

广州市小学厕所环境金黄色葡萄球菌污染现状

张文萃¹, 梁健平², 林嘉玲¹, 王莹莹¹, 何穗平¹, 李荧¹, 刘宁¹, 姚振江¹

1. 广东药科大学公共卫生学院, 广州 510310; 2. 广州市中小学卫生健康促进中心

【摘要】目的 了解广州市小学厕所环境金黄色葡萄球菌(简称金葡菌)污染率、耐药情况及其毒素基因检出情况,为学校卫生监督工作提供科学依据。**方法** 2016 年 5—7 月,采用多阶段分层整群抽样方法抽取广州市 8 所小学,对厕所物体表面进行采样,通过传统实验室方法分离鉴定出金葡菌,耐药性的检测应用纸片扩散法,毒素基因的检测使用 PCR 技术。**结果** 小学厕所环境中金葡菌和甲氧西林耐药金葡菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的污染率分别为 6.25% 和 3.13%;不同采样部位的金葡菌污染率差异有统计学意义($\chi^2 = 15.15, P < 0.01$),其中地面的污染率最高(15.00%)。金葡菌对青霉素的耐药率为 100.00%,对替考拉宁、红霉素、利福平、克林霉素、四环素和利奈唑胺的耐药率均不少于 75.00%,多重耐药率为 85.00%。金葡菌的毒素基因 *sea*、*tst*、*etb*、*eta*、*seb*、*pvl* 的检出率分别是 50.00%, 30.00%, 15.00%, 10.00%, 10.00%, 5.00%。**结论** 广州市小学厕所环境金葡菌的污染率较低,但 MRSA 污染率较高,且金葡菌的多重耐药率及毒素基因检出率较高。

【关键词】 葡萄球菌,金黄色;环境污染;卫生保健质量;学生保健服务

【中图分类号】 R 123.3 R 378.1⁺1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2020)02-0295-03

Contamination state of *Staphylococcus aureus* from toilets of primary schools in Guangzhou/ZHANG Wencui*, LIANG Jianping, LIN Jialing, WANG Yingying, HE Suiping, LI Ying, LIU Ning, YAO Zhenjiang. * School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou(510310), China

【Abstract】Objective To investigate the contamination, antimicrobial resistance and virulence genes of *S. aureus* from toilets of primary schools in Guangzhou. **Methods** The surface samples of toilets were collected from eight primary schools in Guangzhou from May to July 2016. The standard microbiological assays, disk diffusion methods and PCR technique were used for the isolation and identification, antimicrobial resistance and virulence genes of *S. aureus*. **Results** The contamination rate of *S. aureus* and MRSA was 6.25% and 3.13%, respectively. There was significant difference in the contamination rate of *S. aureus* among different sampling sites ($\chi^2 = 15.15, P < 0.01$) and the highest contamination rate was on the ground (15.00%). The most predominant antibiotic for *S. aureus* was penicillin (100.00%) and the proportions of resistant to teicoplanin, erythromycin, rifampicin, clindamycin and linezolid were more than 75.00%. The multi-drug resistant rate of *S. aureus* was 85.00%. The detection rate of virulence genes of *S. aureus* was *sea* (50.00%), *tst* (30.00%), *etb* (15.00%), *eta* (10.00%), *seb* (10.00%) and *pvl* (5.00%), respectively. **Conclusion** The contamination rate of *S. aureus* from toilets of primary schools in Guangzhou is in a lower level among similar researches. However, the contamination of MRSA is serious, which accounts for half of *S. aureus*. In addition, *S. aureus* isolates show high multi-drug resistant rate and high detection rate of virulence genes.

【Key words】 *Staphylococcus aureus*; Environmental pollution; Quality of health care; Student health services

金黄色葡萄球菌(简称金葡菌),是一种常见的致病菌,人的皮肤和鼻粘膜是较为常见定植部位^[1]。金葡菌可引起多种炎症,常发生在心脏、皮肤和软组织、骨关节等多部位^[2],其中细菌毒素发挥着重要作用^[3]。由于抗生素的不规范使用,金葡菌对很多抗生素表现出耐药性。20 世纪 60 年代,Jevons^[4]在英国的

5 440 株临床标本中首先报告了 3 株甲氧西林耐药金葡菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)。近年来,MRSA 成为医疗机构和社区相关感染的主要原因^[1]。

