

· 消毒 · 防腐 · 灭菌 ·

编者按：消毒、防腐、灭菌不仅在药品制造、制剂制备上有重要意义，而且对医院各科室预防交叉感染也占有极重要的地位。因此在医院防病治病方面以及在药局、药厂执行GMP的措施方面都有密切的关系。本栏将陆续介绍消毒灭菌的新技术、新进展，也较系统而全面地谈点消毒剂如戊二醛、甲醛、环氧乙烷等的基本知识。

戊 二 醛 (上)

第二军医大学流行病学教研室 薛广波

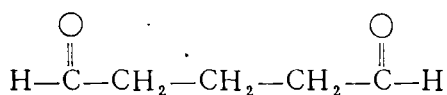
戊二醛 (Glutaraldehyde, Penta-nedial)于1908年由Harries和Tank首次合成。1962年,美国的Pepper等为了寻找新的高效消毒灭菌剂对双醛类化合物进行了筛选,发现乙二醛、丙二醛、丁二醛、戊二醛和己二醛均有杀芽孢作用,其中以戊二醛作用最强。此后,国外对戊二醛的杀菌作用及其影响因素、理化性质、毒性等方面进行了系统的研究。发现戊二醛具有广谱、高效、快速、刺激性和腐蚀性小、低毒安全、稳定性强、使用方便等优点。因此,国外对戊二醛的评价很高,被誉为继20年代采用甲醛灭菌和30年代采用环氧乙烷消毒之后,化学消毒灭菌剂发展史上第三个里程碑。由于戊二醛对细菌繁殖体、芽胞、分枝杆菌、真菌和病毒均有杀灭作用,故使用范围比较广泛。世界卫生组织肝炎科学小组和一些学者都推荐将戊二醛用作肝炎病毒污染物品的消毒。

我国1977年研制出了戊二醛溶液。试验证明,国产戊二醛与进口戊二醛具有同样的杀菌、杀芽胞和破坏乙型肝炎表面抗原的作用。但由于生产上的某些原因,我国目前对戊二醛的使用尚不普遍。

一、理化性质

消毒学上使用的戊二醛是1, 5戊二醛(简称戊二醛),为一种5碳双缩醛化合物,分子式为 $C_5H_8O_2$,分子量100.13,结

构式:



戊二醛具有醛类的典型化学反应性,经加成或缩合反应可形成乙缩醛、氰醇、肟、脎等,戊二醛两个活泼的醛基可与蛋白质发生交联反应。

市售戊二醛的含量为25~50%(重量/体积),无色或淡黄色的油状液体,沸点为187~199°C,呈中性,蒸汽压为22mmHg,挥发性低,故气味较小,在37°C以上蒸汽中可挥发,但不燃烧。可与任何比例的水、醇相混合,也可溶于其他有机溶剂。戊二醛的水溶液呈弱酸性(pH 4~5),在酸性条件下保持相对稳定状态,在中性水溶液中戊二醛单体的聚合作用亦较缓慢,随pH的升高,聚合速度加快,但在pH6.0以下,酸碱性对聚合作用影响不大。从pH6.0开始,随pH的升高,聚合速度呈指数式增加。在酸性水溶液中,戊二醛单体水化成三种水化物和一种类乙缩醛聚合物,它们之间相互平衡。在25°C时,溶液中存在少量一水化物和二水化物,戊二醛单体为15%。当温度为75°C时,戊二醛单体为60%。因此,在酸性溶液中随着温度的升高而产生更多的自由醛基,提高了其生物学活性。

在碱性水溶液中，戊二醛可以聚合成丁间醇醛型不飽和多聚体，并且随时间的延长和pH的升高可发展成为更高的聚合形式。在碱性水溶液中，戊二醛的聚合作用是不可逆的，随着聚合体的增多，伴之以效能的减弱或丧失。提高温度、pH和延长存放时间，均可导致碱性戊二醛聚合作用的加强。

二、剂型

在酸性条件下戊二醛一般并无杀芽胞作用，只有当加入适当的激活剂，例如0.3%碳酸氢钠，使戊二醛水溶液的pH调至7.5~8.5之后，才表现出强大的杀芽胞作用。但戊二醛一经碱化之后，其化学稳定性就急剧下降，一般在两周后就失去杀菌作用。为克服这一缺点，70年代以后国外发展了一种新的戊二醛杀菌剂—强化酸性1,5-戊二醛（国外商品名为Sonacide），即在普通戊二醛内加入一种特殊的非离子型化合物，这样不仅大大提高了戊二醛溶液的稳定性，而且保持了良好的杀菌活性。目前国内外使用的戊二醛消毒剂基本上就是碱性戊二醛和强化酸性戊二醛两类。常用的剂型主要有下述几种：

