

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20194457

· 论 著 ·

## 血液透析装置与供水回路连接端聚氯乙烯软管管道细菌生物膜研究

杨冬华, 赵璐, 绽丽, 刘佳雯, 张永栋

(青海大学附属医院医院感染管理科, 青海 西宁 810001)

**[摘要]** **目的** 了解血液透析装置与供水回路连接端聚氯乙烯软管管道细菌生物膜形成情况, 开展水处理系统细菌生物膜控制的策略性研究。**方法** 按照软管使用年限、材质不同分为 A、B 两组, A 组为使用 7 年的透明软管, B 组为使用 5 年的红色不透明软管, 再对 A、B 两组标本进行不同的实验处理 (A<sub>1</sub>、B<sub>1</sub> 组不做任何处理; A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub> 组: 过氧化氢消毒剂浸泡 20 min; A<sub>3</sub>、B<sub>3</sub> 组: 采用无菌棉拭子搅拌软管内壁, 过氧化氢消毒剂浸泡 20 min), 最后在电镜下观察细菌生物膜状态。**结果** A<sub>1</sub> 组显示有层层叠加、连接网状的生物膜形成; A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub> 组显示细菌生物膜有缝隙裂缝, 未能完全脱落。B<sub>1</sub> 组平面突起的团块即为细菌生物膜; B<sub>2</sub> 组显示存在散在的球状体; B<sub>3</sub> 组显示存在游离的棒状细菌体。A 组软管 (不做任何实验处理) 行不同倍数电镜扫描, 显示主要由成簇生长的杆菌构成。**结论** 细菌生物膜的清除效果与其形态结构的复杂性、叠加程度存在很大的相关。研究血液透析装置与供水回路连接的软管材料、细菌生物膜形成的时间点及消毒处理方法等, 可以更好地进行水处理系统细菌生物膜的控制策略性研究。

**[关键词]** 血液透析系统; 细菌生物膜; 消毒剂; 电镜扫描; 消毒

**[中图分类号]** R187

## Bacterial biofilm of polyvinyl chloride hose pipeline at the connection end of hemodialysis device and water supply loop

YANG Dong-hua, ZHAO Lu, ZHAN Li, LIU Jia-wen, ZHANG Yong-dong (Department of Healthcare-associated Infection Management, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, China)

**[Abstract]** **Objective** To understand the formation of bacterial biofilm in polyvinyl chloride (PVC) hoses pipeline at the connection end of hemodialysis device and water supply loop, and control bacterial biofilm in water treatment system. **Methods** The hoses were divided into two groups (group A and B) according to their service life and material, group A was transparent hoses used for 7 years and group B was red opaque hoses used for 5 years, specimens of group A and B were conducted different experimental treatment (group A<sub>1</sub> and B<sub>1</sub> didn't undergo any treatment; group A<sub>2</sub> and B<sub>2</sub> immersed in hydrogen peroxide disinfectant for 20 minutes; group A<sub>3</sub> and B<sub>3</sub>: the inner wall of hoses were stirred with sterile cotton swabs and immersed in hydrogen peroxide disinfectant for 20 minutes), bacterial biofilm was observed under electron microscope. **Results** Group A<sub>1</sub> showed formation of overlapped and reticulated biofilm; group A<sub>2</sub> and A<sub>3</sub> showed that there were fissure and crack in bacterial biofilm, which could not completely fall off. In group B<sub>1</sub>, the planar bulges were bacterial biofilm; group B<sub>2</sub> showed scattered globules; group B<sub>3</sub> showed the presence of free rod-like bacteria. Group A hoses (without any experimental treatment) were scanned by electron microscope at different multiples, showing that they were mainly composed of clustered bacteria. **Conclusion**

The removal efficiency of bacterial biofilm is closely related to the complexity and overlapping degree of its morphology and structure. The study on hose material, time point of bacterial biofilm formation and disinfection treatment method for the connection of hemodialysis device and water supply loop can better carry out the control strate-

[收稿日期] 2018-12-06

[基金项目] 青海大学附属医院中青年科研基金一般项目 (ASRF-2018-YB-04)

[作者简介] 杨冬华 (1989-), 女 (藏族), 青海省西宁市人, 主治医师, 主要从事医院感染预防与控制研究。

[通信作者] 张永栋 E-mail: 610194826@qq.com

gy research of bacterial biofilm in water treatment system.

