

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

Priscila Rodrigues de Jesus

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA UTILIZADA NOS SERVIÇOS DE DIÁLISE  
À BEIRA DO LEITO EM UNIDADES DE TRATAMENTO INTENSIVO NO  
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

**Rio de Janeiro  
2019**

Priscila Rodrigues de Jesus

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA UTILIZADA NOS SERVIÇOS DE DIÁLISE  
À BEIRA DO LEITO EM UNIDADES DE TRATAMENTO INTENSIVO NO  
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada 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 de título de Mestre em Vigilância Sanitária

Orientadora: Dra. Helena Pereira da Silva Zamith

Colaboradora: Dra. Joana Angélica Barbosa Ferreira

**Rio de Janeiro**

**2019**

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Jesus, Priscila Rodrigues de

Avaliação da Qualidade da água utilizada nos serviços de diálise à beira do leito em Unidades de tratamento intensivo no município do Rio de Janeiro. / Priscila Rodrigues de Jesus. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2019.

75 f. : il. ; fig. ; graf. ; tab.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

Orientadora: Helena Pereira da Silva Zamith.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Microbiologia. 2. Diálise móvel. 3. Solução de diálise. 4. Água tratada. I. Título.

Evaluation of the Quality of water used in bedside dialysis services in Intensive Care Units in the city of Rio de Janeiro.

Priscila Rodrigues de Jesus

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA UTILIZADA NOS SERVIÇOS DE DIÁLISE  
À BEIRA DO LEITO EM UNIDADES DE TRATAMENTO INTENSIVO NO  
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada 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 de título de Mestre em Vigilância Sanitária

Aprovada em \_\_/\_\_/\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Marco Antônio Mota da Silva (Doutor)  
Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste

---

Janete Teixeira Duarte (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutor) – Orientadora  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Joana Angélica Barbosa Ferreira (Doutor) – Colaboradora  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dedico este trabalho aos profissionais de Vigilância Sanitária que atuam em seu dia a dia buscando garantir a qualidade dos produtos e serviços ofertados a população de modo a garantir a minimização de riscos e o alcance dos resultados esperados. Além dos pacientes em tratamento com hemodiálise ou diálise a beira do leito, que os estudos nesta área subsidiem a manutenção dos serviços de forma a promover sua saúde e garantir sua qualidade de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir mais esta realização em minha trajetória profissional e por sempre ser minha força para não desistir em meio as adversidades que a vida nos apresenta.

Pelo meu marido Diego Dias que foi um grande parceiro em toda essa jornada, me dando apoio e suporte necessários.

Pelos meus pais e irmão que sempre acreditaram no meu potencial e torcem pelo meu sucesso.

Pelo Setor Não Estéreis, em especial a Joana Angélica Barbosa Ferreira por todo suporte e apoio ao longo do processo do mestrado e Juliana dos Santos Carmo que contribuíram com a obtenção das amostras, execução dos ensaios e desenvolvimento deste estudo.

A minha orientadora Helena Pereira da Silva Zamith por ter aceitado me orientar e por todo o auxílio, paciência e apoio ao longo do desenvolvimento deste estudo.

Ao INCQS e demais profissionais pela receptividade de sempre e auxílio nas demandas necessárias ao longo de minha caminhada acadêmica.

## RESUMO

A água tratada utilizada nos serviços móveis para diálise à beira do leito não é monitorada e sua qualidade é fundamental para evitar riscos adicionais à saúde do paciente. A avaliação dos pontos críticos, pré osmose (PPREO), pós osmose (PPOS) e da solução de diálise (SD), faz-se necessária para a identificação da origem do problema, fornecimento de subsídios para o desenvolvimento tecnológico do processo e a tomada de decisão no âmbito da vigilância sanitária. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da água utilizada nos serviços de diálise à beira do leito em unidades de tratamento intensivo no município do Rio de Janeiro. No ano de 2017 foram coletadas e analisadas 176 amostras de água dos pontos de PPREO, PPOS e da SD provenientes de 22 unidades hospitalares localizadas no município do Rio de Janeiro, através das metodologias contagem total de bactérias aeróbias, pesquisa de coliformes fecais e totais, identificação fenotípica dos microrganismos isolados nas amostras de água, bem como, as quantificações de endotoxina e do teor de alumínio. Em 33% das amostras analisadas a contagem foi maior os limites preconizados, sendo 50% das amostras insatisfatórias provenientes da SD, 32% do PPOS e 18% do PPREO. Concentrações de endotoxina acima de 0,25 unidades de endotoxina (EU)/mL ocorreram em 76% das amostras, sendo 37% na SD, 33% no PPOS e 30% no PPREO. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* e *Ralstonia pickettii* foram isoladas nos 3 pontos analisados. A frequência de contaminação de 20% pela *P. aeruginosa* foi a mais alta ocorrendo no PPOS e na SD. A contaminação das amostras de água por alumínio acima dos limites estipulados para o PPREO e para o PPOS ocorreu em 25% das amostras coletadas. Ocasionalmente a reprovação de 60 % unidades hospitalares analisadas. Devido a inexistência de uma legislação específica para água utilizada em serviços de diálise móvel, os resultados obtidos neste trabalho se basearam nos limites preconizados pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Brasileira de Vigilância Sanitária (ANVISA), RDC 11/2014 para a água tratada para hemodiálise em serviços de hemodiálise. A constatação de níveis indesejáveis de insatisfatoriedade das amostras ressalta a importância de avaliação da qualidade da água utilizada nos serviços de diálise à beira do leito a fim de contribuir com a segurança do paciente e subsidiar ferramentas de monitoramento sanitário deste processo como um promotor de saúde.

Palavras chave: 1. Microbiologia; 2. Dialise móvel; 3. Solução de dialise; 4. Água tratada

## ABSTRACT

The treated water used in the mobile services for bedside dialysis is not monitored and its quality is fundamental to avoid additional risks to the health of the patient. The evaluation of the critical points, pre osmosis (PPREO), post osmosis (PPOS) and the dialysis solution (SD), is necessary to identify the origin of the problem, provide subsidies for the technological development of the process and the decision-making in health surveillance. The objective of this study was to evaluate the quality of water used in bedside dialysis services in intensive care units in the city of Rio de Janeiro. In the year 2017, 176 water samples from the PPREO, PPOS and SD points from 22 hospital units located in the city of Rio de Janeiro were collected and analyzed using total aerobic bacteria, fecal and total coliforms, phenotypic identification of isolated microorganisms in water samples, as well as quantifications of endotoxin and aluminum content. In 33% of the analyzed samples the counts were higher than the recommended limits, 50% of the samples were unsatisfactory from SD, 32% from PPOS and 18% from PPREO. Endotoxin concentrations above 0.25 endotoxin units (EU) / mL occurred in 76% of samples, 37% in SD, 33% in PPOS and 30% in PPREO. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* and *Ralstonia pickettii* were isolated at the 3 points analyzed. The frequency of contamination of 20% by *P. aeruginosa* was the highest occurring in PPOS and SD. The contamination of water samples by aluminum above the stipulated limits for PPREO and PPOS occurred in 25% of the samples collected. Causing the disapproval of 60% analyzed hospital units. Due to the lack of specific legislation for water used in mobile dialysis services, the results obtained in this study were based on the limits recommended by the Resolution of the Collegiate Board of Directors of the Brazilian Sanitary Surveillance Agency (ANVISA), DRC 11/2014 for treated water for hemodialysis in hemodialysis services. The finding of undesirable levels of unsatisfactory samples underscores the importance of assessing the quality of water used in bedside dialysis services in order to contribute to patient safety and to subsidize health monitoring tools of this process as a health promoter.

**Keywords:** 1. Microbiology; 2. Dialise mobile; 3. Dialysis solution; 4. Treated water



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Processo de terapia renal substitutiva por hemodiálise.....	18
Figura 2 - Aparelho de osmose portátil.....	20
Figura 3 - Aparelho de diálise móvel em paciente de unidade de tratamento intensivo.....	20
Figura 4- Sistema de tratamento de água dos serviços de hemodiálise realizados em clínicas.	21
Quadro 1 - Padrão de qualidade da água utilizada nos procedimentos de hemodiálise.....	23
Figura 5- Esquema da metodologia do ensaio de contagem de bactérias aeróbias.....	33
Figura 6 - Esquema da metodologia do ensaio de pesquisa de coliformes totais.....	34
Figura 7- Esquema das metodologias dos ensaios para pesquisa e identificação de <i>P. aeruginosa</i> .....	35
Figura 8- Esquema das metodologias dos ensaios para pesquisa e identificação de <i>S. aureus</i> .	36
Figura 9- Esquema das metodologias dos ensaios para pesquisa e identificação de <i>E. coli</i> .....	36
Figura 10 – Aparelho de osmose portátil conectado a uma torneira na antessala de uma unidade de tratamento intensivo hospitalar.....	40
Figura 11 – Aparelho de osmose portátil ligado à rede de distribuição de água em área de expurgo de unidade de tratamento intensivo hospitalar.....	40
Figura 12 – Aparelho de osmose portátil posicionado exteriormente ao leito de isolamento de bactérias multidrogas resistentes (MDR).....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Contagem total de bactérias aeróbias nas amostras de água obtidas em 3 diferentes pontos de coleta em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017. Resultados expressos em número de unidades formadoras de colônia (UFC)/mL.....	42
Tabela 2 - Patógenos identificados nas amostras de água obtidas em 3 diferentes pontos de coleta em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017 e suas correlações com situações clínicas.....	46
Tabela 3 - Quantificação de endotoxinas pelo teste do LAL <sup>1</sup> – método de gelificação nas amostras de água e de solução de diálise obtidas dos 3 diferentes pontos de coleta em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017. Resultados expressos em número de unidades de endotoxina (EU)/mL.....	48
Tabela 4 - Quantificação do teor alumínio nas amostras de água obtidas de entrada da rede e da água de hemodiálise coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017. Resultados expressos em concentração de alumínio (mg/L).....	51

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Percentual de amostras de água de rede (pré osmose), pós osmose e solução de diálise com contaminação microbiana acima do preconizado pela legislação coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.....44
- Gráfico 2- Frequência de ocorrência de microorganismos isolados nos pontos pré osmose, pós osmose e solução de diálise. Amostras coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.....45
- Gráfico 3 – Resultados dos ensaios de determinação da concentração de endotoxinas em todas as amostras de água analisadas através do teste com o lisado de amebócitos de Limulus (LAL) pelo método de gelificação. Amostras foram coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.....49
- Gráfico 4 – Resultados dos ensaios de determinação da concentração de endotoxinas em amostras de água tratada para hemodiálise através do teste com o lisado de amebócitos de Limulus (LAL) pelo método de gelificação. Amostras foram coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.....49
- Gráfico 5 – Resultados obtidos em relação à determinação do teor de alumínio em amostras de pré-osmose e pós osmose coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.....52
- Gráfico 6. Distribuição das unidades hospitalares no município do Rio de Janeiro inspecionadas e com coleta de amostras no ano de 2017 quanto ao tipo de administração pública ou privada.....53
- Gráfico 7. Distribuição das unidades hospitalares quanto aos resultados das análises microbiológicas, de endotoxina bacteriana e de alumínio em amostras de água nos pontos de

coleta pré-osmose, pós osmose e solução de diálise provenientes de 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.....53

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ANVISA**- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- APHA** – *American Public Health Association*
- BPLS** – Ágar verde brilhante vermelho de fenol - lactose - sacarose
- BS** – Ágar sulfato de bismuto
- CPHD** – Concentrado polieletrólítico para hemodiálise
- CVS** – Coordenação de Vigilância Sanitária
- CZVFS** – Controle de Zoonoses, Vigilância e Fiscalização Sanitária
- DFT** - Departamento de Farmacologia e Toxicologia
- EU** – Unidades de endotoxina
- EMB** – Ágar eosina azul de metileno
- FIOCRUZ** – Fundação Oswaldo Cruz
- GGTES** – Gerência Geral de Tecnologia Serviços de Saúde da ANVISA
- INCQS** – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
- INMETRO** – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
- IRA** – Insuficiência renal aguda
- IRC** – Insuficiência renal crônica
- LAL** – ensaio *in vitro* de lisado de amebócitos de *Limulus*
- OMS** – Organização Mundial de Saúde
- PA** – Presença-Ausência
- PA+-** Presença-Ausência Positiva
- POP** – Procedimento operacional padronizado
- PPREO** – Ponto pré osmose
- PPOS** - Ponto pós osmose
- PU** – Procedimento de uso
- RDC** – Resolução da Diretoria Colegiada
- SBN** – Sociedade Brasileira de Nefrologia
- SD** – Solução de diálise
- SESA** – Secretaria Estadual de Saúde do Paraná

**TRS** – Terapia renal substitutiva  
**TSA** – Ágar tripticaseina soja  
**TSB** – Caldo tripticaseina soja  
**TSI** – Agar triplo açúcar-ferro  
**UFC** – Unidade formadora de colônia  
**USP** – Universidade de São Paulo  
**VM** – Vermelho de metila  
**VP** – Voges Proskauer  
**XLD** – Agar xilose/lisina/desoxicolato

## SUMARIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
1.1 TERMINOLOGIA DO PROCEDIMENTO.....	19
1.2 A IMPORTÂNCIA DA ÁGUA NOS PROCESSOS DE HEMODIÁLISE .....	20
1.3 CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA ÁGUA PARA HEMODIÁLISE .....	22
1.4 CONTROLE QUÍMICO DA ÁGUA PARA HEMODIÁLISE.....	23
1.5 ENDOTOXINAS NA ÁGUA PARA HEMODIÁLISE.....	25
1.6 LEGISLAÇÃO SANITARIA .....	26
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	28
<b>3. OBJETIVO GERAL</b> .....	30
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	31
4.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA .....	31
4.1.1 Ensaio de contagem total de bactérias aeróbias.....	31
4.1.2 Pesquisa de coliformes totais .....	33
4.1.3 Identificação bioquímica dos microrganismos patogênicos isolados nas amostras de água .....	34
4.1.4 Determinação da concentração de endotoxinas nas amostras de água.....	37
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	37
4.2.1 Determinação do teor de alumínio nas amostras de água.....	37
4.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS .....	38
<b>5. RESULTADOS</b> .....	39
5.1 ANÁLISES DOS POSSÍVEIS RISCOS ASSOCIADOS AO PROCEDIMENTO DE DIÁLISE A BEIRA DO LEITO.....	39
5.2 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS DE CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS E DE DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ENDOTOXINA....	41
5.3 ENSAIOS QUÍMICOS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ALUMÍNIO.....	50
5.4 AVALIAÇÃO DAS UNIDADES HOSPITALARES FRENTE AOS RESULTADOS OBTIDOS.....	52
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	54
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	60

<b>8. PERSPECTIVAS .....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>
<b>APÊNDICE A - MATERIAIS, FÓRMULAS E PREPARO DE SOLUÇÕES E DE MEIOS DE CULTURA.....</b>	<b>69</b>



## 1. INTRODUÇÃO

A terapia renal substitutiva (TRS) ou hemodiálise é um tratamento primordial para pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) ou insuficiência renal aguda (IRA), 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., 2013). A situação torna-se crucial, em razão das dificuldades na obtenção de um transplante renal, visto que um paciente pode atualmente ter que esperar por alguns anos para obtê-lo e durante este tempo, a qualidade do tratamento de hemodiálise a ele prestado será fator preponderante para a qualidade de sua sobrevivência (HOENICH; RONCO; LEVIN, 2006; SIVIERO et al., 2014).

