

Traitement de l'Eau pour Hémodialyse Bilan sur la désinfection intégrale chaleur

Jean PRINTZ* et Luc MARCHAL** (contrôle des tubulures)

* GAMBRO France, 92 COLOMBES

** Faculté de Médecine, Laboratoire de Microscopie Electronique, 54 VANDŒUVRE LES NANCY

RÉSUMÉ

La majorité des centres de **dialyse** sont actuellement équipés de systèmes de traitement de l'eau basés sur l'utilisation de l'**osmose inverse** avec un ou deux étages en série.

Des investigations de contrôle au microscope à balayage ou avec des milieux de culture spécifiques pour les germes de l'eau montrent généralement des **biofilms** très importants dans ces réseaux de distribution et encore plus importants dans les tubulures d'alimentation des **générateurs de dialyse** et le circuit primaire du générateur.

Le **biofilm** dans le circuit primaire du générateur est systématiquement constaté lorsque la désinfection intégrale n'est pas possible ou difficile à mettre en œuvre car non automatique.

Il en résulte un relargage **d'endotoxines** et des différents constituants du biofilm (bactéries, moisissures, champignons) pendant toute la séance de dialyse alors que le générateur vient d'être désinfecté ou stérilisé. Le système de défense du patient est ainsi constamment activé entraînant de **nombreuses pathologies** largement décrites dans la littérature médicale.

Les **méthodes standards de culture** des bactéries ne permettent pas de mettre en évidence ce chaînon manquant de la chaîne d'hygiène globale d'un centre de dialyse, nous proposons donc une autre méthode avec le **milieu de culture TGEA**.

OBJECTIF QUALITÉ EN HEMODIALYSE.

Hygiène totale :
éviter le biofilm !

INTRODUCTION

Le Concept

1.1 Ce concept global étudié par un groupe de travail spécifique animé par le Docteur NYSTRAND (Microbiologiste Ph, D) en Suède dans les années 1980, a été inspiré par le Professeur MURISASCO et l'équipe de Marseille qui, très tôt, ont travaillé et mis en forme ce concept de désinfection intégrale chaleur dès 1977.

L'originalité du concept est basée sur le **maintien permanent de la boucle de distribution** par une circulation d'eau osmosée à **une température de 90° C** en dehors des dialyses ; par le démarrage automatique des générateurs dans leur propre mode de désinfection chaleur

chaque matin, généralement 1 heure avant l'arrivée du personnel dans le service.

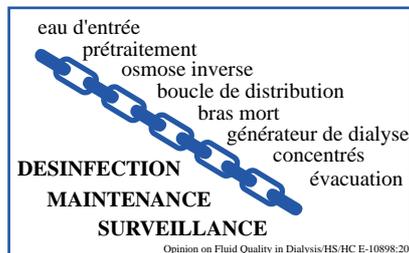
Les générateurs **consommant** l'eau osmosée chaude circulant dans la boucle ce qui permet d'une part la désinfection de la liaison boucle/générateur mais surtout la désinfection du **circuit primaire du générateur** (circuit primaire = circuit d'alimentation d'eau du générateur non concerné par ses propres modes de désinfection chimique ou chaleur).

Le circuit primaire est souvent très complexe avec entre autres : électrovannes, détendeur d'eau, échangeur thermique, raccords, tubulures, etc...

L'état du circuit primaire "oublié" dans le processus de désinfection classique (non intégrale) suivra les vus que nous vous présentons sur le **biofilm "traditionnel"** d'un centre de dialyse non équipé d'une désinfection intégrale.

Les composés du biofilm : bactéries et lipopolysaccharides, lipides A, peptidoglycans (non détectables au LAL), peptides muramiques (non détectables au LAL) ; champignons, moisissures, etc... pourront être relargués pendant toute la séance de dialyse rendant caduques les efforts menés par les constructeurs sur la désinfection/stérilisation du générateur lui-même.

LA CHAÎNE DES FLUIDES DANS UN CENTRE



LA QUALITÉ D'UNE CHAÎNE DÉPEND DE SON MAILLON DE PLUS FAIBLE.

Le développement du concept et le fonctionnement : qualité/sécurité

1.2 La première centrale CWP 100 chaleur a été installée en Suède en 1988 ; environ 75 % des unités de dialyse du pays sont actuellement équipées de ce système. La Suède étant la référence citée (Peter Livesey - Dialysis and Transplantation Mars 1998 (Réf. 1)), encore récemment en matière de **norme et contrôle** pour l'eau pour hémodialyse et le **liquide de dialyse**.

