

Factores para la calidad de diálisis: Contaminación de la solución dializante y retrotransporte

J. Vienken, V. Daum, R. Babauer* y E. Klein**

Instituto para la Aplicación Médica de la Membrana. Akzo Faser AG, Oehderstraß, 28, Wuppertal.
* Homburg/Saar, Alemania. ** Universidad de Louisville, Estados Unidos.

Introducción

«Dialysate quality, a neglected problem» es como se titula el resumen del artículo de Bommer y Ritz del año 1987¹. En este artículo los autores demuestran que los fluidos de diálisis son contaminados por una serie de compuestos orgánicos e inorgánicos. Iones de metales pesados (aluminio y cadmio) y cloramina o nitrato sódico, que pueden ser causa de malestar, de transformaciones en los huesos y de anemias. Mientras tanto, en posteriores publicaciones aparecen informes sobre la contaminación de la solución dializante por bacterias y endotoxinas²⁻¹⁴. Debemos preguntarnos: ¿existe una transferencia de bacterias endotoxinas y exotoxinas respectivamente en la sangre del paciente? Esto podría describirse con la palabra clave «retrofiltración» o, mejor dicho, «retrotransporte».

Esta discusión ha avanzado mucho hoy, especialmente gracias al creciente empleo de las membranas high-flux^{2-5, 13-15}. Los motivos para el empleo de las membranas de flujo alto, en comparación con las membranas típicas (cuprofán, polisulfono [F6] y acetato de celulosa de flujo bajo), están en el mejor aclaramiento para las moléculas con un peso molecular alto (por ejemplo, β_2 -microglobulina), así como una reducción del tiempo de diálisis. Sin embargo, las membranas no sólo son permeables para las toxinas de la sangre. También las sustancias de la solución dializante pueden atravesar la membrana hacia la sangre, ya que el buen clearance siempre va en ambas direcciones.

En este breve cuadro general les informamos sobre la contaminación del baño de diálisis con bacterias y endotoxinas y su transferencia del agua a la parte de la sangre del dializador. Las posibles consecuencias que sufren los pacientes de diálisis serán explicadas en la última parte.

Endotoxinas: Características y efectos

¿Que son las endotoxinas? Las endotoxinas provienen de la membrana exterior de las bacterias gramnegativas. También son denominadas lipopolisacáridos, en abreviatura LPS. Junto a una larga cadena de diferentes azúcares se encuentra un grupo en cabeza de lípidos (lípidos A, fig. 1). Hoy se sabe que las causas de la fiebre provocada por las endotoxinas están localizadas en este grupo de cabeza del lípidos A.

En el cultivo de las bacterias se encuentran no sólo moléculas intactas de LPS, sino también trozos de LPS. Estos se diferencian principalmente por sus características pro-

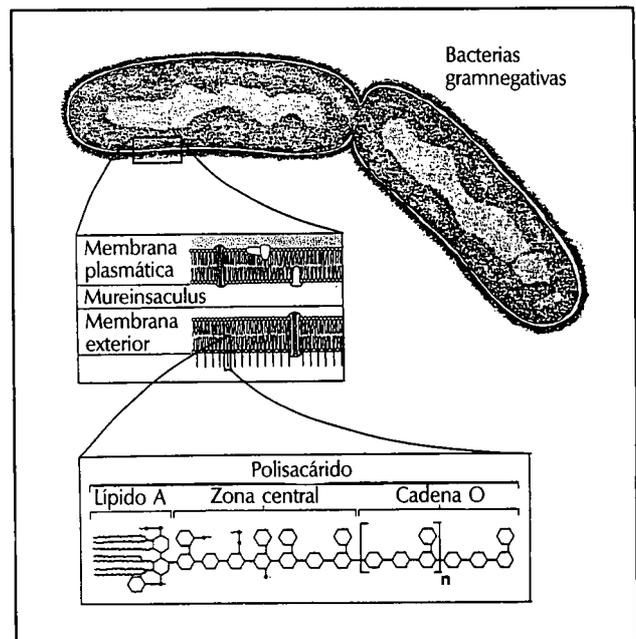


Fig. 1.—Las endotoxinas o lipopolisacáridos provienen de la membrana exterior de las bacterias gramnegativas. Pueden presentar un peso molecular entre 10.000 y 100.000 daltones.

Correspondencia: Dr. Jörg Vienken.
Instituto para la Aplicación de Membranas.
Akzo Faser AG.
Oehderstr. 28.
D-5600 Wuppertal-2. Alemania.

