

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220068

· 论 著 ·

## 次氯酸冲洗的体外安全性及有效性评估

张浩, 庄新晨, 盛世豪, 张涛, 崔进, 周启荣, 潘思华, 陈晓, 苏佳灿\*

海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院创伤骨科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 通过体外实验评估低浓度次氯酸(HClO)冲洗清创用于开放性骨折感染的安全性及抗菌有效性。**方法** 取小鼠上皮样成纤维细胞系L929细胞和成骨细胞系MC3T3-E1细胞,分别设置空白对照组及不同浓度(10%、30%、50%和100%)HClO组,通过体外细胞集落形成实验、细胞增殖实验及细胞凋亡实验评估不同浓度HClO的安全性;取小鼠红细胞,设置生理盐水组、PBS组和不同浓度(10%、30%、50%和100%)HClO组,通过溶血实验评估不同浓度HClO的溶血风险;培养金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌,分别设置空白对照组、10% HClO组和抗生素阳性对照组进行细菌生长抑制实验,分别设置空白对照组、10% HClO组、抗生素阳性对照组、碘伏组和过氧化氢组进行抑菌圈实验,评估低浓度HClO的抗菌效果。**结果** 体外实验表明10% HClO组小鼠L929和MC3T3-E1细胞有明显的集落形成,细胞增殖抑制率和凋亡率均较低;而30%、50%和100% HClO组小鼠L929和MC3T3-E1细胞无集落形成,细胞增殖抑制率和凋亡率均高于10% HClO组( $P$ 均 $<0.01$ )。各浓度HClO组小鼠红细胞溶血实验均呈阴性。10% HClO可显著抑制细菌生长,具有与碘伏及过氧化氢相似的抑菌效果。**结论** 低浓度(10%)HClO安全性高,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有较好的抑制效果,是临床治疗开放性骨折、骨髓炎及感染性骨缺损的潜在清创冲洗剂。

**[关键词]** 次氯酸;开放性骨折;骨髓炎;感染;清创术

**[中图分类号]** R 687.36

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 2097-1338(2022)02-0144-08

### *In vitro* safety and efficacy assessment of hypochlorous acid irrigation

ZHANG Hao, ZHUANG Xin-chen, SHENG Shi-hao, ZHANG Tao, CUI Jin, ZHOU Qi-rong, PAN Si-hua, CHEN Xiao, SU Jia-can\*

Department of Traumatic Orthopaedics, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the safety and antimicrobial efficacy of low concentration hypochlorous acid (HClO) irrigation for the prevention of open fracture infection *in vitro*. **Methods** Mouse epithelioid fibroblast cell line L929 and osteoblast MC3T3-E1 cells were used in this study, and blank control group and HClO groups with different concentrations (10%, 30%, 50% and 100%) were set up. The safety of different concentrations of HClO was evaluated by cell colony formation test, cell proliferation test and apoptosis test *in vitro*. The red blood cells of mice were taken, and normal saline group, phosphate buffered saline (PBS) group and HClO groups with different concentrations (10%, 30%, 50% and 100%) were set up. The hemolysis risk of different concentrations of HClO was evaluated by hemolysis test. To evaluate the antibacterial effect of low concentration HClO, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were cultured in the blank control group, 10% HClO group and antibiotic positive control group to observe the growth of bacteria; and the blank control group, 10% HClO group, antibiotic positive control group, iodophor group and hydrogen peroxide group were set up for the bacteriostatic circle experiment. **Results** *In vitro* experiments showed that L929 and MC3T3-E1 cells had colony formation and lower proliferation inhibition and apoptosis rates in the 10% HClO group, while they had no colony formation but higher proliferation inhibition and apoptosis rates in the 30%, 50% and 100% HClO groups (all  $P < 0.01$ ). The erythrocyte hemolysis test was negative at all concentrations in HClO group. Low concentration (10%) HClO could significantly inhibit bacterial growth and had the same antibacterial effect as iodophor and hydrogen peroxide. **Conclusion** Low concentration (10%) HClO is safe and has good inhibitory effect on both Gram-positive and Gram-negative bacteria. It is a potential irrigation for clinical treatment of open fractures, osteomyelitis and infected bone defects.

**[Key words]** hypochlorous acid; open fractures; osteomyelitis; infection; debridement

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(2): 144-151]

[收稿日期] 2022-01-17 [接受日期] 2022-02-05

[基金项目] 国家重点研发计划重点专项(2018YFC2001500),国家自然科学基金(82172098)。Supported by Key Project of National Key Research and Development Plan (2018YFC2001500) and National Natural Science Foundation of China (82172098)。

[作者简介] 张浩, 博士生。E-mail: zhcarl6@126.com

\*通信作者( Corresponding author ). Tel: 021-31161699, E-mail: drsujiacan@163.com

次氯酸 (hypochlorous acid, HClO) 是哺乳动物体内的一种内源性抗菌剂, 通过破坏 DNA、使蛋白质变性和酶失活等作用杀灭细菌<sup>[1]</sup>。HClO 具有天然来源、起效快、抗菌谱广、不产生耐药性及毒性低等优点, 但其化学物质不稳定, 易分解成杀菌效果较弱的次氯酸根离子, 临床应用有限<sup>[2]</sup>。随着 HClO 制备技术的发展, 稳定性更好的 HClO 消毒剂逐步面市, 在抗生素滥用导致耐药菌株逐渐增多的背景下, HClO 重新获得临床医师的关注。含 HClO 的商品化冲洗液、敷料等已被证实对糖尿病足感染、下肢溃疡、烧伤感染、坏死性筋膜炎等有良好的治疗效果<sup>[3-5]</sup>, 口腔科也应用次氯酸盐作为根管治疗冲洗液<sup>[6-7]</sup>。牙龈及根管微环境与骨微环境类似, 因此我们猜想 HClO 冲洗可能对开放性骨折的感染预防和慢性骨髓炎具有潜在治疗效果。目前将 HClO 应用于骨骼系统感染治疗的报道少见。本研究通过体外实验评估不同浓度 HClO 对成纤维细胞和成骨细胞的安全性, 以及低浓度 HClO 对革兰氏阳性和革兰氏阴性菌的抗菌有效性, 为后期推广临床试验提供体外依据。

