

***Pseudomonas aeruginosa*: ocorrência e suscetibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados de amostras de água tratada utilizada em solução de diálise**

Pseudomonas aeruginosa: the occurrence and the antimicrobial susceptibility of bacteria isolates from treated water samples utilized for preparing dialysis solution

RIALA6/1410

Jacqueline Tanury Macruz PERESI*, Ivete Aparecida Zago Castanheira de ALMEIDA, Inara Siqueira de Carvalho TEIXEIRA, Sonia Izaura de Lima e SILVA, Elisabete Cardiga ALVES, Denise Fusco MARQUES, Aparecida Klai RIBEIRO

*Endereço para correspondência: Centro de Laboratório Regional de São José do Rio Preto – X, Instituto Adolfo Lutz, Rua Alberto Sufredine Bertoni n°. 2325 – São José do Rio Preto – SP – CEP. 15060-020, e-mail: jtmperesi@ial.sp.gov.br, Tel: 17- 32242602
Recebido 11.10.2011 – Aceito para publicação 20.12.2011

RESUMO

A pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* foi realizada em amostras de água tratada utilizada na solução de diálise de oito Unidades de Terapia Renal Substitutiva (UTRS) em quatro municípios do noroeste do estado de São Paulo e o perfil de resistência aos agentes antimicrobianos das cepas isoladas foi avaliado por teste de sensibilidade (TSA). Entre 2000 e 2009 foram analisadas 508 amostras seguindo-se a metodologia descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005) e 43 (8,5%) evidenciaram contaminação por *P. aeruginosa*. Dessas amostras, 55,8%, 23,3% e 20,9% foram, respectivamente, oriundas da sala branca, ponto de pós-osmose/deionizador e sala amarela das diferentes UTRS. A frequência de isolamento da bactéria foi maior em amostras da UTRS A (53,5%) e em 2004 houve a detecção de maior número de amostras contaminadas (16,7%). Dos 43 isolados, 38 foram analisados pelo TSA, sendo identificadas resistência intermediária a gentamicina em um (2,6%) e resistência a aztreonam e ticarcilina/ácido clavulânico em outro isolado (2,6%). Pelas implicações da *P. aeruginosa* em saúde pública, sua investigação no monitoramento de qualidade da água para diálise constitui medida necessária e sua ocorrência indica as possíveis deficiências no controle da rede de distribuição da água. **Palavras-chave.** *Pseudomonas aeruginosa*, água tratada para solução de diálise, resistência bacteriana, contaminação bacteriana.

ABSTRACT

This study reports the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in samples of treated water used in the dialysis solution in eight Renal Replacement Therapy Units in four cities of the northwest region of São Paulo state; and the isolated strains were analyzed on the resistance profile by antimicrobial susceptibility testing. From 2000 to 2009, 508 samples were analyzed following Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005). *P. aeruginosa* was isolated from 43 (8.5%) samples, and 55.8, 23.3 and 20.9% of them were from white room, post-osmosis/deionizer point and yellow room of different units, respectively. The A Unit water samples have showed the highest bacterium isolation frequency (53.5%); and the detection of the highest number of contaminated samples (16.7%) occurred in 2004. Of all the 43 isolates, 38 were submitted to the antimicrobial susceptibility testing; an intermediate resistance to gentamicin in one sample (2.6%) and resistance to aztreonam and ticarcillin / clavulanic acid in another (2.6%) were identified. Considering the implications of *P. aeruginosa* to the public health, this survey of bacterium should be included in monitoring water quality for hemodialysis and this procedure might be an indicator for evidencing deficiencies on the water distribution network control. **Keywords.** *Pseudomonas aeruginosa*, treated water for dialysis solution, bacterial resistance, bacterial contamination.

INTRODUÇÃO

O censo realizado em 2010 pela Sociedade Brasileira de Nefrologia estimou o total de 92.091 pacientes em tratamento dialítico no país¹. Trata-se de um meio artificial de remover do sangue as impurezas, corrigir o equilíbrio ácido-básico e os distúrbios eletrolíticos do paciente renal crônico.

Os pacientes no tratamento regular de hemodiálise são expostos, semanalmente, a centenas de litros de água de diálise por meio de circulação extra corporal². Se a água não for corretamente tratada, vários contaminantes químicos, bacteriológicos e tóxicos poderão ser transferidos para os pacientes³.

