

# Dialysat contaminé : comment le maîtriser ?

A. STRAGIER - Université Catholique de Louvain, Cliniques Universitaires St-Luc, Unité de Dialyse - BRUXELLES, BELGIQUE.

## INTRODUCTION

Une bonne compréhension des facteurs déterminant la vitesse de croissance des bactéries dans les liquides de dialyse représente une aide précieuse pour assurer une bonne qualité bactériologique du dialysat.

## LA BIOLOGIE DES BACTÉRIES

La taille des bactéries est de l'ordre d'un micron ce qui est une centaine de fois plus petit que le diamètre de l'un de vos cheveux. Il y a deux siècles, le chercheur Suisse De Saussure a comparé pour la première fois la biologie des bactéries avec celle des animaux (1). Il constatait, à son étonnement, que les bactéries ne se reproduisent pas par copulation mais par division en deux. Il écrivait que "les plaisirs du mariage sont inconnus pour les bactéries." Spallanzani, prêtre-chercheur Italien à la même époque, trouvait "qu'il n'y a ni mères ni enfants, mais après division toutes les bactéries semblent immédiatement des individus indépendants et complexes" (1).

Dans cet article nous essayerons d'abord de mieux comprendre la biologie des bactéries et en particulier les facteurs qui déterminent la vitesse de croissance bactérienne dans les liquides de dialyse. Ensuite nous en tirerons des leçons pour assurer un dialysat de bonne qualité bactériologique. Enfin nous tâcherons de répondre à quelques questions pratiques.

**Quant à la vitesse de croissance des bactéries dans les liquides de dialyse il y a deux points essentiels à retenir :**

### **I. Le premier point à retenir est que la croissance bactérienne**

- évolue de façon exponentielle en fonction du temps et
- sa vitesse dépend du milieu nutritif et
- de la température

#### *1. La croissance bactérienne est exponentielle*

Prenons l'exemple des *Escherichia Coli*, qui dans des conditions idéales se dédoublent toutes les 20 minutes : à partir d'une seule bactérie il y en aura déjà 8 après une heure, 64 après deux heures etc. Si on continue, après huit heures on dépasse déjà les 10 millions et après douze heures les 5 milliard de bactéries !

#### *2. Quelle est l'importance du milieu nutritif ?*

Ceci a été investigué par Martin Favero (2). Il étudiait la vitesse de croissance des *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), une bactérie Gram-négatif, souvent retrouvée dans l'eau et le dialysat. Cet auteur comparait la croissance des Pa dans un milieu nutritif idéal (appelé Tryptic Soy Agar ou TSA), dans le dialysat et dans de l'eau distillée, à 37° C. Les résultats sont illustrés à la figure 1. On peut en conclure deux choses importantes. D'abord, le dialysat est un excellent milieu nutritif

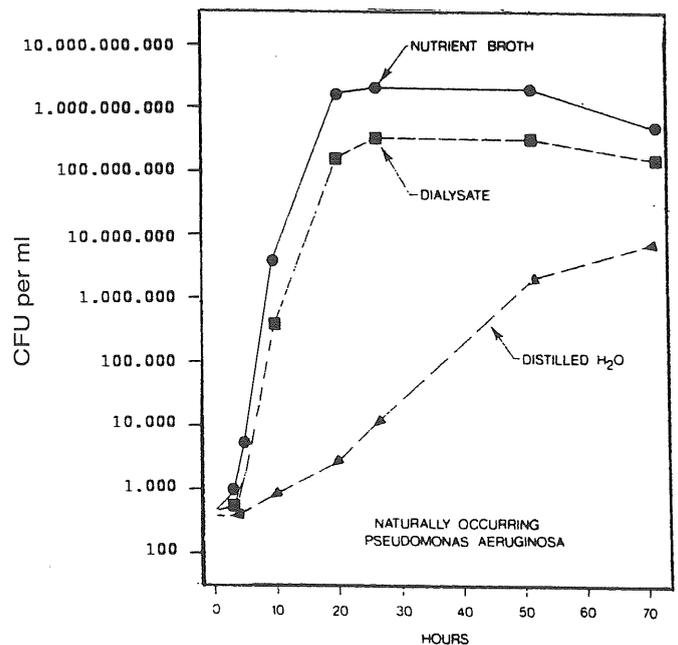


Fig.1 :

