



Федеральное государственное бюджетное учреждение
**Национальный медико-хирургический Центр
имени Н.И. Пирогова**
Министерства здравоохранения Российской Федерации



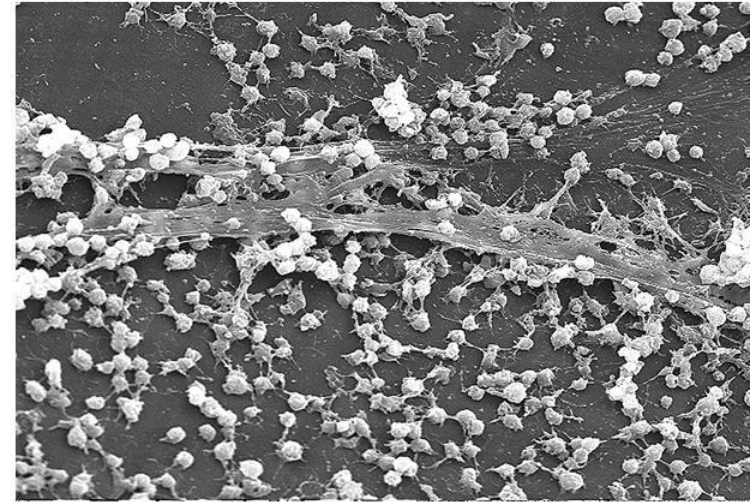
Биопленки в медицинской организации: можно ли победить

Начальник отдела эпидемиологии
ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России
д.м.н. О.А. Орлова

Биологические плёнки являются одним из патогенетических факторов формирования хронических инфекционных процессов.

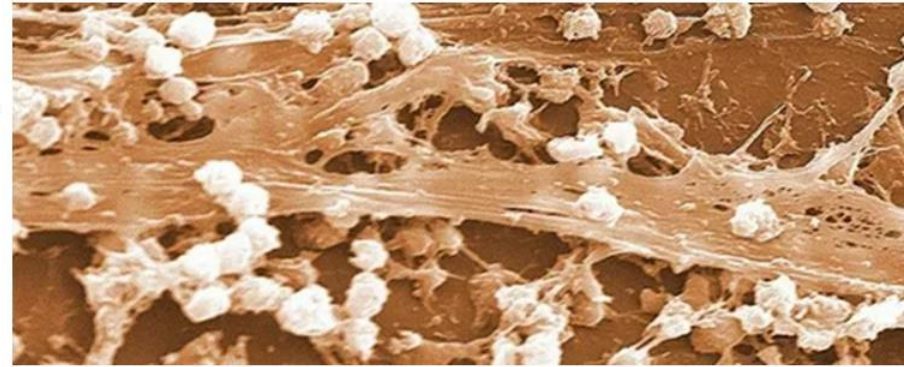
Достоверно установлена роль биоплёнок при большинстве случаев всех хронических и/или рецидивизирующих инфекций.

Биопленка повышает вирулентность и патогенность всех возбудителей.



Частота инфекций, обусловленных биопленкой, особенно в развитых странах мира, составляет 65%-80%.

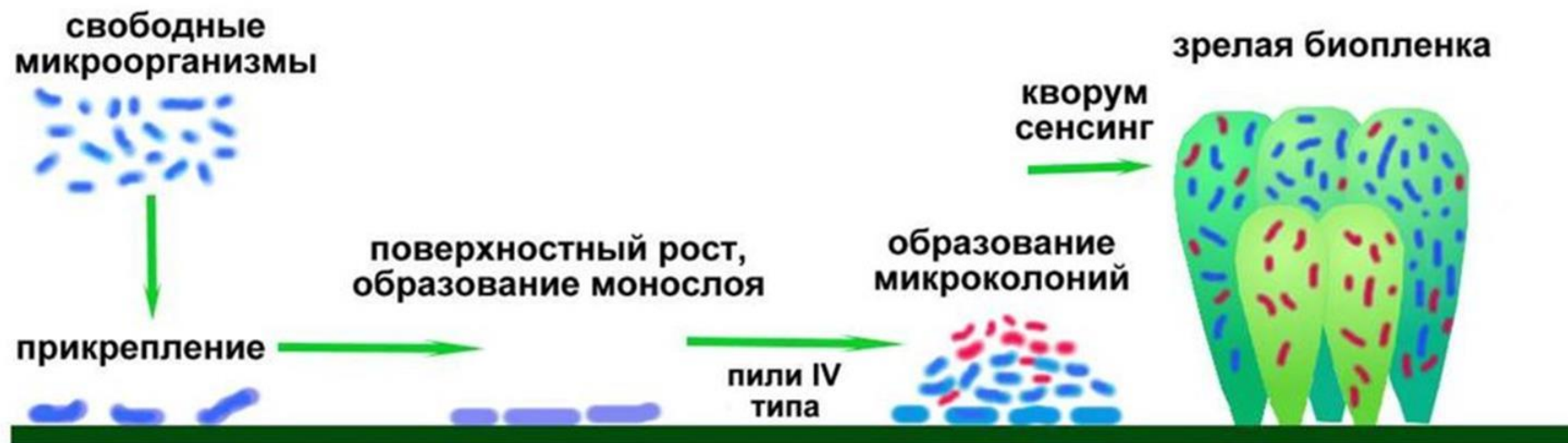
Биоплёнки с высокой устойчивостью к антибиотикам и другим противомикробным препаратам являются причиной более 65 % случаев ИСМП, которые, по данным зарубежных центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC и ECDC, соответственно), ежегодно поражают более 6 миллионов человек.



Hancock V., Ferrieres L., Klemm P. Biofilm formation by asymptomatic and virulent urinary tract infectious Escherichia coli strains. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2007; 51: 212-9.

