

[文章编号] 1674-8115(2011)06-0788-05

· 论著 ·

新型稳定中性电位水的理化性质及对院内感染常见多重耐药菌的灭活作用

王文奎¹, 李作臻², 张峰³, 倪语星⁴, 韩立中⁴

(1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院烧伤整形科, 上海 200025; 2. 青岛市城阳区人民医院检验科, 青岛 266100; 3. 中国人民武装警察部队上海市总队医院放射科, 上海 201103; 4. 上海交通大学医学院附属瑞金医院临床微生物科, 上海 200025)

[摘要] 目的 评估一种新型稳定中性电位水的理化性质, 观察其对烧伤科院内感染常见多重耐药病原菌的灭活作用。方法 选择新鲜配制(配制1个月)和保存8个月的新型稳定中性电位水作为待测样液, 以有效氯含量、氧化还原电位(ORP)值和pH值等指标评估理化性质, 观察长时间保存对其理化性质的影响;采用活菌培养计数的方法观察烧伤科院内感染常见的多重耐药病原菌(耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌流行克隆株)在添加新型稳定中性电位水的培养皿上的菌落生长情况, 以无菌生理盐水代替中性电位水作为阳性对照进行平行试验。结果 新鲜配制和保存8个月的新型稳定中性电位水待测样液的pH值为6.0~7.0, 有效氯含量为50~100 mg/L, ORP值>800 mV, 理化性质无明显变化。活菌培养计数结果显示: 添加新鲜配制和保存8个月的新型稳定中性电位水的培养皿上均未见菌落生长。结论 新型稳定中性电位水的刺激性小, 理化性质稳定, 灭菌效果理想, 可作为烧伤科环境及与患者密切接触物品的消毒剂。

[关键词] 稳定中性电位水; 理化性质; 多重耐药病原菌; 活菌培养计数

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.06.023

[中图分类号] R826.3; R37

[文献标志码] A

Physical and chemical properties of novel stabilized neutral potential water and its antimicrobial effect on common multi-drug resistant pathogens isolated from wards

WANG Wen-kui¹, LI Zuo-zhen², ZHANG feng³, NI Yu-xing⁴, HAN Li-zhong⁴

(1. Department of Burns, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Department of Medical Laboratory, Qingdao Chengyang People's Hospital, Qingdao 266100, China; 3. Department of Radiology Shanghai Fire Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Force, Shanghai 201103, China; 4. Department of Clinical Microbiology, Ruijing Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

[Abstract] Objective To evaluate the physical and chemical properties of a novel stabilized neutral potential water, and observe its antimicrobial effect on common multi-drug resistant pathogens isolated from burn wards. Methods Novel neutral potential water samples freshly prepared (prepared within 1 month) and preserved for 8 months were selected, parameters of effective chlorine content, oxidation-reduction potential (ORP) value and pH value were employed to evaluate the physical and chemical properties, and investigate the effects of long-term preservation on the physical and chemical properties. Colony growth of common multi-drug resistant pathogens (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*) isolated from burn wards in culture media with novel stabilized neutral potential water was observed by living bacterial counting, and sterilized normal saline was used to substitute neutral potential water as positive control for parallel test. Results The effective chlorine content, ORP value and pH value of novel stabilized neutral potential water samples freshly prepared and preserved for 8 months were 50 to 100 mg/L, >800 mV and 6.0 to 7.0 respectively, and there was no significant difference in physical and chemical properties between freshly prepared sample and that preserved for 8 months. Living bacterial counting revealed that no colony growth was observed in

[基金项目] 上海市自然科学基金(09ZR1419200)(Shanghai Natural Science Foundation, 09ZR1419200)。

[作者简介] 王文奎(1965—), 男, 副主任医师, 硕士; 电子信箱: wenkuiwang@ hotmail. com。

[通信作者] 韩立中, 电子信箱: lizhong_han@ yahoo. com.

culture media with novel stabilized neutral potential water freshly prepared and preserved for 8 months. **Conclusion** Novel stabilized neutral potential water has less side effects on skin, stable physical and chemical properties and favorable antimicrobial effect, and can be an ideal disinfectant in burn wards.

