性	/	阴性	藤黄微球菌	菌落颜色: 荧光黄; 菌落形态: 中心凹陷
1-1	G+ 球	阳性	/	阴性	表皮葡萄球菌	/
1-2	G+ 球	阳性	/	阴性	华纳葡萄球菌	/
2-1	G+ 球	阳性	/	阴性	表皮葡萄球菌	/
2-2	G+ 球	阳性	/	阴性	华纳葡萄球菌	菌落颜色: 金黄
3-1	G- 杆		阴性		臭鼻克雷伯菌	/
3-2	G+ 球	阳性	/	阴性	溶血葡萄球菌	菌落颜色: 白色
	G+ 球	阳性	/	阴性	金黄色葡萄球菌	菌落颜色: 金黄
4-1	G+ 球	阳性	/	阴性	表皮葡萄球菌	/
4-2	G+ 球	阳性	/	阴性	表皮葡萄球菌	/
5-1	G+ 球(成串)	阳性	/	阴性	溶血葡萄球菌	菌落颜色: 金黄
5-2	G+ 杆	/	/	/	/	显微镜下形态: 短、粗
6-1	G+ 球(小)	阳性	/	阴性	表皮葡萄球菌	显微镜下形态: 小球型
6-2	G+ 球(大)	阳性	/	阳性(明显)	金黄色葡萄球菌厌氧亚种	菌落颜色: 荧光黄
7-1	G+ 球(小)	阳性	/	阳性	金黄色葡萄球菌	菌落颜色: 金黄
7-2	G+ 球(成串)	阳性	/	阴性	华纳葡萄球菌	/
8-1	G+ 球	阳性	/	阳性(明显)	路邓葡萄球菌	/
8-2	G+ 球	阴性	/	阳性(明显)	溶血葡萄球菌	菌落颜色: 白色
	G+ 球	阳性	/	阳性(明显)	金黄色葡萄球菌	菌落颜色: 金黄
8-3	G+ 球(大)	阳性	/	阳性(明显)	金黄色葡萄球菌厌氧亚种	显微镜下形态: 大球型, 成双/4个存在; 菌落颜色: 荧光黄
9-1	G+ 球	阳性	/	阳性(疑似)	表皮葡萄球菌	/
9-2	G+ 杆菌(瘦长, 成双)	/	/	阴性	/	显微镜下形态: 成双、瘦长
9-3	G+ 球	阳性	/	阳性(疑似)	华纳葡萄球菌	/

参考文献:

[1] 袁炳毅, 高志红. α -羟基酸及其在护肤品中的应用[J]. 日用化学工业, 1995, (04): 29-35.

[2] 周茜, 黄倩, 王红, 等. 免洗手液质量安全及标准现状分析[J]. 清洗世界, 2023, 39(07): 69-71.

[3] 郭佳雯, 刘晓楠, 张美智子, 等. 市售洗手液研发现状及进展[J]. 中国消毒学杂志, 2023, 40(06): 457-460.

[4] 郑国兴, 张春乐, 黄浩, 等. 水杨酸的抑酶与抑菌作用[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, (S1): 19-22.

[5] 陈冬芝, 许明力, 霍岩丽. 温和型去屑剂吡罗克酮乙醇胺盐的研究概述[J]. 日用化学品科学, 2021, 44(05): 40-44.

[6] Dubini F, Bellotti G M, Frangi A, et al. In vitro Antimycotic Activity and Nail Permeation Models of a Piroctone Olamine (Octopirox) Containing Transungual Water Soluble Technology[J]. Arzneimittelforschung, 2005, 55(8): 478-483.

[7] Young K, Petra A, Sabine B, et al. Increased in vivo efficacy of lenalidomide by addition of piroctone olamine. [J]. In vivo (Athens, Greece), 2011, 25(1): 99-103.

[8] Yasushi F, Syozi N, Takashi U. The in vitro effect of a collagenolytic enzyme inhibitor on lesion development in root dentin. [J]. American journal of dentistry, 2009, 22(2): 115-21.

[9] 徐蕾, 李鑫宇, 林沐璇, 等. 洗手液产品的质量现状分析[J]. 化工管理, 2020, (21): 28-29.

[10] 郭佳雯, 刘晓楠, 张美智子, 等. 市售洗手液研发现状及进展[J]. 中国消毒学杂志, 2023, 40(06): 457-460.

[11] 刘晨曦, 刘鹏程, 陈香阁, 等. 三种植物精油和纯露在沐浴露和洗手液中的抑菌抗氧化性能研究[J]. 山东化工, 2024, 53(02): 141-146+153.

[12] 焦西斌, 邹纯平, 赵付霞. 关于醋酸氯己定溶液手消毒效果的探讨[J]. 塑料助剂, 2022, (02): 18-20+48.