

【论 著】

医疗环境表面分离革兰阴性非发酵杆菌
对消毒剂抗性的研究

李 俐,陈微娜,肖佳庆,杜 丽,杨晶雪,孙 巍

(黑龙江省疾病预防控制中心,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要 目的 了解医院环境表面分离的革兰阴性非发酵杆菌对消毒剂的抗性情况,为科学选择消毒剂提供依据。

方法 采用肉汤稀释法对医院环境物体表面分离出的革兰阴性非发酵杆菌的消毒剂抗性进行测定。**结果** 从医院物体表面 176 份标本中分离出 15 株革兰阴性非发酵杆菌,检出率 8.52%,主要来自重症监护病房(ICU)。检出部位居前 3 位的是治疗操作台面、电脑键盘和 ICU 床栏。三氯异氰尿酸对 15 株非发酵杆菌的 MIC 值为有效氯 250 ~ 500 mg/L,标准菌株为 500 mg/L;MBC 值为 250 ~ 1 000 mg/L,标准菌株为 1 000 mg/L。复合季铵盐对 15 株菌的 MIC 值为 0.98 ~ 15.62 mg/L,标准菌株为 15.62 mg/L;MBC 值为 1.95 ~ 31.25 mg/L,标准菌株为 250 mg/L。**结论** 医院环境物体表面分离的革兰阴性非发酵杆菌对含氯消毒剂和季铵盐类消毒剂抗力未见升高现象,这些消毒剂在医院环境使用消毒效果可得到保证。

关键词 医院环境;物体表面;革兰阴性非发酵杆菌;消毒剂抗性

中图分类号:R187.2

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)11-0815-03

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.11.005

Study on the disinfectant resistance of Gram - negative non - fermentative Bacilli isolated from the surface of hospital environment

LI Li, CHEN Wei - na, XIAO Jia - qing, DU Li, YANG Jing - xue, SUN Wei

(Heilongjiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Harbin Heilongjiang 150030, China)

Abstract Objective To understand the disinfectant resistance of Gram - negative non - fermentative Bacilli isolated from the surface of hospital environment, and to provide a basis for scientific selection of disinfectants. **Methods** Broth dilution method was used to test the disinfectant resistance of Gram - negative non - fermentative Bacilli isolated from the surface of hospital environmental objects. **Results** 15 strains of Gram - negative non - fermentative Bacilli were isolated from 176 samples on the surface of hospital objects, with a detection rate of 8.52%, that mainly from the intensive care unit (ICU). The top three detection sites were the treatment table, computer keyboard, and ICU bedrail. The MIC value of trichloroisocyanuric acid for 15 strains of non - fermentative Bacilli was 250 mg/L to 500 mg/L of available chlorine, and 500 mg/L for the standard strain; the MBC value was 250 mg/L to 1 000 mg/L, and 1 000 mg/L for the standard strain. The MIC value of the composite quaternary ammonium salt for 15 strains was 0.98 mg/L to 15.62 mg/L, and 15.62 mg/L for the standard strain; the MBC value was 1.95 mg/L to 31.25 mg/L, and 250 mg/L for the standard strain. **Conclusion** The resistance of Gram - negative non - fermentative Bacilli isolated from the surface of hospital environmental objects to chlorine - containing disinfectants and quaternary ammonium salt - based disinfectants has not been increased. The disinfection effect of these disinfectants in hospital environments can be guaranteed.

Key words hospital environment; object surface; Gram - negative non - fermentative Bacilli; disinfectant resistance

环境物体表面是医院内感染的途径之一,被污染的物体表面在多种医源性病原微生物的传播中起着重要作用。加强环境消毒,可阻断微生物传播,但

是随着消毒剂的长期使用,可能会导致抗性菌株产生。近年来,属于条件致病菌的革兰阴性非发酵杆菌因在临床分离菌株中较为常见、成为院内感染的重要病原菌而为人们所认识^[1,2]。本研究对部分医院环境物体表面上采集到的革兰阴性非发酵杆菌进行分离鉴定,同时观察三氯异氰尿酸和复合季铵盐消毒剂对其最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。

〔基金项目〕 黑龙江省卫生计划生育委员会科研课题项目 (2018575)

〔作者简介〕 李俐(1970-),女,黑龙江哈尔滨人,本科,副主任技师,从事消毒与医院感染控制工作。

〔通讯作者〕 孙巍,Email:67193146@qq.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验菌株来自黑龙江省部分地市 11 家三级医疗机构物体表面分离所得,并经菌种鉴定。采样对象分布于医疗机构的重症监护室、透析室及骨科、神经外科、儿科、烧伤科、妇产科的护士站和医生办公室的物体表面。采样点为医护人员经常接触部位,主要为治疗仪器的控制面板、医护人员使用的电脑键盘、电话、护士站的呼叫面板、治疗室的操作台面、门把手和 ICU 的床栏等。

