

Fungos filamentosos na água usada no tratamento de hemodiálise: um desafio persistente para vigilância em saúde

Filamentous fungi in water used in hemodialysis treatment: a persistence challenge for health surveillance

RESUMO

Meire Nikaido Suzuki^I 
Guilherme Sgobbi Zagui^{II} 
Carolina Sampaio Machado^I 
Sabrina Alves Reis^I 
Gabriel Pinheiro Machado^I 
Marina Smidt Celere Meschede^{III} 
Danilo Vitorino Santos^{IV} 
Carlos Henrique Gomes Martins^V 
Leonardo Neves Andrade^{IV} 
Susana Segura-Muñoz^{I,*} 

Introdução: Os fungos geralmente são resistentes à desinfecção e têm potencial patogênico. No entanto, eles não são legalmente controlados na água de hemodiálise (AH). **Objetivo:** Os fungos filamentosos (FF) foram avaliados na água de hemodiálise de um hospital terciário no sudeste do estado de São Paulo (Brasil), um centro médico de referência que atende milhões de pessoas por ano. **Método:** Um total de 84 amostras de água foram coletadas em sete pontos do sistema hidráulico durante o período de um ano e os FF foram identificados por características macroscópicas e microscópicas. **Resultados:** Foram detectados FF em todos os pontos, variando de 1 a 334 CFU/100 mL. Foram identificados nove gêneros ao longo do sistema hidráulico, incluindo: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beltrania*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Exophiala*, *Fusarium* e *Penicillium*. **Conclusões:** A maioria dos fungos é onipresente e alguns deles causam infecção humana e produzem micotoxinas. Os vários gêneros encontrados revelam possíveis falhas no sistema de tratamento e distribuição, seja por práticas de higiene inadequadas ou por infusão desses microrganismos nas tubulações. A detecção dos FF é necessária, tendo em vista a vulnerabilidade imunológica dos pacientes em tratamento de hemodiálise, o que exige ações contínuas de vigilância em saúde.

PALAVRAS-CHAVE: Centro de Hemodiálise; Fungos; Qualidade da Água; Avaliações Microbiológicas

ABSTRACT

Introduction: Fungi usually are resistant to disinfection and has pathogenic potential; however, they are not legally controlled in hemodialysis water (HW). **Objective:** Filamentous fungi (FF) were evaluated in HW from a tertiary hospital in southeast of São Paulo state (Brazil) and is a reference medical center providing service to millions of people every year. **Method:** A total of 84 water samples were collected in seven hydraulic system points during a period of one year and FF was identified by macroscopic and microscopic features. **Results:** FF were detected in all points ranging from 1 to 334 CFU/100 mL. Nine genera along the hydraulic system were identified, including *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beltrania*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Exophiala*, *Fusarium*, and *Penicillium*. **Conclusions:** Most fungi are ubiquitous and some cause human infection and mycotoxins producers. The various genera found reveal possible failures in treatment and distribution system, either through inadequate hygiene practices or infusion of these microorganisms into the pipes. FF detection is needed bearing mind immunological vulnerability of patients under hemodialysis treatment requiring continuous health surveillance actions.

KEYWORDS: Hemodialysis Center; Fungi; Water Quality; Microbiological Assessments

^I University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto School of Nursing (EERP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^{II} University of Ribeirão Preto (Unaerp), Water Resources Research Group, Ribeirão Preto, SP, Brazil

^{III} Federal University of Western Pará (Ufopa), Institute of Collective Health (ISCO), Santarém, PA, Brazil

^{IV} University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto School of Pharmaceutical Sciences (FCFRP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^V Federal University of Uberlândia (UFU), Institute of Biomedical Sciences, Uberlândia, MG, Brazil

* E-mail: susis@eerp.usp.br

Recebido: 03 ago 2023

Aprovado: 12 mar 2024

Como citar: Suzuki MN, Zagui GS, Machado CS, Reis SA, Machado GP, Meschede MSC, Santos DV, Martins CHG, Andrade LN, Segura-Muñoz S. Fungos filamentosos na água usada no tratamento de hemodiálise: um desafio persistente para vigilância em saúde. *Vigil Sanit Debate*, Rio de Janeiro, 2024, v.12: e02236. <https://doi.org/10.22239/2317-269x.02236>



INTRODUÇÃO

A doença renal em estágio terminal (DRT) é uma condição altamente prevalente na população, causada principalmente por diabetes, glomerulonefrite, hipertensão e doença renal crônica, que exige cuidados intensivos de saúde para melhorar a qualidade de vida dos pacientes¹. Com a perspectiva de garantir melhores condições de vida, a maioria dos pacientes com DRT (> 70%) é inicialmente tratada com hemodiálise (HD) e exposta a mais de 300 L de água por semana^{1,2}. Assim, a água usada na HD passa por processos rigorosos de tratamento para evitar que contaminantes químicos e microbiológicos causem complicações clínicas. Foi descrito que alumínio, cobre, nitrato e outros produtos químicos podem causar anemia, distúrbios neurológicos, dor óssea e vômitos em pacientes em tratamento de HD³. Bactérias e endotoxinas podem causar reações febris e sepse; entretanto, o aprimoramento tecnológico dos sistemas de tratamento de água torna raras as complicações clínicas mencionadas¹.

