



**BIOFILM IN HET WERKKANAAL
VAN MEDISCHE INSTRUMENTEN EN IN LEIDINGEN**



FIGUUR 1. Biofilm op een oppervlak
Bron: Pacific Northwest National Laboratory

SAMENVATTING

Biofilm ontstaat door een accumulatie van microbiële soorten zoals bacteriën en schimmels. Deze kunnen zich ophopen op een oppervlak en zo infecties veroorzaken. Biofilms zijn erg resistent tegen externe invloeden, zoals desinfectie. Ze vormen dan ook een bron van groeiende bezorgdheid inzake ziekenhuishygiëne. De aanwezigheid van biofilms in de werkkkanalen van medische instrumenten en in waterleidingen kan het leven van patiënten in gevaar brengen. Chloordioxide is werkzaam gebleken tegen biofilm en kan potentieel worden gebruikt om de vorming van biofilm in werkkkanalen van instrumenten en pijpleidingen te beheersen en te voorkomen.

INLEIDING

Biofilm is een laag micro-organismen die zich heeft vastgehecht aan een oppervlak en die deel uitmaakt van een matrix van polysaccharidemateriaal, bekend als extracellulaire polymere stoffen (EPS). Deze matrix, geproduceerd door de micro-organismen zelf, bestaat voornamelijk uit polysacchariden, eiwitten, nucleïnezuren en lipiden¹, en biedt het organisme stabiliteit en bescherming. Biofilm wordt gevormd door verschillende soorten bacteriën en schimmels². De micro-organismen zelf nemen echter slechts een klein deel van de totale biofilm (minder dan 10%) voor hun rekening, waarbij de matrix meer dan 90% van de structuur uitmaakt.³ **FIGUUR 1** toont biofilm op een oppervlak.

De matrix vormt een beschermende barrière die de micro-organismen in de matrix beschermt tegen uitdroging en biocidale invloeden¹ en tegen veel andere externe milieufactoren die de micro-organismen in hun planktonische toestand (d.w.z. vrij aanwezig in een oplossing) kunnen beschadigen of vernietigen.³ Er zijn aanwijzingen dat in sommige gevallen bepaalde biociden, zoals alcohol, eiwitten zelfs aan het oppervlak kunnen binden. Het is aangetoond dat het blootstellen van gecontamineerde oppervlakken aan alcohol de aanhechting van bacteriële proteïnen verhoogt en de reinigingsproblemen vergroot.⁴

Biofilms kunnen zich vormen op een grote verscheidenheid aan oppervlakken, waaronder medische instrumenten die permanent in het lichaam zijn ingebracht, of industriële waterleidingen en drinkwaterleidingen.⁵

De biofilm van een watersysteem is zeer complex, is samengesteld uit filamenteuze bacteriën en bevat corrosieproducten, kleimateriaal en zoetwaterkieselwieren. Biofilms op medische toestellen blijken uit één enkel coccoïde organisme en de bijbehorende EPS-matrix te bestaan (de extracellulaire polymere stoffen).⁵

Biofilmvorming in de werkkkanalen van medische instrumenten zoals endoscopen en in de leidingen van desinfectiesystemen van wasmachines en andere watersystemen vormt een grote bron van bezorgdheid in de gezondheidszorg. De biofilm vormt een bedreiging voor zowel patiënten als het medische personeel.

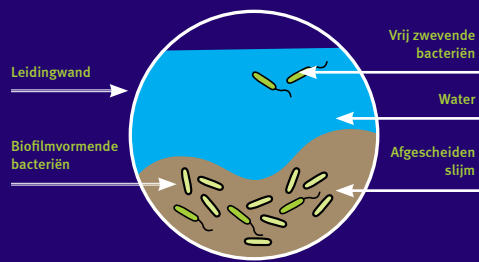
BIOFILM IN HET WERKKANAAL VAN MEDISCHE INSTRUMENTEN

De aanwezigheid van biofilm in de werkkkanalen van endoscopen is onderzocht in een groot aantal studies. Endoscopen zijn bijzonder moeilijk te ontsmetten omdat ze warmtegevoelig zijn en daarom niet met behulp van hitte kunnen worden gesteriliseerd. Een veelgebruikte methode voor het ontsmetten van endoscopen met werkkkanalen is een high-level desinfectie met behulp van een automatische endoscoopwasmachine.