Validation de la désinfection chaleur :

Dans le domaine de l'hygiène, il faut toujours s'interroger sur le nombre d'heures laissées libres à la multipli-

cation des bactéries, ce qui nous a amené, dans un premier temps, au concept **CWP 100 chaleur : désinfection permanente du réseau en dehors des dialyses**.

La désinfection à la chaleur des **générateurs Gambro est validée** pour un temps de **40 minutes**. Celle réalisée par le **CWP 100 chaleur** est de **54 à 138h** par semaine selon le fonctionnement du service.

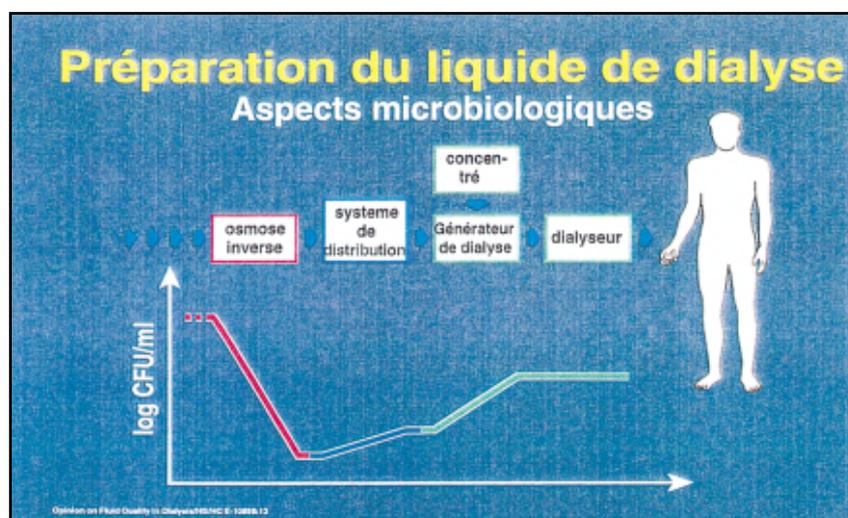
La durée hebdomadaire de désinfection chaleur pour un centre moyen sera donc de **80 à 140 fois supérieure en temps**, à une désinfection chaleur **validée** sur nos générateurs (base 40 minutes).

Dans un 2ème temps, en 1994, nous avons développé le concept "Chimique" **CWP 100 Chem** répondant aux exigences nécessaires à l'efficacité du désinfectant.

1.3 Bien entendu, il ne servirait à rien d'avoir une **boucle de distribution** désinfectée ou même parfaitement **stérile uniquement le temps de la stérilisation**, c'est pourquoi les automatismes de **nettoyage et de désinfection chimique** de l'osmoseur sont prévus sur le **CWP 100 chaleur** avec la consigne de les lancer au minimum une fois par semaine afin de fournir sur le réseau de distribution une eau osmosée ou bi-osmosée de parfaite qualité.

1.4 Malgré notre importante liste de références et les résultats remarquables enregistrés en routine sur tous nos équipements "chaleur", certains **doutent** parfois de l'**efficacité de la désinfection chaleur à 90° C...** : voir les textes suivants...

1.5 Concernant l'efficacité de la désinfection chaleur 90° C : la 1ère question à se poser est la suivante : La désinfection chaleur des générateurs **Gambro AK 95 / AK 100 / AK 200** a-t-elle été **validée** en tant que matériel médical et marquage CE ? La réponse est : **OUI...** alors consul-



tez à nouveau le paragraphe 1.2 et les validations en sachant qu'à ce stade de l'installation, il n'y a que de l'eau pure...

1.6 Vous voulez une boucle d'eau stérile et validée ?

Alors consultez le paragraphe 1.3, en sachant qu'un osmoseur ne produit pas une eau stérile mais "pauvre en germes" et bien souvent "riche en germes" si l'appareil n'est pas doté de nos automatismes de désinfection / nettoyage ou laissé plus d'une semaine sans désinfection, et consultez nos documents en référence 5 et 6, vous pourrez en déduire qu'à ce stade de "propreté", le nombre de CFU dénombrables sera probablement inférieur à 1 pour 10l, et que les endotoxines seront absentes ; (globalement une eau de **qualité PPI** produite sans contrainte).

1.7 Le point sur la désinfection et la stérilisation.

Parfois, nos interlocuteurs laissent entendre préférer "la chimie" à la désinfection chaleur 90° C, comme si était ancrée la **notion de stérilisation avec une désinfection chimique**.

1.8 Rappelons quelques définitions d'après la norme NF T 72-101 :

● **La décontamination** : les micro-organismes sont éliminés, tués ou inhibés ; l'action peut être seulement bactériostatique (des virus fragiles comme le V.I.H. sont inactivés).