No Brasil, a resolução RDC Nº 11, de 13 de março de 2014, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), determina que as substâncias químicas devem ser avaliadas semestralmente e os coliformes totais, as bactérias heterotróficas e as endotoxinas, mensalmente, todos com seus respectivos valores máximos permitidos⁴. Um surto de insuficiência hepática aguda devido a cianotoxinas após o tratamento com HD já foi relatado no Brasil⁵. Outros agentes microbiológicos não são controlados legalmente; no entanto, sabe-se que os fungos são morfológicamente mais resistentes a diferentes processos de desinfecção do que as bactérias e a investigação desses microrganismos torna-se relevante considerando seu potencial patogênico e características de oportunismo. Evidências recentes relatam que fungos causadores de infecções da corrente sanguínea estão associados à contaminação da água de HD devido a processos de desinfecção inadequados⁶. Aqui, investigamos a ocorrência de nove fungos filamentosos (FF) em diferentes pontos do sistema hidráulico em um centro de HD brasileiro.

MÉTODO

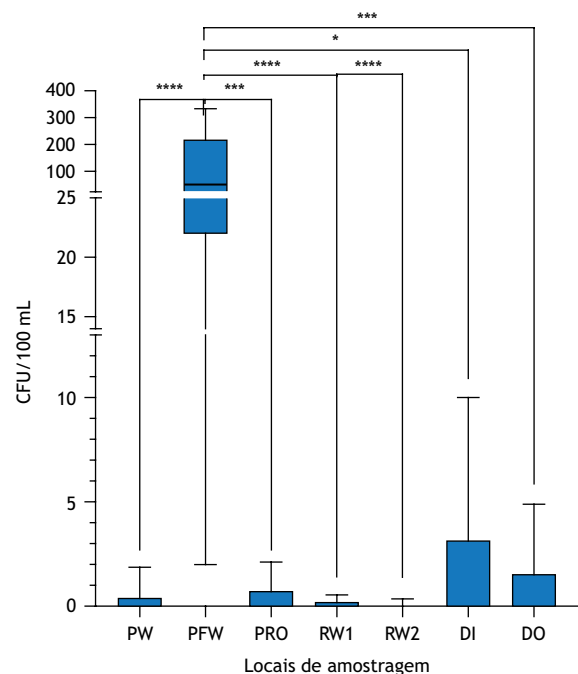
O centro de diálise em estudo está localizado em um hospital terciário no sudeste do estado de São Paulo, Brasil. Esse é um centro médico de referência que atende milhões de pessoas de todo o Brasil todos os anos e, durante o estudo, tinha capacidade para atender 18 pacientes simultaneamente. As amostras de água foram coletadas mensalmente, ao longo de um ano antes da pandemia de COVID-19 (2019-2020), em sete pontos do sistema hidráulico [a) entrada de água potável; b) água de pré-filtração; c) pós-osmose reversa; d) entrada de dialisato; e) saída de dialisato; f) tanque de água de reúso nº 1; e g) tanque de água de reúso nº 2]. As amostras de água (100 mL) foram filtradas por um sistema de vácuo com membrana de celulose (47 mm, 0,45 µm), de acordo com o *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*⁷. Em seguida, a membrana foi incubada em meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) suplementado com cloranfenicol (30 mg/100 mL) a 25 °C por um período de 7 a 10 dias. Depois disso, o crescimento de FF foi

avaliado, expressando o resultado em unidades formadoras de colônias por 100 mL (CFU/100 mL).

