

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Μικροβιακοί παράγοντες που σχετίζονται με το δίκτυο ύδρευσης του τεχνητού νεφρού και παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με θετικά αποτελέσματα»

ΧΡΥΣΑ Ι. ΜΩΡΑΙΤΗ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

Α.Τ.Ε.Ι ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

2014

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ: ΙΑΤΡΙΚΗ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ
ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ**

**«Μικροβιακοί παράγοντες που σχετίζονται με το δίκτυο ύδρευσης του
τεχνητού νεφρού και παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με θετικά
αποτελέσματα»**

ΧΡΥΣΑ Ι. ΜΩΡΑΙΤΗ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

Α.Τ.Ε.Ι ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

2014

Επιβλέπων Καθηγητής:
Χρήστος Χατζηχριστοδούλου
Καθηγητής Υγιεινής & Επιδημιολογίας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας – Τμήμα Ιατρικής

Η τριμελής επιτροπή:
Ιωάννης Στεφανίδης
Γεώργιος Ραχιώτης

Την παρούσα διπλωματική εργασία την αφιερώνω σε έναν άνθρωπο που δεν είναι πλέον κοντά μου στη γιαγιά μου την Χρύσα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ασθενείς που βρίσκονται στο τελικό στάδιο της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση με στόχο την νεφρική υποκατάσταση. Στο σύνολο των συνεδριών που υποβάλλονται οι αιμοκαθαιρούμενοι ασθενείς σε αιμοκάθαρση, κάθε εβδομάδα εκτίθενται σε 400 λίτρα νερό. Το νερό χρησιμοποιείται για την παρασκευή των διαλυμάτων της αιμοδιάλυσης και για την έκπλυση των μηχανημάτων μετά το τέλος των συνεδριών. Η ποιότητα του νερού εξαρτάται από την επεξεργασία που υφίσταται και τη συμμόρφωση ως προς τις οδηγίες και τις συστάσεις που ορίζουν τα πρότυπα και η Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία.

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η εργαστηριακή ανίχνευση των μικροβιολογικών παραμέτρων, της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX) και των ενδοτοξινών σε δείγματα νερού από το σύστημα επεξεργασίας νερού των μονάδων τεχνητού νεφρού (MTN).

Υλικό και Μέθοδοι: Από τις 11 MTN (ιδιωτικές και κρατικές) που ανήκουν στη περιοχή της Θεσσαλίας και της Λαμίας της (5^{ης} Υγειονομικής Περιφέρειας) αποδέχτηκαν οι 9/11 (82%) να συμμετέχουν στη μελέτη. Το σύνολο των δειγμάτων νερού που λήφθηκαν και αναλύθηκαν ήταν 40 για τους μικροβιακούς δείκτες και 27 δείγματα για τις ενδοτοξίνες. Μετά το τέλος της δειγματοληψίας συμπληρώθηκε σε κάθε MTN το αντίστοιχο ερωτηματολόγιο, για την εκτίμηση κινδύνου του συστήματος επεξεργασίας νερού.

Αποτελέσματα: Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι οι παράγοντες κινδύνου που μπορεί να συσχετιστούν με την αύξηση συγκέντρωσης της OMX >100 cfu/ml, είναι μεταξύ των δειγμάτων νερού πριν την όσμωση σε σύγκριση με τα δείγματα νερού μετά την όσμωση (RR=2,83) (p-value=0,011). Ένας άλλος αρνητικός παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψιν, είναι το υλικό σωληνώσεων του συστήματος διανομής νερού (πολυπροπυλαίνιο), όπου συσχετίστηκε με την αύξηση συγκέντρωσης της OMX (p-value=0,030). Επιπλέον η χρονολογία εγκατάστασης του συστήματος επεξεργασίας νερού έδειξε την αύξηση συγκέντρωσης της OMX και των ενδοτοξινών. Η ανίχνευση των ενδοτοξινών στο σύνολο των δειγμάτων νερού κυμαίνονταν > 0,25EU/ml στο 25,9% (7/27) των δειγμάτων, ενώ η συγκέντρωση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας >100cfu/ml στο 40% (16/40) των δειγμάτων.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει την ανάγκη της συστηματικής επιτήρησης του συστήματος επεξεργασίας νερού καθώς και μέτρων απολύμανσης και παρακολούθησης. Είναι σαφές ότι η τήρηση των προληπτικών μέτρων οδηγεί στη μείωση του αποικισμού των βακτηρίων, των ενδοτοξινών και από τον σχηματισμό της βιομεμβράνης.

Λέξεις κλειδιά: Αιμοκάθαρση, σύστημα επεξεργασίας νερού, ποιότητα νερού αιμοκάθαρσης, ενδοτοξίνες, ολική μεσόφιλη χλωρίδα, βακτηριακή μόλυνση

THESIS

«Bacteriological factors correlated with the water supply in haemodialysis units and risk factors deal with the positive results».

ABSTRACT

Patients who are in their end-stage renal disease are submitted in haemodialysis aiming renal substitution. In their total treatments haemodialysis patients are exposed to approximately 400 liters of dialysis water every week. The water is used for the production of dialysis fluid and the cleaning of the machines at the end of the treatments. The quality of water depends on the water treatment system, recommendations and the guidelines following the standards and European Pharmacopoeia.

Purpose: The aim of this project is to detect the microbiological parameters, colony forming units and endotoxins in water samples taken from water treatment system in haemodialysis units.

Materials and Methods: The 11 haemodialysis units existing (private and public) in the area of Thessaly and Lamia, the 9 of them (82%) accepted to participate in the study. The total of water samples which were taken and examined were forty (40) of microbiological indicators and twenty-seven (27) samples of endotoxins. After the sampling a questionnaire was completed to estimate the risk of water treatment system.

Results: The results of this research relying on the statistical analysis showed that the risk factors can be correlated with the increase of accumulation of colony forming units $> 100\text{cfu/ml}$ are among water samples taken before the reverse osmosis and water samples taken after (RR=2,83) (p-value=0,011). A negative factor which should be taken into account is the material of distribution piping system correlated with the increase of accumulation of colony forming units (p-value=0,030). Furthermore the old water treatment system showed an increase of accumulation colony forming units and endotoxins. In this thesis the detect of endotoxins of the total water samples is $> 0,25\text{ EU/ml}$ to 25,9% (7/27) of the samples, while the accumulation of colony forming units is $>100\text{cfu/ml}$ to 40% (16/40) of the water samples.

Conclusions: This study indicates the systematic surveillance of water treatment system and measures of disinfection and monitoring. It is clearly that the compliance of preventing measures lead to the reduction of colonization of bacteria, endotoxins and the formation of biofilm.

Key Words: Haemodialysis, water treatment system, quality dialysis water, endotoxins, colony forming units, bacterial contamination.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|--|----|
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ..... | i |
| ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ..... | ii |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... | 1 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο ΝΕΦΡΟΣ..... | 2 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο ΟΡΙΣΜΟΙ..... | 3 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗΣ..... | 6 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗΣ..... | 12 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ^ο ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ..... | 13 |
| 5.1) Παρακολούθηση Αίματος..... | 14 |
| 5.1.1) Οθόνη Αρτηριακής Πίεσης..... | 14 |
| 5.1.2) Οθόνη Φλεβικής Πίεσης..... | 15 |
| 5.1.3) Αντλίες αίματος – ηπαρίνης, ανιχνευτής διαρροής αέρα & σφικκτήρες..... | 15 |
| 5.2) Παρακολούθηση διαλύματος αιμοκάθαρσης..... | 16 |
| 5.2.1) Θερμοκρασία διαλύματος..... | 16 |
| 5.2.2) pH..... | 16 |
| 5.2.3) Αγωγιμότητα..... | 16 |
| 5.2.4) Ανιχνευτής διαρροής αίματος..... | 17 |
| 5.2.5) Βαλβίδα παράκαμψης (by pass)..... | 17 |
| 5.3) Απολύμανση μηχανημάτων τεχνητού νεφρού..... | 18 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ^ο ΦΙΛΤΡΑ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗΣ..... | 19 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ^ο Η ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ ΣΤΙΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ (ΟΔΗΓΙΕΣ - ΠΡΟΤΥΠΑ)..... | 22 |
| 7.1) Υπερκάθαρο νερό..... | 26 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 ^ο ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ..... | 28 |
| 8.1) Επιπτώσεις στους ασθενείς..... | 31 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 ^ο ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ..... | 33 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10 ^ο ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΝΕΡΟΥ..... | 38 |
| 10.1.1) Προ επεξεργασία νερού: φίλτρα άμμου, αποσκληρυντές, φίλτρα ενεργού άνθρακα..... | 38 |
| 10.1.2) Προ – φίλτρα..... | 40 |
| 10.1.3) Μηχανισμός αντίστροφης όσμωσης..... | 41 |
| 10.1.4) Εγκατάσταση απιονισμού..... | 42 |
| 10.1.5) Υπεριώδης ακτινοβολία (UV)..... | 43 |
| 10.1.6) Φίλτρα μικροβίων..... | 43 |
| 10.1.7) Δεξαμενή αποθήκευσης..... | 44 |

| | |
|---|----|
| 10.2) Απολύμανση του συστήματος επεξεργασίας νερού..... | 45 |
| 10.3) Σχηματισμός βιομεμβράνης (biofilm) στο σύστημα διανομής νερού..... | 47 |
| 10.4) Υλικά του συστήματος διανομής του νερού..... | 48 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11 ^ο ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ..... | 49 |
| 11.1.1) Διαδικασία Δειγματοληψίας..... | 49 |
| 11.1.2) Εκτίμηση κινδύνου..... | 50 |
| 11.1.3) Παρασκευή θρεπτικών υλικών..... | 51 |
| 11.1.4) Εργαστηριακός προσδιορισμός με τη μέθοδο της ενσωμάτωσης..... | 51 |
| 11.1.5) Εργαστηριακός προσδιορισμός με τη μέθοδο διήθησης μέσω μεμβρανών..... | 52 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 52 |
| Ολικά κολοβακτηριοειδή & <i>Escherichia coli</i> | 54 |
| Εντερόκοκκος..... | 55 |
| 11.2) Ταυτοποίηση με <i>Malditoff</i> | 55 |
| 11.3) Υπολογισμός αποτελεσμάτων..... | 55 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12 ^ο ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΝΔΟΤΟΞΙΝΩΝ..... | 56 |
| 12.1) Σκοπός – πεδίο εφαρμογής..... | 56 |
| 12.2) Εξοπλισμός..... | 56 |
| 12.3) Αντιδραστήρια –Υλικά..... | 56 |
| 12.4) Μεθοδολογία ανάλυσης..... | 57 |
| 12.5) Προετοιμασία της ανάλυσης..... | 58 |
| 12.6) Διαδικασία ανάλυσης..... | 58 |
| 12.7) Ερμηνεία αποτελεσμάτων – Υπολογισμοί..... | 59 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13 ^ο ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ..... | 61 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14 ^ο | 62 |
| ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... | 62 |
| 14.1) Περιγραφική ανάλυση χαρακτηριστικών Μ.Τ.Ν. βάσει δελτίο ελέγχου (check list)..... | 62 |
| 14.2) Περιγραφική ανάλυση δειγμάτων νερού..... | 63 |
| 14.3) Ποσοτική ανάλυση παραγόντων και Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (ΟΜΧ)..... | 65 |
| 14.4) Ποιοτική ανάλυση παραγόντων και Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (ΟΜΧ) >100 cfu/ml .. | 68 |
| 14.5) Περιγραφή παραγόντων και ενδοτοξινών..... | 71 |
| 14.6) Απομόνωση παθογόνων μικροοργανισμών με τη μέθοδο τυποποίησης (MALDITOFF)..... | 73 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 15 ^ο ΣΥΖΗΤΗΣΗ..... | 74 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... | 78 |
| Ελληνική:..... | 78 |
| Ξενόγλωσση:..... | 78 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ (I, II ,III, IV,V, VI)..... | 87 |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και εγκαρδίως τον Καθηγητή του τμήματος Υγιεινής και Επιδημιολογίας τον κ. Χρήστο Χατζηχριστοδούλου, για την επίβλεψη αυτής της διπλωματικής εργασίας για τις πολύτιμες γνώσεις του καθώς και για τις κατευθύνσεις που μου πρόσφερε για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Η στήριξη του κατά τη διάρκεια της φοίτησης μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών σε μια δύσκολη κατάσταση που βίωσα, μου έδωσε δύναμη να συνεχίσω την προσπάθεια μου, να ολοκληρώσω το μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών αποκομίζοντας τις βαθύτερες γνώσεις επί του αντικειμένου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και όσους συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία & Περιβαλλοντική Υγιεινή» που μου πρόσφεραν τις πολύτιμες γνώσεις τους κατά τη διάρκεια της φοίτησης μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω και ανθρώπους εκτός από το ακαδημαϊκό περιβάλλον, όπως την οικογένεια μου που ήταν πάντα δίπλα μου και με στήριξαν ηθικά και οικονομικά στην ολοκλήρωση του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών. Και ιδιαίτερα τον αδερφό μου που με εκείνον μοιραζόμουν όλες τις ανησυχίες και ήταν πάντα κοντά μου.

ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|---|----|
| 7.1. Μέγιστα επίπεδα για την καθαρότητα του νερού αιμοκάθαρσης, | 25 |
| 7.2. Τιμές ενεργοποίησης μετά το τελικό στάδιο της επεξεργασίας του νερού, .. | 25 |
| 7.3. Μέγιστα επίπεδα καθαρότητας νερού μεταξύ διαφόρων χωρών, | 26 |
| 8.1. Μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από το σύστημα διανομής νερού, 30 | |
| 9.1. Επιδημιολογικά Δεδομένα, | 36 |
| 14.1 Σημεία Δειγματοληψίας, | 63 |
| 14.2 Απομόνωση παθογόνων μικροοργανισμών, | 64 |
| 14.3 Συχνότητα εμφάνισης ενδοτοξινών στο σύνολο των δειγμάτων, | 64 |
| 14.4 Παρουσίαση μέσης τιμής, τυπικής απόκλισης και διαμέσου, | 65 |
| 14.5 Ποσοτική ανάλυση παραγόντων & OMX, | 66 |
| 14.6 Ποιοτική ανάλυση παραγόντων και OMX >100cfu/ml, | 69 |
| 14.7 Συσχέτιση παραγόντων και ενδοτοξινών, | 71 |
| 14.8 Απομόνωση Gram (-) & Gram (+) βακτηρίων στις Μ.Τ.Ν., | 73 |

ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

| | |
|--|----|
| 14.3 Γράφημα συσχέτιση όσμωσης και συγκέντρωσης ΟΜΧ..... | 68 |
|--|----|

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία με θέμα «μικροβιακοί παράγοντες που σχετίζονται με το δίκτυο ύδρευσης του τεχνητού νεφρού και παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με θετικά αποτελέσματα» θα αναλύσουμε και θα καταγράψουμε τις μικροβιακές παραμέτρους στο σύστημα επεξεργασίας νερού των μονάδων τεχνητού νεφρού. Στόχος είναι να προσδιοριστούν οι παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της αιμοκάθαρσης και θέτουν σε κίνδυνο την υγεία των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών. Από το 1960 η αιμοκάθαρση εφαρμόζεται σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και είναι διαδεδομένη σε παγκόσμιο επίπεδο με στόχο την νεφρική υποκατάσταση. Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε αυτή την διαδικασία εκδηλώνουν ψυχοσωματικά προβλήματα, λόγω της συχνότητας και της μεγάλης διάρκειας της κάθε συνεδρίας. Σε αυτή την περίπτωση θα πρέπει να αποκλείονται ενδεχόμενοι κίνδυνοι (μικροβιολογικοί ή χημικοί), οι οποίοι παρεμβάλλονται και μπορεί να επηρεάσουν την υγεία τους και να δημιουργήσουν ενδεχομένως περαιτέρω προβλήματα επιβαρύνοντας την υπάρχουσα κατάσταση τους. Απαιτείται τόσο από το ιατρικό και το νοσηλευτικό προσωπικό, να είναι πλήρως καταρτισμένοι όσον αφορά για τα πρότυπα και τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας για την ορθή ολοκλήρωση της κάθε συνεδρίας της αιμοδιάλυσης. Οι Νεφρολόγοι γιατροί θα πρέπει να αντιμετωπίζουν τη χρήση του νερού σαν φάρμακο για την αποτελεσματικότητα του κατά τη χρήση στη διαδικασία της αιμοκάθαρσης.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η εργαστηριακή ανίχνευση των μικροβιολογικών παραμέτρων, της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX) και των ενδοτοξινών σε δείγματα νερού από το σύστημα επεξεργασίας νερού των μονάδων τεχνητού νεφρού. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων θα γίνει όπως ορίζεται σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας και το ISO 13959:2009. Η έρευνα θα στηριχτεί στις κατάλληλες εργαστηριακές μεθόδους, όπου με βάση της ανάλυσης και της διεκπεραίωσης των τελικών αποτελεσμάτων, θα προσδιοριστούν οι παράγοντες κινδύνου. Οι επιμέρους σκοποί θα δώσουν έμφαση στα παρακάτω στοιχεία της έρευνας:

- Θα καταγραφούν οι παράγοντες κινδύνου που μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του νερού. Θα γίνει η χρήση ερωτηματολογίου (check list), για την ανάλυση διαφόρων μεταβλητών, που σχετίζονται με το σύστημα επεξεργασίας του νερού.
- Επιπλέον, από ότι ορίζει η Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία στην παρούσα εργασία, θα αναλυθούν και άλλοι μικροβιακοί παράγοντες, όπως η Ψευδομονάδα, ο εντερόκοκκος, η κλεμπσιέλλα και η E.coli.

Η αφορμή της έρευνας στηρίζεται στην διεθνή βιβλιογραφία, όσον αφορά τη χρήση του νερού της αιμοκάθαρσης, στην ανεπαρκή επεξεργασία του και στον βαθμό επικινδυνότητας που μπορεί να προκαλέσει δυσάρεστα γεγονότα απέναντι στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Αποτελεί μεγάλο ενδιαφέρον ο έλεγχος των μικροβιολογικών παραμέτρων, διότι σε περίπτωση ύπαρξής τους, μπορεί να σηματοδοτήσουν ανεξέλεγκτες καταστάσεις προς τους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς, επιβαρύνοντας και θέτοντας σε κίνδυνο την υγεία τους, στην προσπάθεια να αντιμετωπίσουν νέες καταστάσεις, οι οποίες μπορεί να θεωρηθούν απειλητικές για τη ζωή τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΝΕΦΡΟΣ

Ο ανθρώπινος οργανισμός αποτελείται από δύο νεφρούς (εικόνα 1), οι οποίοι βρίσκονται στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο, δεξιά και αριστερά της σπονδυλικής στήλης. Η θέση τους καταλαμβάνει τον 12^ο θωρακικό σπόνδυλο και τον 3^ο οσφυϊκό σπόνδυλο. Υπό φυσιολογικές συνθήκες και οι δύο νεφροί καθημερινά φιλτράρουν 180 λίτρα αίμα, από τα οποία τα δύο λίτρα κατατάσσονται ως άχρηστα προϊόντα. Η κρεατινίνη και η ουρία καθίστανται άχρηστα προϊόντα του μεταβολισμού, όπου στη συνέχεια μετατρέπονται σε ούρα για την περαιτέρω αποβολή τους από τον οργανισμό (BC Renal Agency). Οι λειτουργίες που επιτελούν οι νεφροί χαρακτηρίζονται σημαντικές για τον ανθρώπινο οργανισμό και αναφέρονται παρακάτω (Ward Richard A. et al, 1982):

- Αποβάλλουν τα άχρηστα προϊόντα του αίματος από το ουροποιητικό σύστημα, καθώς επίσης και τις ουσίες που παράγονται από τον μεταβολισμό της τροφής
- Παράγουν την ερυθροποιητίνη
- Ενεργοποιούν την βιταμίνη D
- Ελέγχουν την αρτηριακή πίεση (έκκριση της ρενίνης)
- Ρυθμίζουν την ισορροπία των ηλεκτρολυτών και των υγρών του σώματος

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια χαρακτηρίζεται από την αδυναμία των νεφρών να ρυθμίσουν την ποιότητα και την ποσότητα των υγρών του σώματος. Η αιμοκάθαρση είναι μια διαδικασία που έχει ως στόχο να απομακρύνει από το αίμα των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών τους περιττούς μεταβολίτες, ηλεκτρολύτες (ουρία, κάλιο) και την περίσσεια του ύδατος που συγκεντρώνονται στον οργανισμό λόγω της αδυναμίας αποβολής τους με τα ούρα. Η συκέντρωση τους παρουσιάζει τον κίνδυνο δημιουργίας παθολογικών εκδηλώσεων (Ward Richard A. et al, 1982).



Εικόνα 1. Νεφρός

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΟΡΙΣΜΟΙ

Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια: είναι η προοδευτική μη αναστρέψιμη μείωση της νεφρικής λειτουργίας, η οποία προκαλείται από βλάβη του νεφρού ποικίλης αιτιολογίας.

Τεχνητός νεφρός (artificial kidney): είναι μια μέθοδος όπου απομακρύνει τα τοξικά προϊόντα του μεταβολισμού, αποκαθιστά το ισοζύγιο του νερού και των ηλεκτρολυτών και διορθώνει τις διαταραχές της οξεοβασικής ισορροπίας.

Αιμοκάθαρση (haemodialysis): είναι μια μορφή θεραπείας που πραγματοποιείται με στόχο την νεφρική υποκατάσταση, όπου με το μηχανισμό της διάχυσης απομακρύνονται διαλυμένες ουσίες από το αίμα χωρίς τη μεταφορά του διαλύτη. Απομακρύνονται οι ουσίες μικρού μοριακού βάρους. Η διαδικασία πραγματοποιείται με την βοήθεια μιας ημιπερατής μεμβράνης (ISO 26722:2009). Το διάλυμα ρέει σε αντίθετη φορά από ότι το αίμα σε εξωσωματική κυκλοφορία υπό πίεση, ώστε να επιτυγχάνεται αποτελεσματική απομάκρυνση του νερού και των υπό κάθαρση ουσιών από το αίμα προς το φίλτρο της αιμοδιάλυσης (Κωνσταντινίδης et al, 2011).

Αιμοδιήθηση (hemofiltration): είναι μια μορφή θεραπείας που πραγματοποιείται με στόχο την νεφρική υποκατάσταση, όπου οι υπό κάθαρση ουσίες απομακρύνονται από το αίμα με υπερδιήθηση. Με τον μηχανισμό της υπερδιήθησης επιτυγχάνεται μεταφορά διαλύτη και μέρους διαλυμένων ουσιών που βασίζεται στη διαφορά υδροστατικής πίεσης. Η έγχυση του διαλύματος αναπλήρωσης γίνεται πριν ή μετά το φίλτρο (ISO 26722:2009). Οι ουσίες που απομακρύνονται είναι μικρού και μεσαίου μοριακού βάρους.

Αιμοδιαθιήθηση (hemodiafiltration): είναι μια μορφή θεραπείας με συνδυασμό της αιμοδιήθησης και της αιμοκάθαρσης. Πραγματοποιείται με στόχο την νεφρική υποκατάσταση, όπου οι διαλυμένες ουσίες (απόβλητα) απομακρύνονται από το αίμα με τη διάχυση και τη διήθηση, μέσω μιας μεμβράνης υψηλής ροής (ISO 26722:2009).

Νερό αιμοκάθαρσης: είναι το νερό το οποίο έχει υποστεί την κατάλληλη επεξεργασία και πληρεί τις απαιτήσεις του προτύπου ISO 13959:2009. Προορίζεται για την παρασκευή των διαλυμάτων της αιμοκάθαρσης, για την έκπλυση των συσκευών μετά τη λήξη της συνεδρίας, για την παρασκευή των συμπυκνωμάτων και την προετοιμασία του υγρού υποκατάστασης για την on line θεραπεία (ISO 26722:2009).

Σύστημα επεξεργασίας νερού: συμπεριλαμβάνει την παροχή νερού στη μονάδα τεχνητού νεφρού, όπου παρεμβάλλονται οι συσκευές καθαρισμού, οι αντλίες, τα συστήματα παρακολούθησης και διανομής νερού στο σημείο χρήσης (μηχανήματα αιμοδιάλυσης) (EDTNA/ERCA Guidelines) .

Διάλυμα αιμοδιάλυσης (dialysis fluid): είναι ένα υδατικό διάλυμα, το οποίο περιέχει ηλεκτρολύτες, ρυθμιστικό διάλυμα και γλυκόζη. Η ηλεκτρολυτική σύνθεση είναι όμοια

με το εξωκυττάριο υγρό. Στόχος είναι να πραγματοποιηθεί η ανταλλαγή των διαλυμένων ουσιών κατά τη διάρκεια της αιμοδιάλυσης (ISO 26722:2009).

Ολική μεσόφιλη χλωρίδα (OMX) (colony forming units): χαρακτηρίζονται οι μικροοργανισμοί, δηλαδή τα αερόβια βακτήρια, οι ζύμες και οι μύκητες, ικανά να σχηματίσουν αποικίες στο θρεπτικό υλικό που καθορίζεται από το πρότυπο (ISO 13959:2009).

Ενδοτοξίνες (endotoxin): είναι συστατικά του εξωτερικού κυτταρικού τοιχώματος των Gram (-) βακτηρίων και συντίθενται από υδατάνθρακες, λιπαρά οξέα, φωσφορικά οξέα και μεταλλικά ιόντα. Είναι λιποπολυσακχαρίδια και ποικίλουν ανάλογα με τα συστατικά τους. Οι κλινικές αντιδράσεις ποικίλουν όπως πυρετός, ρίγος, υπόταση, οργανική ανεπάρκεια και θάνατος (ISO 13959:2009).

Μονάδα ενδοτοξινών (endotoxin units): τα επίπεδα των ενδοτοξινών μετρούνται λαμβάνοντας υπόψη την βιολογική τους δραστηριότητα. Από το 1997 η Αμερικάνικη και η Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία στηρίζουν το ίδιο πρότυπο, έτσι ώστε οι μονάδες μέτρησης EU και IU να είναι ταυτόσημες (EDTNA/ERCA Guidelines).

LAL (Limulus Amoebocyte Lysate): είναι μια δοκιμασία που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των ενδοτοξινών και στηρίζεται στο (*Limulus polyphemus*). (EDTNA/ERCA Guidelines)

Πεπτιδογλυκάνη (peptidoglycans): είναι πυρετογόνος ουσία βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα των Gram (+) βακτηρίων σε μεγαλύτερη ποσότητα από ότι στα Gram (-) βακτήρια. Η ικανότητα της επαγωγής των κυτοκινών από τα κύτταρα του αίματος, δίνει την δυνατότητα της ποσοτικής ανάλυσής τους στο αίμα (EDTNA/ERCA Guidelines).

Πυρετογόνοι παράγοντες (pyrogenic factors): συνήθως είναι λιποσακχαρίτες προέρχονται από τα Gram (-) βακτήρια, προκαλούν πυρετογόνες αντιδράσεις, παράγοντας κάποια ουσία (ISO 13959:2009). Τα συμπτώματα που μπορεί να προκαλέσει μια πυρετογόνος αντίδραση είναι ρίγος, ναυτία, εμετός, υπόταση (EDTNA/ERCA Guidelines).

Ολικά κολοβακτηριοειδή (total coliforms): είναι οργανισμοί διαδεδομένοι στην φύση, ενδημούν στο εντερικό σύστημα των θηλαστικών και στον ανθρώπινο οργανισμό και σχετίζονται με την κοπρανώδη και περιβαλλοντική ρύπανση. Τα γένη των κολοβακτηριοειδών είναι *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* (Α. Κατσιαφλάκα).

Κολοβακτηρίδια κοπράνων (faecal coliforms): ο όρος αναφέρεται κυρίως για την *Escherichia coli* και *Klebsiella* όπου η παρουσία τους δείχνει ότι υπάρχει πρόσφατη κοπρανώδης μόλυνση πιθανών από εντερικά παθογόνα.

Κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι (faecal streptococci) και εντερόκοκκοι (intestinal enterococci) : είναι Gram (+) κόκκοι που δημιουργούν αλυσίδες, περιέχουν το αντιγόνο κατά Lancefield της ομάδας D και βρίσκονται στην φυσική χλωρίδα του πεπτικού συστήματος των ανθρώπων και των ζώων (Α. Κατσιαφλάκα). Οι εντερόκοκκοι

αποτελούν υποομάδα των στρεπτόκοκκων κοπράνων και περιλαμβάνουν *S.faecalis*, *S.fallium*, *S.avium*, *S.gallinarium*.

Ετερότροφα βακτήρια (heterotrophic bacteria): είναι τα παρασιτικά βακτήρια. Απαιτούν περίπλοκες οργανικές ουσίες (αμινοξέα, σάκχαρα). Δεν διαθέτουν βιοσυνθετικούς μηχανισμούς επιβίωσης σε δύσκολες συνθήκες του περιβάλλοντος. Οι ετερότροφοι οργανισμοί που υπάρχουν στο νερό χρησιμεύουν για την παρακολούθηση της ποιότητας του. Η θερμοκρασία επώασης στους 22° C είναι μικρής υγειονομικής αξίας, αλλά θεωρείται καλός δείκτης για την αποτελεσματική επεξεργασία του νερού και την απολύμανση. Με αυτό τον τρόπο γίνεται και η εκτίμηση της καλής κατάστασης του δικτύου διανομής του νερού

Βιοφίλμ (biofilm): είναι το άθροισμα των μικροβιακών κυττάρων σε μια επιφάνεια όπου περιβάλλεται εξωτερικά από μια πολυμερή ουσία. Μπορεί να σχηματιστεί σε ιατρικές συσκευές, σε σύστημα σωληνώσεων διανομής πόσιμου νερού ή σε φυσικά υδάτινα συστήματα (Donlan Rodney M., 2002).

Απολύμανση (disinfection): έχει ως στόχο την καταστροφή των μικροοργανισμών και επιτυγχάνεται με φυσικά μέσα (π.χ. θερμότητα) είτε με χημικά μέσα. Η απολύμανση δεν αποτελεί τον αποτελεσματικότερο τρόπο για την εξάλειψη των ενδοτοξινών και όλων των τύπων βακτηρίων. Σε αυτή την περίπτωση απαιτούνται και επιπλέον μέσα που μπορούν να συνεισφέρουν, για την εξουδετέρωση όλων των μικροοργανισμών και των ενδοτοξινών (EDTNA/ERCA Guidelines).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗΣ

Η αιμοκάθαρση θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα επιτεύγματα της ιατρικής κατά τον 20^ο αιώνα. Εξασφάλισε στους ασθενείς μια καλύτερη ποιότητα στη καθημερινότητα τους, διότι πριν την ανακάλυψη της δεν υπήρχε βελτίωση στον τρόπο ζωής τους και τα αποτελέσματα ήταν αναπόφευκτα για τους ασθενείς. Όλοι οι ερευνητές που ασχολήθηκαν με μελέτες στηρίχτηκαν σε θεωρίες προηγούμενων και το τελικό αποτέλεσμα ήταν άξιο των προσδοκιών, όσων ασχολήθηκαν για την δημιουργία του τεχνητού νεφρού και την εξέλιξη της αιμοκάθαρσης. Ο Ιπποκράτης πριν από 2500 χρόνια συσχέτισε ότι το πόσιμο νερό που πίνουν οι άνθρωποι μπορεί να δημιουργήσει, λιθιάσεις, φλεγμονές των νεφρών και πόνο κατά την ούρηση. Ήταν ο πρώτος που συνδύασε τα συμπτώματα με την αίτια που τα δημιουργεί. Το 1827 ο Άγγλος γιατρός Richard Bright ήταν ο πρώτος που περιέγραψε τα συμπτώματα της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (νόσος Bright) (Κυρίτσης Η., 2012).

Η αντιμετώπιση της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας εφαρμόστηκε κατά την αρχαιότητα από τους αρχαίους Ρωμαίους με την εφαρμογή της εξωσωματικής κάθαρσης. Η μέθοδος περιελάμβανε τον ατμό από τα θερμά λουτρά όπου επιτυγχανόταν η απομάκρυνση των υπό κάθαρση ουσιών από το αίμα. Άλλες μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν κατά την αρχαιότητα ήταν τα κλύσματα και η αφαίμαξη. Στην σημερινή εποχή η διαδικασία για την ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης περιλαμβάνει την όσμωση και την διάχυση, όπου περιγράφηκε το 1854 από τον χημικό Σκωτσέζο Thomas Graham. Με βάση των μελετών ο Graham ανακοίνωσε τον διαχωρισμό των διαλυμένων ουσιών από τα διαλύματα, μέσω των ημιπερατών μεμβρανών (Dialysis Compact). Έπειτα, το 1861 περιέγραψε τον όρο «dialysis» που σημαίνει διάλυση και έχει ως στόχο την απομάκρυνση της ουρίας από τα ούρα προς σε ένα άλλο υδατικό διάλυμα, μέσω των ημιπερατών μεμβρανών. Η πρόβλεψη του ήταν ότι η διαδικασία της διάλυσης θα εξασφάλιζε την νεφρική υποκατάσταση. Έχει αναφερθεί ότι οι θεωρίες του Graham και του φυσιολόγου Adolf Fick, συνέβαλλαν στη βασική αρχή, για την αντιμετώπιση της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (Κυρίτσης Η., 2012, Fresenius Medical Care).

Το 1913 έγινε η πρώτη αιμοκάθαρση σε πειραματόζωα από τον John Abel και τους συνεργάτες του στο πανεπιστήμιο John Hopkins της Βαλτιμόρης. Οι μεμβράνες που χρησιμοποίησαν ήταν από «κολλόδιο» το οποίο προέρχεται από την κατάλληλη επεξεργασία της κυτταρίνης, ενώ για αντιπηκτικό χρησιμοποίησαν την ηρουδίνη (Kolff Willem et al 1944). Η ηρουδίνη ανακαλύφθηκε το 1880 από την φυσιολόγο Haycraft και απομονώθηκε από το σάλιο της βδέλλας. Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται το πρώτο μηχάνημα του Abel και των συνεργατών του (εικόνα 3.1) (Fresenius Medical Care).



Εικόνα 3.1. Μηχάνημα διάχυσης από Abel

Η πρώτη εφαρμογή της αιμοκάθαρσης σε άνθρωπο έγινε το 1924 από έναν Γερμανό γιατρό τον Georg Haas στη πόλη Giessen κοντά στη Φρανκφούρτη. Η διάρκειά της δεν ξεπέρασε τα 15 λεπτά (Konner Klaus, et al, 2005). Η συσκευή που χρησιμοποίησε ήταν ίδια με αυτή που είχε περιγράψει ο Abel, δηλαδή χρησιμοποίησε μεμβράνες από κολλόδιο και το αντιπηκτικό ηρουδίνη. Ωστόσο, το 1928 οι προσπάθειες του σε 7 ασθενείς, οι οποίοι ήταν σε προχωρημένο στάδιο της οξείας νεφρικής ανεπάρκειας απέτυχαν, λόγω της αναποτελεσματικής εφαρμογής της μεθόδου. Η ηρουδίνη συχνά προκαλεί αλλεργικές αντιδράσεις στους ανθρώπους, έτσι στο τελευταίο πείραμα χρησιμοποίησε ως αντιπηκτικό την ηπαρίνη, η οποία είχε απομονωθεί από το ήπαρ σκύλων, το 1916 από τον Αμερικανό Maclean. Η ηπαρίνη προκαλεί σπάνια αλλεργικές αντιδράσεις στον άνθρωπο, διότι αποτελεί το φυσικό ενδογενές αντιπηκτικό σε όλα τα θηλαστικά. Έτσι, το 1937 καθιερώθηκε η χρήση της (Fresenius Medical Care & Κυρίτσης Η.).

Η πρώτη επιτυχία της αιμοκάθαρσης σε άνθρωπο έγινε από τον Ολλανδό γιατρό Willem Kolff όπου ξεκίνησε το 1943 την προσπάθεια του για την νεφρική υποκατάσταση. Κατόρθωσε να κατασκευάσει το πρώτο μηχάνημα τεχνητού νεφρού το οποίο αποτελούταν από ένα περιστρεφόμενο τύμπανο από ξύλινες γρίλιες, όπου υπήρχαν γύρω του σωλήνες κατασκευασμένοι από αναγεννημένη κυτταρίνη, μέσα στους οποίους κυκλοφορούσε το αίμα των ασθενών. Η αναγεννημένη κυτταρίνη είναι γνωστή ως σελοφάν και χρησιμοποιείται για την συσκευασία των τροφίμων. Ο Ολλανδός στηρίχτηκε στις θεωρίες του Abel και Haas για την επιτυχή κατασκευή του τεχνητού νεφρού. Ως διάλυμα αιμοκάθαρσης χρησιμοποίησε τον φυσιολογικό ορό. Οι πρώτες προσπάθειες απέτυχαν και οι 16 ασθενείς απεβίωσαν. Συνεχίζοντας την προσπάθειά του το 1945 κατάφερε να κρατήσει στην ζωή μια γυναίκα 67 ετών, με οξεία νεφρική ανεπάρκεια η οποία πέθανε μετά από 7 χρόνια από κάποια άλλη αιτία. Ωστόσο η νεφρική της λειτουργία είχε υποκατασταθεί προσφέροντάς την βελτίωση στην καθημερινότητα της. Στην συνέχεια ακολούθησαν και άλλες επιτυχείς εφαρμογές της μεθόδου. Έχοντας εξασφαλίσει την επιτυχία της εφεύρεσής του, κατασκεύασε άλλα 5 μηχανήματα τα οποία και έκανε δωρεά, σε νοσοκομεία σε όλο τον κόσμο μετά τον Β' παγκόσμιο πόλεμο, εξασφαλίζοντας την νεφρική υποκατάσταση στους ασθενείς (Fresenius Medical Care & Κυρίτσης Η.). Στην παρακάτω (εικόνα 3.2) απεικονίζεται το πρώτο μηχάνημα τεχνητού νεφρού κατά του Willem Kolff.



