

【论 著】

两种采样方法对环境中微生物采样效果的比较研究

韩 杰 金 虹 任 哲 姚楚水 魏秋华

(中国人民解放军疾病预防控制中心 北京 100071)

摘要 目的 比较棉签拭子与接触碟(Rodac) 对不同硬质表面微生物、织物、不同环境(实验室、医院) 现场微生物以及人工染菌物体表面的采样效果, 为现场微生物采集方法选择提供科学参考。方法 采用棉拭子采样倾注培养法和接触碟压印法分别对环境中微生物进行采集。结果 棉拭子对织物表面的微生物捕获量高于接触碟; 接触碟对较洁净的硬质表面微生物捕获量高于棉拭子。接触碟对人工污染的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌捕获量均高于棉拭子。结论 两种采样方法对不同表面污染的微生物捕获量不同, 对不同微生物种类捕获量不同。

关键词 棉拭子; 接触碟; 采样方法; 微生物采样

中图分类号: R187. 2

文献标识码: A

文章编号: 1001 - 7658(2020) 01 - 0010 - 03

DOI: 10. 11726/j. issn. 1001 - 7658. 2020. 01. 003

Comparative study on the effect of two sampling methods on microbial sampling in environment

HAN Jie JIN Hong REN Zhe YAO Chu - shui WEI Qiu - hua

(PLA Center for Disease Control and Prevention ,Beijing 100071)

Abstract Objective To compare the microbe, fabric, microbe of different environment (laboratory, hospital) and artificial contamination surface between cotton swab and Rodac contact dish sampling effect and to provide scientific reference for the selection of on - site microbial collection methods. **Methods** cotton swab sampling and pouring culture and Rodac contact plate embossing were used to collect microorganism in the environment. **Results** The microbial catch of cotton swab on the surface of the fabric was higher than that of Rodac contact dish, and the microbial catch of Rodac contact dish on the clean hard surface was higher than that of cotton swab. The Rodac contact plate caught more live staphylococcus aureus and E. coli than cotton swabs. **Conclusion** The two sampling methods have different yields of microorganisms with different surface contamination and different species of organisms.

Key words cotton swab; Rodac contact dish; sampling method; microbial sampling

很多研究表明, 污染的医院环境表面是引起医院获得性感染发生的重要原因, 例如耐甲氧西林葡萄球菌(MRSA)、耐万古霉素肠球菌属(VRE) 和不动杆菌属等, 通过医护人员的手从环境表面转移至患者, 导致患者之间的交叉感染⁽¹⁾。医院环境表面和医疗设备的清洁与消毒是阻止医院交叉感染发生的重要方法。而清洁与消毒是否彻底, 需通过对医院环境高频率接触表面微生物污染的监测进行评估。因此, 医疗机构环境表面微生物学监测是医院感染防控工作的重要内容, 是监督临床清洁消毒工

作和防止医院感染暴发的主要手段。

目前监测方法有传统的棉拭子采样倾注培养法、三磷酸腺苷(ATP) 生物荧光法和接触碟(Rodac) 压印法。其中棉拭子采样倾注法成本低, 但操作繁琐、耗时较长、技术要求较高、使用试剂种类多, 工作量大。ATP 生物荧光法可以对环境表面进行快速、定量监测, 但所用仪器和试剂耗材成本高。相比之下, 接触碟压印法操作简单、成本较低, 越来越受到广大感控人员的青睐。但棉签拭子采样倾注培养法和接触碟压印法对不同环境表面以及不同种类微生物采集率是否有差异还未见有系统的研究报告。为此, 我们进行了以下对比研究, 现将结果报告如下。

(基金项目) 全国医院消毒与感染控制监测项目(1311500010806)

(作者简介) 韩杰(1985 -), 女, 河北保定人, 硕士, 实验师, 从事消

毒学研究和医院感染监测工作

(通讯作者) 魏秋华, Email: flowerqw@ hotmail. com

1 材料与方法

1.1 材料

试验用菌种、试剂和器材:大肠杆菌(8099)、金黄色葡萄球菌(ATCC 6538),均由解放军疾病预防控制中心消毒与感染控制科提供。磷酸盐缓冲液(PBS)、营养琼脂、营养肉汤(购自北京某公司)、接触碟(购自连云港某公司)、5cm×5cm规格板、6cm×6cm无菌滤纸、织物(白大褂)、无菌棉拭子和震荡混合器。