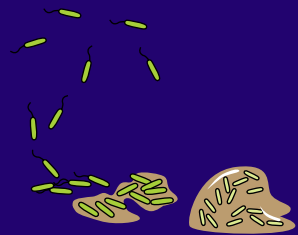
High-level desinfectie is slechts één onderdeel van het reinigings- en desinfectieproces. **FIGUUR 2** toont de volledige reinigings- en desinfectiecyclus die medische toestellen, zoals endoscopen, ondergaan. In het proces zijn zowel reinigen, spoelen, drogen en opslaan belangrijke factoren. Als deze stappen niet correct worden uitgevoerd, kan de high-level desinfectie in gevaar komen en kunnen de micro-organismen ongemoeid blijven, met biofilmvorming tot gevolg. Volgens Pajkos et al. (2004) kan de aanwezigheid van biofilm de decontaminatie vóór het hergebruik doen mislukken doordat de biofilm de micro-organismen beschermt tegen de werking van het desinfectiemiddel. Pajkos et al. (2004) toonden aan dat van de 13 endoscopen die naar een endoscoop-servicecentrum waren gestuurd, er vijf (38,5%) biofilm in de afzuig- en biopsiekanalen bleken te hebben.⁶ Alfa et al. (2017) stelden vast dat flexibele endoscopen biofilm kunnen ontwikkelen en vast materiaal kunnen accumuleren in de werkkkanalen van het apparaat na herhaalde cycli van gebruik bij patiënten en daaropvolgende reiniging en desinfectie.⁷ De gedetecteerde aanwezigheid van biofilm wijst erop dat de huidige methoden voor de reiniging en desinfectie van endoscopen ontoereikend zijn en dat deze de contaminatie niet doeltreffend verwijderen. Sciortino et al.⁸ (2004) evalueerden methoden voor de reiniging en desinfectie van endoscopen met behulp van een detectiesysteem voor adenosinetrifosfaat (ATP). Zij concludeerden dat de interne kanalen van oudere endoscopen onvoldoende werden gereinigd om biofilms te verwijderen. Schade en defecten aan het oppervlak van het instrument werden in verband gebracht met de ophoping van micro-organismen en slib.



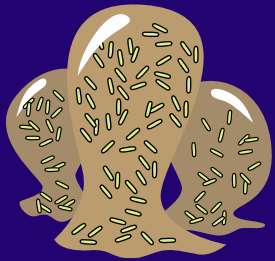
FIGUUR 2. Reinigings- en desinfectiecyclus van medische toestellen als endoscopen



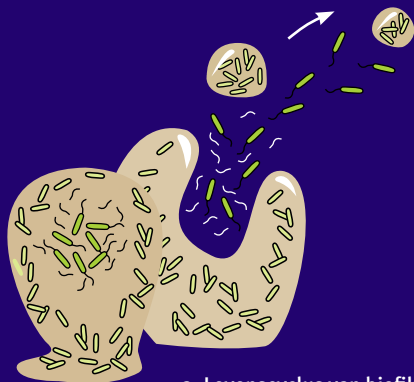
Figuur 3. Biofilmvorming in een waterleiding
Bron: Centers for Disease Control and Prevention



