

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

Amanda Soares Alves

**AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DA ANÁLISE DE LAL EM ÁGUA PARA
HEMODIÁLISE REALIZADOS NO INCQS:
IMPACTO DA RDC nº 11/2014**

Rio de Janeiro

2020

Amanda Soares Alves

AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DA ANÁLISE DE LAL EM ÁGUA PARA
HEMODIÁLISE REALIZADOS NO INCQS:
IMPACTO DA RDC nº 11/2014

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutor: Fausto Klabund Ferraris

Preceptores: Fernando Faria Fingola

Sheila Regina Gomes Albertino

Rio de Janeiro
2020

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

Alves, Amanda

Avaliação dos resultados da análise de LAL em água para hemodiálise realizados no INCQS: impacto da RDC nº 11/2014. / Amanda Alves. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2020.

35 f. : fig. ; graf. ; tab.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

Tutor: Fausto Klabund Ferraris.

Preceptor: Fernando Faria Fingola.

Preceptora: Sheila Regina Gomes Albertino.

1. Água para hemodiálise. 2. Hemodiálise. 3. Endotoxinas Bacterianas. 4. Controle de Qualidade. I. Título.

Evaluation of LAL analysis results in water for hemodialysis carried out at INCQS: impact of RDC nº 11/2014

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001."

Amanda Soares Alves

AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DA ANÁLISE DE LAL EM ÁGUA PARA
HEMODIÁLISE REALIZADOS NO INCQS:
IMPACTO DA RDC nº 11/2014

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Aprovado em 19/02/2020

BANCA EXAMINADORA

Renata Faria de Carvalho

Renata Faria de Carvalho (Mestre)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Thais Morais de Brito

Thais Morais de Brito (Mestre)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Amanda da Silva Chaves

Amanda da Silva Chaves (Mestre)
Instituto Oswaldo Cruz

Sheila Regina Gomes Albertino

Sheila Regina Gomes Albertino (Mestre) - (Preceptora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus que nunca me desamparou.

Agradeço as pessoas mais importantes da minha vida: meus pais, minha família e namorado que sempre apoiaram as minhas decisões e me incentivaram em todos os momentos, inclusive na mudança para outro estado, ficando ainda mais longe de todos. A força deles foi fundamental para a conclusão de mais essa etapa da minha vida.

Agradeço a todos do Laboratório de Farmacologia. Todos me receberam como parte da família. Foram dois anos de muito aprendizado tanto profissional quanto pessoal. Aprendi com meus chefes o que é realmente ser um líder. Aprendi com meus colegas o que é trabalho em grupo; um sempre está disposto a ajudar e colaborar com o outro, tanto no trabalho de bancada quanto fora dela. O que eu aprendi com vocês nesses anos da Residência ficou marcado, vou levar todos vocês comigo para o resto da minha vida.

Agradeço a todos do Laboratório de Ensaio de Endotoxina Bacteriana. Todos tiveram muita paciência e cuidado para passar tudo o que sabiam. Foi muito bom trabalhar com esse grupo e aprender um pouco do que sabem. Espero ter retribuído as expectativas que tiveram.

Agradeço aos colegas de turma da Residência por toda a cumplicidade e parceria.

Agradeço ao INCQS pela grande oportunidade de crescer profissionalmente na casa.

RESUMO

Introdução: A água para hemodiálise possui diversos contaminantes microbiológicos que poderão ser transferidos para os pacientes, podendo causar danos à saúde e às vezes levar ao óbito, assim o correto tratamento dessa água é primordial. A resolução que previa as normas para o funcionamento de serviços de diálise (RDC nº 154/2004) foi revogada e entrou em vigor a RDC nº 11/2014 que apresentou algumas mudanças. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto da RDC nº 11/2014 sobre os resultados da análise de Endotoxina Bacteriana (EB) na água para hemodiálise em clínicas e hospitais do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Material e Métodos:** Foram analisados todos os resultados de análise fiscal de amostras de água para hemodiálise, realizadas no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, do ano de 2010 até o ano de 2018, através do banco de dados HARPYA. **Resultados:** Os locais que prestam serviço de hemodiálise tinham que se adequar à nova RDC até setembro de 2014. Nesse ano, até o mês de setembro a porcentagem média de resultados insatisfatórios era de 53% e diminuiu para 40% de outubro a dezembro. Após 2014, o percentual de amostras insatisfatórias apresentou considerável aumento, porém no ano de 2018, com apenas 6% de resultados insatisfatórios. Além disso, os resultados insatisfatórios da análise de EB apresentaram uma porcentagem maior depois de 2014 (23%) do que antes (18%). **Conclusão:** Apesar do aumento dos resultados insatisfatórios para EB após 2014, as clínicas e hospitais que prestam serviço de hemodiálise realizaram ações sanitárias e adequações do sistema de tratamento que resultaram na diminuição dos resultados insatisfatórios no ano de 2018.

Palavras-chave: Água para Hemodiálise. Hemodiálise. Endotoxinas Bacterianas. Controle de Qualidade.

ABSTRACT

Introduction: Water for hemodialysis can present several microbiological contaminants that can be transfer to patients, and cause health problems and death, so the correct treatment of this water is paramount. The dialysis services resolution for operation (RDC 154/2004) was revoke, introducing the new resolution RDC 11/2014. **Aim:** The objective of the present study was to evaluate the impact of RDC 11/2014 on the results of microbiological analysis of water for hemodialysis in clinics and hospitals of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Material and Methods:** We analyzed all the results of the fiscal analysis of water samples for hemodialysis, performed at the National Institute for Quality Control in Health, from 2010 until 2018, through the HARPYA database. **Results:** The places who render services of hemodialysis had to fit to new RDC until September 2014. In this year, until September the mean percentage of unsatisfactory results were 53% and decrease to 40% between October and December. After 2014, the percentage of unsatisfactory results samples presented a considerable increase, but decreased drastically in 2018 with just 6% of unsatisfactory results. Besides that, the unsatisfactory results of BE analyzes showed a higher percentage after 2014 (23%) than before (18%). **Conclusion:** Despite the increase in unsatisfactory results for BE after 2014, clinics and hospitals providing hemodialysis services performed sanitary actions and treatment system adjustments that resulted in a decrease in unsatisfactory in 2018.

