

CONTAMINACIÓN DEL LÍQUIDO DE DIÁLISIS POR ENDOTOXINAS BACTERIANAS. EMPLEO DE UN ULTRAFILTRO COMO MEDIDA PREVENTIVA. - 2º TRIMESTRE. 1995

AUTORES:

*M.L. Medina Fernández-Aceytuno y M.R. Rodríguez Aguiar
Hospital Ntra. Sra. De la Candelaria. Tenerife. 1.995.*

PALABRAS CLAVE:

*HEMODIÁLISIS
LÍQUIDOS DE DIÁLISIS
ULTRAFILTRO*

La calidad del agua usada para hemodiálisis puede variar considerablemente debido a los distintos tipos de tratamientos que se le apliquen, no estando libre de contaminaciones bacterianas puesto que se trata de circuitos abiertos. La asociación para el avance de la instrumentación médica (A.A.M.I.) y el National Kidney Foundation, recomendaron que el límite de bacterias en agua debe ser inferior a 200 colonias /ml^{1,2}. En el año 1971, Robinson et al³ demostraron que bacteriemia transitoria o reacciones pirógenas durante los tratamientos con hemodiálisis podrían estar relacionadas con elevados contajes de colonias bacterianas y/o elevadas concentraciones de endotoxinas en el líquido de diálisis. En el año 1973, Raif et al⁴ comprobaron que los pacientes en hemodiálisis que presentaban fiebre estaba relacionada con la contaminación del líquido de diálisis y en un 63% de los pacientes examinados se les encontró elevadas tasas de endotoxinas con cultivos negativos. Estudios realizados in vitro han mostrado que las endotoxinas o fragmentos de ella pueden atravesar las membranas dialíticas y relacionarse con reacciones de fase aguda que presentan los enfermos durante la hemodiálisis⁴. Datos publicados muestran que la frecuencia de reacciones pirógenas en USA entre 1973-1983 fue entre el 11 y 15%^{5,6}. Los síntomas durante la hemodiálisis que se han ido observando y relacionados con la calidad del agua y de los líquidos dialíticos han ido decreciendo en los últimos años, debido a la mayor importancia que se le ha ido dando a la calidad del agua. No obstante, con la incorporación de la membrana de alta permeabilidad que podrían permitir el paso de las endotoxinas con más facilidad al torrente circulatorio, la calidad del agua es un tema que cobra una gran importancia. En 1987, Dianarello et al publicaron los primeros trabajos de eliminación de endotoxinas y bacterias por ultrafiltración usando membranas capilares⁷ a tal efecto, Baz et al en el año 1991 publican resultados beneficiosos a largo plazo con la utilización de líquidos dialíticos libres de endotoxinas en relación con la incidencia del Síndrome del túnel carpiano CTS, mostrando que la probabilidad de presentar un CTS es significativamente más baja en los pacientes tratados con agua ultrapura que en el grupo tratado convencionalmente, concluyendo que la utilización del agua ultrapura minimiza la producción y secreción de B₂-microglobulina y que el uso simultáneo de agua ultrapura y membrana de alta permeabilidad puede reducir la amiloidosis de estos pacientes⁸.

OBJETIVOS DEL TRABAJO

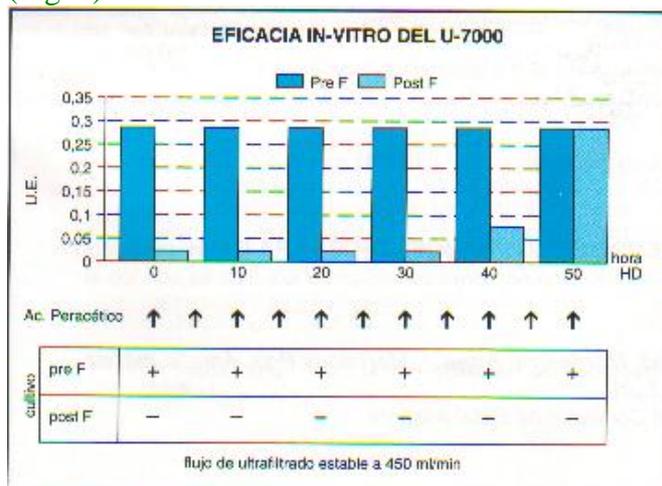
Comprobar la eficacia de los dispositivos U.7000 (UF) diseñados para la obtención de líquidos dialíticos libres de bacterias y endotoxinas, así como, la posibilidad de su reutilización con desinfección química.