Na história da medicina o primeiro procedimento de diálise realizado com sucesso ocorreu em 1945, por Wilhem Kolf, na Holanda no qual o paciente decorreu com uma sobrevivência de 6 anos. No Brasil, o tratamento de hemodiálise iniciou-se em 1949, quando Dr. Tito Ribeiro de Almeida, do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo (USP), dialisou uma paciente com IRC. A partir deste marco, iniciou-se o desenvolvimento dessa técnica no país. (KOLFF, 1945; ALMEIDA, 1949 apud LUGON, STROGOFF, WARRAK, 2003)

A importância da hemodiálise pode ser evidenciada por dados que registram que, no ano de 2016 segundo o Censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), cerca de 122.825 brasileiros foram submetidos cronicamente a este tratamento (SESSO et al, 2016) e este número tem aumentado ao longo dos anos. Os casos de IRA são comuns em pacientes em UTI, correspondendo a cerca de 23% dos pacientes, e muitos destes casos estão relacionados a óbitos, principalmente quando o paciente precisa ser submetido à diálise à beira do leito (COSTA; VIEIRA NETO; MOYSÉS NETO, 2003).

Um paciente saudável ou que não seja acometido de doença renal pode vir a desenvolver a necessidade de passar por um processo de hemodiálise, mesmo que em situação momentânea, o que se denomina IRA, que pode ser ocasionada por outros distúrbios metabólicos, acometimento de doenças crônicas ou até mesmo em casos de internação em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) por acometimento sistêmico do organismo (SIVIEIRO et al., 2014; SBN, 2018).

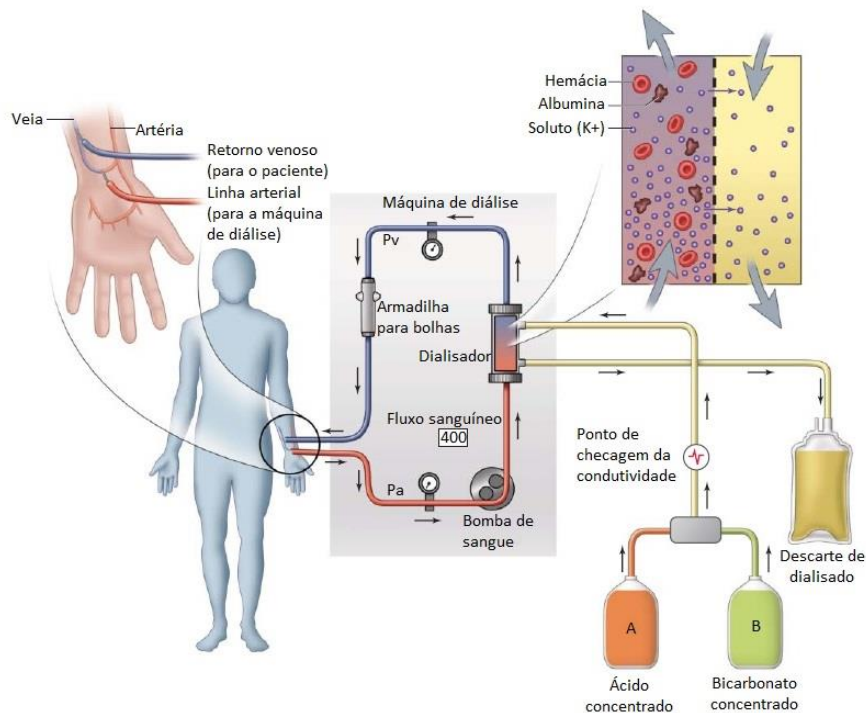
Nestas situações os pacientes decorrem com perda súbita da capacidade funcional de seus rins filtrarem resíduos, sais e líquidos do sangue. Este tipo de lesão renal pode desenvolver-se rapidamente ao longo de algumas horas ou mais lentamente, durante alguns dias, podendo ser

fatal e por isso requer tratamento intensivo. Pode ser reversível, dependendo do estado de saúde do paciente (SBN, 2018).

No processo da TRS, a máquina de hemodiálise, recebe o sangue do paciente por um acesso vascular, que pode ser um cateter (tubo) ou uma fístula arteriovenosa. O sangue em seguida é impulsionado por uma bomba até o filtro de diálise (dialisador). No dialisador, o sangue do paciente é exposto à solução de diálise (dialisato) em fluxo contra paralelo através de uma membrana semipermeável que remove o líquido e as toxinas em excesso por difusão e devolve o sangue depurado para o paciente pelo acesso vascular, como apresentado na figura 1(SBN, 2018).

Além da remoção de substâncias tóxicas e do excesso de líquido acumulado no sangue/tecidos do corpo, em consequência da falência renal, este tratamento promove também a restauração dos eletrólitos e do equilíbrio ácido-base sanguíneo. Um paciente em tratamento dialítico realiza de 3 a 4 sessões por semana que tem duração aproximada de 4 horas (HOENICH; RONCO; LEVIN, 2006; VASCONCELOS PDS, 2012; JUNIOR, 2015).

Figura 1. Processo de terapia renal substitutiva por hemodiálise



## 1.1 TERMINOLOGIA DO PROCEDIMENTO

Muito se discute a respeito da melhor definição para este procedimento que se realiza com um aparelho de osmose portátil utilizado tanto em unidades de terapia intensiva ou enfermarias de unidades intra-hospitalares. Em geral é indicado para pacientes que se encontram em estado agudo de falência renal devido a outras intercorrências clínicas ou em pacientes em tratamento crônico que se encontram debilitados e não possam encaminhar-se às clínicas de tratamento.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) já define este procedimento como serviços de hemodiálise móveis destinados ao atendimento em ambiente intra-hospitalar por curto período de tempo, limitados à recuperação de função renal ou alta hospitalar e imediata transferência para programa de assistência crônica em serviços de diálise (BRASIL, 2009).

A Resolução da Secretaria de Estado de Saúde do Paraná (SESA) nº 437/2013 denomina este procedimento como diálise à beira do leito e o define como o procedimento realizado em ambiente intra-hospitalar, para pacientes com diagnóstico de IRA e indicação médica de tratamento dialítico, ou para pacientes com IRC e necessidade de seguimento do tratamento dialítico durante o período de internação, sendo que em ambos os casos, os pacientes não possuem condições clínicas para remoção ou transporte até os serviços de diálise (GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ, 2013).

O processo ocorre numa máquina de diálise ligada a um aparelho de osmose portátil (Figura 2) que pode ser direcionada às enfermarias ou UTI onde é ligada à distribuição de água do hospital para que seja realizado o processo de hemodiálise móvel a beira do leito como mostrado na Figura 3 (GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ, 2013).

Figura 2 - Aparelho de osmose portátil



fonte: (Fotografia registrada pelo autor, 2017)

Figura 3 - Aparelho de diálise móvel em paciente de unidade de tratamento intensivo



fonte: (<https://globoplay.globo.com/v/5920154/>)

## 1.2 A IMPORTÂNCIA DA ÁGUA NOS PROCESSOS DE HEMODIÁLISE

A água é essencial na terapia dialítica para diluição do concentrado polieletrólítico para hemodiálise (CPHD) e obtenção da solução de diálise ou dialisato. Durante uma sessão de tratamento por hemodiálise, aproximadamente 120 L de água purificada misturados em proporções adequadas ao CPHD são utilizados na depuração do sangue. Logo, a qualidade da

água é fundamental para se evitar riscos adicionais à saúde do paciente (BOMMER; JABER, 2006).

O CPHD é um concentrado de eletrólitos, com ou sem glicose, produzido comercialmente sob as formas sólida ou líquida para ser empregado na terapia dialítica (BRASIL, 2014). A forma líquida do CPHD não é uma solução estéril, porém possui sua composição e qualidade estritamente controladas industrialmente. As formas sólida ou líquida do CPHD são utilizadas na terapia dialítica após diluição com a água de hemodiálise na proporção adequada para uso. O dialisato ou a solução de diálise obtida é então a responsável por realizar a filtração do sangue do paciente através das trocas de soluto do meio mais concentrado para o menos concentrado (VORBECK-MEISTER et al., 1999; PIZZARELLI F et al., 2004).

Os serviços de hemodiálise possuem um sistema de tratamento de água próprio (figura 4) e o controle da qualidade da água é realizado de forma rigorosa, com concentrações controladas de metais como alumínio, flúor, mercúrio, cobre, entre outros e, de substâncias contaminantes como endotoxinas bacterianas (FARMACOPEIA Brasileira, 2010; BRASIL, 2014). Diferentemente dos serviços de hemodiálise, na diálise à beira do leito utiliza-se a água potável distribuída ao hospital, que possui tratamento, no entanto a ultrafiltração é realizada por uma máquina de osmose reversa portátil, ou seja, é realizado um tratamento menos rigoroso desta água.

Figura 4- Sistema de tratamento de água dos serviços de hemodiálise realizados em clínicas



fonte: (<https://www.dialitec.com>)

### 1.3 CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA ÁGUA PARA HEMODIÁLISE

A abordagem microbiológica da água para hemodiálise foi considerada, quando foi demonstrado que os altos níveis de bactérias no dialisato eram responsáveis pelas reações pirogênicas e casos de bacteremia em pacientes (LONNEMANN, 2000). Estudos demonstraram que, a endotoxina proveniente de bactérias Gram-negativas podem penetrar na membrana semipermeável do dialisador sendo responsáveis por reações pirogênicas em pacientes em hemodiálise (LONNEMANN, 2000; JORGENSEN; PFALLER, 2015).

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 subseqüentemente contaminar o dialisato (BOMMER; JABER, 2006).

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 manejos inadequados do 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 isoladas a partir da água purificada, possivelmente devido a imperfeições relativas à integridade da membrana ou a utilização de água contaminada no reprocessamento das máquinas de diálise (WANG et al., 1999; MAGALHÃES M et al., 2003).

Como não existe uma legislação que controle o funcionamento dos serviços de diálise à beira do leito, a ANVISA estabelece que sejam utilizados os parâmetros preconizados pela Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA (RDC) nº 11 de 13 de março 2014, referente ao funcionamento de serviços de diálise. Esta RDC estabelece como limites microbiológicos para água tratada para hemodiálise, a ausência de *Escherichia coli* em 100 mL, contagem de bactérias heterotróficas igual ou menor que 100 unidades formadoras de colônia (UFC) /mL e nível de endotoxinas igual ou menor que 0,25 unidades de endotoxina (EU)/mL (BRASIL, 2014).

Já a Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade preconiza para água de entrada da rede em serviços de diálise, ausência de *E. coli* e de coliformes totais em 100 mL de água e contagem de bactérias heterotróficas menor que 500 UFC/mL (BRASIL, 2017).

Para o procedimento de diálise à beira do leito são necessários limites microbiológicos mais específicos, visto que o tratamento da água utilizada é menos rigoroso.

Os limites microbiológicos e teores de endotoxinas e alumínio preconizados pela RDC nº 11 de 13 de março 2014 e pela Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 para o controle da qualidade da água utilizada nos serviços de diálise à beira do leito nos 3 pontos de coleta (BRASIL, 2014; BRASIL, 2017) são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 - Padrão de qualidade da água utilizada nos procedimentos de hemodiálise

Pontos de coleta	Legislação	
	RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA nº 11 de 13 de março 2014	Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017
Pré osmose	-----	Ausência de coliformes totais Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 100 mL Contagem de bactérias até 500 UFC/mL [ ] Alumínio até 0,2 mg/L (análise semestral)
Pós osmose	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 100mL Contagem de bactérias até 100 UFC/mL [Endotoxinas] - até 0,25 EU/mL [ ] Alumínio até 0,01 mg/L (análise semestral)	-----
Solução de diálise	Contagem de bactérias até 200 UFC/mL	

UFC = Unidade formadora de colônia; [ ] = concentração

fonte: (BRASIL, 2014; BRASIL, 2017).

#### 1.4 CONTROLE QUÍMICO DA ÁGUA PARA HEMODIÁLISE

O controle da composição química da água para hemodiálise faz-se necessário devido a intercorrências como a “síndrome da água dura” fenômeno ocasionado pela intoxicação dos pacientes com compostos de cálcio e magnésio presentes na água podendo ocasionar efeitos colaterais como náuseas, vômitos e tonteados durante o processo de hemodiálise (CASTRO, 2001).

O cálcio e o magnésio, em quantidades normalmente aceitáveis na composição da água potável, já podem causar danos ao paciente devido a intoxicação se em contato com seu sangue. A partir desta constatação estabeleceu-se o uso de abrandadores para diminuir as concentrações destes compostos na água tratada para hemodiálise. O uso de flúor e cloro no tratamento da água potável pode relacionar-se a casos de intoxicação em pacientes em hemodiálise, ocasionando hemólise de vido a espoliação de potássio podendo desencadear hemorragias nos pacientes que em algumas circunstâncias pode levar a morte (CASTRO, 2001; PEGORARO, 2005).

Os sais de alumínio também utilizados para clarificação da água com a finalidade de torná-la potável relacionam-se à Síndrome da Demência Progressiva e à deterioração neurológica, que pode levar a morte dos pacientes. Em relação também à concentração de chumbo, sódio, prata, cádmio, dentre outros são relatados casos de intoxicação em pacientes sob tratamento dialítico (CASTRO, 2001; PEGORARO, 2005).

De acordo com a RDC nº 11/2014 são permitidos os seguintes valores máximos desses compostos para água de hemodiálise: alumínio (0,01mg/L), cádmio (0,001 mg/L); cálcio (2mg/L), chumbo (0,005mg/L), cloro total (0,1 mg/L), fluoreto (0,2 mg/L), magnésio (4 mg/L), prata (0,005 mg/L), sódio (70 mg/L), entre outros (BRASIL, 2014).

O alumínio é um elemento muito frequente na natureza, apesar de nossa exposição crônica a este metal, pelo fato de estar presente em diversos alimentos e também ser utilizado na indústria em medicamentos e em aditivos alimentares e como agente de potabilidade da água, a presença do alumínio na água tem grande importância em pacientes em hemodiálise. A presença de alumínio em água para hemodiálise está associada ao seu acúmulo nos tecidos cerebral e ósseo podendo ocasionar encefalopatia dialítica (demência dialítica), neurotoxicidade aguda, doença óssea e anemia microcística (SANTOS, 2003; OLIVEIRA. et al., 2005;).

A água funciona como a principal via de contaminação de alumínio porque os pacientes submetidos à hemodiálise não estão apenas expostos à água de consumo que ingerem, mas a uma elevada quantidade, entre 300 a 400 L por semana, de água usada na preparação das soluções dialisantes. Enquanto a água de consumo atinge a corrente sanguínea apenas após a passagem pela mucosa gastrointestinal, que é altamente seletiva e impede a absorção de alumínio, a solução dialisante entra em contato diretamente com a corrente sanguínea, apenas separando-as uma membrana artificial semipermeável (RODRIGUES AIM, 2012).



Um fator dificultador no monitoramento químico da água para hemodiálise é o alto custo para realização de análises de quantificação dos teores destes elementos que pode impossibilitar a realização deste controle maneira rigorosa. A RDC nº11/2014 (BRASIL, 2014) orienta que as análises físico-químicas para quantificação de compostos inorgânicos na água de hemodiálise, nos serviços de diálise, sejam realizadas semestralmente por laboratório licenciado pela ANVISA como mostra o Quadro 1.