Биопленка

– совокупность микроорганизмов разных видов, прикрепленных к твердой поверхности посредством выделяемого ими полимерного матрикса

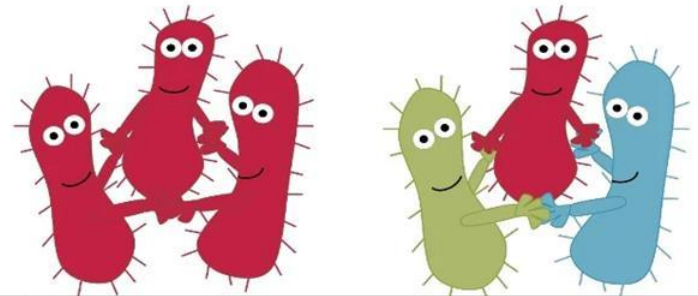


Процесс формирования биопленок находится под контролем кворум-сенсинов, которые обеспечивают созревание биопленки и коллективные взаимоотношения между микроорганизмами в ней.

Quorum sensing

- Система межклеточной коммуникации у микроорганизмов.
- Сегодня система QS определяется как система координированной экспрессии генов в популяции, зависящая от показателя её плотности, с использованием малых сигнальных молекул

QUORUM SENSING IN BACTERIA



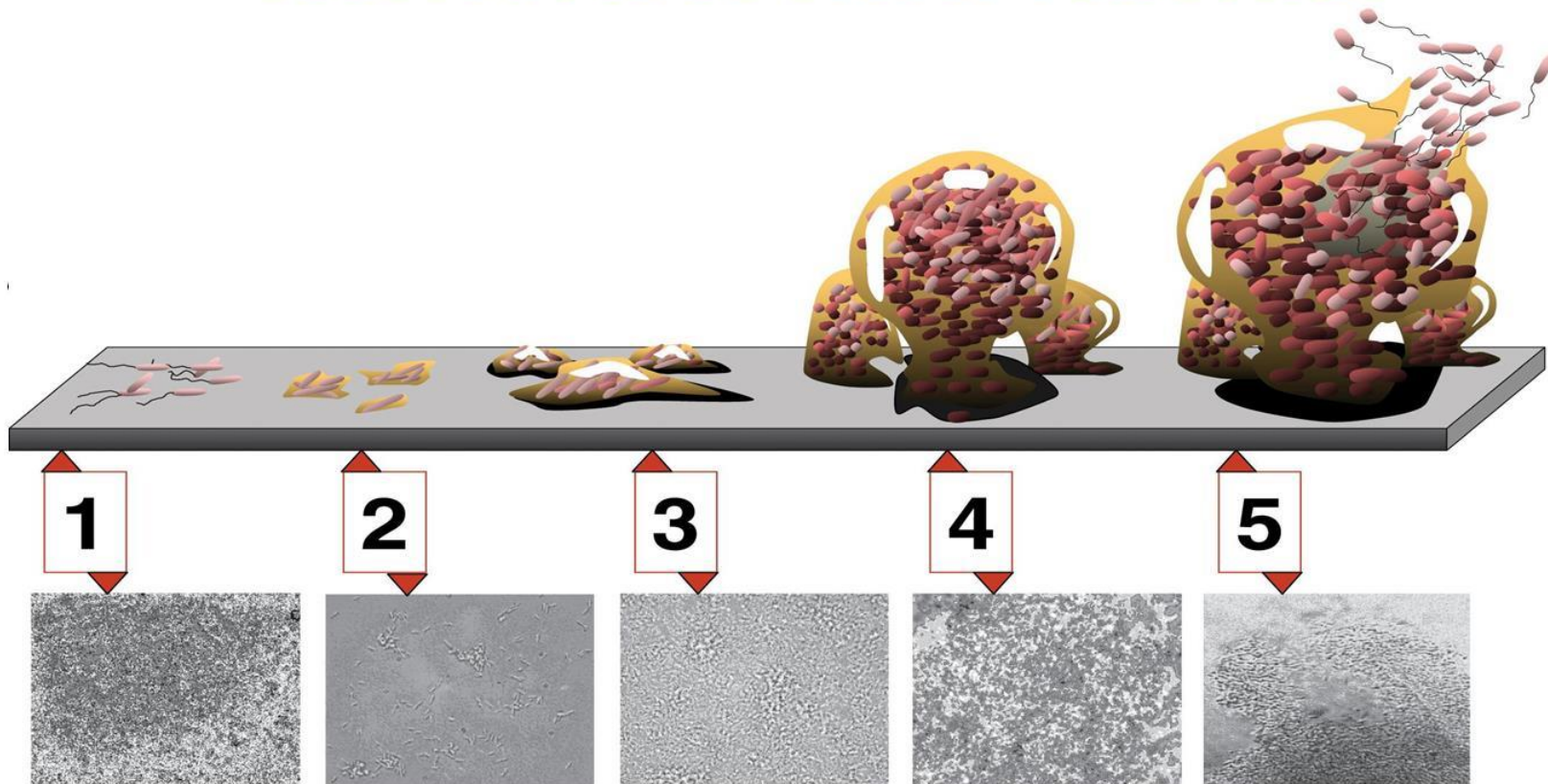
Submitted to -

Prof. H. K. Kehri
Prof. A. Dikshit

Submitted by -

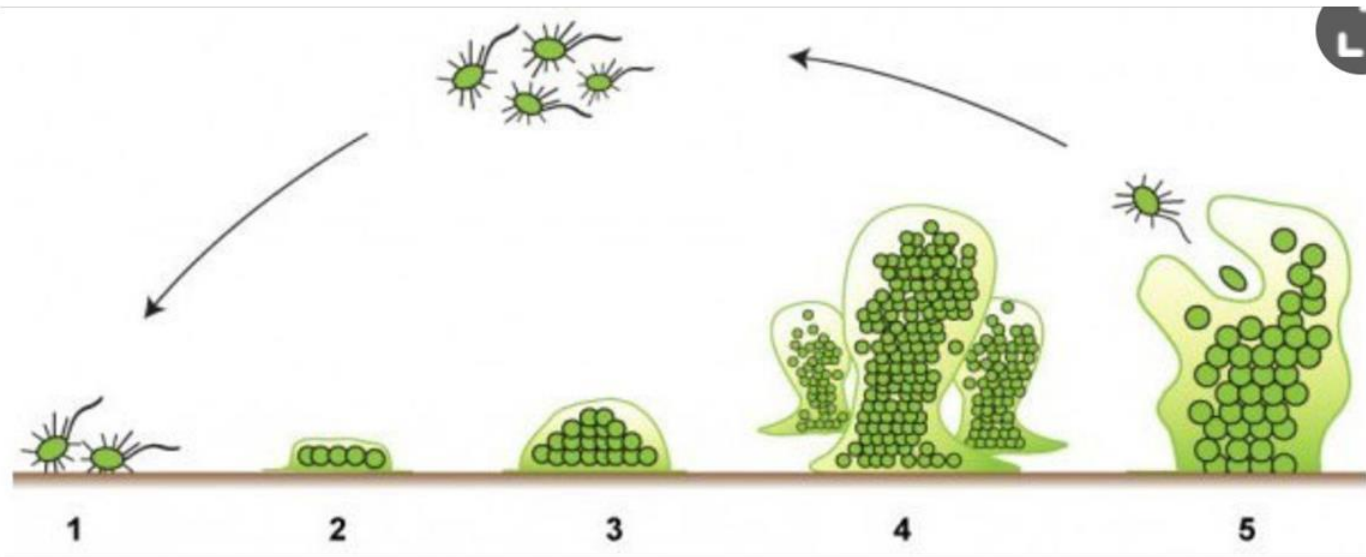
Sameen Zaidi
Vandana Kumari
M.Sc. III sem
2014 - 2015

Стадии развития биологической пленки



- 1 – первичное прикрепление
- 2 – необратимое прикрепление
- 3 – созревание
- 4 – стадия полного созревания
- 5 – распространение

- Планктонные бактерии присоединяются друг к другу и к поверхностям в течение нескольких минут. Соединенные микроколонии образуются в течение 2—4 часов. В течение 6—12 часов клетки вырабатывают внеклеточные полисахариды, и биоплёнка становится толерантной к антибактериальным средствам.