Key-words: Water for Hemodialysis. Hemodialysis. Bacterial Endotoxin. Quality Control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Tratamento de hemodiálise.....	12
Figura 2 - Etapas do tratamento da água para hemodiálise.....	14
Figura 3 - Comparação entre os processos de Osmose e Osmose reversa.....	16
Figura 4 - Parede celular de uma bactéria gram-negativa.	19
Figura 5 - Análise da porcentagem média dos resultados do ano de 2010 a 2013 e do ano de 2015 a 2018.	27
Figura 6 - Análise da porcentagem média dos resultados da análise de Endotoxina Bacteriana dos anos 2010 à 2018.....	28
Figura 7 - Análise da porcentagem média dos resultados de análise de Endotoxina Bacteriana do ano de 2010 a 2013 e do ano de 2015 a 2018.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características Físicas e organolépticas da água potável	17
Tabela 2 - Padrões de qualidade da água para hemodiálise	18
Tabela 3 - Comparação do valor máximo permitido entre as RDCs 154/2004 e 11/2014	22
Tabela 4 - Resultados insatisfatórios e satisfatórios em número absoluto e porcentagem da análise de EB em água para hemodiálise realizadas no INCQS entre 2010 e 2018.	26

LISTA DE SIGLAS

ABCDT	Associação Brasileira dos Centros de Diálise e Transplante
CBH	Contagem de Bactérias Heterotróficas
CPHD	Concentrados Polieletrólíticos para Hemodiálise
CT	Coliformes Totais
DRC	Doença Renal Crônica
DRCT	Doença Renal Crônica Terminal
EB	Endotoxina Bacteriana
EU	Unidade de Endotoxina
H+	Íons hidrogênio
IDR	Instituto de Doenças Renais
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
LAL	<i>Limulus Amebocyte Lysate</i>
LACENS	Laboratórios Centrais Brasileiros de Saúde Pública
LPS	Lipopolissacarídeo
mg	Miligrama
mL	Mililitro
OH	Íons hidroxila
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

SBN	Sociedade Brasileira de Nefrologia
STDAH	Sistema de Tratamento e Distribuição da Água para Hemodiálise
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TRS	Terapia Renal Substitutiva
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Doença Renal Crônica (DRC)	11
1.2 Hemodiálise	12
1.3 Água para hemodiálise	13
1.4 Tratamento da água para hemodiálise	14
1.5 Contaminantes da água para hemodiálise	16
1.6 Endotoxina bacteriana	19
1.7 Teste <i>In Vitro</i> Do Lisado De Amebócitos Do <i>Limulus</i> (LAL)	20
1.8 A nova rdc para água para hemodiálise	21
1.9 Justificativa	23
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Amostras	25
3.2 Pontos de coleta	25
3.3 Métodos analíticos	25
3.4 Análise dos dados	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doença Renal Crônica (DRC)

A doença renal crônica (DRC) é a alteração irreversível da função e estrutura renal. O indicador da função renal é a taxa de filtração glomerular (TFG) que é calculada através da quantidade total de fluidos filtrados através dos néfrons em funcionamento por unidade de tempo. Segundo diretrizes internacionais atuais, para ser considerada uma DRC deve haver uma diminuição da função renal onde a TFG dê um valor menor que 60mL/min por 1,73 m² com no mínimo 3 meses de duração, independentemente da causa subjacente. Quando o valor da TFG for menor que 15mL/min por 1,73m² o indivíduo apresenta o quadro de doença renal crônica terminal (DRCT) onde a função renal não é capaz de sustentar a vida a longo prazo. Nessa situação, os pacientes com DRCT devem procurar por terapias de reposição renal como a Terapia Renal Substitutiva (TRS), sendo as modalidades disponíveis: a hemodiálise, a diálise peritoneal e o transplante renal (KDIGO, 2013).

As principais doenças que levam à DRC são a diabetes e a hipertensão, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento. O diabetes é responsável por 30 a 50% de toda a DRC e afeta 285 milhões (6,4%) de adultos em todo o mundo. Estima-se que até 2030 haja um aumento de 69% em países desenvolvidos e 20% para países em desenvolvimento (WEBSTER, 2017).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 864.226 mortes foram ocasionadas pela DRC em 2012 (1,5% das mortes de todo mundo) e era a 14^a na lista das principais causas de morte (responsável por 12,2 mortes por 100.000 pessoas) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019). Uma campanha realizada na Bélgica chamada *World Kidney Day* afirma que atualmente há no mundo cerca de 850 milhões de pessoas com doença renal provocada por diferentes causas, e a DRC é responsável por cerca de 2,4 milhões de mortes por ano, sendo a sexta causa de morte que mais cresce (WORLD KIDNEY DAY, 2019).

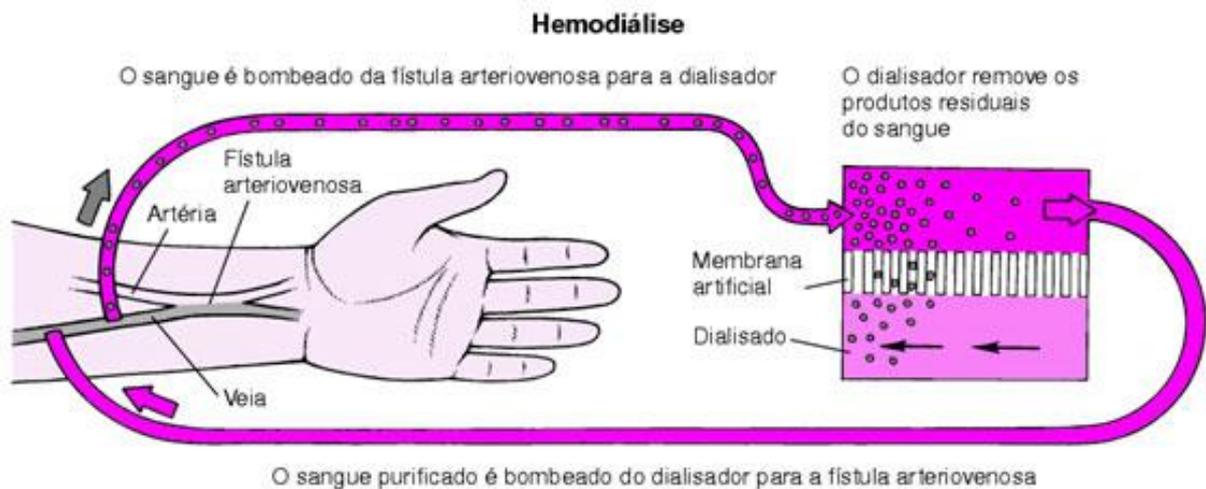
Com isso, a DRC tem recebido maior atenção nas últimas décadas dos profissionais de saúde por ser uma doença sem alternativas de melhoras rápidas, com evolução progressiva, e que causa problemas médicos, sociais e econômicos devastadores em todo o mundo (JESUS, 2019).

Como já dito, uma das alternativas para pacientes com DRC é o transplante renal, porém o número estimado de pacientes inscritos em fila de espera para transplante só tende a aumentar. No Brasil, até julho de 2016, o número de pacientes esperando por um transplante renal era de 29.268 (SESSO, 2017). Em 2017, a fila de espera aumentou para 31.266 pacientes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2018). Com isso, esses pacientes são obrigados a procurar outros métodos de TRS como a hemodiálise.

1.2 Hemodiálise

A hemodiálise é o principal tratamento para pacientes com doença renal crônica por simular a atividade renal. Esse tratamento promove a retirada das substâncias tóxicas, água e sais minerais do organismo, através de uma máquina, com o objetivo de remover os solutos urêmicos acumulados e o excesso de água, além do restabelecimento do equilíbrio eletrolítico e ácido básico. Essa máquina recebe o sangue do paciente por um acesso vascular, através de um cateter ou uma fístula, que é impulsionado por uma bomba até o filtro de diálise (dialisador). Nesse local o sangue é exposto a solução de diálise (dialisato) através de uma membrana semipermeável que retira o líquido e as toxinas em excesso e devolve o sangue filtrado para o paciente pelo acesso vascular, conforme demonstrado na Figura 1 (HIMMELFARB, 2010).

Figura 1 - Tratamento de hemodiálise



Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2019.