（一）2%碱性戊二醛水溶液

在2%戊二醛水溶液中加入0.3%碳酸氢钠而制成，是使用最早和最常用的剂型之一。Borick等（1964年）对其稳定性和消毒作用进行了研究，发现新配制的2%碱性戊二醛水溶液的平均含量为2.02%，平均pH为8.3，以后pH和含量均随时间而逐渐降低，但在观察的8周时间内，其杀菌仍维持在原来水平。当pH降至7.8，平均戊二醛含量降至1.41%时，仍能在<0.5分钟时间内杀灭真菌。

在国外有一种称为Cidex的碱性戊二醛消毒液，Masferrer等（1977）观察了医院现场应用Cidex消毒液作浸泡消毒医疗器械时，消毒液的戊二醛含量及pH变化情况，在15天内观察到的戊二醛含量下降率远远高

于实验室观察的结果。

在使用过程中戊二醛浓度降低较快的原因可能是由于：（1）发生水稀释现象。器械在浸泡消毒之前要用水清洗、漂洗，不可避免地会将水带入消毒液内；（2）戊二醛消毒液的丢失。取出浸泡的器械时必然带出一些消毒液；（3）戊二醛在碱性溶液中形成聚合物。此外，消毒器械的种类、数量、每日使用周期数及使用技术均有一定的影响。

（二）1%碱性戊二醛醇溶液

用70%异丙醇配成1%戊二醛，再加0.3%碳酸氢钠。Pepper等（1963）在最初的研究中认为醇溶液比水溶液的杀菌效果好，后来Rubbo等（1965、1967）指出碱性戊二醛水溶液和异丙醇溶液杀菌效果相同或仅有轻微差别。故这种剂型不如水溶液使用广泛。

（三）强化酸性戊二醛

2%戊二醛加0.25%聚氧乙烯脂肪醇醚。国外商品名称为Sonacide，是较常用的剂型之一，据说可连续使用28天。和碱性戊二醛一样，该剂型对细菌繁殖体、芽胞、结核杆菌和病毒等同样有较强的杀菌作用，且稳定性较强，故使用价值较大。Masferrer等（1977）在实际应用中观察了Sonacide液的杀菌作用及消毒液中戊二醛含量和pH的变化，并与Cidex液进行了比较，发现在30天内消毒144批医疗器械过程中，戊二醛浓度逐渐降低，15天时降低45%，30天时降低65%。使用过程中pH值逐渐上升，至29天时由原来的pH 5升至7.58。Cidex液中的戊二醛浓度在14天内即由2%降到1%，而Sonacide液中的戊二醛浓度同样从2%降到1%则要23天，可见强化酸性戊二醛液的稳定性比碱性戊二醛溶液强。

国产戊二醛是用乙基烷基醚与丙烯醛反应生成乙烷氧基3,4-二氢吡喃，再水解生成戊二醛。水解的方法有三种不同的工艺，故可生产出三种浓度不同的戊二醛：一

是盐酸触媒水解，脱色过滤后蒸出乙醇而得戊二醛，浓度为32.2%；二是醋酸触媒水解，脱色过滤后（未蒸出乙醇）而得戊二醛，浓度为23.79%；三是直接水解，无触媒，脱色过滤后（未蒸出乙醇）而得戊二醛，浓度为24.36%。王曾遂等（1979）比较了上述三种不同工艺产品的杀菌和杀芽胞作用，发现以醋酸触媒水解法生产的戊二醛效果最好，与西德E. Merck牌产品的杀菌杀芽胞及破坏乙型肝炎表面抗原（HBsAg）的作用基本一致。在生产方面也以醋酸触媒水解法工艺流程较简单。

国产戊二醛使用时可用0.3%碳酸氢钠配成2%碱性戊二醛，亦可加入0.25%国产聚氧乙烯脂肪醇醚〔Polyoxyethylene alcohol, 分子式为 $RO(CH_2CH_2O)_nH$, $R=C_{12}\sim C_{18}$, $n=25\sim 30$ 〕配成不同浓度的强化酸性戊二醛。夏立人等（1979）的研究证明，国产强化酸性戊二醛亦有很强的抗微生物作用。其杀灭细菌繁殖体和芽胞作用比碱性戊二醛稍差，而破坏HBsAg的作用比碱性戊二醛强。新配制的2%强化酸性戊二醛pH为3.4，稳定性比较好，在室温下保存18个月仍保持其杀菌力。夏立人等对国产2%强化酸性戊二醛的稳定性与国产2%碱性戊二醛、2%进口碱性戊二醛进行了比较研究，发现在贮存过程中，国产强化酸性戊二醛的浓度比两种碱性戊二醛的浓度下降速度慢，下降幅度较小，且pH的变化亦较小。

