

水环境军团菌消毒研究进展

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 陈建平 综述 万超群 审校

军团菌不仅存在于自然界水环境中,并且也能在人工水环境中生长,如热水喷头(冷凝塔和蒸发冷凝器)和建筑物供水系统〔1,2〕。建筑物水环境被军团菌污染并定居、生长、繁殖;人吸入淋浴器喷头、冷却塔、辅助呼吸器械所产生的含有军团菌的气溶胶颗粒,从而发生军团病。既然水环境与军团病发病密切相关,那么对建筑物水环境,尤其是人工管道系统中军团菌进行消毒则十分必要〔3〕。

目前国外常用的水环境军团菌消毒方法有加氯法,化学消毒法,加热消毒法,紫外线照射法,金属离子电离法、臭氧消毒法。现将近几年来上述方法在军团菌污染的水环境中消毒的应用及其评价综述如下。

一、加氯法:对建筑物水环境消毒所采用的加氯消毒法,多使用次氯酸钠发生器。该发生器是利用食盐(氯化钠)溶液电解,制取次氯酸钠溶液的电化装置。该方法避免了氯气储备和管理的危害,并减少了大部分费用。带用计量计的次氯酸钠发生器连续向水中注入次氯酸钠,从而保持水中余氯水平稳定在2~6ppm〔3〕。

军团菌对氯气耐受性相当强。在21℃,每立方米水中含0.1mg游离的有效氯,杀灭99%的嗜肺军团菌需要作用40分钟,而杀死大肠杆菌不到1分钟〔4〕。当分离出的细菌在琼脂培养基上传代后,外环境军团菌会失去对加氯作用的抵抗力〔5〕。而初次分离的军团菌在阿米巴包囊中,后者有较厚的外壁,这些包囊对加氯作用具有抵抗性,从而保护了包囊中的军团菌。例如龙头水中游离的有效氯为3.5ppm时,polyphage阿米巴包囊可存活24小时,15ppm时可存活15分钟,culbertsone阿米巴包囊在4.0ppm时可存活3小时〔6〕,Muraca报道6小时连续加氯,使浓度维持在4~6ppm,可使水中嗜肺军团菌减少5~6log。水温43℃较在25℃对嗜肺军团菌杀灭得更快,但所需氯增加了近120%,余氯低于4mg/L则无杀灭该菌的作用〔7〕。由此可见使用加氯器,随时观察水中余氯水平是十分必要的。

含氯消毒剂还有二氧化氯、氯胺。使用二氧化氯

消毒饮水,不必考虑去除副产物三卤甲烷等问题。Berg等报道,使用等量的二氧化氯和氯杀死水中军团菌,前者效果好得多〔8〕。

使用加氯器的优点在于能为整个水系统提供余氯保护,而不受地区和某种特殊区域的限制。

使用加氯器的缺点是:使用加氯器所产生的余氯水平难以稳定,常因进水量和流率、管道中物质和寄生微生物的消耗而有所波动,且需要专门人员管理,并随时监测余氯的变化。管道腐蚀问题:在Iowa大学附属医院,平均每月管道漏洞数从加氯前的0.17增加到加氯3年后的5.2〔3〕。管道的腐蚀可以通过在管道内壁包被一层硅酸盐来防止,增加水中pH也是减少管道腐蚀的方法之一。加氯消毒还会在水中形成卤化有机化合物——三卤甲烷(trihalomethane),这些副产物是潜在的致癌物,环境部门建议将水中余氯控制在4mg/L,而此时三卤甲烷浓度低于100μg/L,可以接受〔9〕。

单靠每日一次加氯处理,只会对军团菌产生短暂的抑制作用,应对供应水连续氯化〔10〕。

二、化学消毒法:1978年10月3日,美国疾病控制中心(CDC)和美国环保局的代表在一次会中对在美国环保局注册的6种针对军团菌的消毒剂进行鉴定。这6类药物的代表是:氯酚(chlorinated phenol)季铵盐(quaternary ammonium)、异噻唑(isothiazolin)二溴巴比妥-三戊酮(dibromonitripropionamide)、次氯酸钙(Calcium hypochloride)、二硫基氨基碳酸脂(dithiocarbamate)。疾病控制中心实验室将军团菌以一定浓度加入无次氯酸的自来水稀释成不同浓度的每种消毒液中,然后经不同时间将含有本菌的药液等量接种在培养基上以及受精鸡卵黄囊中,以观察有无军团菌生长。无论使用含3.3mg/L游离氯的次氯酸钙,或使用含50%的双癸基双甲基铵氯化物(didecyldimethylammoniumchloride)、20%异丙醇以及30%的非活性成分、总浓度为7.2mg/L的配方,通过作用3、6、24、128小时后,均证明有预防效果。硝基三戊酮(nitro-

