

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОПЛЕНК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ИНВАЗИВНЫХ УСТРОЙСТВАХ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В УРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

С.Д. Конев<sup>1,2</sup>, Б.И. Асланов<sup>1</sup>, Н.К. Гаджиев<sup>2</sup>, И.А. Горгоцкий<sup>2</sup>, А.Г. Куляш<sup>2</sup>, К.В. Рожкован<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова. Россия, 190020, Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, д. 154

### Реферат

**Введение.** Проблема формирования биопленок возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, на инвазивных устройствах, применяющихся в медицинской практике, в настоящее время приобретает высокую актуальность. Изучение эпидемиологии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и разработка мер их профилактики не могут быть полноценными без исследования свойств биопленок, формируемых возбудителями данных инфекций. В научной литературе представлена информация о большом количестве методов индикации биопленок, однако на практике ряд вопросов, касающихся этой проблемы, требует дальнейшего решения.

**Цель** — Идентифицировать образование биопленок на инвазивных устройствах, применяемых в урологической практике, ассоциированных с риском развития инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

**Материалы и методы.** Проводился ретроспективный анализ данных 129 историй болезни пациентов урологического отделения с мочекаменной болезнью, прооперированных в ФГБОУ ВО СПбГУ КВМТ им. Н.И. Пирогова. С использованием метода O'Toole and Kolter (1998) проводилось выявление биопленок на фрагментах мочевых катетеров *in vitro*.

Выполнено моделирование и выявление биопленок на фрагментах мочевых катетеров, сформированных пятью клиническими изолятами.

Оценку формирования биопленок проводили путем измерения их оптической плотности.

**Результаты.** Проведенное исследование позволило констатировать, что на фрагментах мочевых катетеров происходит формирование биопленок, ассоциированных с риском развития инфекций мочевыводящих путей. Результаты бактериологического исследования длительно стоящих (более 7 дней) мочевых катетеров с выявленным ростом микроорганизмов в титре более  $10^5$  КОЕ/мл и характерными изменениями показателей оптической плотности свидетельствовали о формировании микробных биопленок на исследуемых медицинских устройствах. У пациентов с развившейся инфекцией мочевыводящих путей были выявлены биопленочные формы микроорганизмов, среди которых лидировали: *E. coli*, *P. aeruginosa* и *E. faecalis*.

**Заключение.** Исследования в области эпидемиологии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, неразрывно связаны с изучением биопленочных форм микроорганизмов и их биологических свойств. Примененный метод может быть использован для выявления биопленок возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в частности, при моделировании и при исследовании удаленных длительно стоящих у пациентов мочевых катетеров.

**Ключевые слова:** биопленка, инфекции мочевыводящих путей, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, оптическая плотность, мочевой катетер, инвазивные устройства, индикация.

### Введение

По данным ряда исследований на долю инфекций мочевыводящих путей (далее — ИМП) приходится от 20% до 40% инфекций, развивающихся во время госпитализации [3,11]. По результатам Общеευропейско-азиатского исследования распространенности инфекций (Pan Euro-Asian Prevalence), частота ИСМП в урологических отделениях, составляет от 5% до 14% [11].

В настоящее время высокую актуальность приобретает проблема формирования биопленок возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (далее — ИСМП) на инвазивных устройствах, применяющихся в медицинской практике [5,9].

Одним из основных биологических свойств возбудителей ИСМП, заслуживающих внимания на современном этапе изучения данной группы инфекций, является способность этиологических агентов

образовывать биопленки на биотических и абиотических поверхностях, в том числе на изделиях медицинского назначения [15].

Изучение эпидемиологии ряда ИСМП и разработка мер их профилактики неразрывно связано с необходимостью исследования биологических свойств биопленок, формируемых возбудителями данных инфекций на инвазивных медицинских устройствах.

Согласно обновленной в 2022 году стратегии профилактики инфекций мочевыводящих путей, связанных с катетеризацией в больницах скорой неотложной помощи до 44% ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, ассоциированы с инвазивными устройствами, применяющимися в урологической практике [14].

