

## · 现场调查 ·

# 温泉度假娱乐场所温泉水军团菌污染状况及相关因素调查

王连秀 闫革彬 葛莉娜 乔桂芳 赵维勇

**【摘要】** 目的 了解温泉度假娱乐场所温泉水军团菌污染状况及相关因素。方法 选择北京市昌平区较大的 4 所温泉度假娱乐场所,采用统一调查表进行现场调查,同时采集温泉水进行军团菌分离、鉴定和菌落计数,分离到的菌株用 PCR 方法进行 *mip* 基因分型。结果 87 份温泉水检出 47 株军团菌,均为嗜肺军团菌(Lp),检出率为 54.02%,共有 4 个血清型(Lp1 占 57.45%, Lp6 占 21.28%, Lp12 占 14.89%, Lp5 占 6.38%)。温泉水通过循环过滤加热系统控制池水的温度在 34~47℃ 之间,34~44℃ 均有军团菌的检出,34℃ 以下和 44℃ 以上未检出,其中高温池(40~47℃)37 份水样检出 Lp 21 株,检出率 56.75%;低温池(34~39.9℃)42 份水样检出 Lp 26 株,检出率 61.90%。高温池与低温池检出率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。4 所温泉度假娱乐场所温泉水 pH 值 6.4~7.3,环境温度 26~28℃,相对湿度在 56%~69%,均为军团菌最佳的生长条件。温泉场所的消毒全部采用氯制剂,余氯含量为 0.3~0.5 mg/L,但检出率仍在 14.29%~48.00%。结论 4 所温泉娱乐场所温泉水 Lp 污染比较严重,血清分型以 Lp1 为主,环境条件、pH 值、温泉水温度以及温泉的形成方式均适合军团菌生长,所以要高度注意由温泉引起的军团菌暴发。由于温泉水温度比较高,氯制剂中氯挥发快,可影响消毒效果,温度达到 44℃ 以上可作为抑制军团菌方法。

**【关键词】** 军团菌; 温泉; 污染

**Study on the status of pollution by *Legionella* species in hot spring vacation center and the related factors**  
WANG Lian-xiu, YAN Ge-bin, GE Li-na, QIAO Gui-fang, ZHAO Wei-yong. Changping Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102200, China

**【Abstract】 Objective** To study the pollution status of *Legionella* species in hot spring vacation center and the related factors. **Methods** Field surveys were performed in four big hot spring vacation centers of Changping district. Uniform questionnaires was used and colony count was made together with the isolation of *Legionella* species from hot spring water based on *mip* gene typing. **Results** 47 isolates of *Legionella pneumophila* (Lp) from 87 samples showed 4 serotypes as Lp1, Lp6, Lp12, Lp5 with percent of 57.45%, 21.28%, 14.89%, 6.38% respectively. The hot spring centers controlled the temperature of recycled water between 34-47℃ by hot water heating and filtrating system. All the isolates were cultured from the hot water with temperature between 34-44℃: 56.75% (21/37) in high temperature (40-47℃) and 61.90% (26/42) in low temperature (34-39.9℃). There were no statistically significant difference between the high and the low temperature samples ( $P>0.05$ ). In the four hot spring vacation centers, the pH value was under control at 6.4-7.3 and the ambient temperature was under control between 26-28℃. The humidity was controlled between 56%-69% relative humidity, which were the best growing conditions for the *Legionella* species. Disinfectors as chlorine deviratives was used in the four hot spring vacation centers. Though the concentration of chlorine in the water was 0.3-0.5 mg/L, 14.29%-48.00% of the samples were still positive of having *Legionella* species. **Conclusion** The pollution of *Legionella* species was considered to be quite serious in the four hot spring vacation centers and the predominant serotype was Lp1. The pH and temperature of the hot spring water, ambient temperature and humidity and the way of heating up the water were the best conditions for the growth of *Legionella* species in these centers. Because of the high temperature of the hot spring water, chlorine of the disinfector volatilized quickly, affecting the effect of disinfection. The result revealed that water temperature achieving 44℃ could have had the effect of prevention.