pías. Según su origen pueden ser hidrófilo o hidrófobo, pueden estar cargados o descargados y tener distinto peso molecular. El ejemplo de ello nos lo muestra la comparación de los moléculas LPS de *Pseudomonas* y de *E. coli*. La diferencia entre la estructura química del lípido A de *Pseudomonas mirabilis* y *E. coli* se encuentra en los diferentes largos de las cadenas de hidrocarburos¹⁷. Esta diferencia puede influir en la transferencia de la molécula a través de la membrana. Las membranas con zonas hidrófobas pueden combinar estas moléculas por medio de las fuerzas Van-der-Waals y con ello reducir su permeabilidad. Las comparaciones de experimentos *in vitro* sobre la transferencia de las endotoxinas a través de la membrana sólo tienen significancia clínica si son medidas con bacterias y endotoxinas que también existen en el dializato (por ejemplo: ningún *E. coli*). Las moléculas de endotoxinas se asocian a grandes uniones gracias al grupo de cabeza apolar. Estas uniones se llaman «micelles». Por ello no podrán atravesar una membrana de diálisis. Pero también aparecen pequeños trozos de moléculas de endotoxinas, por ejemplo Muramylpéptidos, acyl-glucosaminas o peptidoglucanos. Estos son biológicamente activos y pueden estimular a los leucocitos para la formación de interleukina-1¹⁸. Como han demostrado Takahashi y sus compañeros¹⁸, encontramos la mayor actividad en la clase de moléculas, cuyo peso molecular está en el ámbito de las «moléculas medias» (entre 2.000 y 3.000 daltones).

Membranas con un buen aclaramiento para «moléculas medias» dejan pasar mejor esta clase de moléculas activas a través de la membrana. Un buen aclaramiento siempre va en ambas direcciones (fig. 2).

Con el test «LAL» puede hacerse un análisis suprasen-

sible de endotoxinas en líquidos. LAL es la abreviatura de Limulus-Amoebocitos Lysato y se aplica a una lisis de células sanguíneas del *Limulus Poliphemus*. Este lysato contiene un sistema enzimático en cascada específico. Las endotoxinas activan este sistema en cascada enzimático, cuyo último paso es la formación de un gel. La formación de este gel puede ser fotométricamente analizada y es proporcional a la cantidad de endotoxinas²⁰. El test LAL es la prueba biológica más sensible que se conoce. Las concentraciones de endotoxinas de hasta 1 pg/m son conmensurables.

La calidad de la solución dializante hoy

¿Con qué concentración de bacterias y de endotoxinas debemos contar hoy en los centros de diálisis? ¿Cuáles son las fuentes de contaminación de la solución dializante? En los últimos años hemos realizado estudios sobre la calidad del bajo de diálisis en cooperación con universidades alemanas y americanas^{10, 11, 16, 19}. Parte de esos resultados los expondremos aquí.

a) Resultados de investigaciones en los Estados Unidos

En un estudio realizado en los alrededores de Louisville, Kentucky^{10, 11}, analizamos pruebas del agua en 51 centros de diálisis. Una estudiante, sin anunciarse previamente, tomó pruebas durante tres días seguidos del agua de diálisis. Se analizó la contaminación de bacterias, hongos y endotoxinas del agua extraída antes de la máquina y del agua extraída antes del dializador por separado.

La mayoría de las especies de bacterias que había en

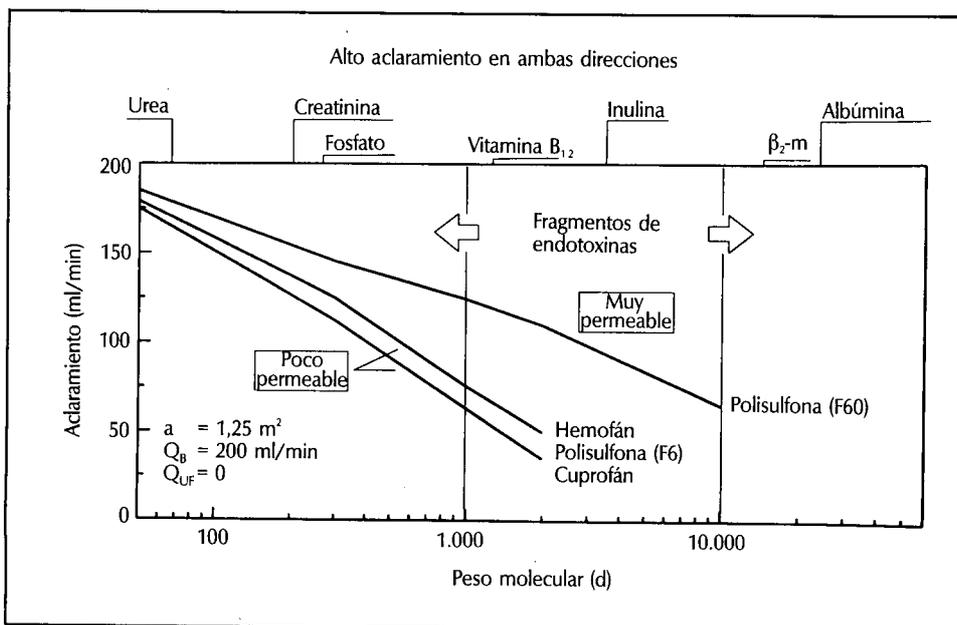


Fig. 2.—El peso molecular de las endotoxinas está en el ámbito de las moléculas medias, entre 1.000 y 10.000 daltones. Para estas sustancias, las membranas con buena permeabilidad también son permeables para los fragmentos de endotoxinas de la solución dializante. La buena clearance siempre va en ambas direcciones.

el agua procedían de la familia de los pseudomonados. Estuvimos muy sorprendidos de que la contaminación del agua con gérmenes vivos era en la mayoría de los centros investigados mayor de lo admisible. En los Estados Unidos, la Asociación Americana para Instrumentos Médicos (AAMI) fijó una norma máxima como frontera para agua con 200 CFU/ml. Para la solución dializante se puede aceptar un nivel máximo de 2.000 CFU/ml. Dedujimos de nuestras investigaciones que esos valores eran superados en más del 40 % de los centros de diálisis (fig. 3)¹¹. En la contaminación con endotoxinas se consiguieron resultados parecidos.