学校是师生学习和活动高度聚集的重要场所,师生与学校环境接触机会较多。有报告指出,拥挤或有皮肤接触的地方可使 MRSA 携带风险增加^[5],因此,学校在一定程度上为金葡菌和 MRSA 提供传播的机会。有研究报道,公共厕所环境中存在多重耐药葡萄球菌^[6]。同时,学校厕所的卫生状况与师生的身体健康密切相关,对于预防疾病的传播具有重要的公共卫生意义。本研究通过对小学生接触较频繁的物体表

【基金项目】 广东省科技计划项目(2014A020213013)。

【作者简介】 张文萃(1994—),女,河北张家口人,在读硕士,主要研究方向为分子流行病学。

【通讯作者】 姚振江, E-mail: zhjyao2001@yahoo.com。

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2020.02.036

面进行采样,旨在探究广州市小学厕所环境金葡萄菌的污染情况,为学校卫生监督工作提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 对象 于 2016 年 5—7 月通过多阶段分层整群抽样的方法抽取广州市 8 所小学(首先将广州市的小学分为城区和郊区两层,然后分别抽取 3 个和 1 个行政区,再从每个行政区内随机抽取 2 所小学)。取得每所学校负责人知情同意后,采集学生接触较频繁的厕所物体表面样本。共采集 40 间厕所,每间厕所采样部位及数目分别为:地面 1 个、门把手 1 个、水龙头 2 个、灯开关 2 个、冲水按钮 2 个。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 在面积为 10 cm×10 cm 的物体表面,用无菌生理盐水浸泡过的棉签进行涂抹式采样,对于门把手、水龙头等小型不规则物体表面直接涂抹采样全部。弃去手部接触过的棉签柄部后,置入装有 7.5%氯化钠肉汤的采样管中。采样人员做好标记,于 6 h 内将采样管送回实验室。

1.2.2 菌株的分离鉴定 样本通过增菌、分解甘露醇试验、革兰染色、触酶、溶血、血浆凝固酶和耐热核酸酶试验^[7-8]后,均呈阳性的菌落判定为金葡萄菌。

1.2.3 药敏试验 根据 2015 年国际 CLSI 标准^[9],采用 Kirby-Bauer 纸片扩散法对金葡萄菌进行 12 种常见抗生素的耐药性检测。若头孢西丁耐药和(或)*mecA* 基因阳性,则鉴定为 MRSA;反之,则判定为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(*methicillin-susceptible staphylococcus aureus*, MSSA)。多重耐药菌株(*multi-drug resistant*, MDR)定义为对至少 3 种抗生素耐药^[10]。

1.2.4 基因的 PCR 检测 采用 SDS 法^[11]提取菌株 DNA,利用 PCR 技术^[7]检测 *mecA* 基因以及毒素基

因,包括中毒性休克综合征毒素(*tst*)、肠毒素(*sea* 和 *seb*)、杀白细胞毒素(*pvl*)、剥脱毒素(*eta* 和 *etb*)。

1.3 统计分析 运用 EpiData 3.1 和 Stata 15.1 软件建立数据库和进行数据分析。采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法进行率的比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 金葡萄菌污染情况 在 8 所小学 320 份厕所环境样品中,共分离鉴定出金葡萄菌 20 株,污染率为 6.25%(20 份);其中有 10 株 MRSA,污染率为 3.13%(10 份);金葡萄菌中 MRSA 占 50%。地面、灯开关、水龙头、冲水按钮、门把手不同采样部位的金葡萄菌的污染率分别为 15.00%(6/40),0,11.25%(9/80),5.00%(4/80),2.50%(1/40),差异有统计学意义($\chi^2=15.15,P<0.01$),其中污染率最高的是地面。不同采样部位的 MRSA 的污染率(2.50%,0,7.50%,2.50%,2.50%)差异无统计学意义($P=0.08$)。

