



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Laís Anversa Trevejo

**Avaliação físico-química e microbiológica de amostras
de água tratada e dialisato de centros de hemodiálise**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doenças Tropicais.

Orientador(a): Dra. Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador(a): Dr. Carlos Henrique Camargo

**Botucatu
2020**

Laís Anversa Trevejo

Avaliação físico-química e microbiológica de amostras de água tratada e dialisato de centros de hemodiálise

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doenças Tropicais.

Orientador(a): Dra. Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador(a): Dr. Carlos Henrique Camargo

Botucatu
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Trevejo, Laís Anversa.

Avaliação físico-química e microbiológica de amostras de água tratada e dialisato de centros de hemodiálise / Laís Anversa Trevejo. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Virgínia Bodelão Richini Pereira

Coorientador: Carlos Henrique Camargo

Capes: 21200009

1. Hemodiálise. 2. Biofilmes. 3. Água - Análise.
4. Bactérias gram-negativas. 5. Fungos.

Palavras-chave: Água; Bactérias gram-negativas; Biofilme; Fungos; Hemodiálise.

Laís Anversa Trevejo

Avaliação físico-química e microbiológica de amostras de água tratada e dialisato de centros de hemodiálise

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doenças Tropicais.

Orientador(a): Dra. Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador(a): Dr. Carlos Henrique Camargo

Comissão examinadora:

Profa. Dra. Vera Lucia Mores Rall
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) - Botucatu

Profa. Dra. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) - Botucatu

Profa. Dra. Luciana da Silva Ruiz Menezes
Instituto Adolfo Lutz (IAL) - CLR Bauru

Prof. Dr. Rodrigo Cayô da Silva
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Diadema

Profa. Dra. Virgínia Bodelão Richini Pereira
Instituto Adolfo Lutz (IAL) - CLR Bauru

Botucatu, 18 de setembro de 2020.

Agradecimentos

À Dra. Virgínia Bodelão Richini Pereira pela orientação, contribuição, disposição e ensinamentos.

À Dra. Vera Lúcia Mores Rall, à Dra. Luciana da Silva Ruiz Menezes, ao Dr. Carlos Henrique Camargo, à Dra. Márcia de Souza Carvalho Melhem e ao Dr. Lucas Xavier Bonfietti pelas importantes colaborações teóricas e práticas.

À Ma. Erika Kushikawa Saeki, ao Dr. Gabriel Antônio Nogueira Nascentes e à Ma. Stéfani Thais Alves Dantas pelas contribuições analíticas.

Aos funcionários do Instituto Adolfo Lutz - CLR Bauru por todo auxílio laboratorial e convivência diária.

À minha família pelo apoio e amor incondicional.

E as demais pessoas que, de forma direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste estudo.

Resumo

ANVERSA, L. **Avaliação físico-química e microbiológica de amostras de água tratada e dialisato de centros de hemodiálise**. 2020. 131 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, 2020.

A hemodiálise é o principal tratamento para pacientes com insuficiência renal crônica e a qualidade da água empregada neste procedimento deve ser garantida para evitar riscos à saúde dos pacientes. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de amostras de água tratada e dialisato de três centros de hemodiálise, localizados em Bauru (São Paulo, Brasil). As coletas foram realizadas quinzenalmente, no período de julho de 2017 a junho de 2018, nos seguintes pontos: pós-osmose reversa, reuso e dialisato. As análises incluíram alguns parâmetros abrangidos pela RDC Nº 11/2014 - como determinações de condutividade, fluoreto, nitrato e sulfato, pesquisa qualitativa de coliformes totais e contagem de bactérias heterotróficas - e também contagens e identificações de bacilos gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) e fungos, além de testes de susceptibilidade a drogas, capacidade de formação de biofilme e similaridade genética de alguns microrganismos isolados. Em desacordo com a legislação, somente 4/72 (5,6%) amostras exibiram valores de condutividade ≥ 10 mS/cm, 4/216 (1,9%) apresentaram coliformes totais e 1/216 (0,5%) exibiu contagem de bactérias heterotróficas > 100 UFC/mL. Contudo, BGN-NF e fungos foram identificados em 99/216 (45,8%) e 52/216 (24,1%) amostras, respectivamente. Os principais BGN-NF isolados englobaram *Herbaspirillum aquaticum/huttiense*, *Brevundimonas aurantiaca*, *Cupriavidus metallidurans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia insidiosa* e *Rhizobium radiobacter*. Quanto aos fungos, os gêneros predominantes foram *Penicillium*, *Cladosporium*, *Scedosporium*, *Rhinocladiella*, *Fusarium* e *Emmonsia*. Os isolados de *P. aeruginosa* e Complexo *Burkholderia cepacia* mostraram-se sensíveis a maioria dos antimicrobianos testados, já os isolados fúngicos preeminentemente exibiram elevados valores de concentração inibitória mínima para 5-flucitosina e fluconazol. A maioria dos isolados de *P. aeruginosa*, Complexo *B. cepacia*, *Ralstonia insidiosa*, *Ralstonia pickettii* e fungos filamentosos

apresentaram forte capacidade de formação de biofilme e alguns isolados bacterianos expressaram o mesmo perfil eletroforético em testes de eletroforese em gel de campo pulsado, indicando a persistência de clones microbianos em diferentes pontos dos sistemas ao longo do tempo. Portanto, ainda que em conformidade com os padrões estabelecidos pela legislação vigente, evidenciou-se neste estudo a ocorrência de BGN-NF e fungos em amostras de água tratada e dialisato, sugerindo-se a adoção de medidas de controle e monitoramento regular destes microrganismos em fluídos de hemodiálise, a fim de assegurar a segurança do processo dialítico.

Palavras-chave: água; bactérias gram-negativas; biofilme; fungos; hemodiálise.

Abstract

ANVERSA, L. **Physical-chemical and microbiological evaluation of samples of treated water and dialysate from hemodialysis centers**. 2020. 131 p. Dissertation (Doctorate) - Faculty of Medicine of Botucatu, São Paulo State University (Unesp), Botucatu, 2020.

Hemodialysis is the main treatment for patients with chronic renal failure and the quality of the water used in this procedure must be guaranteed to avoid risks to patients' health. The aim of this study was to evaluate the physical-chemical and microbiological quality of samples of treated water and dialysate from three hemodialysis centers, located in the city of Bauru (São Paulo, Brazil). The collections were performed every 15 days, from July 2017 to June 2018, at the following points: post-reverse osmosis, reuse and dialysate. The analyzes included some parameters covered by RDC No. 11/2014 - such as conductivity, fluoride, nitrate and sulfate determinations, qualitative research of total coliforms and heterotrophic bacteria counts - as well as counts and identifications of non-fermenting gram-negative bacilli (NFGNB) and fungi, in addition to drug susceptibility tests, biofilm formation capacity and genetic similarity of some isolated microorganisms. In disagreement with the legislation, only 4/72 (5.6%) samples showed conductivity values ≥ 10 mS/cm, 4/216 (1.9%) showed total coliforms and 1/216 (0.5%) showed heterotrophic bacteria count > 100 CFU/mL. However, NFGNB and fungi were identified in 99/216 (45.8%) and 52/216 (24.1%) samples, respectively. The main NFGNB isolates included *Herbaspirillum aquaticum/huttiense*, *Brevundimonas aurantiaca*, *Cupriavidus metallidurans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia insidiosa* and *Rhizobium radiobacter*. Among the fungi, the predominant genera were *Penicillium*, *Cladosporium*, *Scedosporium*, *Rhinochrysiella*, *Fusarium* and *Emmonsia*. The isolates of *P. aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex were sensitive to most of the tested antimicrobials, whereas the fungal isolates preeminently showed high values of minimum inhibitory concentration for 5-flucytosine and fluconazole. Most isolates of *P. aeruginosa*, *B. cepacia* complex, *Ralstonia insidiosa*, *Ralstonia pickettii* and filamentous fungi showed strong biofilm formation capacity and some bacterial isolates expressed the same electrophoretic profile in pulsed field gel electrophoresis

tests, indicating the persistence of microbial clones at different points in the systems over time. Therefore, although in accordance with the standards established by the current legislation, this study evidenced the occurrence of NFGNB and fungi in samples of treated water and dialysate, thus suggesting the adoption of control measures and regular monitoring of these microorganisms in hemodialysis fluids, in order to increase the safety of the dialysis process.

Keywords: water; gram-negative bacteria; biofilm; fungi; hemodialysis.

Lista de figuras

Figura 1 - Funcionamento básico de um sistema de hemodiálise.....	15
Figura 2 - Diagrama de um sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise.	17
Figura 3 - Análises microbiológicas das amostras de água tratada e dialisato (N=216), provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	50
Figura 4 - Bacilos gram-negativos não fermentadores isolados das amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil. .	55
Figura 5 - Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) dos isolados de <i>P. aeruginosa</i> , oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	66
Figura 6 - Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) dos isolados do Complexo <i>B. cepacia</i> , oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	67
Figura 7 - Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) dos isolados de <i>R. insidiosa</i> e <i>R. pickettii</i> , oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	68
Figura 8 - Fungos isolados das amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	69

Lista de quadros

Quadro 1 - Padrão de qualidade da água para hemodiálise, segundo a RDC N° 11/2014.	19
---	----

Lista de tabelas

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos das amostras de água tratada (N=72), provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	50
Tabela 2 - Percentuais de positividade para os microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros investigados.	51
Tabela 3 - Percentuais de positividade para os microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os pontos de coleta investigados.....	51
Tabela 4 - Contagens dos microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros investigados.....	53
Tabela 5 - Contagens dos microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os pontos de coleta investigados.	53
Tabela 6 - Distribuição dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados.	56
Tabela 7 - Susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	62
Tabela 8 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	64
Tabela 9 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados e a susceptibilidade aos agentes antimicrobianos.	64
Tabela 10 - Distribuição dos isolados fúngicos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados.	70
Tabela 11 - Susceptibilidade aos agentes antifúngicos dos isolados fúngicos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	74
Tabela 12 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.....	78
Tabela 13 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos filamentosos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de	

hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados. 79

Tabela 14 - Correlação entre a susceptibilidade aos antifúngicos e a capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos filamentosos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil. 80

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVO	36
3. MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1. Aspectos éticos	37
3.2. Coleta e transporte das amostras	37
3.3. Análises físico-químicas	37
3.4. Análises microbiológicas	38
3.4.1. Isolamento dos microrganismos	38
3.4.2. Identificação dos bacilos gram-negativos não fermentadores	39
3.4.2.1. MALDI-TOF	39
3.4.2.2. Biologia molecular	40
3.4.3. Teste de susceptibilidade dos isolados bacterianos aos agentes antimicrobianos	42
3.4.4. Investigação da capacidade de formação de biofilme dos isolados bacterianos	42
3.4.5. Eletroforese em gel de campo pulsado (“Pulsed Field Gel Electrophoresis” - PFGE)	43
3.4.6. Identificação dos isolados fúngicos	44
3.4.6.1. Fungos filamentosos	44
3.4.6.2. Leveduras	44
3.4.7. Teste de susceptibilidade dos isolados fúngicos aos agentes antifúngicos	46
3.4.8. Investigação da capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos ..	47
3.5. Análises estatísticas	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5. CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS	84
Anexos	130

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência renal crônica (IRC) constitui atualmente um importante problema de saúde pública em todo o mundo (JESUS e ALMEIDA, 2016, VADAKEDATH e KANDI, 2017). A referida enfermidade apresenta elevada morbidade e mortalidade e é definida como anormalidades da estrutura ou função renal, presentes por mais de três meses, com implicações para a saúde (KDIGO, 2013).

Em condições fisiológicas normais, os rins desempenham múltiplas funções, incluindo regulação do equilíbrio hidroeletrólítico, manutenção da osmolaridade dos líquidos corporais e das concentrações de eletrólitos, regulação do equilíbrio ácido-básico, excreção de produtos de degradação metabólica e substâncias químicas estranhas, regulação da pressão arterial, secreção de hormônios e gliconeogênese (GUYTON e HALL, 2006). De forma geral, na IRC os rins apresentam capacidade limitada de eliminar, por meio da urina, substâncias tóxicas, excesso de água e sais minerais do corpo, propiciando principalmente um intenso desequilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico, que culmina na deterioração progressiva das funções bioquímicas e fisiológicas de todos os sistemas do organismo (BASTOS e KIRSZTAJN, 2011).

A IRC é uma doença complexa e multifatorial que possui diversas causas e fatores de risco, incluindo glomerulonefrite, pielonefrite, doença renal policística, doenças autoimunes, uso de agentes nefrotóxicos, hipertensão arterial, diabetes, tabagismo, hipercolesterolemia, obesidade, envelhecimento, entre outros (BASTOS et al., 2010; DRAIBE, 2014). Assim, a mudança no perfil da população mundial, com o deslocamento do eixo das doenças infecciosas para as doenças crônico-degenerativas, tem propiciado um grande aumento no número de pessoas com IRC (THOMAS et al., 2015).

Em 2004, a prevalência de indivíduos com IRC na Áustria, Finlândia, Grécia, Holanda e Suécia era de aproximadamente 858, 685, 922, 704 e 801 pacientes por milhão de pessoas, respectivamente. Já em 2014, a prevalência aumentou em todos esses países para 1.062, 837, 1.203, 967 e 955, na devida ordem (ERA-EDTA, 2016). A doença também tem se expandido na Índia, com aproximadamente 100 mil novos casos a cada ano (VERMA et al., 2015), no Reino Unido (ASHBY et al.,

2019), nos Estados Unidos (EUA) (SARAN et al., 2019) e também na Palestina, sendo considerada a oitava principal causa de morte neste país (ABUALHASAN et al., 2018). E vale ressaltar ainda que possivelmente tais dados sejam subestimados, uma vez que, na maioria dos países o acompanhamento da prevalência e incidência da IRC se restringe às estatísticas somente dos pacientes em tratamento, não englobando os pacientes em fases iniciais da enfermidade (DRAIBE, 2014).

Após o diagnóstico de IRC, dependendo da condição clínica do paciente e da avaliação da equipe multiprofissional, o paciente deve ser submetido a um tratamento conservador e/ou terapia renal substitutiva, o mais rápido possível, a fim de evitar complicações (tais como anemia, acidose metabólica, hiperparatireoidismo, hipocalcemia, distúrbio mineral e ósseo, doenças cardiovasculares, entre outras), que podem levar o indivíduo à morte (BASTOS e KIRSZTAJN, 2011; JOHNSON e GIBSON, 2013).

O tratamento conservador envolve o emprego de algumas drogas, controle da hipertensão arterial, controle glicêmico rigoroso em pacientes diabéticos, controle de outros fatores de risco (sedentarismo, tabagismo e hiperuricemia), orientação nutricional, tratamento de comorbidades, prevenção de novas agressões nefrotóxicas e identificação de causas potencialmente tratáveis (SETTE et al., 2010).

Já a terapia renal substitutiva relaciona-se ao estágio da doença. De acordo com a taxa de filtração glomerular (TFG), a IRC pode ser classificada em cinco estágios. Quando o paciente atinge o estágio 5 (TFG < 15 ml/min/1,73m²), conhecido também como doença renal terminal, a terapia renal substitutiva torna-se indispensável (KDIGO, 2013; VADAKEDATH e KANDI, 2017).

De forma geral, as opções de terapia renal substitutiva englobam: diálise - hemodiálise ou diálise peritoneal - e transplante renal (VADAKEDATH e KANDI, 2017).

Segundo dados da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), estima-se que mais de dez milhões de pessoas tenham IRC no Brasil, sendo que destas, aproximadamente 125 mil estão em diálise crônica (THOMÉ et al., 2019). No ano de 2017, considerando os dados dos 758 centros ativos de diálise registrados no país, as taxas de prevalência e de incidência de pacientes em tratamento dialítico por milhão de pessoas foram estimadas em 610 e 194, respectivamente, e a taxa anual de mortalidade bruta foi de 19,9%, tendendo-se a elevação (THOMÉ et al., 2019).

Notadamente, a hemodiálise é a modalidade terapêutica mais utilizada no tratamento da IRC no Brasil, atendendo mais de 90% dos pacientes com esta enfermidade (THOMÉ et al., 2019).

A hemodiálise consiste em um processo que visa repor as funções renais, promovendo a retirada de substâncias tóxicas e excesso de água e sais minerais do organismo, através da passagem do sangue por um filtro, chamado dialisador (também conhecido como “rim artificial”) (LEE, 2017).

Em síntese, durante o procedimento de hemodiálise, o sangue é retirado do paciente por meio de um acesso vascular (que pode ser um cateter ou uma fístula arteriovenosa) e é conduzido à máquina de hemodiálise, gradualmente. Na máquina, o sangue é impulsionado por uma bomba até o dialisador, que é utilizado para depurar o mesmo. O dialisador possui dois compartimentos separados por uma membrana semipermeável - um para o sangue e outro para a solução de diálise (também denominada dialisato) - onde ocorrem dois tipos de trocas, a osmose e a difusão. Por meio dessas trocas, as substâncias tóxicas e o excesso de água e eletrólitos do sangue passam para a solução de diálise, e então, o sangue purificado retorna ao paciente pelo acesso vascular (AZAR, 2013; WONG et al., 2015) (Figura 1).

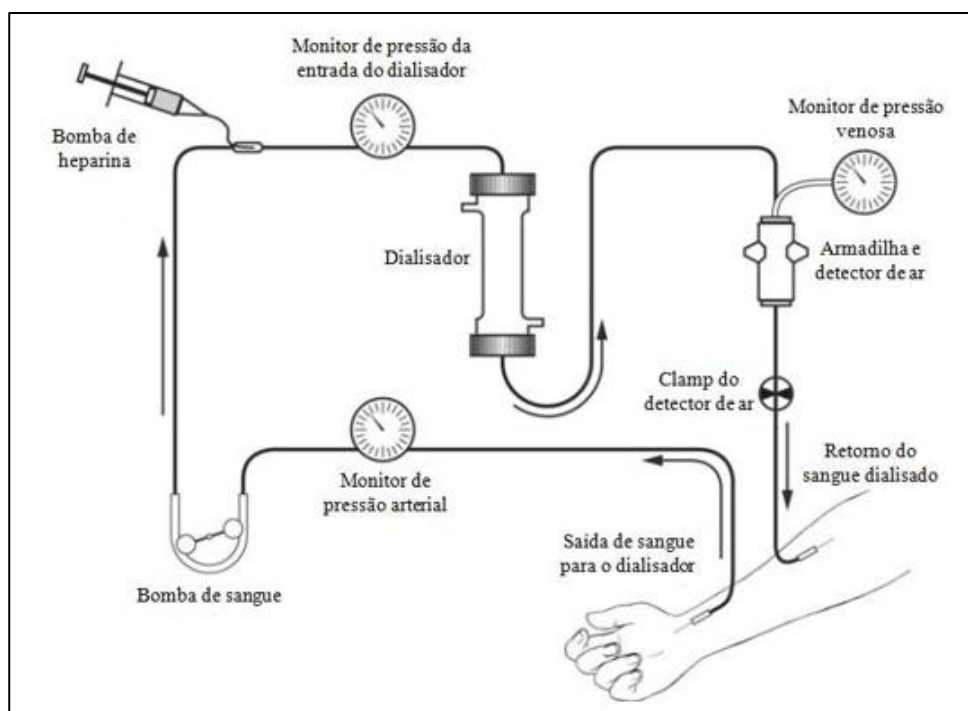


Figura 1 - Funcionamento básico de um sistema de hemodiálise.
Fonte: Adaptado (AZAR, 2013)

Em geral, a hemodiálise é realizada três vezes por semana, em sessões com duração média de 3 a 4 horas, podendo o tempo e a frequência variar, de acordo com o estado clínico do paciente (LEE, 2017).

Durante as sessões de hemodiálise, os pacientes são expostos, através da membrana semipermeável, a um grande volume de água (aproximadamente 400 litros/semana), que é utilizado na produção do dialisato (TOTARO et al., 2017). O dialisato é uma solução não estéril, formada por uma mistura de água previamente tratada e concentrado polieletrólítico (composto basicamente de sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto, acetato, bicarbonato, glicose e CO₂), na proporção de 34:1 (JESUS e ALMEIDA, 2016).

No Brasil, exceto em casos de pacientes com sorologia positiva para hepatite B, hepatite C e HIV, os dialisadores e as linhas arterial/venosa podem ser utilizadas pelo mesmo paciente, após adequado reprocessamento automático, por até 20 vezes (BRASIL, 2014). As principais etapas envolvidas no procedimento de reprocessamento consistem em retirada do dialisador do paciente, limpeza, verificação da integridade e medição do volume interno das fibras, desinfecção/esterilização, registro, armazenamento e enxágue imediatamente antes da instalação e reuso (CARLSON, 2013; TONIOLO et al. 2016).

Portanto, a água é essencial para a terapia dialítica, tanto na produção do dialisato como na reutilização dos dialisadores. Aliás, a qualidade físico-química e microbiológica da água utilizada na hemodiálise é extremamente importante para evitar riscos adicionais aos pacientes e garantir um procedimento seguro e eficaz (SHAHRYARI, 2016; CHEN et al., 2017a).

Até a década de 70, acreditava-se que a água potável podia ser utilizada na hemodiálise, porém, com o passar do tempo, acumularam-se evidências que permitiram correlacionar os contaminantes da água com efeitos adversos do procedimento, reforçando-se assim a necessidade da aplicação de tratamentos complementares (BUGNO et al., 2007; HEIDARIEH et al., 2016).

Atualmente, os sistemas de tratamento e distribuição de água para hemodiálise no Brasil são compostos por três sessões básicas - pré-tratamento, purificação e distribuição (JESUS e ALMEIDA, 2016) (Figura 2).

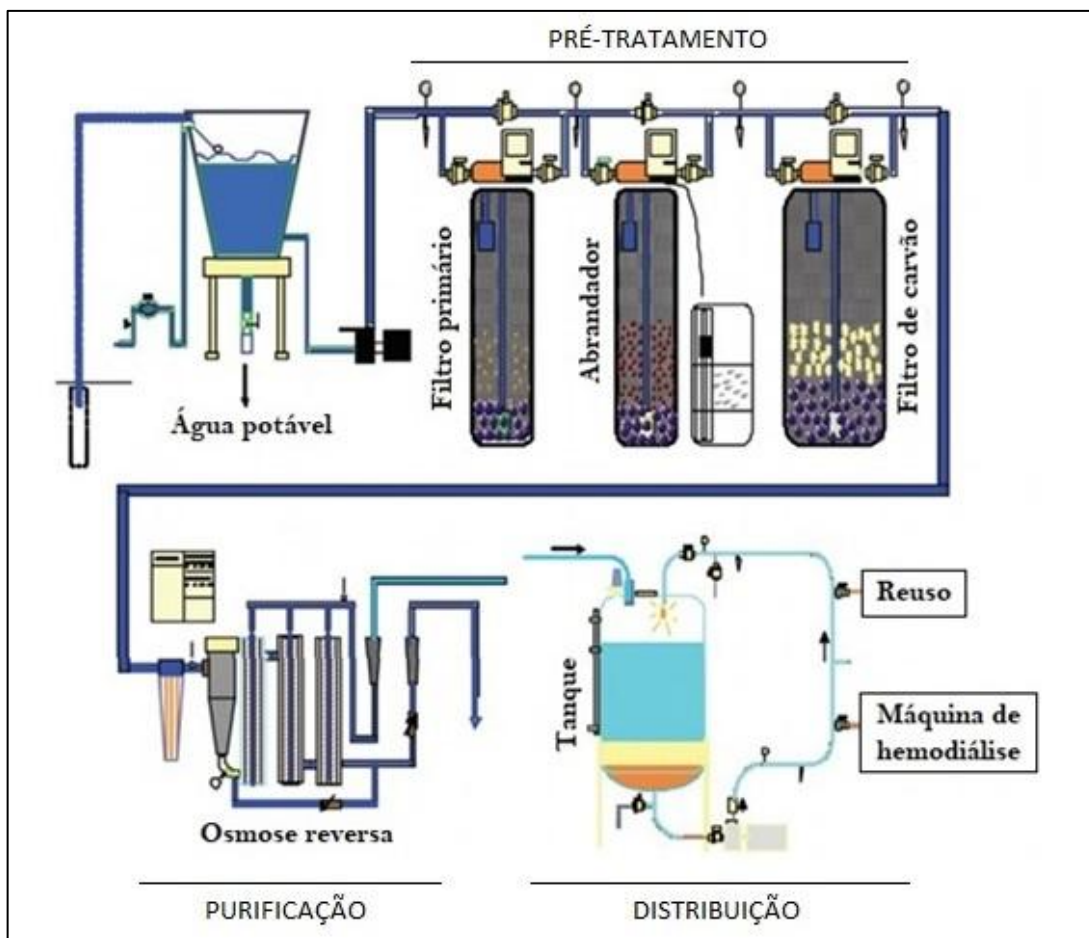


Figura 2 - Diagrama de um sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise.

Fonte: Adaptado (MONTANARI et al., 2009)

A água que chega aos centros de diálise normalmente é proveniente do sistema de abastecimento municipal ou de poço artesiano, e em geral, no pré-tratamento são utilizados: a) filtros primários de profundidade (tipo Multimedia), para a retirada de partículas em suspensão (entre 25 a 100 microns); b) abrandadores, para a remoção de cálcio, magnésio e outros cátions polivalentes; e c) filtros de carvão ativado, para a adsorção de cloretos, cloraminas e substâncias orgânicas (MONTANARI et al., 2009; LAYMAN-AMATO et al., 2013). Logo, o pré-tratamento é fundamental para retirar substâncias e partículas da água que podem danificar os equipamentos de purificação e diminuir a sua eficiência (COULLIETTE e ARDUINO, 2013).

A purificação da água pode ser realizada por diferentes técnicas, sendo a mais empregada, a filtração por osmose reversa. Nesse processo ocorre a separação do solvente do soluto pela aplicação de alta pressão sobre uma

membrana semipermeável, possibilitando a remoção de 90-99% dos contaminantes iônicos e > 95% dos contaminantes não iônicos (BOLASCO et al., 2012).

Após a purificação, a água tratada é conduzida para um tanque de armazenamento e depois distribuída, por meio de tubulações, até as máquinas de hemodiálise e a sala de reprocessamento dos dialisadores. O reservatório de água tratada deve ser constituído de material opaco, liso, resistente, impermeável, de fundo cônico, protegido da incidência direta da luz solar e que possibilite um fluxo constante de água, com regime turbulento de vazão. As tubulações devem ser aparentes, normalmente em policloreto de vinila (PVC) ou similares, projetadas de forma a evitar zonas mortas e áreas com fluxo reduzido e com conexões em locais estratégicos do circuito, para facilitar os procedimentos de inspeção, limpeza e desinfecção (FERREIRA et al., 2013).

Embora a escolha do tipo de sistema de tratamento da água para hemodiálise seja crucial, a qualidade final da água depende também da manutenção e monitoramento do mesmo. As unidades de diálise devem manter um rígido programa mensal de limpeza e desinfecção do reservatório e da rede de distribuição (HOENICH, 2009; BRASIL, 2014). Os métodos utilizados para a desinfecção podem ser físicos, como radiação ultravioleta e aquecimento da água até 80°C, e/ou químicos, incluindo hipoclorito, formaldeído, ácido peracético e ozônio (COULLIETTE e ARDUINO, 2013).

Considerando-se a importância da qualidade da água utilizada para hemodiálise, mundialmente há diversas recomendações oficiais, publicadas por órgãos governamentais e por organizações internacionais, que tratam dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos que devem ser monitorados em águas empregadas nesse tipo de terapia (WARD, 2009). As recomendações mais amplamente utilizadas são as sugeridas pela “Associação para o Avanço da Instrumentação Médica”, dos EUA (AAMI, 2014), e as “Diretrizes Europeias de Melhores Práticas para Hemodiálise” (EBPG, 2002), que apresentam parâmetros similares a resolução brasileira vigente. E vale enfatizar que, nas últimas décadas, devido à crescente preocupação com a segurança dos pacientes, tem-se observado uma tendência global de redução nos valores máximos permitidos de vários parâmetros, principalmente dos microbiológicos (NYSTRAND, 2008; TOVBIN, 2019).

No Brasil, o atual padrão de qualidade da água para hemodiálise é

estabelecido pela RDC Nº 11, de 13 de março de 2014, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise (BRASIL, 2014). De acordo com a referida resolução: (1) a água de abastecimento do serviço de diálise deve ter o seu padrão de potabilidade em conformidade com a normatização vigente - Portaria de Consolidação MS Nº 5, de 28/09/2017 (BRASIL, 2017) - e sua qualidade deve ser monitorada e registrada diariamente (quanto a cor aparente, turvação, sabor, odor, cloro residual livre e pH), em amostras coletadas na entrada do reservatório de água potável e na entrada do subsistema de tratamento de água para hemodiálise; (2) a água tratada pelo sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise deve apresentar um padrão de qualidade conforme o estabelecido no Quadro I (BRASIL, 2014).

Quadro 1 - Padrão de qualidade da água para hemodiálise, segundo a RDC Nº 11/2014.

Componentes	Valor máximo permitido	Frequência de análise
Coliforme total	Ausência em 100 ml	Mensal
Contagem de bactérias heterotróficas	100 UFC/ml	Mensal
Endotoxinas	0,25 EU/ml	Mensal
Alumínio	0,01 mg/l	Semestral
Antimônio	0,006 mg/l	Semestral
Arsênico	0,005 mg/l	Semestral
Bário	0,1mg/l	Semestral
Berílio	0,0004 mg/l	Semestral
Cádmio	0,001 mg/l	Semestral
Cálcio	2 mg/l	Semestral
Chumbo	0,005mg/l	Semestral
Cloro total	0,1 mg/l	Semestral
Cobre	0,1 mg/l	Semestral
Cromo	0,014 mg/l	Semestral
Fluoreto	0,2 mg/l	Semestral
Magnésio	4 mg/l	Semestral
Merúrio	0,0002 mg/l	Semestral
Nitrato (N)	2 mg/l	Semestral
Potássio	8 mg/l	Semestral
Prata	0,005mg/l	Semestral
Selênio	0,09 mg/l	Semestral
Sódio	70 mg/l	Semestral
Sulfato	100 mg/l	Semestral
Tálio	0,002 mg/l	Semestral
Zinco	0,1mg/l	Semestral

Fonte: RDC Nº 11/2014 (BRASIL, 2014).

Ainda conforme a RDC Nº 11/2014, as amostras de água de hemodiálise para

fins de análises físico-químicas devem ser coletadas em um ponto após o subsistema de tratamento de água para hemodiálise e a condutividade deve ser monitorada continuamente, devendo ser ≤ 10 microSiemens/cm (mS/cm). Já as amostras de água de hemodiálise para fins de análises microbiológicas devem ser coletadas, no mínimo, no ponto de retorno da alça de distribuição (loop) e em um dos pontos na sala de reprocessamento. Enfatizando-se que, o nível de ação relacionado à contagem de bactérias heterotróficas (parâmetro que indica a necessidade de adoção de providências para identificação do foco de contaminação e intervenção preventiva), é de 50 UFC/mL (BRASIL, 2014).

Por fim, quanto a análise microbiológica do dialisato, esta deve ser realizada mensalmente e a contagem de bactérias heterotróficas não deve exceder 200 UFC/mL, com nível de ação de 50 UFC/mL (BRASIL, 2014).

Mesmo com a aplicação de inúmeros cuidados no tratamento e monitoramento da água para hemodiálise, vários estudos realizados em diversos países apontam diferentes contaminantes químicos e microbiológicos causando danos aos pacientes dialíticos (COULLIETTE e ARDUINO, 2013). A membrana semipermeável do dialisador é seletiva quanto ao tamanho da molécula, mas não a contaminantes específicos, assim, substâncias de baixo peso molecular podem atravessar livremente a barreira (HASEGAWA et al. 2015).

Contaminantes químicos na água de hemodiálise, quando presentes em concentrações suficientemente altas, podem causar intoxicações graves e/ou vários efeitos adversos. A elevada concentração de cloro, por exemplo, pode provocar hemólise, dor abdominal, dor torácica e lombar, náusea, vômito, diarreia e coagulação no capilar (COELHO et al., 2009, JUNGLEE et al., 2010). Já altos níveis de nitrato podem ocasionar, além de náusea e vômito, anemia e hipotensão (SUZUKI, 2016).

Historicamente, os metais presentes na água de hemodiálise já foram responsáveis por várias intoxicações graves, pois estes são capazes de modificar as reações enzimáticas, gerando uma ampla sintomatologia e provocando alterações em diversos sistemas. A exposição ao arsênio está associada a hipertensão, podendo causar danos severos nos sistemas renal, hematopoiético e hepático (SILVA e MOREIRA, 2009). O cádmio é um elemento extremamente tóxico, que tem efeitos carcinogênicos e provoca danos renais, hipertensão arterial, desnutrição,

alterações na memória, mudanças cognitivas e doença óssea (HSU et al., 2009; MOSSINI et al., 2014). Intoxicações agudas por chumbo em pacientes em hemodiálise podem ocasionar anemia, dor abdominal, anorexia, hipertensão, distúrbios neuromusculares e encefalopatias, podendo evoluir para o coma e a morte (SILVA e MOREIRA, 2009). Dos contaminantes metálicos presentes com maior frequência na água, o alumínio é o que causa maior problema aos pacientes com IRC. Em intoxicações agudas, os primeiros sintomas são feridas na boca e alterações gastrointestinais, ademais, o acúmulo do referido elemento pode favorecer o surgimento de anemia, devido à redução da absorção intestinal de ferro, assim como ocasionar doença óssea e distúrbios neurológicos. E ainda há evidências de que o complexo alumínio/ferritina também pode levar ao desenvolvimento da doença de Alzheimer (AL-NASERI et al., 2013, DE SOLE et al., 2013).

Quanto aos elementos traço essenciais, o zinco em excesso na água de hemodiálise pode provocar anemia hemolítica, febre, náusea, vômito, danos no pâncreas, diminuição dos níveis de HDL e até mesmo encefalopatias (SUZUKI, 2016). Já o excesso de cobre está relacionado a distúrbios gastrointestinais, hemólise e problemas renais, hepáticos, neurológicos e psiquiátricos (VASCONCELOS, 2012). Por fim, a presença de grandes quantidades de cálcio e magnésio produzem um quadro chamado “síndrome da água dura”, caracterizado pelo aparecimento de náuseas, vômitos, letargia, fraqueza muscular intensa e hipertensão arterial durante as sessões terapêuticas (SUZUKI, 2016).

Em 1993, em Chicago (EUA), o excesso de fluoreto na água de hemodiálise provocou intoxicação em 12 pacientes, dos quais três evoluíram para parada cardíaca e morte, logo após o término da diálise (ARNOW et al., 1994). A contaminação química por sulfato já causou calafrios, náusea, vômitos e febre em 16 pacientes de um centro dialítico na Geórgia (EUA), com duas mortes (SELENIC et al., 2004). Adicionalmente, metahemoglobinemia tóxica já foi relatada em um paciente em diálise domiciliar, após a contaminação por nitrato, presente na água do poço usada para o preparo do dialisato (CARLSON e SHAPIRO, 1970).

Em 2000, 16 pacientes sob terapia de hemodiálise em um hospital de Minas Gerais apresentaram reações hemolíticas relacionadas a resíduos de cloro e cloraminas existentes na água (CALDERARO e HELLER, 2001). Nos EUA, no

período de 1960 a 2007, ocorreram pelo menos 13 surtos e eventos adversos causados por intoxicações químicas associadas a água de hemodiálise, acometendo um total de 217 pessoas, com 14 mortes. De forma geral, as principais causas de exposição aos produtos químicos incluíram falhas no tratamento da água, contaminações do dialisato, problemas nos equipamentos e materiais de distribuição e lavagens inadequadas dos sistemas após a desinfecção (COULLIETTE e ARDUINO, 2013).

As contaminações microbiológicas representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes de hemodiálise (WANG et al., 2013, TOTARO et al., 2017, NOVOSAD et al., 2019). Teoricamente, a membrana intacta do dialisador deve impedir a passagem de bactérias e fungos do dialisato para o sangue do paciente, no entanto, reações pirogênicas e septicemias podem ocorrer devido a defeitos na integridade da membrana, contaminações durante o reprocessamento dos dialisadores ou falhas relacionadas ao equipamento em geral (JESUS e ALMEIDA, 2016; TOVBIN, 2019). Adicionalmente, endotoxinas, fragmentos de DNA, peptidioglicanos, muramilpeptídeos e outros componentes da parede celular microbiana podem atravessar a membrana do dialisador e estimular diretamente uma resposta imune, ou podem ainda provocar, de forma indireta, uma estimulação transmembranar de citonas pró-inflamatórias, e assim desencadear complicações intradialíticas agudas, como febre, calafrios, náuseas, vômitos, cefaleia, hipotensão, mialgias, alterações cardiovasculares e, até mesmo, choque séptico (ARCHIBALD et al., 2006; BOSSOLA et al., 2009; GLORIEUX et al., 2012).

Além das complicações agudas, vários estudos também apontam evidências de que a exposição permanente dos pacientes em tratamento dialítico a componentes microbianos indutores de citocinas, mesmo que em baixos níveis, podem contribuir significativamente para um quadro de micro-inflamação crônica, que pode estar envolvido na patogênese de várias complicações a longo prazo, incluindo amiloidose, desnutrição, resistência à eritropoietina, declínio da função renal residual, síndrome do túnel do carpo, aterosclerose e doenças cardiovasculares (FENDLEY e WARD, 2012; VADAKEDATH e KANDI, 2017).

Contaminantes microbiológicos presentes na água de hemodiálise foram responsáveis por 20 surtos de bacteremia e/ou reações pirogênicas nos EUA, envolvendo no mínimo 375 pacientes dialíticos, no período de 1969 a 2008

(COULLIETTE e ARDUINO, 2013). No Brasil, em 1996, também foi registrado um grande surto em um centro de diálise de Caruaru (PE), em consequência da contaminação da água por microcistinas produzidas por cianobactérias. Neste surto, aproximadamente 130 pacientes apresentaram mal-estar, alterações visuais, náuseas, vômitos, mialgia, distúrbios neurológicos e complicações hepáticas agudas, que culminaram com a morte de 52 indivíduos (AZEVEDO et al., 2002). No mesmo ano, Pisani et al. (2000) relataram um surto de bacteremia por *Pseudomonas aeruginosa*, isoladas de diferentes pontos do sistema de hemodiálise de uma unidade de Campinas (SP).

De fato, os pacientes submetidos à hemodiálise apresentam alto risco de infecções da corrente sanguínea, pois, além de necessitarem de acesso vascular repetido e prolongado, tais pacientes apresentam um sistema imunológico comprometido e frequentemente possuem comorbidades adicionais, tais como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e outras, que os tornam mais susceptíveis a infecções oportunistas e nosocomiais e mais vulneráveis a resultados adversos (KDIGO, 2013; SARAN et al., 2019).

As bacteremias representam a segunda causa de morte em pacientes renais crônicos, superadas apenas pelas doenças cardiovasculares (PRUTHI et al., 2013). Com elevada frequência, resultam em disfunções orgânicas graves, como sepse e choque séptico, que recentemente foram listadas como uma prioridade de saúde global pela Organização Mundial da Saúde (SINGER et al., 2016; GSA, 2017).

Comumente, as bacteremias em pacientes sob hemodiálise são causadas por microrganismos gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* (NGUYEN et al., 2017), e, em sua maior parte, são decorrentes de infecções pelo acesso vascular, principalmente devido a cuidados inadequados com o cateter (LOK e MOKRZYCKI, 2011; PADILLA-OROZCO et al., 2019). No entanto, nos últimos anos, tem-se observado uma alteração na epidemiologia dessas infecções, com crescentes taxas de patógenos gram-negativos, incluindo bacilos gram-negativos não fermentadores (MURRAY et al., 2015; SHIMON et al., 2018; LEAL et al., 2019).