lopionamide) 不象游离氯或季醇化物那样快, 直到浓度加大到24mg/L时才出现, 其他三种化合物在抑制军团菌的试验中表现出较慢的抑菌效果〔11〕。

尽管如此, 但还没有关于上述措施能防止军团病发生方面的报道。

三、加热消毒法: 当水温增高至42℃时, 嗜肺军团菌可在自来水中繁殖, 如再提高水温时, 肠杆菌则受抑制, 而军团菌在较高水温下仍能存活。在水温30℃和50℃的热水槽中则分离到嗜肺军团菌, 而在70~77℃时, 从该槽中分离不到军团菌〔12〕。水温70℃可在10分钟内杀死本菌, 而65℃水温则需要25分钟才能完全杀死军团菌〔13〕, 水温50~60℃3小时才能完全杀死嗜肺军团菌〔7〕。可通过锅炉加热使整个供水管道水温升高到70℃以上, 随后冲洗所有水龙头、淋浴喷头来杀死在里面生长的军团菌。

在使用热水灌注法以前, 应对锅炉进行清洗, 维修管道, 除去水垢。注入含氯100ppm的水达12~24小时。排干高氯水, 然后注入70~80℃的高温水, 并维持水温达72小时。对危险区的水龙头, 淋浴喷头72小时内冲洗3次, 每次30分钟, 水温不低于60℃。第4天进行细菌培养, 若阴性则消毒成功, 若培养阳性, 应重新采用本方法消毒, 直至细菌培养阴性为止。使用本方案应防止烫伤, 因此严密的设计、统一的管理、各部门相互的配合十分必要〔14〕。

快速热蒸气加热系统: 该方法是将用于灌注的热水加热至88℃以上, 然后和一定体积的冷水混合以达到所需要的温度。本方法的优点在于减少蒸气的用量和取消热水箱, 从而省去安装设备的空间〔3〕。本方法在新建筑物推行十分有效, 但在比较陈旧的供水管道中未必灵验, 这是因为在陈旧建筑中军团菌已建立起自己的微环境, 尽管输入加热的高温水, 但很难完全将军团菌杀死。因此在陈旧建筑中建立本系统必须先清除管道中的水垢并消毒〔15〕。Stout等曾发现水中的沉积物浓度与嗜肺军团菌生长密切相关; 水中的微生物以共生的形式促进军团菌生长; 水中的沉积物与微生物在促使军团菌生长方面有协同作用, 而沉积物是以营养源的形式在协作中起作用, 并且还发现沉积物可以刺激水中微生物丛生长, 而后者刺激军团菌生长。可见军团菌在供水系统中有其独特的小生境, 并且与微生物丛、沉积物、水温有关〔16〕。因此采用加热消毒法, 特别是快速热蒸气加热系统, 必须预先对供水系统进行消毒, 并清除水中沉积物, 而且必

须维持长时间的高温(70℃以上)。

单靠提高水温达60℃以上难以完全杀死军团菌, 可以同时进行加氯消毒, 并且持续氯化〔17〕。

四、臭氧消毒方法: 臭氧是一种良好的微生物消毒剂和氧化剂, 不仅可以杀死水中军团菌, 而且可以为被消毒的水体提高溶解氧的含量。臭氧的半衰期很短, 必须临用时才产生。在体外已证实臭氧可以杀死军团菌。Muraca等发现: 维持水中臭氧浓度在1~2mg/L, 可使嗜肺军团菌菌数在5小时内从 10^7 CFU/ml降低到 10^2 CFU/ml, 增温不影响臭氧的消毒效果〔7〕。建议用1~2mg/L臭氧浓度来对水消毒。

臭氧反应极快, 很快使细菌和病毒灭活, 消毒过程较其他消毒方法更快, 并且处理后的水质大有改善。不过对臭氧在控制建筑物供水系统中嗜肺军团菌感染的长期效力, 有人表示怀疑。Edelstein等在医院一个侧厅的被嗜肺军团菌污染的供水系统用臭氧消毒, 结果表明, 采用臭氧消毒后军团菌数目大量下降, 但同样的结果也出现在没有进行臭氧消毒的该医院另一侧厅〔18〕。

五、紫外线消毒: 紫外线是一种低能量的电磁辐射, 一般以253.7nm作为杀菌紫外线波长的代表。紫外线通过破坏细胞内DNA合成来杀死细菌。

Muraca等用 $30\ 000\ \mu\text{ws}/\text{cm}^2$ 剂量照射, 20分钟内嗜肺军团菌的浓度下降了5 log, 以后尽管用紫外线继续照射达6小时之久, 但细菌数仍然维持在 $1 \times 10^2 \sim 2 \times 10^2$ CFU/ml之间〔7〕。Farr等使用带有过滤器的紫外线进行消毒, 能有效地防止米克戴德军团菌(*Legionella micdadei*) 在肾移植病房的用水装置中生长繁殖〔19〕。