Segundo o Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica de 2016, o número total de unidades de diálise ativas aumentou em relação a 2015 (747 e 726, respectivamente). O número total estimado de pacientes no país em julho de 2016 foi de 122.825. Este número representa um aumento de 31,5 mil pacientes nos últimos 5 anos (91.314 em 2011). E o número estimado de pacientes que iniciaram o tratamento em 2016 no Brasil foi 39.714, correspondendo a uma taxa de incidência de 193 pacientes por milhão. Houve um aumento anual médio no número de pacientes de 6,3% nos últimos 5 anos, sendo metade desses pacientes pertencentes da região Sudeste. Também segundo esse levantamento, o Rio de Janeiro está entre os estados com o maior número de pacientes que fazem diálise (12694 pacientes) e entre os quatro estados com taxa de prevalência maior que 700 pacientes/por milhão da população (pmp) (763 pacientes/pmp) (SESSO, 2017). Segundo o diretor financeiro da Associação Brasileira dos Centros de Diálise e Transplante (ABCDT), no Rio de Janeiro, há uma fila de mais de 200 pacientes esperando por tratamento (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2018).

Geralmente, pacientes que precisam do tratamento de hemodiálise realizam esse processo em clínicas especializadas três vezes por semana com duração média de 3 a 4 horas. Para o correto funcionamento das máquinas de hemodiálise um item é indispensável, a qualidade ofertada da água para hemodiálise.

1.3 Água para hemodiálise

Durante o processo de hemodiálise a água tratada é utilizada para diluir soluções concentradas de sais conhecidas como concentrados polieletrólíticos para hemodiálise (CPHD). Os CPHDs diluídos pela máquina compõem a solução dialítica ou dialisato. Esta solução é utilizada para retirar os metabólitos produzidos pelo paciente renal crônico, filtrando o sangue como já mencionado anteriormente (HIMMELFARB, 2010). Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) de 11 de março de 2014 que “Dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e dá outras providências”, os dialisadores e as linhas arteriais podem ser reutilizados pelo mesmo paciente até 20 vezes quando utilizado o reprocessamento automático (o reprocessamento manual

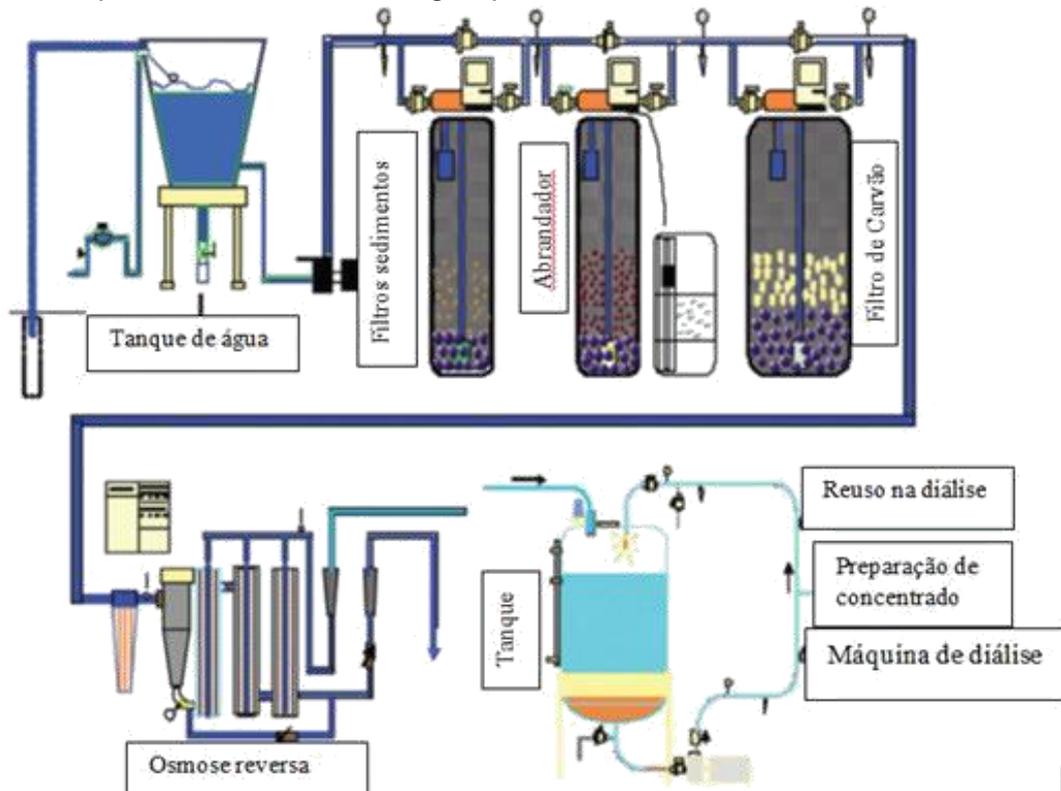
não pode ser mais realizado). Esse procedimento é conhecido como reuso e é realizado na sala de processamento de dialisadores (BRASIL, 2014).

Pacientes que utilizam o tratamento de hemodiálise recebem grandes volumes de água (entre 18.000 a 36.000 litros/ano), o que torna primordial o correto tratamento dessa água. A água para hemodiálise não tratada corretamente pode possuir diversos contaminantes químicos, bacteriológicos e tóxicos que em contato com os pacientes acarreta em efeitos adversos - como hipotensão, cefaleia, dispneia e náuseas - podendo ser letais (SILVA, 1996).

1.4 Tratamento da água para hemodiálise

Em geral, o sistema de tratamento de água para hemodiálise passa pela etapa de pré-tratamento onde são utilizados filtros mecânicos, abrandadores, filtros de carvão ativado, em seguida passando pela etapa dos deionizadores e osmose reversa (Figura 2), cuja eficiência depende da capacidade dos equipamentos, da natureza e origem geográfica da água a ser tratada, além das variações sazonais (AHMAD, 2005; BRASIL, 2014).

Figura 2 - Etapas do tratamento da água para hemodiálise



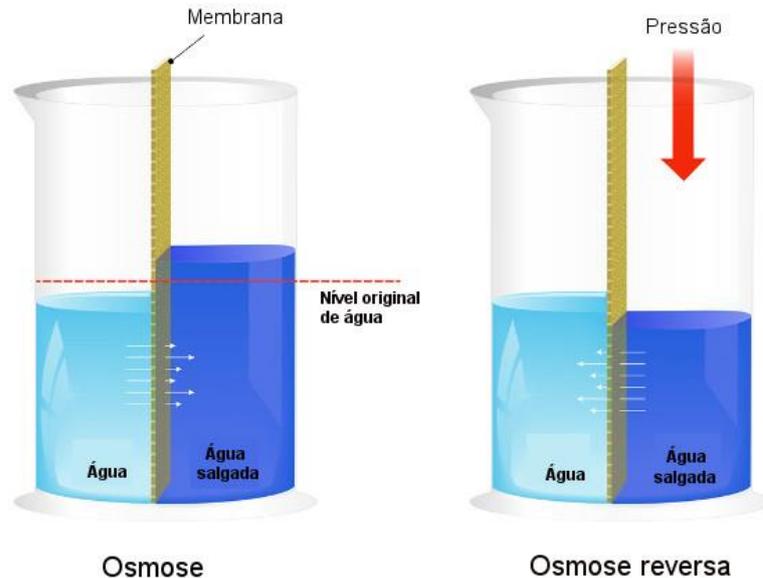
O sistema de pré-tratamento da água potável é composto por:

- Filtros mecânicos - possuem a função de remoção de partículas em suspensão;
- Abrandadores- removem o cálcio, magnésio, ferro e manganês da água (controlam a dureza da água)
- Filtros de areia e carvão ativado - adsorvem cloretos, cloroaminas e substâncias orgânicas (AHMAD, 2005; BRASIL, 2014).

Na etapa dos deionizadores há eliminação de quase todos os sais minerais, além de matérias orgânicas e partículas coloidais. Eles possuem resinas catiônicas que fixam cátions liberando íons hidrogênio (H⁺) e aniônicas que fixam ânions fortes e fracos liberando íons hidroxila (OH⁻), produzindo uma água deionizada (AHMAD, 2005; BRASIL, 2014).

O processo de osmose ocorre entre duas soluções com diferentes concentrações colocadas no mesmo recipiente e separadas por uma membrana semipermeável, onde há passagem do solvente da solução mais diluída para a mais concentrada, até que atinjam o equilíbrio (Figura 3). Na osmose reversa (utilizada na maioria das clínicas de hemodiálise) há uma aplicação mecânica de uma pressão superior à pressão osmótica (que é a diferença entre as colunas mais concentradas e mais diluídas) no lado da solução mais concentrada. Desse modo, a osmose reversa faz com que a água pura seja retirada de uma solução salina por meio de uma membrana semipermeável, desde que a solução em questão esteja em uma pressão superior a pressão osmótica relacionada a concentração salina (Figura 3). Esse tratamento proporciona uma água extremamente pura (analisando os padrões químicos, físicos e bacteriológicos) com a capacidade de reter entre 95 a 99% dos contaminantes químicos, bactérias, fungos, algas, vírus, pirogênios e materiais de alto peso molecular (AHMAD, 2005; BRASIL, 2014).

Figura 3 - Comparação entre os processos de Osmose e Osmose reversa



Fonte: BRASIL ESCOLA, 2019.

Finalmente, a água purificada denominada água para hemodiálise fica armazenada no reservatório do sistema de tratamento e distribuição da água para hemodiálise (STDAH), que deve estar de acordo com o artigo 54 da RDC nº 11/14, para então seguir para a sala de diálise e para a sala de processamento de dialisadores por meio de um circuito hidráulico (BRASIL, 2014).

1.5 Contaminantes da água para hemodiálise

Os principais contaminantes da água para hemodiálise são os contaminantes minerais; contaminantes orgânicos e contaminantes microbiológicos.

Por muito tempo a água potável foi utilizada para o tratamento de hemodiálise, porém com o crescente número de pacientes que realizavam esse procedimento e o avanço da sobrevivência dessas pessoas, foi possível correlacionar os contaminantes da água com os efeitos adversos causados por esse modo equivocado de realizar o tratamento (SILVA, 1996). Um dos episódios que transformou a história e a prática clínica da hemodiálise no Brasil foi o acidente ocorrido no Instituto de Doenças Renais (IDR) em Caruaru, Pernambuco, durante o mês de fevereiro de 1996, onde a contaminação da água utilizada para hemodiálise com microcistina (toxina de cianobactéria) levou a óbito mais de 50 pacientes dos 130 que realizavam tratamento na clínica. A escassez e o fornecimento irregular de

água na cidade fizeram com que a água utilizada fosse transportada por caminhão pipa (sem tratamento adequado) contaminada com toxina de cianobactéria. Como consequência, a maioria dos pacientes apresentaram toxemia e alguns evoluíram com coagulopatia, acometimento do sistema nervoso central e insuficiência hepática seguida por óbito (KOMÁREK, 2001).

Desde então, baseando-se em padrões dos centros mais desenvolvidos, foram estabelecidos parâmetros mais claros para o funcionamento dos Serviços de TRS. Atualmente, a Resolução que estabelece os “Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e de outras providências” é a RDC 11 de março de 2014. Nela estão definidas as características físicas e organolépticas da água potável (Tabela 1) e os padrões de qualidade da água para hemodiálise (Tabela 2) (BRASIL, 2014).

Tabela 1 - Características Físicas e organolépticas da água potável

Característica	Parâmetro aceitável	Frequência de verificação
Cor aparente	Incolor	Diária
Turvação	Ausente	Diária
Sabor	Insípido	Diária
Odor	Inodoro	Diária
Cloro residual livre	Água de rede pública maior que 0,2 mg/mL; Água de fonte alternativa maior que 0,5mg/mL	Diária
pH	6,0 a 9,5	Diária

Fonte: BRASIL, 2014.

Tabela 2 - Padrões de qualidade da água para hemodiálise

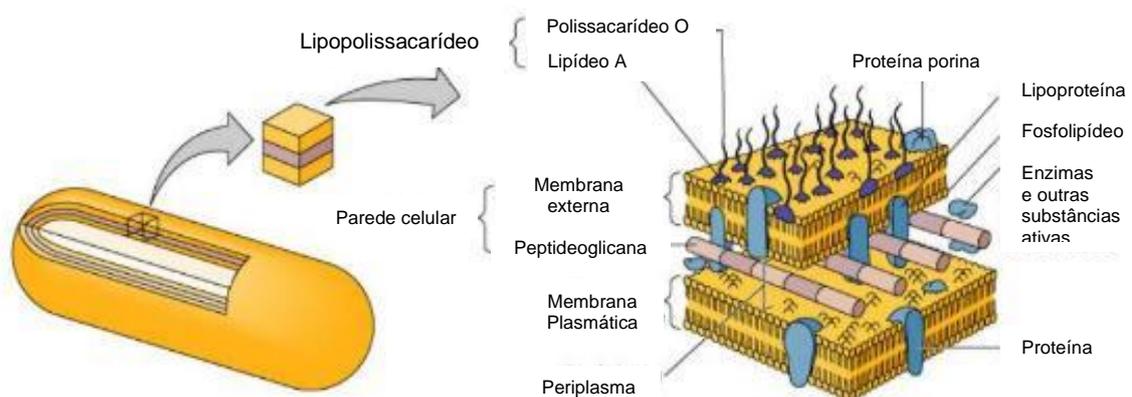
Componente	Valor máximo permitido RDC 11/2014	Frequência de análise
Coliforme Total	Ausência em 100 mL	Mensal
Contagem de bactérias Heterotróficas	100 UFC/mL	Mensal
Endotoxinas	0,25 EU/mL	Mensal
Alumínio	0,01mg/L	Semestral
Antimônio	0,006 mg/L	Semestral
Arsênio	0,005 mg/L	Semestral
Bário	0,1 mg/L	Semestral
Berílio	0,0004 mg/L	Semestral
Cádmio	0,001 mg/L	Semestral
Cálcio	2 mg/mL	Semestral
Chumbo	0,005 mg/mL	Semestral
Cloro total	0,1 mg/mL	Semestral
Cobre	0,1 mg/mL	Semestral
Cromo	0,014 mg/mL	Semestral
Fluoreto	0,2 mg/mL	Semestral
Magnésio	4 mg/mL	Semestral
Mercúrio	0,0002 mg/mL	Semestral
Nitrato	2 mg/mL	Semestral
Potássio	8 mg/mL	Semestral
Prata	0,005 mg/mL	Semestral
Selênio	0,09 mg/mL	Semestral
Sódio	70 mg/mL	Semestral
Sulfato	100 mg/mL	Semestral
Tálio	0,002 mg/mL	Semestral
Zinco	0,1 mg/mL	Semestral

Fonte: BRASIL, 2014.

1.6 Endotoxina bacteriana

Dentre os contaminantes presentes na Tabela 2 está a endotoxina bacteriana. A endotoxina é uma molécula tóxica complexa conhecida como complexo lipopolissacarídeo (LPS), o qual está presente na parede celular de bactérias gram-negativas (Figura 4) tais como *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Vibrio cholerae* e *Bordetella pertussis*. A atividade biológica da endotoxina está associada ao LPS. A toxicidade está relacionada ao componente lipídico (lipídeo A) e a imunogenicidade está relacionada ao componente polissacarídico. Os antígenos da parede celular (antígenos O) são também componentes do LPS. O LPS produz uma variedade de respostas inflamatórias em animais, ativando complementos por vias alternativas, importantes na fisiopatologia de infecções por bactérias gram-negativas. O LPS permanece associado à parede celular da bactéria até a desintegração da célula *in vivo* resultante de autólise, lise externa mediada pelo complemento e lisozima ou digestão fagocítica de células bacterianas (DULLAH, 2017).

Figura 4 - Parede celular de uma bactéria gram-negativa



Fonte: Universidade do Rio de Janeiro, 2019.

Essas moléculas são termo-resistentes e por isso são difíceis de serem eliminadas. Em contato com humanos, as endotoxinas podem causar vários efeitos biológicos, dentre eles, a febre alta como um dos primeiros sinais de toxicidade, seguida de outros sintomas específicos para cada cepa de bactéria como o choque e coagulação intravascular disseminada (DULLAH, 2017).

Com isso, tornou-se necessário o estabelecimento de limites de endotoxinas para produtos farmacêuticos e dispositivos médicos, previsto na Farmacopéia, bem como, métodos para detecção dessas endotoxinas que antecedem a etapa de distribuição dos produtos destinados para o comércio. Um desses métodos é o ensaio do LAL (*Limulus Amebocyte Lysate*) (HASHMI, 2019).

1.7 Teste *In Vitro* do Lisado de Amebócitos do *Limulus* (LAL)

O uso de LAL para a detecção de endotoxina foi descoberto quando Bang (1956) observou que a infecção com bactérias gram-negativas em caranguejo ferradura *Limulus polyphemus* tinha resultado em uma coagulação intravascular fatal. Levin (1964) demonstrou que essa coagulação era resultado da ação entre a endotoxina e uma proteína coagulável nos amebócitos circulantes do sangue de *Limulus*. Solum (1972) e Young (1972) prepararam um lisado do lavado de amebócitos, que foi um indicador extremamente sensível da presença de endotoxina, purificaram e caracterizaram a proteína coagulável como LAL e mostraram que a reação com a endotoxina é enzimática.

Um dos métodos para detecção de endotoxina bacteriana pelo ensaio LAL é o método de Gel-Clot ou gelificação. O ensaio LAL pelo método de Gel-Clot se baseia na presença ou ausência de um coágulo de gel no tubo de amostra. A gelificação ocorre quando as proteínas são coaguladas devido a presença de endotoxinas. Um critério utilizado no método de gelificação é girar o tubo de ensaio em 180° e verificar se o gel permanece intacto. O método Gel-Clot pode ser usado de forma qualitativa, produzindo resultados positivos ou negativos (HASHMI, 2019).

1.8 A nova RDC para água para hemodiálise

Desde 1999, o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) desenvolve um programa de monitoramento da qualidade da água utilizada em unidades de tratamento para hemodiálise em parceria com órgãos de Vigilância Sanitária do Estado e Município do Rio de Janeiro. Este programa tornou-se referência para a capacitação dos Laboratórios Centrais Brasileiros de Saúde Pública (LACENS) para análise da qualidade da água tratada para hemodiálise. Anualmente são analisadas uma média de 73 amostras provenientes das 100 clínicas existentes no município do Rio de Janeiro, obedecendo os critérios estabelecidos nas resoluções em vigor (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2019).

Até 2014, a resolução em vigor para os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise era a RDC nº 154/2004, que estabelecia, desde sua primeira publicação em 2004, a concentração de endotoxina ≤ 2 EU/mL na água era considerada satisfatória para o seu uso em diálise (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004). No ano 2011 na Farmacopeia Americana (USP, 34^o edição), a concentração preconizada de endotoxina passou de 2 EU/mL para 1 EU/mL (USP, 2011) e a Farmacopeia Europeia possui um limite de concentração de endotoxina ainda menor, de 0,25 EU/mL (Tabela 3) (THE EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2011). Porém, no Brasil não houve mudanças nesses critérios.

Somente em 2014, entrou em vigor a Resolução de 11 de março de 2014 onde houve uma diminuição da concentração máxima de endotoxina presente na água para hemodiálise de 2 EU/mL para 0,25 EU/mL (BRASIL, 2014).

Tabela 3 - Comparação do valor máximo de contaminantes permitidos entre a RDCs 154/2004 e 11/2014

Componente	Valor máximo permitido RDC 154/2004	Valor máximo permitido RDC 11/2014
Coliforme Total	Ausência em 100 mL	Ausência em 100 ml
Contagem de bactérias Heterotróficas	200 UFC/mL	100 UFC/mL
Endotoxinas	2 EU/mL	0,25 EU/mL
Alumínio	0,01mg/L	0,01mg/L
Antimônio	0,006 mg/L	0,006 mg/L
Arsênio	0,005 mg/L	0,005 mg/L
Bário	0,1 mg/L	0,1 mg/L
Berílio	0,0004 mg/L	0,0004 mg/L
Cádmio	0,001 mg/L	0,001 mg/L
Cálcio	2 mg/mL	2 mg/mL
Chumbo	0,005 mg/mL	0,005 mg/mL
Cloro total	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Cobre	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Cromo	0,014 mg/mL	0,014 mg/mL
Fluoreto	0,2 mg/mL	0,2 mg/mL
Magnésio	4 mg/mL	4 mg/mL
Merúrio	0,0002 mg/mL	0,0002 mg/mL
Nitrato (N)	2 mg/mL	2 mg/mL
Potássio	8 mg/mL	8 mg/mL
Prata	0,005 mg/mL	0,005 mg/mL
Selênio	0,09 mg/mL	0,09 mg/mL
Sódio	70 mg/mL	70 mg/mL
Sulfato	100 mg/mL	100 mg/mL
Tálio	0,002 mg/mL	0,002 mg/mL
Zinco	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL

Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; BRASIL 2014.

1.9 Justificativa

O padrão da água de hemodiálise tratada nos serviços de diálise impacta diretamente na segurança dos pacientes em tratamento. Com o aumento do número de pacientes dependentes da TRS no Brasil, sendo o Rio de Janeiro um dos estados com o maior número de pessoas que realizam esse tratamento e considerando que cada paciente em tratamento é exposto indiretamente a um grande volume de água no tratamento de hemodiálise por ano, torna-se necessário uma fiscalização rigorosa para o cumprimento do correto tratamento dessa água. Como já dito, a água de hemodiálise pode possuir vários contaminantes que no organismo dos pacientes causam danos à saúde e podem levar a morte, sendo um desses contaminantes a endotoxina bacteriana.