MATERIAL Y MÉTODO

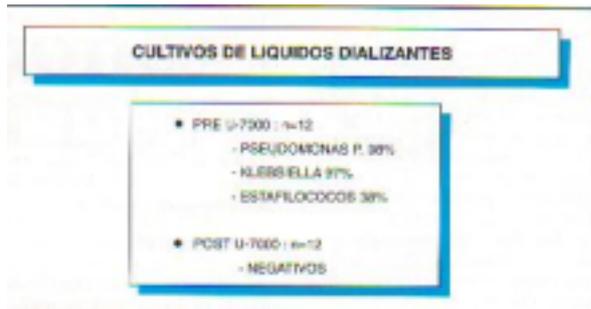
Modificación del circuito hidráulico de monitor de hemodiálisis Monitral SC30, aumentando el caudal del líquido de diálisis que nos permitiera un flujo de ultrafiltrado de 450 ml/m cuando colocábamos en línea el ultrafiltro UF de membrana de poliamida en capilar de 60 micrometro de espesor de pared, un área efectiva de ultrafiltración de 1,4 m², un diámetro interno de la fibra (Hallow Fibes) 215 micrometro y esterilizado con óxido de etileno. Se procedería a la simulación de hemodiálisis diariamente durante 2 sesiones de 3 horas, con desinfección con ácido peracético al 0,1% y exposición al mismo durante el periodo de no utilización. Se tomaron muestras del líquido de diálisis pre y post filtro para determinación de cultivos bacterianos y niveles de endotoxinas. Todo este proceso se realizó a lo largo del tiempo hasta que las determinaciones de endotoxinas en el líquido dialítico postfiltro superaron la sensibilidad del método de detección utilizado y utilizando 3 UF. El método empleado para la determinación de endotoxinas fue el Unitest de la firma Pyrotel (Lumulus Amebociter Lisate) semicuantitativo, siendo los márgenes de detección 0,06 UE/ml límite superior. Los cultivos se realizaron de forma convencional.

RESULTADOS

Comprobamos que los líquidos dializantes ultrafiltrados a través del UF presentaban niveles de endotoxinas no detectables por nuestro método durante las primeras 36 horas de ultrafiltración continuada. En las siguientes 10-12 horas detectamos niveles entre (0,06/0,125 UE/ml), superándose el nivel superior de nuestro método (0,25 UE/ml) a partir de este momento (Fig. 1)



Las 12 muestras para cultivo del ultrafiltrado fueron negativas en todo el tiempo del ensayo, mientras que los cultivos del líquido de diálisis preultrafiltración fueron reiteradamente positivos para pseudomonas pútidas, Klebsiella y en ocasiones estafilococo (Fig. 2) Durante todo el tiempo del ensayo también comprobamos que el flujo del ultrafiltrado no se modificó manteniéndose estable en 450 ml/m en los 60 H de ultrafiltración.



DISCUSIÓN

La ultrafiltración con el UF nos dio un producto libre de bacterias y endotoxinas hasta las 36 horas de utilización en 12 muestras respectivamente, a pesar de la excesiva exposición desde nuestro punto de vista del UF ácido peracético, mostrándose éste también como un producto idóneo para mantener el circuito libre de contaminación bacteriana durante el proceso de utilización y crecimiento bacteriano mientras no es utilizada.