## 1 材料和方法

**1.1 实验材料** 小鼠上皮样成纤维细胞系 L929 (CL-0137) 和小鼠成骨细胞系 MC3T3-E1 (CL-0251) 均购于武汉普诺赛生命科技有限公司, 分别使用含 10% FBS、1% 青霉素-链霉素的 RPMI 1640 培养基和  $\alpha$ -MEM 培养基 (美国 HyClone 公司) 培养。细胞在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 每 2 d 换 1 次培养基, 细胞融合度达 70% 后按 1 : 3 传代培养。C57BL/6 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2021-0006]。金黄色葡萄球菌 (ATCC<sup>®</sup>25923) 和大肠埃希菌 (ATCC<sup>®</sup>35218) 标准菌株购自美国模式培养物保藏中心。LB 液体培养基和固体培养基购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司。HClO 购自国药集团上海有限公司, MTT 试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司, 膜联蛋白 V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

**1.2 细胞集落形成实验** 实验设置空白对照组和不同浓度 (10%、30%、50% 和 100%) HClO 组, 每组设 3 个生物学重复。取处于对数生长期的 L929、MC3T3-E1 细胞, 制备单细胞悬液, 按每孔 100~200 个细胞的密度接种至 24 孔培养板中, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h 后加入对应浓度的 HClO 继续培养。于加入 HClO 后 1、3、5、7 d

在倒置显微镜下观察细胞集落形成情况并拍照, 计数大于 10 个细胞的单细胞集落。

**1.3 细胞增殖实验** 实验设置空白对照组和不同浓度 (10%、30%、50% 和 100%) HClO 组, 每组设 3 个生物学重复。取处于对数生长期的 L929、MC3T3-E1 细胞, 制备单细胞悬液, 按每孔  $5 \times 10^4$  个细胞的密度接种至 96 孔培养板中, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 12 h 后更换含对应浓度 HClO 的完全培养基, 继续培养 24 h 后采用 MTT 试剂盒检测细胞增殖情况, 计算细胞增殖抑制率。

**1.4 细胞凋亡实验** 实验设置空白对照组和不同浓度 (10%、30%、50% 和 100%) HClO 组, 每组设 3 个生物学重复。L929、MC3T3-E1 细胞融合度至 80% 后接种于 6 孔板中。待细胞完全生长稳定后加入对应浓度的 HClO 继续培养 24 h, 然后离心提取细胞, 用膜联蛋白 V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒染色, 上流式细胞仪检测细胞凋亡率。

**1.5 溶血实验** 实验设置生理盐水组、PBS 组和不同浓度 (10%、30%、50% 和 100%) HClO 组, 每组设 3 个生物学重复。提取 C57BL/6 小鼠红细胞, 充分洗涤后吸弃上层生理盐水, 取底部红细胞, 制备成 2% 的红细胞悬液。根据分组将生理盐水、PBS 和不同浓度 HClO 与红细胞悬液混合, 37 °C 恒温水浴锅水浴, 每隔 1 h 记录溶血情况至 3 h。

**1.6 细菌生长抑制实验** 金黄色葡萄球菌实验设置空白对照组、2.5 mg/mL 万古霉素 (阳性对照) 组和 10% HClO 组, 大肠埃希菌实验设置空白对照组、2.5 mg/mL 头孢西丁钠 (阳性对照) 组和 10% HClO 组, 每组设 3 个生物学重复。将金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌接种至 1 mL LB 液体培养基, 于 37 °C、160 r/min 培养 12 h; 然后吸取菌液在 LB 固体培养基上划线, 倒置培养于 37 °C 恒温箱 12 h 至长出单菌落。取单菌落接种至 1 mL LB 液体培养基中, 37 °C、160 r/min 培养过夜。根据分组情况将 HClO 和万古霉素加入菌液中, 继续以 37 °C、160 r/min 培养细菌, 于 0、2、6、24、72 h 取样测定 600 nm 波长处的光密度 ( $D_{600}$ ) 值。配制对应组别的固体培养基, 将菌液涂布于各平板后 0、2、6、24、72 h 观察细菌生长情况并拍照。

**1.7 抑菌圈实验** 金黄色葡萄球菌实验设置空白对照组、2.5 mg/mL 万古霉素 (阳性对照) 组、10% HClO 组、15% 碘伏组和 15% 过氧化氢组, 大肠埃希菌实验设置空白对照组、2.5 mg/mL 头孢西丁钠 (阳性对照) 组、10% HClO 组、15% 碘伏组和 15% 过氧化氢组, 每组设 3 个生物学重复。制

备直径为 6 mm 的无菌纸片, 121 °C 高压灭菌, 待干燥后根据分组情况制备相应的对照和药物敏感性检测纸片, 25 °C 避光干燥。取单菌落, 用生理盐水制备  $D_{600}$  为 0.5~0.6 的菌悬液, 均匀涂布于 LB 固体平板培养基, 贴上对照或药物敏感性检测纸片, 37 °C 倒置培养 24 及 48 h 后测量抑菌圈大小。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件分析数据。采用 Shapiro-Wilk 检验对所有数据进行正态性检验, 符合正态分布的数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用最小显著性差异法。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度 HClO 对 L929 和 MC3T3-E1 细胞集落形成的影响 空白对照组 L929、MC3T3-E1