细菌受紫外线(200~320nm)照射能使DNA胸腺嘧啶二聚体形成而导致畸变及细菌死亡。经紫外线照射后的水再暴露在一般的室内光线下可产生明显光复活作用及细菌再生长, 故在用紫外线消除水源中军团菌时必须注意〔20〕。

紫外线照射所用灯管固定在离液面1cm左右, 水从一端流入, 从另一端流出, 流过的水不宜太厚, 一般不超过2cm。对清洁水消毒, 紫外线照射剂量一般为 $30\ 000\ \mu\text{ws}/\text{cm}$ 。

紫外线在水中的穿透力随深度增加而降低, 水中杂质对穿透力影响较大。溶解的盐类、糖类与各种有机物, 都可大大降低紫外线的穿透力, 紫外线照射消毒不象化学消毒剂影响水味, 也没有副产物产生, 值

得推广。

六、金属电离作用：金属离子是通过破坏细胞蛋白来杀菌。带正电荷的离子和微生物细胞壁上负电荷产生静电互吸，从而使蛋白质变性，细胞通透性增加而使细菌裂解。

有人发现管道系统中许多金属对军团菌有毒；但有的金属，例如低浓度的锌、铁能刺激军团菌生长〔21〕。也有人在体外证实铜离子、银离子能杀死嗜肺军团菌〔22〕。在一组模拟热水系统中，在橡皮装置上经常发现军团菌，而在铜制装置上则未发现〔23〕。

金属离子消毒法简便易行，但目前对其在自来水系统消除嗜肺军团菌的长期综合估价尚待进行，特别是长期饮用含铜离子、银离子水对人体的影响也有待评价。

七、小结：对水环境中军团菌消毒方法较多。若对建筑物（医院、旅馆、护理室）消毒可采用加氯法和化学消毒，并可以和加热消毒法配合使用。若对某一病房，某一较小单位可采用紫外线照射和臭氧消毒法。

不论采用哪种消毒方法，定期检查消毒效果，维修消毒设备，配备专门的消毒人员来定期检查供水管道是完全必要的。

参 考 文 献

1. Washington CW et al. Legionnaires' Disease: Historical perspective. *Clinical Microbiol Review*. 1988; 1(1): 60.
2. Stout JE, et al. Ubiquitousness of *Legionella pneumophila* in water supply of a hospital with endemic Legionnaires' Disease. *N Engl J Med* 1982; 306: 466.
3. Kuchta JM, et al. Susceptibility of *Legionella pneumophila* to chlorine in tap water. *Appl Environ Microbiol* 1983; 46: 1134.
4. Paul WM, et al. Disinfection of water distribution systems for *Legionella*: A review of application procedures and methodologies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990; 11(2): 79.
5. Kuchta JM, et al. Enhanced chlorine resistance of tap water-adapted *Legionella pneumophila* as compared with agar medium passaged strains. *Appl Environ Microbiol* 1985; 50: 21.
6. De Jonckheve JF, van De Woorde H. Difference in destruction of cysts of pathogenic and nonpathogenic *Naegleria* and *Acanthamoeba* by chlorine. *Appl Environ Microbiol* 1976; 31: 294.
7. Paul Muraca, et al. Comparative assessment of chlorine, heat ozone and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system. *Appl Environ Microbiol* 1987; 53: 447.
8. Berg JD, et al. Water chlorination chemistry. *Environ Impact and Health Effects*. 1986; 5: 603.
9. Bull RJ, et al. Water chlorination chemistry. *Environ Impact and Health Effects*. 1986; 5: 111.
10. Legionnaires' Disease surveillance, *Weekly Epidemiol Rec* 1986; 61(6): 117.
11. Legionnaires' Disease surveillance, *Weekly Epidemiol Rec* 1981; 56(17): 129.
12. Wadowsky RM, et al. Hot water systems as source of *Legionella pneumophila* in hospital and nonhospital plumbing fixtures. *Appl Environ Microbiol* 1982; 43: 1104.
13. Stout JB, et al. Susceptibility of members of the family Legionellaceae to thermal stress, Implications for heat eradication methods in water distribution systems. *Appl Environ Microbiol* 1986; 52: 396.
14. Best MG, et al. Heat eradication measures for control of nosocomial Legionnaires' Disease: Implementation, education and cost analysis. *Am J Infect Control* 1984; 12: 26.
15. Vickers RM, et al. Determinants of *Legionella pneumophila* contamination of water distribution systems: 15-hospital prospective study. *Infect control* 1987; 8: 357.
16. Stout JE, et al. Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. *Appl Environ Microbiol* 1985; 49: 221.
17. Legionnaires' Disease surveillance, *weekly Epidemiol Rec* 1983; 58(44): 337.
18. Edelstein P, et al. Efficacy of ozone in eradication of *Legionella* from hospital plumbing fixture. *Appl Environ Microbiol* 1982; 44: 1330.
19. Faw BM, et al. Evaluation of ultraviolet light

