

【论 著】

# 载体压印法对医疗机构环境和手表面细菌采样效果研究

李 晔<sup>1</sup>, 陆 烨<sup>1</sup>, 蔡 冉<sup>1</sup>, 孙薇薇<sup>2</sup>, 胡国庆<sup>1</sup>

(1 浙江省疾病预防控制中心, 浙江杭州 310051; 2 上海基恩科技有限公司)

**摘要** **目的** 研究载体压印法对物体表面和手表面细菌的采样效果, 评估该方法实际应用价值。**方法** 采用细菌定量检测方法, 对载体压印法采集物体表面和手表面细菌的采样结果进行评价, 同时与传统的棉拭子涂抹采样法作平行比较。**结果** 棉拭子涂抹法和载体压印法对干燥物体表面细菌捕获率分别为 35.48% 和 39.52%; 对湿润物体表面细菌捕获率分别为 45.79% 和 43.69%。物体表面消毒后采样对载体压印结果无影响。医院现场采样结果显示, 载体压印法采样物体表面和手表面菌数超标率分别为 17.50% 和 30.23%; 棉拭子涂抹法采样物体表面和手表面超标率分别为 10.00% 和 13.95%。**结论** 载体压印法对物体表面污染细菌采样捕获率与棉拭子涂抹法基本一致, 载体压印法可用于医疗机构环境物体表面和手表面细菌监测采样。

**关键词** 物体表面; 手表面; 载体压印法; 棉拭子涂抹法; 细菌采样

中图分类号: R197.323

文献标识码: A

文章编号: 1001-7658(2019)08-0561-04

DOI: 10.11726/j.issn.1001-7658.2019.08.001

## Study on bacterial sampling effect of dipslides on environmental and hand surfaces in medical institutions

LI Ye<sup>1</sup>, LU Ye<sup>1</sup>, CAI Ran<sup>1</sup>, SUN Wei-wei<sup>2</sup>, HU Guo-qing<sup>1</sup>

(1 Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou Zhejiang 310051; 2 Shanghai Geng Scientific, China)

**Abstract** **Objective** To study the bacterial sampling effect of dipslides on environmental and hand surfaces, and to assess its practical application value of this method. **Methods** Bacterial quantitative detection method was used to evaluate the efficiency of bacteria sampling bacteria on the surface of object and hand by dipslides. At the same time, it was compared with the traditional cotton swab sampling method. **Results** The capture rates of bacteria on dry surfaces by cotton swab sampling and dipslides were 35.48 % and 39.52 %, respectively; the capture rates of bacteria on wet surfaces were 45.79% and 43.69%, respectively. Disinfectants exposure had no effect on dipslides results. The in situ sampling results of the hospital showed that the over-standard rate of bacteria on the surface of object and hand by dipslides were 17.50% and 30.23 %, respectively; cotton swab sampling were 10.00% and 13.95 %, respectively. **Conclusion** The dipslides is basically consistent with the cotton swab sampling method for the capture rate of bacteria on the surface of object and hand. The dipslides can be used for the monitoring and sampling of environmental and hand surfaces in medical institutions.

**Key words** environmental surface; hand surface; dipslides; cotton swab sampling method; bacterial sampling

医疗机构环境物体表面污染细菌可通过直接接触或以医护人员手作为传播媒介在医疗机构中传播, 导致医院感染发生和暴发<sup>[1-3]</sup>, 环境表面清洁消毒和医务人员手卫生质量是医院感染管理中常规监测项目, 必须定期进行细菌学监测。通过监测可以

反映被测表面细菌污染情况, 为感控人员评估和制定清洁消毒相关方法提供依据, 并通过监测来降低患者医院感染发生的风险。

对于物体表面和医务人员手卫生监测采样方法, 我国标准和规范都推荐使用棉拭子涂抹采样法。众所周知, 棉拭子涂抹采样法影响因素多, 如棉拭子的不同材质、棉拭子头形状和大小、不同人员所采取的涂抹方法等都会影响采样效果即采样对表面细菌

〔作者简介〕 李晔(1987-), 女, 黑龙江宁安人, 硕士, 主管医师, 从事消毒专业工作。  
〔通讯作者〕 胡国庆, Email: 13605800140@163.com