细胞的集落形成明显, 细胞增殖趋势正常, 7 d 开始出现细胞衰老。10% HClO 处理的 L929 细胞随着培养时间的延长增殖明显, 3 d 前集落形成速度较空白对照组慢, 其中 3 d 时形成的集落数少于空白对照组 ( $P < 0.05$ ); 5 d 时形成的集落数与空白对照组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 7 d 时细胞衰老明显, 形成的集落数少于空白对照组 ( $P < 0.01$ )。10% HClO 处理的 MC3T3-E1 细胞 3 d 时形成的集落数少于空白对照组 ( $P < 0.05$ ); 5 d 时形成的集落数与空白对照组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 7 d 时细胞衰老明显, 形成的集落数少于空白对照组 ( $P < 0.01$ )。30%、50%、100% HClO 作用 1、3、5、7 d, L929、MC3T3-E1 细胞均无单细胞集落形成, 细胞基本死亡。见图 1。

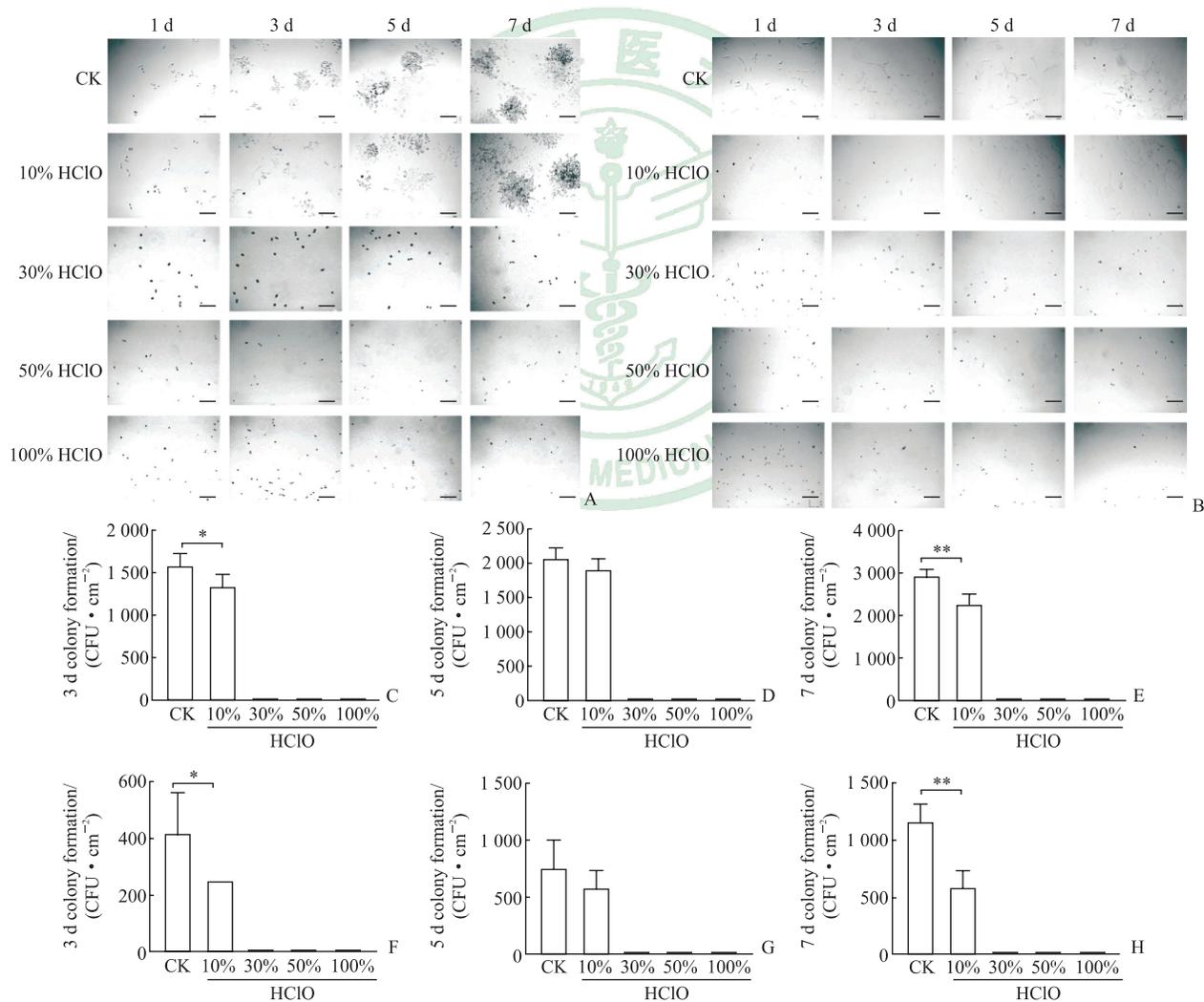


图 1 L929 和 MC3T3-E1 细胞在不同浓度 HClO 刺激下的集落形成情况

Fig 1 Colony formation of L929 and MC3T3-E1 cells stimulated by different concentrations of HClO

A, B: Colony formation images of L929 (A) and MC3T3-E1 (B) cells after intervening with different concentrations of HClO; C-E: Colony numbers of L929 cells 3 d (C), 5 d (D) and 7 d (E) after HClO stimulation; F-H: Colony numbers of MC3T3-E1 cells 3 d (F), 5 d (G) and 7 d (H) after HClO stimulation. Scale bar=100  $\mu$ m. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . HClO: Hypochlorous acid; CK: Control check; CFU: Colony forming unit.