● **La désinfection** : les micro-organismes sont tués ; les virus sont inactivés. L'action est nécessairement bactéricide, fongicide et virucide.

Le résultat de ces deux opérations est **momentané et limité** aux micro-organismes présents pendant l'opération. **La condition de mise en œuvre est importante.**

La réduction de germes est de "**5 log**" (facteur 100 000) sur une surface polluée par 10 000 micro-organismes banaux par cm² → il ne subsistera que 0,1 germe par cm² soit 1 000 germes par m² (un endoscope contaminé à 10⁶ bactéries par ml ne

sera donc pas correctement désinfecté : revivification possible de 10 bactéries par ml...).

● **La stérilisation** : Ensemble de méthodes et moyens visant à éliminer tous les micro-organismes vivants portés par un objet parfaitement nettoyé (la notion de décontamination préalable est importante).

"ON NE STERILISE BIEN QUE CE QUI EST PROPRE".

La réduction de germes est de "**6 log**". Le matériel est **conservé en état de stérilité (clos)**. Le décret du 16 janvier 1981 oblige toute personne "conduisant" un autoclave à vapeur d'eau, à suivre une formation spécifique avec justificatif.

● **La dépyrogénéation** : elle est obtenue par chauffage en chaleur sèche de 4h à 180 °C.

1.9 Adoptons-nous l'eau surchauffée ou la vapeur ?

La réponse est **NON** car :

Comment allez-vous stériliser (dans ce cas) la liaison boucle / générateur et le circuit primaire du générateur ? Ils se contamineront obligatoirement en mode "production d'eau pendant la dialyse".

L'osmoseur accompagnant ce processus de stérilisation a-t-il de bons automatismes de désinfection chimique ? Une portion du circuit départ boucle n'est-elle pas "oubliée" pendant la stérilisation ?

Sachez qu'une présence humaine spécialisée est nécessaire avec ces "process".

Vous allez tomber dans le piège décrit au paragraphe 1-3 (c'est-à-dire boucle "propre" uniquement pendant la stérilisation).

LE TRAITEMENT DE L'EAU n'est pas un système clos mais un **CIRCUIT OUVERT** !

Et dernière question : A quelle fréquence cette stérilisation sera-t-elle possible ?

1.10 Quel "espace de vie" gardons-nous à nos bactéries ?

Je prépare pour mon centre de dialyse :

- Une désinfection de 3h par semaine : il reste **165h** libres pour les bactéries...

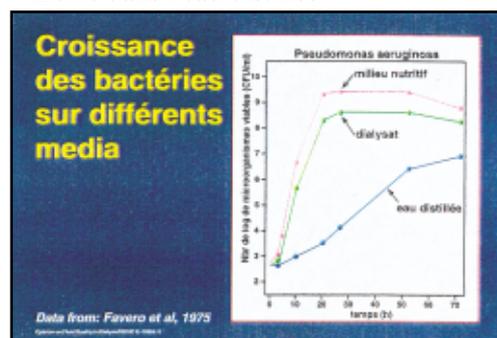
- Une désinfection de 8h par mois : il reste **712h** libres pour les bactéries...

- Une désinfection de 10h par trimestre : il reste **2150h** libres pour les bactéries...

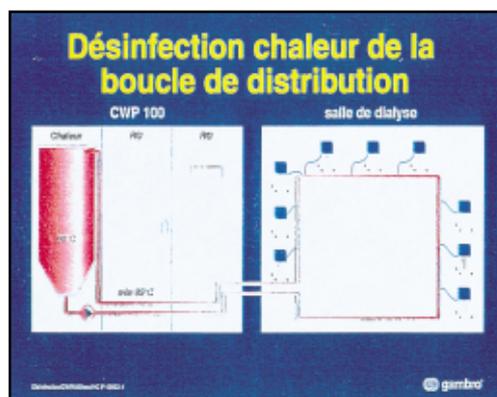
- Une désinfection de 24h par an : il reste **8736h** de paix pour mes bactéries.

La durée de désinfection chaleur de la boucle de distribution pour un **CWP 100 H/ROH** est de **54 à 138 heures** par semaine (selon le fonctionnement du Centre), le reste du temps, vous êtes en dialyse...

