

CALIDAD DE LÍQUIDOS PARA DIÁLISIS

Dña. Concha de la Morena.

Antes de centrarnos en los líquidos de diálisis vamos a referirnos brevemente a la calidad del agua para hemodiálisis, ya que aproximadamente el 90% del líquido de diálisis está constituido por agua. Por lo tanto, un paciente de hemodiálisis se ve expuesto a unos 360 litros a la semana de agua del grifo purificada, comparado con los 15 litros que una persona sana bebe durante el mismo periodo de tiempo. Por ello, es bastante obvio que el agua utilizada para la preparación del líquido de diálisis debe ser purificada de forma que no se exponga al paciente a ningún riesgo, ni agudo ni crónico.

El agua es el mejor disolvente conocido. Por consiguiente, el agua del grifo contendrá una enorme variedad de sustancias, dependiendo de la fuente de la que se obtenga. Contiene una gran variedad de material en suspensión, tanto de origen orgánico como inorgánico, sustancias orgánicas disueltas, minerales y contaminantes microbianos tales como bacterias, algas, hongos y endotoxinas.

El agua, también puede estar clorada para mantener el crecimiento bacteriano bajo control.

A pesar de que la conciencia acerca de la importancia que tiene la calidad del agua para diálisis no hace más que aumentar, todavía hoy en día se producen accidentes debido a un tratamiento no adecuado de la misma, tanto desde el punto de vista químico como microbiológico.

Los contaminantes microbiológicos proliferan muy frecuentemente en los filtros del pretratamiento, pero son eliminados con gran eficacia mediante la ósmosis inversa debido al espesor de la membrana. Debido a esto, se podría pensar que todo está ya solucionado, pero veamos si es así.

Podemos poner un ejemplo para ver como es la dinámica en el mundo de la microbiología. Una bacteria que se divide cada 20 minutos, lo que es bastante común, que vive en condiciones óptimas en cuanto a espacio y nutrientes, se multiplicará enormemente en muy poco espacio de tiempo. Sólo en 24 horas, se habrá formado una masa equivalente a 4.000 veces el peso de nuestro planeta.

- ¿Cuál es la conclusión de esto?. Bien, **las sustancias químicas, una vez eliminadas, se quedarán fuera, pero este no es el caso de los contaminantes microbiológicos.**

- ¿Cuál será la consecuencia de ello? Si no se hace nada, en el transcurso del tiempo se producirá crecimiento de material biológico en las superficies internas del sistema de distribución de la clínica, formando el llamado **Biofilm**.

El Biofilm es una capa o película de materia orgánica.

- Tiene unas cinco micras de espesor y está formado por bacterias rodeadas de una mucosidad de polisacáridos que protege a las células vivas.

- Se forma sobre todos los tipos de materiales, a pesar de que el tiempo de formación varía, dependiendo de la estructura de la superficie.

- Una vez que se ha formado, es casi imposible eliminarlo por completo. -Y, finalmente, libera continuamente productos bacterianos al agua, tales como endotoxinas y metabolitos.

Por consiguiente, el sistema de distribución después de la unidad de ósmosis inversa puede muy bien contener altos niveles de materia microbiológica, aunque no esté presente en la fase de agua libre. Las mangueras de conexión a la máquina de diálisis constituyen también un eslabón muy débil, puesto que no es muy habitual que lleguen a ellas los desinfectantes y que

se cambien con frecuencia, aunque no existen normas para efectuar estos cambios.

Existen diferentes normas microbiológicas para el agua para hemodiálisis en diferentes países en el mundo. La norma AAMI, originaria de Estados Unidos, ha sido ampliamente utilizada como patrón en casi todo el mundo durante más de una década. Según ella, el recuento de bacterias en agua no debe de sobrepasar las 200 UFC/ml, y el líquido de diálisis no debe sobrepasar las 2.000 UFC/ml. Actualmente, no existen límites de endotoxinas en el agua para diálisis, sólo en el agua que se vaya a utilizar con propósitos de reutilización, en la que el límite se fija en cinco EU/ml. En Europa, la Farmacopea Europea exige un máximo de 100 UFC/ml y de 0,25 EU/ml y lo mismo hacen ciertos países europeos como Francia, Suecia, Holanda y Alemania. La norma española Norma UNE-301-90 "Características del agua utilizada en hemodiálisis" se basa en la AAMI norteamericana.