2.2 不同浓度HClO对L929和MC3T3-E1细胞增殖及凋亡的影响 细胞增殖实验结果显示, HClO对L929及MC3T3-E1细胞生长抑制作用存在浓度依赖, 10% HClO组2种细胞的增殖抑制率较低, 而30%、50%和100% HClO组2种细胞的增殖抑

制率增高, 与10% HClO组相比差异均有统计学意义 ( $P$ 均 $<0.01$ , 图2A~2C)。细胞凋亡实验结果显示, 随着HClO浓度的升高, L929和MC3T3-E1细胞的凋亡率也逐渐升高(图2D~2F)。

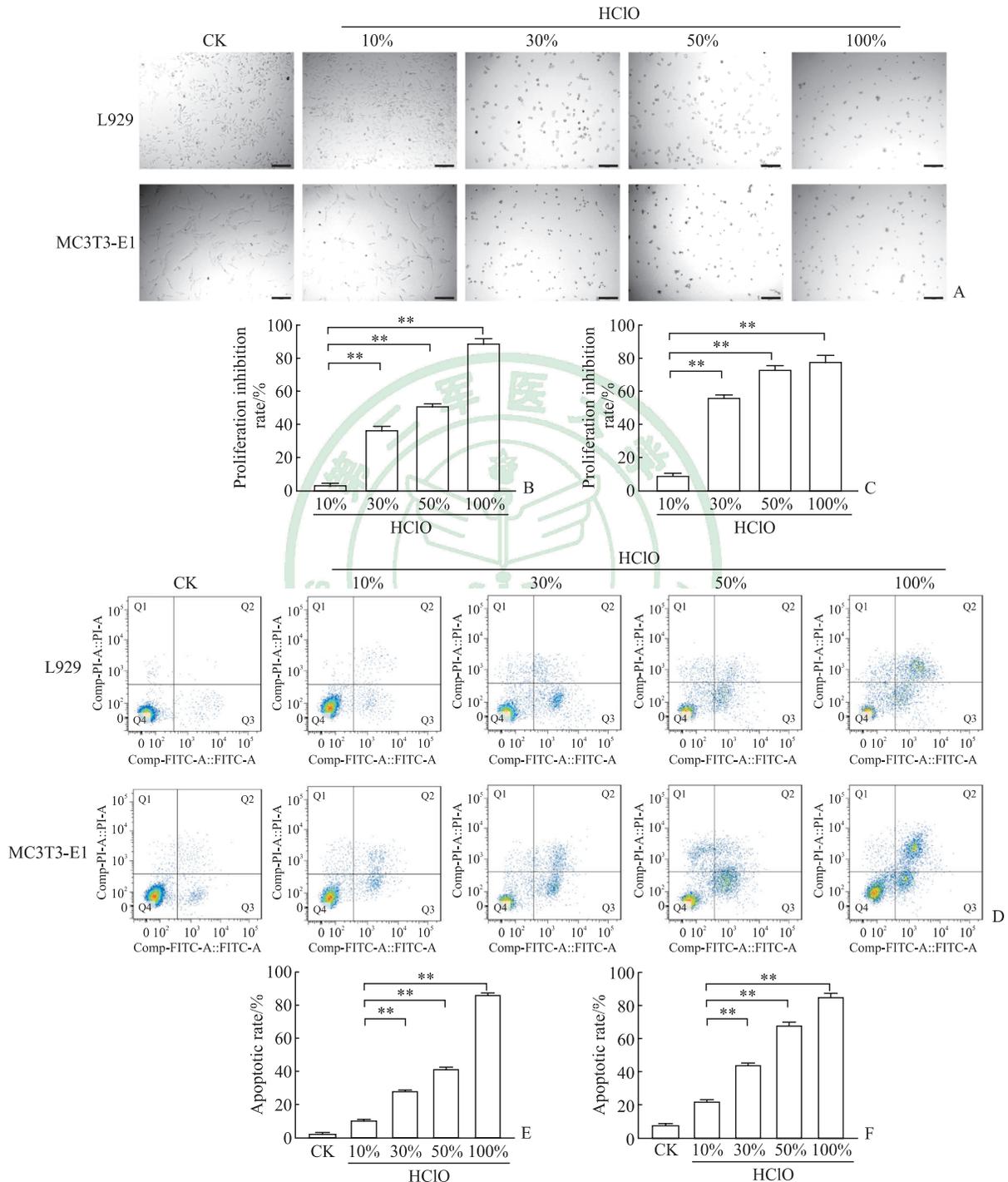


图2 L929和MC3T3-E1细胞在不同浓度HClO刺激下的增殖及凋亡情况

Fig 2 Proliferation and apoptosis of L929 and MC3T3-E1 cells stimulated by different concentrations of HClO

A: Images of L929 and MC3T3-E1 cells 24 h after different concentrations of HClO stimulation; B, C: Proliferation inhibition rates of L929 (B) and MC3T3-E1 (C) cells 24 h after different concentrations of HClO stimulation; D: Flow cytometry images of L929 and MC3T3-E1 cells 24 h after HClO treatment; E, F: Apoptotic rates of L929 (E) and MC3T3-E1 (F) cells 24 h after HClO stimulation. Scale bar=100  $\mu$ m.  $**P<0.01$ .  $n=3, \bar{x}\pm s$ . HClO: Hypochlorous acid; CK: Control check; FITC: Fluorescein isothiocyanate; PI: Propidium iodide.