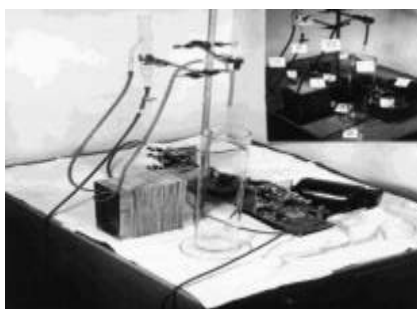
Εικόνα 3.2. Τεχνητός Νεφρός από περιστρεφόμενο τύμπανο (Willem Kolff).

Το 1950 ο Willem Kolff, πήγε στην Αμερική στο Brigham Hospital στη Βοστώνη εκεί ανακατασκεύασαν τα μηχανήματα του, από ανοξείδωτο ατσάλι και η βελτίωση ήταν σημαντική ως προς την χρήση τους (Κυρίτσης Η., 2012). Κατά την χρονική περίοδο 1954-1962 τα νέα εξελισσόμενα μηχανήματα γνωστά ως Kolff –Brigham αποστάλθηκαν σε 22 νοσοκομεία, σε όλο τον κόσμο και ακολούθησε η επιτυχής εφαρμογή της μεθόδου σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς, προσφέροντας μια σταθερή βελτίωση στην καθημερινή τους ζωή. Παράλληλα, η μέθοδος εφαρμόστηκε και στον πόλεμο της Κορέας αντιμετωπίζοντας την μετά τραυματική νεφρική ανεπάρκεια σε στρατιώτες και αυξάνοντας το ποσοστό επιβίωσης τους (Γεωργιάδης et al, 2006 & Fresenius Medical Care).

Σημαντική ήταν και η συμβολή του Καναδού χειρουργού Gordon Murray, όπου κατασκεύασε ένα τεχνητό νεφρό παράλληλα την ίδια εποχή που πειραματιζόταν ο Willem Kolff και ο Nills Alwall. Το 1945 –1946 ολοκλήρωσε το πρώτο μηχάνημα αλλά δεν ήταν των προσδοκιών του. Μετά την αποτυχία συνέχισε την προσπάθεια του ολοκληρώνοντας την συσκευή διάλυσης. Οι πειραματισμοί πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα και ήταν επιτυχείς. Η πρώτη κλινική δοκιμασία έγινε με επιτυχία, το 1946 σε μια γυναίκα η οποία ήταν σε ουραιμικό κόμα. Το 1952 με την συνεργασία του Dr Walter Roschlau κατασκεύασαν με επιτυχία, έναν τεχνητό νεφρό δεύτερης γενιάς (McKellar Shelley, 1999). Στις (εικόνες 3.3, 3.4) απεικονίζεται η πρώτη και η δεύτερη συσκευή τεχνητού νεφρού που κατασκεύασε ο Gordon Murray



Εικόνα 3.3. Πρώτο μηχάνημα τεχνητού νεφρού, Gordon Murray (1945- 1946)



Εικόνα 3.4. Μηχάνημα δεύτερης γενιάς τεχνητού νεφρού, Gordon Murray (1952)

Το 1947 ο Σουηδός γιατρός Nills Alwall δημοσίευσε μελέτες οι οποίες αφορούσαν τροποποιήσεις στη συσκευή διάλυσης του Kolff, ο οποίος δεν είχε προβλέψει την απομάκρυνση της περίσσειας των υγρών. Ο Alwall δημιούργησε μια νέα συσκευή αιμοκάθαρσης όπου εκτός από την απομάκρυνση των υπό κάθαρση ουσιών επιτυγχανόταν και η αφυδάτωση των ασθενών, εφαρμόζοντας αρνητική υδροστατική πίεση προκαλώντας υπερδιήθηση (Ultra Filtration). Η ανακάλυψη έφερε μεγάλη επιτυχία κατά την εφαρμογή της. Παράλληλα, ανακάλυψε το πρώτο αρτηριοφλεβικό shunt από γυάλινους σωλήνες. Το 1956 συνεργάστηκε με έναν Σουηδό επιχειρηματία και ίδρυσαν την εταιρία Gambro η οποία παράγει εξοπλισμό αιμοκάθαρσης (Κυρίτσης Η., 2012, Fresenius Medical Care,).

Η εξέλιξη της διαδικασίας της αιμοκάθαρσης συνεχίστηκε το 1948 από τους Skegg και Leonard, με την ανάπτυξη των παράλληλων φίλτρων με επίπεδες μεμβράνες. Βέβαια, προηγήθηκε και η συμβολή του Νορβηγού γιατρού Fredric Kiil το 1960, για την περαιτέρω βελτίωση. Η αιμοκάθαρση πλέον γινόταν μέσω των επίπεδων μεμβρανών, με την εναλλαγή του διαλύματος και του αίματος με αντίθετη ροή (Κυρίτσης Η., 2012). Στην παρακάτω (εικόνα 3.5) περιγράφεται η συσκευή διάλυσης σύμφωνα με τον Kiil (Fresenius Medical Care).



Εικόνα 3.5. Συσκευή διάλυσης (Kiil).

Αρχικά, γίνονταν χειρουργική διάνοιξη στους ασθενείς, όπου τοποθετούσαν ένα γυάλινο σωλήνα για να συνεχιστεί η περαιτέρω διαδικασία της κάθαρσης του αίματος (Alwall Nils). Η διαδικασία αυτή ήταν επώδυνη και για το λόγο αυτό οι μελέτες συνεχίστηκαν με την ανάπτυξη της θεωρίας της αγγειακής προσπέλασης όπου το αίμα τίθεται σε κάθαρση υπό την μορφή της εξωσωματικής κυκλοφορίας. Το 1960 στις ΗΠΑ ο γιατρός Belding Scribner και οι Wayne Quinton και David Dillard δημιούργησαν τους

πλαστικούς σωλήνες από Teflon (Γεωργιάδης et al, 2006). Στη συνέχεια τοποθέτησαν χειρουργικά το πρώτο αρτηριοφλεβικό shunt, το οποίο αποτελούταν από δύο πλαστικούς σωλήνες όπου ο ένας σωλήνας είχε κατεύθυνση προς την αρτηρία και ο άλλος προς την φλέβα. Ο πρωταρχικός στόχος της δημιουργίας του συγκεκριμένου shunt ήταν η μακροχρόνια χρήση του. Η τεχνολογική πρόοδος του Scribner επέτρεψε την μακροχρόνια θεραπεία σε πολλούς ασθενείς και ήταν η αφορμή για την ίδρυση της πρώτης μονάδας τεχνητού νεφρού το 1962 στο Σιάτλ. Η μονάδα περιελάμβανε έξι μηχανήματα αιμοδιάλυσης και οι ασθενείς υποβάλλονταν 2 φορές την εβδομάδα σε αιμοκάθαρση, όπου το σύνολο των συνεδριών δεν ξεπερνούσε τις 12 ώρες (Κυρίτσης Η., 2012, & Fresenius Medical Care).

Το 1966 οι Cimino, Brescia, Appel, et al, έκαναν ένα πρωτοποριακό άλμα στην αγγειακή προσπέλαση δημιουργώντας την αναστόμωση μεταξύ κερκιδικής αρτηρίας και κεφαλικής φλέβας ή την πλάγιο-τελική αρτηριοφλεβική αναστόμωση γνωστή ως σήμερα fistula. Η τεχνική αυτή με την δημιουργία συριγγίου μεταξύ της αρτηρίας και φλέβας μείωσε αρκετά τις λοιμώξεις κατά την διάρκεια της αγγειακής προσπέλασης (Γεωργιάδης et al, 2006 & Konner Klaus et al, 2005 & Twardowski Dr. Zbylut, 1995). Το 1964 ο Αμερικανός Richard Stewart έκανε μια πρωτοποριακή αναβάθμιση των επίπεδων μεμβρανών τις οποίες και αντικατέστησε με τις μεμβράνες κοίλης ίνας, δηλαδή τα πρώτα τριχοειδή φίλτρα (Κυρίτσης Η., 2012). Στην παρακάτω (εικόνα 3.6) απεικονίζονται οι μεμβράνες κοίλης ίνας (Fresenius Medical Care).



Εικόνα 3.6. Μεμβράνες κοίλης ίνας – Richard Stewart.

Η τελική μορφοποίηση όσον αφορά την τεχνολογική κατασκευή των μηχανημάτων τεχνητού νεφρού πραγματοποιήθηκε το 1964 – 1967 από τον Dr. Ben Lipps. Οι συσκευές διάλυσης κοίλων ινών χρησιμοποιούνται ακόμη, των οποίων οι μεμβράνες θεωρούνται ανεκτικές, λόγω ότι τα υλικά είναι από συνθετικά πολυμερή (Fresenius Medical Care). Την δεκαετία του '70 παρήχθη η πρώτη συνθετική μεμβράνη η οποία δεν στηριζόταν στην τροποποίηση της κυτταρίνης. Το πλεονέκτημά της σε σχέση με την κυτταρίνη είναι η βιοσυμβατότητα, δηλαδή η ελάχιστη διέγερση του συμπληρώματος και της μικρότερης έντασης της ουδετεροπενίας (Κυρίτσης Η., 2012). Κλείνοντας το κεφάλαιο της ιστορικής αναδρομής της αιμοκάθαρσης παρατηρούμε ότι η ανάπτυξη της τεχνολογικής κατασκευής των μηχανημάτων και των μεθόδων της αιμοδιάλυσης, στηρίχτηκε στις θεωρίες όλων των επιστημόνων, οι οποίοι με την συμβολή τους συντέλεσαν στην ολοκλήρωση του σημαντικού ιατρικού επιτεύγματος. Με αποτέλεσμα στην συνεισφορά και στη προσφορά της νεφρικής υποκατάστασης, σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που σε παλιότερες εποχές θεωρούταν

καταδικασμένοι χωρίς καμιά ελπίδα για το μέλλον τους. Γι' αυτό και η εξέλιξή της θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα επιτεύγματα της ιατρικής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗΣ

Αρχικά αξίζει να αναφερθεί ότι πριν πολλά χρόνια κατά την εποχή του Kolff, υπήρχαν επιτροπές, όπου καθόριζαν ποιοι ασθενείς έχουν την ανάγκη να υποβληθούν σε αιμοκάθαρση. Το γεγονός αυτό ήταν αρκετά επώδυνο για όσους συμμετείχαν σε αυτή την απόφαση και φυσικά και για τους ίδιους τους ασθενείς. Η διαδικασία της αιμοκάθαρσης σύμφωνα με την συμβολή των σπουδαίων επιστημόνων, έχει συμβάλει σημαντικά στην νεφρική υποκατάσταση, προσφέροντας ένα αξιοπρεπές επίπεδο στην ποιότητα ζωής των ασθενών που πάσχουν από νεφρική ανεπάρκεια και δίνοντας τους την ευκαιρία σε μια παράταση της ζωής τους. Σε αυτή την ενότητα θα περιγράψουμε την βασική αρχή της αιμοκάθαρσης.

Η βασική αρχή της αιμοκάθαρσης στηρίζεται στην ύπαρξη ενός φίλτρου το οποίο αποτελείται από μια ημιπερατή μεμβράνη, η χρήση της οποίας βοηθά στην ισορροπία μεταξύ της συγκέντρωσης του νερού και των ηλεκτρολυτών στο αίμα των αιμοκαθαριζόμενων ασθενών και του διαλύματος της αιμοδιάλυσης αποτελούμενο από μεταλλικά ιόντα (Κωνσταντινίδης et al, 2011). Η ροή του διαλύματος γίνεται σε αντίθετη φορά από το αίμα σε εξωσωματική κυκλοφορία υπό πίεση, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η απομάκρυνση του νερού και των υπό κάθαρση ουσιών, από το αίμα προς το διάλυμα μέσω του μηχανισμού της διάχυσης (diffusion) (Ward Richard A. et al, 1982). Ακολουθεί η διήθηση τους μέσω της ημιπερατής μεμβράνης, με κατεύθυνση από το αίμα προς το διάλυμα και στη συνέχεια οδηγούνται προς την έξοδο. Η ημιπερατή μεμβράνη έχει πολλούς πόρους. Τα διαλυμένα σωματίδια που έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από την διάμετρο των πόρων δεν διέρχονται από την μεμβράνη, όπως τα κύτταρα του αίματος και οι πρωτεΐνες, ενώ τα διαλυμένα σωματίδια με μικρότερο μέγεθος απομακρύνονται, όπως η ουρία, η κρεατινίνη, οι ηλεκτρολύτες, το νερό και άλλα προϊόντα του μεταβολισμού (Nissenson Allen R. et al. 2008). Για την παρασκευή του διαλύματος της αιμοδιάλυσης απαιτείται πυκνό διάλυμα ηλεκτρολυτών το οποίο περιλαμβάνει (νάτριο, κάλιο, ασβέστιο, χλώριο, μαγνήσιο, οξικά), διατανθρακκικά και νερό βρύσης. Στόχος είναι το διάλυμα της αιμοδιάλυσης να έχει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά όπως pH, θερμοκρασία, ηλεκτρολυτική σύνθεση και την κατάλληλη ροή που πρέπει να έχει το διάλυμα. Η διάχυση είναι ένας μηχανισμός μεταφοράς των διαλυτών ουσιών χωρίς τη μετακίνηση του διαλύτη. Συγκεκριμένα στην αιμοκάθαρση οφείλεται στην διαφορά συγκέντρωσης των διαλυτών ουσιών του αίματος και του διαλύματος της αιμοδιάλυσης. Παράλληλα η μεταφορά των διαλυτών ουσιών και του διαλύτη γίνεται και με το μηχανισμό της υπερδιήθησης (ultrafiltration) ή της ώσμωσης. Ο σκοπός της αιμοδιάλυσης είναι η διατήρηση της ομοιόστασης. Ο όγκος των υγρών του σώματος ελέγχεται από τον μηχανισμό της υπερδιήθησης και την δίαιτα που συνίσταται στους αιμοκαθαριζόμενους ασθενείς, ενώ η σύνθεση περιορίζεται από την διαχυτική συνιστώσα της αιμοδιάλυσης (Ward Richard A. et al, 1982).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ

Σύμφωνα με τις οδηγίες του FDA (Food and Drug Administration) θεωρείται σημαντικό η παρακολούθηση των μηχανημάτων κατά τη διάρκεια της συνεδρίας, καθώς και η συντήρησή τους σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να προκαλέσουν ανεπιθύμητες κλινικές εκδηλώσεις ως προς τους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Για παράδειγμα όταν αυξάνεται η θερμοκρασία νερού στους 37° C υπάρχει πιθανότητα ανάπτυξης βακτηρίων όπως *S.aureus* και *P.aeruginosa*. Η απαιτούμενη εκπαίδευση που πρέπει να κατέχει το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό περιλαμβάνει: την αρχή της αιμοκάθαρσης, τις επιπλοκές που μπορεί να εμφανιστούν κατά τη διάρκεια της συνεδρίας και η άμεση αντιμετώπιση τους, τη σωστή εφαρμογή της απολύμανσης, καθώς και τη γνώση της λειτουργίας του συστήματος επεξεργασίας νερού, που θεωρείται ο βασικός κρίκος, για την επιτυχή εφαρμογή της αιμοκάθαρσης (Food and Drug Administration).

Η διαδικασία της αιμοκάθαρσης ολοκληρώνεται με τη συμβολή του τεχνητού νεφρού. Ο τεχνητός νεφρός αποτελείται από τρία κύρια μέρη: α) το μηχάνημα της αιμοκάθαρσης, β) το φίλτρο της αιμοκάθαρσης και γ) το σύστημα παρασκευής και τροφοδοσίας του διαλύματος της αιμοδιάλυσης. Η μονάδα τεχνητού νεφρού θα πρέπει να απαρτίζεται από εκπαιδευμένο και εξειδικευμένο προσωπικό για την νοσηλεία και την φροντίδα των ασθενών κατά την διάρκεια της αιμοκάθαρσης. Στην παρακάτω (εικόνα 5.1) απεικονίζεται το μηχάνημα τεχνητού νεφρού, όπως είναι κατά την σημερινή εποχή.



Εικόνα 5.1. Τεχνητός Νεφρός

Το μηχάνημα του τεχνητού νεφρού αποτελείται από μία οθόνη παρέχοντας την παρακολούθηση μέσω της ανίχνευσης και τον έλεγχο, για την ασφαλή λειτουργία της διαδικασίας της αιμοκάθαρσης. Το σύστημα αυτό βοηθά τον χειριστή να ελέγχει το αίμα και το διάλυμα της αιμοδιάλυσης. Επίσης, παρακολουθείται η επάρκεια του διηθήματος (dialysate), ο ρυθμός της υπερδιήθησης, η σύνθεση του διηθήματος καθώς και η πίεση του κυκλώματος (αίμα –διήθημα) (Madhukar Misra, 2005) .

5.1) Παρακολούθηση Αίματος

Όσον αφορά για την ασφαλή κυκλοφορία του αίματος θα πρέπει να υπάρχει (Madhukar Misra, 2005):

- Οθόνη πίεσης (αρτηριακή – φλεβική)
- Σωλήνας αίματος
- Αντλία αίματος
- Αντλία ηπαρίνης
- Ανιχνευτής διαρροής αέρα
- Σφικκτήρες

Οι παραπάνω εντολές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, όπου η καθεμία έχει συγκεκριμένο στόχο, για την ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης.

5.1.1) Οθόνη Αρτηριακής Πίεσης

Η οθόνη της αρτηριακής πίεσης ελέγχει την είσοδο της πίεσης του αίματος και της αντλίας του αίματος, η οποία πρέπει να είναι αρνητική. Μέσω της αρτηριακής γραμμής το αίμα μεταφέρεται προς το φίλτρο όπου γίνεται η κάθαρση και η αφαίρεση του πλεονάζοντος υγρού και η επιστροφή γίνεται μέσω της φλεβικής γραμμής. Αντίστοιχα υπάρχει σύστημα γραμμών, για τη μεταφορά του διαλύματος της αιμοδιάλυσης, προς το φίλτρο και η απόρριψη του προς την αποχέτευση. Παράλληλα υπάρχουν (alarm) όπου ενεργοποιούνται σε περίπτωση αποσύνδεσης του ασθενούς ή δημιουργίας κάποιου φραγμού στο κύκλωμα του αίματος. Οι λόγοι που μπορεί να ενεργοποιήσουν το (alarm) για χαμηλή αρτηριακή πίεση είναι (Madhukar Misra, 2005) :

- Πτώση της αρτηριακής πίεσης
- Όχι καλή επαφή της βελόνας με την αντλία
- Ύπαρξη θρόμβου (φυσαλίδες αέρα)
- Αναρρόφηση του τοιχώματος του αγγείου μέσα στη βελόνα

Επιπρόσθετα το (alarm) μπορεί να ενεργοποιηθεί και στην περίπτωση της υψηλής αρτηριακής πίεσης και οι λόγοι ποικίλουν όπως (Madhukar Misra, 2005) :

- Αύξηση της αρτηριακής πίεσης του ασθενούς
- Διακοπή του κυκλώματος μεταξύ της εισόδου του αίματος και της αντλίας
- Διαρροή της αντλίας του αίματος

5.1.2) Οθόνη Φλεβικής Πίεσης

Όσον αφορά την φλεβική πίεση μετράται συνεχώς κατά τη διάρκεια της συνεδρίας στο μόνιτορ μέσω ενός ανιχνευτή. Τα όρια των συναγερμών (alarm) ρυθμίζονται για να ειδοποιούν, όταν υπάρχουν αλλαγές στη φλεβική πίεση. Οι λόγοι που μπορεί να ενεργοποιήσουν το (alarm) για χαμηλή φλεβική πίεση είναι (Madhukar Misra, 2005):

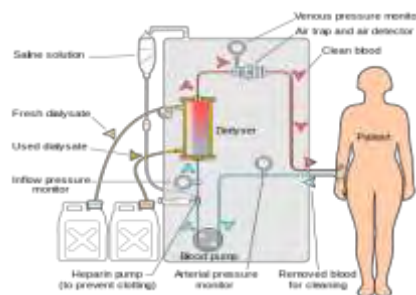
- Χαμηλή ροή αίματος
- Διακοπή της σύνδεσης από την αντλία του αίματος μέσω της φλεβικής βελόνας και της εισόδου του αίματος

Ενώ, οι αιτίες ειδοποίησης για υψηλή φλεβική πίεση μπορεί να είναι:

- Πήγμα μέσα στον αυλό της βελόνας
- Λάθος τοποθέτηση της fistula
- Στένωση του αγγείου

5.1.3) Αντλίες αίματος – ηπαρίνης, ανιχνευτής διαρροής αέρα & σφικτήρες

Στο μηχάνημα του τεχνητού νεφρού υπάρχει ένας σωλήνας αίματος, ο οποίος είναι κατασκευασμένος από μη τοξικά υλικά και με τη βοήθεια περιστροφικών αντλιών προωθούν το αίμα σε ροή από 200 – 600 ml/min μέσα στο σύστημα γραμμών. Η αντλία της ηπαρίνης χρησιμεύει για την αποτροπή της δημιουργίας θρόμβου στο κύκλωμα του αίματος και η έγχυση της γίνεται στο κύκλωμα του αίματος που έχει θετική πίεση. Παράλληλα, ο ανιχνευτής διαρροής αέρα θεωρείται το βασικό σημείο στο μηχάνημα του τεχνητού νεφρού. Βρίσκεται στο φλεβικό σκέλος της αιματικής γραμμής και ανιχνεύει την ύπαρξη φυσαλίδων αέρα με την ειδοποίηση ενός ηχητικού συναγερμού επιτυγχάνοντας το κλείσιμο της φλεβικής γραμμής και μειώνοντας τον κίνδυνο διαφυγής αέρα προς τον ασθενή. Οι σφικτήρες σωλήνωσης αίματος πρέπει να αντέχουν σε υψηλές πιέσεις έως 800 mmHg. Θα πρέπει αυτόματα να κλείνουν σε περίπτωση που το κύκλωμα παρουσιάζει κάποιο σοβαρό πρόβλημα ή υπάρχει πτώση της ηλεκτρικής ενέργειας (Madhukar Misra, 2005) . Στην παρακάτω (εικόνα 5.2) απεικονίζεται μια σχηματική απεικόνιση της αιμοκάθαρσης με βάση τα εξαρτήματα που περιγράφηκαν παραπάνω.



Εικόνα 5.2. Διαδικασία Αιμοκάθαρσης

5.2) Παρακολούθηση διαλύματος αιμοκάθαρσης

Η σωστή κυκλοφορία του διαλύματος αιμοκάθαρσης στο μηχάνημα του τεχνητού νεφρού, απαιτεί τις ακόλουθες προϋποθέσεις (Madhukar Misra, 2005) :

- Θέρμανση
- Εξαερισμός
- Παρακολούθηση
- Υπερδιήθηση
- Απολύμανση

Για να επιτευχθεί η ασφαλής παροχή του διαλύματος της αιμοκάθαρσης θα πρέπει να γίνει η σωστή ρύθμιση της θερμοκρασίας, της συγκέντρωσης, της ροής, της πίεσης και της απολύμανσης. Παρακάτω θα αναφερθούν οι σημαντικότεροι παράμετροι που χρήζουν παρακολούθηση για την ορθή κυκλοφορία του διαλύματος της αιμοδιάλυσης:

5.2.1) Θερμοκρασία διαλύματος

Η θέρμανση αυξάνει τη θερμοκρασία του εισερχόμενου νερού και όχι του διαλύματος. Παράλληλα βελτιώνεται περαιτέρω η ανάμιξη του διαλύματος. Η κατασκευή των θερμαντικών στοιχείων πρέπει να είναι από ανοξείδωτο χάλυβα, για την αντοχή τους στις διάφορες αντίξοες συνθήκες. Η εσωτερική θερμοκρασία πρέπει να κυμαίνεται από 33 – 39 °C. Η υψηλή θερμοκρασία αυξάνει τον κίνδυνο αιμόλυσης και υπότασης λόγω της αγγειοδιαστολής, ενώ η χαμηλή θερμοκρασία προκαλεί ανεπαρκή αιμοκάθαρση και υποθερμία (Madhukar Misra, 2005) .

5.2.2) pH

Παράλληλα συνιστάται να υπάρχει στα μηχανήματα και οθόνη για τον έλεγχο του pH για την εξασφάλιση της αναλογίας οξέων και βάσεων που είναι σημαντική για την ασφάλεια της αιμοκάθαρσης. Το εύρος του οποίου πρέπει να κυμαίνεται από 6,8 – 7,6 pH (Madhukar Misra, 2005) .

5.2.3) Αγωγιμότητα

Η σωστή αναλογία των συμπυκνωμένων ηλεκτρολυτών με το νερό μετράται με την ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύματος. Η κατασκευή της οθόνης της αγωγιμότητας πρέπει να είναι από ανθεκτικά υλικά στη διάβρωση. Η αγωγιμότητα καθορίζεται από τα ιοντικά συστατικά του διηθήματος (dialysate). Το φυσιολογικό εύρος της αγωγιμότητας πρέπει να κυμαίνεται από 12 – 16 mS/cm. Όταν το διάλυμα της αιμοκάθαρσης είναι πιο αραιό ή συμπυκνωμένο από ότι έχει προγραμματιστεί, τότε θα ενεργοποιηθεί ο συναγερμός και θα σταματήσει η ροή του διαλύματος. Επίσης, χρειάζεται ιδιαίτερη

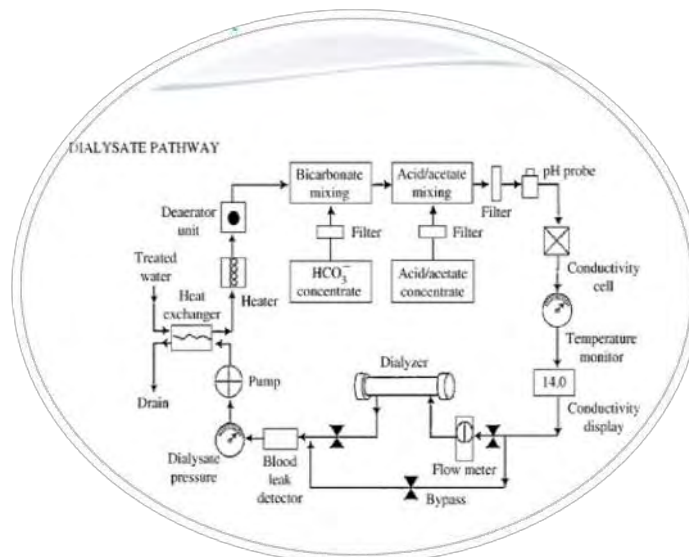
προσοχή όσον αφορά τις ρυθμίσεις της αγωγιμότητας ποτέ δεν πρέπει να ρυθμίζεται, ενώ ο ασθενής είναι συνδεδεμένος στο μηχάνημα της αιμοδιάλυσης (Madhukar Misra, 2005) .

5.2.4) Ανιχνευτής διαρροής αίματος

Η πίεση του διαλύματος παρακολουθείται με όμοιο τρόπο, όπως η πίεση στο κύκλωμα του αίματος. Μια άλλη σημαντική παράμετρος είναι ο ανιχνευτής διαρροής αίματος και η πρόληψη της μόλυνσης του διαλύματος από το αίμα στο μηχάνημα. Ο ανιχνευτής βρίσκεται στην έξοδο του διαλύματος της αιμοδιάλυσης μπορεί να εντοπίσει την διαρροή και να σημάνει ο συναγερμός για το πρόβλημα. Οι μεγάλες διαρροές έχουν ως κίνδυνο εισόδου του υγρού της αιμοδιάλυσης στο αίμα του ασθενούς. Η οθόνη έχει ευαισθησία 0,25 ή 0.35 ml αίματος ανά λίτρο της διάλυσης (Madhukar Misra, 2005) .

5.2.5) Βαλβίδα παράκαμψης (by pass)

Η βαλβίδα παράκαμψης βοηθά να διορθωθεί το πρόβλημα που έχει προκύψει με το διάλυμα της αιμοδιάλυσης π.χ. διαρροή αίματος, συναγερμός αγωγιμότητας ή θερμοκρασίας, τότε το διάλυμα της αιμοδιάλυσης πρέπει να παρακάμπτει το φίλτρο μέσω αυτής της βαλβίδας. Με αποτέλεσμα ο αιμοκαθαριούμενος ασθενής να παραμένει στο μηχάνημα χωρίς κάποιο κίνδυνο (Madhukar Misra, 2005) . Στη παρακάτω (εικόνα 5.3) απεικονίζεται το κύκλωμα του διαλύματος της αιμοκάθαρσης (Young Bessie A.).



Εικόνα 5.3. Κύκλωμα διαλύματος αιμοκάθαρσης (The Dialysis Circuit).

5.3) Απολύμανση μηχανημάτων τεχνητού νεφρού

Η απολύμανση των μηχανημάτων θα πρέπει να γίνεται καθημερινά σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή, για την αποτροπή της ανάπτυξης μικροβίων ή βιομεμβράνης στο σύστημα της υδραυλικής σύνδεσης (Hellenic Society of Nephrology). Το κύκλωμα του διαλύματος θα πρέπει να εκτίθεται σε απολυμαντικό. Οι επαναχρησιμοποιούμενες συσκευασίες διατανθρακικών οξέων θα πρέπει να απολυμαίνονται μεταξύ των χρήσεων. Τα απολυμαντικά μέσα που μπορεί να χρησιμοποιηθούν και συστήνονται είναι: α) η φορμαλδεΐδη, β) το υποχλωριώδες νάτριο (χλωρίνη) και γ) το υπεροξικό οξύ. Επίσης, η απολύμανση μπορεί να γίνει με θερμικό τρόπο με την είσοδο νερού και την αύξηση της θερμοκρασίας 85 – 90 °C για 30 λεπτά. Παράλληλα, τα μηχανήματα θα πρέπει να ξεπλένονται πολύ καλά πριν την έναρξη της αιμοδιάλυσης και μετά της απολύμανσης, με στόχο να απομακρυνθούν τα υπολείμματα των χημικών ουσιών (Young Bessie A.).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο

ΦΙΛΤΡΑ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗΣ

Η χρήση του φίλτρου στο μηχάνημα του τεχνητού νεφρού αποτελεί τον συνδετικό κρίκο για την ασφαλή ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης. Τα φίλτρα αποτελούνται από τη μεμβράνη αιμοκάθαρσης και από την υποστηρικτική δομή της μεμβράνης. Το αίμα του ασθενή κυκλοφορεί μέσω των μεμβρανών, ενώ το διάλυμα της αιμοδιάλυσης του οποίου η σύνθεση είναι όμοια με το εξωκυττάριο υγρό κυκλοφορεί έξω από τις μεμβράνες. Τα δύο υγρά που κυκλοφορούν (αίμα και διάλυμα), χωρίζονται μεταξύ τους από τις ημιπερατές μεμβράνες. Με αυτό τον τρόπο αποβάλλονται οι άχρηστες ουσίες και το πλεονάζον νερό από το αίμα του αιμοκαθαιρόμενου ασθενή, προς το διάλυμα της αιμοδιάλυσης (Romeo Anthony A., 1984). Οι ιδιότητες των μεμβρανών προσδιορίζουν και ρυθμίζουν την κίνηση του αίματος και του διαλύματος και το μέγεθος των μορίων που πρέπει να κινούνται για την αποτελεσματική απομάκρυνση τους (Kerr Peter G et al, 2010). Για την αποφυγή εισόδου των βακτηριακών κυττάρων σημαντικό ρόλο παίζει το πάχος και η ικανότητα προσρόφησης από ότι το μέγεθος των πόρων της μεμβράνης (Hoenich Nicholas A. et al, 2010). Η κατάταξη των φίλτρων της αιμοκάθαρσης αντιστοιχεί σε τρεις κατηγορίες (Romeo Anthony A., 1984):

- Φίλτρα σπειροειδή (coils)
- Φίλτρα παράλληλων πλακών (parallel plates)
- Φίλτρα κοίλων ινών (hollow fibers) ή τριχοειδικά (capillaries)

Το 1960 εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το φίλτρο κοίλης ίνας σε μηχάνημα τεχνητού νεφρού και η προέλευση του ήταν από μη τροποποιημένη κυτταρίνη. Το υλικό της μεμβράνης παίζει σημαντικό ρόλο για την αποφυγή επιπλοκών ως προς τους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς κατά τη διάρκεια της συνεδρίας (Clark William R. et al, 2002). Στόχος είναι η ελαχιστοποίηση της ενεργοποίησης του συμπληρώματος και η απομάκρυνση των μορίων ανεξάρτητα μεγέθους, όπου σε αντίθεση η παραμονή τους θα μπορούσε να ενεργοποιήσει διάφορες φλεγμονώδεις αντιδράσεις στους ασθενείς. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η παραμονή της μικροσφαιρίνης β₂, όπου η συσσώρευση της στον οργανισμό των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών δημιουργεί αμυλοείδωση (Kerr Peter G. et al, 2010). Σήμερα, τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τη κατασκευή των μεμβρανών είναι η τροποποιημένη κυτταρίνη, η μη τροποποιημένη κυτταρίνη και τα συνθετικά υλικά (Hoenich N.A. et al, 1986, Clark William R. et al, 2002). Οι μεμβράνες έχουν την ικανότητα να μειώσουν τον κίνδυνο κλινικών εκδηλώσεων κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης, όπως η υποξία, η ενεργοποίηση του συμπληρώματος και η λευκοπενία (Hoenich N.A. et al, 1986). Η κατασκευή των συσκευών κυτταρίνης είναι από έναν σακχαρίτη (κελλοβιόζη). Οι μεμβράνες κυτταρίνης έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην αιμοκάθαρση η οποία βασίζεται στο μηχανισμό της διάχυσης.

Ωστόσο, η μη τροποποιημένη κυτταρίνη προκαλεί ευαισθησία ως προς την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και για το λόγο αυτό δεν προτιμάται ως υλικό κατασκευής για τις μεμβράνες. Βέβαια το πλεονέκτημα της είναι η συμμετρία σε σχέση με τη σύνθεση της, όπου υποβοηθά στην μεταφορά του υγρού σε όλο το πάχος του

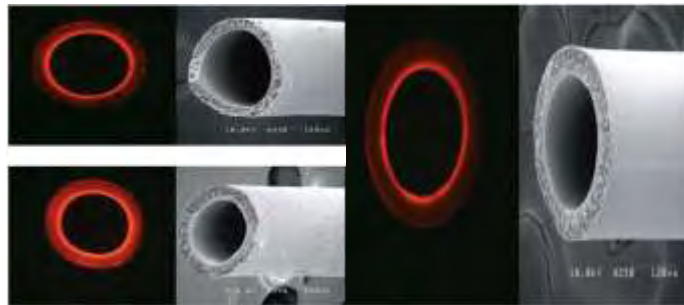
τοιχώματος. Παράλληλα αποβάλλονται μόνο οι μικρές σε μέγεθος διαλυμένες ουσίες, όπως η ουρία και η κρεατινίνη. Όσον αφορά για τις μεμβράνες από τροποποιημένη κυτταρίνη χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά στην αιμοκάθαρση το 1980. Σε αντίθεση από τη μη τροποποιημένη κυτταρίνη προκαλούν μικρότερη ενεργοποίηση του συμπληρώματος και επιτρέπουν την απομάκρυνση διαλυμένων ουσιών μεσαίου μεγέθους. Οι μεμβράνες αυτού του είδους οι οποίες είναι από οξική κυτταρίνη επιτυγχάνουν την μείωση ενεργοποίησης του συμπληρώματος, διότι οι ομάδες υδροξυλίου αντικαθίστανται από μια οξική ομάδα.

Το 1970 χρησιμοποιήθηκε η συνθετική μεμβράνη (πολυαμίδιο, πολυσουλφόνη), με στόχο την απομάκρυνση των διαλυμένων ουσιών και την μείωση της ενεργοποίησης του συμπληρώματος (Clark William R. et al, 2002). Παράλληλα οι μεμβράνες αυτού του είδους μπορούν να απομακρύνουν τις ενδοτοξίνες με την απορρόφηση τους στην επιφάνεια, εμποδίζοντας την είσοδο τους στο διάλυμα της αιμοδιάλυσης και στη συνέχεια στη κυκλοφορία του αίματος (Brunet Philippe et al, 2000, Lonnemann G. et al, 1996). Η δομή του τοιχώματος αυτών των μεμβρανών είναι αρκετά παχύ και οι πόροι μεγάλου μεγέθους εξασφαλίζοντας την υπερδιήθηση (ultrafiltration) στην αιμοδιήθηση. Επιπρόσθετα, το 1980 άρχισε να εξελίσσεται η εφαρμογή των μεμβρανών και αναπτύχθηκαν υψηλής ροής συσκευές διάλυσης όπου χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα κατά την αιμοδιαδιήθηση. Η διαφορά των συνθετικών μεμβρανών από την κυτταρίνη είναι στη χημική σύνθεση. Η κατασκευή των συνθετικών μεμβρανών είναι από πολυμερή σε αντίθεση με τη φυσική προέλευση της κυτταρίνης. Επίσης ένα άλλο βασικό στοιχείο είναι ότι η δομή των συνθετικών μεμβρανών, όπου μπορεί να είναι συμμετρική ή ασύμμετρη. Άλλη μια σημαντική διαφορά εντοπίζεται στο πάχος του τοιχώματος. Το πάχος του τοιχώματος της συνθετικής μεμβράνης είναι τουλάχιστον 20 μm , ενώ της κυτταρίνης 6 – 15 μm (Clark William R. et al, 2002).

Παράλληλα υπάρχουν οι μεμβράνες: α) low flux και β) high flux (εικόνα 6.1) . Η εικόνα φθορισμού που ακολουθεί απεικονίζει την συγκέντρωση των ενδοτοξινών στο τοίχωμα της μεμβράνης. Με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η γεωμετρία των ινών της μεμβράνης έχει καθοριστικό ρόλο στην απομάκρυνση των ενδοτοξινών από το κύκλωμα του διηθήματος της αιμοκάθαρσης. Οι ενδοτοξίνες αποτελούν κίνδυνο, διότι μπορούν να εισχωρήσουν μέσω των μεμβρανών στον οργανισμό των αιμοκαθαριζόμενων ασθενών προκαλώντας πυρετογόνες αντιδράσεις. Οι ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε αιμοκάθαρση με μεμβράνες κυτταρίνης low flux και μέγεθος πόρων 6–8 microns έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για την εκδήλωση πυρετογόνων εκδηλώσεων σε αντίθεση με τις συνθετικές μεμβράνες που χρησιμοποιούνται πιο συχνά λόγω της καλύτερης απόδοσης τους. Σύμφωνα με πειραματικές μελέτες, αναφέρεται ότι η αποτελεσματική αναστολή προσκόλλησης των ενδοτοξινών επιτυγχάνεται από το πάχος της μεμβράνης, την προσροφητική ικανότητα καθώς και από το μέγεθος των πόρων του αυλού της μεμβράνης (Henrie Michael et al, 2008). Ωστόσο για την προσρόφηση των βακτηριακών παραγόντων σημαντικό ρόλο παίζει το πάχος της μεμβράνης από ότι το μέγεθος των πόρων.