- Зрелые биоплёнки, резистентные к биоцидам, образуются в течение 24—48—72 часов, в зависимости от видов бактерий и условий роста.
- Биоплёнки быстро восстанавливаются после механического разрушения и вновь формируют зрелую форму в течение 8—12—24 часов.
- Дисперсия планктонных клеток из зрелых биоплёнок происходит по достижении максимальной зрелости микроколоний (более 72 часов).



Биологические плёнки способствуют формированию устойчивости бактерий к неблагоприятным факторам окружающей среды, включая воздействие антибактериальных препаратов, образуя экзополисахаридный матрикс (далее - ЭПМ), обладающий защитными (протективными) функциями.

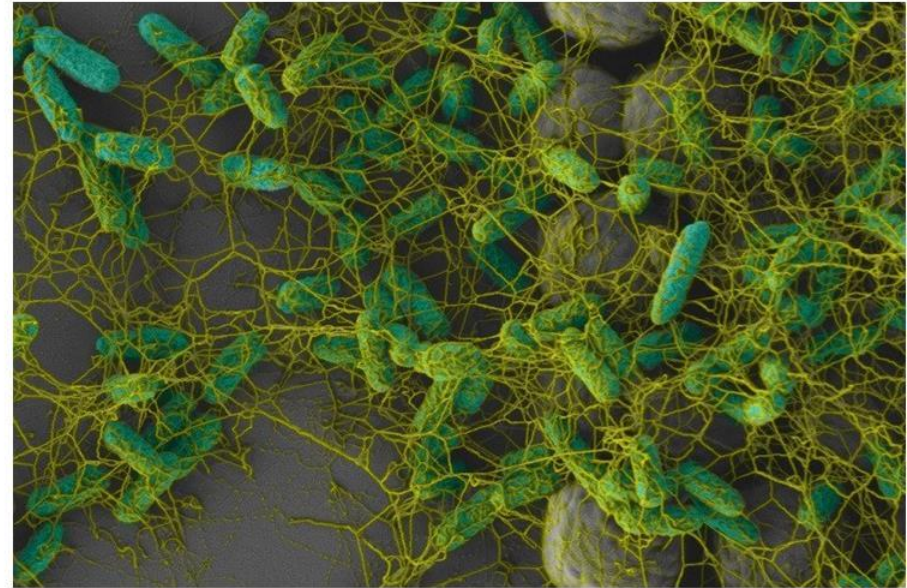
При наличии биопленок на поверхностях возможно получение ложноотрицательных результатов при проведении санитарно-бактериологических исследований (смывов), т. к. зрелый ЭМП препятствует механическому переносу бактерий на диагностические питательные среды.



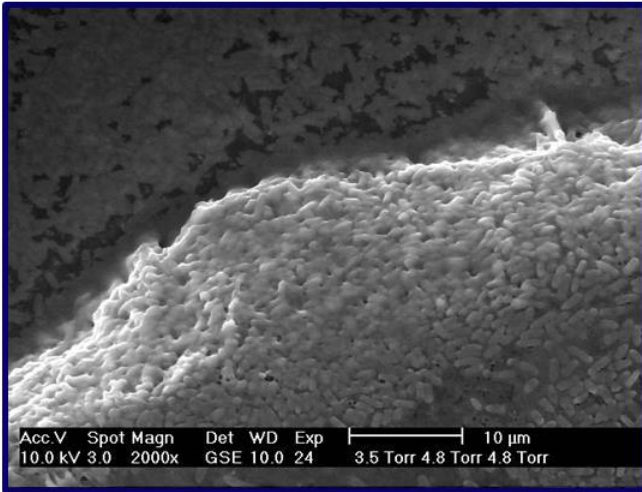
Разрушение ЭПМ позволяет проводить высокоэффективные смывы, исключая вероятность ложноотрицательного результата.

