

2019—2020 年上海市医院人工水环境中嗜肺军团菌的污染状况与分子分型研究

高佳迎¹, 袁灵月², 陈艳新², 陈涌², 罗嘉远², 陈明亮², 陈敏²

1. 复旦大学公共卫生学院, 上海 200032

2. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336

摘要:

[背景] 全球军团菌发病率升高, 人工水环境成为其暴发常见来源之一, 而分子分型技术有助于预防和控制军团菌。

[目的] 了解上海市医院人工水环境中嗜肺军团菌的分子流行病学特征, 为军团菌病的防控提供科学依据。

[方法] 于 2019—2020 年每年 5—10 月采集上海市 14 家医院人工水环境中水样, 包括 8 家三甲医院, 6 家非三甲医院。共采集水样 984 份, 包括 312 份冷却水、72 份冷冻水和 600 份自来水。对水样进行嗜肺军团菌的分离培养和血清型鉴定并保藏, 以嗜肺军团菌检出率作为污染状况指标。对保藏菌株进行复苏, 得到 81 株存活菌株进行脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 分型分析。

[结果] 共检出嗜肺军团菌水样 124 份, 样本检出率 12.60%, 其中三甲医院检出率 (16.54%, 87/526) 高于非三甲医院 (8.08%, 37/458) ($\chi^2=15.91, P<0.001$)。不同类型水样之间冷却水的检出率 (23.40%) 最高, 检出率的差异具有统计学意义 ($\chi^2=61.19, P<0.001$)。医院不同场所自来水检出率差异具有统计学意义 ($\chi^2=11.37, P<0.05$)。2019 年的检出率 (15.06%, 75/498) 高于 2020 年 (9.84%, 49/498) ($\chi^2=6.23, P<0.05$)。5—10 月中, 8 月的年平均检出率 (16.46%) 最高, 10 月的年平均检出率 (8.54%) 最低, 不同月份之间检出率的差异无统计学意义 ($\chi^2=5.39, P=0.37$)。不同区之间的检出率差异具有统计学意义 ($\chi^2=24.88, P<0.001$)。共分离得到 131 株嗜肺军团菌, 以血清型 1 型 (80.15%, 105/131) 为主。对复苏存活的 81 株嗜肺军团菌进行 PFGE 分型, 菌株条带相似性系数为 41.30%~100%, 分为 29 种 PFGE 带型 (S1~S29), 每种带型包括 1~10 株菌, S28 为优势带型。聚类得到 4 个聚类簇 (I~IV), 占有菌株的 66.67% (54/81), 包含 13 个带型。

[结论] 上海市 2019—2020 年医院人工水环境中存在嗜肺军团菌持续污染, 自来水中污染值得引起重视。检出嗜肺军团菌血清型以 1 型为主, PFGE 分型揭示其存在基因多态性。因此, 需加强医院人工水环境中嗜肺军团菌的监测及控制。

关键词: 嗜肺军团菌; 脉冲场凝胶电泳; 环境监测; 医院感染; 人工水环境

Contamination status and molecular typing of *Legionella pneumophila* in artificial water environment in Shanghai hospitals from 2019 to 2020 GAO Jiaying¹, YUAN Lingyue², CHEN Yanxin², CHEN Yong², LUO Jiayuan², CHEN Mingliang², CHEN Min² (1. School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract:

[Background] The incidence of Legionnaires' disease is increasing globally and artificial water environment is becoming a common source of outbreaks. Molecular typing techniques can help prevent and control *Legionella*.

[Objective] To understand the molecular epidemiological characteristics of *Legionella pneumophila* in artificial water environment of Shanghai hospitals, and provide a scientific basis for the prevention and control of Legionnaires' disease.

[Methods] Water samples were collected from artificial water environment in 14 hospitals from May to October each year from 2019 to 2020 in Shanghai. A total of 984 water samples were collected from 8 Grade-A tertiary hospitals and 6 non-Grade-A tertiary hospitals, including 312 samples of cooling water, 72 samples of chilled water, and 600 samples of tap water. The water samples



DOI 10.11836/JEOM22515

基金项目

上海市公共卫生体系建设三年行动计划 (2020—2022 年) 重点学科建设计划 (GWV-10.1-XK03); 上海市医苑新星青年医学人才培养资助计划 (公共卫生领导者项目, 2020 年) (无编号); 上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划 (2023—2025 年) 超大城市生物安全关键能力和公共卫生实验室网络一体化建设 (GWVI-3)

作者简介

高佳迎 (1997—), 女, 硕士生;

E-mail: 20211020196@fudan.edu.cn

通信作者

陈明亮, E-mail: chenmingliang@scdc.sh.cn

陈敏, E-mail: chenmin@scdc.sh.cn

作者中包含编委会成员 无

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2022-12-29

录用日期 2023-04-27

文章编号 2095-9982(2023)07-0823-07

中图分类号 R183.3

文献标志码 A

引用

高佳迎, 袁灵月, 陈艳新, 等. 2019—2020 年上海市医院人工水环境中嗜肺军团菌的污染状况与分子分型研究 [J]. 环境与职业医学, 2023, 40(7): 823-829.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22515

Funding

This study was funded.

