

Оценка значения биопленок в водопроводных трубах медицинских организаций

Автор:

Ишимникова Дарья Николаевна,
МАОУ «Лицей №102 г. Челябинска»,
МБУДО «ЦДЭ г. Челябинска»
9 «б» класс, детское объединение
«Зеленые», программа
«Экобиофизика»

Научный руководитель:

Баркан Ольга Юрьевна, учитель
биологии МАОУ «Лицей № 102 г.
Челябинска», преподаватель
дополнительного образования
МБУДО «ЦДЭ г. Челябинска»

Научный консультант:

Андреева Светлана Владимировна,
доцент кафедры микробиологии,
иммунологии и общей биологии
биологического факультета
ФГБОУ ВО «ЧелГУ»

Оглавление

Введение	3
1. Биопленка в системах водоснабжения	4
2. Этапы формирования биопленок в водопроводных системах	5
3. Значение биопленки водопроводных труб, кранов и раковин в возникновении заболеваний у человека	6
4. Собственные исследования	8
4.1. Материалы и методы исследования	8
4.2. Результаты исследования	9
Выводы	10
Заключение	10
Рекомендации	11
Список литературы	12
Приложения	14

Введение

На внутренних поверхностях труб систем водоснабжения всегда формируются бактериальные биопленки – сообщества микроорганизмов, связанные между собой специфическим матриксом. Микроорганизмы в составе биопленки более устойчивы к воздействию различных неблагоприятных факторов по сравнению со свободно плавающими формами бактерий, поэтому биопленки водопроводных труб могут являться постоянным очагом инфекционных агентов [1]. Доказано, что в состав биопленок, формирующихся на внутренней поверхности водопроводных труб, могут входить болезнетворные бактерии [2, 8]. Для здоровых людей биоплёнка в водопроводных трубах, как правило, не представляет серьёзной опасности, но для госпитализированных пациентов с ослабленной иммунной системой она может представлять угрозу здоровью и даже жизни [2, 10]. Поэтому весьма актуальным является вопрос об эпидемиологической значимости биопленки на внутренней поверхности водопроводных труб в медицинских организациях.

Цель работы оценить значение биопленок в водопроводных трубах медицинских организаций.

Задачи: на основании литературных данных ознакомиться со строением биоплёнки водопроводных труб; оценить значимость биопленок из водопроводных труб в возникновении заболеваний у человека; определить общее количество живых бактерий в водопроводной воде и в составе биопленки на внутренней поверхности водопроводных труб медицинской организации; определить наличие биопленок на поверхности смесителей и раковин в различных отделениях больницы.

Предмет исследования – детекция биопленок в водопроводных трубах и на поверхности смесителей и раковин медицинской организации.

Объект исследования – вода, собранная из водопроводного крана, биопленка из водопроводных труб, поверхности смесителей и раковин в различных отделениях лечебного учреждения.

Рабочая гипотеза: в биоплёнке водопроводных труб медицинской организации содержится много живых микроорганизмов, что может негативно отразиться на здоровье пациентов больницы.

Новизна работы: впервые проведено определение общего количества живых микроорганизмов в составе биопленки водопроводных труб медицинской организации, выявлено наличие биопленок на поверхности смесителей и раковин больницы.

Методы исследования: культуральный бактериологический метод посева на питательные среды, каталазный экспресс тест, экспресс тест для определения белка экзополисахаридного матрикса биопленок. Оборудование: стерильный тампон-ёршик; пробирки; питательная среда – мясо-пептонный агар; стерильный физиологический раствор; термостат; чашки Петри; клейкая лента, индикатор биопленок BFR peroxuofilm,

экспресс тест для определения белка экзополисахаридного матрикса биоплёнок «Авансепт БиоFilm Test».

1. Биопленка в системах водоснабжения

Биоплёнки в системах водоснабжения представляют собой специфическим образом сформированные сообщества микроорганизмов, прикрепленные к внутренним поверхностям трубопроводов и ёмкостей в системах водоснабжения [8]. Причем сами бактерии составляют лишь 5–35% массы биопленки, остальная часть — это межклеточный матрикс – слизисто-полимерный слой, который защищает бактерии от неблагоприятных воздействий окружающей среды и обеспечивает обмен информацией между клетками в микробном сообществе с помощью сигнальных молекул [4]. Патогенные микроорганизмы могут проникать в системы водоснабжения, например, из систем канализации при нарушении целостности ёмкостей для хранения воды или при возникновении протечек в сетях водоснабжения. Проникшие в водопровод микроорганизмы могут взаимодействовать с поверхностями в системе водоснабжения и входить в состав биоплёнки, поэтому биоплёнки могут стать важным фактором для развития патогенов в системах трубопроводов и в помещениях, оборудованных сантехническими приборами [7, 8].

