

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Priscila Rodrigues de Jesus

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA UTILIZADA NOS SERVIÇOS DE
HEMODIÁLISE NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO NOS ANOS DE 2015 E 2016**

Rio de Janeiro

2017

Priscila Rodrigues de Jesus

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA UTILIZADA NOS SERVIÇOS DE
HEMODIÁLISE NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO NOS ANOS DE 2015 E 2016**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito para obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Preceptora/Tutora: Joana Angélica Barbosa Ferreira

Rio de Janeiro

2017

Catálogo na fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Jesus, Priscila Rodrigues de

Avaliação microbiológica da água utilizada nos serviços de hemodiálise na cidade do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016. / Priscila Rodrigues de Jesus – Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2017.

39 f.: il., tab.

Trabalho de conclusão do curso (Especialista em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2017.

Preceptora/Tutora: Joana Angélica Barbosa Ferreira

1. Diálise Renal. 2. Soluções para Hemodiálise. 3. Análise Microbiológica. 4. Pseudomonas aeruginosa. 5. Controle de Qualidade. I. Título

Priscila Rodrigues de Jesus

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA UTILIZADA NOS SERVIÇOS DE
HEMODIÁLISE NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO NOS ANOS DE 2015 E 2016**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Vigilância
Sanitária do Instituto Nacional de Controle de
Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz
como requisito para obtenção do título de
Especialista em Vigilância Sanitária

Aprovado em __/__/__

BANCA EXAMINADORA

Maria Helena Simões Villas Boas (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Fernando Faria Fingola (Mestre)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Shirley de Mello Pereira Abrantes (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Joana Angélica Barbosa Ferreira (Mestre) – Preceptora/Tutora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Sheila Regina Gomes Albertino (Mestre) - Suplente

Dedico este trabalho ao Setor de Não estéreis que me recebeu de Braços abertos neste período de trabalho e ao Instituto Nacional de Controle de qualidade em Saúde que me possibilitou participar do programa de Residência, despertando em mim um olhar mais especial para a área de Vigilância sanitária e sua importância para a Saúde Pública.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais e todo seu empenho em minha educação.

Ao meu noivo por todo apoio e paciência no desenrolar deste trabalho.

A minha orientadora Joana Angélica Barbosa Ferreira que se empenhou em me ensinar as rotinas laboratoriais e seu conhecimento na área possibilitando a execução deste trabalho.

A todos os colaboradores do Setor Não estéreis que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde e a Pós-Graduação que nos recebeu neste Programa de Residência e sempre esteve pronta a nos auxiliar quando necessário.

Aos professores que contribuíram com a nossa formação na área de Vigilância Sanitária.

Aos colegas que tornaram este período de residência mais especial pela parceria, aprendizado e troca de experiências de cada dia.

A saúde depende mais das precauções que dos médicos.

Jacques Bossuet

RESUMO

A água utilizada nos serviços de hemodiálise necessita ser monitorada e sua qualidade é fundamental para evitar riscos adicionais à saúde do paciente. Necessita-se a avaliação em todos os pontos deste sistema, para o conhecimento da origem do problema, e fornecimento de subsídios para o desenvolvimento tecnológico do processo e a tomada de medidas de vigilância sanitária. A Vigilância Sanitária Municipal junto ao INCQS/FIOCRUZ realiza um trabalho de monitoramento desde o ano de 1999 a fim de garantir o controle da qualidade deste serviço. Entre os anos de 2015 e 2016, foram inspecionadas 62 clínicas de serviço de hemodiálise situadas no município do Rio de Janeiro, obtendo-se um total de 303 amostras para análise microbiológica dos pontos pré-osmose, pós-osmose, reuso, loop e dialisato e 115 amostras para pesquisa de endotoxinas dos pontos pós-osmose e reuso. Este trabalho que teve por objetivo identificar os pontos críticos de perigos potenciais associados à água utilizada nos serviços de hemodiálise da cidade do Rio de Janeiro, seguindo os padrões preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014, analisou as amostras obtidas através das metodologias de semeadura em profundidade e enriquecimento em meios específicos, determinou-se o número total de bactérias heterotróficas; a presença de coliformes totais, *Escherichia coli* e outros microrganismos e, a concentração de endotoxinas. Foram obtidos os seguintes resultados: 19% das amostras apresentaram número elevado de bactérias aeróbias (acima de 104 UFC/mL) no ano de 2015 e 21% no ano de 2016, no entanto cerca de 80% das amostras apresentaram resultado satisfatório, e com relação a concentração de endotoxinas (> 0,5 EU/mL) cerca de 24,5% das amostras analisadas no ano de 2015 e 22,7% no ano de 2016 apresentaram resultado insatisfatório segundo a legislação. Também foram identificadas a presença de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter anitratus*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Brevundimonas diminuta*, *Moraxella osloensis*, *Achromobacter xylosoxidans*, e *Ralstonia picketti* em todos os pontos de coleta analisados. A quantidade de amostras insatisfatórias se manteve semelhante nos dois anos de análise e se relacionou na maioria das vezes a problemas estruturais nos serviços de hemodiálise inspecionados, o que mostra a importância que o programa de monitoramento realizado tem para a garantia da qualidade deste serviço. No entanto, uma questão preocupante dá-se pela presença de *P. aeruginosa* na maioria das amostras insatisfatórias, o que também já se mostrou comum em trabalhos realizados em outras capitais, logo há a necessidade de se ter um olhar mais específico

para este microrganismo oportunista e resistente que muito se relaciona a infecções hospitalares, contaminação de água e a infecções em pacientes imunodeprimidos, havendo então uma demanda para que sua pesquisa seja adicionada a legislação vigente para água tratada para hemodiálise. Com os resultados obtidos, espera-se que haja colaboração para futuras revisões da legislação específica existente a fim de evitar falhas que possibilitem malefícios aos pacientes atendidos pelo serviço, capacitando profissionais na área, tanto analítica, como também, na de vigilância sanitária, a fim de que os serviços prestados à população atendam os padrões de qualidade necessários.

PALAVRAS-CHAVE: 1. Hemodiálise; 2. Avaliação Microbiológica; 3. *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

The water used in the hemodialysis services needs to be monitored and its quality is fundamental to avoid additional risks to the health of the patient. It is necessary to evaluate at all points of this system, to know the origin of the problem, and to provide subsidies for the technological development of the process and the taking of sanitary surveillance measures. The Municipal Sanitary Surveillance with INCQS / FIOCRUZ has carried out monitoring work since 1999 in order to guarantee the quality control of this service. Between 2015 and 2016, 62 hemodialysis clinics located in the city of Rio de Janeiro were inspected, obtaining a total of 303 samples for microbiological analysis of pre-osmosis, post osmosis, reuse, loop and dialysate And 115 samples for post-osmosis and reuse endotoxin testing. This study aimed to identify the critical points of potential hazards associated with water used in the hemodialysis services of the city of Rio de Janeiro, following the standards recommended by RDC No. 11 of March 13, 2014, analyzed the samples obtained through the methodologies of sowing in depth and enrichment in specific media, the total number of heterotrophic bacteria was determined; the presence of total coliforms, *Escherichia coli* and other microorganisms, and the concentration of endotoxins. The following results were obtained: 19% of the samples had a high number of aerobic bacteria (above 10⁴ CFU / mL) in 2015 and 21% in 2016; however, about 80% of the samples presented satisfactory results, and (> 0.5 EU / mL) about 24.5% of the samples analyzed in the year 2015 and 22.7% in the year 2016 presented an unsatisfactory result according to the legislation. The presence of *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter anitratus*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Brevundimonas diminuta*, *Moraxella osloensis*, *Achromobacter xylosoxidans*, and *Ralstonia picketti* were also identified in all analyzed points. The number of unsatisfactory samples remained similar in the two years of analysis and was mostly related to structural problems in the hemodialysis services inspected, which shows the importance of the monitoring program carried out to guarantee the quality of this service. However, a worrying issue is the presence of *P. aeruginosa* in the majority of the unsatisfactory samples, which has also been common in studies carried out in other capitals, so it is necessary to have a more specific look at this opportunistic microorganism And resistant that is very much related to hospital infections, water contamination and infections in immunosuppressed patients, and there is a demand for their research to be added to the current legislation for treated water for hemodialysis. With the results

obtained, it is expected that there will be collaboration for future revisions of the existing specific legislation in order to avoid flaws that may cause harm to the patients served by the service, training professionals in the area, both analytical and health surveillance, in order to That the services provided to the population meet the necessary quality standards.

