

Mikrobiološka kvaliteta vode za hemodijalizu i dijalizata

**Marko Jakić, Dubravka Mihaljević,
Jasminka Milas, Lada Zibar
i Marijana Jakić**

Klinička bolnica Osijek i
Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije

Stručni rad
UDK 616.61-78:614.777
Prispjelo: 14. siječnja 1998.

Bolesnici liječeni ponavljanim hemodijalizama izloženi su tjedno količini od oko 400-500 litara dijalizata, koji nastaje miješanjem vode za hemodijalizu s dijaliznim koncentratom. Od krvi bolesnika dijeli ga samo polupropusna membrana. Zbog toga mora zadovoljavati i stroge standarde mikrobiološke kvalitete.

U ovom radu, uz iznošenje vlastitih rezultata, govori se o mikrobiološkoj kvaliteti vode za hemodijalizu i dijalizata, njenom određivanju, utjecaju na zdravlje i kontroli, uz napomenu da su infekcije, nakon kardiovaskularnih bolesti, najčešći uzrok smrti ove skupine bolesnika.

Obradom redovitih mikrobioloških analiza, radenih tijekom 6-mjesečnog razdoblja, nađeno je da, uz redovite dez-

infekcije središnjeg uređaja za pripremu vode za hemodijalizu i aparata za hemodijalizu, 10% uzoraka vode za hemodijalizu i 21,43% uzoraka dijalizata ne zadovoljava AAMI standarde. Osim *Pseudomonas speciosa* nisu identificirane druge bakterijske vrste. U razdoblju promatranja nije bilo pirogenih reakcija.

U zaključku autori ističu da značajan postotak uzoraka vode za hemodijalizu i dijalizata nije u skladu s preporučenim standardima. Unatoč tome dobiveni rezultati ne odstupaju značajno od rezultata drugih istraživača.

Ključne riječi: dijalizat, mikrobiološka kvaliteta, voda za hemodijalizu,

Hemodijaliza je najčešća nadomjesna terapija kroničnog bubrežnog zatajenja. U svijetu se u današnje vrijeme ovom metodom liječi više od milijun bolesnika. Svaki od njih indirektno je izložen tjedno količini od oko 400-500 litara dijalizata. Za usporedbu treba podsjetiti da su kroz to razdoblje zdrave osobe izložene količini od svega oko 16 litara vode. Nadalje, dijalizat od krvi bolesnika dijeli samo polupropusna membrana, a vodu od krvi zdravih osoba cijeli probavni sustav. Naime, ingestirani vodeni kontaminanti mogu dospjeti u krv zdravih osoba samo ako su u stanju prijeći prepreku koju predstavlja probavni trakt. S druge strane, uz tlak, jedino veličina pora u polupropusnoj membrani određuje koje će tvari prijeći iz dijalizata u krv bolesnika. U slučaju prijelaza nepoželjnih tvari u krv zdravih osoba dolazi do njihovog izlučivanja bubrezima i/ili jetrom, a u slučaju prijelaza tih tvari u krv hemodijaliziranih bolesnika nefunkcionalan je jedan, a često hipofunkcionalan i drugi sustav. Zbog svega navedenog dijalizat mora udovoljavati stroge standarde, kako u pogledu kemijske tako i u pogledu mikrobiološke kvalitete. U ovom radu govorit ćemo uglavnom o mikrobiološkoj kvaliteti, njenom određivanju, posljedicama na zdravlje bolesnika i kontroli, uz napomenu da su infekcije, nakon kardiovaskularnih bolesti najčešći uzrok smrti ove skupine bolesnika (25).

UTJECAJ MIKROBIOLOŠKIH KARAKTERISTIKA VODE ZA HEMODIJALIZU I DIJALIZATA NA BOLESNIKA

Ni pitka voda ni voda za hemodijalizu, a ni dijalizat skoro nikada nisu sterilni. U njima se gotovo redovito dokazuje niz mikroorganizama, među kojima su najbrojnije gram-negativne bakterije (tablica 1.). Ni najmanji mikroorganizmi nisu manji od najvećih pora ni najpropusnijih dijalizatora, pa ne mogu prijeći iz dijalizata u krv bolesnika, pod uvjetom da membrana dijalizatora nije oštećena. No, kroz pore lako prodiru neki raspadni dijelovi uginulih mikroorganizama, posebno fragmenti njihove stanične stijenke (32), ili toksini koje luče (egzotoksin A koji luči *Pseudomonas speciosa* (27), hemolizin koji luči *Escherichia coli* (5)). Ovi fragmenti i toksini, nazvani egzogeni pirogeni (lipopolisaharidi, LPS, lipid A, drugi fragmenti lipopolisaharida, peptidoglikani, muramil peptidi, egzotoksin A i nje-govi fragmenti i drugi egzotoksini) (tablica 2.) induciraju stvaranje endogenih pirogena u cirkulirajućim mononuklearnim stanicama periferne krvi, interleukina-1 (IL-1) i alfa faktora tumorske nekroze (TNF α) (11-12). Endogeni pirogeni su značajni medijatori obrambenog odgovora na infekciju i upalu (12). Posljedica su povišena tjelesna temperatura (T_{or}

TABLICA 1.