Исследования показали, что биоплёнки в системах водоснабжения могут служить отличной средой для *Helicobacter pylori* – бактерий, вызывающих гастрит и язву желудка, *Legionella pneumophila* – бактерий, которые могут привести к легионеллезу и *Mycobacterium avium* – бактерий, которые могут вызывать инфекции легких [8]. Строение зрелой биоплёнки напоминает по структуре коралловые рифы, пласты клеток расположены слоями, формирующимися по мере роста биоплёнки. В биопленке присутствуют выросты, каналы и пещеры, обеспечивающие эффективную транспортировку питательных веществ внутрь и удаление продуктов жизнедеятельности в окружающую среду (Приложение А) [4].

Микроорганизмы чаще всего попадают в систему водоснабжения из водоемов. Многие из них развиваются в водопроводных трубах даже более интенсивно, чем в водоемах, так как здесь отсутствуют их естественные враги. У них есть приспособления, позволяющие им прикрепляться к поверхностям стенок и труб и тем самым противостоять потоку (Приложение Б).

Внутренние обрастания в трубах очень стойки и часто располагаются в труднодоступных местах. Поэтому бороться с данными обрастаниями очень трудно и ущерб, причиняемый ими, очень велик.

В водопроводных трубах основная роль в бактериальных обрастаниях принадлежит **железобактериям**. Они извлекают из воды растворенное закисное железо и окисляют его с образованием малорастворимого гидрата окиси железа. При обильном развитии железобактерий вода приобретает ржаво-красную окраску, металлический привкус и запах [7].

2. Этапы формирования биопленок в водопроводных системах

Процесс формирования биопленок в водопроводных системах включает следующие этапы.

Первый этап (адгезия) на поверхность новой ещё не заселённой микроорганизмами водопроводной трубы прикрепляются отдельные бактериальные клетки. Все микроорганизмы обладают способностью, выраженной в различной степени, прикрепляться к органическим и неорганическим поверхностям. После успешной адгезии у бактерий включаются механизмы синтеза белков и активации деления микроорганизмов с продукцией протеаз, амилаз и липаз, обеспечивающих развитие растущего бактериального сообщества за счет использования питательных веществ окружающей среды.

Второй этап (колонизация) – межклеточная адгезия и формирование микроколоний как отправная точка формирования сложной структуры биопленки; в эту фазу происходит транскрипция генов, необходимых для получения и выделения внеклеточных полисахаридов. Рост колоний иммобилизованных микроорганизмов происходит гораздо быстрее, чем в планктонном (свободном) состоянии. Прикрепившиеся к трубе микроорганизмы формируют большую колонию, так как слой полисахаридной слизи способствует «прилипанию» других бактерий и захвату питательных веществ, которые «проплывают» мимо них. Кроме того, полисахаридный матрикс создаёт отличный защитный слой, который сопротивляется химическому воздействию свободного хлора.

Третий этап (созревание) – процесс, требующий наличия особых «коммуникационных сигналов» между микроорганизмами, находящимися в биопленке, которые способствуют регулированию внутри биопленки экспрессии генов и белков, что позволяет клеткам контролировать собственную структуру, морфогенез и адаптацию клеток, и, в конечном счете, распределение видов микроорганизмов между собой.

Четвертый этап (дисперсия) выделение с поверхности зрелой биопленки планктонных микроорганизмов в окружающую среду. В отдельных участках биопленки периодически возникают очаги размножения, в результате чего в окружающую среду выделяются свободные (планктонные) клетки микроорганизмов. Этапы образования биоплёнок показаны в приложении В.

Считается, что единственным условием (помимо присутствия микроорганизмов) для образования биопленки является наличие относительно твердой и увлажненной поверхности неорганического или органического происхождения. Поскольку практически сразу после контакта новых водопроводных труб с водой начинается отложение органических веществ этот слой является, с одной стороны, источником питательных веществ необходимых для роста и деления бактерий, а с другой стороны, нейтрализует электрический поверхностный заряд, препятствующий неспецифической адгезии бактерий к поверхности. Когда

условия оптимальны, микроорганизмы формируют биопленки менее, чем за 7 дней (Приложение рис Г) [1, 4].

