

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.08.014

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190212.1248.002.html(2019-02-15)

## 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌在 ICU 物体表面的生存性研究\*

万玉英<sup>1</sup>,吴红丽<sup>1</sup>,何耀琴<sup>1</sup>,刘伟芬<sup>1</sup>,陈文才<sup>1</sup>,孙迟<sup>1</sup>,郝亮<sup>2△</sup>

(南昌大学第二附属医院:1.感染管理科;2.骨科 330006)

**[摘要]** **目的** 探讨三级甲等医院 ICU 里医务人员频繁接触的诊疗器械及物品表面附着的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的生存周期,为选择最佳材质、最有效方法减少 MRSA 引起的医院感染提供依据,从而更有效地预防与控制感染的发生。**方法** 将 ICU 医务人员频繁接触的物品分成 7 种不同材质[棉布、聚氯乙烯树脂塑料(PVC)、橡胶、铜、不锈钢、铬合金、银],采用 Kirby-Bauer(K-B)纸片法检测 MRSA 菌,分离 MRSA 菌调制菌悬液,用无菌滴管吸菌悬液 0.5 μL 分别滴入 7 种材质物品表面,并分别放入 20 ℃及 35 ℃培养箱里进行 MRSA 菌培养。调查 7 种材质表面附着 MRSA 的生存周期,分别于附着后 1~8 h 内,干燥后即刻,干燥后第 1、2、3、7、15、30 天后在 2 种不同温度下监测 MRSA 的存活情况。**结果** 研究发现铜片上附着的 MRSA 无论 20 ℃或 35 ℃均在干燥后即刻死亡;棉布、银片、铬合金上附着的 MRSA 无论在 20 ℃或 35 ℃下 30 d 后均死亡,而 PVC、橡胶、不锈钢附着的 MRSA 在 20 ℃与 35 ℃下生存周期不同。因此 MRSA 在不同材质上生存周期明显不同,MRSA 最不易生存的材质是铜;相同材质不同温度 MRSA 菌生存期也不同。**结论** MRSA 在铜具物品表面不易附着,其物表保持干燥后 MRSA 立即死亡,这为临床选择有效杀菌材质提供依据,从而防止 MRSA 在医院内传播。

**[关键词]** 甲氧西林抗药性;葡萄球菌,金黄色;重症监护病房;高频接触物;生存期**[中图法分类号]** R446.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)08-1315-04**Study on the survival of Methicillin-resistant staphylococcus aureus on the surface of medical devices in ICU\***WAN Yuying<sup>1</sup>, WU Hongli<sup>1</sup>, HE Yaoqin<sup>1</sup>, LIU Weifen<sup>1</sup>, CHEN Wencai<sup>1</sup>, SUN Chi<sup>1</sup>, HAO Liang<sup>2△</sup>

(1. Department of Hospital Infection Management; 2. Department of Orthopaedics,

the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the life cycle of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus(MRSA) on the surface of medical devices and articles frequently contacted by medical staff in ICU of a third-grade hospital, and to provide the basis for selecting the best material and the most effective method to reduce the hospital infection caused by MRSA. **Methods** The items frequently contacted by medical staff in the ICU were divided into 7 different materials [cotton, polyvinyl chloride resin (PVC), rubber, copper, stainless steel, chrome, silver], and the MRSA was detected and identified by the Kirby-Bauer (KB) method. The suspension of MRSA was prepared and 0.5 μL of the suspension was dropped into the surface of 7 kinds of materials, and then placed in an incubator at 20 ℃ and 35 ℃ for cultivation. The survival of MRSA on the surface of 7 kinds of materials was monitored under two temperatures at the time of 8 hours after attachment, immediately after drying, 1, 2, 3, 7, 15 and 30 days after drying, respectively. **Results** It was found that the MRSA applied on the copper sheet died immediately after drying at 20 ℃ or 35 ℃; The MRSA attached to the cotton cloth, silver sheet and chromium alloy died after 30 days at 20 ℃ or 35 ℃, while the MRSA attached to PVC, rubber, stainless steel has different life cycle at 20 ℃ and 35 ℃, therefore, the life cycle of MRSA was different on different materials. The most difficult survival material for MRSA was copper. **Conclusion** The most difficult survival material for MRSA was copper. MRSA applied on the copper sheet died immediately after drying at 20 ℃ or 35 ℃. This provides a basis for clinical selection of effective bactericidal materials.

