

机械通气湿化罐细菌呼吸管路定植的实验研究

潘夏蓁¹, 李天然², 贾勇刚¹, 夏艳杰³, 肖花蕊³

摘要:目的 研究机械通气过程中湿化罐细菌是否会随着呼吸机气流定植到呼吸管路其他位置, 为保证人工气道安全提供依据。**方法** 随机对 30 例有创机械通气 ICU 患者的呼吸机湿化罐内的湿化水、湿化罐出口采样并送细菌培养。建立 30 个体外模拟机械通气的实验模型, 分别种植铜绿假单胞菌或鲍曼不动杆菌到湿化罐的湿化水中, 每 15 个模型种植同一种细菌, 并添加肉汤促进细菌繁殖, 在种植细菌后第 24 h、72 h、168 h 分别对湿化罐的湿化水及呼吸机管路的 Y 型管处及种菌后 168 h 距湿化罐出口 10 cm 的细菌培养为阴性。种菌后 24 h、72 h、168 h 细菌阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 湿化罐出口的细菌阳性率在种菌后 24 h 达 36.7%, 72 h 达 63.3%, 168 h 达 76.7%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而呼吸机管路的 Y 型管处及种菌后 168 h 距湿化罐出口 10 cm 的细菌培养为阴性。种菌后 72 h、168 h, 铜绿假单胞菌组在湿化罐出口的细菌浓度高于鲍曼不动杆菌组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 机械通气过程中, 湿化罐内的湿化水会存在细菌定植, 如果细菌在湿化罐内大量繁殖, 细菌可随气流定植到湿化罐出口, 不同细菌定植到湿化罐出口的量不同, 但细菌不会定植到距湿化罐出口 10 cm 以上的呼吸管路。

关键词:机械通气; 湿化罐; 冷凝水; 呼吸管路; 细菌定植; 实验研究

中图分类号:R472 **文献标识码:**A **DOI:**10.3870/j.issn.1001-4152.2022.14.053

Experimental study on colonization of humidifier reservoir bacteria in ventilator circuit during mechanical ventilation Pang Xiaozhen, Li Tianran, Jia Yonggang, Xia Yanjie, Xiao Huarui. AICU, Shenzhen Hospital of University of Hong Kong, Shenzhen 518000, China

Abstract: **Objective** To study whether humidifier reservoir bacteria would colonize other parts of the breathing circuit with the help of airflow during mechanical ventilation. **Methods** Totally, 30 ICU patients on invasive mechanical ventilation therapy were selected. Samples were collected from the patients' humidifier reservoir water, and reservoir outlet and sent for bacterial culture. Then 30 experimental models were established to simulate mechanical ventilation *in vitro*, with *Pseudomonas aeruginosa* being inoculated into humidifier reservoir water of 15 models, and *Acinetobacter baumannii* into the rest of the models. Then broth was added into each reservoir to boost bacterial reproduction. At 24 h, 72 h, and 168 h after inoculating the bacteria, samples were taken from the humidifier reservoir water and from different sites of the circuit and sent for bacterial culture. **Results** Among the 30 clinical samples, the culture positivity rate of bacteria was 46.7% in the humidifier reservoir water, and 16.7% at the reservoir outlet. Among the 30 *in vitro* experimental models, the bacteria in the humidifier reservoirs grew in large amount, and the culture positivity rate of bacteria at 24 h, 72 h, and 168 h after inoculation was not statistically significant ($P > 0.05$). The culture positivity rate of bacteria at the reservoir outlet was 36.7% at 24 h after inoculation, 63.3% at 72 h, and 76.7% at 168 h, with significant difference ($P < 0.05$). However, bacterial culture at the Y-shaped circuit and at 10 cm from the reservoir outlet 168 h after inoculation was negative. At 72 h, 168 h after inoculation, bacterial concentration at the reservoir outlet in the *Pseudomonas aeruginosa* group was significantly higher than in the *Acinetobacter baumannii* group ($P < 0.05$ for both). **Conclusion** During mechanical ventilation, there will be bacterial colonization in the humidifier reservoir water. If bacteria grow in large amount in the humidifier reservoir, they can colonize the outlet of the reservoir with the help of airflow, and the amount of bacteria colonizing the outlet of the reservoir varies by types of bacteria.