A ocorrência de reações pirogênicas e bacteremia são consequências potenciais da má qualidade microbiológica da água tratada para a preparação do dialisato e para o reprocessamento dos dializadores (reuso)⁴. Diversos fatores favorecem a multiplicação bacteriana nos sistemas do tratamento da água para hemodiálise, incluindo filtro de areia e de carbono ou componentes do sistema com baixa circulação, como os tanques e as torneiras⁵. A formação de biofilme facilita a persistência bacteriana em pontos diferentes do sistema, protege as bactérias da desinfecção e aumenta o risco de contaminação e os níveis de endotoxina na água⁶.

Alguns estudos observaram uma relação direta entre a ocorrência de casos de bacteremia causados por bactérias Gram negativas e o isolamento desses micro-organismos a partir da água purificada, possivelmente devido a falhas na integridade da membrana ou a utilização de água contaminada no reprocessamento dos dializadores⁷⁻⁹, sendo *Pseudomonas aeruginosa*, frequentemente, associada a estas ocorrências¹⁰⁻¹³. Sua capacidade de sobrevivência neste meio pode ser explicada pelas suas poucas necessidades nutricionais e tolerância à variação de condições físicas. Um exemplo disso é a sua capacidade de proliferação em água destilada e em águas minerais¹⁴.

P. aeruginosa é um dos principais agentes de infecção em indivíduos imunodeprimidos, raramente afetando indivíduos saudáveis. Portanto, sua patogênese deve ser discutida no contexto de uma infecção oportunista, sendo necessária a existência de quebra de barreiras ou de defeitos específicos de alguns dos mecanismos de defesa imunológica¹⁵. Sua importância clínica está baseada na difícil erradicação da infecção e contínuos fracassos terapêuticos, consequência direta da ampla expressão de

fatores de virulência, assim como a resistência natural e adquirida a muitos antibióticos e desinfetantes¹⁴.

O objetivo deste estudo foi relatar a presença de *P. aeruginosa* em amostras de água tratada utilizadas na solução de diálise em Unidades de Terapia Renal Substitutiva (UTRS) localizadas em quatro municípios da região noroeste do estado de São Paulo, e analisar o perfil de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos das cepas isoladas.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de 2000 a 2009, foram analisadas 508 amostras de água tratada para solução de diálise de oito UTRS pertencentes aos municípios de São José do Rio Preto, Catanduva, Votuporanga e Fernandópolis. As coletas foram realizadas pelos respectivos órgãos municipais de Vigilância Sanitária (VISA) e pelo Grupo de Vigilância Sanitária de São José do Rio Preto-SP (GVS XXIX) obedecendo, inicialmente, a uma programação instituída pelo Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz - São José do Rio Preto - X (CRL-IAL-SJRP-X) e VISA de São José do Rio Preto estendendo, posteriormente, por meio do Programa Estadual de Monitoramento da Água Tratada para Hemodiálise do Estado de São Paulo, aos demais municípios da região.

As coletas das amostras de água ocorreram em pontos de pós-tratamento e/ou na rede de distribuição das UTRS localizadas nas salas brancas e/ou amarelas, ressaltando que não foram realizadas coletas simultâneas nos três pontos citados.

As amostras coletadas foram encaminhadas ao CRL-IAL-SJRP-X e submetidas à pesquisa dos parâmetros previstos na legislação vigente¹⁶ (bactérias do grupo coliforme e bactérias heterotróficas), além da pesquisa de *P. aeruginosa* (parâmetro não previsto) de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005)¹⁷. Os isolados de *P. aeruginosa* foram identificados segundo o critério apresentado pelo *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2005)¹⁸.

Do total de cepas confirmadas como *P. aeruginosa*, 38 (88,4%) foram submetidas ao teste de disco-difusão (método de Kirby e Bauer)¹⁹ frente aos seguintes antimicrobianos: ceftazidima (30 µg), gentamicina (10 µg), tobramicina (10 µg), piperacilina-tazobactam (100/10 µg), amicacina (30 µg), aztreonam (30 µg), cefepime (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), levofloxacina (5 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), ticarcilina-ácido clavulânico