3. Значение биопленки водопроводных труб, кранов и раковин в возникновении заболеваний у человека

Биопленки на гидратированных поверхностях, таких как водопроводные трубы, раковины и краны, остаются серьезной проблемой в медицинских учреждениях. В водопроводных системах больничных корпусов существует множество возможностей для размножения бактерий и образования биопленок. Основная проблема с раковинами заключается в том, что они постоянно увлажнены, часто во влажной и хорошо защищенной среде формируется биоплёнка. Постоянное поступление питательных веществ, связанное с редким мытьем рук, а также бактерии с рук медицинских работников и утилизация различных жидкостей способствуют развитию микробных сообществ, содержащих патогенные организмы.

Распространенность микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью в системах стоков больниц хорошо задокументирована, как правило, это устойчивые к антибиотикам энтеробактерии (*Enterobacteriaceae*) [8, 9], ацинетобактерии (*Acinetobacter spp.*) и синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), которая выявляется в 40% во всех стоках отделений интенсивной терапии [8]. Котай с соавторами [9] для моделирования распространения бактерий из раковин для мытья рук использовали специальные геномодифицированные штаммы кишечной палочки (*E. coli*) содержащие зеленый флуоресцентный белок. Авторы задокументировали, что кишечная палочка попадает в сетчатый фильтр, что приводит к распространению патогена по поверхности раковины каплями. Также было показано, что короткое время застоя в раковинах дает возможность для развития биопленки, а застоявшаяся вода способствует расселению клеток из биопленки [8, 10]. Зона брызг в раковине также создает проблемы, поскольку поверхности и предметы поблизости раковины могут быть загрязнены патогенами из водопроводной системы при использовании раковины [10].

В многочисленных исследованиях изучалось влияние противомикробных веществ на устойчивость биопленок, образующихся в дренажных системах. Существует множество методов и продуктов для обеззараживания раковин и дренажных систем, но биопленки достаточно быстро отрастают после обработки. Обработка водопроводных систем хлорсодержащими средствами приводит к тому, что хлор воздействует только на внешний слой биоплёнки, а жизнеспособные микроорганизмы, находящиеся в более глубоких слоях, быстро размножаются и становятся источником повторного загрязнения воды [8, 10].

Внутрибольничные вспышки, связанные с биоплёнками в водопроводной системе, часто ассоциированы с легионеллёзом. К группе

риска относятся: пациенты старше 25 лет в стационарах, где активно применяется иммуносупрессивная терапия (отделения трансплантологии, онкологии, реанимации, ожоговые, хирургические и др.); больные диабетом, сердечно-сосудистыми заболеваниями, дыхательной недостаточностью; пациенты, лечение которых сопровождается интубацией и вентиляцией легких; летальность в данной группе пациентов может достигать 40–60%. Высокая способность легионеллы к адаптации в новых условиях жизни позволяет ей заселять искусственные водные системы, а резервуаром накопления возбудителя для случаев внутрибольничного легионеллеза выступают системы водоснабжения и медицинское оборудование [6]. В приложениях Д и Е показано распространение легионелл в водопроводных системах и механизм заражения легионеллами. Легионеллезная инфекция характеризуется развитием у пациентов полиорганной патологии, высокой летальностью и отсутствием специфической клинической симптоматики, позволяющей дифференцировать ее от тяжелых пневмоний, вызванных другими возбудителями. В закрытых водных системах биопленки из легионелл образуются на внутренней поверхности труб, в головках душа, водопроводных кранах, различных водяных фильтрах. Наиболее интенсивная колонизация легионеллой показана для резиновых и пластиковых поверхностей, однако коррозия металлов, весьма распространенная при эксплуатации систем горячего водоснабжения с металлическими трубами, также способствует размножению микроорганизма до концентраций, не свойственных природным экологическим нишам и опасных для человека [1, 2]. Исследование Тартаковского И. С. с соавторами показало, что при обследовании систем горячего водоснабжения в нескольких корпусах многопрофильных больниц в Москве в 92 (52%) пробах воды и смывах была выделена культура *Legionella pneumophila*, в том числе в 26 (28%) – из отделений у больных групп риска. Концентрация *L. pneumophila* превышала уровни риска в половине обследованных подразделений. Кроме того, в 9% из числа исследованных проб воды в ассоциации с *Legionella pneumophila* были выделены микроорганизмы, которые также являются возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Brevibacterium vesicularis*, *Micrococcus luteus*.