Una valoración más exacta de los estudios nos llevó a la conclusión de que la contaminación del baño de diálisis era mayor que la del agua de la ósmosis reversible. Ello supone una ayuda determinante para la contaminación por la máquina de diálisis. Más tarde daremos una respuesta posible para este fenómeno.

M. Alter, del Centro Americano del Control de Enfermedades (CDC), publicó en 1991 un resumen general de las reacciones pirógenas en centros americanos en la época comprendida entre los años 1976 y 1989⁴. En el año 1989 se observaron 383 reacciones pirógenas (22 %) de un total de 1.726 centros observados. Esta cifra no sorprende si la comparamos con las cifras anteriormente mostradas.

Un año antes, M. Alter ya había informado de una observación complementaria¹⁹. Observó las reacciones pirógenas preferentemente en aquellos centros que utilizaban simultáneamente solución tampón bicarbonato y membranas altamente permeables.

En Estados Unidos, las membranas high-lux son reutilizadas a menudo^{3,21}; por tanto, no se puede excluir una

influencia del proceso re-uso en la contaminación del agua.

b) *Resultados de investigaciones en la República Federal Alemana*

Como final de las investigaciones americanas se plantea la duda de la contaminación del agua con bacterias y endotoxinas en Europa, sobre todo en Alemania. Man y cols.² han publicado los primeros datos sobre los efectos secundarios relacionados con la contaminación del agua en Francia.

En un trabajo conjunto con la Clínica Universitaria de Homburg/Saar se realizó un estudio en 30 centros de diálisis alemanes. El estudio fue concebido de una forma muy parecida al estudio americano en Louisville. Además, se analizó la contaminación de la solución dializante dos horas después del comienzo de la diálisis. Algunos resultados deben ser comentados aquí.

La contaminación con bacterias y gérmenes se correspondían esencialmente con los resultados de Estados Unidos (fig. 4). La mayoría de las especies de bacterias procedían igualmente de la familia de los Pseudomonados. También fueron encontrados Stafilococos, como bacterias grampositivas. El nivel de la contaminación con gérmenes fue más alto en la solución dializante que en el agua anterior a la máquina.

La concentración de endotoxinas en el baño de diálisis aumenta durante el tratamiento. Esta es la conclusión que se deduce de la gran cantidad de centros con valores muy altos después de dos horas de diálisis (fig. 5). La mayoría de las veces la contaminación de endotoxinas va unida a la diálisis con bicarbonato más que con acetato.

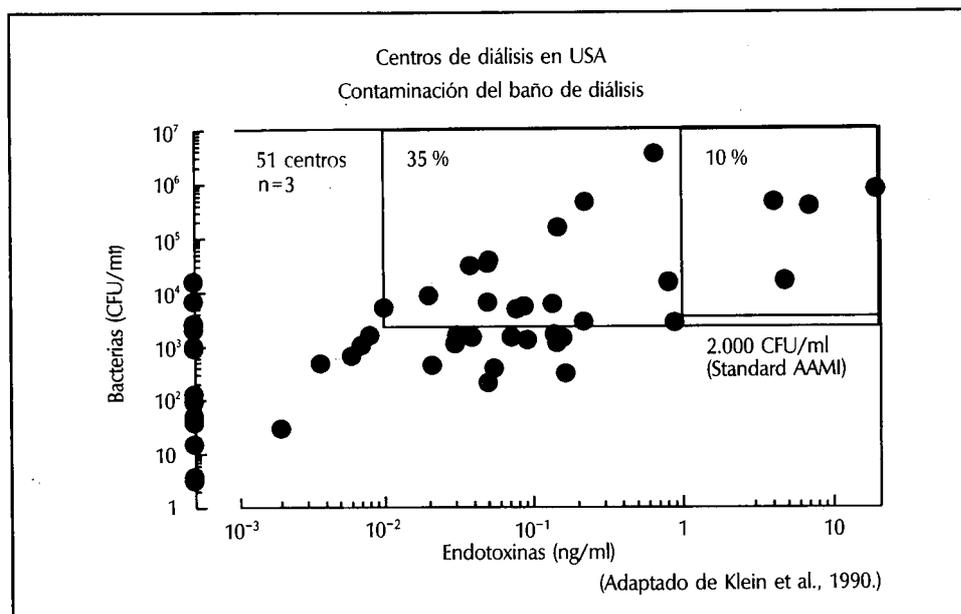


Fig. 3.—La mayoría de los centros americanos tienen una contaminación de bacterias y endotoxinas más alta de la permitida por la AAMI.