### 1.5 ENDOTOXINAS NA ÁGUA PARA HEMODIÁLISE

A endotoxina bacteriana é uma classe de substâncias chamadas de pirógenos, quimicamente refere-se ao complexo lipopolissacarídico (LPS) associado à membrana externa de bactérias Gram-negativas. Após sua morte, estas bactérias liberam este complexo LPS no meio circulante, contaminando a água e a matéria orgânica. O termo endotoxina deve ser empregado para o complexo lipopolissacarídeo (LPS). São substâncias altamente termoestáveis e os processos usuais de esterilização, não são capazes de removê-las das superfícies e das soluções (FINGOLA, 2011; VASCONCELOS, 2012).

O LPS produz uma variedade de respostas inflamatórias por vias alternativas (properdina), importantes na fisiopatologia de infecções por bactérias Gram-negativas. Em sua forma ativa, as bactérias Gram-negativas conseguem liberar quantidades mínimas de LPS durante sua multiplicação o que pode estimular a imunidade natural, no entanto é na desintegração da célula *in vivo*, a partir da autólise, lise externa mediada pelo complemento e lisozima, e digestão fagocítica de células bacterianas que ocorre a maior dispersão do LPS associado a parede celular bacteriana (FINGOLA, 2011).

A endotoxina presente na água de hemodiálise pode causar várias respostas fisiológicas agudas. Estudos correlacionam a concentração de endotoxinas e bactérias no dialisato à presença de sintomas típicos de reações pirogênicas (endotoxemias), que variam de febre, calafrios, cefaléia, mal-estar, mialgias, náuseas e bocejos nos pacientes em tratamento dialítico. Altas concentrações de endotoxinas no sangue ou líquido cérebro-espinhal podem ser fatais devido às complicações que se desenvolvem (BUZZO et al, 2010).

Os critérios de qualidade referentes à carga microbiana presente na água tratada estão relacionados à ocorrência de bacteremias e reações pirogênicas. É necessário aprimorar o monitoramento microbiológico da água tratada a fim de se conhecer as espécies potencialmente

patogênicas que possam estar presentes entre a população bacteriana e estabelecer estratégias de controle da contaminação do sistema que atuem sobre este grupo de bactérias. (BUGNO et al, 2007).

Segundo a RDC nº11/2014 a concentração máxima de endotoxinas permitida em água tratada para hemodiálise é de 0,25 EU/mL e sua quantificação deve ser realizada mensalmente assim como a contagem e pesquisa de microrganismos como apresentado no Quadro 1 (BRASIL, 2014).

## 1.6 LEGISLAÇÃO SANITÁRIA

Os serviços de diálise móvel não possuem uma legislação federal específica que oriente e monitore a qualidade do serviço prestado. No ano de 2009, a ANVISA publicou a Nota Técnica nº 006/2009 da Gerência Geral de Tecnologia Serviços de Saúde da ANVISA (GGTES) que tem por objetivo estabelecer parâmetros para execução de procedimentos dialíticos em ambiente hospitalar fora dos serviços de diálise abrangidos pela RDC/ANVISA nº 154, de 15 de junho de 2004, hoje estabelecidos pela RDC nº 11 de de 13 de março 2014 (BRASIL, 2004<sup>a</sup>; BRASIL, 2009; BRASIL, 2014).

A Nota Técnica nº 006\2009 trata a respeito da realização do procedimento hemodiálítico, porém não aborda os parâmetros a serem considerados na avaliação da qualidade da água para hemodiálise. A Nota Técnica somente preconiza que o hospital deve disponibilizar água tratada em conformidade com os parâmetros de potabilidade estabelecidos pela Portaria do Ministério da Saúde GM/MS nº 518 de 25 de março de 2004 (BRASIL, 2004<sup>b</sup>), hoje atualizada pela Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (BRASIL, 2017), e estabelece que a água utilizada no preparo do dialisato deve receber tratamento por sistema de osmose reversa (BRASIL, 2009).

A RDC nº 11 de 13 de março 2014 dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e dá outras providências, estabelecendo os requisitos de Boas Práticas para o funcionamento dos serviços de diálise e trata desde a atenção ao paciente, à estrutura necessária para a boa realização do serviço, bem como define os parâmetros de qualidade da água potável de abastecimento do serviço de diálise e o padrão de qualidade a ser cumprido para água tratada para hemodiálise (BRASIL, 2014).

Muitos esforços têm sido realizados no Brasil a fim de nortear a qualidade do serviço de diálise móvel prestado, até que a ANVISA como principal órgão regulador publique uma

legislação que regulamente este serviço. Um exemplo é a Resolução SESA nº 437/2013 publicada pela Secretaria de Saúde do Estado do Paraná que dispõe sobre as condições para realização de TRS à beira do leito, em unidades intra-hospitalares fora da unidade de diálise, por meio de serviços de diálise móvel, próprios ou terceirizados, porém sua abrangência é estadual. (GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ, 2013).

Com relação a legislação existente (BRASIL, 2009; GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ, 2013; BRASIL, 2014; BRASIL, 2017), portanto, deve-se questionar se a qualidade da água potável de distribuição hospitalar que passa por um processo de osmose reversa num aparelho portátil e que é ofertada ao paciente na diálise móvel possui os mesmos parâmetros de segurança e qualidade de uma água submetida a um monitoramento e sistema de tratamento específico nos serviços de diálise.

A atuação dos profissionais de vigilância sanitária (VISA) nos serviços de diálise tem por objetivo minimizar os riscos associados ao procedimento ofertado à população, a fim de proporcionar aos mesmos, a manutenção da vida, condicionada à eficiência do processo de hemodiálise.

## 2. JUSTIFICATIVA

A inexistência de uma legislação específica para o monitoramento dos serviços de diálise a beira do leito dificulta a realização de um monitoramento eficaz desse procedimento tão importante para a manutenção da vida dos pacientes com IRA ou IRC em internação hospitalar.

Estudos com a finalidade de definir parâmetros específicos para o controle da qualidade da água utilizada neste procedimento são necessários, visto que uma regulamentação que seja mais ampla e aplicável em todo território nacional tornaria mais eficaz o trabalho realizado pelos órgãos sanitários, garantindo maior segurança à saúde da população brasileira em geral.

A importância da verificação da qualidade da água utilizada nos serviços de hemodiálise é evidente, logo avaliar a água que possui um tratamento menos rígido é primordial para se obter informações que orientem o desenvolvimento tecnológico do processo e a tomada de decisão quanto às medidas de vigilância sanitária visando à minimização dos riscos para os pacientes.

O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (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 (CVS) do Estado do Rio de Janeiro e com a Superintendência de Controle de Zoonoses, Vigilância e Fiscalização Sanitária (CZVFS) do Município do Rio de Janeiro. Este programa conseguiu minimizar ao longo dos anos as contaminações existentes nos serviços de hemodiálise, ofertando hoje um tratamento mais seguro aos pacientes.

O monitoramento do serviço de hemodiálise à beira do leito pela CVS do Estado do Rio de Janeiro e Superintendência de CZVFS do Município do Rio de Janeiro e pelo INCQS busca o cumprimento do nível de ação e de profunda melhoria na qualidade da água utilizada, buscando mudanças nos procedimentos das unidades hospitalares no Município do Rio de Janeiro a fim de se evitar o risco de bacteremia que pode trazer sérios danos aos pacientes, inclusive o óbito.

Em análises de água tratada para hemodiálise, a espécie bacteriana mais encontrada é a *Pseudomonas aeruginosa*. Espécie produtora de biofilmes estáveis, que resistem a vários tratamentos de desinfecção, sendo fundamental a inserção de sua pesquisa na legislação brasileira vigente para a água utilizada nos serviços de diálise (FERREIRA, 2009). Além disso, as endotoxinas provenientes de bactérias Gram-negativas podem penetrar na membrana semipermeável intacta do dialisador sendo responsável por reações pirogênicas em pacientes em hemodiálise (LONNEMANN G, 2000; VERSALOVIC J et al., 2011).

O monitoramento das unidades hospitalares com serviço de diálise à beira do leito se faz necessário para subsidiar ações dos setores regulatórios, monitorar a qualidade dos serviços oferecidos e contribuir com a segurança do paciente que necessita deste procedimento para sua sobrevivência.

### **3. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a qualidade da água utilizada nos serviços de diálise à beira do leito em unidades de tratamento intensivo no município do Rio de Janeiro.

#### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Obter amostras de água pré-osmose, pós osmose reversa e da solução de diálise.
- Determinar o número total de bactérias aeróbias nos 3 pontos de coleta.
- Pesquisar a presença de microrganismos nos 3 pontos de coleta.
- Determinar a concentração de endotoxina nos 3 pontos de coleta.
- Determinar o teor de alumínio nos pontos de pré-osmose e pós osmose.

## 4. METODOLOGIA

Foram coletadas 176 amostras de água em 22 serviços de diálise a beira do leito localizadas no Município do Rio de Janeiro no período de março a dezembro de 2017. As amostras foram obtidas a partir de inspeções fiscais realizadas por profissionais da VISA Municipal do Rio de Janeiro.

As amostras foram provenientes de três pontos de coleta: 1- entrada da rede (água potável da rede distribuída ao hospital antes do tratamento por osmose reversa ou pré osmose); 2- pós osmose (água após o tratamento por osmose reversa que será utilizada no processo de diálise ou água para hemodiálise); e 3 - solução de diálise (solução proveniente da diluição do CPHD com água para hemodiálise antes da passagem pelo dialisador). Todas as amostras deram entrada no INCQS na modalidade de análise Especial/Apoio a Pesquisa.

As análises das amostras de pré-osmose, pós osmose e solução de diálise foram baseadas nos parâmetros e limites estabelecidos pela Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 para o ponto de entrada da rede e RDC nº 11 de 13 de março 2014 para os pontos de pós osmose e solução de diálise (BRASIL, 2014; BRASIL, 2017).

### 4.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

Todos os ensaios microbiológicos realizados são baseados em metodologias da Farmacopéia brasileira descritos em Procedimentos operacionais padronizados (POP) do Laboratório de Produtos Não Estéreis (INCQS, 2017). Os ensaios são acreditados pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) e pela Norma Técnica da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) ISO/IEC 17025/2005 e qualificados pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

As soluções e meios de cultura empregados nas análises microbiológicas encontram-se descritos no APÊNDICE A e foram preparados pelo Setor de Meios de Cultura e esterilizados pelo Setor de Esterilização do Departamento de Microbiologia. Antes da realização dos ensaios todos os meios utilizados são avaliados quanto a sua esterilidade e viabilidade por ensaios específicos realizados no setor de Não Estéreis do INCQS.

#### 4.1.1 Ensaio de contagem total de bactérias aeróbias

A metodologia de contagem total de bactérias foi realizada segundo o POP INCQS 653210.010 (Contagem total de bactérias aeróbias, bile tolerantes, bolores e leveduras em

produtos farmacêuticos e água para diálise) que utiliza o método de plaqueamento por profundidade com o meio de ágar caseína-soja (TSA) (INCQS, 2017<sup>a</sup>). Foi diluída 1 mL da amostra de água em 9 mL de caldo caseína-soja com pH 7,3±0,2 e mantido a 25° C. Em seguida, 1 mL da diluição foi adicionado a placa e 20 mL do meio TSA fundido à temperatura de 45°C foi colocado sobre a alíquota da diluição. Após solidificação, as placas foram incubadas a 32,5°C±2,5° C durante 48 h, com leitura prévia da contagem após 24 h e ao final de 48 h.

Após a incubação foi realizada a contagem do número de colônias nas placas de ágar de caseína-soja que apresentarem até 300 colônias de bactérias, utilizando contador de colônias.

Utilizando a seguinte fórmula:

$$N = \frac{(\sum P_i)}{(\sum V_i)} D$$

Onde:

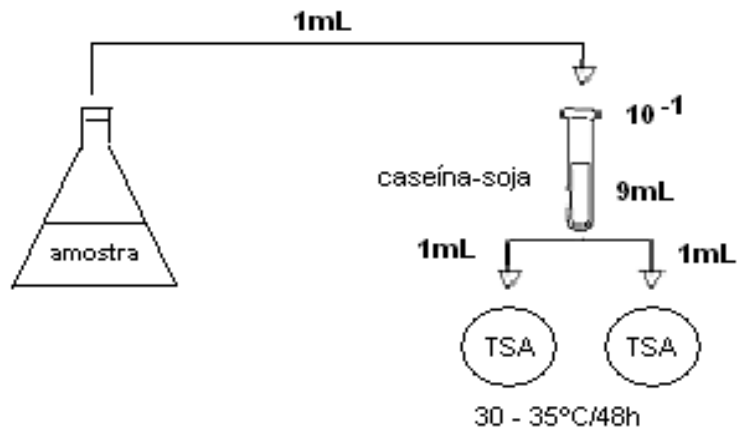
- N = Número de UFC/1 g ou 1 mL
- D = Fator da diluição utilizada
- $\sum P_i$  = Somatório do número de colônias observadas em cada placa
- $\sum V_i$  = Somatório do volume de teste em cada placa

Nas placas que não apresentaram colônias, a contagem foi registrada como sendo menor que uma vez a menor diluição, ou seja menor que 10 UFC/mL. Esta análise foi realizada em duplicata sendo o resultado obtido expresso como média das contagens de cada placa.

A Figura 5 apresenta o esquema do ensaio para a contagem de bactérias aeróbias.



Figura 5 - Esquema da metodologia do ensaio de contagem de bactérias aeróbias.



Caseína-soja: meio líquido utilizado para diluição da amostra

TSA: meio de cultura ágar caseína-soja

fonte: (Esquema elaborado por Joana Angélica Barbosa Ferreira baseado no POP INCQS 653210010)

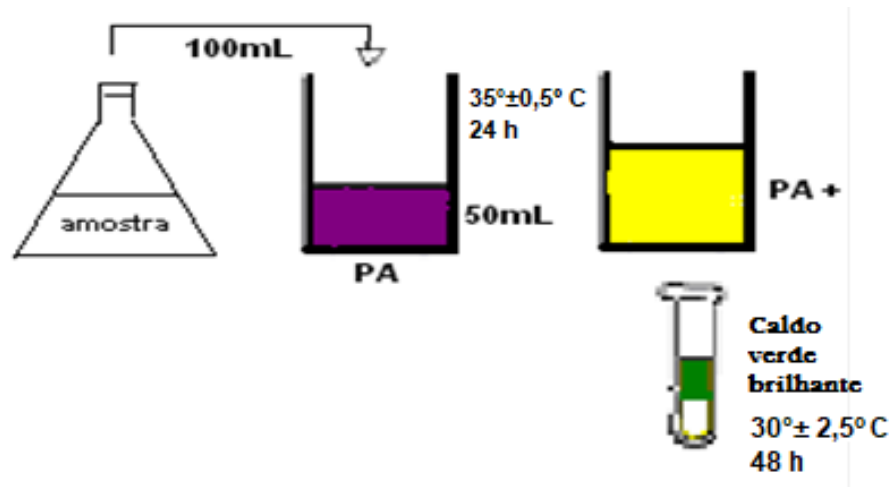
#### 4.1.2 Pesquisa de coliformes totais

A pesquisa de presença de *E. coli* e coliformes totais na água foi realizada segundo o POP INCQS 653210.033 (Pesquisa de coliformes totais e *E.coli* em água utilizada na entrada da rede de abastecimento e tratada para diálise) (INCQS, 2017<sup>b</sup>). Foram adicionados 100 mL de cada amostra de água a frasco contendo 50 mL de caldo Presença-Ausência (PA) em tripla concentração. O frasco foi homogeneizado e incubado por 24 h a 35°C ± 0,5° C. Após período de incubação, na ocorrência de resultado positivo, o caldo apresenta alteração da cor roxa para amarelo (PA+). A partir desta evidência, é transferida uma alíquota da cultura que tenha apresentado crescimento para tubo de *Durhan* contendo 10 mL de caldo verde brilhante bile lactose. Após incubação por até 48h a 30°C ± 2,5° C, a presença de gás no interior do tubo de *Durhan* confirma a presença de coliformes totais. Cada amostra possui uma análise única para esta metodologia.