Correspondence to

CHEN Mingliang, E-mail: chenmingliang@scdc.sh.cn

CHEN Min, E-mail: chenmin@scdc.sh.cn

Editorial Board Members' authorship No

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2022-12-29

Accepted 2023-04-27

To cite

GAO Jiaying, YUAN Lingyue, CHEN Yanxin, et al. Contamination status and molecular typing of *Legionella pneumophila* in artificial water environment in Shanghai hospitals from 2019 to 2020 [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2023, 40(7): 823-829.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22515

were isolated and serotyped for *Legionella pneumophila* and preserved, and the positive rate of *Legionella pneumophila* in the samples was used as an indicator of contamination. The preserved strains were resuscitated and 81 surviving strains were obtained for pulsed field gel electrophoresis (PFGE) typing analysis.

[Results] A total of 124 *Legionella pneumophila* positive water samples were detected, with a positive rate of 12.60%. The positive rate was higher in the Grade-A tertiary hospitals (16.54%, 87/526) than in the non-Grade-A tertiary hospitals (8.08%, 37/458) ($\chi^2=15.91$, $P<0.001$). The positive rate of cooling water (23.40%) was the highest among different types of water samples, and the difference was statistically significant ($\chi^2=61.19$, $P<0.001$). The difference in positive rate of tap water was statistically significant among different hospital departments ($\chi^2=11.37$, $P<0.05$). The positive rate in 2019 (15.06%) was higher than that in 2020 (9.84%) ($\chi^2=6.23$, $P<0.05$). From May to October, August had the highest annual average positive rate (16.46%) and October had the lowest (8.54%), but the difference in positive rates among months was not statistically significant ($\chi^2=5.39$, $P=0.37$). The difference in positive rate among districts was statistically significant ($\chi^2=24.88$, $P<0.001$). A total of 131 strains of *Legionella pneumophila* were isolated, with serotype 1 (80.15%, 105/131) predominating. Among the 81 surviving strains of *Legionella pneumophila* subjected to PFGE typing, the band-based similarity coefficients ranged from 41.30% to 100%. Among the 29 PFGE band types (S1-S29) recorded, each band type included 1-10 strains, and S28 was the dominant band type. Four clusters (I-IV) of PFGE band types were identified, accounting for 66.67% (54/81) of all strains and containing 13 band types.

[Conclusion] *Legionella pneumophila* contamination is present in the artificial water environment of hospitals in Shanghai from 2019 to 2020, and the contamination in tap water deserves attention. The detected serotype of *Legionella pneumophila* is predominantly type 1, and PFGE typing reveals the presence of genetic polymorphism. Therefore, the monitoring and control of *Legionella pneumophila* in hospital artificial water environment should be strengthened.

Keywords: *Legionella pneumophila*; pulsed-field gel electrophoresis; environmental monitoring; nosocomial infection; artificial water environment

军团菌(*Legionella*)是一种革兰氏阴性杆菌,广泛存在于天然淡水或人工水域。军团菌病通常是由于吸入含有军团菌的气溶胶或水引起的一种以肺炎为主的全身性疾病。军团菌病的全球病死率在8%~12%之间^[1],各年龄段的人群都普遍易感军团菌病,特别是慢性病患者或免疫功能低下患者。近年来,全球军团菌病的发病率呈上升趋势^[2-4]。目前已知军团菌超过60种,70多个血清型(<http://www.bacterio.net/legionella.html>),但超过90%的军团菌病是由嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*, Lp)引起,其中又以血清型1型(Lp1)为主。根据感染方式,军团菌病主要分为社区获得性感染、医院获得性感染和旅行相关感染,其中最常见的是社区获得性感染,而对人类健康威胁最大的为医院获得性感染。在我国,嗜肺军团菌为引起重症社区获得性肺炎的五大病原体之一,占12.6%^[5],由其引起的重症社区获得性肺炎病死率可达18.2%^[6];而美国统计数据显示,医院获得性感染病例病死率则高达25%^[7]。此外,美国统计数据还显示,尽管旅行相关感染是军团菌病暴发最常见的感染方式,但是医院获得性感染病例数却占有暴发的57%,死亡人数占比甚至达到85%^[8]。在我国报道的军团菌病暴发中,医院获得性感染占10.71%^[9]。因此,由于其较高的感染率与病死率,医院获得性感染值得重视。