[Key words] stabilized neutral potential water; physical and chemical properties; multi-drug resistant pathogens; living bacterial counting

感染是烧伤患者主要的并发症之一,包括创面、呼吸道和血液感染等,其中烧伤创面感染是烧伤患者最主要的感染类型。选择合适的消毒液以加强物体表面的杀菌消毒有助于降低烧伤患者创面感染的发生率。理想的消毒液应具备以下条件:①消毒作用快速、有效;②对人体表面皮肤的刺激小;③使用方便,易于保存,性质稳定。

中性电位水具有接近中性的pH值,常温下理化性质稳定,具备了成为医院内物体表面消毒剂新选择的条件。近年来,美国、日本等国家先后采用近中性电位水用于伤口灭菌处理取得了良好效果^[1]。本研究对一种新型稳定中性电位水的有效氯含量、氧化还原电位(oxidation-reduction potential, ORP)值和pH值等理化性质指标及其灭菌效果进行评估,同时观察长时间储存对其性能的影响,为该新型稳定中性电位水的临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

稳定中性电位水样品(上海高莘医疗产品有限公司);试验菌株为上海交通大学医学院附属瑞金医院烧伤科院内感染常见多重耐药病原菌的流行克隆株(耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌);421型ORP测定仪(上海大普仪器有限公司);中和剂硫代硫酸钠标准液(国家二级标准)(0.1015 mol/L)(上海标准计量测试技术研究院);有效氯检测试纸(CX-108)(广州绿洲生化科技有限公司)。

1.2 理化性质检测

1.2.1 待测样液的选择 以新鲜配制(2009年7月)和常温、常压、常湿、避光和密封条件下保存8个月(至2010年2月)的稳定中性电位水样品作为待测样液。

1.2.2 ORP值和pH值的测定 测定ORP值时,将ORP测定仪功能开关置ORP档,接ORP测量电极,用纯水(去离子水或二次蒸馏水)清洁电极测量头,

并用滤纸吸干水分;将电极插入被测溶液中,仪器显示被测液ORP电位(单位:mV),读数稳定后,记录读数。测定pH值时,将ORP测定仪的功能开关置pH档,接pH(复合)电极,用去离子水清洗电极并用滤纸吸干,插入被测溶液中;调节温度补偿旋钮,使旋钮尖头所指的温度和被测溶液温度一致,仪器显示即为待测样液的pH值。

1.2.3 有效氯含量检测 将试纸浸入检测样液,取出后甩去多余液体,显色稳定后,与标准色板进行比对,读取有效氯含量。

1.3 灭菌效果评估

1.3.1 制备菌悬液 采用电子比浊仪标准化制备菌悬液(耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌),使试验用菌悬液的细菌浓度为4麦氏单位($2 \times 10^9 \sim 9 \times 10^9$ cfu/mL);电动混合器混合(振荡)20 s,使细菌悬浮均匀。

1.3.2 菌悬液定量杀菌试验 于无菌试管中分别加入0.1 mL菌悬液,用无菌吸管分别吸取新鲜制备(2009年7月)和保存8个月(至2010年2月)的稳定中性电位水或无菌生理盐水(阳性对照)9.9 mL注入其中,迅速混匀并立即计时,待菌悬液与稳定中性电位水或无菌生理盐水相互作用至5 min,分别吸取0.5 mL菌药混合液加入含4.5 mL中和剂的试管中,混匀,作用10 min后进行活菌培养计数。

1.3.3 活菌培养计数 各菌药混合液用无菌生理盐水10倍稀释($1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-2}, 1 \times 10^{-3}$),分别取1 mL注于无菌90 mm平皿(各2个),迅速加入已熔化并冷却至50℃的营养琼脂(15 mL),立即在平面上向同一方向平稳转动,使之混匀,待凝固后翻转平板,37℃孵育,计数菌落生长单位。结果判定: $30 <$ 菌落平均数 < 300 ,则报告菌落平均数;菌落平均数 > 300 ,则报告最高稀释度菌落平均数与稀释倍数的乘积;菌落平均数 < 30 ,则报告最低稀释度菌落平均数与稀释倍数的乘积;菌落平均数位于30~300,则报告最接近30或300的菌落平均数与稀释倍数的乘积;所有稀释度均未见菌落生长,则报告 < 10 。