[Key words] hemodialysis system; bacterial biofilm; disinfectant; electron microscopic scanning; disinfection

细菌生物膜是多个细菌细胞高度组织化后产生的结构系列,细菌生物膜将细菌自身包裹其中,使细菌相互黏连,产生特定结构的细菌复合体,形如膜状,存在广泛的多样性,是细菌为适应环境、维持自身生命所发生的形态学变化<sup>[1-2]</sup>。由于形态结构、生理生化特征复杂性程度高,细菌生物膜一旦附着于生命或无生命表面,很难清除<sup>[3-4]</sup>。血液透析装置与供水回路连接的软管存在难以彻底消毒的缺点,若细菌超标,长时间使用可能会形成生物膜,并可以间断性地释放出浮游菌,污染水处理系统。研究<sup>[5]</sup>显示,不同的透析方式、透析水质量与透析患者微炎症发展存在关系。由于其结构和代谢产物的特殊性,单一消毒剂对细菌生物膜的去除效果有限<sup>[6-7]</sup>。细菌生物膜的产生是血液透析环节中不可忽视的安全隐患。我们对更换撤下的使用年限为 7 年的透明聚氯乙烯(PVC)材料、5 年不透明聚氯乙烯材料,按照不同的方法对标本进行消毒处理,在电镜下扫描,从形态学角度观察管道内表面是否形成细菌生物膜,以及观察其形态结构特征,初步分析水路污染的风险因素,为临床处理提供参考。

## 1 材料与方 法

1.1 标本收集 聚氯乙烯软管管道标本收集:用 75%乙醇清洁擦拭与透析机连接的软管外部,断开透析机与软管接口处,剪去长期由金属卡扣固定部分,收集使用年限为 7 年、5 年的透明和红色不透明软管。

1.2 标本处理 将 PVC 软管加工成 1 cm×1 cm 的片状结构,按照实验目的分为 A、B 两组,A 组为使用 7 年的透明软管,B 组为使用 5 年的红色不透明软管,并对标本进行不同的实验处理。见表 1。

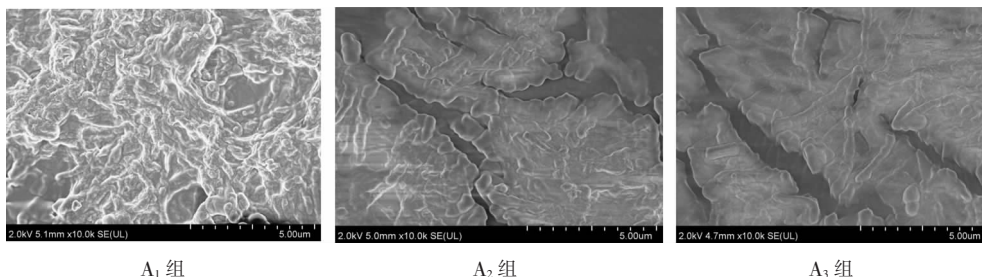


图 1 电镜扫描观察使用年限为 7 年的透明软管内壁细菌生物膜形成情况

Figure 1 Electron microscopic scanning on bacterial biofilm formation on the inner wall of transparent hoses of 7-year service life

表 1 不同使用年限及软管材质的标本处理方式

Table 1 Processing method for specimens of hoses of different service life and material

组别	使用年限	材质	标本处理
A <sub>1</sub>	7 年	透明软管	未做任何处理
A <sub>2</sub>	7 年	透明软管	过氧化氢消毒剂内浸泡 20 min
A <sub>3</sub>	7 年	透明软管	无菌棉拭子搅拌内壁,过氧化氢消毒剂内浸泡 20 min
B <sub>1</sub>	5 年	红色不透明软管	未做任何处理
B <sub>2</sub>	5 年	红色不透明软管	过氧化氢消毒剂内浸泡 20 min
B <sub>3</sub>	5 年	红色不透明软管	无菌棉拭子搅拌内壁,过氧化氢消毒剂内浸泡 20 min

1.3 扫描电镜标本的制备与检测 将标本用 2.5%戊二醛溶液固定 2 h,依次加入 70%、80%、90%和 100%不同浓度梯度的乙醇中浸泡各 30 min,真空干燥机中无菌风干,临界点干燥,样本喷金、镀金膜后在电镜下扫描观察。软管管道样本扫描电镜检测委托青海省中国科学院盐湖研究所化学分析测试中心。

1.4 主要仪器 日立 SU8010 扫描电镜,扫描采集图像倍数分别为 10 000、20 000、30 000、35 000 倍,随机选取视野。

## 2 结果

2.1 使用年限为 7 年的透明软管内壁细菌生物膜形成情况 A<sub>1</sub> 组透明软管电镜扫描后的成像,图像显示有层层叠加、连接网状的生物膜形成;A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub> 组透明软管电镜下扫描成像,显示细菌生物膜有缝隙裂缝,未能完全脱落。见图 1。

2.2 使用年限为5年的红色不透明软管内壁细菌生物膜形成情况 对B组红色不透明软管进行相应的标本处理后,观察细菌生物膜形成情况。B<sub>1</sub>组

红色不透明软管电镜扫描后成像,平面突起的团块即为细菌生物膜;B<sub>2</sub>组显示存在散在的球状体;B<sub>3</sub>组显示存在游离的棒状细菌体。见图2。