KEY WORDS: 1. Hemodialysis; 2. Microbiological evaluation; 3. *Pseudomonas aeruginosa*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Sistema de Tratamento de água tratada para hemodiálise (STDAH)..... | 21 |
| Figura 2: Esquema de metodologia de contagem de bactéria aeróbias..... | 23 |
| Figura 3: Esquema de metodologia de Pesquisa de Coliformes totais..... | 24 |
| Figura 4: Esquema de ensaios para pesquisa e identificação de patógenos..... | 25 |
| Quadro 1: Quadro da RDC nº 11 com Parâmetros de Qualidade para água para hemodiálise..... | 26 |
| Gráfico 1. Resultados das contagens de bactérias heterotróficas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro no ano de 2015..... | 27 |
| Gráfico 2. Resultados das contagens de bactérias heterotróficas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro no ano de 2016..... | 28 |
| Gráfico 3. Resultados satisfatórios das análises microbiológicas realizadas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016..... | 29 |
| Gráfico 4. Resultados insatisfatórios das pesquisas de endotoxinas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016..... | 30 |
| Gráfico 5. Resultados satisfatórios das pesquisas de endotoxinas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016..... | 31 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Microrganismos identificados nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidos nos serviços de hemodiálise nos anos de 2015 e 2016..... | 32 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

LISTA DE SIGLAS

CPHD- Concentrado Polieletrólítico para Hemodiálise

E. coli - Escherichia coli

EMB – Agar Eosina Azul de Metileno

EU – Unidades de Endotoxinas

H - Horas

INCQS- Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

INMETRO- Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

L- Litros

LAL- Lisado de amebócitos de *Limulus*

MS- Ministério da Saúde

mL- Mililitros

OMS- Organização Mundial de Saúde

PA – Presença-Ausência

P. aeruginosa - Pseudomonas aeruginosa

pH - potencial hidrogeniônico

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SAAP- Subsistema de Abastecimento de Água Potável

SBN- Sociedade Brasileira de Nefrologia

SDATH- Subsistema de Distribuição de Água Tratada para Hemodiálise

STAH- Subsistema de Tratamento de Água para Hemodiálise

STDAH- Sistema de Tratamento e Distribuição de Água para Hemodiálise

TSA- Agar Caseína Soja

TSB- Caldo Caseína Soja

UFC- Unidade Formadora de Colônia

°C- Graus Celsius

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1 REFERENCIAL TEÓRICO | 18 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 19 |
| 3. OBJETIVO | 20 |
| 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 20 |
| 4. METODOLOGIA | 21 |
| 4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS | 21 |
| 4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS | 22 |
| 4.2.1 Ensaio de contagem de bactérias heterotróficas | 22 |
| 4.2.2 Pesquisa de coliformes totais | 23 |
| 4.2.3 Identificação bioquímica dos microrganismos patogênicos isoladas nas amostras de água | 24 |
| 4.2.4 Quantificação de endotoxinas | 26 |
| 4.2.5 Análise dos resultados | 26 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 27 |
| 6 PERSPECTIVAS DO TRABALHO..... | 35 |
| 7 CONCLUSÃO | 36 |
| REFERÊNCIAS | 37 |

1. INTRODUÇÃO

A terapia renal substitutiva ou hemodiálise é um tratamento primordial para pacientes com Insuficiência Renal Crônica ou aguda, que ocorre quando os rins são incapazes de remover os resíduos provenientes do metabolismo celular ou de realizar as suas funções reguladoras (SOUSA *et al*, 2012). A situação torna-se crucial, em razão das dificuldades na obtenção de um transplante renal, quando um paciente pode atualmente ter que esperar por anos para obtê-lo e durante este tempo, a qualidade do tratamento de hemodiálise a ele prestado será fator preponderante para a sua sobrevivência e a qualidade de vida (HOENICH *et al*, 2006; SIVIEIRO, 2014).

A importância da hemodiálise pode ser evidenciada por dados que registram que, no ano de 2014 segundo o Censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), cerca de 112.004 mil brasileiros foram submetidos a este tratamento (SESSO *et al*, 2016). Entre estes, poucos conseguem recuperar o funcionamento dos rins e apenas um pequeno número de pacientes, consegue ser submetido a um transplante renal (JUNIOR, 2015; AMARAL *et al*, 2005; SIVIEIRO, 2014).

A hemodiálise é um procedimento através do qual uma máquina limpa e filtra o sangue, ou seja, faz parte do trabalho que o rim doente não pode fazer (SBN, 2016). Este tratamento promove a restauração dos eletrólitos e balanço ácido base além da remoção de substâncias tóxicas e do excesso de líquido acumulado no sangue/tecidos do corpo, em consequência da falência renal. Este processo ocorre no dialisador (máquina de hemodiálise) que possui um sistema contendo uma membrana semipermeável, no qual existe um fluxo contra paralelo do sangue do paciente e fluido de diálise (dialisato). No dialisador ocorre a migração de substâncias entre os dois sistemas. Após o processo de difusão o sangue depurado retorna para o paciente (JUNIOR, 2015; HOENICH *et al*, 2006; VASCONCELOS, 2012).

A água é essencial para a terapia de hemodiálise, tanto na produção do fluido como na reutilização dos dialisadores. Durante uma sessão de tratamento por hemodiálise aproximadamente 120 litros (L) de água purificada, misturados em proporções adequadas ao concentrado polieletrólítico para hemodiálise, são utilizados na depuração do sangue, sendo assim, a qualidade da água é fundamental para evitar riscos adicionais à saúde do paciente (BOMMER & JABER, 2006; ARVANTIDOU *et al*, 1998).

Enquanto o concentrado polieletrólítico é produzido comercialmente, a água usada pode variar amplamente na sua composição química e microbiológica e isto irá influenciar diretamente a qualidade do fluido para hemodiálise (VORBECK-MEISTER *et al.*, 1999; PIZZARELLI *et al.*, 2004). O tratamento da água para hemodiálise é mais rigoroso do que o da água potável, sendo necessário um sistema de purificação adicional onde a água utilizada deve ser potável, com concentração controlada de metais como alumínio, flúor, mercúrio, cobre, entre outros e, substâncias como endotoxinas bacterianas (BRASIL, 2014, ANVISA, 2010).

Existem sistemas de purificação de água para hemodiálise compostos de diferentes combinações de tratamento para assegurar a qualidade da água resultante. O pré-tratamento é realizado para retirar substâncias e partículas da água que podem danificar os equipamentos de purificação, com os filtros de areia, abrandadores e filtros de carvão ativado. A água pré-tratada segue por diferentes processos de filtração como: filtração por osmose reversa, por troca iônica e outros, que permitem a remoção de partículas, sais e íons, e permite a retenção de bactérias que possam encontrar-se circulando no sistema de tratamento, antes de ser entregue as unidades de hemodiálise (VORBECK-MEISTER *et al.*, 1999).

A água purificada é armazenada em reservatórios e distribuída por tubulações para as máquinas. O projeto das tubulações deve evitar zonas mortas e volumes de água que não circulem. É recomendado que a água circule constantemente para evitar proliferação bacteriana. O sistema deve ser projetado de forma a facilitar a limpeza, desinfecção e enxágue do desinfetante (CALDERARO & BISCHOFBERGER, 1998; BRASIL, 2014).

Apesar das múltiplas barreiras presentes no sistema de tratamento que podem remover bactérias da água, existe ainda o risco de contaminação bacteriana (VASCONCELOS, 2012). A prevenção da contaminação da água requer conhecimento da origem do problema dentro da linha de tratamento. A água purificada contém predominantemente bactérias heterotróficas do ambiente aquático como as espécies da classe *Pseudomonadales*, que podem crescer nos circuitos de água e nas máquinas de hemodiálise, e subsequentemente contaminar o dialisato (BOMMER & JABER, 2006). A solução mais frequentemente adotada é o uso de um método de desinfecção, tal como a cloração. Barato e fácil de aplicar, o hipoclorito de sódio é também o mais eficiente desinfetante contra biofilmes que são formados sobre superfícies e, consiste de micro colônias de bactérias embebidas numa matriz extracelular protetora secretada pelas células que promovem a adesão (MORIN, 2000; RUTALA E WEBER, 1997).

A bacteremia é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes de hemodiálise e tem sido atribuída a diferentes causas (AAMI, 2004). A infecção pelo acesso vascular é a causa mais comum devido a cuidados inadequados com o cateter (TENA, et al., 2005; LO CASCIO et al, 2006), entretanto alguns estudos observaram uma relação direta entre a ocorrência de casos de bacteremia causados por bactérias e o isolamento desses microrganismos a partir da água purificada, possivelmente devido a defeitos na integridade da membrana ou a utilização de água contaminada no reprocessamento das máquinas de diálise (WANG *et al.*, 1999; MAGALHÃES et al., 2003).