**[Key words]** methicillin resistance; staphylococcus aureus; intensive care unit; high-touch sites; life time

\* 基金项目:江西省卫生和计划生育委员会中医处项目(2015A016);江西省卫生和计划生育委员会科技计划项目(20161052);南昌大学第二附属医院院内课题软课题(2016YNRKI2002)。 作者简介:万玉英(1979—),硕士,副主任护师,主要从事 ICU 中不同材质表面耐甲氧西林金黄色葡萄球菌生存周期研究。 △ 通信作者, E-mail: haoliang201@163.com。

自 1961 年被发现后<sup>[1]</sup>,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)感染正以惊人的速度在世界范围内蔓延,成为医院感染重要的革兰阳性细菌,多重耐药现象日益严重。由于其传播速度快,致病性强,易致社区及院内感染暴发流行,病死率高,MRSA 感染已成为医院感染中的严重问题,与乙型肝炎、艾滋病并列为世界三大感染性疾病<sup>[2]</sup>,成为全球性公共卫生问题之一。相关报道显示 MRSA 污染环境后生存周期有数周<sup>[3]</sup>,MRSA 主要通过医护人员手、衣物、敷料、诊疗器械物表等传播,手接触的物品表面是高度危险的,最易被污染的物品表面有:工作服、呼吸机面板、输液泵、吸引连接管、负压调节开关、监护仪操作面板、呼叫按钮、血压计袖带、听诊器、体温计、电话、治疗盘、气囊、床栏、床隔帘、掌上电脑、桌面、床单被套等。以上物品可归类为 7 种不同材质:棉布、聚氯乙烯树脂塑料(poly vinyl chloride,PVC)、橡胶、铜、不锈钢、铬合金、银。本课题模拟在 ICU 的室温下(20 ℃、35 ℃),将医务人员频繁接触的物表分成此 7 种材质,在灭菌后于其表面种植 MRSA 菌种,分别放入 2 种温度(20 ℃、35 ℃)培养箱里分时间段观察其附着 MRSA 的存活情况。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 将 2015 年 1 月至 2017 年 1 月本院综合 ICU、急诊 ICU、呼吸内科监护室、神经内科监护及心胸外科监护室共 5 个 ICU 中医务人员频繁接触的物品分成 7 种材质(由本院物资供应科提供原材料),模拟 ICU 的温度为 20 ℃ 及 35 ℃,相对湿度 40%~48%。7 种材质分别为:棉布(工作服、床单被套)、PVC(床、床栏)、橡胶(呼吸机面板、监护仪操作面板、键盘鼠标、电话、气囊、掌上电脑)、铜(喉镜)、不锈钢(呼叫按钮、治疗盘)、铬合金(输液泵)、银(体温计)。

**1.2 试验材料** 试验用 MRSA 来自本院检验科微生物室 2014 年 1 月至 2016 年 1 月从 ICU 住院患者标本中分离的 MRSA 共 37 株,其中综合 ICU 18 株,急诊 ICU 8 株,呼吸内科监护室 5 株,神经内科监护室 4 株,心胸外科监护室 2 株。试验菌附着材料准备:棉布取材于病房床单被套及医务人员工作服(100%棉 0.40 mm 厚),PVC 取材于病床栏,锯成 1 cm 厚度;橡胶取材于物资科废弃的监护仪操作面板;铜取材于喉镜柄(纯度 99.9%,厚度 0.15 mm);不锈钢取材于治疗盘(纯度 99.0%,厚度 0.56 mm);铬合金取材于输液泵(厚度 0.62 mm);银取材于温度计(纯度 99.9%,厚度 0.15 mm);将以上材质均分成同等大小 16 等分,4 等分为 1 组。以上材质均为灭