### INFLUENCE DU MILIEU DE CULTURE SUR LA CROISSANCE DES GERMES :

Vitesse de croissance des *Pseudomonas aeruginosa* dans un milieu de culture idéal, comparé à celle dans le dialysat et à celle dans de l'eau distillée, à 37° C (adapté, selon M. Favero et al. (2)).

pour les Pa : leur vitesse de croissance est très proche de leur vitesse de croissance dans un milieu de culture idéal (TSA), alors que la vitesse de croissance des Pa est neuf fois plus élevée dans le dialysat que dans l'eau distillée.

### *3. Quelle est l'importance de la température du milieu nutritif ?*

Comme ce facteur n'était pas bien connu, nous avons étudié l'influence de la température sur la vitesse de croissance des Pa. Les Pa étaient inoculés dans un milieu idéal (TSA) à 4, 15, 29 et 37° Celsius au laboratoire de bactériologie. La vitesse de croissance était contrôlée toutes les 2 heures pendant les 14 premières heures, puis après 24 heures et après 5 jours pour l'échantillon à 4° C. uniquement. Les résultats sont illustrés dans la figure 2 et montrent que le temps de doublement pour les PA est de 300, 150 et 40 minutes respectivement à 15°, 29° et 37° C. Il n'y a pas de croissance observée à 4° C, mais la croissance normale reprend lorsqu'on augmente la température à 37° C. Des températures basses empêchent donc d'une façon réversible la croissance des bactéries.

De cette observation nous tirons deux conclusions importantes : d'abord, les Pa doublent leur nombre toutes les 40 minutes dans le dialysat à 37° C, ce qui correspond parfaite-

ment avec les résultats de Martin Favero (2) et ensuite, la vitesse de croissance des Pa est 7,5 fois plus élevée à 37° C qu'à 15° C.

#### 4. Quel est l'effet combiné des influences du milieu et de la température ?

Si nous combinons les facteurs milieu et température pour la croissance des Pa nous trouvons que la vitesse de doublement est 67 fois plus rapide dans le dialysat à 37° C. que dans l'eau osmosée de 15° C., une différence impressionnante parce que l'on sait que cette croissance est exponentielle ! Par exemple, il faut seulement 5 heures pour que les Pa soient multipliés par 100 dans le dialysat à 37° C versus 340 heures (plus que 14 jours) dans l'eau osmosée à 15° C. Ceci dans l'hypothèse bien sûr où ces liquides stagnent.

Certaines souches de Pa "naturelles" peuvent se développer dans un milieu pauvre plus rapidement que d'autres et ainsi p.e. Carson (3) a trouvé une souche qui double dans l'eau distillée à 25° C. toutes les 4, 8 heures !

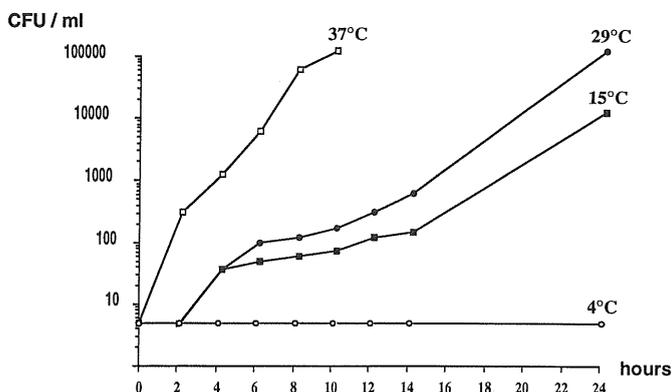


Fig. 2 :

#### INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA CROISSANCE DES GERMES :

Vitesse de croissance des *Pseudomonas aeruginosa* dans un milieu de culture idéal, à 37° C. comparé à 29° C, à 15° C et à 4° C.