A resolução que determinava o máximo permitido de endotoxina em água para hemodiálise era a RDC 154/2006 e permitia uma concentração de 2 EU/mL. Com a nova RDC 11/2014 esse valor diminuiu para 0,25 EU/mL, ou seja, aproximadamente 10 vezes menos. Com isso, é crucial verificar se as clínicas e hospitais que prestam o serviço de hemodiálise estão cumprindo com novo limite estabelecido, para verificar se os pacientes em tratamento de diálise, no Estado do Rio de Janeiro, estão recebendo um tratamento seguro e confiável.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o impacto da RDC nº 11/2014 sobre os resultados das análises de endotoxinas bacterianas em água para hemodiálise e verificar se as clínicas e hospitais situados no Estado do Rio de Janeiro, que oferecem o serviço de hemodiálise, estão cumprindo com o novo limite máximo permitido.

2.1 Objetivos específicos

- Verificar todos os resultados da análise de LAL em amostras de água para hemodiálise (pontos de pós-osmose e reuso - de análise fiscal) do ano de 2010 até o ano de 2018 no banco de dados HARPYA;
- Analisar nesse período de 9 anos qual a ocorrência de resultados insatisfatórios antes e depois da RDC nº 11/2014;
- Verificar a quantidade de análises realizadas nesse período no Laboratório de Ensaio de Endotoxina Bacteriana do INCQS.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

Foram utilizadas as informações disponíveis no Sistema Harpya 2.0.2015 que é um Software para gerenciamento de amostras laboratoriais relativas à vigilância sanitária. Os dados coletados foram resultados de análise fiscal de EB em água para hemodiálise realizadas no Laboratório de Ensaio de Endotoxina Bacteriana do INCQS/FIOCRUZ;

3.2 Pontos de coleta

As amostras analisadas foram coletadas nos pontos de reuso e pós-osmose de clínicas e hospitais do Rio de Janeiro obedecendo a Resolução RDC nº 154/2004 e nº 11/2014, obtidos entre setembro de 2010 até setembro de 2018.

3.3 Métodos analíticos

Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Ensaio de Endotoxina Bacteriana do INCQS/FIOCRUZ através do programa de monitoramento da qualidade da água utilizada em unidades de tratamento para hemodiálise do Rio de Janeiro, seguindo os critérios estabelecidos na Farmacopeia Brasileira (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019). Foi utilizado pelo laboratório o ensaio de *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL) – método de coagulação em gel (Gel-clot);

3.4 Análise dos dados

Os dados obtidos foram analisados no programa Excel 2013.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados analisados, obtidos como descrito na metodologia, totalizaram 658 amostras para análise de EB. Como pode ser observado na Tabela 4, o número percentual de amostras insatisfatórias para o ensaio de EB, de 2010 a 2013, não ultrapassou valores superiores a 20%. Em 2014, durante a transição entre as RDCs nº 154/2004 e nº 11/2014 ocorreu um aumento no número de amostras com resultado insatisfatório (50% de amostras insatisfatórias). O fato de a nova resolução ser mais rigorosa quanto aos valores máximos permitidos, diminuindo o valor máximo permitido de 2 EU/mL para 0,25 EU/mL, pode ter sido determinante para essa ocorrência.

Tabela 4 - Resultados insatisfatórios e satisfatórios em número absoluto e porcentagem da análise de EB em água para hemodiálise realizadas no INCQS entre 2010 e 2018.

Ano	Número absoluto			Porcentagem (%)		
	Insatisfatório	Satisfatório	TOTAL	Insatisfatório	Satisfatório	TOTAL
2010	0	37	37	0	100	100
2011	38	157	195	19	81	100
2012	16	105	121	13	87	100
2013	5	52	57	9	91	100
2014A	20	18	38	53	47	100
2014D	4	6	10	40	60	100
2015	15	41	56	27	73	100
2016	12	37	49	24	76	100
2017	16	45	61	26	74	100
2018	2	32	34	6	94	100

O ano de 2014 foi dividido em dois: 2014A – antes da RDC nº11/2014 e 2014D – depois da RDC nº11/2014.

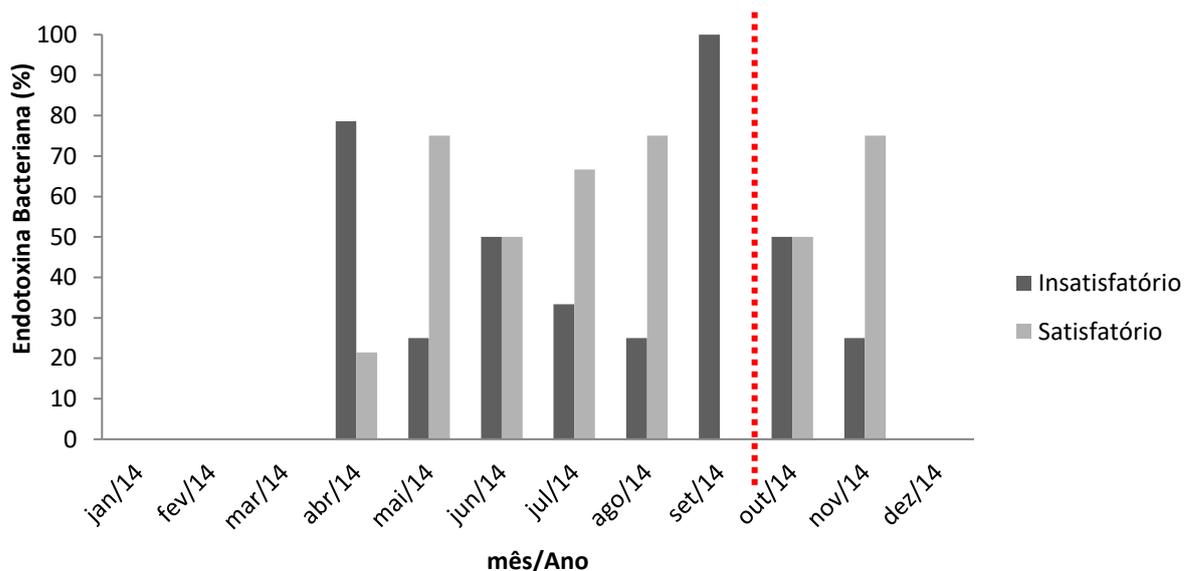
Fonte: Da autora, 2019.

Também pode ser observado na Tabela 4 que o número total de amostras analisadas nos anos 2011 e 2012 foi superior aos demais anos. A maior quantidade de amostra total analisada desses anos foi decorrente de uma alteração da captação da água para hemodiálise realizada pelo INCQS. A partir de 2013 apenas a água para hemodiálise de clínicas e hospitais cadastradas na cidade do Rio de Janeiro foram analisadas pelo Instituto, diferente dos anos anteriores em que eram captadas amostras de todo o estado. A partir dessa data, a responsabilidade do

monitoramento das clínicas de diálise passou para os LACENS mais próximos de cada município, no intuito de reduzir a sobrecarga e melhorar a resposta do serviço prestado (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2013; INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2019).