2 结 果

2.1 新型稳定中性电位水样品的理化性质

待测样液的理化性质检测结果显示:pH 值 6.0~7.0,有效氯含量为 50~100 mg/L,ORP 值 > 800 mV。与新鲜配制的待测样液比较,保存 8 个月的待测样液的理化性质无明显变化。

2.2 新型稳定中性电位水的灭菌效果

活菌培养计数结果显示:与阳性对照比较,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌流行克隆株菌悬液与新型稳定中性电位水各稀释度的混合培养均未见菌落生长;保存 8 个月和新鲜制备的新型稳定中性电位水均有良好的灭菌效果(图 1~3)。



A. 阳性对照; B. 加入新鲜制备的新型稳定中性电位水; C. 加入保存 8 个月的新型稳定中性电位水。

图 1 新型稳定中性电位水对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的灭活作用

Fig 1 Inactivation of novel stabilized neutral potential water on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*



A. 阳性对照; B. 加入新鲜制备的新型稳定中性电位水; C. 加入保存 8 个月的新型稳定中性电位水。

图 2 新型稳定中性电位水对铜绿假单胞菌的灭活作用

Fig 2 Inactivation of novel stabilized neutral potential water on *Pseudomonas aeruginosa*



A. 阳性对照; B. 加入新鲜制备的新型稳定中性电位水; C. 加入保存 8 个月的新型稳定中性电位水。

图 3 新型稳定中性电位水对鲍曼不动杆菌的灭活作用

Fig 3 Inactivation of novel stabilized neutral potential water on *Acinetobacter baumannii*

3 讨 论

1982 年日本首先研制成功高氧化还原电位酸性水生产设备,1989 年开始研究其杀菌效果,20 世纪

90 年代中期传入我国。该设备为一种电解水装置,可电解食盐水产生的具有高电位强氧化性和 pH 在 2.0~3.5 的酸性水。酸性水的名称比较混乱,文献中常见的名称有高氧化酸性水、高电位酸性水、强

酸性水、超氧化水、高氧化还原电位水、强氧化离子水和强氧化高电位酸性水等,本文统称此为高氧化还原电位酸性水(electrolyzed oxidizing water, EOW)。氯化钠盐水(中性电位水生产的主要原料之一)由专用电解槽电解后生产为无色、无味、无刺激和不残留毒性,对细菌繁殖体和细菌芽孢都具有良好杀灭效果的EOW,其灭菌作用主要依赖以下因素:①高ORP;新生产EOW的ORP可高达1 100~1 200 mV;②低pH环境;新生产的EOW的pH值为2.4~2.7;③低浓度次氯酸,新生产EOW活性氯含量可达15~50 mg/L。此外, H_2O_2 、 OH^- 和新生态氧等多种离子也具有杀菌作用。EOW灭菌机制是通过破坏微生物的生存环境,改变细胞膜的电位,增强细胞膜的通透性,导致细胞肿胀,使有效氯很快进入微生物细胞内破坏细胞内代谢酶剂微生物体内的核酸,使微生物迅速死亡^[2,3]。近20年的实践表明EOW是一种经济、安全及使用便捷的消毒剂。

目前常用的EOW极不稳定,可迅速被光和空气所破坏失去其氧化性;接触任何极性物体都会放出电子,即失去高电位和强酸性。已证实新生产的EOW放置24 h后,其电位即由1 136 mV降至1 040 mV,随之杀菌效果亦显著下降直至消失。温总莲等^[6]应用EOW对病房空气进行喷雾,观察其对空气的消毒效果;在室温26~28℃,相对湿度为60%~90%,喷雾剂量为30 m³时,用当天配制的该液喷雾,可将喷雾前细菌总数下降91.08%(分别为763 cfu/m³和68 cfu/m³);但若将新鲜配制EOW的放置3~5 d后再进行病房空气进行喷雾消毒,喷雾后细菌总数下降率分别为89.27%和79.71%。鉴于EOW的理化性质,目前所用的EOW必须现产现用^[4~6]。除此之外,一些有机物的存在也可对EOW灭菌效果产生影响^[7]。

