

Contribución a la normalización de la metodología analítica en el control microbiológico de agua y líquido de hemodiálisis Recopilación y ordenamiento de documentos nacionales e internacionales

Por: Ricardo Botta
Electromedicina y Servicios
<http://www.rickybotta.blogspot.com/>

1. [Fundamentos](#)
2. [Recolección y almacenamiento de las muestras](#)
3. [Medios de cultivo recomendados](#)
4. [Técnica analítica y recomendación del uso del TGEA por EDTNA /ERCA.](#)
5. [Calidad microbiológica del agua de hemodiálisis](#)
6. [Algunas consideraciones sobre endotoxinas](#)
7. [Conclusiones](#)
8. [Referencia base sobre la metodología analítica:](#)
9. [Bibliografía general](#)

1- FUNDAMENTOS:

La necesidad de obtener agua purificada, utilizada en la preparación del líquido de diálisis deviene principalmente de la utilización de dializadores de alto flujo con elevadas probabilidades de retrofiltración y la denominada técnica "on-line", infusión del propio líquido de diálisis al paciente, establece la necesidad de nuevos elementos y/o configuraciones en los tratamientos de agua. De tal manera, que no solo se consiga esta calidad del agua de forma inmediata a la instalación o modificación del tratamiento sino que permanezca a lo largo del tiempo de forma fiable, tanto en calidad como en cantidad, pues el agua va a suponer más del 96 % del líquido de diálisis.

La distribución del agua es tan importante como su tratamiento, puesto que el agua tratada almacenada es susceptible de sufrir contaminaciones; no deben existir fondos de saco (residuos), piezas con hendiduras o formas que puedan servir de reservorio microbiano o impedir el flujo laminar, incluyendo como parte de la red de distribución el propio tubo de toma de agua de la máquina.

Por todo ello el agua debe de ser distribuida de manera que esté en permanente circulación, incluido hasta la máquina, a velocidad en torno a >1m/seg. regresando la no utilizada al tratamiento de agua y ser de nuevo tratada.

De nada sirve utilizar un dializador con una membrana muy biocompatible y de alta permeabilidad si se emplea un líquido de diálisis contaminado con bacterias o con gran cantidad de pirógenos (1). Aún más, en estas circunstancias el uso de ese dializador podría resultar contraproducente (1-3).

La biocompatibilidad se convirtió en uno de los objetivos de la hemodiálisis actual. El líquido de hemodiálisis constituye una parte fundamental de la biocompatibilidad y de ahí, la necesidad e importancia de tratar adecuadamente el agua utilizada en su fabricación y de alcanzar un adecuado nivel de calidad (1-4).

El agua suministrada a las ciudades debe cumplir una serie de requisitos imprescindibles que la hacen apta para el consumo humano, reglamentado por cada legislación local.

El agua potable de las principales ciudades argentinas es de inmejorable calidad, tanto por su baja contaminación como por su abundancia. En algunas ciudades, principalmente en la zona oeste de la provincia de Santa Fe, existen contaminantes propios de la composición subterránea como Nitratos, Nitritos y Arsénico, los que deben eliminarse para cumplir con los requerimientos de potabilidad exigidos por el Código Alimentario Argentino.

Aunque el agua proveniente de la red es potable, no sirve para la fabricación del líquido de diálisis. Atrás quedaron las épocas en que la solución de diálisis se preparaba con agua proveniente de la red pública sin tratar, en el mejor de los casos proveniente de un calefón para atemperizarla.

Hoy se hace necesario purificarla y mantener grados de pureza muy superiores. Esto es así porque, cada semana, la sangre del paciente sometido a hemodiálisis se pone en contacto con 270-600 litros de agua y lo hace a través de una membrana nada selectiva y por otro lado, la insuficiencia renal le impide eliminar los contaminantes acumulados, pudiéndole ocasionar una verdadera intoxicación.

La exigencia respecto a la calidad del agua y líquido de diálisis ha ido aumentando y el objetivo inicial de contar con un sistema de tratamiento del agua en la unidad de hemodiálisis, debe dejar paso a "la norma de calidad del líquido de diálisis, a su cumplimiento y control".