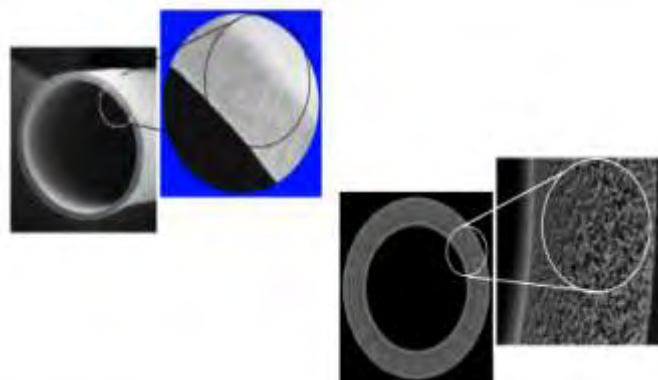
Συνήθως, στην αιμοκάθαρση χρησιμοποιούνται οι συνθετικές μεμβράνες high flux για την απομάκρυνση μορίων μεγάλου μεγέθους όπως η μικροσφαιρίνη β_2 και οι ενδοτοξίνες, με την εφαρμογή της υπερδιήθησης (ultrafiltration) (Kerr Peter G et al, 2010, Lonnemann G. et al, 1996). Οι high flux μεμβράνες έχουν αρκετά οφέλη ως προς τους αιμοκαθαριζόμενους ασθενείς όπως: τη μείωση της υπότασης, της ναυτίας και τους

πονοκεφάλους (Kerr Peter G et al, 2010). Κατά τη διάρκεια της συνεδρίας παρατηρείται καρδιαγγειακή σταθερότητα στους ασθενείς, με αποτέλεσμα την ομαλή ολοκλήρωση της διαδικασίας. Παράλληλα, μελέτες έχουν αναφέρει την αύξηση της επιβίωσης των ασθενών. Οι μεμβράνες που μπορεί να προστατεύσουν τους ασθενείς κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης είναι οι συνθετικές high flux όπου σύμφωνα με μελέτες θεωρείται ότι είναι πιο βιοσυμβατές από άλλα είδη που διατίθενται στο εμπόριο. Παρόλο αυτά θα πρέπει να επισημανθεί και το μειονέκτημα των high flux μεμβρανών έναντι των low flux μεμβρανών (Kerr Peter G et al, 2013). Υπάρχει κίνδυνος επιστροφής του διηθήματος (back filtration) και η είσοδος του στη κυκλοφορία του αίματος. Με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της CRP (C-reactive protein), η οποία προδιαθέτει την ανάπτυξη καρδιαγγειακού επεισοδίου (Kerr Peter G et al, 2013, Brunet Philippe et al 2000)



Εικόνα 6.1. Ίνες high flux μεμβρανών - Ίνες low flux μεμβρανών

Οι διαλυμένες ουσίες που απομακρύνονται κατά την διάρκεια της αιμοκάθαρσης κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες: α) είναι οι ενώσεις μικρού μοριακού βάρους < 500 Da όπως η ουρία, η κρεατινίνη, β) οι ενώσεις μεσαίου μοριακού βάρους 500–15000 Da όπως η ινσουλίνη, οι ενδοτοξίνες, η βιταμίνη β12, η παραθορμόνη και γ) οι ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους > 15000 Da όπως η μυοσφαιρίνη, η αλβουμίνη, η τρανσφερίνη (National Kidney Foundation). Παρακάτω εμφανίζονται οι διατομές διαφορετικών κοίλων ινών. Οι κοίλες ίνες μπορεί να είναι συμμετρικές ή ασύμμετρες (εικόνα 6.2) (National Kidney Foundation).



Εικόνα 6.2. Διαφορετικές διατομές κοίλων ινών (hollow fibers).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο

Η ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ ΣΤΙΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΤΕΧΝΗΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ (ΟΔΗΓΙΕΣ - ΠΡΟΤΥΠΑ)

Η πηγή προέλευσης του νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού είναι από το δημοτικό δίκτυο ύδρευσης το οποίο προέρχεται, από τα υπόγεια ή από τα επιφανειακά ύδατα. Η ποιότητα νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού έχει μεγάλη σημασία στην ασφαλή ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης. Σύμφωνα με τις οδηγίες και τα πρότυπα κρίνεται απαραίτητο να διατηρούνται τα επιθυμητά επίπεδα που δίνονται όσον αφορά για τους μικροβιολογικούς και χημικούς παράγοντες που μπορεί να παρίστανται στο νερό που τροφοδοτεί την μονάδα τεχνητού νεφρού. Στην Αμερική η ασφάλεια του πόσιμου νερού εξασφαλίζεται από την υπηρεσία Environmental Protection Agency (EPA) και το νόμο Safe Drinking Water Act (SDWA) ο οποίος τέθηκε σε ισχύ το 1974 και υποχρεώνουν τις δημοτικές αρχές που παρέχουν πόσιμο νερό να τηρούν τα ανώτατα επιτρεπτά επίπεδα για τους χημικούς και μικροβιολογικούς κινδύνους (Coulliette Angela D. et al, 2013). Το 1960 οι Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής πρότειναν για πρώτη φορά το πρότυπο ποιότητας το οποίο θα εφαρμόζεται και θα καθιστά την ασφαλή περιεκτικότητα του νερού που προορίζεται για την αιμοκάθαρση. Συγκεκριμένα η ένωση ιατρικών οργάνων AAMI (Association for the Advanced of Medical Instrumentation) και η Αμερικανική εταιρία (American Society for Artificial Internal Organs - ASAIO) ανέπτυξαν το πρότυπο το οποίο δημοσιεύτηκε το 1970. Το πρότυπο αυτό στηρίχτηκε στις οδηγίες της Αμερικανικής Φαρμακοποιίας. Σύμφωνα με τις αναθεωρήσεις που έγιναν το τελικό σχέδιο του προτύπου εκδόθηκε το 1982. Στη συνέχεια εκτός από την AAMI ακολούθησαν και άλλες χώρες στην ανάπτυξη προτύπων, όπως η Ένωση Προτύπων Καναδά (Canadian Standards Association), η Φαρμακοποιία των Ηνωμένων Πολιτειών (United States Pharmacopoeia), η Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία (European Pharmacopoeia), η Σουηδική Φαρμακοποιία (Swedish Pharmacopoeia), η Ευρωπαϊκή Νεφρολογική Ένωση και η Ευρωπαϊκή Ένωση Αιμοκάθαρσης και Μεταμόσχευσης (European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association, ERA – EDTA), η Ιαπωνική Εταιρία Αιμοκάθαρσης (Japanese Society for Dialysis Therapy) και η Ιταλική Νεφρολογική Εταιρία (Italian Society for Nephrology) (Ward Richard A. 2007). Επιπλέον στην Αμερική δημοσιεύτηκαν και οι οδηγίες του Κέντρου Medicare and Medicaid (Center for Medicare and Medicaid Services) το 2008 οι οποίες στηρίζονται στις συστάσεις της AAMI όπου ανακοινώθηκαν το 2004 (Association for the Advanced of Medical Instrumentation), για την ασφαλή ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης (Coulliette Angela D. et al, 2013).

Το νερό θα πρέπει να υφίσταται την κατάλληλη επεξεργασία όπως ορίζεται από τις οδηγίες και τα πρότυπα (ISO 26722:2009). Βέβαια η εξασφάλιση της καταλληλότητας του, επιτυγχάνεται με την συχνότητα της προληπτικής απολύμανσης και την επιτήρηση που πραγματοποιείται στο σύστημα επεξεργασίας καθώς και με τις μικροβιολογικές αναλύσεις των δειγμάτων νερού από τα διάφορα σημεία, όπως ορίζεται από τα πρότυπα και τις οδηγίες. Η μικροβιολογική επιμόλυνση του νερού περιλαμβάνει μικροβιακά κύτταρα, μικροβιακούς μεταβολίτες και ενδοτοξίνες. Ωστόσο τα μικροβιακά κύτταρα και οι ενδοτοξίνες μπορεί να απομακρυνθούν με την τεχνική της υπερδιήθησης (ultrafiltration). Δεν ισχύει το ίδιο για τους μικροβιακούς μεταβολίτες. Τα τελευταία

χρόνια συνηθίζεται να χρησιμοποιείται το υπερκάθαρο διάλυμα αιμοκάθαρσης με την εφαρμογή της υπερδιήθησης (ultrafiltration) (Rolf Nystrand, 2008). Σύμφωνα με μελέτες το υπερκάθαρο νερό ελαχιστοποιεί τους κινδύνους εκδήλωσης φλεγμονωδών αντιδράσεων, στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς (Coulliette Angela D. et al, 2013). Η έννοια αυτή βασίζεται πριν την είσοδο του διαλύματος στο φίλτρο του τεχνητού νεφρού, έχοντας ως προορισμό την on line παραγωγή του, την αιμοδιήθηση καθώς και την αιμοδιαδιήθηση (Nystrand Rolf, 2008).

Στις μονάδες τεχνητού νεφρού το νερό χρησιμοποιείται για την παρασκευή των διαλυμάτων της αιμοκάθαρσης και για το ξέπλυμα των συσκευών μετά τη λήξη της συνεδρίας (Pontoriero G. et al, 2003, Ward Richard, 2005). Η ετήσια παραγωγή του διαλύματος σε μια μονάδα τεχνητού νεφρού αντιστοιχεί σε 1,000,000 λίτρα. Η ετήσια έκθεση του ασθενή σε νερό κυμαίνεται σε 15000 – 30000 λίτρα. Οι μονάδες τεχνητού νεφρού σε παγκόσμιο επίπεδο ανέρχονται στις 28,500. Σύμφωνα με τις πληροφορίες το διάλυμα της αιμοκάθαρσης που παράγεται αγγίζει τα 25,000,000,000 λίτρα και θεωρείται ότι είναι το μεγαλύτερο προϊόν σε όγκο που χρησιμοποιείται στην ιατρική σε παγκόσμιο επίπεδο (Nystrand Rolf, 2008). Το νερό που χρησιμοποιείται στην αιμοκάθαρση είναι πόσιμο, το οποίο υφίσταται την κατάλληλη επεξεργασία για την χρήση του. Οι αρμόδιες αρχές που διαχειρίζονται το νερό το οποίο προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, θα πρέπει να χρησιμοποιούν διάφορα μέσα, όπως τη κροκίδωση για την αποφυγή της θολερότητας, ή τη χρήση χλωρίου και χλωραμινών για την αποτροπή της μικροβιακής μόλυνσης (Pontoriero G. et al, 2003). Η σύνθεση του εξαρτάται από την πηγή προέλευσης (υπόγεια ή επιφανειακά ύδατα), από την γεωγραφική κατανομή, από τα καιρικά φαινόμενα και από την διαδικασία επεξεργασίας του (Vordeck-Meister Irene et al, 1999). Στο σύνολο των συνεδριών που υποβάλλονται οι ασθενείς σε αιμοκάθαρση κάθε εβδομάδα εκτίθενται σε 400 λίτρα νερού, τα οποία χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των υγρών της αιμοδιάλυσης. Σε αντίθεση με τους υγιείς ανθρώπους που εκτίθενται σε πόσιμο νερό μόνο 15 l ανά εβδομάδα (Suhail Ahmad, 2005). Λαμβάνοντας υπόψιν ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες το πόσιμο νερό φτάνει στην κυκλοφορία του αίματος περνώντας από τον γαστρεντερικό βλεννογόνο. Σε αντίθεση οι αιμοκαθαιρούμενοι ασθενείς εκτίθενται σε μεγάλες ποσότητες νερού μέσω των διαλυμάτων της αιμοκάθαρσης, καθώς η επαφή με την κυκλοφορία του αίματος γίνεται άμεσα, διαμέσου μιας ημιδιαπερατής μεμβράνης, θέτοντας σε κίνδυνο την υγεία τους στην ύπαρξη μικροβιακών παραγόντων (Suhail Ahmad, 2005, Pontoriero G. et al, 2003, Ward Richard, 2005). Σε πολλές χώρες η παρασκευή των υγρών γίνεται εντός του μηχανήματος (on line). Βέβαια πραγματοποιείται και η παρασκευή διαλυμάτων (off line) σε ανεξάρτητες συσκευές. Η χρήση του νερού αποτελεί ένα κρίσιμο σημείο ελέγχου, όπου απαιτείται η διατήρηση της χημικής και μικροβιολογικής ποιότητας στα επίπεδα που ορίζεται από τα πρότυπα και τις οδηγίες της ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας (G. Pontoriero et al, 2003). Όσον αφορά για την απόδειξη της καθαρότητας του νερού σημαντικό ρόλο παίζει η μικροβιακή καλλιέργεια που θα ακολουθήσει για τον προσδιορισμό των αποικιών στα δείγματα νερού (Pontoriero G. et al, 2003, Ward Richard A., 2007). Σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν στην τεχνική της καλλιέργειας, είναι η διήθηση, το φίλτρο, ο χρόνος επώασης, η θερμοκρασία και το είδος της καλλιέργειας που θα χρησιμοποιηθεί. Όλα αυτά συντελούν σε ένα αξιόπιστο αποτέλεσμα που δίνεται με βάση των προτύπων (Pontoriero G. et al, 2003).

Η τήρηση των προτύπων και των οδηγιών της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας διασφαλίζουν τα επίπεδα των μικροβιολογικών και χημικών παραμέτρων του νερού. Η

Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία ορίζει 100 CFU/ml για την ανάπτυξη των βακτηρίων και 0,25 EU/ml για την συγκέντρωση των ενδοτοξινών στο νερό που προορίζεται για την αιμοκάθαρση. Σε αντίθεση με την οδηγία της AAMI (Association for the Advanced of Medical Instrumentation) η οποία όριζε 200 CFU/ml για τα βακτήρια και 2 EU/ml για τις ενδοτοξίνες. Το 2011 έγινε αναθεώρηση των επιπέδων της βακτηριακής επιμόλυνσης και ορίστηκε από το Αμερικανικό Εθνικό Πρότυπο (American National Standard) μέσω του Αμερικανικού Εθνικού Ινστιτούτο Προτύπων (American National Standards Institute)/AAMI, οι τιμές για τα ετερότροφα βακτήρια 100 CFU/ml και για τις ενδοτοξίνες 0,25 EU/ml. Ανάμεσα στις οδηγίες υπήρχε μια διαφορετική προσέγγιση ως προς την βακτηριακή επιμόλυνση. Ωστόσο η Αμερική μετά από πολλά χρόνια προσπάθησε να εναρμονιστεί ως προς τα διεθνή πρότυπα (Coulliette Angela D. et al, 2013). Στην παρούσα έρευνα θα ακολουθήσουμε την οδηγία της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας. Οι μονάδες τεχνητού νεφρού οφείλουν να συμμορφώνονται με βάση τις οδηγίες των διάφορων διεθνών οργανισμών, όπως της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας (European Pharmacopoeia) ή της AAMI (Association for the Advanced of Medical Instrumentation), ή με τις συστάσεις άλλων οργανισμών, καθώς και με τα πρότυπα του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (International Organization for Standardization). Το ISO 13959:2009 αναφέρεται στα χαρακτηριστικά της ποιότητας του νερού της αιμοκάθαρσης. Προσδιορίζει τα σημεία δειγματοληψίας νερού, το είδος της καλλιέργειας που θα ακολουθήσει για την διεκπεραίωση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων και τις συνθήκες κατά τις οποίες πρέπει να ληφθούν και να φυλαχτούν τα δείγματα, έτσι ώστε να μην υπάρχει αλλοίωση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων. Επιπρόσθετα, ορίζει τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για τα βακτήρια και τις ενδοτοξίνες τα οποία είναι όμοια με της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας (ISO 13959:2009). Αρχικά οι οδηγίες συνιστούν την εβδομαδιαία λήψη δειγμάτων νερού για τον απαραίτητο μικροβιολογικό έλεγχο στην αρχή της εγκατάστασης του εξοπλισμού επεξεργασίας του νερού. Στη συνέχεια ορίζουν την μηνιαία μικροβιολογική ανάλυση νερού εφόσον οι προηγούμενες μετρήσεις έχουν τα αποδεκτά επίπεδα που ορίζεται. Το ISO 26722:2009 ορίζει τις απαιτήσεις για τον εξοπλισμό επεξεργασίας του νερού που προορίζεται για την μονάδα τεχνητού νεφρού. Οι απαιτήσεις του προτύπου βοηθούν στην προστασία των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών από τις επιπτώσεις των χημικών και μικροβιολογικών κινδύνων που ανευρίσκονται στο νερό. Παρέχει οδηγίες για την εγκατάσταση του συστήματος επεξεργασίας νερού όπως για τα εξαρτήματα που απαιτείται να υπάρχουν, για τα σημεία που πρέπει να τοποθετηθούν μέχρι και για τις σωληνώσεις διανομής του νερού. Οι οδηγίες αφορούν από την αρχή του συστήματος επεξεργασίας μέχρι την συσκευή της αιμοδιάλυσης (Hoenich Nicholas A. et al, 2010). Παράλληλα, το ISO 23500:2011 έχει αναπτυχθεί για να παρέχει οδηγίες όσον αφορά την ποιότητα κατά την προετοιμασία των διαλυμάτων της αιμοδιάλυσης καθώς αναφέρει και οδηγίες για την διαχείριση του επεξεργασμένου νερού και του συστήματος διανομής του στη μονάδα τεχνητού νεφρού.

Επιπρόσθετα, έχει θεσπιστεί η Ευρωπαϊκή Οδηγία 93/42/EEC για τις ιατρικές συσκευές η οποία θα πρέπει και να τηρείται για την ομαλή λειτουργία. Τα μηχανήματα τεχνητού νεφρού που έχουν πιστοποιηθεί πρέπει να φέρουν την σήμανση CE και ο έλεγχος και η συντήρηση τους απαιτείται να γίνεται με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή (Pontoriero Giuseppe et al, 2003). Γενικά μεταξύ των προτύπων που έχουν αναπτυχθεί από τις διάφορες χώρες παρατηρείται μια διαφοροποίηση ως προς τα επίπεδα των ενδοτοξινών. Η Ευρώπη και η Ιαπωνία συμφωνούν, σε αντίθεση με την Αμερική η οποία θέτει υψηλά όρια για τις ενδοτοξίνες. Στον (πίνακα 7.1) αναφέρονται τα μέγιστα

επίπεδα βακτηριακής επιμόλυνσης που θα μας απασχολήσουν κατά την συζήτηση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας, όπως ορίζουν οι διεθνείς οργανισμοί και οι πρόσφατες συστάσεις της AAMI:2011 και της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας, για την καθαρότητα του νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού. Επιπλέον στις μονάδες τεχνητού νεφρού συνιστάται η χρήση υπερκάθαρου νερού (μικροβιακή επιμόλυνση < 0,1 CFU/ml και ενδοτοξίνες < 0,03 IU/ml), με στόχο την παρεμπόδιση σχηματισμού βιοφίλμ και την μείωση της φλεγμονωδών αντιδράσεων στους ασθενείς (Hoenich Nicholas A. et al, 2003). Στην περίπτωση αυτή απαιτείται η χρήση μεμβρανών υψηλής διαπερατότητας. Ωστόσο έχει οριστεί από τις οδηγίες και οι τιμές ενεργοποίησης που αφορά τις ενδοτοξίνες και την ανάπτυξη βακτηρίων (OMX), έτσι ώστε αν ξεπεραστούν τα αποδεκτά επίπεδα, θα πρέπει να εφαρμοστούν διορθωτικές ενέργειες στο σύστημα απολύμανσης του νερού. Στον παρακάτω (πίνακα 7.2), αναφέρονται οι τιμές ενεργοποίησης όπως καθορίζονται από την AAMI και από το πρότυπο ISO 13959:2009 μετά το τέλος της επεξεργασίας του νερού. Στον (πίνακα 7.3) αναφέρονται τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα της βακτηριακής επιμόλυνσης σύμφωνα με τις οδηγίες και τα πρότυπα που έχουν αναπτυχθεί από τις διάφορες χώρες για το νερό της αιμοκάθαρση (Ward Richard A., 2007).

Πίνακας 7.1. Μέγιστα επίπεδα για την καθαρότητα του νερού αιμοκάθαρσης

| Μέγιστα Επίπεδα | Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία | | | AAMI: 2011 |
|---------------------------------|------------------------|-----------------|-------------|------------|
| | Καθαρό νερό | Υπερκάθαρο νερό | Στείρο νερό | |
| Βακτηριακή Επιμόλυνση (CFU/ml) | <100 | <0,1 | <0.000001 | <100 |
| Βακτηριακές Ενδοτοξίνες (EU/ml) | <0,25 | <0,03 | <0,03 | <0,25 |

Πίνακας 7.2. Τιμές ενεργοποίησης μετά το τελικό στάδιο της επεξεργασίας του νερού

| Τιμές Ενεργοποίησης | AAMI:2011 | ISO 13959:2009 |
|----------------------|-----------|----------------|
| Βακτήρια (CFU/ml) | 50 | 50 |
| Ενδοτοξίνες (EU/ml) | 0,125 | 0,125 |

Πίνακας 7.3. Μέγιστα επίπεδα καθαρότητας νερού μεταξύ διαφόρων χωρών

| | Βακτηριακή Επιμόλυνση (CFU/ml) | Βακτηριακές Ενδοτοξίνες (EU/ml) |
|-------------------------------|---------------------------------------|--|
| Ένωση Προτύπων Καναδά | 100 | 2 |
| Αμερικάνικη Φαρμακοποιία | 100 | 2 |
| Φαρμακοποιία Σουηδίας | 100 | 0,25 |
| ERA – EDTA | 100 | 0,25 |
| Ιαπωνική Εταιρία Αιμοκάθαρσης | - | 0,25 |
| Ιταλική Νεφρολογική Εταιρία | 100 | 0,25 |

7.1) Υπερκάθαρο νερό

Οι Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν τη χρήση υπερκάθαρου νερού για όλους τους τύπους της αιμοδιάλυσης (European Best Practice Guideline). Υπερκάθαρο νερό σημαίνει η μείωση τριών λογαρίθμων για τα βακτήρια και αντίστοιχα ένας λογάριθμος για τις ενδοτοξίνες. Η έννοια του υπερκάθαρου νερού (ultrapure) καθιερώθηκε στην αιμοκάθαρση στις αρχές της δεκαετίας του '90 (Ledebø Ingrid, 2006). Βέβαια απαιτείται ειδικός εξοπλισμός, όπως η χρήση high flux μεμβρανών και υπερφίλτρων (μεμβράνη κοίλης ίνας από πολυαιθεροσουλφόνη) τα οποία όσες φορές χρησιμοποιηθούν (2–3 μήνες), μετά την απολύμανση πρέπει να διατηρούν τις ιδιότητες τους (ultrafilter), για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος (Ledebø Ingrid, 2006, 2004). Τα υπερφίλτρα τοποθετούνται πριν το μηχάνημα του τεχνητού νεφρού. Η Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία, η AAMI καθώς και άλλες κατευθυντήριες οδηγίες, έχουν ορίσει τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα, για το υπερκάθαρο νερό όσον αφορά για την ανάπτυξη των βακτηρίων σε $< 0,1$ CFU/ml και για τις ενδοτοξίνες $< 0,03$ EU/ml.

Σύμφωνα με μελέτες έχει αναγνωριστεί ότι η χρήση του υπερκάθαρου νερού μειώνει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς, προσφέροντας τους μια ασφαλή διαδικασία και μια καλύτερη προοπτική στην καθημερινότητα τους. Τα οφέλη του ultrapure διαλύματος έχουν αναφερθεί σε αρκετές μελέτες και είναι: α) η μείωση των φλεγμονωδών παραγόντων όπως της ιντερλευκίνης (IL–6), β) του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF-α), γ) της C-αντιδρώσα πρωτεΐνης (CRP) και δ) η βελτίωση της νεφρικής απόκρισης, με ορατά αποτελέσματα στους ασθενείς που λαμβάνουν αιμοκάθαρση (Ingrid Ledebø, 2006). Παράλληλα παρατηρήθηκε η μείωση της αναιμίας και του συνδρόμου του καρπιαίου σωλήνα. Η ευρεία χρήση της έννοιας του ξεκίνησε όταν τέθηκε σε εφαρμογή το σύστημα on line σε συνδυασμό με την αιμοδιαδιήθηση (Ledebø Ingrid, 2004). Βέβαια η χρήση του συνιστάται να εφαρμόζεται σε όλους τους τύπους αιμοκάθαρσης (Hellenic Society of Nephrology). Οι Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες (European Best Practice Guideline) συστήνουν τη χρήση του υπερκάθαρου διαλύματος, σε αντίθεση με κάποιες χώρες που δεν αποδέχονται τη χρήση του. Θεωρητικά οι μη αποδοχή δεν βασίζεται στην επιστημονική τεκμηρίωση αλλά στην οικονομική ανταπόκριση επί της εφαρμογής. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες το υπερκάθαρο νερό μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης της βιομεμβράνης, αλλά απαιτεί τον κατάλληλο εξοπλισμό επεξεργασίας του νερού και την συνεχή εξυγίανση του, από τους ανεπιθύμητους μικροβιακούς παράγοντες. Επιπλέον η χρήση του θεωρείται μια δικλείδα

ασφαλείας ως προς την παραγωγή του διαλύματος με την εφαρμογή της υπερδιήθησης σύμφωνα με τους κατασκευαστές, όπου τα αποδεκτά επίπεδα βακτηρίων πρέπει να είναι ελάχιστα από τα προβλεπόμενα. Το ultrapure διάλυμα καθορίζεται από την υγιεινή κατάσταση του συστήματος επεξεργασίας νερού, όπου είναι η βάση για την ασφαλή παραγωγή του διαλύματος υποκατάστασης παρέχοντας στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς τις καλύτερες προοπτικές για την βελτίωση της ποιότητας ζωής τους

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ

Στην παρούσα εργασία θα ασχοληθούμε με τους μικροβιακούς παράγοντες οι οποίοι μπορεί να βρεθούν στο νερό που προορίζεται για αιμοκάθαρση. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες και τα πρότυπα συστήνεται η μηνιαία παρακολούθηση της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού από τα διάφορα σημεία του συστήματος επεξεργασίας του, καθώς και από τα μηχανήματα τεχνητού νεφρού. Κατά την ανάλυση ανευρίσκονται Gram (-) βακτήρια, τα οποία έχουν την ικανότητα να διαδίδονται πολύ γρήγορα, με βάση την γρήγορη ανάπτυξη τους στο δίκτυο ύδρευσης. Η ύπαρξη τους μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο στην υγεία των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών. Για το λόγο αυτό οι Νεφρολόγοι και οι υπεύθυνοι των μονάδων τεχνητού νεφρού θα πρέπει να τηρούν αυστηρούς ελέγχους στο νερό, επί μηνιαία βάση με τις αντίστοιχες μικροβιολογικές αναλύσεις. Σημαντικό ρόλο στην εξάλειψη των παθογόνων βακτηρίων και των ενδοτοξινών έχει η επιτήρηση και η απολύμανση στο σύστημα επεξεργασίας νερού. Σύμφωνα με έρευνες σε μονάδες τεχνητού νεφρού έχουν δείξει ότι η ανεπαρκής απολύμανση μπορεί να συμβάλει στην εμφάνιση δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών. Το πόσιμο νερό αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για τον άνθρωπο, έτσι και για την εφαρμογή της αιμοκάθαρσης είναι εξίσου σημαντικός παράγοντας για την παρασκευή των διαλυμάτων. Θα πρέπει να είναι απαλλαγμένο από μικροβιακούς παράγοντες, οι οποίοι μπορεί να δημιουργήσουν σοβαρά προβλήματα στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς με την είσοδό, τους μέσω των μεμβρανών στην κυκλοφορία του αίματος.

Η μικροβιακή ανάπτυξη εννοείται όταν ο διαλυμένος οργανικός άνθρακας είναι > 1 mg/l υπό την παρουσία οξυγόνου. Επίσης, όταν αυξάνεται απότομα η θερμοκρασία στους 37°C στο μηχάνημα αιμοδιάλυσης υποβοηθά στην ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων (Bommer Jurgen et al, 1987). Η παρουσία των Gram (-) βακτηρίων είναι συχνή στο νερό που τροφοδοτεί τις μονάδες τεχνητού νεφρού. Παράλληλα μπορεί να ανιχνευτούν ιοί, μύκητες, άλγη, κυανοβακτήρια και παράσιτα ανθεκτικά στην χλωρίωση κατά την απολύμανση του συστήματος. Τα άλγη θεωρούνται ιδιαίτερα επικίνδυνα γιατί μπορεί να απελευθερώσουν ενδοτοξίνες. Σύμφωνα με έρευνες έχουν απομονωθεί μύκητες σε κέντρα αιμοκάθαρσης όπως, *Cladosporium* spp, *Aspergillus* spp, *Fusarium* spp, *Penicillium* spp, *Trichothecium* spp, *Acremonium* spp, *Alternaria* spp, *Chrysosporium* spp, *Actinomycetales* spp. Τα οποία σε κάθε περίπτωση εμφάνισης τους μπορεί να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Βέβαια και σε αυτή την περίπτωση υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες που ορίζουν τα όρια για τους μύκητες. Οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται μέχρι 10 CFU/ml (G.F. Schiavano et al, 2014, R.H. Pires-Goncalves et al, 2008, Arvanitidou M. et al, 2000, Bommer Jurgen et al, 1987). Σε μια έρευνα που δημοσιεύτηκε από (Αρβανιτίδου et al, 2000) τα δείγματα νερού από το σύστημα επεξεργασίας συσχέτισαν την παρουσία των νηματοειδών μυκήτων σε κέντρα αιμοκάθαρσης στην Ελλάδα, η οποία οφείλονταν στο σύνολο των ετερότροφων βακτηρίων, ενώ των ζυμών στην ύπαρξη ψευδομονάδας (M. Arvanitidou et al, 2000). Επιπρόσθετα στο νερό αιμοκάθαρσης και στο μηχάνημα αιμοδιάλυσης μπορεί να απομονωθεί ο εντερόκοκκος και η *Pseudomonas aeruginosa* (Vorbeck Meister Irene et al, 1999, Vanholder R). Βακτήρια που μεταδίδονται με το

νερό εκτός από την *P.aeruginosa* μπορεί να ανιχνευτούν και άλλα είδη όπως, *P.maltophilia*, *P.vesicularis* καθώς και άλλα Gram (-) και (+) βακτήρια. Ορισμένα από τα βακτήρια που απομονώνονται είναι: *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Corynebacteria*, *Burkholderia ceparacia*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Flavobacterium*, *Ralstonia pickettii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Flavimonas oryzihabitans*, *Staphylococcus auricularis*, *Achromobacter xylosoxidans* (Lonnemann G. 2000, Coulliette Angela D. et al, 2013, Jose de Ribamar Oliveira Lima et al, 2005, Souza Andrea V. et al, 2004).

Όσον αφορά για το βακτήριο *Burkholderia ceparacia* θεωρείται ένα ευκαιριακό παθογόνο και εμφανίζεται συνήθως σε ασθενείς που πάσχουν από κυστική ίνωση, οι οποίοι θεωρούνται ευάλωτοι προκαλώντας τους αναπνευστική δυσχέρεια με μη αναστρέψιμη βλάβη στον ιστό (Jose de Ribamar Oliveira Lima et al, 2005). Η *Ralstonia pickettii* σύμφωνα με μια μελέτη έχει απομονωθεί σε μονάδα τεχνητού νεφρού και η παρουσία της ενισχύεται από τις σωληνώσεις διανομής νερού. Το υλικό PVC έχει ενοχοποιηθεί για την δημιουργία βιοφίλμ και για τον αποικισμό της *Ralstonia pickettii* (Dombrowsky Matthias et al, 2013). Κατά τη διανομή του νερού μπορεί να βρεθεί *Cryptosporidium parvum* το οποίο είναι ανθεκτικό στα απολυμαντικά μέσα και θεωρείται ένα επικίνδυνο παράσιτο με δυσάρεστες συνέπειες στους αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Τα κυανοβακτήρια μπορεί να υπάρχουν στο νερό. Παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες με κυτταροτοξικές ιδιότητες. Οι ισχυρές τοξίνες (μικροκυστίνες) που περιέχουν μπορεί να οδηγήσουν σε βλάβη του ήπατος. Στο Caruaru της Βραζιλίας εκδηλώθηκε σε ένα κέντρο αιμοκάθαρσης 52 θάνατοι από την έκθεση των ασθενών σε μικροκυστίνες που περιείχε το νερό αιμοκάθαρσης (Hoenich Nicholas A. et al, 2003). Ωστόσο μπορεί να απομονωθούν περιβαλλοντικά άτυπα μυκοβακτηρίδια από το δημοτικό δίκτυο παροχής νερού και από την μονάδα τεχνητού νεφρού. Σύμφωνα με έρευνες έχουν ταυτοποιηθεί δυνητικά παθογόνα άτυπα μυκοβακτηρίδια σε κέντρα αιμοκάθαρσης όπως: *Mycobacterium lentiflavum*, *M. Kansasii*, *M. gordonae*, *M. gastris* και *M. szulgai*, *M. chelonae*, *M. avium*, *M. terrae*, *M. scrofulaceam*. Η αιτία της μόλυνσης οφείλεται συνήθως στην έλλειψη των κατάλληλων συστημάτων επεξεργασίας του νερού και η ανάπτυξη τους στηρίζεται κυρίως στην ανθεκτικότητά τους στις διάφορες απολυμαντικές ουσίες (Sartori Flavio Garcia et al, 2013, Carson Loretta A. et al, 1988). Τα άτυπα μυκοβακτηρίδια είναι ανθεκτικά στις βιοκτόνες ουσίες και μπορούν να επιβιώσουν. Υπάρχουν σε επιφάνειες, στη σκόνη, στο έδαφος και στο νερό. Θεωρείται ότι μπορούν να μεταδοθούν και να προκαλέσουν επιδημίες μέσω του νερού και για το λόγο αυτό χρήζει ιδιαίτερη προσοχή ως προς τους υπεύθυνους και τις αρμόδιες αρχές (Gomila Margarita et al, 2007).

Σε μια επιτήρηση κατά την χρονική περίοδο (2004 – 2006), απομονώθηκαν βακτήρια Gram (-) και Gram (+) καθώς και άτυπα μυκοβακτηρίδια, από το σύστημα επεξεργασίας νερού, από τα μηχανήματα τεχνητού νεφρού και από τις δεξαμενές αποθήκευσης (*S. epidermidis*, *Ps. stutzeri*, *B. cereus*, *Ps. putida*, *Ps. Fluorescens*, *Ps ceparacia*, *Ps luteola*, *Ps paucimobilis*) (Montanari Lilian Bueno et al, 2009, Morin P., 2000). Τα είδη της ψευδομονάδας έχουν συσχετιστεί με την εκδήλωση σηψαιμίας και ενδοτοξιναιμίας σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς καθώς είναι ανθεκτικά σε απολυμαντικά μέσα και στα αντιβιοτικά. Μια άλλη βασική μικροβιολογική παράμετρος που ελέγχεται στο νερό αιμοκάθαρσης είναι το *Clostridium perfringens*. Το οποίο χρήζει την επιτήρηση για την εντόπιση του για την περαιτέρω εξουδετέρωση. Στον (πίνακα 8.1) αναφέρονται μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί σε Μ.Τ.Ν.

Πίνακας 8.1. Μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από το σύστημα διανομής νερού

| “Μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από το σύστημα διανομής νερού” | | | |
|--|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Εντερόκοκκος | Corynebacteria | Enterobacter cloacae | Burkholderia cepacia |
| Pseudomonas aeruginosa | Παράσιτα | Κυανοβακτήρια | Ενδοτοξίνες |
| Pseudomonas maltophilia | Alcaligenes | Stenotrophomonas maltophilia | Sphingomonas paucimobilis |
| Pseudomonas, vesicularis | Moraxella species | Flavobacterium | Cryptosporidium parvum |
| Νηματοειδεις Μύκητες | Klebsiella pneumonia | Mycobacterium lentiflavum | Mycobacterium kansasii |
| Ιοί | Ralstonia pickettii, | Mycobacterium gordonae | Mycobacterium gastrii |
| Mycobacterium szulgai | Ζυμομύκητες | Escherichia coli | Hafnia alvei |
| Pseudomonas putida | Staphylococcus epidermidis | Pseudomonas stutzeri | Bacillus cereus |
| Pseudomonas fluorescens | Flavimonas oryzihabitans | Mycobacterium chelonae | Clostridium perfringens |
| Staphylococcus auricularis | Achromobacter xylooxidans | Pseudomonas luteola | Pseudomonas cepacia |
| Pseudomonas paucimobilis | Acinetobacter calcoeticus anitratus | Candida parapsilosis | Ochrobactrum antropi |

Είναι γνωστό σύμφωνα με την βιβλιογραφία ότι η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκληθεί από την στασιμότητα ύδατος στο σύστημα διανομής, από την παρουσία νεκρών ή τυφλών σημείων τα οποία δεν πρέπει να είναι περισσότερα από δύο στο σύστημα και να ξεπερνούν το 1m σε μήκος και από την ανεπαρκή καθαριότητα (Mactier Robert et al, Bommer Jurgen et al, 1987, Rafael Perez Garcia et al, 2000). Η απουσία χλωρίου και χλωραμίνης κατά τη ροή του νερού στη μονάδα τεχνητού νεφρού, καθώς και η στασιμότητα νερού κατά τη διανομή του, ενοχοποιούνται για την δημιουργία βιοφίλμ (Hoenich Nicholas A. et al, 2003). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η παρουσία βακτηρίων υποβοηθά την ανάπτυξη του βιοφίλμ, το οποίο ενισχύεται από τους λιποπολυσακχαρίτες, από τη πεπτιδογλυκάνη και από άλλα θραύσματα του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων. Τα βακτηριακά DNA θραύσματα μπορεί να προκύψουν από την παρουσία βιοφίλμ στις σωληνώσεις διανομής του νερού, είτε από την ανάπτυξη των βακτηρίων στο νερό (Handelman Garry J. et al, 2009). Στο σημείο που δημιουργείται βιοφίλμ απελευθερώνονται ενδοτοξίνες και ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που έχουν την ικανότητα να περνούν τις μεμβράνες της αιμοδιάλυσης και να εισέρχονται στο αίμα των αιμοκαθαριζόμενων ασθενών με κίνδυνο πρόκλησης παθολογικών καταστάσεων (Mactier Robert et al, Lonnemann G., 2000). Η αποφυγή της δημιουργίας της βακτηριακής επιμόλυνσης επιτυγχάνεται με την συνεχή ροή του νερού και με την ταχύτητα του, η οποία δεν πρέπει να είναι χαμηλή κάτω από 1 m/min (Bommer Jurgen et al, 1987).