菌物。

**1.3 菌悬液制备** 将临床分离的 37 株 MRSA 在血琼脂平板上连续传代 2 次,选取典型菌落接种培养,获得纯培养,用无菌生理盐水洗下菌落。配制成含菌量为  $0.75 \times 10^5$  cfu/mL 的菌悬液备用。

**1.4 判别试验菌** 临床与实验室标准学会(CLSI)推荐用于金黄色葡萄球菌甲氧西林耐药的标准检测方法<sup>[4]</sup>。采用 Kirby-Bauer(K-B)纸片法判定 MRSA:平皿中铺 MH 琼脂,厚度为 4 mm,将配制成含菌量为  $1.5 \times 10^8$  cfu/mL 的菌悬液涂沫于水解酪蛋白琼脂(MHA)平皿上,贴 30 μg 头孢西丁纸片,35 ℃ 孵育 24 h,测量抑菌环直径,抑菌环小于或等于 21 mm,判定为 MRSA。

**1.5 种植** 无菌滴管吸  $1.5 \times 10^8$  cfu/mL 菌悬液分别滴入 6 种不同材质物品表面,并放入不同温度(温度 20 ℃,湿度 41.5%;温度 35 ℃,湿度 48.0%)的培养箱里进行 MRSA 菌培养。后用蘸有蒸馏水的湿棉签在不同材质物表上对 MRSA 菌采样监测。20 ℃ 培养箱为上海跃进医疗器械有限公司生产的霉菌培养箱(MJ-160-III);35 ℃ 培养箱为上海跃进医疗器械有限公司生产的恒温恒湿培养箱(LRHS-250-III)。

**1.6 悬液定量杀菌试验** 采用菌悬液 10 μL( $1.5 \times 10^6$  cfu/mL)分别加入到 2 种不同浓度含氯消毒液,490 μL(阳性对照用生理盐水)中混匀。分别作用不同时间,取混合样液 100 μL 加入到 900 μL 生理盐水中,进行稀释中合法去除残余消毒液作用 10 min 后<sup>[4]</sup>,将样液全部倒入无菌平皿中,混入融化的血琼脂培养基,凝固后培养进行活菌计数,计算平均杀灭率。

**1.7 实验菌的存活判定** 每种材质滴 MRSA 菌悬液 0.5 μL 于物品表面,在 20 ℃、35 ℃ 培养箱环境下分别于附着后 8 h,干燥后即刻,干燥后第 1、2、3、7、15、30 天后监测 MRSA 存活情况。

## 2 结果

**2.1 20 ℃ 的环境生存状况** 在 20 ℃ 培养箱里各材质物品表面上 MRSA 生存情况见表 1。PVC 片、橡胶片、不锈钢片上附着的 MRSA 在 30 d 后仍存活;铜片上 MRSA 附着后 8 h 内仍生存着,但干燥后即刻全死亡;棉布片于干燥后第 15 天后有 25% MRSA 生存,干燥后 30 d 后未见 MRSA 生长;银片于干燥后第 15 天 MRSA 依然存活,干燥后 30 d 后未见 MRSA 生长。

**2.2 35 ℃ 的环境生存状况** 在 35 ℃ 环境各材质物品表面上 MRSA 的生存状况见表 2。铜片上 MRSA 附着后 8 h 内仍生存着,但干燥后即刻全死亡,与 20 ℃ 培养箱相同;橡胶片及铬合金片上附着的 MRSA 在干燥后第 7 天仍有 25% MRSA 存活,而干燥后第 15 天全死亡;PVC 片上附着 MRSA 在干燥后第 15

表 1 在 20 °C 7 种材质物品表面上附着 MRSA 的生存状况(生存标本数 / 试验标本数, n)

材料	8 h	干燥后即刻	干燥后 1 d	干燥后 2 d	干燥后 3 d	干燥后 7 d	干燥后 15 d	干燥后 30 d
棉布	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4
PVC	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
橡胶	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
铜	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
不锈钢	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
铬合金	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4
银	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	0/4

表 2 在 35 °C 7 种材质物品表面上附着 MRSA 的生存状况(生存标本数 / 试验标本数, n)

材料	8 h	干燥后即刻	干燥后 1 d	干燥后 2 d	干燥后 3 d	干燥后 7 d	干燥后 15 d	干燥后 30 d
棉布	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4
PVC	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4
橡胶	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4	0/4
铜	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
不锈钢	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4
铬合金	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	0/4	0/4
银	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	2/4	0/4