Видовое разнообразие выделенной микрофлоры свидетельствует о недостаточной эффективности профилактических мероприятий по обеспечению безопасности воды в медицинских учреждениях [6].

На данный момент полностью биопленки удалить с поверхности водопроводных труб невозможно, поэтому все меры предотвращения заболеваний, связанных с водопроводной водой, должны быть направлены на обеззараживание воды, проверку целостности водопровода и избегания застойных процессов [7].

4. Собственные исследования

4.1. Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в учебной лаборатории микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета Челябинского государственного университета. В экспериментах исследовали воду из водопроводного крана и соскобы с внутренней поверхности водопроводных труб одной из больниц г. Челябинска (название которой мы не имеем права разглашать в связи с отсутствием разрешения медицинской организации). Забор воды осуществляли с соблюдением правил асептики согласно СанПиН 1.2.3685-21 [5]. Для сбора биопленки стерильный тампон-ёршик вводили в водопроводный кран на 6-8 см, вращательными движениями соскабливали биопленку и смывали в 1 мл стерильного физиологического раствора (Приложение Ж).

Проводили определение общего количества живых бактерий, то есть общее микробное число (ОМЧ) в водопроводной воде методом глубинного посева 1 мл воды в питательный агар. Количество живых бактерий в биопленке из водопроводных труб определяли так же, но, предположив, что количество живых бактерий в биопленке может быть выше, чем в воде, уменьшили посевную дозу в 10 раз (0,1 мл) для облегчения подсчета колоний. Каждое исследование проводили в шести повторностях. После посева чашки с питательным агаром герметизировали клейкой лентой, во избежание случайной контаминации при открытии и для того, чтобы обезопасить дальнейшую работу. Инкубировали чашки с посевами в термостате (24 часа при температуре 37°C).

Определяли количество колониеобразующих единиц в миллилитре (КОЕ/мл) на каждой чашке и рассчитывали среднее арифметическое значение путем сложения числа КОЕ/мл на каждой чашке с последующим делением полученной суммы на количество исследований (6 чашек Петри).

Для определения наличия биоплёнок на поверхности раковин и кранов в палатах больницы проводили каталазный экспресс тест с использованием индикатора биопленок BFR peroxuifilm (производитель “БФР ЛАБС”, Россия) и экспресс тест для определения белка экзополисахаридного матрикса биоплёнок «Авансепт БиоFilm Test» (производитель ООО «У-ПЛАСТИК», Россия) в соответствии с инструкциями к наборам и методическими рекомендациями по индикации биоплёнок [3].

Всего исследовали 10 объектов: 5 раковин и 5 смесителей. Тесты были проведены в различных отделениях больницы. Если на исследуемой поверхности есть биоплёнка из живых бактерий, то индикатор на основе перекиси водорода взаимодействует с каталазой бактерий, в результате чего происходит реакция $H_2O_2 \rightarrow O_2$ (газ) + H_2O наблюдаемая визуально в виде образования пузырьков газа на исследуемом объекте.

В состав теста для определения белка экзополисахаридного матрикса биоплёнок входит хромоген. Если на исследуемой поверхности есть белки

матрикса биоплёнок, то поверхность тампона-зонда окрашивается в синий цвет, если нет, то остаётся жёлтой.

4.2. Результаты исследования

В результате проведенного исследования было установлено, что общее количество живых бактерий в 1 мл водопроводной воды в среднем составляло 1,66 КОЕ/мл, что соответствует требованиям СанПиН 1.2.3685-21 (таблица 1). Однако общее количество живых бактерий в 1 мл смыва из биопленки (15566,7 КОЕ/мл) в десять тысяч раз превышало количество живых бактерий в воде (Приложение 3 – И).

Таким образом, хлор, присутствующий в водопроводной воде эффективно подавляет размножение свободно плавающих (планктонных) форм микроорганизмов в водопроводной воде, но не оказывает губительного воздействия на бактерии, входящие в состав биопленки. Поэтому биопленка из живых микроорганизмов может служить потенциальным резервуаром возбудителей различных заболеваний.