As soluções e meios de cultura empregados no ensaio constam do APÊNDICE A.

O esquema do ensaio para a pesquisa de coliformes totais é apresentado na Figura 6.

Figura 6- Esquema da metodologia do ensaio de pesquisa de coliformes totais



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

fonte: (Esquema elaborado por Joana Angélica Barbosa Ferreira baseado no POP INCQS 653210033)

#### 4.1.3 Identificação bioquímica dos microrganismos isolados nas amostras de água

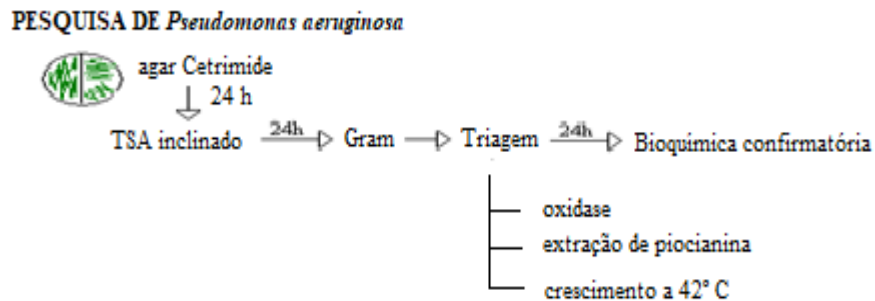
Para identificação dos microrganismos encontrados foi utilizado o POP INCQS 653210.008 (Pesquisa de patógenos em produtos não estéreis e matérias-primas de uso em sua fabricação e água para diálise) (INCQS, 2017<sup>c</sup>) e as análises bioquímicas realizadas segundo metodologia descrita por JORGENSEN; PFALLER, 2015.

Foram preconizadas a realização de pesquisas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. Para as colônias que apresentaram características diferentes dos microrganismos preconizados neste trabalho foi realizada o isolamento e identificação de gênero e espécie através de testes bioquímicos para caracterização fenotípica.

As soluções e meios de cultura empregadas nos ensaios constam no APÊNDICE A.

Para pesquisa de *P. aeruginosa*, nas amostras de água foi utilizado o meio de crescimento seletivo ágar cetrimide em placa de Petri com semeadura por esgotamento, inoculando-se também por ensaio, uma placa com controle positivo (*P. aeruginosa* ATCC CRM-9027) e outra com controle negativo do ensaio (meio sem o microrganismo ou com outro patógeno que não apresentasse resposta). As placas foram incubadas a  $32,5^{\circ} \pm 2,5$  por 24 h. Na presença de crescimento era realizada a fixação em lâmina, coloração de Gram (INCQS, 2016) e testes bioquímicos confirmatórios: oxidase, pigmentação (extração de piocianina) e crescimento a  $42^{\circ}\text{C}$ , como apresentado na figura 7.

Figura 7- Esquema das metodologias dos ensaios para pesquisa e identificação de *P. aeruginosa*

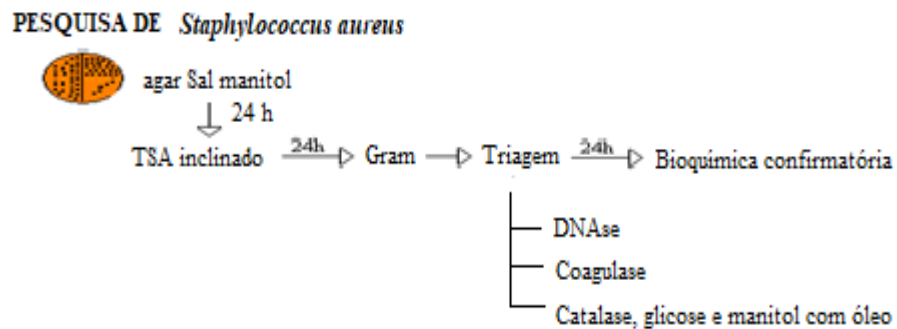


TSA inclinado – ágar caseína soja inclinado

fonte: (Esquema elaborado por Joana Angélica Barbosa Ferreira – Baseado no POP INCQS 653210008)

Para pesquisa de *S. aureus*, a partir do crescimento em TSA, foi transferida uma alça de crescimento para o ágar sal manitol em placas de Petri e semeada por esgotamento, inoculando-se também por ensaio placas com um controle positivo (*S. aureus* ATCC CRM- 6538) e com um controle negativo do ensaio (meio sem o microrganismo ou com outro patógeno que não apresentasse resposta). As placas foram incubadas a  $32,5^{\circ} \pm 2,5$  por 24 h. Na presença de crescimento e após coloração de Gram (INCQS, 2016) foram realizados testes bioquímicos confirmatórios: desoxirribonuclease (DNase), coagulase, catalase, glicose e manitol com óleo, como apresentado na figura 8.

Figura 8- Esquema das metodologias dos ensaios para pesquisa e identificação de *S. aureus*

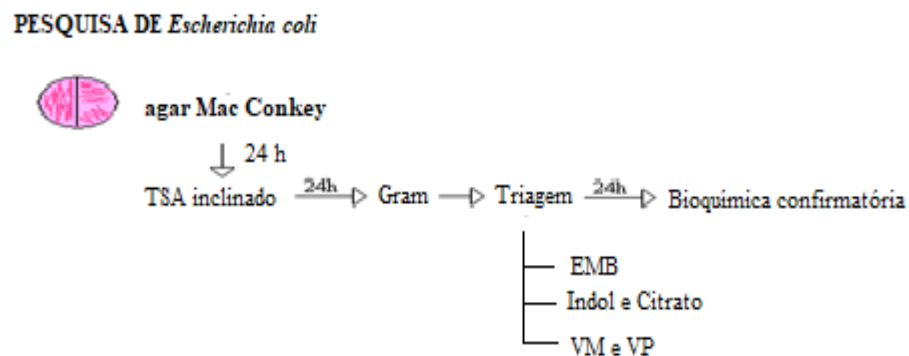


TSA inclinado – ágar caseína soja inclinado

fonte: (Esquema elaborado por Joana Angélica Barbosa Ferreira – Baseado no POP INCQS 653210008)

Para pesquisa de *E. coli*, a partir do crescimento em TSA, foi transferida uma alçada de crescimento para o ágar Mac Conkey em placas de Petri e semeada por esgotamento, inoculando-se também, um controle positivo (*E. coli* ATCC CRM-8739) e um controle negativo por ensaio. As placas eram incubadas a  $32,5^{\circ} \pm 2,5$  por 24 h. foi realizada coloração de Gram (INCQS, 2016) e testes bioquímicos confirmatórios: citrato, indol, eosina azul de metileno (EMB), vermelho de metila (VM) e Voges Proskauer (VP) como apresentado na figura 9.

Figura 9- Esquema das metodologias dos ensaios para pesquisa e identificação de *E. coli*



TSA inclinado – ágar caseína soja inclinado

EMB- ágar Eosina azul de metileno

VM- Vermelho de metila

VP- Voges Proskauer

fonte: (Esquema elaborado por Joana Angélica Barbosa Ferreira – Baseado no POP INCQS 653210008)

#### 4.1.4 Determinação da concentração de endotoxinas nas amostras de água

As determinações das concentrações de endotoxina nas amostras de água e da solução de diálise foram realizadas pelo ensaio *in vitro* do lisado de amebócitos de *Limulus* (LAL), também chamado de ensaio para endotoxina bacteriana. O teste do LAL pelo método de gelificação foi realizado no Departamento de Farmacologia e Toxicologia (DFT) do INCQS segundo o POP INCQS 65.3330.006 (Ensaio para endotoxina bacteriana) (INCQS, 2017<sup>e</sup>). Trata-se de ensaio acreditado pelo INMETRO pela Norma Técnica da ABNT ISO/IEC 17025/2005 e também qualificado pela OMS.

O teste para endotoxina bacteriana (LAL) utiliza o extrato aquoso dos amebócitos circulantes do *Limulus polyphemus* preparado e caracterizado como reagente LAL. O ensaio de LAL pelo método de gelificação é um teste semi-quantitativo baseado na formação de coágulo ou gel (ANVISA, 2010).

A utilização do LAL para detecção de endotoxina surgiu a partir da observação de que uma infecção por bactéria Gram-negativa no caranguejo ferradura, *Limulus polyphemus*, resultou na coagulação intravascular e morte do mesmo. Desta forma, demonstrou-se que a formação de um coágulo no *L. polyphemus* era resultado de uma reação entre a endotoxina e uma proteína coagulável presente nas células sanguíneas circulantes (amebócitos) do *Limulus*. O LAL, um extrato aquoso obtido após a lise (lisado) de amebócitos do caranguejo ferradura, é um indicador extremamente sensível à presença de endotoxina (A CAMBREX COMPANY, 2008; FINGOLA, 2011).

Para esta análise as amostras foram coletadas em frascos apirogênicos disponibilizados pelo setor responsável pelas análises localizado no Departamento de Farmacologia e Toxicologia (DFT) do INCQS.

## 4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

### 4.2.1 Determinação do teor de alumínio nas amostras de água

A determinação do teor de alumínio foi realizada por espectrometria de absorção com forno de grafite de acordo com a metodologia descrita pela *American Public Health Association - APHA* (APHA, 1998). As análises foram realizadas em parceria com o Departamento de Química do INCQS. Para esta análise a coleta da amostra era realizada em frasco específico de fundo cônico com solução tampão previamente preparado e cedido pelo setor responsável.

#### 4.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados das análises realizadas foram interpretados segundo os limites preconizados para água tratada para hemodiálise pela RDC nº 11 de 13 de março 2014: ausência de *E. coli* em 100 mL, contagem de bactérias heterotróficas menor que 100 UFC/mL, concentração de endotoxinas até 0,25 EU/mL e teor máximo de alumínio de 0,01 mg/l , e para solução de diálise contagem de bactérias heterotróficas menor que 200 UFC/mL (BRASIL, 2014). Para a água de entrada da rede (antes do tratamento), os limites microbiológicos utilizados foram: ausência de *E. coli* em 100 mL, ausência de coliformes totais em 100 mL, contagem total de bactérias aeróbias igual ou menor que 500 UFC/mL e teor máximo de alumínio de 0,2 mg/l segundo a Portaria/MS n.º 2.914, de 12 de dezembro de 2011, contida na Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (BRASIL, 2017).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 ANÁLISES DOS POSSÍVEIS RISCOS ASSOCIADOS AO PROCEDIMENTO DE DIÁLISE A BEIRA DO LEITO

A participação nas inspeções possibilitou a análise dos possíveis pontos críticos de perigos potenciais e os riscos associados à água utilizada nos serviços de diálise à beira do leito.

Foi possível observar que em todas as coletas, realizadas em UTI onde os pacientes já se encontram mais debilitados, as máquinas de hemodiálise assim como os aparelhos de osmose utilizadas são portáteis, sendo este o único tratamento ofertado a água potável antes do procedimento hemodialítico. Durante a hemodiálise os equipamentos de osmose reversa portátil eram ligados com mangueiras, muitas destas em mal estado de conservação, conectadas a torneiras localizadas nos banheiros, em áreas de expurgo ou próximo aos leitos das UTIs, muitas vezes até mesmo áreas de isolamento permaneciam com a porta mal fechada devido a passagem das mangueiras para acesso a um ponto de água o que tornava o ambiente ainda mais insalubre e de risco para os funcionários e principalmente para os pacientes.

As fotos a seguir, obtidas nas inspeções, demonstram como são conectados os aparelhos portáteis utilizados nas UTIs. Na Figura 10 percebe-se que a mangueira que conduz a água para o aparelho de osmose reversa possui emendas sendo mal higienizada o que eleva o risco de contaminação em local que deve buscar um grau adequado de controle higiênico-sanitário a fim de garantir a diminuição de riscos aos pacientes. Na Figura 11, o aparelho de osmose reversa foi colocado em uma área de expurgo da UTI, local totalmente inadequado para tal finalidade.

Figura 10 – Aparelho de osmose portátil conectado a uma torneira na antessala de uma unidade de tratamento intensivo hospitalar



fonte: (Fotografia registrada pelo autor, 2017)

Figura 11 – Aparelho de osmose portátil ligado à rede de distribuição de água em área de expurgo de unidade de tratamento intensivo hospitalar



fonte: (Fotografia registrada pelo autor, 2017)



Um fator dificultador nas coletas era que as mesmas se realizavam durante o processo de hemodiálise na UTI, com a máquina em funcionamento, onde a mesma precisava ser colocada no modo “em pausa” e por isso necessitávamos do auxílio dos técnicos de enfermagem do local. O número de frascos a ser coletado também era grande visto que para cada análise havia um frasco de coleta específico.

Em algumas situações devido ao posicionamento do leito do paciente e do ponto de distribuição de água da rede disponível, a máquina de osmose portátil era posicionada fora da área do leito, o que pode ser um alto fator de risco em leitos de isolamento, onde o fechamento das portas é crucial para se limitar o risco de transmissão aérea de microrganismos (Figura 12).

Figura 12 – Aparelho de osmose portátil posicionado exteriormente ao leito de isolamento de bactérias multidrogas resistentes (MDR)



fonte: (Fotografia registrada pelo autor, 2017)

## 5.2 – ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS DE CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS E DE DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ENDOTOXINA

Foram realizados 151 ensaios microbiológicos e a maioria apresentou-se satisfatório correspondendo a 77% do total, 33% apresentaram presença de microrganismos com contagem acima dos limites estabelecidos pelas legislações de referência (BRASIL,2014; BRASIL, 2017) e destas apenas 5 % apresentaram *E. coli*.

A Tabela 1 apresenta as contagens de bactérias heterotróficas encontradas nas amostras de água onde percebe-se a ocorrência de contagens acima do preconizado na legislação de 500 UFC/mL para o ponto de pré filtro, 100 UFC/mL para o ponto de pós osmose e de 200 UFC/mL para o ponto de solução de diálise, porém a maioria das amostras analisadas apresentaram-se negativas com resultado menor que 10 UFC/mL.