Bakterije koje se obično nađu u sustavu za pripremu vode za hemodijalizu i dijalizatu

TABLE 1.

Waterborne bacteria usually identified in the hemodialysis water treatment system and dialysate

Bakterije Bacteria	Pitka voda Tap water	Voda za hemodijalizu Water for hemodialysis	Dijalizat Dialysate
Gram pozitivne Gram positive			
	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>
		<i>Corynebacterium spp.</i>	
		<i>Micrococcus spp.</i>	
		<i>Staphylococcus spp.</i>	
		<i>Streptococcus spp.</i>	
Gram negativne Gram negative			
	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>
	<i>(P. aeruginosa,</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Flavobacter spp.</i>
	<i>P. maltophilia,</i>	<i>Flavobacter spp.</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>
	<i>P. cepacia)</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Alcaligenes spp.</i>
	<i>Flavobacter spp.</i>	<i>Achromobacter spp.</i>	<i>Erwinia spp.</i>
		<i>Aerobacter spp.</i>	<i>Achromobacter spp.</i>
		<i>Alcaligenes spp.</i>	<i>Aeromonas spp.</i>
			<i>Xanthomonas spp.</i>
			<i>Serratia spp.</i>
			<i>Moraxella spp.</i>
			<i>Klebsiella spp.</i>
			<i>Enterobacter cloacae</i>
Anaerobne Anaerobe			
	<i>Mycobacteria</i>	<i>Clostridium spp.</i>	<i>M. chelonei</i>
	<i>M. chelonei</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>	<i>M. chelonei-like</i>
	<i>M. xenopi</i>		
	<i>M. gordonae</i>		
	<i>M. scrofulaceum</i>		

iznad 37,8° C), osjećaj zimice i tresavice, glavobolja, mučnina, povraćanje i hipotenzija (pad sistoličkog tlaka za najmanje 30 mm Hg), koji se javljaju obično pola do jednog sata nakon početka hemodijalize. Skupni naziv im je pirogena reakcija.

Klasični niskopropusni dijalizatori imaju u svojoj stijenci pore koje propuštaju tvari molekulske mase manje od 5000 daltona, a visokopropusni dijalizatori propuštaju tvari molekulske mase manje od 30000 daltona. Na prvi pogled moglo bi se zaključiti da su niskopropusni dijalizatori manje

propusni za egzogene pirogene. No, u nizu radova dokazano je da nema statistički značajne razlike učestalosti pirogenih reakcija između bolesnika liječenih niskopropusnim i visokopropusnim dijalizatorima (33).

STANDARDI MIKROBIOLOŠKE KVALITETE VODE ZA HEMODIJALIZU I DIJALIZATA

Ronco i suradnici (29) ističu da se dijalizat mora smatrati lijekom i da zbog toga i po kakvoći i po količini mora

TABLICA 2.
Bakterijski pirogeni i njihova dijagnostika
TABLE 2.
Bacteria-derived pyrogens and their detection

Vrsta Source	Molekulska masa (kD) Molecular weight (kD)	LAL test LAL assay
Fragmenti stanične stijenke / Bacterial cell wall		
• Lipopolisaharidi (LPS) / Lipopolysaccharides	>100	+
• Lipid A / Lipid A	2-4	+
• Drugi fragmenti LPS / Other LPS fragments	<8	?
• Peptidoglikani / Peptidoglycans	1-20	-
• Muramilpeptidi / Muramylpeptides	0,4-1,0	-
Izlučeni toksini / Secreted toxins		
• Egzotoksin A / Exotoxin A	71	-
• Fragmenti egzotoksina A / Exotoxin A fragments	<1	-
• Ostali egzotoksini / Other exotoxins	20-50	-