Al principio, se trataba de prevenir el síndrome de agua dura y las contaminaciones bacterianas (5). Posteriormente, hubo que enfrentarse a contaminantes difíciles de eliminar; es el caso de metales como el aluminio, cuya intoxicación produce encefalopatía y osteomalacia, agregado como floculante en la forma de sulfato de aluminio en nuestra región y que deja restos en el agua de red, el que no produce inconvenientes al beberlo, pero sí cuando ingresa al torrente sanguíneo, (6,7) o de las cloraminas, que pueden provocar auténticas epidemias de anemización por hemólisis (8). En esta década, la mayor preocupación se ha centrado en las complicaciones con repercusión a medio y largo plazo, adquiriendo importancia el tema de las endotoxinas, responsables no sólo de las llamadas reacciones a pirógenos, sino también del desarrollo de un estado inflamatorio crónico que repercute, a la larga, en diversos aspectos clínicos de los pacientes (9-11). El próximo objetivo será conseguir un líquido de hemodiálisis ultrapuro que contenga sólo agua y sus componentes necesarios, con un grado de pureza similar al exigido para las soluciones empleadas en infusión intravenosa. Se deberá concebir al líquido de diálisis como un medicamento más de los que se administra a los pacientes.

1-1 AGUA TRATADA Y LÍQUIDO DE DIÁLISIS

En la extensa bibliografía relevada, las metodologías de muestreo como de análisis no diferencian entre agua tratada y líquido de diálisis, si bien el segundo es una mezcla de sales con parte de la primera, el que se vuelve a diluir durante la hemodialización.

En adelante, los métodos de toma de muestra, transporte y metodología analítica se referirán a ambos (49), sin embargo los estándares varían aunque se tiende a que sean lo más bajos posibles.

1-2 CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS COMUNES EN EL AGUA

El agua potable no es estéril, contiene contaminantes que se encuentran dentro de límites admisibles para el consumo humano.

El concepto de contaminante es genérico pero se puede dividir en dos grandes grupos: Contaminantes microbiológicos y contaminantes químicos. El agua tratada de las grandes ciudades de la República Argentina contiene una pequeña cantidad o directamente no contiene contaminantes microbiológicos debido a la cloración obligatoria. Sin embargo, dependiendo de la región o del la toma de donde provenga, puede contener elementos en concentración variable que interferirán en el tratamiento de purificación. Si se habla de un agua obtenida en la red de distribución de la ciudad de Rosario, ésta contiene una baja concentración de metales los que no saturan la resina de intercambio iónico con facilidad. Conforme el agua se tome de napas profundas o de surcos de agua que atraviesen quebradas, rocas u otras formaciones geológicas, ésta agua será más dura, rica en metales divalentes como el calcio y magnesio y en otros más peligrosos para el hemodializado. Estas aguas saturarán con facilidad la resina de intercambio iónico, evidenciando un aumento considerable en su conductividad.

Como se consignó, los contaminantes pueden provenir de la propia fuente u origen del agua, de su sistema de distribución o incluso ser añadidos por las autoridades sanitarias con el fin de mejorar sus cualidades de potabilidad (sulfato de Aluminio como floculante, Flúor. También Cloro como biocida). Por otro lado, el propio tratamiento del agua y su sistema de distribución pueden ser fuente de contaminación. Así, las resinas de los descalcificadores y desionizadores o el carbón activado pueden ser fuente de contaminación bacteriana, del mismo modo que el uso inadecuado de sistemas de conducción de cobre o plomo o bien la presencia de restos de desinfectantes o desincrustantes, empleados en la esterilización del sistema de tratamiento, pueden ser causantes de graves intoxicaciones.

El corte en el suministro de agua potable para la ejecución de obras, puede conducir a una contaminación ferruginosa y/o microbiológica.

En éste caso se tratará la detección de la contaminación microbiológica y su metodología analítica más apropiada, considerando que por el recuento en placa se pueden evidenciar solamente colonias bacterianas y fúngicas. En el caso de obtener cultivos sospechosos, la recomendación es efectuar cultivos selectivos o tipificar el germen.

1-3 MICROORGANISMOS CONTAMINANTES:

Aunque la legislación sólo requiera el conteo de U. F. C., las que engloban principalmente a Bacterias y a Mohos (Hongos y Levaduras), el agua puede estar contaminada por alguno de los siguientes microorganismos:

- *Bacterias
- * Levaduras
- * Hongos
- * Protozoos
- * Virus.

1-4 CONTAMINACIÓN BACTERIANA Y ENDOTOXINAS EN EL AGUA Y LÍQUIDO PARA HEMODIÁLISIS

Las Unidades de Hemodiálisis están sujetas a unas normas de funcionamiento en cuanto a la calidad del agua y líquido de diálisis (13-17). Estas normas varían de unos países a otros (18) y están evolucionando en el sentido de exigir más calidad. Las mejoras técnicas del tratamiento del agua y líquido de dializado han logrado que su calidad en cuanto a contaminación por partículas y solutos sea buena. Sin embargo, no ha sucedido así con la contaminación bacteriana y las endotoxinas, que han persistido como un problema importante.