A Legislação vigente para avaliação da água tratada nos serviços de hemodiálise, Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 11 de 13 de março 2014, estabelece como limites microbiológicos, ausência de *Escherichia coli* (*E. coli*) em 100 ml, contagem de bactérias heterotróficas menor que 100 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/Mililitros (mL) e concentração de endotoxina menor ou igual a 0,25 Unidades de Endotoxinas (EU)/mL (BRASIL, 2014). Sendo para a água de entrada da rede (antes do tratamento) os limites microbiológicos de ausência de *E. coli* e de coliformes totais em 100 ml e contagem de bactérias heterotróficas menor que 500 UFC/ml segundo a Portaria/Ministério da Saúde (MS) n.º 2.914, de 12 de dezembro de 2011 que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2011).

O monitoramento microbiológico das clínicas e estabelecimentos de saúde com serviço de hemodiálise se faz necessário para garantir a segurança do paciente que necessita deste procedimento para garantia de sua vida, e auxilia os setores regulatórios responsáveis pela avaliação da qualidade do serviço.

1.1 DEFINIÇÕES

- **Água para hemodiálise:** água tratada pelo sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise (BRASIL, 2014).
- **Concentrado polieletrólítico para hemodiálise (CPHD):** concentrado de eletrólitos, com ou sem glicose, apresentado na forma sólida ou líquida para ser empregado na terapia dialítica (BRASIL, 2014).
- **Dialisato:** solução de diálise obtida após diluição do CPHD, na proporção adequada para uso (BRASIL, 2014).
- **Programa de tratamento dialítico:** forma de atendimento de pacientes que necessitam regularmente de terapia de substituição renal por métodos dialíticos (BRASIL, 2014).
- **Reuso em diálise:** utilização do dialisador capilar por mais de uma vez, para o mesmo paciente, após os respectivos processamentos, a utilização se dá no máximo por 20 vezes, obedecendo o volume em torno das fibras não podendo ser superior a 20% do volume inicial (BRASIL, 2014).
- **Processamento em diálise:** conjunto de procedimentos que envolvem desde a retirada do dialisador do paciente, incluindo a limpeza, verificação da integridade e medição do volume interno das fibras, esterilização, registro, armazenamento e enxágue imediatamente antes da instalação e uso no mesmo paciente (BRASIL, 2014).
- **Serviço de diálise:** serviço destinado a oferecer terapia renal substitutiva utilizando métodos dialíticos (BRASIL, 2014).
- **Sessão de diálise:** procedimento de substituição da função renal realizado em um período determinado, de forma regular e intermitente atendendo a prescrição médica (BRASIL, 2014).
- **Sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise (STDAH):** é um sistema que tem o objetivo de tratar a água potável tornando-a apta para o uso em procedimento hemodialítico, sendo composto pelo subsistema de abastecimento de água potável (SAAP), pelo subsistema de tratamento de água para hemodiálise (STAH) e pelo subsistema de distribuição de água tratada para hemodiálise (SDATH) (BRASIL, 2014).

2. JUSTIFICATIVA

O Instituto Nacional de Controle de Qualidade (INCQS) desenvolve desde 1999, um programa de avaliação da qualidade da água utilizada em unidades de tratamento por hemodiálise em colaboração com a Coordenação de Vigilância Sanitária do Estado do Rio de Janeiro e com a Superintendência de Controle de Zoonoses, Vigilância e Fiscalização Sanitária do Município do Rio de Janeiro.

A importância da qualidade da água é evidente e avaliá-la ao longo de todo o processo desde o ponto de entrada, antes do tratamento de purificação, até o ponto de utilização é primordial para obter informações que orientem o desenvolvimento tecnológico do processo e a tomada de medidas de vigilância sanitária visando à minimização dos riscos para os pacientes.

O aspecto microbiológico do tratamento da água foi levado em conta, quando foi demonstrado que os excessivos níveis de bactérias no dialisato eram responsáveis pelas reações pirogênicas e bacteremia que acometiam os pacientes que passavam por sessões de hemodiálise (LONNEMANN, 2000). No ano de 1996, na cidade de Caruaru em Recife, ocorreu um surto numa clínica que atendia 131 pacientes, onde 100 pacientes desenvolveram falência aguda do fígado e 52 foram a óbito em consequência da contaminação da água de hemodiálise por toxinas de cianobactérias (SIMÕES *et al*, 2005). Estudos demonstraram que, a endotoxina derivada de bactérias Gram negativas pode penetrar na membrana semipermeável do dialisador e é responsável por reações pirogênicas em pacientes em hemodiálise (LONNEMANN, 2000; VERSALOVIC *et al*, 2011).

Foi observado, também que, quando havia contaminantes bacterianos em amostras de diferentes pontos de uma determinada clínica, a mesma espécie bacteriana era encontrada desde a pós-osmose até o dialisato (FERREIRA, 2006) e a espécie bacteriana mais encontrada foi *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Esta espécie é produtora de biofilmes estáveis, que resistem a vários tratamentos de desinfecção, sendo fundamental a inserção de sua pesquisa em 10 ml desta água pela legislação (FERREIRA, 2009).

O monitoramento das clínicas pela vigilância e pelo INCQS busca o cumprimento do nível de ação e profunda melhoria na qualidade da água de hemodiálise, buscando mudanças que se façam necessárias no sistema de tratamento dos estabelecimentos de saúde com serviço de hemodiálise na cidade do Rio de Janeiro a fim de evitar a contaminação da água e o risco de bacteremia que podem trazer prejuízos aos pacientes.

3. OBJETIVO

Identificar os pontos críticos de perigos potenciais associados à água utilizada nos serviços de hemodiálise da cidade do Rio de Janeiro, seguindo os padrões preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter amostras de água utilizada nos serviços de hemodiálise da cidade do Rio de Janeiro.
- Quantificar o número total de bactérias aeróbias, Gram negativas bile tolerantes e bolores e leveduras.
- Pesquisar a presença de micro-organismos patogênicos.
- Quantificar a presença de endotoxinas.

4. METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de água foram coletadas nos estabelecimentos de saúde que possuem serviço de hemodiálise no programa de monitoramento realizado pela Superintendência de Controle de Zoonoses, Vigilância e Fiscalização Sanitária do Município do Rio de Janeiro, no período de 2015 a 2016.

Foram coletadas amostras de água provenientes de diversos pontos do sistema de tratamento da água: pré-filtro (entrada da rede); pós osmose; reuso; loop e dialisato.

Figura 1: Sistema de Tratamento de água tratada para hemodiálise



Fonte: <http://www.dialitec.com>

LEGENDA:

- A- Ponto de entrada da água da rede de abastecimento
- B- Filtros de areia
- C- Osmose reversa
- D- Tanque de armazenamento da água tratada para hemodiálise

Foi coletado um volume aproximado de 200 mililitro (mL) em frascos estéreis. Para a coleta do ponto da entrada da rede de abastecimento (pré-filtro) foi adicionado 1,8% de tiosulfato de sódio (para eliminação do cloro). As amostras foram mantidas em temperatura inferior a 10° C e processadas no mesmo dia da coleta.

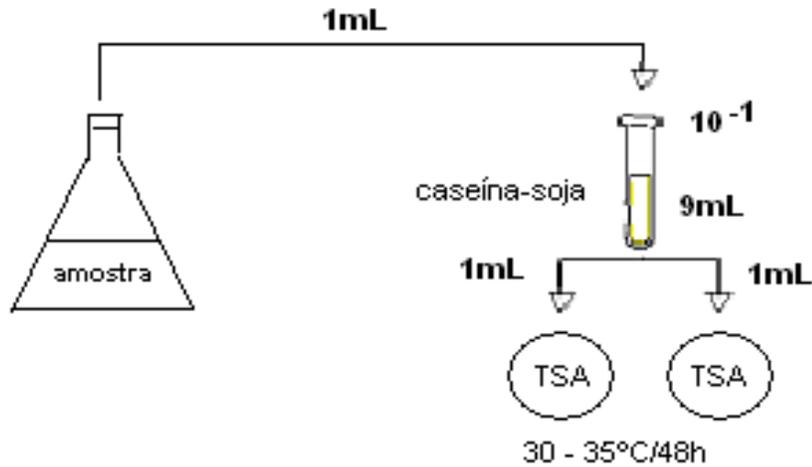
4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Para análise das amostras de água serão utilizados os procedimentos operacionais padronizados do Laboratório não estéreis nº 653210.008, 653210.010, 653210.030 e 653210.033 todos acreditados pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) e qualificados pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

4.2.1 Ensaio de contagem de bactérias heterotróficas

Foi utilizado o método de contagem em plaqueamento por profundidade (em duplicata), utilizando o meio de ágar caseína-soja (TSA). Foi diluída 1mL da amostra em 9 mL de caldo caseína-soja (TSB), com potencial hidrogeniônico (pH) $7,3 \pm 0,2$ a 25 graus Celsius (°C). Um mL da diluição será adicionado a 20 mL do meio TSA, fundido e resfriado a 45-50° C. Após solidificação, o meio será incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas (h). A figura 2 apresenta o esquema da contagem de bactérias aeróbias.

Figura 2: Esquema de metodologia de contagem de bactéria aeróbias.