+ određen / detectable, - neodređen / not detectable, ? nepoznat / not known

u potpunosti odgovarati kliničkim potrebama bolesnika. Prema AAMI standardima (3) u vodi za dijalizu ne smije se naći više od 200 bakterija, cfu/ml (cfu-colony forming unit), a u dijalizatu ne više od 2000 cfu/ml. Uz dopušteni broj mikroorganizama u dijalizatu se neće stvoriti više od 5 EU/ml endotoksina (EU-endotoksinska jedinica), a bolesnici ne bi smjeli imati pirogene reakcije. Prema Europskoj farmakopeji (1) maksimalni dopušteni broj bakterija u jednom ml dijalizata je samo 100, a svega 0,25 EU endotoksina. Prema navodu Dimaja i suradnika (10) iz 1996. godine u Francuskoj, voda za razrjeđenje dijaliznog koncentrata, pripremljena reverznom osmozom, ne smije sadržavati više od 100 cfu/ml. Iste godine Lonnemann i suradnici (25) se zalažu da broj bakterija u dijalizatu ne bude iznad 200 cfu/ml. Canaud i suradnici (7) smatraju da taj broj mora biti ispod 100/ml dijalizata, a da se endotoksini osjetljivom metodom ne bi smjeli detektirati.

Preporuča se uzorke vode za dijalizu i dijalizata sakupljati u staklene posude, volumena 500 ml, prethodno strojno oprane, dekontaminirane s 15% hidroklornom kiselinom, tri puta isprane ultra čistom vodom i sterilizirane na 180° C tijekom 60 minuta (2). Prije uzimanja uzoraka izlazno mjesto treba očistiti s otopinom natrijeva hipoklorita (100 mg NaOCl/l), a potom pustiti da tekućina istječe pod mlazom 2-10 minuta (2, 24). Osoba koja uzima uzorke mora imati rukavice i duge rukave da se spriječi zagađivanje uzoraka kožnim bakterijama (24).

Uzorke vode za dijalizu i dijalizata treba analizirati unutar 30 minuta od uzimanja (24). U protivnom treba ih pohraniti na temperaturi od 4° C (2) ili do 5° C (24) i analizirati unutar 24 sata. Ako se uzorci ostave u neodgovarajućim uvjetima bakterije će se umnožavati i dobit će se lažno pozitivni rezultati. U određivanju broja bakterija ne smije se primijeniti metoda koja se koristi za urino-kulturu, jer se ovom metodom ne može detektirati broj bakterija manji od 1000/ ml (24).

Za rast bakterija vrlo su bitne podloge. Harding i suradnici (17) smatraju da su najbolje podloge koje sadrže sol i koje su siromašne hranjivim tvarima (triptikaza sojin agar i R2A podloga). Krvni agar nije pogodan, jer je prebogat hranjivim tvarima. Nadalje, treba znati da vodene bakterije daleko bolje rastu i brže se umnožavaju na temperaturi od 22° C nego na temperaturi od 37° C. Zbog toga Vorbeck-Meister i suradnici (34) nalaze da nakon inkubacije na 22°C 20,0% uzoraka ulazne vode, 66,7% uzoraka vode iza ionskih izmjenjivača, 33,3% uzoraka vode iza reverzne osmoze, 12,5% uzoraka dijalizata na ulazu u aparat za dijalizu i 50,0% uzoraka dijalizata na izlazu iz aparata za dijalizu premašuju standarde koje određuje Europska farmakopeja (1). Nakon inkubacije uzoraka na 37° C samo 10,0% uzoraka dijalizata na ulazu u aparat za dijalizu i 66,7% uzoraka dijalizata na izlazu iz aparata za dijalizu ne zadovoljava standarde Europske farmakopeje (1), a svi su ostali uzorci u skladu s njima.

MIKROBIOLOŠKE KARAKTERISTIKE VODE ZA HEMODIJALIZU I DIJALIZATA I PIROGENE REAKCIJE

Usprkos brojnim tehničkim unapređenjima na 1000 hemodijaliza i dalje se javlja 1 - 5 pirogenih reakcija (16). Nadalje, prema podacima iz literature, svaki peti uzorak dijalizata ne zadovoljava ni labave AAMI standarde (3). Iz ova dva navedena podatka može se zaključiti da svaki mikrobiološki neodgovarajući dijalizat ne prati pirogena reakcija. Zašto je to tako?

Mikrobiološkom analizom određujemo broj bakterija u vodi za dijalizu i u dijalizatu. Bakterije, zbog svoje veličine, ne mogu prijeći kroz neoštećenu membranu dijalizatora u krv bolesnika, nego samo neki dijelovi raspadnutih bakterija, njihove stanične stijenke ili podjedinice njihovih izlučenih egzotoksina (egzogeni pirogeni). No, sigurno je