Bacilos gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) são bactérias que durante muito tempo foram vistas como microrganismos comensais ou contaminantes, contudo, recentemente, surgiram como patógenos emergentes, causadores de diferentes tipos de infecções nosocomiais (KAKATI et al., 2016;

SIMGAMSETTY et al., 2016).

Amplamente distribuídos no ambiente em geral (solo, água, vegetais, animais e matéria orgânica em decomposição), os BGN-NF constituem um problema em ambiente hospitalar, inclusive em unidades de terapia renal substitutiva (BENACHINMARDI et al., 2014; SHIMON et al., 2018). Considerados oportunistas, afetando principalmente pacientes imunocomprometidos, tais microrganismos normalmente estão associados a episódios de infecções graves do sistema respiratório, sistema urinário, corrente sanguínea, pele, sítios cirúrgicos, entre outros (SILVA et al., 2012; BENACHINMARDI et al., 2014; ROHDE e WELTE, 2017; FAURE et al., 2018; GLIK et al., 2018; PARKINS et al., 2018).

Os BGN-NF são microrganismos aeróbios, não formadores de esporos, incapazes de utilizar carboidratos como fonte de energia por meio da fermentação, degradando-os apenas pela via oxidativa (CHIU et al., 2015). Devido à sua baixa atividade metabólica, em comparação com às enterobactérias por exemplo, a identificação bioquímica dessas bactérias é bem mais complexa (SU et al., 2009). Assim sendo, novos estudos filogenéticos baseados na sequência 16S do rRNA propiciaram inúmeras mudanças na classificação e nomenclatura desses microrganismos nas últimas décadas (SCHRÖTTNER et al., 2016).

Dentre os principais causadores de infecções em seres humanos encontram-se os gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, Complexo *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia* e *Achromobacter* (SILVA et al., 2012; DE-LAS-CASAS-CÁMARA et al., 2019; UC-CACHÓN et al., 2019), com destaque para a espécie *P. aeruginosa*, que é sem dúvida o BGN-NF mais isolado nos laboratórios de microbiologia clínica (EL CHAKHTOURA et al., 2018).

Com elevada frequência, os surtos decorrentes de infecções por BGN-NF em ambientes hospitalares e centros de hemodiálise estão relacionados à presença destas bactérias nos sistemas de água (DUCKI et al., 2005; WALKER et al., 2014; WALKER e MOORE, 2015; GARVEY et al., 2016, 2017). Especificamente em unidades de terapia renal substitutiva, já foram relatados vários surtos de bacteremia devido à água contaminada por *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter* spp. e outros bacilos, em decorrência de desinfecções inadequadas dos sistemas de tratamento e distribuição da água (PISANI et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2003; YAN et al., 2008), erros no

reprocessamento dos dialisadores (FLAHERTY et al., 1993; EDENS et al., 2017) e problemas relacionados as máquinas de hemodiálise, principalmente relativos a retrofiltração e drenagem dos resíduos (WANG et al., 1999; NOVOSAD et al., 2019).

Certamente, a resistência intrínseca dos BGN-NF aos antissépticos normalmente utilizados e a expressão de múltiplos fatores de virulência, incluindo enzimas, toxinas e componentes estruturais, contribuíram para ampliar a capacidade de sobrevivência dessas bactérias em diferentes cenários (DE ABREU et al., 2014). *P. aeruginosa*, por exemplo, é capaz de metabolizar uma grande variedade de compostos e proliferar em águas com baixos níveis de substratos orgânicos e sólidos dissolvidos, evidenciando-se assim a sua habilidade de adaptação em nichos ecológicos com baixa disponibilidade de nutrientes (LOVEDAY et al., 2014; MORADALI et al., 2017). Adicionalmente, *P. aeruginosa* exibe outros fatores de virulência - tais como síntese de adesinas, exoenzimas, proteases, elastases, fosfolipases, ramnolipídeos e pigmentos, motilidade e formação de biofilme - que aumentam seu êxito na patogenicidade dos processos infecciosos e na colonização dos mais variados ambientes (SOUSA e PEREIRA, 2014; NEWMAN et al., 2017; AHMED et al., 2019; ROCHA et al. 2019). Alguns estudos apontaram que essa multivalência da bactéria *P. aeruginosa* está associada ao seu genoma, relativamente extenso (FRESCHI et al., 2019). O alto número de genes conservados no código genético desse bacilo possibilita uma ampla versatilidade metabólica, aumenta a capacidade de infecção e patogenicidade e também facilita o desenvolvimento de resistência a drogas (VALOT et al., 2015; MATAR, 2018).

Aliás, atualmente, o que tem gerado uma enorme preocupação mundial em relação aos BGN-NF é o surgimento e disseminação de resistência aos antimicrobianos regularmente utilizados (GUERVIL et al., 2013; EL CHAKHTOURA et al., 2018; BITEW, 2019).

Com base em parâmetros como incidência, taxas de mortalidade, cronicidade da doença, opções disponíveis para tratamento, utilização de serviços de saúde e impacto social, os BGN-NF, especificamente *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, estão entre os seis patógenos bacterianos com maior prioridade para pesquisa e vigilância epidemiológica, pois, além de representarem as principais causas de infecções nosocomiais, são considerados uma ameaça global devido a capacidade de se tornarem cada vez mais resistentes aos antimicrobianos

disponíveis (LUPO et al., 2018; TÜMMLER, 2019).

Um estudo recente realizado na Etiópia apontou que mais de 80% dos BGN-NF isolados de amostras clínicas apresentaram resistência a vários antimicrobianos. Em suma, 81,5% dos isolados eram resistentes a múltiplas drogas (MDR - "Multidrug-resistant"), dos quais 13,3% eram extensivamente resistentes (XDR - "Extensively drug-resistant") e 10,4% eram resistentes a todos os agentes testados (PDR - "Pandrug-resistant") (BITEW, 2019). No Brasil, a ocorrência de *P. aeruginosa* multirresistente também já se tornou um problema endêmico (NEVES et al., 2011; SANTOS et al., 2015).

Além de apresentar resistência intrínseca a diversas drogas, devido a sua habilidade seletiva de impedir várias moléculas antimicrobianas de penetrarem em sua membrana externa ou então expulsá-las quando presentes (LIU et al., 2019a), *P. aeruginosa* possui ainda uma vasta capacidade de adquirir mecanismos de resistência (AZAM e KHAN, 2018; PACHORI et al., 2019). Dentre os principais mecanismos relacionados aos fenótipos multirresistentes dessa bactéria destacam-se a produção de enzimas β -lactamases, a diminuição na expressão de porinas, as alterações de alvos e a superexpressão de sistemas de efluxo (NEVES et al., 2011; POTRON et al., 2015; MARAOLO et al., 2017; LÓPEZ-CAUSAPÉ et al., 2018; EICHENBERGER e THADEN, 2019).

Suplementarmente é preciso considerar também que, além de ampliar a morbimortalidade associada a infecções, as crescentes taxas de resistência aos agentes antimicrobianos podem ainda fomentar o surgimento de graves complicações, em decorrência da aplicação de drogas mais tóxicas, como último recurso (SU et al., 2019).

Dentre os diversos fatores de virulência apresentados pelos BGN-NF, a capacidade de formar biofilme é sem dúvida um dos mais importantes (TOLKER-NIELSEN, 2015; GARCIA-CONTRERAS, 2016). Desde que o termo "biofilme" foi introduzido em 1978, muitos estudos têm buscado elucidar suas características de desenvolvimento e sua importância no contexto médico, ambiental e industrial (MAGANA et al., 2018).

Os biofilmes são responsáveis por cerca de 90% das infecções microbianas crônicas em seres humanos, com elevadas taxas de morbidade e mortalidade (ROMLING e BALSALOBRE, 2012; BJARNSHOLT et al., 2013). Frequentemente,

estão associados a infecções nosocomiais, por meio da colonização de dispositivos médicos, tais como próteses ortopédicas, válvulas cardíacas artificiais, stents coronários, cateteres intravasculares e urinários, implantes neurocirúrgicos, cocleares e mamários, instrumentos de assistência ventricular e oculares, entre outros (PERCIVAL et al., 2015; WU et al., 2015). Em centros de hemodiálise, os biofilmes também podem representar um problema, especialmente em decorrência do seu desenvolvimento nos sistemas de tratamento e distribuição de água (WILLIAMS et al., 2013; GARVEY et al., 2016; KANAMORI et al., 2016).

Em síntese, os biofilmes são comunidades microbianas constituídas por células sésseis, mono ou multiespécies, aderidas às superfícies bióticas ou abióticas, embebidas numa matriz de polímeros extracelulares, produzida pelos próprios microrganismos que a compõem, formada por uma mistura complexa de biomoléculas, incluindo proteínas, ácidos nucleicos, lipídios e, principalmente, exopolissacarídeos (EPS) (MAGANA et al., 2018). Nessa matriz, as bactérias estão significativamente mais protegidas das condições adversas do ambiente, da radiação UV, da variação de pH, do choque osmótico, da desidratação, das defesas imunes do hospedeiro e dos compostos antimicrobianos (RIBEIRO et al., 2016; LIU et al., 2019a; ZHANG et al., 2019a).

A formação e o desenvolvimento do biofilme é um fenômeno biológico complexo, que envolve basicamente as seguintes etapas: adesão inicial, adesão irreversível, maturação, desenvolvimento e dispersão (MONDS e O'TOOLE, 2009; CAIXETA et al., 2019).

A princípio, a adesão primária dos microrganismos a uma superfície é um processo reversível, que ocorre de forma aleatória ou através de mecanismos de quimiotaxia e mobilidade, devido a forças de Van der Waals, movimento Browniano, sedimentação, forças eletrostáticas, interações hidrofóbicas e interações entre receptores e ligantes de superfície (VAN OSS et al., 1986; MARTI et al., 2010). Se as condições locais forem favoráveis, as células consolidam o processo de adesão por meio da multiplicação celular e síntese da matriz exopolimérica, que além de reforçar a adesão, mantém as células unidas e protegidas, tornando a adesão irreversível (KERR et al., 2003). Logo em seguida, iniciam-se um conjunto de mudanças, inclusive com alterações na expressão de genes, que propiciam os processos de maturação e desenvolvimento do biofilme. A densidade e

complexidade do biofilme aumentam à medida que as células se dividem (ou morrem) e os componentes extracelulares gerados pelas bactérias interagem com moléculas orgânicas e inorgânicas do ambiente circundante. Nesta fase, o biofilme é constituído por aproximadamente 90% de material não celular, composto por microcanais internos, por onde circulam nutrientes, água e resíduos (ROY et al., 2018). Fatores como disponibilidade de nutrientes, pH, difusão de oxigênio, fonte de carbono e osmolaridade controlam a maturação e o desenvolvimento do biofilme, que quando completamente maduro, atua como um consórcio funcional de células, com padrões de crescimento alterados, cooperação fisiológica e eficiência metabólica (ROY et al., 2018). A comunicação microbiana no biofilme envolve um comportamento coletivo, mediado por moléculas sinalizadoras (“quorum sensing”), que regulam a expressão de genes específicos em resposta à densidade populacional (SAKURAGI e KOLTER, 2007; TOLKER-NIELSEN, 2015; LIU et al., 2019a). Quando o biofilme atinge uma determinada massa crítica e o equilíbrio dinâmico é alcançado, as camadas mais externas do biofilme começam a liberar células em estado planctônico, que podem rapidamente se dispersar e multiplicar, colonizando outras superfícies e organizando novos biofilmes (BOLES e HORSWILL, 2008; ROY et al., 2018).

Dois aspectos do biofilme são particularmente importantes no contexto deste estudo: 1) a estabilidade mecânica da matriz exopolimérica, que dificulta a ruptura do biofilme nos processos de desinfecção e limpeza; e 2) a maior tolerância aos antimicrobianos em geral, que pode ser duas ou três vezes superior à exibida pelas células planctônicas (ROY et al., 2018).

Alguns estudos apontaram que essa tolerância/resistência do biofilme pode estar relacionada a vários fatores, tais como a natureza e estrutura da matriz exopolimérica, que impede a difusão ativa das drogas (CIOFU et al., 2012), e as taxas de mutações mais elevadas e proximidade das bactérias, que favorecem a transferência de genes de resistência e determinantes de virulência (MA e BRYERS, 2013; CIOFU e TOLKER-NIELSEN, 2019).

O fato é que, clinicamente, as infecções associadas a biofilmes são difíceis de serem tratadas, pois geralmente as células sésseis apresentam valores mais altos de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), que podem ser tóxicos para os pacientes (WU et al., 2015; ROY et al., 2018), e, no

contexto ambiental, os biofilmes são difíceis de serem eliminados, devido a sua vasta tolerância aos agentes antimicrobianos e métodos regulares de limpeza e desinfecção (DOUTERELO et al., 2016). A título de exemplo, as concentrações de cloro normalmente utilizadas nos tratamentos de água potável no Brasil parecem ser insuficientes para remover os biofilmes formados nos sistemas de distribuição da mesma (FLEMMING et al., 2002; BATTÉ et al., 2003). Ademais, de acordo com Suman et al. (2013), concentrações subinibitórias de cloro nos sistemas de água de hemodiálise podem estimular ainda mais a formação de biofilmes bacterianos, uma vez que na presença de condições adversas, os microrganismos podem sofrer alterações favoráveis ao desenvolvimento de células sésseis, como um mecanismo de proteção.

Por isso, os estudos relacionados a formação e erradicação de biofilmes representam uma importante área de pesquisa na atualidade. Algumas estratégias para eliminá-los concentram-se em diferentes modos de ação voltados para a inibição da adesão dos microrganismos à superfície, inibição de moléculas de sinalização que atuam na modulação do desenvolvimento do mesmo (inibidores de “quorum sensing”) e desagregação da matriz exopolimérica (WU et al., 2015; GARCIA-CONTRERAS, 2016; ROY et al., 2018; SOLER-ARANGO et al., 2019).

Desde a segunda metade do século XX, a incidência de infecções fúngicas tem aumentado consideravelmente, sobretudo devido à crescente população de indivíduos imunocomprometidos (DURÁN GRAEFF et al., 2017).

Naturalmente, os fungos são ubíquos, encontrados disseminados no solo, na água e no ar (onde quer que ocorra matéria orgânica), participando ativamente do ciclo dos elementos na natureza. Conhecidos como saprófitas do ambiente, tais microrganismos podem se comportar como patógenos primários, afetando indivíduos imunocompetentes, todavia, geralmente são considerados patógenos oportunistas, pois acometem especialmente indivíduos com deficiências imunológicas e outras comorbidades (JEREZ PUEBLA, 2012; DEORUKHKAR et al., 2014).

Em suma, no contexto médico, os fungos são responsáveis por um amplo espectro de doenças, que variam desde pequenas infecções superficiais da pele e das mucosas até infecções profundas e/ou sistêmicas (NUCCI e MARR, 2005), que atualmente representam um grande problema no ambiente hospitalar (RUIZ e RICHNI-PEREIRA, 2016).

Historicamente, *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e *Pneumocystis jiroveci* enquadraram-se como os principais patógenos causadores de infecções nosocomiais invasivas, entre os fungos leveduriformes (BROWN et al., 2012; RUIZ e RICHNI-PEREIRA, 2016). Infecções na corrente sanguínea por *Candida* spp. (candidemias) constituem a maioria das infecções fúngicas registradas em ambiente hospitalar, com taxas de mortalidade variando entre 30-50% (PFALLER e DIEKEMA, 2010). Já quanto aos fungos filamentosos, destaca-se o gênero *Aspergillus*, que são responsáveis por taxas de mortalidade extremamente elevadas (55-95%) (KLINGSPOR et al., 2015). Sobretudo, ressalta-se ainda que, nos últimos anos, outras leveduras, tais como *Trichosporon* spp., *Saccharomyces* spp. e *Rhodotorula* spp., e também diversos fungos filamentosos, incluindo *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp. e *Scedosporium* spp., têm sido isolados com maior frequência de infecções invasivas, surgindo como importantes patógenos emergentes (ANTAS et al., 2012; EVANS e OST, 2015).

Os fatores de risco para o desenvolvimento e aumento da incidência de infecções fúngicas incluem a própria doença de base do hospedeiro, uso prolongado de drogas de amplo espectro, corticosteróides, antineoplásicos e imunossupressores agressivos, procedimentos cirúrgicos de grande complexidade, nutrição parenteral, perda da integridade das barreiras naturais, uso de cateteres intravasculares de longa permanência, transplantes, entre outros (MICELI et al., 2011; PEMÁN et al., 2013).

Inúmeros estudos realizados em diversos países apontaram que o sistema de distribuição de água parece ser um importante reservatório de fungos filamentosos e leveduras, sendo a água de ambientes hospitalares uma das principais vias de disseminação desses microrganismos (ANAISSIE e COSTA, 2001; WARRIS et al., 2001; ANAISSIE et al. 2002; NUCCI et al., 2002; HAPCIOGLU et al., 2005; KENNEDY e WILLIAMS, 2007; DECKER e PALMORE, 2013; MESQUITA-ROCHA et al., 2013; WILLIAMS et al., 2013; MÉHEUST et al., 2014; ARROYO et al., 2020).

A ocorrência de fungos possivelmente patogênicos em água potável já está bem documentada na literatura, com o isolamento dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Phoma*, *Curvularia*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Pithomyces*, *Acremonium*, *Phialophora*, *Paecilomyces*, *Exophiala*, *Nigrospora*, *Pestalotiopsis*, *Cunninghamella* e outros (GÖTTLICH et al., 2002; HAGESKAL et al.,

2009; OLIVEIRA, 2010; SAMMON et al., 2010). Sabe-se que esses microrganismos podem crescer em sistemas de abastecimento de água, mesmo na presença de padrões adequados de tratamento/cloração, e que seus esporos podem permanecer viáveis por longos períodos (ARVANITIDOU et al., 2000; ANAISSIE et al., 2001; ZHANG et al., 2006), no entanto, a real relação entre a ocorrência de fungos e a qualidade da água potável ainda não está completamente esclarecida (GONÇALVES et al., 2006; NOVAK BABIČ et al., 2017).

Com relação a água tratada para hemodiálise, conforme relatado anteriormente, esta exige uma rigorosa qualidade microbiológica, uma vez que é amplamente empregada nesse processo terapêutico, que regularmente atende pacientes com o sistema imunológico comprometido e com outras doenças associadas (SCHIAVANO et al., 2014). Contudo, os estudos sobre a presença de fungos em águas de hemodiálise ainda são escassos e necessitam de maior atenção (LI e CHOW, 2011).

De acordo com alguns relatos, são frequentes os casos de peritonites causadas por fungos em pacientes renais crônicos que realizam diálise peritoneal, envolvendo principalmente *Curvularia* spp., *Trichosporon* spp., *Penicillium* spp. e *Candida* spp. (HUANG et al., 2000; BIBASHI et al., 2003; MADARIAGA et al., 2003; PIMENTEL et al., 2005, LIU et al., 2006; UNAL et al., 2011). Já quanto aos pacientes submetidos à hemodiálise especificamente, a maioria dos casos de fungemias descritos até o momento estão relacionados ao acesso vascular (NGUYEN et al., 1996; ALEXANDRAKI et al., 2008; PYRGOS et al., 2009). Em 2003, Labriola et al. (2009) relataram um caso de fungemia por *Paecilomyces lilacinus* em Marrocos, associada a cateter, e, aditivamente, infecções da corrente sanguínea causadas por *Phialemonium* spp. também já foram registradas em unidades de hemodiálise dos EUA (PROIA et al., 2004; CLARK et al., 2006). Ademais, Rao et al. (2009) evidenciaram dois pacientes de hemodiálise com fungemia por *Phialemonium curvatum*, cuja a fonte das infecções foi relacionada a água propriamente.

Habitualmente, quatro classes principais de antifúngicos são utilizadas no cenário clínico para tratar infecções fúngicas: 1) poliênicos, representados pela anfotericina-B (e suas diferentes formulações), que atuam na membrana plasmática; 2) pirimidinas, como flucitosina, que promovem a inibição da síntese de ácidos nucleicos; 3) azóis, com vários derivados, tais como itraconazol, fluconazol,

voriconazol, miconazol, posaconazol e ravuconazol, que interferem na síntese do ergosterol; e 4) equinocandinas, incluindo anidulafungina, caspofungina e micafungina, que inibem a síntese de glucanas da parede celular de diversos fungos patogênicos (ALASTRUEY-IZQUIERDO et al., 2015).

Nos últimos anos, as constantes falhas no tratamento das micoses em geral têm chamado a atenção da comunidade médico-científica para a problemática da resistência aos antifúngicos e dos mecanismos moleculares envolvidos neste fenômeno (PFALLER, 2012; ALCAZAR-FUOLI e MELLADO, 2014).

A resistência aos antimicrobianos pode ser definida em termos microbiológicos e clínicos. A resistência microbiológica se refere à reduzida susceptibilidade do microrganismo ao agente antimicrobiano pelo ensaio de sensibilidade *in vitro*, no qual a concentração inibitória mínima (CIM) do fármaco ultrapassa o limite superior do ponto de corte definido para esse microrganismo (KANAFANI e PERFECT, 2008; ESPINEL-INGROFF, 2008). Este tipo de resistência, por sua vez, abrange a resistência primária (ou intrínseca), que está presente em um organismo sem prévia exposição aos fármacos, e a resistência secundária (ou adquirida), que é aquela desenvolvida em resposta à exposição a essas substâncias e que, geralmente, é dependente de uma alteração na expressão de genes (PFALLER, 2012). *Candida krusei* e *Candida glabrata*, por exemplo, são intrinsecamente resistentes ao fluconazol, enquanto resistências secundárias podem ser observadas em outras espécies deste gênero (TOBUDIC et al., 2012; ARENDRUP et al., 2013). Já a resistência clínica, esta é definida como a persistência de uma infecção, mesmo após a administração de um agente antifúngico que demonstra nos testes de sensibilidade *in vitro* uma baixa concentração inibitória mínima (CIM) contra o patógeno causador da doença (TOBUDIC et al., 2012). Vários fatores podem determinar a ocorrência deste tipo de resistência, incluindo fatores do hospedeiro, fatores farmacológicos e fatores ligados ao próprio fungo (ESPINEL-INGROFF, 2008).

Com o surgimento de fungos emergentes, a preocupação com a resistência aos antifúngicos disponíveis tornou-se ainda mais pertinente, sendo muito importante o desenvolvimento de pesquisas de susceptibilidade aos fármacos, a fim de ampliar o conhecimento da epidemiologia e ecologia desses microrganismos (ALCAZAR-FUOLI e MELLADO, 2014).

Nas últimas décadas, alguns estudos documentaram a capacidade de determinados fungos patogênicos e oportunistas de formar biofilme (JABRA-RIZK et al., 2004; PIRES et al., 2011; NOBILE e JOHNSON, 2015; MONTOYA et al., 2018). Essa característica representa um importante fator de virulência, especialmente em centros de hemodiálise, pois, conforme relatado anteriormente, a formação de biofilme pode facilitar a colonização, o crescimento e a proliferação dos microrganismos nos sistemas de tratamento e distribuição de água (SARDI et al., 2014), além de propiciar maior resistência aos procedimentos de limpeza e desinfecção (RAMAGE et al., 2012), já que notadamente os microrganismos em biofilmes são menos susceptíveis aos agentes antimicrobianos, em comparação com as células planctônicas (MELO et al., 2011; MONTOYA et al., 2018).

Factualmente, *Candida albicans* é o principal fungo descrito na literatura quanto a capacidade de formação de biofilme, sendo amplamente estudada (MICELI et al., 2011). Outras espécies do gênero *Candida*, incluindo *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei*, e outras leveduras, como *Cryptococcus* spp., também podem produzir biofilme e, de acordo com diversas pesquisas, a formação de biofilme por estes microrganismos está fortemente associada a infecções sistêmicas de alta mortalidade (UPPULURI et al., 2010; PANNANUSORN et al., 2012; TUMBARELLO et al., 2012).

Além das leveduras, os fungos filamentosos também parecem ser capazes de formar biofilme, porém, os dados referentes a estes microrganismos ainda são escassos (HARDING et al., 2009; RAMAGE et al., 2012) e, muitas vezes, limitados a investigações em água potável (SIQUEIRA et al., 2011). Doggett (2000), por exemplo, analisou os biofilmes do sistema municipal de distribuição de água de Springfield, nos EUA, e observou 39 espécies de fungos, sendo os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* os mais abundantes.

Segundo Harding et al. (2009), o processo de formação e desenvolvimento de biofilme por leveduras é bastante semelhante ao observado em bactérias, incluindo as etapas de (i) adsorção, (ii) adesão, (iii) formação de microcolônia, (iv) biofilme maduro e (v) dispersão. Já para os fungos filamentosos, os referidos autores propuseram um modelo um pouco diferente, que engloba os seguintes estágios: (i) adsorção, (ii) adesão ativa, (iii) microcolônia I (germinação e/ou monocamada), (iv) microcolônia II (desenvolvimento micelial, camada de hifa, agregação), (v) biofilme

maduro e (vi) dispersão ou fase planctônica (HARDING et al., 2009).

Assim como evidenciado em bactérias, a formação e o desenvolvimento dos biofilmes fúngicos é um processo fortemente regulado e depende das condições ambientais e da sinergia da expressão de vários genes, que controlam algumas características dos microrganismos, desde as associadas à sobrevivência até as determinantes de patogenicidade (RAMAGE et al., 2012).

Por conseguinte, conhecer a virulência dos fungos através da sua capacidade de formação de biofilme pode contribuir para o entendimento do papel destes microrganismos no desenvolvimento das doenças e trazer informações importantes para o aprimoramento das estratégias de tratamento e desinfecção (SARDI et al., 2014).

Certamente, os avanços técnicos em relação ao tratamento da água para hemodiálise contribuíram significativamente para a redução da incidência de complicações microbiológicas em pacientes dialíticos ao longo do tempo. No entanto, recentes estudos conduzidos em diversos países ainda apontaram inúmeras contaminações da água e do dialisato por diferentes bactérias e fungos (IBRAHIM, 2010; MAHMOUDABADI et al., 2011; AL-NASERI et al., 2013; MOSSINI et al., 2014; SCHIAVANO et al., 2014; HEIDARIEH et al., 2016; SHAHRYARI et al., 2016; TOTARO et al., 2017; MONTANARI et al., 2018; ABUALHASAN et al., 2018).

Dentre os diversos fatores que contribuem para a ocorrência de contaminações microbianas nos sistemas de tratamento e distribuição de água para hemodiálise destacam-se: 1) a própria composição do dialisato, que devido a presença de nutrientes orgânicos e pH elevado pode atuar como um caldo nutritivo, favorecendo o crescimento de microrganismos; 2) alguns fatores físicos do circuito hidráulico, como pontos cegos, baixo fluxo e áreas de estagnação de água, que favorecem a formação de biofilmes; e 3) a remoção do cloro da água no processo de filtração da mesma, que é essencial para evitar reações hemolíticas nos pacientes, mas facilita o crescimento microbiano (HOENICK et al., 2006; BOLASCO et al., 2012; CHEN et al., 2017a). Suplementarmente, sem dúvida, a reutilização dos dialisadores também contribui para o surgimento de complicações dialíticas, uma vez que o reprocessamento torna-os vulneráveis a contaminação pela água usada no enxágue, a desinfecção inadequada e a possíveis alterações na permeabilidade da membrana (COULLIETTE e ARDUINO, 2013).

Portanto, ponderando todo o exposto e considerando ainda que a atual resolução brasileira, que dispõe sobre os padrões de qualidade da água para hemodiálise, não engloba a investigação direta de microrganismos patogênicos (apenas de microrganismos indicadores), mais pesquisas relacionadas a análises de águas tratadas e dialisatos de unidades de hemodiálise fazem-se extremamente necessárias e relevantes.

2. OBJETIVO

Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de amostras de água tratada e dialisato de centros de hemodiálise, localizados no município de Bauru, Estado de São Paulo, Brasil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Conselho Técnico Científico do Instituto Adolfo Lutz (CTC/IAL), registrado sob o número 49-J/2017, e também pelas comissões científicas dos centros de hemodiálise participantes da pesquisa (Anexo I).

3.2. Coleta e transporte das amostras

As amostras de água tratada para hemodiálise e dialisato foram colhidas em três centros de hemodiálise, denominados A, B e C, localizados no município de Bauru, interior do Estado de São Paulo, Brasil.

As coletas foram realizadas quinzenalmente, durante um ano, no período de julho de 2017 a junho de 2018, nos seguintes pontos dos sistemas de tratamento e distribuição de água: (i) logo após o tratamento (pós-osmose reversa), (ii) na sala de reprocessamento dos dialisadores (reuso) e (iii) na máquina de diálise (dialisato) - totalizando 24 amostras em cada ponto, 72 em cada centro e 216 no geral.

As amostras foram colhidas em frascos de polipropileno estéreis (volume aproximado de 500 mL), de forma asséptica, depois da desinfecção do ponto de coleta com álcool 70% e escoamento da água por 1-2 minutos, seguindo as recomendações descritas no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2012).

Após as coletas, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração em recipientes térmicos e encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz, Centro de Laboratório Regional de Bauru (IAL - CLR Bauru), onde foram realizadas as análises laboratoriais.

3.3. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no mesmo dia da coleta das amostras e englobaram condutividade, fluoreto, nitrato (como N) e sulfato. Devido à estabilidade desses parâmetros, as avaliações foram feitas em um único ponto dos sistemas de tratamento e distribuição de água, especificamente no ponto logo após o tratamento (pós-osmose reversa).

As análises foram conduzidas de acordo com o “Standard Methods for the

Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2012) e com as “Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz” (IAL, 2005), utilizando-se as seguintes metodologias: condutometria para condutividade, potenciometria com eletrodo íon seletivo para fluoreto, espectrofotometria UV com leitura direta da absorbância em 205 nm para nitrato e turbidimetria, com comparação visual, para sulfato.

3.4. Análises microbiológicas

3.4.1. Isolamento dos microrganismos

As análises microbiológicas foram iniciadas logo após a coleta das amostras, em um prazo máximo de duas horas. Os microrganismos investigados incluíram coliformes totais, *Escherichia coli*, bactérias heterotróficas, BGN-NF e fungos.

Coliformes totais e *E. coli* foram avaliados qualitativamente utilizando-se o substrato cromogênico ONPG-MUG (Colilert®), que detecta tais microrganismos simultaneamente em 100 mL da amostra, após incubação a $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}/24\text{-}28\text{h}$ (APHA, 2012).

A contagem de bactérias heterotróficas (UFC/mL) foi realizada por meio da técnica de plaqueamento em profundidade (“pour plate”), com inoculações de 1 mL e 0,1 mL da amostra (em duplicata) em ágar padrão para contagem (“Plate Count Agar” - PCA) e incubação a $35^{\circ}\text{C}/48\text{h}$ (APHA, 2012).

Para a pesquisa de BGN-NF foi utilizada a técnica de membrana filtrante, com filtração de 100 mL da amostra, em membrana com porosidade de $0,45\ \mu\text{m}$, e incubação a $35^{\circ}\text{C}/72\text{h}$ em ágar Cetrimide (ARVANITIDOU et al., 2003; SIMÕES e PIRES, 2004; ROGUES et al., 2007; REIS, 2010). Após a incubação, as colônias foram contadas, considerando-se as características macroscópicas destas, e uma colônia representativa foi selecionada e transferida para uma placa de ágar nutriente, com incubação a $30^{\circ}\text{C}/24\text{-}72\text{h}$. Desta placa, selecionou-se uma colônia bem isolada, que foi então armazenada em ágar gelose (caldo comum acrescido de ágar), para posterior identificação e realização de análises complementares.

Por fim, o isolamento de fungos filamentosos e leveduras foi efetuado por meio da técnica de plaqueamento em superfície (“spread plate”), inoculando-se 0,1 mL da amostra em ágar Sabouraud dextrose, suplementado com cloranfenicol (0,05 g/L), com incubação a $25^{\circ}\text{C}/15\ \text{dias}$ (APHA, 2012). Durante este período, as placas

foram examinadas diariamente após o terceiro dia e, quando presentes, as colônias foram contadas, de acordo com suas características morfológicas. Dentre as colônias com as mesmas características, uma colônia foi selecionada e subcultivada em um tubo com ágar Sabouraud dextrose, suplementado com cloranfenicol (0,05 g/L), para a condução de testes futuros.

3.4.2. Identificação dos bacilos gram-negativos não fermentadores

3.4.2.1. MALDI-TOF

Os BGN-NF isolados foram identificados com o auxílio da técnica “Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry” (MALDI-TOF), utilizando-se o espectrômetro de massa, modelo MALDI Biotyper Systems (Bruker, Billerica, MA, EUA), disponível no Centro de Bacteriologia do IAL - Laboratório Central.

Inicialmente, os isolados foram submetidos à extração de proteínas, de acordo com Hijazin et al. (2012). Em síntese, uma amostra de cultivo bacteriano recente em ágar infusão de cérebro e coração (BHI) foi diluída em microtubo contendo 500 µL de etanol 70% e, em seguida, foi centrifugada (13.000xg/2min). Então, descartou-se o sobrenadante e adicionou-se ao sedimento 50 µl de ácido fórmico (70%) e 50 µl de acetonitrila pura. Após agitação, essa suspensão foi novamente centrifugada (13.000xg/2min) e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e armazenado a -20°C.

Para a captura dos espectros proteicos, 1 µL da suspensão proteica foi colocada na placa de aço do MALDI-TOF e deixada secar à temperatura ambiente. Após secagem, a amostra foi então revestida com 1 µL de matriz polimérica (composta por ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico, diluído em acetonitrila 50%, e ácido trifluoroacético 2,5%). A captura dos espectros foi realizada no software FlexControl® (Bruker Daltonik), pelo método MTB_autoX, com amplitude de 2-20 kDa. Proteínas ribossômicas de *E. coli* (“Bacterial Test Standard” - BTS) (Bruker Daltonik) foram utilizadas para a calibração externa do espectrofotômetro e para cada amostra foram realizadas três leituras.

Os espectros foram analisados pelo programa BioTyper® 3.0 (Bruker Daltonik), comparando-se o espectro da amostra investigada com os espectros

disponíveis no banco de dados de referência. Basicamente, o programa calcula um valor de similaridade entre os espectros - [log (score) value] - considerando a proporção, a frequência e a intensidade dos picos correspondentes. Os valores variam de 0 (sem similaridade) a 3 (identidade absoluta) e foram interpretados, conforme recomendação do fabricante: [log (score) value] $\geq 2,0$ foram aceitos para identificação em nível de espécie, [log (score) value] $\geq 1,7$ e $< 2,0$ foram utilizados apenas para a atribuição do gênero e [log (score) value] $< 1,7$ foram considerados indicativos de espectro não adequado para identificação por MALDI-TOF.

3.4.2.2. Biologia molecular

Os isolados bacterianos que não foram identificados por MALDI-TOF foram submetidos a avaliação molecular do gene 16S rRNA.

A extração do material genético foi realizada por meio da técnica de lise térmica. Em suma, três ou quatro colônias bacterianas foram dissolvidas em 1 ml de água ultrapura estéril, sendo essa suspensão aquecida (95°C/10min) e, logo em seguida, centrifugada a 4°C (12.000 RPM/10min). Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um microtubo e armazenado a -20°C.

A amplificação do gene de interesse foi realizada por PCR, com os *primers* fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e rD1 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3'), que amplificam fragmentos de aproximadamente 1.500 pb (WEISBURG et al., 1991). A PCR foi efetuada em volume final de 20 μ L, contendo 7 μ L de água ultrapura, 0,5 μ L de cada *primer* (fD1 e rD1 - com concentração de 10 μ M), 10 μ L de GoTaq® colorless Master Mix (Promega) e 2 μ L de DNA. A amplificação consistiu em desnaturação inicial a 95°C/5min, 38 ciclos de desnaturação a 95°C/1min, anelamento a 50°C/45seg e extensão a 72°C/1min, seguido de extensão final a 72°C/5min, utilizando o termociclador Veriti (Applied Biosystems, IL, EUA). A visualização do material amplificado foi avaliada em gel de agarose a 1% e a eletroforese foi realizada a 90 V, por 40 minutos. Em seguida, o gel foi corado com brometo de etídio e visualizado em fotodocumentador de géis (DNR Bio Imaging System, Neve Yamin, Israel), sob luz ultravioleta.

O produto amplificado pela PCR foi purificado com ExoSAP-IT (Affymetrix) (5 μ L de DNA amplificado + 1 μ L de ExoSAP-IT) e incubado a 37°C/15min para a ativação da enzima, logo após, a 80°C/15min para a inativação da mesma, e, em

seguida, a 4°C para a manutenção até o momento do uso.

A partir do produto amplificado purificado, procedeu-se então uma nova PCR, com a utilização de nucleotídeos ddNTP marcados com fluoróforos (Big Dye®, Applied Biosystems). Essa reação foi preparada com 0,875 µL de água ultrapura, 0,875 µL de buffer 5X para Big Dye®, 0,25 µL de Big Dye®, 2 µL do *primer* de interesse (apenas *forward* ou *reverse* - com concentração de 0,6 µM) e 1 µL de DNA purificado, sendo realizada ao abrigo da luz, em placa de 96 poços. Os *primers* utilizados incluíram: 690F (5'-GTGAAATGCGTAGA-3'), 790R (5'-ATTAGATACCCTGGTAG-3'), 981F (5'-CCCGCAACGAGCGCAACCC-3'), 981R (5'-CCCGCAACGAGCGCAACCC-3'), 1068F (5'-GTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG-3'), 1230F (5'-TACACACGTGCTACAATG-3'), 1390F (5'-GGGCCTTGTACACACCG-3') e U3F (5'-AGTGCCAGCAGCCGCGGTAA-3') (SACCHI et al., 2002; JAMES, 2010). A referida placa foi incubada em um termociclador Veriti (Applied Biosystems, IL, EUA), com o seguinte perfil de ciclagem: 96°C/10min e 25 ciclos de 96°C/10seg, 50°C/5seg e 60°C/4min.

Após a amplificação, realizou-se a purificação do excesso de ddNTP, conforme o protocolo de precipitação com etanol-acetato, de acordo com as instruções do fabricante. Em cada poço com o produto da reação com Big Dye® foram adicionados 15 µL de água ultrapura e 80 µL de solução NaOAc (95%). Em seguida, a placa foi deixada em temperatura ambiente por 15 minutos e depois foi centrifugada (2.000xg/45min/4°C). O sobrenadante foi descartado, a placa invertida em papel absorvente e submetida, em posição invertida, a nova centrifugação (500xg/1min), para a retirada do excesso de reagente. Então, adicionou-se 150 µL de etanol 70% em cada poço da placa, submetendo-a novamente a centrifugação (2.000xg/10min/4°C). Mais uma vez, o conteúdo da placa foi dispensado e invertido sobre papel absorvente, com mais uma centrifugação (500xg/1min), em posição invertida, para a retirada do excesso de etanol. Finalmente, a placa foi armazenada ao abrigo da luz e a -20°C, até a realização do sequenciamento.

As reações de sequenciamento foram realizadas no Laboratório Estratégico do IAL - Laboratório Central, pelo método de Sanger, utilizando-se o equipamento Sequenciador ABI 3730 (Applied Biosystems, IL, EUA). Os produtos precipitados na placa foram ressuspensos em formamida Hi-Di (Applied Biosystems) e as sequências *sense* e *antisense* de cada um dos alelos foram consideradas para a

formação do *contig*, que foi submetido à análise de identificação, utilizando-se os bancos de dados dos sites <https://www.ezbiocloud.net/>, <http://www.sepsitest-blast.de/en/index.html> e <https://microbenet.cdc.gov/>.