天后有 25% MRSA 存活, 而干燥后第 30 天全死亡; 不锈钢片上附着 MRSA 在干燥后第 15 天有 25% MRSA 存活, 而干燥后第 30 天全死亡。银片上附着 MRSA 在干燥后第 30 天全死亡。棉布片上附着 MRSA 在 35 °C 与 20 °C 培养箱的结果相同。

### 3 讨 论

MRSA 主要通过接触进行播散, 即易感人群从携带者或感染者处获得 MRSA。医院感染 MRSA 多由医护人员手携带导致其在患者→医护人员→患者之间传播, 引起暴发流行<sup>[2]</sup>, 因此医患之间的传播必须从频繁接触的环境及物品表面上的材质上进行效果监测, 为临床提供科学依据。

目前国内外研究者报告细菌在金属类与非金属类材质表面的生存性探讨较少<sup>[3]</sup>, 因此笔者针对 2 种温度下 7 种不同材质物品表面附着 MRSA 生存性进行探讨。据报道 MRSA 在非金属材料表面的生存周期是 3~38 周<sup>[4-5]</sup>。温度为 20~25 °C 时 MRSA 在棉布表面的生存期是 3~11 周<sup>[6-7]</sup>。本次研究发现: 棉布上附着的 MRSA 在 20 °C 培养箱与 35 °C 培养箱均可生存近 15 d; 铜片上附着的 MRSA 无论在 35 °C 培养箱还是 20 °C 培养箱里, 均在附着后 8 h 内存活, 但干燥后立即灭亡; PVC、橡胶上附着的 MRSA 在 20 °C 培养箱里可生存 30 d 以上, 而在 35 °C 培养箱可生存近 15 d; 铬合金上附着的 MRSA 在 20 °C 培养箱里可生存近 15 d, 而在 35 °C 培养箱里可生存近 7 d; 不

锈钢上附着的 MRSA 在 20 °C 培养箱里可生存 30 d 以上, 而在 35 °C 培养箱里可生存 15 d 以上; 银上附着的 MRSA 无论在 20 °C 还是 35 °C 培养箱里, 均生存 15 d 左右。

本研究结果表明, 铜具有杀死 MRSA 作用, 铜片上附着 MRSA 干燥后即刻在 20 °C 与 35 °C 培养箱里均死亡。但银片上附着 MRSA 无论在 20 °C 还是 35 °C 培养箱里, 均生存 15 d 左右, 因此银材质物品上 MRSA 要 30 d 才杀死, 这与以往部分文献<sup>[8-9]</sup>研究结果存在出入。有研究指出, 银系抗菌材料在较低含量下也能杀死 650 多种包括至少 12 种多重耐药菌在内的人体致病微生物<sup>[10-11]</sup>, 这可能与本研究观察时间及菌种浓度有关。

研究表明, 铜具有杀细菌作用<sup>[12]</sup>, 铜在有水的条件下生成 Cu<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 为重金属阳离子, 通过细胞膜到达细胞内部, 能使某些酶变性, 从而破坏它们的新陈代谢, 杀死微生物<sup>[13-15]</sup>。在 7 种不同材质物品表面上 2 种不同温度检测发现铜对 MRSA 的抑菌作用最强。本研究根据 MRSA 附着在不同材质表面存活期不同, 可以考虑医务人员频繁接触的物品表面选择具有抗菌效果的材质, 更有利于切断传播途径, 从而更有效控制医院内的传播, 保护易感人群。

### 参 考 文 献

[1] MATOUSKOVA I, JANOUT V. Current Knowledge of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and communi-