2.3 不同浓度HClO对小鼠红细胞的溶血风险 溶血实验结果显示,生理盐水阳性对照组出现明显溶血反应,但各浓度HClO组温育后1~3 h均未发生溶血,与PBS阴性对照组相比无明显差异(图3)。

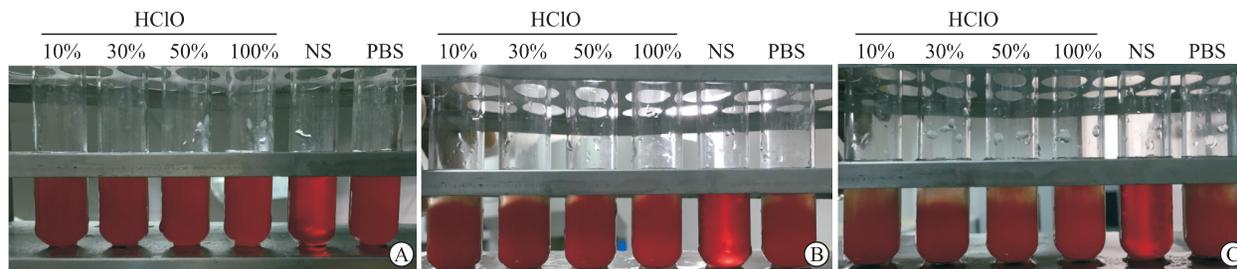


图3 不同浓度HClO作用下小鼠红细胞的溶血反应

Fig 3 Hemolysis responses of erythrocytes to different concentrations of HClO in mice

A: 1 h; B: 2 h; C: 3 h. HClO: Hypochlorous acid; NS: Normal saline; PBS: Phosphate buffered saline.

2.4 低浓度HClO对革兰氏阳性菌的抑制作用 金黄色葡萄球菌生长抑制实验结果(图4A、4B)显示,万古霉素阳性对照组0~72 h细菌没有明显增殖;空白对照组细菌逐渐增殖,24 h后进入平台期;10% HClO组细菌增殖趋势与空白对照组一致,但培养至6 h及之后各个时间点 $D_{600}$ 均低于空白对照组( $P$ 均 $< 0.01$ ),说明其对金黄色葡萄球菌有明显抑制作用。抑菌圈实验结果(图4C、4D)显示万古霉素对金黄色葡萄球菌的抑制作用优于3种消毒剂( $P$ 均 $< 0.01$ ),10% HClO抑菌效果与碘伏和过氧化氢无明显差异。