Εκτός από τις μικροβιακές παραμέτρους υπάρχουν και οι χημικές, οι οποίες είναι εξίσου σημαντικής αξίας για τον έλεγχο τους πριν την εφαρμογή της αιμοδιάλυσης. Ο χημικός κίνδυνος στα ύδατα οφείλεται κυρίως στην πρωτογενή μόλυνση των αστικών υδάτων σε αντίθεση με τη μικροβιολογική μόλυνση, η οποία οφείλεται εν μέρει και στην επεξεργασία που υφίσταται το νερό καθώς επίσης και στο σύστημα διανομής του νερού

(Pontoriero Giuseppe et al, 2003). Η συγκέντρωση των χημικών ενώσεων μπορεί να προκαλέσει δυσάρεστες παθολογικές εκδηλώσεις στους αιμοκαθαρούμενους ασθενείς. Οι χημικές ουσίες που μπορεί να ανιχνευτούν στο νερό είναι η χλωραμίνη, ο χαλκός, το φθόριο, το νικέλιο, τα νιτρικά, ο ψευδάργυρος το σελήνιο, το χρώμιο, ο άργυρος κ.α. (Coulliette Angela D. et al, 2013). Οι μεγάλες συγκεντρώσεις μολύβδου και αρσενικού στο αίμα μπορεί να προκαλέσουν απρόβλεπτες συνέπειες για τους ασθενείς, όπως μείωση της νοητικής λειτουργίας, μείωση της σύνθεσης της αιμοσφαιρίνης και αγγειακή εγκεφαλική νόσο. Παράλληλα το αλουμίνιο θεωρείται τοξικό με την εκδήλωση διαφόρων παθήσεων όπως αναιμία, εγκεφαλοπάθεια, νευρολογικά συμπτώματα και συμπτωματική νόσο των οστών. Οι ασθενείς παρουσιάζουν αδυναμία στην συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων αλλά και κίνδυνο λόγω της περίσσειας τους στον οργανισμό (Tonelli Marcello et al, 2009).

8.1) Επιπτώσεις στους ασθενείς

Σύμφωνα με το CDC (Centers for Disease Control and Prevention) οι λοιμώξεις αποτελούν σημαντική πηγή για την αύξηση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση με ποσοστό θνησιμότητας 12-38%. Το νερό αποτελεί ένα κρίσιμο παράγοντα μετάδοσης παθογόνων βακτηρίων, λόγω της πολλαπλής του χρήσης στα κέντρα αιμοκάθαρσης (Roth Virginia R. et al, 2000). Συνήθως τα προβλήματα που σχετίζονται με την παρουσία της μικροβιακής μόλυνσης δεν οφείλονται τόσο στη μικροβιακή μόλυνση του δημοτικού δικτύου ύδρευσης των υδάτων, όσο στο σύστημα επεξεργασίας και διανομής του νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει φλεγμονώδεις αντιδράσεις, βακτηριαϊμία, κεφαλαλγία, κράμπες, ναυτία και καρδιαγγειακά επεισόδια με κίνδυνο την αύξηση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας στους ασθενείς. Η μακροχρόνια έκθεση σε μόλυνση του νερού από μικροβιολογικούς παράγοντες μπορεί να εμφανίσει το σύνδρομο του καρπιαίου σωλήνα (Brunet Philippe et al, 2000). Οι ενδοτοξίνες προκαλούν πυρετογόνες αντιδράσεις, οι οποίες συνοδεύονται από ανεπιθύμητες καταστάσεις όπως πυρετός, ρίγος, κεφαλαλγία, κόπωση, ναυτία, υπνηλία, υπόταση, shock και σηψαιμία και συμβαίνουν τις πρώτες 2 ώρες κατά τη διάρκεια της αιμοδιάλυσης (Brunet Philippe et al, 2000, Ward Richard, 2005). Συνήθως εμφανίζεται πυρετός από πυρετογόνες ουσίες οι οποίες απελευθερώνονται από τα βακτήρια. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής κατά τη χρονική περίοδο 1976 – 1983 η συχνότητα εμφάνισης πυρετογόνων αντιδράσεων κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης κυμαίνονταν σε ποσοστό 11–15 % (Bambauer R. et al, 1994). Όταν υπάρχει απουσία της βακτηριαϊμίας, αλλά πυρετογόνες αντιδράσεις πιθανολογείται ότι οφείλεται στις βακτηριακές ενδοτοξίνες. Η προέλευση αυτών των ουσιών είναι από τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων, όπως οι λιποπολυσακχαρίτες, η πεπτιδογλυκάνη, τα μουραμυλοπεπτιδία κ.α.. Οι προαναφερθείσες ουσίες μπορούν να ενεργοποιήσουν τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα κύτταρα και στη συνέχεια να επάγουν την απελευθέρωση διάφορων φλεγμονωδών παραγόντων, όπως την ιντερλευκίνη –1 (IL–1), την ιντερλευκίνη –6 (IL–6) και τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF-a) με την εκδήλωση φλεγμονωδών εκδηλώσεων. Παράλληλα, μπορεί να ενεργοποιηθούν και πρωτεΐνες οξείας φάσης, όπως η C–αντιδρώσα πρωτεΐνη (C–reactive protein), η οποία ενοχοποιείται για την νοσηρότητα και την θνησιμότητα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση (Lonnemann G. et al, 1996, Lonnemann G.

2000, Rafael Perez Garcia et al, 2000). Επίσης, η μακροχρόνια έκθεση σε ενδοτοξίνες μπορεί να προκαλέσει αμυλοείδωση, ενώ σε βακτήρια υποσιτισμό και αθηροσκλήρωση (Brunet Philippe et al, 2000). Παρόλα αυτά η μόλυνση του νερού μπορεί να οδηγήσει σε προ φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η μειωμένη παραγωγή ερυθροποίησης, η οποία ακολουθείται με την καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων και την ανεπαρκή αποθήκευση σιδήρου (Hoenich Nicholas A. et al, 2009). Για την αποφυγή των προ - αναφερθέντων καταστάσεων χρήζει η συνεχής παρακολούθηση και η ενημέρωση του ιατρικού και του νοσηλευτικού προσωπικού, όσον αφορά για τις προδιαγραφές που πρέπει να πληρεί μια μονάδα τεχνητού νεφρού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Σύμφωνα με την βιβλιογραφική ανασκόπηση θα αναφέρουμε τις ανεπιθύμητες εκδηλώσεις που έχουν συμβεί κατά την διάρκεια της αιμοδιάλυσης σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς σε διάφορα κέντρα αιμοκάθαρσης. Το 1982 στην Λουιζιάνα σε δύο κέντρα αιμοκάθαρσης καταγράφηκαν περιστατικά σε 26 ασθενείς. Στους 25 ασθενείς τυποποιήθηκε, το άτυπο μυκοβακτηρίδιο *Mycobacterium chelonae* ssp. abscessus και σε μία περίπτωση απομονώθηκε ο μικροοργανισμός *M. chelonae*. Οι 21 ασθενείς προσβλήθηκαν στο κέντρο αιμοκάθαρσης Α και οι υπόλοιποι 6 στο κέντρο αιμοκάθαρσης Β. Οι εκδηλώσεις που εμφάνισαν κατά ένα μεγάλο ποσοστό των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών ήταν η βακτηριαμία, αλλά υπήρχαν και περιπτώσεις με εντοπισμένες λοιμώξεις και αποστήματα των μαλακών ιστών. Τα συμπτώματα από το *Mycobacterium chelonae* μπορεί να ποικίλουν όπως κακουχία, πυρετός και ανορεξία. Κατά τη χρονική περίοδο 1982–1983, από τους 25 ασθενείς οι 14 πέθαναν εκ των οποίων κάποιοι ήταν υπό την φαρμακευτική αγωγή κατά την ίαση των λοιμώξεων του μυκοβακτηριδίου και άλλοι δεν λάμβαναν αγωγή. Μεταξύ των ασθενών που απεβίωσαν είχε γίνει εργαστηριακός έλεγχος και κάποιοι ήταν θετικοί στη παρουσία του μυκοβακτηριδίου. Βέβαια ο θάνατος προήλθε και από άλλα υπάρχοντα προβλήματα στην υγεία τους. Όσον αφορά για τη πηγή μόλυνσης πιθανών ήταν το νερό και τα απολυμαντικά μέσα που χρησιμοποιούνταν για την επεξεργασία του νερού (Bolan G. et al, 1985).

Τα κυανοβακτήρια θεωρούνται παθογόνα βακτήρια, διότι παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες με κυτταροτοξικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα στην Βραζιλία στο Caruaru, Pernambuco έχουν αναφερθεί 52 θάνατοι σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς παρουσία μικροκυστινών στο νερό. Τον Φεβρουάριο το 1996 σε μια κλινική αιμοκάθαρσης εκδηλώθηκαν κρούσματα μεταξύ των αιμοκαθαιρούμενων ασθενών εκ των οποίων οι 116 εμφάνισαν συμπτώματα ,όπως ναυτία, εμετό, μυϊκή αδυναμία, διαταραχές στην όραση, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης. Έπειτα 100 ασθενείς εκδήλωσαν οξεία ηπατική ανεπάρκεια. Η αιτία των θανάτων ήταν η ηπατική αιμορραγία που προκλήθηκε από της μικροκυστίνες. Η αιτία οφείλονταν σε ανεπαρκή συστήματα επεξεργασίας του νερού και στην έλλειψη του μηχανισμού της αντίστροφης όσμωσης (Azevedo Sandra M.F.O. et al, 2002).

Σε μια άλλη έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε το 2002 σε ένα νοσοκομείο στην πόλη Ponta Grossa της Βραζιλίας, κατέγραψε περιστατικά με πυρετογόνες αντιδράσεις σε 38 αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς, λόγω της ακατάλληλης απολύμανσης του νερού που προοριζόταν για την αιμοδιάλυση. Η πλειοψηφία των μικροοργανισμών που ανιχνεύθηκε ήταν Gram (-) βακτήρια, κυρίως ψευδομονάδα, *Burkholderia cepacia* και *Acinetobacter haemolyticus* (Borges C.R.M. et al, 2004). Το χρονικό διάστημα 2001–2002 παρουσιάστηκε επιδημία σε ένα νοσοκομείο στο Σάο Πάολο της Βραζιλίας, 65 ασθενείς παρουσίασαν βακτηριαμία η οποία συνοδευόταν από ρίγος και πυρετό, η αιτία ήταν το βακτήριο *Burkholderia cepacia*. Το δίκτυο ύδρευσης ήταν η πηγή της επιδημίας, η ανεπαρκής απολύμανση καθώς και η διαρροή στην αντίστροφη όσμωση (Souza Andrea V. et al, 2004).

Το 1974 σε ένα ιδιωτικό κέντρο αιμοκάθαρσης στην Ουάσινγκτον καταγράφηκαν κρούσματα με πυρετογόνες εκδηλώσεις σε 23 αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Τα κύρια συμπτώματα ήταν ρίγος, πυρετός και υπόταση. Το νερό προέρχονταν από επιφανειακά ύδατα, όπου εκείνη την περίοδο παρουσιάστηκαν κάποιες μεταβολές, όπως η ανάπτυξη της μικροβιακής χλωρίδας και η ξηρασία όπου συνέβαλλαν στην ανάπτυξη των ενδοτοξινών. Βέβαια αυτό θα μπορούσε να αποφευχθεί αν το κέντρο αιμοκάθαρσης τηρούσε τις κατάλληλες προδιαγραφές για την καθαρότητα του νερού. Σε αυτή την περίπτωση δεν υπήρχε ο μηχανισμός αντίστροφης όσμωσης και για το λόγο αυτό υπήρχε η έξαρση κρουσμάτων, διότι με την αντίστροφη όσμωση απομακρύνεται κάθε είδος μικροοργανισμού και συνιστάται από τις οδηγίες να υπάρχει σε όλες τις μονάδες τεχνητού νεφρού (Hindman Stephen et al, 1975). Το 1992 σε μια πολιτεία της Αμερικής εμφανίστηκε επιδημία σε ένα κέντρο αιμοκάθαρσης ανάμεσα σε 22 ασθενείς. Το συγκεκριμένο γεγονός που συνέβη, τονίζει την ανάγκη να πληρούνται οι οδηγίες όπως ορίζονται από την AAMI, όσον αφορά τον έλεγχο της βακτηριακής επιμόλυνσης και των ενδοτοξινών (Rudnick JR. et al, 1995).

Το 2001 σε μια ιδιωτική κλινική στη πόλη Recife της Βραζιλίας κατά τη διάρκεια της αιμοδιάλυσης εμφάνισαν 24 ασθενείς πυρετό. Άμεσα λήφθηκαν δείγματα νερού από τα διάφορα στάδια του συστήματος επεξεργασίας και απομονώθηκαν τα εξής βακτήρια κατόπιν της μικροβιολογικής αξιολόγησης: *Burkholderia cepacia*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Σύμφωνα με την έρευνα η αιτία οφειλόταν στις μεμβράνες της αντίστροφης όσμωσης, διότι εκεί υπήρχε η μεγαλύτερη ανάπτυξη της βακτηριακής μόλυνσης. Στη συνέχεια λήφθηκαν μέτρα αντικατάστασης των μεμβρανών και απολύμανσης του συστήματος με στόχο την εξουδετέρωση του μικροβιακού αποικισμού. Όπως είναι γνωστό η *Burkholderia cepacia* είναι ανθεκτική στα απολυμαντικά μέσα και αυτό σημαίνει την εφαρμογή αποτελεσματικών μέτρων για την εξάλειψη της από το σύστημα διανομής νερού (M. Magalhaes et al, 2003).

Το 1991 σε ένα κέντρο αιμοκάθαρσης στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής παρουσιάστηκε μια έξαρση κρουσμάτων κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης. Από αυτά 11 ασθενείς εκδήλωσαν βακτηριαμία και πυρετογόνες αντιδράσεις (ρίγος, πυρετός). Τα 6 επεισόδια οφείλονταν σε βακτηριαμία από Gram (-) βακτήρια και τα 7 συνδέονταν με πυρετογόνες αντιδράσεις. Η αιτία της επιδημίας μετά από έρευνα αποδόθηκε στο ότι δεν τηρούταν οι οδηγίες της AAMI και στην ανεπαρκή απολύμανση στα μηχανήματα του τεχνητού νεφρού. Από τα δείγματα απομονώθηκαν ενδοτοξίνες, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* *Escherichia coli* (Jackson Benita M. et al, 1994). Το 1988 σε ένα κέντρο αιμοκάθαρσης στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής εμφανίστηκαν κρούσματα με 9 περιπτώσεις πυρετογόνων αντιδράσεων και 5 περιπτώσεις βακτηριαμίας από Gram (-) βακτήρια σε 11 ασθενείς. Οι 6 ασθενείς παρουσίασαν πυρετό και ρίγος. Σε 4 ασθενείς απομονώθηκαν τα εξής βακτήρια: *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, και *Akaligenes denitrificans* ssp. *xylosoxydans*. Η αιτία ήταν η επαναχρησιμοποίηση της συσκευής διάλυσης και η ανεπαρκής απολύμανση της. Βέβαια το νερό όπου ξεπλύθηκε η συσκευή πραγματοποιήθηκε μικροβιολογικός έλεγχος και βρέθηκε ότι η ανάπτυξη των βακτηρίων και των ενδοτοξινών ξεπερνούσε τα επιτρεπόμενα επίπεδα που ορίζει η AAMI, όπως διαπιστώθηκε στη συνέχεια και στο σύστημα επεξεργασίας του νερού (Consuelo M-Beck Sagua et al, 1990).

Το 1990 στο Βέλγιο σε ένα κέντρο αιμοκάθαρσης εμφανίστηκαν 3 επεισόδια σηψαιμίας με πυρετογόνες αντιδράσεις. Στην συγκεκριμένη περίπτωση ο μικροβιολογικός έλεγχος για την παρουσία ύποπτων βακτηρίων γινόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα. Παρόλα αυτά η επιμόλυνση μπορεί να οφείλονταν στην ανεπαρκή απολύμανση του συστήματος επεξεργασίας νερού. Οι μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν ήταν *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas vesicularis* (Vanholder R. et al, 1990). Σε ένα νοσοκομείο της Νέας Υόρκης εμφανίστηκε ένα μεμονωμένο περιστατικό σε ασθενή που υποβαλλόταν σε αιμοκάθαρση με επεισόδιο βακτηριαιμίας (ναυτία, έμετος, ρίγος, πυρετός). Η αιτία ήταν η *Pseudomonas raucimobilis* η οποία βρίσκεται και αποικίζει σε διάφορα συστήματα νερού. Κυρίως αναπτύσσεται σε νερό που δεν είναι κατάλληλο επεξεργασμένο. Σύμφωνα με μεμονωμένα περιστατικά που έχουν αναφερθεί θεωρείται παθογόνος μικροοργανισμός με χαμηλή λοιμογόνο δύναμη. Στην προκειμένη περίπτωση πιθανολογείται ότι ο μη αποτελεσματικός καθαρισμός του μηχανήματος, θα μπορούσε να αποτελέσει εστία ανάπτυξης για το συγκεκριμένο βακτήριο το οποίο προέρχεται από το νερό και εισέρχεται στο μηχάνημα τεχνητού νεφρού (Calubiran O.V. et al, 1990).

Το χρονικό διάστημα 2000-2001 παρουσιάστηκε σε ένα νοσοκομείο του Βιετνάμ πυρετογόνες αντιδράσεις (πυρετός, ρίγος) και βακτηριαιμία. Η αιτία ήταν η κακή ποιότητα του νερού και πιθανών η επαναχρησιμοποίηση της συσκευής διάλυσης. 10 ασθενείς είχαν εκδηλώσει βακτηριαιμία (3,3%) και οι περισσότεροι από αυτούς είχαν και πυρετογόνες εκδηλώσεις. Η ανεπαρκής μικροβιολογική παρακολούθηση του νερού στο σύστημα επεξεργασίας μπορεί να θεωρηθεί ένας λόγος για την εκδήλωση των κρουσμάτων παρόλο την συχνότητα της απολύμανσης που γινόταν στο συγκεκριμένο κέντρο αιμοκάθαρσης (Lennox K. Archibald et al, 2006).

Το 1987 παρουσιάστηκε μια έξαρση κρουσμάτων με την εμφάνιση πυρετογόνων αντιδράσεων σε 16 ασθενείς που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση στη πόλη Ιλινόις. Το γεγονός έλαβε χώρα σε κάποιο κέντρο αιμοκάθαρσης. Η αιτία της επιδημίας ήταν η επαναχρησιμοποίηση της συσκευής διάλυσης και η χρήση του νερού για την έκπλυση που περιείχε πάνω από τα επιτρεπόμενα όρια ενδοτοξίνες και βακτήρια. Το σύστημα επεξεργασίας νερού δεν ανταποκρινόταν στις απαιτήσεις της οδηγίας της AAMI σύμφωνα με τα δείγματα που λήφθηκαν και αναλύθηκαν. Παράλληλα απομονώθηκαν Gram (-) βακτήρια όπως είδη *Pseudomonas* και είδη *Enterobacter* (Gordon Steven M. et al, 1988).

Πίνακας 9.1. Επιδημιολογικά Δεδομένα

| Χώρα | Έτος | Εγκατάσταση | Αριθμός Ασθενών | Μικροοργανισμός | Συμπτώματα | Παράγοντας Κινδύνου | Άρθρο |
|---------------------------------|-----------|------------------------------|-----------------------------|---|---|---|----------------------------------|
| Λουιζιάνα | 1982 | 2 Κέντρα Αιμοκάθαρσης | 26 | Mycobacterium chelonae | Βακτηριαμία, Εντοπισμένες Λοιμώξεις, Αποστήματα Μαλακών Ιστών | Ανεπαρκή Απολυμαντικά Μέσα | Bolan G. et al, 1985 |
| Βραζιλία (Caruaru - Pernambuco) | 1996 | Κλινική Αιμοκάθαρσης | 116 Κρούσματα 52 Θάνατοι | Κυανοβακτήρια (Μικροκυστίνες) | Ναυτία, Εμετός, Μυϊκή Αδυναμία, Διαταραχές στην Όραση, Οξεία Ηπατική Ανεπάρκεια | Ανεπαρκή Συστήματα Επεξεργασίας Νερού, Έλλειψη Μηχανισμού Αντίστροφης Όσμωσης | Sandra M.F.O Azevedo Et al, 2002 |
| Βραζιλία (Ponta Grossa) | 2002 | Νοσοκομείο | 38 | Ψευδομονάδα, B. ceracia, Acinetobacter haemoliticus | Πυρετογόνες Αντιδράσεις | Ανεπαρκής απολύμανση | C.R.M Borges Et al, 2004 |
| Βραζιλία (Σάο Πάολο) | 2001-2002 | Νοσοκομείο | 65 | Burkholderia ceracia | Βακτηριαμία (ρίγος, πυρετός) | Ανεπαρκής Απολύμανση, Διαρροή στην Αντίστροφη Όσμωση | Andrea V. Souza Et al, 2004 |
| Ουάσινγκτον | 1974 | Ιδιωτικό Κέντρο Αιμοκάθαρσης | 23 | Ενδοτοξίνες | Πυρετογόνες αντιδράσεις Ρίγος, Πυρετός, Υπόταση | Έλλειψη μηχανισμού αντίστροφης όσμωσης. Ανεπαρκής απολύμανση | Stephe n Hindm an Et al, 1975 |
| Αμερική | 1992 | Κέντρο Αιμοκάθαρσης | 22 | Βακτηριακή Επιμόλυνση, Ενδοτοξίνες | - | Δεν τηρούνταν τα κριτήρια της οδηγίας AAMI | Judith R. Rudnic k Et al, 1995 |
| Βραζιλία (Recife) | 2001 | Ιδιωτική Κλινική | 24 | Burkholderia ceracia, P.aeruginosa, Acinetobacter baumannii | Βακτηριαμία (Πυρετός) | Βακτηριακή επιμόλυνση στις μεμβράνες αντίστροφης όσμωσης | M. Magalh aes et al 2003 |

| | | | | | | | |
|-----------|-------------|-------------------------------------|----|---|---|--|------------------------------------|
| Αμερική | 1991 | Κέντρο Αιμοκάθαρσης | 11 | Ενδοτοξίνες, <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> | Βακτηριαμία, Πυρετογόνες αντιδράσεις (ρίγος, πυρετός) | Δεν τηρούταν τα κριτήρια της οδηγίας AAMI. Ανεπαρκής απολύμανση | Benita M. Jackson et al, 1994 |
| Αμερική | 1988 | Μονάδα τεχνητού νεφρού | 11 | Βακτήρια(<i>Pseudomonas ceracia</i> , <i>Xanthomonas maltophilia</i> , <i>Akaligenes denitrificans</i> ssp. <i>Xyloxydans</i>), ενδοτοξίνες | Βακτηριαμία, πυρετογόνες αντιδράσεις (ρίγος, πυρετός) | Επαναχρησιμοποίηση συσκευών διάλυσης (νερό - μη συμμόρφωση με την οδηγία της AAMI) | Consuelo M-Beck Saguea et al, 1990 |
| Βέλγιο | 1990 | Κέντρο αιμοκάθαρσης | 3 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas maltophilia</i> , <i>Pseudomonas vesicularis</i> | Πυρετογόνες αντιδράσεις, σηψαιμία | Ανεπαρκής απολύμανση | R.Vanholder et al, 1990 |
| Νέα Υόρκη | 1990 | Νοσοκομείο (Μονάδα τεχνητού νεφρού) | 1 | <i>Pseudomonas raucimobilis</i> | Βακτηριαμία (πυρετός, έμετος, ρίγος, ναυτία) | Ανεπαρκής απολύμανση | O.V. Calubiran et al, 1990 |
| Βιετνάμ | 2000 - 2001 | Νοσοκομείο (Μονάδα τεχνητού νεφρού) | 10 | Βακτήρια, ενδοτοξίνες | Βακτηριαμία, πυρετογόνες αντιδράσεις (ρίγος, πυρετός) | Δεν γινόταν μικροβιολογική επιτήρηση για την ποιότητα του νερού | Lennox K. Archibald et al, 2006 |
| Ιλινόις | 1987 | Κέντρο αιμοκάθαρσης | 16 | Βακτήρια, ενδοτοξίνες, <i>Pseudomonas</i> spp, <i>Enterobacter</i> spp | Πυρετογόνες αντιδράσεις | Δεν τηρούταν οι οδηγίες της AAMI | Steven M. Gordon et al, 1988 |

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΝΕΡΟΥ

Η κατάληξη του νερού από το δημοτικό δίκτυο σε μια μονάδα τεχνητού νεφρού, δεν θα πρέπει να περιέχει μικροβιολογικούς και χημικούς παράγοντες. Βέβαια οι αρμόδιες αρχές είναι υπεύθυνες για την άρτια υγειονομική κατάσταση του. Η επεξεργασία του πόσιμου νερού πριν καταλήξει στη μονάδα τεχνητού νεφρού περιλαμβάνει την απολύμανση με κροκιδωτικά μέσα όπως (θειικό αργίλιο, άλατα σιδήρου). Ωστόσο το χλώριο και οι χλωραμίνες χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της μικροβιακής επιμόλυνσης στο δίκτυο ύδρευσης. Στη συνέχεια η μονάδα τεχνητού νεφρού οφείλει να διασφαλίσει σε ακόμη καλύτερη κατάσταση το νερό με τις διάφορες τεχνικές που εφαρμόζονται, όπου η καθεμία έχει ξεχωριστό σκοπό για την απομάκρυνση των επικίνδυνων παραγόντων. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση των απολυμαντικών μέσων, έτσι ώστε το νερό που φτάνει στα μηχανήματα αιμοδιάλυσης να είναι απαλλαγμένο από τα υπολείμματα απολυμαντικών ουσιών είναι: α) τα φίλτρα ενεργού άνθρακα, β) η αντίστροφη όσμωση και γ) ο απιονισμός που βασίζεται στην ανταλλαγή ιόντων με τη χρήση ρητινών. (Pontoriero Giuseppe et al, 2003) .

Επίσης ένα σύστημα επεξεργασίας νερού θα πρέπει να πληρεί τις προδιαγραφές σύμφωνα με το πρότυπο ISO 26722:2009 το οποίο ορίζει τις απαιτήσεις και τις προδιαγραφές που πρέπει να έχει μια εγκατάσταση για την αποτελεσματική και ασφαλή ολοκλήρωση της αιμοκάθαρσης. Αρχικά πρέπει να υπάρχει ένας πίνακας παρακολούθησης των συσκευών που υπάρχουν στην εγκατάσταση, καθώς επίσης και συναγερμοί (alarm) σε περίπτωση βλάβης για την άμεση αντικατάστασή τους. Παράλληλα τα υλικά που κατασκευάζεται το σύστημα διανομής νερού καθώς και οι δεξαμενές αποθήκευσης πρέπει να είναι κατάλληλα για να ευνοούν την αποτελεσματική απολύμανση.

10.1.1) Προ επεξεργασία νερού: φίλτρα άμμου, αποσκληρυντές, φίλτρα ενεργού άνθρακα

Το πρώτο στάδιο σε μια εγκατάσταση είναι η ύπαρξη μιας συσκευής αντεπιστροφής η οποία εμποδίζει την αντίστροφη ροή του νερού προς τα πίσω δηλαδή προς στις γραμμές του δημοτικού δικτύου. Η συσκευή αυτή προστατεύει το πόσιμο νερό από τα απολυμαντικά που χρησιμοποιούνται στο νερό της αιμοκάθαρσης. Στη συνέχεια τοποθετείται μια βαλβίδα που ελέγχει και εξασφαλίζει τη θερμοκρασία ζεστού και κρύου νερού σε μια επιθυμητή ισορροπία. Τοποθετείται στην αρχή της εγκατάστασης του νερού ή περιφερικά. Συνήθως υποβοηθά στην αποτελεσματική λειτουργία της αντίστροφης όσμωσης η οποία απαιτεί μια σταθερή θερμοκρασία (Suhail Ahmad 2005). Έπειτα ακολουθούν τα φίλτρα άμμου (δύο στήλες) για την απομάκρυνση των σωματιδίων και των ιζημάτων με στόχο την αποφυγή της απόφραξης και την διευκόλυνση της ομαλής επεξεργασίας του νερού (Cappelli G. et al, 2001). Επάνω στα φίλτρα πρέπει να υπάρχει μια οθόνη για την παρακολούθηση της πτώσης της πίεσης. Ένα κοινό πρόβλημα που υπάρχει στο σύστημα επεξεργασίας νερού είναι ότι η

οργανική ύλη δεν συγκρατείται από τα φίλτρα ιζημάτων και εισέρχοντας στο σύστημα μπορεί να αποτελέσει θρεπτικό υπόστρωμα για τα βακτήρια (Bommer Jurgen et al, 1987).

Αμέσως μετά εγκαθίστανται οι αποσκληρυντές (εικόνα 10.1 – δύο στήλες), με στόχο την μείωση της σκληρότητας του νερού (< 1 ppm) και την απομάκρυνση Ca και Mg. Με την διαδικασία αυτή στόχος είναι η αφαίρεση ανόργανων ιόντων που μπορεί στη συνέχεια να προκαλέσουν βλάβες στις επόμενες συσκευές. Μια σημαντική παράμετρος για την αποφυγή της βακτηριακής ανάπτυξης είναι: ότι οι στήλες θα πρέπει να περιέχουν ρητίνη για να αναγεννιούνται με διάλυμα χλωριούχου νατρίου καθώς και η σταθερή ροή του νερού. Η στασιμότητα μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη μικροβίων. Ο αποτελεσματικός χρόνος που πρέπει να γίνεται η αναγέννηση των ρητινών είναι κάθε τρεις ώρες. Οι δεξαμενές που περιέχουν το χλωριούχο νάτριο (εικόνα 13), θα πρέπει να παρακολουθούνται οπτικά καθημερινά (Suhail Ahmad 2005, ISO 26722:2009, EDTNA/ERCA). Η απομάκρυνση του Ca και Mg επιτυγχάνεται με την απελευθέρωση δύο ιόντων νατρίου (μονοσθενή) για Ca και Mg αντίστοιχα (Bolasco Piergiorgio et al, 2012).



Εικόνα 10.1. Αποσκληρυντές – Δεξαμενές αποθήκευσης χλωριούχου νατρίου

Έπειτα ακολουθούν τα φίλτρα ενεργού άνθρακα (δύο στήλες) όπου προφυλάσσουν την είσοδο οργανικών ουσιών όπως, χλώριο, χλωραμίνες, πυρετογόνες ουσίες που μπορεί να υπάρχουν στο νερό και να εισέλθουν προς τα μηχανήματα της αιμοδιάλυσης (ISO 26722:2009, Cappelli G. et al, 2001). Ο άνθρακας είναι υπό τη μορφή κόκκου μέσα στη στήλη. Ο κοκκώδης ενεργός άνθρακας μπορεί να προσροφήσει αποτελεσματικά το χλώριο, όχι όμως τη χλωραμίνη. Η ικανότητα του για την επίτευξη της προσρόφησης της χλωραμίνης εξαρτάται και από άλλους παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία του νερού και η παρουσία άλλων ουσιών (Ward Richard 2005). Ο μηχανισμός απομάκρυνσης του χλωρίου επιτυγχάνεται με την μετατροπή του, μέσω μιας κατάλυσης σε υδροχλωρικό οξύ το οποίο στη συνέχεια εξουδετερώνεται από τα όξινα ανθρακικά άλατα στο νερό. Το χλώριο και οι χλωραμίνες έχουν την ικανότητα να περνούν το σύστημα της αντίστροφης όσμωσης και να καταστρέφουν τις μεμβράνες, μειώνοντας την απόδοσή τους, ως προς την απομάκρυνση των μικροβιολογικών και χημικών προσμίξεων. Η είσοδος τους προκαλεί αιμολυτικές αντιδράσεις στους αιμοκαθαριζόμενους ασθενείς. Η μέτρηση της συνολικής συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου μετά τη στήλη του ενεργού άνθρακα πραγματοποιείται επί καθημερινή βάση και πρέπει να είναι 0.1 mg/l (Ka-Hang Tong Matthew et al, 2001). Δεδομένου ότι σε διαλυμένο οργανικό άνθρακα >1 mg/l, υπό την παρουσία οξυγόνου η πιθανότητα της βακτηριακής ανάπτυξης αυξάνεται, χρήζει ιδιαίτερη προσοχή αυτή η

παράμετρος (Bommer Jurgen et al, 1987). Επίσης θα πρέπει να υπάρχει ένα χρονόμετρο ορατό ως προς τον υπεύθυνο που ελέγχει την εγκατάσταση. Η εξάντληση της προσροφητικής ικανότητας του άνθρακα οδηγεί σε ανάπτυξη μικροβιακών παραγόντων. Σε μια μελέτη του P.Morin απέδειξε ότι τα φίλτρα ενεργού άνθρακα και κυρίως οι πόροι ευνοούν την ανάπτυξη των βακτηρίων λόγω της παρουσίας βιομεμβράνης στην επιφάνειά τους. Ωστόσο η επιλογή του κατάλληλου απολυμαντικού μέσου βοηθά στην εξουδετέρωση των βακτηρίων. Καλό θα ήταν σε περιπτώσεις βακτηριακής επιμόλυνσης να γίνεται η εφαρμογή διάφορων απολυμαντικών, λόγω της ανεπαρκούς ιδιότητας τους στην προκειμένη περίπτωση και για την επιλογή του κατάλληλου (Morin P., 2000). Ο λόγος της συνεχής παρακολούθησης από το υπεύθυνο άτομο της τεχνικής υπηρεσίας συμβάλει για να αποφευχθούν παρεκκλίσεις που θα μπορούσαν να έχουν ανεπανόρθωτες συνέπειες (Suhail Ahmad 2005, ISO 26722:2009). Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες η αντικατάσταση των φίλτρων του ενεργού άνθρακα πρέπει να γίνεται κάθε έξι μήνες για την αποφυγή υψηλής συγκέντρωσης χλωρίου. Στην παρακάτω (εικόνα 10.2), απεικονίζονται τα φίλτρα άμμου, οι αποσκληρυντές και τα φίλτρα ενεργού άνθρακα, όπου συμβάλλουν στην προ επεξεργασία του νερού της αιμοδιάλυσης.



Εικόνα 10.2. Φίλτρα άμμου – Αποσκληρυντές – Φίλτρα ενεργού άνθρακα

10.1.2) Προ – φίλτρα

Παράλληλα στο σύστημα επεξεργασίας του νερού υπάρχουν διάφορα μεγέθη προ φίλτρων (εικόνα 10.3), τα οποία τοποθετούνται πριν την συσκευή της αντίστροφης όσμωσης. Το κοινό αποδεκτό μέγεθος των πόρων ενός φίλτρου είναι τα 5 μm το οποίο μπορεί να προσφέρει την περαιτέρω καθαρότητα του νερού. Βέβαια με βάση την βιβλιογραφία οι διαστάσεις ποικίλουν ως προς τα φίλτρα από 1 έως 5 μm . Αυτή η παράμετρος εξαρτάται και από τον κατασκευαστή (Ka-Hang Tong Matthew et al, 2001). Η αντικατάστασή τους θα πρέπει να γίνεται κάθε μήνα για την αποτελεσματική απόδοσή τους.