抗力检测标准菌株为铜绿假单胞菌(ATCC 15442),由广东某公司提供。

试验用消毒剂:三氯异氰尿酸,有效氯含量为 46.54%;季铵盐类消毒剂选用某复合季铵盐消毒液,活性物含量为 2 000 mg/L。均为国内企业生产的产品,在有效期之内。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株分离培养与鉴定 将从医院物体表面采集的标本进行常规分离培养,对检出的疑似菌株采用 VITEK2-Compact 鉴定系统(法国进口)及配套的鉴定卡对菌种做出鉴定;检测目标为革兰阴性非发酵杆菌。

1.2.2 菌悬液制备 将分离菌株和标准菌株分别划线接种营养琼脂斜面,取 37℃培养 24 h 的新鲜培养物,用 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)洗下菌苔并稀释成试验用菌悬液备用。

1.2.3 菌株对消毒剂抗力测定 采用肉汤系列稀释法进行试验,测定三氯异氰尿酸和复合季铵盐对各试验菌的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。

①MIC 测定:取若干支无菌试管,将消毒剂用无菌蒸馏水作对倍系列稀释,取各稀释度消毒剂 2.5 ml 加入到 2.5 ml 双倍浓度营养肉汤试管中混匀,然后在各试管中分别接种 0.1 ml 菌悬液,使其含菌量为 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu/ml,混匀,同时设置阳性对照与阴性对照。经 37℃培养 48 h 观察结果。以无菌生长的最低稀释度的浓度为 MIC 值。

②MBC 测定:在 MIC 无菌生长的试验管中吸取 0.5 ml 样液加入到装有 4.5 ml 含中和剂肉汤的试管中混匀(经鉴定试验证明三氯异氰尿酸消毒剂用 5 g/L 硫代硫酸钠 + 5 g/L 吐温-80 肉汤有效;复合季铵盐用 20 g/L 吐温-80 + 2 g/L 卵磷脂肉汤有效)^[3],然后经 37℃继续培养 48 h 观察结果。以无菌生长的最低稀释度的浓度为 MBC 值。每株细菌均按上述程序进行 3 次试验。

2 结果

2.1 基本情况

从医院环境物体表面 176 份标本中共分离出 15 株革兰阴性非发酵杆菌,分离率为 8.52%;其中假单胞菌属 10 株,分别为少动鞘氨醇单胞菌、栖稻假单胞菌、斯氏假单胞菌、嗜麦芽窄食假单胞和腐败假单胞菌。不动杆菌属 4 株,为 3 株鲍曼不动杆菌和 1 株鲁氏不动杆菌;莫拉菌属 1 株。

2.2 非发酵菌分离株分布情况

来源的科室分布构成中,重症监护占 46.67%,儿科占 20.00%,骨科和神经外科均占 13.33%,血液透析室占 6.67%。在检出病原菌的部位分布方面,检出率居前 3 位的是治疗操作台面、电脑键盘和 ICU 床栏,检出率分别为 22.22%、14.29% 和 13.33%,不同部位检出率比较差异无统计学意义($P>0.1$),详见表 1。

表 1 不同环境物体表面革兰阴性非发酵杆菌检出情况

采样部位	监测份数	检出株数	检出率(%)
治疗室操作台面	9	2	22.22
电脑键盘	28	4	14.29
ICU 床栏	15	2	13.33
护士站呼叫器面板	26	3	11.54
门把手	14	1	7.14
电话	18	1	5.56
治疗仪器控制面板	66	2	3.03
合计	176	15	8.52

2.3 消毒剂抗力检测结果

2.3.1 MIC 检测结果 结果显示,三氯异氰尿酸对 15 株革兰阴性非发酵杆菌的 MIC 为有效氯 250 ~ 500 mg/L,标准菌株为 500 mg/L,有 4 株革兰阴性非发酵杆菌为 500 mg/L 与标准菌株相同。复合季铵盐对 15 株革兰阴性非发酵杆菌的 MIC 为 0.980 ~ 15.62 mg/L,标准菌株为 15.62 mg/L,1 株革兰阴性非发酵杆菌为 15.62 mg/L 与标准菌株相同,详见表 2。

2.3.2 MBC 检测结果比较 结果显示,三氯异氰尿酸对 15 株革兰阴性非发酵杆菌的 MBC 为有效氯 250 ~ 1 000 mg/L,标准菌株为 1 000 mg/L,2 株革兰阴性非发酵杆菌为 1 000 mg/L 与标准菌株相同。复合季铵盐对 15 株革兰阴性非发酵杆菌的 MBC 为 1.95 ~ 31.25 mg/L,标准菌株为 250 mg/L,分离出的革兰阴性非发酵杆菌的 MBC 均低于标准菌株,详见表 3。

表 2 不同消毒剂对试验菌株 MIC 测定结果

菌株 编号	不同消毒剂		菌株 编号	不同消毒剂	
	MIC 值 (mg/L)			MIC 值 (mg/L)	
	三氯异氰 尿酸	复合 季铵盐		三氯异氰 尿酸	复合 季铵盐
23	250	1.95	133	250	7.81
24	250	0.98	140	250	0.98
77	250	1.95	145	500	1.95
89	250	15.62	158	250	1.95
110	500	1.95	164	250	3.90
118	250	3.90	165	250	1.95
119	250	0.98	167	500	1.95
标准菌株	500	15.62	198	500	3.90