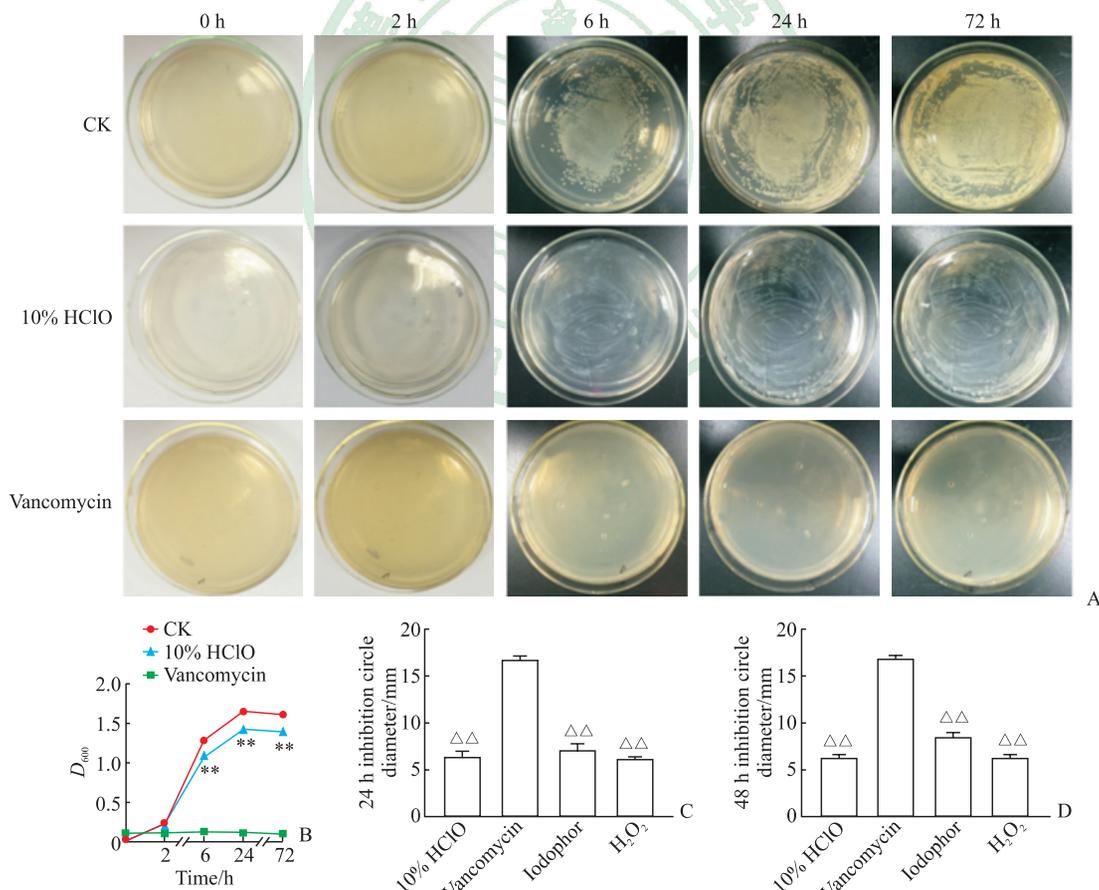


图4 10% HClO对金黄色葡萄球菌生长的抑制作用

Fig 4 Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth by 10% HClO

A: Images of *Staphylococcus aureus* 0-72 h after 10% HClO and vancomycin stimulation; B:  $D_{600}$  of *Staphylococcus aureus* 0-72 h after 10% HClO and vancomycin stimulation; C, D: Diameter of inhibition circle of *Staphylococcus aureus* 24 h (C) and 48 h (D) after 10% HClO, vancomycin, iodophor and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. \*\* $P < 0.01$  vs CK group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs vancomycin group.  $n = 3, \bar{x} \pm s$ . HClO: Hypochlorous acid; CK: Control check; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hydrogen peroxide.

2.5 低浓度HClO对革兰氏阴性菌的抑制作用 大肠埃希菌生长抑制实验结果(图5A、5B)显示, 头孢西丁钠阳性对照组0~72 h细菌几乎没有生长; 空白对照组大肠埃希菌随培养时间的延长明显增殖; 10% HClO对大肠埃希菌抑制效果明显,

处理至6 h及之后各时间点 $D_{600}$ 均低于空白对照组( $P$ 均 $<0.01$ )。抑菌圈实验结果(图5C、5D)显示头孢西丁钠对大肠埃希菌的抑制作用优于3种消毒剂( $P$ 均 $<0.01$ ), 10% HClO抑菌效果与碘伏和过氧化氢无明显差异。

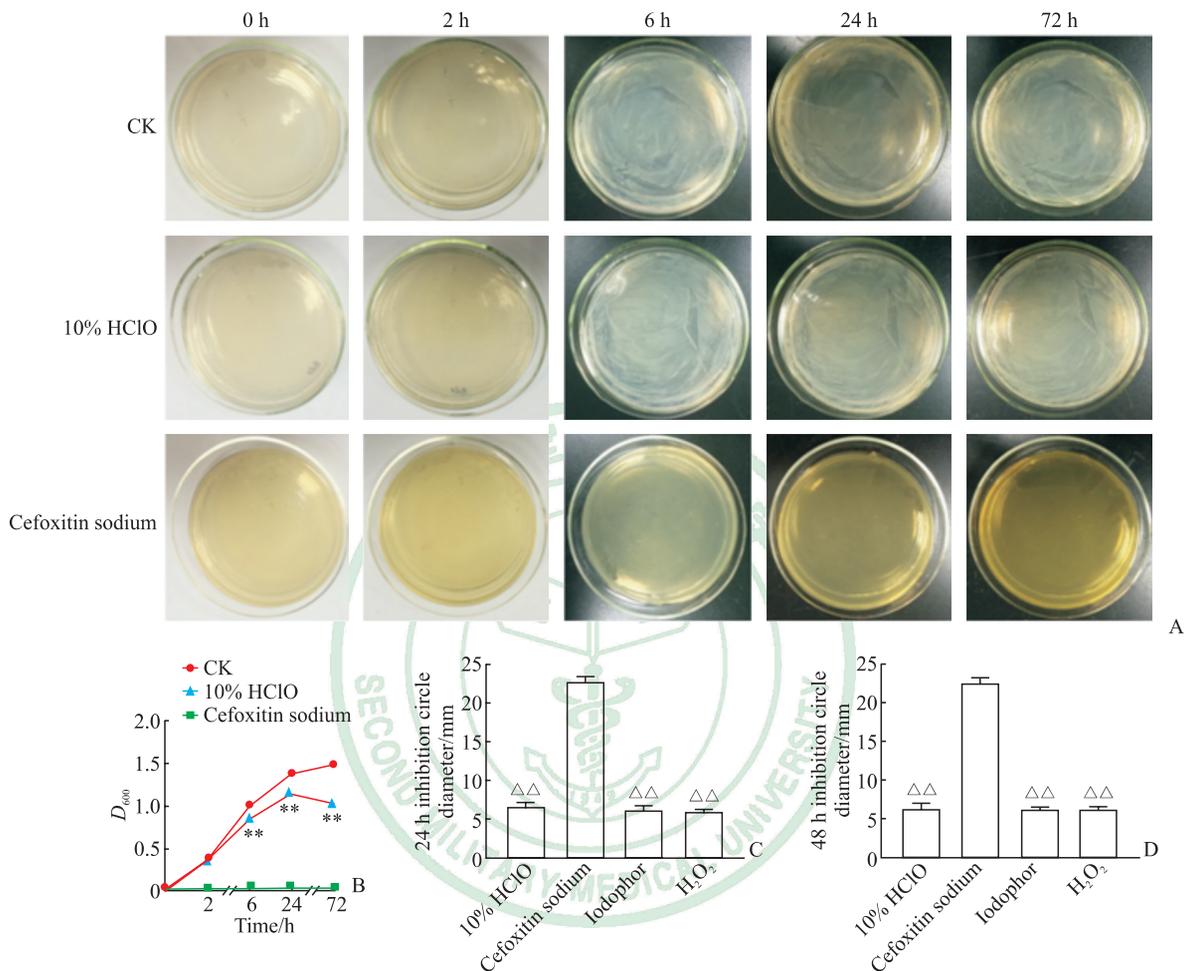


图5 10% HClO对大肠埃希菌生长的抑制作用

Fig 5 Inhibition of *Escherichia coli* growth by 10% HClO

A: Images of *Escherichia coli* 0-72 h after 10% HClO and cefoxitin sodium treatment; B:  $D_{600}$  of *Escherichia coli* 0-72 h after 10% HClO and cefoxitin sodium treatment; C, D: Diameter of inhibition circle of *Escherichia coli* 24 h (C) and 48 h (D) after 10% HClO, cefoxitin sodium, iodophor and  $H_2O_2$  treatment. \*\* $P < 0.01$  vs CK group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs cefoxitin sodium group.  $n = 3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . HClO: Hypochlorous acid; CK: Control check;  $H_2O_2$ : Hydrogen peroxide.