Катетеры, используемые в верхних отделах мочевыводящих путей, такие как мочеточниковый стент и нефростома, также связаны с высокой частотой катетер-

ассоциированных инфекций мочевыводящих путей (далее — КА-ИМП) и выделением микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. Патогенез развития КА-ИМП связан с тем фактом, что любой тип катетера колонизируется микроорганизмами, растущими в виде биопленок, которые могут вызывать инфекционный процесс. По данным ряда авторов сообщается, что от 42 до 82,9 % мочеточниковых стентов колонизируются к моменту их удаления [4, 6, 21]. Частота КА-ИМП у пациентов с нефростомой оценивается примерно в 3,5%, с вероятностью сепсиса до 1% [8, 20].

Эволюционно для выживания и существования в организме человека, а также в неблагоприятных условиях окружающей среды, включая действие известных антибиотиков, микроорганизмы образуют уникальную структурно-функциональную организацию в виде биопленки [16, 17].

Многие хронические инфекции, а также инфекции, возникновение которых связано с использованием медицинского имплантируемого оборудования, обусловлены бактериями, растущими в виде биопленок [7].

Бактерии могут попадать в мочевые пути из уретры во время установки катетера, через его просвет восходящим путем, при манипуляциях ухода, а также эндогенным путем из очагов хронической инфекции. Формированием биопленок объясняются особенности течения катетер-ассоциированной инфекции у урологических пациентов. Кроме того, обширные обрастания могут затруднять ток жидкости по катетеру, или вовсе выводить внедренное медицинское устройство из строя за счет инкрустации [2].

По имеющимся данным, до 80% инфекций связаны с бактериальными биопленками и трудно поддаются диагностике и лечению [12].

Изучение биопленок в настоящее время вызывает огромный интерес исследователей, главным образом в связи с тем, что этот способ существования бактерий создает серьезные проблемы в медицинской практике [19, 22].

В научной литературе представлена информация о большом количестве методов изучения, культивирования и индикации биопленок *in vitro* и *in vivo*, однако на практике ряд вопросов, касающийся этой проблемы, требует дальнейшего решения. Основная масса статей посвящена научным аспектам изучения формирования биопленок разными микроорганизмами на различных объектах и разработке методов, препятствующих формированию биопленок, и для их разрушения [10, 13, 18].

### Цель

Идентифицировать образование биопленок на инвазивных устройствах, применяемых в урологической практике, ассоциированных с риском развития ИСМП.

### Материалы и методы

В работе применялся метод O'Toole and Kolter (1998), основанный на способности красителя генциан фиолетового связываться с клетками и матриксом биопленок<sup>1</sup>. Основной особенностью

примененного нами метода являлась возможность его использования для идентификации биопленок непосредственно на инвазивных устройствах.

Формирование биопленок оценивали в ходе двух экспериментов: моделировании биопленок *in vitro* и идентификации биопленок на интраоперационно удаленных мочевых катетерах.

При моделировании биопленок *in vitro* в работе были использованы 5 клинических штаммов микроорганизмов из коллекции лаборатории ФГБОУ ВО СПбГУ Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* и *Proteus mirabilis*), полученные стандартным бактериологическим методом из посевов мочи и интраоперационно удаленных мочевых катетеров от пациентов с ИМП, в том числе отвечающих критериям ИСМП. В качестве субстрата для выращивания модельных бактериальных биопленок использовали внутреннюю и наружную поверхности 2-ходовых стандартных латексных (силиконизированных) катетеров Фолея. Биопленкообразование оценивали, измеряя оптическую плотность (далее — ОП) на микропланшетном спектрофотометре Thermo Scientific Multiskan GO при длине волны 590 нм [1].

**Выращивание биопленок.** Бактериальные биопленки выращивали на фрагментах катетеров Фолея длиной 1 см, рассеченных вдоль для обнажения внутренней поверхности. Все манипуляции с катетерами проводили в стерильных условиях. Бактериальные суспензии исследуемых изолятов *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis* и *P. mirabilis* разводили в стерильной питательной среде до стандартной мутности 0,5 по McFarland, затем по 1 мл вносили в стерильные пробирки типа эппендорф объемом 1,5 мл, в которые предварительно помещали фрагменты катетеров. Каждую бактериальную суспензию для получения достоверных результатов эксперимента вносили в три эппендорфа. В качестве отрицательного контроля использовался стерильный фрагмент катетера, погруженный в аналогичный эппендорф, заполненный 1 мл стерильной питательной среды. Культивирование проводили в условиях термостатирования при температуре 37°C в течение 48 часов.