Para a identificação do FF, foram empregadas duas técnicas baseadas em características macro e microscópicas⁸. Nesse sentido, realizamos a técnica de colônia gigante em meio de cultura SDA para avaliar as características macroscópicas, e a técnica de microcultura em meio de cultura Ágar Batata Dextrose para avaliar as características microscópicas após a coloração com lactofenol azul algodão⁸. Depois de identificar o FF, o número e a diversidade de fungos em cada ponto de amostragem durante o curso da água da HD foram contados e o teste de Kruskal-Wallis foi aplicado para verificar a diferença estatística significativa (valor de $p < 0,05$) entre os níveis de FF entre os pontos de amostragem no GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

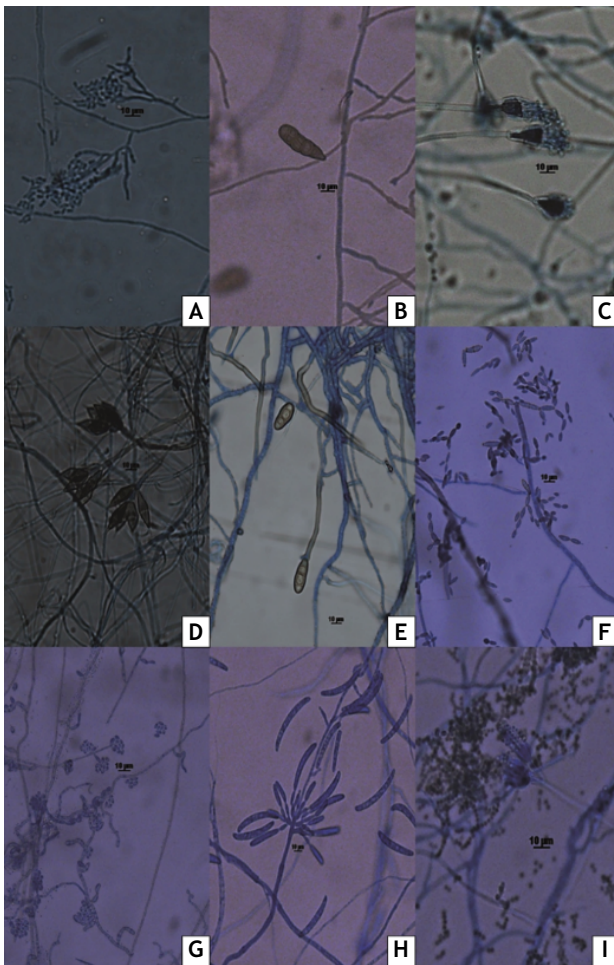
Um total de 84 amostras de água foram avaliadas e FF foi detectado em todos os pontos de amostragem em concentrações que variaram de 1 a 334 UFC/100 mL. Uma diferença significativa do nível de FF pode ser observada ao longo do sistema hidráulico, conforme ilustrado na Figura 1. Foram detectados FF em todas as amostras de água de pré-filtração em altas concentrações, variando de 2 a 334 UFC/100 mL. O pré-filtro é composto por três



Fonte: Elaborado pelos autores, 2023.

PW: Entrada de água potável; PFW: Água de pré-filtração; PRO: Pós osmose reversa; RW1: Tanque de água de reúso nº 1; RW2: Tanque de água de reúso nº 2; DI: Entrada de dialisato; DO: Saída de dialisato. O asterisco representa uma diferença de significância estatística: * p-valor < 0,05, *** p-valor < 0,005, **** p-valor < 0,0001.

Figura 1. Concentrações (CFU/100mL) de fungos filamentosos na água de hemodiálise coletada em um hospital terciário no Brasil.



Fonte: Elaborado pelos autores, 2023.

Figura 2. Fungos filamentosos identificados na água de hemodiálise ao longo do sistema hidráulico. A, *Acremonium* sp; B, *Alternaria* sp; C, *Aspergillus* spp; D, *Beltrania* sp; E, *Bipolaris* sp; F, *Cladosporium* spp; G, *Exophiala* spp; H, *Fusarium* spp; I, *Penicillium* spp.

unidades - filtro de areia, carvão ativado e amaciante - e as altas concentrações encontradas podem sugerir práticas de higiene inadequadas ou periodicidade inadequada dos procedimentos de limpeza, já que baixas concentrações foram detectadas na água antes do processo de pré-filtragem. Portanto, esse compartimento do sistema hidráulico pode representar um ponto de acesso para agentes microbiológicos.

As concentrações de FF após a osmose reversa diminuíram significativamente (p -valor $< 0,005$), assim como encontrado por Pires-Gonçalves et al.⁹, evidenciando o alto desempenho da osmose reversa no tratamento de água. O ponto de amostragem da entrada do dialisato também se destaca, pois 58,3% das amostras foram positivas. Estudos semelhantes foram realizados mostrando uma variabilidade dos níveis de FF no dialisato^{10,11}. As evidências científicas e os nossos resultados destacam a ocorrência desses microrganismos no dialisato, o que pode representar uma preocupação em relação ao seu contato com o sangue do paciente.

