

# Um novo método espectrofotométrico para detectar níveis residuais de peróxido após o reprocessamento de filtros de hemodiálise

A new spectrophotometric method to detect residual amounts of peroxide after reprocessing hemodialysis filters

Moacir de Oliveira<sup>1</sup>, Maria Aparecida Dalboni<sup>2</sup>, Ilson Jorge Iizuka<sup>1</sup>, Silvia Regina Manfredi<sup>2</sup>, Nadia Karina Guimarães<sup>1</sup>, Maria Claudia Cruz Andreoli<sup>1</sup>, Ana Cristina Carvalho Matos<sup>1</sup>, Marcelo Costa Batista<sup>1</sup>, Bento Fortunato Cardoso Santos<sup>1</sup>, Miguel Cendoroglo Neto<sup>3</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** A reutilização de filtros de hemodiálise é uma prática disseminada e a substância química esterilizante mais empregada é o ácido peracético. Antes de iniciar a sessão de diálise, os filtros e as linhas são verificados em relação a níveis residuais de ácido peracético por meio de teste colorimétrico não quantitativo, com interpretação visual. O objetivo deste trabalho foi investigar um novo teste espectrofotométrico quantitativo para detecção de resíduos de ácido peracético. **Métodos:** As soluções de ácido peracético foram preparadas em concentrações que variam de 0,01 a 10 ppm. O reagente (óxido de potássio-titânio + ácido sulfúrico) foi acrescentado a cada amostra em proporções que variaram de 0,08 a 2,00 gotas/mL de solução. As densidades ópticas foram determinadas em um espectrofotômetro com filtro de 405 nm e submetidas a um teste visual qualitativo por diferentes observadores. **Resultados:** Observou-se a relação linear entre as concentrações de peróxido e as respectivas densidades ópticas com  $R^2 > 0,90$  para todas as proporções de reagente/substrato. As maiores densidades ópticas foram obtidas com a proporção reagente/substrato de 0,33 gotas/mL, que foi padronizada para todos os experimentos posteriores. Os testes qualitativos e quantitativos apresentaram especificidade de 100%. O teste quantitativo foi mais sensível do que o qualitativo e apresentou maiores valores preditivos positivos e negativos. Houve uma diferença entre os observadores no teste qualitativo e algumas amostras com quantidade significativa de peróxido não foram detectadas. **Conclusão:** O teste espectrofotométrico quantitativo pode melhorar a detecção de resíduos de ácido peracético em comparação ao teste visual qualitativo padrão. Essa inovação pode contribuir para o desenvolvimento de padrões mais seguros na reutilização de filtros de hemodiálise.

**Descritores:** Diálise renal/instrumentação; Diálise renal/métodos; Ácido peracético; Espectrofotometria/métodos; Peróxidos

## ABSTRACT

**Objective:** Reuse of hemodialysis filters is a standard practice and the sterilizing chemical most often employed is peracetic acid. Before starting the dialysis session, filters and lines are checked for residual levels of peracetic acid by means of a non-quantitative colorimetric test that is visually interpreted. The objective of this study was to investigate a new quantitative spectrophotometric test for detection of peracetic acid residues. **Methods:** Peracetic acid solutions were prepared in concentrations ranging from 0.01 to 10 ppm. A reagent (potassium-titanium oxide + sulfuric acid) was added to each sample in proportions varying from 0.08 to 2.00 drops/mL of solution. Optical densities were determined in a spectrophotometer using a 405-nm filter and subjected to visual qualitative test by different observers. **Results:** A relation between peroxide concentrations and respective optical densities was observed and it was linear with  $R^2 > 0.90$  for all reagent/substrate proportions. The peak optical densities were obtained with the reagent/substrate ratio of 0.33 drops/mL, which was later standardized for all further experiments. Both qualitative and quantitative tests yielded a specificity of 100%. The quantitative test was more sensitive than the qualitative test and resulted in higher positive and negative predictive values. There was a difference between observers in the qualitative test and some samples with significant amounts of peroxide were not detected. **Conclusion:** A quantitative spectrophotometric test may improve detection of residues of peracetic acid when compared to the standard visual qualitative test. This innovation may contribute to the development of safer standards for reuse of hemodialysis filters.

**Keywords:** Renal dialysis/instrumentation; Renal dialysis/methods; Peracetic acid; Spectrophotometry /methods; Peroxides

Trabalho realizado no Laboratório de Uremia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>1</sup> Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil; Centro de Diálise do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>3</sup> Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil; Centro de Diálise do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil; Division of Nephrology of Tufts University School of Medicine – Boston, Estados Unidos.