La calidad bacteriológica del líquido de diálisis depende del diseño de la planta de tratamiento de agua, de su sistema de distribución, del tipo y de la calidad de los concentrados para diálisis, del método de desinfección del circuito y máquinas y como no, del método de control que se utilice. Es fundamental la metodología empleada para cultivar las muestras de agua y líquido de dializado, cómo y cuando tomarlas y cómo procesarlas.

En este punto, hay gran disparidad de opiniones, entre otras cosas, porque no hay normas establecidas. Existen varios trabajos epidemiológicos multicéntricos que evalúan la calidad del agua y líquido de diálisis (19-21). El primero se llevó a cabo en Norteamérica Central (18) en 51 centros de hemodiálisis, que cumplían las normas AAMI. Se recogieron muestras aleatorias que demostraron contaminación en un 35,5 % de casos de agua tratada y en un 19 % de los líquidos de diálisis. El 6 % tenían más de 5 UE/ml de endotoxinas LAL detectables. El 76% y el 30% de los centros tenían respectivamente, hongos y levaduras en sus tratamientos de agua.

Existen gérmenes perfectamente aclimatados a un medio tan hostil como es el de los circuitos de agua tratada y Líquido de Diálisis, en los que por poner un ejemplo, apenas hay nutrientes. Estos gérmenes son especiales y como tales, deben ser valorados. Cuando el sistema está estanco, los gérmenes no pueden pasar desde el Líquido de Diálisis a la sangre pero sí lo van a poder hacer las endotoxinas, productos bacterianos biológicamente activos que forman parte de la membrana externa de los gérmenes Gram negativos.

Las endotoxinas son capaces de pasar, a través del dializador, desde el líquido de diálisis a la sangre, activar a las células sanguíneas y condicionar una situación inflamatoria crónica en el paciente. Esta situación determina la patología enumerada a continuación.

Efectos de la activación de las citoquinas proinflamatorias

- | | |
|---|---|
| • | Reacciones a pirógenos |
| • | Síndrome postdiálisis |
| • | Alteración de la respuesta inmunitaria |
| • | Amiloidosis asociada a diálisis |
| • | Disminución de la respuesta a la eritropoyetina |
| • | Arteriosclerosis |
| • | Debilidad muscular |
| • | Pérdida de masa ósea |

2- RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS:

No existe un standard para la frecuencia de análisis ni la cantidad de agua a tomar para efectuar la valoración de la contaminación bacteriana. La mayor parte de los autores aconsejan en la actualidad un relevo mensual a cada nivel de la cadena de tratamiento del agua.

En todos los casos se consigna un relevamiento mensual a la salida de la máquina de diálisis. La toma de 10 a 20 ml se debe efectuar tras 2 minutos de escurrimiento del líquido con la ayuda de material estéril y apirógeno (por ejemplo tubos de vidrio calentados a 180 °C por 4 Hs.) La muestra

puede ser conservada por un máximo tiempo de 24 Hs. A 2-8 °C antes de ser sembrada en un medio adecuado. (48)

El Manual de procedimientos de los laboratorios médicos del Hospital Monte Sinaí (2 de Julio de 2003), recomienda la extracción de muestra como se describe a continuación (47):

Para obtener una muestra adecuada, se debe recolectar un mínimo de 10 ml. De agua en forma aséptica en un recipiente estéril amplio, de manera de tener una generosa cámara de aire que permita el mezclado. Se debe evitar cualquier tipo de salpicaduras.

Enviar al laboratorio de Microbiología inmediatamente ó dentro de las 24 Hs. refrigerando las muestras a 4 – 6 °C.-

Las Guías de la **EDTNA / ERCA** sugieren la siguiente metodología para la extracción de las muestras:

Si las muestras debieran ser almacenadas, éstas deberán ser refrigeradas para evitar el desarrollo bacteriano. El refrigerado repetido reduce la medición de niveles de endotoxinas . (Se incluye una opinión dudosa: Si se desea transportar la muestra en hielo seco, éstas condiciones son válidas)

Si las muestras son extraídas de un grifo, éste debe ser desinfectado (por ejemplo con el hisopado con etanol al 70% ó Isopropanol al 80 – 90%, esperando la evaporación del alcohol.

Luego de que el grifo se ha abierto y corrido aproximadamente 2 litros de agua a alto flujo, tomar la muestra sin tocar el grifo. (COMENTARIO: sin respirar ni hablar frente al colector ni a la muestra que está saliendo).