Vitesse de génération en log des bactéries genre pseudomonas même dans l'eau distillée

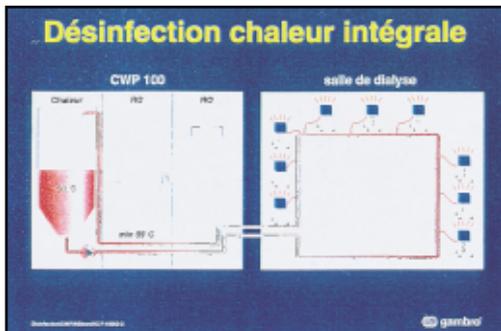


1.11 Le schéma de principe de la désinfection chaleur montre sa grande simplicité. De nombreuses fonctions de supervision sont intégrées dans l'appareil (simple osmose chaleur ou double osmose chaleur).

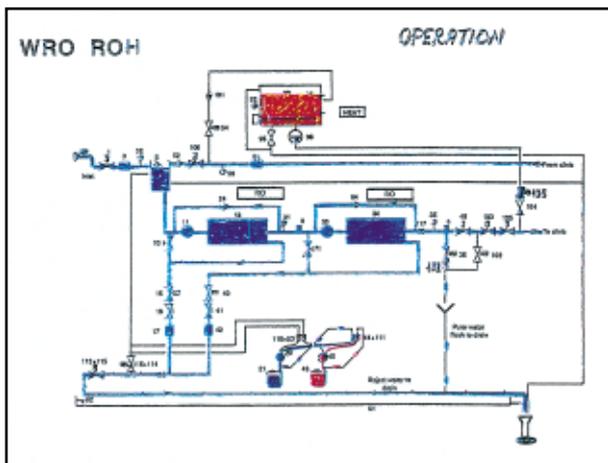


La désinfection chaleur est effectuée à l'eau osmosée (CWP 100 WRO-H) et bi-osmosée chaude (WRO ROH).

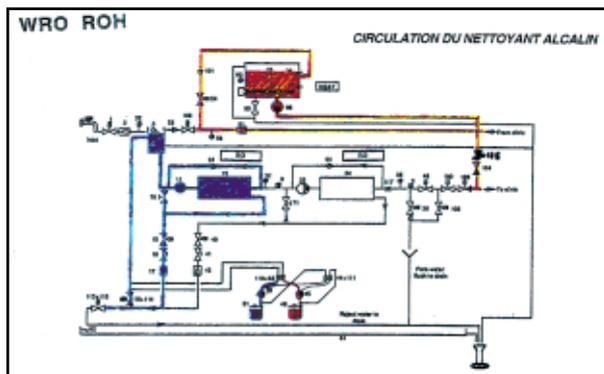
1.12 Si vous pouvez, chaque matin, utiliser le "Process" figuré ci-dessous automatiquement avant l'arrivée du personnel, vous possédez sans aucun doute un centre de dialyse à l'hygiène globale parfaite et exemplaire.



1.14 Le schéma ci-dessous vous montre le WRO ROH en opération (= dialyse). Tous les débits, température de retour boucle et la conductivité, sont supervisés par capteurs. Mémorisation des alarmes avec horodatage. L'eau bi-osmosée de l'unité chaleur parfaitement isolée thermiquement est maintenue à 65° C (réglage de 60 à 95° C). Cette eau est renouvelée partiellement chaque matin. Le nettoyeur et le désinfectant sont bien entendu disconnectés.



1.15 Vue du programme de nettoyage / désinfection du WRO ROH pendant la circulation du nettoyeur des membranes du 1er étage d'osmose, ceci permettra une réelle efficacité de la phase de désinfection qui suivra le rinçage n°1 (élimination des principaux dépôts organiques).



Pour assurer une qualité d'eau parfaite, ce "process" automatique doit être démarré au minimum une fois par semaine, code d'accès au départ et contrôle de traces de désinfectant au retour du personnel.

LA DÉSINFECTION INTÉGRALE EN ROUTINE

● Une chaîne d'hygiène totale

- L'osmoseur est automatisé en nettoyage et désinfection.
- La boucle est en désinfection permanente toutes les heures sans dialyse.

- Le générateur est intégré dans le "process" global.

POURQUOI LES CONTRÔLES NE DÉTECTENT PAS CES BACTÉRIES DU BIOFILM ?

- Les conditions de prélèvement entraînent souvent des faux négatifs.
- La durée du prélèvement est courte.
- Les bactéries planctoniques ne représentent en régime normal que 0,04 % de la biomasse.
- Les bactéries cultivées ne sont donc que les bactéries cultivables ! (nous perdons les bactéries stressées).
- Le milieu de culture et la température d'incubation sont généralement inadaptés aux bactéries de l'eau.

- Un milieu spécifique enrichi avec 2 % de NaCl est nécessaire pour examiner le dialysat (Harding et al).
- Un milieu T4 (TGEA + 4 % NaHCO₃) est nécessaire pour cultiver le "bicar" (Nystrand)

2.1 Les limites des tests bactériologiques ordinaires

De bons résultats (avec une méthode d'analyse classique) sont courants et ceci sans désinfection régulière du traitement de l'eau.