(75/10 µg). A leitura e interpretação dos resultados foram realizadas de acordo com o *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011)²⁰.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil, após o acidente em Caruaru (PE) ocorrido em 1996, onde 52 pacientes em terapia renal foram a óbito pela contaminação da água utilizada para hemodiálise por toxinas de cianobactérias, o Ministério da Saúde estabeleceu normas de funcionamento a serem cumpridas pelas Unidades de Diálise, por meio da Portaria GM/MS nº 2042 (1996) e atualmente regulamentada pela Resolução RDC nº 154 de 15/06/2004 da ANVISA, republicada em 31/05/2006, sendo posteriormente modificada em 14/02/2011 pela Resolução RDC ANVISA nº 6²¹. Nesta Resolução, inclui-se também, o controle da qualidade da água tratada utilizada na preparação da solução de diálise, um dos principais veiculadores microbianos no sistema de diálise devendo assim, ser rigorosamente monitorada, no intuito de prevenção de complicações para os pacientes.

Ressalta-se que, nas normas citadas não foi incluída a pesquisa de *P. aeruginosa*, lembrando que o gênero bacteriano mais frequentemente isolado em águas tratadas para diálise, solução dialisadora e dialisato tem sido *Pseudomonas*^{3,10,22} e que sua presença está relacionada à ocorrência de endotoxinas bacterianas e à possibilidade de formação de biofilmes²³, representando, portanto, riscos à saúde dos pacientes que necessitam do tratamento.

Os resultados deste estudo revelaram que no período de 2000 a 2009, 43 (8,5%) das 508 amostras de água de diálise analisadas apresentaram-se contaminadas por *P. aeruginosa*. A distribuição destas amostras, por UTRS, encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição, por UTRS, do total de amostras analisadas e de amostras contaminadas por *P. aeruginosa*

UTRS	Analisadas	Total de amostras	
		Contaminadas por <i>P. aeruginosa</i>	
		Nº.	%
A	150	25	16,7
B	130	10	7,7
C	71	3	5,5
D	142	3	2,1
E	4	1	25,0
F	3	1	33,3
G	5	0	0
H	3	0	0
Total	508	43	8,5

O índice de detecção de *P. aeruginosa*, neste estudo, foi menor do que o encontrado por Montanari et al.²⁴, que isolaram este agente em 25 (28,4%) das 88 amostras de água coletadas após tratamento de osmose reversa em uma UTRS no interior do estado de São Paulo, no período de 2004 a 2006. Simões e Pires²⁵ em estudo de duas UTRS do município de Campinas isolaram *P. aeruginosa* em 19 (9,5%) das 200 amostras analisadas, sendo que destas, 15,8% foram isoladas de água tratada não adicionada de sais. Reis et al.²⁶ isolaram *P. aeruginosa* em 19 (14,1%) das 135 amostras de água de diferentes pontos das UTRS da rede pública e privada do Distrito Federal. Ferreira²⁷ isolou 56 cepas de *P. aeruginosa* de amostras de água provenientes de clínicas de diálise do estado do Rio de Janeiro no período de 2004-2008.

Apesar das UTRS A, B e D apresentarem números aproximados de amostras analisadas, houve significativa diferença de qualidade da água quanto à presença de *P. aeruginosa*, sendo a unidade A, aquela que apresentou o maior percentual de amostras contaminadas (16,7%), contrastando com a unidade D, que teve 2,1% de positividade. A detecção deste micro-organismo é de grande importância em saúde pública tendo em vista sua capacidade de sobrevivência, a frequente multirresistência aos agentes antimicrobianos e a implicação em reações pirogênicas e em surtos de bacteremia.

Do total de amostras com contaminação por *P. aeruginosa*, 27 (62,8%) apresentaram-se satisfatórias, segundo a legislação vigente, quanto à contagem de bactérias heterotróficas (CBH), ou seja, menor ou igual a 200 UFC/mL e 16 (37,2%) apresentaram-se insatisfatórias (acima de 200 UFC/mL), cuja variação encontrada foi de $2,1 \times 10^2$ a $3,2 \times 10^4$ UFC/mL, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Nível de contaminação, por bactérias heterotróficas, das amostras de água de diálise com presença de *P. aeruginosa*

Nível de contaminação por bactérias heterotróficas (UFC/mL)	UTRS						Total	
	A	B	C	D	E	F	Nº.	%
0 a $2,0 \times 10^2$	15	9	0	2	1	0	27	62,8
$2,1 \times 10^2$ a $9,9 \times 10^2$	5	1	1	1	0	1	9	20,9
$1,0 \times 10^3$ a $9,9 \times 10^3$	4	0	2	0	0	0	6	14,0
$1,0 \times 10^4$ a $3,2 \times 10^4$	1	0	0	0	0	0	1	2,3
Total	25	10	3	3	1	1	43	100