随着城市的发展,人工水环境尤其是集中空调通风系统的冷却塔已经成为军团菌滋生的重要场所,也是军团菌病暴发最常见的来源之一^[10]。系统中由于设

备的长时间运行和加热器的使用形成相对稳定且复杂的营养环境,适宜军团菌生长繁殖,因此常常存在多种种属、亚群或亚型的军团菌污染。传统的血清分型方法灵敏度不高并且可能存在交叉反应,可重复性差,有限的分辨率很难准确定位病原体,暴发时也很难提供传播证据;随着现代分子生物学检测技术的不断进步,分子分型和测序技术以稳定、可重复和高分辨率的特征实现了进一步定位致病菌型别,了解其分布特征与遗传规律,从而揭示传染病发生存在的关联,帮助更好地预防和控制传染病。脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)是一种基于基因指纹图谱的比较基因分型技术,目前应用最为广泛,技术也相对成熟,可以分析菌株间的相关性,有助于识别传染源,防治传染病。我国以PFGE技术为核心建立的国家病原细菌实验室监测网络确定了嗜肺军团菌的标准实验方案^[11]。

本研究对上海市2019—2020年14家医院人工水环境中嗜肺军团菌的污染情况进行调查,并采用PFGE进行分子分型分析,为开展医院人工水环境精准化监测,军团菌病暴发时及时追溯传染源与传播途径提供依据。

1 材料与方法

1.1 水样来源

根据上海市地理区域分布、人口密度和公立医疗机构行政区划分布,在上海市军团菌监测点^[12]方便抽

样市区与郊区 14 家二级及以上等级的医院, 间距 0.3~35.9 km 不等, 其中三甲医院共 8 家, 非三甲医院共 6 家; 市区为黄浦区、静安区和徐汇区, 共选取 10 家医院, 其中 7 家为三甲医院, 3 家为非三甲医院; 郊区为松江区, 共选取 4 家医院, 其中 1 家为三甲医院, 3 家为非三甲医院。于 2019—2020 年每年 5—10 月份以每月 1 次的频率连续采集集中空调冷却水、冷冻水和自来水; 共采集水样 984 份, 冷却水 312 份, 冷冻水 72 份, 自来水 600 份, 采样构成详见表 1。冷却水采样点设置在距冷却塔壁 20 cm、液面下 10 cm 处; 冷冻水采样于冷冻水管道放出水, 自来水为水龙头的管网末梢水。冷却水和冷冻水均采样于医院集中空调机房, 自来水采样于重症监护室(intensive care unit, ICU)、呼吸科、手术室和其他地点(急诊科、康复科、门诊、普外科病房、神外科病房、内科病房、外科病房)。每个采样点依无菌操作取水样约 500 mL, 标本采集后加盖密封, 2 d 内冷藏送至上海市疾病预防控制中心进行嗜肺军团菌分离培养、鉴定并保藏。

表 1 采集水样构成表

Table 1 Composition of water samples

地区	三甲医院(n=8)			非三甲医院(n=6)			合计
	冷却水	冷冻水	自来水	冷却水	冷冻水	自来水	
黄浦区	72	—	108	24	—	36	240
静安区	24	24	156	12	12	60	288
徐汇区	72	—	—	72	—	120	264
松江区	12	12	36	24	24	84	192
合计	180	36	300	132	36	300	984

1.2 嗜肺军团菌的分离培养、鉴定和保藏

根据 WS 394—2012《公共场所集中空调通风系统卫生规范》, 对水样进行过滤浓缩、酸处理和热处理, 采用甘氨酸-万古霉素-聚霉素-环己胺琼脂(glycine-vancomycin-polymyxin-cycloheximide agar, GVPC) 平板进行细菌培养和分离。采用基质辅助激光解吸离子化串联飞行时间质谱鉴定嗜肺军团菌, 使用嗜肺军团菌分型血清进行菌株分型。将鉴定为嗜肺军团菌且已知血清分型菌株保藏于上海市疾病预防控制中心菌种保藏中心-80 °C 冰箱中。

1.3 PFGE

从-80 °C 冰箱中取出 2019—2020 年来自医院人工水环境的嗜肺军团菌, 将菌株接种于含 L-半胱氨酸活性炭酵母浸膏琼脂(buffered charcoal yeast extract agar, BCYE) 平板, 36 °C, 2.5%CO₂ 培养箱培养 48 h 进行复苏, 复苏得到存活菌株 81 株。PFGE 方法由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所呼吸道传染病

室提供^[13]。嗜肺军团菌悬浊液调节浓度为 4.0 麦氏单位制胶, 限制性内切酶使用 Asc I, 于 37 °C 酶切 3 h, 电泳条件为 6.8~54.2 s, 19 h。