CONCLUSIÓN PARA LA TOMA DE MUESTRAS

La muestra debe recogerse en un recipiente estéril (colector), habiendo desinfectado con etanol al 70% el grifo, dejando correr a alta presión un mínimo de 2 litros, sin tocar el borde del grifo, sin respirar ni hablar delante del colector, dejando una cámara de aire para la homogenización de la muestra.

Esta debe ser remitida de inmediato al laboratorio o enviada refrigerada (se recomienda gel refrigerante) dentro de las 24 Hs.-

3- MEDIOS DE CULTIVO RECOMENDADOS

La Farmacopea europea aconseja el medio de cultivo a base de hidrolizado de caseína de soja. La AAMI consigna el medio de cultivo "TSA" (Tryptic Soy Agar). Pueden utilizarse también otros medios cuya aptitud para permitir el crecimiento de un amplio espectro de microorganismos haya sido testada.

Debido a que los Microorganismos que habitan en el circuito de agua no poseen nutrientes, el medio empleado para el crecimiento debe ser similar, bajo en nutrientes.

Luego de haber comparado la sensibilidad de diversos medios y de la temperatura de incubación a 37 ó de 20 °C, **Ledebo y Nystrand** (Artif Organs 1999; 23: 37-43) han recomendado el medio "TGEA" (Tryptone Glucose Extract Agar) el que se incubaba por 2 días a 20 °C. (48).

Sin embargo el tiempo de cultivo se puede extender hasta 7 días.

Al respecto, en otra publicación (43) los autores expresan lo más significativo de la presente recopilación:

"Este estudio demuestra un incremento de 10 a 100 veces en el recuento bacteriano del fluido de diálisis incubado en Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA) a 20 °C durante 5 días comparados con la incubación en Tryptic Soy Agar a 37 °C durante 7 días.-"

(Posteriormente se aplican las recomendaciones de otras asociaciones que han desarrollado estudios similares ampliándose el tiempo a 5 – 7 días).-

4- TÉCNICA ANALÍTICA Y RECOMENDACIÓN DEL USO DEL TGEA POR EDTNA /ERCA.

4-1 **EDTNA** es la European Dialysis & Transplant Nurses Association y **ERCA** es la European Renal Care Association, – 24 rue Chaucat – F75009, Paris, France. E mail: info@edtna-erca.org
Sin haber hallado específicamente la recomendación del TGEA y considerando la importancia de éstas asociaciones, en varias publicaciones, recomiendan una técnica apropiada para el cultivo y desarrollo de microorganismos que brinde un buen recuento en muestras de agua purificada.

Los niveles de Hongos y Levaduras (mohos) podrán ser monitoreados periódicamente utilizando otra técnica más específica (agar glucosado de Sabouraud)

4-2 La **ERA / EDTA** (European Renal Association / European Dialysis and Transplant Association) utiliza y recomienda la técnica para el examen microbiológico de productos no estériles

descrita en la Farmacopea Europea (sección 2.6.12), sin embargo no es totalmente apropiada para líquido de diálisis. La evidencia sugiere que un agar bajo en nutrientes es lo más recomendable, como el Agar Triptona Glucosa Extracto (TGEA) o el Reasoner 2A (44 – 45) incubando las muestras durante no menos de 7 días a temperatura ambiente (22 °C) (47). Estas condiciones de cultivo brindarán óptimos recuentos para bacterias ambientales (también llamadas Heterótrofas) halladas en agua purificada.

Algunas especies están adaptadas para crecer a mayor temperatura y en un medio más enriquecido, pero la larga incubación permite el crecimiento de la mayoría.

Si las normativas locales exigen la detección de Pseudomonas aeruginosa, esto se efectuará en un agar específico.

El volumen inoculado deberá ajustarse a los límites y a la cantidad de gérmenes que se presume encontrar. Por lo general se utilizan 1 a 5 ml.

En el caso que el agua estuviera contaminada, se deberá diluir la muestra con agua estéril para lograr un recuento válido. Cuando se tratare de agua ultrapura, se filtrarán 100 ml. utilizando una membrana de 0,2 micrones. El filtro será incubado utilizando la técnica convencional.

El número de U. F. C. se contará utilizando un medio consistente, cuidadosamente utilizando luz brillante.

La Farmacopea Europea no brinda un límite específico para hongos y levaduras y éstos se agruparán en los Gérmenes Totales Viables.

4-3 PROCEDIMIENTO EN ESPAÑA Y RECOMENDACIÓN DEL T. G. E. A.

