

· 疾病控制 ·

上海市区中央空调冷却水中军团菌污染现状调查

许学斌 郑英杰 金汇明 胡培玉 席曼芳 顾宝柯

军团菌病(Legionnaire's disease, LD)已成为危害人群健康的一种重要疾病。本文进一步对上海市区中央空调冷却水军团菌空间的分布进行了较为系统的调查。

1. 材料与方法: ①空调冷却水采样: 应用两阶段随机抽样法, 先抽出上海市 4 个区, 每个区再随机抽取 5~7 个宾馆、饭店或商厦的中央空调冷却水进行固定点采样和军团杆菌检测。采样时间从 2001 年 6~10 月, 每月一次, 以灭菌玻璃瓶采集冷却水 500 ml 后立即送上海市疾病预防控制中心防疫科实验室统一进行检测。②军团菌检测方法: 将水样摇匀后静置 15 min, 取 450 ml 水在 0.22 μm 孔径过滤器过滤后取下滤膜并剪碎, 与 5 ml 原水样混合并振荡 3~5 min; 再从中取 1 ml 水与等量 pH 2.0 的 0.01 mol/L 的盐酸液混合, 静置 5~10 min 后用 0.03 mol/L 的氢氧化钾液(约 0.2 ml)中和至 pH 约 6.9 作酸处理。最后取 0.1 ml 接种于 GVPC 琼脂平板上, 用三角环推干后放入 5%CO₂ 培养箱中, 36°C 孵育 3~6 天观察结果, 挑取可疑菌落作鉴定。③军团菌的鉴定: 在 GVPC 琼脂平板上菌落形态符合, 且血平板培养后不生长者, 初步可认定为军团菌。再通过革兰染色涂片镜检和血清初筛 [Oxoid, inc, 3 瓶诊断血清包含了 21 个军团菌血清型: 1 瓶为嗜肺型军团菌(Lp)1 型血清; 1 瓶为 Lp2~14 型混合多价血清; 1 瓶为长滩、博兹曼等 7 个非 Lp 的混合多价血清]、血清分型(使用的 Lp1~6 型混合多价血清及米克戴德军团菌、Lp1~6 单价分型血清为本中心自制), 最后对通过初步鉴定的菌株选取部分作氧化酶、触酶、马尿酸盐水解、明胶液化、产棕色色素、胞内荧光、纸片法 β -内酰胺酶和无半胱氨酸 BCYE α 琼脂等生化鉴定。将最终鉴定确认的菌株接种于菌种保藏珠管中, 置 -70°C 冰箱保存。④统计学分析: 所有数据在 Epi Info 2000 中建立数据库, 在 SAS 6.12 中进行统计学分析。

2. 结果: ①空间分布: 2001 年 6~10 月采集中央空调水样品 123 瓶, 涉及长宁区、黄浦区、卢湾区和静安区的 22 家宾馆、饭店、商厦。同一采样点在同一时间所采集的水样品未能检测出两种及其以上的军团菌。16 个采样点发现军团菌阳性, 阳性率 72.73%; 其中, 长宁区最高, 5 家采样点均检出军团菌, 阳性率 100%; 其次是黄浦区阳性率为 80%, 最后是卢湾区和静安区, 分别是 60.00%、57.14%。123 瓶样品中军团菌阳性 33 瓶, 总阳性率为 26.83%。其中长宁区军团菌阳性率最高为 37.50%; 次之为黄浦区, 为 30.00%; 最后是静安区和卢湾区, 分别是 21.87%、17.24%。4 个区水样阳性率

与采样点阳性率呈正相关($r=0.96, P=0.0095$)。检测出的军团菌株有 Lp 和米克戴德军团菌, 以 Lp 为主, 未查出其他军团菌种。Lp 阳性样品 32 份, 占全部阳性样品的 96.97%, 水样阳性菌分离率 26.02%, Lp1~5 均有; 米克戴德军团菌 1 份, 阳性分离率 0.81%。4 个采样点均以 Lp 为主, 但 Lp 的血清型有所不同。卢湾只检测出 Lp1, 阳性分离率 17.24%; 长宁检测出 Lp1~3 和 Lp5, 阳性分离率分别是 12.50%、3.13%、18.75% 和 3.13%; 黄浦检测出 Lp1~5, 阳性分离率分别是 10.00%、3.33%、6.67%、3.33% 和 6.67%; 静安区检测出 Lp1、Lp3、Lp4 和米克戴德军团菌, 其阳性分离率分别是 12.50%、3.13%、3.13% 和 3.13%。由此可见, 卢湾、黄浦和静安等区以 Lp1 为主, 而长宁以 Lp3 和 Lp1 为主。②时间分布: 固定采样点在 6~10 月的军团菌阳性分离率分别是 31.25% (5/16)、35.00% (7/20)、40.00% (8/20)、47.37% (9/19) 和 10.53% (2/19), 以 9 月份最高, 10 月份下降较为明显, 不同月份采样点阳性率差异无显著性($\chi^2=6.618, \nu=4, P=0.158$)。上述结果 Lp 的月份趋势基本上与军团菌总阳性率走势一致, 而米克戴德军团菌只在 8 月份在静安区出现一次。因此上海市的军团菌主要以 Lp 为主。在 Lp 各血清型中, 6 月份已经出现 Lp1、Lp2、Lp4 和 Lp5, 以 Lp1 最高, 为 7.50%, 其他三个血清型均为 2.50%。总体上看, Lp2 全年变化不大; Lp1、Lp5 在 9 月份达到最高, 分别为 25% 和 10%; Lp3 在 8 月份达到最高, 为 22.73%。8 月份以 Lp3 最高, 而 Lp1 阳性率在该月下降较为明显。

3. 讨论: 调查发现采样点检测出的军团菌种有 Lp 和米克戴德军团菌。4 个区之间军团菌阳性分离率差异无显著性, 但月份分布有明显的特征: 7、8、9 月份军团菌阳性分离率较高, 以 9 月份最高, 10 月份又下降至 6 月份的水平。国内外人群军团菌血清学研究表明, 军团菌抗体阳性率在夏季有升高的现象, 抗体滴度也较冬季为高; 散发病例和诊治病例也多发生在第三季度。外环境军团菌阳性率基本上与血清学结果一致。本次调查也发现, 空调水军团菌阳性率在 7~9 月较高的原因是由于这段时间的气温较高, 最适合军团菌的繁殖, 并且可能增强军团菌的毒力, 从而影响到人群的抗体水平。但亦有研究认为冬、春季 Lp1 阳性率和抗体滴度高于夏秋季, 并且国内发生的 10 起爆发中有 5 起发生在冬季, 这可能与人群在冬、夏季对空调的应用行为有关。因此在夏季开展外环境军团菌控制是否能够完全控制军团菌病的发生和流行, 以及外环境军团菌污染水平如何影响到人群抗体阳性率的关系, 尚需进行深入研究。

作者单位: 200336 上海市疾病预防控制中心

通讯作者: 顾宝柯

(收稿日期: 2002-08-20)

(本文编辑: 尹廉)