**Окрашивание биопленок.** Для удаления планктонных микроорганизмов питательную среду из пробирок убирала с помощью дозатора со стерильными наконечниками с последующим двукратным промыванием стерильной водой в объеме равном объему вносимой питательной среды. Фрагменты катетеров перед окрашиванием помещали в стерильные эппендорфы, в которые затем вносили по 1 мл отфильтрованного 0,1% водного раствора генциан фиолетового. Фрагменты катетеров инкубировали с красителем в течение 12 минут при комнатной температуре. По истечении времени экспозиции краситель удалялся. Не связавшийся краситель тщательно смывали стерильной водой. Затем все фрагменты катетеров перемещали в новые сте-

<sup>1</sup>O'Toole G.A. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis / G.A. O'Toole, R. Kolter // Mol Microbiol. — 1998. — Vol. 28(3). — P.449-461. Doi: 10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x.

рильные эппендорфы объемом 1,5 мл, высушивали на твердотельном термостате с открытыми крышками в боксе абактериальной воздушной среды для удаления остатков влаги при температуре 60 °С в течение 15 минут.

**Выявление биопленок.** После высушивания фрагментов катетеров в каждую пробирку добавляли 1 мл 95% раствора этанола с последующей инкубацией в течение 12 минут при комнатной температуре с закрытыми крышками с периодическим вентилированием 3-5 секунд при 1500 об/мин через каждые 3 минуты. 125 мкл полученных окрашенных образцов растворов переносили с помощью дозатора со стерильными наконечниками в стандартный плоскодонный 96 луночный планшет. Этот этап исследования проводился максимально быстро с учетом возможного испарения спирта, с последующим измерением ОП раствора при длине волны 590 нм. Результаты интерпретировали согласно данным измерений. По уровню ОП в сравнении с отрицательным контролем определяли потенциальную способность к биопленкообразованию как «высокую», «умеренную» и «низкую» [1].

В части исследования, посвященного выявлению биопленок на инвазивных устройствах, исследовали фрагменты длительно стоящих нефростомических катетеров и мочеточниковых стентов, интраоперационно удаленных у 129 пациентов урологического профиля с мочекаменной болезнью (далее — МКБ), прооперированных за период с 06.2020 по 11.2023 гг., в ФГБОУ ВО СПбГУ «Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова».

Критериями включения пациентов в исследование являлись: наличие длительно стоящего (более 7 дней) инвазивного устройства; бактериологическое исследование интраоперационно удаленного инвазивного устройства; МКБ в анамнезе; операции на мочевыводящих путях по поводу МКБ в течение последнего года [2].

Для быстрой идентификации биопленок на интраоперационно удаленных инвазивных устройствах применялся метод O'Toole and Kolter, проведенный по описанной выше методике [1]. По уровню ОП в сравнении с отрицательным контролем проводили идентификацию биопленок с использованием референсных значений как «положительные», «сомнительные» и «отрицательные». Параллельно было выполнено бактериологическое исследование инвазивных устройств.

Отбор клинического материала от пациентов для бактериологического исследования производился согласно МУ 4.2.2039-05.4.2 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» [2].

Видовую идентификацию микроорганизмов осуществляли с помощью времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) согласно общепринятым методам бактериологического исследования [1]. †

#### Результаты и обсуждение

При моделировании и последующей идентификации биопленок были получены следующие средние значения результатов ОП для различных

штаммов микроорганизмов: *P. aeruginosa* — 0,221; *K. pneumoniae* — 0,206; *E. coli* — 0,132; *E. faecalis* — 0,112; *P. mirabilis* — 0,153; отрицательный контроль — 0,105; оптическая плотность 95% раствора этанола составила — 0,040 [1].

При сравнении показателей ОП с показателями ОП отрицательного контроля, установлено, что исследуемые изоляты *P. aeruginosa* (ср. знач. — 0,221) и *K. pneumoniae* (ср. знач. — 0,206) имели «высокий» потенциал к образованию биопленок. Средние значения ОП данных изолятов превышали значения ОП отрицательного контроля практически в 2 раза. ОП *P. mirabilis* (ср. знач. — 0,153) характеризовала потенциал данного изолята к биопленкообразованию как «умеренный». Среднее значения ОП данного изолята превышало значение ОП отрицательного контроля примерно в 1,5 раза.