**【Key words】** *Legionella* species; Hot spring; Pollution

自 1976 年美国报道军团菌引起军团病以来,目前国内外报道最多是中央空调冷却塔循环水作为传播军团病的方式,日本几次报道洗温泉引起军团病,在国内通过解放军医学图书馆数据库和万方数据库医学期刊文献检索发现 1998 年以来,未见关于温泉场所温泉水军团菌的相关报道。2005 年 8-9 月我们对北京市昌平地区较大的 4 所温泉度假娱乐场所进行了温泉水军团菌检测,并对相关条件与军团菌的关系进行了调查分析。

### 对象与方法

1. 调查对象:2005 年 8-9 月选择温泉池在 30 个以上的北京市昌平区内昌平镇北温泉度假村(昌平北)、昌平镇西温泉旅游公司(昌平西)、昌平东部温泉度假娱乐山庄(昌平东 1)、昌平东部温泉娱乐宫(昌平东 2) 4 所温泉度假娱乐场所作为调查对象。

2. 调查方法与内容:经过培训的调查人员按调查表内容进行开业年限、温泉水加热、过滤、消毒方式、消毒剂的使用情况、环境条件、温泉水循环方式、补换新水及温泉的不同形式进行现场调查,同时用计量检定所检定合格的温度计、酸度计测量水温和 pH 值,用余氯比色计测定余氯。样品用无菌采水瓶采集出井后储罐水 8 份、低温池(34~39℃)水 42 份、高温池(40~47℃)水 37 份共 87 份,进行军团菌分离、鉴定和菌落计数。

3. 检测方法:取 300 ml 温泉水用过滤膜过滤后 30 ml 蒸馏水洗脱,按照 1:1 比例进行酸处理,取处理液各 0.1 ml 分别涂布在 2 个 GVPC 平板,放 CO<sub>2</sub> 温箱 37℃ 培养 7 d,每天观察菌落生长情况,挑取可疑军团菌的菌落转种在 BCYE 平板进行分纯培养和血平板进行鉴别培养,血平板不生长而 BCYE 平板生长,用分型血清进行军团菌分型,另外计数 2 个 GVPC 平板的菌落取均值,计算出军团菌的浓度(CFU/ml),最后用 PCR 方法鉴定嗜肺军团菌或非嗜肺军团菌。

4. 菌株分离:军团菌分离用 GVPC 和 BCYE 培养基购于北京路桥技术有限责任公司;标准菌株来源于北京市疾病预防控制中心;军团菌分型血清(1~14 型)来自中国疾病预防控制中心传染病预防控制所。*mip* 基因特异性引物 Lpmip-1 5'-GCAATGTCAACAGCAA-3'; Lpmip-2 5'-CATAGCGTCTTGCATG-3' 参考文献[1,2],PCR 试剂 Taq DNA Polymerase 购自华美公司。

### 结果

1. 军团菌检出情况及血清分型:87 份温泉水检出 47 株军团菌,检出率为 54.02%。其中昌平北一所温泉度假村检出率最高为 84.38%;昌平西一所温泉旅游公司检出率为 48.00%;昌平东两所温泉度假娱乐场所检出率分别为 37.50% 和 14.29%。4 所温泉度假娱乐场所储罐内温泉水未检出军团菌。47 株军团菌用 *mip* 基因进行嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*, Lp)及非嗜肺军团菌分型,全部为 Lp。血清分型分出 4 个型别:Lp1、Lp5、Lp6、Lp12。其中最多为 Lp1 占 57.45%,Lp6 占 21.28%,Lp12 占 14.89%,Lp5 占 6.38%(表 1)。

表 1 北京市昌平地区 4 所温泉度假娱乐场所军团菌检出及血清分型

取样地点	样品件数	检出件数	检出率 (%)	血清型(份数)			
				Lp1	Lp5	Lp6	Lp12
昌平北	32	27	84.38	17	-	4	6
昌平西	25	12	48.00	7	-	4	1
昌平东 1	16	6	37.50	2	2	2	-
昌平东 2	14	2	14.29	1	1	-	-
合计	87	47	54.02	27	3	10	7
				(57.45)	(6.38)	(21.28)	(14.89)

注: - 为阴性;括号内数据为检出率(%)

2. 温泉不同区域的军团菌菌落计数:温泉池的温泉水军团菌菌落数 ≤ 10 CFU/ml 的有 11 份,高低温泉池分别为 6、5 份;20 份 11~100 CFU/ml 高低温泉池水分别为 6、14 份;>100 CFU/ml 的有 16 份中高温池 7 份,低温池 9 份。