1: Aanhechting



2: Groei



3: Levenscyclus van biofilm

Figuur 4. Biofilm life cycle
Bron: Montana State University

Onvoldoende spoelen en drogen van het apparaat na desinfectie draagt bij tot de vorming van biofilm in de werkkkanalen van de endoscoop. Vocht dat na onvoldoende spoelen en drogen in de endoscoopkanalen achterblijft, kan bijdragen tot de ontwikkeling van biofilm.⁹ Dit vocht is allicht een restant van het water dat door het geautomatiseerde reinigungs- en desinfectiestysteem stroomt en watergedragen micro-organismen bevat, zoals *Pseudomonas aeruginosa* en *Mycobacterium*-soorten.⁹ Een vochtig milieu zorgt voor optimale omstandigheden voor de micro-organismen om te groeien en een biofilm te vormen. Deze biofilms houden micro-organismen bijeen die zich vermenigvuldigen en zo de structuur van de biofilm uitbreiden. Het gecontamineerde water dat door het automatische reinigungs- en desinfectiestysteem wordt gepompt en dat wordt gebruikt om de endoscopen na het desinfecteren te spoelen, kan de toestellen opnieuw contamineren. Ofstead et al. (2018) beoordeelden drie ziekenhuizen op hun praktijk inzake het reinigen, desinfecteren, drogen en bewaren van endoscopen.¹⁰ Bij 22 van de 45 endoscopen (49%) werd vloeistof aangetroffen. In de achtergebleven vloeistof werden significant hogere adenosinetrifosfaatsniveaus (ATP) aangetroffen ($P < .01$), wat wijst op de aanwezigheid van levende organismen. De meeste endoscopen (71%) bevatten microbiële groei, waaronder schimmels en watergedragen pathogenen. Bij 69% van de patiëntklare endoscopen werden ATP-niveaus boven het achtergrondniveau (= 40 RLU's - relative light units) aangetroffen. Bij 22% van de endoscopen werden zeer hoge ATP-niveaus (= 200 RLU) vastgesteld.

Bacteriën die aan het einde van de reinigungs- en desinfectiecyclus achterblijven in het vochtige milieu van het geautomatiseerde systeem, kunnen zich vermenigvuldigen en biofilms vormen. Bacteriën die vrijkomen uit deze biofilms verontreinigen het systeem verder, wat leidt tot herbesmetting van het laatst gebruikte spoelwater en mogelijk ook tot herbesmetting van de gedesinfecteerde endoscopen.¹¹ Het is daarom van cruciaal belang dat het spoelwater dat gebruikt wordt voor het spoelen van apparaten na de desinfectie vrij is van microbiële contaminatie, om te voorkomen dat de desinfectie in gevaar komt. Spoelen met microbenvrij water in de reinigungs- en desinfectiecyclus is van even groot belang als een adequate high-level desinfectie.

BIOFILM IN GEAUTOMATISEERDE REINIGINGS- EN DESINFECTIESTYSTEEM VOOR ENDOSCOPEN EN IN LEIDINGEN

Biofilm wordt vaak aangetroffen in pijpleidingen, zowel in industriële als in drinkwatersystemen. **Figuur 3** geeft een visuele weergave van biofilm in een leiding. Biofilms in waterdistributiesystemen kunnen leiden tot corrosie van de leidingen en tot gezondheidsrisico's.

Biofilm kan zich ook vormen in de leidingen van geautomatiseerde reinigungs- en desinfectiesystemen voor endoscopen. Hierdoor ontstaat gecontamineerd spoelwater waarmee endoscopen na desinfectie worden gespoeld. Bovendien kan gecontamineerd water dat in de reinigungs- en desinfectiecyclus wordt gebruikt, de werkzaamheid van de reinigungs- en desinfectieoplossingen in gevaar brengen. Dit kan leiden tot herbesmetting of ontoereikende ontsmetting van het apparaat, dat bij ongeschikt drogen en bewaren gunstige groeiomstandigheden voor micro-organismen kan bieden en kan leiden tot biofilmvorming en -expansie. Volgens een onderzoek van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) in Nederland van 2008 controleert minder dan 5% van de ziekenhuizen routinematig de kwaliteit van het water dat gebruikt wordt voor het spoelen van endoscopen in automatische reinigungs- en desinfectiesystemen.¹¹ Hieruit valt af te leiden dat weinig belang wordt gehecht aan de waterkwaliteit. Automatische endoscoopwasmachines zijn op zich moeilijk te desinfecteren. Dat ligt aan hun complexe ontwerp en het feit dat bepaalde oppervlakken vochtig kunnen blijven, wat bacteriële proliferatie en biofilmvorming in de kanalen in de hand kan werken. Endoscopen die gedesinfecteerd zijn in besmette wassystemen kunnen tijdens het spoelen opnieuw verontreinigd raken met bacteriën die vrijkomen uit biofilms die zich in de leidingen van de machine bevinden.¹²

Om te voorkomen dat het water dat door de leidingen van de wasmachine stroomt, gecontamineerd raakt en vervolgens de endoscopen weer contamineert, is het van groot belang om de wasmachine vrij te houden van microben. Endoscoopwasmachines moeten regelmatig gedesinfecteerd worden om de vorming en ophoping van biofilm te voorkomen.