Показатели ОП *E. coli* (ср. знач. — 0,132) и *E. faecalis* (ср. знач. — 0,112) не имели значимых отличий от ОП отрицательного контроля, что соответствовало «низкому» потенциалу биопленкообразования или его отсутствию [1].

При выявлении биопленок на длительно стоявших инвазивных устройствах, удаленных интраоперационно из 129 включенных в исследование пациентов 114 имели диагноз: камни почки N20.0, у 15 человек был диагноз: камни мочеточника N20.1. Мочеточниковый стент был установлен 69 пациентам, нефростома — 60. Медиана (Me) катетеродней составила 44 дня. Средний возраст пациентов: 51 ± 14 лет. Соотношение по полу: 84 женщины и 45 мужчин. Среднее количество койко-дней составило 4,86 ± 3,25.

У 53% пациентов при госпитализации имелись показания для бактериологического исследования мочи, из них у 77% был выявлен положительный результат микробиологического исследования. Среди возбудителей инфекций у пациентов с МКБ лидировали: *E. faecalis* — 23%, *E. coli* — 18% и *P. aeruginosa* — 9%. Бактериологическое исследование интраоперационно удаленных инвазивных устройств у 129 пациентов, выявило положительный рост у 69 больных. Лидирующими возбудителями инфекций были следующие микроорганизмы: *E. coli* — 22%, *E. faecalis* — 19%, *P. aeruginosa* — 11%, *K. pneumoniae* — 9%.

Важно отметить, что только лишь в 41 % случаев, результаты посева мочи у пациентов при госпитализации совпадали с результатами бактериологического посева инвазивных устройств, удаленных интраоперационно.

Бактериурию имели 33 из 129 пациента, из которых после оперативного вмешательства у 12 развилась ИМП связанная с оказанием медицинской помощи. В этиологической структуре возбудителей инфекций, обнаруженных на удаленных от данных пациентов инвазивных устройствах, преобладали штаммы: *E. coli* — 41%, *P. aeruginosa* — 25%, и *E. faecalis* — 9%.

При выявлении биопленок на длительно стоящих (более 7 дней) интраоперационно удаленных инвазивных устройствах, были получены следующие результаты измерения ОП (таблица 1).

**Таблица 1. Оптическая плотность (ОП) биопленок на инвазивных устройствах**  
 Table 1. The results of measuring the Optical density (OD) of biofilms on the invasive devices

Тип инвазивного устройства / Type of invasive device	Кол-во / Quantity	Средний показатель ОП / OD average value	Средний показатель отрицательного контроля ОП / OD average value of the negative control	Кол-во микроорганизмов на инвазивном устройстве (КОЕ/мл) / Quantity of microorganisms (CFU/ml)	Результат идентификации биопленки / Biofilm identification
Нефростома / Nephrostomy tube	26	0,125±0,035	0,054±0,004	≥10 <sup>5</sup> КОЕ/мл	положительный / positive
	16	0,078±0,010		<10 <sup>5</sup> КОЕ/мл	сомнительный / questionable
	18	0,058±0,008		не обнаружено роста факультативно-анаэробной микрофлоры / lack of facultative anaerobic microflora	отрицательный / negative
Мочеточниковый стент / Ureteral stent	18	0,095±0,014	0,046±0,003	≥10 <sup>5</sup> КОЕ/мл	положительный / positive
	9	0,067±0,006		<10 <sup>5</sup> КОЕ/мл	сомнительный / questionable
	42	0,052±0,007		не обнаружено роста факультативно-анаэробной микрофлоры / lack of facultative anaerobic microflora	отрицательный / negative

Показатели ОП биопленок на инвазивных устройствах в два раза превышали показатели ОП отрицательного контроля в тех случаях, когда по результатам бактериологического исследования устройств выявлялись микроорганизмы в титрах ≥ 10<sup>5</sup> КОЕ/мл.

Формирование биопленок может объяснять получение ложноотрицательных результатов при проведении бактериологических исследований направленных прежде всего на выявление планктонных форм микроорганизмов, или на неэффективность антибактериальной терапии назначенной с учетом профиля антибиотикочувствительности у выявленных ранее форм микроорганизмов *in vitro*.