Les incertitudes sont multiples comparativement à l'analyse chimique.

2.1 a Premièrement : Le dénombrement

Statistiquement, nous limitons le dénombrement des bactéries (moisissures et champignons) par le volume du prélèvement (10 à 100 ml rarement 1 litre) et le temps de prélèvement (10 à 30 secondes) en sachant que les **bactéries circulantes dites planctoniques** (en régime d'utilisation normale) ne représentent qu'une **partie extrêmement faible** de la population totale fixée : **0,02 à 0,04 %** d'après Leclerc et al.

Nous n'évoquerons pas ici les **faux négatifs** classiques : aspersion de désinfectant et mauvais rinçage de la vanne de prélèvement, absence de neutralisation du chlore résiduel, milieu de culture non refroidi, etc...

Le nombre de bactéries circulantes augmente à l'occasion d'une modification du régime hydraulique, coup de bélier, etc... Ou à l'occasion d'un nettoyage / désinfection du réseau épisodique (voir à ce sujet le point suivant n° 2.2).

Pour ces raisons les distributeurs d'eau potable adoptent progressivement des **stratégies d'échantillonnage** régulier ce qui permet d'éviter

le faux positif (de ne pas en tenir compte) dû à la contamination locale d'une vanne de prélèvement, le résultat devant être corrélable à une série (on prélève en amont et en aval de la zone suspecte dans ce cas).

2.1 b Deuxièmement : Les bactéries cultivables

Le dénombrement des bactéries circulantes par culture sur un milieu adapté ne permet justement de ne **cultiver que les bactéries cultivables**... Formant donc des CFU.

Vont échapper au contrôle :

Les bactéries **stressées** (injury), les bactéries stressées par **carence alimentaire** (starvation) qui adoptent un mode de vie ralenti d'après C. Haslay et nombreuse littérature ; leur reviviscence (regrowth) ou réparation interviendra d'une manière aléatoire lorsque l'environnement deviendra plus favorable.

Notre méthode préconisée par **R. Nystrand** (culture sur **7 jours à 20° C**) permet de dénombrer plus de CFU qu'un temps de culture de 48 à 72 heures (à bien examiner car les CFU "supplémentaires" sont beaucoup plus petites).

Cultivation of bacteria

The sample is spread on special agar plates

The plates are cultivated at a suitable temperature during a certain time

The number of colonies is counted = Colony Forming Units (CFU)

2.1 c Troisièmement : Le milieu de culture et la température d'incubation

Une littérature plus modeste traite de ce sujet et **R. Nystrand** a très bien documenté la question ainsi que **G. Davies** et al et **G.B. Harding** et al (essentiellement des auteurs concernés par l'eau pour hémodialyse).

Le constat est pourtant simple et évi-

dent :

Nous avons vu au 2ème point que les bactéries, souvent stressées dans nos réseaux d'eau, s'adaptent doucement et parfois difficilement au changement de milieu écologique.

Si vous utilisez un **milieu de culture riche** (type hémoculture) et une température **d'incubation de 37° C**, vous allez **"perdre" de 10 à 99 %** du peu de bactéries "libres" car ces dernières ont comme écosystème un milieu pauvre (l'eau osmosée) généralement à une température de 12 à 22° C.

L'étude complète de R. Nystrand est en référence. L'étude de Harding (également en référence) montre clairement la nécessité d'utiliser des **milieux différents pour l'eau et le liquide de dialyse**.

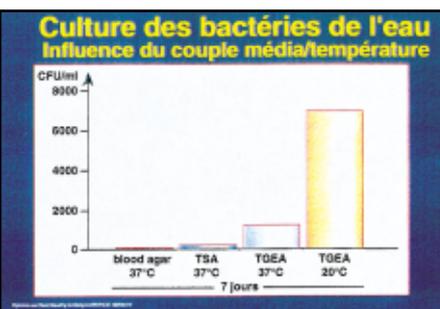
Résumé des contrôles comparatifs de R. Nystrand

Comparison between different cultivation media

Temperature	TGEA 100% CFU/ml	CLED %CFU	Nutrient Agar %CFU	Plate Count Agar %CFU	TSA %CFU	Blood Agar %CFU
25°C	8.9·10 ⁶	36%	37%	11%	14%	14%
37°C	17%	9%	4%	2%	3%	1%

Techniques de cultures

	Anciennes	Nouvelles
média	blood agar TSA	TGEA R2A
temp.	35-37 °C	17-23 °C
temps	48 heures	7 jours