### 3 讨论

HClO具有以下优点: (1)起效快速,可在1 min内杀灭临床常见细菌; (2)可以中和细菌毒素包括金黄色葡萄球菌 $\alpha$ -溶血素和化脓链球菌链激酶; (3)杀菌效果强,可以穿透细菌生物膜起作用; (4)作为天然抗菌剂,低浓度HClO具有较低的生物毒性; (5)抗菌谱广,且不产生耐药

性<sup>[8-10]</sup>。虽然HClO具有以上优势,但以往HClO制备工艺差,保存方法不合适导致HClO因稳定性差而未能在临床广泛应用<sup>[4]</sup>。目前HClO制备工艺提升,各种含HClO敷料及溶液的出现使HClO再次成为清创和创面治疗的主要消毒剂之一<sup>[11]</sup>。

HClO及含HClO消毒剂主要应用于慢性创面和口腔感染的治疗<sup>[12-14]</sup>。应用HClO治疗开放性骨折及骨科感染的报道极少。开放性骨折内固定

术后感染易形成依附于内植物表面的生物膜,导致系统性应用抗生素疗效差及创面冲洗不彻底<sup>[15]</sup>。HCIO穿透力强,易透过生物膜,是潜在的骨感染清创药物<sup>[8,16]</sup>。朱书芳<sup>[17]</sup>报道了1例应用含0.01%纯HCIO的冲洗液冲洗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的化脓性骨髓炎病例。该患者诊断为骨折内固定术后感染、骨髓炎,细菌培养提示耐甲氧西林金黄色葡萄球菌阳性,在骨髓炎清创术中采用生理盐水-过氧化氢-生理盐水序贯冲洗,加用0.01%纯HCIO冲洗液冲洗伤口并湿敷1 min,术后负压引流,持续使用0.01%纯HCIO冲洗创面。患者清创术后21 d创面无感染征象,在植皮后20 d创面愈合,清创术后6个月骨折断端形成骨痂。该病例报告表明采用HCIO冲洗治疗骨髓炎具有一定的可行性,但目前尚未见大样本量研究。此外,HCIO应用于骨科领域的体外研究也很少,尚无体外数据支持HCIO的临床应用。

大量针对不同类型细胞的体外研究表明低浓度HCIO未出现细胞毒性<sup>[18-19]</sup>。本研究探讨了HCIO对成骨细胞与成纤维细胞的安全性。研究结果显示,10% HCIO对成纤维细胞和成骨细胞的毒性较低,短期应用细胞增殖未受明显影响,也未出现明显凋亡,但是持续低浓度刺激1周后出现细胞衰老加速,这可能是因为HCIO的强氧化性导致大量氧自由基产生,后者是细胞衰老的主要元凶。因此长期低浓度HCIO处理伤口可能存在负面效果,但是短期应用低浓度HCIO冲洗创面具有可行性。此外,溶血实验结果显示各浓度HCIO均不会导致溶血反应,提示在清创手术中即使出现HCIO入血也不会导致溶血,安全性较高。

碘伏、过氧化氢是传统开放性骨折及骨髓炎的清创消毒剂。碘伏适用于皮肤及黏膜处,刺激性相对较小,患者耐受性好<sup>[20]</sup>。过氧化氢可通过氧化作用分解腐烂组织,适用于厌氧伤口的清创,但不适用于肉芽创面的持续冲洗引流。本研究观察了10% HCIO、碘伏与过氧化氢针对革兰氏阳性和革兰氏阴性菌的抑菌效果,发现3种消毒剂24 h和48 h抑菌圈直径差异无统计学意义。对于大肠埃希菌,10% HCIO具有与碘伏和过氧化氢相似的杀菌效果;但对于金黄色葡萄球菌,10% HCIO的杀菌效果稍弱于碘伏,可能与HCIO降解、浓度下降有关。本研究结果表明HCIO可能需要多频次、短间

隙给药,维持HCIO的浓度以保证杀菌效果。结合HCIO低毒性特点,其既可以作为清创术中冲洗消毒剂,也可以术后持续使用。

HCIO冲洗也存在潜在的风险,除了本实验提示的HCIO的氧化性可能导致细胞衰老外,次氯酸根离子可能导致骨质疏松。Kerbl等<sup>[21]</sup>以20 mm厚的犬股骨切片进行体外研究,通过CT及组织学染色发现向骨组织内注射5.25%次氯酸钠会导致骨小梁结构稀疏。该研究使用次氯酸钠而非HCIO,导致骨质结构稀疏的原因主要为次氯酸根离子。临床应用HCIO冲洗治疗骨髓炎及开放性骨折的不良反应仍需要开展更多体内研究来探索。本研究的主要缺陷即缺乏体内研究结果,后期将利用大鼠骨髓炎模型,采用低浓度HCIO冲洗病灶,观察HCIO冲洗对大鼠各重要脏器的影响,并观察感染表征的变化和骨折愈合情况。

