



ELSEVIER

ARTICLE ORIGINAL

**Néphrologie  
& Thérapeutique**

www.elsevier.com/locate/nephro

# Circuit de traitement d'eau pour hémodialyse : mais où se cache le Bacille pyocyanique ?

## Water used for hemodialysis equipment: where is *Pseudomonas aeruginosa*?

Sébastien Ducki \*, Nicolas Francini, Marie-Françoise Blech

Cellule régionale d'hygiène, CHU de Nancy, hôpital Brabois-Adultes, rue du Morvan,  
54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

Reçu le 9 septembre 2004 ; accepté le 16 février 2005

### MOTS CLÉS

*Pseudomonas aeruginosa* ;  
Désinfection ;  
Biocide ;  
Acide peracétique ;  
Hémodialyse

### KEYWORDS

*Pseudomonas aeruginosa*;  
Disinfection;  
Biocide;  
Peroxyacetic acid  
solution;  
Hemodialysis

**Résumé** La qualité de l'eau utilisée pour diluer les solutions concentrées de dialyse constitue un élément essentiel de l'efficacité et de la sécurité de cette thérapeutique. L'eau doit subir un traitement spécifique et des règles techniques doivent être respectées, telle que la désinfection du circuit de traitement d'eau, afin de garantir un niveau de sécurité sanitaire satisfaisant pour l'installation. Cet article relate les investigations qui ont été menées pour trouver la source de Bacille pyocyanique qui contaminait de façon récurrente l'eau alimentant le circuit de dialyse. La chronologie des prélèvements réalisés et l'analyse du carnet sanitaire nous ont orienté vers une possible contamination au cours de la désinfection. Des prélèvements sur l'eau résiduelle de la pompe utilisée pour l'injection du Dialox® ont identifié ce réservoir comme origine de la contamination. Une révision des procédures d'entretien de cette pompe ainsi que des purges ont permis d'endiguer cette contamination.

© 2005 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

**Abstract** The water used in dilution of the dialysis solutions constitutes an essential element of the efficiency and the safety of this therapeutics. Water must be specifically treated, and some technical rules must be respected, such as disinfection of the equipment for water treatment, to guarantee a satisfying level for whole the installation. This article reports the investigations, which were led to find the spring of *Pseudomonas aeruginosa* which contaminated in a recurring way the water feeding dialysis equipment. The observation of samples' chronology and an analysis of the sanitary pad suggested a contamination during disinfection. Sample of residual water from the pump used for the injection of Dialox identified this reservoir as origin of the contamination. To stop this contamination by *P. aeruginosa*, a pump maintenance revision and purges of the system were used.

© 2005 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : s.ducki@ch-toul.fr (S. Ducki).

## Introduction

L'eau servant à la préparation du dialysat provient du réseau d'eau potable et n'est pas stérile ; elle nécessite donc un traitement afin d'éliminer les substances potentiellement toxiques pour les malades à savoir, les micropolluants minéraux ou organiques (métaux lourds, chloramines...), les microorganismes et les pyrogènes [1]. Une installation de traitement d'eau comporte différents étages de traitement qui peuvent représenter eux même des sites de prolifération microbienne (filtre à sable, adoucisseur, filtre à charbon...).

La qualité microbiologique, endotoxinique et physicochimique de l'eau d'alimentation des générateurs de dialyse est codifiée par la pharmacopée européenne [2] dans la monographie « eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse ».

Dans ce cadre, la circulaire [1] relative à la diffusion d'un guide pour la production d'eau pour hémodialyse des patients insuffisants rénaux fixe un programme minimal annuel de contrôle des installations de traitement d'eau en fonction du nombre de séances d'hémodialyse pratiquées par an dans l'établissement.

Parmi les dispositions techniques, les filières de traitement d'eau pour dialyse et le réseau de distribution doivent être conçus pour pouvoir être désinfectés afin de garantir une absence de contamination des circuits de dialyse. Cet article relate les investigations qui ont été menées pour trouver la source de Bacille pyocyanique qui contaminait de façon récurrente l'eau potable alimentant le circuit de dialyse d'une clinique en Lorraine.

## Matériel et méthode

La cellule régionale d'hygiène hospitalière, qui réalise dans près de 80 établissements de santé de Lorraine des prélèvements d'eau dans le cadre de la surveillance environnementale, a été mandatée par un établissement, dans le cadre de contaminations récurrentes du système de production d'eau pour hémodialyse.