da postoji paralelizam između broja bakterija i egzogenih pirogena. Za nastanak pirogenih reakcija potrebni su endogeni pirogeni, Il-1 i TNF_{α} . Njihovo stvaranje potiču samo oni egzogeni pirogeni koji dospiju u krv bolesnika ili koji već dodiru na membrani dijalizatora aktiviraju mononuklearne stanice periferne krvi i potiču ih da stvaraju endogene pirogene. Ovisno o membrani dijalizatora, a unatoč činjenici da kroz neoštećenu membranu i nisko propusnih i visoko propusnih dijalizatora prolaze neki egzogeni pirogeni, i ovisno o plazmatskim proteinima, samo dio egzogenih pirogena prolazi i dovodi do pirogenih reakcija. Zbog toga se i događa da se jedna pirogena reakcija pojavljuje na čak 40-200 dijaliza s neodgovarajućim brojem bakterija u dijalizatu. Nadalje, dokazano je da za nastanak pirogene reakcije u čovjeka treba najmanje 5 mg endotoksi-na po kg tjelesne težine (1 mg = 10 EU).

U dijalizatu se uz broj bakterija mogu odrediti i egzogeni pirogeni. Oni se mogu određivati i u krvi bolesnika. Endogeni pirogeni mogu se pak određivati samo u krvi bolesnika.

Egzogeni pirogeni određuju se LAL testom (15) (limulus amebocyte lysate). Uvidjelo se da LAL testom možemo odrediti samo lipopolisaharide i podjedinice lipopolisaharida koje sadrže lipid A, a ne i druge egzogene pirogene. Samo 50% aktivnosti egzogenih pirogena iz *Pseudomonas* speciosa može se odrediti LAL testom. Određivanje stvaranja endogenih pirogena u mononuklearnim stanicama periferne krvi najbolji je način da se odredi prodiru li pirogeni iz dijalizata u krv. Određuje se broj antagonista receptora interleukina-1 (Il-1 Ra) (30).

Il-1 i TNF_{α} su najznačajniji proinflammatory citokini, zajedno s Il-6 i Il-8. Oni u jetri povećavaju sintezu C-reaktivnog proteina (CRP) i feritina, a istovremeno inhibiraju sintezu prealbumina i albumina (31,13-14). Ova zbivanja postoje i kada egzogeni pirogeni ne dovode do pirogenih reakcija. CRP je najjednostavniji pokazatelj upalnog zbivanja u serumu hemodijaliziranih bolesnika. Iseki i suradnici (18) su našli da je 5-godišnje preživljenje imalo 82,5% hemodijalizom liječenih bolesnika s normalnom koncentracijom CRP u serumu (ispod 10 mg/l), a samo 44,4% bolesnika s povišenom koncentracijom, neovisno o koncentraciji albumina u serumu. Ovaj nalaz nisu mogli potvrditi Owen i suradnici (28) koji su našli da visoku koncentraciju CRP prati niska koncentracija albumina i prealbumina.

UTJECAJ NA MIKROBIOLOŠKE KARAKTERISTIKE VODE ZA HEMODIJALIZU I DIJALIZATA

Dezinfekcija je najvažniji proces kojim se utječe na mikrobiološke karakteristike vode za hemodijalizu i dijalizata. Cilj dezinfekcije je osigurati vodu i dijalizat u sustavu raspodjele s količinom mikroorganizama ispod ili u razini dozvoljenih granica, a primjenom kemijskih sredstava, topline ili ultraljubičastog zračenja. Kemijska sredstva se najčešće koriste.

U svijetu je u uporabi nekoliko dezinficijensa. Najviše se koristi dezinficijens sastavljen od octene kiseline, vodikovog peroksida i peroctene kiseline (Dialox, Renalin, Minncare). Djeluje oslobađanjem aktivnog kisika iz peroctene kiseline, koji reagira s proteinima stanične stijenke mikroorganizama, prodirući u njih i razarajući ih. Ne samo da je baktericidan nego i virucidan i sporocidan. Posebno je učinkovit prema rezistentnim sojevima kao što su *Proteus aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* i spore *Bacillus cereus*. Koncentracije od 1,5% učinkovite su prema virusu humane imunodeficijencije i uz izlaganje tijekom 30 minuta, a od 5,0% i prema virusima B i C hepatitisa tijekom 60 minuta. Dezinfekcija toplinom učinkovita je skoro jednako kao i dezinfekcija kemijskim sredstvima. Primjenjuje se obično temperatura od $85 \pm 5^{\circ} C$. U novije vrijeme ponovo se naglašava važnost vodene pare u odstranjenju biofilma. Vodena para tijekom 20 minuta, zagrijana na $121^{\circ} C$, pod tlakom od 1,5 bara, pokazala se nadmoćnom u usporedbi s kemijskim dezinficijensima. Pretpostavlja se da dolazi ili je već došao kraj kemijskim dezinficijensima, riziku vezanom uz rukovanje kemikalijama i strahu od neodstranjenih rezidua (9). Dezinfekcija ultraljubičastim zracima je vrlo učinkovita, ali u svijetu malo dijalitičkih centara koristi ovu metodu.