STATUT : QUALITÉ DU LIQUIDE DE DIALYSE

STATUT : QUALITÉ DU LIQUIDE DE DIALYSE

Les gens sont convaincus que leur liquide est conforme

méthodes de test microbiologiques

▼

sous estimation du nbr. de bactéries

▼

fausse sécurité

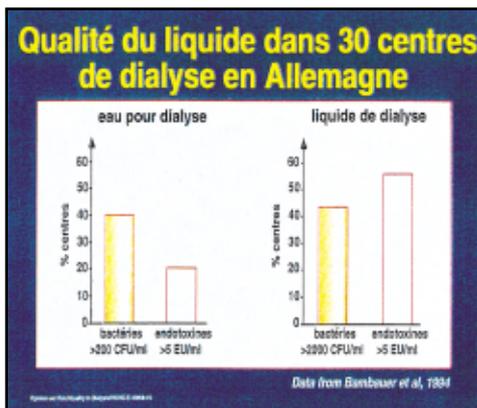
Cultivés de façon adéquate, les fluides présentent un grand nombre de bactéries

2.2 Doit-on désinfecter un réseau jamais traité ?

Ne vous y risquez pas...

L'expérience montre que le remède est pire que le mal car la couche superficielle du biofilm est certes attaquée, mais il en résulte une dispersion d'un grand nombre de bactéries et une augmentation considérable des endotoxines ; la colonisation devenant identique 7 à 15 jours après la désinfection.

En tout cas, ne suivez pas ceux qui confondent mauvais remède et traitement préventif et prônent ou prônaient encore récemment l'absence de désinfection préventive systématique amenant à ce triste tableau :



2.3 Pourquoi dans de nombreux "process" agro-alimentaires, pharmaceutiques, industriels, trouve-t-on des équipements en inox avec des composants aseptiques ?

Ces industries travaillent généralement en lot de fabrication sur un "process" fermé (il n'y a pas d'antennes hétérogènes comme nos géné-

rateurs de dialyse). Le "batch" de fabrication fini, il faut désinfecter / stériliser très rapidement (désinfectant, vapeur, etc...) ; cette opération étant souvent précédée de différentes techniques de nettoyage en place (NIP).

Un personnel entraîné conduit les opérations d'entretien. La grande variété de composants aseptiques en inox conduit la majorité des utilisateurs à ce matériau, qui a l'avantage d'être solide, tout un chacun connaissant les limites de l'inox (état de surface, adhésion facile des bactéries, etc...) malgré des Ra de 0,2µm (voir 2.4, 2.5, 2.6).

Fréquemment, l'eau purifiée est conservée à 80° C dans ces industries.

Nos deux concepts de désinfection intégrale ressemblent beaucoup à ces pratiques... Toutefois, sans personnel spécifiquement entraîné pour la conduite du "process"...

2.4 Pourquoi dans l'industrie électronique, les "process" d'eau ultra pure sont généralement réalisés en matériaux "nobles" comme le PVDF, le PTFE, etc...

Ici c'est la pureté maximale qui prime, la solidité venant en second ; les composants aseptiques étant peu nombreux, beaucoup de fabrications spéciales sont réalisées.

Les utilisateurs ont bien compris l'intérêt de ces matériaux qui présentent une surface parfaitement hydrophobe* limitant l'adhésion des bactéries comme l'ont étudié U. Husmark et R. Andersson à notre demande en 1990 (réf. 9).

* Ce qui n'est pas le cas de l'inox.

A la mise en service, un nettoyage poussé est pratiqué afin d'éliminer en particulier le C.O.A. (Carbone Organique Assimilable (par les bactéries)).

2.5 Une désinfection classique

On pourra s'étonner de la désinfection pratiquée parfois au sujet des

matériaux ; qui conseille l'inox sur un "process chimique" pour son état de surface "pouvant aller jusqu'à l'électropolissage" ; déconseillant le PEX et les tuyauteries en **matière synthétique** (*amalgame général*) et parlant de dégradation, fissures, crevasses... Un tableau apocalyptique...

Nous montrons des résultats inverses dans nos photos en référence.

2.6 Extrait du rapport U. Husmark et R. Andersson

La mouillabilité des différents matériaux a été déterminée en mesurant l'angle de contact d'une goutte d'eau par rapport à la surface. Les résultats du tableau ci-dessous indiquent que le Téflon et le PEX sont les matériaux les plus hydrophobes, le verre le moins hydrophobe alors que les surfaces en acier inoxydable ont une mouillabilité intermédiaire.