Veamos ahora la influencia que sobre el medio de cultivo ejercen el medio y la temperatura:

- Cuando se cultivan bacterias se aplica un determinado volumen de muestra tomada en condiciones estériles sobre una placa en la que hay un medio de cultivo, preferiblemente adaptado al tipo de organismo que estamos buscando.

- Se cultivan a una temperatura adecuada durante un cierto período de tiempo.
- Se cuentan las colonias formadas y se expresan en Unidades formadoras de Colonias (UFC).

Utilizando nuevas técnicas, en las que el medio de cultivo está más adaptado a las bacterias del agua, tales como el TGEA (extracto triptona glucosa agar) o R2A, y cultivándolas a temperatura ambiente, de unos 20°C, durante 7 días, la diferencia será muy notable.

Se efectuaron estudios comparando ambas técnicas, y se obtuvieron los siguientes resultados. Empezando con el agua normal del grifo y cultivándola durante 7 días a 37° C, se obtuvieron 70 UFC/ml con sangre agar, 200 UFC/ml con Triptosa soja agar y 1.400 UFC/ml cuando se utilizó TGEA como medio de cultivo. Si este mismo cultivo se realizara a 20° C, el número se elevaría a 6.900 UFC/ml, que es 100 veces mayor que con sangre agar.

- ¿Cuál es la conclusión de todo ello? Bien, esto significa que la mayoría de las veces subestimamos enormemente el crecimiento bacteriano en el agua para diálisis y podríamos tener un sentido de falsa seguridad ya que los resultados no representan la realidad.

El sistema de líquidos en una clínica de diálisis es como una cadena formada por un gran número de eslabones:

- El agua de entrada
- El tratamiento del agua en los filtros M pretratamiento y en la unidad de ósmosis inversa
- El sistema de distribución y las mangueras de conexión a la máquina de diálisis
- La máquina de diálisis, los concentrados utilizados y, finalmente, la conexión de drenaje.
- Todos estos eslabones deben mantenerse y desinfectarse con una frecuencia determinada para asegurar una calidad microbiológica consistente del líquido de diálisis. Ninguna cadena es mas fuerte que su eslabón mas débil.

Por tanto, hay que mantener la cadena higiénica intacta efectuando frecuentes desinfecciones del sistema de líquidos, ¡incluyendo la unidad de ósmosis inversa y el sistema de distribución del agua resultante!

Haciendo esto, impediremos la formación del biofilm y mantendremos una calidad microbiológica consistente en nuestro sistema de líquido de diálisis.

Ahora, llegamos a los resultados de la encuesta de opinión realizada durante la Conferencia de la EDTNA de 1996, a la que respondieron más de 1.000 enfermeras de diálisis previamente preguntadas sobre la calidad del líquido de diálisis en sus propias unidades. Conviene saber que la Farmacopea Europea recomienda que el agua para diálisis y, por tanto, el líquido de

diálisis, contenga un máximo de 100 unidades formadoras de colonias/ ml.

Se hizo la siguiente pregunta: **Atendiendo a la calidad microbiológica, ¿cumple la norma de la Farmacopea Europea, es decir, un máximo de 100 unidades formadoras de colonias/ml, el líquido de diálisis utilizado en su centro?**

Las respuestas posibles eran:

- Sí, con seguridad
- Sí, creo que sí
- Es posible que no
- No, con seguridad
- No tengo opinión.

Antes de mostrar el resultado, ¿por qué no nos paramos un momento a pensar en lo que habríamos contestado cada uno de nosotros? ¿Qué sabemos o creemos saber acerca de la calidad del agua y del líquido de diálisis de nuestras propias unidades?