Dezinficiraju se aparati za dijalizu, središnji uređaj za pripremu vode za dijalizu (najčešće su to reverzna osmoza i ionski izmjenjivači) i sprovodni sustav pripremljene vode.

Vrijeme dezinfekcije mora biti dovoljno dugo. Layman-Amato (24) kaže da dulje vremensko izlaganje dezinficijensu sigurno ubija više bakterija od kratkog. Aparati za dijalizu treba dezinficirati uvijek između dvije hemodijalize, a središnji uređaj za pripremu i raspodjelu vode jedanput mjesečno, ali samo kada je mikrobiološka kvaliteta vode u skladu s prihvaćenim standardima. Po nekim autorima, kada su premašeni AAMI standardi (3), reverznu osmozu ne bi trebali koristiti sve dok se problem ne riješi. Prije 9 godina Bland (6) je napisao: "Dezinfekciju treba raditi prema preporukama proizvođača aparata za dijalizu i središnjeg uređaja za pripremu vode, a u skladu s nalazom rutinskih mikrobioloških testiranja."

S obzirom da postoji niz dezinfekcijskih sredstava ponekad je teško odabrati pravo. Filozofska, ali često korištena preporuka je da treba koristiti ono dezinfekcijsko sredstvo koje preporučuje proizvođač sustava za pripremu vode u hemodijalizi i proizvođač aparata za dijalizu. Kes sa suradnicima (19) ističe da pri odabiru dezinfekcijskog sredstva moramo biti sigurni da je ono kompatibilno s materijalima iz kojih je sačinjen sustav za pripremu vode.

KONTROLA UČINAKA DEZINFEKCIJE

Najbolji pokazatelj učinaka dezinfekcije je broj bakterija u vodi za dijalizu i u dijalizatu. Ako ovaj broj nije u skladu s prihvaćenim standardima neposredno nakon završene dezinfekcije znači da sama dezinfekcija nije učinkovita ili da priljev mikroorganizama vodovodnom

vodom premašuje kapacitet uređaja za pripremu vode i dezinfekcijskog sredstva. Ako ovaj broj nije u skladu s prihvaćenim standardima prije sljedeće dezinfekcije, znači da je razmak između dvije dezinfekcije predug za postojeću kvalitetu vodovodne ulazne vode, kapacitet uređaja za pripremu vode i dezinfekcijsko sredstvo. U prvom slučaju dezinfekciju treba promijeniti, a u drugom raditi je, bar privremeno, u kraćim vremenskim intervalima.

Prema Krautzigu i suradnicima (22) ipak nema strogih preporuka o tome kako često činiti bakteriološka testiranja vode za dijalizu i dijalizata. U većini centara u svijetu rast bakterija provjerava se u vodi za dijalizu, ali ne i u dijalizatu, jedanput na 2-3 mjeseca. AAMI (3) pak preporuča bakteriološke kontrole jedanput mjesečno. Češća monitoriranja potrebna su kada se prethodnim testiranjem nađe da je broj bakterija iznad preporučenih limita, kada se mijenja bilo koji dio u sustavu za pripremu vode, kada je neki od njih otvoren i kada se mijenja dezinfekcijsko sredstvo. Lonemann i suradnici (25) preporučuju bakteriološke kontrole dva puta mjesečno.

Klain i suradnici (20) su analizom 51 centra za dijalizu u SAD našli da 35% uzoraka vode za dijalizu i 19% uzoraka dijalizata ne zadovoljava AAMI standarde (3). Bambauer i suradnici (4) i u Njemačkoj nalaze usporedive rezultate - 17,8% uzoraka vode za dijalizu i 11,7% uzoraka dijalizata ne zadovoljava AAMI standarde (3). Analiza 85 centara za dijalizu u Grčkoj (2) pokazala je da samo 7,4% uzoraka pripremljene vode za dijalizu, a ipak 36,3% uzoraka dijalizata nije bilo u skladu sa AAMI standardima (3). Čak 80,7% uzoraka ulazne vode u skladu je s nacionalnim standardom koji ne dopušta da se u pitkoj vodi nađe više od 10 bakterija u jednom ml (2). Kučišec-Tepeš (23) navodi da se na Odjelu za dijalizu Kliničke bolnice "Sveti Duh" u Zagrebu bakteriološka kontrola obavlja od 1992. godine. Od ukupno 740 analiza izneseni su podaci za ukupno njih 51, koji u biti pokazuju usporedbu učinaka formaldehida, natrijevog hipoklorita i Dialoxa na dijalizat. Između ostalog vidljivo je da 17 uzoraka ili njih trećina ne zadovoljava AAMI standarde (3).