En España se sugiere realizar controles bacteriológicos semanales del agua. En los casos en que resulte difícil, se realizarán al menos mensualmente. Un tema fundamental es cómo y cuándo tomar las muestras bacteriológicas y para endotoxinas y cómo procesarlas. Se debe buscar la máxima sensibilidad y para ello, es preciso utilizar volúmenes grandes, con una recogida escrupulosa y un buen transporte, sembrándolos precozmente, en medios de cultivo pobres, a temperatura ambiente y por periodos largos (36).

Metodología óptima para el cultivo de bacterias en el agua y líquido para hemodiálisis (Publicación Rafael Pérez-García, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid. España)

- Recogida escrupulosa de la muestra : escoger un punto de acceso directo al circuito ; desinfectar el punto en donde se tomará la muestra y dejar correr el líquido, desechando los primeros ml. El volumen de al menos 1 ml se recogerá en un recipiente estéril y libre de endotoxinas.
 - La muestra se mantendrá a 4 ° C y se sembrará antes de las 24 h.
 - Se utilizarán volúmenes grandes de la muestra y filtros para la siembra.
 - Siembra en medios de cultivo pobres en nutrientes, como el Reasoner's 2- agar (R2A) o el Tryptone glucose extract agar (TGEA).
 - Incubar a temperatura ambiente, entre 21 - 24°C.
 - Lectura tardía, a las 48 - 72 h. y a los 5 - 7 días.
 - Cuantificar número de colonias por ml de muestra y determinar el germen.
- La AAMI recomienda un sistema más corriente, menos sensible: TSA - agar (soja-triptosa), a 37 °C y lectura a las 48 h.

Un problema de gran importancia es la formación en los circuitos de biofilm bacterianos. Estos se relacionan generalmente con contajes de más de 1000 UFC/ml en el líquido de diálisis. En su destrucción es fundamental usar tanto desincrustantes (ácido cítrico, peracético, acético), como detergentes (hipoclorito (lejía)) y desinfectantes con capacidad oxidante (lejía y peróxido de hidrógeno), en concentración y tiempo suficientes (37).

4-4

CONCLUSIÓN PARA LA SIEMBRA E INCUBACIÓN DE LA MUESTRA

En un agua no sospechosa:

- **Sembrar 1 ml de muestra previamente agitada, en TGEA.**
- **Incubar a 22 °C durante 7 días.**
- **Las colonias se desarrollan a partir de las 48 Hs.**

- Se lee el recuento final como U. F. C. / ml.-

5- CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE HEMODIÁLISIS

La buena calidad del agua es fundamental puesto que la presencia de contaminantes en el líquido de diálisis expone al paciente a un riesgo de acumular sustancias tóxicas, dando lugar a complicaciones tanto agudas como crónicas.

Algunos contaminantes pueden interactuar con células o proteínas desencadenando fenómenos de bioincompatibilidad, que se añaden a los producidos por otros componentes del circuito sanguíneo extracorpóreo de la hemodiálisis.

5-1 RECOMENDACIONES DE LA EDTNA/ERCA SOBRE LA CALIDAD DEL AGUA

Las Guías para las Buenas Prácticas para la pureza de los líquidos de diálisis de la EDTNA/ERCA consigna los requerimientos de la Farmacopea Europea. En sus referencias más notables se expresan los argumentos clínicos para el uso del agua de alta calidad en fluidos para diálisis.

Según éste documento, el límite de gérmenes viables totales en el agua utilizada para diluir los concentrados de hemodiálisis es de 100 U. F. C. y la concentración mayor de endotoxinas no será superior a 0,25 UI/ml. La farmacopea Europea (E P 0128) no es clara respecto al límite de endotoxinas sobre soluciones para hemodiálisis.(38, 39, 40, 41)

5-2 STANDARES DE FARMACOPEA EUROPEA Y AAMI.

Norma	Agua para hemodiálisis		Líquido de hemodiálisis	
	Bacterias UFC/ml	Endotoxinas UE/ml (UI)	Bacterias UFC/ml	Endotoxinas UE/ml (UI)
Farmacopea Europea 1997	< 100	< 0,25	-	-
AAMI (USA) 1996	< 200	-	< 2000	-
Farmacopea Sueca 1997	< 100	-	< 100	-
Farmacopea Alemana 1996	< 100	< 0,25	-	-
Soc. Japonesa Diálisis 1995	-	-	< 100	< 0,25
UNE 111 España 1990	< 200	-	< 2000	-
Canadian SA 1986	< 200	< 1 ng/ml	-	-

Dos asociaciones, de las cuales los estándares están consignados en la tabla de abajo, han publicado normativas para la calidad del agua de diálisis. Estas son la Farmacopea europea (<http://www.pheur.org/>) y la Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) (<http://www.aami.org/>). La primera apareció el 22 de Julio de 1964 por deseo de 8 estados (Bélgica, Francia, Alemania, Italia, Luxemburgo, Países Bajos, Suiza y Gran Bretaña). En la actualidad ésta normativa reúne a 26 países en los que la presente monografía (normativas) tienen poder de decisión y que desplazan a las antiguas de cada estado. En Suiza, la aplicación de las recomendaciones de la Farmacopea europea es obligatoria. El inserto del agua para hemodiálisis se consigna desde el año 2000.