#### 5. Conclusions 1 :

. Les machines de dialyse ont besoin d'une stérilisation journalière car il s'agit d'un milieu favorable à la croissance bactérienne.

. Par contre, une stérilisation mensuelle ou même moins fréquente peut suffire pour le circuit d'eau osmosée, parce qu'il s'agit d'un milieu défavorable à la croissance bactérienne ; la fréquence nécessaire dépend de sa conception (zones de stagnation? filtres? flux laminaire ou flux turbulent? etc).

. Enfin, lorsqu'on arrête une machine sans la stériliser, il vaut mieux la remplir d'eau osmosée par le programme de rinçage c'est-à-dire remplacer le milieu favorable à la croissance bactérienne par un milieu où la croissance bactérienne est faible.

#### 6. Un problème se pose!

Si on tient compte de la croissance bactérienne dans le dialysat d'une machine de dialyse et du débit de 500 ml/min. de dialysat, diluant les bactéries, on en vient à la conclusion sur-

prenante qu'il est presque impossible d'arriver à des taux bactériens élevés! Or ceci ne correspond pas du tout à la réalité : p.e. deux études récentes montrent bien le contraire (4,5). Pourquoi?

#### II. Le deuxième point à retenir est que la croissance bactérienne dans les machines de dialyse peut être capricieuse :

→ des facteurs externes et

→ internes de contamination interviennent

##### 1 Quels sont les facteurs externes de contamination ?

Les facteurs externes de contamination sont multiples. Le problème de contamination du concentrat bicarbonate liquide est bien connu. Mais les bidons peuvent aussi être une source de contamination pour ceux qui préparent du concentrat bicarbonate liquide frais. Un problème de contamination bactérienne peut aussi survenir avec les pipettes si elles ne sont pas désinfectées régulièrement. Une autre source de contamination peut résulter de la solution de 20 % d'acide citrique, utilisée pour détartrer les machines après dialyse au bicarbonate. Nous avons trouvé des cultures massives de champignons (du type *penicilium*) dans cette solution et nous avons appris que l'acide citrique à 20 % en est vraiment le milieu de culture idéal! Ceci ne pose pas un problème direct pour nos patients, mais on encrasse les parties hydrauliques des machines ce qui peut permettre aux bactéries d'y survivre (vide infra)? Comme solution, nous avons remplacé l'acide citrique par une solution à 20 % d'acide acétique. Notre département d'hygiène hospitalière a mis en évidence que les mêmes souches de champignons, retrouvées dans l'acide citrique, ne peuvent pas se développer dans cette solution d'acide acétique.

Une autre source de contamination externe est le tuyau d'évacuation qui mène au drain. Quoique les bactéries ne soient pas des spermatozoïdes, il est apparu à plusieurs reprises que les bactéries peuvent pousser pendant la période de stagnation (p.e. pendant le week-end) et à nouveau contaminer les machines! Il faut donc laisser une bonne colonne d'air entre la sortie du tuyau d'évacuation et le liquide qui stagne dans le syphon de l'évacuation, ce qui évitera ce problème.

Il va de soi que tous ces problèmes de contamination externe peuvent et doivent absolument être éliminés!

##### 2. Quels sont les facteurs internes de contamination?

Cette deuxième source de contamination est un problème que est plus difficile à résoudre. Les bactéries ont tendance à se fixer sur les parois des tuyaux, réservoirs, filtres, joints etc. et elles s'y développent. Ce phénomène mène à la formation d'un "biofilm". Ainsi peut-on retrouver aussi bien dans le circuit d'eau que dans celui du dialysat des endroits où les bactéries ne sont pas toutes balayées par le flux et éliminées. Comme la croissance bactérienne est exponentielle, la génération des bactéries dans le dialysat devient tout à fait imprévisible et elle dépend de l'ampleur de ce biofilm. Ce sont justement les machines qui ont un circuit hydraulique très complexe avec plusieurs endroits où les bactéries peuvent facilement se déposer et se multiplier qui vont favoriser la croissance bactérienne.