Analisando mensalmente o ano de 2014 (ano em que houve a mudança na resolução - figura 5), é possível observar que até o mês de setembro (data limite para que os serviços de hemodiálise pudessem se adequar aos novos valores da RDC nº 11/2014 - tracejado vermelho) a porcentagem média de resultados insatisfatórios foi de 53% e após essa data passou para 40%.

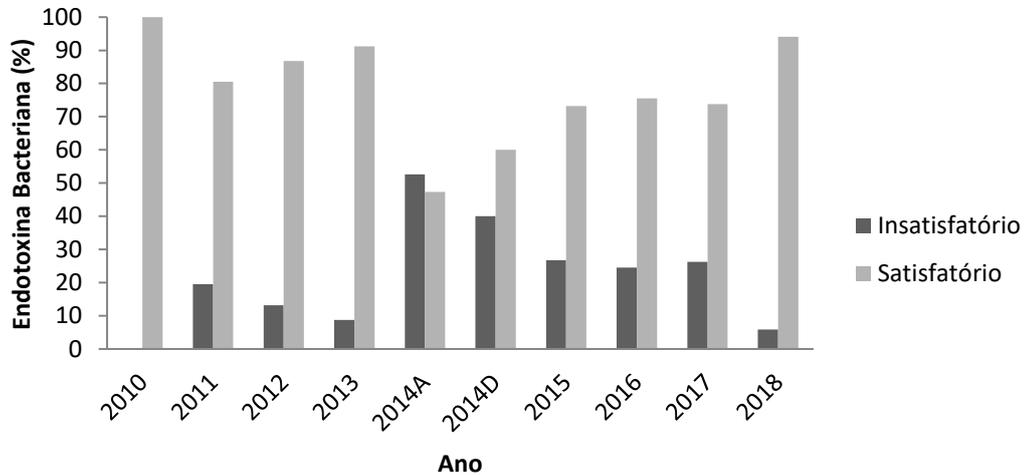
Figura 5 - Análise da porcentagem de resultados insatisfatórios e insatisfatórios do ano de 2014.



Fonte: Da autora, 2019.

Nos anos subsequentes de 2014, a contar dos seis meses após a adequação de todos os serviços de saúde frente à vigência da RDC nº 11/2014 (Figura 6), observa-se que o percentual de amostras insatisfatórias apresentou considerável aumento, no entanto, decaindo fortemente no ano de 2018, com apenas 6% de insatisfatoriedade.

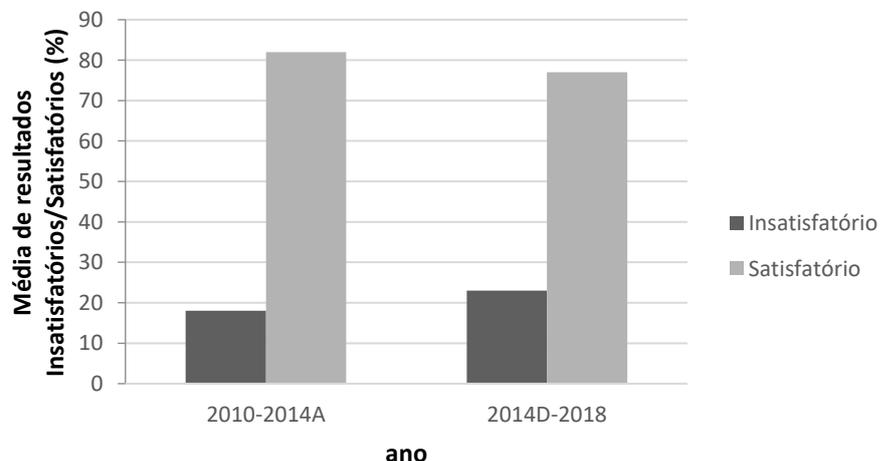
Figura 6 - Análise da porcentagem média dos resultados da análise de Endotoxina Bacteriana dos anos 2010 a 2018. O ano de 2014 foi dividido em dois: 2014A – antes da RDC nº11/2014 e 2014D – depois da RDC nº11/2014.



Fonte: Da autora, 2019.

Além disso, observamos que os resultados insatisfatórios da análise de EB apresentaram uma porcentagem maior depois de outubro de 2014, com 23%, do que antes, que foi de 18% (Figura 7). Esse aumento considerável de amostras insatisfatórias nos anos de 2014 até 2017, comparado aos resultados apresentados nos anos anteriores justifica a tomada de decisão frente às secretarias de vigilância sanitária do Rio de Janeiro, que levaram a ações corretivas culminando em 2018 numa redução de amostras insatisfatórias, o menor número dentro do período analisado.

Figura 7 - Análise da porcentagem média dos resultados de análise de Endotoxina Bacteriana do ano de 2010 a 2014A e de 2014D a 2018. O ano de 2014 foi dividido em dois: 2014A – antes da RDC nº11/2014 e 2014D – depois da RDC nº11/2014.



Fonte: Da autora, 2019.

O aumento da porcentagem de resultados insatisfatórios de água para hemodiálise depois do ano de 2014 mostra uma piora na qualidade da água após a adoção da nova RDC (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; BRASIL 2014). Esse resultado não é exclusivo do Estado do Rio de Janeiro, um estudo realizado na cidade de São Paulo pelo Instituto Adolfo Lutz mostrou que os resultados insatisfatórios do ensaio de EB em água para hemodiálise dos anos 2015-2016 foram maiores quando comparados aos resultados de 2010-2013. Segundo os autores esse aumento de resultados insatisfatórios se deve a RDC nº 11/2014 e a uma crise hídrica no estado entre 2014 e 2015 (ALMODOVAR, 2018). Além disso, o estudo também afirma que o aumento do rigor na qualidade da água de hemodiálise exigiu mudanças no tratamento e distribuição da água pelas clínicas e hospitais que oferecem o serviço de hemodiálise, o que demandou tempo e investimento.

Mesmo com as eventualidades, o valor máximo permitido de EB mais rigoroso deve ser visto como uma melhora na qualidade de vida dos pacientes em tratamento. Um estudo feito por um grupo do Japão, onde a qualidade da água para hemodiálise é considerada como uma das melhores do mundo, mostrou que valores ≥ 1 EU/mL de EB em água para hemodiálise causou um aumento de 28% no risco total de morte quando comparado com valores $< 0,001$ EU/mL (água considerada ultrapura para EB). No Japão, o valor máximo permitido de EB em água para hemodiálise é $< 0,05$ EU/mL um valor ainda menor quando comparado com outros países como Estados Unidos (< 1 EU/mL), União Europeia ($< 0,25$ EU/mL) e o próprio Brasil ($< 0,25$ EU/mL) (HASEGAWA, 2015).