Obrani neodgovarajućih rezultata dodajmo i izučavanja Mana i suradnika (26), čiji su rezultati objavljeni 1998. godine. Naime, oni su analizirali elektronskim mikroskopom unutrašnje površine cijevi za prolaz vode, bikarbonatnog koncentrata i svježe pripremljenog dijalizata u aparatima za dijalizu, a potom proveli i mikrobiološke analize ultrazvukom razgrađenog biofilma. Našli su da se u biofilmu sa sterilnim dijalizatom i nedetektabilnim endotoksinima, nađe prosječno 1×10^3 - 1×10^6 bakterija/cm² biofilma. Zaključuju da i sterilni dijalizat, bez endotoksina, predstavlja, zbog biofilma, mogući rizik za bolesnika i mogući izvor kontinuirane kontaminacije.

I za kraj, odgovor na pitanje utječe li mikrobiološka kvaliteta vode za dijalizu i dijalizata na preživljenje bolesnika?

Kleophas i suradnici (21) su, proučavajući preživljenje bolesnika liječenih ponavljanim hemodijalizama retrospek-

tivno analizirali skupinu bolesnika jednog centra za dijalizu tijekom 25 godina. Našli su da 5 godina preživi 59% bolesnika. No, bolesnici koji su u vrijeme započinjanja ovog liječenja imali između 35 i 44 godine imali su 5-godišnje preživljenje u 74%, 10-godišnje u 51%, a 15-godišnje u 34%. U usporedbi s rezultatima drugih autora bolje rezultate imaju samo bolesnici liječeni u Tassinu (8). Nađene razlike pokušavaju objasniti i razlikama serumskog albumina, uz napomenu da 82% njihovih bolesnika ima ovu razinu iznad 40 g/l, a bez znatno većeg katabolizma proteina (protein catabolic rate, PCR = $1,10 \pm 0,22$ g/kg tjelesne težine). Sve objašnjavaju uporabom ultra čiste vode za dijalizu, pripremljene po Genius konceptu, gdje se dezinfekcija obavlja ultraljubičastim zrakama valne duljine 254 nm i kojim se osigurava dijalizna tekućina s manje od 6 pg/ml LPS. Dijalizat ovakvih karakteristika praktički ne dovodi do nastupa pirogenih reakcija, aktivacije citokina, stvaranja CRP i feritina i inhibicije sinteze prealbumina i albumina.

VLASTITI REZULTATI

U ovom radu retrogradno su obrađeni rezultati mikrobioloških analiza vode za hemodijalizu i dijalizata dobiveni tijekom 6-mjesečnog razdoblja promatranja. Voda za dijalizu pripremljena je reverznom osmozom i ionskim izmjenjivačima. Uređaj za pripremu vode dezinficiran je redovito svakih 14 dana, a aparati za hemodijalizu nakon svake učinjene hemodijalize, dezinficijensom sastavljenim od octene kiseline, vodikova peroksida i peroctene kiseline (Dialox, Pliva).

Uzorci vode za dijalizu i dijalizata sakupljeni su u sterilne staklene posude 1. i 12. dana nakon učinjene dezinfekcije. Mjesta uzimanja uzoraka prethodno su očišćena natrijevim hipokloritom (100 mg natrijeva hipoklorita na litru vode), a prije uzimanja tekućina je istjecala u mlazu tijekom 3-5 minuta. Osoba koja je uzimala uzorke bila je odjevena kako bi se smanjila mogućnost zagađenja uzoraka kožnim bakterijama. Uzorci su do analize čuvani na temperaturi nižoj od 5° C, a nakon nasađivanja na Mac Conkeyeve podloge i triptikaza sojin agar inkubirani 48 sati na 22° C.

Tijekom 6 mjeseci promatranja učinjeno je 11650 hemodijaliza. Dominirala je bikarbonatna hemodijaliza (11100 ili 95,28%) nad acetatnom (550 ili 4,72%). Skoro podjednak udio bikarbonatnih hemodijaliza koristio je tekući (5500 ili 49,55%) i praškasti bikarbonatni koncentrat (5600 ili 50,45%). Nešto više od 90% hemodijaliza učinjeno je s dijalizatorima od modificiranog celuloznog acetata ili diacetata (10500 ili 90,13% - Pliva, Zagreb), a samo nešto manje od 10% s dijalizatorima od polisulfona (1150 ili 9,87% - Fresenis, Njemačka). Manje od 5% dijalizatora imalo je, prema ultrafiltracijskoj sposobnosti, karakteristike visoko protočnih dijalizatora, a više od 95% karakteristike niskoprotočnih dijalizatora.

