

Nebulizadores e a Possibilidade de Transmissão de Microrganismos Superinfectantes e Oportunistas

Nebulizers and the possibility of transmission of superinfecting and opportunistic microorganisms

ELERSON GAETTI-JARDIM JUNIOR¹
ELLEN CRISTINA GAETTI-JARDIM²
CHRISTIANE MARIE SCHWEITZER³
ANA HELOÍSA GOMES⁴
KATHLENN LIEZBETH OLIVEIRA⁵
JORGIANA SANGALLI⁶
FÁTIMA REGINA NUNES DE SOUSA⁶

RESUMO

Objetivo: Avaliar por cultura e PCR a contaminação microbiana de nebulizadores utilizadas em clínicas particulares e públicas, bem como aparelhos de uso domiciliar e hospitalares. **Materiais e Métodos:** Foram coletadas amostras de máscaras, reservatórios e mangueiras de 50 nebulizadores, com auxílio de zaragatoas alginatadas, que eram transferidas para água peptonada e cultivadas após pré-enriquecimento em água peptonada ou caldo EVA. Após a obtenção de cultura pura fazia-se a identificação dos isolados através de testes fenotípicos. A presença dos principais microrganismos oportunistas foi avaliada por PCR utilizando-se de iniciadores e condições de amplificação específicos. **Resultados:** Os resultados demonstraram que não existe uma orientação adequada sobre como deve a contaminação dos dispositivos dos nebulizadores ser controlada, sendo que a frequência de microrganismos entéricos, estafilococos e pseudomonados foi bastante elevada, particularmente nas amostras obtidas de aparelhos descontaminados com etanol ou que apenas recebiam higiene mecânica. **Conclusão:** O estudo mostra que os nebulizadores, independentemente se âmbito hospitalar ou domiciliar, são possíveis vias de transmissão de patógenos associados com infecções resistentes a antimicrobianos e essas vias deve ser consideradas com maior ênfase na prevenção.

DESCRIPTORIOS

Contaminação de Equipamentos. Doenças Respiratórias. Infecções Oportunistas.

SUMMARY

Objective: Thus, this study evaluated by culture and PCR microbial contamination of nebulizers used in private and public clinics, as well as nebulizers for home and hospital use. **Material and Methods:** Samples were collected from masks, shells and cups of 50 nebulizers, using sterile swabs, which were transferred to peptone water and submitted to pre-enrichment in peptone water or EVA broth. After obtaining pure cultures, the identification of the isolates was performed by phenotypic tests. The presence of the main opportunistic microorganisms was also evaluated by PCR using specific primers and conditions. **Results:** The results showed that there is not proper guidance on how the microbial contamination of the devices of the nebulizers could be controlled, and the frequency of enteric organisms, staphylococci and pseudomonads was particularly high in samples of equipment decontaminated with ethanol or that only received mechanical hygiene. **Conclusion:** The study shown that the nebulizers, despite if their use is at home or at hospitals, they are possible routes of transmission of pathogens associated with infections resistant to antibiotics and these routes should be considered with greater emphasis on prevention.

DESCRIPTORS

Equipment Contamination. Respiratory Tract Diseases. Opportunistic Infections.

1 Professor Livre Docente Doutor do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da FOA-UNESP

2 Mestre em Estomatologia, pós-graduanda em Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

3 Profa. Dra, Universidade Federal do ABC-UFABC.

4 Professora do Curso de Fisioterapia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul

5 Graduada em Enfermagem e técnica de laboratório, FOA-UNESP

6 Aluna de pós-graduação de Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

A grande maioria dos pacientes que faz uso crônico de fisioterapia respiratória é portadora de doenças respiratórias degenerativas ou sofre de doenças associadas ao uso do tabaco, ou pelo menos agravado por esse fator (ROSENFELD *et al.*, 2001; ZUCKERMAN *et al.*, 2009). Além desse aspecto, muitos pacientes apresentam idade avançada e, geralmente, condições predisponentes para infecções respiratórias (ROSENFELD *et al.*, 2001), particularmente por pseudomonados e estafilococos multirresistentes (ZUCKERMAN *et al.*, 2009).