Tabela 1 – Contagem total de bactérias aeróbias nas amostras de água obtidas em 3 diferentes pontos de coleta em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017. Resultados expressos em número de unidades formadoras de colônia (UFC)/mL

Unidade hospitalar	Pré osmose	Pós osmose	Solução de diálise
1	<10	<10	<b>1,5 x 10<sup>3</sup></b>
2	<10	<10	<b>1,0 x 10<sup>3</sup></b>
3	<10	<10	<10
4	<b>1,9 x 10<sup>3</sup></b>	<b>2,3 x 10<sup>4</sup></b>	<b>2,0 x 10<sup>3</sup></b>
5	<b>1,6 x 10<sup>4</sup></b>	<b>1,0 x 10<sup>3</sup></b>	<b>1,2 x 10<sup>3</sup></b>
6	<10	<10	<10
7	<b>3,6 x 10<sup>2</sup></b>	<b>1,0 x 10<sup>3</sup></b>	<b>1,5 x 10<sup>3</sup></b>
8	<10	<b>1,0 x 10<sup>3</sup></b>	<b>1,2 x 10<sup>4</sup></b>
9	<10	<10	<10
10	<10	<10	<10
11	<10	<10	<b>1,1 x 10<sup>2</sup></b>
12	<10	<b>1,1 x 10<sup>3</sup></b>	<b>2,5 x 10<sup>4</sup></b>
13	<10	<10	<10
14	<10	<10	<10
15	<10	<10	<10
16	<10	<10	<10
17	<10	<10	<b>2,0 x 10<sup>4</sup></b>
18	<10	<10	<10
19	<10	<10	<10
20	<10	<10	<10
21	<b>1,9 x 10<sup>3</sup></b>	<b>2,3 x 10<sup>4</sup></b>	<b>2,0 x 10<sup>3</sup></b>
22	<10	<b>1,0 x 10<sup>3</sup></b>	<b>1,2 x 10<sup>4</sup></b>

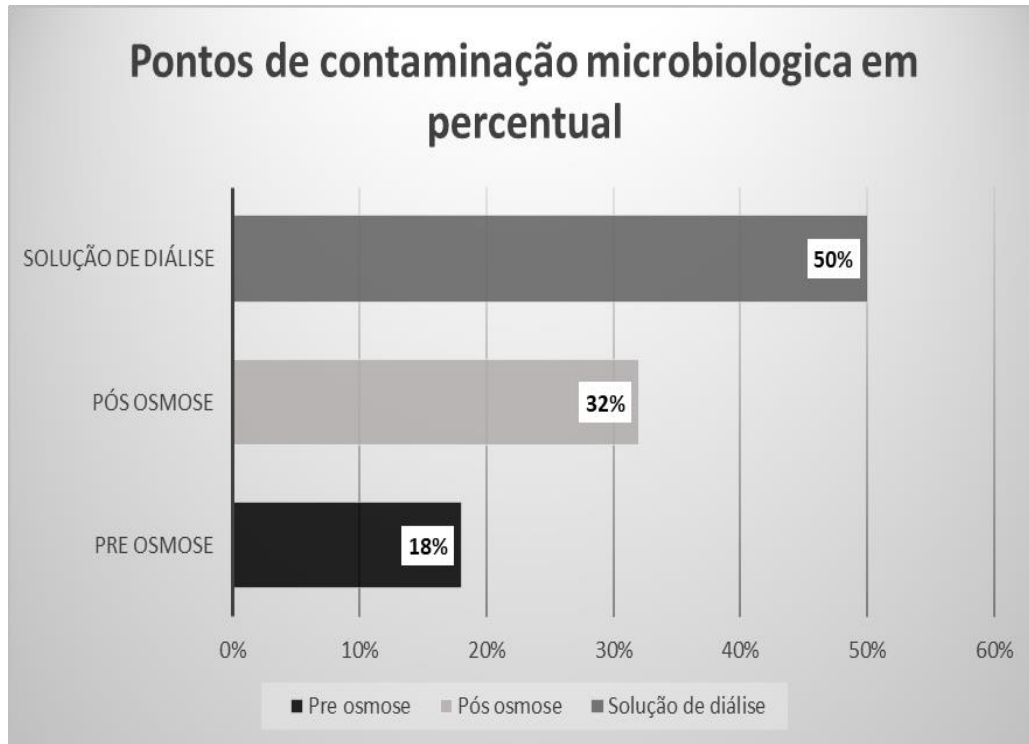
Os valores de contagem de bactérias acima de 500 UFC/mL para as amostras pré osmose, 100 UFC/mL para pós osmose e de 200 UFC/mL para solução de diálise foram destacados em negrito sendo consideradas insatisfatórias segundo os limites preconizados pela Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (BRASIL, 2017) e pela Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA nº 11 de 13 de março 2014(BRASIL, 2014).

Em geral pelo maior aporte de cloro adicionado à água de distribuição, o ponto pré filtro tem menor ocorrência de contaminação microbiológica, mesmo que a coleta seja realizada com frascos preparados com solução neutralizante de cloro para evitar resultados falso negativos. Quando as contagens de bactérias se apresentam acima do preconizado no ponto de pós osmose, a contaminação pode ser decorrente da água de distribuição, do aparelho de osmose portátil ou até mesmo do circuito por onde esta água circula até o paciente.

Nos casos de contagem acima do limite preconizado para o ponto referente à solução de diálise, que apresentou neste estudo, a maior frequência de contaminação, pode refletir a contaminação de todo o processo, contaminação do circuito ou mau reprocessamento das máquinas de hemodiálise, visto que o dialisador utilizado para estes pacientes em diálise móvel é descartável. Além disso, neste ponto de coleta deve ser também considerada a contribuição da solução do CPHD, que não é estéril sendo diluída com água para hemodiálise na proporção de 4:1 durante o procedimento de diálise móvel, podendo ser um outro fator de contaminação.

Dentre os resultados de contagem total de bactérias aeróbicas, 50% das amostras insatisfatórias eram provenientes da solução de diálise, 32% da pós osmose e 18% da pré-osmose. O Gráfico 1 apresenta o percentual de amostras de água de rede, de água para hemodiálise e de solução de diálise com contaminação microbiana acima do limite preconizado pela legislação por ponto de coleta analisado (BRASIL, 2014; BRASIL, 2017).

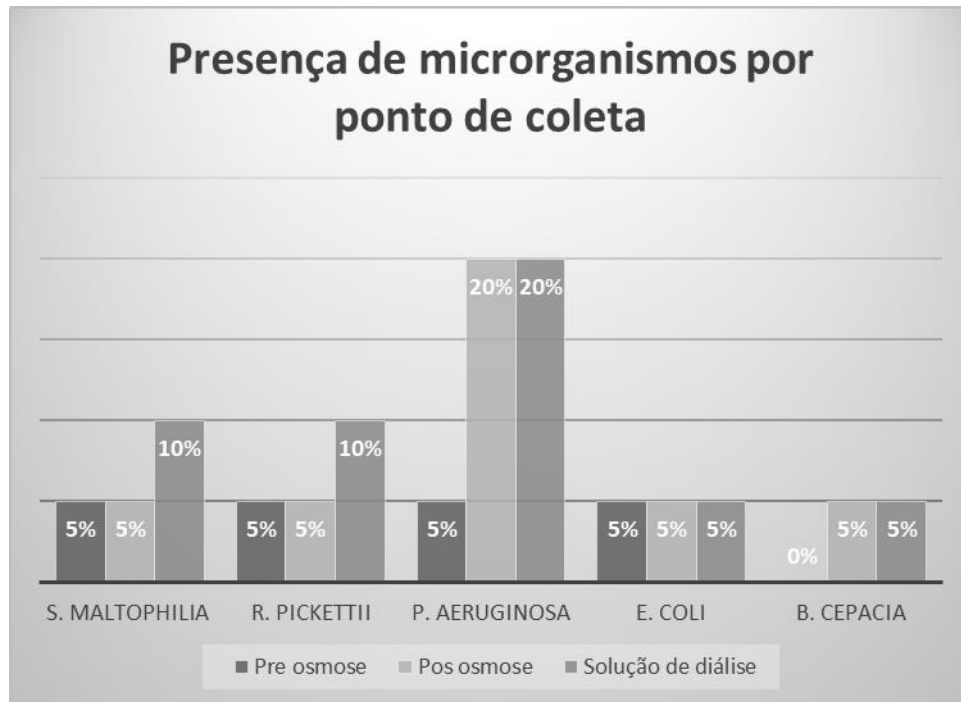
Gráfico 1 - Percentual de amostras de água de rede (pré osmose), pós osmose e solução de diálise com contaminação microbiana acima do preconizado pela legislação coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017



Nas amostras que apresentaram crescimento de bactérias havia presença de *P. aeruginosa*, *E. coli*, além de colônias com crescimento diferente aos microrganismos descritos em 4.1.3, onde foram isolados: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacea* e *Ralstonia pickettii*.

As cinco espécies foram isoladas nos três pontos de coleta analisados. Na água de rede e na água para hemodiálise as cinco espécies de bactérias foram isoladas na proporção de 5%, com exceção de *P. aeruginosa* presente em 20% das amostras de água para hemodiálise. Na solução de diálise em 5% das amostras ocorreu contaminação por *E. coli* e *B.cepacea*, em 10% por *S.maltophilia* e *R. pickettii* e em 20% por *P. aeruginosa*. O Gráfico 2 mostra a frequência de ocorrência dos microrganismos isolados por ponto de coleta analisado.

Gráfico 2- Frequência de ocorrência de microrganismos isolados nos pontos pré osmose, pós osmose e solução de diálise. Amostras coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017



Ressalta-se a presença frequente da espécie *P. aeruginosa*, que foi o microrganismo mais encontrado nas amostras, nos pontos de pós osmose e solução de diálise vistos como os pontos mais críticos do processo. A Tabela 2 apresenta as correlações clínicas a cada patógeno encontrado.

Tabela 2 - Patógenos identificados nas amostras de água obtidas em 3 diferentes pontos de coleta em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017 e suas correlações com situações clínicas.

Microorganismos isolados	Correlações clínicas	Referência
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	O espectro das infecções inclui: bacteremias, pneumonias, infecções de pele e tecidos moles, endocardites, infecções no trato urinário, meningites, infecções intra-abdominais, síndromes oftalmológicas e sinusites	RODRIGUES et al, 2011
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Encontrada no ambiente hospitalar, colonizando equipamentos de terapia respiratória, desinfetantes, pias, <b>água destilada</b> , cateteres venosos centrais, cateter urinário e pacientes com poucos dias de internação. É um patógeno bacteriano clinicamente importante por causa de sua resistência intrínseca a muitos agentes antimicrobianos.	FILHO et al, 2013
<i>Escherichia coli</i>	Amplamente distribuída na natureza, tendo como principal <i>habitat</i> o trato intestinal humano e animal, A grande maioria pertence à microbiota intestinal, no entanto, aproximadamente, 10% são patogênicas, podendo causar infecções intestinais e infecções extra-intestinais principalmente em imunodeprimidos	SANTOS et al, 2009
<i>Burkholderia cepacia</i>	Espécie associada a infecções respiratórias com agravamento para pneumonias e fibrose cística	CORREIA et al, 2008
<i>Ralstonia pickettii</i>	Espécie associada a bacteremias, relacionada à contaminação de produtos de uso médico principalmente em pacientes imunodeprimidos	TEJERA et al, 2016

Com relação ao ensaio de quantificação de endotoxinas foram analisadas 66 amostras (Tabela 3) sendo 24% consideradas satisfatórias e 76% insatisfatórias, quando consideramos o limite de endotoxina de 0,25 EU/mL para todos os pontos analisados (gráfico 3), no entanto a

RDC 11/2014 (BRASIL, 2014) só preconiza este ensaio no ponto pós osmose, por se tratar de um estudo acadêmico a análise foi realizada em todas as amostras para que fosse possível avaliar o comportamento da concentração de endotoxina nos diferentes pontos do processo.

Quando consideradas apenas as amostras de pós osmose para as quais existe um limite de endotoxina preconizado de 0,25 EU/mL (BRASIL, 2014), verificou-se que 77% foram consideradas insatisfatórias como observado no Gráfico 4, o fato da endotoxina ser capaz de atravessar a membrana do dialisador no momento da hemodiálise enfatiza a importância de se controlar sua presença neste ponto de coleta.

Tabela 3 - Quantificação de endotoxinas pelo teste do LAL<sup>1</sup> – método de gelificação nas amostras de água e de solução de diálise obtidas dos 3 diferentes pontos de coleta em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017. Resultados expressos em número de unidades de endotoxina (EU)/mL

Unidade hospitalar	Pré osmose	Pós osmose	Solução de diálise
1	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
2	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
3	< 0.125	< 0.125	> <b>0.5</b>
4	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
5	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
6	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
7	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
8	≤ 0.25	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
9	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
10	< 0.125	< 0.125	< 0.125
11	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
12	< 0.125	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
13	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
14	< 0.125	< 0.125	< 0.125
15	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
16	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
17	< 0.125	< 0.125	> <b>0.5</b>
18	< 0.125	< 0.125	< 0.125
19	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
20	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
21	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>
22	≤ 0.25	> <b>0.5</b>	> <b>0.5</b>

<sup>1</sup>Lisado de amebócitos de *Limulus*. O valor limite de endotoxina bacteriana para água tratada para hemodiálise é de 0,25 EU/mL segundo a Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA nº 11 de 13 de março 2014 (BRASIL, 2014). Consideradas todas as amostras analisadas, os valores acima deste limite estão destacados em negrito.



Gráfico 3 – Resultados dos ensaios de determinação da concentração de endotoxinas em todas as amostras de água analisadas através do teste com o lisado de amebócitos de *Limulus* (LAL) pelo método de gelificação. Amostras foram coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.

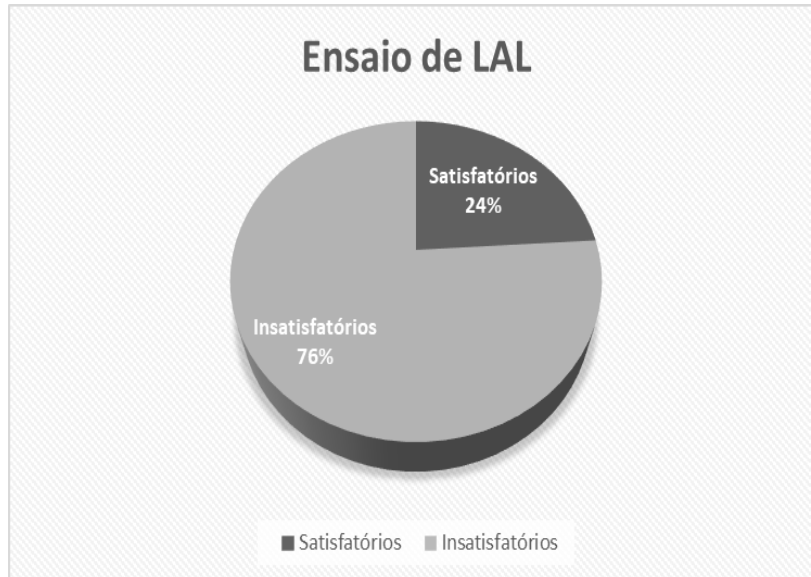
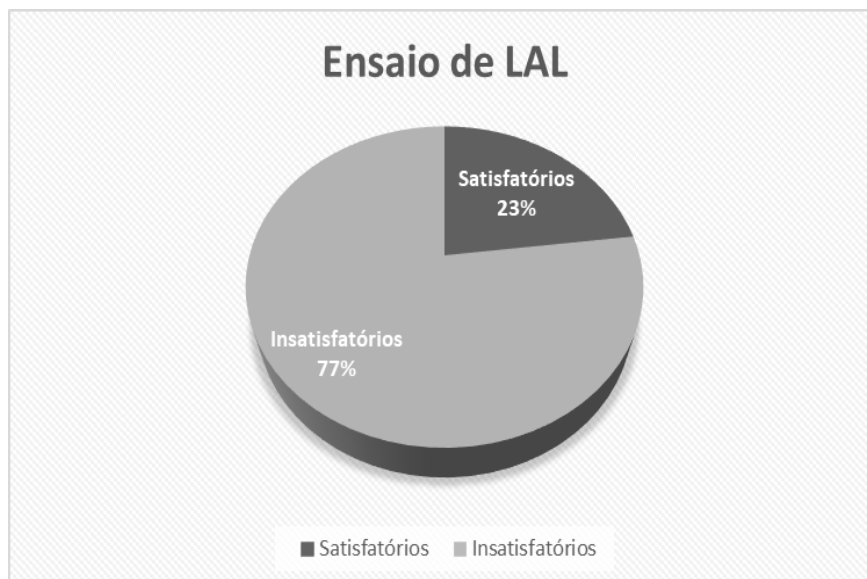


Gráfico 4 – Resultados dos ensaios de determinação da concentração de endotoxinas em amostras de água tratada para hemodiálise através do teste com o lisado de amebócitos de *Limulus* (LAL) pelo método de gelificação. Amostras foram coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.