1.055 enfermeras de diálisis europeas contestaron a las preguntas. El total, mostró que casi el 60% afirmaban saber que el líquido de diálisis cumple la norma de la Farmacopea. Sumando el 29% de las que no creían lo mismo, nos aproximamos al 90%. Como se pudo constatar, este convencimiento es común a casi toda Europa. Los países y regiones representados fueron Francia, Alemania, Italia, el Benelux, Escandinavia, España, Portugal y RU/Irlanda. Más del 70 % de las representantes de Francia, Italia y Escandinavia tenían mucha seguridad. En el Benelux y RU/Irlanda, fueron bastantes menos, alrededor del 50%. Sin embargo, agrupando resultados, se obtuvo que "Sí, con seguridad" y "Sí, creo que sí" equivalían al 85 % aproximadamente en todas las áreas, salvo quizá en España/Portugal, y ello nos demuestra que existe una firme creencia en que el líquido utilizado es correcto.

Se hizo una encuesta de opinión similar a los médicos asistentes al Congreso de la EIDTA de 1996. Cuando se comparan sus respuestas con las de las enfermeras, apenas se encontraron diferencias.

La conclusión es que la mayor parte de los profesionales europeos de la diálisis están convencidos de que la calidad del líquido de diálisis que emplean cumple las normas microbiológicas actuales. Teniendo en cuenta la información presentada con anterioridad, sabemos que los líquidos bien analizados presentan a menudo recuentos mucho más altos. Los métodos analíticos microbiológicos más utilizados infravaloran en gran medida la carga microbiana del líquido y, por tanto, proporcionan una falsa sensación de seguridad a los profesionales de la diálisis. Pueden pensar que la calidad del líquido es mejor de lo que en realidad es.

El reconocimiento de la verdadera carga microbiana de los líquidos de diálisis convencionales y la información cada vez mayor acerca de la actividad de estos líquidos a través de las membranas de diálisis intactas han traído consigo una demanda creciente por un líquido de diálisis más purificado. Hoy, son muchas las unidades de diálisis que emplean el llamado líquido de diálisis ultrapuro y nuestro próximo tema será: ¿Qué importancia tiene el líquido de diálisis ultrapuro?

Según distintas normas nacionales, el líquido de diálisis que contiene menos de 100 UFC/ml y niveles de endotoxinas inferiores a 0,25 UE/ml posee una calidad aceptable y cumple las normas generales.

Sin embargo, las cifras podían ser mas bajas.

Cuando se ultrafiltra el líquido de diálisis antes de su empleo, los recuentos bacterianos son 1000 veces menores, alcanzando 0,1 UFC/ml, y las endotoxinas caen por debajo de 0,03 EUE/ml.

Un líquido de diálisis que cumpliera estos criterios podría ser considerado "ultrapuro".

Sin embargo, ¿para qué molestarse en limpiar aún mas el líquido? En cualquier caso, las bacterias son demasiado grandes para atravesar la membrana del dializador. El motivo radica en las endotoxinas y sustancias similares.

Donde quiera que hay bacterias, hay productos bacterianos, tales como metabolitos y

fragmentos de las paredes celulares.

Estos productos son de distintas clases y es probable que aún faltan algunos por descubrir.

Empecemos con las "endotoxinas", que proceden de las paredes celulares exteriores de las bacterias gramnegativas. Su actividad biológica se asocia a los lipopolisacáridos, llamados LPS, que se encuentran intactos y que tienen pesos moleculares de varios centenares de miles.

Los lipopolisacáridos pueden fragmentarse, a su vez, para dar el lípido A, que es la parte más tóxica, y otros componentes.

Las endotoxinas son los productos bacterianos más abundantes en el líquido de diálisis. Por tanto, al valorar los productos bacterianos, se considera a menudo suficiente medir las concentraciones de estas endotoxinas. Podría decirse que éstas sirven como indicadores de la presencia de productos de desecho bacterianos.

Sin embargo, en el líquido de diálisis puede haber otras sustancias que también son de origen bacteriano. El muramilo péptido y los peptidoglucanos son asimismo componentes de la pared celular y pueden tener pesos de 1000 o incluso menos.

Las exotoxinas son, típicamente, toxinas proteicas que las bacterias vivas, tanto grampositivas como gramnegativas, liberan en determinadas circunstancias.

Lo que todas estas sustancias tienen en común es que, si pasan a la sangre, inducirán reacciones tóxicas e inmunitarias. Cuanto más alta sea su concentración, más espectacular será la respuesta que provoquen. La reacción febril es una consecuencia bien conocida de la exposición a concentraciones relativamente altas de cualquiera de estas sustancias.

Por tanto, también reciben el nombre de "pirógenos".