Основные свойства биопленки:

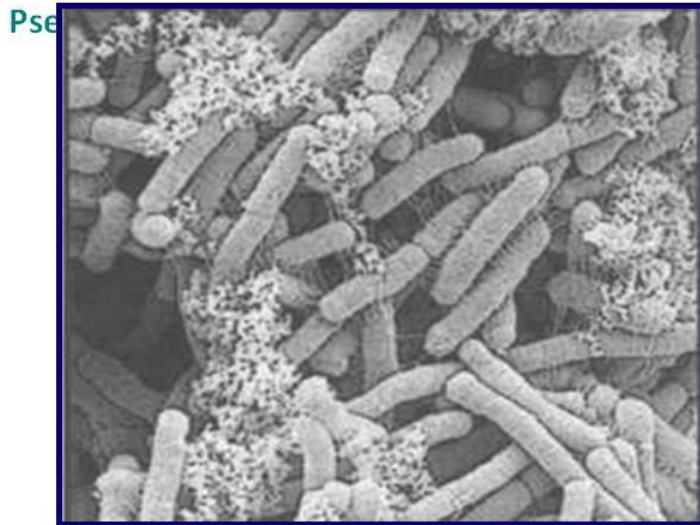
- взаимодействующая общность разных типов микроорганизмов
- микроорганизмы собраны в микроколонии
- микроколонии окружены защитным матриксом
- внутри микроколоний — различная среда
- микроорганизмы имеют примитивную систему связи
- микроорганизмы в биопленке устойчивы к антибиотикам, антимикробным средствам и реакции организма хозяина