Mahapatra et al. (2015) verkregen 187 bacteriële isolaten uit 45 waterstalen van drinkwaterleidingen. Uit zeven stalen werden individuele bacteriën geïsoleerd. Bij de overige 38 stalen werden verschillende bacteriecombinaties aangetroffen. De geïdentificeerde isolaten waren *Acinetobacter spp.* (44), *Pseudomonas spp.* (41), *Klebsiella spp.* (36), *E. coli* (22), *Staphylococcus aureus* (14), *Aeromonas spp.* (2) en *Enterococcus spp.* (28). In 19,78% (37) van de isolaten werd een biofilm aangetroffen.¹³ Ze stelden vast dat de grootste veroorzakers van biofilm de *Pseudomonas*- en *Acinetobacter*-soorten bleken te zijn.

Deze bacteriële cellen kunnen zich aan het oppervlak van de leidingen hechten, biofilm vormen en vervolgens in het water terecht komen.¹³ **Figuur 4** toont de hechting en de groei van biofilm en het daaropvolgende vrijkomen in de omgeving. Aquatische microben zijn goed aangepast aan het lage nutriëntenniveau en de lage watertemperatuur van het distributiesysteem en kunnen gemakkelijk overleven wanneer ze in het water terecht komen. De organismen die in biofilms worden aangetroffen, hebben de neiging om resistenter te worden tegen antibiotica en bepaalde desinfectiemiddelen¹³ en vormen hierdoor een reservoir van ziekteverwekkende organismen die, wanneer ze vrijkomen uit biofilm, infecties kunnen verspreiden. Drinkwaterdistributiesystemen herbergen een diverse microbiële gemeenschap die op de leidingwanden leeft waarop biofilm ontstaat.¹⁴ Met name patiënten met een verzwakt immuunsysteem kunnen een verhoogd risico lopen op besmetting door gecontamineerd water.

Een van de weinige manieren om biofilm uit watersystemen te verwijderen en te voorkomen is het gebruik van chloordioxide, dat in lage doses aan het water wordt toegevoegd.¹³

CONCLUSIE

Biofilm is een groeiend probleem in de medische sector. Biofilm kan zich immers snel vormen en verspreiden in de werkkkanalen van medische instrumenten. Dat geldt met name voor endoscopen en leidingen van automatische endoscoopwasmachines. De aanwezigheid van biofilm in deze werkkkanalen is grotendeels te wijten aan respectievelijk onjuiste reinigings- en desinfectiemethoden, en fysieke problemen bij de desinfectie. Bijzondere aandacht moet worden besteed aan de reiniging en desinfectie van endoscopen, aangezien de werkkkanalen van dergelijke instrumenten micro-organismen bevatten. Deze kunnen zich vermenigvuldigen en een biofilm vormen als de instrumenten verkeerd gedesinfecteerd of opgeslagen worden. Als de leidingen verontreinigd zijn met biofilm, kunnen bacteriën die vrijkomen in de waterstroom het instrument, dat na de desinfectie wordt gespoeld, weer verontreinigen en zo het drinkwater contamineren, waardoor het een bron van besmetting kan worden. Om de vorming van biofilm te beheersen, moet een rigoureuze decontaminatiemethode worden uitgewerkt. De studie uitgevoerd met chloordioxide die in dit artikel wordt gepresenteerd, toont aan dat deze stof mogelijk een oplossing kan bieden voor dit groeiende probleem. Hoewel verder onderzoek nodig is, zijn deze eerste resultaten veelbelovend en geven ze een goede indicatie van het potentieel van chloordioxide bij de vernietiging en de voorkoming van biofilm.