STANDARES INTERNACIONALES COMPARADOS

	farmacopea europea		AAMI	
	UFC/ml	EU/ml	UFC/ml	EU/ml
Agua de diálisis, (entrada a la máquina)	<100	<0.25	<200	NS
líquido de diálisis (dializado según nomenclatura USA)	NS	<0.25	<2000	NS

- no especifica ; UI unidades internacionales, UE unidades de endotoxinas (ET), no siempre se corresponden.

1 UE = reactividad de 0,1 ng/ml de ET del EC-5 E. Coli, con otras equivalencias según la prueba utilizada.

5-3 LA LEGISLACIÓN EN ARGENTINA

La Ley 22.853 que regula la habilitación de unidades de diálisis para el tratamiento de la insuficiencia renal y su Decreto 468 consignan respecto a la calidad microbiológica del agua lo siguiente:

“Los recuentos microbianos viables totales no deberán exceder las DOSCIENTAS (200) colonias por mililitros a la salida del tratamiento de agua, y menor de DOS MIL (2.000) colonias por mililitro a la entrada del último puesto.”, sin considerar que en la práctica no existe el llamado último puesto, debido a que el suministro de agua tratada a las máquinas tiene un retorno a la planta de tratamiento. De todas formas, en Argentina las reglamentaciones aplicables y pertenecientes al MERCOSUR estipulan un máximo de 200 U. F. C. /ml. (46).

5-4 CONCLUSIONES DE ESTANDARES A TENER EN CUENTA

Aunque los Estándares que fija la Ley Nacional de Hemodiálisis (46) estipulan un máximo de 200 UFC / ml de agua de diálisis, las nuevas tecnologías que se incorporaron en los últimos tiempos y el aumento en el tamaño de los poros de la membrana exigen una mayor pureza debido a la alta permeabilidad a la solución y el íntimo contacto con el torrente sanguíneo.

Por tal motivo se tiene en cuenta la legislación nacional, el tratado de Ouro Preto, las normativas del MERCOSUR por llevarse a cabo el procedimiento en Argentina, pero por provenir los insumos ó sus especificaciones y características de sistemas europeos que obligan al uso de agua con una pureza tal que, al tomar contacto con el torrente no produzca inconvenientes para el paciente, se toman como fundamentales los estándares que estipulan un máximo de 100 U. F. C. / ml, los que se consignan en ítems anteriores, considerándose aplicables los siguientes:

NORMATIVA	UFC /ml
Ley 22.853 y Decreto 468 Ley Nacional de Hemodiálisis	< 200
AAMI (USA) 1996	< 200
European Pharmacopoeia Supplement 1997	< 100

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE ENDOTOXINAS

Aunque el tema no pudo dejar de tratarse en el ítem 1-4, por estar relacionado íntimamente con la calidad microbiológica, en el presente punto se brindan algunos conceptos complementarios.

Según la Farmacopea europea, la concentración de endotoxina en el agua de diálisis no debe superar 0,25 U.I. / ml. La recolección debe efectuarse de la misma forma que para el recuento de (bacterias) Gérmenes totales, y el método de dosaje se basa en la utilización de un reactivo preparado a partir de células sanguíneas de límulo (*Limulus polyphemus* o "horseshoe crab"), un crustáceo norteamericano.

CONCLUSIONES

La contaminación microbiana del agua de diálisis preparada a partir de agua potable de una red comunal constituye un riesgo de infección para el paciente dializado. En Europa, el agua de diálisis debe responder a la exigencia de la Farmacopea europea. Si ésta agua se utiliza para la producción en serie de líquido de sustitución, suministrado al paciente por vía venosa, debe responder a criterios muy severos para la preparación de soluciones de transfusión (soluciones parenterales) (48)

REFERENCIA BASE SOBRE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA:

Trabajo Publicado por Ledebø I, Nystrand R. Defining the microbiological quality of dialysis fluid. *Artif Organs* 1999 Jan;23(1):37-43.