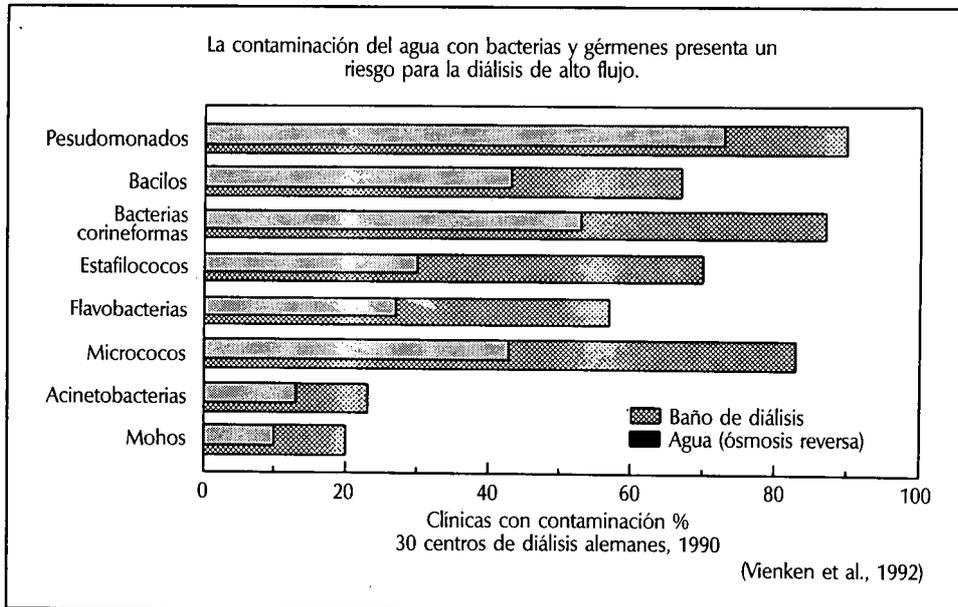


Fig. 4.—En los centros alemanes de diálisis predominan los gérmenes que provienen de la familia de los Pseudomonados. La contaminación del baño de diálisis era mayor que la del agua. Ello supone una ayuda determinante para la contaminación por la máquina de diálisis.

¿El biofilm, el origen de la contaminación?

Como se deduce de los estudios americanos, la contaminación de la solución dializante era más alta que la del agua en la ósmosis reversible (agua-RO). También aquí se puede aceptar una contribución decisiva en la contaminación del sistema de circulación del agua de la máquina de diálisis. Hoy se piensa que los métodos habituales de lavado no son suficientes cuando existe ya una contaminación. La causa radica en la formación de un biofilm.

¿Qué es un biofilm?

Las bacterias pueden sobrevivir en la circulación del agua o en la máquina de diálisis, a pesar de la esterilización, mediante la formación de un biofilm. El mecanismo de producción del biofilm se desarrolla de la siguiente manera:

Las bacterias están fijadas a pequeñas asperezas, tales como raspaduras, esquinas y aristas del sistema de conducción. Durante el crecimiento se forma una matriz mu-

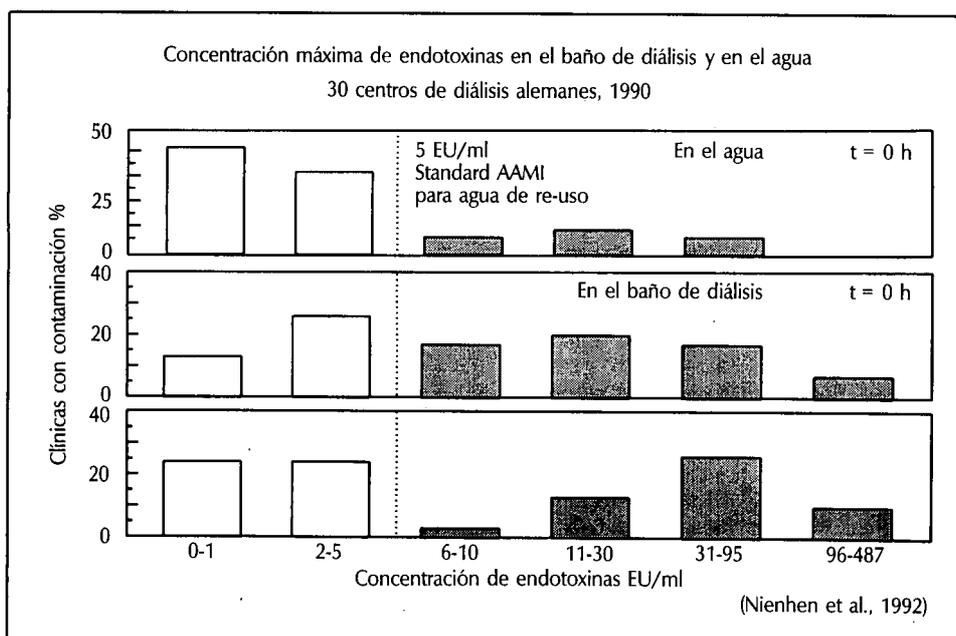


Fig. 5.—La concentración de endotoxinas en el dializador aumenta durante el transcurso de la diálisis. El valor después de dos horas de diálisis aumenta ligeramente. La germinación del dializador es mayor que la del agua RO.