Matériau	Angle de Contact (degrés)
Acier inoxydable	46 ± 4
Acier inoxydable Electro-poli	Idem acier inoxydable
PEX	85 ± 7
Verre	22 ± 3
Téflon	95 ± 6

Nous ne conseillons l'inox que pour un projet désinfection chaleur

2.7 Avec une distribution en PVDF, PEX ou PTFE, est-il possible d'espacer les désinfections ?

Absolument pas*.

Le bon matériau contribue seulement à limiter l'adhésion et surtout, l'absence de fissures facilitera grandement le nettoyage et la désinfection en pratique préventive systématique.

* **C. Haslay** explique les "mécanismes" de l'adhésion en trois stades :

1) **L'adhésion** ou adsorption est extrêmement rapide : **moins d'une minute** ; elle est réversible car dépendante de phénomènes physiques variés et liés au support (voir figure précédente sur les caractères ± hydrophobes des matériaux).

2) **La fixation** proprement dite est plus lente, elle implique la synthèse des chaînes polysaccharidiques

(**Glycocalyx, Slime**).

3) **La colonisation** ou développement du biofilm sur le support s'effectuera ensuite, l'épaisseur variant selon de nombreux facteurs (érosion, nutriments, etc...).

U. Husmark et R. Andersson ont également remarqué pendant leur étude sur l'adhésion que certaines bactéries "plongées" dans l'eau ultra pure (donc en stress par **carence alimentaire (Starvation)**), **adhéraient** extrêmement rapidement et **en grand nombre** au matériau testé ; probablement comme un mécanisme de survie. **Nos réseaux d'eau osmosés sont donc dans cette situation...**

Tube PVC standard

L'état de surface est parsemé de trous qui seront les premières niches servant de refuge aux bactéries.

Pour nos réalisations, nous utilisons une qualité supérieure mais sans obtenir l'état de surface parfait de notre Clean PEX.

Tube PVDF* souvent présenté comme référence en matière d'état de surface.

L'état de surface, type "pâte écrasée", est très supérieur au PCV* mais on constate toujours des infractuosités.

Le tube Clean PEX* fabriqué pour Gambro est ultra lisse.

* PVDF = Polyfluorure de vinylidène.

* PVC = Polychlorure de vinyle.

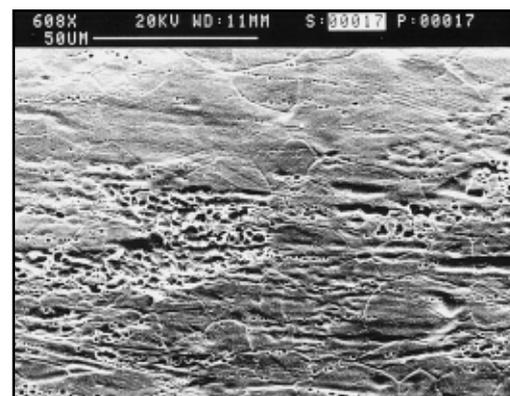
* PEX = Polyéthylène réticulé.

TUBE Clean-PEX pour Gambro

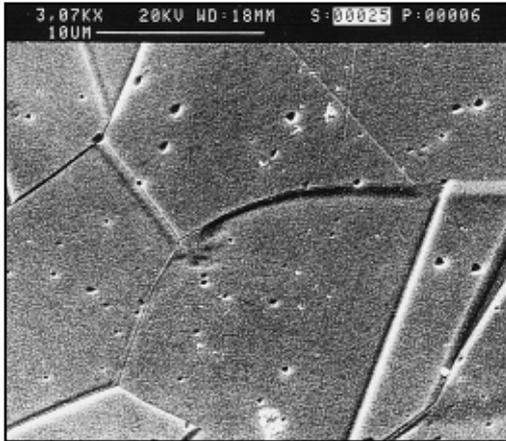
Ce tube est utilisé dans les générateurs Gambro et les boucles d'eau.

L'état de surface est parfait comparé à la référence qu'est le PVDF.

2 tubes inox de haute qualité



Tube alimentaire de norme NFA 49 249. Les infractuosités risquent de servir de niches aux bactéries si une désinfection journalière est impossible.



Probablement l'une des meilleures qualités disponible actuellement avec électro-polissage. Des trous subsistent mais en moins grand nombre.