戊二醛在保存过程中随着浓度的降低其杀菌作用亦减弱。夏立人等研究发现，国产强化酸性戊二醛的杀芽胞作用在保存的三周内变化很小，而国产和进口碱性戊二醛经存放后其杀芽胞作用则大幅度下降。定性试验结果显示，保存二周的2%国产强化酸性戊二醛仍能在5分钟内杀灭无保护的及有10%小牛血清保护的蜡样杆菌芽胞，而2%国产和进口碱性戊二醛保存二周后杀灭同样

的芽胞则需将作用时间延长至10分钟或更长。

三、对微生物的杀灭作用

研究证明，碱性戊二醛和强化酸性戊二醛均具有广谱、高效和速效的消毒灭菌作用。对细菌繁殖体、芽胞、病毒、结核杆菌、真菌等均有很好的杀菌作用。

（一）杀芽胞作用

二十年来，对戊二醛的杀芽胞作用进行了大量的研究。Pepper等（1962）报告，用1%戊二醛异丙醇碱性液接触2小时，可杀灭肉汤中的枯草杆菌芽胞、破伤风杆菌芽胞等。Borick等（1964）根据美国法定农业化学家协会志（Association of Official Agricultural Chemists, 简称AOAC）的方法进行2%碱性戊二醛水溶液的杀芽胞试验，以瓷质圆筒作为载体，每一圆筒上染有 1.3×10^6 个芽胞，实验温度为20℃。在消毒液配制后的当时、2周、4周、6周、8周均作试验，发现各次试验中均能在3小时内杀灭枯草杆菌黑色变种芽胞、枯草杆菌芽胞、破伤风杆菌芽胞和产气荚膜杆菌芽胞。试验期间虽观察到了消毒浓度的降低，但在配制后的8周内仍保持杀芽胞效力。Rubbo等（1967）用2% Cidex液进行杀芽胞试验，发现杀灭下述芽胞的99.99%所需时间分别为：弱腐败杆菌芽胞为10分钟，炭疽杆菌芽胞为20分钟，破伤风杆菌芽胞为30分钟。Boucher等（1974）用AOAC的试验方法测定了碱性戊二醛和强化酸性戊二醛在各种温度下不同接触时间的杀菌作用，结果如表1。

王曾遂等（1979）用定性试验测定了国产碱性戊二醛的杀芽胞作用，并与进口碱性戊二醛、新洁尔灭、器械消毒液（配方为：2克苯酚、1克亚硝酸钠、26.6ml甘油、27ml 95%乙醇，水加至100ml）的杀芽胞作用进行了比较，发现进口和国产戊二醛的杀芽胞作用一致，两者对蜡样杆菌芽胞（代号

4001) 的十分钟临界杀菌浓度均为 0.5%。
1% 的国产和进口碱性戊二醛均可在 1 分钟
内完全杀灭蜡样杆菌芽胞, 而 1% 用水配制

的新洁尔灭、1% 用 PBS 配制的新洁尔灭和
器械消毒液作用 120 分钟仍未表现出杀芽胞
作用 (表 2)。

表 1 两种戊二醛消毒液的杀芽胞作用

消毒液	消毒时间 (分)	pH	温度 (°C)	枯草杆菌芽胞		梭状杆菌芽胞		杀菌率 (%)
				圆形载体	菌环	圆形载体	菌环	
碱性戊二醛	180	8.5	20	1/30*	11/30	1/30	9/30	81.7
	480	8.2	20	1/30	5/30	0/30	1/30	94.7
	600	8.3	20	0/30	0/30	0/30	0/30	100.
强化酸性戊二醛	70	3.3	60	0/60	0/58	3/59	6/60	96.6
戊二醛	60	3.5	60	0/30	0/30	0/30	0/30	100.
	210	3.4	37	0/30	0/30	0/30	0/30	100.