Таблица 1

Общее количество живых бактерий в водопроводной воде и биопленке из водопроводных труб медицинской организации

№ исследования	КОЕ в 1 мл водопроводной воды	Нормы ОМЧ в воде по СанПиН 1.2.3685-21	КОЕ в 1 мл смыва биопленки
1	2	Не более 50 КОЕ/мл	14500
2	1		18200
3	3		14000
4	1		15600
5	1		17300
6	2		13800
Среднее арифметическое	1,66		15566,7

В результате исследования наличия биоплёнки на поверхности раковин и смесителей в больнице мы выявили наличие биоплёнки на всех 10 исследуемых объектах медицинской организации, как с помощью каталазного теста, так и теста на наличие белка матрикса (Таблица 2 и приложение К–Л). Таким образом, 100% исследуемых поверхностей содержали биоплёнку из живых микроорганизмов.

Наличие биоплёнки на поверхностях раковин и смесителей в различных отделениях медицинской организации

Название объекта	№ объекта	Наличие биопленки при использовании индикатора BFR peroxuifilm	Наличие биопленки при использовании теста на наличие белка матрикса «Авансепт БиоFilm Test»
Раковина	1	Реакция +	Реакция +
Смеситель	2	Реакция +	Реакция +
Раковина	3	Реакция +	Реакция +
Смеситель	4	Реакция +	Реакция +
Раковина	5	Реакция +	Реакция +
Смеситель	6	Реакция +	Реакция +
Раковина	7	Реакция +	Реакция +
Смеситель	8	Реакция +	Реакция +
Раковина	9	Реакция +	Реакция +
Смеситель	10	Реакция +	Реакция +

Выводы

1) На основании литературных данных мы выяснили, что строение зрелой биоплёнки напоминает по структуре коралловые рифы. Пласты клеток микроорганизмов расположены в биоплёнке слоями и окружены защитным матриксом.

2) По данным литературы биоплёнки водопроводных труб могут быть резервуаром бактерий, вызывающих заболевания у людей с ослабленной иммунной системой и источником легионелл, приводящих к тяжёлым заболеваниям и эпидемическим вспышкам даже среди здоровых людей.

3) Общее количество живых бактерий в исследованной нами водопроводной воде составило 1,66 КОЕ/мл, а число живых бактерий в составе биопленки на внутренней поверхности водопроводных труб было в 10 000 раз больше, чем в воде (15566,7 КОЕ/мл).

4) С помощью двух экспресс тестов (каталазного и на белки матрикса) выявлено наличие биоплёнок на поверхности всех исследованных смесителей и раковин в различных отделениях больницы, то есть 100% исследованных проб содержали биоплёнки с живыми бактериями.

Заключение

В процессе анализа литературных источников мы выяснили, что внутренние поверхности водопроводных труб всегда покрыты биоплёнкой.

Клетки микроорганизмов в ней защищены полимерным матриксом, поэтому хорошо выдерживают хлорирование. Обычно в состав биоплёнки водопроводных труб входят не опасные для человека железобактерии, но иногда в биоплёнке размножаются и патогенные бактерии, представляющие серьёзную угрозу для жизни и здоровья людей с ослабленным иммунитетом. Кроме того, в биоплёнке могут быть и легионеллы, приводящие к тяжёлым заболеваниям и эпидемическим вспышкам даже среди здоровых людей. По результатам наших исследований число живых бактерий в биопленке водопроводной трубы в десять тысяч раз превышает количество живых бактерий в водопроводной воде. При этом мы обнаружили биоплёнки, содержащие живые микроорганизмы на всех исследованных смесителях и раковинах в различных отделениях больницы. Таким образом, биоплёнка может служить постоянным источником живых бактерий в водопроводной воде. Поэтому мы разработали рекомендации для обычных людей и для медицинских работников, позволяющие (по нашему мнению) снизить количество случаев заражения микроорганизмами из биоплёнок водопроводных труб.

Основываясь на полученных нами данных и результатах исследований других авторов, мы можем предложить следующие рекомендации для снижения количества случаев заражения микроорганизмами из биоплёнок во внебольничных условиях и в лечебно-профилактических учреждениях:

Рекомендации для снижения количества случаев заражения микроорганизмами из биоплёнок во внебольничных условиях

- После отключения водопроводной воды нельзя сразу принимать душ!
- После отключения водопроводной воды нужно в течение 10–20 минут сливать воду, стараясь при этом не создавать капельный аэрозоль: направить струю воды сразу в сливное отверстие или перевести воду в лейку душа и положить лейку на дно ванны напротив сливного отверстия.
- Стараться избегать длительного вдыхания (более 30 минут) капельного аэрозоля в душевых кабинах и банях типа хамам (влажность в хамаме достигает 80%). В общественных банях, саунах, хамамах, бассейнах и других местах, где создаётся водяной аэрозоль необходимо чаще проводить проветривание помещений, обеззараживание смесителей и поверхностей растворами дезинфицирующих средств и обеззараживать воздух ультрафиолетовыми облучателями.
- Людям, перенёвшим оперативные вмешательства, страдающим сахарным диабетом и иммунодефицитом, даже после выписки из стационара, нельзя посещать хамам и длительно (более 30 минут) принимать ванну.