3. Lp 血清型别与水温度关系:4 所温泉度假娱乐场所温泉水温在 26~47℃ 之间。其中低温池 42 份水样检出 Lp 26 株,检出率为 61.90%;高温池 37 份水样检出 Lp 21 株,检出率 56.75%;经统计学处理( $\chi^2 = 0.22, P > 0.05$ ),高温池与低温池 Lp 检出率的差异无统计学意义;储罐内水温在 26~40℃ 之间共 8 份水样,均未检出军团菌。检出的 47 株 Lp,其中 27 株 Lp1 型的温度范围在 34~44℃;10 株 Lp6 型的温度范围在 38~44℃;Lp5 型在 39℃ 检出 1 株,44℃ 时检出 2 株;Lp12 型的温度范围 36~42℃。34℃ 以下和 44℃ 以上都未检出 Lp(表 2)。

4. 影响因素与军团菌的关系:影响因素包括娱乐场所开业时间、温泉水 pH 值、环境条件、温泉水加热方式以及消毒方式。4 所温泉度假娱乐场所开业时间最短 2 年,最长 10 年。昌平北温泉度假娱乐

场所开业 4 年,军团菌检出率高达 84.38%,菌落计数 >100 CFU/ml 有 11 份;开业 10 年的昌平东 2 温泉度假娱乐场所军团菌检出率较低(14.29%),菌落计数为零。温泉水 pH 值 6.4~7.3,环境温度 26~28℃,但相对湿度比较大均在 56% 以上。电加热是温泉水保持温度主要方式,锅炉烧蒸汽加热只有一家。温泉场所的消毒全部采用氯制剂,有余氯检测记录,采样时现场测定 3 家场所余氯含量均在 0.3~0.5 mg/L 之间,但加氯制剂的方式不一样,用氯制剂刷池而没有进一步做温泉水消毒的温泉度假娱乐场所军团菌检出率高,军团菌菌落计数也高;而一家用锅炉烧蒸汽加热余氯含量 0.5 mg/L,其检出率低(表 3)。

讨 论

自 1982 年南京市首次证实军团菌病例以来,国内已有多起军团病的暴发,由于该病的流行及传播与集中空调、热水设备等现代生活设备的人工水环境密切相关,北京、上海、广州、深圳、青岛、浙江等省市做了大量的中央空调冷却塔水、自然环境水及生活用水的军团菌调查<sup>[3-8]</sup>,其中以北京和广州市中央空调冷却塔水的检出率较高为 55.3% 和 57.14%;其他城市的中央空调冷却塔水、自然环境水及生活用水军团菌检出率在 22.2%~40.0% 之间,此次调查结果表明温泉度假娱乐场所温泉水 Lp 检出率处在比较高的水平为 54.02%,血清分型 Lp1 为主,占 57.45%,与北京市中央空调冷却塔水分离的军团菌血清分型相一致(北京市中央空调冷却塔水 Lp1 占

50.0%),军团菌检出率也比较接近,Lp1、Lp5、Lp6、Lp12 均有检出。

我国温泉水尚无军团菌卫生标准;美国冷热水系统水中的军团菌标准 ≤10 CFU/ml,加湿器水 ≤1 CFU/ml,冷却塔水军团菌浓度 ≤100 CFU/ml;澳大利亚、新加坡冷却塔水 ≤10 CFU/ml;如果参照美国冷却塔水军团菌标准(≤100 CFU/ml),本次调查中 >100 CFU/ml 共有 16 份,超标 13.89% (16/87)。

温泉水的温度对军团菌影响比较大,Kusnetsov 等<sup>[9]</sup>研究发现,30~40℃ 的热水环境最适于 Lp 生长繁殖。Ohno 等<sup>[10]</sup>观测发现,42℃ 时,尽管 Lp 还保持着代谢活性,却无法培养出菌落。此次调查温泉水的温度在 26~47℃ 之间,结果从 34~44℃ 之间都有该菌的检出。国内冯文如等<sup>[4]</sup>报道的广州市公共场所空调冷却塔水出口温度 25~30℃、回水口温度 26~34℃,军团菌检出率分别为 54.29% 和 31.43%,说明 Lp 对温度有高度的适应性,可以随着温度的变化来调节生存能力。从不同温度下 Lp 血清型检出情况看,Lp1 的温度范围广,在 34~44℃ 均有检出,而 Lp12 型在 42℃ 以上没有检出,说明 Lp 不同的血清型别耐受温度可能有所不同。