Ces endroits sont spécifiés dans la table 1 :

• les filtres	• les joints
• les régulateurs de pression	• les diaphragmes
• les désaérateurs	• les zones à débit réduit - circuit d'ultrafiltration
• les portes d'échantillonnage	- chambres de mélange
• les vannes	• les connecteurs rapides

Table 1. Endroits critiques de dépôt des bactéries dans les machines de dialyse.

La simplicité du circuit hydraulique, l'efficacité et la facilité avec laquelle on peut stériliser tous les endroits mentionnés ci-dessus sont des aspects importants que nous devons prendre en considération lorsque nous faisons un bilan comparatif pour acheter des nouvelles machines. Il est alarmant que les produits désinfectants puissent ne pas être efficaces dans plusieurs des zones citées ci-dessus. Ceci va influencer la qualité bactériologique du dialysat comme démontré, l'année passée à l'AFIDTN, par un technicien de l'hôpital Necker de Paris, pour les connecteurs rapides. De plus, les Pa peuvent produire une substance muqueuse (slime) qui protège les colonies contre l'action des agents désinfectants (6).

### 3. Conclusions 2 :

- Le dialysat peut poser des problèmes externes et internes de contamination, les premiers peuvent être évités tandis que c'est beaucoup plus difficile pour les seconds.
- La croissance bactérienne est prévisible dans une situation in vitro mais pas in vivo!
- C'est pourquoi un contrôle bactériologique mensuel en fin de dialyse à la sortie du dialyseur, est nécessaire pour monitorer la situation. Des contrôles supplémentaires doivent être faits après toute réaction clinique (frissons) ou après un résultat insatisfaisant. Dans ce cas, on doit donc trouver et éliminer la ou les sources internes ou externes de contamination.
- En plus des contrôles bactériologiques, il est recommandé de faire occasionnellement des dosages d'endotoxines. Certaines techniques peuvent en effet diminuer ou éliminer les germes sans réduire ou même en augmentant des taux d'endotoxines (7).

### III. Cinq questions à résoudre :

1. Quelles normes bactériologiques et en endotoxines respecter? (Fig 3)

	EAU		DIALYSAT	
	germes CFU / ml	endotoxines EU/ml	germes CFU / ml	endotoxines EU/ml
	SUEDE	100	0,25	100
USA (AAMI)	200	1 *	2000	--
ALLEMAGNE	50 **	--	--	--
FRANCE	100 ***	--	--	--
CANADA	200	10	--	--

\* Pour la réutilisation des dialyseurs  
 \*\* Normes proposées  
 \*\*\* Nombre de *Pseudomonas aeruginosa*

Cette table montre les normes disponibles pour les bactéries et les endotoxines dans l'eau et le dialysat. Les normes Suédoises sont les plus strictes et seront peut-être généralisées à l'avenir.

### 2. Les pyrogènes passent-ils à travers les membranes de dialyse ?

Les bactéries sont plus grandes que les pores d'une membrane de dialyse intacte, mais les produits de dégradation bactériens sont aussi pyrogéniques que les bactéries elles-mêmes. Ce sont ces produits de dégradation qui sont visés lorsque l'on parle des pyrogènes dans les liquides de dialyse. Ces pyrogènes sont de taille variable et bon nombre d'entre eux passent à travers les membranes de dialyse par diffusion (8) ou encore mieux par convection, lorsqu'il y a de la rétrofiltration (9,10).