### Description du circuit de dialyse

L'établissement est alimenté par le réseau de distribution publique (eau de ville). Au niveau du réseau interne, la canalisation destinée à alimenter l'unité de production d'eau pour dialyse est « piquée » sur le réseau incendie (sous-sol) et alimente ensuite directement l'installation de traitement

d'eau qui se trouve au 3<sup>e</sup> étage. À noter que le réseau est linéaire avec absence de bras mort. Le système de prétraitement de l'eau répond à un schéma très classique avec passage de l'eau de ville sur un filtre à sable, puis passage dans les résines des adoucisseurs et ensuite dans les filtres à charbon actif. Un système par rayonnement ultraviolet est utilisé en différents points du circuit, ainsi que des étapes de filtration à 10, 5 et 2 µm. Enfin, l'eau adoucie subit un traitement par osmose inverse avant d'alimenter les générateurs de dialyse.

### Contrôles microbiologiques et endotoxiniques

L'établissement réalise des contrôles microbiologiques de l'eau en différents points du système de production et du circuit de distribution d'eau de dialyse, à savoir :

- un dénombrement mensuel de la flore aérobie revivable sur des échantillons d'un litre, prélevés en amont de tout traitement d'eau (P1), après prétraitement (après charbon) et en départ et retour de boucle. La technique de filtration sur membrane est utilisée avec mise en culture sur milieu pauvre R2 A, pendant 68 heures à 22 °C ; le niveau action étant fixé à 100 UFC/ml. Une recherche mensuelle de Bacille pyocyanique selon la norme NFT 90-421 est également réalisée ;
- une recherche annuelle d'endotoxine (< 0,25 UI/ml) par le test du LAL (Limulus test) en départ de boucle ;
- une analyse chimique annuelle de l'eau en départ de boucle.

## Résultats

### Contexte de l'enquête

Depuis près d'un an et demi, des prélèvements réalisés au niveau du point P1, c'est-à-dire au niveau de l'eau du réseau en amont du système de traitement d'eau, montraient une contamination par *Pseudomonas aeruginosa* alors que le reste des prélèvements réalisés, après prétraitement, en départ et retour boucle n'avaient jamais été contaminés. Le [Tableau 1](#) résume l'ensemble des valeurs des différents prélèvements réalisés au point P1, de janvier 2001 à décembre 2003.

Depuis début 2001, l'eau de distribution alimentant le circuit de traitement de l'eau était contaminée par du Bacille pyocyanique, avec des niveaux de contamination pouvant atteindre 18 000 UFC/ml,

**Tableau 1** Résultats des analyses microbiologiques mensuelles réalisées sur l'eau non traitée (P1) alimentant le circuit de dialyse.

P1			P1			P1		
Date	NT22	PA	Date	NT22	PA	Date	NT22	PA
03-01-01	890	0	04-02-02	0	2	06-01-03	190	46
31-01-01 <sup>b</sup>	5400	18000	12-03-02	0	0	04-02-03	11	0
06-03-01	1130	1	09-04-02 <sup>b</sup>	0	0	11-03-03 <sup>b</sup>	1	0
20-04-01 <sup>b</sup>	470	26	14-05-02	4	7	08-04-03	4	2
03-05-01 <sup>a</sup>	510	0	10-06-02 <sup>b</sup>	560	0	05-05-03	22	0
06-06-01 <sup>b</sup>	144	98	08-07-02 <sup>a</sup>	20	0	05-06-03 <sup>b</sup>	700	0
02-07-01	620	80	19-08-02	0	0	04-07-03 <sup>a</sup>	43	0
03-09-01	3400	0	10-09-02 <sup>b</sup>	1440	600	05-08-03	350	0
01-10-01 <sup>b</sup>	104	92	07-10-02	530	90	08-09-03 <sup>b</sup>	36	0
29-10-01	86	51	14-10-02	NR	NR	07-10-03	950	0
03-12-01	170	72	04-11-02	200	88	04-11-03	0	0
09-01-02 <sup>b</sup>	43	35	09-12-02 <sup>b</sup>	1560	400	10-12-03 <sup>b</sup>	39	0

NT22 : Numération totale à 22 °C pendant 68 heures (UFC/100 ml) ; PA : Numération en *P. aeruginosa* (UFC/100mL) ; NR : Prélèvement Non Réalisé.

<sup>a</sup> Réalisation du limulus test (LAL) pour recherche d'endotoxines.

<sup>b</sup> Réalisation de la procédure de désinfection (Dialox®) du circuit de dialyse.

alors qu'aucun prélèvement n'avait mis en évidence ce germe les années précédentes (1998 à 2000). Bien que n'affectant pas la qualité de l'eau de dialyse en aval, des investigations ont été menées afin de trouver la source de cette contamination.

## Enquête analytique

L'analyse des dates des prélèvements montrait une contamination par *P. aeruginosa*, quasi permanente depuis le mois de janvier 2001. À plusieurs reprises, il a été constaté des pics élevés de contamination, suivis d'une décroissance des numérations les mois suivants. La traçabilité des procédures de maintenance du système de traitement d'eau étant très bien tenue, nous avons été rapidement interpellé par ces pics de contamination dont la fréquence « d'allure trimestrielle » coïncidait avec la réalisation de la procédure de désinfection du circuit.