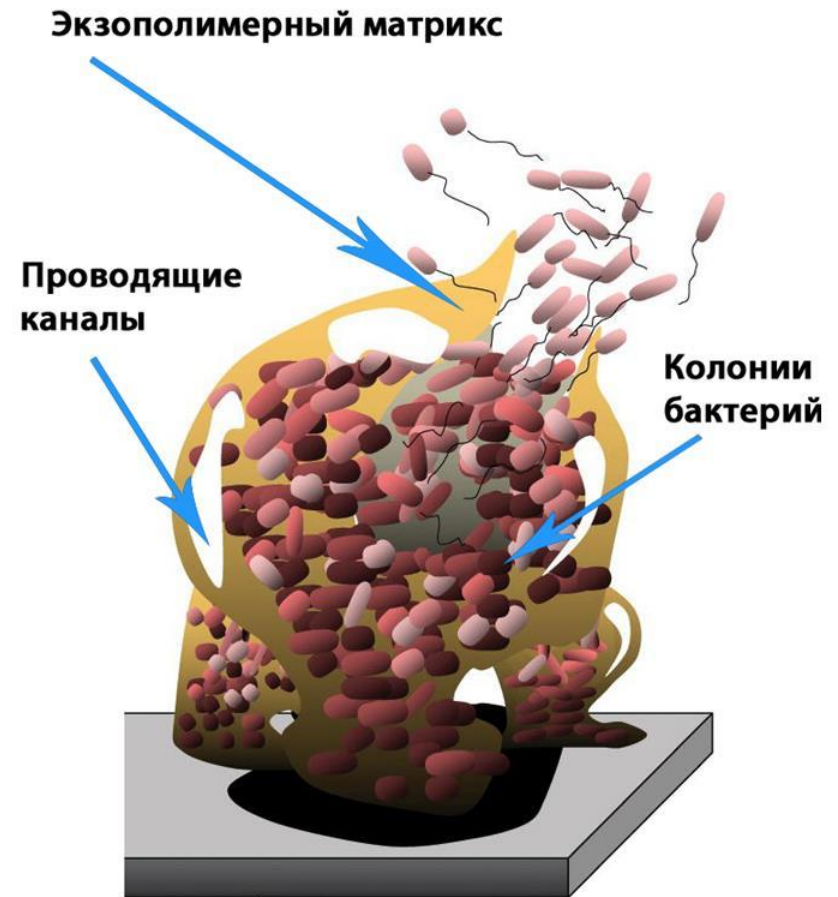
Внешний вид и строение биопленки



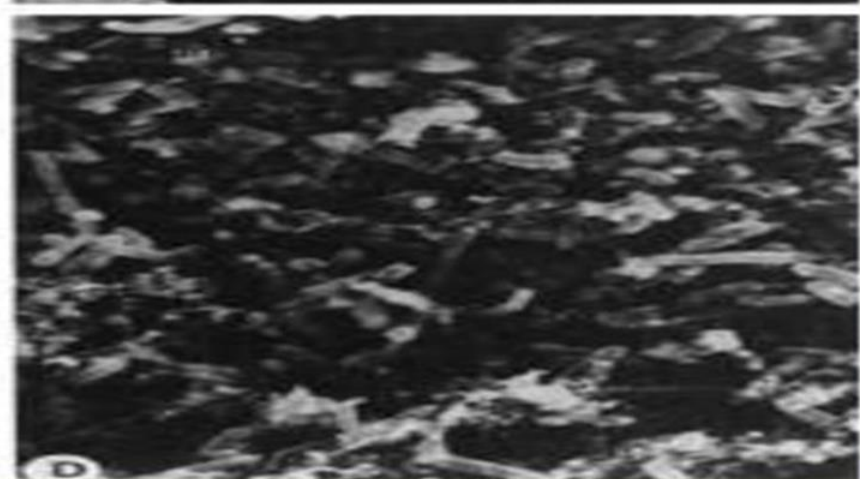
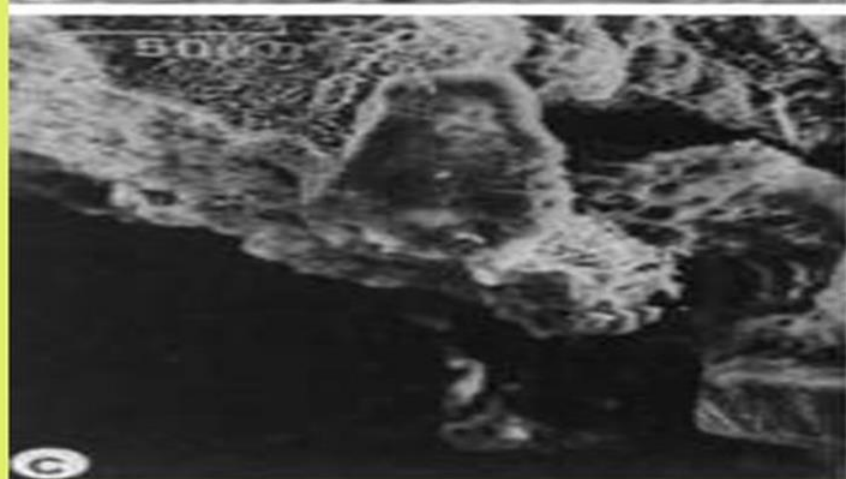
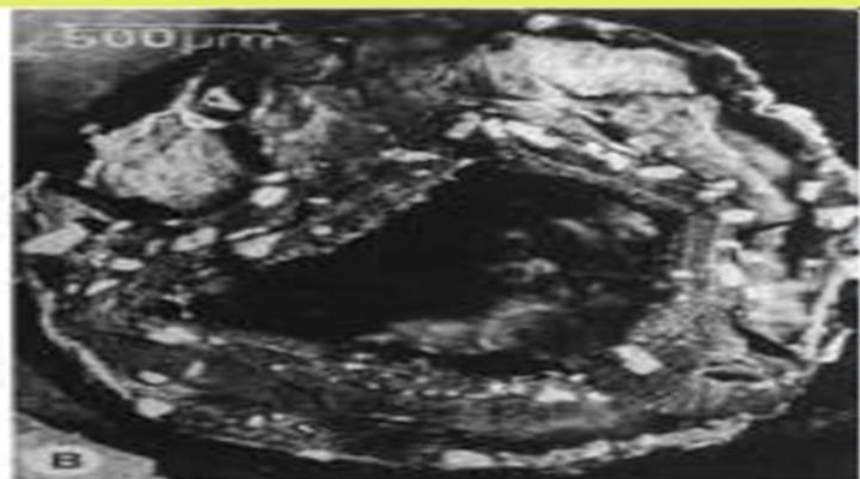
Биопленка



Биопленка *Escherichia coli*



Окклюзия мочевого катетера червеобразной массой бактериальной биопленки



Важно учитывать при подозрении на формирование биопленки у пациента:

1. отслоение биопленок в кровотоке или мочевыводящем тракте может приводить к формированию эмболов;
2. бактерии в биопленках могут обмениваться плазмидами резистентности (передача резистентности от вида к виду);
3. биопленки могут снижать чувствительность бактерий к антимикробным агентам
4. биопленки с Грам негативными бактериями могут продуцировать эндотоксин, что может приводить к инфекционно-токсическому шоку;
5. бактерии в биопленке не поддаются воздействию иммунной системы хозяина.

Санитарно-бактериологические исследования по обнаружению биоплёнок на абиотических поверхностях в медицинских организациях необходимо проводить:

- в порядке, определенном программой производственного контроля организации, в том числе в эндоскопических отделениях и кабинетах (включая поверхности и каналы эндоскопов);
- по эпидемиологическим показаниям;
- при оценке чувствительности госпитальных микроорганизмов к дезинфицирующим средствам

Основное внимание

Объектам, которые имеют постоянный и периодический контакт с жидкостями и органическими веществами, которые могут быть использованы бактериями в качестве питательных веществ:

- поверхности объектов больничной среды медицинских организаций (в операционных блоках, хирургических, послеоперационных палатах и отделениях, палатах и отделениях реанимации и интенсивной терапии, перевязочных и процедурных кабинетах и других подразделениях)
- изделия медицинского назначения (включая эндоскопическое оборудование, зонды, катетеры, бужи и прочее),
- объекты производственной среды пищевых производств (смывы с технологического оборудования, тары, инвентаря, стен, полов, одежды и т. д.)

Катетеры и образование «биопленок»

До
установки

4-й день

8-й день



Goto et al 1999 IJAA 11:227-232

Алгоритм мероприятий по профилактике передачи инфекций, ассоциированных с биопленками

1

- выявление всех потенциальных мест образования биопленок

2

- определение микробного пейзажа потенциальных мест образования биопленок

3

- предотвращение первичного инфицирования поверхностей

4

- предотвращение прикрепления бактерий к поверхности

5

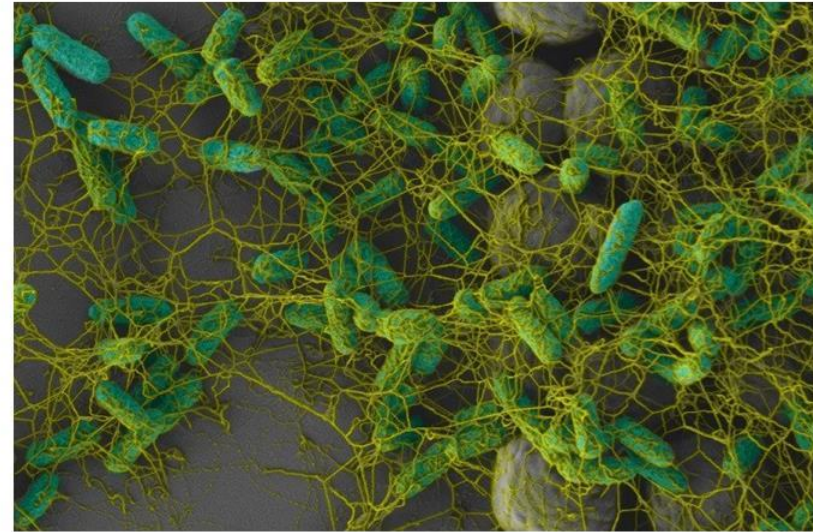
- воздействие на сформировавшуюся биопленку