Tijekom 6 mjeseci bilo je 19 febrilnih epizoda (jedna na 613 hemodijaliza). Ni jedna febrilna epizoda nije okarakter-

izirana kao pirogena reakcija, jer su sve imale pozitivne hemokulture i jer su se sve javile u bolesnika s centralnim venskim kateterima.

Učinjeno je 60 mikrobioloških analiza vode za dijalizu i 98 mikrobioloških analiza dijalizata. U skladu s AAMI standardima (3) nije bilo 6 uzoraka vode za dijalizu (10%) i 21 uzorak dijalizata (21,43%). Zanimljivo je da su se u ispitivanim uzorcima dokazivale samo bakterije iz roda *Pseudomonasa*.

Prosječne vrijednosti CRP, određenog u tom razdoblju, iznosile su $7,86 \pm 13,47$ mg/l. Nije nađena korelacija između razine CRP u krvi bolesnika i broja bakterija u dijalizatu.

ZAKLJUČAK

Na osnovi podataka iz literature i vlastitih rezultata možemo zaključiti da još uvijek znatan broj uzoraka vode za dijalizu i dijalizata ne zadovoljava ni ne baš tako stroge AAMI standarde (3). Vjerojatno se značajna poboljšanja neće moći postići uporabom sadašnjih sustava za pripremu vode za dijalizu i dijalizata i kemijskih dezinficijensa.

S obzirom da je prosječno bar dvostruko više mikrobiološki neodgovarajućih uzoraka dijalizata od uzoraka vode za dijalizu neophodno je promijeniti način pripreme dijalizata i pronalaženje metode koja će osigurati sterilan dijalizat. Naime, treba uvijek imati na umu činjenicu da mikrobiološki neodgovarajuća voda za dijalizu i dijalizat, stalnom indukcijom aktivnosti citokina, imaju ne samo kratkotrajne, nego i dugotrajne utjecaje na preživljenje hemodijalizom liječenih bolesnika

LITERATURA

1. Anonimus. Eph. Water for diluting concentrated haemodialysis solutions. European Pharmacopeia. 1992; VIII-9: 1-6.
2. Arvanitidou M, Spaia S, Katsinas C, et al. Microbiological quality of water and dialysate in all haemodialysis centres of Greece. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 949-54.
3. Association for the Advancement of Medical Instrumentation. AAMI Standards and Recommended Practices, vol 3. American National Standards Institute, Arlington. 1993; 3: 1-332.
4. Bambauer R, Schauer M, Jung WK, Daum V, Vienken J. Contamination of dialysis water and dialysate. A survey of 30 centers. *ASAIO* 1994; 40: 1012-16.
5. Bhakdi S, Muhly M, Korom S, Schmidt G. Effects of *Escherichia coli* hemolysin on human monocytes. *J Clin Invest* 1990; 85: 1746-48.
6. Bland LA. Microbial contamination control strategies for hemodialysis systems. PTSM series. 1989; 3: 30-36.
7. Canaud JMB, Mion MC. Water treatment for contemporary hemodialysis. In: Drukker W, Parsons F, Maher J. Replacement of renal function by dialysis. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London 1996; 231-55.
8. Charra B, Caemard E, Laurent G. Importance of treatment time and blood pressure control in achieving long-term survival on dialysis. *Am J Nephrol* 1996; 16: 35-44.
9. Degremont A, Kubey W, Straka P, Holmes C. Efficacy of disinfectants versus a procedure including cleaning and disinfection steps on biofilm in dialysis machines. *ISN* 1997; 8: 243-47.
10. Dimajo P, Hartemann P, Andre JL. Bacterial evaluation of different disinfection procedures within fluid pathways of hemodialysis monitors Cobe CS3 and AK 100. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin* 1996; 198(4): 340-54.
11. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl Med* 1993; 328: 106-9.
12. Dinarello CA. Interleukin-1 and tumor necrosis factor and their naturally occurring antagonists during hemodialysis. *Kidney Int* 1992; 38: 68-70.
13. Dinarello CA. Mechanisms of disease: Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response. *N Engl J Med* 1984; 311: 1413-18.
14. Dowton SB, Colton HR. Acute phase reactants in inflammation and infection. *Semin Hematol* 1988; 25: 84-90.
15. Duff GW, Atkins E. The detection of endotoxin by in vitro production of endogenous pyrogen: Comparison with Limulus amoebocyte lysate gelation. *J Immunol Method* 1982; 52: 323-27.
16. Gordon SM, Oettinger CW, Bland LA, et al. Pyrogenic reactions in patients receiving conventional, high-efficiency, or high-flux hemodialysis treatments with bicarbonate dialysate containing high concentrations of bacteria and endotoxin. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2: 1436-39.
17. Harding GB, Klein E, Pass T, Wright R, Million C. Endotoxin and bacterial contamination of dialysis center water and dialysate: a cross sectional survey. *Int J Artif Organs* 1990; 13: 39-43.
18. Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, Fukiyama K. Serum C-reactive protein (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1956-60.
19. Kes P, Šefer S, Veidlich D, Ratković-Gusić I. Quality of hemodialysis water. *Acta Clin Croat* 1997; 36: 187-94.
20. Klein E, Pass T, Harding GB, Wright R, Million C. Microbial and endotoxin contamination in water and dialysate in the central United States. *Artif Organ* 1990; 14: 85-94.
21. Kleophas W, Haastert B, Backus G, Hilgers P, Westhoff A, van Endert G. Long-term experience with an ultrapure individual dialysis fluid with a batch type machine. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 3118-25.
22. Krautzig S, Lonnemann G, Koch KM. Penetration of exotoxin A related cytokine-inducing substances through dialyzer membranes. *Blood Purif* 1995; 13: 61-5.
23. Kučičec-Tepeš N. Disinfection in dialysis - a preventive method against intrahospital infections. *HMA* 1997; 21: 77-86.
24. Layman-Amato R. Disinfection of an RO System: Clearing the Issues. *Dial Transplant* 1995; 24(5): 244-49.
25. Lonnemann G, Krautzig S, Koch KM. Quality of water and dialysate in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 946-49.
26. Man NK, Degremont A, Darbord JC, Collet M, Vaillant P. Evidence of bacterial biofilm in tubing from hydraulic pathway of hemodialysis system. *Artif Organ* 1998; 22(7): 596-600.
27. Misfeldt ML, Legaard PK, Howell SE, Fornella MH, Le Grand RD. Induction of interleukin-1 from murine peritoneal macrophages by *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Infect Immun* 1990; 58: 978-81.
28. Owen WF, Lowrie EG. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 627-36.