1.2 方法

1.2.1 棉拭子倾注法⁽²⁾ 将无菌棉拭子于含5 mL PBS中沾湿,使用规格板对随机选取物体表面涂抹采样,横竖往返各8次。采样后,以无菌操作方式将棉拭子采样端剪入原试管中,振荡器震荡20 s,做适当稀释,吸取1 mL接种平皿,37℃培养48 h观察结果。

1.2.2 人工染菌法 将培养18~24 h菌液做适当稀释,然后将6 cm×6 cm无菌滤纸浸于菌液中,用无菌镊子取出,悬空弃去多余液滴,将其贴于洁净硬质试验桌面,2 min后弃掉。待菌液自然晾干后采样。

1.2.3 接触碟压印法 使用直径55 mm的TSA培养基接触碟,在棉拭子采样邻近区按压采样。37℃培养48 h观察结果。

1.2.4 统计分析 采用SPSS 16.0统计软件对试验数据进行方差分析与成组t检验,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种采样方法在不同物质表面微生物采样结果

表1结果表明,两种采样方法在不同物质表面微生物采样结果有差异,在粗糙硬质表面使用棉拭子获取的菌落数高于接触碟压印法;在光滑硬质表面使用接触碟压印法获取的菌落数高于棉拭子;织物采样结果为棉拭子获取的菌落数显著高于接触碟3.8 cfu/cm²(P<0.05)。

表1 两种采样方法在不同物质表面微生物采样结果

采样环境	棉拭子采样		接触碟压印法		P 值
	例数	菌数 (cfu/cm ²)	例数	菌数 (cfu/cm ²)	
粗糙硬质表面	30	7.4	30	2.8	0.059
光滑硬质表面	30	0.4	30	0.8	<0.05
织物	60	9.9	60	3.8	<0.05

2.2 两种采样方法现场采样结果比较

为验证两种采样方法对不同环境表面污染微生物采样结果是否有差异,我们分别进行了实验室现场(包括试验桌台面、窗台、冰箱门、培养箱门)采样和医院现场(包括护士站台面、患者床具、诊疗车台面、窗台)采样,现场选取采样部位均为硬质表面。实验室现场和医院现场采样结果分别参照GB 15982-2012《医院消毒卫生标准》中的IV类(≤10.0 cfu/cm²为合格)和II类(≤5.0 cfu/cm²为合格)环境要求,则两种采样方法结果在实验室现场和医院现场均合格。经统计学分析差异无显著意义(P>0.05),见表2。

表2 两种采样方法现场采样结果比较

采样环境	棉拭子采样		接触碟压印法		P 值
	例数	菌数 (cfu/cm ²)	例数	菌数 (cfu/cm ²)	
实验室	60	3.9	60	1.8	0.079
医院	40	1.5	40	2.1	0.627

2.3 两种采样方法对不同种类微生物采样结果比较

为验证两种采样方法对不同种类微生物采样是否有区别,我们选择大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别作为革兰阴性菌和革兰阳性菌代表菌株进行人工染菌。结果表明,在硬质表面,接触碟压印法比棉拭子采样法获取菌量要高;相同的染菌浓度,两种采样方法均显示对革兰阳性菌的获取菌落数高于革兰阴性菌,详见表3。

表3 两种采样方法对不同种类微生物采样结果比较

种类	菌株	棉拭子采样		接触碟压印法		P 值
		例数	菌数 (cfu/cm ²)	例数	菌数 (cfu/cm ²)	
革兰阴性菌	大肠杆菌 (8099)	30	1.1	30	6.0	<0.05
革兰阳性菌	金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538)	30	13.7	30	15.8	0.093

3 讨论

研究结果表明,两种采样方法对不同表面污染的微生物获取结果不同,粗糙硬质表面,使用棉签拭子采样获取率要高于接触碟;而光滑硬质表面,使用接触碟采样获取的菌量要高于棉签拭子;医院现场因采样部位均为光滑硬质表面,接触碟采样获取的菌量要显著高于棉签拭子;两次织物采样结果显示,棉签拭子采样获取率均高于接触碟。人工染菌试验结果表明,无论是革兰阴性菌还是革兰阳性菌,接触