3.4.3. Teste de susceptibilidade dos isolados bacterianos aos agentes antimicrobianos

Os isolados de *P. aeruginosa* e Complexo *B. cepacia* foram submetidos a testes de sensibilidade *in vitro* aos agentes antimicrobianos, por meio do método de disco-difusão em ágar (especificamente, ágar Muller-Hinton) (BAUER et al., 1966).

As cepas de *P. aeruginosa* foram avaliadas frente as seguintes drogas, com incubação a $35\pm 2^{\circ}\text{C}/16-18\text{h}$: ticarcilina/ácido clavulânico (75/10 µg), piperacilina/tazobactam (100/10 µg), ceftazidima (30 µg), cefepima (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), aztreonam (30 µg), levofloxacina (5 µg), ciprofloxacina (5 µg), amicacina (30 µg), gentamicina (10 µg), tobramicina (10 µg) e netilmicina (30 µg). *P. aeruginosa* ATCC 27853 foi utilizada como controle de qualidade do teste.

As cepas do Complexo *B. cepacia* foram submetidas a ceftazidima (30 µg), meropenem (10 µg), minociclina (30 µg) e sulfametoxazol/trimetoprima (1,25/23,75 µg), com incubação a $35\pm 2^{\circ}\text{C}/20-24\text{h}$. Nesses testes, utilizou-se como controle de qualidade, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *E. coli* ATCC 25922.

As leituras e interpretações dos resultados foram realizadas de acordo com os critérios estabelecidos pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2018), classificando-se os isolados como sensíveis (S), intermediários (I) ou resistentes (R) aos agentes antimicrobianos testados.

3.4.4. Investigação da capacidade de formação de biofilme dos isolados bacterianos

Alguns isolados bacterianos com importância clínica já bastante documentada na literatura foram avaliados quanto a possível capacidade de formação de biofilme, sendo as análises realizadas em placas de microtitulação de poliestireno, conforme Stepanović et al. (2007), com pequenas modificações.

Inicialmente, as cepas isoladas foram cultivadas em caldo BHI a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$. Após o crescimento, a cultura foi diluída até $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (escala 0,5 de

McFarland) e alíquotas de 200 µL dessa diluição, suplementada com 1% de glicose, foram distribuídas, em quadruplicata, nos poços da placa de microtitulação e incubadas a 35°C/48h. Decorrido este período, os poços da placa foram lavados três vezes com solução salina tamponada (PBS, pH 7,2) e corados com cristal violeta 1% por 15 minutos. Após três lavagens com água destilada, a placa foi mantida a temperatura ambiente durante 10 minutos e, em seguida, procedeu-se a ressuspensão do biofilme com 200 µL de ácido acético 33%, por 10 minutos. A leitura da absorbância à 570 nm foi realizada em espectrofotômetro de placa Epoch™2 (Biotek, Winooski, Vermont, EUA) e um branco (BHI não inoculado) foi utilizado para corrigir o valor da absorbância. Após a correção - considerando-se a média da densidade óptica da amostra (D.O.) subtraída da média da densidade óptica do branco (D.O.c) - os isolados foram classificados como não produtores, fracos, moderados ou fortes produtores de biofilme, sendo: $D.O. \leq D.O.c$ não produtor; $D.O.c < D.O. \leq (2 \times D.O.c)$ fraco produtor; $(2 \times D.O.c) < D.O. \leq (4 \times D.O.c)$ moderado produtor; $D.O > (4 \times D.O.c)$ forte produtor. Como controle positivo foi utilizada a cepa padrão de *P. aeruginosa* ATCC 9027.

3.4.5. Eletroforese em gel de campo pulsado (“Pulsed Field Gel Electrophoresis” - PFGE)

A fim de determinar a similaridade genética entre os microrganismos isolados, os isolados de *P. aeruginosa*, Complexo *B. cepacia*, *R. insidiosa* e *R. pickettii* foram analisados em relação aos seus perfis de fragmentação do DNA cromossômico, pela ação de enzimas de restrição, obtidos pela separação por eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE).

A princípio, os isolados foram semeados em tubos contendo caldo BHI, com crescimento *overnight* a 35°C. Após o crescimento, o caldo foi semeado em placas de ágar triptona de soja (TSA), incubadas a 35°C/24h, para o preparo da suspensão bacteriana em tampão de suspensão celular (Tris 100 mM, EDTA 100 mM, pH 8,0), com densidade óptica de 0,8 a 1,0 em espectrofotômetro a 610 nm. Em seguida, 200 µL da suspensão celular foram transferidos para um tubo de microcentrífuga, adicionados de 10 µL proteinase K (20 mg/mL) e 5 µL lisozima (40 mg/mL) e homogeneizados com o mesmo volume de agarose low melting a 1,2% em solução de Tris-EDTA (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0). Essa mistura foi colocada em

moldes plásticos (plug), que acompanham o equipamento Chef Mapper (Bio-Rad), sendo estes incubados a 54°C/2h, sob agitação constante de 120 RPM, em 5 mL de tampão de lise celular (Tris 50 mM, EDTA 50 mM, pH 8,0, 1% de sarcosyl, 0,1 mg/mL de proteinase K). Procederam-se então seis lavagens - duas com 10 mL de água Milli-Q estéril e quatro com 10 mL de tampão TE - com duração de 15 minutos cada, a 50°C e agitação de 120 RPM. A partir de cada plug de agarose, cortou-se um fragmento de aproximadamente 2 mm para a digestão overnight, utilizando-se 30 U da enzima de restrição *SpeI* (Thermo Scientific). A seguir, os plugues foram colocados em gel de agarose low melting a 1% em tampão TBE (0,5X) e procedeu-se a corrida no Chef Mapper (Bio-Rad), com os seguintes parâmetros: pulso inicial de 2,2 segundos, pulso final de 54,2 segundos, voltagem de 6 V/cm e ângulo de 120° - no total de 19 horas. A cepa *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Braenderup ATCC H9812 foi usada como *ladder*. Após o término da corrida, o gel foi corado com 30 µL de brometo de etídio por 40-45 minutos e analisado e fotografado em analisador de imagens (Alphaimager - Alpha Easy FC Software - Alpha Inotech Corporation) (GAUTOM, 1997 - modificado). Por fim, as imagens foram depositadas no software Bionumerics (versão 7.6), para comparações dos produtos da digestão, e o agrupamento foi realizado pelo método de clusterização UPGMA, usando-se o coeficiente de Dice, com 80% de similaridade (GAUTOM, 1997).

3.4.6. Identificação dos isolados fúngicos

3.4.6.1. Fungos filamentosos

Após o isolamento, os fungos filamentosos foram identificados em nível de gênero por meio de técnicas fenotípicas, envolvendo o estudo de suas características macroscópicas (técnica de colônia gigante) e microscópicas (prova do microcultivo) (KERN e BLEVINS, 1999; HOOG e GUARRO, 2004).

3.4.6.2. Leveduras

Preliminarmente, os fungos leveduriformes foram semeados por esgotamento em meio cromogênico CHROmagar®, a fim de garantir a pureza das amostras, e, em seguida, uma colônia isolada foi semeada em ágar Sabouraud dextrose, para a realização das técnicas fenotípicas e genotípicas de identificação do gênero e

espécie.

A princípio, as leveduras foram estudadas quanto às suas características microscópicas, reprodutivas e fisiológicas, englobando os seguintes testes fenotípicos: pesquisa de tubo germinativo, microcultivo, prova da urease, técnica de tinta da China, auxanograma (assimilação de carboidratos e nitrato) e zimograma (fermentação de carboidratos) - conforme preconizado por Kurtzman e Fell (2011).

Após o estudo fenotípico, os isolados foram submetidos à avaliação molecular da região ITS (“Internal Transcribed Spacer”) do rDNA (WHITE et al., 1990).

A extração de DNA foi realizada conforme o protocolo comercial “PrepMan™ Ultra Sample Preparation reagent Quick Reference Card” (Applied Biosystems), indicado pelo fabricante, e a quantificação do DNA extraído foi efetuada pela análise da absorbância à 260/280 nm em espectrofotômetro (Biotek, Epoch Microplate Spectrophotometer, Winooski, VT, EUA), avaliando-se o grau de pureza do mesmo.

Para a amplificação da região ITS utilizou-se os *primers* ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), em reações de 25 µL, contendo 0,2 µM de cada *primer*, 1,6 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, tampão de PCR (50 mM KCl, 20 mM de Tris-HCl), 1 U de Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen, EUA) e 30 ng de DNA. O perfil de ciclagem consistiu em desnaturação inicial a 95°C/5min, seguida por 30 ciclos de 95°C /50seg, 50°C/50seg e 72°C/50seg, e extensão final a 72°C/5min em termociclador Veriti (Applied Biosystems, IL, EUA). Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de agarose (1,5%), corado com 0,1 µL/mL de SYBR Safe (Invitrogen, EUA), em solução tampão TBE 1X (89 nM Tris-HCl, 89 mM ácido bórico e 20 mM EDTA), por 60 minutos a 110 V. O gel foi então analisado em transiluminador (Syngene®, DigiGenius, MD, EUA), sob luz ultravioleta (296nm), e as imagens foram capturadas por um sistema de documentação digital pelo software EOS utility® (Canon, EUA).

Por fim, os produtos amplificados foram enviados ao Instituto de Biotecnologia (IBTEC) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP - Botucatu), para o sequenciamento. As sequências obtidas foram visualizadas em software Chromas 2.3 (Technelysium, Helensvale, Austrália), alinhadas pelo software MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis), versão 10 (KUMAR et al., 2018), e submetidas ao BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), comparando-se com

as sequências disponíveis no GenBank. Considerou-se a identificação molecular quando a identidade máxima foi $\geq 98\%$.

3.4.7. Teste de susceptibilidade dos isolados fúngicos aos agentes antifúngicos

Todos os isolados fúngicos que apresentaram crescimento após subcultivos foram submetidos a testes laboratoriais de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos, para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), utilizando-se o método de microdiluição em caldo, de acordo com as recomendações do “European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing” (EUCAST), descritas nos documentos EUCAST E.Def 9.2 (ARENDRUP et al., 2014a) - para fungos filamentosos - e EUCAST E.Def 7.3 (ARENDRUP et al., 2015) - para leveduras.

Os antifúngicos testados incluíram micafungina (0,0156 a 16 mg/L), caspofungina (0,0156 a 16 mg/L), anfotericina-B (0,0313 a 16 mg/L), 5-flucitosina (0,125 a 64 mg/L), fluconazol (0,125 a 64 mg/L), itraconazol (0,0019 a 8 mg/L), voriconazol (0,0019 a 8 mg/L) e miconazol (0,0019 a 16 mg/L).

O meio de cultura empregado foi o RPMI-1640 com L-glutamina e sem bicarbonato de sódio (Sigma, St. Louis, EUA), suplementado com glicose (com concentração final de 2%), e a temperatura de incubação foi $35\pm 2^\circ\text{C}$. As leituras foram realizadas 24 e 48h após a incubação, comparando-se os crescimentos nos poços contendo os antifúngicos com os poços do controle positivo. Quanto aos fungos filamentosos, para todas as drogas testadas, a CIM foi determinada como a menor concentração que impediu o crescimento fúngico. Já em relação às leveduras, para os azóis, 5-flucitosina e equinocandinas, a CIM foi definida como a menor concentração que inibiu 50% do crescimento, e para a anfotericina-B, considerou-se a menor concentração que inibiu 90% do mesmo. Como controle de qualidade dos testes foram utilizadas as cepas *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 6058) e *Aspergillus fumigatus* (ATCC 204305).

Considerando que não existem *breakpoints* definidos para todos os fungos isolados, dependendo do gênero identificado e da droga aplicada, os valores de CIM foram interpretados de acordo com as instruções disponíveis nos documentos CLSI M38-A2 (CLSI, 2008a), CLSI M27-A3 (CLSI, 2008b), CLSI M27-S4 (CLSI, 2012), EUCAST E.Def 9.2 (ARENDRUP et al., 2014a) e EUCAST E.Def 7.3 (ARENDRUP et

al., 2015).

3.4.8. Investigação da capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos

A capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos foi avaliada em placas de microtitulação de poliestireno, pelo método do cristal violeta, descrito por Stepanović et al. (2007), com algumas modificações e adaptações para fungos filamentosos e leveduras.

Quanto aos fungos filamentosos, inicialmente, os isolados foram cultivados em ágar batata dextrose, a 25°C, até a obtenção de crescimento. Em seguida, para cada isolado, preparou-se uma suspensão em salina estéril com conídios ou esporangiosporos, ajustada em espectrofotômetro (Biotek, Epoch Microplate Spectrophotometer, Winooski, VT, EUA) para uma densidade óptica de 0,09-0,13 (para *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Emmonsia* spp. e *Rhinocladiella* spp.), 0,15-0,17 (para *Fusarium* spp., *Mucor* spp.; *Phoma* spp., *Cladosporium* spp., *Scedosporium* spp., *Geotrichum* spp. e *Scopulariopsis* spp.) ou 0,25-0,30 (para *Pithomyces* spp.), a fim de obter-se uma concentração de 1×10^4 UFC/mL (CLSI, 2008a - adaptado). Então, os poços da placa foram preenchidos com alíquotas de 180 µL de caldo triptose de soja (TSB), suplementado com 1% de glicose, e 20 µL da suspensão fúngica, sendo a placa incubada a 25°C/48h. Após a incubação, procederam-se as seguintes etapas: lavagem com água destilada, fixação com metanol (150µL/20min), coloração com cristal violeta 2% (150µL/15min), lavagem com água destilada, ressuspensão com ácido acético 33% (150µL/30min) e leitura da absorbância, em espectrofotômetro, à 590 nm.

Já as leveduras, estas foram cultivadas em ágar Sabouraud dextrose a 36°C/24-48h e, a partir do crescimento obtido, preparou-se uma suspensão em 3 mL de salina estéril, de acordo com a escala 4 de McFarland. Os poços da placa foram então preenchidos com 20 µL da suspensão e 180 µL de caldo Sabouraud, suplementado com 8% de glicose, e a placa foi incubada a 35°C/24h. Após a incubação, procederam-se as seguintes etapas: lavagem com água destilada, fixação com metanol (110µL/15min), coloração com cristal violeta 0,4% (110µL/45min), lavagem com água destilada, ressuspensão com ácido acético 33% (200µL/30seg) e leitura da absorbância, em espectrofotômetro, à 595 nm.

Os testes foram realizados em quadruplicata e um poço branco (sem inóculo, com meio de cultura apenas) foi utilizado para corrigir o valor da absorbância. Após a correção - considerando-se a média da densidade óptica da amostra (D.O.) subtraída da média da densidade óptica do branco (D.O.c) - os isolados foram classificados como fortes produtores ($D.O > 4xD.O.c$), moderados produtores ($2xD.O.c < D.O. \leq 4xD.O.c$), fracos produtores ($D.O.c < D.O. \leq 2xD.O.c$) ou não produtores de biofilme ($D.O. \leq D.O.c$). Como controle positivo utilizou-se a cepa de referência *C. parapsilosis* (ATCC 22019).

3.5. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do software Statistica 10.0 (Statsoft, Tulsa, OK, 2011), considerando-se diferença significativa quando $p < 0,05$. Dados numéricos foram avaliados por meio dos testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, e possíveis correlações entre variáveis numéricas foram analisadas por intermédio do coeficiente de correlação de Spearman (r).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hemodiálise é um tratamento primordial para pacientes com insuficiência renal crônica. Nesta terapia, a água é amplamente utilizada na produção do dialisato e na reutilização dos dialisadores, por isso sua qualidade físico-química e microbiológica deve ser garantida, a fim de evitar riscos adicionais aos pacientes (SHAHRYARI et al., 2016).

Neste estudo foram avaliadas 216 amostras de água e dialisato, provenientes de três centros de hemodiálise, localizados em Bauru, Estado de São Paulo, Brasil.

Referente aos parâmetros físico-químicos, das 72 amostras de água analisadas, colhidas logo após o tratamento (pós-osmose reversa), 4 (5,6%) amostras apresentaram valores de condutividade > 10 mS/cm, limite máximo permitido pela legislação brasileira - RDC Nº 11/2014 (BRASIL, 2014). Dentre as amostras insatisfatórias para este parâmetro, três amostras foram oriundas do centro A e uma do centro B, sendo 11,8 mS/cm o valor máximo observado. Todos os outros parâmetros avaliados, fluoreto, nitrato e sulfato, exibiram valores dentro dos limites recomendados (Tabela 1).

De modo geral, a condutividade da água indica a sua capacidade de transmitir uma corrente elétrica em função da presença de substâncias dissolvidas, que se dissociam em ânions e cátions. Sendo assim, o teste de condutividade possibilita uma inferência indireta da presença de elementos totais e íons na água e, portanto, não deve revelar valores elevados. Náusea e vômito são os principais efeitos adversos apresentados pelos pacientes em hemodiálise quando a água possui alta condutividade (AL-NASERI et al., 2013).

Certamente, os resultados satisfatórios relativos à qualidade físico-química da água de hemodiálise enfatizam a eficácia do sistema de tratamento desta (SIMÕES et al., 2005; MOSSINI et al., 2014; TOTARO et al., 2017), contudo, vale ressaltar que, por limitações técnicas, no presente estudo não investigou-se a ocorrência de metais nestas águas, sendo estes elementos (tais como alumínio, chumbo, zinco e cobre) comumente relatados (BRAIMOH et al., 2012; SUZUKI, 2016; ABUALHASAN et al., 2018).

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos das amostras de água tratada (N=72), provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Parâmetros físico-químicos	Geral	Centros de Hemodiálise		
		A	B	C
Condutividade (mS/cm)	4,6 (1,4-11,8)	7,0 (2,4-11,8)	5,8 (2,1-11,4)	3,6 (1,4-6,1)
Fluoreto (mg/L)	<0,1 (<0,1-<0,1)	<0,1 (<0,1-<0,1)	<0,1 (<0,1-<0,1)	<0,1 (<0,1-<0,1)
Nitrato (N) (mg/L)	0,0 (0,0-0,2)	0,1 (0,0-0,2)	0,0 (0,0-0,2)	0,0 (0,0-0,1)
Sulfato (mg/L)	<20 (<20-<20)	<20 (<20-<20)	<20 (<20-<20)	<20 (<20-<20)

Dados expressos em mediana (mínimo-máximo).

Em síntese, a figura 3 ilustra os principais achados microbiológicos.

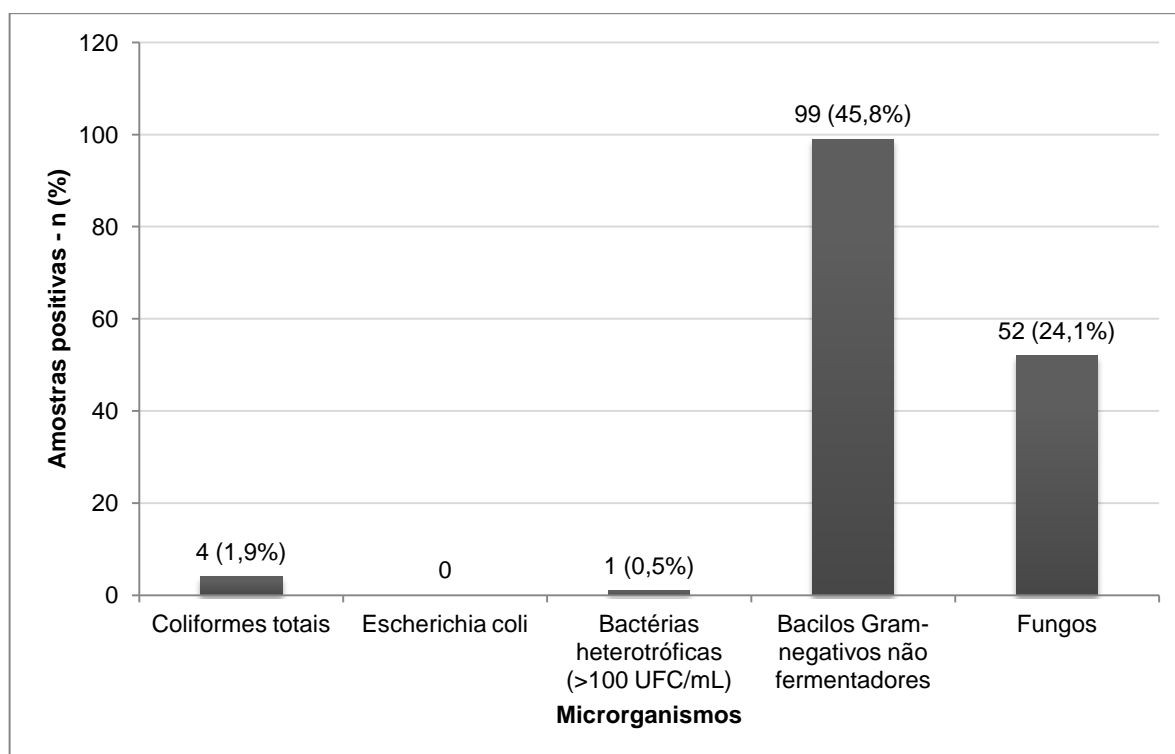


Figura 3 - Análises microbiológicas das amostras de água tratada e dialisato (N=216), provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

No tocante aos parâmetros abrangidos pela RDC Nº 11/2014 (BRASIL, 2014), coliformes totais foram encontrados em 4/216 (1,9%) amostras, sendo todas as amostras positivas vindas do centro A, coletadas nos seguintes pontos: pós-osmose reversa e reuso (Tabelas 2 e 3). Suplementarmente, nenhuma amostra apresentou *E. coli*, e bactérias heterotróficas acima dos valores máximos permitidos (100 e 200 UFC/mL para amostras de água e dialisato, respectivamente) foram observadas em

apenas 1/216 (0,5%) amostra (proveniente do centro A, da sala de reuso) (Tabelas 2 e 3). Em geral, as contagens desses microrganismos em todos os centros de hemodiálise, em diferentes pontos de coleta, exibiram valores baixos, com apenas 2/216 (0,9%) amostras ultrapassando o nível de ação (50 UFC/mL) (ambas colhidas no centro A, no pós-osmose reversa). Devido a restrições financeiras, não foram realizadas análises de endotoxinas.

Tabela 2 - Percentuais de positividade para os microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros investigados.

Microrganismos	Centros de hemodiálise			Valor-p*
	A	B	C	
Coliformes totais	4/72 (5,6%)	0/72 (0,0%)	0/72 (0,0%)	0,066
Bactérias heterotróficas (>100 UFC/mL)	1/72 (1,4%)	0/72 (0,0%)	0/72 (0,0%)	0,366
Bacilos gram-negativos não fermentadores	39/72 (54,2%) a	15/72 (20,8%) b	45/72 (62,5%) a	<0,001
Fungos	20/72 (27,8%)	18/72 (25,0%)	14/72 (19,4%)	0,492

* Teste do qui-quadrado. Letras distintas indicam entre quais amostras foram observadas diferenças significativas após o procedimento de Marascuilo para múltiplas comparações.

Tabela 3 - Percentuais de positividade para os microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os pontos de coleta investigados.

Microrganismos	Pontos de coleta			Valor-p*
	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato	
Coliformes totais	3/72 (4,2%)	1/72 (1,4%)	0/72 (0,0%)	0,168
Bactérias heterotróficas (>100 UFC/mL)	0/72 (0,0%)	1/72 (1,4%)	0/72 (0,0%)	0,366
Bacilos gram-negativos não fermentadores	33/72 (45,8%) ab	43/72 (59,7%) a	23/72 (31,9%) b	0,004
Fungos	9/72 (12,5%) b	18/72 (25,0%) ab	25/72 (34,7%) a	0,008

* Teste do qui-quadrado. Letras distintas indicam entre quais amostras foram observadas diferenças significativas após o procedimento de Marascuilo para múltiplas comparações.

A pesquisa de coliformes totais e, especialmente, a contagem de bactérias heterotróficas são amplamente aplicadas em águas de hemodiálise como

indicadores de qualidade microbiológica. A presença e/ou elevadas contagens destes microrganismos nessas amostras podem indicar falhas no processo de tratamento, contaminações e/ou proliferações no sistema de distribuição e deficiências nos procedimentos de limpeza e desinfecção (ARAÚJO SOUZA, 2015).

Um estudo recente realizado em várias unidades de hemodiálise da Itália, durante um período de 24 meses, registrou valores de bactérias heterotróficas abaixo do limite recomendado em todas as amostras de água avaliadas (TOTARO et al., 2017). Em Agadir, Marrocos, Asserraji et al. (2014) não observaram bactérias heterotróficas em amostras do dialisato, porém, relataram tais microrganismos, com valores > 100 UFC/mL, em 9,2% das amostras de água tratada. Contagens elevadas de bactérias heterotróficas também já foram vistas em amostras de água e dialisato de centros de diálise localizados na Índia (VERMA et al., 2015), no Japão (OIE et al., 2003), no Iraque (AL-NASERI et al., 2013) e no Irã (HEIDARIEH et al., 2016). No Brasil, uma pesquisa conduzida em 12 unidades de hemodiálise de Goiânia (GO), apontou coliformes totais e bactérias heterotróficas excedentes em, respectivamente, 7,3% e 18,7% das amostras de água investigadas (ARAÚJO SOUZA, 2015). Já em Ribeirão Preto (SP), Suzuki (2016) não evidenciou coliformes totais e *E. coli*, nem bactérias heterotróficas com contagens insatisfatórias, em um estudo semelhante.

Embora a pesquisa de coliformes totais e a contagem de bactérias heterotróficas sejam bastante úteis na avaliação das condições higiênicas do sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise, tais análises nem sempre garantem a segurança microbiológica do procedimento, pois a ausência destes microrganismos não está diretamente relacionada a ausência de patógenos e/ou toxinas (BARTRAM et al., 2003; BORGES et al., 2007). Por isso, BGN-NF e fungos também foram investigados neste estudo.

BGN-NF foram isolados em 99/216 (45,8%) amostras, sendo encontrados em mais da metade das amostras oriundas dos centros A e C, principalmente dos pontos pós-osmose reversa e reuso, com diferenças estatísticas (Tabelas 2 e 3). Já fungos foram detectados em 52/216 (24,1%) amostras, com percentuais semelhantes em todos os centros, porém, com predominância significativa nas amostras colhidas na sala de reuso e dialisato (Tabelas 2 e 3).

Dentre as amostras positivas, as contagens dos microrganismos apontaram

valores médios (mínimo-máximo) de 25,0 (1-142) UFC/100 mL e 16,3 (10-40) UFC/mL para BGN-NF e fungos, respectivamente. Quanto aos BGN-NF, as menores contagens foram vistas no centro B, de forma significativa, e nas amostras do dialisato, sem significância estatística (Tabelas 4 e 5). Já em relação aos fungos, as contagens mais elevadas foram notadas no centro C e no ponto pós-osmose reversa, mas sem diferenças significativas (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Contagens dos microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros investigados.

Microrganismos	Centros de hemodiálise			Valor-p*
	A	B	C	
Bacilos gram-negativos não fermentadores (UFC/100 mL)	19,1 (1-142) a	5,1 (1-25) b	36,7 (1-134) a	0,023
Fungos (UFC/mL)	16,0 (10-40)	12,8 (10-20)	21,4 (10-40)	0,165

Dados expressos em média (mínimo-máximo).

* Teste de Kruskal-Wallis. Letras distintas indicam entre quais amostras foram observadas diferenças significativas após o teste de múltiplas comparações de Dunn.

Tabela 5 - Contagens dos microrganismos nas amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os pontos de coleta investigados.

Microrganismos	Pontos de coleta			Valor-p*
	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato	
Bacilos gram-negativos não fermentadores (UFC/100 mL)	26,6 (1-142)	31,1 (1-134)	11,1 (1-45)	0,343
Fungos (UFC/mL)	23,3 (10-40)	13,9 (10-40)	15,6 (10-40)	0,069

Dados expressos em média (mínimo-máximo).

* Teste de Kruskal-Wallis.

Semelhantemente, em um estudo realizado em 85 centros de diálise da Grécia, Arvanitidou et al. (2003) isolaram BGN-NF em 38,4% das amostras de água e dialisato, com concentração média de 31,2 UFC/100 mL. Em Roma, na Itália, Vincenti et al. (2014) avaliaram 1.750 amostras de hemodiálise e notaram tais microrganismos em 3,6% destas. No Brasil, alguns percentuais de positividade para BGN-NF já relatados incluíram 45,2% em São Paulo (SP) (BUGNO et al., 2007) e 55,6% em Ponta Grossa (PR) (BORGES et al., 2007).

Ainda há poucos relatos na literatura em relação à ocorrência de fungos em águas para hemodiálise. Na Grécia, fungos filamentosos e leveduras foram detectados em 95,3% das amostras de água tratada e em 90,6% das amostras de dialisato (ARVANITIDOU et al., 2000). No Irã, Mahmoudabadi et al. (2011) relataram fungos em 46/168 (27,4%) amostras analisadas, e, na Itália, Schiavano et al. (2014) isolaram tais microrganismos em 118/976 (12,1%) amostras oriundas de diversos pontos do sistema de tratamento e distribuição de água de oito centros dialíticos, com contagens que variaram de 1-420 UFC/100 mL. Em 2007, um estudo conduzido em uma unidade de diálise localizada em Franca (SP) evidenciou a ocorrência de fungos em 100% das amostras investigadas (N=100) (VARO et al., 2007). Em São Paulo (SP), Pires-Gonçalves et al. (2008) observaram contaminações fúngicas em 89% das amostras e, mais recentemente, em uma pesquisa semelhante, esses microrganismos foram constatados em 145/217 (66%) amostras de seis centros de hemodiálise de Curitiba (PR), das quais, 19% apresentaram contagens > 100 UFC/mL (FIGEL et al., 2013).

Outras investigações já apontaram contagens de microrganismos bem mais elevadas, > 1.000 UFC/mL, tanto para BGN-NF (LOPALCO e BAGGIANI, 2017), quanto para fungos (MAHMOUDABADI et al., 2011). No entanto, devido à diversidade de metodologias empregadas, com diferentes técnicas de isolamento, volumes aplicados, meios de cultura e períodos de incubação, nem sempre é possível fazer comparações diretas.

Vários estudos descreveram maior frequência e concentração de microrganismos nas amostras do dialisato, sugerindo que as contaminações e proliferações ocorrem principalmente nas máquinas de diálise (ARVANITIDOU et al., 2003; OIE et al., 2003; BORGES et al., 2007; PIRES-GONÇALVES et al., 2008; HEIDARIEH et al., 2016). Contudo, tais achados não ficaram tão claros em nossa pesquisa, que mostrou maior frequência de BGN-NF no reuso e pós-osmose reversa e de fungos no dialisato e reuso, sem diferenças significativas com relação às concentrações dos mesmos nos diferentes pontos de coleta, reforçando assim, a necessidade de intensificação das medidas de manutenção, limpeza e desinfecção em todo o sistema de tratamento e distribuição de água.

Adicionalmente, a avaliação estatística de uma possível correlação entre os microrganismos investigados (teste de McNemar), não revelou concordância

significativa quanto a presença/ausência dos grupos microbianos nas amostras (Anexo II), corroborando com os dados expostos por Schiavano et al. (2014), que também não encontraram correlação entre a detecção de fungos e contagens bacterianas nas águas de hemodiálise.

Dentre as 99 amostras com positividade para BGN-NF, 32 (32,3%) amostras apresentaram mais de uma espécie bacteriana, de forma que, ao todo, foram isolados 135 microrganismos. Destes, 116 (85,9%) foram identificados utilizando-se o MALDI-TOF e 15 (11,1%) por meio da avaliação molecular do gene 16S rRNA, não sendo possível identificar 4 (3,0%) isolados.

Os principais BGN-NF encontrados foram *Herbaspirillum aquaticum/huttiense*, *Brevundimonas aurantiaca*, *Cupriavidus metallidurans*, *P. aeruginosa*, *Ralstonia insidiosa* e *Rhizobium radiobacter* (Figura 4). A Tabela 6 expõe a distribuição completa dos microrganismos isolados em relação aos centros de hemodiálise e aos pontos de coleta investigados.

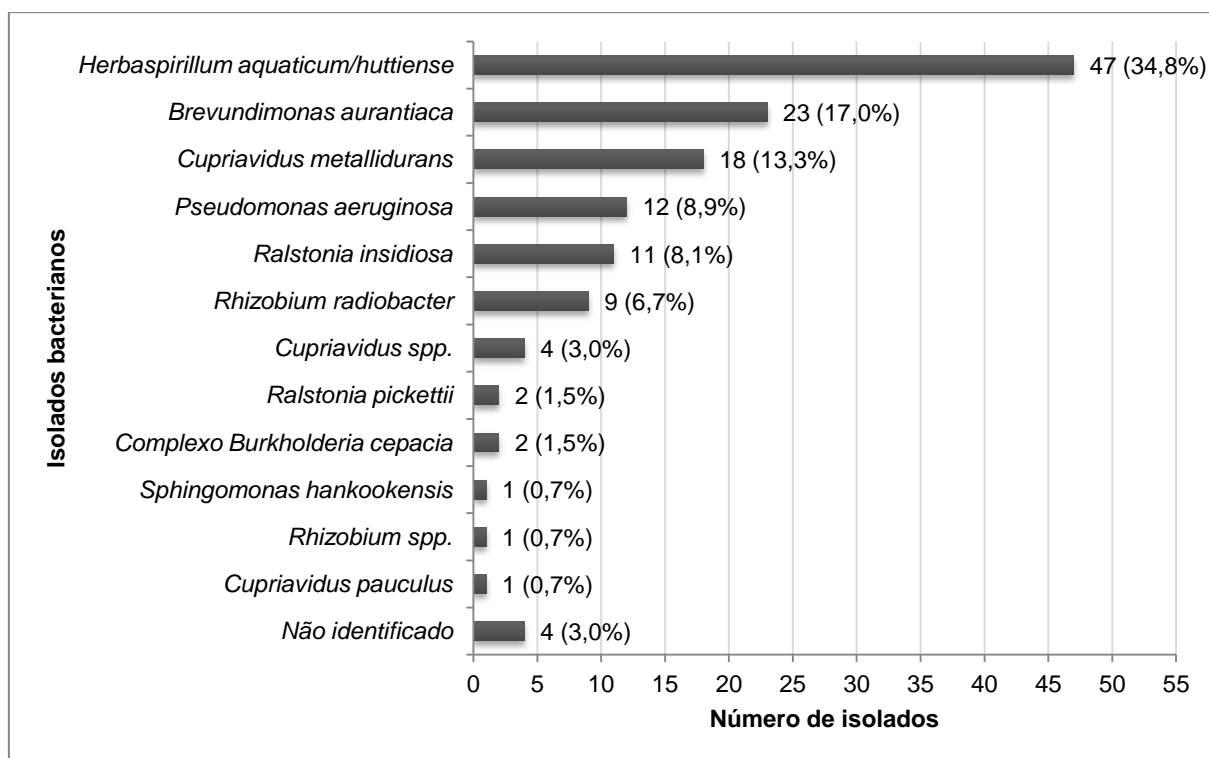


Figura 4 - Bacilos gram-negativos não fermentadores isolados das amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Tabela 6 - Distribuição dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados.

Isolados bacterianos	Centros de hemodiálise								
	A			B			C		
	Pontos de coleta			Pontos de coleta			Pontos de coleta		
	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato
<i>Herbaspirillum aquaticum/huttiense</i>	8	9	8	0	0	0	7	15	0
<i>Brevundimonas aurantiaca</i>	1	2	2	1	5	3	1	5	3
<i>Cupriavidus metallidurans</i>	1	1	0	0	1	0	5	10	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	6	6	0
<i>Ralstonia insidiosa</i>	1	2	4	2	2	0	0	0	0
<i>Rhizobium radiobacter</i>	0	0	1	1	0	0	1	3	3
<i>Cupriavidus</i> spp.	3	1	0	0	0	0	0	0	0
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Ralstonia pickettii</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Cupriavidus pauculus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhizobium</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Sphingomonas hankookensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Não identificado	1	1	1	0	0	0	1	0	0

Dados da literatura mostram uma ampla diversidade de BGN-NF isolados de amostras de água para hemodiálise e dialisato, com diferentes frequências. Arvanitidou et al. (2003) detectaram especialmente *P. aeruginosa*, *Elizabethkingia meningoseptica* e *S. maltophilia*. Bactérias do Complexo *B. cepacia* foram os principais microrganismos vistos em unidades de diálise de São Luís (MA) (LIMA et al., 2005), Ponta Grossa (PR) (BORGES et al., 2007) e São Paulo (SP) (BUGNO et al., 2007). *Acinetobacter* spp. e *Ralstonia* spp. também já foram preponderantes em alguns trabalhos (SUMAN et al., 2013; VINCENTI et al., 2014; CHEN et al., 2017a). Sem dúvida, *P. aeruginosa* é o BGN-NF mais investigado nesse tipo de amostra em todo o mundo e, corroborando com os nossos achados, similarmente alguns estudos descreveram a ocorrência desta bactéria em torno de 10% das amostras analisadas

(REIS, 2010; PERESI et al., 2011; VINCENTI et al., 2014; ARAÚJO SOUZA, 2015). Expressivamente, *H. aquaticum/huttiense* foram os principais microrganismos isolados nesta pesquisa, sendo relatados também em centros de hemodiálise do Irã (HEIDARIEH et al., 2016) e da China (CHEN et al., 2017a).

P. aeruginosa e bactérias do Complexo *B. cepacia* são microrganismos já amplamente conhecidos como causadores de infecções nosocomiais graves, principalmente em pacientes imunocomprometidos (SILVA et al., 2012; LOO et al., 2015; FOLESCU et al., 2015; TÜMMLER et al., 2019). *P. aeruginosa* comumente está associada a episódios de infecções oculares, queimaduras, infecções do sistema respiratório, sistema urinário e corrente sanguínea (ROHDE e WELTE, 2017; TEWELDEMEDHIN et al., 2017; FAURE et al., 2018; GLIK et al., 2018; PARKINS et al., 2018). Especificamente em unidades de terapia renal substitutiva, a referida bactéria é vastamente relatada em casos de bacteremia (MURRAY et al., 2015; SHIMON et al., 2018; NOVOSAD et al., 2019), muitas vezes, relacionados a água contaminada (PISANI et al., 2000; WALKER et al., 2014; WALKER e MOORE, 2015; GARVEY et al., 2016, 2017). O Complexo *B. cepacia* inclui patógenos com uma grande versatilidade metabólica, adaptados a diferentes ambientes (SOUSA et al., 2010), que são conhecidos por causarem, predominantemente, infecções pulmonares em pacientes com fibrose cística, sendo a principal causa de morbimortalidades nesses indivíduos (REIK et al., 2005; LEWIS e TORRES, 2016; RHODES e SCHWEIZER, 2016). Esses microrganismos também são frequentes em casos de peritonite em pacientes renais crônicos que realizam diálise peritoneal (APOSTOLOVIC et al., 2015; YAP et al., 2016) e já estiveram envolvidos em vários episódios e surtos de bacteremia em ambientes hospitalares em geral (DOIT et al., 2004; MOREIRA et al., 2005; ABE et al., 2007; LIAO et al., 2011; ANTONY et al., 2016) e em centros de hemodiálise, devido a contaminações relacionadas ao cateter, a água tratada e ao reprocessamento dos dialisadores (KAITWATCHARACHAI et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2003; SOUZA et al., 2004; ROMERO-GÓMEZ et al., 2008; YAN et al., 2008; EDENS et al., 2017).