综上所述,本研究提供了低浓度(10%) HCIO对于骨组织主要细胞安全性的研究数据,也验证了低浓度HCIO具有良好的杀菌效果,是潜在的骨髓炎及开放性骨折冲洗剂。

#### [参考文献]

- [1] BLOCK M S, ROWAN B G. Hypochlorous acid: a review[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2020, 78: 1461-1466.
- [2] 王映娜,何振华,周瑾,孙晓芬. 次氯酸在伤口护理中的应用研究进展[J]. *护理研究*, 2021, 35: 2904-2909.
- [3] WONGKIETKACHORN A, SURAKUNPRAPHA P, WITTAYAPAIROCH J, WONGKIETKACHORN N, WONGKIETKACHORN S. The use of hypochlorous acid lavage to treat infected cavity wounds[J/OL]. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2020, 8: e2604. DOI: 10.1097/GOX.0000000000002604.
- [4] GOLD M H, ANDRIESSEN A, BHATIA A C, BITTER P Jr, CHILUKURI S, COHEN J L, et al. Topical stabilized hypochlorous acid: the future gold standard for wound care and scar management in dermatologic and plastic surgery procedures[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2020, 19: 270-277.
- [5] GOLD M H, ANDRIESSEN A, BHATIA A C, BITTER P Jr, CHILUKURI S, COHEN J L, et al. Topical stabilized hypochlorous acid: the future gold standard for wound care and scar management in dermatologic and plastic surgery procedures[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2020, 19: 270-277.
- [6] VERMA N, SANGWAN P, TEWARI S, DUHAN J. Effect of different concentrations of sodium hypochlorite

- on outcome of primary root canal treatment: a randomized controlled trial[J]. *J Endod*, 2019, 45: 357-363.
- [7] 杨菲菲. 超声下 1% 次氯酸钠液联合洗必泰液对感染根管内粪肠球菌清除效果的分析[J]. *当代医学*, 2020, 26: 46-48.
- [8] DAY A, ALKHALIL A, CARNEY B C, HOFFMAN H N, MOFFATT L T, SHUPP J W. Disruption of biofilms and neutralization of bacteria using hypochlorous acid solution: an *in vivo* and *in vitro* evaluation[J]. *Adv Skin Wound Care*, 2017, 30: 543-551.
- [9] DEL ROSSO J Q, BHATIA N. Status report on topical hypochlorous acid: clinical relevance of specific formulations, potential modes of action, and study outcomes[J]. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2018, 11: 36-39.
- [10] CHEN C J, CHEN C C, DING S J. Effectiveness of hypochlorous acid to reduce the biofilms on titanium alloy surfaces *in vitro*[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 1161. DOI:10.3390/ijms17071161.
- [11] 顾嵘嵘, 陈晓, 翁蔚宗, 曹烈虎, 苏佳灿. 次氯酸临床研究及使用进展[J]. *世界复合医学*, 2015, 1: 336-339.
- [12] ELIASSON B, FAGERDAHL A M, JÖNSSON A, APELQVIST J. Debriding effect of amino acid-buffered hypochlorite on hard-to-heal wounds covered by devitalised tissue: pilot study[J]. *J Wound Care*, 2021, 30: 455-464.
- [13] MALLOW P J, HIEBERT J M, ROBSON M C. Cost-effectiveness of hypochlorous acid preserved wound cleanser versus saline irrigation in conjunction with ultrasonic debridement for complex wounds[J]. *J Health Econ Outcomes Res*, 2021, 8: 76-81.
- [14] HERRUZO R, HERRUZO I. Antimicrobial efficacy of a very stable hypochlorous acid formula compared with other antiseptics used in treating wounds: *in-vitro* study on micro-organisms with or without biofilm[J]. *J Hosp Infect*, 2020, 105: 289-294.
- [15] SIDDIQI A, ABDO Z E, SPRINGER B D, CHEN A F. Pursuit of the ideal antiseptic irrigation solution in the management of periprosthetic joint infections[J]. *J Bone Jt Infect*, 2021, 6: 189-198.
- [16] RAVAL Y S, FLURIN L, MOHAMED A, GREENWOOD-QUAINTANCE K E, BEYENAL H, PATEL R. *In vitro* activity of hydrogen peroxide and hypochlorous acid generated by electrochemical scaffolds against planktonic and biofilm bacteria[J/OL]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65: e01966-e01920. DOI: 10.1128/AAC.01966-20.
- [17] 朱书芳. 纯次氯酸冲洗液应用 1 例创伤后骨髓炎的治疗[J]. *医学信息*, 2018, 31: 186-187.
- [18] SLAUGHTER R J, WATTS M, VALE J A, GRIEVE J R, SCHEP L J. The clinical toxicology of sodium hypochlorite[J]. *Clin Toxicol (Phila)*, 2019, 57: 303-311.
- [19] SEVERING A L, REMBE J D, KOESTER V, STUERMER E K. Safety and efficacy profiles of different commercial sodium hypochlorite/hypochlorous acid solutions (NaClO/HClO): antimicrobial efficacy, cytotoxic impact and physicochemical parameters *in vitro*[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2019, 74: 365-372.
- [20] 周海微, 李学渊, 应瑛, 孙凌燕, 王萑. 不同消毒液对手外科感染伤口消毒的效果比较[J]. *解放军护理杂志*, 2017, 34: 70-72.
- [21] KERBL F M, DEVILLIERS P, LITAKER M, ELEAZER P D. Physical effects of sodium hypochlorite on bone: an *ex vivo* study[J]. *J Endod*, 2012, 38: 357-359.

[本文编辑] 孙 岩