

DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-9638. 2013. 01. 004

· 论 著 ·

平板接种法监测牙科综合治疗台水路菌落总数的可行性研究

赵 红, 苏 静, 刘晓勇, 贾淑玲

(首都医科大学附属北京口腔医院, 北京 100050)

[摘 要] **目的** 研究平板接种法监测牙科综合治疗台水路(DUWLs)菌落总数的可行性。**方法** 采集某院 DUWLs 系统 50 份水样标本, 分别采用平板接种法和国家生活饮用水标准检验方法中规定的倾注平板法进行培养, 比较两种方法的检测结果。**结果** 倾注培养法和平板接种法检测 DUWLs 中菌落计数, 差异无统计学意义($T = 315.50, P > 0.05$); 检测菌落数的合格率分别为 58.00% 和 52.00%, 差异亦无统计学意义($\chi^2 = 0.57, P > 0.05$)。**结论** 平板接种法与国标倾注平板法检测 DUWLs 系统中的菌落总数无差异。平板接种法操作简单, 易于细菌的初步鉴定, 日常水质监测中可替代国标倾注平板法。

[关 键 词] 平板接种法; 倾注平板法; 牙科综合治疗台水路; 菌落数; 医院感染; 水质监测

[中图分类号] R181.3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2013)01-0016-04

Feasibility of plate-streaking method in monitoring total bacteria counts in dental unit waterlines

ZHAO Hong, SU Jing, LIU Xiao-yong, JIA Shu-ling (Beijing Stomatological Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective** To study the feasibility of plate-streaking method in monitoring total bacteria counts in dental unit waterlines (DUWLs). **Methods** 50 water samples from DUWLs were taken and cultured by plate-streaking method and poured-plate method, colony counts of two cultured methods was compared. **Results** The difference in colony counts of DUWLs between poured-plate method and plate-streaking method was not significant ($T = 315.50, P > 0.05$); the qualified rate of water was 58.00% and 52.00% respectively, there was no statistical difference in the qualified rate of water detected between two methods ($\chi^2 = 0.57, P > 0.05$). **Conclusion** The total colony counts detected by plate-streaking method and poured-plate method is not different, plate-streaking method is easy to be performed, it can instead poured-plate method to monitor the colony counts in DUWLs.

[Key words] plate-streaking method; poured-plate method; dental unit waterline; colony count; healthcare-associated infection; water quality monitoring

[Chin Infect Control, 2013, 12(1): 16-18, 23]

牙科综合治疗台以及与其连接的牙科手机、三用枪等外接设备构成了口腔治疗的基本单位。牙科综合治疗台内部管道系统构造精密、复杂, 难以清洁与灭菌, 为管路内病原微生物定植提供了条件。牙科手机、三用枪由于出水质量不达标可造成医院感染, 是口腔治疗中特有的问题。研究表明^[1], 由于牙科手机在停止转动的瞬间, 机头部位的空腔呈负压状态, 可导致患者口腔内的唾液、血液等回吸入手机

管腔内部, 污染水路。当再次使用时, 回吸物可随喷出的水流进入下一位患者的口中, 引起交叉感染。文献^[2-3]表明, 在未经处理的牙科综合治疗台水路(dental unit waterlines, DUWLs)中, 每毫升水细菌含量可高达数万个。因此, 对 DUWLs 细菌含量进行监测, 是预防牙科医院感染的重要环节。本研究旨在调查本院 DUWLs 的污染情况, 比较不同检测方法监测菌落总数的可行性, 探讨适用于日常水