Key words: mechanical ventilation; humidifier reservoir; condensate; circuit; bacterial colonization; experimental study

有创机械通气治疗需先建立人工气道, 人工气道的存在使人体丧失了上呼吸道对吸入气的加温、湿化作用。2012 年美国呼吸照护学会建议每一例接受有创机械通气的患者使用湿化^[1]。加热加湿后的气体在呼吸管路中会产生冷凝水。朱明华等^[2]研究指出, 患者呛咳或呼出气体可将下呼吸道的细菌移行定植在冷凝水中, 而细菌可随冷凝水倒流入湿化罐引起湿化液污染, 使用第 4 天至第 7 天的湿化罐的细菌阳性

率为 31.1%~37.1%, 鲍曼不动杆菌占 28.76%, 铜绿假单胞菌占 20.35%, 与患者下呼吸道分泌物的细菌培养一致性为 54.32%。目前, 临床上普遍使用的含加热导丝的一次性呼吸机管路虽然能大大减少冷凝水的产生, 但无法完全避免, 且管路没有集水杯, 无法倾倒冷凝水^[3]。因湿化罐位于管路的低位, 护理人员在为患者翻身、吸痰等过程中, 管路中带菌的冷凝水很可能会回流到湿化罐。因此, 很多研究发现湿化罐细菌培养会出现阳性^[2,4-6]。谭杏飞等^[7]研究也认为, 呼吸管路、冷凝水和湿化罐湿化液培养结果基本一致, 以铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌为主。湿化罐内若细菌定植并不断繁殖, 细菌是否会随着呼吸机送气在管路的其它部位定植, 目前尚无明确结论。鉴

作者单位: 香港大学深圳医院 1. AICU 3. 院感科(广东 深圳, 518000);

2. 长江大学

潘夏蓁: 女, 本科, 副主任护师, 科护士长, panxz@hku-szh.org

科研项目: 广东省医学科学技术研究基金项目(A2020520)

收稿: 2022-02-11; 修回: 2022-04-20

此,本研究建立 30 个体外模拟机械通气的实验模型,探讨机械通气过程中湿化罐细菌是否会随着呼吸气流定植到呼吸管路其他位置,为保证人工气道安全提供依据。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 临床资料 选择香港大学深圳医院综合 ICU,呼吸管路为费雪派克(Fisher & Paykel)一次性双加热导丝管路,型号 RT308,管路及配套每 7 天更换,严格按气道护理常规操作。课题组征求患者及家属知情同意以及主管医生评估同意,每周一晨对 AICU 有创机械通气患者随机取样,共采集 30 例患者的样本送细菌培养。男 21 例,女 9 例;年龄 35~81 (61.53±6.97)岁。呼吸管路的使用时间为 13~160 (70.25±11.37)h;其中脑出血 6 例,颅脑损伤术后 5 例,心脏大血管术后 3 例,肝胆术后 1 例,消化道术后 1 例,感染性休克 5 例,心力衰竭 2 例,呼吸衰竭 7 例;痰培养结果阳性 23 例;明确有呼吸系统感染 16 例。

1.1.2 体外实验器材 采用德尔格(Drager)呼吸机 2 台,型号分别为 Savina 和 Evita XL。费雪派克型号 850 加湿器。恒温包(天长市皖天福康电子厂生产,规格 WTFK-3701)。费雪派克一次性呼吸机管路,型号 RT308。德尔格测试模拟肺。灭菌注射用水(广东艾希德药业有限公司生产,规格 500 mL)。

1.2 方法

1.2.1 病例采样方法 由固定的院感护士对 ICU 正进行有创机械通气治疗且使用加湿器的 30 例患者取湿化罐的水 10 mL、无菌棉拭子湿化罐出口采样送细菌培养。

1.2.2 实验方法 ①模拟机械通气模型的构建。在温度 22~24℃,湿度 40%~50%的独立单间进行实验。操作者手卫生后,连接无菌一次性呼吸机管路,管路的 Y 型管连接消毒后的模拟肺,模拟肺放置于恒温包内,设置恒温包温度为 38℃。恒温包放置在病床上。呼吸管路模拟肺的水平位置均模拟临床实际情况。连接灭菌注射用水至湿化罐。打开呼吸机和湿化器。设置呼吸机模式 SIMV,设置参数潮气量 500 mL,呼吸频率 12 次/min,氧浓度 40%,气道压力支持 12 cmH₂O。在呼吸机的回路端接细菌过滤器保护呼吸机。实验共建立 30 个体外模拟机械通气的模型,在种菌和采样操作时,呼吸机处于待机状态,其余时间均处于持续通气状态。临床呼吸机管路 7 d(168 h)更换,因此,实验中模型的持续通气时间为 168 h。②种植细菌。根据微生物科的建议,选择本院 ICU 患者上呼吸道分泌物细菌培养常见、且容易在环境中生存的鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌两种细菌,每 15 个机械通气模型种植同一种细菌。本实验为更好地研究细菌在湿化水中大量繁殖后随气流运动、定植的情况,放大观察细菌的移动效果。当湿化器显示温度达到正常范围不再继续上升