De acordo com a Resolução RDC 154 da ANVISA, a contagem de bactérias heterotróficas constitui parâmetro microbiológico de avaliação da qualidade da água de diálise permitindo dimensionar a população bacteriana e indicar

suas condições higiênicas. Destacando-se a UTRS A que apresentou o maior número de isolamento de *P. aeruginosa*, verifica-se que 40,0% das amostras encontravam-se fora do padrão legal para CBH. Ressalta-se que, das 18 amostras com presença de *P. aeruginosa* oriundas da sala branca desta mesma unidade, 9 (50,0%) apresentaram CBH acima do limite estabelecido e dessas, 55,6% acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/mL, atingindo níveis de até $3,2 \times 10^4$ UFC/mL.

Embora *P. aeruginosa* não tenha sido quantificada nas amostras analisadas no presente estudo, mas considerando sua inclusão na CBH e, ainda, a possibilidade de representar grande parte da população bacteriana encontrada, tornam-se preocupantes estes achados laboratoriais na água tratada utilizada nas soluções de diálise.

A elevada contaminação bacteriana pode estar relacionada à qualidade da água de alimentação, embora seja mais associada à eficácia do processo de desinfecção e manutenção do sistema de tratamento e distribuição da água tratada²⁸⁻³¹, ressaltando a possibilidade de rompimento da membrana de osmose reversa, o que permite a passagem de micro-organismos e endotoxinas^{3,29,31}. Estudos demonstraram que os excessivos níveis de bactérias no dialisato (água adicionada de sais) são responsáveis por reações pirogênicas e bacteremia, sendo a endotoxina, derivada de bactérias Gram negativas, capaz de penetrar na membrana semipermeável do dialisador³².

Tabela 3. Distribuição de amostras com presença de *P. aeruginosa*, por ponto de coleta, nas UTRS

UTRS	Total de amostras com presença de <i>P. aeruginosa</i>			
	Pós- tratamento	Sala amarela	Sala branca	Total
A	7	-	18	25
B	1	7	2	10
C	1	2	0	3
D	1	0	2	3
E	0	0	1	1
F	0	0	1	1
Total	10 (23,3%)	9 (20,9%)	24 (55,8%)	43

Pode-se observar na Tabela 3, a distribuição dos isolados de *P. aeruginosa* em amostras coletadas em pontos pós-tratamento, indicando possíveis falhas no processo de tratamento e distribuição da água. A escolha do tipo de sistema de tratamento da água é de vital importância nas unidades de diálise, não significando que a melhor alternativa seja a solução de todos os problemas relacionados à sua qualidade, pois a manutenção e monitoramento do sistema são fundamentais²³.

Nota-se que 41,9% e 16,2% do total de isolamentos ocorreram na sala branca da UTRS A e na sala amarela da UTRS B, respectivamente, indicando a vulnerabilidade dos pacientes, nelas tratados, aos agravos decorrentes dessa contaminação. Ressalta-se que, na sala amarela são tratados os pacientes portadores de hepatite B, portanto com possibilidade de maior comprometimento da saúde.

Na UTRS A, em 14 dias no decorrer do período analisado foram coletadas amostras, simultaneamente, nos pontos de pós-tratamento e na sala branca, sendo que em seis das 14 coletas distintas houve detecção do concomitante de *P. aeruginosa*, ocorrendo quatro episódios em 2004 e dois em 2005. Nas demais unidades de tratamento, não houve detecção simultânea de *P. aeruginosa* nos diferentes pontos amostrados. Este fato ocorrido na UTRS A demonstra a disseminação deste agente ao longo do sistema e/ou um possível problema de integridade das membranas de osmose reversa. A disseminação de bactérias ocorre, particularmente, quando as medidas básicas de prevenção e controle não são respeitadas³³. Nas demais datas de coleta, a contaminação ocorreu isoladamente, apenas no ponto de pós-tratamento (uma coleta) e na sala branca (12 coletas) indicando, neste último caso, a possibilidade, entre outras, de formação de biofilme.

A mesma situação pode ter ocorrido na UTRS B, onde em todas as coletas que incluíram amostras positivas para *P. aeruginosa* na sala branca ou na amarela, também foram obtidas amostras do ponto pós-tratamento que, na análise, revelaram resultado negativo para este agente.