的捕获率<sup>[4,5]</sup>。近年来,在物体表面细菌标本采集中引入了一种被称之为载体压印法(dipslides)的采样方法,这种方法类似于培养基压印法或接触碟法,其基本原理即为接触沾取。本研究载体压印法是在一块塑料载片的两面浇注营养琼脂培养基,采样时直接将带培养基的载片按压在被测物体表面5 s~10 s,然后培养和活菌计数;同时与传统的棉拭子涂抹采样法作平行比较。现将观察结果报告如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

试验用载体片为 Hygicult TPC 片(进口产品);模拟物体表面材料为不锈钢片(12 cm×12 cm),灭菌后备用;无菌棉拭子为国内产品。

试验目标细菌为金黄色葡萄球菌(ATCC 6538);试验用培养基、稀释液和采样液为进口产品。

试验中使用的消毒剂包括 500 mg/L 含氯消毒剂,75% 乙醇,浓度为 600 mg/L 复合季铵盐消毒剂和氯己定醇(醋酸氯己定 5 000 mg/L 与 70% 乙醇复合),均为国内市售品。后两种消毒剂稳定性较强,为减少对人工染菌的杀灭作用,试验时按比例稀释。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 表面染菌 依据 2002 年版《消毒技术规范》规定的方法,对试验目标菌进行增菌培养制备成含菌量为 10<sup>3</sup> cfu/ml 细菌悬液。在模拟物体表面的不锈钢载体上画出 2 个 5 cm×10 cm 区域作为染菌区,分别用于载体压印法采样和棉拭子涂抹采样。用微量移液器滴加 0.2 ml 菌悬液在染菌区上,用无菌枪头涂抹均匀。

1.2.2 采样与检测 ①物体表面干湿状态采样:人工污染的不锈钢载体分别在干燥 5 min 和 30 min 后采样,首先用无菌棉拭子沾湿采样液(胰蛋白胨生理盐水)在一侧染菌区(5 cm×10 cm)上作规范的涂抹采样,将采样棉拭头以无菌方式剪入含 5 ml 采样液的试管内待检。载体压印法采样时从密封的培养管中旋出载片,将载片一面按压另一侧染菌区保持接触 10 s,正反两面采样面积约为 20 cm<sup>2</sup>,采样后直接培养。每组标本 30 份。②对消毒处置的表面采样:试验组先用现配的消毒液涂抹不锈钢载体,作用 30 min 后再染菌并在 5 min 后分别用载体压印法和棉拭子涂抹法进行采样,采样方法同上。拭子法采样液加入与消毒剂相适应的中和剂。对照组不用消毒剂作用,染菌和采样方法均与上述相同。每组标本均为 30 份。

1.2.3 现场试验 在研究期间分别在 6 家医疗机

构(2 家社区医院和 4 家三甲医院)使用载体压印法监测物体表面和医务人员手表面自然菌。选择的平整物体表面先用棉签涂抹法,然后在其相邻部位用载体压印法进行采样;对医务人员手采样,一只用手棉签涂抹法,另一只手用载体压印法。

1.2.4 培养方法 棉拭子采样标本试管经充分震荡洗脱,取洗脱液接种作倾注培养,进行活菌计数;载体压印法采样标本直接进行培养和活菌计数。

1.2.5 结果评价 对两种采样法的培养结果分别计算出细菌总数,评价指标包括细菌总数(cfu/cm<sup>2</sup>);捕获率(%) = 实际检出菌数(cfu/cm<sup>2</sup>)/载体理论染菌数(cfu/cm<sup>2</sup>)×100 %。

#### 1.3 统计分析

数据分析采用 SPSS 19.0 软件,非正态计量数据用 Median(IQR)表示,计数数据用率表示,两种方法检测结果比较采用配对非参数检验、配对 $\chi^2$ 检验并进行一致性检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2 结果

#### 2.1 物体表面干湿状态下采样结果比较

人工染菌表面在干燥和湿润状态下用两种方法采样,以棉拭子涂抹法为参照,载体压印法细菌捕获率与棉拭子涂抹法无差异( $P<0.05$ )。结果提示,物体表面干燥或湿润状态未对载体压印法采样产生影响(表 1)。

表 1 染菌表面干湿状态下两种方法细菌捕获率

表面干湿 状态	载体压印法捕获率(%)		棉拭子涂抹法捕获率(%)		P 值
	Median	IQR	Median	IQR	
干燥状态	39.52	32.96~46.47	35.48	31.45~44.96	0.456
湿润状态	43.69	30.33~54.67	45.79	37.24~60.00	0.411