碟压印法获取的菌量均高于棉拭子倾注培养基法。试验结果还显示,在相同染菌量的条件下,革兰阳性菌相对于革兰阴性菌更易被获取。

针对以上结果分析,可能是粗糙硬质表面和织物表面含有凹槽,存在凹槽中的微生物不易被接触碟采集到,而沾有液体的棉拭子则更易将细菌从凹槽中粘带出。此外,不经常被擦拭或清洗的物体表面含有细菌菌落,使用棉拭子倾注法会使一个菌落分散成多个单细菌,而接触碟压印法可能是直接转印出一个菌落,从而导致接触碟采集到的微生物低于棉拭子。医院现场采集部位为硬质光滑表面,且每日都进行擦拭,物体表面含菌量较少,因此使用接触碟直接压印法获取的菌量高于棉拭子。此次医院清洁环境下采样结果与贾宁⁽³⁾的报道相一致,在清洁环境中,接触碟压印法对细菌的捕获力大于棉拭子倾注法。

医院现场环境物表还存在许多高接触频率不规则表面,对于此类物表棉拭子相对于接触碟采样更灵活。Olivia Ellis MS⁽⁴⁾曾做过ATP生物荧光和接触碟对不规则物表微生物污染监测比较,发现两种采样方法在规则、平整的物表采集到的微生物无差别,但在不规则表面,ATP生物荧光法比接触碟采集到的微生物量高,可能跟ATP生物荧光法中使用拭子采样有关。此外,还有研究表明,不同材质的拭子从环境中采集的微生物量是不同的。但总而言之,接触碟在不规则或难接触到的表面采集到的微生物数量相比拭子要少。

微生物污染的环境表面是医院获得性感染很重要的来源^(5,6),在众多文献报道中,医院污染的环境表面采集到的MRSA和VRE阳性率达20%~40%^(7,8)。相比之下,革兰阴性菌(除了不动杆菌属)在环境表面检测到的几率很低⁽⁹⁾,这可能与革兰阳性菌普遍比革兰阴性菌在环境中存活能力更强有关。有研究表明MRSA和VRE在干燥的环境表面能存活数天⁽¹⁰⁾,Sebastian W. Lemmen⁽¹¹⁾对医院感染常见病原菌进行了系统的采样比对,发现革兰阳性菌比革兰阴性菌采集率高。本研究中的实验室人工染菌试验发现无论是使用接触碟还是棉签采样,革兰阳性菌获取量均较革兰阴性菌高。

综上所述,在清洁环境下,接触碟压印法采集到的微生物数量要高于棉拭子法,因此对清洁环境物体表面进行微生物污染评价时建议使用接触碟压印法。由于棉拭子采样更具灵活性,对不规则表面和织物采样建议使用棉拭子倾注培养基法。

参考文献

- (1) Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, et al. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species [J]. *Am J Infect Control* 2010, 38: 25-33.
- (2) 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 2002.
- (3) 贾宁, 刘瑾红, 邢玉斌, 等. 3种细菌采样方法捕获力的对比研究[J]. *中华医院感染学杂志* 2004, 14(1): 35-37.
- (4) Ellis O, Godwin H, David M, et al. How to better monitor and clean irregular surfaces in operating rooms: Insights gained by using both ATP luminescence and RODAC assays [J]. *Am J Infect Control* 2018, 46(8): 906-912.
- (5) Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections [J]. *Curr Opin Infect Dis* 2013, 26: 338-344.
- (6) Otter JA, Yezli S, French GL. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011, 32(7): 687-699.
- (7) Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, et al. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; possible infection control implications [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997, 18(9): 622-627.
- (8) Weber DJ, Rutala WA. Role of environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant *enterococci*. *Infect [J]. Control Hosp Epidemiol* 1997, 18: 306-309.
- (9) Alfieri N, Ramotar K, Armstrong P, et al. Two consecutive outbreaks of *Stenotrophomonas maltophilia* (*Xanthomonas maltophilia*) in an intensive care unit defined by restriction fragment length polymorphism typing [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999, 20: 553-556.
- (10) Talon D. The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria [J]. *J Hosp Infect* 1999, 43(1): 13-17.
- (11) Lemmen SW, Häfner H, Zolldann D, et al. Comparison of two sampling methods for the detection of Gram-positive and Gram-negative bacteria in the environment: moistened swabs versus Rodac plates [J]. *Int J Hyg Environ Health* 2001, 203(3): 245-248.

(收稿日期: 2019-10-10)