No presente estudo, 76% das amostras coletadas para o ensaio de LAL foram reprovadas. Os ensaios microbiológicos, muitas vezes, não detectam uma contagem de bactérias acima do limite preconizado pela legislação, porém, na determinação da concentração de endotoxinas pelo teste do LAL, um ensaio mais sensível aos produtos de degradação microbiana, pode-se perceber a presença do microrganismo na água a ser utilizada no procedimento de diálise a beira do leito (LONNEMANN, 2000; VERSALOVIC et al., 2011).

### 5.3 ENSAIOS QUÍMICOS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ALUMÍNIO

Através deste ensaio foram analisados os pontos de pré-osmose e pós osmose. A Tabela 4 mostra os resultados obtidos nas análises de alumínio no total de 44 amostras coletadas e destas, 25% apresentaram-se insatisfatórias, 43% satisfatórias e 32% das amostras não puderam ser analisadas, devido a impossibilidade de coleta de algumas amostras, falta de reagentes para o ensaio e de manutenção dos equipamentos, conforme apresentado no Gráfico 5.

Tabela 4 - Quantificação do teor alumínio nas amostras de água obtidas de entrada da rede e da água de hemodiálise coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017. Resultados expressos em concentração de alumínio (mg/L).

Unidade hospitalar	Pré-osmose	Pós osmose
<b>1</b>	<b>&gt; 0,27</b>	<b>&gt; 0,27</b>
<b>2</b>	< 0,2	< 0,01
<b>3</b>	< 0,2	> 0,27
<b>4</b>	<b>&gt; 0,27</b>	<b>&gt; 0,27</b>
<b>5</b>	<b>0,3 ± 0,04</b>	<b>0,2 ± 0,04</b>
<b>6</b>	NR	NR
<b>7</b>	< 0,2	<b>&gt; 0,27</b>
<b>8</b>	NR	NR
<b>9</b>	< 0,2	< 0,01
<b>10</b>	< 0,2	< 0,01
<b>11</b>	NR	NR
<b>12</b>	NR	NR
<b>13</b>	< 0,2	< 0,01
<b>14</b>	NR	NR
<b>15</b>	< 0,2	<b>&gt; 0,27</b>
<b>16</b>	< 0,2	< 0,01
<b>17</b>	NR	NR
<b>18</b>	< 0,2	< 0,01
<b>19</b>	< 0,2	< 0,01
<b>20</b>	NR	NR
<b>21</b>	<b>&gt; 0,27</b>	<b>&gt; 0,27</b>
<b>22</b>	< 0,2	<b>&gt; 0,27</b>

Valor limite de alumínio de **0,2 mg/L** para água de rede (pré osmose) segundo a Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (BRASIL, 2017) e de **0,01 mg/L** para água de hemodiálise (pós osmose) segundo a Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA nº 11 de 13 de março 2014 (BRASIL, 2014). Valores acima destes limites estão destacados em negrito e correspondem as amostras insatisfatórias. NR: não realizada a análise

Gráfico 5 – Resultados obtidos em relação à determinação do teor de alumínio em amostras de pré-osmose e pós osmose coletadas em 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.



#### 5.4 AVALIAÇÃO DAS UNIDADES HOSPITALARES FRENTE AOS RESULTADOS OBTIDOS

Durante a realização deste estudo foram inspecionadas junto ao órgão de VISA municipal 22 unidades hospitalares, sendo 9 públicas representando 41 % das unidades visitadas e 13 privadas, 59 %, do total como apresentado no Gráfico 6. Das 22 inspeções realizadas, 60 % das clínicas apresentaram-se insatisfatórias com relação as análises realizadas (Gráfico 6).

Gráfico 6. Distribuição das unidades hospitalares no município do Rio de Janeiro inspecionadas e com coleta de amostras no ano de 2017 quanto ao tipo de administração pública ou privada

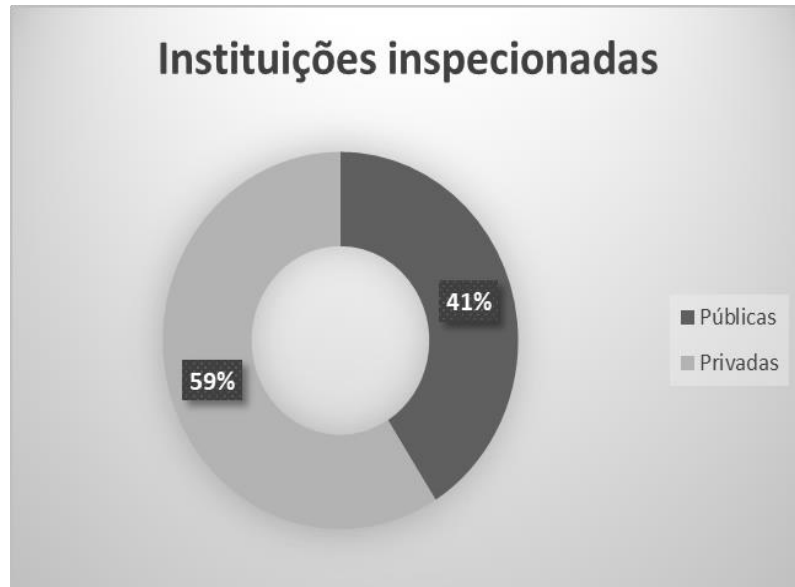
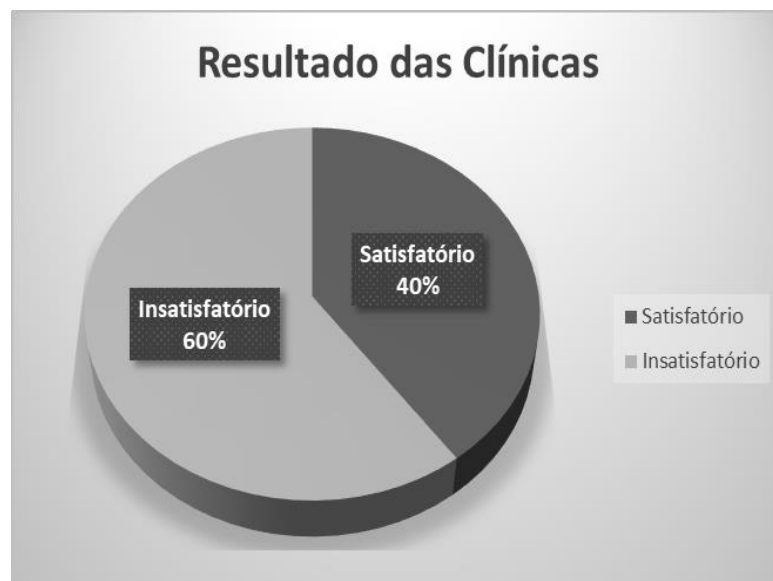


Gráfico 7. Distribuição das unidades hospitalares quanto aos resultados das análises microbiológicas, de endotoxina bacteriana e de alumínio em amostras de água nos pontos de coleta pré-osmose, pós osmose e solução de diálise provenientes de 22 unidades hospitalares do município do Rio de Janeiro nos serviços de diálise à beira do leito no ano de 2017.



## 6. DISCUSSÃO

A ausência de uma legislação específica para o monitoramento do serviço de diálise móvel, impossibilita o monitoramento eficaz da diálise a beira do leito, visto que o controle microbiológico que deveria ser realizado de forma periódica pelos órgãos de fiscalização no procedimento de diálise móvel não tem a mesma eficiência como na hemodiálise convencional realizada pelos pacientes renais crônicos onde os serviços são regidos pela RDC nº 11 de 2014.

Apesar dos órgãos de fiscalização utilizarem como base para o monitoramento do serviço de diálise móvel, a RDC nº 11 de 2014, consideramos que esta RDC não é a melhor referência, visto que o tratamento realizado para a água é diferente e menos controlado, logo é necessário garantir um controle de qualidade do processo de diálise realizado nas UTIs mais rigoroso, pois os pacientes nestas unidades se encontram ainda mais debilitados.

Os resultados obtidos nos possibilitaram avaliar um diferente aspecto com relação aos estudos nesta área. Ao se abordar o monitoramento da qualidade dos serviços de diálise, muito se discute em relação aos parâmetros microbiológicos e químicos descritos nas legislações vigentes (BRASIL 2014; BRASIL, 2017). No entanto, pouco se discute sobre as questões estruturais dos serviços, como, por exemplo, em relação aos pontos críticos do processo descritos neste trabalho, bem como a proposição de outros aspectos a serem analisados e possíveis mudanças que poderiam proporcionar melhores resultados nos serviços.

O estudo de Almeida; Batalha (2018) referente à uma revisão integrativa da literatura acerca do monitoramento dos serviços de diálise, destacou como principal conclusão, a necessidade de estudos que correlacionem a estrutura dos serviços, à adequação dos processos e à avaliação por meio dos resultados obtidos nos pacientes.

O controle da qualidade da água utilizada no processo de hemodiálise é uma preocupação de saúde pública em escala mundial e por isso é preconizada em todos os países. A Associação Renal Européia recomenda na água para hemodiálise, o limite de contagem total de bactérias de 100 UFC/mL e de 0,25 UE/mL como limite de quantificação para endotoxina. Já a Sociedade Japonesa para Terapia de Diálise recomenda em água para hemodiálise, contagem de bactérias abaixo de 100 UFC/mL e no máximo, 0,05 EU/mL de endotoxina. Nos Estados Unidos da América (EUA), o limite máximo de contagem de bactérias é menor que 100 UFC/ mL e menor que 0,25 EU/mL de endotoxina em todos os pontos, exceto para a solução de diálise, na qual o

limite aumenta para valor menor que 0,5 EU/mL (SCHIFFL et al., 2001; GLORIEUX et al., 2012; COULLIETTE; ARDUINO, 2013).

Nos EUA, a preocupação com a ocorrência de bacteremias em pacientes submetidos ao processo de hemodiálise tem estimulado políticas de melhoria de processos com uso de dialisato ultrapuro, onde o controle da qualidade da água é feito por ultrassom e os limites preconizados são valores inferiores a 0,1 UFC/mL para contagem de bactérias. No entanto, o uso deste sistema ainda não é obrigatório, embora muitos estudos tenham comprovado sua eficácia na diminuição da bacteremia e na melhora do estado geral dos pacientes (ARIZONO et al., 2004; COULLIETTE; ARDUINO, 2013).

No ano de 2014 foi iniciado um monitoramento nos serviços de diálise móvel do Estado do Rio de Janeiro onde foram contempladas 12 unidades hospitalares com diálise móvel. Através de uma parceria estabelecida entre o INCQS e a Vigilância Sanitária Estadual, os resultados das análises realizadas mostraram a urgência de se monitorar este tipo de serviço, pois todos os pontos de coleta apresentaram contagens de bactérias com valores entre  $10^3$ - $10^4$  UFC/mL e níveis de endotoxina acima dos limites preconizados pela RDC nº 11 de 2014. Este estudo corrobora com o estudo de JESUS, 2017 onde a *P. aeruginosa* foi o microrganismo de maior ocorrência isolado, além de outras espécies com potencial patogênico e oportunista (JESUS et al., 2017).

É importante ressaltar que bactérias dos gêneros *Pseudomonas* (LECLERC; MOREAU, 2002; GOMILA et al., 2005) *Sphingomonas* (GOMILA et al., 2005) e *Aeromonas* (LECLERC; MOREAU, 2002) são comumente encontradas em amostras de água de sistemas de tratamento destinadas a hemodiálise. Especial atenção deve ser dada a *P. aeruginosa*, um patógeno oportunista que ocorre em pacientes hospitalizados, em particular pessoas com estado de saúde debilitado. Infecções por *Pseudomonas* sp. podem se desenvolver em muitos locais anatômicos, incluindo pele, tecido subcutâneo, ossos, orelhas, olhos, trato urinário, pulmões e válvulas cardíacas. Além disso, esta espécie possui também capacidade de formar biofilmes ao longo dos ductos do sistema, possibilitando contaminações recorrentes em tubulações e em equipamentos de uso hospitalar (REIS, 2010).

A pesquisa de *P. aeruginosa* no monitoramento da água tratada para hemodiálise, já é preconizada pela Farmacopeia Americana (THE UNITED States Pharmacopeia, 2017) e pela Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA Brasileira, 2010). Desta forma, seria importante sua inserção nas normativas da legislação brasileira vigente, para o controle da qualidade da água

utilizada nos serviços de diálise (FERREIRA, 2009). As infecções por *P. aeruginosa* frequentemente adquirem um caráter de persistência, e as cepas sofrem uma mudança fenotípica, onde adquirem capacidade de aderência, pela formação de biofilmes, que torna mais difícil sua erradicação (SILVA FILHO et al., 2013).

A bactéria *S. maltophilia*, microrganismo anteriormente pertencente ao grupo das *Pseudomonas* e atualmente, a única espécie pertencente ao gênero *Stenotrophomona*, é um bacilo Gram-negativo não fermentador de glicose, aeróbio e de baixa virulência. Não é comumente relacionado como um agente de infecções, porém em indivíduos imunocompetentes vem se destacando como um patógeno nosocomial emergente, com alta morbidade e mortalidade, associado à ocorrência de bacteremias, pneumonias, infecções de pele e tecidos moles, endocardites, infecções no trato urinário, meningites, infecções intra-abdominais, síndromes oftalmológicas e sinusites. O isolamento de *S.maltophilia* em pacientes nem sempre se relaciona a infecções, pois pode colonizar-se naturalmente no trato gastrointestinal (TGI), nas vias aéreas e na pele (RODRIGUES; DI GIOIA; ROSSI, 2011; MORAES, 2014).