Fonte: JAB

LEGENDA:

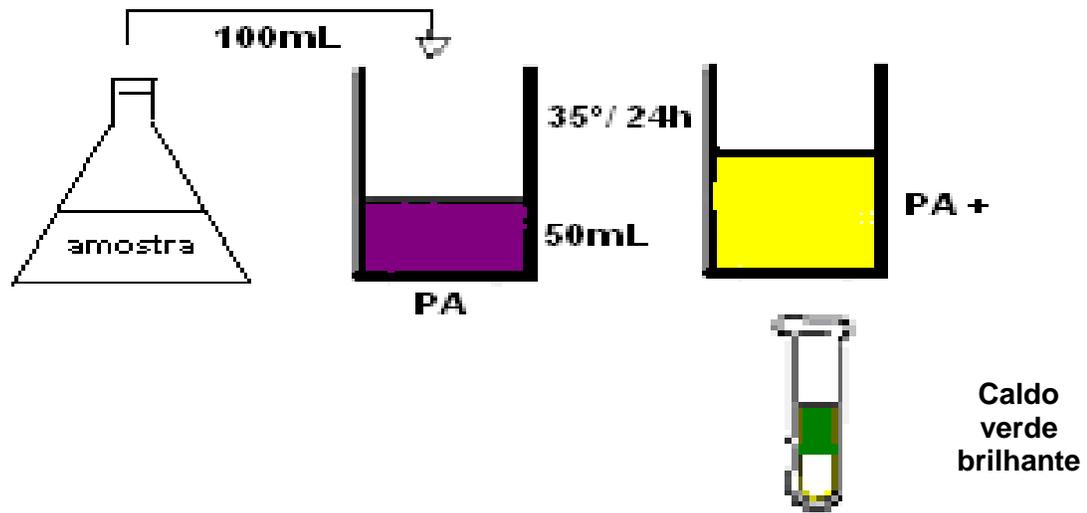
Caseína-soja – meio líquido utilizado para diluição da amostra

TSA- meio de cultura ágar caseína-soja

4.2.2 Pesquisa de coliformes totais

Foram adicionados 100 mL da amostra em frasco contendo 50 mL de caldo Presença-Ausência (PA) em tripla concentração que foi homogeneizado e incubado por até 48 h a $30 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$. Após período de incubação foi transferida uma alçada da cultura que tenha apresentado crescimento com produção de ácido e/ou ácido e gás para tubo contendo 10 mL de caldo verde brilhante bile lactose com tubo de Durhan e incubar por até 48 a $30 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$. A presença de gás no interior do tubo de Durhan confirma a presença de coliformes totais. O esquema da Pesquisa de Coliformes totais é apresentado na figura 3.

Figura 3: Esquema de metodologia de Pesquisa de Coliformes totais



Fonte: JAB

LEGENDA:

PA: Caldo Presença-Ausência em tripla concentração

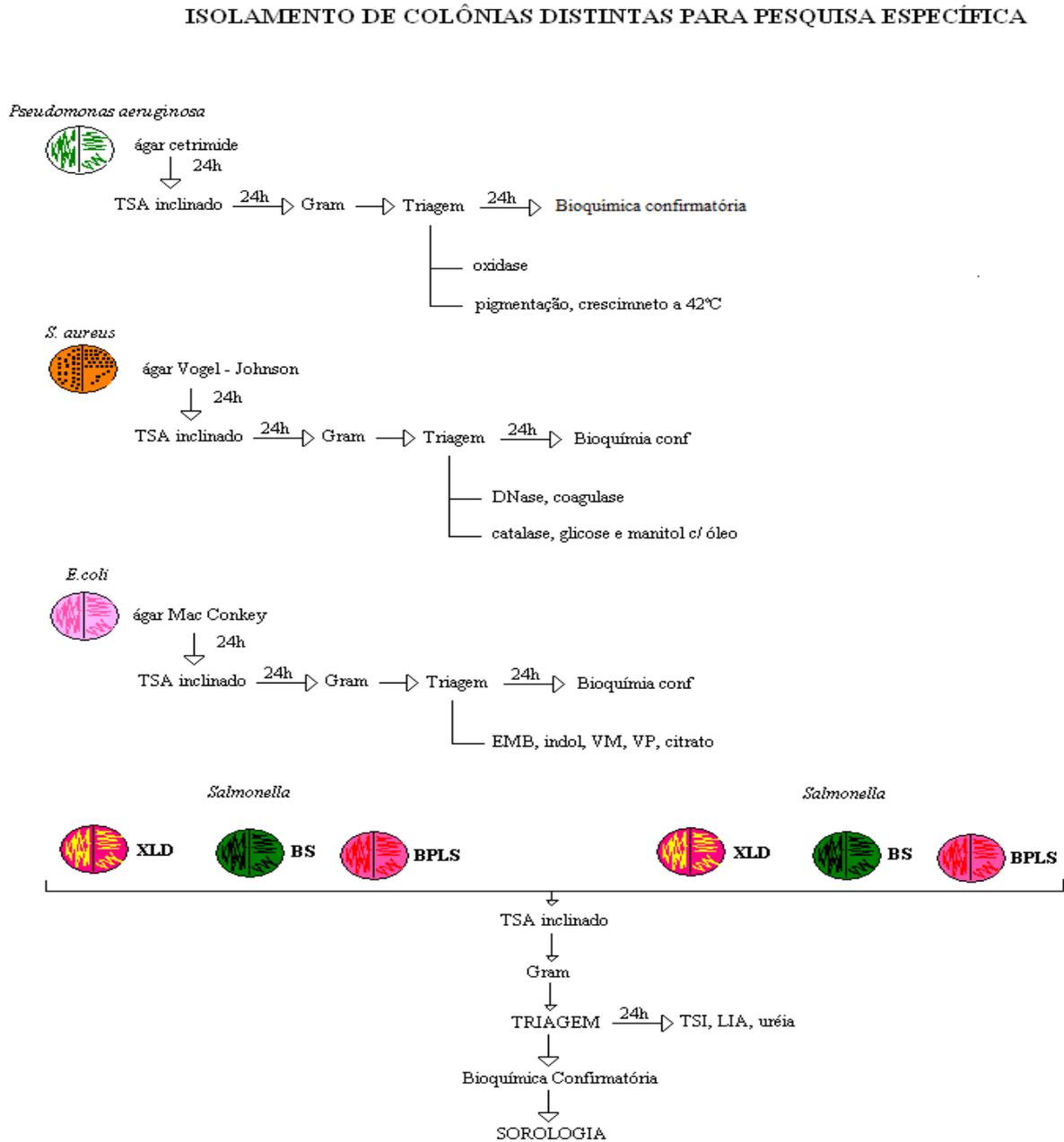
PA+: Caldo Presença-Ausência com resultado positivo

Caldo verde brilhante: Caldo seletivo utilizado para confirmação da presença de coliformes totais

4.2.3 Identificação bioquímica dos microrganismos patogênicos isoladas nas amostras de água

Os microrganismos isolados foram identificados através de testes bioquímicos tais como: fermentação-oxidação da glicose, mobilidade, presença da oxidase, detecção de fluoresceína, detecção de piocianina, presença da catalase, crescimento a $42 \pm 1^\circ\text{C}$, crescimento em agar Mac Conkey, utilização de carboidratos e produção de gás, descarboxilação de aminoácidos, crescimento em diferentes concentrações de cloreto de sódio, incubação em diferentes temperaturas, utilização do citrato, vermelho de metila e Voges Proskauer, utilização da uréia, crescimento, detecção de DNase, detecção, utilização da fenilalanina, decomposição da caseína, lecitina e amido, produção de pigmento, produção de gás, detecção do indol, produção de pigmento, produção de brilho metálico em ágar eosina azul de metileno (EMB) segundo Levine, presença de flagelo e outras provas complementares quando necessário. Conforme esquema apresentado na figura 4.

Figura 4: Esquema de ensaios para pesquisa e identificação de patógenos



Fonte: JAB

LEGENDA:

TSA – Agar caseína-soja

EMB- Eosina azul de metileno

VM- Vermelho de Metila

VP- Voges Proskauer

BPLS - Agar verde brilhante vermelho de

fenol - lactose - sacarose

XLD – Agar xilose/lisina/desoxicolato

BS- Agar Sulfato de bismuto

TSI – Agar triplo açúcar-ferro

4.2.4 Quantificação de endotoxinas

As análises de presença de endotoxina e determinação de sua concentração foram realizados pelo ensaio de Lisado de amebócitos de *Limulus* (LAL), em parceria com o Departamento de Farmacologia e Toxicologia. Esta análise foi feita somente em amostras de pós osmose e reuso coletadas em frascos apirogênicos.