A fisioterapia respiratória, nesses pacientes, objetiva restabelecer as condições adequadas de trocas gasosas e a melhora da qualidade de vida, destacando-se o uso dos nebulizadores, tanto em ambiente domiciliar quanto ambulatorial. Entretanto, como esses dispositivos entram em contato com as secreções do sistema respiratório, além da contaminação microbiana de pele e mucosas, podem se converter em veículos de infecção cruzada (COBBEN *et al.*, 1996; BLAU *et al.*, 2007; ROTSTEIN *et al.*, 2008; SONG, 2008).

Poucos estudos abordam a contaminação presente nessas estruturas (COBBEN *et al.*, 1996; BLAU *et al.*, 2007), particularmente no Brasil, mas está claro que a relevância dessa contaminação é subestimada, tanto pela virulência dos microrganismos encontrados, quanto pela falta de conscientização dos profissionais de saúde a respeito dos mesmos, sendo que alguns microrganismos encontrados, como *Pseudomonas aeruginosa*, o complexo *Bukholderia cepacia* e bactérias entéricas, são responsáveis por numerosos casos de óbitos por infecções respiratórias (ROTSTEIN *et al.*, 2008; DEVRAJANI *et al.*, 2009; ZUCKERMAN *et al.*, 2009) e são reservatórios freqüentes de genes de resistência a antimicrobianos (GONÇALVES *et al.*, 2007; GAETTI-JARDIM JR. *et al.*, 2008; RAMOS *et al.*, 2009).

Nesse sentido, não se pode esquecer que as infecções respiratórias representam parcela significativa das infecções hospitalares (ROTSTEIN *et al.*, 2008; SONG, 2008) e microrganismos bucais e da mucosa nasal são, freqüentemente, responsáveis por pneumonias. Além desse aspecto, essa contaminação dos aparelhos utilizados é mais grave nos casos em que aerossóis são gerados (DOOLEY *et al.*, 1990). Alguns casos de contaminação cruzada, com o envolvimento de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (COBBEN *et al.*, 1996; SONG *et al.*, 2008) e bactérias entéricas (SONG, 2008), por vezes provocando surtos epidêmicos que somente foram controlados quando a esterilização entre pacientes passou a ser realizada entre pacientes (COBBEN *et al.*, 1996), são

relatados e constituem alertas sobre o que pode estar acontecendo no presente meio.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar por cultura e PCR a presença de microrganismos oportunistas e superinfetantes em nebulizadores de clínicas particulares e públicas, além de aparelhos domiciliares e hospitalares, correlacionando com os protocolos de controle de infecção seguidos pelas instituições e indivíduos envolvidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Nebulizadores

Espécimes clínicos foram coletados de 50 nebulizadores. Previamente à coleta dos espécimes, realizava-se questionário objetivando avaliar as condições, manutenção e descontaminação a que os aparelhos eram submetidos, para tanto o Comitê de Ética em Pesquisa foi enviado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e aprovado sob o número 2007-01559. Para a coleta das amostras, zaragatoas esterilizadas, umedecidas em água peptonada, eram friccionadas sobre a superfície interna e externa das máscaras dos aparelhos. O mesmo foi realizado para os reservatórios dos nebulizadores, enquanto as mangueiras eram banhadas com água peptonada, por 1 min., e o líquido era transferido para frascos estéreis. Os espécimes clínicos eram, então, transportados em gelo para o laboratório de Microbiologia e Imunologia da FOA-UNESP, onde eram submetidos a cultura e detecção dos principais microrganismos por PCR.

Quando se tinha a informação de que o nebulizador havia recebido desinfecção, o desinfetante era neutralizado com auxílio de tiosulfato de sódio (0,5%) e esse composto substituíva a água peptonada no transporte ao laboratório, onde inicialmente realizava-se o pre-enriquecimento, como descrito a seguir.