#### 2.2 消毒剂作用对采样方法影响

Hygicult TPC 成品仅含卵磷脂和吐温-80 两种中和剂,评估消毒剂残留对载体压印法影响,确保该方法用于物体表面清洁消毒效果评价的实用性。选择医疗机构常用的 4 种消毒剂,模拟消毒作用 30 min 后采样。以棉拭子涂抹法为参照,若消毒剂残留对载体压印法有影响,则棉拭子涂抹检测值将高于载体压印检测值,对照组为未经消毒剂处理的棉拭子采样结果。比较实验组和对照组检测值可以得出,在消毒剂作用 30 min 后,含醇类消毒剂几乎无残留杀菌作用,含氯类消毒剂可能有微弱残留杀菌作用,季铵盐类消毒剂和氯己定类消毒剂有很强的残留杀菌作用。比较实验组两种方法检测值可以得出,载体压印法检测值不低于棉签涂抹法。(表 2)。

表 2 消毒剂作用对采样方法的影响

消毒剂 种类	对照组 菌数 (cfu/cm <sup>2</sup> )	棉拭子涂抹法		载体压印法		P 值
		菌数 (cfu/cm <sup>2</sup> )		菌数 (cfu/cm <sup>2</sup> )		
		Median	IQR	Median	IQR	
含氯	5.05	4.38	2.51 ~ 8.51	4.00	1.70 ~ 5.58	0.167
乙醇	5.05	5.40	2.51 ~ 6.78	4.70	3.18 ~ 6.48	0.309
季铵盐	4.70	0.45	0.08 ~ 3.53	0.20	0.03 ~ 1.13	0.102
氯己定醇	4.70	2.70	1.84 ~ 3.55	3.75	3.00 ~ 3.75	0.032

2.3 现场应用结果

在研究期间选择 6 家医疗机构各类环境物体表面,分别采用载体压印法和棉拭子涂抹法各采样表面标本 80 份。医院洁净手术室和重症监护病房(ICU)物体表面标本 19 份,代表Ⅰ、Ⅱ类环境;内镜中心、血液透析中心、口腔门诊和普通住院病区物体表面标本 61 份,代表Ⅲ、Ⅳ类环境;采样物体包括仪器表面按钮、床头柜、床扶手、工作台面等,拟用菌数 >10 cfu/cm<sup>2</sup> 作为标准参考,棉拭子涂抹采样标本中有 8 份菌数超标,载体压印法采样标本中有 14 份菌数超标,以患者床头柜表面和床扶手表面污染最严重(表 3)。

本研究从检验科、口腔科、ICU 和普通病房采用棉拭子涂抹法和载体压印法分别采集医务人员手标本 43 份。结果显示,棉拭子涂抹采样标本中有 6 份菌数超标,载体压印法采样标本中有 13 份菌数超标,即菌数 >10 cfu/cm<sup>2</sup> (表 3)。

表 3 两种采样法对医院物体表面采样结果比较

采样方法	物体表面			医务人员手		
	采样数	超标数	超标率 (%)	采样数	超标数	超标率 (%)
棉拭子涂抹法	80	8	10.00	43	6	13.95
载体压印法	80	14	17.50	43	13	30.23

棉拭子涂抹采样法和载体压印采样法对物体表面细菌检出阳性率分别为 65.00% 和 73.75%,阳性率无显著差异 ( $P = 0.167$ ),一致性中等 ( $\kappa = 0.446$ );两种方法对手表面细菌检出阳性率分别为 55.81% 和 88.37%,阳性率有显著差异 ( $P < 0.01$ ),一致性一般 ( $\kappa = 0.284$ )。

3 讨论

本研究结果显示,对于人工污染物体表面,传统棉拭子涂抹采样法和载体压印采样法的细菌捕获率基本一致,至少后者不低于前者,载体压印法对细菌捕获率不受物体表面干湿状态和消毒剂残留作用影响。在医院现场物体表面和手表面采样培养结果还显示出载体压印法细菌检出阳性率更高。