4.2.5 Análise dos resultados

Para interpretação dos resultados foram utilizados os limites microbiológicos preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014: ausência de *Escherichia coli* em 100 mL e contagem de bactérias heterotróficas menor que 100 UFC/mL e Endotoxinas até 0,25 EU/mL, como apresentado na Figura 5 (BRASIL, 2014). Para a água de entrada da rede (antes do tratamento) os limites microbiológicos são: ausência de *Escherichia coli* em 100 ml e ausência de coliformes totais em 100 ml e contagem de bactérias heterotróficas menor que 500 UFC/mL segundo a Portaria/MS n.º 2.914, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), como é apresentado no quadro 1.

Quadro 1: Parâmetros de Qualidade para água tratada para hemodiálise segundo a RDC nº 11 de 13 de março 2014

| Componentes | Valor máximo permitido | Frequência de análise |
|--------------------------------------|------------------------|-----------------------|
| Coliforme total | Ausência em 100 ml | Mensal |
| Contagem de bactérias heterotróficas | 100 UFC/ml | Mensal |
| Endotoxinas | 0,25 EU/ml | Mensal |

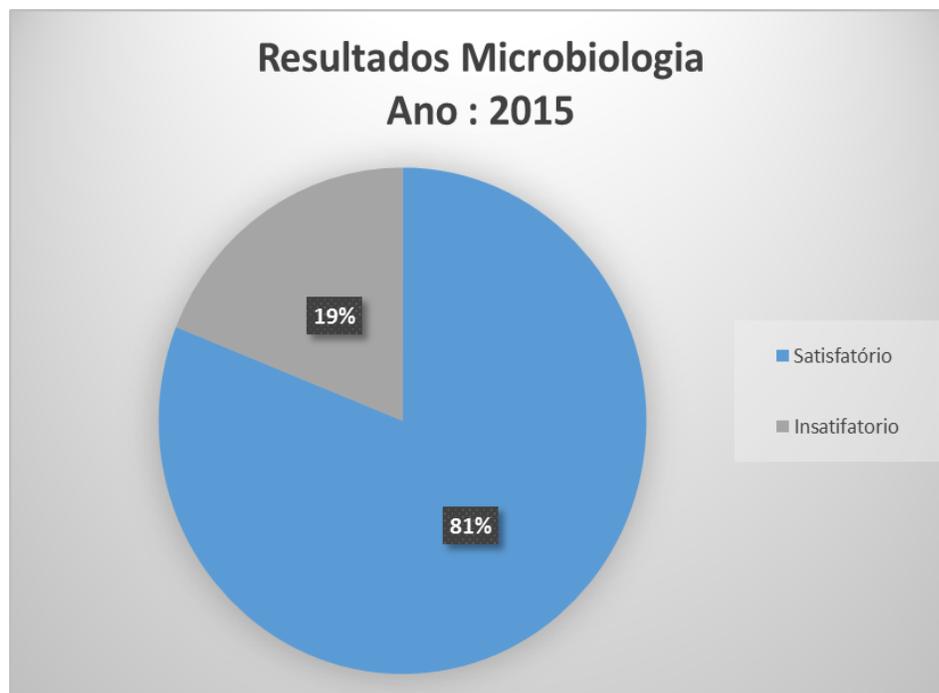
Fonte: Adaptado da RDC nº 11 de 13 de março 2014.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ano de 2015 foram inspecionadas 36 Clínicas e/ou Hospitais com serviços de hemodiálise e coletadas 174 amostras para ensaio microbiológico e 49 amostras para pesquisa de endotoxinas. No ano de 2016 houve inspeções a 26 Clínicas e ou Hospitais com serviços de hemodiálise e foram coletadas 129 amostras para ensaio microbiológico e 66 amostras para pesquisa de endotoxinas. Todos os serviços localizados no município do Rio de Janeiro

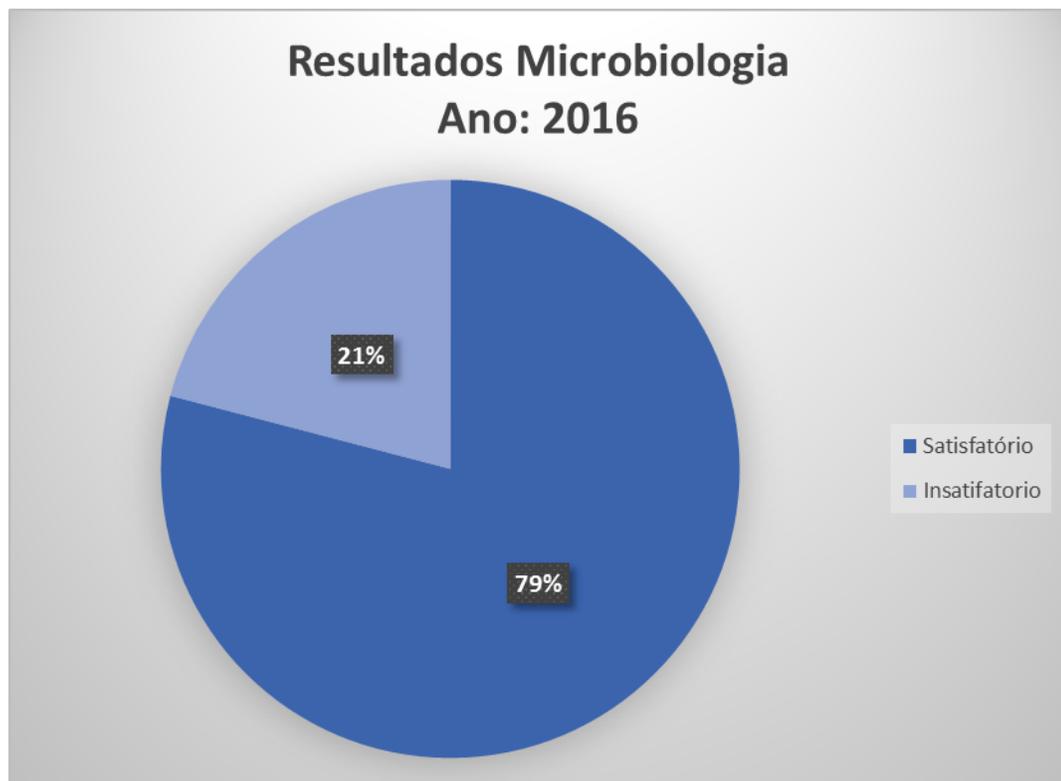
Dentre as amostras analisadas no ano de 2015 obteve-se 81 % das amostras apresentando resultados satisfatórios para contagem de bactérias heterotróficas, enquanto 19% das amostras apresentaram resultados insatisfatórios, acima de 100 UFC/mL, como indicado no limite preconizado pela RDC nº 11 de 13 de março 2014. Todas as amostras provenientes do ponto de pré-osmose (entrada da rede) apresentaram-se satisfatórias e seus resultados foram comparados aos limites preconizados pela Portaria/MS n.º 2.914, de 12 de dezembro de 2011. O gráfico 1 apresenta os resultados do ano de 2015 para a contagem de bactérias heterotróficas.

Gráfico 1. Resultados das contagens de bactérias heterotróficas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro no ano de 2015.



