

上海市松江区公共场所空调系统嗜肺军团菌污染状况

李欣, 吴佳瑾, 俞佳莉, 陆晓红, 乔雪飞

摘要: [目的] 了解上海市松江区公共场所空调系统冷却水和冷凝水嗜肺军团菌污染状况, 为预防军团病的发生和流行提供依据。[方法] 于2015年7—10月, 分别采集松江区8家酒店、7家超市、8幢办公楼等公共场所空调系统的冷却水和冷凝水共66件, 应用PCR技术和常规微生物平板分离法同时检测, 并进行血清学分型鉴定。[结果] 冷却水中常规分离培养方法检测嗜肺军团菌阳性率为51.6%, PCR方法检测的阳性率为58.3%; 冷凝水中常规分离培养方法检出阳性率为11.4%, PCR方法检出阳性率为14.3%, 两种方法均显示冷却水中检出的阳性率明显高于冷凝水的阳性率, 二者差别有统计学意义($P < 0.01$); 本研究共检出5种不同血清型的嗜肺军团菌, 其中以LP1血清型为主, 占73.9%; 而一个样品中检出两种血清型的占13.0%; 两种检测方法差异无统计学意义, 且酒店、超市、办公楼不同场所嗜肺军团菌的污染率的差异也无统计学意义。[结论] 上海市松江区公共场所空调系统存在嗜肺军团菌的污染, 必须加大对公共场所集中空调通风系统的监督管理力度, 加强清洁和消毒工作, 以防军团病的暴发和流行。

关键词: 嗜肺军团菌; 冷却水; 冷凝水; PCR

Legionella pneumophila Pollution in Air-Conditioning Systems in Public Places of Songjiang District, Shanghai LI Xin, WU Jia-jin, YU Jia-li, LU Xiao-hong, QIAO Xue-fei (Shanghai Songjiang District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 201620, China). Address correspondence to QIAO Xue-fei, E-mail: 18918791129@163.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To investigate *Legionella pneumophila* pollution in public air-conditioning cooling water and condensate water in Songjiang District of Shanghai, and provide a basis for the prevention of legionnaires' disease. [Methods] A total of 66 samples of air-conditioning cooling water and condensate water were collected from 8 hotels, 7 supermarkets, and 8 office buildings from July to October in 2015. PCR technique and routine microorganism identification technique were applied. Serological identification was also carried out. [Results] The positive rate of *Legionella pneumophila* was 51.6% in cooling water samples by the routine technique and 58.3% by PCR. The positive rate of *Legionella pneumophila* was 11.4% in condensate water samples by the routine technique and 14.3% by PCR. Higher positive rates in cooling water than in condensate water were shown by the two techniques, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). There were five different serological types identified, with LP1 as the major one, accounting for 73.9%. The proportion of two types identified in one sample was 13.0%. No statistical differences were shown by the two methods. The difference in positive rates of *Legionella pneumophila* was not statistically significant among hotels, supermarkets, and office buildings. [Conclusion] *Legionella pneumophila* contamination exists in air-conditioning systems in public places in Songjiang District. Attention needs to be paid to the supervision of air-conditioning systems in public places for the sake of preventing *Legionella pneumophila* outbreak and prevalence.

Key Words: *Legionella pneumophila*; cooling water; condensate water; PCR

嗜肺军团菌是一种革兰氏阴性的短小球杆菌, 在自然界可长期存活, 存在于各种自然界水源以及空调水管道、供水系统等人工水源中, 也可以隐藏在空调

冷却水、冷凝水及空调制冷装置中, 尤其空调冷却水是军团菌特殊的生存环境^[1]。空调器把细菌散布于室内空气中, 人因吸入含有军团菌的气溶胶而引发军团病。军团病是嗜肺军团菌所致的急性呼吸道传染病, 而军团菌肺炎严重者可导致呼吸衰竭和肾衰竭, 甚至致命。目前军团病已被列为近几十年新发传染病之一, 成为现代城市面临的一个重要公共卫生问题^[2]。本研究旨在了解上海市松江区公共场所空调系统嗜肺军团菌的污染情况和分布特征, 为加强卫生管理、控制空调系统污染、预防军团病暴发提供依据。

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.16265

[基金项目] 上海市松江区公共卫生合作项目资金资助(编号: 2014-15); 上海市松江区医学重点学科建设项目一病原微生物检验科(编号: 2013XK09)

[作者简介] 李欣(1980—), 女, 硕士, 主管检验师; 研究方向: 病原微生物; E-mail: lixin_0607@163.com

[通信作者] 乔雪飞, E-mail: 18918791129@163.com

[作者单位] 上海市松江区疾病预防控制中心, 上海 201620

1 材料与方法

1.1 对象

随机抽取上海市松江区8家酒店、7家超市、8幢办公楼,其中不同类型的空调系统至少分别采集一套冷凝水和冷却水。共采集空调系统水样66件,其中31件冷却水,35件冷凝水(因有几组空调机共用一个冷却塔,故冷凝水多于冷却水),进行嗜肺军团菌检测。