Метод O'Toole and Kolter позволяет проводить оценку способности планктонной флоры образовывать биопленки на абиотических поверхностях, в том числе на микротитровальных планшетах и чашках Петри. При этом потенциал формирования биопленки можно оценить благодаря специфической способности генциан фиолетового связываться с элементами экзоклеточного мукополисахаридного матрикса. Примененная методика O'Toole and Kolter, позволяет быстро, в течение 30-40 минут выявлять биопленки непосредственно с удаленных мочевых катетеров и может служить дополнением к параллельно проводимым стандартными бактериологическими исследованиями у пациентов с катетер-ассоциированными инфекциями мочевыводящих путей [1].

#### Заключение

Крайне важным аспектом профилактики ИСМП ассоциированных с биопленочными формами микроорганизмов являются мероприятия, направленные на предотвращение формирования биопленок, в связи с чем на современном этапе становятся актуальными исследования по индикации и изучению биологических свойств биопленок — возбудителей данных инфекций.

Способность бактерий образовывать биопленки является существенным фактором их вирулентности. Инвазивные устройства, применяемые в урологической практике, безусловно являются объектом для колонизации условно-патогенными микроорганизмами, создавая дополнительный очаг обеспечивающий персистенцию инфекции.

В ходе применения метода O'Toole and Kolter, нами были обнаружены биопленки, сформированные наиболее частыми возбудителями ИМП на поверхностях инвазивных устройств, применяемых в урологической практике.

Примененный метод — может быть использован для выявления биопленок возбудителей инфекций как при моделировании, так и при исследовании удаленных длительно стоящих у пациентов мочевых катетеров.

Получены референсные значения показателей ОП, свидетельствующие о наличии биопленок на исследуемых инвазивных устройствах, соответствующие диагностически значимому титру ≥ 10<sup>5</sup> КОЕ/мл при бактериологическом исследовании данных устройств.

У пациентов с развившейся ИМП были выявлены биопленочные формы микроорганизмов, среди которых лидировали: *E. coli*, *P. aeruginosa* и *E. faecalis*.

Использование описанного метода имеет потенциал для лабораторной практики и позволяет быстро выявлять наличие биопленок на поверхности инвазивных устройств.

#### Список литературы / References

1. Метод быстрой идентификации биопленок на инвазивных устройствах, применяемых в урологической практике / Б.И. Асланов, С.Д. Конев, А.Г. Куляш, К.В. Рожкован, К.Р. Фахрутдинов // Профилактическая медицина. — 2022: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием 30 ноября — 01 декабря 2022 года /

под ред. А.В. Мельцера, И.Ш. Якубовой. — СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России. — 2022. — С. 22–26. [*Method fast identification of biofilms on invasive devices used in urological practice* / B.I. Aslanov, S.D. Konev, A.G. Kulyash, K.V. Rozhkovan, K.R. Fakhrutdinov // *Profilakticheskaya medicina = Preventive medicine* — 2022: collection of scientific papers of the All-Russian scientific and practical conference with the participation, November 30 — December 01, 2023. — P. 22–26. (in Russian)].

2. *Распространенность и этиология инфекций мочевыводящих путей, ассоциированных с биопленочными формами микроорганизмов, у пациентов с мочекаменной болезнью* / Б.И. Асланов, С.Д. Конеv, А.Г. Куляш, К.В. Рожкован, К.Р. Фахрутдинов // *Профилактическая медицина*. — 2023: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием 15–16 ноября 2023 года / под ред. А.В. Мельцера, И.Ш. Якубовой. — СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России. — 2023. — С. 21–26. [*Prevalence and etiology of urinary tract infections associated with biofilm forms of microorganisms in patients with urolithiasis* / B.I. Aslanov, S.D. Konev, A.G. Kulyash, K.V. Rozhkovan, K.R. Fakhrutdinov // *Profilakticheskaya medicina = Preventive medicine* — 2023: collection of scientific papers of the All-Russian scientific and practical conference with the participation, November 15–16, 2023. — P. 21–26. (in Russian)]