时,向湿化罐的湿化水内注入能提供细菌生长繁殖的脑心浸液肉汤(我院微生物科配制)100 mL。然后用 5 mL 注射器向湿化罐内的湿化水中注入浓度为 1 500/μL 的鲍曼不动杆菌或铜绿假单胞菌 2 mL。种植细菌后继续持续通气。③采样方法。分别于种植细菌后第 24、72、168 小时,在湿化罐出口(即呼吸管路和湿化罐的连接处)、呼吸机管路的 Y 型管处,由院感护士用无菌棉拭子采样,并同时留取湿化罐内湿化水 10 mL 送细菌培养。在种植细菌后 168 h 用无菌剪刀剪断呼吸机管路,增加距湿化罐出口 10 cm 处位置的棉拭子采样,并送细菌培养。管路及配套耗材按医疗废物处理。

1.2.3 统计学方法 采用 SPSS25.0 软件行 χ^2 检验和 Friedman 检验方法,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 临床样本的细菌采样结果 根据《医院感染管理规范》要求,将细菌培养结果 0~5 cfu/mL 定为阴性,大于 5 cfu/mL 定为阳性^[2]。30 例临床机械通气患者湿化罐内湿化水的细菌培养阳性率达 46.7%(14 例),湿化罐出口的细菌培养阳性率为 16.7%(5 例)。

2.2 体外实验模型不同时间、不同采样位置的细菌培养结果比较 见表 1。

表 1 体外实验模型不同时间、不同采样位置的细菌培养结果比较 份(%)

通气时间	样本份数	湿化水阳性	湿化罐出口阳性	χ^2	P
24h	30	27(90.0)	11(36.7)	18.373	<0.001
72h	30	28(93.3)	19(63.3)	7.954	0.005
168h	30	28(93.3)	23(76.7)	2.092	0.148
χ^2		0.273	10.284		
P		0.862	0.006		

注:Y 型管检测结果全部为阴性。

2.3 种菌后不同时间湿化罐出口的细菌浓度比较 见表 2。

表 2 种菌后不同时间湿化罐出口的细菌浓度比较 cfu/mL, M(P₂₅, P₇₅)

通气时间	样本份数	鲍曼不动杆菌组	铜绿假单胞菌组	χ^2	P
24h	15	0(0,16.0)	2.0(0,44.0)	1.275	0.271
72h	15	4.0(0,49.3)	55.0(0,197.0)	7.929	0.014
168h	15	18.5(0,105.0)	110.0(4.5,321.5)	9.027	0.009
χ^2		1.860	7.020		
P		0.170	0.003		

3 讨论

3.1 临床湿化水采样细菌培养阳性的原因分析 本研究通过随机采样机械通气治疗中患者的湿化罐,结果显示,在每 7 天更换管路的规范操作下,湿化水的细菌阳性率达 46.7%,湿化罐出口的细菌培养阳性率为 16.7%。这一结果与国内研究基本一致。如谭杏飞等^[7]研究发现,湿化罐内的湿化水、呼吸管路及冷凝水的病原菌存在同源性,认为患者呛咳或呼出气体可将下呼吸道的细菌移行定植在管路和冷凝水中,

细菌可随冷凝水倒流入湿化罐而引起湿化罐污染,这是湿化罐内湿化水定植菌的来源。灭菌注射用水作为湿化水,不含氮、碳、无机元素及合适的 pH 值,理论上并不适合细菌生长,但在临床实际环境中,冷凝水除带菌外,还含有患者呛咳出来的呼吸道分泌物,加上湿化罐 40℃ 左右的理想的温度环境,这就提供了细菌在湿化罐内定植的条件。

3.2 实验模型的湿化罐出口细菌培养阳性而管路其他位置培养阴性的原因分析 Wenzel 等^[8]将同位素加入湿化罐,应用不同流量的气流(2~46 L/min)进行机械通气,在湿化罐出口端应用过滤器进行同位素收集,结果发现过滤器中并未收集到同位素,推断细菌也只能存在于湿化罐。本实验结果发现,细菌在大量繁殖的情况下,可以离开湿化罐内的湿化水,到达湿化罐的出口。在持续 168 h 的通气过程中,越来越多的细菌能到达湿化罐出口,但一直无法到达距离湿化罐 10 cm 处,更无法到达患者近端的 Y 型管处。

液态水蒸汽的直径为 0.0001 μm,而细菌的直径为 0.2~10 μm。因此,理论上水蒸汽无法携带细菌^[9]。那么,实验中的细菌是通过什么方式到达湿化罐出口?我们分析细菌自身也会有一定的运动力,尤其在环境中存在水的情况下,可以进行物理运动。湿化罐出口距离湿化水液面约 6 cm,机械通气过程中,湿化罐壁会挂满水珠。在一定的时间内,细菌完全可以利用湿化罐壁的水,运动到湿化罐出口。而湿化罐出口以上的呼吸管路因加热导丝的存在,无法生成大量的水,也因此限制了细菌的运动,这可能也是细菌无法再进一步借助本身动力到达更远处的原因。另外,国外也曾有学者研究认为被细菌污染的湿化罐内的湿化水可能会形成低水平的细菌气溶胶^[10]。本研究结果也不排除这种可能性的存在,因为低水平的气溶胶携带细菌到达湿化罐出口,但无法到达更远的距离,这个假设也可以解释本研究的结果。