Εικόνα 10.3. Προ – φίλτρα

10.1.3) Μηχανισμός αντίστροφης όσμωσης

Στη συνέχεια του συστήματος επεξεργασίας του νερού υπάρχει η αντίστροφη όσμωση (εικόνα 10.4). Ο κύριος μηχανισμός της είναι η απομάκρυνση των οργανικών και ανόργανων διαλυμένων ουσιών, μικροβιακών παραγόντων και ενδοτοξινών. Είναι μια διαδικασία διήθησης νερού όπου παρεμβάλλεται μια μεμβράνη και απορρίπτονται ανεπιθύμητες ουσίες όπως βακτήρια, ενδοτοξίνες και ιοί. Το είδος της μεμβράνης ποικίλει και μπορεί να είναι: συνθετικές, από κυτταρίνη και από ένα σύνθετο λεπτό υλικό. Σε αυτή την περίπτωση το είδος της μεμβράνης που χρησιμοποιείται έχει ιδιαίτερο ρόλο στην σωστή ολοκλήρωση της διαδικασίας. Η απόδοση των μεμβρανών παρακολουθείται με τη μέτρηση της αντίστασης του ύδατος. Παράλληλα δίνεται ιδιαίτερη σημασία και στο pH. Η τιμή του θα πρέπει να κυμαίνεται από 5 – 8,5. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα αυξάνεται με την παρουσία ιόντων. Η αντικατάσταση των μεμβρανών απαιτείται όταν η αγωγιμότητα του νερού μετά από έξι μήνες είναι αμετάβλητη και αυξάνεται σε 20 $\mu\text{s}/\text{cm}$. Η μέτρηση της αγωγιμότητας αποδεικνύει την απόδοση της αντίστροφης όσμωσης. Σε αυτό το σημείο όταν η αναλογία απόρριψης των διαλυμένων ουσιών είναι 80% απαιτείται αντικατάσταση των μεμβρανών (Suhail Ahmad 2005) . Το σύστημα της αντίστροφης όσμωσης πρέπει να έχει οθόνη έτσι ώστε να παρακολουθείται η αγωγιμότητα του νερού. Η απολύμανση γίνεται με χημικά μέσα (ISO 26722:2009). Η αντίστροφη όσμωση προωθεί το νερό με υψηλή υδροστατική πίεση διαμέσου των ημιδιαπερατών μεμβρανών, έχοντας ως στόχο να απομακρύνει το 99% των βακτηρίων, και των ενδοτοξινών, το 95-98% των διαλυμένων αλάτων και τα σωματίδια μοριακού βάρους (200 kDa)



Εικόνα 10.4. Μηχανισμός αντίστροφης όσμωσης

Η αντίστροφη όσμωση είναι ένα φαινόμενο, δηλαδή το αντίθετο της όσμωσης. Συνήθως με το μηχανισμό της αντίστροφης όσμωσης έχουμε το διαλύτη που βρίσκεται σε μια περιοχή χαμηλής συγκέντρωσης, ανάμεσα του παρεμβάλλεται μια μεμβράνη για τον διαχωρισμό του από την περιοχή που υπάρχει η μεγαλύτερη συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας. Στόχος είναι η μετακίνηση του διαλύτη μέσω των μεμβρανών, προς την διαλυμένη ουσία για την λύση της και την απομάκρυνση. Σε αυτή την περίπτωση ασκείται πίεση στην στήλη νερού με την μεγαλύτερη συγκέντρωση, με αποτέλεσμα να αντιστρέφεται η ροή δημιουργώντας καθαρό νερό. Ένα πολύ καλό σύστημα επεξεργασίας νερού θα πρέπει να έχει δύο μηχανισμούς αντίστροφης όσμωσης (εικόνα 10.5), για να επιτυγχάνεται η καλύτερη απόδοση της λειτουργίας του. Το σύστημα της διπλής αντίστροφης όσμωσης εφαρμόζεται περισσότερο στην Ευρώπη και κυρίως στην Ιταλία. Στην Αμερική απλά έχει αναφερθεί η ανάγκη παρουσίας της διπλής αντίστροφης όσμωσης, χωρίς να υποστηρίζεται από τις οδηγίες της AAMI. Η μείωση της σκληρότητας του νερού δρα προστατευτικά στις μεμβράνες της αντίστροφης όσμωσης. Αυτό επιτυγχάνεται με τα φίλτρα που τοποθετούνται σε διάφορα κρίσιμα σημεία του συστήματος (Pontoriero Giuseppe et al, 2003, Bolasco Piergiorgio et al, 2012).



Εικόνα 10.5. Συσκευή διπλής αντίστροφης όσμωσης

10.1.4) Εγκατάσταση απιονισμού

Στη συνέχεια υπάρχει η εγκατάσταση του απιονισμού. Ο μηχανισμός αυτός αφαιρεί τα θετικά φορτισμένα ιόντα (κατιόντα) και τα αρνητικά φορτισμένα ιόντα (ανιόντα) που διαλύονται στο νερό με μια διαδικασία ανταλλαγής ιόντων με τη χρήση κατιονικών και ανιονικών ρητινών (Suhail Ahmad 2005, Cappelli G. et al, 2001). Οι υψηλές συγκεντρώσεις κατιόντων περιορίζουν τη διάρκεια ζωής της συσκευής του απιονισμού και της αντίστροφης όσμωσης (reserve osmosis) (Ka-Hang Tong Matthew et al, 2001). Το μειονέκτημα είναι ότι δεν αφαιρεί βακτήρια και πυρετογόνους παράγοντες (Pontoriero Giuseppe et al, 2003). Οι ρητίνες αναγεννιούνται με χλωρίνη ή NaOH ή HCL (Suhail Ahmad 2005). Επιπλέον, χρησιμοποιείται η ηλεκτοδιάλυση η οποία βελτιώνει την απόδοση των απιονιστών με αποτέλεσμα να προλαμβάνονται τα προβλήματα που προκύπτουν κατά την αναγέννηση των ρητινών με τις χημικές ουσίες (Cappelli G. et al, 2001). Η απόδοση του απιονιστή θα πρέπει να παρακολουθείται συχνά, διότι η εξάντληση του συσσωρεύει υψηλές συγκεντρώσεις ανεπιθύμητων ουσιών. Συγκεκριμένα έχουν αναφερθεί κρούσματα σε αιμοκαθαριζόμενους ασθενείς λόγω της ακατάλληλης χρήσης του απιονισμού και πλέον δεν χρησιμοποιείται σε πολλές χώρες η συγκεκριμένη μέθοδος (Bolasco Piergiorgio et al, 2012).

10.1.5 Υπεριώδης ακτινοβολία (UV)

Η τελευταία συσκευή που ακολουθεί είναι η υπεριώδης ακτινοβολία (εικόνα 10.6) όπου σκοτώνονται όλοι οι τύποι βακτηρίων εκτός από τις ενδοτοξίνες. Κυρίως η δράση της ακτινοβολίας στοχεύει στο DNA των βακτηρίων, όπου και οδηγούνται στο θάνατο. Η αποτελεσματικότητα της εξαρτάται από το βάθος της διείσδυσης και τη ροή του νερού (Suhail Ahmad 2005). Το μήκος κύματος που εκπέμπει είναι από 254 nm. Η ενέργεια της ακτινοβολίας που παρέχεται πρέπει να είναι 30 Mw.sec/cm και η ελάχιστη 16 Mw.sec/cm (ISO 26722:2009). Οι UV λάμπες έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής. Ο συνδυασμός της UV με τον απιονισμό και την υπερδιήθηση επιφέρει αποτελεσματική απομάκρυνση των βακτηριακών θραυσμάτων (Suhail Ahmad 2005). Σύμφωνα με μια έρευνα από Rotimi Williams Braimoh et al, 2014, έχει καταγραφεί ότι η μη αντικατάσταση της λάμπας UV στα κέντρα αιμοκάθαρσης είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη βακτηρίων και την εμφάνιση κρουσμάτων σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Η ΑΑΜΙ προτείνει συχνά αλλαγή της λάμπας UV και προσδιορίζει τον χρόνο λειτουργίας σε 8.000 ώρες. Έπειτα απαιτείται η αντικατάσταση της για την καλύτερη απόδοση κατά την λειτουργία της (ISO 26722:2009).



Εικόνα 10.6. Εγκατάσταση υπεριώδης ακτινοβολίας UV

10.1.6 Φίλτρα μικροβίων

Τα φίλτρα μικροβίων κατακρατούν ότι δεν έχει θανατωθεί από τις προηγούμενες συσκευές (εικόνα 10.7) (ISO 26722:2009). Μεταξύ του συστήματος παρεμβάλλονται αντλίες όπου τροφοδοτούν το νερό στις αντίστοιχες συσκευές και θα πρέπει να παρακολουθούνται συχνά για τη σωστή λειτουργία τους. Γενικά η συντήρηση της εγκατάστασης πρέπει να γίνεται με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή για τη διατήρηση της κατάστασης των συσκευών και των φίλτρων. Όσον αφορά τα φίλτρα που κατακρατούν τις ενδοτοξίνες ο κατασκευαστής πρέπει να δίνει οδηγίες για την συντήρησή τους και την σωστή αποδοτικότητά τους. Θα πρέπει να έχουν αδιαφανές περίβλημα, γιατί το φως μπορεί να προωθήσει την ανάπτυξη βακτηρίων και να μετράται η πτώση της πίεσης κατά μήκος του φίλτρου με τη χρήση μετρητών πίεσης στην είσοδο και στην έξοδο των γραμμών του νερού (ISO 26722:2009).



Εικόνα 10.7. Φίλτρα μικροβίων

10.1.7) Δεξαμενή αποθήκευσης

Συνήθως υπάρχουν δύο δεξαμενές αποθήκευσης (εικόνα 10.8), όπου στη μία αποθηκεύεται το νερό μετά το μηχανισμό της αντίστροφης όσμωσης όπου και διατίθεται στις γραμμές διανομής, προς την αίθουσα της αιμοδιάλυσης. Και η δεύτερη αποθηκεύει το νερό που επιστρέφει από την αίθουσα αφού προηγουμένως περάσει το μηχανισμό της αντίστροφης όσμωσης για συντήρηση του νερού. Οι δεξαμενές αποθήκευσης πρέπει να έχουν κωνικό σχήμα και στεγανό καπάκι και να υπάρχει ένα φίλτρο αέρα για τον εξαερισμό μεγέθους 0.45μm. Πριν την εγκατάσταση της δεξαμενής θα πρέπει να προβλεφθεί ο τρόπος της απολύμανσης γιατί θεωρείται πηγή ανάπτυξης βακτηρίων και σχηματισμού βιοφίλμ και χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή (Rafael Perez Garcia et al, 2000). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία συνιστάται η αποφυγή των δεξαμενών στην εγκατάσταση λόγω της δυσκολίας που υπάρχει κατά την απολύμανση (Cappelli G. et al, 2001).



Εικόνα 10.8. Δεξαμενές αποθήκευσης επεξεργασμένου νερού

Συνοψίζοντας τις συσκευές που απαρτίζουν την εγκατάσταση θεωρείται ότι τα φίλτρα ενεργού άνθρακα, οι αποσκληρυντές, οι απιονιστές, οι δεξαμενές αποθήκευσης, η στασιμότητα ύδατος στις γραμμές διανομής η μη συνεχής ροή του νερού και τα τυφλά σημεία ευνοούν την βακτηριακή ανάπτυξη. Επίσης, η εγκατάσταση επεξεργασίας νερού σε μονάδες τεχνητού νεφρού όπου η κατασκευή τους έχει αρκετά χρόνια είναι πιο επιρρεπής να αναπτύσσουν βακτηριακή μόλυνση. Σε αυτή την περίπτωση θα πρέπει να γίνεται αντικατάσταση στο σύστημα επεξεργασίας νερού (Rafael Perez Garcia et al, 2000).

Η παρακολούθηση του συστήματος επεξεργασίας του νερού επί καθημερινή βάση βοηθάει στην ασφαλή και ομαλή λειτουργία του. Θα πρέπει να υπάρχουν οθόνες και μετρητές που να εξασφαλίζουν ότι η θερμοκρασία, οι πιέσεις, η αγωγιμότητα και η ροή του νερού είναι σε αποδεκτά επίπεδα σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες των προτύπων και του κατασκευαστή. Σε περίπτωση απόκλισης των παραμέτρων, θα πρέπει να υπάρχει ειδοποίηση με κάποιο ηχητικό σήμα για να γίνεται ο έλεγχος και η αντικατάσταση στην ανάλογη συσκευή. Επιπρόσθετα η μονάδα τεχνητού νεφρού θα πρέπει να ενημερώνεται από την αρμόδια αρχή παροχής νερού, για αλλαγές που μπορεί να συμβούν ως προς την ποιότητα του και στα μέσα απολύμανσης. Βέβαια η ποιότητα του νερού του δικτύου θα πρέπει να ελέγχεται και από την μονάδα τεχνητού νεφρού στα πλαίσια της προγραμματισμένης δειγματοληψίας νερού από το σύστημα επεξεργασίας. Παράλληλα θα πρέπει να υπάρχουν βιβλία ελέγχου για να καταγράφονται οι μετρήσεις έτσι ώστε να υπάρχει η δυνατότητα σύγκρισης όσον αφορά για την αποτελεσματική απόδοση των συσκευών

10.2) Απολύμανση του συστήματος επεξεργασίας νερού

Αρχικά το νερό απολυμαίνεται με χλώριο και χλωραμίνη πριν την παροχή στη μονάδα τεχνητού νεφρού. Το χλώριο μπορεί να καταστρέψει τις μεμβράνες της αντίστροφης όσμωσης, ενώ η χλωραμίνη να προκαλέσει αιμολυτικές αντιδράσεις σε αιμοκαθαριζόμενους ασθενείς. Η χλωραμίνη σχηματίζεται μέσω μιας αντίδρασης στο νερό μεταξύ χλωρίου και αμμωνίας. Η χλωραμίνη μειώνει τα αλογονικά οξέα σε αντίθεση με άλλα απολυμαντικά, τα οποία επιφέρουν σοβαρά προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου. Η προσρόφηση της από τα φίλτρα ενεργού άνθρακα εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων και τη θερμοκρασία (Hoenich Nicholas A. et al, 2003). Η επιλογή ενός απολυμαντικού μέσου όπου θα εκτελέσει με επιτυχία την εφαρμογή του εξαρτάται από διάφορους παράγοντες. Θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην αντιβακτηριδιακή του δράση, η οποία εξαρτάται από το χρόνο επαφής του με το υλικό, από την τοξικότητα, από τον χειρισμό του όπου πρέπει να είναι εύχρηστο ως προς τη χρήση και να μην δημιουργεί κίνδυνο προς τον χρήστη, και από τη σταθερότητα που παρουσιάζουν οι συσκευές (Cappelli Gianni et al, 2006). Επίσης η απολύμανση του συστήματος επεξεργασίας του νερού, γίνεται με χημικό τρόπο όπως: α) υπεροξικό οξύ, β) φορμαλδεΰδη, γ) υποχλωριώδες νάτριο, δ) όζον, ε) διοξειδίο του χλωρίου, ή με φυσικό τρόπο όπως ο α) θερμικός ή με την γ) υπεριώδη ακτινοβολία σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή της εγκατάστασης (ISO 26722:2009). Το διοξειδίο του χλωρίου χρησιμοποιείται κυρίως στα νοσοκομεία για την απολύμανση του νερού που έχει ως στόχο την πρόληψη της ανάπτυξης του βακτηρίου *Legionella* ή του *Cryptosporidium parvum*. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει η μονάδα τεχνητού νεφρού να ενημερώνεται σχετικά ότι γίνεται η χρήση του για την περαιτέρω απομάκρυνση του, όταν το νερό εισέρχεται στην εγκατάσταση επεξεργασίας νερού. Η Αμερικανική εταιρία προστασίας περιβάλλοντος (American Environmental Protection Agency), ορίζει τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα του διοξειδίου του χλωρίου καθώς και των υποπροϊόντων για το πόσιμο νερό τα οποία θα πρέπει να είναι < 1 mg/l. Κυρίως κρίνεται απαραίτητο να ενημερώνεται η κατασκευάστρια εταιρία για να διευθετηθούν ενέργειες απομάκρυνσης του, μέσω των φίλτρων ενεργού άνθρακα.

Η χρήση της φορμαλδεΐδης μπορεί να δημιουργήσει κίνδυνο για τον χρήστη αν δεν τηρηθούν οι κανόνες χρήσης, λόγω της δημιουργίας αναθυμιάσεων. Ένα άλλο μειονέκτημα της είναι ότι δεν είναι αποτελεσματική ως προς την εξουδετέρωση των μυκοβακτηριδίων. Σε αντίθεση με το υπεροξικό οξύ όπου είναι φιλικό ως προς το περιβάλλον και προτιμάται ως απολυμαντικό μέσο (Ka-Hang Tong Matthew et al, 2001). Το υπεροξείδιο του υδρογόνου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απολύμανση και θεωρείται ασφαλές απολυμαντικό μέσο. Η αποτελεσματικότητά του επιτυγχάνεται με την προσθήκη του αργύρου και συστήνεται για δημόσια κτίρια όπως τα νοσοκομεία, όπου το νερό χρησιμοποιείται για θεραπευτικούς σκοπούς (Hoenich Nicholas A, 2009).

Η θερμική απολύμανση θεωρείται ότι αποτρέπει τον σχηματισμό δημιουργίας της βιομεμβράνης και συνιστάται να γίνεται κυρίως το βράδυ έως πριν την έναρξη της πρώτης πρωινής συνεδρίας. Η θερμοκρασία του νερού κυμαίνεται στα επίπεδα 90 – 95 °C και το πλεονέκτημα που έχει είναι ότι δεν αφήνει υπολείμματα. Σύμφωνα με μια έρευνα που διεξήχθη στην Σαρδηνία η καθημερινή θερμική απολύμανση είχε σημαντικά αποτελέσματα στην αποφυγή δημιουργίας μικροβιακών προσφύσεων (Bolasco Piergiorgio et al, 2012). Ωστόσο η απολύμανση μπορεί να γίνει και με το όζον. Η παραγωγή του γίνεται από το οξυγόνο του αέρα και εισάγεται στο σύστημα του νερού. Η συγκέντρωση του εξαρτάται από το χρόνο και με αυτό τον τρόπο πραγματοποιείται η καταστροφή των βακτηριδίων και των ενδοτοξινών (Cappelli Gianni et al, 2006). Βέβαια για το γεγονός ότι θεωρείται τοξικό θα πρέπει να συνδυάζεται με την ακτινοβολία UV για την αφαίρεση του μετά την απολύμανση από το σύστημα επεξεργασίας του νερού. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία οι μεμβράνες της αντίστροφης όσμωσης είναι ευαίσθητες στην επίδραση του όζοντος και για το λόγο αυτό η εισαγωγή του όζοντος γίνεται μετά την εγκατάσταση της αντίστροφης όσμωσης (Bommer Jurgen et al, 1987).

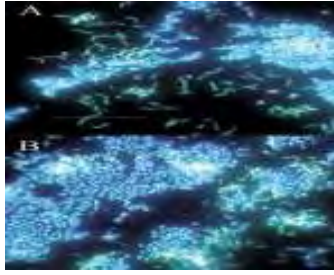
Η πρόληψη της βακτηριακής επιμόλυνσης απαιτεί την απολύμανση σε τακτικά χρονικά διαστήματα (1 φορά/μήνα) και θα πρέπει να εφαρμόζεται σε όλες τις μονάδες τεχνητού νεφρού. Ο καθαρισμός και η απολύμανση των μεμβρανών του συστήματος αντίστροφης όσμωσης θα πρέπει να γίνεται συνεχώς καθώς και η αντικατάσταση των φίλτρων και της λάμπας UV όταν απαιτείται (Pontoriero Giuseppe et al, 2003). Ένα κρίσιμο σημείο ανάπτυξης μικροοργανισμών είναι η σύνδεση του μηχανήματος με τον βρόχο νερού στον τοίχο το οποίο θα πρέπει να ελέγχεται. Για τον λόγο αυτό θα πρέπει να εφαρμόζεται απολύμανση και σε αυτό το σημείο, διότι μπορεί να αναπτυχθούν βακτήρια και να εισέλθουν στο μηχάνημα της αιμοδιάλυσης (Ledebro Ingrid, 2004). Η απολύμανση προβλέπει στην πρόληψη και όχι στην εξουδετέρωση των βακτηρίων και της βιομεμβράνης (Cappelli Gianni et al 2006). Οι εφαρμογές της επιπλέον προληπτικής απολύμανσης εξασφαλίζουν την αποτροπή δημιουργία της βιομεμβράνης (biofilm) η οποία θεωρείται θρεπτικό υπόστρωμα για τα βακτήρια και δύσκολα απομακρύνεται ακόμη και με τις πιο σύγχρονες μεθόδους απολύμανσης. (Pontoriero Giuseppe et al, 2003).

10.3) Σχηματισμός βιομεμβράνης (biofilm) στο σύστημα διανομής νερού

Η βιομεμβράνη (biofilm) σχηματίζεται από τον αποικισμό βακτηρίων σε επιφάνειες και είναι δύσκολο η απομάκρυνση της από το δίκτυο ύδρευσης από τη στιγμή που δημιουργηθεί. Η βιομεμβράνη εξελίσσεται σύμφωνα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν και μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη της (Cappelli Gianni et al, 2005). Επίσης προστατεύει τα παθογόνα βακτήρια από τα απολυμαντικά. Είναι γνωστό σύμφωνα με την βιβλιογραφία ότι απελευθερώνει ενδοτοξίνες και βακτηριακά DNA θραύσματα, τα οποία μπορεί να προκαλέσουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις στους ασθενείς κατά την είσοδο τους στη κυκλοφορία του αίματος. Τα απολυμαντικά μέσα, που χρησιμοποιούνται δεν μπορούν να εξουδετερώσουν τη βιομεμβράνη από τα διάφορα σημεία που σχηματίζεται. Κυρίως σχηματίζεται στη διαδρομή κατά την διανομή του νερού (σωληνώσεις), στα μηχανήματα της αιμοδιάλυσης καθώς και σε διάφορα κρίσιμα σημεία στο σύστημα επεξεργασίας νερού (Cappelli Gianni et al, 2003). Πιθανών η δημιουργία της βιομεμβράνης γίνεται κατά τη διάρκεια της νύχτας όπου υπάρχει στασιμότητα του ύδατος (Cappelli Gianni et al, 2005).

Ένα μέτρο πρόληψης για την αποφυγή της μικροβιακής επιμόλυνσης και του σχηματισμού της βιομεμβράνης, είναι η συνεχής κυκλοφορία του νερού στο σύστημα επί 24 ώρη βάση, ώστε να μην δημιουργούνται στάσιμα νερά που ευνοούν την ανάπτυξη βακτηρίων και αλγών. Παράλληλα η ύπαρξη των νεκρών σημείων συμβάλλουν στη στασιμότητα του νερού και θα πρέπει να αποφεύγεται η παρουσία τους στο σύστημα διανομής του νερού (Pontoriero Giuseppe et al, 2003). Σύμφωνα με μια έρευνα που έγινε χρησιμοποιώντας διάφορους απολυμαντικούς παράγοντες, όπως οι χημικές ουσίες και η θέρμανση δεν επέφερε τα επιθυμητά αποτελέσματα στην εξάλειψη της βιομεμβράνης στις οθόνες των μηχανημάτων. Ο συνδυασμός όμως της θερμότητας με κιτρικό οξύ και ο χημικός τρόπος που περιλάμβανε το υποχλωριώδες ή το υπεροξικό οξύ, είχε επιθυμητά αποτελέσματα και θεωρήθηκε αποτελεσματικός τρόπος για την πρόληψη της δημιουργίας της βιομεμβράνης (Cappelli Gianni et al, 2003).

Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι η ταχύτητα ανάπτυξης της βιομεμβράνης στο σύστημα επεξεργασίας του νερού είναι σχετικά γρήγορη. Βέβαια όταν υπάρχει ο κατάλληλος εξοπλισμός του συστήματος επεξεργασίας για το νερό και εφαρμόζεται η προληπτική απολύμανση σε σύντομο χρονικό διάστημα, η μείωση του σχηματισμού της βιομεμβράνης είναι αισθητή. Ο σχηματισμός της βιομεμβράνης σχηματίζεται στις σωληνώσεις διανομής όταν δεν είναι επαρκής ο εξοπλισμός, όπως στη περίπτωση που υπάρχει μόνο μια συσκευή αντίστροφης όσμωσης (Smeets E. et al, 2003). Παράλληλα έχει αποδειχθεί μέσω έρευνας ότι ο σχηματισμός της βιομεμβράνης, ευνοείται από τα υλικά που περιβάλλουν το σύστημα επεξεργασίας του νερού. Σύμφωνα με μια έρευνα στην Αυστρία έδειξε ότι οι σωληνώσεις PVC υποβοηθούν στην ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων (*Ralstonia pickettii*) με συνέπεια τη δημιουργία της βιομεμβράνης και τη γρήγορη ανάπτυξη του βακτηρίου (Dombrowsky Matthias et al, 2013). Η πρόληψη σχηματισμού της βιομεμβράνης επιτυγχάνεται με την εξασφάλιση παροχής και διανομής υψηλής ποιότητας νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού. Στόχος για την επίτευξη αυτού του σκοπού είναι η εφαρμογή της προληπτικής συντήρησης του συστήματος επεξεργασίας του νερού και η μέριμνα από τους αρμόδιους για την υλοποίηση του σχεδίου.



Εικόνα 10.9. Δημιουργία βιοφίλμ σε δίκτυο ύδρευσης

10.4) Υλικά του συστήματος διανομής του νερού

Η δομή του συστήματος διανομής του νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού έχει μεγάλη σημασία, διότι οι μεγάλες επιφάνειες αποτελούν κρίσιμα σημεία για την ανάπτυξη των βακτηρίων και των ενδοτοξινών. Τα υλικά που πρέπει να αποφεύγονται για την κατασκευή των σωληνώσεων είναι το ορείχαλκο, το αλουμίνιο και το γαλβανισμένο μέταλλο (Pontoriero Giuseppe et al, 2003). Επιβάλλεται το σύστημα διανομής νερού στην μονάδα τεχνητού νεφρού να είναι κλειστό κύκλωμα, χωρίς τις παρεμβολές άλλων τμημάτων που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ποιότητα του. Ο αυλός των σωλήνων διανομής θα πρέπει να είναι μικρός για να διευκολύνεται η ταχύτητα ροής του νερού (Rafael Perez Garcia et al, 2000). Για την διευκόλυνση της απολύμανσης και την αποφυγή της βακτηριακής προσκόλλησης θα πρέπει οι σωλήνες να έχουν λεία επιφάνεια. Το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC) που χρησιμοποιείται λόγω ότι είναι φθηνό υλικό σε σύγκριση με άλλα, θα πρέπει να αντικατασταθεί με υλικά που έχουν αντοχή στη διάβρωση όπως είναι ο ανοξείδωτος χάλυβας (INOX), το φθοριούχο πολυβινυλιδένιο (PVDF), το θερμοπλαστικό πολυαιθυλένιο (PEX) και το πολυτετραφθοροαιθυλένιο (τεφλόν) (PTFE) (Giuseppe Pontoriero et al, 2003, Piergiorgio Bolasco et al, 2012). Το υλικό των σωλήνων (PVC) είναι επιρρεπής στη διάβρωση από τα χημικά απολυμαντικά καθώς και από τις διαρροές με αποτέλεσμα να ευνοεί την ανάπτυξη των μικροβιακών προσφύσεων στην επιφάνεια του (Bommer Jurgen et al, 1987). Παράλληλα δεν ευνοείται για την θερμική απολύμανση διότι το υλικό δεν είναι ανθεκτικό στις υψηλές θερμοκρασίες.

Η έρευνα του Jurgen Bommer et al, στηρίζει ότι οι σωληνώσεις που παρέχουν το νερό στην αίθουσα της αιμοδιάλυσης πρέπει να είναι από ανοξείδωτο χάλυβα διότι αντέχουν στη διάβρωση. Σε μία πολυετή έρευνα στην Σαρδηνία απέδειξε ότι η απουσία του υλικού (PVC) στις σωληνώσεις με την συχνή απολύμανση είχε σημαντική μείωση στην ανάπτυξη βακτηρίων στις γραμμές διανομής του νερού. Σε περιπτώσεις που υπήρχε στην εγκατάσταση το υλικό (PVC) αποφασίστηκε να αντικατασταθεί, διότι θεωρήθηκε ακατάλληλο υλικό για την συγκεκριμένη εγκατάσταση. Στην ίδια μελέτη το θερμοπλαστικό πολυαιθυλένιο (PEX) είχε καλύτερα αποτελέσματα στη μείωση του μικροβιακού φορτίου σε αντίθεση με τη χρήση του ανοξείδωτου χάλυβα (INOX). Παράλληλα ιδιαίτερη σημασία πρέπει να δίνεται στο είδος του υλικού της βαλβίδας, που συνδέεται η οθόνη της αιμοδιάλυσης το οποίο συνιστάται να είναι από ανοξείδωτο ατσάλι, για την αποφυγή της ανάπτυξης του μικροβιακού φορτίου (Bolasco Piergiorgio et al, 2012).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11^ο

ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Κατά τον δειγματοληπτικό έλεγχο συλλέχθηκαν 40 δείγματα νερού σε αποστειρωμένες γυάλινες φιάλες των 500ml για τον εργαστηριακό προσδιορισμό των μικροβιακών δεικτών και 27 δείγματα νερού σε ειδικούς περιέκτες ελεύθεροι από πυρετογόνους παράγοντες για τις βακτηριακές ενδοτοξίνες. Ο έλεγχος έγινε σε 9 μονάδες τεχνητού νεφρού όπου συμπεριλαμβάνονται στην έρευνα και ανήκουν στη 5^η Υγειονομική Περιφέρεια Θεσσαλίας και Στερεάς Ελλάδας. Τα σημεία όπου έγινε η συλλογή των δειγμάτων νερού ήταν:

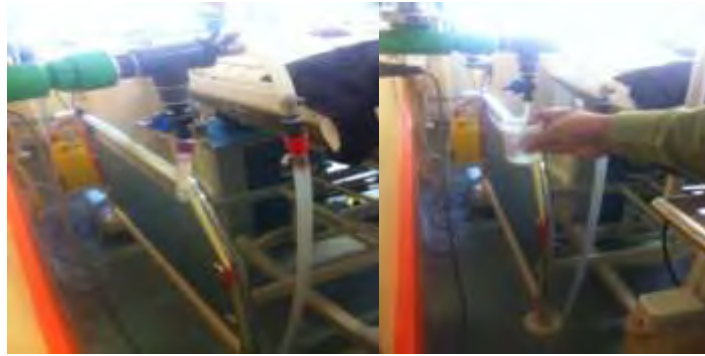
- Μετά τα φίλτρα ενεργού άνθρακα
- Μετά την αντίστροφη όσμωση
- Μετά την εγκατάσταση UV
- Από την δεξαμενή αποθήκευσης νερού
- Προ μηχανήματος αιμοδιάλυσης

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη συλλογή των δειγμάτων ήταν:

- Αποστειρωμένοι γυάλινοι περιέκτες χωρίς την προσθήκη θειοθειικού νατρίου
- Αποστειρωμένα πλαστικά γάντια
- Ετικέτες σήμανσης
- Δελτίο δειγματοληψίας εις διπλούν
- Φορητά ισόθερμα δοχεία
- Παγοκύστες που έχουν καταψυχθεί
- Απολύμανση με υποχλωριώδες νάτριο ή αλκοόλη

11.1.1) Διαδικασία Δειγματοληψίας

Κατά την συλλογή των δειγμάτων έγινε η χρήση δελτίου δειγματοληψίας του εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας, το οποίο παρατίθεται στο (Παράρτημα Ι). Οι γυάλινοι περιέκτες πριν την χρήση αποστειρώθηκαν στους 121 °C για 20 λεπτά. Το πρώτο στάδιο της δειγματοληψίας ήταν η αφαίρεση πρόσθετων αντικειμένων και αμέσως μετά ακολούθησε η απολύμανση με αλκοόλη ή υποχλωριώδες νάτριο (εικόνα 11.1). Η απολύμανση με φλόγιστρο υφίσταται μόνο όταν οι συνθήκες το επιτρέπουν και τα υλικά είναι ανθεκτικά. Στη συνέχεια αφήσαμε τη ροή του νερού για 2 λεπτά για να απομακρυνθούν οι απολυμαντικές ουσίες και να συλλεχθεί καθαρό νερό.



Εικόνα 11.1. Αφαίρεση πρόσθετων αντικειμένων και απολύμανση

Η δειγματοληψία έγινε υπό άσηπτες συνθήκες και η συλλογή του δείγματος απαιτούσε σωστές κινήσεις του δειγματολήπτη για την αποφυγή επιμόλυνσης (εικόνα 11.2). Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής του δείγματος έγινε η σήμανση με ετικέτες. Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ισόθερμο δοχείο με παγοκύστες και στάλθηκαν άμεσα στο εργαστήριο. Σύμφωνα με το ISO 13959:2009 η ανάλυση των δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται εντός 4 ωρών από την συλλογή τους. Εάν δεν υφίσταται η άμεση ανάλυσή τους, φυλάσσονται στην ψύξη σε θερμοκρασία 2–8°C για 24 ώρες μέχρι να γίνει ο εργαστηριακός προσδιορισμός.



Εικόνα 11.2. Συλλογή δείγματος

11.1.2) Εκτίμηση κινδύνου

Κατά την διαδικασία της δειγματοληψίας στις μονάδες τεχνητού νεφρού χρησιμοποιήθηκε ένα ερωτηματολόγιο (check list) για την εκτίμηση κινδύνου που αφορά την εγκατάσταση του συστήματος επεξεργασίας νερού. Κυρίως απευθυνόταν στη τεχνική υπηρεσία και στο νοσηλευτικό προσωπικό, για την καταγραφή των παραγόντων οι οποίοι πιθανόν να επηρεάζουν την ποιότητα του νερού. Στόχος ήταν η ανάλυση των καταγεγραμμένων πληροφοριών και η περαιτέρω συσχέτιση τους με τα θετικά αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων. Σύμφωνα, με τις κατευθυντήριες οδηγίες οι μονάδες τεχνητού νεφρού οφείλουν να πληρούν τις προδιαγραφές όπως ορίζει το ISO 26722:2009, το ISO 13959:2009 και τις συστάσεις της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας. Το ερωτηματολόγιο παρατίθεται στο (Παράρτημα II). Δημιουργήθηκε

και τροποποιήθηκε, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία και το ISO 26722:2009 για τις απαιτήσεις της παρούσας εργασίας.

11.1.3) Παρασκευή θρεπτικών υλικών

Στο εργαστήριο παρασκευάστηκαν τα θρεπτικά υποστρώματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τον εργαστηριακό προσδιορισμό των μικροβιολογικών δεικτών. Η παρασκευή του κάθε θρεπτικού υποστρώματος αντίστοιχα βασίστηκε αυστηρά στις οδηγίες των κατασκευαστικών εταιριών.

- Για το θρεπτικό υπόστρωμα TGEA (Tryptone glucose extract agar) για την ανίχνευση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, η υπεύθυνη εταιρία είναι η OXOID, με κωδικό 1440400.
- Για το θρεπτικό υπόστρωμα Slanetz and Bartley για την ανίχνευση του εντερόκοκκου, η υπεύθυνη εταιρία είναι η LAB, με κωδικό 1278321169.
- Για το θρεπτικό υπόστρωμα Pseudomonas agar base & Suppl. CN. για την ανίχνευση της Pseudomonas aeruginosa, η υπεύθυνη εταιρία είναι η LAB με κωδικό 124931/071. Επιπρόσθετα, για την παρασκευή χρειάστηκε γλυκερόλη και ειδικό supplement.
- Για το θρεπτικό υπόστρωμα Tergitol για την ανίχνευση των ολικών κολοβακτηριοειδών συμπεριλαμβανομένου της Klebsiella και E. coli, η υπεύθυνη εταιρία είναι η FLUCA, με κωδικό BCBK4625V. Επιπρόσθετα για την παρασκευή χρειάστηκε ειδικό supplement.

11.1.4) Εργαστηριακός προσδιορισμός με τη μέθοδο της ενσωμάτωσης

Ως ολική μεσόφιλη χλωρίδα (OMX) χαρακτηρίζονται οι μικροοργανισμοί, δηλαδή τα αερόβια βακτήρια, οι ζύμες και οι μύκητες, ικανά να σχηματίσουν αποικίες στο θρεπτικό υλικό που καθορίζεται από το πρότυπο. Για την καταμέτρηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (Colony forming unit) έγινε η μέθοδος της ενσωμάτωσης σε κατάλληλη θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν ανάμιξης του δείγματος. Τηρήθηκαν οι κατάλληλες συνθήκες αποστείρωσης των πιπετών και του χώρου για την αποφυγή επιμόλυνσης των υπό ανάλυση δειγμάτων. Εν συνέχεια πραγματοποιήθηκαν 3 δεκαδικές διαδοχικές αραιώσεις. Ακολούθησε ενοφθαλμισμός 1 ml από κάθε αραιώση σε 3 άδεια αποστειρωμένα τρυβλία διαμέτρου 90 mm όπου προστέθηκε το θρεπτικό υλικό TGEA. Το TGEA εμβαπτίστηκε αρχικά πριν τη χρήση του στο υδατόλουτρο στους 100 °C για 25 λεπτά και κατόπιν στους 50 °C μέχρι να χρησιμοποιηθεί, για τη συντήρηση του στην επιτρεπόμενη θερμοκρασία που προβλέπεται. Έπειτα έγινε καλή ανάδευση έτσι ώστε να αναμιχθεί το δείγμα με το θρεπτικό υλικό. Πριν την τοποθέτηση των τρυβλίων στον επωαστικό κλίβανο αφήνονται για 10 λεπτά για να γίνει η πήξη του θρεπτικού μέσου με το δείγμα. Έπειτα γίνεται αναστροφή των τρυβλίων και ακολουθεί η επώαση στους 22 °C για 7 ημέρες. Μετά τις 7 ημέρες έγινε η καταμέτρηση όλων των αποικιών (εικόνα 11.3) σε μετρητή αποικιών (colony counter) όπου το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται σε (CFU/ml). Το διάγραμμα ροής παρατίθεται στο (Παράρτημα III).



Εικόνα 11.3. Καταμέτρηση ολικής μεσόφιλης χλωρίδας

11.1.5) Εργαστηριακός προσδιορισμός με τη μέθοδο διήθησης μέσω μεμβρανών

Η μέθοδος της διήθησης μέσω μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε για τον εργαστηριακό προσδιορισμό της Ψευδομονάδας, του Εντερόκοκκου, της Κλεμπσιέλλας και της E.coli. Αρχικά πριν ξεκινήσει η μέθοδος απαιτείται να γίνει καλή ανάμιξη του δείγματος σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα αποστείρωση της φιάλης σε φλόγιστρο. Θα πρέπει να τηρούνται άσηπτες συνθήκες για την αποφυγή της επιμόλυνσης των δειγμάτων. Η διάμετρος των πόρων της μεμβράνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 0,45 μm. Η διήθηση ήταν 100 ml του δείγματος και όπου κρινόταν απαραίτητο γίνονταν και διήθηση δεύτερης αραιώσης (10 ml). Στη συνέχεια η μεμβράνη τοποθετούνταν στο αντίστοιχο εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα και ακολουθούσε η αντίστοιχη επώαση του κάθε μικροβιακού δείκτη. Τα διαγράμματα ροής των μικροβιολογικών παραμέτρων που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας αναφέρονται παρακάτω και επισυνάπτονται στο παράρτημα (IV,V, VI).