在国外,载体压印法载片已经做成商品,广泛用于检测尿路细菌、水中军团菌及医疗机构环境物体

表面菌落总数和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌监测(MRSA)<sup>[6-10]</sup>。Obee 等<sup>[11]</sup>比较了棉签涂抹法、平板接触法和载体压印法对人工污染 MRSA 不锈钢表面的细菌捕获率和灵敏度,结果得出平板接触法和载体压印法对 MRSA 的细菌捕获率和灵敏度高于棉签涂抹法,在干燥条件下,载体压印法采样灵敏度最高。国内对载体压印法的研究很少<sup>[12,13]</sup>,缺少该方法用于医疗机构细菌检测评估的研究结果。

本研究除了比较棉签涂抹法与载体压印法对人工污染载体的细菌捕获率外,还评估消毒剂残留对载体压印采样结果的影响。对于本研究所用的 4 种常用消毒剂,季铵盐类和氯己定类消毒剂在作用 30 min 后仍有残留杀菌作用,但可以被载片中的中和剂中和,4 组实验结果载体压印法采样值均不低于棉签涂抹采样值,得出载体压印法可以用于消毒后的表面细菌监测。现场试验显示载体压印法总的细菌检出值高于棉签涂抹法,细菌超标率更高;总的细菌检出阳性率更高,表示载体压印法在现场环境中对细菌检测效果高于棉签涂抹法,该方法可用于医疗机构环境物体表面和手表面细菌的快速监测。由于传统的棉拭子涂抹采样法需要长时间复杂的试验前准备和试验操作周期,且受影响因素多<sup>[4,5]</sup>。而载体压印法技术优势在于不需要试剂准备工作,具有即时检测的特性,操作简单,无菌保护性外管转运方便,明显节省了实验室工作量。但载片采样面积相对较小,有时也会出现漏检现象,因此在实际监测过程中可根据监测目的增加载片的用量,如为了找到环境中的致病菌。

载体压印法可用于医疗机构环境物体表面和手表面细菌的快速监测,该方法具有常温存放,携带方便,采样接种一步完成的优点,也有可携带的配套培养箱直接培养计数,方便医疗机构、疾病预防控制机构和卫生监督机构的专业人员进行现场考核检查和评估,提高对环境表面和医务人员手的监测效率,及时发现感染相关风险。

参考文献

[1] Andersson P, Beckingham W, Gorrie CL, *et al.* Vancomycin-resistant Enterococcus (VRE) outbreak in a neonatal intensive care unit and special care nursery at a tertiary-care hospital in Australia-A retrospective case-control study[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2019, 40(5):551-558.

[2] Nkuwi EJ, Kabanangi F, Joachim A, *et al.* Methicillin-resistant Staphylococcus aureus contamination and distribution in patient's care environment at Muhimbili National Hospital, Dar es Salaam-Tanzania[J]. BMC Res Notes, 2018, 11(1):484.

(下转第 567 页)