CHLOORDIOXIDE EN BIOFILM

Chloordioxide (ClO₂) is werkzaam gebleken tegen biofilm bestaande uit *Pseudomonas aeruginosa*, gekweekt in leidingen die de interne kanalen van endoscopen simuleren. De stof is ook werkzaam gebleken voor het verminderen van de hoeveelheden eiwitten en polysachariden die de biofilmstructuur vormen.

In de studie uitgevoerd door het laboratorium Biotech-Germade¹⁵ conform EN ISO 15883¹⁶ werden stukken slang gebruikt om de interne kanalen van endoscopen te simuleren. De studie had tot doel, na te gaan of chloordioxide kan worden gebruikt als curatieve en/of preventieve maatregel in de strijd tegen biofilm. De studie beoordeelde de werkzaamheid van chloordioxide over een periode van vier weken (20 werkdagen). De werkzaamheid van twee behandelingen (preventief en curatief) werd beoordeeld door het aantal levensvatbare bacteriën, residuele eiwitten en polysachariden per oppervlakte-eenheid van aanvankelijk gecontamineerde slangen en aanvankelijk steriele buizen te analyseren om respectievelijk de verwijdering en de beheersing van biofilm te beoordelen. Elke testlijn bestond uit twee slangen die aanvankelijk gecontamineerd waren met een biofilm bestaande uit *Pseudomonas aeruginosa* en één slang die aanvankelijk steriel was. De eerste testlijn werd, als preventieve maatregel, 10 keer per dag continu behandeld met een oplossing van 10 liter op basis van vijf delen per miljoen (ppm) ClO₂.

De continue stroom van de ClO₂-oplossing door de leiding leidde tot een snelle vermindering van het aantal levensvatbare bacteriën dat zich aan het oppervlak vasthecht. Het aantal levensvatbare bacteriën dat zich aan het geteste oppervlak vasthechtte, daalde van 2,7 x 10⁹ CFU/cm² naar minder dan 1,0 x 10² CFU/cm² na iets meer dan twee dagen (56 uur) (d.w.z. na 30 x oplossing van 10 liter van 5 ppm ClO₂-oplossing). Deze preventieve behandeling resulteerde ook in een vermindering van de hoeveelheid eiwitten en polysachariden. De resthoeveelheid eiwitten en polysachariden daalde van 44,5 µg/cm² en 13,8 µg/cm² naar 2,2 µg/cm² en 0,5 µg/cm² na 392 uur en bleef stabiel tot het einde van de testperiode met een gemiddelde waarde van ~1,4 µg/cm² voor eiwitten en ~1,5 µg/cm² voor polysachariden. Deze herhaalde behandeling met een oplossing van 5 ppm ClO₂ resulteerde in een vermindering van het aantal levensvatbare bacteriën van het type *P. aeruginosa* en een vermindering van eiwitten en polysachariden, waardoor de biofilm in de slangen onder controle kon worden gehouden.

De tweede testlijn werd tweemaal per dag behandeld met een oplossing van 50 ppm ClO₂ gedurende vijf minuten als curatieve maatregel. De ClO₂-oplossing bij deze curatieve beoordeling werd toegevoegd aan het leidingwater en gebruikt om de leidingen te spoelen. Een behandeling twee keer per dag met 50 ppm ClO₂ resulteerde in de eliminatie van biofilmbestanddelen. Het aantal levensvatbare bacteriën daalde van 5,7 x 10⁹ CFU/cm² naar minder dan 5 CFU/cm² in minder dan 120 uur. Bij langere contacttijden werden geen levensvatbare bacteriën meer aangetroffen op de aanvankelijk gecontamineerde oppervlakken van de slangen. Deze curatieve behandeling verminderde tevens het aantal eiwitten en polysachariden. Een behandeling gedurende vijf minuten en twee keer per dag met een oplossing van 50 ppm ClO₂ zorgt voor een totale en onomkeerbare eliminatie van biofilmbestanddelen (afzetting van bacteriën, eiwitten en polysachariden). Deze behandeling toonde aan dat chloordioxide kan worden gebruikt om de vorming van biofilm te beheersen.