[收稿日期] 2012-04-02

[作者简介] 赵红(1975-), 女(汉族), 北京市人, 主管检验师, 主要从事医院感染管理研究。

[通讯作者] 苏静 E-mail: sujing327@126.com

路监测的方法。

1 对象与方法

1.1 研究对象 随机检测本院牙体牙髓科、老年口腔科、儿童口腔科等牙科综合治疗台储水罐和不同管路的出水口,如牙科手机、超声洁治器、三用枪等 50 处水样。

1.2 主要器材 营养琼脂培养基,购自郑州博赛生物技术股份有限公司;一次性无菌平皿,购自江苏康健医疗用品有限公司;含蛋白胨 10 g、牛肉膏粉 3 g、氯化钠 5 g、琼脂 15 g 的营养琼脂,购自北京奥博星生物技术有限责任公司;蒸馏水 1 000 mL;温度计、移液器、恒温培养箱等(购自重庆四达实验仪器有限公司)。将营养琼脂溶解于蒸馏水中,加热溶解,调 pH 至 7.2~7.4,于 121℃ 压力蒸汽灭菌 20 min 备用。

1.3 采样方法 随机选取 8 处牙科综合治疗台,于下午 14:00—15:00 开诊时采样;严格执行无菌操作,水路末端出水口及储水罐罐口周围预先用乙醇棉球消毒,之后将水样 10 mL 注入到带帽无菌采集管内,贴上标签后立即送实验室检测。

1.4 检测方法 分为倾注平板法和平板接种法,前

者按照国家生活饮用水标准检验方法(GB/T5750.12-2006)进行操作,并计数菌落总数^[4];后者先将营养琼脂培养基在接种前于温箱中预温 30 min,用无菌吸管吸取 0.1 mL 待检样本于营养琼脂培养基(10 倍稀释),每一样本接种 2 个普通培养基,用无菌接种环涂匀,待平皿干燥后,置(36±1)℃ 温箱中培养 48 h,计数菌落总数。菌落总数(CFU/mL) = 平均菌落数×稀释倍数。

1.5 评价标准^[4] 菌落总数<100 CFU/mL 为合格。

1.6 统计方法 用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析。采用配对样本比较秩和检验和配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

倾注培养法与平板接种法检测牙科综合治疗台水样中细菌菌落总数,结果见表 1。两种方法检测结果差异无统计学意义($T=315.50, P>0.05$)。两种检测方法检测水路质量合格率分别为 58.00% 和 52.00%,两组比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.57, P>0.05$),详见表 2。

表 1 两种方法检测 50 份水样中的细菌菌落总数(CFU/mL)

Table 1 The total colony counts in 50 water samples from DUWLs monitored by poured-plate and plate-streaking method(CFU/mL)

Sample No.	Poured-plate method	Plate-streaking method	Sample No.	Poured-plate method	Plate-streaking method
1	25	30	26	88	110
2	8	10	27	216	220
3	40	50	28	98	120
4	233	240	29	108	90
5	75	80	30	91	110
6	1	0	31	59	70
7	40	40	32	35	40
8	5	10	33	10	10
9	29	30	34	25	20
10	0	0	35	85	110
11	14	10	36	50	50
12	320	340	37	89	100
13	14	20	38	108	90
14	25	30	39	163	160
15	250	260	40	80	80
16	455	470	41	109	110
17	2	0	42	70	50
18	Incalculable	Incalculable	43	241	250
19	1	0	44	50	50
20	325	300	45	69	90
21	Incalculable	Incalculable	46	98	90
22	209	200	47	298	250
23	125	140	48	185	200
24	108	130	49	390	360
25	102	130	50	125	110

表 2 两种方法检测 50 份水样的合格情况(份)

Table 2 Qualified rate of 50 water samples from DUWLs detected by poured-plate and plate-streaking method (No. of samples)

Plate-streaking method	Poured-plate method		Total
	Qualified sample	Unqualified sample	
Qualified sample	24	2	26
Unqualified sample	5	19	24
Total	29	21	50