1.4 主要试剂和仪器

主要试剂: 嗜肺军团菌分型血清(日本生研会社); 含 L-半胱氨酸 BCYE 平板和 GVPC 平板(法国 BioMérieux); Xba I 和 Asc I 限制性内切酶(英国 New England Biolabs); 蛋白酶 K(瑞士 Roche); 琼脂糖粉(美国 Cambraex Bio Rockland)。

主要仪器: PFGE 仪(美国 Bio-Rad); 凝胶成像仪(美国 Bio-Rad); 菌液比浊仪(德国 Siemens Healthcare); 水浴摇床、CO₂ 水巢式培养箱(美国 ThermoFisher)等。

1.5 统计学分析

使用 BioNumerics 软件(Version 6.0, Applied Maths) 进行聚类分析, 选择 Dice 相关系数估算相似性, 非加权组平均法方法聚类, 条带位置差异容许度设置为 1.5%, 根据 Tenover 原则^[14]判读, 相似度 100% 认定为同一 PFGE 带型, 将相似度 85% 以上的条带归入同一聚类。采用 Stata 16.0 软件进行统计分析, 以率、构成为主要指标, 率的比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 采用 Bonferroni 法进行多重比较。不满足 χ^2 检验条件的, 采用 Fisher 精确概率检验。

2 结果

2.1 采样和检出情况

2019—2020 年共采集水样 984 份, 检出嗜肺军团菌水样 124 份, 样本检出率 12.60%; 14 家医院中, 12 家医院检出嗜肺军团菌, 检出率 85.7%。三甲医院嗜肺军团菌检出率(16.54%, 87/526)高于非三甲医院(8.08%, 37/458)($\chi^2=15.91, P<0.001$)。见表 2。

冷却水检出率为 23.40%, 冷冻水检出率为 20.83%, 自来水检出率为 6.00%(表 3), 差异具有统计学意义($\chi^2=61.19, P<0.001$)。采用 Bonferroni 法进行多重比较, 冷却水和冷冻水检出率差异无统计学意义($\chi^2=0.22, P=0.64$); 冷却水和自来水检出率差异具有统计学意义($\chi^2=59.04, P<0.001$); 冷冻水和自来水检出率差异具有统计学意义($\chi^2=20.17, P<0.001$)。

三甲医院的冷却水检出率(34.78%, 64/184)高于非三甲医院(7.03%, 9/128)($\chi^2=32.44, P<0.001$); 冷冻水($\chi^2=0.08, P=0.77$)和自来水($\chi^2=0.66, P=0.42$)检出率差异无统计学意义。见表 4。

2019 年的检出率(15.06%, 75/498)高于 2020 年(9.84%, 49/498)($\chi^2=6.23, P<0.05$)。8 月的年平均检出

率最高,为 16.46%,10 月的年平均检出率最低,为 8.54%,5—10 月份之间年平均检出率差异无统计学意义($\chi^2=5.39, P=0.37$)。见图 1。

表 2 2019—2020 年上海市不同类型医院人工水环境中嗜肺军团菌检出情况

Table 2 Positive *Legionella pneumophila* in artificial water environment by hospital category in Shanghai from 2019 to 2020

医院类型	采样数量	检出数量	检出率/%
三甲医院	526	87	16.54
非三甲医院	458	37	8.08
χ^2	—	—	15.91
P	—	—	<0.001

表 3 2019—2020 年上海市医院人工水环境嗜肺军团菌血清型分布

Table 3 Serotype distribution of *Legionella pneumophila* in artificial water environment of hospitals in Shanghai from 2019 to 2020

水样类型	采样数量	检出数量	检出率/%	检出嗜肺军团菌/株		血清分型/株	
				团菌/株	血清分型/株	Lp1	Lp2~Lp15
冷却水	312	73	23.40	76	67	9	
冷冻水	72	15	20.83	18	12	6	
自来水	600	36	6.00	37	26	11	
χ^2	—	—	61.19	—	—	—	
P	—	—	<0.001	—	—	—	

[注] Lp2~Lp15 包括 Lp2(2)、Lp3(3)、Lp4(1)、Lp5(8)、Lp6(5)、Lp7(5)、Lp8(1)和 Lp10(1)。

表 4 2019—2020 年上海市三甲医院和非三甲医院不同类型水样中嗜肺军团菌检出情况

Table 4 Positive *Legionella pneumophila* in different types of water samples from Grade-A tertiary hospitals and non-Grade-A tertiary hospitals in Shanghai from 2019 to 2020