6

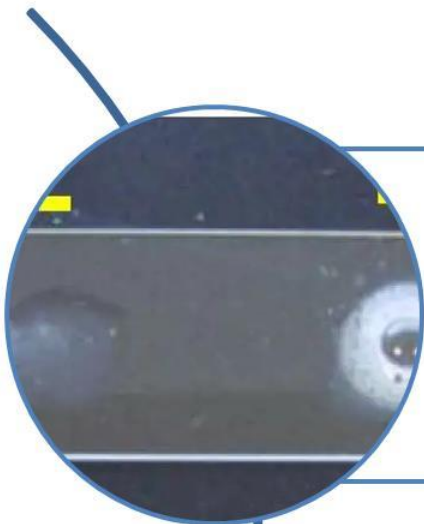
- уничтожение микроорганизмов, выделившихся в результате распада биопленки

1. Выявление всех потенциальных мест образования биопленок

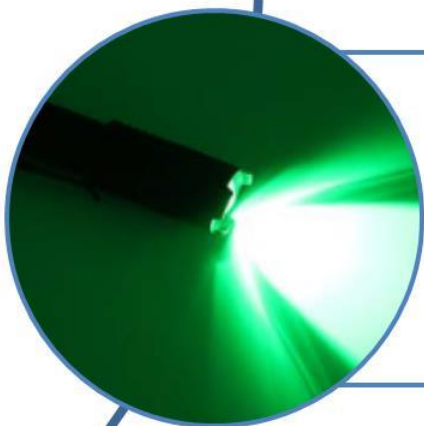
- В каждом отделении нужно собрать данные об имеющемся медицинском и ином оборудовании, инженерно-технических коммуникациях, которые имеют значение как фактор передачи или резервуары микроорганизмов, материалах, из которых изготовлены их поверхности, наличие контакта с влажной средой, температурном режиме эксплуатации



Индикация биопленок



визуальная индикация мест локализации биоплёнок с помощью каталазного экспресс-теста



визуальная индикация мест локализации биоплёнок с помощью флуорохромных красителей и дальнейшей визуализации их при помощи специального освещения

Каталазный экспресс-тест

Применяется для экспресс-индикации мест возможного биологического загрязнения, в том числе для определения мест последующего применения ферментного теста:

- 1) Наносят на очищенную и продезинфицированную исследуемую поверхность, не допуская взбалтывания, в соответствии с инструкцией производителя распылением с расстояния от 10 до 15 см.
- 2) При положительной реакции в течение 5—30 секунд после нанесения индикатора начинается процесс барботирования (образования микропузырьков при реакции выделения кислорода), что является подтверждением наличия каталазоположительных форм бактерий, в том числе в состоянии биологической плёнки, на исследуемой поверхности.

При исследовании эндоскопа дистальный подвижный конец опускается в раствор индикатора, а в исследуемый инструментальный канал эндоскопа индикатор заливается принудительно, в объеме, достаточном для возникновения реакции (обычно 150—200 мл на эндоскоп).

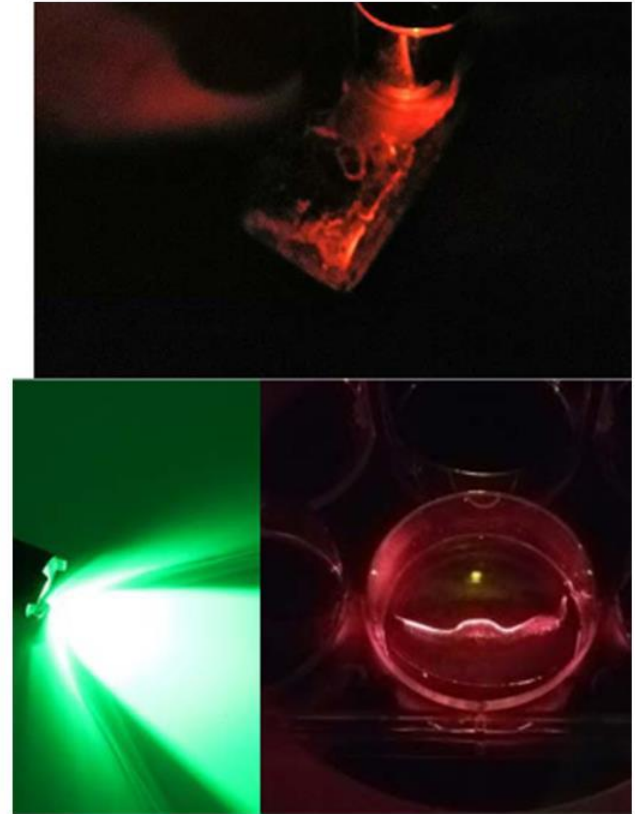


Экспресс-тест с флуорохромным красителем

Индикатор для экспресс обнаружения наличия зрелого экзополисахаридного матрикса биологических пленок индикатором, на основе флуорохромного красителя.

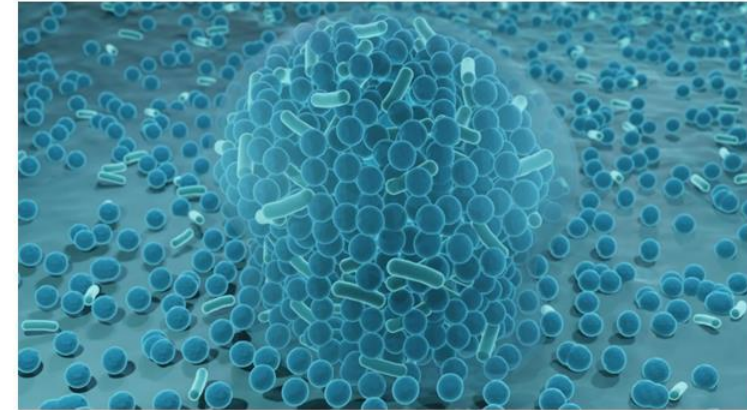
Нанесение флуорохромной краски для идентификации липополисахаридов экзополисахаридного матрикса.