1.2 方法

1.2.1 采样方法 采用加入 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 高压灭菌的采样瓶,采集冷却水须距离冷却塔壁20 cm,液面下10 cm,冷凝水采集点设置在冷凝水管出水口,无菌操作采集冷却水和冷凝水各500 mL。

1.2.2 常规分离培养检验方法 按照WS 394—2012《公共场所集中空调通风系统卫生规范》附录B执行,培养基、试剂、血清等均由上海市疾病预防控制中心提供,且在有效期内使用,Thermo3111 CO_2 培养箱(Thermo,美国)、MICROFIL水样抽滤器(MILLIPORE,美国)、FINEV RTECH振荡器(FINEPCR,韩国)、SG603TXCE生物安全柜(Baker,美国)均检验合格。

1.2.3 PCR检验方法 样品经负压过滤后,剪碎放入15 mL蒸馏水中,混匀洗脱,取常规分离培养剩余的洗脱液1000 μL ,12 000 r/min(12 900 $\times g$)离心5 min,弃上清液,加100 μL DNA提取液入沉淀中,振荡混匀,置100 $^{\circ}\text{C}$ 加热10 min,12 000 r/min(12 900 $\times g$)离心5 min,保留上清液待用。加样体系及扩增程序严格按照上海之江有限公司嗜肺军团菌检测说明书进行,同时做阳性、阴性对照;嗜肺军团菌荧光定量PCR检测试剂购自上海之江有限公司,ABI7500扩增仪(ABI,美国)、TECHNE100摄氏度加热器(Techne,英国)等均经校准合格。

1.3 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件录入数据并进行卡方检验分析。

2 结果

2.1 不同监测点嗜肺军团菌总体检出情况

松江区23家公共场所共采集66件空调系统水样进行嗜肺军团菌检测,常规平板分离法检出20件阳性,总检出率为30.3%。其中酒店的军团菌阳性率为34.8%,超市为29.4%,办公楼为26.9%,经统计学检验,三者之间比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

表1 不同公共场所空调系统水样中嗜肺军团菌检出情况

监测点	户数	采样件数	阳性件数	阳性率(%)	χ^2	P
酒店	8	23	8	34.8	0.363	0.834
超市	7	17	5	29.4		
办公楼	8	26	7	26.9		

2.2 不同方法的嗜肺军团菌检出结果

31件空调冷却水中,利用常规微生物平板分离培养检测的阳性嗜肺军团菌为16例,阳性率为51.6%,PCR方法检测的阳性数为18例,阳性率为58.1%;35件空调冷凝水中,常规微生物平板分离培养检测的嗜肺军团菌的阳性数为4例,阳性率为11.4%,PCR方法检测的阳性数5例,阳性率为14.3%,两种方法检测冷却水和冷凝水间嗜肺军团菌阳性率的差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)(表2)。

表2 冷却水和冷凝水中嗜肺军团菌阳性率比较

方法	冷却水			冷凝水			χ^2	P
	阳性数	样本数	阳性率(%)	阳性数	样本数	阳性率(%)		
平板分离法	16	31	51.6	4	35	11.4	13.15	<0.01
PCR检测法	18	31	58.1	5	35	14.3	14.46	<0.01

空调冷却水和冷凝水共66件,两种方法检测均阳性的19件,均为阴性的42件,PCR阳性而平板分离法阴性的4件,PCR阴性而平板分离法阳性的1件,两种检测方法经配对 χ^2 检验,差异无统计学意义($\chi^2=0.8$, $P=0.375$)。

2.3 嗜肺军团菌的菌型分布

以微生物平板分离法在20件阳性水样中分离到23株活菌,以LP1血清型为最多,占73.9%;另外,3件水样中同时检出两种嗜肺军团菌的血清型,分别为2例LP1\LP7和1例LP1\LP5,占13.0%,说明同一空调系统中可能有两种血清型及以上的嗜肺军团菌同时存在(表3)。

表3 嗜肺军团菌血清型别统计分析

型别	LP1	LP3	LP5	LP6	LP7	双血清型*
例数	17	1	2	1	2	3
构成比(%)	73.9	4.3	8.7	4.3	8.7	13.0

[注]*: 双血清型包括2例LP1\LP7、1例LP1\LP5。

3 讨论

随着空调使用率的提高,空调的污染出现一种被称之为现代文明病的“军团病”。约90%军团病是由嗜肺军团菌所致,感染后主要引起肺炎和肺外器官损害,临床表现各异,目前世界多个国家和地区均有军