cosa de polisacárido. Esta mucosidad (biofilm) obstaculiza el efecto de agentes bactericidas como formalin, hipoclorito sódico, etc., de tal manera que las bacterias sobreviven y sus toxinas pueden ser liberadas. Este fenómeno también lo encontramos en la contaminación del catéter Tenckhoff²³ o en los filtros de carbón activo. De esta manera pueden fijarse hasta cuatro billones de bacterias de la familia de Pseudomonados en 1 g de carbón activo por el mecanismo de la absorción²⁴ y liberar endotoxinas a través del biofilm.

Esto sirve también para los dializadores. Vincent y cols.²⁵ investigaron este fenómeno en dializadores con experimentos *in vitro*; los autores encontraron una contaminación de 2.000 EU/m² dos horas después de haber contaminado el dializador inicialmente con 235 CFU Pseudomonados/ml. Los mismos autores pudieron demostrar que se daban endotoxinas en el lado de la sangre solamente cuando había contaminación de un específico tipo de bacterias en la solución dializante. No se encontró ninguna transferencia de endotoxinas a través de la membrana de cuprofan cuando se daban las siguientes cepas de bacterias: *Stafilococcus aureus* y *faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Además también se podía observar un gran aumento de la contaminación de las endotoxinas en la sangre cuando había *Stafilococcus cohnii d*, que secretan hemolisina. No se puede excluir la posibilidad de una descomposición de las endotoxinas en pequeños trozos por el hemolisin y, en consecuencia, un transporte a través de las membranas.

Efectos de las membranas

Hemos podido observar que la contaminación de la solución dializante es considerable. La aparición de reacciones pirógenas en pacientes justifica que se dé una transferencia de endotoxinas o de fragmentos sobre la membrana de diálisis intacta. A partir de entonces debemos preguntarnos: ¿qué mecanismos pueden ser combinados con estas transferencias?

El retrotransporte de las sustancias a la sangre del paciente se basa en dos mecanismos distintos: retrodifusión y retrofiltración. La retrodifusión depende sólo de la distinta concentración de una sustancia (por ejemplo, endotoxina) entre los dos lados de la membrana. La retrodifusión es eficiente sobre todo el largo del dializador. Es la causa del paso de pequeños trozos de endotoxinas (peso molecular, 3.000 d) a través de la membrana de diálisis^{26, 27}.

Por el contrario, la retrofiltración sólo será determinada por el reparto de presión de la sangre y de la solución dializante. Observamos una ultrafiltración siempre y cuando la presión de la sangre sea más alta que la de la solución dializante. La retrofiltración se presenta en la diálisis cuando la presión de la solución dializante es más alta que la de la sangre (fig. 6). Esta es la consecuencia del principio

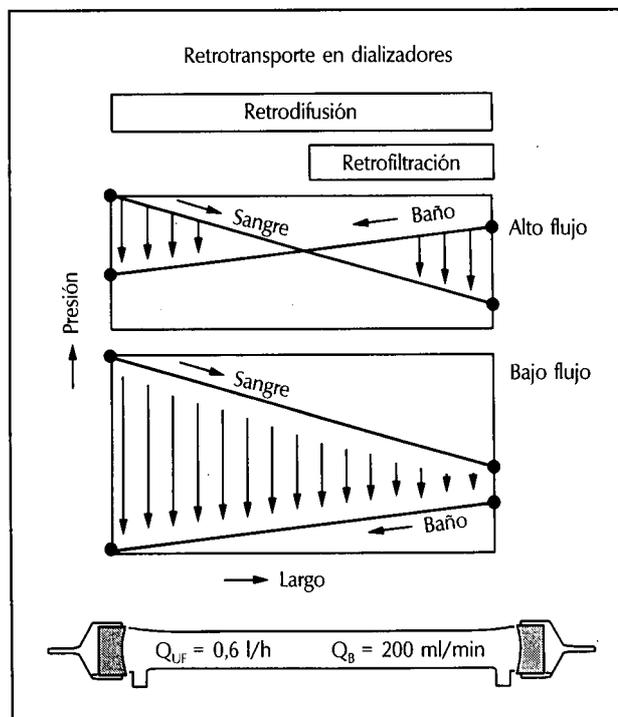


Fig. 6.—El retrotransporte de las sustancias del dializador a la sangre del paciente sigue dos caminos:

- Retrodifusión por todo el largo del dializador.
- Retrofiltración por la diferencia de presión entre la solución de la diálisis y la sangre.