在EOW的使用方式方面,除了表面消毒,还有多种新的使用方式。EOW(ORP 1 145 mV,pH 2.3)的空气消毒效果试验结果显示^[8]:在相同的喷药剂量和作用时间条件下,EOW的细菌灭菌率为95.1%,真菌灭菌率为84.1%,其消毒效果远高于紫外线照射实验组的消毒效果(细菌灭菌率69.78%,真菌灭菌率44.26%)。另外,何利平等^[9]的内镜浸泡消毒试验发现:使用EOW原液(ORP > 1 145 mV,pH < 2.7)浸泡1 min,对胃镜表面细菌灭除率可达100%;EOW原液作用10 min,对悬液中枯草杆菌黑色变种

芽孢杀灭率达100%;作用2 min可破坏HbsAg抗原性。彭蕴华等^[10]应用EOW(ORP 1 100 mV,pH 2.7)进行术前刷手消毒效果的评估结果表明,EOW刷手消毒效果优于术必泰刷手液,作为术前刷手消毒液能达到术前手臂无菌准备,它也可称作无污染的环保型刷手液^[7]。与上述前期产品相比,本实验所选用的新型中性电位水的pH值约为6.5,有效氯含量为80 mg/L,ORP > 800 mV,对人体表皮无腐蚀性,但抑菌效果却依然良好,且在合理的存放条件下(即常温、常压、常湿、避光、密封等),较传统EOW的存放时间更长,同时还弥补高挥发性的不足;提示新型稳定中性电位水的用途可能有更大的拓展空间。

烧伤后继发感染是造成烧伤患者死亡的重要原因之一,防止院内交叉感染,降低感染率,是提高患者治愈率的重要基础,而消毒是防止医院交叉感染的基础手段,选择安全有效的消毒方法对减少院内感染,提高患者的治愈率有重要意义^[11,12]。研究^[13~17]表明:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和阴沟肠杆菌等部分革兰阴性杆菌是引起烧伤患者感染的主要病原体。王文奎等^[18]发现,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、多重耐药的铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌是近年来瑞金医院烧伤病房的主要致病菌。本实验通过对该院烧伤病区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、多重耐药的铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌流行克隆株的抑菌效果检测,证明中性电位水对多重耐药菌的抑菌效果理想。由于新型中性电位水杀菌迅速、使用方便和对人体无毒,因而是烧伤科理想的消毒剂。同时本实验中所用的中性电位水的pH值约为6.5,接近中性水平,可广泛用于烧伤科患者和工作人员皮肤表面的消毒。而对于中性电位水的存放时间对于其抑菌效果的影响分析表明,保存8个月的待测样液的理化性质无明显变化。

综上所述,新型稳定中性电位水是一种高效、安全和储存方便的消毒剂,可用于烧伤科环境及患者密切接触物品的消毒。

[参考文献]

- [1] Wang L, Bassiri M, Najafi R, et al. Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part I. Stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity[J]. J Burns Wounds, 2007, 6: e5.
- [2] Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (first