3. *Сурякова К.И.* Некоторые эпидемиологические аспекты инфекций мочевыводящих путей у пациентов госпиталя для ветеранов войн / К.И. Сурякова, Т.В. Сафьянова // *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. — 2019; 18(1): 105–111. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-105-111>. [*Suryakova K.I.* Some Epidemiological Aspects of Infections of Urinary Tract in patients of Altai Regional Hospital for Veterans of Wars / K.I. Sursyakova, T.V. Safyanova // *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019; 18(1): 105–111. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-105-111>. (in Russian)]

4. *Bouassida K.* Factors influencing bacterial colonization of double J ureteral stents: a prospective study / K. Bouassida, M. Marzouk, H. Ben Saad, N. Khalfaoui, M. Jaidane, J. Boukadida, A. Zairi // *Ann Med Surg (Lond)*. — 2023. — Vol. 86(1). — P. 153–158. Doi: 10.1097/MS9.0000000000001477.

5. *Caldara M.* Environmental, Microbiological, and Immunological Features of Bacterial Biofilms Associated with Implanted Medical Devices / M. Caldara, C. Belgiovine, E. Secchi, R. Rusconi // *Clin Microbiol Rev*. — 2022. — Vol. 35(2). Doi: 10.1128/cmr.00221-20.

6. *Chen Q* Drug resistance and influencing factors of biofilm bacteria in upper urinary calculi patients with double J stent indwelling / Q. Chen, J. Ye, X.B. Li, K. Zeng, S. Zeng // *BMC Urol*. — 2023. — Vol. 23(1). Doi: 10.1186/s12894-023-01339-x.

7. *Jamal M.* Bacterial biofilm and associated infections / M. Jamal, W. Ahmad, S. Andleeb, F. Jalil, M. Imran, M.A. Nawaz // *J Chin Med Assoc*. — 2018. — Vol. 81(1). — P. 7–11. Doi: 10.1016/j.jcma.2017.07.012.

8. *Kar M.* Characteristics of Bacterial Colonization and Urinary Tract Infection after Indwelling of Double-J ureteral Stent and Percutaneous Nephrostomy Tube / M. Kar, A. Dubey, Patel, S.S. T. Siddiqui, U. Ghoshal, C. Sahu // *J Glob Infect Dis*. — 2022. — Vol. 14(2). — P. 75–80. Doi: 10.4103/jgid.jgid\_276\_21.

9. *Khatoon Z.* Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention / Z. Khatoon, C.D. McTiernan, E.J. Suuronen, T.F. Mah, E.I. Alarcon // *Heliyon*. — 2018. — Vol. 4(12). Doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01067.

10. *Mandakhalikar K.D.* Extraction and quantification of biofilm bacteria: Method optimized for urinary catheters / K.D. Mandakhalikar, J.N. Rahmat, E. Chiong, K.G. Neoh, L. Shen, P.A. Tambyah // *Sci Rep*. — 2018. — Vol. 8(1). Doi: 10.1038/s41598-018-26342-3.

11. *Medina-Polo J.* Healthcare-associated urinary tract infections in urology / J. Medina-Polo, K.G. Naber, T.E. Bjerklund Johansen // *GMS Infect Dis*. — 2021. — Vol. 9. Doi: 10.3205/id0000074.

12. *Mirghani R.* Biofilms: Formation, drug resistance and alternatives to conventional approaches / R. Mirghani, T. Saba, H. Khaliq, J. Mitchell, L. Do, L. Chambi, K. Diaz, T. Kennedy, K. Alkassab, T. Huynh, M. Elmi, J. Martinez, S. Sawan, G. Rijal // *AIMS Microbiol*. — 2022. — Vol. 8(3). — P. 239–277. Doi: 10.3934/microbiol.2022019.

13. *Oriano M.* The Open Challenge of in vitro Modeling Complex and Multi-Microbial Communities in Three-Dimensional Niches / M. Oriano, L. Zorzetto, G. Guagliano, F. Bertoglio, S. van Uden, L. Visai, P. Petrini // *Front Bioeng Biotechnol*. — 2020. — Vol. 8. Doi: 10.3389/fbioe.2020.539319.

14. *Patel P.K.* Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute-care hospitals: 2022 Update / P.K. Patel, S.D. Advani, A.D. Kofman et al. // *Infect Control Hosp Epidemiol*. — 2023. — Vol. 44(8). — P. 1209–1231. Doi: 10.1017/ice.2023.137.