Hablamos de ultrafiltración cuando la presión de la sangre es mayor que la de la solución dializante, caso contrario a la retrofiltración. La retrofiltración se observa sólo en membranas high-flux.

contracorriente de la sangre y del agua: en la utilización de membranas altamente permeables, la presión de la sangre es más baja en la salida del dializador que la presión de la solución dializante. Es decir, en membranas altamente permeables la presión de la sangre no puede ser aumentada arbitrariamente, por ejemplo para evitar la retrofiltración. Las consecuencias son una hemodiafiltración o bien una hemofiltración con la necesidad de sustituir una solución por otra.

¿Qué cantidad puede ser retrofiltrada en un caso extremo en un paciente? La cantidad retrofiltrada de agua, posiblemente contaminada en la sangre, depende del factor UF de la correspondiente membrana (fig. 7). En las membranas con coeficiente de ultrafiltración (coeficiente UF) de cerca de 40 ml/h*mmHg (por ejemplo, polisulfono F60) debemos contar con 1,5 l de agua retrofiltrada en el paciente¹³. Las moléculas disueltas en el agua pueden difundirse del lado de la sangre incluso cuando hay una considerable ultrafiltración.

Esta retroclearance fue descrita por Takesawa y sus compañeros con el ejemplo de los dializadores con membranas de triacetato de celulosa (CTA)¹⁵. Las membranas

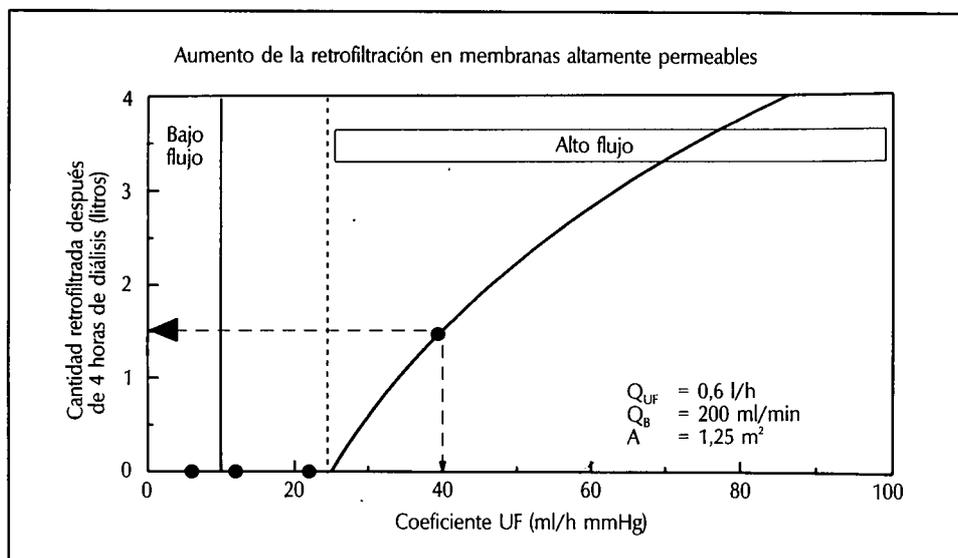


Fig. 7.—La cantidad retrofiltrada durante una diálisis depende del coeficiente UF de la membrana. Con un coeficiente UF de 40 ml/h*mmHg (por ejemplo, polisulfono F60), la cantidad retrofiltrada se eleva a un nivel de 1,5 l, lo cual significa que con un UF de 0 el paciente aumentaría de peso 1,5 kg.

CTA tienen un coeficiente UF más o menos de 40 ml/h*mmHg (en el agua) y son típicamente membranas high-flux. Takesawa y cols. demostraron que la retroclearance de la inulina (de un peso molecular de 5.200 d) en una corriente filtrada de 50 ml/min puede ascender incluso a 30 ml/min¹⁵. Ello quiere decir que con hemodiafiltración, o bien con hemofiltración, no se puede impedir la difusión de moléculas presente en la solución dializante. Hosoya y Sakai publicaron en 1990 unos resultados muy parecidos para la retroclearance de endotoxinas en membranas high-flux y low-flux²⁷.

Resumiendo, podemos decir:

1. Que la transferencia de sustancias de la solución dializante a la sangre es posible.
2. Que los mecanismos que realizan el retrotransporte son la retrodifusión y la retrofiltración.
3. La cantidad de sustancias movidas por el retrotransporte depende del coeficiente de ultrafiltración de la membrana. Las membranas high-flux muestran mayores efectos que las low-flux^{14, 26}.
4. También se observa retrodifusión con una filtración de <50 ml/min.