- of two parts) [J]. *N Engl J Med*, 1978, 298(12): 659–668.
- [3] Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (second of two parts) [J]. *N Engl J Med*, 1978, 298(13): 721–725.
- [4] 杨华明, 易滨. 现代医院消毒学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 148–152.
- [5] Akhtar MW, Srinivas V, Raman B, et al. Oligomeric Hsp33 with enhanced chaperone activity: gel filtration, cross-linking, and small angle x-ray scattering (SAXS) analysis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55760–55769.
- [6] 温总莲, 彭萍, 周宇凤. 高氧化还原电位酸性水喷雾对病房空气消毒效果检测[J]. 中国消毒学杂志, 1999, 16(3): 188.
- [7] 陈贵秋, 李爱斌, 朱应凯等. 两种方法检测高氧化还原电位酸性水对微生物杀灭效果比较[J]. 中国消毒学杂志, 2001, 18(1): 1–5.
- [8] 刘同亭, 公衍文, 张玉强, 等. 强氧化离子水对空气消毒效果观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2000, 10(6): 448.
- [9] 何利平, 郭燕艺, 林立旺. 高氧化还原电位酸性水杀灭微生物与消毒胃镜的效果[J]. 中国消毒学杂志, 2001, 18(2): 115–117.
- [10] 彭蕴华, 陈远朝, 罗怡, 等. 酸氧化电位水术前刷手效果的观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(12): 919.
- [11] 胡小华, 邹淑华, 杨振洲, 等. 高氧化还原电位酸性水杀菌效果与腐蚀性[J]. 中国消毒学杂志, 2001, 18(2): 113–115.
- [12] Pavoni V, Gianesello L, Paparella L, et al. Outcome predictors and quality of life of severe burn patients admitted to intensive care unit [J]. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2010, 18: 24.
- [13] 邓津菊, 魏莲花, 邹凤梅, 等. 烧伤病房 728 株感染病原菌的分布特点及耐药性分析[J]. 中华烧伤杂志, 2007, 23(6): 420–423.
- [14] Essayagh T, Zohoun A, Essayagh M, et al. Bacterial epidemiology in the burns unit at military teaching hospital Mohamed V of Rabat [J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2011, 69(1): 71–76.
- [15] Rezaei E, Safari H, Naderinasab M, Aliakbarian H. Common pathogens in burn wound and changes in their drug sensitivity [J]. *Burns*, 2011, Mar 7. [Epub ahead of print].
- [16] Ning FG, Zhao XZ, Bian J, et al. Large-area burns with pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection and respiratory failure [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(3): 359–363.
- [17] Poslusny JA Jr, Conrad P, Halerz M, et al. Surgical burn wound infections and their clinical implications [J]. *J Burn Care Res*, 2011, 32(2): 324–333.
- [18] 王文奎, 韩立中, 杨莉, 等. 上海瑞金医院烧伤病区病原菌的分布和分子流行病学分析[G]//中华医学会烧伤外科学分会 2009 年学术年会论文汇编, 2009.

[收稿日期] 2010-11-04

[本文编辑] 王淑平

(上接第 781 页)

- [5] Sosa-Pineda B. The gene PAX4 is an essential regulator of pancreatic beta-cell development [J]. *Mol Cells*, 2004, 18(3): 289–294.
- [6] Plengvidhya N, Koopitwut S, Songtawee N, et al. PAX4 mutations in Thais with maturity onset diabetes of the young [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(7): 2821–2826.
- [7] Shimajiri Y, Sanke T, Furuta H, et al. A missense mutation of PAX4 gene (R121W) is associated with type 2 diabetes in Japanese [J]. *Diabetes*, 2001, 50(12): 2864–2869.
- [8] Tokuyama Y, Matsui K, Ishizuka T, et al. The Arg121Trp variant in PAX4 gene is associated with beta-cell dysfunction in Japanese subjects with type 2 diabetes mellitus [J]. *Metabolism*, 2006, 55(2): 213–216.
- [9] Jo W, Endo M, Ishizu K, et al. A novel PAX4 mutation in a Japanese patient with maturity-onset diabetes of the young [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2011, 223(2): 113–118.
- [10] Biasson-Lauher A, Boehm B, Lang-Muritano M, et al. Association of childhood type 1 diabetes mellitus with a variant of PAX4: possible link to beta cell regenerative capacity [J]. *Diabetologia*, 2005, 48(5): 900–905.
- [11] Hermann R, Mantere J, Lipponen K, et al. Lack of association of PAX4 gene with type 1 diabetes in the Finnish and Hungarian populations [J]. *Diabetes*, 2005, 54(9): 2816–2819.
- [12] Lang D, Powell SK, Plummer RS, et al. PAX genes: roles in development, pathophysiology, and cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(1): 1–14.
- [13] Greenwood AL, Li S, Jones K, et al. Notch signaling reveals developmental plasticity of PAX4(+) pancreatic endocrine progenitors and shunts them to a duct fate [J]. *Mech Dev*, 2007, 124(2): 97–107.
- [14] Wang J, Elghazi L, Parker SE, et al. The concerted activities of PAX4 and Nkx2.2 are essential to initiate pancreatic beta-cell differentiation [J]. *Dev Biol*, 2004, 266(1): 178–189.
- [15] Zhang Y, Xiao X, Liu Y, et al. The association of the PAX4 gene with type 1 diabetes in Han Chinese [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008, 81(3): 365–369.

[收稿日期] 2011-03-04

[本文编辑] 王淑平