Foram identificados nove gêneros ao longo do sistema hidráulico, incluindo *Acremonium* sp, *Alternaria* sp, *Aspergillus* spp, *Beltrania* sp, *Bipolaris* sp, *Cladosporium* spp, *Exophiala* spp, *Fusarium* spp e *Penicillium* spp (Figura 2). Esses FF também foram identificados em estudos conduzidos por diferentes grupos de pesquisadores^{8,9,10,11,12}. *Exophiala* spp ($n = 1.280$ isolados) foi o principal gênero encontrado, sendo detectado exclusivamente no ponto de amostragem pré-filtragem (Tabela). Esse fungo é amplamente encontrado no ambiente e demonstrou uma alta similaridade genética entre isolados de água deionizada usada para preparar soluções e de pacientes infectados em um hospital¹³. A disseminação aquática de FF reforça a necessidade de técnicas adequadas de desinfecção da água de HD para evitar intercorrências clínicas em pacientes, dado seu potencial patogênico em pessoas com vulnerabilidade imunológica.

Cladosporium spp e *Aspergillus* spp foram encontrados em quatro pontos de amostragem (Tabela). *Cladosporium* spp foi

Tabela. Total de isolados de fungos filamentosos detectados na água de hemodiálise ao longo do sistema hidráulico da unidade de diálise em um hospital terciário.

Fungos filamentosos	Locais de amostragem						
	PWI	PFW	PRO	RW1	RW2	DI	DO
<i>Acremonium</i> sp	-	-	-	-	-	-	1
<i>Alternaria</i> sp	-	-	-	-	-	-	1
<i>Aspergillus</i> spp	1	-	4	-	1	5	-
<i>Beltrania</i> sp	-	-	-	1	-	-	-
<i>Bipolaris</i> sp	-	-	1	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i> spp	4	-	4	-	-	31	14
<i>Exophiala</i> spp	-	1,280	-	-	-	-	-
<i>Fusarium</i> spp	-	-	-	-	-	1	1
<i>Penicillium</i> spp	-	-	-	1	-	1	2

Fonte: Elaborado pelos autores, 2023.

PWI: Entrada de água potável; PFW: Água de pré-filtragem; PRO: Pós osmose reversa; RW1: Tanque de água de reúso nº 1; RW2: Tanque de água de reúso nº 2; DI: Entrada de dialisato; OD: Saída de dialisato.



detectado na entrada de água potável, após a osmose reversa, e principalmente na entrada do dialisato (n = 31) e na saída do dialisato (n = 14). Resultados semelhantes também foram encontrados por Schiavano et al.¹⁰ e a relevância está associada ao potencial do *Cladosporium* sp de causar alergia, doenças cutâneas e subcutâneas e, ocasionalmente, infecções profundas¹⁴. Além disso, o *Cladosporium* é resistente à cloração da água e pode permanecer no sistema hidráulico por longos períodos¹⁵. *Aspergillus* também foi encontrado em diferentes pontos dos sistemas hidráulicos (Tabela) e, entre eles, destacamos a entrada de dialisato, devido ao contato próximo com pacientes em tratamento de HD e ao fato de o *Aspergillus* ser um gênero fúngico de importância médica, considerando o potencial tóxico das micotoxinas (por exemplo, aflatoxinas, ocratoxinas). Também destacamos a detecção de *Fusarium* e *Penicillium*, levando em conta seu histórico de infecções humanas e sua capacidade de serem produtores de micotoxinas também¹⁶.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos evidenciam a ampla distribuição de FF no sistema hidráulico da unidade de diálise estudada. Os vários gêneros encontrados, que são onipresentes, revelam possíveis falhas no sistema de tratamento e distribuição, seja por práticas

inadequadas de higiene ou por infusão desses microrganismos nas tubulações. Assim como as bactérias, algumas espécies de fungos têm a capacidade de produzir biofilme, o que representa um desafio para a desinfecção adequada da água. A ocorrência e a persistência de FF ao longo do ano podem representar riscos aos pacientes em tratamento de HD, considerando seu potencial como agentes patogênicos. Nesse sentido, ações de vigilância sanitária, como a avaliação periódica da qualidade da água e das instalações, são essenciais para a segurança do paciente.