从调查结果看出,4 家温泉度假娱乐场所开业时间长短与军团菌的污染无关,调查的温泉水 pH 值、环境温度、湿度这些环境条件均是军团菌最佳的生存条件,所以温泉水可能是军团菌大量繁殖的场所。温泉水的加热方式主要是电加热和锅炉烧蒸汽加热,但对军团菌影响都不大。消毒方式与消毒剂对军团菌影响很大,此次调查的温泉水用加氯制剂

表2 北京市昌平地区 4 所温泉度假娱乐场所检出的 Lp 血清型别与温泉水温度关系

血清型	菌株数	不同温泉池水温(℃)															
		26	27	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
Lp1	27	-	-	1	3	9	5	1	1	2	1	1	2	1	-	-	-
Lp6	10	-	-	-	-	-	-	1	1	2	-	1	3	2	-	-	-
Lp5	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-
Lp12	7	-	-	-	-	1	1	-	1	-	3	1	-	-	-	-	-
合计	47	0	0	1	3	10	6	2	4	4	4	3	5	5	0	0	0

注: - 为未检出

表3 北京市昌平地区 4 所温泉度假娱乐场所相关影响因素与军团菌的关系

温泉场所	开业年限	相关影响因素				军团菌		
		水 PH 值	温度(℃)	相对湿度(%)	加热方式	消毒方式	检出率(%) CFU/ml >100	
昌平北	4	6.5~6.9	26.2 27.5	68(低温区) 69(高温区)	电加热	氯制剂刷池	84.38	11
昌平西	2	6.8~7.3	28.0	60	电加热	循环过滤时加氯片*	48.00	4
昌平东 1	5	6.4~6.9	28.0	62	电加热	水中加氯制剂*	37.50	1
昌平东 2	10	6.8~7.2	26.0	56	蒸汽加热	水中加氯制剂#	14.29	0

\* 余氯含量 0.3~0.5 mg/L; # 余氯含量 0.5 mg/L

作为消毒试剂,余氯含量在0.3~0.5 mg/L是游泳池氯制剂消毒的国家标准,由于温泉水温度比较高(34~47℃),氯气挥发快,使其达不到消毒效果,但此次的调查结果证明 44℃ 以上的温泉水军团菌为阴性,所以提高温度是温泉水中抑制军团菌污染值得推广的方法。

4 家温泉度假娱乐场所温泉水出井后一般储存在加有保温材料的储罐内,通过管道输入到温泉池。每个温泉池水通过人为的动力进行反复循环,循环流动的过程中进入金刚砂缸进行过滤,然后加热、补水再流入温泉池。从调查结果看出,4 家温泉度假娱乐场所源头储罐内温泉水未检出军团菌,阳性标本全部来自不同形式温泉池,所以认为温泉水被污染的主要场所是温泉池,而温泉水反复循环使用,人在温泉池间的流动和消毒不彻底是造成军团菌污染的原因。