De derde testlijn werd niet behandeld met chloordioxide, werd 10 keer per dag voorzien van 10 liter leidingwater en was uitgerust met een filter van 0,2 µm. die bacterievrij water creëert. Deze testlijn werd gebruikt als referentiesysteem voor de productie van bacterievrij water. De filter maakte het mogelijk om de microbiële kwaliteit van het geproduceerde water te beheersen. Echter, ondanks de aanwezigheid van de filter bleken afgenomen waterstalen niet vrij te zijn van microbiële contaminatie.

De vierde testlijn werd niet behandeld met chloordioxide maar werd 10 keer per dag voorzien van 10 liter gefilterd leidingwater en diende als controlemiddel. Bij de test uitgevoerd met de controlelijn bleek de biofilm gedeeltelijk te zijn verwijderd als gevolg van een wegspoeeffect van het water dat door de buis circuleert. De resterende bacteriën konden echter nabijgelegen oppervlakken koloniseren of het circulerende water verontreinigen.

De twee scenario's met chloordioxide (testlijn één en testlijn twee) tonen aan dat biofilm werkzaam kan worden verwijderd en geëlimineerd uit leidingen door deze te spoelen met een chloordioxide-oplossing.



¹Flemming and Wingender (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9): 623-33.

²Lynch and Robertson (2008). Bacterial and Fungal Biofilm Infections. *Annual Review of Medicine*, 59(1): 415-28.

³Garrett et al. (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*, 18(9): 1049-56.

⁴Costa et al. (2017). Alcohol fixation of bacteria to surgical instruments increases cleaning difficulty and may contribute to sterilization inefficacy. *American Journal of Infection Control*, 45(8): 81-86.

⁵Donlan R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9): 881-90.

⁶Pajkos et al. (2004). Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and decontamination? *Journal of Hospital Infection*, 58(3): 224-29.

⁷Alfa et al. (2017). A novel polytetrafluoroethylene-channel model, which simulates low levels of culturable bacteria in buildup biofilm after repeated endoscope reprocessing. *Gastrointestinal Endoscopy*, 86(3): 442-51.

⁸Sciortino et al. (2004). Assessment of a novel approach to evaluate the outcome of endoscope reprocessing. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 25(4): 284-90.

⁹Kovaleva (2017). Endoscope drying and its pitfalls. *Journal of Hospital Infection*, 97(4): 319-28.

¹⁰Ofstead et al. (2018). Residual moisture and waterborne pathogens inside flexible endoscopes: Evidence from a multisite study of endoscope drying effectiveness. *American Journal of Infection Control*, 46(6): 689-96.

¹¹National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) (2009). Quality of the final rinse water for endoscope washer disinfectors. A literature review. Report 360050019/2009.

¹²Roberts (2013). The role of biofilms in reprocessing medical devices. *American Journal of Infection Control*, 41(5): 77-80.

¹³Mahapatra et al. (2015). Study of Biofilm in Bacteria from Water Pipelines. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(3): 9-11.

¹⁴Doutereolo et al. (2016). Dynamics of Biofilm Regrowth in Drinking Water Distribution Systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(14): 4155-68.

¹⁵Biotech-Germade (2004). Evaluation of The Biocidal Activities of Tristel Chlorine Dioxide Solution Against Biofilm. Document number 254,TRI.04.

¹⁶pr EN ISO 15883-1:2003 Washer Disinfectors Part 1: General requirements definitions and tests.

Tristel™

Geproduceerd in het Verenigd Koninkrijk:

Tristel Solutions Limited, Lynx Business Park, Cambs, UK, CB8 7NY

T +44 (0) 1638 721500 - E mail@tristel.com - W www.tristel.com

België: Tristel NV, Smalandaan 14 B, 2660 Antwerpen, België

T +32 (0)3 889 26 40 - E belgium@tristel.com

Nederland: Tristel B.V., Binderij 7 R, 1185 ZH Amstelveen, Nederland

T 020 808 51 34 - E nederland@tristel.com

Voor informatie over de octrooien: <http://www.our-patents.info/tristel>

Tristel[™]
WE HAVE CHEMISTRY.