3.3 实验模型的湿化罐出口两种细菌定植的量有差异的原因分析 本研究结果显示,湿化罐出口的细菌量随着通气时间延长逐渐增多,而铜绿假单胞菌组 72 h、168 h 时显著高于鲍曼不动杆菌组(均 $P < 0.05$)。分析原因主要和不同细菌有不同的动力有关。铜绿假单胞菌的菌体一端有鞭毛。鞭毛为细菌的运动器官,有助于菌体在液体中快速游动或在物体表面上滑行^[11]。鲍曼不动杆菌没有鞭毛,只能利用菌毛在潮湿的表面上进行抽搐运动,这种形式的移动是由 4 型菌毛(T4P)的解聚驱动的^[12]。因此,鲍曼不动杆菌本身的动力远远不如铜绿假单胞菌,这就解释了为何在湿化罐出口的细菌定植,铜绿假单胞菌组的浓度要高于鲍曼不动杆菌组。

4 小结

在临床机械通气治疗过程中,使用加热导丝的呼吸机管路无法完全避免冷凝水的产生,且因湿化罐处

于管路的低位,带菌的少量冷凝水很可能会反流入湿化罐。湿化罐的细菌如果定植是否会随着呼吸机送气向患者端移动是临床医务人员担心的问题。本研究发现,即使湿化罐内细菌大量繁殖,动力很强的细菌也无法定植到距湿化罐出口 10 cm 以外的管路位置。因一次性加热导丝的呼吸管路无倾倒冷凝水的集水杯,如果在治疗过程中为了倾倒少量的冷凝水而断开呼吸机管路,不仅会中断对患者的呼吸支持,而且增加了空气中悬浮粒子数量与细菌浓度,从而增加了医务人员接触生物气溶胶的风险。因此,结合本实验的研究结果,提示临床护理人员不需要反复断开管路去处理少量的冷凝水,因为少量冷凝水反流至湿化罐造成的细菌定植,不会随气流在管路其他位置定植。而湿化罐内是否确定有低水平的气溶胶形成,本实验研究尚无法确认,还需通过进一步研究来确定。

参考文献:

- [1] Restrepo R D, Walsh B K, American Association for Respiratory Care. Humidification during invasive and noninvasive mechanical ventilation[J]. *Respir Care*, 2012, 57(5): 782-788.
- [2] 朱明华,毕艳华,刘华,等.呼吸机管路内细菌污染与呼吸机相关性肺炎的相关性研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(10): 2233-2236.
- [3] 黄碧灵,蓝惠兰,陈瀚熙,等.一次性密闭式双加热呼吸机湿化管道系统更换频率的研究[J]. *中国实用护理杂志*, 2012, 28(7): 1-3.
- [4] Wellbeloved M A. Humidification and the HME filter[J]. *South Afr J Anaesth Analg*, 2020, 26(6): S161-163.
- [5] Lellouche F, Qader S, Taillé S, et al. Influence of ambient temperature and minute ventilation on passive and active heat and moisture exchangers[J]. *Respir Care*, 2014, 59(5): 637-643.
- [6] 杨柳,尹平.有创机械通气患者呼吸机湿化液更换频率的研究[J]. *护理学杂志*, 2017, 32(13): 87-89.
- [7] 谭杏飞,陈瀚熙,蓝惠兰,等.密闭式呼吸机湿化管道系统细菌培养分析[J]. *护理学杂志*, 2015, 30(15): 92-94.
- [8] Wenzel M, Klauke M, Gessenhardt F, et al. Sterile water is unnecessary in a continuous positive airway pressure convection-type humidifier in the treatment of obstructive sleep apnea syndrome[J]. *Chest*, 2005, 128(4): 2138-2140.
- [9] Schulze A. Respiratory gas conditioning and humidification[J]. *Clin Perinatol*, 2007, 34(1): 19-33.
- [10] Goularte T A, Manning M, Craven D E, et al. Bacterial colonization in humidifying cascade reservoirs after 24 and 48 hours of continuous mechanical ventilation[J]. *Infect Control*, 1987, 8(5): 200-203.
- [11] 倪磊,金震宇,杨帅,等.铜绿假单胞菌蹭行运动单细胞分析方法的建立及应用[J]. *生物工程学报*, 2017, 33(9): 1611-1624.
- [12] Wilharm G, Piesker J, Laue M, et al. DNA uptake by the nosocomial pathogen *Acinetobacter baumannii* occurs during movement along wet surfaces[J]. *J Bacteriol*, 2013, 195(18): 4146-4153.