Este estudio demuestra un incremento de 10 a 100 veces en el recuento bacteriano del fluido de diálisis incubado en Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA) a 20 °C durante 5 días comparados con la incubación en Tryptic Soy Agar a 37 °C durante 2 días.-

Eau de dialyse. Pharmacopée Européenne. Conseil de l'Europe 3e édition. 1997 addendum 2001.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- 1/ Pérez-García R., Anaya F., Chisvert J., Valderrábano F. Association of high-flux dialysers and bacterial contamination of dialysate induced chronic release of cytokines in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995 ; 11: 2164-2166.
- 2/ Pegues DA., Oettinger CW., Bland LA., Oliver JC., Arduino MJ., Agüero SM., McAllister SK., Gordon SM., Favero MS., Jarvis WR. A prospective study of pyrogenic reactions in hemodialysis patients using bicarbonate dialysis fluids filtered to remove bacteria and endotoxin. *J Am Soc Nephrol* 1992 ; 3 : 1002-1007.
- 3/ Ureña P., Herbelin A., Zingraff J., Lair M., Man NK., Descamps-Latscha B., Drüeke T. Permeability of cellulosic and non-cellulosic membranes to endotoxin subunits and cytokine production during in-vitro haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1992 ; 7 : 16-28.
- 4/ Pertosa G., Gesualdo L., Bottalico D., Schena FP.: Endotoxins modulate chronically tumour necrosis factor alpha and interleukin 6 release by uraemic monocytes. *Nephrol Dial Transplant* 1995 ; 10: 328-333.
- 5/ Ismail N., Becker BN., Hakim RM. Water treatment for hemodialysis. *Am J Nephrol* 1996 ; 16 : 60-72.
- 6/ Hosokawa S., Oyamaguchi A., Yoshida O. Trace elements and complications in patients undergoing chronic hemodialysis. *Nephron* 1990 ; 55 : 375-379.
- 7/ Consensus conference : Diagnosis and treatment of aluminium overload in end-stage renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 1993 ; 8, supl.1 : 1-4.
- 8/ Barril G, Pérez R, Torres T, Barrio V, Valderrábano F. Acute anemia in a hemodialysis program caused by the appearance of high chloramine levels in the water. *Med Clin (Barc)* 1983 ; 80 : 483-86.
- 9/ Bárány P., Divino JC., Bergström J.: High C-Reactive Protein is a strong predictor of resistance to Erythropoietin in Hemodialysis patients. *Am J Kid Dis* 1997 ; 29: 565-568.
- 10/ Haverkate F, Thompson SG, Pype SDM, Gallimore JR, Pepys MB : Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. *Lancet* 1997 ; 349 :462-466.
- 11/ Bergström J, Heimbürger O, Lindholm B, Qureshi AR : C-reactive protein as predictor for serum albumin and mortality in hemodialysis. *Gen Am Soc Nephrol* 1995 ; 6 :573-577.
- 13/ Real Farmacopea Española. Agua para dilución de disoluciones concentradas para hemodiálisis. *Real Farmacopea Española* 1997 ; 1167: 375-377.
- 14/ Real Farmacopea Española. Hemodiálisis, disoluciones para. *Real Farmacopea Española* 1997 ; 0128: 1064-1067.
- 15/ Comité técnico Aenor. Norma UNE 111-301-90. Características del agua utilizada en hemodiálisis. *Nefrología* 1991 ; 11:7-8.
- 16/ Comité técnico Aenor. Norma UNE 111-325-89: Hemodializadores, hemofiltros y hemoconcentradores. *Nefrología* 1991 ; 11 : 134-143.
- 17/ AAMI Standards for hemodialysis systems. ANSI/AAMI. RD 5. 1981.
- 18/ R. Pérez García, P. Rodríguez Benítez y Juan Antonio Ayala. Tratamiento del agua para hemodiálisis. Características del líquido de diálisis. Capítulo 5. En *Tratado de Hemodiálisis*. Ed. F.Valderrábano. Edit. Médica Jims SL. Barcelona. 1999. Pp.75-90.
- 19/ Klein E, Pass T, Harding GB, Wright R, Million C. Microbial and endotoxin contamination in water and dialysate in the Central United States. *Artif Organs* 1990 ; 14 : 85-94.
- 20/ Bambauer R, Schauer M, Jung WK, Vienken J, Daum V. Contamination of dialysis water and dialysate , a survey of 30 centers. *ASAIO* 1994 ; 40: 1012-1016.
- 21/ Arvanitidou M, Spaia S, Katsinas C, Pangidis P et al. Microbiological quality of water and dialysate in all haemodialysis centres of Greece. *Nephrol Dial Transplant* 1998 ; 13: 949-54.
- 36/ Pass T., Wright R., Sharp B., Harding GB. Culture of dialysis fluids on nutrient-rich media for short periods at elevated temperature underestimate microbial contamination. *Blood Purif* 1996 ; 14 : 136-145.
- 37/ Vincent FC, Tibi AR, Darbord JC : A bacterial biofilm in a hemodialysis system. Assessment of disinfection and crossing of endotoxin. *Trans Am Soc Artif Organs* 1989 ; 35 : 310-313.
- 38/ Monograph 1167:1997 (corrected 2000, republished 2001) Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting. *European Pharmacopoeia* Supplement 2001.
- 39/Monograph 0128:2000: Haemodialysis, solutions for. *European Pharmacopoeia*, Supplement 2001.
- 40/ Circulaire DGS/DH/AFSSAPS No 311 relative aux spécifications techniques et à la sécurité sanitaire de la pratique de l'hémodifiltration et de l'hémodiafiltration en ligne dans les établissements de santé. [Technical specifications and