2.2 金葡萄菌耐药情况 耐药结果显示,金葡萄菌对青霉素的耐药率最高为 100.00%,其次是替考拉宁、红霉素、利福平、四环素、克林霉素、利奈唑胺均不少于 75.00%,而头孢西丁、氯霉素、莫西沙星、复方新诺明、庆大霉素均不超过 40.00%。MRSA 和 MSSA 对头孢西丁的耐药率(80.00%和 0)差异有统计学意义($P<0.01$)。85.00%的金黄色葡萄球菌是多重耐药菌株,而 MRSA 和 MSSA 的多重耐药率(100.00%,70.00%)差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.3 金葡萄菌毒素基因检出情况 金葡萄菌的不同毒素基因检出率为 *sea* (50.00%)、*tst* (30.00%)、*etb* (15.00%)、*eta* (10.00%)、*seb* (10.00%)、*pvl* (5.00%)。MRSA 和 MSSA 的 *sea* 检出率(80.00%,20.00%)差异有统计学意义($P=0.02$)。见表 2。

表 1 广州市小学厕所环境金葡萄菌 MRSA 和 MSSA 耐药率

指标	样本数	头孢西丁	青霉素	利奈唑胺	庆大霉素	替考拉宁	红霉素	复方新诺明
金葡萄菌	20	8(40.00)	20(100.00)	15(75.00)	2(10.00)	17(85.00)	17(85.00)	3(15.00)
MRSA	10	8(80.00)**	10(100.00)	9(90.00)	0	9(90.00)	10(100.00)	1(10.00)
MSSA	10	0	10(100.00)	6(60.00)	2(20.00)	8(80.00)	7(70.00)	2(20.00)

指标	样本数	莫西沙星	利福平	氯霉素	四环素	克林霉素	MDR
金葡萄菌	20	5(25.00)	17(85.00)	5(25.00)	16(80.00)	16(80.00)	17(85.00)
MRSA	10	3(30.00)	10(100.00)	3(30.00)	10(100.00)	9(90.00)	10(100.00)
MSSA	10	2(20.00)	7(70.00)	2(20.00)	6(60.00)	7(70.00)	7(70.00)

注:()内数字为耐药率/%;与 MSSA 的比较,使用 Fisher 确切概率法,** $P<0.01$ 。

表 2 小学厕所环境金葡萄菌 MRSA 和 MSSA 毒素基因检出率

指标	样本数	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>tst</i>	<i>pvl</i>	<i>sea</i>	<i>seb</i>
金葡萄菌	20	2(10.00)	3(15.00)	6(30.00)	1(5.00)	10(50.00)	2(10.00)
MRSA	10	1(10.00)	1(10.00)	4(40.00)	0	8(80.00)*	2(20.00)
MSSA	10	1(10.00)	2(20.00)	2(20.00)	1(10.00)	2(20.00)	0

注:()内数字为检出率/%;与 MSSA 的比较,使用 Fisher 确切概率法,* $P<0.05$ 。

3 讨论

研究发现,小学厕所环境金葡菌污染率为 6.25%,低于美国某大学厕所环境(8.33%)^[12]和肯尼亚内罗毕县中学厕所及课室门把手(19.93%)^[13]以及美国某托幼机构环境(8.41%)^[14];MRSA 污染率为 3.13%,与美国某大学厕所环境(2.78%)^[12]和肯尼亚中学厕所及课室门把手(2.94%)^[13]相近,但高于美国某托幼机构环境(1.40%)^[14]。可见广州小学厕所环境金葡菌的污染率较低,但 MRSA 污染率较高。值得注意的是,不同采样部位的金葡菌污染率不同,其中厕所地面和水龙头的金葡菌污染率较高。提示学校应对以上部位加大清洁和消毒力度。

金葡菌对青霉素、替考拉宁、红霉素、利福平、四环素、克林霉素、利奈唑胺的耐药率均不少于 75.00%,MRSA 对头孢西丁的耐药率高于 MSSA。与其他研究相比,肯尼亚内罗毕县中学厕所及课室门把手金葡菌对红霉素、四环素、庆大霉素均敏感(耐药率为 0)^[13];美国某托幼机构环境金葡菌对红霉素(18.18%)、克林霉素(4.55%)的耐药率均低于本研究,而对四环素敏感^[14]。金葡菌的多重耐药率为 85.00%,高于美国某大学校园环境(35.29%)^[12]。提示广州小学厕所环境金葡菌的耐药现象严重,应合理使用抗生素或消毒剂,改善消毒措施,避免菌株出现耐药。