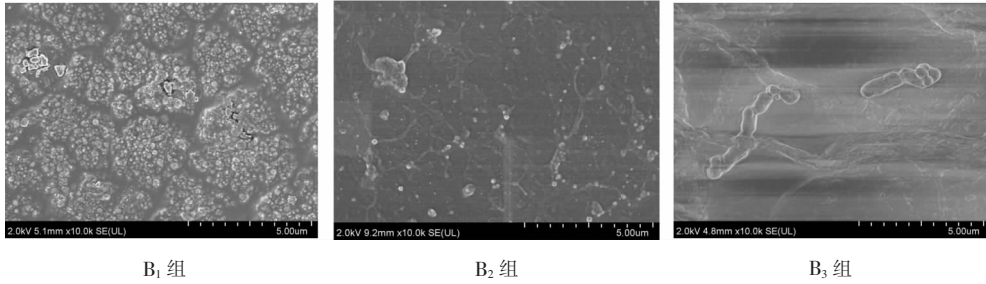


图2 电镜扫描观察使用年限为5年的红色不透明软管内壁细菌生物膜形成情况

Figure 2 Electron microscopic scanning on bacterial biofilm formation on inner wall of red opaque hoses of 5-year service life

2.3 细菌生物膜形态结构 A组软管不做任何实验处理,行不同倍数电镜扫描,采集图像并观察菌体形态,显示主要由成簇生长的杆菌连接成,连接网状,层层叠加。见图3。

扫描,图像显示有层层叠加、连接网状的生物膜形成。采用不同倍数电镜扫描观察细菌生物膜的形态结构,显示主要由成簇生长的杆菌连接成网状,结构极其复杂。细菌生物膜为平面突起的团块。研究<sup>[3, 10-11]</sup>显示,随着时间的延长,细菌会不断聚集黏附并趋于成熟,最后形成稳固的立体结构。生物膜不断地释放游离态细菌,存在安全隐患。

如何有效地清除软管管道的细菌生物膜,有研究提出更换软管材料。国外有研究者开发出涂覆纳米银薄层的新型硅胶管<sup>[12]</sup>,对控制生物膜具有较好的效果。其次最常用的方法为消毒,研究<sup>[13]</sup>显示,20种常用消毒剂在0.15%~3.00%的浓度下处理5 min,对透析系统生物膜中的微生物杀灭效率可达99.9%。本研究采用常规消毒方式(即单一过氧化氢消毒剂<sup>[7]</sup>)、消毒剂加机械清除的方式模拟实验,观察细菌生物膜清除状况,电镜扫描结果显示,连接成网状的细菌生物膜对消毒剂的抵抗力很强,难以清除。对A、B组分别进行无菌棉拭子搅拌+过氧化氢消毒剂处理,使用年限较短的软管(B组)细菌生物膜基本脱落,但存在散在的浮游菌体,而使用年限较长的软管(A组)细菌生物膜仍然未能脱落。王小飞等<sup>[14]</sup>研究显示,过氧化氢干雾消毒对早期生物膜的细菌有一定作用,对成熟生物膜无作用。秦亚辉等<sup>[15]</sup>研究提出,环氧乙烷与紫外线法消毒对生物材料表面细菌生物膜具有清除效果,且消毒时间越长效果越好;王若卿等<sup>[16]</sup>研究显示,消毒剂对不同类型微生物生物膜的杀灭率不同,采用高浓度消毒剂消毒并不能完全控制再生水管道生物膜微生物。表明细菌生物膜的清除效果与其形态结构的复杂

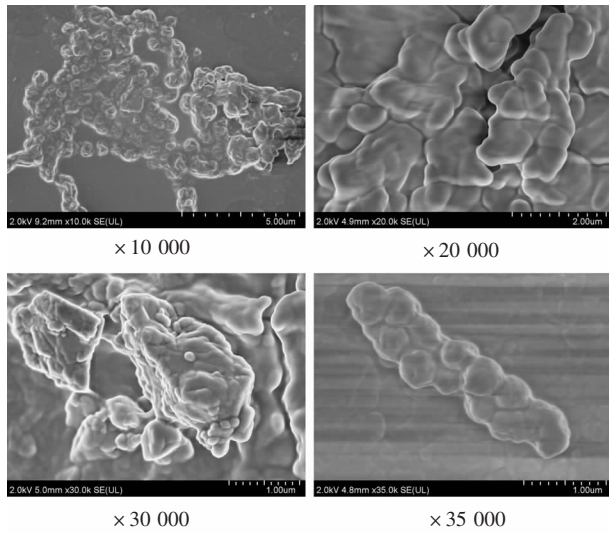


图3 A组软管不同倍数电镜扫描图

Figure 3 Electron microscopic scanning with different multiples for group A hoses