for disinfection of hospital water contaminated with Legionella. Lancet 1988;2: 669.

20. Knudson G. Photoreaction of UV-irradiated Legionella pneumophila and other Legionella species. Appl Environ Microbiol 1985;49: 975.

21. States SJ, et al. Effects of metals on Legionella pneumophila growth in drinking water plumbing systems/Appl Environ Microbiol 1985; 50: 1149.

22. Landeen KL, et al. Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivate ion of Legionella pneumophila. Appl Environ Microbiol 1989;55: 3045.

23. Schofield GM, et al. Clonization of components of a model hot water systems by Legionella pneumophila. J Appl Bacteriol 1985;58: 151.

(1989年9月30日收稿, 1990年1月5日修回)

从一老年肺癌患者脓胸液中分离出一株麻疹链球菌的报告

邹惠纯¹ 徐风彦¹ 王汉勋¹ 王红¹ 徐迪诚² 张澜² 杜淑芬² 张根生²

麻疹链球菌是一种厌氧链球菌, 国外报道可引起人类感染。我们从一老年肺癌患者脓胸液中分离出一株厌氧链球菌, 经表型特征及遗传型特征的系统鉴定, 结果为麻疹链球菌。

一、培养特征: 初代培养为专性厌氧, 经4代培养后变为耐氧。37℃培养48小时后菌落大小为0.5~1.0mm, 圆形、凸面、灰白色, 光滑而有光泽, 边缘整齐、湿润, 不溶血。在10%二氧化碳环境中第3代培养物菌落为针尖大小, 圆形、无色, 继续传代后菌落逐渐增大。10℃不生长, 45℃生长。

二、形态与染色: 革兰氏染色阳性球菌, 细胞直径0.7~0.84μm。固体培养物的镜下形态为散在、双球状、短链与小簇; 液体培养物排列成长链。

三、生化特征: 37℃厌氧培养7天结果为: 麦芽糖、木糖、甘露糖、蔗糖, 均为阳性; 靛基质、葡萄糖、乳糖、明胶、甘油、棉子糖、鼠李糖、半乳糖、果糖、菊糖、触酶、尿素、甘露醇、水杨素、七叶灵、纤维二糖、松三糖、阿拉伯糖、山梨醇、海藻糖、牛乳、乳酸盐、H₂S、V-P、卵磷脂酶、脂酶、马尿酸、精氨酸均阴性。

四、药敏试验: 对庆大霉素、先锋霉素Ⅰ号中度敏感; 对红霉素、卡那霉素、羧苄青霉素及链霉素均不敏感。

五、动物试验: 选17~20克雄性小鼠6只分两组

进行。试验组腹腔注射10亿/ml菌体的GAM肉汤0.3ml, 48小时后萎靡、竖毛, 无死亡。72小时生剖, 心、肝、脾、肺、肾标本作厌氧培养, 均见有本菌生长, 提示弱毒反应。对照组注射GAM肉汤0.3ml正常存活。

六、碱基对的测定: DNA的G+C为33.1克分子%。

七、菌株的葡萄糖代谢终产物气相色谱分析: 主要是乳酸, 少量乙酸及异丁酸。

麻疹链球菌于1933年由法国厌氧细菌学家Prévot发现。1974年Holdeman与Moore二氏进一步加以研究, 始确定其分类学位置, 因最早分离自一麻疹患儿而得此名。国外文献报道临床上曾由肺脓胸及心内膜炎检出。

本文报告的菌株纯培养物来自胸腔脓汁。动物试验显示不被机体迅速清除, 具有毒力, 在我国首次作出系统鉴定为麻疹链球菌。据此, 临床医生与微生物工作者, 应当认识麻疹链球菌引起临床感染的重要性, 掌握此菌的分离鉴定技术。

(承中国科学院微生物研究所蔡妙英、东秀珠协助测定G+Cmol%, 并与赵玉峰同志共同复核鉴定, 致谢)

1 哈尔滨铁路中心医院

2 哈尔滨市卫生防疫站