表 2 1% 碱性戊二醛的杀芽胞作用

消毒剂	不同作用时间 (分) 的试验结果						
	1	5	15	30	60	120	
1% 国产碱性戊二醛	0	0	0	0	
1% 进口碱性戊二醛	0	0	0	0	
1% 新洁尔灭(用 PBS 配制)	45	45	45	
1% 新洁尔灭(用水配制)	45	45	45	
器械消毒液	45	45	45	
生理盐水(对照)	45	45	45	

注: 本表为三次试验的结果, 表内数字为 45 管中的阳性管数; 每管蜡样杆菌芽胞数为 10^7 /ml。

夏立人等 (1979) 测定了国产碱性戊二醛和强化酸性戊二醛对蜡样杆菌芽胞的杀灭作用, 计算出的单个芽胞平均存活时间为: 0.35% 碱性戊二醛 7 分钟, 0.35% 强化酸性戊二醛为 9.5 分钟; 对蜡样杆菌芽胞的十分钟临界杀菌浓度为: 碱性戊二醛 0.5%, 强化酸性戊二醛 1%。

(二) 对一般细菌繁殖体的杀灭作用

Borick 等 (1964) 测定了 2% 碱性戊二醛水溶液的杀菌作用, 发现新鲜配制的消毒液和放置 2 周、4 周的消毒液均能在 1 分

钟内杀灭金黄色葡萄球菌、耐青霉素的金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌、肺炎双球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌、普通变形杆菌和肺炎杆菌。Masferrer 等 (1977) 对碱性戊二醛消毒液 Cidex 和酸性戊二醛 Sonacide 消毒液对绿脓杆菌的消毒作用进行了比较, 两者的最小有效浓度均为 0.5%; 用 AOAC 的方法将一些从临床材料中分离的绿脓杆菌污染于圆筒载体, 消毒 10 分钟, 求得的两种消毒液不同浓度的消毒作用 (表 3)。

表 3 Sonacide 和 Cidex 对绿脓杆菌的消毒作用

药 物	戊二醛浓度 (%)								
	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.75	1.0
Sonacide液	0.0	25.0	77.0	97.3	97.5	100.0	100.0	100.0	100.0
Cidex 液	90.0	90.0	95.0	97.5	95.0	100.0	100.0	100.0	100.0

注：表内数字为试验载体平均阴性率 (%)

Boucher (1974) 在一篇综述中介绍了强化酸性 1, 5 戊二醛对细菌繁殖体的杀灭作用。试验在 20℃ 和 60℃ 条件下进行, 采用 AOAC 的稀释试验, 试验菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC6538、绿脓杆菌 ATTC15442、猪霍乱沙门氏菌 ATCC10208, 结果在室温下不到 10 分钟所有试验菌株均被杀灭, 而在 60℃ 5 分钟内即可将其杀灭。作者比较了 2% 强化酸性戊二醛液和 2% 碱性戊二醛液对细菌繁殖体的作用, 在马血清存在的情况下, 于室温下测定了两种药物对 10 株细菌生长的抑制作用。结果发现两种药物同样有效, 对有些菌株强化酸性戊二醛的作用快于

碱性戊二醛。

关于国产戊二醛对细菌繁殖体的杀灭作用, 夏立人等用定量试验作了测定, 结果 0.02% 的碱性戊二醛 2.5 分钟, 0.02% 强化酸性戊二醛作用 5 分钟对金黄色葡萄球菌的杀灭率可达到 99.99% 以上, 当作用时间延长至 40 分钟时杀菌率均达到 100%, 两药无显著差别。作者进而测定了国产碱性戊二醛、强化酸性戊二醛对几种细菌的十分钟临界杀菌度, 并与进口戊二醛作了比较, 发现细菌对三种药物的敏感度顺序是一致的: 革兰氏阴性菌(大肠杆菌、绿脓杆菌)比革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌)更为敏感(表 4)。

表 4 戊二醛对三种细菌的十分钟临界杀菌浓度 (%)

药 物 名 称	大 肠 杆 菌	绿 脓 杆 菌	金 葡 菌
国产强化酸性戊二醛	0.0125	0.00625	0.025
国产碱性戊二醛	0.003125	0.003125	0.125
进口碱性戊二醛	0.0015625	0.00015625	0.025