Une désinfection chimique était en effet effectuée tous les trimestres, un à deux jours avant les prélèvements, en faisant circuler du Dialox® dans le circuit grâce à une pompe de circulation.

Afin de confirmer l'origine de la contamination, des prélèvements supplémentaires ont été réalisés :

- en amont du circuit au niveau d'un lavabo piqué sur l'eau du réseau ;
- sur l'eau résiduelle de la pompe ;

Les résultats de ces deux analyses ont été sans appel :

- l'eau prélevée au niveau du lavabo montrait une excellente qualité microbiologique (aucune bactérie revivifiable à 22 °C) avec absence de *Bacille pyocyanique* ;

- quant à l'eau prélevée au niveau de la pompe, l'analyse de l'échantillon révélait une forte contamination microbienne (1500 UFC/100 ml à 22 °C) et 700 UFC/100 ml de *P. aeruginosa*.

De plus, le filtre de la pompe de Dialox® qui montrait un biofilm important a été mis en culture selon la technique de la charge initiale, s'est avéré très fortement contaminé par *P. aeruginosa*.

## Discussion

L'eau servant à la préparation du dialysat qui provient du réseau d'eau public doit subir plusieurs traitements avant d'alimenter les générateurs de dialyse [1].

Les différents procédés qui interviennent dans le traitement de l'eau peuvent être eux même à l'origine de prolifération microbienne. Les filtres à charbon, les adoucisseurs sont de véritables niches écologiques et doivent donc faire l'objet de procédures d'entretien, de nettoyage et de désinfection [1].

L'intérêt de la désinfection des générateurs et des circuits de dialyse par des solutions à base d'acide peracétique n'est plus à démontrer [3-6]. Cependant et afin de garantir l'efficacité de cette procédure, elle doit nécessiter toutes les précautions utiles et une utilisation rationnelle, en particulier au niveau de la phase de rinçage.

Des cas de méthémoglobinémies ayant été rapportés [7], il convient de contrôler la présence de Dialox®, à l'aide de papier amidonné ou de bandettes enzymatiques.

Cet article relate la contamination récurrente par *P. aeruginosa* de l'eau alimentant le circuit d'eau et démontre l'effet pervers d'un système de

désinfection mal entretenu. Il s'agit ici non pas d'une contamination des éléments du dispositif de traitement d'eau mais d'une contamination secondaire à une maintenance inadaptée du système d'injection du désinfectant.

Lors de la réalisation de la désinfection, le Dialox® était injecté via une pompe de circulation, située en amont du point P1, qui après utilisation restait installée sur le piquage.

Il en résultait une stagnation de la solution de Dialox® dans la pompe et au niveau du raccord, propice à la prolifération microbienne.

Au niveau des modalités d'utilisation de cette solution d'acide peracétique, il est spécifié qu'elle peut rester plusieurs dizaines d'heures dans les équipements à sa concentration efficace de manière à éviter le développement de contaminations liées à la stagnation d'eau. Force est de constater, que la solution résiduelle, qui a perdu de son activité au cours du temps, s'était contaminée. Il faut rappeler ici le principe d'adaptation des bactéries aux biocides, et en particulier l'implication des alarmes dans ces phénomènes de résistance [8,9].

Plusieurs articles abordent la contamination d'antiseptique ou de désinfectant par des bactéries dont *P. aeruginosa* et autre bacille Gram négatif, ou encore par des spores ou mycobactéries qui sont plus résistantes [9-14], mais aussi le rôle du biofilm dans l'inactivation des biocides [15].

L'absence de contamination par *P. aeruginosa*, après pré-traitement démontre dans notre cas l'efficacité de toute la chaîne de traitement d'eau à éliminer les charges importantes de *P. aeruginosa* injectées à partir du réservoir de Dialox®. Cette efficacité a assuré la protection du circuit aval de distribution.

Néanmoins, même si le Bacille pyocyanique n'a jamais été isolé en départ ou retour de boucle, éliminé grâce à l'ultrafiltration, les endotoxines produites auraient, en revanche, pu passer au travers de ces différentes barrières. Le passage des endotoxines au niveau du dialyseur reste controversé mais plusieurs hypothèses (hydrolyse des endotoxines en petits fragments, nature et intégrité des membranes) suggèrent cette possibilité. Ces endotoxines sont pyrogènes et peuvent entraîner des signes cliniques très variés : réactions fébriles, un état de choc, une coagulation sanguine, une fibrinolyse, un état de faiblesse, une diarrhée. Dans notre cas, au cours de l'ensemble des séances, aucun effet de ce type n'a été recensé sur cette période. Par ailleurs, il faut souligner que les trois analyses réalisées en départ de boucle, pour recherche d'endotoxines se sont révélées négatives.