注:阳性对照组菌数为 $5.28 \times 10^5 \sim 4.34 \times 10^6$ cfu/ml;阴性对照组无菌生长,阳性对照组有菌生长。

表 3 不同消毒剂对试验菌株 MBC 测定结果

菌株 编号	不同消毒剂		菌株 编号	不同消毒剂	
	MBC 值(mg/L)			MBC 值(mg/L)	
	三氯异氰 尿酸	复合 季铵盐		三氯异氰 尿酸	复合 季铵盐
23	500	3.90	133	500	15.62
24	250	7.81	140	250	1.95
77	250	1.95	145	500	1.95
89	250	31.25	158	500	3.90
110	1 000	1.95	164	250	7.81
118	250	7.81	165	250	3.90
119	250	1.95	167	500	3.90
标准菌株	1 000	250.00	198	1 000	15.62

注:阳性对照组菌数为 $5.28 \times 10^5 \sim 4.34 \times 10^6$ cfu/ml;阴性对照组无菌生长,阳性对照组有菌生长。

3 讨论

消毒剂在医院的广泛、过度使用以及不当使用,促使细菌产生耐消毒剂现象。因此,医院感染常见致病微生物的耐药现象已不仅仅局限于抗菌药物,开始扩展到了消毒剂。“耐药性”只是一个相对概念,目前通常采用消毒因子对分离菌株与标准菌株的最小抑菌浓度或最小杀菌浓度进行比较,判定有无消毒剂耐药性^[4]。

关于临床分离患者样本的致病菌耐消毒剂抗力研究的文献很多^[5,6],本次研究针对医院环境物体表面分离的非发酵菌对消毒剂抗力,选取医院环境物体表面常用含氯消毒剂及复合季铵盐进行测试,标准菌株铜绿假单胞菌为消毒产品安全评价中“医院感染常见菌”的代表菌。本研究结果显示,三氯异氰尿酸对 4 株上述革兰阴性非发酵杆菌的 MIC 值与标准菌株 (500 mg/L) 相同,对其中的 2 株的 MBC 值与标准菌株 (1 000 mg/L) 相同;复合季铵盐

对其中 1 株的 MIC 值与标准菌株 (15.62 mg/L) 相同。

随着新的诊疗技术开展,免疫减退人群不断增长,条件致病菌的类别增多,过去少见的非发酵菌引起的感染也逐渐增加,引起医院感染的病原菌优势菌不断变迁^[7]。此次在医疗环境中采集分离的革兰阴性非发酵杆菌重症监护室占 46.67%,不同部门间检出差异的比较有统计学意义 ($P < 0.05$),重症以及康复医学科医院感染多为高发科室,调查与相关报道相符^[8,9]。病原菌检出的位置主要集中在治疗操作台表面、电脑键盘及 ICU 床栏,是患者诊疗区域频繁接触的物体表面。本次分离的腐败假单胞和鲍曼不动杆菌,来自电脑键盘和 ICU 床栏,三氯异氰尿酸对其的 MBC 值与标准菌株相同,这些表面被微生物污染后可以通过直接接触的方式将病原体传播给患者,同时还能间接的经由医护人员的手进行病原菌的传播,因此对临床环境清洗消毒时应给予充分注意,同时根据本文研究结果,来自于医疗机构诊疗环境的革兰阴性非发酵杆菌对含氯消毒剂和季铵盐的抗力均未高于铜绿假单胞菌 (ATCC 15442),实际工作中应避免过度消毒,避免耐消毒剂菌株的出现。

参考文献

[1] 李耕,吕媛,王珊. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测报告: 革兰阴性非发酵杆菌耐药监测 [J]. 中华医院感染杂志, 2011,21(24):5133-5137.

[2] 李璐,赵蓬波,王月华,等. 患者体液标本分离病原菌种类分布及其耐药性研究 [J]. 中国消毒学杂志,2017,34(6):545-547.

[3] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范 [S]. 2002.

[4] 张流波,杨华明. 医学消毒学最新进展 [M]. 北京:人民军医出版社,2015:54-60.

[5] 吴晓松,陈越英,谈智,等. 三种革兰阴性杆菌耐消毒剂基因检测对苯扎溴铵抗性研究 [J]. 中国消毒学杂志,2009,26(3):249-251.

[6] 陈璐,杨彬,李子尧,等. 耐药鲍曼不动杆菌临床分离株对胍类消毒剂抗性的研究 [J]. 中国消毒学杂志,2017,34(6):519-522.

[7] 商淑梅. ICU 呼吸道感染鲍曼不动杆菌耐药性变迁及干预效果观察 [J]. 中国消毒学杂志,2015,32(10):1045-1047.

[8] 王蕾,杨紫旋,康海全,等. 某教学医院重症监护病房与普通病房细菌分布及耐药性比较分析 [J]. 疾病监测,2018,33(9):762-765.

[9] 梁家隐,廖小倩,黄凡华,等. 某医院康复医学科医院感染现状调查 [J]. 中国消毒学杂志,2017,34(9):845-847.