Membros do gênero *Ralstonia* são patógenos oportunistas emergentes em todo o mundo e incluem *R. pickettii*, *R. mannitolilytica*, *R. insidiosa* e *R. solanacearum* (RYAN e ADLEY, 2014; NASIR et al., 2019). Com fatores de virulência ainda pouco explorados, tais bactérias, em especial *R. pickettii*, tem sido

incriminadas em um amplo espectro de infecções hospitalares, incluindo bacteremias, septicemias, meningites, endocardites, pneumonias e outras (RYAN et al., 2011; ORME et al., 2015; LIU et al., 2016; SHARMA et al., 2017; BOATTINI et al., 2018; BASSO et al., 2019; FANG et al., 2019). Frequentemente as fontes de infecção constituem em fluídos farmacêuticos e águas contaminadas (RYAN e ADLEY, 2013; D'ALESSANDRO et al., 2016; LAI et al., 2016; CHEN et al., 2017b), sendo estes microrganismos bem adaptados à condições de baixo teor de nutrientes (ADLEY et al., 2005; RYAN e ADLEY, 2014). Dados relativamente recentes da literatura têm evidenciado, cada vez mais, *Ralstonia* spp. em sistemas de tratamento e distribuição de água para hemodiálise, provocando vários surtos de bacteremia em pacientes submetidos a essa terapia (STRATEVA et al., 2012; TEJERA et al., 2016; LIM e LEE, 2017; SHANKAR et al., 2018; THET et al., 2019).

Microrganismos dos gêneros *Herbaspirillum*, *Brevundimonas* e *Cupriavidus*, os mais frequentes em nosso estudo, englobam espécies distribuídas em diversos ambientes, que eram previamente consideradas contaminantes, mas que nas últimas décadas têm sido notadas como patógenos potencialmente emergentes (ALMASY et al., 2016; RYAN e PEMBROKE, 2018; DHITAL et al., 2020).

Herbaspirillum spp. habitam o solo e a água e normalmente estão associados à plantas, sendo capazes de promover o crescimento destas por meio da fixação biológica de nitrogênio e produção de fitohormônios (MONTEIRO et al., 2012). A primeira descrição dessas bactérias em amostras clínicas ocorreu em 1996 (BALDANI et al., 1996) e, desde então, *Herbaspirillum* spp. vêm sendo recuperados de infecções da pele, da corrente sanguínea e dos sistemas respiratório e gastrointestinal (COENYE et al., 2002; TAN et al., 2005; SPILKER et al., 2008; ZIGA et al., 2010; CHEN et al., 2011; CHEMALY et al., 2015; SUWANTARAT et al., 2015; DHITAL et al., 2020). Embora a maioria dos casos estejam relacionados a pacientes imunocomprometidos, há pouco tempo, *H. aquaticum/huttiense* também foram relatados em indivíduos imunocompetentes (REGUNATH et al., 2015; ABREU-DI BERARDINO et al., 2019; LIU et al., 2019b). Aliás, comparando cepas ambientais e clínicas de *H. seropedicae*, Faoro et al. (2019) evidenciaram recentemente algumas alterações genéticas que são favoráveis a adaptação dessas bactérias em seres humanos, possibilitando novas interações e evasão do sistema imunológico do hospedeiro.

O gênero *Brevundimonas* foi proposto inicialmente por Segers et al. (1994), incorporando as bactérias *Pseudomonas diminuta* e *Pseudomonas vesicularis*. As espécies deste gênero são onipresentes no ambiente, mas não costumam ser tão frequentes em amostras clínicas (HANDSCHUH et al., 2017). Contudo, estudos apontaram pelo menos 49 infecções causadas por *Brevundimonas* spp. em diversos países, incluindo casos de bacteremia, endocardite, pneumonia, peritonite e infecções do trato urinário (LEE et al., 2011; SHANG et al., 2012; BOLZON e NGUYEN 2018; RYAN e PEMBROKE, 2018). O tamanho pequeno, que possibilita a passagem por sistemas de filtração (LEE et al., 2002; PENNA et al., 2002), e o possível acometimento de indivíduos imunocomprometidos, particularmente (RYAN e PEMBROKE, 2018), são fatores que tornam preocupante a ocorrência destes microrganismos em águas de hemodiálise.

Cupriavidus spp. estão presentes em vários nichos ecológicos, principalmente em água doce e até em solos contaminados com metais pesados (VANDAMME e COENYE, 2004; JANSSEN et al., 2010). Considerados patógenos oportunistas, *C. metallidurans* e *C. pauculus* já foram descritos em diversas infecções nosocomiais, algumas fatais (VAY et al., 2007; BALADA-LLASAT et al., 2010; TAŞBAKAN et al., 2010; LANGEVIN et al., 2011; AYDIN et al., 2012; DUGGAL et al., 2013; UZODI et al., 2014; D'INZEO et al., 2015; ALMASY et al., 2016; SHENAI et al., 2019). Há pouco tempo, esses microrganismos também foram relatados em indivíduos sem comprometimento imunológico evidente (KOBAYASHI et al., 2016; ZHANG et al., 2017).

Outros microrganismos notados nesta pesquisa incluíram espécies dos gêneros *Rhizobium* e *Sphingomonas*. *Rhizobium* spp. são BGN-NF ambientais, geralmente saprófitos, vastamente encontrados em solos agrícolas. Por muito tempo esses bacilos foram considerados apenas contaminantes, no entanto, nas últimas décadas, emergiram como patógenos humanos oportunistas (EDMOND et al., 1993; WANG et al., 2019). Dentre as várias espécies, *R. radiobacter* (*Agrobacterium radiobacter*) é certamente o microrganismo mais descrito em infecções humanas (AUJOULAT et al., 2011), especialmente em episódios de infecções da corrente sanguínea, muitas vezes relacionadas ao cateter (SOOD et al., 2010; ONCEL et al., 2013; TIWARI et al., 2015). Outras manifestações clínicas englobam peritonites, pneumonias e endocardites (GUERRA et al., 2013; BADRISING et al., 2014; MISRA

et al., 2014; CHANZA et al., 2017; HALAS et al., 2017). Suplementarmente, surtos envolvendo *R. radiobacter* foram relatados recentemente no Brasil (PILLONETTO et al., 2018) e na Suíça (CASANOVA et al., 2019), associados a nutrição parenteral e a administração de contraste, respectivamente. O gênero *Sphingomonas* compreende mais de 30 espécies bacterianas, amplamente distribuídas na natureza, das quais *S. paucimobilis* se destaca no acometimento clínico de indivíduos imunocomprometidos (CHEONG et al., 2008; LIN et al., 2010; RYAN e ADLEY, 2010; BAYRAM et al., 2013; DEL BORGO et al., 2013; TAI et al., 2014), provocando comumente surtos de bacteremia relacionados a água contaminada (PEROLA et al., 2002; KILIC et al., 2007; MERIC et al., 2009; MUTLU et al., 2011). *S. hankookensis*, isolada de uma amostra de água no presente estudo, é uma espécie relativamente nova, cuja importância clínica ainda permanece desconhecida (YOON et al., 2009).

Especificamente para os pacientes em tratamento dialítico, a presença desses BGN-NF em águas tratadas e dialisatos podem provocar, de forma geral, complicações agudas, como reações pirogênicas e septicemias (JESUS e ALMEIDA, 2016; TOTARO et al., 2017, NOVOSAD et al., 2019), e também problemas a longo prazo, relacionados a inflamação sistêmica crônica, tais como amiloidose, desnutrição, resistência à eritropoietina e doenças cardiovasculares (FENDLEY e WARD, 2012; VADAKEDATH e KANDI, 2017).

Tratando-se de patógenos emergentes, vale salientar que rotineiramente ainda há muitas dificuldades na identificação precisa dos BGN-NF, devido a estreita semelhança fenotípica e filogenética entre os gêneros/espécies (GAUTAM et al., 2017). Em alguns estudos, aplicando-se técnicas fenotípicas, cepas do Complexo *B. cepacia* e *C. pauculus* foram identificadas equivocadamente como *Pseudomonas* spp. (BALADA-LLASAT et al., 2010; RAGUPATHI e VEERARAGHAVAN, 2019), *R. pickettii* como Complexo *B. cepacia* (WAUGH et al., 2010) e *R. insidiosa* como *R. mannitolilytica* (FANG et al., 2019). Uma grande pesquisa realizada nos EUA, envolvendo pacientes com sepse, apontou previamente, como agente infeccioso, bactérias do Complexo *B. cepacia*, contudo, após a identificação pelo MALDI-TOF, tais isolados foram reclassificados como *Herbaspirillum* spp. (CHEMALY et al., 2015). Casos semelhantes foram descritos por Spilker et al. (2008), Ziga et al. (2010) e Regunath et al. (2015), reforçando a ideia de que microrganismos do gênero *Herbaspirillum* podem ser identificados erroneamente como Complexo *B.*

cepacia por alguns kits/sistemas de identificação disponíveis no mercado.

Atualmente, o MALDI-TOF representa uma ferramenta bastante útil para a identificação microbiana, especialmente em casos de microrganismos com avaliações bioquímicas e moleculares complexas (PATEL, 2015, FANG et al., 2019). Apesar do elevado investimento inicial para a aquisição do equipamento e dependência de um banco de dados comercial (que deve ser amplo e atualizado), a identificação rápida, com fluxo de trabalho simples e alto poder discriminatório tornam a tecnologia do MALDI-TOF extremamente promissora (FERNÁNDEZ-OLMOS et al., 2012; FEHLBERG et al., 2013; VAN BELKUM et al., 2015).

Certamente, a ampliação da utilização de métodos moleculares, assim como do MALDI-TOF, na rotina laboratorial de identificação microbiana tem possibilitado um grande avanço no diagnóstico dos BGN-NF, demonstrando que tais microrganismos podem ser muito mais prevalentes clinicamente do que se imaginava anteriormente (REGUNATH et al., 2015; DHITAL et al., 2020).

O teste de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos, aplicado aos isolados identificados como *P. aeruginosa* e Complexo *B. cepacia*, revelou que 2/12 (16,7%) cepas de *P. aeruginosa* apresentaram resistência a pelo menos uma droga, sendo um isolado resistente a ticarcilina/ácido clavulânico, ceftazidima e aztreonam, e o outro resistente a ticarcilina/ácido clavulânico e imipenem. Alguns isolados de *P. aeruginosa* demonstraram resistência intermediária a ticarcilina/ácido clavulânico, piperacilina/tazobactam, ceftazidima, cefepima, imipenem, meropenem e aztreonam, e 100% das cepas do Complexo *B. cepacia* foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados (Tabela 7).

Tabela 7 - Susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Antimicrobianos	Classificação (n (%))		
	Sensível	Intermediário	Resistente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=12)			
Ticarcilina/Ácido clavulânico	4 (33,3%)	6 (50,0%)	2 (16,7%)
Piperacilina/Tazobactam	10 (83,3%)	2 (16,7%)	0 (0,0%)
Ceftazidima	8 (66,7%)	3 (25,0%)	1 (8,3%)
Cefepima	11 (91,7%)	1 (8,3%)	0 (0,0%)
Imipenem	6 (50,0%)	5 (41,7%)	1 (8,3%)
Meropenem	11 (91,7%)	1 (8,3%)	0 (0,0%)
Aztreonam	10 (83,3%)	1 (8,3%)	1 (8,3%)
Levofloxacina	12 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Ciprofloxacina	12 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Amicacina	12 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Gentamicina	12 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Tobramicina	12 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Netilmicina	12 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i> (n=2)			
Ceftazidima	2 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Meropenem	2 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Minociclina	2 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Sulfametoxazol/Trimetoprima	2 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Outros estudos envolvendo BGN-NF oriundos de águas de hemodiálise exibiram resultados de susceptibilidade variáveis. Arvantinidou et al. (2003) e Borges et al. (2007) encontraram 35% e 60% dos microrganismos resistentes a três ou mais drogas, respectivamente. Em unidades de terapia renal substitutiva do Estado de São Paulo, 36/38 (94,7%) isolados de *P. aeruginosa* mostraram-se sensíveis a todos os antimicrobianos testados (PERESI et al., 2011), já em Goiás, todos os isolados (n=11) apresentaram resistência a cefepima e 1 (9,1%) isolado foi resistente ainda a piperacilina/tazobactam e aztreonam (ARAÚJO SOUZA, 2015). Cepas de *P. aeruginosa* resistentes a gentamicina foram relatadas por Suman et al. (2013) e Ferreira et al. (2013), assim como 65,4% de resistência a ticarcilina/ácido clavulânico

foi descrita por Vincenti et al. (2014).

Atualmente, há uma grande preocupação mundial com o aumento significativo no perfil de resistência dos microrganismos aos antimicrobianos, estando à bactéria *P. aeruginosa* entre os patógenos com maior facilidade de desenvolver resistência as drogas disponíveis (CIOFU e TOLKER-NIELSEN, 2019; LEAL et al., 2019; TÜMMLER, 2019). Todavia, no presente estudo não observamos elevadas taxas de resistência entre os bacilos investigados. Frequentemente, altas taxas de resistência são vistas em isolados clínicos, em ambientes hospitalares, onde a pressão seletiva causada pela ampla utilização de antimicrobianos e a possível hipermutação pós-infecção contribuem diretamente para a ocorrência de falhas terapêuticas (TURRIENTES et al., 2010; FERREIRA et al., 2013). Porém, é importante ressaltar que bactérias multirresistentes já foram detectadas em várias fontes de água, incluindo água potável (BAQUERO et al., 2008; XI et al., 2009), de forma que, o ambiente aquático parece ser um importante meio de disseminação de resistência aos antimicrobianos, atuando como um reservatório para a transferência de genes de resistência entre microrganismos patogênicos e ambientais (LAROUCHE et al., 2009; FINLEY et al., 2013; VAZ-MOREIRA et al., 2014), o que evidencia a importância do monitoramento destes.

Investigando a capacidade de formação de biofilme das cepas de *P. aeruginosa*, Complexo *B. cepacia*, *R. insidiosa* e *R. pickettii* isoladas neste trabalho, observamos que, de forma geral, dos 27 BGN-NF analisados, 20 (74,1%) eram fortes produtores de biofilme, sendo apenas 1 (3,7%) não produtor. Significativamente, os isolados de *P. aeruginosa* e Complexo *B. cepacia* foram os microrganismos que apresentaram os maiores valores de absorbância, caracterizando maior adesão (Tabela 8). Não foram vistas diferenças significativas entre os isolados quanto aos pontos de coleta e a susceptibilidade aos antimicrobianos, porém, em relação aos centros de hemodiálise, os microrganismos provenientes do centro C foram os que exibiram os valores de absorbância mais elevados, com significância estatística (Tabela 9). Complementarmente, vale salientar que o centro C foi também a unidade de hemodiálise que apresentou o maior percentual de amostras com BGN-NF (Tabela 2).

Tabela 8 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Isolados bacterianos	Absorbância (nm)*	Classificação (n)			
		Forte produtor	Moderado produtor	Fraco produtor	Não produtor
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,75 (0,07-3,76) a	10	1	1	0
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>	1,11 (0,37-1,86) ab	2	0	0	0
<i>Ralstonia insidiosa</i>	0,34 (0,11-0,67) b	7	3	1	0
<i>Ralstonia pickettii</i>	0,19 (0,04-0,34) b	1	0	0	1
Valor-p**	0,015	-	-	-	-
Geral	1,01 (0,04-3,76)	20 (74,1%)	4 (14,8%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)

* Dados expressos em média (mínimo-máximo).

** Teste de Kruskal-Wallis. Letras distintas indicam entre quais amostras foram observadas diferenças significativas após o teste de múltiplas comparações de Dunn.

Tabela 9 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados bacterianos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados e a susceptibilidade aos agentes antimicrobianos.

Parâmetros	Capacidade de formação de biofilme	
	Absorbância (nm)*	Valor-p
Centros de hemodiálise		
A (n=8)	0,38 (0,11-0,67) ab	0,046^a
B (n=4)	0,25 (0,15-0,37) a	
C (n=15)	1,57 (0,04-3,76) b	
Pontos de coleta		
Pós-osmose reversa (n=9)	0,87 (0,31-3,76)	0,240 ^a
Reuso (n=13)	0,39 (0,04-3,44)	
Dialisato (n=5)	0,37 (0,11-0,52)	
Susceptibilidade aos antimicrobianos		
Resistente** (n=2)	2,29 (1,57-3,02)	0,523 ^b
Sensível/Intermediário (n=12)	1,55 (0,07-3,76)	

* Dados expressos em média (mínimo-máximo).

** Resistente a pelo menos uma droga testada.

^a Teste de Kruskal-Wallis. Letras distintas indicam entre quais amostras foram observadas diferenças significativas após o teste de múltiplas comparações de Dunn.

^b Teste de Mann-Whitney.

A presença de biofilmes no sistema de tratamento e distribuição de água para hemodiálise é extremamente preocupante devido à persistência bacteriana em diferentes pontos do sistema, a liberação contínua de bactérias e seus componentes e ao desenvolvimento de maior resistência aos procedimentos de desinfecção (SMEETS et al., 2003; CAPPELLI et al., 2003, 2005).

Corroborando com os nossos achados, alguns trabalhos também apontaram *P. aeruginosa* isoladas de água de hemodiálise como fortes produtoras de biofilme (BORGES et al., 2007; FERREIRA et al., 2013) e *R. pickettii* parecem formar facilmente biofilmes em tubulações de PVC, comumente utilizadas nesses sistemas de água (DOMBROWSKY et al., 2013).

Vários métodos diferentes já foram elaborados para o cultivo e quantificação de biofilmes, no entanto, o teste em placas de microtitulação com cristal violeta é um dos ensaios mais utilizados, devido a sua relativa rapidez e simplicidade (STEPANOVIĆ et al., 2007; PEETERS et al., 2008). Uma limitação importante deste método, assim como de todos os outros métodos *in vitro*, é que este não reflete exatamente as condições ambientais locais, com todas as interações que tornam o processo real mais complexo (STEPANOVIĆ et al., 2007; MAGANA et al., 2018).

A análise dos perfis de fragmentação do DNA cromossômico por PFGE revelou um único perfil eletroforético para todas as cepas de *P. aeruginosa* isoladas das amostras de água do centro C, indicando uma possível persistência de clones dessa bactéria no sistema de tratamento e distribuição de água da referida unidade, ao longo de todo o período estudado (Figura 5). As cepas do Complexo *B. cepacia*, uma oriunda do centro A e a outra do centro C, não apresentaram similaridade genética (Figura 6), já as cepas de *R. pickettii*, ambas provenientes do centro C, exibiram o mesmo perfil genotípico (Figura 7). Com relação aos isolados de *R. insidiosa*, estes denotaram maior diversidade genética, com quatro perfis eletroforéticos distintos (Figura 7).

Em síntese, a identificação de bactérias com diferentes perfis eletroforéticos no mesmo centro de hemodiálise assinala o quanto a presença destes microrganismos na água pode ser dinâmica. Contudo, a persistência de clones bacterianos em pontos distintos das instalações indica possíveis formações de biofilmes e falhas no processo de desinfecção do sistema de tratamento e distribuição de água (FERREIRA et al., 2013; ARAÚJO SOUZA, 2015).

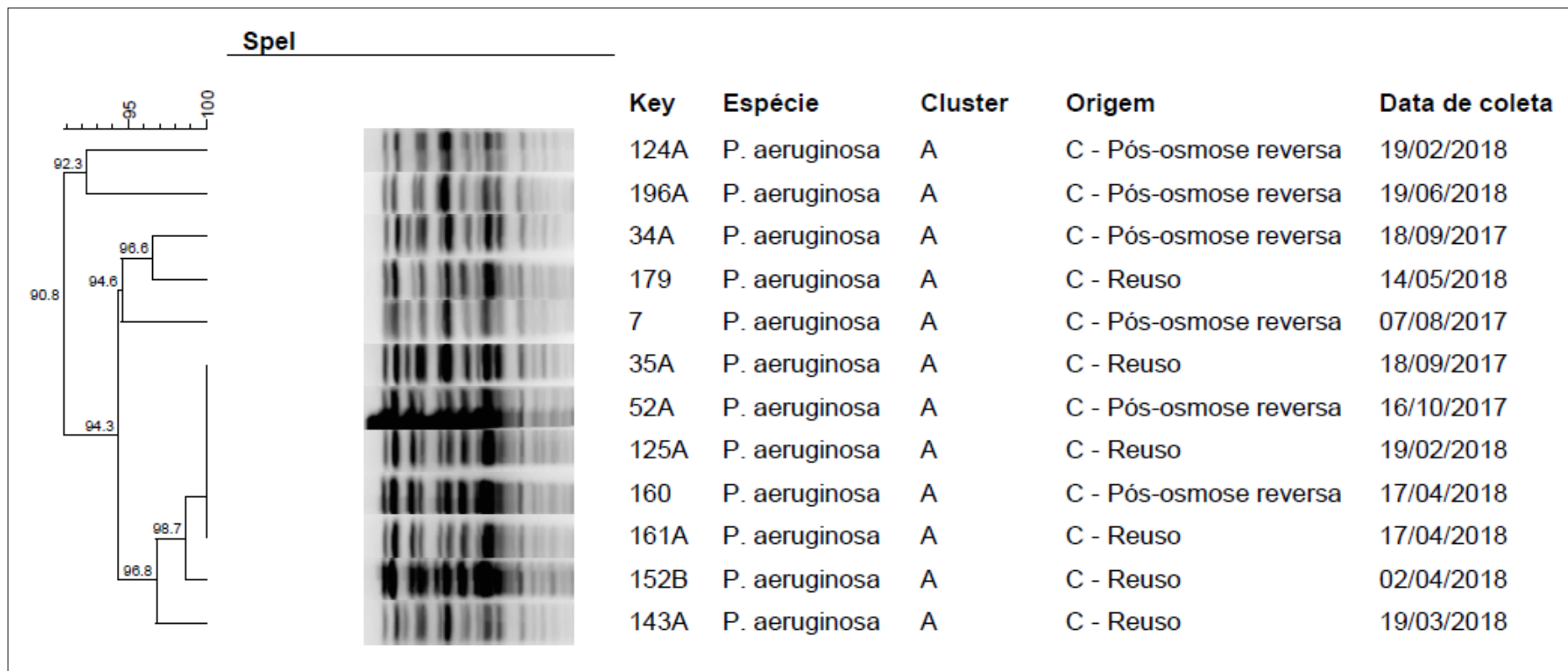


Figura 5 - Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) dos isolados de *P. aeruginosa*, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

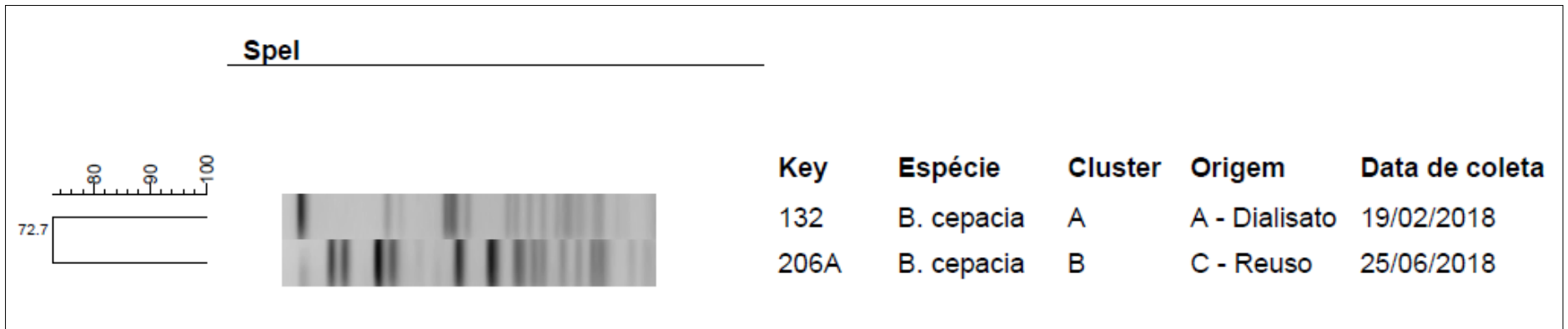


Figura 6 - Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) dos isolados do Complexo *B. cepacia*, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

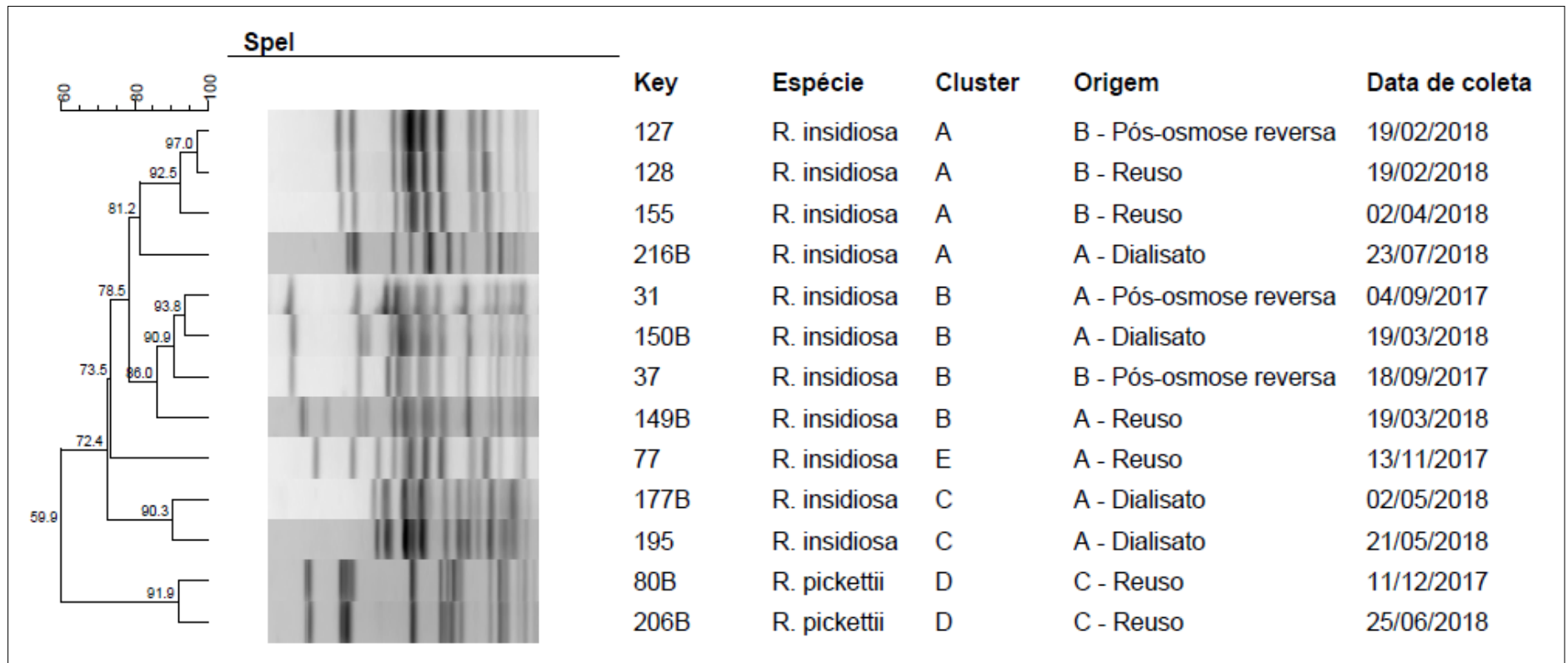


Figura 7 - Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) dos isolados de *R. insidiosa* e *R. pickettii*, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

No tocante aos fungos, das 52 amostras de água e dialisato com positividade para estes microrganismos, 45 (86,5%) apresentaram crescimento de fungos filamentosos, 4 (7,7%) de leveduras e 3 (5,8%) de fungos filamentosos e leveduras concomitantemente. No total, foram identificados 61 isolados fúngicos, sendo 54 (88,5%) fungos filamentosos e 7 (11,5%) leveduras. Os principais gêneros observados, distribuídos nos diferentes centros de hemodiálise em diversos pontos, incluíram *Penicillium*, *Cladosporium*, *Scedosporium*, *Rhinoctadiella*, *Fusarium* e *Emmonsia* (Figura 8 / Tabela 10).

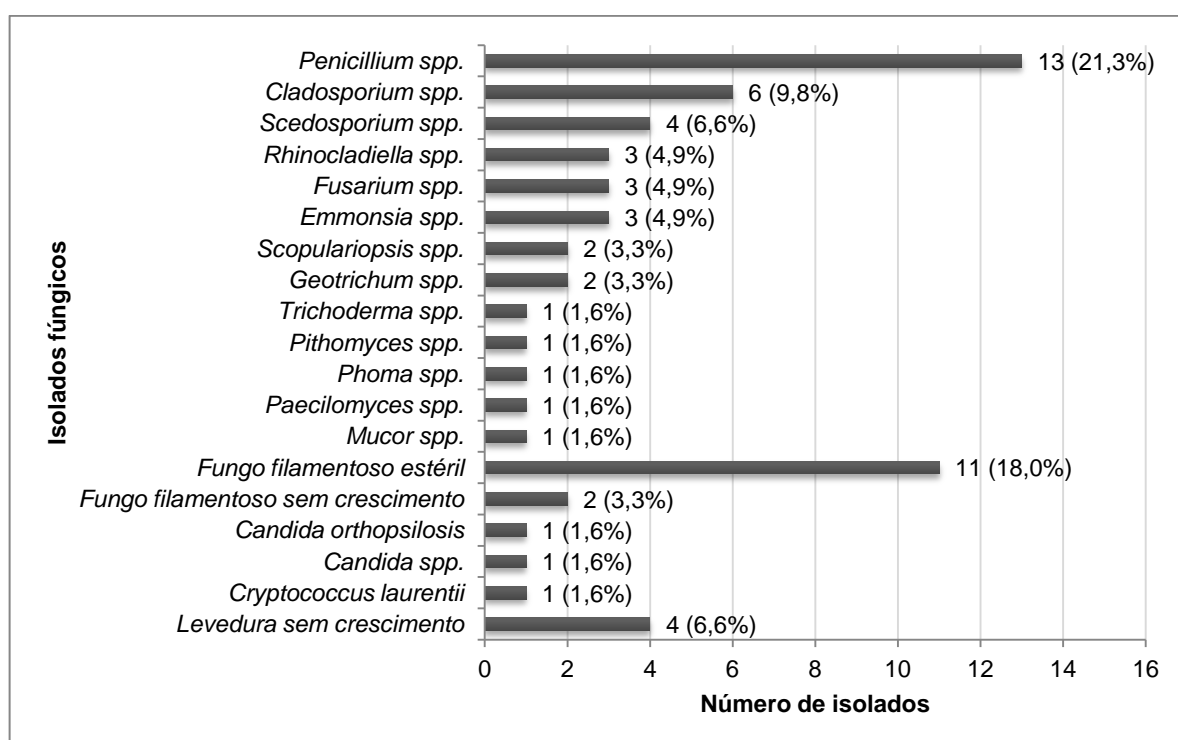


Figura 8 - Fungos isolados das amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Tabela 10 - Distribuição dos isolados fúngicos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados.

Isolados fúngicos	Centros de hemodiálise								
	A			B			C		
	Pontos de coleta			Pontos de coleta			Pontos de coleta		
	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato	Pós-osmose reversa	Reuso	Dialisato
Fungos filamentosos									
<i>Penicillium</i> spp.	3	2	1	0	0	1	0	2	4
<i>Cladosporium</i> spp.	1	2	0	0	1	1	0	0	1
<i>Scedosporium</i> spp.	0	1	0	0	2	0	1	0	0
<i>Emmonsia</i> spp.	0	0	1	0	0	1	1	0	0
<i>Fusarium</i> spp.	0	0	0	0	1	1	0	1	0
<i>Rhinocladiella</i> spp.	2	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Geotrichum</i> spp.	0	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>Scopulariopsis</i> spp.	0	0	1	0	0	1	0	0	0
<i>Mucor</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Paecilomyces</i> spp.	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Phoma</i> spp.	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pithomyces</i> spp.	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Trichoderma</i> spp.	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Fungo filamentoso estéril	0	1	3	0	2	3	1	0	1
Fungo filamentoso sem crescimento	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Leveduras									
<i>Candida orthopsilosis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Candida</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Levedura sem crescimento	0	0	1	0	0	1	0	1	1

Alguns autores também evidenciaram que fungos filamentosos constituem os principais contaminantes fúngicos em águas tratadas para hemodiálise, com predominância dos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, entre outros (ARVANITIDOU et al., 2000; VARO et al., 2007; PIRES-GONÇALVES et al., 2008; MAHMOUDABADI et al., 2011; FIGEL et al., 2013; SCHIAVANO et al., 2014; SUZUKI, 2016). Leveduras, incluindo *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp. e *Rhodotorula* spp., também já foram

relatadas em estudos semelhantes, com diferentes frequências (ARVANITIDOU et al., 2000; SIMÕES e PIRES, 2004; PIRES-GONÇALVES et al., 2008; MONTANARI et al., 2018).

Nas últimas décadas, os fungos têm surgido como importantes agentes etiológicos de infecções nosocomiais (FIGEL et al., 2013). Anteriormente tidos como microrganismos contaminantes e saprófitos, com baixo potencial patogênico, os fungos filamentosos representam atualmente uma causa crescente de complicações clínicas diversas, afetando principalmente indivíduos imunocomprometidos (ANTAS et al., 2012; EVANS e OST, 2015; DURÁN GRAEFF et al., 2017).

Membros do gênero *Penicillium*, os isolados mais frequentes em nossa pesquisa, já foram descritos em infecções fúngicas invasivas em todo o mundo, com envolvimento pulmonar, pericárdico, hepatoesplênico e outros (MOK et al., 1997; GELTNER et al., 2013; CHEN et al., 2013; HU et al., 2013; CHOWDHARY et al., 2014a; SHOKOUHI et al., 2016; RAMÍREZ et al., 2018). Recentemente, tais microrganismos também foram vistos causando graves infecções em indivíduos imunocompetentes (CHAN et al., 2016; YU et al., 2018). *Cladosporium* spp. estão entre os fungos mais dispersos no ambiente (BENSCH et al., 2012) e comumente estão associados a rinite alérgica e lesões cutâneas e subcutâneas localizadas (REVANKAR e SUTTON, 2010), mas podem suplementarmente provocar infecções mais profundas e disseminadas (KANTARCIOGLU et al., 2002; KANTARCIOGLU e DE HOOG, 2004; LALUEZA et al., 2011; SANDOVAL-DENIS et al., 2015; BATRA et al., 2019). Já o gênero *Scedosporium* compreende pelo menos 10 espécies possivelmente patogênicas para os seres humanos, capazes de causar um amplo espectro de doenças em pacientes imunocomprometidos e imunocompetentes (CORTEZ et al., 2008; BERNHARDT et al., 2013; CHEN et al., 2016; MA et al., 2017; RAMIREZ-GARCIA et al., 2018, LIU et al., 2019c). Frequentemente, as infecções invasivas causadas por *Scedosporium* spp. são difíceis de serem tratadas e estão associadas a elevadas taxas de morbimortalidade (RODRIGUEZ-TUDELA et al., 2009; TAMMER et al., 2011; BERNHARDT et al., 2015, 2018).

Microrganismos dos gêneros *Rhinochadiella*, *Fusarium* e *Emmonsia* também podem ser considerados patógenos oportunistas emergentes (CHOWDHARY et al., 2014b; AL-HATMI et al., 2016a; YANG et al., 2017). Algumas espécies de *Rhinochadiella* já foram relatadas em casos de micetomas, cromoblastomicoses,

pneumonias, infecções do sistema nervoso central e da corrente sanguínea (NUCCI et al., 2001; CRISTINI et al., 2010; GOMES et al., 2016; VELASCO e REVANKAR, 2019). *Fusarium* spp. estão entre os fungos filamentosos mais importantes clinicamente, provocando infecções superficiais, invasivas e disseminadas, especialmente em ambientes hospitalares (GUARRO, 2013; NUCCI et al., 2013; LIU et al., 2014; ARNONI et al., 2018; HAYASHIDA et al., 2018). Alguns estudos apontaram que o comprometimento imunológico, com neutropenia profunda e prolongada e/ou imunodeficiência grave de células T, é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de fusariose disseminada, com prognóstico desfavorável (MUHAMMED et al., 2013; YU et al., 2019). Vale ressaltar também que microrganismos do gênero *Fusarium*, assim como *Penicillium*, são importantes produtores de micotoxinas, que podem provocar danos patológicos agudos e crônicos, devido as suas possíveis propriedades imunossupressoras, citotóxicas, nefrotóxicas, neurotóxicas, mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas (NOVAK BABIČ et al., 2017). Normalmente, os casos na literatura de infecções humanas por *Emmonsia* spp. envolvem o acometimento dos pulmões (ANSTEAD et al., 2012), no entanto, na última década, o referido microrganismo também tem sido relatado mundialmente em casos de micoses sistêmicas, com taxas de letalidade de até 50% (KENYON et al., 2013; SCHWARTZ et al., 2015a, 2015b; YANG et al., 2017).

Outros fungos filamentosos ubíquos encontrados em nosso trabalho também já foram evidenciados como patógenos oportunistas em diversas pesquisas. Além de infecções superficiais, *Scopulariopsis* spp. foram descritos em casos de sinusite, bronquite, endocardite, meningite, peritonite e infecções pulmonares e disseminadas (IWEN et al., 2012; YANG et al., 2012; SATTLER et al., 2014; SHAVER et al., 2014; CAWCUTT et al., 2015; PAREDES et al., 2016). Em diferentes países, *Geotrichum* spp. foram relacionados a vários episódios de fungemia, muitas vezes fatais, com o envolvimento de diversos órgãos, tais como pulmões, fígado, baço, sistema nervoso central e rins (GIRMENIA et al., 2005; OZKAYA-PARLAKAY et al., 2012; SAGHROUNI et al., 2012; PEMMARAJU et al., 2014; GAO et al., 2015; DURÁN GRAEFF et al., 2017). Alguns estudos também já descreveram casos graves de infecções fúngicas provocadas por *Thichoderma* spp. (CHOUAKI et al., 2002; KANTARCIOĞLU et al., 2009; SAUTOUR et al., 2018; ROMÁN-SOTO et al., 2019), *Pithomyces* spp. (TERADA et al., 2014; SHAH et al., 2018), *Phoma* spp. (EVERETT

et al., 2003; NUCCI et al., 2010; BENNETT et al., 2018), *Paecilomyces* spp. (CHANG et al., 2008; SCHOONEVELD et al., 2008; ANTAS et al., 2012; TORRES et al., 2014; BORBA e BRITO, 2015) e *Mucor* spp. (DIZBAY et al., 2009; SUGUI et al., 2011; POZO LADERAS et al., 2015; KONTOYIANNIS et al., 2016; TAJ-ALDEEN et al., 2017; GARCIA-HERMOSO et al., 2018; WAGNER et al., 2020).

Quanto às leveduras, estas são certamente a principal causa de infecções fúngicas nosocomiais (AL-DORZI et al., 2020). Candidíase invasiva é a doença fúngica mais prevalente entre pacientes hospitalizados e afeta aproximadamente 250.000 pessoas em todo o mundo anualmente, com mais de 50.000 mortes relatadas (KULLBERG e ARENDRUP, 2015). Embora *C. albicans* ainda permaneça sendo a espécie mais envolvida em quadros patogênicos, nas últimas décadas têm ocorrido uma mudança significativa no perfil epidemiológico dessas infecções, com aumento de casos decorrentes de *Candida* não-*albicans* (SARDI et al. 2013; DEORUKHKAR et al. 2014; PAPPAS et al., 2016; TÓTH et al., 2019), incluindo *C. orthopsilosis* (CHOI et al., 2010; FENG et al., 2012; BARBEDO et al., 2015; ARASTEHFAR et al., 2019), que foi isolada neste estudo. Por fim, *Cryptococcus laurentii*, historicamente classificado como microrganismo exclusivamente saprófito, recentemente também tem se expandido como agente causador de infecções oportunistas em seres humanos, com relatos de infecções pulmonares, oculares e cutâneas, meningites, peritonites e fungemias (BANERJEE et al., 2013; ASANO et al., 2015; HONG et al., 2017; SMITH et al., 2017; CASTRO-LAINEZ et al., 2019; ZHANG et al., 2019b).