研究发现,金葡菌携带一定数量的毒素基因 *sea*、*seb*、*tst*、*eta*、*etb* 和 *pvl*。其他环境的研究显示,广州机场环境表面金葡菌的毒素基因 *sea* (16.85%)、*seb* (7.87%) 的检出率^[15]均低于本研究,且未检出 *eta*、*etb*、*pvl*;美国非医院环境金葡菌的 *pvl* 检出率为 4.17%^[16],与本研究接近。此外,MRSA 的 *sea* 检出率高于 MSSA,与王俊瑞等^[17]研究结果一致。提示厕所环境污染的金葡菌的毒素基因检出率较高,存在一定的致病能力,应引起足够的重视。

综上所述,广州市小学厕所门把手、水龙头、地面、冲水按钮等频繁接触的物体表面金葡菌的污染率较低,但 MRSA 污染严重。金葡菌的多重耐药率高达 85%,同时其毒素基因检出率较高。相关部门应采取必要措施,促进学校厕所卫生安全。

4 参考文献

- [1] MATAZIS N, PUNG H P, ABDUL R A R, et al. A persistent antimicrobial resistance pattern and limited methicillin-resistance-associated genotype in a short-term *Staphylococcus aureus* carriage isolated from a student population[J]. J Infect Public Health, 2017, 10(2): 156-164.
- [2] TONG S Y, DAVIS J S, EICHENBERGER E, et al. *Staphylococcus au-*

- reus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management[J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3): 603-661.
- [3] LOWY F D. *Staphylococcus aureus* infections[J]. N Engl J Med, 1998, 339(8): 520-532.
- [4] JEVONS M P. "Celbenin"-resistant *Staphylococci*[J]. Br Med J, 1961, 1(5219): 124-125.
- [5] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [EB/OL]. [2019-06-26]. <https://www.cdc.gov/mrsa/community/index.html>.
- [6] MKRTCHYAN H V, RUSSELL C A, WANG N, et al. Could public restrooms be an environment for bacterial resistomes? [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54223.
- [7] ZHOU F, WANG Y. Characteristics of antibiotic resistance of airborne *Staphylococcus* isolated from metro stations [J]. Int J Environ Res Public Health, 2013, 10(6): 2412-2426.
- [8] PENG Y, OU Q, LIN D, et al. Metro system in Guangzhou as a hazardous reservoir of methicillin-resistant *Staphylococci*: findings from a point-prevalence molecular epidemiologic study [J]. Sci Rep, 2015, 5: 16087. DOI: 10.1038/srep16087.
- [9] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 26th ed [J]. Clin Laborat Stand Inst, 2016, 36(1): M100S.
- [10] MAGIORAKOS A P, SRINIVASAN A, CAREY R B, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria; an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(3): 268-281.
- [11] 冯飞, 梁景龙, 苏丽婷, 等. 不同方法对金黄色葡萄球菌基因组 DNA 提取效果的比较 [J]. 广东农业科学, 2010, 37(10): 153-155.
- [12] THAPALIYA D, TAHA M, DALMAN M R, et al. Environmental contamination with *Staphylococcus aureus* at a large, Midwestern university campus [J]. Sci Total Environ, 2017 (599/600): 1363-1368.
- [13] MBOGORI C, MUIGAI A, KARIUKI S. Detection and characterization of methicillin resistant *staphylococcus aureus* from toilet and classroom door handles in selected secondary schools in nairobi county [J]. Open J Med Microbiol, 2013, 3(4): 248-252.
- [14] MORITZ E D, HANSON B M, KATES A E, et al. Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from employees, children, and environmental surfaces in Iowa child daycare facilities [J]. Am J Infect Control, 2015, 43(5): 482-488.
- [15] CHEN Z, HAN C, HUANG X, et al. A molecular epidemiological study of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* contamination in the airport environment [J]. Infect Drug Resist, 2018, 11: 2363-2375. DOI: 10.2147/IDR.S178584.
- [16] ROBERTS M C, SOGE O O, NO D, et al. Characterization of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* isolated from public surfaces on a university campus, student homes and local community [J]. J Appl Microbiol, 2011, 110(6): 1531-1537.
- [17] 王俊瑞, 杜小莉, 塔拉, 等. 甲氧西林耐药/敏感金黄色葡萄球菌基因分型和毒力基因检测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(1): 70-75.

收稿日期: 2019-09-04; 修回日期: 2019-12-02