Discusión y consecuencias

¿Se dan pruebas clínicas de la transferencia de endotoxinas en la sangre del paciente? Una serie de experimentos lo demostraron hace años^{2, 5, 6, 12, 14, 28}. Los resultados obtenidos por Yamagami y cols., de la Universidad de Osaka (Japón), son dignos de mención⁵. Ellos compararon los títulos de anticuerpos contra las endotoxinas en la sangre de sanos y pacientes, que fueron tratados o bien con membranas poco permeables, como el cuprofan, o

bien sólo con membranas altamente permeables (EVAL, PMMA). Se encontraron muchos más anticuerpos contra las endotoxinas en el grupo de pacientes que sólo habían sido dializados con membranas altamente permeables. Un resultado similar ya fue publicado en 1969 por Gazenfield-Gazit²⁸, junto a la existencia de endotoxinas en el baño de diálisis y la transferencia de esas moléculas a la sangre del paciente. Las moléculas LPS pueden estimular las células macrófagos para la formación de interferón, del factor tumor necrosis o de la $\beta 2$ -microglobulina²⁹. La importancia de estos descubrimientos radica en la relación entre lo publicado por Baz y cols.³⁰ y lo publicado por Quellhorts y Schunemann³¹. Cuando el dializador está contaminado con endotoxinas, aumenta el nivel de suero de la $\beta 2$ -microglobulina³¹. La amiloidosis es frecuentemente descrita como un proceso inflamable. Baz y cols. pudieron demostrar que cuanto más tiempo fuera tratado el paciente con solución dializante con endotoxinas, mayor sería la incidencia de la amiloidosis (fig. 8).

Resumen

Debemos aceptar la contaminación de la solución dializante con bacterias y endotoxinas. Las poblaciones de bacterias existentes son heterogéneas, del mismo modo que la estructura química de las endotoxinas derivadas de ellas. Estas últimas pueden pasar a través de las membranas de diálisis. Debemos admitir que la cantidad de moléculas retrotransportadas es más grande con membranas de alta permeabilidad que con membranas de baja permeabilidad: la buena clearance siempre va en ambas direcciones.

Pero estos resultados muestran también que no podemos confiar en las membranas como barreras seguras

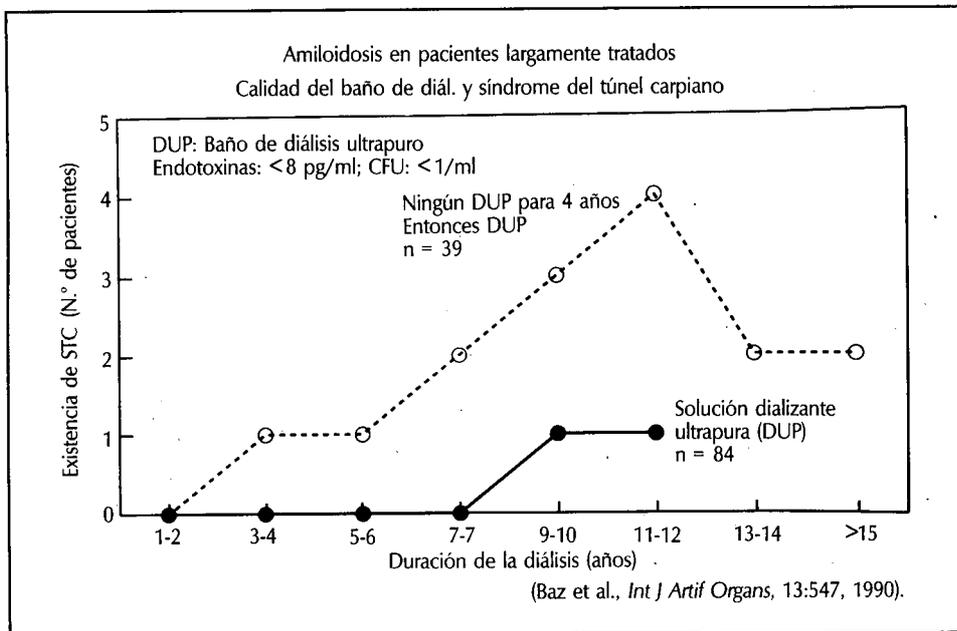


Fig. 8.—La contaminación del fluido de diálisis determina la salida de amiloidosis. En pacientes que son permanentemente tratados con una solución dializante ultrapura se observan señales de amiloidosis bastante tarde. Se supone que las endotoxinas pueden activar el proceso inflamable de la amiloidosis (después de 30).

contra las endotoxinas. El objetivo central para una futura diálisis segura debiera ser una producción libre de bacterias en la solución dializante. Hasta entonces el riesgo del retrotransporte podrá disminuir utilizando membranas poco permeables.