Vários estudos já apontaram diversas doenças fúngicas invasivas cuja fonte de infecção estava associada à água do ambiente hospitalar (ANAISSIE et al., 2001, 2002; WARRIS et al., 2003; SHORT et al., 2011; FANFAIR et al., 2013; AO et al., 2014; LITVINOV et al., 2015). Referente à contaminação da água de hemodiálise propriamente, alguns autores relataram episódios de fungemia por *Phialemonium curvatum* e *C. parapsilosis*, relacionados ao reprocessamento inadequado dos dialisadores e refluxo de fluídos residuais (ROSENBERG, 2005; RAO et al., 2009; OYONG et al., 2014), evidenciando-se assim a importância de mais pesquisas semelhantes.

O teste de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos, aplicado aos isolados fúngicos que apresentaram crescimento após subcultivos, revelou variados valores

de CIM para todas as drogas utilizadas neste estudo (Tabela 11).

Tabela 11 - Susceptibilidade aos agentes antifúngicos dos isolados fúngicos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Isolados fúngicos	Antifúngicos							
	Concentração inibitória mínima (CIM) (µg/mL)							
	MICA	CPFG	ANFO	5-FC	FLC	ITZ	VCZ	MCZ
Fungos filamentosos								
<i>Penicillium</i> spp. I	0,125	0,125	0,125	0,5	1	0,125	0,25	4
<i>Penicillium</i> spp. II	0,0625	1	2	8	>64	1	>8	2
<i>Penicillium</i> spp. III	1	0,5	0,5	0,5	2	1	0,5	0,5
<i>Penicillium</i> spp. IV	8	1	>16	16	>64	1	8	2
<i>Penicillium</i> spp. V	0,0156	4	0,5	0,125	>64	1	8	2
<i>Penicillium</i> spp. VI	0,0313	4	0,5	0,125	>64	8	>8	4
<i>Penicillium</i> spp. VII	>16	16	1	0,125	>64	>8	>8	>16
<i>Penicillium</i> spp. VIII	2	0,5	2	32	>64	2	>8	2
<i>Penicillium</i> spp. IX	>16	>16	2	8	>64	1	>8	1
<i>Penicillium</i> spp. X	>16	>16	4	8	>64	0,25	4	0,5
<i>Penicillium</i> spp. XI	>16	>16	2	64	>64	1	>8	1
<i>Penicillium</i> spp. XII	4	0,5	4	2	>64	8	>8	1
<i>Cladosporium</i> spp. I	0,5	0,5	1	16	8	4	0,5	>16
<i>Cladosporium</i> spp. II	0,25	0,5	1	0,25	8	>8	4	2
<i>Cladosporium</i> spp. III	1	2	1	0,5	0,5	0,0625	0,5	1
<i>Scedosporium</i> spp. I	1	8	0,25	64	64	0,25	1	1
<i>Scedosporium</i> spp. II	0,5	4	0,25	1	0,5	1	0,125	0,5
<i>Scedosporium</i> spp. III	4	2	0,5	>64	8	0,125	1	2
<i>Scedosporium</i> spp. IV	0,0625	4	0,5	>64	32	0,5	0,5	0,5
<i>Emmonsia</i> spp. I	0,125	0,25	8	8	8	>8	1	16
<i>Emmonsia</i> spp. II	0,5	0,25	>16	64	16	4	1	4
<i>Emmonsia</i> spp. III	1	1	1	16	1	0,125	0,0313	>16
<i>Fusarium</i> spp. I	16	4	1	>64	>64	2	8	4
<i>Fusarium</i> spp. II	8	4	4	>64	>64	>8	>8	16
<i>Rhinochadiella</i> spp. I	16	16	16	64	64	8	8	16

<i>Rhinocladiella</i> spp. II	4	16	>16	>64	>64	8	>8	2
<i>Rhinocladiella</i> spp. III	2	4	1	4	>64	2	4	2
<i>Scopulariopsis</i> spp.	0,0156	0,125	1	64	>64	0,25	1	2
<i>Paecilomyces</i> spp.	1	2	1	4	>64	2	>8	4
<i>Phoma</i> spp.	2	8	1	64	4	0,25	0,125	0,125
<i>Pithomyces</i> spp.	0,5	2	0,25	2	4	0,125	0,125	0,125
Leveduras								
<i>Candida orthopsilosis</i>	0,25	2	0,5	1	0,25	0,0313	0,0313	0,0625
<i>Cryptococcus laurentii</i>	>16	16	0,5	>64	4	0,125	0,125	0,5

MICA=micafungina; CPFG=caspofungina; ANFO=anfotericina-B; 5-FC=5-flucitosina; FLC=fluconazol; ITZ=itraconazol; VCZ=voriconazol; MCZ=miconazol.

Quanto aos fungos filamentosos, de forma geral, quase todos os isolados exibiram elevados valores de CIM para 5-flucitosina e fluconazol. A maioria dos isolados de *Penicillium* também apresentou baixa susceptibilidade as equinocandinas e ao voriconazol. Adicionalmente, altas CIMs para caspofungina e miconazol foram notadas nos microrganismos dos gêneros *Scedosporium* e *Emmonsia*, respectivamente. Já *Fusarium* spp. e *Rhinocladiella* spp. mostraram baixa susceptibilidade a todas as drogas testadas. Inclusive para a anfotericina-B, alguns isolados filamentosos expuseram CIMs elevadas, com valores variando entre 0,125 e >16 µg/mL.

Corroborando com os nossos achados, vários estudos apontaram baixa atividade da 5-flucitosina e do fluconazol contra fungos filamentosos (CLSI, 2008a; SILVA, 2012; DE JESUS, 2013; ESQUIVEL et al., 2015; PENG et al., 2019). Guevara-Suarez et al. (2016) e Sandoval-Denis et al. (2015), avaliaram isolados dos gêneros *Penicillium* e *Cladosporium*, provenientes de amostras clínicas dos EUA, e também observaram valores de CIM bastante variados, mas, genericamente, um pouco inferiores aos relatados no presente estudo. Comumente, *Scedosporium* spp. exibem resistência *in vitro* a vários antifúngicos, incluindo as equinocandinas, o que torna o tratamento da scedosporiose invasiva difícil (TAMMER et al., 2011; TORTORANO et al., 2014; GOLDMAN et al., 2016). Segundo vários autores e de acordo com os nossos resultados, microrganismos do gênero *Fusarium* estão entre os fungos mais resistentes aos fármacos disponíveis, apresentando altos valores de CIM em testes de susceptibilidade (ALASTRUEY-IZQUIERDO et al., 2008; AL-

HATMI et al., 2016b; VAN DIEPENINGEN e DE HOOG, 2016; ARNONI et al., 2018). Aliás, o surgimento de várias espécies de *Fusarium* com perfil de resistência a múltiplas drogas tem emergido como um importante problema de saúde pública em todo o mundo, com prognóstico desfavorável e elevadas taxas de mortalidade (TAJ-ALDEEN, 2017). Atenção especial deve ser dada aos isolados de *Rhinocladiella* que demonstraram pouca susceptibilidade aos agentes antifúngicos empregados, contrariando alguns trabalhos que relataram para estes microrganismos baixos valores de CIM para anfotericina-B e azóis em geral (NUCCI et al., 2001; SUN et al., 2019). Outros estudos também apontaram diferentes CIMs para várias drogas em relação aos gêneros *Emmonsia* (MAPHANGA et al., 2017), *Scopulariopsis* (SANDOVAL-DENIS et al., 2013; SKÓRA et al., 2015; PAREDES et al., 2016), *Paecilomyces* (HOUBRAKEN et al., 2010; ANTAS et al., 2012; DE JESUS, 2013), *Phoma* (ROEHM et al., 2012) e *Pithomyces* (DA CUNHA et al., 2014), de modo que a eficácia terapêutica dos diversos antifúngicos contra estes microrganismos oportunistas ainda permanece incerta.

Em relação as leveduras, *C. orthopsilosis* mostrou-se sensível a equinocandinas (CIM \leq 2 μ g/mL), ao fluconazol (CIM \leq 2 μ g/mL) e a anfotericina-B (CIM \leq 1 μ g/mL) e apresentou baixos valores de CIM para as outras drogas testadas. Já *C. laurentii* apresentou altos valores de CIM para equinocandinas, 5-flucitosina e fluconazol.

Semelhante aos nossos achados, outros estudos envolvendo leveduras isoladas de amostras de água de hemodiálise não apontaram resistência aos antifúngicos entre os microrganismos do complexo *C. parapsilosis* (PIRES et al., 2011; MONTANARI et al., 2018), porém, falhas clínicas em infecções causadas por *C. orthopsilosis* já foram descritas em alguns trabalhos (CHOI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014; HESLOP et al., 2015; CHARISZADEH et al., 2018). *C. laurentii* com susceptibilidade reduzida a alguns antifúngicos também já foram descritos na literatura (SERENA et al., 2004; AJESH e SREEJITH, 2012; FERREIRA-PAIM et al., 2012).

Nos últimos anos, a resistência antifúngica tem se tornado um problema mundial eminente (HOUŠŤ et al., 2020). Muitos estudos têm buscado esclarecer os fatores relacionados a resistência intrínseca e adquirida, e neste contexto, segundo alguns autores, o aumento do consumo de antifúngicos em ambientes hospitalares e

também na agricultura parece estar influenciando significativamente a emergência de fungos mais resistentes, com CIMs elevadas (VERWEIJ et al., 2009; SNELDERS et al., 2009; JENSEN, 2016). Por conseguinte, os testes de susceptibilidade *in vitro* representam uma importante ferramenta para o conhecimento e monitoramento epidemiológico da resistência aos antifúngicos (ALASTRUEY-IZQUIERDO et al., 2015).

Contudo, é importante enfatizar que, até o momento, os documentos de referência preconizados pelo EUCAST e pelo CLSI estabelecem *breakpoints* para alguns antifúngicos para apenas espécies dos gêneros *Candida* e *Aspergillus* (CLSI, 2008a, 2008b, 2012; LASS-FLÖRL et al., 2011; HOPE et al., 2013; ARENDRUP et al., 2011, 2012, 2014a, 2014b, 2015). Assim, para a maioria dos patógenos fúngicos emergentes ainda não há *breakpoints* definidos, o que torna a interpretação dos resultados de CIM bastante desafiadora, já que a reação *in vitro* não necessariamente representa a resposta clínica ao tratamento (DESNOS-OLLIVIER et al., 2012; ALASTRUEY-IZQUIERDO et al., 2015). Por isso, contínuos esforços são necessários para elucidar as possíveis correlações entre as respostas antifúngicas *in vitro* e *in vivo*, a fim de assegurar o sucesso terapêutico (HADRICH e AYADI, 2018).

A análise de investigação da capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos envolveu todos os microrganismos que apresentaram crescimento após subcultivos, abrangendo 45 fungos filamentosos e 3 leveduras (Tabela 12). No geral, todos os fungos filamentosos produziram biofilme, de forma que 35 (77,8%) isolados foram classificados como forte produtor e 10 (22,2%) como moderado produtor, não sendo observadas diferenças estatísticas significativas entre os gêneros analisados. Também não foram vistas diferenças significativas entre os isolados filamentosos quanto aos centros de hemodiálise e aos pontos de coleta (Tabela 13). Referente as leveduras, 2 (66,7%) isolados não foram capazes de formar biofilme e 1 (33,3%) exibiu um perfil fracamente produtor. Devido a apresentação de apenas uma unidade amostral por grupo, não foi possível realizar análises estatísticas entre os isolados leveduriformes.

Tabela 12 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Isolados fúngicos	Absorbância (nm)*	Classificação (n)			
		Forte produtor	Moderado produtor	Fraco produtor	Não produtor
Fungos filamentosos					
<i>Penicillium</i> spp.	1,92 (0,47-3,34)	11	2	0	0
<i>Cladosporium</i> spp.	1,69 (1,23-2,59)	4	0	0	0
<i>Scedosporium</i> spp.	2,40 (2,15-2,75)	4	0	0	0
<i>Emmonsia</i> spp.	2,78 (2,65-3,01)	1	2	0	0
<i>Fusarium</i> spp.	3,01 (2,92-3,09)	2	0	0	0
<i>Rhinoctadiella</i> spp.	2,71 (2,28-2,94)	2	1	0	0
<i>Geotrichum</i> spp.	1,90 (1,20-2,60)	1	1	0	0
<i>Scopulariopsis</i> spp.	1,52 (1,23-1,80)	1	1	0	0
<i>Mucor</i> spp.	2,24	1	0	0	0
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,32	1	0	0	0
<i>Phoma</i> spp.	2,03	1	0	0	0
<i>Pithomyces</i> spp.	1,49	0	1	0	0
Fungo filamentosos estéril	2,03 (1,67-2,48)	6	2	0	0
Valor-p**	0,083	-	-	-	-
Geral	2,11 (0,47-3,34)	35 (77,8%)	10 (22,2%)	0	0
Leveduras					
<i>Candida orthopsilosis</i>	2,00	0	0	1	0
<i>Candida</i> spp.	1,72	0	0	0	1
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1,63	0	0	0	1
Geral	1,78 (1,63-2,00)	0	0	1 (33,3%)	2 (66,7%)

* Dados expressos em média (mínimo-máximo).

** Teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 13 - Capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos filamentosos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil, de acordo com os centros e os pontos de coleta investigados.

Parâmetros	Capacidade de formação de biofilme	
	Absorbância (nm)*	Valor-p**
Centros de hemodiálise		
A (n=19)	1,88 (0,47-3,01)	0,232
B (n=12)	2,25 (1,67-2,92)	
C (n=14)	2,29 (1,36-3,34)	
Pontos de coleta		
Pós-osmose reversa (n=11)	2,06 (0,92-2,94)	0,462
Reuso (n=14)	1,92 (0,47-3,09)	
Dialisato (n=20)	2,26 (1,23-3,34)	

* Dados expressos em média (mínimo-máximo).

** Teste de Kruskal-Wallis.

Ainda são escassos na literatura os estudos envolvendo a capacidade de formação de biofilme de fungos, especialmente fungos filamentosos. De Jesus (2013) investigou essa competência em isolados potencialmente patogênicos, provenientes de amostras clínicas e ambientais, e relatou que 66,7% dos fungos filamentosos analisados eram capazes de produzir biofilme, sendo 33,3% enquadrados como fortes produtores, 18,5% moderados produtores e 15% fracos produtores. Outros trabalhos semelhantes também descreveram formações de biofilmes *in vitro* por espécies da ordem Mucorales (SINGH et al., 2011) e dos gêneros *Scedosporium* (ROLLIN-PINHEIRO et al., 2017) e *Trichosporon* (MONTROYA et al., 2018). Corroborando com os nossos achados, Thomaz et al. (2018) retrataram isolados do gênero *Candida* com baixa capacidade de formação de biofilme. Já Pires et al. (2011, 2013), avaliando leveduras oriundas do circuito hidráulico de uma unidade de hemodiálise, encontraram um número considerável de cepas do complexo *C. parapsilosis* fortemente produtoras. De forma análoga, diferentes autores também demonstraram tal característica em outras leveduras (SILVA et al., 2011; PANNANUSORN et al., 2012; DE JESUS et al., 2013).

Normalmente, as diferentes técnicas de avaliação *in vitro* da capacidade de produção de biofilme de isolados fúngicos são adaptadas de métodos aplicados em

investigações bacteriológicas, por isso ainda carecem de padronizações (KROM et al., 2007, PIERCE et al., 2008; PIRES et al., 2011; MONTOYA et al., 2018). Assim, além da origem das espécies, divergências nas condições experimentais - tais como pH, meio de cultura, disponibilidade de oxigênio, entre outras - podem ser responsáveis por diferentes achados na literatura (PANNANUSORN et al., 2012).

A investigação estatística de uma possível correlação entre a susceptibilidade aos antifúngicos e a capacidade de formação de biofilme dos isolados filamentosos evidenciou uma correlação positiva (embora com intensidade fraca: $0,3 < r < 0,5$) entre os valores de CIM para micafungina, anfotericina-B e 5-flucitosina e os valores de absorvância do teste de capacidade de formação de biofilme (Tabela 14).

Tabela 14 - Correlação entre a susceptibilidade aos antifúngicos e a capacidade de formação de biofilme dos isolados fúngicos filamentosos, oriundos de amostras de água tratada e dialisato, provenientes de centros de hemodiálise de Bauru (SP), Brasil.

Antifúngicos	Capacidade de formação de biofilme	
	Correlação de Spearman (r)	Valor-p
Micafungina	0,437	0,012
Caspofungina	0,255	0,160
Anfotericina-B	0,361	0,042
5-Flucitosina	0,480	0,005
Fluconazol	0,118	0,518
Itraconazol	0,177	0,334
Voriconazol	0,092	0,615
Miconazol	0,102	0,577

Semelhantemente, maior resistência antifúngica à anfotericina-B e fluconazol foi associada a maior capacidade de produção de biofilme por isolados de *Trichosporon asahii* em pesquisas conduzidas por Sun et al. (2012) e Montoya et al. (2018). Contudo, há também na literatura trabalhos que não observaram essa possível correlação (DE JESUS, 2013; ITURRIETA-GONZÁLEZ et al., 2014), sugerindo que tais achados podem ser influenciados por múltiplos fatores, incluindo origem do isolado, espécie fúngica, fármaco investigado, parâmetros metodológicos e outros (RAMAGE et al., 2012).

Sem dúvida, a capacidade de produzir biofilme representa um importante fator

de virulência para os fungos, uma vez que a formação de biofilmes favorece a proliferação dos mesmos e proporciona maior resistência aos agentes antifúngicos e aos procedimentos de limpeza e desinfecção (SARDI et al., 2014; ROLLIN-PINHEIRO et al., 2017). Deste modo, mais investigações sobre a ocorrência de fungos em fluídos de hemodiálise são fundamentais para ampliar o conhecimento sobre a capacidade de persistência desses microrganismos nessas amostras, seu papel na formação de biofilmes e sua relevância clínica (FIGEL et al., 2013).

Em alguns países, como Itália, Alemanha, Áustria e Suécia, pesquisas de *P. aeruginosa* e fungos em amostras de água para hemodiálise e dialisato são realizadas de forma regular durante as ações de monitoramento da qualidade desses fluídos, com diferentes limites de contagens aceitáveis (NYSTRAND, 2008; TOTARO et al., 2017).

Em suma, várias estratégias podem ser adotadas para evitar a contaminação e proliferação microbiana nos sistemas de tratamento e distribuição de água para hemodiálise, entre elas: (1) utilização de procedimentos químicos e/ou físicos de limpeza e desinfecção adequados, conforme as recomendações técnicas (FERREIRA et al., 2013); (2) troca das tubulações de policloreto de vinila (PVC) por aço inoxidável de alta resistência à corrosão, polímero termoplástico de polietileno reticulado ou fluoreto de polivinilideno (BOLASCO et al., 2012); (3) substituição da osmose reversa de passagem única pela osmose reversa de passagem dupla (TOTARO et al., 2017; GRUPPER et al., 2019); (4) otimização das medidas voltadas para a inibição de biofilmes (COULLIETTE et al., 2013; WU et al., 2015; ROY et al., 2018); (5) ampliação da frequência dos protocolos de desinfecção (ASSERRAJI et al., 2014); e (6) intensificação das ações de monitoramento microbiológico, de forma regular e contínua (VASCONCELOS, 2012).

A adoção do fluído de diálise ultrapuro é um novo padrão para a hemodiálise contemporânea (TOVBIN, 2019). A instalação de ultrafiltros no circuito antes da entrada do dialisato no dialisador, principalmente em modalidades de hemodiálise de alto fluxo, reduz consideravelmente a contagem de bactérias e endotoxinas no fluído dialítico, e tem sido amplamente utilizada em alguns países da Europa e no Japão. No entanto, o alto custo do processo ainda limita sua implantação em países em desenvolvimento (CANAUD e LERTDUMRONGLUK, 2012; DI IORIO et al., 2017).

Muitos estudos já demonstraram que a melhoria da qualidade microbiológica

da água tratada para hemodiálise e dialisato está associada a uma série de benefícios clínicos para os pacientes, com redução da resposta inflamatória e estresse oxidativo, melhora dos níveis de hemoglobina e diminuição dos agentes estimuladores de eritropoietina (ARIZONO et al., 2004; RAHMATI et al., 2004; SITTER et al., 2013; SUSANTITAPHONG et al., 2013; DI IORIO et al., 2017). Por isso, todos os esforços possíveis devem ser empregados para garantir um fluido de diálise seguro, a fim de melhorar a qualidade de vida dos pacientes e possivelmente reduzir as taxas de morbimortalidade relacionadas a esse importante tratamento dialítico.

5. CONCLUSÃO

As análises das amostras de água tratada e dialisato de três centros de hemodiálise do município de Bauru, Estado de São Paulo, apontaram predominantemente resultados satisfatórios quanto aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos avaliados, abrangidos pela legislação brasileira - RDC Nº 11/2014. Contudo, BGN-NF e fungos foram identificados em várias amostras, oriundas de diferentes pontos, de todos os centros investigados. Muitos dos microrganismos isolados são considerados patógenos oportunistas emergentes, o que pode representar um risco à saúde dos pacientes sob hemodiálise, que comumente apresentam comprometimento imunológico e outras comorbidades. Embora mais estudos sejam necessários para elucidar a importância clínica e o limiar de contaminação desses microrganismos em fluídos de hemodiálise, visando ampliar a segurança do processo dialítico, nossos achados sugerem a adoção de medidas de controle e monitoramento regular de BGN-NF e fungos em águas tratadas para hemodiálise e dialisatos.

REFERÊNCIAS

AAMI. Association For The Advancement Of Medical Instrumentation. Water for haemodialysis and related therapies, AAMI/ISO 13959:2014. Arlington: AAMI, 2014. 15 p. ISBN 1-57020-549-3.

Abe K, D'Angelo MT, Sunenshine R, Noble-Wang J, Cope J, Jensen B, Srinivasan A. Outbreak of *Burkholderia cepacia* bloodstream infection at an outpatient hematology and oncology practice. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 28(11):1311-1313, 2007. doi:10.1086/522679.

Abreu-Di Berardino M, Rodríguez-Czaplicki E, Sánchez-Hellín V. *Herbaspirillum huttiense* pneumonia in a patient with essential thrombocythaemia. *Rev Esp Quimioter*, 32(1):83-84, 2019.

Abualhasan M, Basim A, Salahat A, Sofan S, Al-Atrash M. Quality of water used in Palestinian hemodialysis centers. *Public Health*, 165:136-141, 2018. doi:10.1016/j.puhe.2018.09.015

Adley CC, Ryan MP, Pembroke JT, Saieb FM. *Ralstonia pickettii* in high purity water. In: McBain AJ, Allison DJ, Pratten JE, Spratt D, Upton M, Verran J (eds) *Biofilms: persistence and ubiquity*. Biofilm Club Press, Manchester, pp 261-272, 2005.

Ahmed SAKS, Rudden M, Smyth TJ, Dooley JSG, Marchant R, Banat IM. Natural quorum sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103(8):3521-3535, 2019. doi:10.1007/s00253-019-09618-0

Ajesh K, Sreejith K. *Cryptococcus laurentii* biofilms: structure, development and antifungal drug resistance. *Mycopathologia*, 174(5-6):409-419, 2012. doi:10.1007/s11046-012-9575-2

Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL. Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium* spp. Isolates identified by molecular methods. *J Antimicrob Chemother*, 61(4):805-809, 2008. doi:10.1093/jac/dkn022

Alastruey-Izquierdo A, Melhem MS, Bonfietti LX, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 57(Suppl 19):57-64, 2015. doi:0.1590/S0036-46652015000700011

Alcazar-Fuoli L, Mellado E. Current status of antifungal resistance and its impact on clinical practice. *Br J Haematol*, 166(4):471-84, 2014. doi:10.1111/bjh.12896

Al-Dorzi HM, Sakkijha H, Khan R, Aldabbagh T, Toledo A, Ntinika P, Al Johani SM, Arabi YM. Invasive Candidiasis in Critically Ill Patients: A Prospective Cohort Study in Two Tertiary Care Centers. *J Intensive Care Med*, 35(6):542-553, 2020. doi:10.1177/0885066618767835

Alexandraki I, Sullivan R, Zaiden R, Bailey C, McCarter Y, Khan A, Offutt JK, Bhatt

UY, Plott D, Nahman NS Jr. Blood culture isolates in hemodialysis vascular catheter-related bacteremia. *Am J Med Sci*, 336(4):297-302, 2008. doi:10.1097/MAJ.0b013e3181637432

Al-Hatmi AM, Hagen F, Menken SB, Meis JF, de Hoog GS. Global molecular epidemiology and genetic diversity of *Fusarium*, a significant emerging group of human opportunists from 1958 to 2015. *Emerg Microbes Infect*, 5(12):e124, 2016a. doi:10.1038/emi.2016.126

Al-Hatmi AM, Meis JF, de Hoog GS. *Fusarium*: molecular diversity and intrinsic drug resistance. *PLoS Pathog*, 12(4):e1005464, 2016b. doi:10.1371/journal.ppat.1005464

Almasy E, Szederjesi J, Rad P, Georgescu A. A Fatal Case of Community Acquired *Cupriavidus Pauculus* Pneumonia. *J Crit Care Med (Targu Mures)*, 2(4):201-204, 2016. doi:10.1515/jccm-2016-0027.

Al-Naseri SK, Mahdi ZM, Hashim MF. Quality of water in hemodialysis centers in Baghdad, Iraq. *Hemodial Int*, 17(4):517-522, 2013. doi:10.1111/hdi.12027

Anaissie EJ, Kuchar RT, Rex JH, Francesconi A, Kasai M, Makaller FMC, Lozano-Chiu M, Summerbell RC, Dignani MC, Chanock SJ, Walsh TJ. Fusariosis associated with pathogenic *Fusarium* species colonization of a hospital water system: a new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections. *Clin Infect Dis*, 33(11):1871-1878, 2001. doi:10.1086/324501

Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, Summerbell RC, Rex JH, Monson TP, Spencer T, Kasai M, Francesconi A, Walsh TJ. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. *Clin Infect Dis*, 34(6):780-789, 2002. doi:10.1086/338958

Anaissie EJ, Costa SF. Nosocomial aspergillosis is waterborne. *Clin Infect Dis*, 33(9):1546-8, 2001. doi:10.1086/322967

Anstead GM, Sutton DA, Graybill JR. Adiaspiromycosis causing respiratory failure and a review of human infections due to *Emmonsia* and *Chrysosporium* spp. *J Clin Microbiol*, 50(4):1346-1354, 2012. doi:10.1128/JCM.00226-11

Antas PR, Brito MM, Peixoto É, Ponte CG, Borba CM. Neglected and emerging fungal infections: review of hyalohyphomycosis by *Paecilomyces lilacinus* focusing in disease burden, in vitro antifungal susceptibility and management. *Microbes Infect*, 14(1):1-8, 2012. doi:10.1016/j.micinf.2011.08.004

Antony B, Cherian EV, Bloor R, Shenoy KV. A sporadic outbreak of *Burkholderia cepacia* complex bacteremia in pediatric intensive care unit of a tertiary care hospital in coastal Karnataka. South India. *Indian J Pathol Microbiol*, 59:197-199, 2016. doi:10.4103/0377-4929.182010

Ao JH, Hao ZF, Zhu H, Wen L, Yang RY. Environmental investigations and molecular typing of *Aspergillus* in a Chinese hospital. *Mycopathologia*, 177(1-2): 51-57, 2014. doi:10.1007/s11046-013-9697-1

APHA. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd edn. Washington, DC: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2012.

Apostolovic BL, Velickovic-Radovanovic RM, Andjelkovic-Apostolovic MR, Cvetkovic TP, Dinic MM, Radivojevic JD. Repeated *Burkholderia cepacia* Peritonitis in a Patient Undergoing Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. West Indian Med J, 64(3):288-290, 2015. doi:10.7727/wimj.2014.278

Arastehfar A, Khodavaisy S, Daneshnia F, Najafzadeh MJ, Mahmoudi S, Charsizadeh A, Salehi MR, Zarrinfar H, Raeisabadi A, Dolatabadi S, Zare Shahrabadi Z, Zomorodian K, Pan W, Hagen F, Boekhout T. Molecular Identification, Genotypic Diversity, Antifungal Susceptibility, and Clinical Outcomes of Infections Caused by Clinically Underrated Yeasts, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis*: An Iranian Multicenter Study (2014-2019). Front Cell Infect Microbiol, 9:264, 2019. doi:10.3389/fcimb.2019.00264

Araújo Souza BG. Qualidade microbiológica de água tratada para hemodiálise e caracterização de bactérias patogênicas. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde), Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás. Goiânia - GO. 97 p., 2015.

Archibald LK, Khoi NN, Jarvis WR, Reller LB, Cam PD, Thu TA, Hung NV. Pyrogenic reactions in hemodialysis patients, Hanoi, Vietnam. Infect Control Hosp Epidemiol, 27(4):424-426, 2006. doi:10.1086/503347

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Donnelly JP, Hope W, Lass-Flörl C, Rodriguez-Tudela JL; European committee on antimicrobial susceptibility testing - subcommittee on antifungal susceptibility testing (EUCAST-AFST). EUCAST technical note on posaconazole. Clin Microbiol Infect, 17(11):E16-E17, 2011. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03646.x

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope WW; European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST). EUCAST technical note on *Aspergillus* and amphotericin B, itraconazole, and posaconazole. Clin Microbiol Infect, 18(7):E248-E250, 2012. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03890.x

Arendrup MC, Dzajic E, Jensen RH, Johansen HK, Kjaeldgaard P, Knudsen JD, Kristensen L, Leitz C, Lemming LE, Nielsen L, Olesen B, Rosenvinge FS, Røder BL, Schønheyder HC. Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme. Clin Microbiol Infect, 19(8):E343-E353, 2013. doi:10.1111/1469-0691.12212

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope W, Howard SJ, Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT

EDef 9.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. 1-24, 2014a.

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope WW; European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST). EUCAST technical note on *Candida* and micafungin, anidulafungin and fluconazole. *Mycoses*, 57(6):377-379, 2014b. doi:10.1111/myc.12170

Arendrup MC, Guinea J, Cuenca-Estrella M, Meletiadis J, Mouton JW, Lagrou K, Howard SJ, Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT E.DEF 7.3: Method for the determination of broth dilution minimum Inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. 1-21, 2015.

Arizono K, Nomura K, Motoyama T, Matsushita Y, Matsuoka K, Miyazu R, Takeshita H, Fukui H: Use of ultrapure dialysate in reduction of chronic inflammation during hemodialysis. *Blood Purif*, 22(suppl 2):26-29, 2004. doi:10.1159/000081870

Arnoni MV, Paula CR, Auler ME, Simões CCN, Nakano S, Szeszs MW, Melhem MSC, Pereira VBR, Garces HG, Bagagli E, Silva EG, de Macêdo MF, Ruiz LDS. Infections Caused by *Fusarium* Species in Pediatric Cancer Patients and Review of Published Literature. *Mycopathologia*, 183(6):941-949, 2018. doi:10.1007/s11046-018-0257-6.

Arnou PM, Bland LA, Garcia-Houchins S, Fridkin S, Fellner SK: An outbreak of fata fluoride intoxication in a long-term hemodialysis unit. *Ann Intern Med*, 121(5):339-344, 1994. doi:10.7326/0003-4819-121-5-199409010-00005

Arroyo MG, Ferreira AM, Frota OP, Brizzotti-Mazuchi NS, Peresi JTM, Rigotti MA, Macedo CE, de Sousa AFL, de Andrade D, de Almeida MTG. Broad Diversity of Fungi in Hospital Water. *ScientificWorldJournal*, 2020:9358542, 2020. doi:10.1155/2020/9358542

Arvanitidou M, Spaia S, Velegraki A, Pazarloglou M, Kanetidis D, Pangidis P, Askepidis N, Katsinas C, Vayonas G, Katsouyannopoulos V. High level of recovery of fungi from water and dialysate in haemodialysis units. *J Hosp Infect*, 45(3):225-230, 2000. doi:10.1053/jhin.2000.0763

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*, 95(1):180-185, 2003. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01966.x

Asano M, Mizutani M, Nagahara Y, Inagaki K, Kariya T, Masamoto D, Urai M, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Mizuno M, Ito Y. Successful treatment of *Cryptococcus laurentii* peritonitis in a patient on peritoneal dialysis. *Intern Med*, 54(8):941-944, 2015. doi:10.2169/internalmedicine.54.3586

Ashby D, Borman N, Burton J, Corbett R, Davenport A, Farrington K, Flowers K, Fotheringham J, Andrea Fox RN, Franklin G, Gardiner C, Martin Gerrish RN, Greenwood S, Hothi D, Khares A, Koufaki P, Levy J, Lindley E, Macdonald J, Mafrici B, Mooney A, Tattersall J, Tyerman K, Villar E, Wilkie M. Renal Association Clinical Practice Guideline on Haemodialysis. *BMC Nephrol*, 17:20(1):379, 2019. doi:10.1186/s12882-019-1527-3

Asserraji M, Maoujoud A, Belarbi M, Elfarouki R. Monitoring the microbiological quality of dialysate and treated water. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 25(1):91-95, 2014. doi:10.4103/1319-2442.124499

Aujoulat F, Jumas-Bilak E, Masnou A, Sallé F, Faure D, Segonds C, Marchandin H, Teyssier C. Multilocus sequence-based analysis delineates a clonal population of *Agrobacterium (Rhizobium) radiobacter (Agrobacterium tumefaciens)* of human origin. *J Bacteriol*, 193(10):2608-2618, 2011. doi:10.1128/JB.00107-11

Aydin B, Dilli D, Zenciroğlu A, Okumuş N, Ozkan S, Tanır G. A case of newborn with community acquired pneumonia caused by *Cupriavidus pauculus*. *Tuberk Toraks*, 60(2):160-162, 2012.

Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discov Today*, 24(1):350-359, 2019. doi:10.1016/j.drudis.2018.07.003

Azar AT. Modeling and control of dialysis systems. Springer, Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 2013. 784 p. ISBN 978-3-642-27457-2

Azevedo SM, Carmichael WW, Jochimsen EM, Rinehart KL, Lau S, Shaw GR, Eaglesham GK. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology*, 181-182:441-446, 2002. doi:10.1016/s0300-483x(02)00491-2

Badrising S, Bakker L, Lobatto S, van Es A. Peritonitis in a peritoneal dialysis patient due to *Rhizobium radiobacter* and *Moraxella osloensis*: case report and literature review. *Perit Dial Int*, 34(7):813-815, 2014. doi:10.3747/pdi.2013.00238

Balada-Llasat JM, Elkins C, Swyers L, Bannerman T, Pancholi P. Pseudo-outbreak of *Cupriavidus pauculus* infection at an outpatient clinic related to rinsing culturette swabs in tap water. *J Clin Microbiol*, 48(7):2645-2647, 2010. doi:10.1128/JCM.01874-09

Baldani JI, Pot B, Kirchof G, Falsen E, Baldani VL, Olivares FL, Hoste B, Kersters K, Hartmann A, Gillis M, Döbereiner J. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a milk plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. *Int J Syst Bacteriol*, 46(3):802-810, 1996. doi:10.1099/00207713-46-3-802

Banerjee P, Haider M, Trehan V, Mishra B, Thakur A, Dogra V, Loomba P. *Cryptococcus laurentii* Fungemia. *Indian J Med Microbiol*, 31:75-77, 2013.

doi:10.4103/0255-0857.108731

Baquero F, Martínez JL, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol*, 19(3):260-5, 2008. doi:10.1016/j.copbio.2008.05.006

Barbedo LS, Vaz C, Pais C, Figueiredo-Carvalho MHG, Muniz MM, Zancope-Oliveira RM, Sampaio P. Different scenarios for *Candida parapsilosis* fungaemia reveal high numbers of mixed *C. parapsilosis* and *Candida orthopsilosis* infections. *J Med Microbiol*, 64(Pt 1):7-17, 2015. doi:10.1099/jmm.0.080655-0

Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. World Health Organization, London, 2003. ISBN 92 4 156226 9.

Basso M, Venditti C, Raponi G, Navazio AS, Alessandri F, Giombini E, Nisii C, Di Caro A, Venditti M. A case of persistent bacteraemia by *Ralstonia mannitolilytica* and *Ralstonia pickettii* in an intensive care unit. *Infect Drug Resist*, 12:2391-2395, 2019. doi:10.2147/IDR.S206492

Bastos MG, Kirsztajn GM. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. *J Bras Nefrol*, 33(1):93-108, 2011. doi:10.1590/S0101-28002011000100013

Bastos MG, Bregman R, Kirsztajn GM. Doença renal crônica: frequente e grave. *Rev Assoc Med Bras*, 56(2):248-253, 2010. doi:10.1590/S0104-42302010000200028

Batra N, Kaur H, Mohindra S, Singh S, Shamanth AS, Rudramurthy SM. *Cladosporium sphaerospermum* causing brain abscess, a saprophyte turning pathogen: Case and review of published reports. *J Mycol Med*, 29(2):180-184, 2019. doi:10.1016/j.mycmed.2019.04.005

Batté M, Appenzeller BMR, Grandjean D, Fass S, Gauthier V, Jorand F, Mathieu L, Boulam M, Saby S, Block JC. Biofilms in drinking water distribution systems. *Re/Views in Environmental Science and Bio/Technology*, 2:147-168, 2003. doi:10.1023/B:RESB.0000040456.71537.29

Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Tech Bull Regist Med Technol*, 36(3):49-52, 1966.

Bayram N, Devrim I, Apa H, Gulfidan G, Turkyilmaz HN, Gunay I. *Sphingomonas paucimobilis* infections in children: 24 case reports. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 5(1):e2013040, 2013. doi:10.4084/MJHID.2013.040

Benachinmardi KK, Padmavathy M, Malini J, Naveneeth BV. Prevalence of non-fermenting Gram negative bacilli and their in vitro susceptibility pattern at a tertiary care teaching Hospital. *J Sci Soc*, 41(3):162-166, 2014. doi:10.4103/0974-5009.141204

Bennett A, Ponder MM, Garcia-Diaz J. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Its Clinical Impact. *Microorganisms*, 6(3):58, 2018. doi:10.3390/microorganisms6030058

Bensch K, Braun U, Groenewald JZ, Crous PW. The genus *Cladosporium*. *Stud Mycol*, 72(1):1-401, 2012. doi:10.3114/sim0003

Bernhardt A, Meyer W, Rickerts V, Aebischer T, Tintelnot K. Identification of 14- α -Lanosterol Demethylase (CYP51) in *Scedosporium* Species. *Antimicrob Agents Chemother*, 62(8):e02599-17, 2018. doi:10.1128/AAC.02599-17

Bernhardt A, Sedlacek L, Wagner S, Schwarz C, Wurstl B, Tintelnot K. Multilocus sequence typing of *Scedosporium apiospermum* and *Pseudallescheria boydii* isolates from cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*, 12(6):592-598, 2013. doi:10.1016/j.jcf.2013.05.007

Bernhardt A, Seibold M, Rickerts V, Tintelnot K. Cluster analysis of *Scedosporium boydii* infections in a single hospital. *Int J Med Microbiol*, 305(7):724-728, 2015. doi:10.1016/j.ijmm.2015.08.024

Bibashi E, Memmos D, Kokolina E, Tsakiris D, Sofianou D, Papadimitriou M. Fungal peritonitis complicating peritoneal dialysis during an 11-year period: report of 46 cases. *Clin Infect Dis*, 36(7):927-931, 2003. doi:10.1086/368210

Bitew A. High Prevalence of Multi-Drug Resistance and Extended Spectrum Beta Lactamase Production in Non-Fermenting Gram-Negative Bacilli in Ethiopia. *Infect Dis (Auckl)*, 12:1178633719884951, 2019. doi:10.1177/1178633719884951

Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS Suppl*, (136):1-51, 2013. doi:10.1111/apm.12099

Boattini M, Bianco G, Biancone L, Cavallo R, Costa C. *Ralstonia mannitolilytica* bacteraemia: a case report and literature review. *Infez Med*, 26(4):374-378, 2018.