水样和医院类型	采样数量	检出数量	检出率/%	χ^2	P
冷却水				32.44	<0.001
三甲医院	184	64	34.78	—	—
非三甲医院	128	9	7.03	—	—
冷冻水				0.08	0.77
三甲医院	36	7	19.44	—	—
非三甲医院	36	8	22.22	—	—
自来水				0.66	0.42
三甲医院	306	16	5.23	—	—
非三甲医院	294	20	6.08	—	—

黄浦区的检出率为 3.75%,明显低于徐汇区(17.80%)、松江区(15.10%)和静安区(13.54%)($\chi^2=24.88, P<0.001$)。见表 5。

呼吸科的检出率(8.89%)高于 ICU(7.81%)、其他地点(2.08%)和手术室(1.52%)($\chi^2=11.37, P<0.05$)。见表 6。

2.2 血清分型

124 份嗜肺军团菌检出水样中,单种血清型阳性水样 117 份,占 94.35%;多种血清型阳性水样 7 份,占 5.65%。共得到 131 株嗜肺军团菌,Lp1 为优势血清型,占 80.15%(105/131)。在不同类型水样中均分离出

嗜肺军团菌(表 3)。

2.3 PFGE 分型

2.3.1 PFGE 图谱结果 对 81 株嗜肺军团菌进行 PFGE 分型,菌株条带相似性系数为 41.30%~100%,按 100%相似度可分为 29 种带型(S1~S29),每种带型包括 1~10 株菌。包含不少于 2 株菌的带型有 14 种,占所有菌株的 81.48%(66/81),其中 S28 为优势带型,包含 10 株菌,均检出于某三甲医院。所有带型均只对应 1 种血清型。Lp1 为优势血清型,对应 21 种带型,Lp6 和 Lp7 分别对应 2 种带型,其余血清型只对应 1 种带型。见图 2。

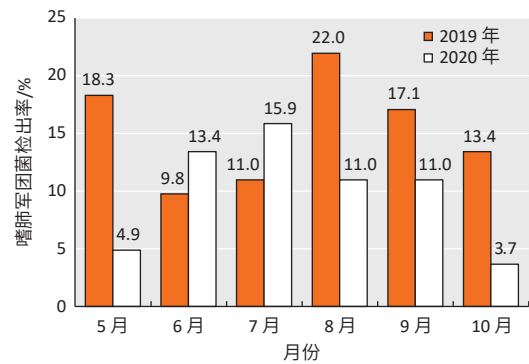


图 1 2019—2020 年 5—10 月上海市医院人工水环境中嗜肺军团菌检出情况

Figure 1 Positive *Legionella pneumophila* in artificial water environment in hospitals in Shanghai from May to October from 2019 to 2020

表 5 2019—2020 年上海市不同地区医院人工水环境嗜肺军团菌的检出情况

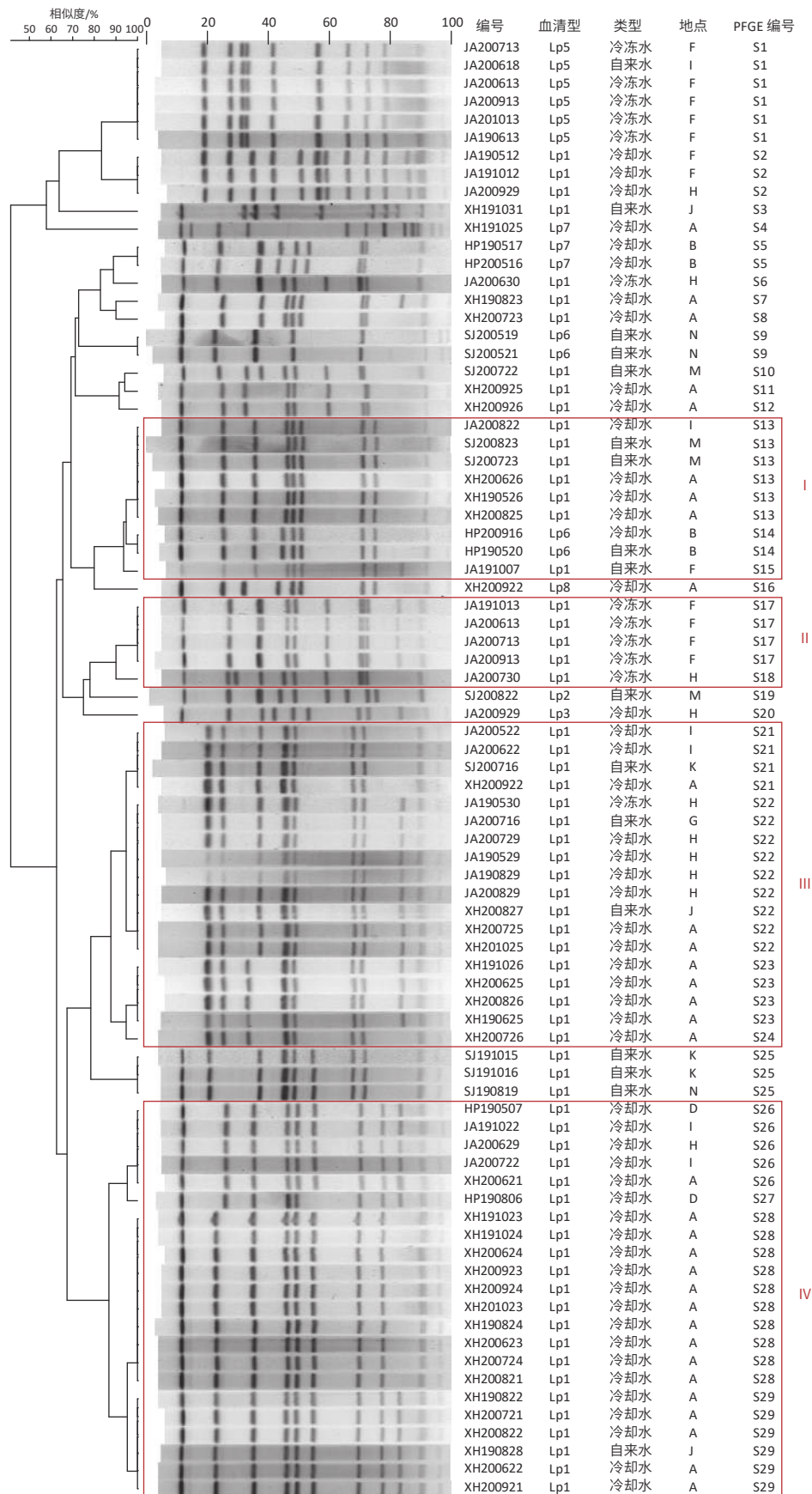
Table 5 Positive *Legionella pneumophila* in artificial water environment by hospital location in Shanghai from 2019 to 2020