Les observations réalisées au cours de cette investigation nous ont conduit à renforcer les procé-

dures de désinfection, en particulier la gestion de la pompe, qui est dorénavant déconnectée après chaque utilisation, nettoyée et décontaminée.

Le point d'eau utilisé pour le branchement de la pompe est désormais purgé régulièrement afin d'éviter toute stagnation propice au développement microbien, en particulier les bactéries hydriques telles que *P. aeruginosa*. Une température élevée de la pièce où se trouve l'installation étant également un facteur favorisant la croissance bactérienne ; un système a été mis en place afin d'éviter ces montées en température.

Enfin, la méthodologie concernant les contrôles microbiologiques de l'eau a été modifiée ; la durée d'incubation passant de 68 heures à 7 jours, comme les recommandations le préconisent [16]. Malgré un coût élevé, l'établissement réalise depuis une recherche mensuelle des endotoxines en départ de boucle.

Depuis la mise en place de ces mesures correctives, aucun prélèvement en 2003 et 2004 n'a révélé la présence de *P. aeruginosa* ou d'endotoxines.

## Conclusion

L'intérêt de cet article réside dans le fait qu'il met en lumière :

- l'importance d'une bonne gestion des produits de désinfection qui peuvent se contaminer et procurer aux utilisateurs une fausse impression de sécurité ;
- l'importance d'une traçabilité de toutes les interventions effectuées qui rend possible ce type d'enquête et donc la mise en place de mesures adaptées ;
- l'importance de l'assurance qualité et d'une remise en cause régulière des pratiques.

## Références

- [1] Circulaire DGS/DH/AFFASPS n°2000-337 du 20 juin 2000 relative à la diffusion d'un guide pour la production d'eau pour l'hémodialyse des patients insuffisants rénaux.
- [2] Pharmacopée européenne, 4<sup>e</sup> Édition. Monographie « Eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse ».
- [3] Canaud B, Nguyen QV, Garred LJ, Nicolle R, Mion C. Germicidal effectiveness of Dialox, a new peroxyacetic acid solution, in the re-use of high-flux dialysers. *Nephrol Dial Transplant* 1989;4(11):1000-2.
- [4] Kes P, Reiner Z, Ratkovic-Gusic I. Dialyzer reprocessing with peroxyacetic acid as sole cleansing and sterilizing agent. *Acta Med Croatica* 1997;51(2):87-93.
- [5] Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, Fujiwara K, Yamamoto M, Abe T. The cleaning and disinfecting of hemodialysis equipment using electrolyzed strong aqueous solution. *Artif Organs* 1999;23(4):303-9.

- [6] Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, Fujiwara K, Yamamoto M, Abe T. The use of electrolyzed solutions for the cleaning and disinfection of dialyzers. *Artif Organs* 2000;24(12): 921-8.
- [7] Divanon F, Leroyer R, Hamel F, Jehan C, Samba D. Méthémoglobinémies probablement imputables au Dialox au cours de séances d'hémodialyse. *Pharm Hosp* 2001; 36(145):31-5.
- [8] Davies AJ, Maillard JY. Bacterial adaptation to biocides: the possible role of alarmones. *J Hosp Infect* 2001;49(4): 300-2.
- [9] Russel AD. Mechanisms of bacterial insusceptibility to biocides. *Am J Infect Control* 2001;29(4):259-61.
- [10] Thomas L, Maillard JY, Lambert RJW, Russel AD. Development of resistance to chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of a residual concentration. *J Hosp Infect* 2000;46(4):297-303.
- [11] Tiwari TS, Ray B, Jost KC, Rathod MK, Zhang Y, Brown-Elliott BA, et al. Forty years of disinfectant failure : outbreak of postinjection *Mycobacterium abscessus* infection caused by contamination of benzalkonium chloride. *Clin Infect Dis* 2003;36(8):954-62.
- [12] Garcia-Erce JA, Grasa JM, Solano VM, Gimeno JJ, Hernandez MJ, Marco ML, et al. *Vox Sang* 2002;83(1):70-1.
- [13] Tattawasart U, Maillard JY, Fur JR, Russel AD. Development of resistance to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride in *Pseudomonas stutzeri* and changes in antibiotic susceptibility. *J Hosp Infect* 1999;42(3):219-29.
- [14] Brooks S, Walczak M, Hameed R, Coonan P. Chlorhexidine resistance in antibiotic-resistant bacteria isolated from the surfaces of dispensers of soap containing chlorhexidine. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(11):692-5.
- [15] Gilbert P, Mc Bain AJ. Biofilms: their impact on health and their recalcitrance toward biocides. *Am J Infect Control* 2001;29(4):252-5.
- [16] Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé. In: Air, eau et surfaces. Ministère de la Santé, de la Famille, et des Personnes Handicapées. Comité Technique des Infections Nosocomiales; 2002.

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