3 讨论

微生物污染 DUWLs 系统问题越来越受到卫生医疗机构的关注,未经处理的 DUWLs 系统中存在大量细菌,包括假单胞菌属、军团菌属、分枝杆菌属、克雷伯菌属和埃希菌属等。污染的水经牙科手机、三用枪、洁治器喷出,形成水雾弥散到诊室空气中,使医务人员和患者都面临被病原微生物污染的可能^[5]。本组研究结果显示,DUWLs、储水罐均存在不同程度的污染,倾注培养法与平板接种法合格率分别为 58.00%、52.00%,均不高;以不经常更换的储水罐污染最严重,其中两处水罐中水菌落数多,不可计数。从储水罐中采集的水样含菌量较高,因为储水罐流动性不好,易滋生细菌;而从流动的 DUWLs 中采集的水样含菌量相对较少。由于实验条件所限,从储水罐采集水样的样本量较少,依据现有数据不能比较细菌污染量不同时两种方法的差异,若能适当增加样本量,可弥补此不足。

国内检测牙科水路系统中菌落总数的方法,多参照国标(GB/T5750.12-2006)生活饮用水标准检验方法,即倾注平板法。采用营养琼脂培养基,培养温度为(36±1)℃,培养 48 h。美国环境保护局(Environmental Protection Agency, EPA)推荐的标准检测方法并不局限于某一种培养基和某一种方法,而要求各实验室根据自己的实验条件选择,建立自己的数据库系统,以便保持一致性。目前,我国尚未明确规范牙科用水标准,国内对牙科水路菌落计数监测大都直接参照美国 EPA 规定的饮用水标准(<500 CFU/mL)或美国牙科协会(American Dental Association, ADA)推荐的标准(<200 CFU/mL)^[6-7]。本研究未照搬美国标准,而是参考国家生活饮用水标准^[4],将监测菌落总数的参考值定为<100 CFU/mL。

国家生活饮用水标准检验方法^[4]表明,菌落总

数可作为评价水源清洁程度和考核净化、消毒效果的指标。我国国标规定的常规方法为倾注平板法,此方法步骤较繁琐,培养基需人工配制并提前使用压力蒸汽灭菌,倾倒琼脂时要控制温度,中间环节较多,不易标准化操作。采用此方法检测时,菌落被琼脂包围,生长较慢、较小,不易于菌种分离鉴定。而本研究采用的平板接种法步骤简单,菌落生长在培养基表面,易于进一步鉴定。比较两种方法菌落计数及菌落总数合格率的差异,均无统计学意义($P>0.05$)。因此,平板接种法可作为 DUWLs 水质日常监测的替代方法。

除普通营养琼脂培养基外,R2A 培养基日益被更多的实验室采用。R2A 培养基培养法已成为美国 EPA 推荐的实验室饮用水检测标准方法之一。由于饮用水中的贫营养环境有别于传统培养基提供的富营养环境,大多数细菌不能生长,致使活菌计数结果在普通营养琼脂培养基上偏低。R2A 培养基营养成分较普通营养琼脂广泛,能促进受损的细菌恢复再生长;在低温(20℃~28℃)条件下培养 7 d,获得的菌落数常高于普通营养琼脂,使得细菌漏检率大大降低^[8-10]。此外,ATP 生物荧光快速检测技术作为一种新的检测技术,因操作简便、测定快速的特点,使菌落总数的现场监测成为可能^[11-12]。

综上所述,水中菌落总数的测定是水质监测的一项重要指标,其直接反映水的细菌污染程度。现阶段,由于我国对于 DUWLs 的监测方法和标准还未明确规定,一般参照国家生活饮用水标准检验方法进行监测。相对于倾注平板法,平板接种法操作简便,成本低廉,且效果可靠,可作为 DUWLs 菌落总数的常规监测方法。

[参考文献]

- [1] 李六亿,刘玉村.医院感染管理学[M].北京:北京大学医学出版社,2010:197-198.
- [2] 伊大海,王炳华,冯言,等.《医疗机构口腔诊疗器械消毒技术操作规范》解读[J].中国实用医药,2007,2(6):119-120.
- [3] 李罡.水源在牙科医源性交叉感染中的作用[J].牙体牙髓牙周病杂志,2002,12(7):393-396.
- [4] 中华人民共和国卫生部,国家标准化委员会. GB/T5750.12-2006 生活饮用水卫生标准生活饮用水标准检验方法[S].北京,2006:1-13.
- [5] 金爱琼,常香远,宁克勤,等.牙科水道细菌污染状况的调查研究[J].上海护理,2007,7(5):19-21.