- 4154-4158.
- [5] 贾蓓蓓,邵世和.金黄色葡萄球菌生物膜治疗抗菌药物研究进展[J].中国现代医药杂志,2014,16(2):110-112.
- [6] Percival SL, Hill KE, Williams DW, *et al.* A review of the scientific evidence for biofilms in wounds[J]. Wound Repair Regen, 2012,20(5):647-657.
- [7] Barshak MB, Durand ML. The role of infection and antibiotics in chronic rhinosinusitis[J]. Laryngoscope Investigat Otolaryngol, 2017,2(1):36-42.
- [8] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2014:629-646.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 – S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty – Five Informational supplement[S]. 2015.
- [10] 孔晋亮,刘晓岚,陈一强,等.银染法观察铜绿假单胞菌生物被膜变化初探[J].济宁医学院学报,2007,42(1):27-29.
- [11] 袁晨燕,韩勃,陈建明,等.铜绿假单胞菌细菌生物膜形成及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2011,21(11):2161-2163.
- [12] 胡锦涛,陈豪泰,张杰,等.细菌生物被膜鉴定方法的研究进展[J].中国兽医科学,2010,40(11):1194-1199.
- [13] 古力巴旦木·艾则孜,曹海洲,陈刚,等.2013-2014年新疆某医院血液科感染病原菌分布[J].热带医学杂志,2016,16(1):75-77.
- [14] 陈松燕,吴圣豪,刘珍,等.某三甲医院血液科医院感染病原菌构成及耐药性分析[J].浙江医学,2016,38(15):1296-1298.
- [15] 林贵兰,李慕,房丽丽,等.血液科病原菌分布及耐药性分析[J].实验与检验医学,2015,33(4):425-426,429.
- [16] 王璐,杨辰,张倩,等.2010至2012年北京协和医院单中心血液科非移植病房细菌感染病原菌分布及临床特点分析[J].中国医学科学院学报,2014,36(4):439-445.
- [17] 胡付品,朱德妹,汪复,等.2014年CHINET中国细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2015,15(5):401-410.
- [18] 万一柯,桑威,陈兵,等.2014至2015年江苏省血液科病房病原菌分布及耐药状况的多中心回顾性研究[J].中华血液学杂志,2017,38(7):602-606.
- [19] 宋雅珊,赵赫,李奕铮,等.米诺环素对大肠杆菌生物膜抑制作用研究[J].内科,2018,13(3):280-283.
- [20] 杜虎,陈在贤.氟喹诺酮类药物对铜绿假单胞菌生物膜的清除效应[J].重庆医学,2005,34(4):592-594.
- [21] 邹龙涛,伍巧源,李艳林,等.阿奇霉素联合左氧氟沙星对大肠杆菌生物膜的干预[J].广西医科大学学报,2015,32(4):550-552.
- [22] 晏奎,温汉春,陈一强,等.磷霉素联合左氧氟沙星对鲍曼不动杆菌生物膜的体外研究[J].中国临床药理学杂志,2015,31(4):276-278.
- [23] 穆小萍,唐玲玲,纪存委,等.阿奇霉素联合亚胺培南对肺炎克雷伯菌生物膜的抑制作用[J].中国抗生素杂志,2015,40(8):617-620.
- [24] 牛瑜,姜天翼,庞力.阿奇霉素和克拉霉素对铜绿假单胞菌生物膜形成的作用[J].临床检验杂志,2018,36(4):288-292.
- [25] 金晓谦.呼吸内科分离鲍曼不动杆菌生物膜的形成能力检测及耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2015,25(13):2230-2232.

(收稿日期:2018-11-13)

(上接第 563 页)

- [3] Qi L, Fan W, Xia X, *et al.* Nosocomial outbreak of *Candida parapsilosis* sensu stricto fungaemia in a neonatal intensive care unit in China[J]. J Hosp Infect, 2018,100(4):246-252.
- [4] Goverde M, Willrodt J, Staerk A. Evaluation of the Recovery Rate of Different Swabs for Microbial Environmental Monitoring[J]. PDA J Pharm Sci Technol, 2017,71(1):33-42.
- [5] Dolan A, Bartlett M, McEntee B. Evaluation of different methods to recover meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospital environmental surfaces[J]. J Hosp Infect, 2011,79(3):227-230.
- [6] Kazemier BM, Koningstein FN, Schneeberger C, *et al.* Maternal and neonatal consequences of treated and untreated asymptomatic bacteriuria in pregnancy: a prospective cohort study with an embedded randomised controlled trial[J]. Lancet Infect Dis, 2015,15(11):1324-1333.
- [7] Jinadatha C, Stock EM, Miller SE, *et al.* Environmental Validation of *Legionella* Control in a VHA Facility Water System[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2018,39(3):259-266.
- [8] Al-Hamad A, Maxwell S. How clean is clean? Proposed methods for hospital cleaning assessment[J]. J Hosp Infect, 2008,70(4):328-334.
- [9] Smith J, Adams CE, King MF, *et al.* Is there an association between airborne and surface microbes in the critical care environment? [J]. J Hosp Infect, 2018,100(3):123-129.
- [10] Otter JA, French GL. Bacterial contamination on touch surfaces in the public transport system and in public areas of a hospital in London[J]. Lett Appl Microbiol, 2009,49(6):803-805.
- [11] Obee P, Griffith CJ, Cooper RA, *et al.* An evaluation of different methods for the recovery of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* from environmental surfaces[J]. J Hosp Infect, 2007,65(1):35-41.
- [12] 彭少杰,李洁,张磊,等. Hygicult 载片培养法快速检测表面大肠菌群的效果评价[J].中国食品卫生杂志,2006,2(9):119-121.
- [13] 孙慧慧,李涛,班海群,等.小学生日常穿着衣物及用品细菌污染状况调查[J].中国消毒学杂志,2015,32(10):1007-1010.

(收稿日期:2019-04-12)