15. *Perrin K* Catheter-Associated Urinary Tract Infection (CAUTI) in the NeuroICU: Identification of Risk Factors and Time-to-CAUTI Using a Case-Control Design / K. Perrin, A. Vats, A. Qureshi, J. Hester, A. Larson, A. Felipe, A. Sleiman, J. Baron-Lee, K. Busl // *Neurocrit Care*. — 2021. — Vol. 34(1). — P. 271–278. Doi: 10.1007/s12028-020-01020-3.

16. *Rather M.A.* Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies / M.A. Rather, K. Gupta, M. Mandal // *Braz J Microbiol*. — 2021. — Vol. 52(4). — P. 1701–1718. Doi: 10.1007/s42770-021-00624-x.

17. *Singh S.* Bacterial exo-polysaccharides in biofilms: role in antimicrobial resistance and treatments / S. Singh, S. Datta, K.B. Narayanan, K.N. Rajnish // *J Genet Eng Biotechnol*. — 2021. — Vol. 19. Doi: 10.1186/s43141-021-00242-y.

18. *Townsend E.M.* CAUTI's next top model — Model dependent Klebsiella biofilm inhibition by bacteriophages and antimicrobials / E.M. Townsend, J. Moat, E. Jameson // *Biofilm*. — 2020. — Vol. 2. Doi: 10.1016/j.biofilm.2020.100038.

19. *Vickery K.* Special Issue: Microbial Biofilms in Healthcare: Formation, Prevention and Treatment / K. Vickery // *Materials (Basel)*. — 2019. — Vol. 12(12). Doi: 10.3390/ma12122001.

20. *Werntz R.P.* Prophylactic antibiotics following radical cystectomy reduces urinary tract infections and readmission for sepsis from a urinary source / R.P. Werntz, A. Martinez-Acevedo, H. Amadi, R. Kopp, J. La Rochelle, T. Koppie, C. Amling, K.P. Sajadi // *Urol Oncol*. — 2018. — Vol. 36(5). Doi: 10.1016/j.urolonc.2017.12.025.

21. *Zhang J.M.* Observations of Bacterial Biofilm on Ureteral Stent and Studies on the Distribution of Pathogenic Bacteria and Drug Resistance / J.M. Zhang, J. Liu, K. Wang, X. Zhang, T. Zhao, H.M. Luo // *Urol Int*. — 2018. — Vol. 101(3). — P. 320–326. Doi: 10.1159/000490621.

22. *Zhao A.* Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies / A. Zhao, J. Sun, Y. Liu // *Front Cell Infect Microbiol*. — 2023. — Vol. 13. Doi: 10.3389/fcimb.2023.1137947.

**Контакты:** Конеv Сергей Дмитриевич, Россия, 190020, Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, д. 154. E-mail: sd-konev@yandex.ru, +7-921-551-70-86.

**Сведения об авторах:**

*Конев Сергей Дмитриевич* — аспирант кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, начальник отдела — врач-эпидемиолог эпидемиологического отдела. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1919-4725>, SPIN-код: 7612-8940.

*Асланов Батырбек Исмелович* — доктор медицинских наук, заведующий кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, профессор. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6890-8096>, SPIN-код: 3787-6898.

*Гаджиев Нариман Казиханович* — доктор медицинских наук, врач-уролог, заместитель директора по медицинской части (урология), профессор кафедры госпитальной хирургии. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6255-0193>, SPIN-код: 5844-2520.

*Горгоцкий Иван Александрович* — кандидат медицинских наук, врач-уролог урологического отделения. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7860-0626>, SPIN-код: 2802-1186.

*Куляш Алексей Геннадьевич* — заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9916-6232>, SPIN-код: 6571-3112.

*Рожкован Константин Васильевич* — кандидат биологических наук, биолог лаборатории молекулярно-генетических исследований. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8403-8342>, SPIN-код: 2000-6703.