- ty-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2008, 152(2):192-202.
- [2] 吴晓松,徐燕,陈越英,等. 医院感染致病菌 MRSA 消毒抗性评估[J]. *中国消毒学杂志*, 2011, 28(3):312-314.
- [3] 黄亚兰,杨春光,杨柯,等. 抗菌不锈钢外科手术器械的研发[J]. *中国医疗设备*, 2017, 32(1):10-13.
- [4] 沈元,肖勇,樊玲芳,等. 甲氧西林金黄色葡萄球菌对消毒剂抗性的观察[J]. *中国消毒学杂志*, 2008, 25(5):487.
- [5] 张丹,任玲,杨柯,等. 316L-Cu 抗菌不锈钢植体中 Cu 离子的抗菌活性[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(25):4028-4032.
- [6] FARR A M, ADEN B, WEISS D, et al. Trends in hospitalization for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in New York City, 1997 - 2006: data from New York State's Statewide Planning and Research Cooperative System[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2012, 33(7):725-731.
- [7] MICHELS H T, NOYCE J O, KEEVIL C W. Effect of temperature and Humidity on the efficacy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* challenged antimicrobial materials containing silver and copper[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2009, 49:191-195.
- [8] 于亚楠,姚天明,孟思好,等. 医用金属无机抗菌材料研究进展[J]. *临床军医杂志*, 2017, 45(7):768-770.
- [9] LOKINA S, STEPHEN A, KAVIYARASAN V, et al. Cytotoxicity and antimicrobial activities of green synthesized silver nanoparticles[J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 76:256-263.
- [10] 李栋,李曼玉,郭亚萍,杨志,等. 一种医用消毒超声耦合剂对五种多重耐药菌的杀灭效果[J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 4(17):355-358.
- [11] 周发为. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)临床分离株耐药性和致病性研究[J]. *航空航天医学杂志*, 2014, 25(9):1233-1234.
- [12] 刘恩玲,王晓峨,陆萍超,等. 壳聚糖-铜杀菌剂的合成工艺及其 Cu<sup>2+</sup> 的解吸性能研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(16):5018-5019.
- [13] 谢跃,魏莲花, MRSA 的分子生物学检测方法研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(7):867-870.
- [14] BIANCO A, COSCARELLIP, NOBILE C G, et al. The reduction of visk in central lion-associated blood stream infections: know ledge, attitudes and evidence-based practices in health care workers[J]. *Am J Infect Control*, 2013, 41(2):107-112.
- [15] RODRIGUEZ-VILLALOBOS H, GLUPCZYNSKI Y. Emergence and dis-semination of multi-resistant Gram negative Enterobacteriaceae; lessons to be learnt from local and national surveillance programs in Belgium[J]. *Acta Clin Belg*, 2015, 70(1):1-10.

(收稿日期:2018-12-02 修回日期:2019-02-17)

(上接第 1314 页)

## 参考文献

- [1] 郭祖德,陈英耀,耿劲松,等. CT、MRI 检查的等候现状分析[J]. *中国卫生经济*, 2016, 35(8):58-60.
- [2] HULME A, GAN A, BEENA M, et al. Is patient satisfaction in ENT outpatient department influenced by clinic waiting time? [J]. *Int J Surg*, 2013, 11(8):639-640.
- [3] 杨军,郑君惠,徐焕文,等. 某三甲医院 MR 室预约、候诊时间的现况调查及其对满意度的影响[J]. *现代医院*, 2015, 15(12):126-127.
- [4] 翟凤仪,杨旭峰,张朝晖,等. 缩短非急诊 CT 检查患者候诊时间的实践[J]. *现代临床护理*, 2016, 15(10):67-71.
- [5] 李小花,江静,叶冠龙,等. 门诊团队服务模式构建及评价[J]. *中国卫生质量管理*, 2017, 24(5):67-69.
- [6] XIE Z, OR C. Associations between waiting times, service times, and patient satisfaction in an endocrinology outpatient department: a time study and questionnaire survey [J]. *Inquiry*, 2017, 54(10):004695801773952.
- [7] OCHE M O, ADAMU H. Determinants of patient waiting time in the general outpatient department of a tertiary health institution in north western nigeria[J]. *Ann Med Health Sci Res*, 2013, 3(4):588-592.
- [8] 范春梅,李华强,贾建民,等. 等待时间、感知经济损失与服务满意度之间的关系研究——以出租车司机加气排队为例[J]. *管理评论*, 2014, 26(11):99-105.
- [9] 邓雅梅,黄健威,陈永露. 影像医学检查中患者隐私保护的思考[J]. *中国医学伦理学*, 2017, 30(11):1354-1356.
- [10] 潘传德. 医疗检查合理性及其相关问题研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2010.

(收稿日期:2018-12-16 修回日期:2019-02-02)