Визуализация проводится в зеленом свете в специальных очках или фотографирование через специальный фильтр.

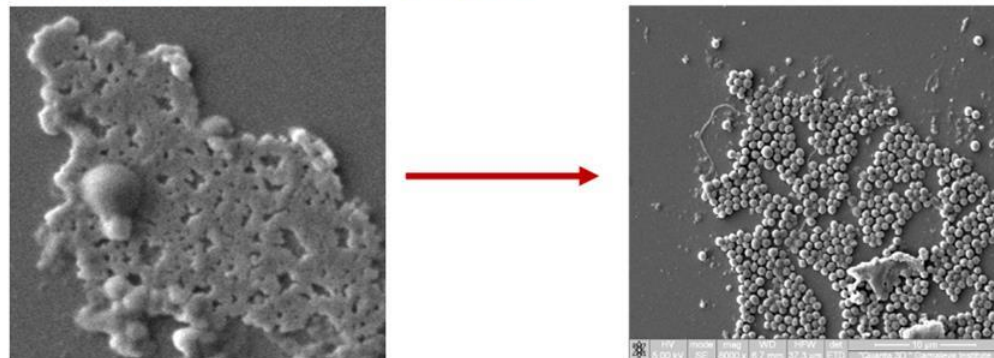


2. Определение микробного пейзажа поверхностей

- Проводится путем микробиологического исследования смывов с эпидемиологически значимых поверхностей на наличие условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.
- Результаты микробиологических исследований могут быть отрицательными, поскольку выделить свободно расположенные микроорганизмы в биопленке проблематично.
- Микробиологическое исследование проводят не в начале рабочего дня, а в процессе работы.
- Необходимо провести разрушение экзополисахаридного матрикса биоплёнки специальными ферментными индикаторами с последующим отбором и микробиологическим исследованием проб смывов.

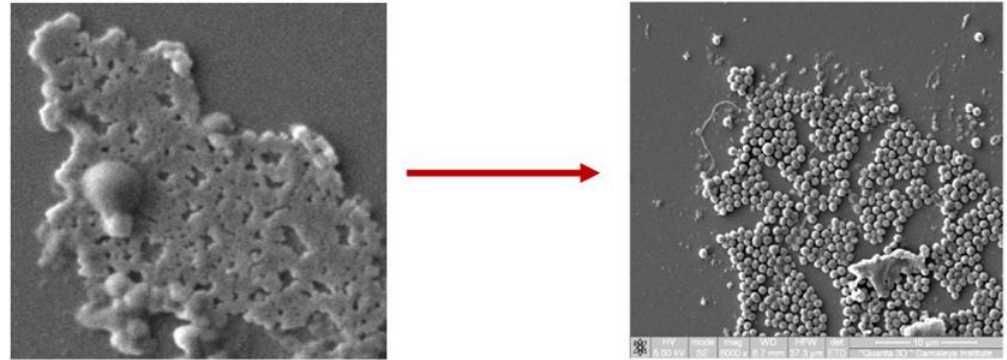


Ферментный тест



- Раствор на основе смеси ферментов из группы карбогидраз разрушает структуры экзополисахаридного матрикса, открывая бактерии для более вероятного переноса бактерий на питательные среды и предоставление доступа биоцидов к бактериям.
- Ферментный индикатор применяют методом протирания или локального распыления на поверхности перед проведением отбора проб смывов. Метод распыления применяют при обработке небольших по площади или труднодоступных поверхностей. Индикатор в виде раствора или в виде пены (при наличии специальной насадки на триггере-распылителе) наносится на поверхности в достаточном количестве (порядка 5 мл на 10 см²) с расстояния 10—15 см. После нанесения индикатора на поверхность время экспозиции составляет 10 минут.

Ферментный тест



- При обработке эндоскопов ферментный индикатор наносится на места смывов с поверхностей или вносится в каналы эндоскопа в количестве не менее 150 мл. Время экспозиции после обработки ферментным индикатором составляет 10 минут.
- Отбор проб для проведения микробиологических исследований осуществляют методом смывов с чистых поверхностей различных объектов.

Профилактика образования биопленок

3. Предотвращение первичного инфицирования

```
graph LR; A[3. Предотвращение первичного инфицирования] --- B[Антимикробные покрытия. Обычно эффективны только в течение короткого периода времени (около 1 недели)]; A --- C[Медицинское применение серебра и ионов серебра]; A --- D[Предотвращение инфицирования внутренних поверхностей труб систем водоснабжения, источником микроорганизмов для которых служит водопроводная вода];
```

Антимикробные покрытия. Обычно эффективны только в течение короткого периода времени (около 1 недели)

Медицинское применение серебра и ионов серебра

Предотвращение инфицирования внутренних поверхностей труб систем водоснабжения, источником микроорганизмов для которых служит водопроводная вода

Профилактика образования биопленок

3. Предотвращение первичного инфицирования

```
graph LR; A[Профилактика образования биопленок] --> B[3. Предотвращение первичного инфицирования]; B --> C[Запрет на использование дезинфицирующих средств, обладающих только бактериостатическим действием]; B --> D[Соблюдение сроков использования рабочих растворов дезинфицирующих средств]; B --> E[Должные концентрации дезинфицирующих средств];
```

Запрет на использование дезинфицирующих средств, обладающих только бактериостатическим действием