Se sabe que, incluso en concentraciones muy bajas, los pirógenos desencadenan la respuesta del sistema inmunitario del organismo. En el torrente sanguíneo, los pirógenos (o las endotoxinas, para simplificar) estimulan la producción de citocinas por los monocitos. Estas son proteínas pequeñas que actúan como mensajeros y que tienen una importante misión como mediadores de las respuestas inmunitarias del organismo. Cuando alcanzan su receptor específico en otra célula, inducen en ella un efecto específico. Para equilibrar estas reacciones, existen los antagonistas de los receptores de citocinas, que pueden bloquear los efectos de éstas.

La interleucina-1, el factor de necrosis tumoral y la interleucina-6 son ejemplos de citocinas cuya síntesis aumenta por efecto de los pirógenos. Se les llama "citocinas proinflamatorias" y su concentración aumenta en todas las reacciones inflamatorias, agudas o crónicas, pero también, como hoy sabemos, cuando el líquido de diálisis está contaminado.

Ahora, ya antes de iniciar la diálisis, el organismo del paciente urémico se halla expuesto a los factores de la inflamación, debidos tanto a la enfermedad renal primaria como a la uremia consiguiente. Al comenzar la diálisis, la inflamación aumenta aún más, debido a la exposición a las sustancias extrañas presentes en el dializador.

Por desgracia, las cosas no se detienen ahí. Además, se ha demostrado que el líquido de diálisis "convencional" contribuye al estado inflamatorio del organismo. Recientemente, se comprobó que muchos pacientes en hemodiálisis presentan valores altos de proteína C reactiva, así como de otros indicadores de la respuesta inflamatoria crónica. Muchos nefrólogos sospechan que el líquido de diálisis contaminado desempeña un papel fundamental en este trastorno inflamatorio.

Sabemos que las complicaciones a largo plazo de la diálisis (amiloidosis, inmunodepresión, malnutrición) sufren la influencia desfavorable del estado de inflamación crónica de estos pacientes. Por tanto, debería evitarse la adición de cualquier otro factor que despierte la respuesta inflamatoria. Un paso en la dirección adecuada podría ser el uso de un líquido de diálisis ultrapuro.

Teniendo en cuenta todo lo antedicho, nos podríamos preguntar si la membrana de diálisis ofrece algún tipo de protección. Se efectuó un estudio *in vitro* en el que se añadieron endotoxinas al líquido de diálisis. El paso de estas sustancias a través de las distintas membranas y al interior del árbol circulatorio se investigó midiendo la capacidad de los líquidos para inducir la producción de TNF en los monocitos. Las membranas sintéticas de

alto flujo, de poliamida o polisulfona, no parecieron permitir el paso de ninguna sustancia activadora. Aquí, la adsorción a la membrana desempeña un papel importante. Por otra parte, una membrana celulósica apretada y de flujo bajo fue la que mayor grado de activación permitió.

De hecho, otros estudios indican que, cuando la provocación es lo bastante grande, las sustancias inductoras de la producción de citocinas pueden atravesar todas las membranas de diálisis.

Por tanto, debemos llegar a la conclusión de que, aun cuando las membranas de diálisis puedan ofrecer cierto grado de protección frente a la contaminación bacteriana, la forma más segura de combatirla es el uso de un líquido de diálisis ultrapuro.

Para conseguir este nivel de calidad, debemos partir de un agua de gran calidad. A continuación, las vías de flujo deben gozar de un diseño y mantenimiento higiénicos y las adiciones al líquido deben ser microbiológicamente seguras. El último paso debe ser la ultrafiltración.

El ultrafiltro se coloca antes del dializador, donde retiene los productos bacterianos tanto por exclusión de tamaño como por adsorción. Las sustancias más grandes, con tamaños superiores a 30-40 kD, no pueden atravesar los poros. Los solutos más pequeños, como las endotoxinas, se fijan por adsorción a la membrana.

Ahora, veamos ciertos resultados clínicos.

El primer ejemplo procede de una clínica holandesa, que logró mejorar el estado inflamatorio de sus pacientes con la mera limpieza del agua. Las concentraciones de endotoxinas presentes en el líquido solían ser muy superiores a los niveles recomendados. Después de instalar un nuevo sistema de tratamiento del agua, con desinfección por calor integrada de toda el asa de distribución, las concentraciones de endotoxinas descendieron hasta alcanzar los valores recomendados por la Farmacopea Europea.