(三) 对分枝杆菌的杀灭作用

结核分枝杆菌对一般化学灭菌剂的抵抗力比芽胞弱, 但比一般细菌繁殖体强。文献

报道, 用 AOAC 杀结核杆菌试验测定, 发现 2% 碱性戊二醛能在 10 分钟内杀灭牛型结核分枝杆菌。Borick 等 (1964) 以人型结核

杆菌10000个/ml, 在30℃下暴露于2%碱性戊二醛10分钟, 取得了满意的消毒效果。然而后来有些研究者未能证实戊二醛这样快速的杀灭结核杆菌的作用。例如有人用瓷圆柱载体进行的试验证明, 在20℃条件下, 全部杀灭结核杆菌需要的时间, 强化酸性戊二醛为15分钟, 碱性戊二醛为30分钟以上。这些不一致的结果可能是由于实验材料、实验条件和实验方法上的差异造成的。Collins等(1976)比较系统地研究了戊二醛对分枝杆菌的杀灭作用。结果发现1%碱性戊二醛溶液作用2分钟能灭活99.9%以上的结核杆菌, 而酸性戊二醛达到同样的灭菌水平需要的时间要长2倍。用1%碱性戊二醛溶液作了灭活不同种类分枝杆菌的试验: 将 $10^8 \sim 10^7$ 活分枝杆菌悬于0.5%吐温盐水中, 于18℃下暴露5分钟, 发现9种分枝杆菌于2分钟后均至少有90%死亡。

(四) 杀病毒作用

Klein等(1963)用四种RNA病毒和三种DNA病毒作为代表病毒株, 对10种化学消毒剂的杀病毒作用进行了研究。发现戊二醛有很强的杀病毒能力, 推荐的2%戊二醛作用1分钟能杀灭所有试验病毒, 对亲水病毒和疏水病毒均有杀灭作用。戊二醛对几种病毒的10分钟最低灭活浓度分别为: 脊髓灰质炎病毒1型, 2%; 柯萨奇病毒B-1型, 1%; ECHO病毒6型, 1%; 腺病毒2型, 0.02%; 单纯疱疹病毒, 0.02%; 牛痘病毒, 0.02%; 流感病毒(亚洲株), 0.02%。

Klein(1973)研究了2%强化酸性戊二醛的杀病毒作用, 结果发现在20℃温度下, 作用10分钟, 可灭活甲型流感病毒A₂, 单纯疱疹病毒, 新城鸡瘟病毒(Newcastle disease virus)和ECHO病毒25型。其中ECHO病毒25型是一大组病毒(包括引起感冒的常见病毒)的代表株, 它对一些已知的较好的杀菌剂, 例如酚类和季铵盐类消毒剂是有抗药性的。

关于戊二醛对肝炎病毒的灭活作用研究很少。王曾遂、夏立人等(1979)以乙型肝炎表面抗原(HBsAg)为指标, 比较了几种消毒剂对其破坏作用。结果发现2%国产戊二醛和进口戊二醛均能在15分钟内显著地破坏HBsAg, 反向间接血凝试验滴度的倒数(以2为底)由原来的11.3分别降至0.67和1.0。国产和进口戊二醛溶液作用15分钟的消毒效率分别为99.94和99.90%, 作用30分钟可将HBsAg完全破坏。经方差分析国产和进口戊二醛在对HBsAg的破坏上没有显著差别($F = 0.3922, P > 0.05$)。而1%新洁尔灭和“器械消毒液”虽经接触60分钟也只能部分破坏HBsAg, 碱性戊二醛无论在对HBsAg的破坏程度上还是所需时间上显著优于新洁尔灭和器械消毒液($F = 2.906, P < 0.01$)。国产碱性戊二醛、强化酸性戊二醛和进口碱性戊二醛对HBsAg破坏的10分钟临界浓度分别为2%、0.75%和2%。对1%国产强化酸性戊二醛和1%碱性戊二醛破坏HBsAg作用比较研究发现, 1%强化酸性戊二醛作用10分钟可完全破坏HBsAg的抗原性, 而1%碱性戊二醛即使作用30分钟亦不能完全破坏HBsAg的抗原性。这可能是由于强化剂0.25%聚氧乙烯脂肪醇醚本身对HBsAg有一定的破坏作用, 加强了强化酸性戊二醛的作用。

(五) 杀真菌作用

戊二醛对致病性真菌有较强的杀灭作用。由于不同菌株的抵抗力各异, 故杀菌作用需要的时间也不等。一般来说需要5~30分钟。Borick等以2%碱性戊二醛溶液杀灭趾间毛癣菌, 仅需<0.05分钟。有人试验了2%强化酸性戊二醛溶液的杀真菌作用(试验菌株为Trichophyton mentagrophytes ATCC9533株), 在60℃下作用5分钟或20℃下作用10分钟, 证明具有杀真菌作用。

(未完待续)