A espécie *E. coli* é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa pertencente à família Enterobactereacea. Em geral são encontradas na microbiota intestinal normal dos seres humanos e animais, por isso sua principal fonte de contaminação é a fecal, sendo considerada um coliforme fecal. Os estudos de sua origem já possibilitaram o reconhecimento de seis patótipos de origem intestinal, são eles: EPEC (*E. coli* enteropatogênica), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora), EAEC (*E. coli* enteroagregativa), STEC/EHEC (*E. coli* produtora de toxina Shiga) e DAEC (*E. coli* difusamente aderente). Entre as de origem extraintestinal ressalta-se a ExPEC (*Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli*) associada às infecções do trato urinário, das meningites, das infecções intra-abdominais, às infecções em feridas e às infecções da corrente sanguínea comuns em ambientes hospitalares (SANTOS et al., 2009).

A bactéria *B. cepacia*, um bacilo Gram-negativo não fermentador, móvel, aeróbio e não esporulado é altamente adaptável a diferentes ambientes sendo comum no solo e na rizosfera das plantas. No entanto está muito associada às infecções respiratórias principalmente em pacientes imunocomprometidos, pacientes em UTIs ou com afecções respiratórias. Sua contaminação está associada ao tempo de internação, ao contato com pacientes infectados ou até mesmo à adesão por biofilmes em equipamentos de uso respiratório (CORREIA et al., 2008; MORAES, 2014).



Por muito tempo a *B. cepacia* foi caracterizada como uma espécie de *Pseudomonas*, por isso a semelhança na capacidade de adesão e formação de biofilme. No entanto, com o advento de técnicas moleculares trazendo novas descobertas à microbiologia foi possível a realização de análises taxonômicas de cepas da espécie de *Pseudomonas*, ocasionando a descoberta do gênero *Burkholderia*, onde a *B. cepacia* é considerada espécie tipo, ou seja, designação específica que fixa o nome de um gênero (CORREIA et al., 2008; MORAES, 2014).

A espécie *R. picketti* caracteriza-se como um bacilo aeróbio Gram-negativo, oxidase positiva, não fermentador de glicose, que também faz parte do grupo das *Pseudomonas*, no entanto raramente está associado a infecções em humanos. Nos últimos anos vem sendo identificado como um patógeno oportunista emergente e mesmo com baixa virulência está associado a infecções nosocomiais, principalmente bacteremias (TEJERA et al., 2016).

Têm sido descritos casos de infecções com amplas respostas associados a *R. picketti*, desde quadros clínicos assintomáticos a sepse grave chegando a choque séptico e morte. Em geral, caracterizam-se como população de risco, pacientes imunocomprometidos, hematooncológicos, e pacientes de UTI em uso de catéteres venosos centrais. Em geral os casos de contaminação descritos estão associados ao uso de soluções contaminadas, produtos sanguíneos, solução de clorexidina, solução salina ou água estéril contaminadas e à colonização de dispositivos médicos (TEJERA et al., 2016).

Existe uma boa correlação entre a concentração de endotoxinas e bactérias na solução de diálise e a presença de sintomas típicos de reação pirogênica (endotoxemia) (BUZZO et al., 2010). Em altas concentrações, as endotoxinas bacterianas podem atravessar a membrana do dialisador que apresente mínimas rupturas ou até através de membranas intactas, determinando os sintomas já descritos, podendo ser fatais, devido às complicações que se desenvolvem nos pacientes imunocomprometidos (BUZZO et al., 2010).

As atividades fisiológicas do LPS são mediadas principalmente pelo lipídeo A, que causa uma potente resposta biológica modificadora que pode estimular o sistema imune de mamíferos. Porém para induzir uma resposta sobre o organismo, o lipídeo A precisa ser liberado na forma solúvel *in vivo*, com menor efeito. O lipídeo A causará reações tóxicas mais características quando for liberado a partir da lise celular (FINGOLA, 2011; GUIMARÃES, 2017).

As endotoxinas são contaminantes frequentes em soluções aquosas/fisiológicas. Devido aos diversos efeitos biológicos *in vivo* e *in vitro*, sua detecção e remoção são essenciais para a garantia da segurança do paciente durante o processo de hemodiálise (GUIMARÃES, 2017).

O monitoramento da presença de elementos químicos na água para hemodiálise tem sua importância devido ao risco de intoxicação quando sua presença excede a concentração tolerada pelo organismo. O risco de intoxicação é ainda maior principalmente quando se trata de pacientes em hemodiálise. O alumínio é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre, no entanto não é um elemento essencial ao corpo humano e sua importância à saúde reside no efeito tóxico e acumulativo ao organismo (SILVA et al., 2012).

O alumínio é um microcontaminante ambiental de origem natural ou da atividade humana e em pequenas proporções o organismo é capaz de reconhecer sua presença e impedir que ele participe de reações tóxicas. Das fontes de contaminação por alumínio, a água potável é uma das mais importantes, devido ao contato com o solo, sendo sua concentração dependente do pH da água. Além disso é utilizado no tratamento da água potável, como um quelante, reduzindo o número de partículas, visando melhorar o aspecto da água. Quando o processo de tratamento da água funciona corretamente, a adição de alumínio diminui a concentração do mesmo na água (SILVA et al., 2012).

O mecanismo de ação do alumínio não é bem compreendido, acredita-se que tenha ação sobre as principais enzimas pós-sinápticas da neurotransmissão colinérgica, desencadeando um efeito neurotóxico, no entanto existem poucas informações documentadas que dizem respeito aos aspectos moleculares sobre sua citotoxicidade. Nos ossos, o aumento excessivo de alumínio pode provocar uma síndrome, chamada de *Aluminium Induced Bone Disease* (AIBD) caracterizada por dois tipos de expressão, a osteomalácia e a doença óssea adinâmica. O alumínio ao se depositar nas junções dos ossos calcificados e não calcificados torna-se um obstáculo à incorporação do cálcio pela hidroxiapatita (RODRIGUES, 2012; SILVA et al., 2012).

A solução de diálise utilizada no processo resulta da mistura (diluição) do CPHD (comercial) com a água de abastecimento municipal devidamente tratada por osmose reversa. A contaminação da solução de diálise pode ter origem nas duas fontes. No entanto, a contaminação da água usada no tratamento para hemodiálise por alumínio foi sempre apontada como a principal responsável pela encefalopatia, anemia e osteodistrofia observada nos doentes em diálise (RODRIGUES, 2012).

Garantir e manter a qualidade da água utilizada nos procedimentos de hemodiálise são os fatores essenciais para a qualidade de vida do paciente com problema renal, pois a ausência de uma eficiente eliminação renal, juntamente com o uso de quelantes de fosfato contendo alumínio e o uso de soluções dialisantes contaminadas com este metal aumenta a sua exposição. Nestes indivíduos, o alumínio é o que causa maior problema, pois pode se acumular em pacientes com insuficiência renal em tratamento, por isso, é necessário, verificar a água e também os alimentos ingeridos pelos pacientes, fazer a monitorização sérica e identificação de toxicidade, especialmente a nível ósseo (RODRIGUES, 2012; SILVA et al., 2012).

O estudo de RAMIREZ (2009) que realizou o monitoramento de serviços de diálise de pacientes crônicos no ano de 2006 a 2007 obteve resultados inversos ao encontrado neste estudo, pois a ocorrência de contagem de bactérias acima do preconizado foi de maior incidência do que a quantificação de endotoxinas acima do limite. No entanto, os serviços de diálise crônica possuem tratamento rigoroso da água que permite um melhor controle da ocorrência de contaminação por endotoxinas e a contaminação bacteriana pode ser relativa a um problema pontual no processo.

Na diálise móvel onde não há um tratamento da água a ser utilizada, a ocorrência de contaminação é um fator preocupante que desperta ainda mais a necessidade de monitoramento deste serviço.

Apesar dos relatos de surtos associados à qualidade da água tratada para diálise, ainda são muito subnotificados os casos, pois apenas ocorrências de consequências trágicas tendem a ser publicadas, o que não nos permite avaliar a real frequência de efeitos adversos advindos do tratamento dialítico relacionados à água tratada. Estudos adicionais são necessários abordando o monitoramento da água, a ocorrência de eventos adversos associados a problemas de contaminação nesta água e a correlação entre a contaminação da água e o acometimento dos pacientes em tratamento dialítico (BUZZO et al., 2010).

## **7 – CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos neste estudo apontam para a importância de um monitoramento específico deste tipo de serviço e a necessidade da elaboração de uma norma específica de regulação e acompanhamento do serviço, a fim de subsidiar as práticas dos órgãos de fiscalização vigentes e tornar padronizado os serviços oferecidos aos pacientes de forma a corrigir as falhas em pontos críticos do processo.

Os resultados insatisfatórios fomentaram ações corretivas nas unidades hospitalares em questão, porém não foi possível uma reavaliação dos serviços a fim de garantir a eficiência das ações, pois por não existir ainda um programa específico para a diálise móvel as coletas ocorrem de forma aleatória.

A realização deste trabalho fomentou a discussão entre os colaboradores do laboratório responsável pelas análises no INCQS e a VISA do município do Rio de Janeiro que pretendem iniciar um programa de monitoramento dos serviços de diálise móvel do município que possibilitará um trabalho mais eficiente de monitoramento e resolução de problemas a fim de garantir aos pacientes um serviço de qualidade e a minimização dos riscos associados ao processo.

## 8 – PERSPECTIVAS

Os estudos com as amostras de água utilizadas em diálise a beira do leito em UTI continuarão em um novo estudo a ser iniciado no doutorado acadêmico com o objetivo de realizar uma investigação molecular da qualidade microbiológica de águas utilizadas em diálise móvel em hospitais do município Rio de Janeiro, a partir da comparação dos resultados obtidos com as metodologias de contagem total de bactérias aeróbias, pesquisa de coliformes e determinação da concentração de endotoxinas com as metodologias de extração de DNA metagênomico das amostras de água e detecção de marcadores genéticos por qPCR, além de traçar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e detectar os genes de resistência e virulência dos microrganismos encontrados.

No INCQS estuda-se a possibilidade de criação de um programa específico junto a VISA municipal para o monitoramento da qualidade da água utilizada nos serviços de diálise móvel nas UTIs a fim de garantir a qualidade do serviço prestado à população.

Este estudo terá como produto um artigo para submissão em revista científica a fim de contribuir com as pesquisas sobre o tema no meio acadêmico.

Espera-se que haja o fomento de novas pesquisas na área para avaliar a realidade do serviço em diferentes regiões do país e subsidiar a criação de uma legislação que atenda a necessidade de todos os serviços de diálise móvel já existentes e promova a criação de novos serviços que não apresentem os erros estruturais atualmente recorrentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AAMI. Association for the Advancement of Medical Instrumentation. **American National Standard for Hemodialysis Systems**, ANSI/AAMI no. RD52, 2004.
2. A CAMBREX COMPANY. LAL test made easy: Kinetic-QCL, catalog No. 50-650U, license No. 709, 2008.
3. ALMEIDA, D.S.; BATALHA, E.M.S.S. Produções científicas e regulamentações sobre qualidade em diálise no Brasil: uma revisão integrativa **Saúde Rev.**, v. 18, n. 48, p. 21-38, jan.-abr., Piracicaba 2018.
4. ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.
5. APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. American Water Works Association, Water Environmental Federation, 20ª ed. Washington, 1998.
6. ARIZONO K. et al. Use of ultrapure dialysate in reduction of chronic inflammation during hemodialysis. **Blood Purif** v. 22(suppl 2):26–29, 2004.
7. BOMMER, J.; JABER, B. L. Ultrapure dialysate: facts and myths. **Seminars in Dialysis**, v. 19, p. 115-119. 2006.
8. BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 154, de 15 de junho de 2004. Estabelece o Regulamento técnico para os serviços de diálise. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 jun. 2004<sup>a</sup>.
9. BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 mar. 2004<sup>b</sup>.
10. BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica nº 006/2009-GGTES/ANVISA. Estabelece parâmetros para execução de procedimentos dialíticos em ambiente hospitalar fora dos serviços de diálise abrangidos pela RDC/ANVISA n/ 154, de 15

- de junho de 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 21 dez. 2009.
11. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 11, de 13 de março de 2014. Dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 mar. 2014. Seção 1, p.40.
  12. BRASIL. Portaria/MS n.0 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. In: Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 [**Diário Oficial da República Federativa do Brasil**], Brasília, 05 de setembro de 2017.
  13. BUGNO A, et al. Detecção de bactérias Gram-negativas não fermentadoras em água tratada para diálise. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.66, p.172- 175, 2007.
  14. BUZZO ML, et al. A importância de programas de monitoramento da qualidade da água para diálise na segurança dos pacientes. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.69, p.1-6, 2010.
  15. CASTRO, M.C.M. de. Atualização em diálise: Complicações agudas em hemodiálise. **J. Bras Nefrol**, v.23, n.2, p. 108-113, 2001.
  16. CAVALCANTI, J. M. O.; FROTA, F. H. S. A vigilância sanitária e os serviços de hemodiálise. **Revista do Mestrado Profissional em Planejamento em Políticas Públicas**, Ceará, 2011.
  17. CORREIA S. et al. Infecção respiratória por bactérias do complexo Burkholderia cepacia: Evolução clínica em doentes com fibrose cística. *Revista Portuguesa de Pneumologia*. Vol XIV N.º 1 Janeiro/Fevereiro 2008.
  18. COSTA, J. A. C.; VIEIRA NETO, O. M.; MOYSÉS NETO, M. Insuficiência Renal Aguda. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 36, p. 307-324, 2003.
  19. COULLIETTE A.D., and ARDUINO M. J. Hemodialysis and Water Quality. **Seminars in Dialysis**, v 26 (4) (July–August), 2013.
  20. FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v. 1. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd\\_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf)>. Acesso em: 30 out. 2016.
  21. FERREIRA, J. A. B. **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**. 2009. 159 f. Dissertação (Mestrado

- em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.
22. FINGOLA, F. F. **Validação do ensaio de endotoxina bacteriana (LAL) para o soro antibiótico pelo método cromogênico cinético.** 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.
  23. GLORIEUX, G. et al. Dialysis water and fluid purity: more than endotoxin. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, v. 27, n. 11, p. 4010-4021, 2012.
  24. GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde (SESA). Dispõe sobre as condições para realização de terapia renal substitutiva à beira do leito, em unidades intra-hospitalares fora da unidade de diálise, por meio de serviços de diálise móvel, próprios ou terceirizados. Resolução SESA nº 437, de 08 de agosto de 2013. **Diário Oficial do Estado do Paraná** nº 9019, Poder Executivo, Curitiba, Paraná, 12 ago. 2013. , p.74.
  25. GOMILA M. et al. Identification of culturable bacteria present in haemodialysis water and fluid. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 52, p. 101-114, 2005.
  26. GUIMARÃES, D.S. **Controle de Endotoxina na indústria Farmacêutica – Análise dos Métodos In Vivo e In Vitro.** 2017. 43 f. Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas). Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos. Rio de Janeiro, 2017.
  27. HOENICH, N. A. RONCO, C.; LEVIN, R. The importance of water quality and haemodialysis fluid composition. **Blood Purification**, v. 24, p.11-18, 2006.
  28. INCQS - INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP 65.3210.010:** Contagem total de bactérias aeróbias, bile tolerantes, bolores e leveduras em produtos farmacêuticos e água para diálise rev. 19. Rio de Janeiro, 2017<sup>a</sup>. 14 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).
  29. INCQS - INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP 65.3210.033:** Pesquisa de coliformes totais e *E. coli* em água utilizada na entrada da rede de abastecimento e tratada para diálise. Rev. 15. Rio de Janeiro, 2017<sup>b</sup>. 8 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).
  30. INCQS - INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP 65.3210.008:** Pesquisa de Patógenos em Produtos Não Estéreis e Matérias-Primas de Uso em



- sua Fabricação e Água para Diálise Rev. 16. Rio de Janeiro, 2017<sup>c</sup>. 48 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).
31. INCQS - INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP 65.3330.006**: Ensaio para endotoxina bacteriana. Rev. 13. Rio de Janeiro, 2017<sup>d</sup>. 22 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).
32. INCQS - INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **PU 3210.102**: Método de coloração de Gram. Rev. 5. Rio de Janeiro, 2016. 5 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).
33. JESUS, P. R. de et al. Detection of microorganisms, endotoxins and aluminum in mobile dialysis services. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** Maringá, v. 39, n. 4, p. 475-479, Oct.-Dec, 2017.
34. JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A. **Manual of clinical microbiology**. 11. ed. Washington D.C.: American Society of Microbiology. 2015.
35. 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.
36. LECLERC, H.; MOREAU, A. Microbiological safety of natural mineral water. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, p. 207-222, 2002.
37. LO CASCIO, G. et al. A napkin-associated outbreak of *Burkholderia cenocepacia* bacteraemia in haemodialysis patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 64, p. 56-62, 2006.
38. LONNEMANN, G. The quality of dialysate: an integrated approach. **Kidney Int.**, v.76, S112-119, 2000.
39. LUGON, J. R., STROGOFF, J. P., WARRAK, E. A. Hemodiálise. In: RIEELA, M. C. **Princípios de Nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. p.869-890.
40. MAGALHÃES, M. et al. Polyclonal outbreak of *Burkholderia cepacia* complex bacteraemia in haemodialysis patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 54, p. 120-123, 2003.
41. MORAES, F. C. Estudo da patogenicidade de isolados de *Burkholderia* sp e *Stenotrophomonas maltophilia* em amostras clínicas. (Dissertação de Mestrado). Programa de Mestrado em Biologia Parasitária da **Universidade CEUMA**. São Luís, 2014.