Este efecto supuso un descenso espectacular de las concentraciones plasmáticas de endotoxinas, que pasaron de 0,7 unidades por ml (UE/ml) a 0,2 al cabo de 5 semanas y a 0,1 después de 5 meses. De igual modo, las concentraciones de IL-6 pasaron de los altos niveles iniciales a valores indetectables ya a las 5 semanas. ¿Sería posible mejorar aún más estos resultados clínicos con una purificación mayor, hasta lograr un líquido ultrapuro?

Ya en 1994, Schindler y cols. demostraron, en sus pacientes sometidos a diálisis crónica, un descenso de la inducción de citocinas asociado a la introducción de la ultrafiltración del líquido de diálisis. Estos autores midieron los niveles de la citocina antes, con un líquido convencional, y después del paso a un líquido ultrafiltrado. Usaron el antagonista del receptor de la interleucina-1, que es un indicador muy sensible de la respuesta de los monocitos a las endotoxinas.

Incluso antes de utilizar el líquido de diálisis ultrapuro, el grado de contaminación era relativamente bajo, con recuentos bacterianos (mediana) de 148 UFC/ml.

Si embargo, al pasar del líquido convencional al ultrafiltrado, se produjo un descenso significativo de los niveles de IL-1 Ra. Estos resultados indican claramente que el estado inflamatorio de los pacientes en diálisis puede reducirse con el uso de un líquido de diálisis ultrapuro.

- ¿Qué importancia tiene esto para el paciente? El síndrome del túnel carpiano es una complicación a largo plazo bien conocida de los pacientes en diálisis, relacionada con la acumulación de β_2 microglobulina. Sin embargo, la inflamación también parece desempeñar un papel importante en el desarrollo del STC.

Baz y Berland, de Marsella, pudieron demostrar que el uso de un líquido de diálisis carente de toxinas había producido un retraso espectacular del comienzo del síndrome del túnel carpiano en sus pacientes.

Los pirógenos, casi todos ellos endotoxinas, se encuentran a menudo en los líquidos de diálisis convencionales y pueden atravesar las membranas del dializador. Incluso en bajas concentraciones, su presencia en la sangre induce una respuesta inflamatoria.

Esta respuesta inflamatoria podría ser un cofactor importante en el desarrollo de varias de

las complicaciones a largo plazo que sufren los pacientes en diálisis. Si así fuera, el uso de un líquido de diálisis ultrapuro podría contribuir en gran medida a un tratamiento más biocompatible.

Veamos ahora la opinión general sobre el líquido de diálisis ultrapuro. Se hizo la pregunta a 1.600 enfermeras de diálisis durante una de las últimas conferencias de la EDTNA.

• Se preguntó: ¿Qué opina usted acerca del uso de un líquido de diálisis ultrapuro en la hemodiálisis?

Las respuestas posibles eran:

- No es necesario
- Probablemente sea bueno
- Es importante
- No tengo opinión

• ¿Qué hubiera contestado usted?

El 67 %, es decir, casi dos terceras partes de las 1.600 enfermeras, consideraron importante usar un líquido de diálisis ultrapuro. Otro 22 % afirmaron que probablemente sería bueno. Una vez más, sumamos alrededor del 90 %. Esta opinión fue casi unánime en toda Europa, superando el 75 % en Francia y el Benelux. Sólo las británicas e irlandesas estaban un poco menos seguras, ya que el 55 % dijeron que era importante y el 28 % contestaron que probablemente sería bueno, lo que suma más del 90 %.

Comparando estas opiniones con las que dieron los médicos en el congreso de la EDTA, no hubo diferencias. Todos coincidieron en que el líquido de diálisis ultrapuro es importante.

La conclusión fue que dos terceras partes de todos los profesionales de la diálisis querían purificar los líquidos más de lo que aconsejan las recomendaciones habituales y usar líquidos de diálisis ultrapuros. Y este debe de ser también nuestro reto, conseguir un líquido de diálisis que sea cada vez de mayor calidad para beneficio de nuestros pacientes de diálisis.