Bolasco P, Contu A, Meloni P, Vacca D, Murtas S. The evolution of technological strategies in the prevention of dialysis water pollution: sixteen years' experience. *Blood Purif*, 34(3-4):238-245, 2012. doi:10.1159/000343127

Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS Pathogens*, 4(4):e1000052, 2008. doi:10.1371/journal.ppat.1000052

Bolzon C, Nguyen BH. A rare case of peritonitis due to *Brevundimonas vesicularis*. *J Community Hosp Intern Med Perspect*, 8(3):161-162, 2018. doi:10.1080/20009666.2018.1478564

Borba CM, Brito MMS. *Paecilomyces*: Mycotoxin production and human infection. In: Paterson RRM, Lima N, editors. *Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi*. CRC Press; Boca Raton, FL, USA: 2015. pp. 401-421.

Borges CR, Lascowski KM, Filho NR, Pelayo JS. Microbiological quality of water and dialysate in a haemodialysis unit in Ponta Grossa-PR, Brazil. *J Appl Microbiol*, 103(5):1791-1797, 2007. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03431.x

Bossola M, Sanguinetti M, Scribano D, Zuppi C, Giungi S, Luciani G, Torelli R, Posteraro B, Fadda G, Tazza L. Circulating bacterial-derived DNA fragments and markers of inflammation in chronic hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 4(2):379-385, 2009. doi:10.2215/CJN.03490708

Braimoh RW, Mabayoje MO, Amira CO, Coker H. Quality of hemodialysis water in a resource-poor country: the Nigerian example. *Hemodial Int*, 16(4):532-538, 2012. doi:10.1111/j.1542-4758.2012.00682.x

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação Nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 03 de outubro de 2017.

Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 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 União. Brasília, DF, 14 de março de 2014.

Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 154, de 15 de junho de 2004. Estabelece o regulamento técnico para o funcionamento dos Serviços de Diálise. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 17 de junho de 2004.

Brown GD, Denning DW, Gow NA, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*, 4(165):165rv13, 2012. doi:10.1126/scitranslmed.3004404

Bugno A, Almodóvar AAB, Pereira TC, Auricchio MT. Detecção de bactérias Gram-negativas não fermentadoras em água tratada para diálise. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 66(2):172-175, 2007.

Caixeta MAB, Braga AS, de Almeida DGS, Pinto OG, Santana ES, Naves PLF. Estudo da formação de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa*. *Enciclopédia Biosfera*, 16(29):1870-1880, 2019. doi:10.18677/EnciBio_2019A144

Calderaro RVV, Heller L. Outbreak of hemolytic reactions associated with chlorine and chloramine residuals in hemodialysis water. *Rev Saúde Pública*, 35(5):481-486, 2001.

Canaud B, Lertdumrongluk P. Ultrapure dialysis fluid: a new standard for contemporary hemodialysis. *Nephrourol Mon*, 4(3):519-523, 2012. doi:10.5812/numonthly.3060

Cappelli G, Sereni L, Scialoja MG, Morselli M, Perrone S, Ciuffreda A, Bellesia M, Inguaggiato P, Albertazzi A, Tetta C. Effects of biofilm formation on haemodialysis monitor disinfection. *Nephrol Dial Transplant*, 18(10):2105-2111, 2003.

doi:10.1093/ndt/gfg344

Cappelli G, Tetta C, Canaud B. Is biofilm a cause of silent chronic inflammation in haemodialysis patients? A fascinating working hypothesis. *Nephrol Dial Transplant*, 20(2):266-270, 2005. doi:10.1093/ndt/gfh571

Carlson DJ, Shapiro FL. Methemoglobin from well water nitrates. A complication of hemodialysis. *Ann Intern Med*, 73(5):757-759, 1970. doi:10.7326/0003-4819-73-5-757

Carlson W. Dialyzer reprocessing. *Int J Comput Intell Stud*, 404:481-517, 2013.

Casanova C, Lo Priore E, Egli A, Seth-Smith HMB, Räber L, Ott D, Pflüger V, Droz S, Marschall J, Sommerstein R. *Agrobacterium* spp. nosocomial outbreak assessment using rapid MALDI-TOF MS based typing, confirmed by whole genome sequencing. *Antimicrob Resist Infect Control*, 8:171, 2019. doi:10.1186/s13756-019-0619-y

Castro-Lainez MT, Deliz-Aguirre R, Antunez D, Cruz-Codina M, Cahuayme-Zuniga L, Vitale K, Sierra-Hoffman M, Midturi JK. *Cryptococcus laurentii* meningitis in a non-HIV patient. *IDCases*, 18:e00612, 2019. doi:10.1016/j.idcr.2019.e00612

Cawcutt K, Baddour LM, Burgess M. A case of *Scopulariopsis brevicaulis* endocarditis with mycotic aneurysm in an immunocompetent host. *Case Rep Med*, 2015:872871, 2015. doi:10.1155/2015/872871

Chan JF, Lau SK, Yuen KY, Woo PC. *Talaromyces (Penicillium) marneffe* infection in non-HIV-infected patients. *Emerg Microbes Infect*, 5(3):e19, 2016. doi:10.1038/emi.2016.18

Chang B, Sun PL, Huang FY, Tsai TC, Lin CC, Lee MD, Chen YC, Sheu JC, Tsai JD. *Paecilomyces lilacinus* peritonitis complicating peritoneal dialysis cured by oral voriconazole and terbinafine combination therapy. *J Med Microbiol*, 57(Pt 12):1581-1584, 2008. doi:10.1099/jmm.0.2008/001149-0

Chanza M, Vidal S, Gimeno C. *Rhizobium radiobacter* in pulmonar abscesso associated with postgripal necrotizing pneumonia. *Rev Esp Quimioter*, 30(1):50-51, 2017.

Charsizadeh A, Mirhendi H, Nikmanesh B, Eshaghi H, Rahmani M, Farhang A, Bakhshi H, Makimura k. Candidemia in children caused by uncommon species of *Candida*. *Arc Pediatr Infect Dis*, 6:e11895, 2018. doi:10.5812/pedinfect.11895

Chemaly RF, Dantes R, Shah DP, Shah PK, Pascoe N, Ariza-Heredia E, Perego C, Nguyen DB, Nguyen K, Modarai F, Moulton-Meissner H, Noble-Wang J, Tarrand JJ, LiPuma JJ, Guh AY, MacCannell T, Raad I, Mulanovich V. Cluster and sporadic cases of *Herbaspirillum* species infections in patients with cancer. *Clin Infect Dis*, 60(1):48-54, 2015. doi:10.1093/cid/ciu712

Chen J, Su Z, Liu Y, Sandoghchian S, Zheng D, Wang S, Xu H. *Herbaspirillum* species: a potential pathogenic bacteria isolated from acute lymphoblastic leukemia

patient. *Curr Microbiol*, 62(1):331-333, 2011. doi:10.1007/s00284-010-9703-5

Chen M, Houbraken J, Pan W, Zhang C, Peng H, Wu L, Xu D, Xiao Y, Wang Z, Liao W. Pulmonary fungus ball caused by *Penicillium capsulatum* in a patient with type 2 diabetes: a case report. *BMC Infect Dis*, 13:496, 2013. doi:10.1186/1471-2334-13-496

Chen M, Zeng J, De Hoog GS, Stielow B, Gerrits Van Den Ende AH, Liao W, Lackner M. The 'species complex' issue in clinically relevant fungi: a case study in *Scedosporium apiospermum*. *Fungal Biol*, 120(2):137-146, 2016. doi:10.1016/j.funbio.2015.09.003

Chen L, Zhu X, Zhang M, Wang Y, Lv T, Zhang S, Yu X. Profiling Total Viable Bacteria in a Hemodialysis Water Treatment System. *J Microbiol Biotechnol*, 27(5):995-1004, 2017a. doi:10.4014/jmb.1612.12002

Chen YY, Huang WT, Chen CP, Sun SM, Kuo FM, Chan YJ, Kuo SC, Wang FD. An Outbreak of *Ralstonia pickettii* Bloodstream Infection Associated with an Intrinsically Contaminated Normal Saline Solution. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 38(4):444-448, 2017b. doi:10.1017/ice.2016.327

Cheong HS, Wi YM, Moon SY, Kang CI, Son JS, Ko KS, Chung DR, Lee NY, Song JH, Peck KR. Clinical features and treatment outcomes of infections caused by *Sphingomonas paucimobilis*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 29(10):990-992, 2008. doi:10.1086/591091

Chiu CW, Li MC, Ko WC, Li CW, Chen PL, Chang CM, Lee NY, Lee CC. Clinical impact of Gram-negative nonfermenters on adults with community-onset bacteremia in the emergency department. *J Microbiol Immunol Infect*, 48(1):92-100, 2015. doi:10.1016/j.jmii.2013.08.004

Choi HJ, Shin JH, Park KH, Shin MG, Suh SP, Ryang DW. A fatal case of *Candida orthopsilosis* fungemia. *Korean J Clin Microbiol*, 13(3):140-143, 2010. doi:10.5145/KJCM.2010.13.3.140

Chouaki T, Lavarde V, Lachaud L, Raccurt CP, Hennequin C. Invasive infections due to *Trichoderma* species: report of 2 cases, findings of in vitro susceptibility testing, and review of the literature. *Clin Infect Dis*, 35(11):1360-1367, 2002. doi:10.1086/344270

Chowdhary A, Kathuria S, Agarwal K, Sachdeva N, Singh PK, Jain S, Meis JF. Voriconazole-Resistant *Penicillium oxalicum*: An Emerging Pathogen in Immunocompromised Hosts. *Open Forum Infect Dis*, 1(2):ofu029, 2014a. doi:10.1093/ofid/ofu029

Chowdhary A, Perfect J, de Hoog GS. Black Molds and Melanized Yeasts Pathogenic to Humans. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 5(8):a019570, 2014b. doi:10.1101/cshperspect.a019570

Ciofu O, Mandsberg LF, Wang H, Hoiby N. Phenotypes selected during chronic lung

infection in cystic fibrosis patients: implications for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections. FEMS Immunol Medical Microbiol, 65(2):215-225, 2012. doi:10.1111/j.1574-695X.2012.00983.x

Ciofu O, Tolker-Nielsen T. Tolerance and Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms to Antimicrobial Agents-How *P. aeruginosa* Can Escape Antibiotics. Front Microbiol, 10:913, 2019. doi:10.3389/fmicb.2019.00913

Clark T, Huhn GD, Conover C, Cali S, Arduino MJ, Hajjeh R, Brandt ME, Fridkin SK. Outbreak of bloodstream infection with the mold *Phialemonium* among patients receiving dialysis at a hemodialysis unit. Infect Control Hosp Epidemiol, 27(11):1164-1170, 2006. doi:10.1086/508822

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard - Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008a.

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard - Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008b.

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

Coelho AAS, Fernandes GCF, Holanda JOS. Cloração da água utilizada nas sessões de hemodiálise em hospitais da cidade do Recife-Pernambuco. Acta paul enferm, 22(1):540-542, 2009. doi:10.1590/S0103-21002009000800018

Coenye T, Goris J, Spilker T, Vandamme P, LiPuma JJ. Characterization of unusual bacteria isolated from respiratory secretions of cystic fibrosis patients and description of *Inquilinus limosus* gen. nov., sp. nov. J Clin Microbiol, 40(6):2062-2069, 2002. doi:10.1128/jcm.40.6.2062-2069.2002

Cortez KJ, Roilides E, Quiroz-Telles F, Meletiadis J, Antachopoulos C, Knudsen T, Buchanan W, Milanovich J, Sutton DA, Fothergill A, Rinaldi MG, Shea YR, Zaoutis T, Kottitil S, Walsh TJ. Infections caused by *Scedosporium* spp. Clin Microbiol Rev, 21(1):157-197, 2008. doi:10.1128/CMR.00039-07

Coulliette AD, Arduino MJ. Hemodialysis and water quality. Semin Dial, 26(4):427-438, 2013. doi:10.1111/sdi.12113

Cristini A, Garcia-Hermoso D, Celard M, Albrand G, Lortholary O. Cerebral phaeohyphomycosis caused by *Rhinocladiella mackenziei* in a woman native to Afghanistan. J Clin Microbiol, 48(9):3451-3454, 2010. doi:10.1128/JCM.00924-10

D'Alessandro D, Nusca A, Napoli C. Are liquids an efficient vehicle of healthcare

associated infections? A review of reported cases in Italy (2000-2014). *Ann Ig*, 28(6):416-431, 2016. doi:10.7416/ai.2016.2124

da Cunha KC, Sutton DA, Gené J, Cano J, Capilla J, Madrid H, Decock C, Wiederhold NP, Guarro J. *Pithomyces* species (Montagnulaceae) from clinical specimens: identification and antifungal susceptibility profiles. *Med Mycol*, 52(7):748-757, 2014. doi:10.1093/mmy/myu044

de Abreu PM, Farias PG, Paiva GS, Almeida AM, Morais PV. Persistence of microbial communities including *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. *BMC Microbiol*, 14:118, 2014. doi:10.1186/1471-2180-14-118

De Jesus RS. Avaliação da formação de biofilme de fungos emergentes e sua susceptibilidade a antifúngicos na forma livre e nanoencapsulada. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre - RS, p. 117. 2013.

Decker BK, Palmore TN. The role of water in healthcare-associated infections. *Curr Opin Infect Dis*, 26(4):345-351, 2013. doi:10.1097/QCO.0b013e3283630adf

Del Borgo C, Maneschi F, Belvisi V, Morelli F, Vetica A, Marocco R, Tieghi T, Lichtner M, Mastroianni CM. Postpartum fever in the presence of a fibroid: *Sphingomonas paucimobilis* sepsis associated with pyomyoma. *BMC Infect Dis*, 13:574, 2013. doi:10.1186/1471-2334-13-574

de-Las-Casas-Cámara G, Giráldez-García C, Adillo-Montero MI, Muñoz-Egea MC, Martín-Ríos MD. Impact of removing sinks from an intensive care unit on isolations by gram-negative non-fermenting bacilli in patients with invasive mechanical ventilation. *Med Clin (Barc)*, 152(7):261-263, 2019. doi:10.1016/j.medcli.2018.06.023

Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Non-albicans *Candida* Infection: An Emerging Threat. *Interdiscip Perspect Infect Dis*, 2014:615958, 2014. doi:10.1155/2014/615958

Desnos-Ollivier M, Robert V, Raoux-Barbot D, Groenewald M, Dromer F. Antifungal susceptibility profiles of 1698 yeast reference strains revealing potential emerging human pathogens. *PloS One*, 7(3):e32278, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0032278

De Sole P, Rossi C, Chiarpotto M, Ciasca G, Bocca B, Alimonti A, Bizzarro A, Rossi C, Masullo C. Possible relationship between Al/ferritin complex and Alzheimer's disease. *Clin Biochem*, 46(1-2):89-93, 2013. doi:10.1016/j.clinbiochem.2012.10.023

Dhital R, Paudel A, Bohra N, Shin AK. *Herbaspirillum* Infection in Humans: A Case Report and Review of Literature. *Case Rep Infect Dis*, 2020:9545243, 2020. doi:10.1155/2020/9545243

Di Iorio B, Di Micco L, Bruzzese D, Nardone L, Russo L, Formisano P, D'Esposito V, Russo D. Ultrapure dialysis water obtained with additional ultrafilter may reduce

inflammation in patients on hemodialysis. *J Nephrol*, 30(6):795-801, 2017. doi:10.1007/s40620-017-0422-x

D'Inzeo T, Santangelo R, Fiori B, De Angelis G, Conte V, Giaquinto A, Palucci I, Scoppettuolo G, Di Florio V, Giani T, Sanguinetti M, Rossolini GM, Spanu T. Catheter-related bacteremia by *Cupriavidus metallidurans*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 81(1):9-12, 2015. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2014.09.015

Dizbay M, Adisen E, Kustimur S, Sari N, Cengiz B, Yalcin B, Kalkanci A, Gonul II, Sugita T. Fungemia and cutaneous zygomycosis due to *Mucor circinelloides* in an intensive care unit patient: case report and review of literature. *Jpn J Infect Dis*, 62(2):146-148, 2009.

Doggett MS. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. *Appl Environ Microbiol*, 66(3):1249-1251, 2000. doi:10.1128/aem.66.3.1249-1251.2000

Doit C, Loukil C, Simon AM, Ferroni A, Fontan JE, Bonacorsi S, Bidet P, Jarlier V, Aujard Y, Beaufils F, Bingen E. Outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia in a pediatric hospital due to contamination of lipid emulsion stoppers. *J Clin Microbiol*, 42(5):2227-2230, 2004. doi:10.1128/jcm.42.5.2227-2230.2004

Dombrowsky M, Kirschner A, Sommer R. PVC-piping promotes growth of *Ralstonia pickettii* in dialysis water treatment facilities. *Water Sci Technol*, 68(4):929-933, 2013. doi:10.2166/wst.2013.332

Douterelo I, Jackson M, Solomon C, Boxall J. Microbial analysis of in situ biofilm formation in drinking water distribution systems: implications for monitoring and control of drinking water quality. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100(7):3301-3311, 2016. doi:10.1007/s00253-015-7155-3

Draibe SA. Panorama da Doença Renal Crônica no Brasil e no mundo. Universidade Federal do Maranhão. UNA-SUS/UFMA. Ministério da Saúde. São Luís - MA, 2014. 34f

Ducki S, Francini N, Blech MF. Water used for hemodialysis equipment: where is *Pseudomonas aeruginosa*? *Nephrol Ther*, 1(2):126-130, 2005. doi:10.1016/j.nephro.2005.02.009

Duggal S, Gur R, Nayar R, Rongpharpi SR, Jain D, Gupta RK. *Cupriavidus pauculus* (*Ralstonia paucula*) concomitant meningitis and septicemia in a neonate: first case report from India. *Indian J Med Microbiol*, 31(4):405-409, 2013. doi:10.4103/0255-0857.118871

Durán Graeff L, Seidel D, Vehreschild MJ, Hamprecht A, Kindo A, Racil Z, Demeter J, De Hoog S, Aurbach U, Ziegler M, Wisplinghoff H, Cornely OA. Invasive infections due to *Saprochaete* and *Geotrichum* species: Report of 23 cases from the FungiScope Registry. *Mycoses*, 60(4):273-279, 2017. doi:10.1111/myc.12595

EBPG. European Best Practice Guidelines for Hemodialysis. Part 1. Section IV.

Dialysis fluid purity. *Nephrol Dial Transplant*, 17(Suppl 7):45-62, 2002.

Edens C, Wong J, Lyman M, Rizzo K, Nguyen D, Blain M, Horwich-Scholefield S, Moulton-Meissner H, Epton E, Rosenberg J, Patel PR. Hemodialyzer Reuse and Gram-Negative Bloodstream Infections. *Am J Kidney Dis*, 69(6):726-733, 2017. doi:10.1053/j.ajkd.2016.09.022

Edmond MB, Riddler SA, Baxter CM, Wicklund BM, Pasculle AW. *Agrobacterium radiobacter*: a recently recognized opportunistic pathogen. *Clin Infect Dis*, 16(3):388-391, 1993. doi:10.1093/clind/16.3.388

Eichenberger EM, Thaden JT. Epidemiology and Mechanisms of Resistance of Extensively Drug Resistant Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics (Basel)*, 8(2):37, 2019. doi:10.3390/antibiotics8020037

El Chakhtoura NG, Saade E, Iovleva A, Yasmin M, Wilson B, Perez F, Bonomo RA. Therapies for multidrug resistant and extensively drug-resistant non-fermenting gram-negative bacteria causing nosocomial infections: a perilous journey toward 'molecularly targeted' therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 16(2):89-110, 2018. doi:10.1080/14787210.2018.1425139

ERA-EDTA. European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association. Registry Annual Report 2014. Academic Medical Center, Department of Medical Information, Amsterdam, The Netherlands, 2016.

Espinel-Ingroff A. Mechanisms of resistance to antifungal agents: yeasts and filamentous fungi. *Rev Iberoam Micol*, 25(2):101-106, 2008. doi:10.1016/s1130-1406(08)70027-5

Esquivel BD, Smith AR, Zavrel M, White TC. Azole drug import into the pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 59(6):3390-3398, 2015. doi:10.1128/AAC.05003-14

Evans SE, Ost DE. Pneumonia in the neutropenic cancer patient. *Curr Opin Pulm Med*, 21(3):260-271, 2015. doi:10.1097/MCP.000000000000156

Everett J, Busick N, Sielaff T, Wahoff D, Dunn D. A deeply invasive *Phoma* species infection in a renal transplant recipient. *Transpl Proc*, 35(4):1387-1389, 2003. doi:10.1016/S0041-1345(03)00440-8

Fanfair RN, Heslop O, Etienne K, Rainford L, Roy M, Gade L, Peterson J, O'Connell H, Noble-Wang J, Balajee SA, Brandt ME, Lindo JF, Park BJ. *Trichosporon asahii* among intensive care unit patients at a medical center in Jamaica. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 34(6):638-641, 2013. doi:10.1086/670633

Fang Q, Feng Y, Feng P, Wang X, Zong Z. Nosocomial bloodstream infection and the emerging carbapenem-resistant pathogen *Ralstonia insidiosa*. *BMC Infect Dis*, 19(1):334, 2019. doi:10.1186/s12879-019-3985-4

Faoro H, Oliveira WK, Weiss VA, Tadra-Sfeir MZ, Cardoso RL, Balsanelli E,

Brusamarello-Santos LCC, Camilios-Neto D, Cruz LM, Raittz RT, Marques ACQ, LiPuma J, Fadel-Picheth CMT, Souza EM, Pedrosa FO. Genome comparison between clinical and environmental strains of *Herbaspirillum seropedicae* reveals a potential new emerging bacterium adapted to human hosts. BMC Genomics, 20(1):630, 2019. doi:10.1186/s12864-019-5982-9

Faure E, Kwong K, Nguyen D. *Pseudomonas aeruginosa* in Chronic Lung Infections: How to Adapt Within the Host? Front Immunol, 9:2416, 2018. doi:10.3389/fimmu.2018.02416

Fehlberg LC, Andrade LH, Assis DM, Pereira RH, Gales AC, Marques EA. Performance of MALDI-ToF MS for species identification of *Burkholderia cepacia* complex clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis, 77(2):126-128, 2013. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.06.011

Fendley DA, Ward RA. Dialysate quality: new standards require a new approach to compliance. Semin Dial, 25(5):510-515, 2012. doi:10.1111/sdi.12007

Feng X, Ling B, Yang G, Yu X, Ren D, Yao Z. Prevalence and distribution profiles of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* responsible for superficial candidiasis in a Chinese university hospital. Mycopathologia, 173(4):229-234, 2012. doi:10.1007/s11046-011-9496-5

Fernández-Olmos A, García-Castillo M, Morosini M-I, Lamas A, Máiz L, Cantón R. MALDI-TOF MS improves routine identification of non-fermenting Gram negative isolates from cystic fibrosis patients. J Cyst Fibros, 11(1):59-62, 2012. doi:10.1016/j.jcf.2011.09.001

Ferreira JAB, Nóbrega HN, Vieira VV, Abrantes SMP. Diversidade genética e produção de biofilme de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas da água utilizada em Unidades de Terapia Renal Substitutiva. Analytica, 11(65):56-70, 2013.

Ferreira-Paim K, Andrade-Silva L, Mora DJ, Lages-Silva E, Pedrosa AL, da Silva PR, Andrade AA, Silva-Vergara ML. Antifungal susceptibility, enzymatic activity, PCR-fingerprinting and ITS sequencing of environmental *Cryptococcus laurentii* isolates from Uberaba, Minas Gerais, Brazil. Mycopathologia, 174(1):41-52, 2012. doi:10.1007/s11046-011-9500-0

Figel IC, Marangoni PR, Tralamazza SM, Vicente VA, Dalzoto Pdo R, do Nascimento MM, de Hoog GS, Pimentel IC. Black yeasts-like fungi isolated from dialysis water in hemodialysis units. Mycopathologia, 175(5-6):413-420, 2013. doi:10.1007/s11046-013-9633-4

Finley RL, Collignon P, Larsson DG, McEwen SA, Li XZ, Gaze WH, Reid-Smith R, Timinouni M, Graham DW, Topp E. The scourge of antibiotic resistance: the important role of the environment. Clin Infect Dis, 57(5):704-710, 2013. doi:10.1093/cid/cit355

Flaherty JP, Garcia-Houchins S, Chudy R, Arnow PM. An outbreak of gram-negative bacteremia traced to contaminated O-rings in reprocessed dialyzers. Ann Intern Med, 2013.

119(11):1072-1078, 1993. doi:10.7326/0003-4819-119-11-199312010-00003

Flemming HC, Percival SL, Walker J. Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Res*, 2:271-280, 2002.

Folescu TW, da Costa CH, Cohen RW, da Conceição Neto OC, Albano RM, Marques EA. *Burkholderia cepacia* complex: clinical course in cystic fibrosis patients. *BMC Pulm Med*, 15:158, 2015. doi:10.1186/s12890-015-0148-2

Freschi L, Vincent AT, Jeukens J, Emond-Rheault JG, Kukavica-Ibrulj I, Dupont MJ, Charette SJ, Boyle B, Levesque RC. The *Pseudomonas aeruginosa* Pan-Genome Provides New Insights on Its Population Structure, Horizontal Gene Transfer, and Pathogenicity. *Genome Biol Evol*, 11(1):109-120, 2019. doi:10.1093/gbe/evy259

Gao GX, Tang HL, Zhang X, Xin XL, Feng J, Chen XQ. Invasive fungal infection caused by *Geotrichum capitatum* in patients with acute lymphoblastic leukemia: a case study and literature review. *Int J Clin Exp Med*, 8(8):14228-14235, 2015.

García-Contreras R. Is Quorum Sensing Interference a Viable Alternative to Treat *Pseudomonas aeruginosa* Infections? *Front Microbiol*, 7:1454, 2016. doi:10.3389/fmicb.2016.01454

Garcia-Hermoso D, Criscuolo A, Lee SC, Legrand M, Chaouat M, Denis B, Lafaurie M, Rouveau M, Soler C, Schaal JV, Mimoun M, Mebazaa A, Heitman J, Dromer F, Brisse S, Bretagne S, Alanio A. Outbreak of invasive wound mucormycosis in a burn unit due to multiple strains of *Mucor circinelloides* f. *circinelloides* resolved by whole-genome sequencing. *mBio*, 9(2):e00573-18, 2018. doi:10.1128/mBio.00573-18

Garvey MI, Bradley CW, Holden E, Weibren M. Where to do water testing for *Pseudomonas aeruginosa* in a healthcare setting. *J Hosp Infect*, 97(2):192-195, 2017. doi:10.1016/j.jhin.2017.06.014

Garvey MI, Bradley CW, Tracey J, Oppenheim B. Continued transmission of *Pseudomonas aeruginosa* from a hand wash basin tap in a critical care unit. *J Hosp Infect*, 94(1):8-12, 2016. doi:10.1016/j.jhin.2016.05.004

Gautam V, Sharma M, Singhal L, Kumar S, Kaur P, Tiwari R, Ray P. MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging tool for unequivocal identification of non-fermenting Gram-negative bacilli. *Indian J Med Res*, 145(5):665-672, 2017. doi:10.4103/ijmr.IJMR_1105_15

Gautam RK. Rapid Pulsed-Field Gel Electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other Gram-negative organisms in 1 Day. *J Clin Microbiol*, 35(11):2977-2980, 1997.

Geltner C., Lass-Flörl C., Bonatti H., Müller L., Stelzmüller I. Invasive pulmonary mycosis due to *Penicillium chrysogenum*: a new invasive pathogen. *Transplantation*, 95(4):e21-e23, 2013. doi:10.1097/TP.0b013e31827ff214

Girmenia C, Pagano L, Martino B, D'Antonio D, Fanci R, Specchia G, Melillo L, Buelli

M, Pizzarelli G, Venditti M, Martino P, GIMEMA Infection Program. Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J Clin Microbiol*, 43(4):1818-1828, 2005. doi:10.1128/JCM.43.4.1818-1828.2005

Glik J, Łabuś W, Kitala D, Mikuś-Zagórska K, Roberts CD, Nowak M, Kasperczyk A, Kawecki M. A 2000 patient retrospective assessment of a new strategy for burn wound management in view of infection prevention and treatment. *Int Wound J*, 15(3):344-349, 2018. doi:10.1111/iwj.12871

Glorieux G, Neiryck N, Veys N, Vanholder R. Dialysis water and fluid purity: more than endotoxin. *Nephrol Dial Transplant*, 27(11):4010-4021, 2012. doi:10.1093/ndt/gfs306

Goldman C, Akiyama MJ, Torres J, Louie E, Meehan SA. *Scedosporium apiospermum* infections and the role of combination antifungal therapy and GM-CSF: A case report and review of the literature. *Med Mycol Case Rep*, 11:40-43, 2016. doi:10.1016/j.mmcr.2016.04.005

Gomes RR, Vicente VA, Azevedo CM, Salgado CG, da Silva MB, Queiroz-Telles F, Marques SG, Santos DW, de Andrade TS, Takagi EH, Cruz KS, Fornari G, Hahn RC, Scroferneker ML, Caligine RB, Ramirez-Castrillon M, de Araújo DP, Heidrich D, Colombo AL, de Hoog GS. Molecular Epidemiology of Agents of Human Chromoblastomycosis in Brazil with the Description of Two Novel Species. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(11):e0005102, 2016. doi:10.1371/journal.pntd.0005102

Gonçalves AB, Paterson RR, Lima N. Survey and significance of filamentous fungi from tap water. *Int J Hyg Environ Health*, 209(3):257-264, 2006. doi:10.1016/j.ijheh.2005.12.001

Gong J, Xiao M, Wang H, Kudinha T, Wang Y, Zhao F, Wu W, He L, Xu YC, Zhang J. Genetic Differentiation, Diversity, and Drug Susceptibility of *Candida krusei*. *Front Microbiol*, 9:2717, 2018. doi:10.3389/fmicb.2018.02717

Göttlich E, van der Lubbe W, Lange B, et al. Fungal flora in groundwater-derived public drinking water. *Int J Hyg Environ Health*, 205(4):269-279, 2002. doi:10.1078/1438-4639-00158

Grupper A, Shashar M, Weinstein T, Kliuk Ben Bassat O, Levy S, Schwartz IF, Angel A, Baruch A, Grupper A, Chernin G, Schwartz D. Ultrapure Filter does not Confer Short-Term Benefits over Two Reverse Osmosis Systems in Chronic Hemodialysis Patients. *Isr Med Assoc J*, 21(1):5-9, 2019.

Guarro J. Fusariosis, a complex infection caused by a high diversity of fungal species refractory to treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 32(12):1491-1500, 2013. doi:10.1007/s10096-013-1924-7

Guerra NC, Nobre A, Cravino J. Native mitral valve endocarditis due to *Rhizobium Radiobacter* - first case report. *Rev Port Cir Cardiorac Vasc*, 20(4):203-205, 2013.

Guervil DJ, Chau T. Trends in multidrug-resistant gram-negative bacilli and the role of prolonged β -lactam infusion in the intensive care unit. *Crit Care Nurs Q*, 36(4):345-355, 2013. doi:10.1097/CNQ.0b013e3182a10d2f

Guevara-Suarez M, Sutton DA, Cano-Lira JF, García D, Martin-Vicente A, Wiederhold N, Guarro J, Gené J. Identification and Antifungal Susceptibility of *Penicillium*-Like Fungi from Clinical Samples in the United States. *J Clin Microbiol*, 54(8):2155-2161, 2016. doi:10.1128/JCM.00960-16

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiología médica*. Rio de Janeiro, Elsevier, 2006. ISBN 978-85.352.1641.7

GSA. Global Sepsis Alliance. Misdiagnosed 'sepsis' now a global health priority for World Health Organization. 2017. Available at: <https://www.global-sepsis-alliance.org/s/WHA-Adopts-Resolution-on-Sepsis.pdf>. Accessed 30 May 2017.

Hadrich I, Ayadi A. Epidemiology of antifungal susceptibility: Review of literature. *J Mycol Med*, 28(3):574-584, 2018. doi:10.1016/j.mycmed.2018.04.011

Hageskal G, Lima N, Skaar I. The study of fungi in drinking water. *Mycol Res*, 113(Pt 2):165-172, 2009. doi:10.1016/j.mycres.2008.10.002

Halas R, Jacob C, Badwal K, Mir R. Rare case of *Rhizobium radiobacte* bioprosthetic mitral valve endocarditis. *IDCases*, 10:88-90, 2017. doi:10.1016/j.idcr.2017.08.008

Handschuh H, Ryan MP, O'Dwyer J, Adley CC. Assessment of the bacterial diversity of aircraft water: identification of the frequent fliers. *PLoS One*, 12:e0170567, 2017. doi:10.1371/journal.pone.0170567

Hapcioglu B, Yegenoglu Y, Erturan Z, Nakipoglu Y, Issever H. Heterotrophic bacteria and filamentous fungi isolated from a hospital water distribution system. *Indoor Built Environ*, 14(6):487-493, 2005. doi:10.1177/1420326X05060039

Harding MW, Marques LL, Howard RJ, Olson ME. Can filamentous fungi form biofilms? *Trends Microbiol*, 17(11):475-480, 2009. doi:10.1016/j.tim.2009.08.007

Hasegawa T, Nakai S, Masakane I, Watanabe Y, Iseki K, Tsubakihara Y, Akizawa T. Dialysis fluid endotoxin level and mortality in maintenance hemodialysis: a nationwide cohort study. *Am J Kidney Dis*, 65(6):899-904, 2015. doi:10.1053/j.ajkd.2014.12.009

Hayashida MZ, Seque CA, Enokihara MMSES, Porro AM. Disseminated fusariosis with cutaneous involvement in hematologic malignancies: report of six cases with high mortality rate. *An Bras Dermatol*, 93(5):726-729, 2018. doi:10.1590/abd1806-4841.20187476

Heidarieh P, Hashemi Shahraki A, Yaghoubfar R, Hajehasani A, Mirsaeidi M. Microbiological Analysis of Hemodialysis Water in a Developing Country. *ASAIO J*, 62(3):332-339, 2016. doi:10.1097/MAT.0000000000000353

Heslop OD, De Ceulaer K, Rainford LM, Nicholson A. A case of *Candida orthopsilosis* associated septic arthritis in a patient with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). *Med Mycol Case Rep*, 7:1-3, 2015. doi:10.1016/j.mmcr.2014.11.001

Hijazin M, Alber J, Lämmler C, Weitzel T, Hassan AA, Timke M, Kostrzewa M, Prenger-Berninghoff E, Zschöck M. Identification of *Trueperella (Arcanobacterium) bernardiae* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis and by species-specific PCR. *J Med Microbiol*, 61(Pt 3):457-459, 2012. doi:10.1099/jmm.0.035774-0

Hoenic NA. Disinfection of the hospital water supply: A hidden risk to dialysis patients. *Crit Care*, 13(6):1007, 2009. doi:10.1186/cc8158

Hoenic NA, Ronco C, Levin R. The importance of water quality and haemodialysis fluid composition. *Blood Purif*, 24(1):11-18, 2006. doi:10.1159/000089430

Hong N, Chen M, Fang W, Al-Hatmi AMS, Boekhout T, Xu J, Zhang L, Liu J, Pan W, Liao W. Cryptococcosis in HIV-negative Patients with Renal Dialysis: A Retrospective Analysis of Pooled Cases. *Mycopathologia*, 182(9-10):887-896, 2017. doi:10.1007/s11046-017-0163-3

Hoog GS, Guarro J. Atlas of Clinical Fungi. Spain: Universitat Rovira i Virgili, 2004.

Hope WW, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Arendrup MC; European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST). EUCAST technical note on voriconazole and *Aspergillus* spp. *Clin Microbiol Infect*, 19(6):E278-E280, 2013. doi:10.1111/1469-0691.12148

Houbraken J, Verweij PE, Rijs AJ, Borman AM, Samson RA. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. *J Clin Microbiol*, 48(8):2754-2761, 2010. doi:10.1128/JCM.00764-10

Houšť J, Spížek J, Havlíček V. Antifungal Drugs. *Metabolites*, 10(3):106, 2020. doi:10.3390/metabo10030106

Hsu CW, Lin JL, Lin-Tan DT, Yen TH, Huang WH, Ho TC, Huang YL, Yeh LM, Huang LM. Association of environmental cadmium exposure with inflammation and malnutrition in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 24(4):1282-1288, 2009. doi:10.1093/ndt/gfn602

Hu Y, Zhang J, Li X, Yang Y, Zhang Y, Ma J, Xi L. *Penicillium marneffe* infection: an emerging disease in mainland China. *Mycopathologia*, 175(1-2):57-67, 2013. doi:10.1007/s11046-012-9577-0

Huang JW, Chu TS, Wu MS, Peng YS, Hsieh BS. Visible *Penicillium* spp. colonization plaques on a Tenckhoff catheter without resultant peritonitis in a peritoneal dialysis patient. *Nephrol Dial Transplant*, 15(11):1872-1873, 2000. doi:10.1093/ndt/15.11.1872

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. IV Ed. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 1018 p, 2005.

Ibrahim S. Quality of care assessment and adherence to the international guidelines considering dialysis, water treatment, and protection against transmission of infections in university hospital-based dialysis units in Cairo, Egypt. *Hemodial Int*, 14(1):61-67, 2010. doi:10.1111/j.1542-4758.2009.00398.x

Iturrieta-González IA, Padovan AC, Bizerra FC, Hahn RC, Colombo AL. Multiple species of *Trichosporon* produce biofilms highly resistant to triazoles and amphotericin B. *PLoS One*, 9(10):e109553, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0109553

Iwen PC, Schutte SD, Florescu DF, Noel-Hurst RK, Sigler L. Invasive *Scopulariopsis brevicaulis* infection in an immunocompromised patient and review of prior cases caused by *Scopulariopsis* and *Microascus* species. *Med Mycol*, 50(6):561-569, 2012. doi:10.3109/13693786.2012.675629

Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis*, 10(1):14-19, 2004. doi:10.3201/eid1001.030119

James G. Universal Bacterial Identification by PCR and DNA Sequencing of 16S rRNA Gene. In: Schuller M., Sloots T., James G., Halliday C., Carter I. (eds) *PCR for Clinical Microbiology*. Springer, Dordrecht, 2010. doi:10.1007/978-90-481-9039-3_28

Janssen PJ, Van Houdt R, Moors H, Monsieurs P, Morin N, Michaux A, Benotmane MA, Leys N, Vallaeyts T, Lapidus A, Monchy S, Médigue C, Taghavi S, McCorkle S, Dunn J, van der Lelie D, Mergeay M. The complete genome sequence of *Cupriavidus metallidurans* strain CH34, a master survivalist in harsh and anthropogenic environments. *PLoS One*, 5(5):e10433, 2010. doi:10.1371/journal.pone.0010433

Jensen RH. Resistance in human pathogenic yeasts and filamentous fungi: prevalence, underlying molecular mechanisms and link to the use of antifungals in humans and the environment. *Dan Med J*, 63(10):B5288, 2016.