Рекомендации для снижения количества случаев заражения микроорганизмами из биоплёнок в лечебно-профилактических учреждениях

1) в отделениях, где лежат пациенты с ослабленным иммунитетом (отделения трансплантологии, онкологии, реанимации, ожоговые, хирургические и др.), больные сахарным диабетом, сердечно-сосудистыми заболеваниями и дыхательной недостаточностью необходимо избегать длительного застоя воды в стоках раковин. Для этого рекомендуется сливать воду как минимум в течение 20 минут, перед госпитализацией в палату пациентов;

2) пациентам с ослабленным иммунитетом нельзя принимать душ в общественных душевых кабинах;

3) душевые кабины в отделениях, указанных в 1 пункте, лучше заменить на ваннные комнаты с установленными в них ультрафиолетовыми облучателями воздуха и хорошей вентиляцией;

4) смесители и раковины в отделениях больниц нужно регулярно обрабатывать растворами дезинфицирующих средств;

5) системы кондиционирования воздуха в отделениях, где лежат пациенты с ослабленным иммунитетом, должны подвергаться регулярной обработке растворами дезинфицирующих средств;

6) воздушные фильтры в системах кондиционирования воздуха в отделениях, где лежат пациенты с ослабленным иммунитетом, должны заменять не реже 1 раза в квартал нужно ввести регулярный плановый микробиологический контроль за наличием легионелл в водопроводных системах и санитарно-технических средствах во всех отделениях лечебно-профилактических учреждений.

Список литературы

1) Доброхотский О.Н., Хомяков Ю.Н., Хомякова Т.И. Эпидемиологическое значение формирования биопленок в технических системах // Жизнь без опасностей. – №1. – 2009. – С. 78–80.

2) Лемещенко Е.Ю., Михальков М.А. Легионеллёз в лечебных учреждениях // Медицинская сестра. – №5. – 2013. – С. 13–16.

3) МР 4.2.0161–19 Методы индикации биологических плёнок микроорганизмов на абиотических объектах: Методические рекомендации. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. – 20 с.

4) Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – №3. – С. 99–109.

5) СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов

среды обитания» [Текст]. – Введ. 2021-03-01 – М.: Минздрав России, 2021 г. – 1143 с.

6) Тартаковский И.С., Груздева О.А., Шарапченко С.О., Габриэлян Н.И. Контаминация штаммам и *Legionella pneumophila* систем водоснабжения в многопрофильных стационарах // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Т. XIII. – №1. – 2021. – С. 125-130.

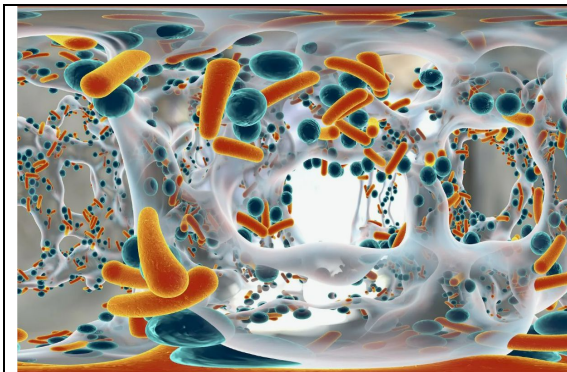
7) Черкасов С.В. Проблемы микробиологических загрязнений систем водоснабжения [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://wwtec.ru/index.php?id=234> (дата обращения: 15.05.2024).

8) Чупракова О.С. Биоплёнки в системах горячего водоснабжения // Научно-практический электронный журнал Аллея Науки. – №3(66) 2022 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://alley-science.ru/domains_data/files/2March2022/BIOPLYoNKI%20V%20СИСТЕМА Н%20ГОРЯЧЕГО%20ВОДОСНАБЖЕНИЯ.pdf (дата обращения: 15.05.2024).