### 3. Les pyrogènes : risques potentiels ?

Les pyrogènes du dialysat sont des agents extrêmement puissants qui activent les monocytes des patients. Cette stimulation des monocytes a été mise en évidence par plusieurs auteurs (11,12) lors de la présence d'endotoxines dans le dialysat même en l'absence de passage mesurable de ces dernières au côté sanguin.

Cette activation déclenche le système immunitaire de défense du patient et, comme tout processus inflammatoire elle stimule le catabolisme. Un travail du groupe de Marseille (13) montre que ce processus pourrait contribuer à une augmentation de la prévalence des syndromes du canal carpien. Il pourrait aussi contribuer à d'autres complications à long terme chez les patients dialysés (14). Bien que la plupart de ces réactions restent subcliniques, des réactions à pyrogènes accompagnées de frissons se produisent encore et sont toujours rapportées de nos jours! (15, 16, 17, 18).

### 4. Est-ce qu'une infection due au dialysat est possible ?

La question se pose, les bactéries ou les virus peuvent-ils passer à travers les membranes de dialyse ? On peut facilement répondre que si les membranes sont intactes, ni les virus ni les bactéries ne peuvent passer au travers des membranes parce qu'ils sont plus grands que les pores des membranes des dialyseurs. Mais, le problème est bien plus complexe; d'une part, comme nous l'expliquons dans un autre article de ce journal (7), les membranes de dialyse peuvent présenter des points faibles. D'autre part, les détecteurs d'hémoglobine des machines de dialyse les plus modernes ne sont capables de détecter les fuites de sang qu'à partir de 0,35 ml./min (la sensibilité normale des détecteurs de sang est de 0,45-0,50 ml./min à 25 % d'hématocrite!). Il est improbable que les machines puissent détecter une fuite de sang lorsqu'un seul capillaire du dialyseur est brisé. Le problème devient encore plus critique lorsque ce filtre est perforé dans la zone du dialyseur où il y a de la rétrofiltration!!!

Ceci pourrait peut-être expliquer pourquoi p.e Schaeffer de Berlin (19) trouve une augmentation de la température au-delà de 37,5° C. chez 4,8 % des patients en hémodialyse comparé à seulement 0,8 % en hémofiltration. Mion de Montpellier (6) par contre montre qu'une hausse de température en hémodialyse avec un dialysat "ultrapur" n'arrive que dans 0,5 % des séances.

Bien que le dernier mot ne soit pas encore dit à ce sujet, il me semble qu'il y a de bonnes raisons pour assurer une bonne qualité (bactériologique + endotoxines) du dialysat.

Pour les infirmières et les techniciens, il vaut mieux considérer le dialysat après la sortie du rein comme possiblement contaminé chez les patients p.e HIV+, HVB+ ou HCV+, même si le risque est faible vu le facteur de dilution important!

#### 5. Une infection croisée due à la machine est-elle possible ?

Comme vous le savez, certains recommandent l'isolement non seulement des patients HBV (grande contagiosité) mais aussi des HIV+ et HCV+ (contagiosité plus faible). La question se pose : dans quelle mesure les machines peuvent-elles contribuer aux infections croisées entre les patients ?

Sur le plan strictement théorique les infections croisées dans les unités de dialyse à partir du dialysat sont presque impossibles. Néanmoins on recommande - et il faut suivre le conseil! - de toujours stériliser les machines entre deux patients surtout après une dialyse chez un patient positif et avec les machines où le dialysat de sortie du rein recircule et vient en contact avec le dialysat frais.

Malheureusement, des infections croisées se sont produites dans plusieurs centres de dialyse. Le personnel soignant en est le premier vecteur possible et il doit prendre toutes les mesures nécessaires. Mais aussi il y a eu des infections croisées par le côté sanguin, dues aux problèmes avec les isolateurs de pression des machines de dialyse (nous expliquons en détail ces problèmes ainsi que les précautions à prendre dans un autre article de ce journal (7)). Il va aussi de soi que le nettoyage adéquat des machines entre deux dialyses reste d'une grande importance parce que le contact avec toute trace de sang contaminé peut être à l'origine d'une infection croisée.