Autor correspondente: Moacir Oliveira – Avenida Albert Einstein, 627 – Morumbi – CEP 05651-901 – São Paulo (SP), Brasil - Tel.: 11 2151-1233 - e-mail: moacir@einstein.br

Data de submissão: 13/12/2010 – Data de aceite: 8/2/2011

Conflito de interesse: não há.

## INTRODUÇÃO

A hemodiálise (HD) é um procedimento relativamente seguro, mas podem ocorrer diversas complicações devido a efeitos colaterais relacionados a circuito extracorpóreo normal, erros técnicos ou reações anormais de pacientes<sup>(1-2)</sup>.

Desde sua criação, a terapia de manutenção com HD tem sido um desafio em virtude de seus vários componentes bioincompatíveis. Além da ativação de complemento pela membrana da HD, os contaminantes da água e os resíduos de agentes esterilizantes podem ter impacto no meio interno<sup>(1-4)</sup>.

A reutilização de filtros de HD é uma prática comum no Brasil e nos Estados Unidos<sup>(5)</sup>. As maiores vantagens dessa prática são redução de custo e menor incidência da síndrome do primeiro uso<sup>(6-9)</sup>. Dentre as desvantagens, estão exposição do meio interno a germicidas, risco de reações pirogênicas e infecções, menor eficiência dos dialisadores e, possivelmente, maior estresse oxidativo<sup>(8-14)</sup>. De acordo com a *Association for the Advancement of Medical Instrumentation* (AAMI) e o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), o ácido peracético (AP) é hoje o esterilizante usado com mais frequência no reprocessamento de dialisadores<sup>(15)</sup>, e os padrões para sua reutilização foram estabelecidos por esses órgãos. O procedimento básico para o reprocessamento do dialisador compreende quatro etapas: enxágue, lavagem, teste de desempenho, e desinfecção e esterilização<sup>(8,9)</sup>. Antes de iniciar um nova sessão de diálise, a equipe clínica deve assegurar que não haja resíduo de AP no filtro e nas linhas de HD. Na realidade, a presença de pequenas quantidades de AP pode induzir uma forte resposta no hospedeiro, com dificuldade respiratória grave e hipotensão<sup>(10)</sup>. No Brasil, regras semelhantes são estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que é o órgão regulador<sup>(16)</sup>.

A técnica atual para avaliar a quantidade residual de peróxido e AP no filtro nas linhas de HD é um ensaio colorimétrico não quantitativo. Realiza-se esse teste acrescentando-se um reagente à base de titânio a uma amostra de soro que permanece no sistema de HD após o enxágue. A concentração de peróxido de, pelo menos, uma parte por milhão (ppm) produz uma cor amarela clara na amostra do tubo de ensaio. Uma das principais falhas desse método é depender do observador. Além disso, não há evidência de que menores concentrações de peróxido, inferior a 1 ppm, não sejam prejudiciais ao paciente.

Para melhorar a segurança desse procedimento, desenvolvemos um teste quantitativo que inclui a leitura espectrofotométrica dessa reação. Para tal, determinou-se a proporção ideal da concentração de reagente e substrato bem como a sensibilidade e a especificidade do teste. Também foi comparada a sensibilidade e a es-

pecificidade do teste visual qualitativo àquelas do novo teste espectrofotométrico quantitativo.

## MÉTODOS

### Agente esterilizante e teste reagente

Proxitane® (Fresenius Medical Care, Frankfurt, Alemanha) foi a solução esterilizante empregada em todas as reutilizações e testes feitos neste estudo. Trata-se de uma solução aquosa de AP a 2%, peróxido de hidrogênio a 6,3%, ácido acético a 19% e estabilizadores. Todos os testes foram preparados com adição de Proxitane® à solução salina.

Para a detecção visual de AP, utilizou-se o reagente Allper™ (Peróxidos do Brasil, Curitiba, Paraná, Brasil), que é uma solução aquosa de um sal de titânio (C4K2O9Ti) e ácido sulfúrico. Após reagir com o peróxido, produz uma cor amarela clara. De acordo com o fornecedor, esse teste permite a detecção de concentrações de peróxido acima de 1 ppm.

A solução inicial Proxitane®, com 2.000 ppm de peróxido, foi empregada como uma base para todas as outras soluções de teste. Foram realizadas diluições em série em tubos translúcidos de 15 mL. O reagente Allper™ foi adicionado e o desenvolvimento da cor ocorria após menos de 5 minutos, ficando estável por, pelo menos, 12 horas.

### Padronização da proporção reagente/substrato

De acordo com o fornecedor, uma gota do reagente Allper™ deveria ser acrescentada a cada 3 mL de substrato (0,33 gotas/mL) para permitir a detecção de concentrações de peróxido tão baixas quanto 1 ppm.

Para determinar a melhor proporção reagente/substrato (R/S) para as diferentes concentrações de peróxido testadas neste estudo, as soluções de AP com concentrações de 0,01; 0,1; 0,5; 1; 5 e 10 ppm foram preparadas em tubos de 15 mL, com 3, 6, 9 e 12 mL dessas soluções. Aos tubos de ensaio foram acrescentadas 1, 3 e 6 gotas do reagente Allper™ para obter as proporções de 0,08; 0,11; 0,17; 0,25; 0,33; 0,5; 1 e 2 gotas de reagente Allper™ por mililitro de solução de peróxido em cada concentração do estudo. No fim, havia a matriz de tubos de ensaio com seis concentrações diferentes de peróxido (0,01 a 10 ppm) e oito proporções R/S (0,08 a 2 gotas/mL).

### Teste qualitativo visual

Após determinar a proporção R/S ideal, as amostras com concentração de peróxido a 0,01; 0,1; 0,5 e 1 ppm foram preparadas, testadas e lidas por 6 membros da equipe do Centro de Diálise do Hospital Israelita Albert

Einstein (HIAE), 6 funcionários do Serviço de Diálise da Fundação Oswaldo Ramos (FOR) e 6 do Laboratório de Pesquisa da mesma fundação. Foram solicitados a identificar as amostras que apresentassem cor amarela. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do UNIFESP.

### Teste espectrofotométrico quantitativo

Após o desenvolvimento da cor, alíquotas de 300  $\mu$ l foram transferidas para placas de poliestireno com 96 poços. As densidades ópticas (DO) foram quantificadas por um espectrofotômetro (ASYS HITECH GmbH, Eugendorf, Austria) com um filtro de 405 nm.

### Análise estatística

O programa True Epistat (Tracy L Gustaffson, Richardson, Texas, EUA) foi usado para fazer a análise estatística dos dados. As variáveis contínuas foram expressas como média  $\pm$  desvio padrão. O teste *t* de Student foi aplicado para comparar as variáveis contínuas, e o teste do  $\chi^2$ , para analisar as variáveis categóricas.

Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo foram determinados para o teste qualitativo (detecção visual) e o ensaio colorimétrico quantitativo. O coeficiente de Spearman foi empregado para análises de correlação.

O nível de significância estatística foi 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Dentro da faixa de concentração de peróxido de 0,01 a 1 ppm, as correlações entre concentração de peróxido e DO foram sempre lineares, com  $R^2 > 0,90$ . (Tabela 1)

A sensibilidade do método quantitativo foi analisada conforme a proporção R/S (Tabela 2). Observou-se que nas concentrações menores que 0,5 ppm, a DO mostrou os maiores valores de R/S de 0,33 gotas/mL (1 gota para cada 3 mL de substrato). Para concentrações

de 0,1 e 0,5 ppm, a DO cresceu à medida que a R/S aumentou de 0,08 gotas/mL para 0,33 gotas/mL, e depois diminuiu com maior proporção R/S (0,5 a 2 gotas/mL). Ao analisar a concentração de 5 ppm de peróxido, não houve aumento na DO com R/S acima de 0,33 gotas/mL. Para a concentração de peróxido de 10 ppm, a DO continuou a crescer até alcançar a mais alta proporção R/S (2 gotas/mL). (Tabela 2)

Quando se empregou a proporção R/S de 1 gota para 3 mL, as correlações entre DO e concentração peróxido resultaram em  $R^2 > 0,99$ , 0,97 e 0,92, respectivamente, para as variações de DO de 0,01 a 1 ppm; 0,01 a 5 ppm e 0,01 a 10 ppm ( $p = 0,0002$ ,  $p < 0,00001$  e  $p = 0,0004$ ). Após esses resultados, foi decidido padronizar a relação R/S de 0,33 gotas/mL para todos os testes posteriores.

Para o teste visual, foram recrutados 18 indivíduos: 6 da equipe de laboratório e 12 membros da equipe de um centro de diálise. As concentrações variaram de 0,01 a 1 ppm e foram testadas. Os resultados foram comparados aos do teste quantitativo (Tabela 3). Ademais, ambos grupos de voluntários foram comparados (Tabela 4).

Ao confrontar o teste quantitativo com o teste colorimétrico visual e calcular o valor preditivo positivo e negativo, além da sensibilidade e da especificidade das duas técnicas (Tabela 3), observou-se que ambos os testes tinham uma especificidade de 100%. Contudo, a sensibilidade foi maior no teste quantitativo em todas as concentrações avaliadas.

O teste quantitativo também apresentou maior valor preditivo positivo e negativo quando comparado ao visual.

Os dois grupos de observadores foram também confrontados. A taxa de sensibilidade do teste foi semelhante entre os grupos (100%) para a maior concentração de peróxido (1 ppm) e diminuiu com menores concentrações, sendo diferente entre os grupos para concentrações de 0,5 e 0,1 ppm. Foi semelhante entre os grupos e muito baixa (5%) na concentração de 0,01 ppm de peróxido (Tabela 4).

**Tabela 1:** Correlações entre concentração de peróxido e DO para as diferentes proporções R/S. Análises realizadas considerando três faixas de concentração de peróxido: 0,01 a 1 ppm, 0,01 a 5 ppm e 0,01 a 10 ppm. (n = 18)

Reagente (gotas)	Substrato (mL)	Proporções R/S (gotas/mL)	0,01-1 ppm		0,01-5 ppm		0,01-10 ppm	
			R <sup>2</sup>	valor p	R <sup>2</sup>	valor p	R <sup>2</sup>	valor p
1	12	0,08	0,96	0,004	0,32	0,19	0,64	0,02
1	9	0,11	0,99	<0,00001	0,93	0,002	0,76	0,008
1	6	0,17	0,99	0,0001	0,99	0,0003	0,85	0,003
3	12	0,25	0,99	<0,00001	0,99	<0,000001	0,90	0,0007
1	3	0,33	0,99	0,0002	0,97	<0,000001	0,92	0,0004
3	6	0,5	0,99	0,00004	0,99	<0,000001	0,99	<0,00001
3	3	1	0,98	0,0003	0,99	<0,000001	0,99	<0,00001
6	3	2	0,92	0,004	0,99	0,000004	0,98	<0,00001

DO = densidade óptica; ppm = partes por milhão

**Tabela 2:** Densidades ópticas obtidas com diferentes proporções R/S (0,08 a 2 gotas/ml) em diferentes concentrações de peróxido (0,01; 0,5; 1; 5 e 10 ppm) (n = 18).

Reagente (gotas)	Substrato (mL)	Proporção R/S (gotas/mL)	DO					
			0,01 ppm	0,1 ppm	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
1	12	0,08	0	0,002	0,014	0,020	0,017	0,029
1	9	0,11	0	0,004	0,021	0,043	0,094	0,091
1	6	0,17	0,001	0,003	0,020	0,045	0,120	0,126
3	12	0,25	0	0,004	0,023	0,045	0,195	0,228
1	3	0,33	0,003	0,008	0,022	0,045	0,204	0,254
3	6	0,5	0	0,003	0,022	0,048	0,230	0,430
3	3	1	0	0,002	0,019	0,044	0,238	0,532
6	3	2	0	0	0,009	0,032	0,204	0,539

DO = densidade óptica; ppm = partes por milhão

**Tabela 3:** Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), sensibilidade e especificidade para diferentes observadores nos testes visual e quantitativo (n=18).

	VPP (%)	VPN	Sensibilidade	Especificidade (%)
Equipe do laboratório (N=6)				
0,01 ppm	5	47%	5%	100
0,1 ppm	0	100%	0	100
0,5 ppm	78	22%	78%	100
1 ppm	100	0	100%	100
Equipe da diálise (N=12)				
0,01 ppm	5	47%	5%	100
0,1 ppm	11	88%	11%	100
0,5 ppm	44	56%	44%	100
1 ppm	100	0	100%	100
Teste quantitativo				
0,01 ppm	88	12%	88%	100
0,1 ppm	100	100%	100%	100
0,5 ppm	100	100%	100%	100
1 ppm	100	100%	100%	100

PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; ppm: parts per million.

**Tabela 4:** Taxas de sensibilidade com o teste visual feito pela equipe do laboratório (n=6) e equipe da diálise (n=12) para diferentes concentrações de peróxido (0,01 a 1 ppm).

Concentração (ppm)	Equipe do laboratório (%)	Equipe da diálise (%)	valor p
0,01	5	5	1
0,1	0	11	< 0,0001
0,5	78	44	0,01
1	100	100	1

## DISCUSSÃO

Notou-se, neste estudo, que o teste quantitativo poderia aumentar a segurança dos pacientes no processo de reutilização de filtros de HD após a realização do teste quantitativo com o teste colorimétrico visual, e calculando os valores preditivos positivo e negativo, a sensibilidade e a especificidade.

A reutilização de filtros de HD é uma prática rotineira no Brasil, Estados Unidos e outros países. Uma Resolução da ANVISA, a RDC N.º 154, estabelece e regula as boas práticas de reúso de filtros de diálise<sup>(16)</sup>. Conforme a resolução, os filtros de diálise devem ser submetidos a enxágue após desinfecção e a um teste apropriado para assegurar que não haja nenhuma

quantidade residual do agente desinfetante após enxaguar. Porém, a resolução não especifica qual agente desinfetante, ou a rotina de enxágue e teste, e cada serviço de diálise estabelece suas próprias rotinas.

A falta de rotinas e protocolos baseados em evidência disponíveis na literatura nos estimulou a estudar a eficácia dos testes atuais para detecção de peróxido após o reprocessamento com AP. No início do estudo, observou-se uma importante limitação, ou seja, ausência de um teste quantitativo padrão-ouro para detectar os resíduos de AP. Assim, decidiu-se desenvolver e padronizar um teste espectrofotométrico quantitativo, que foi o primeiro objetivo deste estudo. O novo teste quantitativo mostrou-se superior ao teste visual padrão em termos de sensibilidade e valor preditivo positivo. Em outras palavras, o teste quantitativo foi mais seguro do que o teste visual padrão. Os detalhes destes resultados merecem alguma discussão e interpretação.

Observou-se, primeiramente, que havia uma correlação linear e forte entre as densidades óticas na espectrofotometria e a concentração de peróxido, com uma reação detectável para concentrações tanto baixas quanto 0,001 ppm. Depois, a proporção ótima entre re-

agente e substrato foi determinada e a proporção ideal foi de 0,33 gotas/mL. Optou-se por medir o reagente em gotas, pois esse é o padrão atual em práticas de enfermagem em centros de diálise no Brasil.

Em comparação ao método visual padrão, o teste quantitativo demonstrou maior valor preditivo positivo, menor valor preditivo negativo e maior sensibilidade. Houve grande variabilidade de resultados entre os diferentes observadores no teste visual, que pode ser devida à subjetividade do teste visual e também ao seu menor limiar de detecção, quando confrontado com o quantitativo.

Os resultados deste estudo sugerem que o teste quantitativo pode aumentar a segurança dos pacientes durante o processo de reutilização. Realmente foram descritas graves reações de hipersensibilidade ao AP após o reprocessamento de filtros de HD com peróxido, que se manifestam como tontura, cefaleia, náusea, broncoespasmo e até óbito<sup>(8,9,17)</sup>. Por outro lado, é possível que pequenas quantidades de resíduo de peróxido possam passar despercebidas no início da sessão de diálise, sem causar qualquer sintoma. Mesmo não causando impacto no conforto dos pacientes durante a HD, isso deve ser uma preocupação, pois se sabe que os pacientes de HD têm evidência de aumento do estresse oxidativo, que era geralmente relacionado, nesses pacientes, à inflamação crônica. Entretanto, o papel das injeções diretas de pequenas quantidades de peróxido após um enxágue inadequado de filtros reutilizados ainda não foi descartado. A probabilidade dessa hipótese aumenta quando se considera que, no Brasil, os pacientes de HD, em geral, submetem-se a 13 sessões por mês, e destas, até 12 podem ser realizadas com filtros reutilizados (conforme a RDC N.º 54)<sup>(18-20)</sup>.

Hoje em dia, quando tolerância zero e adesão absoluta às boas práticas de prevenção de infecção hospitalar são discutidas pelo CDC e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a comunidade relacionada à diálise provavelmente ficará cada vez mais intolerante com a possível presença de resíduos de substâncias tóxicas nos filtros. Este estudo oferece uma nova tecnologia, eficaz e confiável, para aumentar a segurança dos pacientes durante o processo de reutilização na HD. Em termos de viabilidade, o novo teste quantitativo requer um espectrofotômetro à beira do leito. Apesar de não terem uma tecnologia complicada, os espectrofotômetros comuns são caros e demandam algumas habilidades específicas, além de determinados filtros que são trocados conforme o comprimento de onda de interesse. No entanto, um espectrofotômetro disponível no local de cuidado, com um filtro fixo, pode ser dispositivo relativamente barato, seguro e com boa relação custo/eficácia.

## REFERÊNCIAS

1. Vanholder R. Relationship between biocompatibility and neutrophil function in hemodialysis patients. *Adv Ren Replace Ther.* 1996;3(4):312-4.
2. Cohen G, Haag-Weber M, Hörl WH. Immune dysfunction in uremia. *Kidney Int Suppl.* 1997;62:S79-82.
3. Feldman HI, Bilker WB, Hackett M, Simmons CW, Holmes JH, Pauly MV, et al. Association of dialyzer reuse and hospitalization rates among hemodialysis patients in the US. *Am J Nephrol.* 1999;19(6):641-8.
4. Held PJ, Wolfe RA, Gaylin DS, Port FK, Levin NW, Turenne MN. Analysis of the association of dialyzer reuse practices and patient outcomes. *Am J Kidney Dis.* 1994;23(5):692-708.
5. Finelli L, Miller JT, Tokars JI, Alter MJ, Arduino MJ. National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 2002. *Semin Dial.* 2005;18(1):52-61.
6. Vinhas J, Pinto dos Santos J. Haemodialyser reuse: facts and fiction. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(1):5-8.
7. Robinson BM, Feldman HI. Dialyzer reuse and patient outcomes: what do we know now? *Semin Dial.* 2005;18(3):175-9.
8. Maidment HJ, Petersen J. The dialysis prescription: reuse. *Am J Nephrol.* 1996;16(1):52-9.
9. Miles AM, Friedman EA. A review of hemodialyzer reuse. *Semin Dial.* 1997;10(1):32-7.
10. Twardowski ZJ. Dialyzer reuse--part II: advantages and disadvantages. *Semin Dial.* 2006;19(3):217-26.
11. Lacson E Jr, Lazarus JM. Dialyzer best practice: single use or reuse? *Semin Dial.* 2006;19(2):120-8.
12. Rao M, Guo D, Jaber BL, Sundaram S, Cendoroglo M, King AJ, Pereira BJ, Balakrishnan VS; HEMO Study Group. Dialyzer membrane type and reuse practice influence polymorphonuclear leukocyte function in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2004;65(2):682-91.
13. Feldman HI, Kinosian M, Bilker WB, Simmons C, Holmes JH, Pauly MV, et al. Effect of dialyzer reuse on survival of patients treated with hemodialysis. *JAMA.* 1996;276(8):620-5.
14. Jaar BG, Hermann JA, Furth SL, Briggs W, Powe NR. Septicemia in diabetic hemodialysis patients: comparison of incidence, risk factors, and mortality with nondiabetic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2000;35(2):282-92.
15. Association for Advancement of Medical Information (AAMI). Standards and recommended practices for reuse of hemodialyzers. AAMI/ANSI/AAMI RD 47, 2005.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [Internet]. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N.º 154, de 15 de junho de 2004. Estabelece o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Serviços de Diálise. Publicada em 31 de maio de 2006 [citado 2011 Mar 9]. Disponível em: [http://www.adreterj.org.br/rdc\\_154.pdf](http://www.adreterj.org.br/rdc_154.pdf)
17. Centers for Disease Control (CDC). Acute allergic reactions associated with reprocessed hemodialyzers--Virginia, 1989. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1989;38(50):873-4.
18. Trznadel K, Luciak M, Pawlicki L, Kedziora J, Blaszczyk J, Buczyński A. Superoxide anion generation and lipid peroxidation processes during hemodialysis with reused cuprophane dialyzers. *Free Radic Biol Med.* 1990;8(5):429-32.
19. Köse K, Doğan P, Gündüz Z, Düşünsel R, Utaş C. Oxidative stress in hemodialyzed patients and the long-term effects of dialyzer reuse practice. *Clin Biochem.* 1997;30(8):601-6.
20. Gündüz Z, Düşünsel R, Köse K, Utaş C, Doğan P. The effects of dialyzer reuse on plasma antioxidative mechanisms in patients on regular hemodialysis treatment. *Free Radic Biol Med.* 1996;21(2):225-31.