地区	采样数量	检出数量	检出率/%
黄浦区	240	9	3.75
静安区	288	39	13.54
徐汇区	264	47	17.80
松江区	192	29	15.10
χ^2	—	—	24.88
P	—	—	<0.001

表 6 2019—2020 年上海市医院不同场所自来水中嗜肺军团菌的检出情况

Table 6 Positive *Legionella pneumophila* in tap water by hospital department in Shanghai from 2019 to 2020

场所	采样数量	检出数量	检出率/%
ICU	192	15	7.81
呼吸科	180	16	8.89
手术室	132	2	1.52
其他	96	2	2.08
χ^2	—	—	11.37
P	—	—	0.01



[注] I~IV为聚类簇。

图 2 2019—2020 年上海市医院来源嗜肺军团菌的 PFGE 聚类图

Figure 2 PFGE clustering of *Legionella pneumophila* from hospitals in Shanghai from 2019 to 2020

包含带型最多的医院存在 14 种带型, 其余医院均不超过 6 种。有 8 种带型在不止一家医院检出, S12 和 S21 同时存在于市区和郊区, 其余 6 种带型只分布在市区的医院。

2.3.2 PFGE 聚类结果分析 考虑菌株流行病学特征, 将满足 85% 以上相似性系数且数量不少于 5 个的条带聚类为同一簇, 得到 4 个聚类簇(I~IV)。4 个簇共占有菌株的 66.67%(54/81), 共包含 13 个带型。聚类簇中, Lp1 为优势血清型, 占 96.30%(52/54), 其余为 Lp6, 占 3.70%(2/54)。最大的 IV 簇包含 22 株菌(40.74%, 22/54), 4 种带型(S26、S27、S28、S29), 血清型均为 Lp1。不同类型水样可检出同簇菌株。I 簇中 9 株菌, 5 株来自冷却水, 4 株来自自来水; III 簇中三种水样类型均有。I 簇和 III 簇在市区和郊区均有分布, II 簇菌株只分布于静安区, IV 簇都位于市区。

3 讨论

我国 WS 394—2012《公共场所集中空调通风系统卫生规范》中规定集中空调冷却水、冷凝水中不得检出嗜肺军团菌。本研究结果显示, 2019—2020 年上海市医院人工水环境中嗜肺军团菌冷却水平均检出率 23.40%。目前全国各地均有嗜肺军团菌检出报道, 检出率差异较大(7.54%~36.7%)^[15-17], 2011—2018 年上海市公共场所嗜肺军团菌平均检出率 21.8%, 医院平均检出率为 27.1%^[12]。本研究进一步发现三甲医院冷却水中嗜肺军团菌检出率高于非三甲医院, 提示三甲医院发生嗜肺军团菌感染的风险更高。