Pseudomonas aeruginosa

Ο εργαστηριακός προσδιορισμός της *Pseudomonas aeruginosa* βασίστηκε στο ΕΛΟΤ EN ISO 16266:2009. Η επώαση έγινε στους 36°C για 44 ή 48 ώρες. Οι ύποπτες αποικίες εξετάστηκαν περαιτέρω με τις επιβεβαιωτικές δοκιμασίες που ορίζει το ISO 16266:2009.

- Για τις αποικίες που ήταν μπλε και πράσινες (παραγωγή πυοκυανικής), δεν συνεχίστηκε ο έλεγχος και υπολογιστήκαν ως επιβεβαιωμένες αποικίες Ψευδομονάδας πυοκυανικής (εικόνα 11.4).



Εικόνα 11.4. Pseudomonas aeruginosa

- Οι αποικίες που ήταν φθορίζουσες (παραγωγή φλουοροσκενάσης) εξετάστηκαν σε φως UV για φθορισμό (εικόνα 11.5). Έπειτα έγινε ανακαλλιέργεια όλων ή τουλάχιστον 5 ύποπτων αποικιών σε Nutrient agar. Ακολούθησε επώαση στους 36°C για 24 ώρες. Μετά έγινε ανακαλλιέργεια απομονωμένων αποικιών σε Acetamide broth και η επώαση στους 36 °C. Την επόμενη μέρα προστέθηκε 1 -2 σταγόνες από το αντιδραστήριο Nessler. Σε αυτή την περίπτωση το χρώμα πρέπει να ποικίλει από κίτρινο έως κόκκινο μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου (ανάλογα με τη συγκέντρωση). Το τελικό στάδιο αυτής της δοκιμασίας είναι η καταμέτρηση όλων των αποικιών που έδωσαν αλλαγή του χρώματος στο Acetamide broth και οι οποίες υπολογίζονται ως επιβεβαιωμένες αποικίες Ψευδομονάδας πυοκυανικής.



Εικόνα 11.5. Pseudomonas agar – Φθορισμός

- Για τις καστανέρυθρες αποικίες ακολούθησε η εξής επιβεβαιωτική δοκιμασία: έγινε ανακαλλιέργεια όλων ή τουλάχιστον 5 ύποπτων αποικιών σε Nutrient agar. Ακολούθησε επώαση στους 36°C για 24 ώρες. Έγινε έλεγχος της ανακαλλιέργειας για τη καθαρότητα των αποικιών και συνεχίστηκαν οι επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Χρησιμοποιήθηκαν έτοιμες ταινίες Bactident Oxidase για την δοκιμασία της οξειδάσης. Επί θετικής οξειδάσης (εικόνα 11.6) πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια σε Kings B medium (εικόνα 11.7.1) και έγινε η επώαση στους 36°C για 5 ημέρες. Κατόπιν εξετάστηκε για φθορισμό. Επιπρόσθετα η ανακαλλιέργεια συνεχίστηκε και σε Acetamide broth (εικόνα 11.7.2) όπως περιγράψαμε παραπάνω την διαδικασία. Εάν το Acetamide broth (+) και το Kings B medium (+) (φθορισμός), τότε οι αποικίες υπολογίζονται ως επιβεβαιωμένες της Ψευδομονάδας πυοκυανικής.



Εικόνα 11.6. Δοκιμασία οξειδάσης



Εικόνα 11.7.1. Kings B medium



Εικόνα 11.7.2. Acetamide broth

Ολικά κολοβακτηριοειδή & Escherichia coli

Η επώαση για τα Ολικά Κολοβακτηριοειδή συμπεριλαμβανομένου και της Κλεμπσιέλλας πραγματοποιήθηκε στους 36°C για 24 ώρες και για την Escherichia coli στους 44°C για 24 ώρες. Η μέθοδος που ακολούθησε βασίστηκε στο ΕΛΟΤ EN ISO 9308-1:2000. Η μέτρηση των χαρακτηριστικών ύποπτων αποικιών έγινε με βάση το χρώμα από κίτρινες ή κίτρινο – πορτοκαλί αποικίες, οι οποίες παρουσιάζουν ανάπτυξη κίτρινου χρώματος κάτω από την μεμβράνη. Οι επιβεβαιωτικές δοκιμασίες ακολουθούν με την ανακαλλιέργεια όλων ή τουλάχιστον 10 ύποπτων αποικιών για τη δοκιμή της οξειδάσης, την παραγωγή της ινδόλης και την παρουσία της β-glucuronidase αντίστοιχα σε:

- Tryptone Soya agar (επώαση 36°- 24 ώρες), για την δοκιμή της οξειδάσης.
- Tryptophan broth (επώαση 44°C -24 ώρες), για την παραγωγή της ινδόλης όπου προστίθεται το αντιδραστήριο Kovacs και αναπτύσσεται σε 30'' κόκκινο κερασί χρώμα στην επιφάνεια του ζωμού
- Αντιδραστήριο colilert (επώαση 44°C -24 ώρες) χρησιμοποιείται για την παρουσία της β- glucuronidase. Όταν το αποτέλεσμα είναι θετικό είναι αισθητή η αλλαγή του χρώματος σε κίτρινο από άχρωμο και στη συνέχεια εξετάζονται τα σωληνάκια κάτω από το UV και καταγράφεται η παρουσία του φθορισμού.

Στο τέλος των επιβεβαιωτικών δοκιμασιών γίνεται η αρίθμηση των αποικιών με αρνητική τη δοκιμή της οξειδάσης ως κολοβακτηριοειδή. Αρίθμηση όλων των αποικιών με θετική την παραγωγή της ινδόλης και παρουσία της β- glucuronidase ως E. coli.

Εντερόκοκκος

Η μέθοδος διήθησης μέσω μεμβράνης για τον Εντερόκοκκο βασίστηκε στο ΕΛΟΤ EN ISO 7899-2:2001. Η επώαση έγινε στους 36°C για 44 ή 48 ώρες. Οι χαρακτηριστικές ύποπτες αποικίες που πρέπει να καταμετρηθούν είναι: κόκκινες, βυσσινί, και ροζ χρώματος. Ως επιβεβαιωτική δοκιμασία σύμφωνα με το ISO 7899-2:2001 είναι η μεταφορά της μεμβράνης διήθησης σε τρυβλίο με θρεπτικό υπόστρωμα Bile-esculin-azide agar. Ο χειρισμός απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή για την αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων. Ακολουθεί η επώαση στους 44°C για 2 ώρες. Έπειτα γίνεται η καταμέτρηση των αποικιών με καστανοκίτρινο έως μαύρο χρώμα στο περιβάλλον υλικό. Οι κοπρανώδεις εντερόκοκκοι είναι βακτήρια που ανάγουν το 2,3,5 – triphenyltetrazolium σε formazan και υδρολύουν την εσουλίνη.

11.2) Ταυτοποίηση (MALDITOFF)

Όσον αφορά για τις αποικίες που αναπτύχθηκαν αλλά δεν επιβεβαιώθηκαν με τις μικροβιολογικές παραμέτρους που ελέγχθηκαν, η διαδικασία προχώρησε με την περαιτέρω ταυτοποίηση τους με MALDITOFF.

11.3) Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων στηρίχτηκε στον τύπο που ακολουθεί:

$$C = \frac{\Sigma a}{V1} * V2$$

Όπου το C αντιστοιχεί στη συγκέντρωση των αποικιών ανά ml ή 100 ml ανάλογα με την παράμετρο με την οποία ελέγχθηκε

Όπου Σα αντιστοιχεί στο σύνολο των αποικιών από τα τρυβλία όλων των αραιώσεων

Όπου V1 είναι ο όγκος που εξετάσαμε

Και V2 είναι ο όγκος έκφρασης των αποτελεσμάτων

Το τελικό αποτέλεσμα για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα εκφράζεται σε (colony forming units)/ml, ενώ για τις υπόλοιπες παραμέτρους που ελέγχθηκαν εκφράζεται σε cfu/100ml

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12^ο

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΝΔΟΤΟΞΙΝΩΝ

12.1) Σκοπός – πεδίο εφαρμογής

Οι ενδοτοξίνες είναι συστατικά του εξωτερικού κυτταρικού τοιχώματος των Gram (-) βακτηρίων και συντίθενται από υδατάνθρακες, λιπαρά οξέα, φωσφορικά οξέα και μεταλλικά ιόντα. Είναι γνωστές ως λιποσακχαρίτες και ποικίλουν ανάλογα με τα συστατικά τους. Για τον προσδιορισμό των ενδοτοξινών απαιτείται το Limulus amoebocyte lysate test (LAL). Το αίμα από το πεταλοειδές καβούρι, δηλαδή το Limulus polyphemus χαρακτηρίζεται η πηγή των πυρετογόνων (LAL). Έχει βρεθεί στα παράκτια ύδατα του Καναδά. Συγκεκριμένα η μέθοδος αφορά στην ανίχνευση και μερική ποσοτικοποίηση (ημι-ποσοτική μέθοδος) παρουσίας ενδοτοξινών από Gram (-) βακτήρια σε νερό που χρησιμοποιείται στις Μονάδες Τεχνητού Νεφρού, με τη χρήση προϊόντος λύσης αμοιβάδας (amoebocyte lysate) από συγκεκριμένο είδος καβουριού (Limulus polyphemus) – Limulus Amoebocyte Lysate (LAL test). Κυρίως βασίζεται στις μεθόδους A (gel-clot: limit test) και B (gel-glot: semi-quantitative), 2.6.1.4 της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας.

12.2) Εξοπλισμός

Οι περιέκτες για τη δειγματοληψία και όλα τα αναλώσιμα υλικά για την διεκπεραίωση της εξέτασης πρέπει να είναι υλικά ελεύθερα από πυρετογόνους παράγοντες. Ο εξοπλισμός που απαιτείται για την ολοκλήρωση της εξέτασης είναι:

- Υδατόλουτρο με δυνατότητα ρύθμισης στους 37°C
- Αποστειρωμένες φιάλες και φιαλίδια
- Ορολογικές πιπέττες
- Αυτόματες μηχανικές πιπέττες
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ρύγχη για αυτόματες πιπέττες με φίλτρο
- Στατώ δοκιμαστικών σωλήνων
- Χρονόμετρο
- Μηχανικός αναδευτήρας (vortex)

12.3) Αντιδραστήρια –Υλικά

Ο τρόπος παρασκευής και συντήρησης των αντιδραστηρίων και των υλικών που χρησιμοποιήθηκαν έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Αντιδραστήρια

- Αντιδραστήριο LAL (παρέχεται από το κατάλληλο kit). Συνήθως προμηθεύεται σε λυοφιλιωμένη μορφή και πρέπει να αναμιχθεί με νερό (water for BET) προκειμένου να προκύψει διάλυμα κατάλληλης συγκέντρωσης.
- Water for BET (Bacterial Endotoxins Test).

Πρότυπα υλικά

- Control Standard Endotoxin (CSE) ή Reference Standard Endotoxin (RS). Συνήθως προμηθεύεται σε λυοφιλιωμένη μορφή και πρέπει να αναμιχθεί με νερό (water for BET) προκειμένου να γίνει η ανασύσταση.

12.4) Μεθοδολογία ανάλυσης

Η τεχνική της εμφάνισης γέλης (gel-clot technique) βασίζεται στη δημιουργία γέλης από το αντιδραστήριο LAL παρουσία της ενδοτοξίνης. Η ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται για το σχηματισμό γέλης κάτω από πρότυπες συνθήκες είναι η προκαθορισμένη ευαισθησία του αντιδραστηρίου. Για τη διασφάλιση της ακρίβειας και της ειδικότητας της δοκιμής, απαιτείται επιβεβαίωση αυτής της ευαισθησίας καθώς και για τον έλεγχο ύπαρξης παρεμποδιστικών ουσιών.

Οι ορισμοί που χρησιμοποιήθηκαν για τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι οι εξής:

- **Μέθοδος A (gel-clot: limit test):** είναι ο ποιοτικός έλεγχος της παρουσίας ενδοτοξινών με όριο την προκαθορισμένη ευαισθησία του αντιδραστηρίου (λ).
- **Μέθοδος B (gel-clot: semi-quantitative):** είναι ο ημί – ποσοτικός έλεγχος της παρουσίας ενδοτοξινών με προσδιορισμό του τελικού σημείου (endpoint).
- **EU/ml:** είναι η έκφραση του αποτελέσματος της τεχνικής gel-clot ανά 1 ml δείγματος. Η ενδοτοξίνη εκφράζεται σε Διεθνείς Μονάδες (International Units, IU). 1 IU είναι ισοδύναμο με 1 EU (Endotoxin Unit).
- **λ:** είναι η προκαθορισμένη ευαισθησία του αντιδραστηρίου στην τεχνική gel-clot (IU/ml).
- **(+) αποτέλεσμα:** καλά σχηματισμένη γέλη, η οποία μένει στη θέση της αναποδογυρίζοντας το σωληνάριο κατά 180° με μια ήπια κίνηση.
- **(-) αποτέλεσμα:** καθόλου γέλη ή υδαρή γέλη, η οποία δεν μένει στη θέση της αλλά διαλύεται αναποδογυρίζοντας το σωληνάριο κατά 180° με μια ήπια κίνηση.
- **Τελικό σημείο (endpoint):** είναι η μικρότερη από σειρά αραιώσεων συγκέντρωσης ενδοτοξίνης που σχηματίζει γέλη με το αντιδραστήριο LAL.

- **Γεωμετρικός μέσος τελικού σημείου συγκέντρωσης (Geometric mean end-point concentration):** είναι η μετρούμενη ευαισθησία του διαλύματος LAL (IU/ml) και δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Geometric mean end-point concentration} = \text{antilog } \Sigma e/f$$

Όπου: Σe = είναι το σύνολο των λογαρίθμων των τελικών σημείων των συγκεντρώσεων από τις αραιώσεις που χρησιμοποιήθηκαν και
 f = είναι ο αριθμός των επαναλήψεων

12.5) Προετοιμασία της ανάλυσης

Επιβεβαίωση του λ – έλεγχος παρουσίας παρεμποδιστών

Ο έλεγχος έγινε σε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις προτύπου ενδοτοξίνης και συγκεκριμένα 2λ, λ, λ/2 και λ/4 καθώς και σε νερό, σε 4 επαναλήψεις από την κάθε συγκέντρωση. Ο έλεγχος γίνεται στο διάλυμα LAL κάθε φορά που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί νέα παρτίδα (lot) αντιδραστηρίων δηλαδή από κάθε νέο kit που ανοίγεται ή όταν υπάρχει η οποιαδήποτε αλλαγή στις συνθήκες που μπορεί να επηρεάσει το αποτέλεσμα.

Μετά την παρασκευή των κατάλληλων αραιώσεων της ενδοτοξίνης αυτές αναμιγνύονται 1:1 (συνήθως 100μl) με το διάλυμα LAL. Ακολουθεί επώαση για 60 +_ 2 min στους 37 °C +_ 1° C αποφεύγοντας κατά το δυνατό την ανακίνηση των σωληναρίων. Μετά την επώαση κάθε σωληνάριο ελέγχεται για το σχηματισμό γέλης αναποδογυρίζοντας το κατά 180° με μια ήπια κίνηση.

Το τεστ θεωρείται έγκυρο όταν η μικρότερη συγκέντρωση των διαλυμάτων του προτύπου της ενδοτοξίνης δίνει αρνητικό αποτέλεσμα σε όλες τις επαναλήψεις. Με βάση τα αποτελέσματα προσδιορίζεται το τελικό σημείο και ο γεωμετρικός μέσος. Αν η προκύπτουσα ευαισθησία δεν είναι μικρότερη από λ/2 ή μεγαλύτερη από 2λ, τότε το λ θεωρείται επιβεβαιωμένο.

Όσον αφορά στην παρουσία παρεμποδιστών, η παρεμπόδιση υπάρχει όταν το τελικό σημείο μιας διπλής σειράς αραιώσεων ενδοτοξίνης που έγινε μαζί με το δείγμα (θετικός μάρτυρας 2λ με δείγμα) διαφέρει κατά 1 τουλάχιστον αποτέλεσμα από το τελικό σημείο παρόμοιας διπλής σειράς αραιώσεων ενδοτοξίνης σε νερό (θετικός μάρτυρας 2λ με νερό). Το πρόβλημα μπορεί να διορθωθεί μέσω αυξανόμενων αραιώσεων με νερό καθώς η παρεμπόδιση συνήθως εξαρτάται από τη συγκέντρωση.

12.6) Διαδικασία ανάλυσης

Σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή χρησιμοποιήθηκαν 100μl από το διάλυμα LAL όπου αναμιγνύονται με ίση ποσότητα δείγματος (1:1 ανάμιξη). Ακολουθεί επώαση για 60 +_ 2 min στους 37° C +_ 1° C σε υδατόλουτρο αποφεύγοντας κατά το

δυνατό την ανακίνηση των σωληναρίων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, η οποία είναι πολύ ευαίσθητη και έστω και μικρή ανακίνηση μπορεί να επηρεάσει το αποτέλεσμα. Μετά την επώαση κάθε σωληνάριο ελέγχεται για το σχηματισμό γέλης (θετικό αποτέλεσμα) ή όχι (αρνητικό αποτέλεσμα) αναποδογυρίζοντας το κατά 180° με μια ήπια κίνηση.

Για κάθε παρτίδα δειγμάτων που ελέγχονται ταυτόχρονα χρησιμοποιούνται 2 αρνητικοί μάρτυρες (ήτοι 1:1 ανάμιξη νερού και αντιδραστηρίου LAL) και 2 θετικοί μάρτυρες σε νερό (ήτοι 1:1 ανάμιξη νερού με συγκέντρωση ενδοτοξίνης 2λ και αντιδραστηρίου LAL). Κάθε δείγμα αναλύεται εις τετραπλούν: 2 επαναλήψεις του δείγματος ως έχει και 2 επαναλήψεις με spiking του δείγματος με LAL. Ο λόγος της ύπαρξης των αρνητικών και 2 τύπων θετικών μαρτύρων είναι ο έλεγχος της παρουσίας παρεμποδιστών. [Μέθοδος A (gel-clot: limit test)]

12.7) Ερμηνεία αποτελεσμάτων – Υπολογισμοί

Όταν όλοι οι θετικοί μάρτυρες δίνουν θετικό αποτέλεσμα και όλοι οι αρνητικοί δε σχηματίζουν γέλη, η δοκιμή θεωρείται έγκυρη. Σε αντίθετη περίπτωση η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί για τον αποκλεισμό λάθους ή επιμόλυνσης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας.

Στην περίπτωση που όλες οι επαναλήψεις των δειγμάτων είναι αρνητικές, το αποτέλεσμα δίνεται με βάση το λ.
[Μέθοδος A (gel-clot: limit test)]

Στην περίπτωση που όλες οι επαναλήψεις των δειγμάτων είναι θετικές, η διαδικασία επαναλαμβάνεται σε αραιώσεις αυτών (συνήθως 1:2) προκειμένου να υπολογιστεί το τελικό σημείο. Μόλις προσδιοριστεί το τελικό σημείο, το τελικό αποτέλεσμα δίνεται με τον πολλαπλασιασμό του λ επί τον παρανομαστή της αραιώσης στην οποία αντιστοιχεί το τελικό σημείο.
[Μέθοδος B (gel-clot: semi - quantitative)]

Σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας το αποδεκτό όριο για τις ενδοτοξίνες σε νερό που χρησιμοποιείται σε MTN ή υγρά αιμοδιάλυσης είναι < 0,25 EU/ml με alert την τιμή < 0,125 EU/ml. Για το λόγο αυτό η τιμή του λ είναι λ = 0,125 EU/ml.

Έτσι, αν π.χ. όλες οι επαναλήψεις ενός δείγματος είναι αρνητικές:

$$(E) = < 0,125 \text{ EU/ml}$$

[Μέθοδος A (gel-clot: limit test)]

Ενώ αν π.χ. το τελικό σημείο για ένα δείγμα προσδιορίζεται στην αραιώση 1:8, τότε το τελικό αποτέλεσμα είναι:

$$(E) = (\lambda) * (\text{συντελεστής αραιώσης}) = 0,125 * 8 = 1$$

[Μέθοδος B (gel-clot: semi - quantitative)]

Ολοκληρώνοντας τη μέθοδο των βακτηριακών ενδοτοξινών οφείλεται να αναφερθεί και η αποθήκευση των δειγμάτων τα οποία μεταφέρονται και φυλάσσονται σε ψυγείο στους 5 °C μέχρι να τελειώσουν οι δοκιμές που ορίζεται να γίνουν.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13^ο

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Εισαγωγή

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων και των μετρήσεων από εννέα Μονάδες Τεχνητού Νεφρού της Κεντρικής Ελλάδας.

Στην περιγραφική ανάλυση παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των MTN βάσει των δελτίων ελέγχου (checklist) και των δειγμάτων νερού. Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή, τυπική απόκλιση, διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελάχιστη και μέγιστη τιμή, και οι ποιοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες συχνότητες και ποσοστά. Για τη γραφική απεικόνιση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν θηκογράμματα (box-plot).

Στη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα μη παραμετρικά τεστ Mann-Whitney ή Kruskal-Wallis test για τη διερεύνηση σχέσεων μεταξύ ποιοτικών και ποσοτικών, μη κανονικά κατανομημένων, μεταβλητών. Το χ^2 -τεστ (Chi-square test) ή η ακριβής δοκιμασία του Fisher (Fisher's exact test) χρησιμοποιήθηκαν για τη διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ ανεξάρτητων ποιοτικών μεταβλητών (παράγοντες κινδύνου) και εξαρτημένων ποιοτικών μεταβλητών υπολογίζοντας τους σχετικούς κινδύνους (Relative risk - RR) με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία χ^2 - για τάση (Chi-square test for trend) για τη διερεύνηση γραμμικής σχέσης μεταξύ ανεξάρτητων διατάξιμων μεταβλητών και εξαρτημένων μεταβλητών.

Η συγκέντρωση της OMX (OMX >100 cfu/ml) και η ανίχνευση ενδοτοξινών (>0,25) χρησιμοποιήθηκαν ως εξαρτημένες μεταβλητές με πιθανούς παράγοντες κινδύνου (ανεξάρτητες μεταβλητές) τα χαρακτηριστικά των μονάδων τεχνητού νεφρού. Ένα αποτέλεσμα θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό όταν η τιμή του p-value ήταν μικρότερη του 0,05.

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS 19.0 (SPSS Inc., USA).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14^ο

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

14.1) Περιγραφική ανάλυση χαρακτηριστικών Μ.Τ.Ν. βάσει δελτίο ελέγχου (check list)

Κατά την επίσκεψη στις Μονάδες Τεχνητού Νεφρού (MTN) χρησιμοποιήσαμε ένα ερωτηματολόγιο (check list), για την καταγραφή πληροφοριών που θα μας βοηθήσει να συσχετίσουμε τα τυχόν θετικά αποτελέσματα που μπορεί να προκύψουν με τους παράγοντες κινδύνου, που αφορά το σύστημα επεξεργασίας νερού και τις προβλεπόμενες διαδικασίες που πρέπει να τηρούνται για την επιτήρηση του. Παρακάτω θα αναφέρουμε περιγραφικά τα χαρακτηριστικά των MTN με βάσει το ερωτηματολόγιο. Όλες οι MTN διαθέτουν φίλτρα άμμου, αποσκληρυντές, φίλτρα ενεργού άνθρακα, συσκευή αντίστροφης όσμωσης [88,9% διπλή (8/9), 11,1% μονή (1/9)] και προ-φίλτρα. Όσον αφορά το επεξεργασμένο νερό εισέρχεται με κλειστό κύκλωμα στα μηχανήματα τεχνητού νεφρού. Το 87,5% (7/9) των MTN έχουν βαλβίδα αντεπιστροφής και το 77,8% υπεριώδη ακτινοβολία, αλλά καμία δεν έχει τη βαλβίδα που διατηρεί σε μια επιθυμητή ισορροπία τη θερμοκρασία του νερού. Επιπρόσθετα, το 66,7% (6/9) έχουν δεξαμενή αποθήκευσης, ενώ το 77,8% (7/9) των MTN διαθέτουν κρουνούς στα διάφορα στάδια επεξεργασίας για δειγματοληπτικό έλεγχο.

Καμία MTN δεν διαθέτει καλή μόνωση ενώ σε όλες υπάρχει η δυνατότητα ανακυκλοφορίας επεξεργασμένου νερού. Κατά την οπτική παρακολούθηση διαπιστώθηκε ότι (1/9) MTN είχε διαρροή στη συσκευή της αντίστροφης όσμωσης και σε καμία δεν υπήρχε η παρουσία νεκρών σημείων. Όσον αφορά για την εφαρμογή του συστήματος ποιότητας διαθέτει το 33,3% (3/9), ενώ η προληπτική απολύμανση και συντήρηση εφαρμόζεται 2 φορές/χρόνο σε ποσοστό 55,6% (5/9), 3 φορές/χρόνο 22,2% (2/9), >3 φορές/χρόνο το 22,2% (2/9) των MTN Επιπλέον η καθημερινή καταγραφή του υπολειμματικού χλωρίου, μετά τη στήλη του ενεργού άνθρακα μετράται σε ποσοστό 55,6% (5/9) των MTN Στη συμμόρφωση ως προς την ποιότητα του επεξεργασμένου νερού σύμφωνα με το πρότυπο ISO 13959:2009 ανταποκρίνεται το 77,8% (7/9) των MTN.

Ως υλικό στο σύστημα διανομής του επεξεργασμένου νερού προς τα μηχανήματα του τεχνητού νεφρού είναι το PVC 77,8% (7/9), το PVDF 11,1% (1/9) και το πολυπροπυλένιο 11,1% (1/9) των MTN. Επίσης, η απολύμανση των μηχανημάτων γίνεται σε ποσοστό 22,2% (2/9) με χημικό τρόπο, το 66,7% (6/9) χρησιμοποιούν το χημικό και το θερμικό τρόπο, ενώ μόνο το 11,1% (1/9) των MTN εφαρμόζει το θερμικό τρόπο. Ο εργαστηριακός έλεγχος για την OMX πραγματοποιείται σε ποσοστό 88,9% (8/9) των MTN Η συχνότητα του ελέγχου είναι 1 φορά/εξάμηνο 50% (4/9), 1 φορά/μήνα 25% (2/9) και 1 φορά/τρίμηνο 25% (2/9) των MTN Το 55,6% (5/9) των MTN εφαρμόζει την εργαστηριακή ανάλυση για την ανίχνευση των ενδοτοξινών, με συχνότητα 1 φορά/εξάμηνο το 80% (4/9) και 1 φορά/τρίμηνο το 20% (1/9) των MTN.

14.2) Περιγραφική ανάλυση δειγμάτων νερού

Τα σημεία από τα οποία πραγματοποιήθηκε ο δειγματοληπτικός έλεγχος για την ανίχνευση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, των ενδοτοξινών και άλλων μικροβιακών δεικτών παρουσιάζονται στον (πίνακα 14.1) όπου αναγράφεται η συχνότητα του κάθε σημείου που ήταν εφικτή η δειγματοληψία στο σύνολο των MTN που επισκεφτήκαμε. Ειδικότερα το 22,5% (9/40) των δειγμάτων προέρχεται από την είσοδο των μηχανημάτων (αρχή), το 17,5% (7/40) των δειγμάτων από την είσοδο των μηχανημάτων (μεσαίο), το 20% (8/40) των δειγμάτων από την είσοδο των μηχανημάτων (τέλος), το 15% (6/40) μετά τα φίλτρα ενεργού άνθρακα, το 17,5% (7/40) των δειγμάτων μετά την αντίστροφη όσμωση και τέλος το 2,5% από τα αντίστοιχα σημεία της δεξαμενής επιστροφής νερού, της εγκατάστασης UV καθώς και από τη δεξαμενή αποθήκευσης, όπου στο σύνολο λήφθηκαν (3/40) δείγματα.

Πίνακας 14.1 Σημεία Δειγματοληψίας

| Σημεία Δειγματοληψίας | Συχνότητα | % |
|--------------------------------|-----------|------------|
| Είσοδος μηχανήματος (αρχή) | 9 | 22,5 |
| Είσοδος μηχανήματος (μεσαίο) | 7 | 17,5 |
| Είσοδος μηχανήματος (τέλος) | 8 | 20 |
| Μετά τα φίλτρα ενεργού άνθρακα | 6 | 15 |
| Μετά την αντίστροφη όσμωση | 7 | 17,5 |
| Δεξαμενή επιστροφής νερού | 1 | 2,5 |
| Μετά την εγκατάσταση UV | 1 | 2,5 |
| Δεξαμενή αποθήκευσης νερού | 1 | 2,5 |
| Σύνολο | 40 | 100 |

Από τα 40 δείγματα νερού που λήφθηκαν απομονώσαμε τα βακτήρια, όπως η *Pseudomonas aeruginosa* σε ποσοστό 10% (4/40) των δειγμάτων και από τα ολικά κολοβακτηριοειδή το *Enterobacter cloacae* 2,5% (1/40) των δειγμάτων. Ωστόσο η κλεμπσιέλλα, ο εντερόκοκκος και η *E.coli* δεν απομονώθηκαν από τα δείγματα. Στον παρακάτω (πίνακα 14.2) αναφέρεται ο αριθμός θετικών δειγμάτων στο σύνολο των δειγμάτων νερού.

Πίνακας 14.2 Απομόνωση παθογόνων μικροοργανισμών

| Μικροοργανισμοί | Θετικά Δείγματα n=40 | % |
|-------------------------------|-------------------------|-----|
| Total coliforms | 1 | 2,5 |
| <i>E.coli</i> | 0 | 0 |
| Εντερόκοκκος | 0 | 0 |
| Κλεμπσιέλλα | 0 | 0 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 4 | 10 |

Ωστόσο η ανίχνευση των ενδοτοξινών στο σύνολο των δειγμάτων νερού φαίνεται παρακάτω στον (πίνακα 14.3). Η ανίχνευση τους κυμαίνεται σε ποσοστό 25,9% (7/27) των δειγμάτων.

Πίνακας 14.3 Συχνότητα εμφάνισης ενδοτοξινών στο σύνολο των δειγμάτων

| | Θετικά Δείγματα N=27 | % |
|---------------------------|-------------------------|------------|
| Ενδοτοξίνες >0,25 (+) | 7 | 25,9 |
| Ενδοτοξίνες <0,125 (-) | 20 | 74,1 |
| Σύνολο | 27 | 100 |

Παράλληλα στο παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι ποσοτικές μεταβλητές ως μέση τιμή, τυπική απόκλιση, διάμεσος, 25^ο ποσοστημόριο, 75^ο ποσοστημόριο, η ελάχιστη και η μέγιστη τιμή για την απομόνωση των μικροβιακών δεικτών στο σύνολο των δειγμάτων νερού. Σύμφωνα με τον πίνακα δεν αναφέρονται οι μικροβιακοί δείκτες, εντερόκοκκος, κλεμπσιέλλα και E. coli οι οποίοι αναλύθηκαν αλλά δεν ανιχνεύθηκαν στα δείγματα μας.

Πίνακας 14.4 Παρουσίαση μέσης τιμής, τυπικής απόκλισης και διαμέσου

| | Μέση τιμή | Τυπική απόκλιση | Διάμεσος | 25 ^ο ποσοστημόριο | 75 ^ο ποσοστημόριο | Ελάχιστη τιμή | Μέγιστη τιμή |
|-----------------|-----------|-----------------|----------|------------------------------|------------------------------|---------------|--------------|
| OMX | 674,1 | 1530,5 | 22,5 | 5 | 631,5 | 0 | 7100 |
| Total coliforms | 0 | 0,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Pseudomonas | 2,6 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31 |

14.3) Ποσοτική ανάλυση παραγόντων και Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)

Κατά την ποσοτική ανάλυση προέκυψαν τα εξής σημαντικά αποτελέσματα: τα δείγματα νερού που προέρχονται από σωληνώσεις με πολυπροπυλένιο παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις OMX σε σχέση με το PVC και το PVDF (p-value=0,037). Όσον αφορά τον τρόπο απολύμανσης των μηχανημάτων τεχνητού νεφρού παρατηρείται ένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (p-value=0,047). Συγκεκριμένα η εφαρμογή του χημικού τρόπου απολύμανσης παρουσιάζει μεγαλύτερη συγκέντρωση της OMX από ότι ο θερμικός και ο συνδυασμός χημικού & θερμικού. Όταν δεν πραγματοποιείται ο εργαστηριακός προσδιορισμός των ενδοτοξινών μπορεί να αυξήσει την συγκέντρωση της OMX και θεωρείται στατιστικά σημαντικό (p-value=0,008). Επιπλέον τα δείγματα νερού πριν την όσμωση έχουν μεγάλη συγκέντρωση της OMX σε σχέση με τα δείγματα μετά την όσμωση (p-value=0,036). Ακόμη ένας στατιστικά σημαντικός παράγοντας που μπορεί να αυξήσει την συγκέντρωση της OMX είναι η χρονολογία εγκατάστασης του συστήματος επεξεργασίας νερού (έτος<2000) (p-value=0,028). Στον παρακάτω πίνακα παρατηρούμε και άλλα χαρακτηριστικά τα οποία δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (p-value > 0,05).