Материал поступил в редакцию 04.03.2024

*Конев С.Д., Асланов Б.И., Гаджиев Н.К., Горгоцкий И.А., Куляш А.Г., Рожкован К.В. Идентификация биопленок возбудителей внутрибольничных инфекций на инвазивных устройствах, применяемых в урологической практике // Профилактическая и клиническая медицина. — 2024. — № 1 (90). — С. 63–69. DOI: 10.47843/2074-9120\_2024\_1\_63*

## IDENTIFICATION OF BIOFILMS ON INVASIVE DEVICES USED IN UROLOGICAL PRACTICE

S.D. Konev<sup>1,2</sup>, B.I. Aslanov<sup>1</sup>, N.K. Gadzhiev<sup>2</sup>, I.A. Gorgotsky<sup>2</sup>, A.G. Kulyash<sup>2</sup>, K.V. Rozhkovan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Russia, 191015, Saint Petersburg, Kirochnaya Street, 41

<sup>2</sup>Clinic of High Medical Technologies n.a. N.I. Pirogov, Saint-Petersburg State University, Russia, 190020, Saint-Petersburg, Fontanka River Embankment, 154

### Abstract

**Introduction.** The issue of biofilm formation by infectious agents associated with the use of invasive medical devices in healthcare currently becomes highly relevant. Studying the epidemiology of healthcare-associated infections and developing measures for their prevention couldn't be comprehensive without investigating the properties of biofilms formed by the causative agents of these infections. The scientific literature provides information on a large number of methods for detecting biofilms; however, in practice, several issues related to this problem require further resolution.

**The aim of the study** was to identify the formation of biofilms on invasive devices used in urological practice associated with the risk of developing healthcare-associated infections.

**Material and methods.** A retrospective analysis of 129 patient medical records from the urology department, focusing on those with urinary stone disease, was conducted at the St. Petersburg State University, Clinic of High Medical Technologies n.a. N.I. Pirogov. Biofilm detection on fragments of urinary catheters in vitro was performed using the O'Toole and Kolter method (1998).

Biofilm modeling and detection on fragments of urinary catheters were carried out using five clinical isolates. The formation of biofilms was assessed by measuring their optical density.

**Results.** The study revealed the formation of biofilms on fragments of urinary catheters associated with the risk of urinary tract infections. Bacteriological analysis of long-standing (more than 7 days) urinary catheters with microbial growth exceeding 10<sup>5</sup> CFU/ml and characteristic changes in optical density values indicated the formation of microbial biofilms on the investigated medical devices. Patients with developed urinary tract infections showed biofilm forms of microorganisms, among which *E. coli*, *P. aeruginosa* and *E. faecalis* were predominant.

**Conclusion.** Research in the field of epidemiology of healthcare-associated infections is closely linked to studying biofilm forms of microorganisms and their biological properties. The applied method could be used to identify biofilms of infectious agents associated with the provision of medical care, in particular, in modeling and in studying long-standing urinary catheters removed from patients.

**Keywords:** biofilm, urinary tract infection, healthcare associated infection, optical density, urinary catheter, invasive devices, indication.

**Contacts:** Sergey Konev, Russia, 190020, Saint-Petersburg, Fontanka River Embankment, 154. E-mail: sd-konev@yandex.ru, +7 921-551-70-86.

### Information about authors:

*Sergey Konev* — MD, postgraduate student, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, Head of Epidemiology Unit. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1919-4725>, SPIN-code: 7612-8940.

*Batyrbek Aslanov* — MD, PhD, D.Sc. Head of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology Department, Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6890-8096>, SPIN-code: 3787-6898.

*Nariman Gadzhiev* — MD, PhD, D.Sc., urologist, Deputy Director of the Medical department (Urology), Professor of the Department of Hospital Surgery of St. Petersburg State University. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6255-0193>, SPIN-code: 5844-2520.

*Ivan Gorgotsky* — MD, PhD, urologist, urological department. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7860-0626>, SPIN-code: 2802-1186.

*Alexey Kulyash* — MD, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9916-6232>, SPIN-code: 6571-3112.

*Konstantin Rozhkovan* — PhD (Biology), biologist, Laboratory of Molecular Genetic Research. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8403-8342>, SPIN-code: 2000-6703.

Accepted 04.03.2024

*Konev S.D., Aslanov B.I., Gadzhiev N.K., Gorgotsky I.A., Kulyash A.G., Rozhkovan K.V. Identification of biofilms on invasive devices used in urological practice // Preventive and clinical medicine. — 2024. — No. 1 (90). — P. 63–69 (in Russian). DOI: 10.47843/2074-9120\_2024\_1\_\_63.eng*