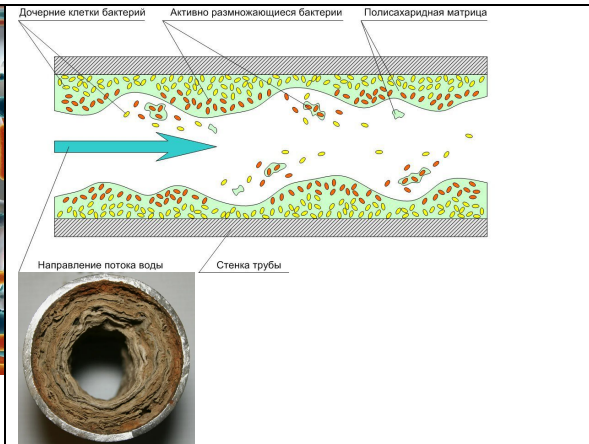
9) Kotay S, Chai W, Guilford W, Barry K, Mathers AJ. Spread from the sink to the patient: in situ study using green fluorescent protein (GFP)-expressing *Escherichia coli* to model bacterial dispersion from hand-washing sink-trap reservoirs // Appl Environ Microbiol. – Vol. 83. – 2017. P 3327–3416. doi: 10.1128/AEM.03327-16. (дата обращения: 15.05.2024).

10) Maillard JY., Centeleghe I. How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection / J.Y. Maillard, I. Centeleghe // Antimicrob Resist Infect Control. – 2023. –Vol. 12, 95. <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01290-4> (дата обращения: 15.05.2024).

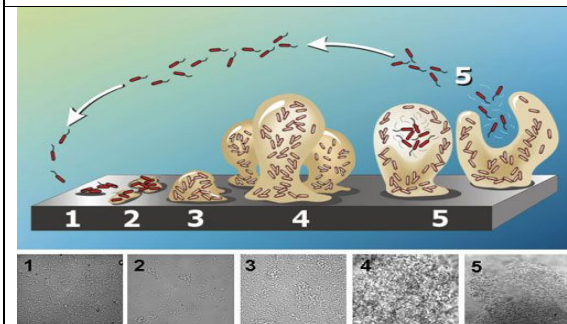
Приложения



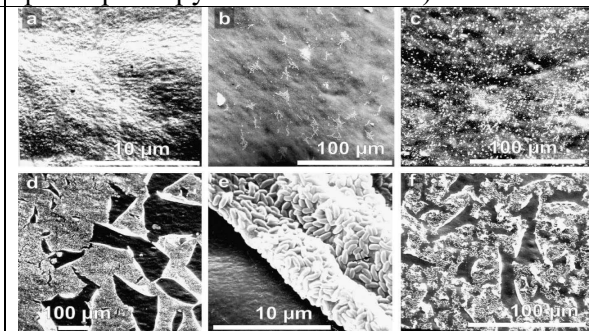
А. Структура бактериальных биопленок



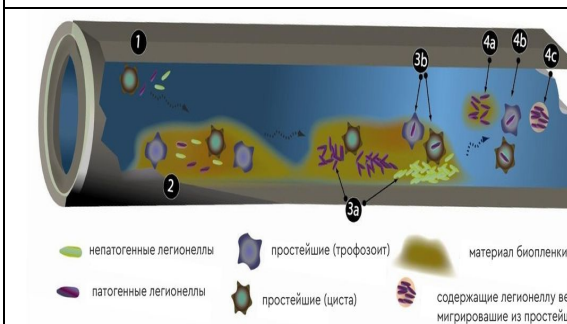
Б. Биопленка на внутренней поверхности водопроводной трубы (слева схема, справа фото среза трубы с биоплёнкой)