Πίνακας 14.5 Ποσοτική ανάλυση παραγόντων & OMX

Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.

| | | μέση τιμή | διάμεσος | 25ο ποσοστημόριο | 75ο ποσοστημόριο | p-value |
|---|----------------|-----------|----------|------------------|------------------|---------|
| Βαλβίδα αντεπιστροφής | NAI | 735 | 47 | 6 | 745 | 0.513* |
| | OXI | 729 | 14 | 0 | 1245 | |
| Υπεριώδης ακτινοβολία (UV) | NAI | 817 | 29 | 5 | 955 | 0.429* |
| | OXI | 102 | 15 | 4 | 129 | |
| Δεξαμενή αποθήκευσης | NAI | 375 | 22 | 5 | 373 | 0.355* |
| | OXI | 1462 | 59 | 6 | 2173 | |
| Απουσία διαρροών | NAI | 733 | 21 | 5 | 845 | 0.639* |
| | OXI | 141 | 91 | 34 | 248 | |
| Σύστημα ποιότητας (ISO) | NAI | 424 | 22 | 5 | 945 | 0.919* |
| | OXI | 795 | 23 | 5 | 373 | |
| Απολύμανση-συντήρηση | <=3φορές/χρόνο | 365 | 21 | 5 | 286 | 0.938* |
| | >3φορές/χρόνο | 165 | 14 | 8 | 149 | |
| Ημερήσια καταγραφή υπολειμματικού χλωρίου | NAI | 408 | 23 | 5 | 373 | 0.807* |
| | OXI | 1118 | 14 | 5 | 745 | |
| Βιβλίο ελέγχου για την καταγραφή συχνότητας δειγματοληψιών | NAI | 338 | 22 | 5 | 199 | 0.322* |
| | OXI | 2258 | 518 | 2 | 6000 | |
| Η ποιότητα νερού ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις του προτύπου ISO 13959:2009 | NAI | 338 | 22 | 5 | 199 | 0.322* |
| | OXI | 2258 | 518 | 2 | 6000 | |

*Mann-Whitney test

**Kruskal-Wallis test CI:ΔΕ=

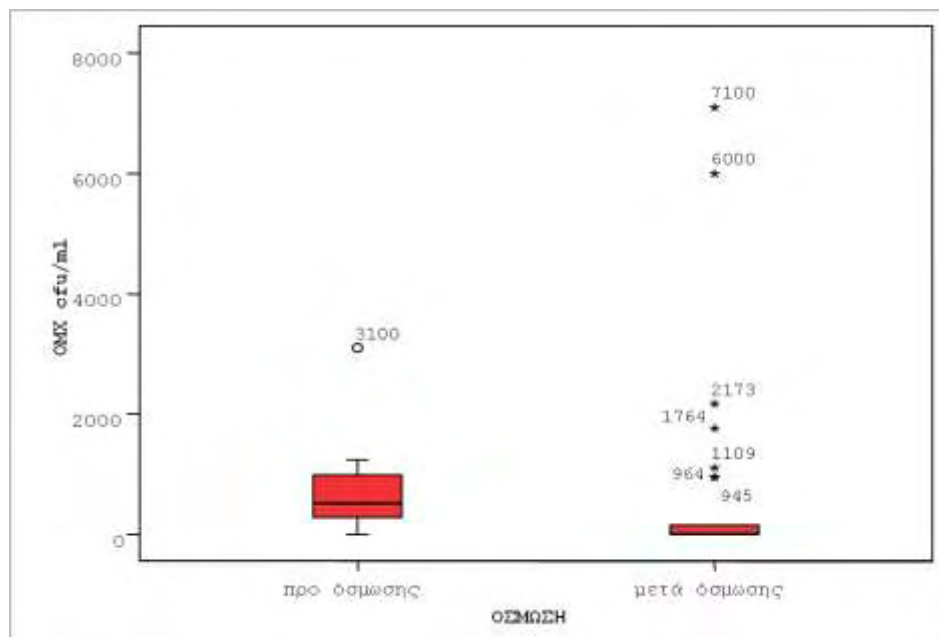
Πίνακας 14.5 Ποσοτική ανάλυση παραγόντων & OMX

| | | μέση τιμή | διάμεσος | 25ο ποσοστημόριο | 75ο ποσοστημόριο | p-value |
|--|-----------------------|-----------|----------|------------------|------------------|---------|
| Υλικό σωλήνων διανομής νερού | PVC | 709 | 19 | 4 | 373 | 0.037** |
| | PVDF | 5 | 5 | 3 | 6 | |
| | Άλλο (πολυπροπυλένιο) | 827 | 955 | 158 | 1109 | |
| Αντικατάσταση φίλτρων κατά την προληπτική απολύμανση συντήρηση | Πάντα | 338 | 22 | 5 | 199 | 0.322* |
| | Μερικές φορές | 2258 | 518 | 2 | 6000 | |
| Τρόπος απολύμανσης μηχανημάτων | Χημικός | 2262 | 373 | 59 | 6000 | 0.047** |
| | Θερμικός | 133 | 6 | 2 | 264 | |
| | Χημικός + Θερμικός | 365 | 19 | 5 | 199 | |
| Δειγματοληψία για ανίχνευση OMX | ΝΑΙ | 734 | 29 | 5 | 845 | 0.257* |
| | ΟΧΙ | 133 | 6 | 2 | 264 | |
| Συχνότητα ανίχνευσης OMX | 1 φορά/μήνα | 452 | 22 | 3 | 964 | 0.493** |
| | 1 φορά/τρίμηνο | 2183 | 1245 | 5 | 3100 | |
| | 1 φορά/εξάμηνο | 113 | 27 | 7 | 136 | |
| Δειγματοληψία για ανίχνευση ενδοτοξινών | ΝΑΙ | 239 | 6 | 3 | 59 | 0.008* |
| | ΟΧΙ | 1206 | 338 | 14 | 1109 | |
| Συχνότητα ανίχνευσης ενδοτοξινών | 1 φορά/τρίμηνο | 729 | 14 | 0 | 1245 | 0.958* |
| | 1 φορά/εξάμηνο | 55 | 6 | 4 | 59 | |
| Όσμωση | Προ - όσμωσης | 884 | 518 | 199 | 1245 | 0.036* |
| | Μετά - όσμωσης | 630 | 14 | 4 | 149 | |
| Εγκατάσταση συστήματος επεξεργασίας νερού | Έτος <2000 | 2028 | 447 | 24 | 4087 | 0,028* |
| | Έτος 2000+ | 336 | 15 | 4 | 286 | |
| Μηχάνημα (είσοδος) | Αρχή | 795 | 14 | 3 | 123 | 0.892* |
| | Μεσαίο | 1163 | 23 | 6 | 964 | |
| | Τέλος | 422 | 14 | 5 | 584 | |

*Mann-Whitney test

**Kruskal-Wallis test

Στη συνέχεια ακολουθεί ένα γράφημα που δείχνει τη διαφορά των δειγμάτων ως προς τη συγκέντρωση της OMX μεταξύ προ-όσμωσης και μετά-όσμωσης



Γράφημα: Συσχέτιση όσμωσης και συγκέντρωσης OMX

14.4) Ποιοτική ανάλυση παραγόντων και Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) >100 cfu/ml

Κατηγοριοποιήσαμε την OMX >100cfu/ml ή <100cfu/ml για να εκτιμηθούν οι παράγοντες κινδύνου σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας. Στόχος είναι να εντοπίσουμε τη συσχέτιση των παραγόντων κινδύνου του συστήματος επεξεργασίας νερού, που μπορεί να προδιαθέσουν την αύξηση συγκέντρωσης της OMX. Στη παρούσα μελέτη η συγκέντρωση της OMX >100cfu/ml αντιστοιχεί στο 40% (16/40) των δειγμάτων. Ωστόσο η παρουσία του υλικού των σωληνώσεων από πολυπροπυλένιο στο σύστημα διανομής νερού ευνοεί τον κίνδυνο συγκέντρωσης OMX και αυτό υποδεικνύεται (p-value=0,030). Όταν δεν πραγματοποιείται μικροβιολογικός έλεγχος για ενδοτοξίνες μπορεί να επηρεάσει την συγκέντρωση OMX (p-value=0,014). Επιπλέον η παρουσία του μηχανισμού της αντίστροφης όσμωσης επηρεάζει την συγκέντρωση της OMX. Τα δείγματα προ-όσμωσης έχουν αυξημένο κίνδυνο συγκέντρωσης της OMX >100 cfu/ml σε σχέση με τα δείγματα μετά την όσμωση (RR=2,83) (p-value=0,011). Στους παρακάτω πίνακες παρατηρούμε τις μεταβλητές που καταγράψαμε στις MTN. Οι υπόλοιποι παράγοντες δεν φαίνεται να συσχετίζονται με τη συγκέντρωση της OMX (p-value >0,05)

Πίνακας 14.6 Ποιοτική ανάλυση παραγόντων και OMX >100cfu/ml

| | | Συχνότητα | % | ΣΚ | 95 % ΔΕ | p-value |
|------------------------------|-----|------------------|----------|-----------|----------------|----------------|
| Βαλβίδα αντεπιστροφής | NAI | 13/30 | 43,3 | 1,30 | 0,39-4,33 | 0,999** |
| | OXI | 2/6 | 33,3 | | | |
| Υπεριώδης ακτινοβολία(UV) | NAI | 14/32 | 43,8 | 1,75 | 0,49-6,19 | 0,439** |
| | OXI | 2/8 | 25 | | | |
| Δεξαμενή αποθήκευσης | NAI | 11/29 | 37,9 | 0,83 | 0,38-1,85 | 0,728** |
| | OXI | 5/11 | 45,5 | | | |
| Απουσία διαρροών | NAI | 14/36 | 38,9 | 0,78 | 0,27-2,25 | 0,999** |
| | OXI | 2/4 | 50 | | | |
| Σύστημα ποιότητας(ISO) | NAI | 6/13 | 46,2 | 1,25 | 0,58-2,68 | 0,581* |
| | OXI | 10/27 | 37 | | | |

*Chi-square test

** Fisher's exact test

CI:ΔΕ= Διάστημα Εμπιστοσύνης

RR:ΣΚ= Σχετικός Κίνδυνος

Πίνακας 14.6 Ποιοτική ανάλυση παραγόντων και OMX >100cfu/ml

| | | Συχνότητα | % | ΣΚ | 95 % ΔΕ | p-value |
|--|-----------------------|------------------|----------|-----------|----------------|----------------|
| Απολύμανση- συντήρηση | <=3φορές/χρόνο | 10/28 | 35,7 | 1,07 | 0,38-3,06 | 0,999** |
| | >3φορές/χρόνο | 3/9 | 33,3 | | | |
| Ημερήσια καταγραφή υπολειμματικού χλωρίου | NAI | 10/25 | 40 | 1 | 0,46-2,19 | 0,999* |
| | OXI | 6/15 | 40 | | | |
| Βιβλίο ελέγχου για την καταγραφή των δειγματοληψιών | NAI | 12/33 | 36,4 | 0,64 | 0,29-1,39 | 0,407** |
| | OXI | 4/7 | 57,1 | | | |
| Η ποιότητα νερού ISO 13959:2009 | NAI | 12/33 | 36,4 | 0,64 | 0,29-1,39 | 0,407** |
| | OXI | 4/7 | 57,1 | | | |
| Υλικό σωλήνων διανομής νερού | PVC | 11/31 | 35,5 | - | - | 0,030** |
| | PVDF | 0/3 | 0 | | | |
| | Πολυπροπυλένιο | 5/6 | 83,3 | | | |
| Αντικατάσταση φίλτρων κατά την προληπτική απολύμανση συντήρηση | Πάντα | 12/33 | 36,4 | 0,64 | 0,29-1,39 | 0,407** |
| | Τα φορές | 4/7 | 57,1 | | | |
| Τρόπος απολύμανσης μηχανημάτων | Χημικός | 5/7 | 71,4 | - | - | 0,193** |
| | Θερμικός | 1/4 | 25 | | | |
| | Χημικός - θερμικός | 10/29 | 34,5 | | | |

| | | | | | | |
|---------------------------------|---------------|-------|------|------|-----------|----------|
| Δειγματοληψία για ανίχνευση OMX | NAI | 15/36 | 41,7 | 1,67 | 0,29-9,50 | 0.638** |
| | OXI | 1/4 | 25 | | | |
| Συχνότητα ανίχνευσης OMX | 1φορά/μήνα | 5/11 | 45,5 | - | - | 0.442*** |
| | 1φορά/τρίμηνο | 5/9 | 55,6 | | | |
| | 1φορά/εξάμηνο | 5/16 | 31,3 | | | |

*Chi-square test

** Fisher's exact test

***Chi-square for trend

CI:ΔΕ= Διάστημα Εμπιστοσύνης

RR:ΣΚ= Σχετικός Κίνδυνος

Πίνακας 14.6 Ποιοτική ανάλυση παραγόντων και OMX >100cfu/ml

| | | Συχνότητα | % | ΣΚ | 95 % ΔΕ | p-value |
|---|---------------|-----------|------|------|-----------|---------|
| Δειγματοληψία για ανίχνευση ενδοτοξινών | NAI | 5/22 | 22,7 | 0,37 | 0,16-0,87 | 0.014* |
| | OXI | 11/18 | 61,1 | | | |
| Συχνότητα ανίχνευσης ενδοτοξινών | 1φορά/τρίμηνο | 2/6 | 33,3 | 1,78 | 0,39-8,16 | 0.585** |
| | 1φορά/εξάμηνο | 3/16 | 18,8 | | | |
| Μηχανισμός αντίστροφης όσμωσης | Προ-όσμωση | 6/7 | 85,7 | 2,83 | 1,55-5,15 | 0.011** |
| | Μετά-όσμωση | 10/33 | 30,3 | | | |
| Εγκατάσταση συστήματος επεξεργασίας νερού | Έτος <2000 | 5/8 | 62,5 | 1,82 | 0,89-3,73 | 0,229** |
| | Έτος 2000+ | 11/32 | 34,4 | | | |
| Μηχάνημα (είσοδος) | Αρχή | 3/9 | 33,3 | - | - | 0.999** |
| | Μεσαίο | 2/7 | 28,6 | | | |
| | Τέλος | 2/8 | 25 | | | |

*Chi-square test

** Fisher's exact test

CI:Διάστημα Εμπιστοσύνης

RR:ΣΚ= Σχετικός Κίνδυνος

14.5) Περιγραφή παραγόντων και ενδοτοξινών

Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση οι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν την αύξηση της συγκέντρωσης των ενδοτοξινών είναι: 1) Η ημερήσια καταγραφή του υπολειμματικού χλωρίου φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο ανίχνευσης των ενδοτοξινών (p-value=0,024). 2) Η εγκατάσταση του συστήματος επεξεργασίας νερού πριν από το έτος (2000) στις μονάδες τεχνητού νεφρού παρουσιάζει αύξηση του κινδύνου ανίχνευσης των ενδοτοξινών (RR=4,67) (p-value=0,024). Οι υπόλοιποι παράγοντες που αναφέρονται στους παρακάτω πίνακες δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (p-value >0,05).

Πίνακας 14.7 Συσχέτιση παραγόντων και ενδοτοξινών

| | | Συχνότητα | % | ΣΚ | 95 % ΔΕ | p-value |
|--|----------------|-----------|------|------|-----------|---------|
| Βαλβίδα αντεπιστροφής | NAI | 7/21 | 33,3 | - | - | 0.530** |
| | OXI | 0/3 | 0 | | | |
| Υπεριώδης ακτινοβολία (UV) | NAI | 7/21 | 33,3 | - | - | 0.155** |
| | OXI | 0/6 | 0 | | | |
| Δεξαμενή αποθήκευσης νερού | NAI | 5/18 | 27,8 | 1,25 | 0,30-5,23 | 0.999** |
| | OXI | 2/9 | 22,2 | | | |
| Απουσία διαρροών | NAI | 6/24 | 25 | 0,75 | 0,13-4,29 | 0.999** |
| | OXI | 1/3 | 33,3 | | | |
| Σύστημα ποιότητας (ISO) | NAI | 2/9 | 22,2 | 0,80 | 0,19-3,35 | 0.999** |
| | OXI | 5/18 | 27,8 | | | |
| Απολύμανση- συντήρηση | <=3φορές/χρόνο | 3/18 | 16,7 | 0,50 | 0,11-2,31 | 0.568** |
| | >3φορές/χρόνο | 2/6 | 33,3 | | | |
| Ημερήσια καταγραφή υπολειμματικού χλωρίου | NAI | 1/15 | 6,7 | 0,13 | 0,02-0,96 | 0.024** |
| | OXI | 6/12 | 50 | | | |

**Fisher's exact test

CI:ΔΕ= Διάστημα Εμπιστοσύνης

RR:ΣΚ= Σχετικός Κίνδυνος

Πίνακας 14.7 Συσχέτιση παραγόντων και ενδοτοξινών

| | | Συχνότητα | % | ΣΚ | 95 % ΔΕ | p-value |
|--|------------------|-----------|------|------|------------|----------|
| Βιβλίο ελέγχου για την καταγραφή συχνότητας δειγματοληψιών | ΝΑΙ | 5/21 | 23,8 | 0,71 | 0,18-2,80 | 0.633** |
| | ΟΧΙ | 2/6 | 33,3 | | | |
| Η ποιότητα νερού ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις του ISO 13959:2009 | ΝΑΙ | 5/21 | 23,8 | 0,71 | 0,18-2,80 | 0.633** |
| | ΟΧΙ | 2/6 | 33,3 | | | |
| Υλικό σωλήνων διανομής νερού | PVC | 5/21 | 23,8 | - | - | 0.286** |
| | PVDF | 2/3 | 66,7 | | | |
| | Πολυπροπυλένιο | 0/3 | 0 | | | |
| Αντικατάσταση φίλτρων κατά την προληπτική απολύμανση συντήρηση | Πάντα | 5/21 | 23,8 | 0,71 | 0,18-2,80 | 0.633** |
| | Μερικές φορές | 2/6 | 33,3 | | | |
| Τρόπος απολύμανσης μηχανημάτων | Χημικός | 3/6 | 50 | - | - | 0.401** |
| | Θερμικός | 0/3 | 0 | | | |
| | Χημικός-Θερμικός | 4/18 | 22,2 | | | |
| Δειγματοληψία για ανίχνευση OMX | ΝΑΙ | 7/24 | 29,2 | - | - | 0.545** |
| | ΟΧΙ | 0/3 | 0 | | | |
| Συχνότητα ανίχνευσης OMX | 1φορά/μήνα | 0/6 | 0 | - | - | 0.112*** |
| | 1φορά/τρίμηνο | 2/6 | 33,3 | | | |
| | 1φορά/εξάμηνο | 5/12 | 41,7 | | | |
| Δειγματοληψία για ανίχνευση ενδοτοξινών | ΝΑΙ | 3/15 | 20 | 0,60 | 0,17-2,18 | 0.662** |
| | ΟΧΙ | 4/12 | 33,3 | | | |
| Συχνότητα ανίχνευσης ενδοτοξινών | 1φορά/τρίμηνο | 0/3 | 0 | - | - | 0.999** |
| | 1φορά/εξάμηνο | 3/12 | 25 | | | |
| Μηχανισμός αντίστροφης όσμωσης | Προ-όσμωση | 0/1 | 0 | - | - | 0.999** |
| | Μετά-όσμωση | 7/26 | 26,9 | | | |
| Εγκατάσταση συστήματος επεξεργασίας νερού | Έτος <2000 | 4/6 | 66,7 | 4,67 | 1,42-15,35 | 0,024** |
| | Έτος 2000+ | 3/21 | 14,3 | | | |
| Μηχάνημα (είσοδος) | Αρχή | 2/9 | 22,2 | - | - | 0.281** |
| | Μεσαίο | 3/4 | 75 | | | |
| | Τέλος | 2/6 | 33,3 | | | |

**Fisher's exact test

***Chi-square for trend

CI:ΔΕ= Διάστημα Εμπιστοσύνης

RR:ΣΚ= Σχετικός Κίνδυνος

14.6) Απομόνωση παθογόνων μικροοργανισμών με τη μέθοδο τυποποίησης (MALDITOFF)

Κατά την ανάλυση των δειγμάτων προέκυψαν και αποικίες οι οποίες συνεχίστηκαν με τη διαδικασία όπως ορίζει το ISO για το κάθε μικροβιακό δείκτη, όταν όμως η διαδικασία δεν ολοκληρωνόταν, ακολούθησε η πορεία της ανάλυσης με πιο εξειδικευμένο τρόπο όπως είναι η τυποποίηση (MALDITOFF). Με αυτό τον τρόπο απομονώθηκαν και άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί από τις MTN όπως η *Ralstonia pickettii*, η *Burkholderia cepacia*. Σύμφωνα με μια έρευνα του Dombrowsky Matthias et al, 2013 στην Αυστρία έδειξε ότι οι σωληνώσεις PVC υποβοηθούν στην ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων όπως της *Ralstonia pickettii* με συνέπεια τη δημιουργία της βιομεμβράνης και τη γρήγορη ανάπτυξη του βακτηρίου. Παράλληλα η *Burkholderia cepacia* που απομονώθηκε σε μια MTN στη παρούσα έρευνα, έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη κρουσμάτων σε MTN και την εκδήλωση βακτηραιμίας σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς (Andrea V. Souza Et al, 2004, M. Magalhaes et al 2003). Επιπρόσθετα απομονώθηκαν και άλλα είδη ψευδομονάδας στις MTN όπως η *Pseudomonas libanensis*, η *Pseudomonas putida*, με μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης της *Pseudomonas putida*. Το *Herbaspirillum huttiense*, και το *Herbaspirillum aquaticum* απομονώθηκαν, με μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης σε MTN του *Herbaspirillum huttiense*. Ωστόσο απομονώθηκαν και Gram (+) κόκκοι, όπως ο *Bacillus cereus*, ο *Staphylococcus auricularis*, *Campylobacter fetus*. Τέλος απομονώθηκε και το *Filifactor villosus*.

Πίνακας 14.8 Απομόνωση Gram (-) & Gram (+) βακτηρίων στις MTN

| Gram (-) & Gram (+) Βακτήρια | |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Ralstonia pickettii</i> | <i>Burkholderia cepacia</i> |
| <i>Pseudomonas libanensis</i> | <i>Pseudomonas putida</i> |
| <i>Herbaspirillum huttiense</i> | <i>Herbaspirillum aquaticum</i> |
| <i>Bacillus cereus</i> | <i>Staphylococcus auricularis</i> |
| <i>Campylobacter fetus</i> | <i>Filifactor villosus</i> |

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 15^ο

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε εκτίμηση κινδύνου του συστήματος επεξεργασίας νερού και δειγματοληπτικός έλεγχος για την ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών, της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας και των ενδοτοξινών σε (9) μονάδες τεχνητού νεφρού. Μελετήθηκε η συχνότητα του αποικισμού των μικροβιακών παραγόντων οι οποίοι έχουν ενοχοποιηθεί με την εκδήλωση φλεγμονωδών αντιδράσεων σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς κατά τη διάρκεια της αιμοδιάλυσης. Παράλληλα αξιολογήθηκε η συσχέτιση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας και των ενδοτοξινών με παράγοντες κινδύνου του συστήματος επεξεργασίας νερού. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν τον αποικισμό των βακτηρίων στο σύστημα επεξεργασίας νερού και παρακάτω θα αναλύσουμε τους παράγοντες κινδύνου που συσχετίζονται με την βακτηριακή ανάπτυξη. Ωστόσο η συχνότητα ανίχνευσης των ενδοτοξινών στο σύνολο των δειγμάτων νερού $>0,25$ EU/ml στη παρούσα έρευνα κυμαίνεται σε ποσοστό 25,9% (7/27) των δειγμάτων. Ενώ της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας >100 cfu/ml στο 40% (16/40) των δειγμάτων.

Στη παρούσα μελέτη το ποσοστό ανίχνευσης των ενδοτοξινών ήταν στο 25,9% των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με μια έρευνα που έγινε στη Λιθουανία από (Inga Skarupskiene et al, 2010), για την ανίχνευση των ενδοτοξινών, όπου ανιχνεύτηκαν $>0,25$ EU/ml στο 14% του συνόλου των δειγμάτων νερού. Στη συγκεκριμένη περίπτωση ακολουθούν τις συστάσεις της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας. Παράλληλα η παρούσα μελέτη συμφωνεί με μια έρευνα που έγινε στη Σαρδηνία όσον αφορά τη προδιάθεση της βακτηριακής ανάπτυξης ως προς τη χρήση του υλικού των σωλήνων διανομής του νερού. Το πολυπροπυλένιο στη δική μας μελέτη ενοχοποιήθηκε για τη βακτηριακή επιμόλυνση σε ποσοστό 83,3% των δειγμάτων, όπου αντιστοιχεί σε ένα μικρό αριθμό δειγμάτων και στη συνέχεια ακολούθησε το PVC με 35,5% των δειγμάτων νερού. Η πολυετή έρευνα (16 χρόνια & 3 μήνες) από (Piergiorgio Bolasco et al, 2012) ενοχοποίησε τη παρουσία PVC με αποτέλεσμα η άμεση αντικατάσταση του στα κέντρα αιμοκάθαρσης να μειώσει σημαντικά τα μέγιστα επίπεδα των βακτηρίων και των ενδοτοξινών.

Επίσης, η παρούσα μελέτη έδειξε σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση της OMX: μεταξύ των δειγμάτων νερού πριν την αντίστροφη όσμωση σε ποσοστό (85,7%) και μετά της αντίστροφης όσμωσης σε ποσοστό (30,3%) των δειγμάτων. Η μελέτη από (Irene Vorbeck-Meister et al, 1999), συμφωνεί με τη δική μας όπου βρέθηκαν υψηλά επίπεδα της βακτηριακής ανάπτυξης μετά τα φίλτρα και τους αποσκληρυντές στο 66,7% των δειγμάτων και μετά την αντίστροφη όσμωση υπήρχε μια μείωση στο 33,3% των δειγμάτων. Όσον αφορά για τις ενδοτοξίνες μετά τους αποσκληρυντές οι τιμές ήταν από 0,13-9,49 EU/ml, όπου μετά την όσμωση υπήρχε μια μείωση $<0,03$ EU/ml.

Σε μια άλλη έρευνα που έγινε στη Βαγδάτη (Saadi K. Al-Naseri et al, 2013) τα αποτελέσματα τους δεν συμπίπτουν με τα δικά μας. Τα επίπεδα των ενδοτοξινών ήταν σύμφωνα με την νέα αναθεώρηση των συστάσεων της AAMI:2011 και το 60% των δειγμάτων που αναλύθηκε ήταν >50 cfu/ml της τιμής ενεργοποίησης. Ενώ (5/6) κέντρα

αιμοκάθαρσης είχαν υψηλά επίπεδα >100 cfu/ml. Σε αυτή την έρευνα τα κέντρα αιμοκάθαρσης είχαν μονή αντίστροφη όσμωση και ίσως αυτό δικαιολογεί τα υψηλά επίπεδα της βακτηριακής επιμόλυνσης καθώς και η έλλειψη της προληπτικής συντήρησης απολύμανσης με συνέπεια τη δημιουργία της βιομεμβράνης σε διάφορα σημεία του συστήματος. Παράλληλα σε μια έρευνα που έγινε στην Ολλανδία από (E. Lars Penne et al, 2009) παρατηρήθηκαν πολύ χαμηλά επίπεδα της βακτηριακής επιμόλυνσης. Το ποσοστό των θετικών δειγμάτων για τα βακτήρια ήταν 0,9% (6/685) και για τις ενδοτοξίνες 0,3% (2/663) των δειγμάτων. Τα χαμηλά ποσοστά στηρίζονται στις εθνικές κατευθυντήριες οδηγίες που ακολουθούν οι MTN και στη συχνή απολύμανση του συστήματος διανομής του νερού και των μηχανημάτων.

Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε στη Δυτική Γερμανία από (R. Bambauer et al, 1993) το 17,8% των δειγμάτων νερού είχε υπέρβαση στα επίπεδα των βακτηρίων ως προς τη συμμόρφωση των οδηγιών της AAMI. Η συγκέντρωση των ενδοτοξινών σε δείγματα νερού κυμαίνονταν 0-95EU/ml και μόνο το 12,2% του συνόλου των δειγμάτων βρέθηκε η τιμή του 5EU/ml. Τα αυξημένα επίπεδα δεν συσχετίστηκαν με το σύστημα επεξεργασίας νερού και τον τρόπο απολύμανσης των μηχανημάτων, ενώ σε αντίθεση με τη δική μας μελέτη τα υψηλά επίπεδα της βακτηριακής επιμόλυνσης έχουν συσχετιστεί με τις προαναφερθέντες παραμέτρους. Η δική μας μελέτη είχε συμμόρφωση ως προς τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας που ακολουθήσαμε όσον αφορά τη βακτηριακή μόλυνση σε ποσοστό 60% σε ένα μικρό αριθμό συμμετοχής των MTN. Εν αντιθέσει με την έρευνα που είχε γίνει στην Ελλάδα από την (Arvanitidou M. et al, 1998) σε 85 MTN η συμμόρφωση ως προς τις οδηγίες της AAMI ήταν σε ποσοστό 92,6% για τα ετερότροφα βακτήρια.

Σύμφωνα με την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης παρατηρείται μια στατιστικά σημαντική σχέση ως προς τη χρήση του υλικού των σωληνώσεων διανομής του νερού όπου συμβάλλει στο σχηματισμό της βιομεμβράνης και στην ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών σύμφωνα και με άλλες μελέτες (Lilian Bueno Montanari et al, 2009, Gary C. Du Moulin et al, 1987). Στη δική μας μελέτη παρουσιάστηκε μια στατιστικά σημαντική σχέση στη χρήση του υλικού πολυπροπυλένιο όπου συσχετίζεται με τον κίνδυνο αύξησης συγκέντρωσης της OMX και αυτό υποδεικνύεται, γιατί θεωρείται στατιστικά σημαντικό (p-value=0,030). Ακόμη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα υπήρχε και στη ποσοτική ανάλυση που το πολυπροπυλένιο υλικό των σωληνώσεων παρουσίασε αύξηση στη συγκέντρωση της OMX στη συνέχεια ακολούθησε το PVC από ότι το PVDF υλικό, το οποίο εμφάνισε μικρότερη συγκέντρωση της OMX (p-value=0,037). Ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δίνεται στις MTN ως προς τη χρήση του υλικού του συστήματος διανομής, γιατί υπάρχει η προδιάθεση δημιουργίας βιομεμβράνης με τη στασιμότητα του νερού λόγω της μη συνεχούς ανακυκλοφορίας του. Ένα παράδειγμα αποτελεί η έρευνα του (Gary C. Du Moulin et al, 1987) σε κέντρα αιμοκάθαρσης που το υλικό των σωληνώσεων διανομής ήταν το ακρυλονιτρίλιο βουταδιενίου στυρολίου (acrylonitrile butadiene styrene). Το υλικό αυτό παρέχει την κατάλληλη επιφάνεια για τον αποικισμό των βακτηρίων και τη δημιουργία βιομεμβράνης. Ωστόσο η ανάπτυξη των βακτηρίων στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν αισθητή .

Ιδιαίτερη σημασία δόθηκε και στα δείγματα νερού πριν και μετά όσμωσης όπου υπήρχε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Τα δείγματα πριν την όσμωση παρουσίασαν

αύξηση στη συγκέντρωση της OMX από ότι μετά το μηχανισμό της αντίστροφης όσμωσης (p-value=0,036). Παράλληλα η επιβεβαίωση γίνεται και κατά την αξιολόγηση της ποιοτικής ανάλυσης όπου παρατηρείται αύξηση του κινδύνου συγκέντρωσης της OMX >100cfu/ml σε σχέση με τα δείγματα μετά την όσμωση (RR=2,83) (p-value=0,011). Παράλληλα το έτος εγκατάστασης του συστήματος επεξεργασίας νερού στις μονάδες τεχνητού νεφρού πριν το 2000, θεωρείται στατιστικός σημαντικός παράγοντας και σηματοδοτεί την αύξηση της συγκέντρωσης της OMX (p-value=0,028). Το ίδιο συμβαίνει και με την παρουσία των ενδοτοξινών, όπου παρατηρείται αύξηση του κινδύνου ανίχνευσης τους (RR=4,67) (p-value=0,024).

Ακόμη ένα σημαντικό αποτέλεσμα που συσχετίζεται με τη συγκέντρωση της OMX είναι ο τρόπος απολύμανσης των μηχανημάτων τεχνητού νεφρού (p-value=0,047). Συγκεκριμένα η εφαρμογή του χημικού τρόπου απολύμανσης παρουσιάζει μεγαλύτερη συγκέντρωση της OMX από ότι ο θερμικός και ο συνδυασμός του χημικού και θερμικού τρόπου. Η ποιοτική (p-value=0,014) και η ποσοτική (p-value=0,008) ανάλυση υποδεικνύει ότι όταν δεν πραγματοποιείται ο εργαστηριακός προσδιορισμός των ενδοτοξινών πιθανόν να επηρεάσει τη συγκέντρωση της OMX. Η τελευταία παράμετρος δείχνει ότι οι MTN που κάνουν την εργαστηριακή ανάλυση για ενδοτοξίνες πιθανόν να κάνουν και για την OMX και δείχνει τη λήψη μέτρων όσον αφορά τη μικροβιολογική επιτήρηση της ποιότητας νερού.

Παράλληλα συσχετίσαμε την παράμετρο των ενδοτοξινών με τους παράγοντες κινδύνου στο σύστημα επεξεργασίας νερού. Η ημερήσια καταγραφή του υπολειμματικού χλωρίου φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο ανίχνευσης των ενδοτοξινών (p-value=0,024). Αυτό μπορεί να σημαίνει ότι οι MTN λαμβάνουν μέτρα για την καλή συντήρηση και λειτουργία στα πλαίσια όπως ορίζεται από τις κατευθυντήριες οδηγίες.

Στην παρούσα μελέτη δεν ανιχνεύτηκαν οι μικροοργανισμοί (εντερόκοκκος, κλεμπσιέλλα και E. coli). Αλλά ανιχνεύτηκε η *Pseudomonas aeruginosa* (4/40) δείγματα και από τα ολικά κολοβακτηριοειδή ο *Enterobacter cloacae* σε (1/40) δείγματα σε μία MTN. Η στατιστική ανάλυση δεν έγινε λόγω ότι υπήρχε μικρός αριθμός δειγμάτων. Ακόμη απομονώσαμε και άλλα είδη μικροοργανισμών όπως *Ralstonia pickettii* και *Burkholderia cepacia*. Άλλα είδη ψευδομονάδας που ανιχνεύτηκαν με τη τυποποίηση ήταν η *Pseudomonas libanensis*, η *Pseudomonas putida*, με μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης της *Pseudomonas putida* (2/9) MTN. Επίσης το *Herbaspirillum hutienne* απομονώθηκε σε (2/9) MTN. Ωστόσο απομονώθηκαν και Gram (+) κόκκοι, όπως ο *Bacillus cereus*, ο *Staphylococcus auricularis*, *Campylobacter fetus*. Τέλος απομονώθηκε και το *Filifactor villosus*. Στο σύνολο των μικροοργανισμών που απομονώθηκαν η *Burkholderia cepacia* έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση κρουσμάτων σε κέντρα αιμοκάθαρσης προκαλώντας βακτηριαμία σε αιμοκαθαιρούμενους ασθενείς. Καθώς και η *Ralstonia pickettii* όπου αναπτύσσει αποικισμό σε σωληνώσεις από PVC. Χρήζει ιδιαίτερη προσοχή στην αποφυγή του αποικισμού παθογόνων μικροοργανισμών στις MTN για την πρόληψη και τη μετάβαση της ομαλής διαδικασίας της αιμοκάθαρσης.

Ολοκληρώνοντας θα επισημάνουμε κάποια μέτρα σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης για την ασφαλή διαδικασία της αιμοκάθαρσης. Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει την ανάγκη της συστηματικής επιτήρησης του συστήματος επεξεργασίας νερού καθώς και μέτρων απολύμανσης και παρακολούθησης. Είναι σαφές ότι η τήρηση των προληπτικών μέτρων οδηγεί στη μείωση του αποικισμού των βακτηρίων και των

ενδοτοξινών. Είναι εμφανές ότι ο μηχανισμός της αντίστροφης όσμωσης έχει ιδιαίτερο ρόλο στη μείωση του μικροβιακού φορτίου συγκρίνοντας τα δείγματα νερού πριν και μετά τη συσκευή της αντίστροφης όσμωσης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η παρουσία της διπλής αντίστροφης όσμωσης έχει καλύτερη απόδοση στην αποτελεσματική λειτουργία της, όπως επιβεβαιώνεται και στη παρούσα μελέτη. Επιπρόσθετα οι μονάδες τεχνητού νεφρού που η εγκατάσταση του συστήματος επεξεργασίας νερού είναι πριν το 2000 θα πρέπει να λάβουν κάποια μέτρα αντικατάστασης κάποιων συσκευών ή της ανανέωσης ολόκληρου του συστήματος για την πρόληψη του μικροβιακού αποικισμού. Συνήθως, ο αποικισμός ευνοείται σε αρκετά σημεία στο σύστημα, λόγω των κατάλληλων συνθηκών που προϋπάρχουν αλλά συμβάλει κατά ένα μέρος και η χρονολογία εγκατάστασης του συστήματος επεξεργασίας νερού.

Θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στη χρήση του υλικού των σωληνώσεων διανομής του νερού, γιατί αποτελεί κρίσιμο σημείο για την ανάπτυξη βακτηρίων και του σχηματισμού βιομεμβράνης. Τα υλικά θα πρέπει να έχουν λεία επιφάνεια, να μην είναι ευάλωτα στη διάβρωση και να επιτρέπουν κάθε είδος απολύμανση. Η συνεχής ροή του νερού επί 24 ώρη βάση μπορεί να αποτρέψει την στασιμότητα ύδατος στις σωληνώσεις και κατά συνέπεια τον αποικισμό των βακτηρίων. Σημαντική παράμετρος για την εξασφάλιση της ταχύτητας ροής του νερού είναι ότι ο αυλός των σωλήνων διανομής θα πρέπει να είναι μικρός. Επίσης πρέπει να αποφεύγεται η παρουσία νεκρών σημείων στο σύστημα διανομής του νερού, γιατί δημιουργείται στασιμότητα ύδατος και ανάπτυξη μικροβιακών παραγόντων. Η προληπτική απολύμανση συντήρηση, πρέπει να έχει ως στόχο την πρόληψη και όχι την εξουδετέρωση του σχηματισμού της βιομεμβράνης στο σύστημα διανομής νερού.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική:

Γεωργιάδης Γ.Σ., Κ.Μ Κανταρτζή, Β.Α. Βαργεμέζης, Μ.Κ. Λαζαρίδης. «*Η Ιστορία των αγγειακών προσπελάσεων σε χρόνια αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς. Από τον Willem J. Kolff μέχρι τις ημέρες μας*» **Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής** 2007 24(4):389-397

Ελληνική Νεφρολογική Εταιρία «*Οδηγίες / Θεραπευτικά Πρωτόκολλα Αιμοκάθαρσης*»

Κυρίτσης Ηλίας. «*Ιστορία και Εξέλιξη της Αιμοκάθαρσης*» **Ετήσιος οδηγός Νεφρικής Νόσου (2012)**

Κωνσταντινίδης Θ.Γ., Νικολαΐδης Χ., Αλεξανδροπούλου Ι., Κωνσταντινίδης Θ.Κ. «*Η υγειονομική σημασία του νερού στις μονάδες αιμοκάθαρσης – τεχνητού νεφρού*» **Διεπιστημονική Φροντίδα Υγείας (2011)**, Τόμος 3, Τεύχος 3, 93-97.

Ξενόγλωσση:

Abbass AA, Ph.D., El-Shazly SA, Ph.D., El-Koraie AF M.D. Hazzah WA, M.P.H. «*Bacteriological Monitoring of Dialysis fluid in two Haemodialysis Centers in Alexandria*». **Bulletin Alexandria Fac Med (2006)**, 42 No 4

Arvanitidou Malamatenia, S. Spaia†, A. Velegraki‡, M. Pazarloglou†, D. Kanetidis†, P. Pangidis†, N. Askepidis†, Ch. Katsinas†, G.Vayonas† and V. Katsouyannopoulos. «*High level of recovery of fungi from water and dialysate in haemodialysis units*» **.Journal of Hospital Infection (2000)** 45: 225–230

Arvanitidou Malamatenia, Sophia Spaia, Christos Katsinas, Panayotis Pangidis, Theodore Constantinidis, Vassilios Katsouyannopoulos and George Vayonas «*Microbiological quality of water and dialysate in all haemodialysis centres of Greece*». **Nephrology Dialysis Transplantation (1998)** 13: 949–954.

Arvanitidou Malamatenia, A. Vayona, N. Spanakis and A. Tsakris «*Occurrence and antimicrobial resistance of Gram-negative bacteria isolated in haemodialysis water and dialysate of renal units: results of a Greek multicentre study*». **Journal of Applied Microbiology (2003)**, 95, 180–185

Arvanitidou Malamatenia, Spaia S, Askepidis N, Kanetidis D, Pazarloglou M, Katsouyannopoulos V, Vayonas G. «*Endotoxin concentration in treated water of all hemodialysis units in Greece and inquisition of influencing factors*». **J. Nephrology. (1999)** Jan-Feb 12(1):32-7.

BC Renal Agency. «*Principles of Hemodialysis*».

Azevedo Sandra M.F.O, Wayne W. Carmichael, , Elise M. Jochimsen, Kenneth L. Rinehart, , Sharon Lau, Glen R. Shaw, Geoff K. Eaglesham. «*Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru / Brazil*». **Toxicology** 181 – 182 (2002) 441 – 446

Bambauer R., Schauer M, W. K. Jung, V. Daum, and Vienken J «*Contamination of Dialysis Water and Dialysate. A Survey of 30 Centers*». **ASAIO Journal** (1994).

Beck-Sague Consuelo M , William R. Jarvis, Lee A. Bland, Matthew J. Arduino, Sonia M. Aguerro, Gregory Verosic. «*Outbreak of Gram Negative Bacteremia and Pyrogenic Reactions in a Hemodialysis Center*». **Am J Nephrology** (1990), 10:397-403

Bolan Gail , Arthur L. Reingold, Loretta A. Carson, Vella A. Silcox, Charles L. Woodley, Peggy S. Hayes, Allen W. Hightower, Louise McFarland, Joseph W. Brown III, Norman J. Petersen, Martin S. Favero, Robert C. Good and Claire V. Broome «*Infections with Mycobacterium chelonae in patients receiving dialysis and using processed hemodialyzers*». **The Journal of Infectious Diseases**, (1985) Vol 152 Issue 5 P: 1013 – 1019

Bolasco Piergiorgio , Antonio Contu, Patrizia Meloni, Dorio Vacca and Andrea Galfrè. «*Microbiological Surveillance and State of the Art Technological Strategies for the Prevention of Dialysis Water Pollution*». **International Journal of Environmental Research and Public Health** (2012), 9, 2758-2771

Bommer Jurgen and Eberhard Ritz. «*Water Quality – A Neglected Problem in Hemodialysis*». **Nephron** (1987) 46: 1-6

Borges C.R.M., K.M.S. Lascowski, N.R. Filho and J.S. Pelayo. «*Microbiological quality of water and dialysate in a haemodialysis unit in Ponta Grossa-PR, Brazil*». **Journal of Applied Microbiology** 103 (2007) 1791 – 1797

Bouchra Oumokhtar, Abdelhakim El Ouali Lalami, Mustapha Mahmoud, Sanae Berrada, Mohammed Arrayhani, Tarik Squalli Houssaini. «*Prevent infection linked to the dialysis water in a hemodialysis center in Fez city (Morocco)*». **Pan African Medical Journal** (2013)16:122

Brunet Philippe and Yvon Berland. «*Water quality and complications of haemodialysis*» **Nephrology Dialysis Transplantation** (2000), 15: 578 – 580.