Photos : Microscopie Electronique Faculté Nancy - L. Marchal

CONCLUSION

La désinfection intégrale chaleur selon le concept décrit précédemment est à ce jour le moyen unique de conserver intacte la chaîne d'hygiène du centre de dialyse. Des protocoles rigoureux doivent être prévus lorsqu'un générateur sort d'une opération de maintenance et réintègre le circuit de traitement du patient ; il en est de même pour le(s) générateur(s) de secours qui ne devrai(en)t plus séjourner dans les couloirs des centres de dialyse de nombreuses heures en attente d'une éventuelle utilisation thérapeutique ; je vous laisse imaginer l'état du circuit primaire et interne du générateur dans ce cas. Cette contamination située juste en amont du circuit de préparation du dialysat rend caduque les efforts menés par les constructeurs sur le circuit fluide désinfectable ou stérilisable du générateur.

PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT DE TUBULURE

PAR GAMBRO

- L'extérieur du tube est nettoyé à l'alcool à 70° sur compresse
- Le tube est coupé à la pince coupe tube avec une lame nettoyée, la longueur est adaptée de manière à remplir tout le flacon.
- Le tube est placé dans un flacon stérile préalablement étiqueté.
- Le flacon est ensuite rempli de fixateur (décrit à la suite), bouché et gardé immobile pendant 15 à 30 minutes.
- L'échantillon est ensuite expédié à Monsieur MARCHAL.

UNIVERSITÉ HENRI-POINCARÉ
NANCY 1 - FAC. DE MÉDECINE
Service de Microscopie Electronique
Luc MARCHAL - Ingénieur CNRS

MÉTHODE DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS (boucle d'eau osmosée)

Les échantillons de tuyaux sont fixés pendant 12 heures à 4° C dans du glutaraldéhyde à 2,5 % dans du tampon cacodylate 0,1 M pH7,2. Après un rinçage de 30 mn dans le même tampon additionné de 7 % de saccharose, les prélèvements sont déshydratés dans des bains successifs d'alcool de 5 mn à 30°, 50°, 70°, 80°, 90° et 100° 2 fois. Sous hotte aspirante, les échantillons sont passés dans un dernier bain d'hexaméthylidisilazane (HMDS) de formule C₆H₁₉NSi₂ pendant 10 mn avant séchage à l'air. Après collage sur supports et métallisation à l'or de leur surface (couche d'or de 20 nm d'épaisseur), les échantillons sont observés au microscope électronique à balayage CAMBRIDGE STEREOSCAN S 240 et les photos prises sur film ILFORD FP4 120.

LA RÉALITÉ DU SERVICE DE DIALYSE.

MAINTIEN DE LA CHAÎNE DE QUALITÉ OU PAS ?

- Situation des générateurs de secours ?
 - Situation du générateur sortant de maintenance ?
 - Solution : la désinfection intégrale.
- NOUS VENONS DE CONSTRUIRE UNE CHAÎNE D'HYGIÈNE,**

NOTRE OBJECTIF QUALITÉ EST ATTEINT !

N'oubliez pas les 2 maillons les plus faibles !

A/ Liste des documents en référence disponibles auprès de Gambro :

- Dr Y. BERLAND - Dialysat et biocompatibilité en hémodialyse. Néphrologie Vol 19 n° 6/1998
- P. Livesey - Dialysis & Transplantation - March 1998
- E. Tykesson - Test report Q-94059 - Disinfection in AK 100
- L. Nurbo - Test report Q-90023 - Heat Disinfection in AK 100
- Vues de biofilm et matériaux, L. Marchal et J. Printz
- R. Nystrand - Protocole de contrôle bactériologique de l'eau
- G.B. Harding et al - Bacterial Contamination of Hemodialysis Fluids 11 et 13 avril 1990, I.S.B.P. Parma
- Etude SIK : U. Husmark and R. Andersson

B/ Bibliographie :

- G. Davies et al - Analyse microbiologique du liquide de dialyse - Janvier 1992 - EDTNA-ERCA - Journal XVIII n° 1.
- Guide pratique : décontamination, bio-nettoyage, désinfection, stérilisation
- J.P. Guignard et al. - Conseil Scientifique : Pr J.C. Darbord - Editions Hospitalières 1994
- Hygiène Hospitalière Pratique - A. Dauphin, J.C. Darbord - APHIF / EMI
- Microbiologie appliquée - H. Leclerc et al., Doin éditeurs - 1977
- Microbiologie des eaux d'alimentation - C. Haslay, H. Leclerc - Tech et Doch, Lavoisier 1993
- La qualité du liquide de dialyse "un problème de contamination", Service Formation Gambro AB - 1987

C/ Renseignements divers :

- Dialox® est une marque déposée d'AIR LIQUIDE SANTÉ
- Milieu de culture TGEA : Tryptone Glucose Extract Agar disponible chez : Oxoid® Réf. : CM 127
- MEA : Malt Extract Agar - Oxoid® CM 59 (Milieu pour champignons et moisissures).