目前国内对集中空调通风系统冷却水和冷凝水的嗜肺军团菌关注较多, 对其他人工水环境关注较少。本研究发现集中空调通风系统冷冻水中也存在嗜肺军团菌污染, 尽管冷冻水系统与外界接触较少, 但是嗜肺军团菌的生长提示管道中存在大量营养物质, 可能引起系统腐蚀, 从而导致空调系统的二次污染。

此外, 本研究调查了医院自来水中嗜肺军团菌污染情况, 结果显示上海市 14 家医院自来水中也存在嗜肺军团菌污染。目前国内关于自来水的卫生调查资料较少, 国外已有研究证明自来水中的嗜肺军团菌为军团菌病暴发的传染源或与暴发临床分离株高度相似^[18-19]。与健康成年人相比, 有哮喘、慢性阻塞性肺疾病、由疾病引起免疫抑制等疾病的患者感染军团菌病的风险增加^[20]。由于医院人工水环境的复杂性和患者的免疫脆弱性, 哪怕处于低浓度的嗜肺军团菌环境中也有可能感染^[21], 尤其是自来水可能与患者直接接触,

因此, 开展医院人工水环境的嗜肺军团菌监测是必要的。

本研究结果显示 8 月嗜肺军团菌检出率最高, 符合其季节性特征。2020 年检出率低于 2019 年, 可能是由于新冠疫情, 医院加强了消毒工作, 但是仍有污染, 提示需加强对人工水系统的消毒和管理。

检出嗜肺军团菌血清型以 Lp1 型为主, 多种血清型同时存在, 与同期国内其他地区卫生调查结果一致^[16-17]。一种血清型可能对应多种 PFGE 带型, 如 Lp1 存在 21 种对应 PFGE 带型, 但是所有带型均只对应 1 种血清型。表明 PFGE 在分子水平上分型, 相比血清型更加精细。4 个聚类簇中, 除 I 簇有 2 株 Lp6, 其余血清型均为 Lp1, 因此 Lp1 也是聚类簇中的优势血清型。分子分型研究发现医院人工水环境中嗜肺军团菌存在持续污染与基因多态性。如 S23 和 S28 所对应的菌株均来自徐汇区某三甲医院冷却水, 血清型均为 Lp1, 在两年间均有检出, 提示该医院集中空调系统存在持续污染; 同时, S23 和 S28 聚类后两个条带位于不同聚类簇, S23 属于 III 簇, 而 S28 属于 IV 簇, 提示该医院冷却塔中嗜肺军团菌存在基因多态性。空间上聚集性特征不明显, 污染范围广, 同一带型可能来自不同类型水样和不同医院。如 S22 对应的 9 株菌, 来自 3 种类型水样, 分布于 4 家医院。同时, 不同区也有同一带型分布。如 S26 所对应菌株均来自市区, 而 S21 对应菌株同时分布在市区和郊区。4 个聚类簇中只有 II 簇分布在同一区。

本研究仍存在一些不足之处: 尽管不同区嗜肺军团菌检出率差异具有统计学意义, 但由于每个区采样的水样类型构成不同, 因此无法得知差异是由于样本构成还是嗜肺军团菌存在与否; 医院不同部门自来水检出的嗜肺军团菌仍需进一步调查其污染来源, 从而更好地进行控制与管理。

综上, 上海市医院人工水环境中嗜肺军团菌存在持续污染, 需重视院内自来水的嗜肺军团菌污染。检出血清型以 Lp1 为主, 通过 PFGE 分型技术发现其存在遗传多样性特征。因此, 加强医院集中空调通风系统和自来水的消毒管理, 建立更完善的基于医院人工水环境的嗜肺军团菌监测系统网络, 为预防和控制院内军团菌病感染, 以及感染后进行流行病学调查和溯源提供依据。

参考文献

- [1] PHIN N P, PARRY-FORD F M, HARRISON T P, et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease[J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(10): 1011-1021.