Calubiran O. V. , P. E. Schoch and B. A. Cunha. «*Pseudomonas paucimobilis bacteraemia associated with haemodialysis*». **Journal of Hospital Infection** (1990) 15, 383-388

Cappelli Gianni, Luisa Sereni, Maria Grazia Scialoja, Massimo Morselli, Salvatore Perrone, Angela Ciuffreda, Massimo Bellesia, Paola Inguaggiato, Alberto Albertazzi and Ciro Tetta. «*Effects of biofilm formation on haemodialysis monitor disinfection*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (2003) 18: 2105–2111

Cappelli Gianni, Ciro Tetta and Bernard Canaud. «*Is biofilm a cause of silent chronic inflammation in haemodialysis patients? A fascinating working hypothesis*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (2005), Vol. 20 No. 2 , pp 266–270

Cappelli G, Perrone S, Inguaggiato P, Ferramosca E, Albertazzi A. «*Design of Water Treatment Plants in the Year 2000 and Beyond*». **Saudi Journal Kidney Diseases Transplantation** (2001), 12(3):398-405

Cappelli Gianni, Marco Riccardi, Salvatore Perrone, Moreno Bondi, Giulia Ligabue, Alberto Albertazzi. «*Water treatment and monitor disinfection*». **Hemodialysis International** (2006), 10: S13-S18

Carson Loretta A. , Lee A. Bland, Lucy B. Cusick, Martin S. Favero, Gail A. Bolan, Arthur L. Reingold, and Robert C. Good. «*Prevalence of Nontuberculous Mycobacteria in Water Supplies of Hemodialysis Centers*». **Applied and Environmental Microbiology**, Dec.(1988), pp. 3122-3125 Vol. 54, No. 12

Clark William R. and Dayong Gao. «*Properties of Membranes Used for Hemodialysis Therapy*». **Seminars in Dialysis** (January-February) 2002, Vol 15 No 1 pp 191-195

Coulliette A. D. and Matthew J. Arduino «*Haemodialysis and water quality*». **Seminars in Dialysis** (2013) Vol 26 No 4 pp. 427-438

Dombrowsky Matthias, Alexander Kirschner and Regina Sommer. «*PVC-piping promotes growth of *Ralstonia pickettii* in dialysis water treatment facilities*». **Water Science & Technology** (2013) 68.4 p. 929-933

Donlan Rodney M. «*Biofilms: Microbial Life on Surfaces*». **Emerging Infectious Diseases** September (2002), Vol 8 No 9

EDTNA/ERCA Dialysis Technology Journal Cub 2000/3 summary. **EDTNA/ERCA Journal** (2001) XXVII 1

EDTNA/ERCA Guidelines: Technical Section. **EDTNA/ERCA JOURNAL** (2002) XXVIII 3

European Pharmacopoeia 3rd Edition. «*Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting*» **Monograph 1997:1167.** Council of Europe, Strasbourg 1996 pp 923

European Pharmacopoeia 5nd Edition «*Bacterial Endotoxins*» 2.6.14.

Food and Drug Administration. «*Quality Assurance Guidelines for Hemodialysis Devices*»

Fresenius Medical Care «*The Invention, Development, and Success of the Artificial Kidney*»

Garry J Handelman Peter A. Megdal Samuel K. Handelman. «*Bacterial DNA in Water and Dialysate: Detection and Significance for Patient Outcomes*». **Blood Purification** (2009), 27:81–85.

Gomila Margarita, Antonio Ramirez, and Jorge Lalucat. «*Diversity of Environmental Mycobacterium Isolates from Hemodialysis Water as Shown by a Multigene Sequencing Approach*». **Applied and Environmental Microbiology**, June (2007), p. 3787–3797, Vol. 73, No. 12.

Gomila Margarita , Joan Gasco, Antonio Busquets, Jose Gil, Rosario Bernabeu, Juan Manuel Buades, Jorge Lalucat. «*Identification of culturable bacteria present in haemodialysis water and fluid*». **FEMS Microbiology Ecology**, 52 (2005) 101–114.

Gordon Steven M., MD, Margaret Tipple, MD, Lee A. Bland, MPH, William R. Jarvis, MD. «Pyrogenic Reactions Associated With the Reuse of Disposable Hollow-Fiber Hemodialyzers». **JAMA Oct 14**, (1988) Vol 260, No 14

Henrie Michael, Cheryl Ford, Marion Andersen, Eric Stroup, †Jose Diaz-Buxo, ‡Ben Madsen, ‡David Britt and Chih-Hu Ho. «*In Vitro Assessment of Dialysis Membrane as an Endotoxin Transfer Barrier: Geometry, Morphology, and Permeability*». **Artificial Organs** (2008)

Hindman Stephen, Loretta A. Carson, Martin S. Favero, Norman J. Petersen, Lawrence B. Shconberger, Jose T. Solano. «*Pyrogenic reactions during haemodialysis caused by extramural endotoxin*». **The Lancet Oct 18** (1975), Vol 306 Issue 7938 P: 732 – 734.

Hoenich Nicholas A. and Robert Levin†. «*The Implications of Water Quality in Hemodialysis*». **Seminars in Dialysis** Vol 16, No 6 (November–December) 2003 pp. 492–497

Hoenich N.A, D. Levett, S. Fawcett, C. Woffindin and D.N.S. Kerr. «*Biocompatibility of Haemodialysis Membranes*». **Journal Biomed Eng.** (1986) Vol 8 January

Hoenich Nicholas A. , Robert Levin, Claudio Ronco. «*Water for Haemodialysis and Related Therapies: Recent Standards and Emerging Issues*». **Blood Purification** (2010) 29: 81- 85

Hoenich Nicholas A. , Robert Levin, Claudio Ronco. «*How Do Changes in Water Quality and Dialysate Composition Affect Clinical Outcomes*». **Blood Purification** (2009) 27:11–15

Hoenich Nicholas A. «*Disinfection of the hospital water supply: a hidden risk to dialysis patients*». **Critical Care** (2009) Vol 13 No 6

Hoenich Nic, Robert Mactier, Gerard Boyle, Maurice Harrington, Elizabeth Lindley, Ian Morgan, Paul Rylance, Donal O’ Donoghue. «*Guideline on water treatment facilities and water quality for haemodialysis and related therapies*»

Clinical Practice Guideline by the **UK Renal Association and Association of Renal Technologists**

International Organization for Standardization, ISO26722:2009 «*Water treatment equipment for haemodialysis application and related therapies*».

International Organization for Standardization, ISO13959:2009 «*Water for haemodialysis and related therapies*».

International Organization for Standardization, ISO23500:2011 «*Guidance for the preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies*».

Jackson Benita M, Consuelo M. Beck-Sague, Lee A. Bland, Matthew J. Arduino, Lisa Meyer, William R. Jarvis. «*Outbreak of Pyrogenic Reactions and Gram Negative Bacteremia in a Hemodialysis Center*». *Am J Nephrology* (1994) 14:85-89

Judith R. Rudnick, Arbuino MJ, Bland LA, Cusickl, McAllister SK, Aquero SM, Jarvis WR. «*An outbreak of pyrogenic reactions in chronic haemodialysis patients association with haemodialyzer reuse*».

Ka-Hang Tong Matthew, Wei Wang, Tze-Hoi Kwan, Lawrence Chan, Tak-Cheung AU. «*Water treatment for hemodialysis*» .*Hong Kong Journal Nephrology* (2001) 3(1):7-14.

Kerr Peter and Nigel Toussaint. «*Dialysis Membranes*». **Kidney Health Australia CARL Guidelines** (2013) **KHA-CARI Dialysis Adequacy** .pp. 1 -12

Kerr Peter G. and Louis Huang.«*Review: Membranes for haemodialysis*». *Nephrology* 15 (2010) 381-385

Klein Elias, Ted Pass, George B. Harding, Rita Wright and Carolyn Million «*Microbial and Endotoxin Contamination in Water and Dialysate in the Central United States*» **International Society for Artificial Organs** (1990), 14(2):85-94

Kolff W.J., H. TH.J. Berk, Nurse M. ter Welle, A.J.W. van der Ley, Messrs E.C. van Dijk and J. van Noordwijk «*The artificial Kidney: a dialysate with a great area*». **Journal of the American Society of Nephrology** (1944)

Konner Klaus. «*History of vascular access for haemodialysis*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (2005) 20: 2629–2635

Lars Penne E. , Linda Visser, Marinus A. van den Dorpel, Neelke C. van der Weerd, Albert H.A. Mazairac, Brigit C. van Jaarsveld, Marion G. Koopman, Pieter Vos, Geert W. Feith, Ton K. Kremer Hovinga, Henk W. van Hamersvelt, Inge M. Wauters, Michiel L. Bots, Menso J. Nube, Piet M. ter Wee, Peter J. Blankestijn and Muriel P.C. Grooteman. «*Microbiological quality and quality control of purified water and ultrapure dialysis fluids for online hemodiafiltration in routine*

clinical practice». **International Society of Nephrology, Kidney International** (2009) 76, 665–672

Layman – Amato Rebecca, Jim Curtis, Glenda M. Panye. «*Water Treatment for Hemodialysis: An Update*». **Nephrology Nursing Journal** (2013), 40(5) 383-404, 465

Ledebo Ingrid. «*Ultrapure dialysis fluid: Improving conventional and daily dialysis*». **Hemodialysis International** (2004), 8: 159--166

Ledebo Ingrid. «*Ultrapure dialysis fluid - how pure is it and do we need it?*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (2006) 1 of 3

Lennox K. Archibald, MD, FRCP; Nguyen Nguyen Khoi, MD, PhD; William R. Jarvis, MD; L. Barth Reller, MD; Phung Dac Cam, MD, PhD; Truong Anh Thu, MD, PhD; Nguyen Viet Hung, MD, PhD. «*Pyrogenic Reactions in Hemodialysis Patients, Hanoi, Vietnam*». **Infection Control and Hospital Epidemiology**, April (2006), vol. 27, no. 4

Lima José de Ribamar Oliveira , Sirley Garcia Marques, Azizedite Guedes Gonçalves, Natalino Salgado Filho, Paulo Cruz Nunes, Hernandes Sousa Silva, Silvio Gomes Monteiro, Jackson Mauricio Lopes Costa «*Microbiological Analyses of Water from Hemodialysis Services in Sao Luis Maranhao Brazil*». **Brazilian Journal of Microbiology** (2005), 36:103-108.

Lonnemann G. , S. Krautzig and K. M. Koch. «*Quality of water and dialysate in haemodialysis*». **Nephrol Dial Transplant** (1996) 11: Editorial Comments pp 946-949

Lonnemann Gerhard . «*The quality of dialysate: An integrated approach*». **Kidney International**, Vol. 58, Suppl. 76 (2000), pp. S-112–S-119

Madhukar Misra «*The basics of hemodialysis equipment*». **Hemodialysis International** (2005), 9: 30 – 36

McKellar Shelley. «*Gordon Murray and the artificial Kidney in Canada*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (1999) 14: 2766-2770

M. Magalhaes, C. Doherty, J.R.W. Govan, P. Vandamme. «*Polyclonal outbreak of Burkholderia cepacia complex bacteraemia in haemodialysis patients*». **Journal of Hospital Infection** (2003), 54, 120–123

Montanari Lilian Bueno , Flávio Garcia SARTORI, Miguel Jorge de Oliveira CARDOSO, Samuel Dutra VARO, Regina Helena PIRES, Clarice Queico Fujimura LEITE, Karina PRINCE & Carlos Henrique Gomes MARTINS. «*Microbiological Contamination of a Hemodialysis Center Water Distribution System*». **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo** January-February (2009), 51(1):37-43

Morin P. «*Identification of the bacteriological contamination of a water treatment line used for haemodialysis and its disinfection*». **Journal of Hospital Infection** (2000) 45: 218–224

Moulin Gary C. DU , Earl C. Coleman, JR. AND John Hedley-Whyte. «*Bacterial Colonization and Endotoxin Content of a New Renal Dialysis Water System Composed of Acrylonitrile Butadiene Styrene*». **Applied and Environmental Microbiology**, June 1987, p. 1322-1326, Vol. 53, No. 6

National Kidney Foundation «*A Clinical Update on Dialyzer Membranes. State-of-the-Art Considerations for Optimal Care in Hemodialysis*».

Nissenson Allen R., Richard N. Fine. «*Handbook of Dialysis Therapy*». (2008) 4th Edition

Nystrand Rolf . «*Microbiology of Water and Fluids for Hemodialysis*». **J Chin Med Assoc.** May (2008), Vol 71, No 5.

Perez-Garcia Rafael and Pat O Cinio Rodriguez. «*Why and how to monitor bacterial contamination of dialysate*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (2000) 15:760-764

Pontoriero Giuseppe, Pietro Pozzoni, Simeone Andrulli and Francesco Locatelli. «*The quality of dialysis water*». **Nephrology Dialysis Transplantation** (2003) 18 [Suppl 7]: vii21 – vii25

Renal Services Network. «*Dialysis Water Pre-treatment for In-Centre and Satellite Haemodialysis Units in NSW: A Set of Guidelines*». June 2008

R.H. Pires-Goncalves, F.G. Sartori, L.B. Montanari, J.E. Zaia, M.S.C. Melhem, M.J.S. Mendes-Giannini and C.H.G. Martins. «*Occurrence of fungi in water used at a haemodialysis centre*». **The Society for Applied Microbiology** 46 (2008) 542–547

Romeo Anthony A. Ph.D. «*The Hemodialysis Equipment and Disposable Industry*». **Health Technology Case Study 32.** December (1984)

Roth Virginia R. and William R. Jarvis. «*Outbreaks of Infection and/or Pyrogenic Reactions in Dialysis Patients*». **Seminars in Dialysis** Vol 13, No 2 (March-April) 2000 pp 92-96

Rotimi Williams Braimoh, Monica Omolara Mabayoje, Christiana Oluwatoyin Amira, Babawale Taslim Bello. «*Microbial quality of hemodialysis water, a survey of six centers in Lagos, Nigeria*». **Hemodialysis International** (2014), 18:148–152

S. Oie, A. Kamiya, I. Yoneda, K. Uchiyama, M. Tsuchida, K. Takai, K. Naito. «*Microbial contamination of dialysate and its prevention in haemodialysis units*». **Journal of Hospital Infection** (2003) 54, 115–119

Saadi K. Al-Naseri, Zinah Mohammed Mahdi, Mohammed Fawzi Hashim. «*Quality of water in hemodialysis centers in Baghdad, Iraq*». **Hemodialysis International** (2013), 17:517–522

Sartori Flavio Garcia , Luis Fernando Leandro, Lilian Bueno Montanari, Maria Gorete Mendes de Souza, Regina Helena Pires, Daisy Nakamura Sato, Clarice Queico Fujimura Leite, Karina de Andrade Prince, Carlos Henrique Gomes Martins. «*Isolation and Identification of Environmental Mycobacteria in the Waters of a Hemodialysis Center*». **Curr Microbiol** (2013) 67: 107 - 111

Schiavano G.F. , L. Parlani, M. Sisti, G. Sebastianelli, G. Brandi. «*Occurrence of fungi in dialysis water and dialysate from eight haemodialysis units in central Italy*». **Journal of Hospital Infection** xxx (2014) 1-7.

Skarupskiene Inga, Inga Arune Bumblyte, Donatas Tamosaitis, Jurate Venteriene, Vytautas Kuzminskis. «*The level of endotoxins in hemodialysis water and dialysate in Lithuanian hemodialysis centers*». **Medicina (Kaunas)** (2010) 46(8):556-60

Smeets ED, Jeroen Kooman Frank Van Der Sande, Ellen Stobberinch, Peter Frederick, Piet Claessens, Willem Grave, Arend Schot, and Karel Leunissen. «*Prevention of biofilm formation in dialysis water treatment systems*». **Kidney International**, Vol. 63 (2003), pp. 1574–1576

Souza Andrea V. , Claudia R. Moreira, Jacyr Pasternak, Maria de Lurdes Hirata, Denise Alves Saltini, Viviane Cristina Caetano, Suely Ciosak, Fatima M. Azevedo, Patricia Severino, Peter Vandamme and Vanda D. Magalhaes. «*Characterizing uncommon Burkholderia cepacia complex isolates from an outbreak in a haemodialysis unit*». **Journal of Medical Microbiology** (2004), 53, 999–1005.

Suhail Ahmad. «*Essentials of water treatment in hemodialysis*». **Hemodialysis International** (2005) 9: 127–134

The Renal Association. DR. Robert Mactier, DR. Nic Hoenich Ph.D, DR. Cormac Breen. «*Haemodialysis, Clinical Practice Guidelines*».

The Renal Association. Hoenich Nic, Robert Mactier, Gerard Boyle, Maurice Harrington, Elizabeth Lindley, Ian Morgan, Paul Rylance, Donal O' Donoghue. «*Guideline on water treatment facilities, dialysis water and dialysis fluid quality for haemodialysis and related therapies*»

Tonelli Marcello , , Natasha Wiebe, , Brenda Hemmelgarn, Scott Klarenbach, , Catherine Field, , Braden Manns, , Ravi Thadhani, John Gill, for The Alberta Kidney Disease Network. «*Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis*». **BMC Medicine** 2009, 7:25.

Twardowski Dr. Zbylut, MD, PhD, FACP. «*Constant Site (Buttonhole) Method of Needle Insertion for Hemodialysis*». **Dialysis and Transplantation Magazine** October (1995), Vo 24 No 10 pp 559-560, 576

Young Bessie A. MD, MPH, FACP. **ASN Leading the Fight Against Kidney Disease**

Vanholder R, Vanhaecke E, Ringoir S. «*Waterborne Pseudomonas Septicemia*». **ASAIO Transactions** (1990) 36:M215-M216

Vorbeck-Meister Irene, Regina Sommer, Friedrich Vorbeck and Walter H. Horl. «*Quality of water used for haemodialysis: bacteriological and chemical parameters*» **Nephrology Dialysis Transplantation** (1999) 14: 666 – 675

Ward Richard A. «Worldwide water standards for hemodialysis». **Hemodialysis International** (2007) 11:S18–S25

Ward Richard A. «*Dialysis Water as a Determinant of the Adequacy of Dialysis*». **Seminars in Nephrology** (2005) 25:102 – 111

Ward Richard A., PhD and Ronald L. Wathen, M.D., PhD. «*Principles of Dialysis: Utilization in Nonuremic Psoriatic Subjects*». **International Journal of Dermatology** April (1982), Vol 21, No 3

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι. ΔΕΛΤΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

| | | | |
|---|--|---|---|
|  | ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΥΠΟΛΟΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ & ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ |  | Τυχ. Διεύθυνση : Παιπακρούνη 22 - Λόρρα Τυχ. Κώδικα : 412 22 Τηλ. : 2410-565046 2410-565047 Τηλεμονοτησία / fax : 2410-565051 Ηλεκ. Διεύθυνση / e-mail : iah.hygiene@med.uth.gr Αρ. πρωτ. : Αρ. δείγρ. Εργ. : |
|---|--|---|---|

ΔΕΛΤΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ
ΓΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΥΓΡΩΝ ΑΙΜΟΔΙΑΛΥΣΗΣ

| | | | |
|--|--|--------------------------------|--|
| Υπηρεσία Δειγματοληψίας : Διεύθυνση : Αρ. πρωτ.: | | | |
| Ονομασία Αντικειμένου Υγιεινομικού Ενδιαφέροντος: Κωδικός δειγματοληψίας: | | Κωδικός Αντικειμένου: Τηλ.: | |
| Ονομασία Αντικειμένου: | | Διεύθυνση: | |
| Δήμος/Δ.Δ./Κοινότητα: | | Φαξ: | |
| Ονοματεπώνυμο υπεύθυνου ατόμου: | | | |

| Αριθμός δειγματος δειγματοληψίας | Είδος δείγματος | Σημείο δειγματοληψίας | Αριθμός δειγματος εργαστήριο* |
|----------------------------------|-----------------|-----------------------|-------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Παρατηρήσεις: Είδος δείγματος π.χ., Νερό αιμοδιάλυσης, Υγρό αιμοδιάλυσης, Υακινθινό υγρό αιμοδιάλυσης (Ultrapure dialysis fluid)
Συμπληρωματικές οδηγίες που ζητούνται:
 Το δείγμα μεταφέρθηκε με: Ισόθερμο δοχείο υπό ψύξη Άλλο, προσδιορίστε:

| | |
|---|-----------|
| Ημερομηνία αποστολής: | Πρα: |
| Αρμόδιος δειγματοληψίας Ονοματεπώνυμο: | Υπογραφή: |
| Ημερομηνία παραλαβής: | Πρα: |
| Ονοματεπώνυμο: | Υπογραφή: |

(*): Συμπληρώνονται από το Εργαστήριο μετά την παραλαβή των δειγμάτων

E-09-26/1/02-06-2014
Σελ 1 από 1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ. ΔΕΛΤΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ (CHECK LIST)

ΔΕΛΤΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ (CHECKLIST) ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΝΕΡΟΥ Μ.Τ.Ν.

Μονάδα Τεχνητού Νεφρού.....

Ημερομηνία Ελέγχου.....

Έτος Έναρξης Μονάδας Τεχνητού Νεφρού.....

Αριθμός Μηχανημάτων Τεχνητού Νεφρού.....

| A/A | ΣΗΜΕΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ |
|---|--|-----|-----|--------------|
| 1 | Διαθέτει βαλβίδα αντεπιστροφής | | | |
| 2 | Διαθέτει βαλβίδα - θερμάστρα | | | |
| 3 | Διαθέτει φίλτρο 5μm | | | |
| 4 | Διαθέτει στήλη με φίλτρο ενεργού άνθρακα | | | |
| 5 | Διαθέτει φίλτρο 1μm | | | |
| 6 | Διαθέτει φίλτρο 0,45 μm | | | |
| 7 | Διαθέτει στήλη αποσκλήρυνσης (απιονισμός) | | | |
| 8 | Διαθέτει φίλτρο 0,22 μm | | | |
| 9 | Διαθέτει σύστημα αντίστροφης όσμωσης (μονή ή διπλή) | | | |
| 10 | Διαθέτει στήλη UV | | | |
| 11 | Διαθέτει δεξαμενή αποθήκευσης επεξεργασμένου νερού | | | |
| 12 | Διαθέτει φίλτρο 0,1 μm | | | |
| 13 | Το επεξεργασμένο νερό εισέρχεται με κλειστό κύκλωμα απευθείας στα μηχανήματα τεχνητού νεφρού | | | |
| 14 | Υπάρχουν κρουνοί στα διάφορα στάδια επεξεργασίας νερού για δειγματοληψία | | | |
| Συντήρηση – Απολύμανση συστήματος επεξεργασίας νερού | | | | |
| 15 | Η μόνωση δικτύου είναι σε καλή κατάσταση | | | |
| 16 | Υπάρχει δυνατότητα ανακυκλοφορίας επεξεργασμένου νερού | | | |

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ. ΔΕΛΤΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ (CHECK LIST)

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| 17 | Απουσία διαρροών στο σύστημα νερού | | | |
| 18 | Απουσία τυφλών σημείων στο σύστημα νερού | | | |
| 19 | Η MTN διαθέτει σύστημα ποιότητας | | | |
| 20 | Η προληπτική συντήρηση και απολύμανση του συστήματος επεξεργασίας νερού γίνεται από τεχνικούς της Νοσηλευτικής μονάδας | | | |
| 21 | Η προληπτική συντήρηση και απολύμανση του συστήματος επεξεργασίας νερού γίνεται από ιδιωτική εταιρεία με πιστοποίηση ποιότητας | | | |
| 22 | Η προληπτική απολύμανση - συντήρηση γίνεται με βάση την κατασκευάστρια εταιρεία του συστήματος επεξεργασίας νερού | | | |
| 23 | Η προληπτική απολύμανση – συντήρηση πραγματοποιείται 2-3 φορές το χρόνο | | | |
| 24 | Η απολύμανση – συντήρηση πραγματοποιείται μόνο σε περίπτωση εμφάνισης κρουσμάτων | | | |
| Παρακολούθηση της ποιότητας νερού | | | | |
| 25 | Ημερήσια καταγραφή υπολειμματικού χλωρίου (μετά τη στήλη ενεργού άνθρακα) | | | |
| 26 | Αν ναι η συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου είναι $\leq 0,01\text{mg/l}$ | | | |
| 27 | Υπάρχει βιβλίο ελέγχου σχετικά με την συχνότητα των δειγματοληψιών και την καταγραφή παθολογικών αποτελεσμάτων | | | |
| 28 | Η ποιότητα του επεξεργασμένου νερού ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις του προτύπου ISO 13959:2009 | | | |

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ. ΔΕΛΤΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ (CHECK LIST)

29. Το υλικό των σωλήνων όπου γίνεται η διανομή νερού είναι από:

PVC PVDF PEX Ανοξειδωτος χάλυβας Άλλο

30. Η προληπτική απολύμανση – συντήρηση περιλαμβάνει αντικατάσταση όλων των φίλτρων και των μεμβρανών αντίστροφης όσμωσης

Πάντα Μερικές φορές Ποτέ Άλλο

31. i) Γίνεται η απολύμανση των μηχανημάτων αιμοκάθαρσης

Ναι Όχι

ii) Με ποιο τρόπο?

Χημική Θερμική

32. i) Πραγματοποιείται δειγματοληψία επεξεργασμένου νερού για ανίχνευση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας?

Ναι Όχι

ii) Πόσο συχνά γίνεται?

1 φορά/μήνα 1 φορά/τρίμηνο 1 φορά/εξάμηνο Άλλο

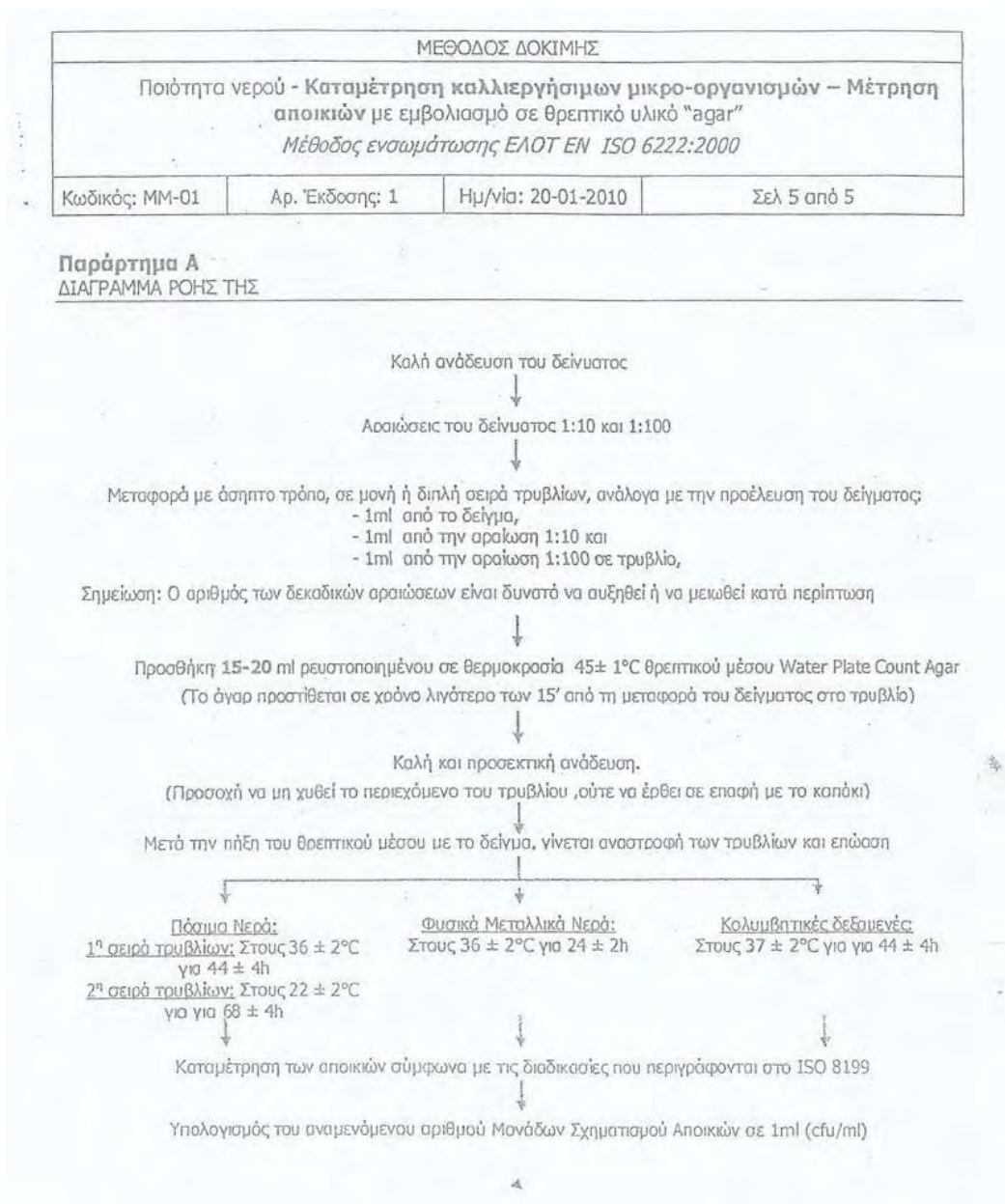
33. i) Πραγματοποιείται δειγματοληψία επεξεργασμένου νερού για ανίχνευση των ενδοτοξινών?

Ναι Όχι

ii) Πόσο συχνά γίνεται?

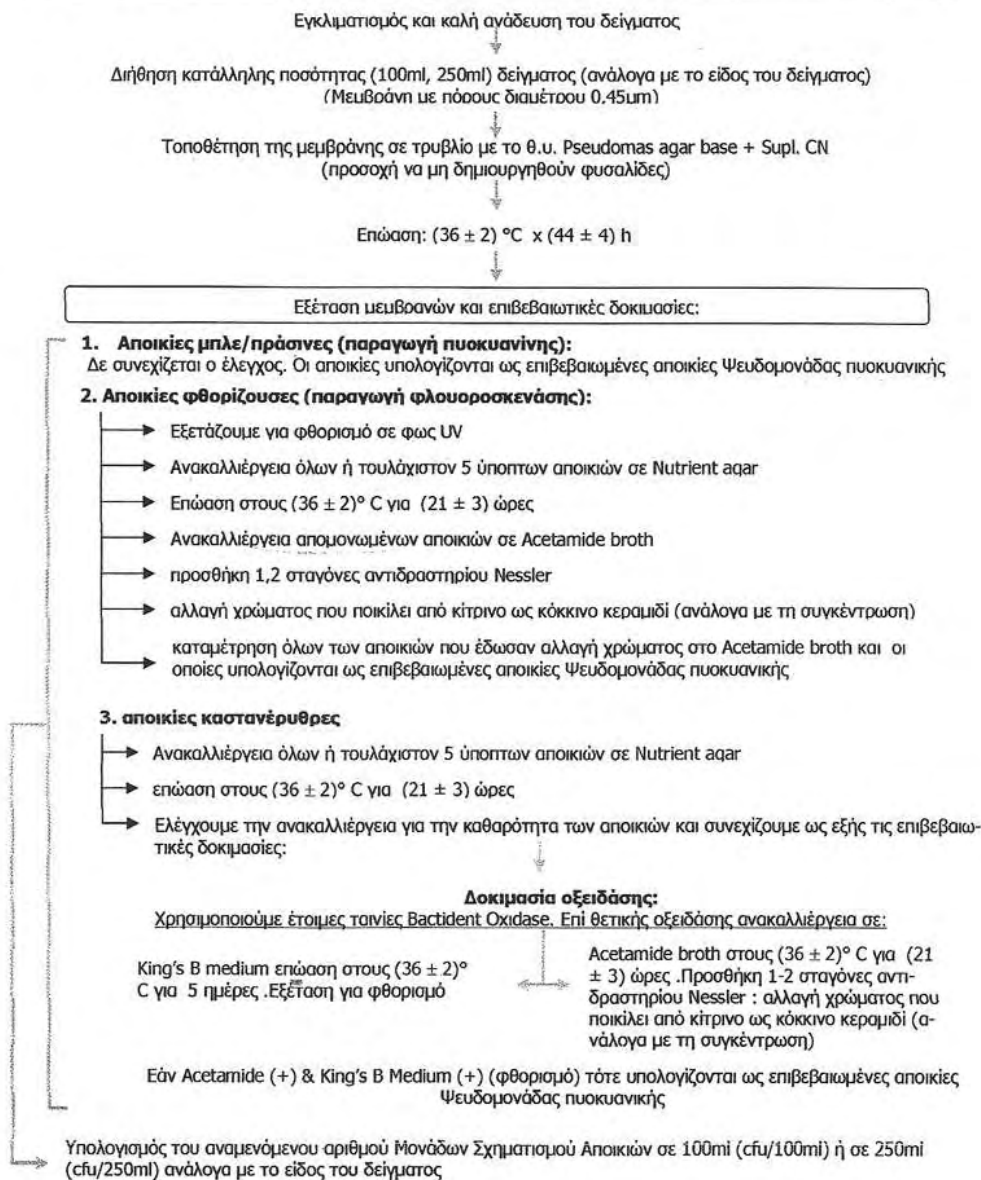
1 φορά/μήνα 1 φορά/τρίμηνο 1 φορά/εξάμηνο Άλλο

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ – ΟΛΙΚΗΣ ΜΕΣΟΦΙΛΗΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ – ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑΣ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ A ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ

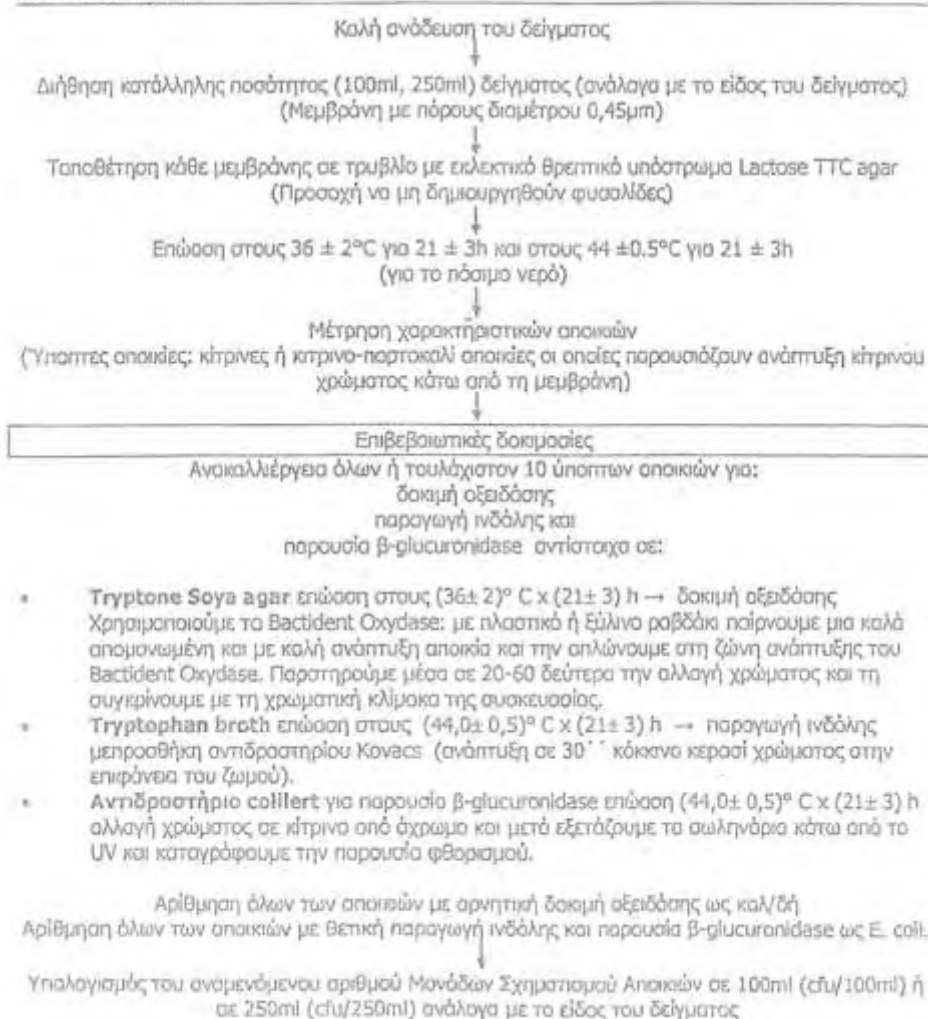


ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ

ΟΛΙΚΑ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ – *ESHERICHIA COLI*

| ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΗΣ | | | |
|--|----------------|--------------------|-------------|
| Ποιότητα νερού - Ανίχνευση και καταμέτρηση κολοβακτηριοειδών και <i>Escherichia coli</i> – Μέθοδος διήθησης από μεμβράνες | | | |
| ΕΛΟΤ EN ISO 9308-1:2000 (Technical corrigendum 1: 2007) | | | |
| Κωδικός: MM-02 | Αρ. Έκδοσης: 1 | Ημ/νία: 20-01-2010 | Σελ 7 από 7 |

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ – ΕΝΤΕΡΟΚΟΚΚΟΣ

| ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΗΣ | | | |
|--|----------------|--------------------|-------------|
| Ποιότητα νερού - Ανίχνευση και απαρίθμηση εντεροκόκκων – Μέθοδος διήθησης από μεμβράνη | | | |
| Μέθοδος διήθησης μεμβρανών ΕΛΟΤ EN ISO 7899-2:2001 | | | |
| Κωδικός: MM-03 | Αρ. Έκδοσης: 1 | Ημ/νια: 20-01-2010 | Σελ 6 από 6 |

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ