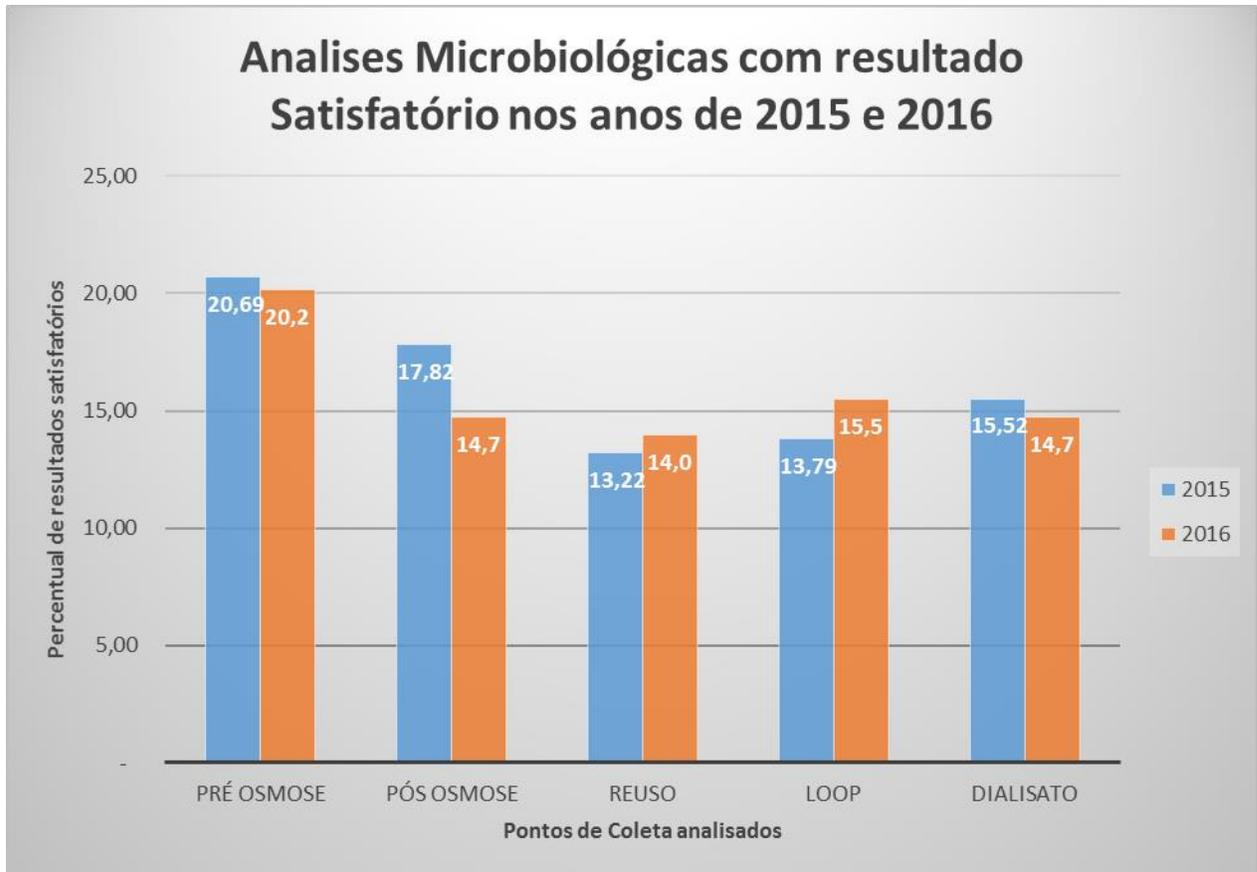
Com relação as amostras coletadas e analisadas no ano de 2016, assim como ocorreu no ano de 2015 com relação a contagem de bactérias heterotróficas, todas as amostras de pré-osmose (entrada da rede) apresentaram resultados satisfatórios, os demais pontos analisados apresentaram 79% de amostras satisfatórias e 21% de amostras insatisfatórias com relação aos limites preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014, como pode ser observado no gráfico 2.

Gráfico 2. Resultados das contagens de bactérias heterotróficas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro no ano de 2016.



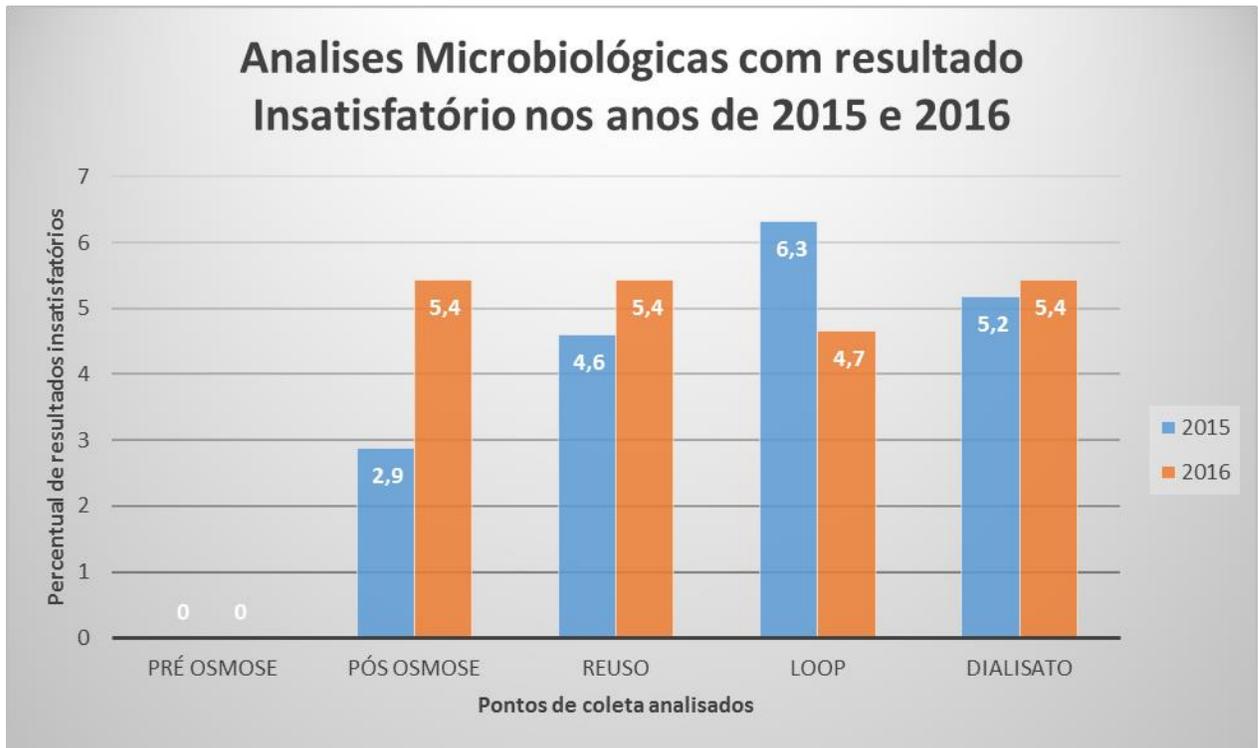
Em comparação aos resultados obtidos nas análises microbiológicas de contagem de bactérias heterotóficas e pesquisa de coliformes totais nos anos de execução do trabalho, os resultados também mostraram-se semelhantes em todos os pontos de coleta analisados, como pode ser avaliado nos gráficos 3 e 4.

Gráfico 3. Resultados satisfatórios das análises microbiológicas realizadas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016.



Comparando-se os anos 2015 e 2016 não houve grande diferença com relação ao percentual de amostras apresentando resultado satisfatório nos diferentes pontos de coleta analisados. Como já mencionado, o ponto de pré-osmose é o de melhor qualidade e nenhum serviço apresentou resultado insatisfatório, isto pode ser explicado pelo controle realizado pela empresa de abastecimento do município que utiliza uma taxa de cloração tal que impede a contaminação desta água, que é a mesma que recebemos em nossas residências.

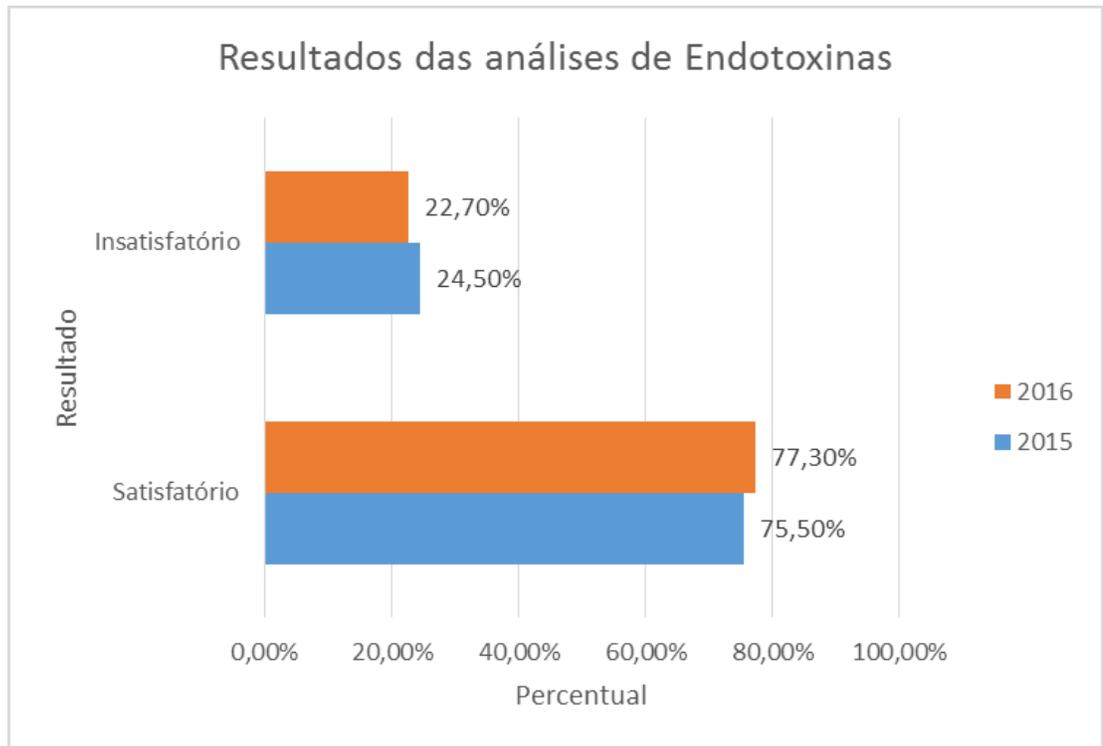
Gráfico 4. Resultados insatisfatórios das análises microbiológicas realizadas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016.