Além disso, são necessários estudos futuros para verificar a viabilidade de incluir a determinação de fungos em diretrizes que garantam boas práticas operacionais em centros de diálise devido à maior persistência dos FF às medidas de desinfecção aplicadas, quando comparados às bactérias, um indicador comumente útil para garantir a qualidade microbiológica da água. Assim, possíveis melhorias no sistema de tratamento e distribuição da água podem garantir maior segurança aos pacientes em tratamento dialítico. A parceria com os gerentes da unidade de diálise neste estudo garantiu que a equipe técnica do hospital tivesse acesso aos nossos dados para estabelecer melhorias no tratamento da água desse serviço de saúde. A partir de nossos resultados, sugerimos a realização de mais estudos para associar a ocorrência de fungos na água da HD com o estágio clínico dos pacientes em tratamento de HD.

REFERÊNCIAS

1. Gupta R, Woo K, Yi JA. Epidemiology of end-stage kidney disease. *Semin Vasc Surg.* 2021;34(4):71-8. <https://doi.org/10.1053/j.semvascsurg.2021.02.010>
2. Wong J, Vilar E, Farrington K. Haemodialysis. *Medicine.* 2015;43(8):478-83. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2015.05.010>
3. Suzuki MK, Fregonesi BM, Machado CS, Zagui GS, Kusomota L, Suzuki AK et al. Hemodialysis water parameters as predisposing factors for anemia in patients in dialytic treatment: application of mixed regression models. *Biol Trace Elem Res.* 2019;190(1):30-7. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1515-7>
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC N° 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 União.* 14 mar 2014.
5. Carmichael WW, Azevedo SM, An JS, Molica RJ, Jochimsen EM, Lau S et al. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environ Health Perspect.* 2001;109(7):663-8. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109663>
6. Boyce JM, Dumigan DG, Havill NL, Hollis RJ, Pfaller MA, Moore BA. A multi-center outbreak of *Candida tropicalis* bloodstream infections associated with contaminated hemodialysis machine prime buckets. *Am J Infect Control.* 2021;49(8):1008-13. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2021.02.014>
7. American Public Health Association - APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington: American Public Health Association; 2012.
8. Anversa L, Lara BR, Romani CD, Saeki EK, Nascentes GAN, Bonfietti LX et al. Fungi in dialysis water and dialysate: occurrence, susceptibility to antifungal agents and biofilm production capacity. *J Water Health.* 2021;19(5):724-35. <https://doi.org/10.2166/wh.2021.204>
9. Pires-Gonçalves RH, Sartori FG, Montanari LB, Zaia JE, Melhem MSC, Mendes-Giannini MJS et al. Occurrence of fungi in water used at a haemodialysis centre. *Lett Appl Microbiol.* 2008;46(5):542-7. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02349.x>
10. 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.* 2014;86(3):194-200. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.11.010>
11. Arvanitidou M, Spaia S, Velegraki A, Pazarloglou M, Kanetidis D, Pangidis P et al. High level of recovery of fungi from water and dialysate in haemodialysis units. *J Hosp Infect.* 2000;45(3):225-30. <https://doi.org/10.1053/jhin.2000.0763>
12. Varo SD, Martins CHG, Cardoso MJO, Sartori FG, Montanari LB, Pires-Gonçalves RH. Isolamento de fungos filamentosos em água de utilizada em uma unidade de hemodiálise. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(3):326-31. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000300015>



13. Nucci M, Akiti T, Barreiros G, Silveira F, Revankar SG, Wickes BL et al. Nosocomial outbreak of *Exophiala jeanselmei* fungemia associated with contamination of hospital water. *Clin Infect Dis*. 2002;34(11):1475-80. <https://doi.org/10.1086/340344>
14. Revankar SG, Sutton DA. Melanized fungi in human disease. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(4):884-928. <https://doi.org/10.1128/CMR.00019-10>
15. Pereira VJ, Marques R, Marques M, Benoliel MJ, Crespo MTB. Free chlorine inactivation of fungi in drinking water sources. *Water Res*. 2013;47(2):517-23. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.09.052>
16. Habschied K, Saric GK, Krstanovic V, Mastanjevic K. Mycotoxins-Biomonitoring and human exposure. *Toxins*. 2021;13(2):1-23. <https://doi.org/10.3390/toxins13020113>

Agradecimentos

Agradecemos aos gerentes dos centros de hemodiálise por sua permissão para realizar o estudo. Agradecemos também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro a este estudo.

Contribuição dos autores

Suzuki MN, Zagui GG, Segura-Muñoz S - Concepção, planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação e redação do trabalho. Machado CS, Reis AS, Machado GP, Meschede MSC, Santos DV, Martins CHG e Andrade LN - Análise, interpretação dos resultados e redação do trabalho. Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

Conflito de interesses

O autor declara não haver conflito de interesses.



Licença CC BY. Com essa licença os artigos são de acesso aberto que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.