42. OLIVEIRA S.M.R. et al. Nível Sérico de Alumínio: Influência da Água e de Alimentos Ingeridos Por Pacientes Com Insuficiência Renal Crônica Mantidos em Hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. XXVII, n. 3, Setembro de 2005.
43. PEGORARO, L. A. **Validação de metodologia analítica aplicada ao controle da qualidade de água para hemodiálise para fins de credenciamento junto ao Inmetro.** Projeto Hemotec II. Curitiba: Tecpar; Finep, 2005.
44. PIZZARELLI, F. et al. Dialysis water treatment systems and monitoring in Italy: results of a national survey. **Journal of Nephrology**, v. 17, p. 565-569, 2004.
45. RAMIREZ, S.S. Água para hemodiálise no estado do Rio de Janeiro: uma avaliação dos dados gerados pelo programa de monitoramento da qualidade nos anos de 2006-2007. (Monografia). Curso de Especialização em Produtos Ambientais e Serviços Vinculados à Vigilância Sanitária. Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária INCQS/FIOCRUZ. 2009.
46. REIS, B A. B. **Produção de biofilme por bastonetes Gram negativos não fermentadores isolados de água de hemodiálise.** Trabalho de conclusão de curso Bacharelado - Ciências Biológicas - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2010.
47. RODRIGUES A.I.M. A intoxicação por alumínio nos doentes em hemodiálise - uma perspectiva histórica. (Monografia do 2.º Ciclo de Estudos Conducente) Mestrado em Análises Clínicas. Faculdade de Farmácia. **Universidade do Porto**. Setembro. 2012.
48. RODRIGUES, L.S.; DI GIOIA, T. S.R.; ROSSI, F. *Stenotrophomonas maltophilia*: resistência emergente ao SMX-TMP em isolados brasileiros. Uma realidade? **Rev. Bras Patol Med Lab**. v. 47. n. 5, p. 511-517, 2011.
49. SANTOS A.C. de M. et al. A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. **O Mundo da Saúde**, São Paulo:33(4):392-400. 2009.
50. SANTOS C.R. Alumínio. In: Azevedo FA, Chasin AAM, editores. **Metais: Gerenciamento da Toxicidade**. São Paulo: Ateneu; 2003. p. 1- 33.
51. SBN - Sociedade Brasileira de Nefrologia. **Insuficiência renal aguda**. Página da web. Disponível em: <https://sbn.org.br/publico/doencas-comuns/insuficiencia-renal-aguda/>. Acesso em janeiro de 2018.

52. SCHIFFL H. et al. Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. **Nephrol Dial Transplant**, 16:1863–1869, 2001.
53. SESSO, R. C. et al. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica. **J Bras Nefrol**, v. 38, n. 1, p. 54-61, 2016. Disponível em: <http://www.jbn.org.br/details/1830/pt-BR>. Acesso em: 20 abr. 2017.
54. SILVA F. N. et al. Riscos relacionados à intoxicação por alumínio. Revista do conselho Federal de Farmacia- **Infarma**. v.24, p. 1-3, 2012.
55. SILVA FILHO, L.V.R.F. da et al. Infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes com fibrose cística: evidências científicas sobre o impacto clínico, diagnóstico e tratamento. **J. Bras. Pneumol**, v. .39, n.4, pp.495-512, 2013.
56. SIVIERO, P.C.L.; MACHADO, C.J.; CHERCHIGLIA, M.L.. Insuficiência renal crônica no Brasil segundo enfoque de causas múltiplas de morte. **Cad. saúde colet.**, Rio de Janeiro , v. 22, n. 1, p. 75-85, Mar. 2014 .
57. SOUSA, M. R. G. de et al. Eventos adversos em hemodiálise: relatos de profissionais de enfermagem. **Rev Esc Enferm**, USP, v. 47 n.1, p. 76-83, 2013.
58. TEJERA, D. et al. Bacteriemia por *Ralstonia pickettii* en pacientes en hemodiálisis: reporte de dos casos. **Rev Bras Ter Intensiva**.;28(2):195-198. 2016.
59. TENA, D. 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.
60. THE UNITED States Pharmacopeia 40. United States Pharmacopeial Convention. 40. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2017.
61. VASCONCELOS, P.D.S. de. **Monitoramento da água de diálise: um estudo de caso em uma clínica do município de Recife**. 2012. 111 f.. Monografia (Curso de Especialização em Gestão de Sistemas e Serviços de Saúde do Departamento de Saúde Coletiva) – Centro de Pesquisas Ageu Magalhães. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012
62. VERSALOVIC, J. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 10 ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 2011.
63. VORBECK-MEISTER, I. et al. Quality of water used for haemodialysis: bacteriological and chemical parameters. **Nephrology Dial Transplant**, v. 14, p. 666-675, 1999.

64. WANG, S. A. et al. 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.

## APÊNDICE A - MATERIAIS, FÓRMULAS E PREPARO DE SOLUÇÕES E DE MEIOS DE CULTURA

### 1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

Pipetas graduadas de 1,2, 5 e 10 mL

Erlenmeyer de 250mL

Placas de Petri plásticas e de vidro de 60 mm e 100 mm

Tubos de ensaio de vidro 16 x 150 mm ou similar

Tubos de ensaio de vidro 18 x 180 mm ou similar

Alça de inoculação descartável

Espátulas e pinças

### 2. MEIOS DE CULTURA

#### Caldo Caseína-soja (TSB)

Peptona de caseína pancreática .....	17,0 g
Farinha de soja obtida por digestão papaínica .....	3,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Fosfato de potássio dibásico.....	2,5 g
Glicose monoidratada.....	2,5 g
Água purificada.....	1000 mL

Ajustar ao pH  $7,3 \pm 0,2$ . Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

#### Ágar Caseína-soja (TSA)

Peptona de caseína pancreática.....	15,0 g
Farinha de soja obtida por digestão papaínica .....	5,0 g

Cloreto de sódio.....	5,0 g
Agar .....	15,0 g
Água purificada .....	1000 mL

Ajustar ao pH  $7,3 \pm 0,2$ . Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

### **Ágar Violeta Vermelho Neutro Glicose**

Extrato de levedura .....	3,0 g
Peptona de gelatina pancreática.....	7,0 g
Sais Biliares.....	1,5 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Glicose monoidratada.....	10,0 g
Ágar .....	15,0 g
Vermelho neutro.....	30,0 mg
Cristal violeta.....	2,0 mg
Água purificada .....	1000 mL

Ajustar ao pH  $7,4 \pm 0,2$ . Aquecer até ebulição. Não esterilizar em autoclave.

### **Caldo de Enriquecimento para Enterobactérias Mossel**

Hidrolisado de pancreático de gelatina .....	10,0 g
Glicose monoidratada.....	5,0 g
Bile de boi desidratada .....	20,0 g
Fosfato de potássico monobásico.....	2,0 g
Fosfato dissódico didratado.....	8,0 g
Verde brilhante.....	15,0 mg
Água purificada.....	1000 mL

Ajustar ao pH  $7,2 \pm 0,2$ . Aquecer a  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Esfriar imediatamente.

### **Caldo MacConkey**

Hidrolisado de pancreático de gelatina.....	20,0 g
Lactose monoidratada .....	10,0 g

Bile de boi desidratada.....	5,0 g
Púrpura de bromocresol .....	10,0 mg
Água purificada .....	1000 mL

Ajustar ao pH  $7,3 \pm 0,2$ . Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

### **Ágar MacConkey**

Hidrolisado de pancreático de gelatina.....	17,0 g
Peptona (carne ou caseína).....	3,0 g
Lactose monoidratada .....	10,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Bile de boi desidratada .....	1,5 g
Vermelho neutro .....	30,0 mg
Cristal violeta .....	1,0 mg
Ágar .....	13,5 g
Água purificada .....	1000 mL

Ajustar ao pH  $7,1 \pm 0,2$ . Ferver 1 minuto com constante agitação.  
Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

### **Ágar Xilose, Lisina, Desoxicolato (XLD)**

Xilose .....	3,5 g
L-Lisina.....	5,0 g
Lactose monoidratada .....	,5 g
Sacarose.....	7,5 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Extrato de levedura.....	3,0 g
Vermelho fenol.....	80,0 mg
Ágar .....	13,5 g
Desoxicolato de sódio.....	2,5 g
Citrato de amônio férrico.....	0,8 g
Tiosulfato de sódio.....	6,8 g
Água purificada .....	1000 mL

Ajustar de forma que após aquecimento seja pH de  $7,4 \pm 0,2$ .

Aquecer até a ebulição. Não esterilizar em autoclave.

### **Caldo Enriquecimento *Salmonella* Rappaport Vassiliadis**

Peptona de soja .....	4,5 g
Cloreto de magnésio hexaidratado.....	29,0 g
Cloreto de sódio .....	8,0 g
Fosfato de potássio dibásico .....	0,4 g
Fosfato de potássio monobásico.....	0,6 g
Verde malaquita .....	36,0 mg
Água purificada .....	1000 mL

Ajustar ao pH  $5,2 \pm 0,2$ . Esterilizar em autoclave em temperatura que não exceda a  $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### **Ágar Cetrimide**

Hidrolisado de pancreático de gelatina .....	20,0 g
Cloreto de magnésio .....	1,4 g
Sulfato dipotássico .....	10,0 g
Cetrimida .....	0,3 g
Ágar .....	13,6 g
Água purificada .....	1000 mL
Glicerol	10,0 mL

Ferver 1 minuto com constante agitação. Ajustar o pH de forma que seja de  $7,2 \pm 0,2$ .

Esterilização em autoclave usando ciclo validado.

### **Ágar Sal Manitol**

Hidrolisado de pancreático de caseína .....	5,0 g
Peptona péptica de tecido animal .....	5,0 g
Extrato de carne .....	1,0 g
D-manitol .....	10,0 g
Cloreto de sódio .....	75,0 g
Ágar .....	15,0 g



Vermelho fenol .....	25,0 mg
Água purificada .....	1000 mL

Ferver 1 minuto com constante agitação. Ajustar o pH na faixa  $7,4 \pm 0,2$ . Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

### 3. REAGENTES E SOLUÇÕES:

#### Reagente de Kovacs ou Ehrlich:

p- Dimetilaminobenzaldeído .....	5 g
Álcool amílico (normal) .....	75 mL
Ácido clorídrico (concentrado) .....	25 mL

Dissolver o p-dimetilaminobenzaldeído em álcool amílico normal.

Adicionar o ácido clorídrico vagarosamente. Estocar a 4°C.

#### Ehrlich

p - Dimetilaminobenzaldeído .....	5 g
Etanol,95% .....	95 mL
Ácido clorídrico (concentrado) .....	25 mL

#### Reagente para o teste de oxidase

N,N - Dimetil - p - fenilendiamina 2HCL.....	1 g
Água purificada .....	100 mL

Este reagente pode ser usado no período de até 7 dias se for estocado em frasco escuro sob refrigeração.

#### Reagente para o teste de vermelho de metila (VM)

Vermelho de metila .....	0,10 g
Etanol 95% .....	300 mL
Água purificada.....	500 mL

Dissolver o vermelho de metila em 300 mL de etanol. Completar o volume para 500 mL com água purificada.

#### Reagentes para o teste de Voges-Proskauer

- Solução 1

Alfa-naftol .....	5 g
Álcool (absoluto) .....	100 mL

- Solução 2

Hidróxido de potássio .....	40 g
Água purificada.....	100 mL

### B.5. Corante Azul Algodão Lactofenol

Fenol .....	20,00 mL
Ácido láctico .....	20,0 mL
Glicerol .....	40,0 mL
Água purificada .....	20,0 mL
Azul algodão .....	0,05 g

### Reagentes para nitrato (GREISS-ILOSVOY)

Reagente A:  $\alpha$ -Naftilamina 0,5% ou Dimetil-L-Naftilamina a 0,6%

$\alpha$ -Naftilamina.....	5,0g
( ou N,N-Dimetil-L-Naftilamina).....	6,0g
Ácido acético (5N) 30%.....	1000mL

Dissolver o reagente em um volume menor que 1000 mL de ácido acético 5N, aquecendo levemente.

Transferir a solução para frasco volumétrico de 1000 mL e acrescentar solução de ácido acético 5N até completar 1000 mL.

Filtrar a solução através de algodão absorvente lavado.

Estocar em frasco fechado e escuro.

Reagente B: Ácido Sulfanílico a 0,8%

Ácido sulfanílico.....	8g
Ácido acético (5N) 30%.....	1000mL

Dissolver o ácido sulfanílico em um volume menor que 1000 mL de ácido acético 5N.

Transferir a solução para frasco volumétrico de 1000 mL e acrescentar solução de ácido acético 5N até completar 1000 mL.

Estocar em frasco fechado e escuro.

**Solução salina 0,85% - pH 7.2****Solução de cristal violeta**

Cristal violeta .....	1g
Etanol a 95% .....	10 mL

**Solução de Lugol**

Cristais de iodo .....	1 g
Iodeto de potássio .....	2 g
Água purificada .....	300 mL

**Solução de fucsina**

Fucsina básica .....	0,1 g
Água purificada .....	100 mL

**Álcool- Acetona**

Etanol 95% .....	60 mL
Acetona PA .....	40 mL