El flujo de ultrafiltrado por minuto se mantuvo estable a lo largo de todo el ensayo, sin observar caída significativa. En la determinación de las endotoxinas hemos utilizado el método semicuantitativa LAL de la firma Pyrotell, el más usado y que nos orienta a que el dispositivo es eficaz en la reducción de endotoxinas presentes en el líquido de diálisis. Las endotoxinas están formadas por distintas moléculas (lipopolisacáridos LPS, lípido A peptidoglicano, muramilo péptido) Los LPS y peptidoglicano son moléculas grandes y probablemente rechazados por cualquier membrana dialítica, sin embargo los muramilo péptidos (0,4-1 KD), las subunidades naturales del peptidoglicano, así como el lípido A en forma monomérica (2-4 KD) subunidades de LPS por su tamaño pueden no ser rechazados por las membranas en general y ser lo suficientemente pequeño para pasar disuelto en agua por la membrana High Flux. Recientemente se ha comprobado que alguna bacteria Gram(-) Como las pseudomonas pueden secretar exotoxinas de peso molecular tan bajo Shalton⁽⁹⁾ Los test utilizados para comprobar los materiales, tales como, agua, suero, etc., se encuentran libres de pirógenos y son dos: LAL y el otro es el test de pirógenos en conejos, sin embargo estos métodos pueden presentar algunas limitaciones, aunque el test de LAL es muy sensible para detectar LPS y lípido A (límite de detección (1 pq/ml)) falla al detectar otros pirógenos como podrían ser las exotoxinas y los muramilo péptidos, por lo que se ensayan otros métodos más sensibles, tales como, cultivos de monocitos. Por estos motivos, no podemos tener la certeza de que el UF sea totalmente eficaz en la reducción de todos los tipos de endotoxinas, pero datos publicados por Bambaner et al⁽¹⁰⁾ muestran que las elevaciones durante y post hemodiálisis de la interleuquina (IL-1) es menor en los pacientes dializados con líquidos sin endotoxinas donde se utilizó el UF que en los pacientes que realizan diálisis convencional, como expresión de que la reducción de endotoxinas es manifiesto.

CONCLUSIONES

La ultrafiltración del líquido de diálisis es eficaz para la reducción de endotoxinas, que los dispositivos a tal efecto pueden ser reutilizados, siendo el ácido peracético probablemente el desinfectante idóneo y que el monotest LAL de Pyrotell puede ser la técnica de elección dada su sencillez para el control de calidad de estos sistemas durante su utilización continuada. Si bien, se precisa una readaptación de los monitores de diálisis convencionales para que nos permita la utilización de los ultrafiltros de los líquidos dializantes y que precisará tiempo, será sin duda una técnica de implantación progresiva hasta la generalización como está ocurriendo con la diálisis

con Bicarbonato, por sus claros beneficios a los pacientes que reciben tratamiento con hemodiálisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Association for the advancement of Medical. Instrumentation: Proposal (Arlington Press, Arlington 1981).
2. National Kidney Foundation: Revised Standards For Reuse Of Hemodialyzers. *Am J Kidney Dis* 1984; 3: 466-468.
3. Robinson, P.J.A, Rosen, S.M. Pyrexial Reactions During Haemodialyses: *Br Med J* IV: 1971; 528-530.
4. Raif, S., Shapiro, F.L., Michael, A.F. Endotoxaemia In Febrile Reactions During Haemodialyses *Kidney Int* 1973; 4:53.
5. Borumes, J., Beckes, K.P., Urbasched, R., Ritz, E., Urbaschek, B. No Evidence Por Endotoxin Transfer Across High-flux Polysulfone Membrane. *Clin Nephrol* 1987; 27: 278-282.
6. Chemoweth, E.E., Chemig, A.D., Henderson L.W. Anaphylatoxin Formation During Hemodialysis Effects of different dilayzes membrane. *Kidney Int* 1983; 24: 764-769.
7. Dianarello, C.A., Ionnemann G., Maximell, R., Sahldon, S. Ultrafiltration To Reject Human Interleukin-1 Induring Substances Derived Form Bacterial. *Cultures* 5. *Clin microbial* 1987; 25: 1233-1238.
8. Baz M Durandc, Ragon, A. Et al: Using Ultrapure Water in Hemodialyses Dilags Corpal Tunnel Syndrome. *Int J Artificial Org/vol* 1991; 14: 681-685.
9. Shaldons, Koch (eds). *The Evolution Of e Synthetic Membrana For Renal Therapy Contrib Nephrol*. Basel, Ksdhrd 1992, vol. 96, 47-63.
10. Bambaues, R., Walther, J., Jung W.R. Ultrafiltration Of Dialyses Fluid To Obtain a Sterile Solution During Hemodialyses *Blood Purif* 1990; 8: 309-317.