Os dados desse estudo mostram que embora tenha ocorrido um aumento na incidência de resultados insatisfatórios para EB no período entre 2015-2017, o ano de 2018 foi acompanhado de uma redução desse número. Mudanças realizadas pelas secretarias estadual e municipal do Rio de Janeiro, com alterações nas políticas de ações corretivas, como por exemplo, no mínimo duas visitas anuais de fiscalização aos serviços de hemodiálise, contribuíram para essa redução. Essas ações estabelecidas para adequar o sistema de tratamento e distribuição da água nas clínicas e hospitais, a fim de garantir a qualidade e segurança do tratamento dialítico, se mostraram bastante eficazes. Isso pode ser verificado na redução da porcentagem de resultados insatisfatórios no ano de 2018. Além disso, nosso grupo

também analisou outros microrganismos na água para hemodiálise em outro trabalho. Foi analisado Coliformes Totais (CT) e Contagem de Bactérias Heterotróficas (CBH) nos mesmos locais em que foram analisadas Endotoxinas Bacterianas. Foram verificadas reduções na porcentagem de CT para 17% no período de 2015-2018 comparado ao período de 2010-2013 (21%) e a detecção de CBH reduziu para 16% após a nova resolução quando comparado com anos anteriores (21%).

Esses resultados salientam a importância do trabalho realizado pelo programa de monitoramento, com ações conjuntas entre os órgãos do Sistema de Vigilância Sanitária. Tendo em vista que nos primeiros anos de vigência este programa tornou-se referência para a capacitação dos LACENS na análise da qualidade da água tratada para hemodiálise, isso porque no início do programa (1999) o índice de resultados insatisfatórios chegava a 60%, porém com o andamento do programa (2006) esse índice não passou de 7% (INCQS,2019).

5 CONCLUSÃO

Esse estudo mostra que mesmo apresentando um aumento de resultados insatisfatórios para EB após 2014, as clínicas e hospitais que prestam serviço de hemodiálise realizaram ações sanitárias e adequações do sistema de tratamento que resultaram na diminuição dos resultados insatisfatórios de EB no ano de 2018. Esses resultados fortalecem a importância desse monitoramento da água para hemodiálise realizado pelo INCQS, pois é um modo de aumentar a eficácia dos sistemas de tratamento e distribuição da água, garantindo a qualidade da mesma a fim de prevenir riscos a população da cidade do Rio de Janeiro que necessitam do tratamento de hemodiálise.

REFERÊNCIAS

- AHMAD S. Essentials of water treatment in hemodialysis. **Hemodial Int**, USA, v. 9, n. 2, p. 127-34, apr. 2005.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília, 2019. v. 1.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução nº 154, de 15 de junho de 2004. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos Serviços de Diálise. **Diário Oficial da União**, Brasília, 15 jun. 2004.
- ALMODOVAR, A. A. B. *et al.* Efetividade do programa de monitoramento da qualidade da água tratada para diálise no estado de São Paulo. **Braz. J. Nephrol**, São Paulo, v.40, n. 4, p. 344-350, mai. 2018.
- BANG, F. B. A bacterial disease of *Limulus polyphemus*. **Bull Johns Hopkins Hosp**, v. 98, n. 5, p. 325-351, may 1956
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). **Manual prático de análise de água**. 4. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 150 p. 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução 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 União**, Brasília, 14 mar. 2014.
- BRASIL ESCOLA. **Osmose**. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/osmose.htm>. Acesso em: 25 nov. 2019.
- DULLAH EC, ONGKUDON CM. Current trends in endotoxin detection and analysis of endotoxin-protein interactions. **Crit Rev Biotechnol**, Sabah, v. 37, n. 2, p. 251-261, mar. 2017.
- HASEGAWA, T. *et al.* Dialysis fluid endotoxin level and mortality in maintenance hemodialysis: a nationwide cohort study. **Am J Kidney Dis**, Japão, v. 65, n. 6, p. 899-904, jun. 2015.
- HASHMI, F.; THAKUR, A. Bacterial Endotoxin Test by Gel-Clot Method. **Inter Jour of Trend in Scien Resea and Develop.**, India, v. 3, n. 3, p. 564-567, mar. 2019.
- HIMMELFARB, J.; IKIZLER, T. A. Hemodialysis. **N Engl J Med**. USA, v. 363, p. 1833-45, nov. 2010.
- INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE (Brasil). GT/AID - Grupo Técnico de Artigos e Insumos para Diálise. Disponível em: https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=82&Itemid=86. Acesso em: 17 jul. 2019.

JESUS, M. N. *et al.* Qualidade de vida de indivíduos com doença renal crônica em tratamento dialítico. **J. Bras. Nefrol.** São Paulo, v. 41, n. 3, p. 364-374, jan. 2019.

KDIGO. Kidney Disease: Improving Global Outcomes. KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney Int Suppl**, v. 3, n. 1, p. 136-150, jan. 2013.

KOMÁREK, J. *et al.* Background of the Caruaru tragedy: a case taxonomic study of toxic cyanobacteria. **Arch. Hydrobiol. Suppl. Algol. Stud.** Czech Republic, v. 103, p. 9-29, dec. 2001.

LEVIN, J.; BANG, F. B. A description of cellular coagulation in the *Limulus Polyphemus*. **Bull Johns Hopkins Hosp.**, v. 115, p. 337-345, oct. 1964.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Mortality and global health estimates: Causes of death; Projections for 2015–2030; Projection of death rates. Disponível em: <http://apps.who.int/gho/data/node.main.PROJRATEWORLD?lang=en>. Acesso em: 11 jul. 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Censo 2017. **SBN informa**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 114, p. 1-28, Jun. 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Hemodiálise**. Rio de Janeiro. Disponível em: <https://sbn.org.br/publico/tratamentos/hemodialise/>. Acesso em: 25 nov. 2019.

SESSO, R. C. *et al.* Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016. **J Bras Nefrol.**, v. 39, n. 3, p. 261-266, maio 2017.

SILVA, A. M. M. *et al.* Revisão/Atualização em Diálise: Água para hemodiálise. **J Bras Nefrol**, v. 18, n. 2, p. 180-8. 1996.

SILVA, O. M. **Dialisador capilar reutilizado e de uso único em hemodiálise: implicações na saúde dos profissionais, em desfechos clínicos e custos.** 2016. 141f. Tese (Doutorado em Enfermagem) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2016.

SOLUM, N. The coagulation of *Limulus Polyphemus* hemocytes – a comparison of the clotted and non-clotted forms of the molecule. **Thromb. Res**, USA, v. 2, p. 55-70, dec. 1972.

THE EUROPEAN Pharmacopeia. 7th. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2011.

THE UNITED States Pharmacopeia. 34th. ed. National Formulary 29. Rockville: U.S. Pharmacopeia. 2011. p. 786-787.

UNIVERSIDADE DO RIO DE JANEIRO. **Citologia Bacteriana**. Disponível em: <http://www.unirio.br/dmp/nutricao-integral/aulas-teoricas/3-%20Citologia%20Bacteriana%2001-2019.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2019.

YOUNG, N.S.; LEVIN, J.; PRENDERGAST, R. A. An invertebrate coagulation system activated by endotoxin: Evidence for enzymatic mediation. **J. Clin. Invest**, USA, v. 51, p. 1790-1797, jul. 1972.

WEBSTER, A. C. *et al.* Chronic Kidney Disease. **Lancet**, Australia, v. 389, n. 10075, p. 1238-1252, mar. 2017.

WORLD KIDNEY DAY. **Kidney health for everyone everywhere**. Disponível em: <https://www.worldkidneyday.org/2019-campaign/2019-wkd-theme/>. Acesso em: 25 jul. 2019.