### 3 讨论

透析液中若存在细菌和热源物质等,会严重威胁透析患者的健康。引起透析液中微生物污染物超标的一个重要原因就是透析用水管路系统中存在细菌生物膜<sup>[8-9]</sup>。本研究对血液透析装置与供水回路连接使用不同年限、不同材质的管路内壁进行电镜

性、叠加程度均存在很大的关联,需尽早进行干预清除。只有形成“消毒-清洗-除垢”三位一体的策略,多种药剂和方法共同或轮换使用,才能有效控制其危害,保证透析患者的健康。后期研究将进行前瞻性观察,研究血液透析装置与供水回路连接的软管材料、细菌生物膜形成的时间点及消毒处理方法等,更好地进行水处理系统细菌生物膜的控制策略性研究。

本研究的创新性为首次在青海地区三甲医疗机构开展透析水路系统的细菌生物膜研究。局限性为因是初期的探索性研究,结果部分只是前期摸底的描述性数据,近期研究已开展透析水微生物菌落、系统性干预、方法学的研究。

#### 【参考文献】

- [1] 邱瑜蕾,包崇云. 生物材料表面细菌生物膜形成与理化特征[J]. 国际口腔医学杂志, 2008,35(S1):76-79.
- [2] 杨莎,贾珂,彭佑铭,等. 血液透析水处理系统 PVC 管道内表面细菌生物膜研究[J]. 中南大学学报(医学版), 2009,34(10):1029-1035.
- [3] 刘新,梁宇寰,陈冬梅,等. 惰性材料表面细菌生物膜构建的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2009,21(2):128-130.
- [4] 叶联华,黄云超,杨达宽,等. 聚氯乙烯材料表面细菌生物膜结构观察[J]. 生物医学工程与临床, 2007,11(4):251-254, 封3.
- [5] 杨云勇. 血液透析方式对维持性血液透析患者微炎症和营养状态的影响[J]. 现代实用医学, 2017,29(11):1449-1451.
- [6] 徐卓佳,王栋栋,王铠. 双级反渗透消毒透析水处理系统表面细菌生物膜形成的研究[J]. 中华肾脏病杂志, 2013,29(1):57-58.
- [7] 刘学军. 如何对血液透析设备进行正确消毒[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2013,2(2):85-88.
- [8] 朱璇,王玉新,郭峰,等. 透析机和透析用水处理系统中的生

物膜及其控制[J]. 中国血液净化, 2011,10(11):621-623.

- [9] 邱良婷. 表皮葡萄球菌 agrC 特异结合多肽对聚氯乙烯材料表面细菌生物膜形成的作用研究[D]. 昆明:昆明医科大学, 2017.
- [10] 杨朵,张正. 细菌生物膜及其相关研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2007,11(10):1416-1422.
- [11] 丁珂,邵勤. 血液透析管路生物膜的控制:中华医学会医学工程学会第十五次全国学术年会论文汇编[C]. 厦门, 2015.
- [12] Crabtree JH, Burchette RJ, Siddiqi RA, et al. The efficacy of silver-ion implanted catheters in reducing peritoneal dialysis-related infections[J]. Perit Dial Int, 2003, 23(4): 368-374.
- [13] Marion-Ferey K, Pasmore M, Stoodley P, et al. Biofilm removal from silicone tubing: an assessment of the efficacy of dialysis machine decontamination procedures using an in vitro model[J]. J Hosp Infect, 2003, 53(1): 64-71.
- [14] 王小飞,孙志平,韩海燕,等. 关于过氧化氢干雾对表皮葡萄球菌生物膜消毒效果的相关研究:中华医学会 2014 全国微生物学与免疫学学术年会论文汇编[C]. 成都,2014.
- [15] 秦亚辉,陈颖,黄云超,等. 非接触消毒方法对生物材料表面细菌生物膜的清除效果评价[J]. 昆明医科大学学报, 2014,35(7):84-87.
- [16] 王若卿,王怡,袁洛薇. 高浓度消毒剂对再生水管道路生物膜中微生物的影响[J]. 中国给水排水, 2016,32(5):14-17.

(本文编辑:左双燕)

**本文引用格式:**杨冬华,赵璐,绽丽,等. 血液透析装置与供水回路连接端聚氯乙烯软管管道细菌生物膜研究[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(8): 768-771. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20194457.

**Cite this article as:** YANG Dong-hua, ZHAO Lu, ZHAN Li, et al. Bacterial biofilm of polyvinyl chloride hose pipeline at the connection end of hemodialysis device and water supply loop[J]. Chin J Infect Control, 2019, 18(8): 768-771. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20194457.