29. Ronco C, Fabris A, Feriani M. Hemodialysis fluid composition. In: Drukker W, Parsons F, Maher J. Replacement of renal function by dialysis. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 1996; 256-76.
30. Schindler R, Lonnemann G, Schaffer J, Shaldon S, Koch KM, Krautzig S. The effect of ultrafiltered dialysate on the cellular content of interleukin-1 receptor antagonist in patients on chronic hemodialysis. *Nephron* 1994; 68: 229-33.
31. Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunol Today* 1994; 15: 81-8.
32. Takahashi I, Kotani S, Takada H, Shiba T, Kusumoto S. Structural requirements of endotoxic lipopolysaccharides and bacterial cell walls in induction of interleukin-1. *Blood Purif* 1988; 6: 188-91.
33. Tokars JI, Alter MJ, Favero MS, Moyer LA, Bland LA. National surveillance of hemodialysis associated diseases in the United States, 1990. *ASAIO* 1993; 14: 85-90.
34. Vorbeck-Meister I, Sommer R, Vorbeck F, Hörl WH. Quality of water used for haemodialysis: bacteriological and chemical parameters. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 666-75.

Abstract

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FOR HEMODIALYSIS AND DIALYSATES

Marko Jakić, Dubravka Mihaljević, Jasminka Milas,
Lada Zibar and Marijana Jakić

Osijek Clinical Hospital and Institute for Public Health
County Osječko-baranjska

Chronic hemodialysis patients are exposed to nearly 400-500 liters of dialysate weekly, which is prepared by mixing up water for hemodialysis with concentrate for hemodialysis. The dialysate is separated from patient's blood only by a semi-permeable membrane. Therefore it has to satisfy the strict standards of microbiological quality.

Beside reporting our own results, this paper deals with microbiological quality of water for hemodialysis and dialysate, its determination, its influence on health and modes of its control, taking into consideration that after cardiovascu-

lar diseases, infections are the most common cause of death in this population.

Analysing the results of regular microbiological tests carried out during a 6-month period, it has been found that, in spite of regular disinfections of the central water for hemodialysis treatment system and hemodialysis machines, 10% of the samples of water for hemodialysis and 21.43% of the samples of dialysate do not comply to the AAMI standards. No other bacterial strain except *Pseudomonas* species was identified. During the observation period there were no pyrogenic reactions.

The authors conclude that a significant percentage of the samples of water for hemodialysis and the samples of dialysate are not in accordance with the recommended standards. In spite of that, the obtained results do not differ significantly from the results of other authors.

Key words: dialysate, microbiological quality, water for hemodialysis