A Figura 1 apresenta a distribuição anual dos isolados de *P. aeruginosa* nas amostras analisadas. Observa-se que, 23 (53,5%) deles ocorreram no ano de 2004, constituindo o ano de maior isolamento nas UTRS A, B e D, ressaltando que na UTRS A, 8 dos 15 isolamentos foram procedentes de dois diferentes pontos

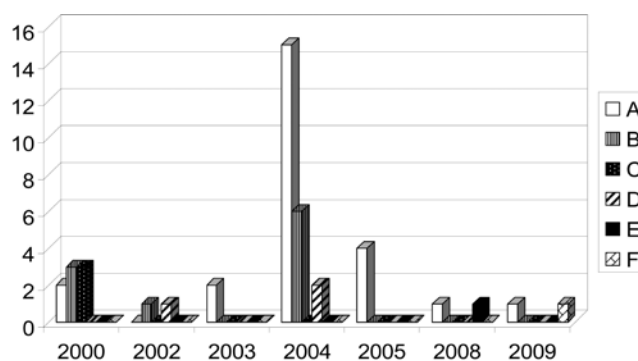


Figura 1. Distribuição anual de amostras com presença de *P. aeruginosa*, por UTRS

(pós-tratamento e sala branca) coletados em quatro datas distintas. Nos anos de 2001, 2006 e 2007 não houve isolamento em nenhuma das UTRS analisadas.

Nos últimos anos, a resistência antimicrobiana passou a ser considerada fenômeno ecológico global, onde micro-organismos e genes de resistência movem-se facilmente entre os quatro maiores ecossistemas: solo; água; corpo humano; e animais. O ambiente aquático é considerado o principal disseminador de bactérias resistentes. A distribuição geográfica de genes de resistência neste ambiente tem sido investigada em todos os continentes, indicando o papel destes compartimentos ambientais como reservatórios³⁴.

Dos 43 isolados de *P. aeruginosa*, 38 foram submetidos ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos, sendo 36 (94,7%) sensíveis a todos antibióticos testados. No ano 2000, foi identificada a resistência intermediária à gentamicina em um (2,6%) isolado de amostra oriunda da sala amarela da unidade B. Na mesma unidade, em 2004, foi detectada resistência à dois antibióticos, aztreonam e ticarcilina/ácido clavulânico, em apenas uma (2,6%) cepa de *P. aeruginosa*, procedente também da sala amarela.

Ressalta-se que no mesmo momento destas coletas, também foram obtidas para análise amostras do ponto de pós-tratamento de osmose reversa, todas com resultado negativo para pesquisa de *P. aeruginosa*. Analisando este fato, é provável que, nas duas ocasiões onde foram detectadas cepas resistentes, houvesse formação de biofilme na tubulação desta sala de tratamento com possível disseminação de bactérias resistentes entre os pacientes em tratamento.

Os biofilmes são os maiores responsáveis pela contaminação da água tratada para diálise, com consequências para saúde pública, associadas a custos elevados³⁵. O controle da formação de biofilmes é uma grande preocupação, uma vez que o seu desprendimento causa aumento dos níveis de endotoxinas permeáveis às membranas utilizadas no processo de purificação do sangue dos pacientes podendo causar uma série de quadros clínicos e até morte. O seu controle pode ser direcionado pela desinfecção com biocidas, biodispersantes, tecnologia enzimáticas e pela minimização do nutriente limitante^{35,36}.

Cabe ressaltar que as cepas de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos não apresentam maior potencial de transmissibilidade ou virulência quando comparada às cepas sensíveis, entretanto, as infecções envolvendo agentes multirresistentes apresentam opção terapêutica restrita³³. O uso de antibióticos induz a pressão seletiva sobre as

cepas bacterianas, favorecendo a preservação daquelas que apresentam resistência em relação às sensíveis^{37,38}.

A resistência apresentada pela *P. aeruginosa* neste estudo é baixa quando comparada aos resultados de outros autores. Borges et al.³⁹ revelaram resistência entre 6,7% e 80,0% das cepas frente aos 11 antimicrobianos testados, sendo 13,3% a ticarcilina/ácido clavulânico e 33,3% a gentamicina e Arvanitidou et al.²² encontraram 6,0% a 100% de resistência em isolados de *P. aeruginosa* entre 8 antimicrobianos testados, embora ambos tenham analisado também amostras de dialisato.

CONCLUSÃO

A detecção de *P. aeruginosa* em 8,5% das amostras de água tratada para diálise revela o risco que os pacientes são expostos quando submetidos a esse tratamento e ressalta a importância da adoção de medidas de controle e ações voltadas à saúde do paciente renal crônico.

Considerando as implicações da *P. aeruginosa* em saúde pública, a inclusão da sua pesquisa nos padrões de qualidade da água para diálise constitui uma medida necessária onde, por meio de monitoramento sistemático, a sua presença pode revelar possíveis deficiências no controle da rede de distribuição da água nas unidades e promover a implementação da manutenção do sistema.

O baixo índice de resistência bacteriana encontrado (5,2%) pode ser atribuído ao fato das amostras analisadas serem de origem ambiental e não humana, as quais estariam mais sujeitas ao isolamento de cepas multirresistentes em decorrência da pressão seletiva causada pelo maior contato com drogas antimicrobianas.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Nefrologia. [acesso 2011 Ago 05]. Disponível em: [http://www.sbn.org.br/leigos/pdf/censo2010finalizado_leigos.ppt].
2. Arvanitidou M, Spaia S, Katsinas C, Pangidis P, Constantinidis T, Katsouyannopoulos V, et al. Microbial quality of water and dialysate in all haemodialysis centres of Greece. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:949-54.
3. Silva AMM, Martins CTB, Ferraboli R, Jorgetti V, Romão Jr JE. Revisão/Atualização em diálise: água para hemodiálise. *J Bras Nefrol*. 1996;18(2):180-8.
4. Favero MS, Alter MJ, Bland LA. Dialysis -associated infections. In: Bennett JV, Brachman PS, Sanford JP (eds.). *Hospital Infections*. Boston: Little Brown; 1992. p. 375-403.