Соблюдение сроков использования рабочих растворов дезинфицирующих средств

Должные концентрации дезинфицирующих средств

Профилактика образования биопленок

3. Предотвращение первичного инфицирования

```
graph LR; A[3. Предотвращение первичного инфицирования] --- B[Очистка и дезинфекция воздуха]; A --- C[Дезинфекция, мойка и сушка емкостей для дезинфицирующих средств и кожных антисептиков]; A --- D[Проведение мониторинга устойчивости госпитальных штаммов к применяемым дезинфицирующим средствам с последующей их ротацией];
```

Очистка и дезинфекция воздуха

Дезинфекция, мойка и сушка емкостей для дезинфицирующих средств и кожных антисептиков

Проведение мониторинга устойчивости госпитальных штаммов к применяемым дезинфицирующим средствам с последующей их ротацией

Профилактика образования биопленок

4. Предотвращение прикрепления микробов к поверхности

```
graph LR; A[4. Предотвращение прикрепления микробов к поверхности] --- B[Выбор материала, из которого изготовлена сама поверхность (тефлон, полиуретан, нержавеющая сталь, титан)]; A --- C[Отсутствие на поверхностях сколов, коррозии металлов и других микрорельефных образований]; A --- D[Обработка поверхностей специальными соединениями, препятствующими прикреплению бактерий];
```

Выбор материала, из которого изготовлена сама поверхность (тефлон, полиуретан, нержавеющая сталь, титан)

Отсутствие на поверхностях сколов, коррозии металлов и других микрорельефных образований

Обработка поверхностей специальными соединениями, препятствующими прикреплению бактерий

5. Воздействие на сформировавшуюся биопленку

Дезинфицирующие средства, действующие на биологические пленки:

- разрушают ЭПМ биопленки за счет наличия в своем составе смеси специальных ферментов;
- обладают свойством проникать через ЭПМ внутрь биопленки и уничтожать бактерии внутри неё;
- имеют комбинированное воздействие на биопленку (разрушают ЭПМ и уничтожают бактерии).



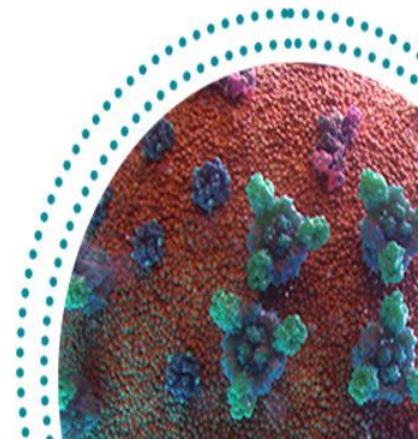
Эффективны в отношении зрелых биоплёнок

- ❑ Комплекс надуксусной кислоты, перекиси водорода и ферментов из группы карбогидраз
- ❑ Комплекс третичных аминов, смеси ЧАС, аминоксида, ферментов из группы карбогидраз
- ❑ Комплекс низкопенных ПАВ и ферментов из группы карбогидраз



Не эффективны в отношении зрелых биоплёнок

- ❑ КПАВ (ЧАС)
- ❑ Хлорактивные соединения (гипохлорит натрия, ДХЦК)
- ❑ Альдегиды (глутаровый альдегид, глиоксаль)
- ❑ Спирты



6. Уничтожение микроорганизмов, выделившихся в результате распада биопленки

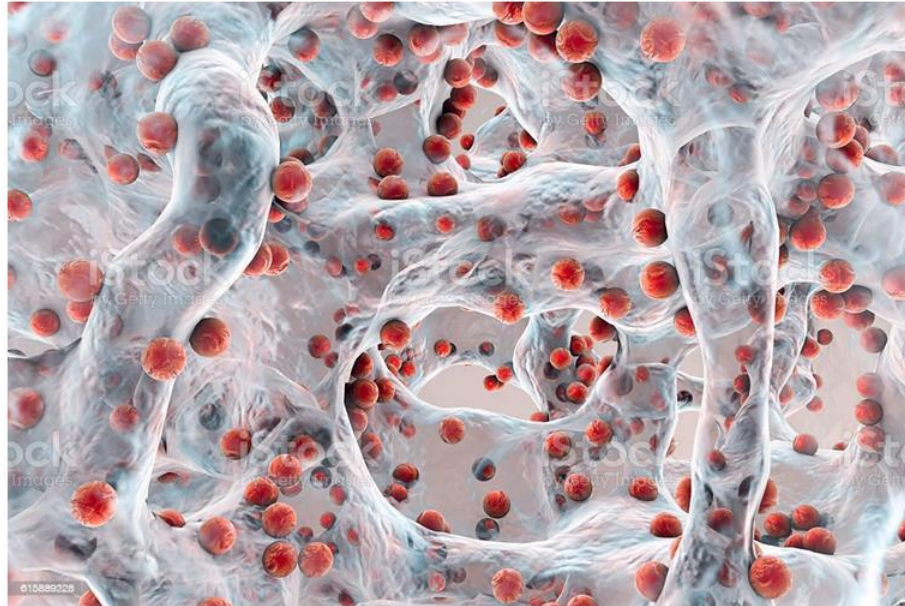
- ☐ Остатки матрикса достаточно легко удаляются механически.
- ☐ Необходима тщательная очистка поверхности (механическая и с использованием моющих средств, в том числе на основе ферментов).
- ☐ Распад биопленки сопровождается массивным выделением бактерий, для предотвращения дальнейшего распространения которых необходимо использовать барьерные методы защиты (специальные фильтры) и дезинфекцию поверхностей и воздуха.



Нормативные документы

- СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»
- Методические рекомендации МР 4.2.0161 -19 «Методы индикации биологических плёнок микроорганизмов на абиотических объектах»

❖ Процесс образования биопленок является важнейшим фактором сохранения и распространения микроорганизмов в медицинских организациях и существенно затрудняет проведение профилактических мероприятий



❖ Необходимо реализовывать комплекс мероприятий по предупреждению их образования

Спасибо за внимание!