Com relação a concentração de endotoxinas, das 49 amostras coletadas no ano de 2015 dos pontos de pós-osmose e reuso para pesquisa de endotoxinas, 75,5% apresentaram resultados satisfatório e 24,5% apresentaram-se insatisfatórios, acima de 0,25 EU/mL, segundo os limites preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014. Semelhante resultado encontrou-se para o ano de 2016, onde das 66 amostras coletadas no ano de 2016 dos pontos de pré-osmose e reuso para pesquisa de endotoxinas, 77,3% apresentaram resultados satisfatório e 22,7% apresentaram-se insatisfatórios, acima de 0,25 EU/mL, segundo os limites preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014.

O gráfico 5 apresenta a correlação entre os resultados encontrados para endotoxinas nas amostras analisadas nos anos de 2015 e 2016, que se apresentaram semelhantes em ambos os anos.

Gráfico 5. Resultados das pesquisas de endotoxinas nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidas no município do Rio de Janeiro nos anos de 2015 e 2016.



Com relação a comparação dos resultados insatisfatórios, acima de 100 UFC/mL, em percentuais, podemos observar uma maior frequência no ano de 2015 para o ponto LOOP e no ano de 2016 para os pontos Pós-osmose, Reuso e Dialisato. Em geral podemos perceber uma coerência entre os resultados tanto para o mesmo ano em todos os pontos, como também quando comparando-se os resultados entre os anos, isto ocorre, pois quando há a presença de contaminação no sistema de tratamento de água, o mesmo vai sendo carregado por todo o circuito e confirmado nos diferentes pontos de coleta, principalmente o Dialisato que é o ponto direto da máquina onde é feito o procedimento de hemodiálise no paciente. O ponto de pré-osmose não apresentou nenhum resultado insatisfatório.

Todas as amostras que apresentam crescimento têm suas colônias isoladas para que seja identificado gênero e espécie do patógeno que esteja causando a contaminação, no entanto a RDC

nº 11 de 13 de março 2014 só salienta a importância de não haver presença de coliformes totais sem exigir sua identificação. Na tabela 1 são apresentados os microrganismos que foram isolados nas amostras que apresentaram crescimento de colônias de microrganismos.

Tabela 1. Microrganismos identificados nas amostras de água tratada para hemodiálise obtidos nos serviços de hemodiálise nos anos de 2015 e 2016.

| Microrganismos isolados |
|-------------------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| <i>Burkholderia cepacia</i> |
| <i>Sphingomonas paucimobilis</i> |
| <i>Brevundimonas diminuta</i> |
| <i>Moraxella osloensis</i> |
| <i>Ralstonia pickettii</i> |

O microrganismo mais isolado nas amostras foi *P. aeruginosa*, uma bactéria Gram-negativa extremamente versátil, encontrada no solo e água e muito relacionada a infecções hospitalares, principalmente em paciente imunocomprometidos. *P. aeruginosa* também é comumente encontrada em infecções hospitalares, sendo capaz de se aderir a diversos materiais, contaminando cateteres, ventiladores, próteses e lentes de contato. Por causa da alta resistência a antibióticos e do grande arsenal de fatores de virulência desta bactéria, as infecções causadas por ela são de difícil controle (VERSALOVIC *et al*, 2011).

As bactérias isoladas nesse estudo apresentam características em comum, são bacilos Gram negativos, não fermentadores de glicose, muito associados a infecções hospitalares devido a sua capacidade de aderência a objetos e locais, alta resistência a antimicrobianos e a sua ação oportunista em pacientes imunodeprimidos. *S. maltophilia* por exemplo, associa-se a ocorrência de pneumonia ou bacteremia, comumente endocardite, mastoidite, peritonite, meningite,

endoftalmite e infecções de partes moles, de ferida operatória e de trato urinário. *A. baumannii* está relacionado a infecções que envolvem mais o trato respiratório (tubos endotraqueais ou traqueostomia); trato urinário e ferimentos (incluindo os sítios de cateter) que podem progredir para a septicemia. *Burkholderia cepacia* associa-se a ocorrência de "síndrome cepacia", um quadro séptico muito frequente em pacientes com fibrose cística, caracterizado por um declínio da função pulmonar, com posterior bacteremia e, em muitos casos, o óbito. (VERSALOVIC *et al*, 2011).

Os resultados encontrados para endotoxinas, reforçam os resultados microbiológicos encontrados, pois em todas os serviços onde houve crescimento bacteriano nos pontos pós-omose e reuso, também houve presença de endotoxinas acima do limite preconizado pela legislação vigente de 0,25 EU/mL.

A presença de *P. aeruginosa* em maior frequência também foi comentado no estudo de PERESI *et al* (2011) onde nos resultados obtidos em seu estudo foi revelado que no período de 2000 a 2009, 43 (8,5%) das 508 amostras de água de diálise analisadas apresentaram-se contaminadas por *P. aeruginosa* e em menor frequência por outros patógenos (PERESI *et al*, 2011). Na RDC nº11 de 13 de março 2014 não foi incluída a pesquisa de *P. aeruginosa*, lembrando que o gênero bacteriano mais frequentemente isolado em águas tratadas para diálise, solução dialisadora e dialisato tem sido *Pseudomonas* e que sua presença está relacionada à ocorrência de endotoxinas bacterianas e à possibilidade de formação de biofilmes, representando, portanto, riscos à saúde dos pacientes que necessitam do tratamento (FERREIRA, 2009).

O biofilme pode ser definido como uma estrutura comunitária de células microbianas protegidas por uma matriz polissacarídica ou proteica que é sintetizada pelas células e aderente tanto a superfícies inertes ou vivas. Esta matriz é formada fundamentalmente por água e substâncias poliméricas extracelulares. A formação e o desenvolvimento dos biofilmes ocorrem em etapas iniciando com a adesão das células a superfície, maturação, onde ocorre a produção de polímeros e reprodução celular até o desprendimento, onde pode ocorrer a liberação de células do biofilme, as quais podem voltar ao seu estado planctônico (DONLAN, 2002).

Devido à resistência de alguns microrganismos, principalmente a *P. aeruginosa*, os processos de desinfecção do tratamento de água devem ser criteriosos buscando atender os níveis de segurança exigidos pela legislação. A prevenção da contaminação da água requer conhecimento da origem do problema dentro da linha de tratamento e a utilização de

procedimentos de desinfecção adequados. A contaminação bacteriana em sistemas de tratamento e distribuição de água pode levar à formação de biofilmes que podem persistir em diferentes pontos do sistema de tratamento e desenvolver maior resistência ao procedimento de desinfecção (SMEETS et al., 2003).

O serviço de monitoramento realizado pelo INCQS junto aos órgãos de Vigilância Sanitária, tem um importante papel sanitário, visto que nos dias atuais o panorama dos serviços em geral é de extrema qualidade quando comparado aos resultados que se obtinham ao início do trabalho, onde a maioria dos serviços, cerca de 60%, eram reprovados com relação a análises microbiológicas, quando atualmente, este resultado só é visto em poucos serviços, muitas vezes relacionados a outros problemas administrativos dos serviços (FERREIRA, 2006).

Devido à importância do controle da água tratada para hemodiálise, a legislação vigente considera a necessidade de que a mesma siga os critérios de análise que a água para diluição de medicamentos, logo, segundo a Farmacopéia a mesma deve seguir em suas análises padrão de medicamentos, o que muitas vezes gera controvérsias entre os laboratórios licenciados pela Vigilância Sanitária, ocasionando a liberação de laudos com resultados falso-negativos, podendo ocasionar riscos a população atendida pelos serviços (ANVISA, 2010), logo os laudos emitidos pelo INCQS possuem alto valor tanto para os órgãos de fiscalização quanto para os responsáveis técnicos dos serviços de diálise da cidade do Rio de Janeiro.

6. PERSPECTIVAS DO TRABALHO

Os regulamentos e critérios mínimos de qualidade e segurança do funcionamento de serviços de terapia renal substitutiva se fazem necessários para auxiliar o trabalho dos órgãos fiscalizadores e garantir a segurança do paciente que necessita de tratamento.

Ressaltando os riscos associados a presença da *P. aeruginosa* para a saúde pública e para os pacientes submetidos ao processo de hemodiálise, a inclusão da sua pesquisa nos padrões de qualidade da água para diálise constitui uma medida necessária onde, por meio de monitoramento sistemático, a sua presença pode revelar possíveis deficiências no controle da rede de distribuição da água nas unidades e promover a implementação da manutenção do sistema.

Com isso, espera-se que haja colaboração para futuras revisões da legislação específica existente a fim de evitar falhas que possibilitem malefícios aos pacientes atendidos pelo serviço. Além disso, busca-se sempre a capacitação de profissionais na área, tanto analítica, como também, na de vigilância sanitária, a fim de que os serviços prestados à população atendam os padrões de qualidade necessários.