medical security of on-line haemofiltration and haemodiafiltration used in health care institutions] 7 June 2000 (French).

41/ ERA-EDTA European Best Practice Guidelines for Haemodialysis: IV. Dialysis fluid purity. *Nephrology, Dialysis and Transplantation* 2002, Supplement (in press).

42. van der Linde K, Lim BT, Rondeel JM, Antonissen LP, de Jong GM. Improved bacteriological surveillance of

haemodialysis fluids: a comparison between Tryptic soy agar and Reasoner's 2A media. *Nephrology, Dialysis and*

Transplantation 1999; Oct 14 (10): 2433-2437.

This study compared TSA and R2A using 229 samples of water and dialysis fluid. 0.1 ml spread plates were incubated for 10 days of incubation at 25 °C. Reasoner's 2A gave significantly higher colony counts than Tryptic Soy Agar for both water and dialysis fluid.

43/ Ledebro I, Nystrand R. Defining the microbiological quality of dialysis fluid. *Artificial Organs* 1999; Jan 23 (1):

37-43.

This study showed a 10-100 fold increase in recovery of bacteria from dialysis fluid incubated on Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA) at 20 °C for 5 days compared with incubation on Tryptic Soy Agar at 37 °C for 2 days.

EDTNA|ERCA JOURNAL 2002 XXVIII 3 113

44/ Harding GB, Pass T, Million C, Wright R, DeJarnette J, Klein E. Bacterial contamination of hemodialysis center

water and dialysate: are current assays adequate? *Artificial Organs* 1989; Apr 13 (2): 155-159.

Compared Tryptic Soy Agar, Plate Count Agar and Reasoner's 2A and found that R2A had a strong selectivity for water-borne bacteria.

45/ Pass T, Wright R, Sharp B, Harding GB. Culture of dialysis fluids on nutrient-rich media for short periods at

elevated temperatures underestimate microbial contamination. *Blood Purification* 1996; 14 (2): 136-145.

Compared counts at 37 °C for 48 hours and at 23 °C for 48, 72, 168 hours using Standard Methods Agar, Reasoner's 2A and nutrient-rich Tryptic Soy Agar. Increased colony counts over time occurred for all three fluids. Counts were greater on the lower nutrient agars. The 7 day, room temperature cultivation gave up to 104 times the count for standard 48-hour TSA cultures.

46. Ley 22.853 y Decreto 468 Ley Nacional de Hemodiálisis. República Argentina.

47/ Procedure manual. Toronto medical laboratories / Mount Sinai Hospital microbiology department Page 16 TML/MSH Microbiology Department Policy & Procedure Manual. Section: **Sterility Testing**

Manual Subject Title: Hemodialysis Water Sterility Testing.

48/ (Ref.: Swiss – Noso Volume 9, numero 2, 2002. Prevenzione delle infezioni in emodialisi. Prima parte: qualità dell'acqua K. Boubaker, E. Blanc, N. Troillet, Sion)

49/ Publicaciones del Servicio de Nefrología y Unidad de Hemodiálisis del Complejo Hospitalario Juan Canalejo de La Coruña, España.

Ricardo Botta

Técnico Químico Nacional – Técnico en Electromedicina – Post-título en Bromatología.-

Material publicado en: <http://groups.msn.com/Tecnologiaelectromedica/general.msnw> el 06/09/05 bajo el título "Calidad del Agua para Hemodiálisis"

ricardobotta@hotmail.com

ricardobotta@uolsinectis.com.ar

2005.-