- [2] LEUNG YH, LAM CK, CHEUNG YY, et al. Epidemiology of Legionnaires' disease, Hong Kong, China, 2005-2015[J]. *Emerg Infect Dis*, 2020, 26(8): 1695-1702.
- [3] BARSKEY A E, DERADO G, EDENS C. Rising Incidence of Legionnaires' disease and associated epidemiologic patterns, United States, 1992-2018[J]. *Emerg Infect Dis*, 2022, 28(3): 527-538.
- [4] FUKUSHIMA S, HAGIYA H, OTSUKA Y, et al. Trends in the incidence and mortality of legionellosis in Japan: a nationwide observational study, 1999-2017[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 7246.
- [5] QU J, ZHANG J, CHEN Y, et al. Aetiology of severe community acquired pneumonia in adults identified by combined detection methods: a multi-centre prospective study in China[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2022, 11(1): 556-566.
- [6] QIN T, REN H, CHEN D, et al. National surveillance of Legionnaires' disease, China, 2014-2016[J]. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25(6): 1218-1219.
- [7] SODA E A, BARSKEY A E, SHAH P P, et al. Vital signs: health care-associated Legionnaires' disease surveillance data from 20 states and a large metropolitan area-United States, 2015[J]. *Am J Transplant*, 2017, 17(8): 2215-2220.
- [8] GARRISON L E, KUNZ J M, COOLEY L A, et al. Vital signs: deficiencies in environmental control identified in outbreaks of Legionnaires' disease - North America, 2000-2014[J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2016, 65(22): 576-584.
- [9] 张美彤, 董颖, 陈愉, 等. 国内军团菌病暴发病例临床特征分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(20): 3187-3191.
ZHANG M T, DONG Y, CHEN Y, et al. Analysis of clinical characteristics of outbreaks of Legionnaires' disease in China[J]. *Chin J Nosocomiol*, 2018, 28(20): 3187-3191.
- [10] VAN HEIJNSBERGEN E, SCHALK J A C, EUSER S M, et al. Confirmed and potential sources of Legionella reviewed[J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(8): 4797-4815.
- [11] 秦天, 任红宇, 周海健, 等. 中国嗜肺军团菌分离株脉冲场凝胶电泳分型分析以及数据库的建立[J]. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(3): 285-289.
QIN T, REN H Y, ZHOU H J, et al. Molecular typing of Legionella pneumophila isolates from China with pulsed field gel electrophoresis[J]. *Chin J Epidemiol*, 2011, 32(3): 285-289.
- [12] 孔德川, 肖文佳, 陈明亮, 等. 2011—2018年上海市公共场所人工水环境中军团菌污染情况调查及其病原原型鉴定[J]. *中华预防医学杂志*, 2021, 55(1): 72-77.
KONG D C, XIAO W J, CHEN M L, et al. Investigation of Legionella contamination in artificial water environment of public places and identification of its pathogenic types in Shanghai from 2011 to 2018[J]. *Chin J Prev Med*, 2021, 55(1): 72-77.
- [13] ZHOU H, REN H, ZHU B, et al. Optimization of pulsed-field gel electrophoresis for Legionella pneumophila subtyping[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(5): 1334-1340.
- [14] TENOVER F C, ARBEIT R D, GOERING R V, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing[J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(9): 2233-2239.
- [15] 张宝莹, 刘凡, 白雪涛, 等. 2009年-2014年五地区公共场所嗜肺军团菌环境污染现状调查[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(19): 2841-2843, 2848.
ZHANG B Y, LIU F, BAI X T, et al. Investigation of Legionella pneumophila contamination in public places of five districts in China from 2009 to 2014[J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2016, 26(19): 2841-2843, 2848.
- [16] 万博宇, 张美云, 段杉, 等. 2018—2019年北京市朝阳区公共场所水环境中嗜肺军团菌污染状况及健康风险分析[J]. *环境卫生学杂志*, 2021, 11(3): 260-264.
WAN B Y, ZHANG M Y, DUAN S, et al. Analysis of the contamination and health risk of Legionella Pneumophila in the water of public places in Chaoyang district of Beijing from 2018 to 2019[J]. *J Environ Hyg*, 2021, 11(3): 260-264.
- [17] 李艳丽, 杨康, 袁天明, 等. 2017-2020年十堰市公共场所嗜肺军团菌污染状况及病原学分析[J]. *职业与健康*, 2022, 38(13): 1821-1824, 1829.
LI Y L, YANG K, YUAN T M, et al. Analysis on contamination status and etiological analysis of Legionella pneumophila in public places in Shiyan City from 2017-2020[J]. *Occup Health*, 2022, 38(13): 1821-1824, 1829.
- [18] GARNER E, BROWN C L, SCHWAKE D O, et al. Comparison of whole-genome sequences of Legionella pneumophila in tap water and in clinical strains, Flint, Michigan, USA, 2016[J]. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25(11): 2013-2020.
- [19] MENTULA S, KÄÄRIÄINEN S, JAAKOLA S, et al. Tap water as the source of a Legionnaires' disease outbreak spread to several residential buildings and one hospital, Finland, 2020 to 2021[J]. *Euro Surveill*, 2023, 28(11): 2200673.
- [20] COOLEY L A, PONDO T, FRANCOIS W L, et al. Population-based assessment of clinical risk factors for Legionnaires' disease[J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 70(11): 2428-2431.
- [21] HERWALDT L A, MARRA A R. Legionella: a reemerging pathogen[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2018, 31(4): 325-333.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 汪源)