7. CONCLUSÃO

Com a realização desse trabalho foi possível a realização de uma avaliação do panorama de qualidade microbiológica dos serviços de hemodiálise da cidade do Rio de Janeiro. Com a participação em 62 inspeções realizadas pelo órgão de fiscalização sanitária da cidade, nos anos de 2015 e 2016, no ano de 2015 foram coletadas 174 amostras para ensaio microbiológico com 19% das amostras apresentando-se insatisfatórias e 81% com resultados satisfatórios. No ano de 2016 foram coletadas 129 amostras onde 21% apresentou resultado insatisfatório e 79% resultados satisfatórios. Resultados estes que foram comparados aos limites preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014 e que se apresentaram comuns a todos os pontos de análise, reforçando que o controle e o monitoramento deve ser feito ao longo de todo o sistema de tratamento.

As amostras coletadas para a pesquisa de endotoxinas, provenientes dos pontos de pós-osmose e reuso, apresentaram 24,5% de resultados insatisfatórios e 75,5% de resultados satisfatórios dentre as 49 amostras coletadas ao longo do ano de 2015 e 22,7% de resultados insatisfatórios e 77,3% de resultados satisfatórios em 66 amostras coletadas ao longo do ano de 2016.

Dentre os gêneros bacterianos isolados nas amostras insatisfatórias, o mais comum foi a *P. aeruginosa*, salientando a importância de sua investigação nesse tipo de amostra, devido ao seu potencial de ocorrência de infecções hospitalares e oportunistas em pacientes atendidos por este serviço.

Por mais que nos dias atuais, hajam esforços a fim de garantir a segurança dos pacientes submetidos a processos invasivos como é o caso da hemodiálise, e o número de casos de bacteremia e suas complicações tenham diminuído, o controle da qualidade da água e do serviço oferecido deve ser uma prioridade para a saúde pública.

Os resultados encontrados reforçam a importância de um programa de monitoramento dos serviços de hemodiálise, pois apesar de tantos anos de intervenção dos órgãos fiscalizadores, ainda percebemos resultados insatisfatórios e presença de microrganismos patogênicos que podem ocasionar problemas a saúde dos pacientes que necessitam dos serviços de hemodiálise para manutenção de sua vida.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, *et al.* The Predominant Variant of the Brazilian Epidemic Clonal Complex of Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* has an Enhanced Ability to Produce Biofilm and to Adhere to and Invade Airway Epithelial Cells. **J Infect Dis.**192: 801-810. 2005
- ARVANITIDOU, *et al.* Microbiological quality of water and dialysate in all haemodialysis centers of Greece. **Nefrology Dial. Transplant.** V. 13 p. 949-954. 1998.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5. ed. Brasilia, 2010. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf>.
- ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION, AAMI. **American national standard for hemodialysis systems**, ANSI/AAMI no. RD52, 2004.
- BOMMER, J., JABER, B. L. Ultrapure dialysate: facts and myths. **Seminars in Dialysis** v. 19 p. 115-119. 2006.
- BRASIL. Portaria nº 82 de 03/01/2000. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de diálise e as normas para o cadastramento destes junto ao Sistema Único de Saúde. **[Diário Oficial da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 08 de fevereiro de 2000.
- BRASIL. PORTARIA/MS n.º 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **[Diário Oficial da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 12 de dezembro de 2011.
- BRASIL. Resolução – RDC/ ANVISA N° 11, DE 13 DE MARÇO DE 2014. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos Serviços de Diálise. **[Diário Oficial da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 11 de março de 2014.
- CALDERARO, R. V. V., BISCHOFBERGER, C. Tratamento e vigilância da qualidade das águas de hemodiálise. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, 1998, v. 3, n. 3 e 4, p. 118-127.
- CONTAGEM de Viáveis Totais em Produtos Farmacêuticos e Matérias-Primas de Uso em sua Fabricação. In: **MANUAL da Qualidade**. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3210.010).
- DONLAN, R. M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerging Infect Disease**, v. 8, n. 9, p. 881-890, 2002.
- FERREIRA, Joana Angélica Barbosa. **Avaliação microbiológica da Água utilizada nas unidades de terapia renal substitutiva no Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro. Monografia (Curso de Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e

Serviços Vinculados à Vigilância Sanitária) – Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. 2006.

FERREIRA, Joana Angélica Barbosa. **Diversidade Genética, Perfil de Resistência aos Antimicrobianos e Produção de Biofilme de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* Isoladas da Água Utilizada em Unidades de Terapia Renal Substitutiva.** Rio de Janeiro. Monografia (Curso de Mestrado em Vigilância Sanitária) – Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. 2009.

HOENICH, N. A. *et al.* The importance of water quality and haemodialysis fluid composition. **Blood Purification.** v. 24: p.11-18. 2006.

JUNIOR, J. E. R. O rim e suas doenças. Sociedade Brasileira de Nefrologia. SBN. Disponível em: <http://www.sbn.org.br/Publico/rim.htm>. Acesso em 11 agosto 2015.

LO CASCIO, *et al.* A napkin-associated outbreak of Burkholderia cenocepacia bacteraemia in haemodialysis patients. **Journal of Hospital Infection.** V. 64, p. 56-62. 2006.

LONNEMANN, G. The quality of dialysate: an integrated approach. **Kidney Int.** 76: S112-119. 2000

MAGALHÃES, *et al.* Polyclonal outbreak of Burkholderia cepacia complex bacteraemia in haemodialysis patients. **Jornal of Hospital Infection.** V. 54 p. 120-123. 2003.

MÉTODOS Biológicos. In: FARMACOPÉIA Brasileira. **Métodos Biológicos.** 5ed. São Paulo: Atheneu. 2010.

MORIN, P. Identification of the bacteriological contamination of a water treatment line used for haemodialysis and its disinfection. **Journal Hospital Infection.** 45: 218-224. 2000.

PERESI, *et al.* Pseudomonas aeruginosa: ocorrência e suscetibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados de amostras de água tratada utilizada em solução de diálise. **Rev Inst Adolfo Lutz.** 70(4):542-7; 2011.

PESQUISA de coliformes totais. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10. (65.1120.033).

PESQUISA de Patógenos em Produtos Não Estéreis. In: Manual da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10 n° 65.3210.008

PIZZARELLI, *et al.* Dialysis water treatment systems and monitoring in Italy: results of a national survey. **Journal of Nephrology.** V. 17 p. 565-569. 2004.

RUTALA, W.A.A; WEBER, D. J. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. **Clin. Microbiol. Rev.** 10: 597-610. 1997.

SIMÕES, *et al.* Água de diálise: parâmetros físico-químicos na avaliação do desempenho das membranas de osmose reversa. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 64(2):173-178, 2005.
 SESSO, *et al.* Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica. **J Bras Nefrol** 2016;38(1):54-61 <http://www.jbn.org.br/details/1830/pt-BR..>

SIVIERO, P.C.L., *et al.* Insuficiência renal crônica no Brasil segundo enfoque de causas múltiplas de morte. **Cad. Saúde Colet.**, 2014, Rio de Janeiro, 22 (1): 75-85.

SMEETS, E. *et al.* Prevention of biofilm formation in dialysis water treatment systems. *Kidney International*, v. 63, n. 4, p. 1574-6, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (SBN). Tratamentos- O que é hemodiálise. Disponível em: <http://sbn.org.br/publico/tratamentos/hemodialise/>. Acesso em: 10 de junho de 2016.

SOUSA, *et al.* Eventos adversos em hemodiálise: relatos de profissionais de enfermagem. *Rev Esc Enferm USP* 2013; 47(1):76-83.

TENA, *et al.* Outbreak of long-term intravascular catheter bacteremia due to *Achromobacter xylosoxidans* subspecies *xylosoxidans* in a hemodialysis unit. **European Journal Microbiology Infect Disease**. V. 24, p. 727-732. 2005.

VASCONCELOS, P.D.S. de. Monitoramento da água de diálise: um estudo de caso em uma clínica do município de Recife. Rio de Janeiro. Monografia (Curso de Especialização em Gestão de Sistemas e Serviços de Saúde do Departamento de Saúde Coletiva) – Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Ageu Magalhães. 2012.

VERSALOVIC, J. *et al.* **Manual of clinical microbiology**. 10 ed. Washington D.C., American Society for Microbiology, 2011.

VORBECK-MEISTER, *et al.* Quality of water used for haemodialysis: bacteriological and chemical parameters. **Nephrology Dial. Transplant**. v.14 p.666-675. 1999.

WANG, S. A. An outbreak of Gram-negative bacteremia in haemodialysis patients traced to haemodialysis machine waste drain ports. **Infection Control Hospital Epidemiology** v. 20 p. 746-741. 1999.