生职业暴露后得到及时治疗和系统的随访,降低血源性传播疾病感染风险。

医务人员锐器伤发生的场地主要集中在普通病房与手术室,引起锐器伤的主要操作环节是加药、医疗废物处置、拔除动(静)脉针、手术缝合,造成锐器伤的医疗器具主要是一次性注射器、头皮钢针、手术缝针。提示导致锐器伤的原因与工作场所安全管理缺失、安全注射措施与降低手术风险措施落实不到位等有关。根据《血源性病原体职业接触防护导则》^[5],血源性传染病的控制首先是消除风险,即:使用无针系统静脉注射能将针刺伤害降低 78.7%;其次是工程控制,使用锐器容器可将伤害减少 2/3、安全针装置可将伤害减少 23%~100%,平均能减少 71%;制订职业接触风险控制计划,移走所有的不安全装置,持续培训安全装置的使用方法等管理措施亦可有效降低锐器伤。因此,建议医疗机构遵循血源性传染病控制的优先等级原则,加强安全技术的应用和合理注射;在工作场所持续、充分地提供安全注射装置和容器;开展有效、安全和环境友好的锐器

废物管理;制定降低手术职业接触风险措施并监督执行;制定危险告知警示标识;开展职业防护知识培训,注重实践操作训练,规范医务人员血源性病原体职业暴露的预防与控制行为,将血源性职业暴露伤害风险降至最低。

[参 考 文 献]

- [1] 谢红珍,聂军,潘绍山,等. 护士职业性血源性传播疾病感染危险的调查分析[J]. 实用护理杂志,2003,19(9):56-57.
 - [2] 索瑶,范珊红,高晓东. 陕西省 11 所医院医务人员锐器伤调查与分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(12):2505-2507.
 - [3] Beekmann S E, Vaughn T E, McCoy K D, *et al.* Hospital borne pathogens programs: program characteristics and blood and body fluid exposure rates[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*,2001,22(2):73-82.
 - [4] 韦志福,覃金爱,黄春芳,等. 手术相关人员血源性病原体职业暴露的调查分析[J]. 中国感染控制杂志,2009,8(3):178-180.
 - [5] 中华人民共和国卫生部. 血源性病原体职业接触防护导则[S]. 卫通(2009)4号. 北京,2009.
-
- (上接第 18 页)
- [6] Berger P, Glick E, Hurr P, *et al.* Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water-criteria and procedures quality assurance[M]. 15th ed. Ohio:US EPA, Office of Water, 2005:87-104.
 - [7] No author. Dental unit waterlines: approaching the year 2000. ADA Council on Scientific Affairs[J]. *J Am Dent Assoc*, 1999,130(11):1653-1664.
 - [8] Reasoner D J, Geldreich E E. A new medium for the enumeration and subculture bacteria from potable water[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1985,49(1):1-7.
 - [9] Karpay R I, Plamondon T J, Mills S E, *et al.* Validation of an in-office dental unit water monitoring technique[J]. *J Am Dent Assoc*, 1998,129(2):207-211.
 - [10] Smith R S, Pineiro S A, Singh R, *et al.* Discrepancies in bacterial recovery from dental unit samples on R2A medium and a commercial sampling device[J]. *Curr Microbiol*, 2004,48(4):243-246.
 - [11] 吴慧清,李程思,张菊梅,等. ATP 生物发光法饮用水中细菌总数快速测定方法研究[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(9):1975-1978.
 - [12] 余诗娃,许晨耘,柯雅娟,等. 应用三磷酸腺苷生物荧光法对手术体位垫表面细菌含量快速检测[J]. 中国消毒学杂志,2010,27(3):271-272.