5. Du Molin GC, Coleman EC, Hedley-Whyte J. Bacterial colonization and endotoxin content of a new renal dialysis water system composed of acrylonitrile butadiene styrene. *Appl Env Microbiol*. 1987;53:1322-6.
6. Morin P. Identification of the bacteriological contamination of a water treatment line used for haemodialysis and its disinfection. *J Hosp Infect*. 2000;45:218-24.
7. Wang SA et al. An outbreak of gram-negative bacteremia in hemodialysis patients traced to hemodialysis machine waste drain ports. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1999;20(11):746-51.
8. Magalhães M, Doherty C, Govan JRW, Vandamme P. Polyclonal outbreak of *Burkholderia cepacia* complex bacteraemia in haemodialysis patients. *J Hosp Infect*. 2003;54:120-3.
9. Yan H, Shi L, Alam MJ, Li L, Yang L, Yamasaki S. Usefulness of Sau-PCR for molecular epidemiology of nosocomial outbreaks due to *Burkholderia cepacia* which occurred in a local hospital in Guangzhou, China. *Microbiol Immunol*. 2008;52:283-6.
10. Pisani B, Simões M, Prandi MA, Rocha MMM, Gonçalves CR, Vaz TMI, et al. Surto de bacteremia por *Pseudomonas aeruginosa* na unidade de hemodiálise de um hospital de Campinas, São Paulo, Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2000;59(1/2):51-6.
11. Beck-Sague CM, Jarvis WR, Bland LA, Arduino MJ, Aguero SM, Verosic G. Outbreak of Gram - Negative Bacteremia and Pyrogenic Reactions in a Hemodialysis Center. *Am J Nephrol*. 1990;10:397-403.
12. Welbel SF, Schoendorf K, Bland LA, Arduino MJ, Groves C, Schable B et al. An outbreak of gram-negative bloodstream infections in chronic hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 1995; 15:1-4.
13. Rudnick JR, Arduino MJ, Bland LA, Cusick L, McAllister SK, Agüero SM et al. An outbreak of pyrogenic reactions in chronic hemodialysis patients associated with hemodialyzer reuse. *J Artif Organs*. 1995;19:289-94.
14. Lincopan N, Trablusi LR. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Trablusi LR, Alterthum F, editores. *Microbiologia*. São Paulo: Editora Atheneu; 2008. p. 369-81.
15. Levin ASS, Arruda EAG. Infecções por *Pseudomonas*. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. *Tratado de infectologia*. São Paulo: Editora Atheneu; 1996. p.739-45.
16. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada Nº154, de 15 de junho de 2004. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de Diálise. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF; 17 jun 2004. Republicada em 31 mai. 2006. [acesso 2011 Jul 01]. Disponível em: [http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?].
17. American Public Health Association. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. Washington: APHA; 2005.
18. Palleroni NJ. Genus I. *Pseudomonas*. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM. (eds.). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. East Lansing: Springer; 2005, p.323-79.
19. Bauer AW, Kirby Wmm, Sherris JSC, Turk M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45(4):493-6.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Twentieth Informational Supplement M100-S20, 30(1), Wayne; 2011.
21. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada ANVISA nº 6, de 14/02/2011. Altera a Resolução RDC nº 154, de 15/06/2004, que estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de Diálise, republicada em 31/05/2006. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 15 fev. 2006. Seção 1. p.55.
22. Arvanitidou M, Vayona A, Spanakis N, Tsakris A. Occurrence and antimicrobial resistance of Gram-negative bacteria isolated in haemodialysis water and dialysate of renal units: results of a Greek multicentre study. *J Appl Microbiol*. 2003;95:80-5.
23. Bugno A, Almodóvar AAB, Pereira TC, Auricchio M. Detecção de bactérias Gram-negativas não fermentadoras em água tratada para diálise. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2007;66(2):172-5.
24. Montanari LB, Sartori FG, Cardoso MJO, Varo SD, Pires RH, Leite CQF, et al. Microbiological contamination of a hemodialysis center water distribution system. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 2009;51(1):37-43.
25. Simões M, Pires MFC. Água de diálise: ocorrência de leveduras, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias heterotróficas. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2004;63(2):224-31.
26. Reis JDP, Faria NC, Filter A. Qualidade bacteriológica da água para hemodiálise do Distrito Federal. *Rev Saúde Distr Fed*. 1998;9(2):39-43.
27. Ferreira JAB. *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 [dissertação de mestrado]*. Rio de Janeiro (RJ): Fundação Oswaldo Cruz; 2009. [acesso 2011 Ago 05]. Disponível em: [http://teses.icict.fiocruz.br/pdf/3551_JoanaAngelicaBarbosaFerreira.pdf].
28. Vorbeck-Meister I, Sommer R, Vorbeck F, Hörl WH. Quality of water used for haemodialysis: bacteriological and chemical parameters. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14:666-75.
29. Roth VR, Jarvis WR. Outbreaks of infection and or pyrogenic reactions in dialysis patients. *Semin Dial*. 2000;13(2):92-6.
30. Smeets E, Kooman J, van der Sande F, Stobberingh E, Frederik P, Claessens P et al. Prevention of biofilm formation in dialysis water treatment systems. *Kidney Int*. 2003;63:1574-6.
31. Pontoriero G, Pozzoni P, Andrulli S, Locatelli F. The quality of dialysis water. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18 (suppl 7):vii21-5.
32. Lonnemann, G. The quality of dialysate: an integrated approach. *Kidney Int*. 2000;76:S112-9.
33. Padoveze MC, Oliveira EL. Bactérias Multi-Resistentes. [acesso 2011 Ago 12]. Disponível em: [http://www.hospvirt.org.br/enfermagem/port/bacterias_multi.html].
34. Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D, Petit F. Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli* isolated from a densely populated estuary (Seine, France). *FEMS Microbiol Ecol*. 2009;68(1):118-30.
35. Marion K, Pasmore M, Freny J, Delawari E, Renaud F, Costerton JW, Traeger J. A new procedure allowing the complete removal and prevention of hemodialysis biofilms. *Blood Purif*. 2005;23(5):339-48.
36. Cappelli G, Riccardi M, Perrone S, Bondi M, Ligabue G, Albertazzi A. Water treatment and monitor disinfection. *Hemodial Int*. 2006;10(1):13-8.
37. Del Fiol FS, Mattos Filho TR, Groppo FC. Resistência bacteriana. *Rev Bras Med*. 2000;57(10):85-7.
38. Wenzel RP, Edmond MB. Managing antibiotic resistance. *N Engl J Med*. 2000;343(26):1961-3.
39. Borges CR, Lascowski KM, Filho NR, Pelayo JS. Microbiological quality of water and dialysate in a hemodialysis unit in Ponta Grossa-PR, Brazil. *J Appl Microbiol*. 2007;103(5):1791-7.