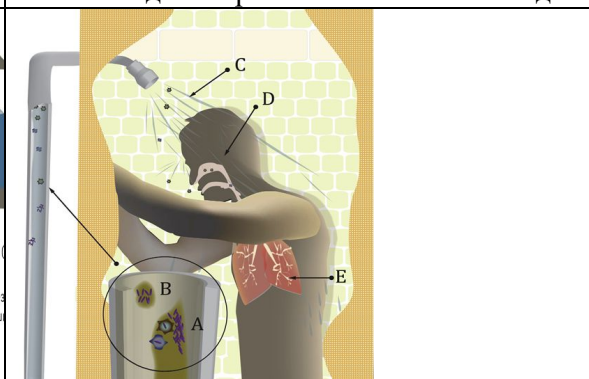
В. Этапы образования биопленки



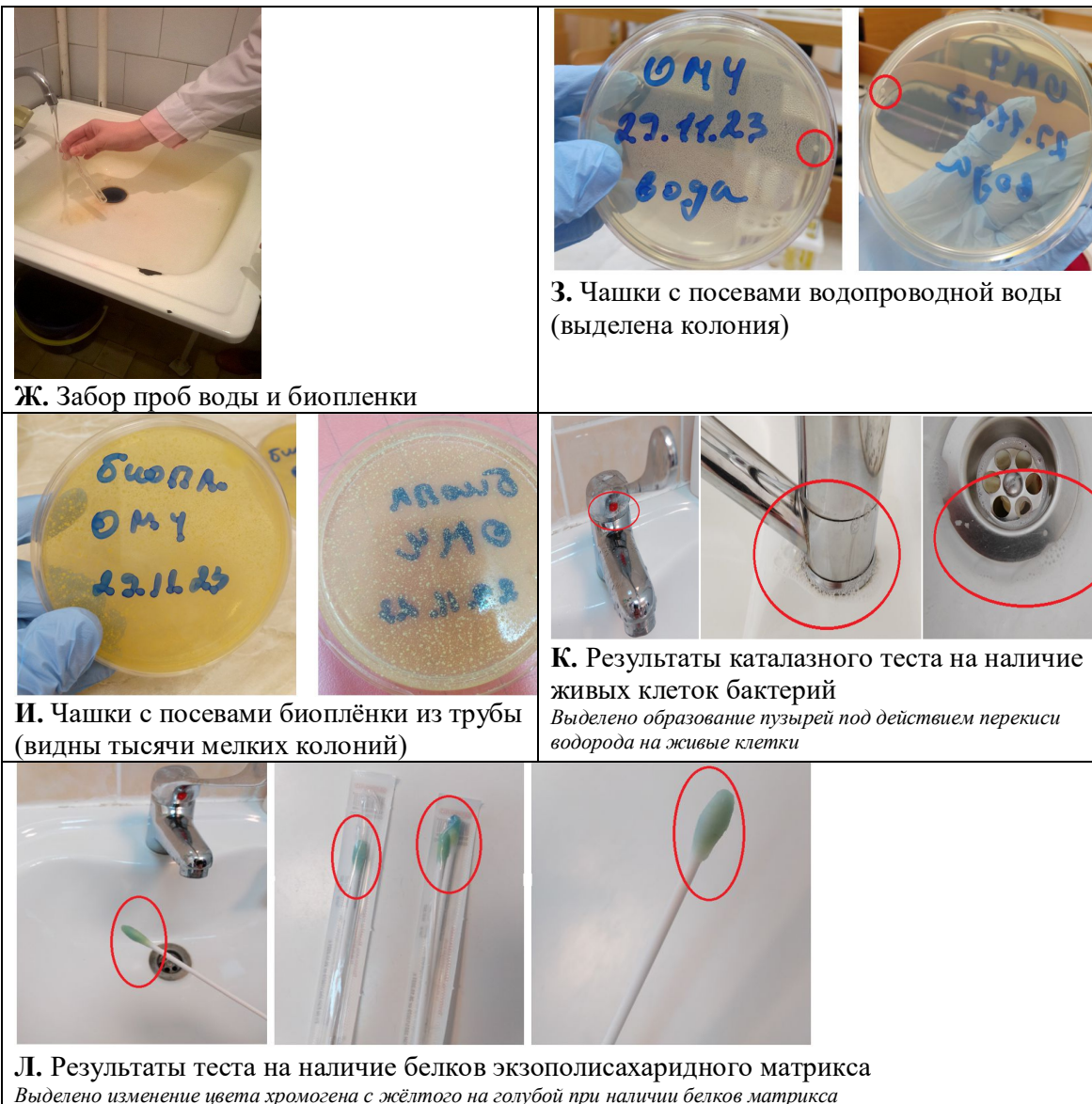
Г. Формирование биопленок в трубке из силикона диаметром 4 мм с питьевой водой



Д. Распространение легионелл в трубах водоснабжения



Е. Механизм заражения легионеллами



Ж. Забор проб воды и биопленки

З. Чашки с посевами водопроводной воды
(выделена колония)

И. Чашки с посевами биоплёнки из трубы
(видны тысячи мелких колоний)

К. Результаты каталазного теста на наличие живых клеток бактерий
Выделено образование пузырей под действием перекиси водорода на живые клетки

Л. Результаты теста на наличие белков экзополисахаридного матрикса
Выделено изменение цвета хромогена с жёлтого на голубой при наличии белков матрикса