团病的报道^[3]。流行病学调查发现,军团菌肺炎的发病率有上升趋势,2000—2009年,美国50个州和哥伦比亚特区向法定传染病监测系统上报22418例军团菌肺炎患者,发病率从0.39/10万上升到1.15/10万,增加192%,有74%的患者 ≥ 50 岁^[4],其临床表现无特异性,包括发热、咳嗽、头痛、肌肉疼痛、呼吸困难、腹泻、精神错乱等,很难和其他肺炎区分开来,WHO已将其列入传染病报告范围^[5]。

常规微生物平板分离方法比较耗时,操作复杂,而且培养条件苛刻,但是特异性100%且可以保证检出存活的嗜肺军团菌;PCR方法检测军团菌是从细菌的基因水平入手,灵敏度比较高,操作简单、节约时间,但是不能保证检出的嗜肺军团菌是存活的。活的细菌才具有感染性,可以引起军团病的暴发,对公共卫生具有重大意义。本研究采用两种方法互补结合,常规微生物法特异性好,PCR方法灵敏度高,快速,通过本次研究比较,两种方法一致性较好,为未来使用PCR作为初筛方法提供了依据。常规平板分离法和PCR法两种方法检测冷却水中嗜肺军团菌的阳性率分别为51.6%和58.1%,均达50%以上,近年来在南京、深圳、上海、北京等地开展的各项检测和调查发现,集中空调冷却水中军团菌检出率在29%~75%^[6-9],与本研究结果相符合;而冷凝水中的污染率较低,阳性率分别为11.4%和14.3%,经统计分析冷凝水和冷却水阳性率的差别有统计学意义;而两种检测方法的差异无统计学意义。此外,本研究显示酒店、超市、办公楼不同公共场所空调水样中嗜肺军团菌污染水平的差异无统计学意义。

大量研究表明,我国公共场所LP菌型分布广泛,LP1~LP14均有检出报道;其中上海、深圳、南京、北京等城市和地区军团菌优势菌型为LP1^[6-10],在本研究中,检出了5种不同血清型的嗜肺军团菌,分别为LP1、LP3、LP5、LP6、LP7,其中也以LP1为优势菌,检出率高达73.9%,而LP1是所有嗜肺军团菌型别中致病力最强的,LP1引发的军团菌肺炎最为常见,占85%^[11]。同时本研究显示同一样品检出两种不同嗜肺军团菌血清型的占13.0%,提示空调系统冷却水中存在多种菌型嗜肺军团菌,具有多重污染。

本研究显示,被调查场所空调系统嗜肺军团菌污染水平较高,可能是由于一些公共场所卫生管理存在误区,缺乏有效管理措施。针对嗜肺军团菌的感染目

前尚无有效的预防措施,军团病疫苗一直在研究,但至今未能应用临床^[12]。因此加强水资源管理,尤其空调管道和设施的消毒处理,防治军团菌造成空气和水源污染,加强军团菌监测,是我国卫生管理部门亟待重视和解决的问题之一,也是预防军团菌病发生和流行的重要措施。

(志谢:感谢本单位监测科孙中心在采样过程中给予的指导和帮助)

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] Lowry PW, Tompkins LS. Nosocomial legionellosis: a review of pulmonary and extrapulmonary syndromes[J]. Am J Infect Control, 1993, 21(1): 21-27.
- [2] 郭积勇. 新发传染病的预防与控制[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2002: 111-129.
- [3] 孙军平, 张睢扬. 军团菌病研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2012, 32(6): 435-438.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Legionellosis—United States, 2000–2009[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2011, 60(32): 1083-1086.
- [5] 路凤, 金银龙, 程义斌. 军团菌病的流行概况[J]. 国外医学卫生学分册, 2008, 35(2): 78-83.
- [6] 葛明, 石利民, 包亚慧. 2008年南京市公共场所空调冷却水中嗜肺军团菌的污染状况调查[J]. 预防医学论坛, 2010, 16(3): 234-235.
- [7] 林爱红, 张然, 叶宝英, 等. 深圳市集中空调系统军团菌污染状况分析[J]. 实用预防医学, 2011, 18(9): 1670-1672.
- [8] 陶静, 洪亮, 张静, 等. 上海市集中式中央空调冷却塔水嗜肺军团菌污染状况分析[J]. 医学信息, 2010, 23(3): 664-665.
- [9] 王丽娟, 马建新, 崔树峰, 等. 北京某区部分医院和宾馆中央空调系统冷却塔水军团菌污染状况监测[J]. 环境与职业医学, 2010, 27(12): 748-750.
- [10] 沈福杰, 王曙, 宿飞, 等. 上海市黄浦区医院中央空调冷却水和自来水军团菌污染情况[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(10): 903-905.
- [11] Diederer BMW. Legionella spp. and Legionnaires' disease[J]. J Infect, 2008, 56(1): 1-12.
- [12] 柴海云. 嗜肺军团菌核酸疫苗研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2014, 42(5): 65-68.

(收稿日期: 2016-03-23)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 丁瑾瑜; 校对: 陶黎纳)