Jerez Puebla LE. Fungal infections in immunosuppressed patients. Jerez Puebla, licensee InTech 2012. doi:10.5772/51512

Jesus GP, Almeida AA. Principais problemas gerados durante a terapia de hemodiálise associados à qualidade da água. *Rev Eletrôn Atualiza Saúde*, 3(3):41-52, 2016.

Johnson C, Gibson B. The patient with renal disease. *Surgery*, 31(8):428-432, 2013.

Junglee NA, Rahman SU, Wild M, Wilms A, Hirst S, Jibani M, Seale JR. When pure is not so pure: chloramine-related hemolytic anemia in home hemodialysis patients. *Hemodial Int*, 14(3):327-332, 2010. doi:10.1111/j.1542-4758.2010.00454.x

Kaitwatcharachai C, Silpapojakul K, Jitsurong S, Kalnauwakul S. An outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia in hemodialysis patients: an epidemiologic and molecular study. *Am J Kidney Dis*, 36(1):199-204, 2000. doi:10.1053/ajkd.2000.8295

Kakati B, Agarwal S, Gupta S. Emerging issues regarding management of MDR Non-Fermenting Gram Negative ventilator associated pneumonia in a Rural Catering Tertiary Care Hospital. *J Med Sci Clin Res*, 4(10):13232-13238, 2016.

Kanafani ZA, Perfect JR. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis*, 46(1):120-128, 2008. doi:10.1086/524071

Kanamori H, Weber DJ, Rutala WA. Healthcare Outbreaks Associated With a Water Reservoir and Infection Prevention Strategies. *Clin Infect Dis*, 62(11):1423-1435, 2016. doi:10.1093/cid/ciw122

Kantarcioğlu AS, Celkan T, Yücel A, Mikami Y, Kurugoglu S, Mitani H, Altas K. Fatal *Trichoderma harzianum* infection in a leukemic pediatric patient. *Med Mycol*, 47(2):207-215, 2009. doi:10.1080/13693780802406225

Kantarcioğlu AS, de Hoog GS. Infections of the central nervous system by melanized fungi: a review of cases presented between 1999 and 2004. *Mycoses*, 47(1-2):4-13, 2004. doi:10.1046/j.1439-0507.2003.00956.x

Kantarcioğlu AS, Yücel A, de Hoog GS. Case report. Isolation of *Cladosporium cladosporioides* from cerebrospinal fluid. *Mycoses*, 45(11-12):500-503, 2002. doi:10.1046/j.1439-0507.2002.00811.x

Karadağ-Öncel E, Ozsürekci Y, Aytaç S, Kara A, Cengiz AB, Ceyhan M. Implantable vascular access port-associated bloodstream infection caused by *Rhizobium radiobacter*: a case report. *Turk J Pediatr*, 55(1):112-115, 2013.

KDIGO. Kidney Disease: Improving Global Outcomes. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International Supplements*, 3(1):1-150, 2013. doi:10.1038/kisup.2012.75

Kennedy H, Williams C. Infection risk for filamentous fungi in water in a paediatric haematology/oncology ward. *Int J Antimicrob Agents*, 29:S485, 2007.

Kenyon C, Bonorchis K, Corcoran C, Meintjes G, Locketz M, Lehloenya R, Vismer HF, Naicker P, Prozesky H, van Wyk M, Bamford C, du Plooy M, Imrie G, Dlamini S, Borman AM, Colebunders R, Yansouni CP, Mendelson M, Govender NP. A dimorphic fungus causing disseminated infection in South Africa. *N Engl J Med*, 369(15):1416-1424, 2013. doi:10.1056/NEJMoa1215460

Kern ME, Blevins KS. *Micologia médica - Texto e Atlas*. 2 ed. São Paulo: PREMIER, 1999. p. 256.

Kerr JC, Osborn SK, Rikard AH, Robson GD, Handley PS. Biofilms in water distribution systems. In: Mara D, Horan N. (eds) *The Handbook of water and*

wastewater microbiology, London, Academic Press, pp 757-755, 2003.

Kilic A, Senses Z, Kurekci AE, Aydogan H, Sener K, Kismet E, Basustaoglu AC. Nosocomial outbreak of *Sphingomonas paucimobilis* bacteremia in a hemato/oncology unit. *Jpn J Infect Dis*, 60(6):394-396, 2007.

Klingspor L, Saaedi B, Ljungman P, Szakos A. Epidemiology and outcomes of patients with invasive mould infections: a retrospective observational study from a single centre (2005-2009). *Mycoses*, 58(8):470-477, 2015. doi:10.1111/myc.12344

Kobayashi T, Nakamura I, Fujita H, Tsukimori A, Sato A, Fukushima S, Ohkusu K, Matsumoto T. First case report of infection due to *Cupriavidus gilardii* in a patient without immunodeficiency: a case report. *BMC Infect Dis*, 16:493, 2016. doi:10.1186/s12879-016-1838-y

Kontoyiannis DP, Yang H, Song J, Kelkar SS, Yang X, Azie N, Harrington R, Fan A, Lee E, Spalding JR. Prevalence, clinical and economic burden of mucormycosis-related hospitalizations in the United States: a retrospective study. *BMC Infect Dis*, 16(1):730, 2016. doi:10.1186/s12879-016-2023-z

Krom BP, Cohen JB, McElhaney Feser GE, Cihlar RL. Optimized candidal biofilm microtiter assay. *J Microbiol Methods*, 68(2):421-423, 2007. doi:10.1016/j.mimet.2006.08.003

Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive candidiasis. *N Engl J Med*, 373(15):1445-1456, 2015. doi:10.1056/NEJMra1315399

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol*, 35(6):1547-1549, 2018. doi:10.1093/molbev/msy096

Kurtzman CP, Fell JW. *The yeasts: a taxonomic study*. 5th. Burlington, MA, EUA. Elsevier Science, 2011. 2354 p.

Labriola L, Ercam BV, Swinne D, Jadoul M. Successful treatment with voriconazole of prolonged *Paecilomyces lilacinus* fungemia in a chronic hemodialyzed patient. *Clin Nephrol*, 71(3):355-358, 2009. doi:10.5414/cnp71355

Lai HW, Shen YH, Chien LJ, Tseng SH, Mu JJ, Chan YJ, Wang FD. Outbreak of *Ralstonia pickettii* bacteremia caused by contaminated saline solution in Taiwan. *Am J Infect Control*, 44(10):1191-1192, 2016. doi:10.1016/j.ajic.2016.03.074

Lalueza A, López-Medrano F, del Palacio A, Alhambra A, Alvarez E, Ramos A, Pérez A, Lizasoain M, Meije Y, García-Reyne A, Aguado JM. *Cladosporium macrocarpum* brain abscess after endoscopic ultrasound-guided celiac plexus block. *Endoscopy*, 43:E9-E10, 2011. doi:10.1055/s-0030-1255804

Langevin S, Vincelette J, Bekal S, Gaudreau C. First case of invasive human infection caused by *Cupriavidus metallidurans*. *J Clin Microbiol*, 49(2):744-745, 2011. doi: 10.1128/JCM.01947-10

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*, 68(1):118-130, 2009. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00655.x

Lass-Flörl C, Arendrup MC, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, Donnelly P, Hope W; European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing. EUCAST technical note on Amphotericin B. *Clin Microbiol Infect*, 17(12):E27-E29, 2011. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03644.x

Layman-Amato R, Curtis J, Payne GM. Water treatment for hemodialysis: an update. *Nephrol Nurs J*, 40(5):383-405, 2013.

Leal HF, Azevedo J, Silva GEO, Amorim AML, de Roma LRC, Arraes ACP, Gouveia EL, Reis MG, Mendes AV, de Oliveira Silva M, Barberino MG, Martins IS, Reis JN. Bloodstream infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria: epidemiological, clinical and microbiological features. *BMC Infect Dis*, 19(1):609, 2019. doi:10.1186/s12879-019-4265-z

Lee KY. A unified pathogenesis for kidney diseases, including genetic diseases and cancers, by the protein-homeostasis-system hypothesis. *Kidney Res Clin Pract*. 2017, 36:132-144. 10.23876/j.krcp.2017.36.2.132

Lee MR, Huang YT, Liao CH, Chuang TY, Lin CK, Lee SW, Lai CC, Yu CJ, Hsueh PR. Bacteremia caused by *Brevundimonas* species at a tertiary care hospital in Taiwan, 2000-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30(10):1185-1191, 2011. doi:10.1007/s10096-011-1210-5

Lee SH, Lee SS, Kim CW. Changes in the cell size of *Brevundimonas diminuta* using different growth agitation rates. *PDA J Pharm Sci Technol*, 56(2):99-108, 2002.

Lewis ER, Torres AG. The art of persistence-the secrets to *Burkholderia* chronic infections. *Pathog Dis*, 74(6):ftw070, 2016. doi:10.1093/femspd/ftw070

Li PK, Chow KM. Infectious complications in dialysis -- epidemiology and outcomes. *Nature Rev Nephrol*, 8(2):77-88, 2011. doi:10.1038/nrneph.2011.194

Liao CH, Chang HT, Lai CC, Huang YT, Hsu MS, Liu CY, Yang CJ, Hsueh PR. Clinical characteristics and outcomes of patients with *Burkholderia cepacia* bacteremia in an intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 70(2):260-266, 2011. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2011.01.008

Lim CTS, Lee SE. A rare case of *Ralstonia mannitolilytica* infection in an end stage renal patient on maintenance dialysis during municipal water contamination. *Pak J Med Sci*, 33(4):1047-1049, 2017. doi:10.12669/pjms.334.13112

Lima JRO, Marques SG, Gonçalves AG, Nunes PC, Filho NS, Silva HS, Monteiro SG, Costa JML. Microbiological analyses of water from hemodialysis services in São Luís, Maranhão, Brazil. *Braz J Microbiol*, 36(2):103-108, 2005. doi:10.1590/S1517-

83822005000200001

Lin JN, Lai CH, Chen YH, Lin HL, Huang CK, Chen WF, Wang JL, Chung HC, Liang SH, Lin HH. *Sphingomonas paucimobilis* bacteremia in humans: 16 case reports and a literature review. *J Microbiol Immunol Infect*, 43(1):35-42, 2010. doi:10.1016/S1684-1182(10)60005-9

Litvinov N, da Silva MT, van der Heijden IM, Graça MG, Marques de Oliveira L, Fu L, Giudice M, Zilda de Aquino M, Odone-Filho V, Marques HH, Costa SF, Levin AS. An outbreak of invasive fusariosis in a children's cancer hospital. *Clin Microbiol Infect*, 21(3):268.e1-7, 2015. doi:10.1016/j.cmi.2014.09.004

Liu CX, Yan C, Zhang P, Li FQ, Yang JH, Li XY. *Ralstonia mannitolilytica*-induced septicemia and homology analysis in infected patients: 3 case reports. *Jundishapur J Microbiol*, 9(7):e34373, 2016. doi:10.5812/jjm.34373

Liu L, Li JH, Zi SF, Liu FR, Deng C, Ao X, Zhang P. AgNP combined with quorum sensing inhibitor increased the antibiofilm effect on *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103(15):6195-6204, 2019a. doi:10.1007/s00253-019-09905-w

Liu C, Kwon MJ, Kim M, Byun JH, Yong D, Lee K. Septicemia Caused by *Herbaspirillum huttiense* Secondary to Pneumonia. *Ann Lab Med*, 39(3):340-342, 2019b. doi:10.3343/alm.2019.39.3.340

Liu W, Feng RZ, Jiang HL. *Scedosporium* spp. lung infection in immunocompetent patients: A systematic review and MOOSE-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 98(41):e17535, 2019c. doi:10.1097/MD.00000000000017535

Liu YL, Huang CC, Kao MT. Residual renal function predicts outcome of fungal peritonitis in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*, 26(3):407-409, 2006.

Liu YS, Wang NC, Ye RH, Kao WY. Disseminated *Fusarium* infection in a patient with acute lymphoblastic leukemia: A case report and review of the literature. *Oncol Lett*, 7(2):334-336, 2014. doi:10.3892/ol.2013.1738

Lok CE, Mokrzycki MH. Prevention and management of catheter-related infection in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 79(6):587-598, 2011. doi:10.1038/ki.2010.471

Loo LW, Liew YX, Choong HL, Tan AL, Chlebicki P. Microbiology and audit of vascular access-associated bloodstream infections in multi-ethnic Asian hemodialysis patients in a tertiary hospital. *Infect Dis (Lond)*, 47(4):225-230, 2015. doi:10.3109/00365548.2014.986193

Lopalco PL, Baggiani A. Evaluation and control of microbial and chemical contamination in dialysis water plants of Italian nephrology wards, *Journal of Hospital Infection*, 97(2):169-174, 2017. doi:10.1016/j.jhin.2017.05.011

López-Causapé C, Cabot G, Del Barrio-Tofiño E, Oliver A. The Versatile Mutational Resistome of *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*, 9:685, 2018. doi:10.3389/fmicb.2018.00685

Loveday HP, Wilson JA, Kerr K, Pitchers R, Walker JT, Browne J. Association between healthcare water systems and *Pseudomonas aeruginosa* infections: a rapid systematic review. *J Hosp Infect*, 86(1):7-15, 2014. doi:10.1016/j.jhin.2013.09.010

Lupo A, Haenni M, Madec JY. Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp. *Microbiol Spectr*, 6(3), 2018. doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0007-2017

Ma H, Bryers JD. Non-invasive determination of conjugative transfer of plasmids bearing antibiotic-resistance genes in biofilm-bound bacteria: effects of substrate loading and antibiotic selection. *Applied Microbiol Biotechnol*, 97(1):317-328, 2013. doi:10.1007/s00253-012-4179-9

Ma KC, Pino A, Narula N, Turetz ML. *Scedosporium apiospermum* Mycetoma in an Immunocompetent Patient without Prior Lung Disease. *Ann Am Thorac Soc*, 14(1):145-147, 2017. doi:10.1513/AnnalsATS.201609-697LE

Madariaga MG, Tenorio A, Proia L. *Trichosporon inkin* peritonitis treated with caspofungin. *J Clin Microbiol*, 41(12):5827-5829, 2003. doi:10.1128/jcm.41.12.5827-5829.2003

Magalhães M, Doherty C, Govan JR, Vandamme P. Polyclonal outbreak of *Burkholderia cepacia* complex bacteraemia in haemodialysis patients. *J Hosp Infect*, 54(2):120-123, 2003. doi:10.1016/s0195-6701(03)00118-x

Magana M, Sereti C, Ioannidis A, Mitchell CA, Ball AR, Magiorkinis E, Chatzipanagiotou S, Hamblin MR, Hadjifrangiskou M, Tegos GP. Options and Limitations in Clinical Investigation of Bacterial Biofilms. *Clin Microbiol Ver*, 31(3):e00084-16, 2018. doi:10.1128/CMR.00084-16

Mahmoudabadi AZ, Zarrin M, Shahbazyan H, Koshki M. Occurrence of fungi in dialysis water system and dialysis solution in dialysis centers in Ahvaz, Iran. *Pak J Med Sci*, 27:388e391, 2011.

Maphanga TG, Britz E, Zulu TG, Mpembe RS, Naicker SD, Schwartz IS, Govender NP. *In Vitro* Antifungal Susceptibility of Yeast and Mold Phases of Isolates of Dimorphic Fungal Pathogen *Emergomyces africanus* (Formerly *Emmonsia* sp.) from HIV-Infected South African Patients. *J Clin Microbiol*, 55(6):1812-1820, 2017. doi:10.1128/JCM.02524-16

Maraolo AE, Cascella M, Corcione S, Cuomo A, Nappa S, Borgia G, De Rosa FG, Gentile I. Management of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit: state of the art. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 15(9):861-871, 2017. doi:10.1080/14787210.2017.1367666

Marti M, Trotonda MP, Tormo-Mas MA, Vergara-Irigaray M, Cheung AL, Lasa I, Penadés JR. Extracellular proteases inhibit protein-dependent biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Microbes Infect*, 12(1):55-64, 2010. doi:10.1016/j.micinf.2009.10.005

Matar GM. Editorial: *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. From Drug Resistance to Pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol*, 8:68, 2018. doi:10.3389/fcimb.2018.00068

Méheust D, Le Cann P, Reboux G, Millon L, Gangneux JP. Indoor fungal contamination: health risks and measurement methods in hospitals, homes and workplaces. *Crit Rev Microbiol*, 40(3):248-260, 2014. doi:10.3109/1040841X.2013.777687

Melo AS, Bizerra FC, Freymüller E, Arthington-Skaggs BA, Colombo AL. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida* spp. isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex. *Med Mycol*, 49(3):253-262, 2011. doi:10.3109/13693786.2010.53003

Meric M, Willke A, Kolayli F, Yavuz S, Vahaboglu H. Water-borne *Sphingomonas paucimobilis* epidemic in an intensive care unit. *J Infect*, 58(3):253-255, 2009. doi:10.1016/j.jinf.2009.01.007

Mesquita-Rocha S, Godoy-Martinez PC, Gonçalves SS, Urrutia MD, Carlesse F, Seber A, Silva MA, Petrilli AS, Colombo AL. The water supply system as a potential source of fungal infection in paediatric haematopoietic stem cell units. *BMC Infect Dis*, 13:289, 2013. doi:10.1186/1471-2334-13-289

Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*, 11(2):142-151, 2011. doi:10.1016/S1473-3099(10)70218-8

Misra R, Prasad KN, Singh K, Bhadauria D, Sharma RK. *Rhizobium radiobacter* peritonitis: the first case report from India and review. *JMM Case Rep*, 1(4):e004051, 2014. doi:10.1099/jmmcr.0.004051

Mok T, Koehler AP, Yu MY, Ellis DH, Johnson PJ, Wickham NW. Fatal *Penicillium citrinum* pneumonia with pericarditis in a patient with acute leukemia. *J Clin Microbiol*, 35(10):2654-2656, 1997.

Monds RD, O'Toole GA. The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. *Trends Microbiol*, 17(2):73-87, 2009. doi:10.1016/j.tim.2008.11.001

Montanari LB, Sartori FG, Ribeiro DBM, Leandro LF, Pires RH, Melhem MSC, de Mello CA, Martins CHG. Yeast isolation and identification in water used in a Brazilian hemodialysis unit by classic microbiological techniques and Raman spectroscopy. *J Water Health*, 16(2):311-320, 2018. doi:10.2166/wh.2017.334

Montanari LB, Sartori FG, Cardoso MJO, Varo SD, Pires RH, Leite CQF, Prince K, Martins CHG. Contaminação microbiológica no sistema de distribuição de água de um centro de hemodiálise. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 51(1):37-43, 2009. doi:10.1590/S0036-46652009000100007

Monteiro RA, Balsanelli E, Wassem R, Marin AM, Brusamarello-Santos LCC, Schmidt MA, Tadra-Sfeir M, Pankiewicz VCS, Cruz LM, Chubatsu LS, Pedrosa FO,

Souza EM. *Herbaspirillum*-plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects. *Plant Soil*, 356:175-196, 2012. doi:10.1007/s11104-012-1125-7

Montoya AM, Elizondo-Zertuche M, Treviño-Rangel RJ, Becerril-García M, González GM. Biofilm formation and antifungal susceptibility of *Trichosporon asahii* isolates from Mexican patients. *Rev Iberoam Micol*, 35(1):22-26, 2018. doi:10.1016/j.riam.2017.02.008

Moradali MF, Ghods S, Rehm BH. *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Front Cell Infect Microbiol*, 7:39, 2017. doi:10.3389/fcimb.2017.00039

Moreira BM, Leobons MB, Pellegrino FL, Santos M, Teixeira LM, de Andrade Marques E, Sampaio JL, Pessoa-Silva CL. *Ralstonia pickettii* and *Burkholderia cepacia* complex bloodstream infections related to infusion of contaminated water for injection. *J Hosp Infect*, 60(1):51-55, 2005. doi:10.1016/j.jhin.2004.09.036

Mossini SAG, Tomoike C, Kohiyama CY, Yamada SS, Silva SRB, Garcia LB, Tognim MCB, Bando E, Nishiyama P. Qualidade da água utilizada para equipamentos de hemodiálise em Unidade de Terapia Intensiva. *Vig Sanit Debate*, 2(3):37-43, 2014. doi:10.3395/vd.v2i3.205

Muhammed M, Anagnostou T, Desalermos A, Kourkoumpetis TK, Carneiro HA, Glavis-Bloom J, Coleman JJ, Mylonakis E. *Fusarium* infection: report of 26 cases and review of 97 cases from the literature. *Medicine (Baltimore)*, 92(6):305-316, 2013. doi:10.1097/MD.0000000000000008

Munoz P, Sanchez-Somolinos M, Alcala L, Rodriguez-Creixems M, Pelaez T, Bouza E. *Candida krusei* fungaemia: antifungal susceptibility and clinical presentation of an uncommon entity during 15 years in a single general hospital. *J Antimicrob Chemother*, 55:188-193, 2005. doi:10.1093/jac/dkh532

Murray EC, Marek A, Thomson PC, Coia JE. Gram-negative bacteraemia in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 30(7):1202-1208, 2015. doi:10.1093/ndt/gfv205

Mutlu M, Bayramoglu G, Yilmaz G, Saygin B, Aslan Y. Outbreak of *Sphingomonas paucimobilis* septicemia in a neonatal intensive care unit. *Indian Pediatr*, 48(9):723-725, 2011. doi:10.1007/s13312-011-0114-x

Nasir N, Sayeed MA, Jamil B. *Ralstonia pickettii* Bacteremia: An Emerging Infection in a Tertiary Care Hospital Setting. *Cureus*, 11(7):e5084, 2019. doi:10.7759/cureus.5084

Neves PR, Mamizuka EM, Levy CE, Lincopan N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. *J Bras Patol Med Lab*, 47(4):409-420, 2011. doi:10.1590/S1676-24442011000400004

Newman JW, Floyd RV, Fothergill JL. The contribution of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors and host factors in the establishment of urinary tract infections. *FEMS Microbiol Lett*, 364(15), 2017. doi:10.1093/femsle/fnx124

Nguyen DB, Shugart A, Lines C, Shah AB, Edwards J, Pollock D, Sievert D, Patel PR. National Healthcare Safety Network (NHSN) Dialysis Event Surveillance Report for 2014. *Clin J Am Soc Nephrol*, 12(7):1139-1146, 2017. doi:10.2215/CJN.11411116

Nguyen MH, Yu VL, Morris AJ. *Candida* infection of the arteriovenous fistula used for hemodialysis. *Am J Kidney Dis*, 27(4):596-598, 1996. doi:10.1016/s0272-6386(96)90173-0

Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol*, 69:71-92, 2015. doi:10.1146/annurev-micro-091014-104330

Novak Babič M, Gunde-Cimerman N, Vargha M, Tischner Z, Magyar D, Veríssimo C, Sabino R, Viegas C, Meyer W, Brandão J. Fungal Contaminants in Drinking Water Regulation? A Tale of Ecology, Exposure, Purification and Clinical Relevance. *Int J Environ Res Public Health*, 14(6):636, 2017. doi:10.3390/ijerph14060636

Novosad SA, Lake J, Nguyen D, Soda E, Moulton-Meissner H, Pho MT, Gualandi N, Bepo L, Stanton RA, Daniels JB, Turabelidze G, Van Allen K, Arduino M, Halpin AL, Layden J, Patel PR. Multicenter Outbreak of Gram-Negative Bloodstream Infections in Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis*, 74(5):610-619, 2019. doi:10.1053/j.ajkd.2019.05.012

Nucci M, Akiti T, Barreiros G, Silveira F, Revankar SG, Sutton DA, Patterson TF. Nosocomial fungemia due to *Exophiala jeanselmei* var. *jeanselmei* and a *Rhinochadiella* species: newly described causes of bloodstream infection. *J Clin Microbiol*, 39(2):514-518, 2001. doi:10.1128/JCM.39.2.514-518.2001

Nucci M, Akiti T, Barreiros G, Silveira F, Revankar SG, Wickes BL, Sutton DA, Patterson TF. Nosocomial outbreak of *Exophiala jeanselmei* fungemia associated with contamination of hospital water. *Clin Infect Dis*, 34(11):1475-1480, 2002. doi:10.1086/340344

Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo AL. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clin Infect Dis*, 51(5):561-570, 2010. doi:10.1086/655683

Nucci M, Varon AG, Garnica M, Akiti T, Barreiros G, Trope BM, Nouér SA. Increased incidence of invasive fusariosis with cutaneous portal of entry, Brazil. *Emerg Infect Dis*, 19(10):1567-1572, 2013. doi:10.3201/eid1910.120847

Nucci M, Marr KA. Emerging fungal diseases. *Clin Infect Dis*, 41(4):521-526, 2005. doi:10.1086/432060

Nystrand R. Microbiology of water and fluids for hemodialysis. *J Chin Med Assoc*, 71(5):223-229, 2008. doi:10.1016/S1726-4901(08)70110-2

Oie S, Kamiya A, Yoneda I, Uchiyama K, Tsuchida M, Takai K, Naito K. Microbial contamination of dialysate and its prevention in haemodialysis units. *J Hosp Infect*, 54(2):115-119, 2003. doi:10.1016/s0195-6701(02)00402-4

Oliveira HMB. Fungos filamentosos na água e formando biofilmes na rede de distribuição de água potável do Sistema Alto do Céu, Recife-PE. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) - Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p. 80. 2010.

Oliveira VKP, Paula CR, Colombo AL, Merseguel KB, Nishikaku AS, Moreira D, Ruiz LS. Candidemia and death by *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in neonates and children. *Pediatr Neonatol*, 55(1):75-76, 2014. doi:10.1016/j.pedneo.2013.07.006

Orme J, Rivera-Bonilla T, Loli A, Blattman NN. Native Valve Endocarditis due to *Ralstonia pickettii*: A Case Report and Literature Review. *Case Rep Infect Dis*, 2015:324675, 2015. doi:10.1155/2015/324675

Oyong K, Marquez P, Terashita D, English L, Rivas H, Deak E, Mascola L. Outbreak of bloodstream infections associated with multiuse dialyzers containing O-rings. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 35(1):89-91, 2014. doi:10.1086/674399

Ozkaya-Parlakay A, Cengiz AB, Karadağ-Öncel E, Kuşkonmaz B, Sarıbaş Z, Kara A, Oğuz B. *Geotrichum capitatum* septicemia in a hematological malignancy patient with positive galactomannan antigen: case report and review of the literature. *Turk J Pediatr*, 54(6):674-678, 2012.

Pachori P, Gothalwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis*, 6(2):109-119, 2019. doi:10.1016/j.gendis.2019.04.001

Padilla-Orozco M, Mendoza-Flores L, Herrera-Alonso A, Garza González E, Gutiérrez Ferman JL, Rodríguez-López JM, Bocanegra-Ibarias P, Camacho-Ortiz A. Generalized and Prolonged Use of Gentamicin-Lock Therapy Reduces Hemodialysis Catheter-Related Infections Due to Gram Negatives. *Nephron*, 143(2):86-91, 2019. doi:10.1159/000500549

Pannanusorn S, Fernandez V, Römling U. Prevalence of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species causing bloodstream infection. *Mycoses*, 56(3):264-272, 2013. doi:10.1111/myc.12014

Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Schuster MG, Vazquez JA, Walsh TJ, Zaoutis TE, Sobel JD. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 62(4):e1-50, 2016. doi:10.1093/cid/civ933

Paredes K, Capilla J, Mayayo E, Guarro J. Virulence and Resistance to Antifungal Therapies of *Scopulariopsis* Species. *Antimicrob Agents Chemother*, 60(4):2063-2068, 2016. doi:10.1128/AAC.02275-15

Parkins MD, Somayaji R, Waters VJ. Epidemiology, Biology, and Impact of Clonal *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Cystic Fibrosis. Clin Microbiol Ver, 31(4):e00019-18, 2018. doi:10.1128/CMR.00019-18

Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. Clin Chem, 61(1):100-111, 2015. doi:10.1373/clinchem.2014.221770

Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. J Microbiol Methods, 72(2):157-165, 2008. doi:10.1016/j.mimet.2007.11.010

Pemán J, Zaragoza R, Salavert M. Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de *Candida* y otras levaduras. Rev Esp Quimioter, 26(4):298-311, 2013.

Pemmaraju N, Shetty AV, Prieto VG, Jain N, Kontoyiannis DP, Borthakur G. Disseminated *Saprochaete capitata* (formerly known as *Geotrichum capitatum* and *Blastoschizomyces capitatus*) in a patient with acute myeloid leukemia. Eur J Haematol, 93(6):543-544, 2014. doi:10.1111/ejh.12303

Peng Y, Zhang Q, Xu C, Shi W. MALDI-TOF MS for the rapid identification and drug susceptibility testing of filamentous fungi. Exp Ther Med, 18(6):4865-4873, 2019. doi:10.3892/etm.2019.8118

Penna VT, Martins SA, Mazzola PG. Identification of bacteria in drinking and purified water during the monitoring of a typical water purification system. BMC Public Health, 2:13, 2002. doi:10.1186/1471-2458-2-13

Percival SL, Suleman L, Vuotto C, Donelli G. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. J Med Microbiol, 64(Pt 4):323-334, 2015. doi:10.1099/jmm.0.000032

Peresi JTM, Almeida IAZC, Teixeira ISC, Silva SIL, Alves EC, Marques DF, Ribeiro AK. *Pseudomonas aeruginosa*: ocorrência e suscetibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados de amostras de água tratada utilizada em solução de diálise. Rev Inst Adolfo Lutz, 70(4):542-547, 2011.

Perola O, Nousiainen T, Suomalainen S, Aukee S, Kärkkäinen UM, Kauppinen J, Ojanen T, Katila ML. Recurrent *Sphingomonas paucimobilis* - bacteraemia associated with a multi-bacterial water-borne epidemic among neutropenic patients. J Hosp Infect, 50(3):196-201, 2002. doi:10.1053/jhin.2001.1163

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. Crit Rev Microbiol, 36(1):1-53, 2010. doi:10.3109/10408410903241444

Pfaller MA. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. Am J Med, 125(1 Suppl):S3-13, 2012. doi:10.1016/j.amjmed.2011.11.001

Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, Wormley FL Jr, Mowat E, Ramage G, Lopez-Ribot JL. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc*, 3(9):1494-1500, 2008. doi:10.1038/nprot.2008.141

Pillonetto M, Arend L, Gomes SMT, Oliveira MAA, Timm LN, Martins AF, Barth AL, Mazzetti A, Hersemann L, Smits THM, Mira MT, Rezzonico F. Molecular investigation of isolates from a multistate polymicrobial outbreak associated with contaminated total parenteral nutrition in Brazil. *BMC Infect Dis*, 18(1):397, 2018. doi:10.1186/s12879-018-3287-2

Pimentel JD, Mahadevan K, Woodgyer A, Sigler L, Gibas C, Harris OC, Lupino M, Athan E. Peritonitis due to *Curvularia inaequalis* in an elderly patient undergoing peritoneal dialysis and a review of six cases of peritonitis associated with other *Curvularia* spp. *J Clin Microbiol*, 43(8):4288-4292, 2005. doi:10.1128/JCM.43.8.4288-4292.2005

Pires RH, da Silva Jde F, Martins CH, Fusco Almeida AM, Pienna Soares C, Soares Mendes-Giannini MJ. Effectiveness of disinfectants used in hemodialysis against both *Candida orthopsilosis* and *C. parapsilosis* sensu stricto biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*, 57(5):2417-2421, 2013. doi:10.1128/AAC.01308-12

Pires RH, Santos JM, Zaia JE, Martins CH, Mendes-Giannini MJ. *Candida parapsilosis* complex water isolates from a haemodialysis unit: biofilm production and in vitro evaluation of the use of clinical antifungals. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 106(6):646-654, 2011. doi:10.1590/s0074-02762011000600002

Pires-Gonçalves RH, Sartori FG, Montanari LB, Zaia JE, Melhem MS, Mendes-Giannini MJ, Martins CH. Occurrence of fungi in water used at a haemodialysis centre. *Lett Appl Microbiol*, 46(5):542-547, 2008. doi:10.1111/j.1472-765X.2008.02349.x

Pisani B, Simoes M, Prandi MA, Rocha MMM, Goncalves CR, Vaz TMI, Irino K. Surto de bacteremia por *Pseudomonas aeruginosa* na unidade de hemodialise de um hospital de Campinas, São Paulo, Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 59(1/2):51-56, 2000.

Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*, 45(6):568-585, 2015. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001

Pozo Laderas JC, Pontes Moreno A, Pozo Salido C, Robles Arista JC, Linares Sicilia MJ. Mucormicosis diseminadas en pacientes sin inmunodeficiencias: una enfermedad que también existe. *Ver Iberoam Micol*, 32:63-70, 2015. doi:10.1016/j.riam.2014.01.006

Proia LA, Hayden MK, Kammeyer PL, Ortiz J, Sutton DA, Clark T, Schroers HJ, Summerbell RC. *Phialemonium*: an emerging mold pathogen that caused 4 cases of hemodialysis-associated endovascular infection. *Clin Infect Dis*, 39(3):373-379, 2004. doi:10.1086/422320

Pruthi R, Steenkamp R, Feest T. UK Renal Registry 16th annual report: Chapter 8 survival and cause of death of UK adult patients on renal replacement therapy in 2012: national and centre-specific analyses. *Nephron Clin Pract*, 125(1-4):139-169, 2013. doi:10.1159/000360027

Pyrgos V, Ratanavanich K, Donegan N, Veis J, Walsh TJ, Shoham S. *Candida* bloodstream infections in hemodialysis recipients. *Med Mycol*, 47(5):463-467, 2009. doi:10.1080/13693780802369332

Ragupathi NKD, Veeraraghavan B. Accurate identification and epidemiological characterization of *Burkholderia cepacia* complex: an update. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 18(1):7, 2019. doi:10.1186/s12941-019-0306-0

Rahmati MA, Homel P, Hoenich NA, Levin R, Kaysen GA, Levin NW. The role of improved water quality on inflammatory markers in patients undergoing regular dialysis. *Int J Artif Organs*, 27(8):723-727, 2004. doi:10.1177/039139880402700811

Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal biofilm resistance. *Int J Microbiol*, 2012:528521, 2012. doi:10.1155/2012/528521

Ramírez I, Hidrón A, Cardona R. Successful treatment of pulmonary invasive fungal infection by *Penicillium non-marneffeii* in lymphoblastic lymphoma: case report and literature review. *Clin Case Rep*, 6(6):1153-1157, 2018. doi:10.1002/ccr3.1527

Ramirez-Garcia A, Pellon A, Rementeria A, Buldain I, Barreto-Bergter E, Rollin-Pinheiro R, de Meirelles JV, Xisto M, Ranque S, Havlicek V, Vandeputte P, Govic YL, Bouchara JP, Giraud S, Chen S, Rainer J, Alastruey-Izquierdo A, Martin-Gomez MT, Lopez-Soria LM, Peman J, Schwarz C, Bernhardt A, Tintelnot K, Capilla J, Martin-Vicente A, Cano-Lira J, Nagl M, Lackner M, Irinyi L, Meyer W, de Hoog S, Hernando FL. *Scedosporium* and *Lomentospora*: an updated overview of underrated opportunists. *Med Mycol*, 56(suppl_1):102-125, 2018. doi:10.1093/mmy/myx113

Rao CY, Pachucki C, Cali S, Santhiraj M, Krankoski KL, Noble-Wang JA, Leehey D, Popli S, Brandt ME, Lindsley MD, Fridkin SK, Arduino MJ. Contaminated product water as the source of *Phialemonium curvatum* bloodstream infection among patients undergoing hemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 30(9):840-847, 2009. doi:10.1086/605324

Regunath H, Kimball J, Smith LP, Salzer W. Severe Community-Acquired Pneumonia with Bacteremia Caused by *Herbaspirillum aquaticum* or *Herbaspirillum huttiense* in an Immune-Competent Adult. *J Clin Microbiol*, 53(9):3086-3088, 2015. doi:10.1128/JCM.01324-15

Reik R, Spilker T, Lipuma JJ. Distribution of *Burkholderia cepacia* complex species among isolates recovered from persons with or without cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*, 43(6):2926-2928, 2005. doi:10.1128/JCM.43.6.2926-2928.2005

Reis BAB. Produção de biofilme por bastonetes gram negativos isolados de água de hemodiálise. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) -

Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Botucatu - SP. 30 p., 2010.

Revankar SG, Sutton DA. Melanized fungi in human disease. *Clin Microbiol Rev*, 23(4):884-928, 2010. doi:10.1128/CMR.00019-10

Rhodes KA, Schweizer HP. Antibiotic resistance in *Burkholderia* species. *Drug Resist Updat*, 28:82-90, 2016. doi:10.1016/j.drup.2016.07.003

Rocha AJ, Barsottini MRO, Rocha RR, Laurindo MV, Moraes FLL, Rocha SL. *Pseudomonas aeruginosa*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance Genes. *Braz Arch Biol Technol*, 62:e19180503, 2019. doi:10.1590/1678-4324-2019180503

Rodriguez-Tudela JL, Berenguer J, Guarro J, Kantarcioglu AS, Horre R, de Hoog GS, Cuenca-Estrella M. Epidemiology and outcome of *Scedosporium prolificans* infection, a review of 162 cases. *Med Mycol*, 47(4):359-3570, 2009. doi:10.1080/13693780802524506

Roehm CE, Salazar JC, Hagstrom N, Valdez TA. *Phoma* and *Acremonium* invasive fungal rhinosinusitis in congenital acute lymphocytic leukemia and literature review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 76(10):1387-1391, 2012. doi:10.1016/j.ijporl.2012.06.026

Rogues AM, Boulestreau H, Lashéras A, Boyer A, Gruson D, Merle C, Castaing Y, Bébear CM, Gachie JP. Contribution of tap water to patient colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in a medical intensive care unit. *J Hosp Infect*, 67(1):72-78, 2007. doi:10.1016/j.jhin.2007.06.019

Rohde GGU, Welte T. *Pseudomonas aeruginosa* infections in chronic obstructive pulmonary disease: Role of long-term antibiotic treatment. *Internist (Berl)*, 58(11):1142-1149, 2017. doi:10.1007/s00108-017-0332-y

Rollin-Pinheiro R, de Meirelles JV, Vila TVM, Fonseca BB, Alves V, Frases S, Rozental S, Barreto-Bergter E. Biofilm Formation by *Pseudallescheria/Scedosporium* Species: A Comparative Study. *Front Microbiol*, 8:1568, 2017. doi:10.3389/fmicb.2017.01568

Román-Soto S, Álvarez-Rojas E, García-Rodríguez J. Skin infection due to *Trichoderma longibrachiatum* in a haematological paediatric patient. *Clin Microbiol Infect*, 25(11):1383-1384, 2019. doi:10.1016/j.cmi.2019.08.003

Romero-Gómez MP, Quiles-Melero MI, Peña García P, Gutiérrez Altes A, García de Miguel MA, Jiménez C, Valdezate S, Sáez Nieto JA. Outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia caused by contaminated chlorhexidine in a hemodialysis unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 29(4):377-378, 2008. doi:10.1086/529032

Romling U, Balsalobre C. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *J Intern Med*, 272(6):541-561, 2012. doi:10.1111/joim.12004

Rosenberg J. Primary bloodstream infections associated with dialyzer reuse in

California dialysis centers. In: Program and abstracts of the 43rd Annual Meeting of Infectious Disease Society of America (IDSA). San Francisco, CA: IDSA, Abstract 1138, 2005.

Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, 9(1):522-554, 2018. doi:10.1080/21505594.2017.1313372

Ruiz LS, Richni-Pereira VB. Importância dos fungos no ambiente hospitalar. *Bol Inst Adolfo Lutz*, 26(U):1-3, 2016.

Ryan MP, Adley CC. *Sphingomonas paucimobilis*: a persistent Gram-negative nosocomial infectious organism. *J Hosp Infect*, 75(3):153-157, 2010. doi:10.1016/j.jhin.2010.03.007

Ryan MP, Adley CC. The antibiotic susceptibility of water-based bacteria *Ralstonia pickettii* and *Ralstonia insidiosa*. *J Med Microbiol*, 62(Pt 7):1025-1031, 2013. doi:10.1099/jmm.0.054759-0

Ryan MP, Adley CC. *Ralstonia* spp.: emerging global opportunistic pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33(3):291-304, 2014. doi:10.1007/s10096-013-1975-9

Ryan MP, Pembroke JT, Adley CC. Differentiating the growing nosocomial infectious threats *Ralstonia pickettii* and *Ralstonia insidiosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30(10):1245-1247, 2011. doi:10.1007/s10096-011-1219-9

Ryan MP, Pembroke JT. *Brevundimonas* spp: Emerging global opportunistic pathogens. *Virulence*, 9(1):480-493, 2018. doi:10.1080/21505594.2017.1419116

Sacchi CT, Whitney AM, Mayer LW, Morey R, Steigerwalt A, Boras A, Weyant RS, Popovic T. Sequencing of 16S rRNA gene: a rapid tool for identification of *Bacillus anthracis*. *Emerg Infect Dis*, 8(10):1117-1123, 2002. doi:10.3201/eid0810.020391

Saghrouni F, Abdeljelil JB, Youssef YB, Abdeljelil NB, Gheith S, Fathallah A, Said MB. *Geotrichum capitatum* septicemia in patients with acute myeloid leukemia. Report of three cases. *Med Mycol Case Rep*, 1(1):88-90, 2012. doi:10.1016/j.mmcr.2012.09.003

Sakuragi Y, Kolter R. Quorum-sensing regulation of the biofilm matrix genes (pel) of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 189(14):5383-5386, 2007. doi:10.1128/JB.00137-07

Sammon NB, Harrower KM, Fabbro LD, Reed RH. Incidence and distribution of microfungi in a treated municipal water supply system in sub-tropical Australia. *Int J Environ Res Public Health*, 7(4):1597-1611, 2010. doi:10.3390/ijerph7041597

Sandoval-Denis M, Sutton DA, Fothergill AW, Cano-Lira J, Gené J, Decock CA, de Hoog GS, Guarro J. *Scopulariopsis*, a poorly known opportunistic fungus: spectrum of species in clinical samples and in vitro responses to antifungal drugs. *J Clin Microbiol*, 51(12):3937-3943, 2013. doi:10.1128/JCM.01927-13

Sandoval-Denis M, Sutton DA, Martin-Vicente A, Cano-Lira JF, Wiederhold N, Guarro J, Gené J. *Cladosporium* Species Recovered from Clinical Samples in the United States. *J Clin Microbiol*, 53(9):2990-3000, 2015. doi:10.1128/JCM.01482-15

Santos IAL, Nogueira JMR, Mendonça FCR. Mecanismos de resistência antimicrobiana em *Pseudomonas aeruginosa*. *RBAC*, 47(1/2):5-12, 2015.

Saran R, Robinson B, Abbott KC, Agodoa LYC, Bragg-Gresham J, Balkrishnan R, Bhavani N, Dietrich X, Ding Z, Eggers PW, Gaipov A, Gillen D, Gipson D, Gu H, Guro P, Haggerty D, Han Y, He K, Herman W, Heung M, et al. US Renal Data System 2018 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *Am J Kidney Dis*, 73(3 Suppl 1):A7-A8, 2019. doi:10.1053/j.ajkd.2019.01.001

Sardi Jde C, Pitangui Nde S, Rodríguez-Arellanes G, Taylor ML, Fusco-Almeida AM, Mendes-Giannini MJ. Highlights in pathogenic fungal biofilms. *Rev Iberoam Micol*, 31(1):22-29, 2014. doi:10.1016/j.riam.2013.09.014

Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol*, 62(Pt 1):10-24, 2013. doi:10.1099/jmm.0.045054-0

Sattler L, Sabou M, Ganeval-Stoll A, Dissaux C, Candolfi E, Letscher-Bru V. Sinusitis caused by *Scopulariopsis brevicaulis*: case report and review of the literature. *Med Mycol Case Rep*, 5:24-27, 2014. doi:10.1016/j.mmcr.2014.05.003

Sautour M, Chrétien ML, Valot S, Lafon I, Basmaciyan L, Legouge C, Verrier T, Gonssaud B, Abou-Hanna H, Dalle F, Caillot D. First case of proven invasive pulmonary infection due to *Trichoderma longibrachiatum* in a neutropenic patient with acute leukemia. *J Mycol Med*, 28(4):659-662, 2018. doi:10.1016/j.mycmed.2018.10.001

Schiavano GF, Parlani L, Sisti M, Sebastianelli G, Brandi G. Occurrence of fungi in dialysis water and dialysate from eight haemodialysis units in central Italy. *J Hosp Infect*, 86(3):194-200, 2014. doi:10.1016/j.jhin.2013.11.010

Schooneveld T, Freifeld A, Lesiak B, Kalil A, Sutton DA, Iwen PC. *Paecilomyces lilacinus* infection in a liver transplant patient: a case report and review of the literature. *Transpl Infect Dis*, 10:117-122, 2008. doi:10.1111/j.1399-3062.2007.00248.x

Schröttner P, Gunzer F, Schüppel J, Rudolph WW. Identification of Rare Bacterial Pathogens by 16S rRNA Gene Sequencing and MALDI-TOF MS. *J Vis Exp*, (113):53176, 2016. doi:10.3791/53176

Schwartz IS, Govender NP, Corcoran C, Dlamini S, Prozesky H, Burton R, Mendelson M, Taljaard J, Lehloenya R, Calligaro G, Colebunders R, Kenyon C. Clinical characteristics, diagnosis, management and outcomes of disseminated emmonsiosis: a retrospective case series. *Clin Infect Dis*, 61(6):1004-1012, 2015a.

doi:10.1093/cid/civ439

Schwartz IS, Kenyon C, Feng P, Govender NP, Dukik K, Sigler L, Jiang Y, Stielow JB, Muñoz JF, Cuomo CA, Botha A, Stchigel AM, de Hoog GS. 50 Years of *Emmonsia* Disease in Humans: The Dramatic Emergence of a Cluster of Novel Fungal Pathogens. *PLoS Pathog*, 11(11):e1005198, 2015b. doi:10.1371/journal.ppat.1005198

Segers P, Vancanneyt M, Pot B, Torck U, Hoste B, Dewettinck D, Falsen E, Kersters K, De Vos P. Classification of *Pseudomonas diminuta* Leifson and Hugh 1954 and *Pseudomonas vesicularis* Büsing, Döll, and Freytag 1953 in *Brevundimonas* gen. nov. as *Brevundimonas diminuta* comb. nov. and *Brevundimonas vesicularis* comb. nov., respectively. *Int J Syst Bacteriol*, 44(3):499-510, 1994. doi:10.1099/00207713-44-3-499

Selenic D, Alvarado-Ramy F, Arduino M, Holt S, Cardinali F, Blount B, Jarrett J, Smith F, Altman N, Stahl C, Panlilio A, Pearson M, Tokars J. Epidemic parenteral exposure to volatile sulfur-containing compounds at a hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25(3):256-261, 2004. doi:10.1086/502387

Serena C, Pastor FJ, Ortoneda M, Capilla J, Nolard N, Guarro J. In vitro antifungal susceptibilities of uncommon basidiomycetous yeasts. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(7):2724-2726, 2004. doi:10.1128/AAC.48.7.2724-2726.2004

Sette L, Titan S, Abensur H. Doença renal crônica. 2010. Available at: https://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/2518/doenca_renal_cronica.htm. Accessed 9 Nov 2019.

Shah H, Honeybul S, Tang S, Arthur I, McLaren S, Boan P. Mould meningitis associated with intravenous drug use. *Med Mycol Case Rep*, 20:18-20, 2018. doi:10.1016/j.mmcr.2018.01.004

Shahryari A, Nikaeen M, Hatamzadeh M, Vahid Dastjerdi M, Hassanzadeh A. Evaluation of Bacteriological and Chemical Quality of Dialysis Water and Fluid in Isfahan, Central Iran. *Iran J Public Health*, 45(5):650-656, 2016.

Shang ST, Chiu SK, Chan MC, Wang NC, Yang YS, Lin JC, Chang FY. Invasive *Brevundimonas vesicularis* bacteremia: two case reports and review of the literature. *J Microbiol Immunol Infect*, 45(6):468-472, 2012. doi:10.1016/j.jmii.2011.12.021

Shankar M, Rampure S, Siddini V, Ballal HS. Outbreak of *Ralstonia mannitolilytica* in Hemodialysis Unit: A Case Series. *Indian J Nephrol*, 28(4):323-326, 2018. doi:10.4103/ijn.IJN_77_17

Sharma D, Sharma P, Soni P, Gupta B. *Ralstonia picketti* neonatal sepsis: a case report. *BMC Res Notes*, 10(1):28, 2017. doi:10.1186/s13104-016-2347-1

Shaver CM, Castilho JL, Cohen DN, Grogan EL, Miller GG, Dummer JS, Gray JN, Lambright ES, Loyd JE, Robbins IM. Fatal *Scopulariopsis* infection in a lung transplant recipient: lessons of organ procurement. *Am J Transplant*, 14(12):2893-

2897, 2014. doi:10.1111/ajt.12940

Shenai MB, Falconer R, Rogers S. A *Cupriavidus Pauculus* Infection in a Patient with a Deep Brain Stimulation Implant. *Cureus*, 11(11):e6104, 2019. doi:10.7759/cureus.6104

Shimon O, Green H, Eliakim-Raz N, Rozen-Zvi B, Ben-Zvi H, Zohar I, Bishara J, Yahav D. Gram-negative bloodstream infections in hemodialysis patients: A retrospective study. *Clin Nephrol*, 90(2):117-124, 2018. doi:10.5414/CN109172

Shokouhi S, Tehrani S, Hemmatian M. Mixed Pulmonary Infection with *Penicillium notatum* and *Pneumocystis jiroveci* in a Patient with Acute Myeloid Leukemia. *Tanaffos*, 15(1):53-56, 2016.

Short DP, O'Donnell K, Zhang N, Juba JH, Geiser DM. Widespread occurrence of diverse human pathogenic types of the fungus *Fusarium* detected in plumbing drains. *J Clin Microbiol*, 49(12):4264- 4272, 2011. doi:10.1128/JCM.05468-11

Silva ALO, Moreira JC. Efeitos tóxicos de alguns contaminantes inorgânicos à saúde de pacientes submetidos à hemodiálise. *Cad Saúde Colet*, 17(3):691-730, 2009.

Silva E, Dalfior Junior L, Fernandes HS, Moreno R, Vincent JL. Prevalência e desfechos clínicos de infecções em UTIs brasileiras: subanálise do estudo EPIC II. *Rev Bras Ter Intensiva*, 24(2):143-150, 2012. doi:10.1590/S0103-507X2012000200008

Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Trends Microbiol*, 19(5):241-247, 2011. doi:10.1016/j.tim.2011.02.003

Silva LB. Identificação e determinação do perfil de suscetibilidade a antifúngicos de leveduras e fungos filamentosos isolados de dermatomicoses e avaliação da produção de proteinases e fosfolipases pelas leveduras. (Dissertação) - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Área de concentração II: Microbiologia, Parasitologia e Imunologia. Uberaba - MG, 2012.

Simgamsetty S, Yarlagadda P, Yenigalla BM, Myneni RB. Easy with VITEK 2 systems, bioMerieux in identification of non-lactose fermenting bacteria including their antibiotic drug susceptibility: our experience. *Intern J Res Med Sci*, 4(3):813-817, 2016. doi:10.18203/2320-6012.ijrms20160524

Simões M, Brígido BM, Mazon EMA, Pires MFC. Água de diálise: parâmetros físico-químicos na avaliação do desempenho das membranas de osmose reversa. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 64(2):173-178, 2005.

Simões M, Pires MFC. Água de diálise: ocorrência de leveduras, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias heterotróficas. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 63(2):224-231, 2004.

Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M,

Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315(8):801-810, 2016. doi:10.1001/jama.2016.0287

Singh R, Shivaprakash MR, Chakrabarti A. Biofilm formation by zygomycetes: quantification, structure and matrix composition. *Microbiology*, 157(Pt 9):2611-2618, 2011. doi:10.1099/mic.0.048504-0

Siqueira VM, Oliveira HM, Santos C, Paterson RR, Gusmão NB, Lima N. Filamentous fungi in drinking water, particularly in relation to biofilm formation. *Int J Environ Res Public Health*, 8(2):456-469, 2011. doi:10.3390/ijerph8020456

Sitter T, Bergner A, Schiffel H. Dialysate related cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 15(8):1207-1211, 2000. doi:10.1093/ndt/15.8.1207

Skóra M, Bulanda M, Jagielski T. In vitro activities of a wide panel of antifungal drugs against various *Scopulariopsis* and *Microascus* species. *Antimicrob Agents Chemother*, 59(9):5827-5829, 2015. doi:10.1128/AAC.00978-15

Smeets E, Kooman J, van der Sande F, Stobberingh E, Frederik P, Claessens P, Grave W, Schot A, Leunissen K. Prevention of biofilm formation in dialysis water treatment systems. *Kidney Int*, 63(4):1574-1576, 2003. doi:10.1046/j.1523-1755.2003.00888.x

Smith N, Sehring M, Chambers J, Patel P. Perspectives on non-*neoformans* cryptococcal opportunistic infections. *J Community Hosp Intern Med Perspect*, 7(4):214-217, 2017. doi:10.1080/20009666.2017.1350087

Snelders E, Huis In 't Veld RA, Rijs AJ, Kema GH, Melchers WJ, Verweij PE. Possible environmental origin of resistance of *Aspergillus fumigatus* to medical triazoles. *Appl Environ Microbiol*, 75(12):4053-4057, 2009. doi:10.1128/AEM.00231-09

Soler-Arango J, Figoli C, Muraca G, Bosch A, Brelles-Mariño G. The *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix and cells are drastically impacted by gas discharge plasma treatment: A comprehensive model explaining plasma-mediated biofilm eradication. *PLoS One*, 14(6):e0216817, 2019. doi:10.1371/journal.pone.0216817

Sood S, Nerukar V, Malvankar S. Catheter associated bloodstream infection caused by *Rhizobium radiobacter*. *Indian J Med Microbiol*, 28(1):62-64, 2010. doi:10.4103/0255-0857.58734

Sousa SA, Ramos CG, Leitão JH. *Burkholderia cepacia* Complex: Emerging Multihost Pathogens Equipped with a Wide Range of Virulence Factors and Determinants. *Int J Microbiol*, 2011:607575, 2011. doi:10.1155/2011/607575

Souza AV, Moreira CR, Pasternak J, Hirata ML, Saltini DA, Caetano VC, Ciosak S, Azevedo FM, Severino P, Vandamme P, Magalhães VD. Characterizing uncommon

Burkholderia cepacia complex isolates from an outbreak in a haemodialysis unit. J Med Microbiol, 53(Pt 10):999-1005, 2004. doi:10.1099/jmm.0.45702-0

Spilker T, Uluer AZ, Marty FM, Yeh WW, Levison JH, Vandamme P, Lipuma JJ. Recovery of *Herbaspirillum* species from persons with cystic fibrosis. J Clin Microbiol, 46(8):2774-2777, 2008. doi:10.1128/JCM.00460-08

Stepanović S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Cirković I, Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. APMIS, 115(8):891-899, 2007. doi:10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

Strateva T, Kostyanev T, Setchanova L. *Ralstonia pickettii* sepsis in a hemodialysis patient from Bulgaria. Braz J Infect Dis, 16(4):400-401, 2012. doi:10.1016/j.bjid.2012.06.010

Su M, Satola SW, Read TD. Genome-based prediction of bacterial antibiotic resistance. J Clin Microbiol, 57(3):e01405-18, 2019. doi:10.1128/JCM .01405-18

Su SC, Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Wei YF, Chen YL, Chang TC. Identification of non-fermenting Gram-negative bacteria of clinical importance by an oligonucleotide array. J Med Microbiol, 58(Pt 5):596-605, 2009. doi:10.1099/jmm.0.004606-0

Sugui JA, Christensen JA, Bennett JE, Zelazny AM, Kwon-Chung KJ. Hematogenously disseminated skin disease caused by *Mucor velutinosus* in a patient with acute myeloid leukemia. J Clin Microbiol, 49(7):2728-2732, 2011. doi:10.1128/JCM.00387-11

Suman E, Varghese B, Joseph N, Nisha K, Kotian MS. The bacterial biofilms in dialysis water systems and the effect of the sub inhibitory concentrations of chlorine on them. J Clin Diagn Res, 7(5):849-852, 2013. doi:10.7860/JCDR/2013/5118.2956

Sun L, Wan Z, Li R, Yu J. In vitro activities of nine antifungal agents against rare pathogenic fungi. J Med Microbiol, 68(11):1664-1670, 2019. doi:10.1099/jmm.0.001083

Sun W, Su J, Xu S, Yan D. *Trichosporon asahii* causing nosocomial urinary tract infections in intensive care unit patients: genotypes, virulence factors and antifungal susceptibility testing. J Med Microbiol, 61(Pt 12):1750-1757, 2012. doi:10.1099/jmm.0.049817-0

Susantitaphong P, Riella C, Jaber BL. Effect of ultrapure dialysate on markers of inflammation, oxidative stress, nutrition and anemia parameters: a meta-analysis. Nephrol Dial Transplant, 28(2):438-446, 2013. doi:10.1093/ndt/gfs514

Suwantarat N, Adams LL, Romagnoli M, Carroll KC. Fatal case of *Herbaspirillum seropedicae* bacteremia secondary to pneumonia in an end-stage renal disease patient with multiple myeloma. Diagn Microbiol Infect Dis, 82(4):331-333, 2015. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.04.011

Suzuki MN. Qualidade da água tratada para hemodiálise e intercorrências clínicas apresentadas pelos pacientes em tratamento: enfoque para metais e agentes microbiológicos. Tese de Doutorado. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem Saúde Pública. Ribeirão Preto - SP, 195 p., 2016.

Tai ML, Velayuthan RD. *Sphingomonas paucimobilis*: an unusual cause of meningitis-case report. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 54(4):337-340, 2014. doi:10.2176/nmc.cr2012-0429

Taj-Aldeen SJ, Almaslamani M, Theelen B, Boekhout T. Phylogenetic analysis reveals two genotypes of the emerging fungus *Mucor indicus*, an opportunistic human pathogen in immunocompromised patients. *Emerg Microbes Infect*, 6:e63, 2017. doi:10.1038/emi.2017.51

Taj-Aldeen SJ. Reduced Multidrug Susceptibility Profile Is a Common Feature of Opportunistic *Fusarium* Species: *Fusarium* Multi-Drug Resistant Pattern. *J Fungi (Basel)*, 3(2):18, 2017. doi:10.3390/jof3020018

Tammer I, Tintelnot K, Braun-Dullaeus RC, Mawrin C, Scherlach C, Schluter D, König W. Infections due to *Pseudallescheria/Scedosporium* species in patients with advanced HIV disease--a diagnostic and therapeutic challenge. *Int J Infect Dis*, 15(6):e422-429, 2011. doi:10.1016/j.ijid.2011.03.004

Tan MJ, Oehler RL. Lower extremity cellulitis and bacteremia with *Herbaspirillum seropedicae* associated with aquatic exposure in a patient with cirrhosis. *Infect Dis Clin Pract*, 13(5):277-279, 2005. doi:10.1097 /01.idc.0000170026.41994.8d

Taşbakan MS, Yamazhan T, Aydemir S, Bacakoğlu F. A case of ventilator-associated pneumonia caused by *Cupriavidus pauculus*. *Mikrobiyol Bul*, 44(1):127-131, 2010.

Tejera D, Limongi G, Bertullo M, Cancela M. *Ralstonia pickettii* bacteremia in hemodialysis patients: a report of two cases. *Rev Bras Ter Intensiva*, 28(2):195-198, 2016. doi:10.5935/0103-507X.20160033

Terada M, Ohki E, Yamagishi Y, Nishiyama Y, Satoh K, Uchida K, Yamaguchi H, Mikamo H. Fungal peritonitis associated with *Curvularia geniculata* and *Pithomyces* species in a patient with vulvar cancer who was successfully treated with oral voriconazole. *J Antibiot (Tokyo)*, 67(2):191-193, 2014. doi:10.1038/ja.2013.108

Teweldemedhin M, Gebreyesus H, Atsbaha AH, Asgedom SW, Saravanan M. Bacterial profile of ocular infections: a systematic review. *BMC Ophthalmol*, 17(1):212, 2017. doi:10.1186/s12886-017-0612-2

Thet MK, Pelobello MLF, Das M, Alhaji MM, Chong VH, Khalil MAM, Chinniah T, Tan J. Outbreak of nonfermentative Gram-negative bacteria (*Ralstonia pickettii* and *Stenotrophomonas maltophilia*) in a hemodialysis center. *Hemodial Int*, 23(3):E83-E89, 2019. doi:10.1111/hdi.12722

Thomas B, Wulf S, Bikbov B, Perico N, Cortinovis M, Courville de Vaccaro K, Flaxman A, Peterson H, Delossantos A, Haring D, Mehrotra R, Himmelfarb J, Remuzzi G, Murray C, Naghavi M. Maintenance Dialysis throughout the World in Years 1990 and 2010. *J Am Soc Nephrol*, 26(11):2621-2633, 2015. doi:10.1681/ASN.2014101017

Thomaz DY, de Almeida JN Jr, Lima GME, Nunes MO, Camargo CH, Grenfell RC, Benard G, Del Negro GMB. An Azole-Resistant *Candida parapsilosis* Outbreak: Clonal Persistence in the Intensive Care Unit of a Brazilian Teaching Hospital. *Front Microbiol*, 9:2997, 2018. doi:10.3389/fmicb.2018.02997

Thomé FS, Sesso RC, Lopes AA, Lugon JR, Martins CT. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2017. *J Bras Nefrol*, 41(2):208-214, 2019. doi:10.1590/2175-8239-JBN-2018-0178

Tiwari S, Beriha SS. Primary Bacteremia Caused by *Rhizobium radiobacter* in Neonate: A Rare Case Report. *J Clin Diagn Res*, 9(10):DD01-2, 2015. doi:10.7860/JCDR/2015/15101.6598

Tobudic S, Kratzer C, Presterl E. Azole-resistant *Candida* spp. - emerging pathogens? *Mycoses*, 55(1):24-32, 2012. doi:10.1111/j.1439-0507.2011.02146.x

Tolker-Nielsen T. Biofilm development. *Microbiol Spectr*, 3(2):MB-0001-2014, 2015. doi:10.1128/microbiolspec.MB-0001-2014

Toniolo Ado R, Ribeiro MM, Ishii M, da Silva CB, Jenné Mimica LM, Graziano KU. Evaluation of the effectiveness of manual and automated dialyzers reprocessing after multiple reuses. *Am J Infect Control*, 44(6):719-720, 2016. doi:10.1016/j.ajic.2015.12.035

Torres R, Gonzalez M, Sanhueza M, Segovia E, Alvo M, Passalacqua W, Saffie A, Elgueta L, Diaz M, Silva F. Outbreak of *Paecilomyces variotii* peritonitis in peritoneal dialysis patients after the 2010 Chilean earthquake. *Perit Dial Int*, 34(3):322-325, 2014. doi:10.3747/pdi.2013.00157

Tortorano AM, Richardson M, Roilides E, van Diepeningen A, Caira M, Munoz P, Johnson E, Meletiadis J, Pana ZD, Lackner M, Verweij P, Freiburger T, Cornely OA, Arikan-Akdagli S, Dannaoui E, Groll AH, Lagrou K, Chakrabarti A, Lanternier F, Pagano L, et al. ESCMID and ECMM joint guidelines on diagnosis and management of hyalohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others. *Clin Microbiol Infect*, 20(Suppl 3):S27-S46, 2014. doi:10.1111/1469-0691.12465

Totaro M, Casini B, Valentini P, Miccoli M, Giorgi S, Porretta A, Privitera G, Lopalco PL, Baggiani A. Evaluation and control of microbial and chemical contamination in dialysis water plants of Italian nephrology wards. *Journal of Hospital Infection*, 97(2):169-174, 2017. doi:10.1016/j.jhin.2017.05.011

Tóth R, Nosek J, Mora-Montes HM, Gabaldon T, Bliss JM, Nosanchuk JD, Turner SA, Butler G, Vágvolgyi C, Gácsér A. *Candida parapsilosis*: from Genes to the Bedside. *Clin Microbiol Rev*, 32(2):e00111-18, 2019. doi:10.1128/CMR.00111-18

Tovbin D. Ultrapure Dialysis Water: Is it really pure? *Isr Med Assoc J*, 21(1):50-51, 2019.

Tumbarello M, Fiori B, Trecarichi EM, Posteraro P, Losito AR, De Luca A, Sanguinetti M, Fadda G, Cauda R, Posteraro B. Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. *PLoS One*, 7(3):e33705, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0033705

Tümmler B. Emerging therapies against infections with *Pseudomonas aeruginosa*. *F1000Res*, 8:F1000 Faculty Rev-1371, 2019. doi:10.12688/f1000research

Turrientes MC, Baquero MR, Sánchez MB, Valdezate S, Escudero E, Berg G, Cantón R, Baquero F, Galán JC, Martínez JL. Polymorphic mutation frequencies of clinical and environmental *Stenotrophomonas maltophilia* populations. *Appl Environ Microbiol*, 76(6):1746-1758, 2010. doi:10.1128/AEM.02817-09

Uc-Cachón AH, Gracida-Osorno C, Luna-Chi IG, Jiménez-Guillermo JG, Molina-Salinas GM. High Prevalence of Antimicrobial Resistance Among Gram-Negative Isolated Bacilli in Intensive Care Units at a Tertiary-Care Hospital in Yucatán Mexico. *Medicina (Kaunas)*, 55(9):588, 2019. doi:10.3390/medicina55090588

Unal A, Kocyigit I, Sipahioglu MH, Tokgoz B, Oymak O, Utas C. Fungal peritonitis in peritoneal dialysis: an analysis of 21 cases. *Int Urol Nephrol*, 43(1):211-213, 2011. doi:10.1007/s11255-010-9763-2

Uppuluri P, Chaturvedi AK, Srinivasan A, Banerjee M, Ramasubramaniam AK, Köhler JR, Kadosh D, Lopez-Ribot JL. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS Pathog*, 6(3):e1000828, 2010. doi:10.1371/journal.ppat.1000828

Uzodi AS, Schears GJ, Neal JR, Henry NK. *Cupriavidus pauculus* bacteremia in a child on extracorporeal membrane oxygenation. *ASAIO J*, 60(6):740-741, 2014. doi:10.1097/MAT.0000000000000120

Vadakedath S, Kandi V. Dialysis: A Review of the Mechanisms Underlying Complications in the Management of Chronic Renal Failure. *Cureus*, 9(8):e1603, 2017. doi:10.7759/cureus.1603

Valot B, Guyeux C, Rolland JY, Mazouzi K, Bertrand X, Hocquet D. What It Takes to Be a *Pseudomonas aeruginosa*? The Core Genome of the Opportunistic Pathogen Updated. *PLoS One*, 10(5):e0126468, 2015. doi:10.1371/journal.pone.0126468

van Belkum A, Chatellier S, Girard V, Pincus D, Deol P, Dunne WM Jr. Progress in proteomics for clinical microbiology: MALDI-TOF MS for microbial species identification and more. *Expert Rev Proteomics*, 12(6):595-605, 2015. doi:10.1586/14789450.2015.1091731

van Diepeningen AD, de Hoog GS. Challenges in Fusarium, a Trans-Kingdom Pathogen. *Mycopathologia*, 181(3-4):161-163, 2016. doi:10.1007/s11046-016-9993-7

Van Oss CJ, Good RJ, Chaudhury MK. The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in “hydrophobic interactions” between biopolymers and low energy surfaces. *J Colloid Interface Sci*, 111(2):378-390, 1986. doi:10.1016/0021-9797(86)90041-X

Vandamme P, Coenye T. Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found. *Int J Syst Evol Microbiol*, 54(Pt 6):2285-2289, 2004. doi:10.1099/ijs.0.63247-0

Varo SD, Martins CHG, Cardoso MJO, Sartori FG. Isolamento de fungos filamentosos em água utilizada em uma unidade de hemodiálise. *Rev Soc Bras Med Trop*, 40(3):326-331, 2007. doi:10.1590/S0037-86822007000300015

Vasconcelos PDS. Monitoramento da Água de Diálise: Um Estudo de Caso em uma Clínica do Município de Recife. 112 f. 2012. Monografia (Especialização em Gestão de Sistemas e Serviços de Saúde) - Fundação Oswaldo Cruz - Centro De Pesquisas Aggeu Magalhães, 2012.

Vay C, García SD, Alperovich G, Almuzara MN, Lasala MB, Famiglietti A. Bacteremia due to *Cupriavidus pauculus* (formerly CDC group IVc-2) in a hemodialysis patient. *Clin Microbiol Newsl*, 29(4):30-32, 2007. doi:10.1016/j.clinmicnews.2007.02.002

Vaz-Moreira I, Nunes OC, Manaia CM. Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome. *FEMS Microbiol Rev*, 38(4):761- 778, 2014. doi:10.1111/1574-6976.12062

Velasco J, Revankar S. CNS Infections Caused by Brown-Black Fungi. *J Fungi (Basel)*, 5(3):60, 2019. doi:10.3390/jof5030060

Verma S, Indumathi VA, Gurudev KC, Naik SA. Bacteriological Quality of Treated Water and Dialysate in Haemodialysis Unit of A Tertiary Care Hospital. *J Clin Diagn Res*, 9(10):DC14-6, 2015. doi:10.7860/JCDR/2015/14681.6692

Verweij PE, Snelders E, Kema GH, Mellado E, Melchers WJ. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use? *Lancet Infect Dis*, 9(12):789-795, 2009. doi:10.1016/S1473-3099(09)70265-8

Vincenti S, Quaranta G, De Meo C, Bruno S, Ficarra MG, Carovillano S, Ricciardi W, Laurenti P. Non-fermentative gram-negative bacteria in hospital tap water and water used for haemodialysis and bronchoscope flushing: Prevalence and distribution of antibiotic resistant strains. *Sci Total Environ*, 499:47-54, 2014. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.08.041

Wagner L, Stielow JB, de Hoog S, Bensch K, Schwartze V, Voigt K, Alastruey-Izquierdo A, Kurzai O, Walther G. A new species concept for the clinically relevant *Mucor circinelloides* complex. *Persoonia*, 44:67-97, 2020. doi:10.3767/persoonia.2020.44.03

Walker J, Moore G. *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: biofilms, guidelines, and practicalities. *J Hosp Infect*, 89(4):324-327, 2015.

doi:10.1016/j.jhin.2014.11.019

Walker JT, Jhutti A, Parks S, Willis C, Copley V, Turton JF, Hoffman PN, Bennett AM. Investigation of healthcare-acquired infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in taps in neonatal units in Northern Ireland. *J Hosp Infect*, 86(1):16-23, 2014. doi:10.1016/j.jhin.2013.10.003

Wang DL, Zhao LD, Li LJ, Zhou MJ. Septic shock caused by *Rhizobium radiobacter* in an elderly woman: A case report. *Medicine (Baltimore)*, 98(49):e18267, 2019. doi:10.1097/MD.00000000000018267

Wang XF, Lv ZM, Huang J. Study of the clinical characteristics and related risk factors of nosocomial infections in patients with chronic renal failure receiving hemodialysis. *Chin J Nosocomiol*, 23:5689-5691, 2013.

Wang SA, Levine RB, Carson LA, Arduino MJ, Killar T, Grillo FG, Pearson ML, Jarvis WR. An outbreak of gram-negative bacteremia in hemodialysis patients traced to hemodialysis machine waste drain ports. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 20(11):746-751, 1999. doi:10.1086/501576

Ward RA. Worldwide guidelines for the preparation and quality management of dialysis fluid and their implementation. *Blood Purif*, 27 Suppl 1:2-4, 2009. doi:10.1159/000213489

Warris A, Klaassen CH, Meis JF, De Ruyter MT, De Valk HA, Abrahamsen TG, Gaustad P, Verweij PE. Molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates recovered from water, air, and patients shows two clusters of genetically distinct strains. *J Clin Microbiol*, 41(9):4101-4106, 2003. doi:10.1128/jcm.41.9.4101-4106.2003

Warris A, Gaustad P, Meis JF, Voss A, Verweij PE, Abrahamsen TG. Recovery of filamentous fungi from water in a paediatric bone marrow transplantation unit. *J Hosp Infect*, 47(2):143-148, 2001. doi:10.1053/jhin.2000.0876

Waugh JB, Granger WM, Gaggar A. Incidence, relevance and response for *Ralsfonia* respiratory infections. *Clin Lab Sci*, 23(2):99-106, 2010.

Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol*, 173(2):697-703, 1991. doi:10.1128/jb.173.2.697-703.1991

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315-322, 1990.

Williams MM, Armbruster CR, Arduino MJ. Plumbing of hospital premises is a reservoir for opportunistically pathogenic microorganisms: a review. *Biofouling*, 29(2):147-162, 2013. doi:10.1080/08927014.2012.757308

Wong J, Vilar E, Farrington K. Haemodialysis. *Medicine*, 43(8):478- 483, 2015. doi:10.1016/j.mpmed.2015.05.010

Wu H, Moser C, Wang HZ, Hoiby N, Song ZJ. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci*, 7(1):1-7, 2015. doi:10.1038/ijos.2014.65

Xi C, Zhang Y, Marrs CF, Ye W, Simon C, Foxman B, Nriagu J. Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems. *Appl Environ Microbiol*, 75(17):5714-5718, 2009. doi:10.1128/AEM.00382-09

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*, 52(5):283-286, 2008. doi:10.1111/j.1348-0421.2008.00035.x

Yang Q, Wei J, Chen Z. Fatal bronchial invasion of *Scopulariopsis brevicaulis* in an acute monocytic leukemia patient. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 73(4):369-371, 2012. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.04.010

Yang Y, Ye Q, Li K, Li Z, Bo X, Li Z, Xu Y, Wang S, Wang P, Chen H, Wang J. Genomics and Comparative Genomic Analyses Provide Insight into the Taxonomy and Pathogenic Potential of Novel *Emmonsia* Pathogens. *Front Cell Infect Microbiol*, 7:105, 2017. doi:10.3389/fcimb.2017.00105

Yap DY, Chan JF, Yip T, Mok MM, Kwan LP, Lo WK, Chan TM. *Burkholderia cepacia* Exit-Site Infection in Peritoneal Dialysis Patients-Clinical Characteristics and Treatment Outcomes. *Perit Dial Int*, 36(4):390-394, 2016. doi:10.3747/pdi.2015.00122

Yoon JH, Park S, Kang SJ, Kim W, Oh TK. *Sphingomonas hankookensis* sp. nov., isolated from wastewater. *Int J Syst Evol Microbiol*, 59(Pt 11):2788- 2793, 2009. doi:10.1099/ijs.0.008680-0

Yu J, Chen Y, Fang J, Zhang K. Successful treatment of disseminated fusariosis in a patient with acute lymphoblastic leukemia: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*, 98(26):e16246, 2019. doi:10.1097/MD.00000000000016246

Yu X, Cai X, Xu X, Zhang L, Huang X, Wang L, Chen Y. Fungemia caused by *Penicillium marneffe* in an immunocompetent patient with COPD: A unique case report. *Medicine (Baltimore)*, 97(3):e9658, 2018. doi:10.1097/MD.00000000000009658

Zhang N, O'Donnell K, Sutton DA, Nalim FA, Summerbell RC, Padhye AA, Geiser DM. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *J Clin Microbiol*, 44(6):2186-2190, 2006. doi:10.1128/JCM.00120-06

Zhang Y, Zhou CM, Pu Q, Wu Q, Tan S, Shao X, Zhang W, Xie Y, Li R, Yu XJ, Wang R, Zhang L, Wu M, Deng X. *Pseudomonas aeruginosa* Regulatory Protein AnvM Controls Pathogenicity in Anaerobic Environments and Impacts Host Defense. *mBio*,

10(4):e01362-19, 2019a. doi:10.1128/mBio.01362-19

Zhang Y, Cooper B, Gui X, Sherer R, Cao Q. Clinical diversity of invasive cryptococcosis in AIDS patients from central China: report of two cases with review of literature. *BMC Infect Dis*, 19(1):1003, 2019b. doi:10.1186/s12879-019-4634-7

Zhang Z, Deng W, Wang S, Xu L, Yan L, Liao P. First case report of infection caused by *Cupriavidus gilardii* in a non-immunocompromised Chinese patient. *IDCases*, 10:127-129, 2017. doi:10.1016/j.idcr.2017.10.009

Ziga ED, Druley T, Burnham CA. *Herbaspirillum* species bacteremia in a pediatric oncology patient. *J Clin Microbiol*, 48(11):4320-4321, 2010. doi:10.1128/JCM.01479-10.

Anexo I



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
CONSELHO TÉCNICO CIENTÍFICO – CTC / IAL



São Paulo, 26 de Dezembro de 2017

Projeto: CTC 49-J / 2017

"Avaliação microbiológica e físico-química de amostras de água tratada para hemodiálise"

Coordenação: Lais Anversa Trevejo

Prezado(s) Coordenador(es),

Comunicamos que o projeto foi **aprovado quanto ao Mérito Científico** pelo Conselho Técnico Científico do IAL e cadastro CTC-IAL 49-J/2017.

Por tratar-se de projeto que *não envolve, direta ou indiretamente, a pesquisa com seres humanos, e que não envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (não humano) segundo a Lei nº 11794/2008, não exige* a avaliação quanto aos aspectos éticos pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz (CEPIAL) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Experimentação do Instituto Adolfo Lutz (CEUA/IAL).

Atenciosamente,

ADRIANA BUGNO
Presidente do CTC/IAL

1ª Via: Coordenador
2ª Via: Diretor de Núcleo
3ª Via: Diretor de Centro
4ª Via: CTC

Anexo II

Testes de McNemar aplicados na avaliação de uma possível correção entre os microrganismos investigados.

Coliformes totais	Fungos		Valor-p
	Negativo	Positivo	
Negativo	160 (74,1%)	52 (24,1%)	<0,001
Positivo	4 (1,8%)	0 (0,0%)	

BGN-NF	Fungos		Valor-p
	Negativo	Positivo	
Negativo	89 (41,2%)	28 (13,0%)	<0,001
Positivo	75 (34,7%)	24 (11,1%)	

Bactérias heterotróficas	Fungos		Valor-p
	Negativo	Positivo	
Negativo	140 (64,8%)	42 (19,5%)	0,037
Positivo	24 (11,1%)	10 (4,6%)	

Bactérias heterotróficas	Coliformes totais		Valor-p
	Negativo	Positivo	
Negativo	182 (84,3%)	0 (0,0%)	<0,001
Positivo	30 (13,9%)	4 (1,8%)	

Bactérias heterotróficas	BGN-NF		Valor-p
	Negativo	Positivo	
Negativo	110 (50,9%)	72 (33,3%)	<0,001
Positivo	7 (3,3%)	27 (12,5%)	

BGN-NF	Coliformes totais		Valor-p
	Negativo	Positivo	
Negativo	116 (53,7%)	1 (0,5%)	<0,001
Positivo	96 (44,4%)	3 (1,4%)	