参 考 文 献

1 Deborah AW, Belinda Yen-Lieberman, Udo R, et al. Procop

detection of *Legionella pneumophila* by real-time PCR for the *mip* gene. *J Clin Microbiol*,2003,41:3327-3330.  
 2 Rodney MR, Janice AL, Paul AM, et al. Heuzenroeder sequence-based classification scheme for the genus *Legionella* targeting the *mip* gene. *J Clin Microbiol*,1998,36:1560-1567.  
 3 彭晓旻,王小梅,黎新宇.北京市大饭店空调冷却塔军团菌污染状况及消毒效果评价. *中国卫生检验杂志*,2004,14:231-232.  
 4 冯文如,马林,刘汉湘,等.广州市公共场所空调冷却塔水中军团菌污染状况调查. *华南预防医学*,2005,31:60-61.  
 5 许学斌,郑英杰,金汇明,等.上海市区中央空调冷却水中军团菌污染现状调查. *中华流行病学杂志*,2003,24:424.  
 6 张然,陈桂冰,石晓路,等.深圳市空调冷却塔水军团菌污染状况调查. *中国热带医学*,2005,5:426-427.  
 7 王本利,马小芳,滕伟,等.青岛市部分中央空调冷却塔水军团菌污染状况调查. *预防医学论坛*,2004,10:692-693.  
 8 朱水荣,叶菊连,孟真,等.浙江省首次从空调冷却塔水中分离到军团菌. *中华流行病学杂志*,2004,25:823-824.  
 9 Kusnetsov J, Torvinen E, Perola O. Colonization of hospital water systems by *Legionellae*, *Mycobacteria* and other Heterotrophic bacteria potentially hazardous to risk group patients. *APMIS*,2003,111:546-556.  
 10 Ohno A, Kato N, Yamada K, et al. Factors influencing survival of *Legionella pneumophila* serotype 1 in hot spring water and tap water. *Appl Environ Microbiol*,2003,69:2540-2547.

(收稿日期:2006-03-20)  
(本文编辑:张林东)

· 疾病控制 ·

北京市大兴区六起麻疹暴发疫情的流行病学调查

侯文俊 李冬梅 高洁 戴慧琴 石春兰

北京市大兴区 2000 - 2005 年本市人口麻疹发病率为 0.91/10 万~2.20/10 万,符合北京市麻疹的发病水平,但是随着大兴区流动人口的逐年增加,流动人口成为主要发病群体,麻疹暴发疫情呈现上升趋势。为探索疫情暴发原因,为麻疹防治提供依据,现将大兴区 2000 - 2005 年麻疹暴发疫情分析如下。

1. 材料与方 法:资料来源于全区常规传染病报告系统和大兴区疾病预防控制中心流行病学调查报告。采用描述性流行病学进行分析。

2. 结果:2000 - 2005 年大兴区共报告麻疹暴发疫情 6 起,发病 31 例,其中 2000 年 2 起,2002 年 1 起,2004 年 1 起,2005 年 2 起,暴露人口 3591 人,罹患率 0.86%,无死亡病例。6 起暴发疫情均发生在 3 - 7 月份,主要集中在 3、4 月份(4 起,66.67%)。发病年龄分布为 11 月龄至 30 岁,主要集中在 6~9 岁学龄儿童(24 例,77.42%)。6 起暴发疫情分布在黄村、西红门、旧宫、亦庄 4 个流动人口聚集地区,病例均为流动人口发病。按单位划分,流动人口子弟学校 4 起(66.67%),行政村 1 起(16.67%),建筑工地 1 起(16.67%)。31 例中,全程接种麻疹疫苗者为 0,未全程接种

4 例(12.90%),未接种 13 例(41.94%),免疫史不详 14 例(45.16%)。5 起暴发疫情在法定时间内进行了报告(83.33%);3 起暴发疫情首发病例发病后 4 - 5 d 才到正规医院就诊(50%);5 起暴发疫情及时进行了调查处理,1 起因病家隐瞒就读学校,延误了对学校的疫情处理,造成二代病例出现。

3. 讨论:从大兴区 6 起麻疹暴发疫情可以看出,疫情以春季高发;病例主要集中在低年龄段的少年儿童和低年级学生为多<sup>[1]</sup>;全部病例均为流动人口,流动人口子弟学校是麻疹等呼吸道传染病暴发的多发地点;从免疫接种情况可以看出全程接种疫苗者不发病,未全程或未接种疫苗者易发病,说明在大兴区部分地区仍存在免疫空白人群,必须加大学生中的麻疹疫苗接种率,提高儿童建卡、建证率和基础免疫接种率<sup>[2]</sup>。及时发现、处理疫情,是控制疫情蔓延的关键,6 起暴发疫情中有 3 起疫情的首发病例就诊晚,以至于延误了控制疫情的最佳时间,是造成疫情暴发的主要原因之一。

参 考 文 献

1 李兴富,王代东,雷东年.巴中市巴州区 30 起传染病暴发疫情分析. *预防医学情报杂志*,2004,20:570-571.  
 2 左于会,陈前伦.淮安市 4 起麻疹暴发疫情流行病学调查分析. *江苏预防医学*,2002,13:21-22.

(收稿日期:2006-05-19)  
(本文编辑:张林东)