Je terminerai cet article par une phrase d'Henri Ford :

*"Nous apprenons beaucoup de nos succès*

*mais nous apprenons encore plus de nos échecs!"*

#### RÉFÉRENCES :

- Schellekens H, De DNA-Makers, edition Natuur en Techniek part 30 : 57-73, 1993
- Favero MS, Peterson NJ, Carson LA et al. Gram-negative water bacteria in hemodialysis systems. Health Lab Sci 12 : 321, 1975.
- Carson LA, Faveron MS, Bond WW et al. Factors affecting comparative resistance of naturally occurring and subcultured Pseudomonas Aeruginosa to disinfections. Appl Microbiol. 23 : 863-869, 1972.
- Klein E, Pass T, Harding GB, et al. Microbial and Endotoxin Contamination in Water and Dialysate in the Central United States. Artif. Organs 14 : 85-94 1990.
- Bambauer R, Schauer M, Vienken J et al. Contamination of water and dialysate. A survey of 30 centers. Blood Purification Abstract 9 : 32-33, 1992.
- Mion C, Canaud B, Stec F et al. Dialysat au bicarbonate stérile et sans pyrogène : Un progrès en hémodialyse applicable dès aujourd'hui. Flammarion médecine-sciences-actualités néphrologiques : 289-326, 1989.
- Stragier A Sécurité de Filtration en Hémodialyse. Journal de l'AFIDTN (déposé).
- Colton CK. Analysis of Membrane Processes for Blood Purification. Blood Purification 5 : 202-251, 1987.
- Van Holder R, Van Haecke E, Veys et al. Endotoxin transfer through dialysis membranes small-versus large-pore membranes. Nephrol. Dial. Transpl. 7 : 333-339, 1992.
- Laude-Sharp M, Caroff M, Simard L et al. Induction of IL-1 during hemodialysis : Transmembrane passage of intact endotoxins (LPS). Kidn Int. 38 : 1089-1094, 1990.
- Port FK, Vandekerckhove KM, Dinarello CA. Role of Dialysate in the Stimulation of Interleukin-1 Production during Clinical Hemodialysis. Am J Kidney Dis Vol X : 118-122, 1987.
- Lonneman G, Bingel M, Floege J et al. Detection of endotoxin-like interleukin-1-inducing activity during in vitro dialysis. Kidn Intrn 33 : 29-35, 1988.
- Baz M, Durand C, Ragon A et al. Using ultrapure water in hemodialysis delays carpal tunnel syndrome. Int J Artif Organs 14 : 681-685, 1991.
- Shaldon S, Deschodt G, Branger B et al. Haemodialysis Hypotension : The Interleukin Hypothesis Restated. Proc. EDTA-ERA 22 : 229-243, 1985.
- Gordon SM, Oettinger CW, Bland LA et al. Pyrogenic Reactions in Patients Receiving Conventional, High-Efficiency Hemodialysis Treatments with Bicarbonate dialysate Containing High Concentrations of Bacteria and Endotoxin. J Am Soc of Nephrol 2 : 1436-1444, 1992.
- Beck-Sague CM, Jarvis WR, Bland LA et al. Outbreak of Gram-Negative Bacteremia and Pyrogenic Reactions in a Hemodialysis Center. Am J Nephrol 10 : 397-403, 1990.
- Chapalain O. Fièvre induite par la dialyse : Etude des relations entre le bain de dialyse et la membrane utilisée. Journal AFIDTN 14 : 46-48, 1989.
- Man NK. Risques associés au dialysat contaminé et aux membranes à haute perméabilité. Abstract Courchevel "Biocompatibilité et dialyse" 2-4 avril 1987.
- Schaeffer K. von Herrath D. Hüfler M. et al. The occurrence of fever during hemodialysis and hemofiltration. A comparative study. Int J Artif Organs 9 : 247-250, 1986.