Bibliografía

- Bommer J y Ritz E: Water quality, a neglected problem in hemodialysis. *Nephron*, 46:1-6, 1987.
- Man N, Ciancioni C y Faivre J: Dialysis associated adverse reactions with high-flux membranes and microbial contamination of liquid bicarbonate. *Contr Nephrol*, 62:24-34, 1988.
- Lowry P, Beck-Sague C, Bland L, Agüero S, Arduino J, Minuth A, Murray R, Swenson J y Jarvis W: Mycobacterium chelonae infection among patients receiving high-flux dialysis in a hemodialysis clinic in California. *J Infect Dis*, 161:85-90, 1990.
- Alter M, Favero M, Moyer L y Bland L: National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 1989. *Trans ASAIO*, 37:97-109, 1991.
- Yamagami S, Adachi T, Sugimura T, Kishimoto T, Maekawa M, Niwa M y Shaldon S: Detection of bacteria in dialysate and its antibody in long-term hemodialysis patients. *Trans ASAIO*, 35:331-333, 1989.
- Erley C, Von Herrath D, Amir-Moazami B y Schaefer K: Beneficial effect of a bacteria and pyrogen reduced dialysate on the occurrence of fever during hemodialysis. *J Nephrol*, 4:257-260, 1989.
- Schaefer K, Von Herrath D, Hüfler M y Pauls A: The occurrence of fever during hemodialysis and hemofiltration. A comparative study. *Int J Artif Organs*, 9:247-250, 1986.
- Ebben J, Hirsch D, Luchmann D, Collins A y Keshaviah P: Microbiologic contamination of liquid bicarbonate concentrate for hemodialysis. *Trans ASAIO*, 33:269-273, 1987.
- Peters H y Von der Haar F: Verkeimungsprophylaxe und Desinfektion von Hemodialysegeräten. *Dialyse-Journal*, 30:38-48, 1990.
- Harding G, Klein E, Pass T, Wright R y Million C: Endotoxin and bacterial contamination of dialysis center water and dialysate; a cross sectional survey. *Int J Artif Organs*, 13:39-43, 1990.
- Klein E, Harding G, Wright R y Million C: Microbial and endotoxin contamination in water and dialysate in the Central United States. *Artif Organs*, 14:85-94, 1990.
- Bambauer R, Walther J y Jung H: Ultrafiltration of dialysis fluid to obtain a sterile solution during hemodialysis. *Blood Purif*, 8:309-317, 1990.
- Baurmeister U, Vienken J y Daum V: High-flux dialysis membranes: endotoxin transfer by backfiltration can be a problem. *Nephrol Dial Transplant*, 4 (suppl. 3):89-93, 1988.
- Vanholder R, Van Haecke E, Veys N y Ringoir S: Endotoxin transfer through dialysis membranes: small versus large pore membranes. *Nephrol Dial Transplant*, 7:333-339, 1992.
- Takesawa S, Saito H, Hidai H, Suzuki M y Sakai K: Measurement of back-clearance. *Trans ASAIO*, 36:441-443, 1990.
- Bambauer R, Schauer A y Vienken J: Contamination of dialysate water and dialysate: a survey of 30 centers. *Blood Purif*, 9:32-33, 1991.
- Rietschel E, Brade L, Brandenburg K y cols.: Chemical structure and biologic activity of bacterial and synthetic Lipid A. *Rev Infect Dis*, 9 (suppl. 5):527-536, 1987.
- Takahashi I, Kotani S, Takada H, Shiba T y Kusumoto S: Structural requirements of endotoxic lipopolysaccharides and bacterial cell walls in induction of interleukin-1. *Blood Purif*, 6:188-206, 1988.
- Alter M, Favero M, Moyer L, Miller J y Bland L: National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 1988. *Trans ASAIO*, 36:107-118, 1990.
- Levin J, Tomasulo P y Oser R: Detection of endotoxin in human blood and demonstration of an inhibitor. *J Lab Clin Med*, 75:903-911, 1970.
- Gordon S, Tipple M, Bland L y Jarvis W: Pyrogenic reactions associated with the reuse of disposable hollow-fiber hemodialysers. *JAMA*, 260:2077-2081, 1988.
- Schauer A: Bakterien und Pilzkontamination von westdeutschen Dialysewässern. PhD-Thesis, University of Saarbrücken, 1992.
- Dasgupta M y Costeron J: Significance of biofilm-adherent bacterial microcolonies on Tenckhoff catheters of CAPD patients. *Blood Purif*, 7:144-145, 1989.
- Klein J y Zier H: Immobilisierung von Mikroorganismen durch Adsorption. *Bio-Engineering*, 3:8-14, 1989.
- Vincent F, Tibi A y Darbord C: A bacterial biofilm in a hemodialysis system: assessment of disinfection and crossing of endotoxins. *Trans ASAIO*, 35:310-313, 1989.

26. Leypoldt K, Schmidt B y Gurland H: Net ultrafiltration may not eliminate backfiltration during hemodialysis with highly permeable membranes. *Artif Organs*, 15:164-170, 1991.
27. Hosoya N y Sakai K: Backdiffusion rather than backfiltration enhances endotoxin transport through highly permeable dialysis membranes. *Trans ASAIO*, 36:311-313, 1990.
28. Gazenfield-Gazit E y Eliahou H: Endotoxin antibodies in patients on maintenance hemodialysis. *Israel J Med Sci*, 5:1032-1036, 1969.
29. Knudsen P, Leon J, Ng A, Shaldon S y cols.: Hemodialysis-related induction of β 2-microglobulin and interleukin-1 synthesis and release by mononuclear phagocytes. *Nephron*, 53:188-193, 1989.
30. Baz M, Durand C, Ragon A, Jaber K, Andrieu D y cols.: Using ultrapure water in hemodialysis delays carpal tunnel syndrome. *Int J Artif Organs*, 14:681-685, 1991.
31. Quellhorst E y Schünemann B: Beta-2 amyloidosis and hemofiltration. In *Dialysis Amiloidosis*. Wichtig Editore, 1989. Eds.: Gejyo, Brancaccio, Bardin, pp. 123-129.