Determinação da contaminação microbiana por cultura

Os espécimes clínicos foram inoculados em água peptonada e em caldo azida etil violeta (caldo EVA, Difco) e incubados a 37°C, por 3 dias. Em seguida, a partir de crescimento bacteriano observado em água peptonada, alíquotas de 0,1 ml foram transferidas para ágar eosina azul de metileno, Salmonella Shigella (ágar SS), ágar MacConkey e ágar Verde Brilhante. A partir de tubos contendo caldo EVA, 0,1 ml foi transferido para ágar bile esculina. As placas foram incubadas em aerobiose, a 37°C, por 48 h (GAETTI-JARDIM JR *et al.*,

2008). A seguir, obtinha-se a cultura pura dos isolados e realizava-se a identificação dos mesmos, de acordo com as suas características coloniais, morfoceculares (coloração de Gram), crescimento em ágar contendo cloreto de sódio (10%), produção de gás a partir da glicose e testes bioquímicos utilizando os “kits” comerciais API-20E, API20 Strep e API Staph (bioMérieux SA, Marcy-l’Étoile, França).

Amostras do nebulizadores também eram cultivadas em placas contendo ágar infuso de cérebro e coração acrescido de extrato de levedura (0,5%) e sangue desfibrinado de cavalo (5%), em aerobiose, a 37°C, para determinação do número total de microrganismos heterotróficos nas máscaras, mangueiras, e reservatórios dos nebulizadores.

Determinação da presença dos principais microrganismos superinfectantes por PCR

O DNA das amostras clínicas foi extraído através do “kit” QIAamp DNA (QIAGEN, Hilden, Alemanha), segundo as recomendações dos fabricantes. As concentrações de DNA bacterianos são determinadas em espectrofotômetro (Beckman, Modelo DU-640), com leitura da absorbância ($A_{260\text{ nm}}$).

A detecção de *Enterococcus* spp., *E. faecalis* (FOSCHI *et al.*, 2005), *E. faecium* (CHENG *et al.*, 1997), *Pseudomonas* sp., *P. aeruginosa* (SPILKER *et al.*, 2004), *Staphylococcus* spp. (MARTINEAU *et al.*, 2001) e *Enterobacteriaceae* (FENOLLAR *et al.*, 2006) foi realizada através de PCR convencional. A seqüência dos iniciadores e a temperatura de anelamento são apresentadas na Tabela 1.

A amplificação do DNA foi realizada em volumes de 25 ml, contendo 2,5 ml de 10 X tampão PCR, 1,25 ml de $MgCl_2$ (50 mM), 2,0 ml de dNTP (10 mM), 0,25 ml de *Taq* DNA polimerase (0,5 U), 1,0 ml de cada iniciador (0,4 mM), 7 ml de água ultrapura Milli-Q esterilizada e 10 ml de DNA (ng). A amplificação era realizada em aparelho de PCR (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400) programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 30 a 36 ciclos de 94°C (1 min.), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que variou de 30s. a 2 min., 72°C (1 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA em amplificação.

Em todas as reações foram utilizadas, como controle positivo, DNA de cepas de referência dos microrganismos estudados. Os produtos da amplificação pelo PCR eram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5 mg/ml) e fotografados sobre transiluminador de luz UV, com câmara Kodak (Eletrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular foi utilizado o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

Análise Estatística

As diferenças na prevalência e participação dos microrganismos estudados nas peças dos nebulizadores foram analisadas através do Z-teste, com nível de significância de 5%. O teste de Qui-Quadrado foi empregado, juntamente com o teste de Mann-Whitney e teste exato de Fisher para avaliar a significância de possíveis associações dicotômicas entre a presença dos microrganismos alvo e as condições de biossegurança do equipamento. A análise foi realizada no Centro de Matemática, Computação e Cognição da UFABC.

Tabela 1. Iniciadores específicos utilizados nos ensaios de PCR convencional.

Iniciadores específicos	Oligonucleotídeos	Temperatura de anelamento
Universal	5'-CCG AAA ACG TTG ATT CAA G-3' 5'-CGT GTT ACC CGG ATG GTA -3'	58°C
<i>Enterobacteriaceae</i>	5'-AAC CAG TTC CGC GTT GGC CTG G-3' 5'-CCT GAA CAA CAC GCT CGG A-3'	50°C
<i>Enterococcus</i> sp.	5'- TAC TGA CAA ACC ATT CAT GAT G-3' 5'- AAC TTC GTC ACC AAC GCG AAC -3'	55°C
<i>E. faecalis</i>	5'- ATCAAGTACAGTTAGTCT-3' 5'- ACGATTCAAAGCTAACTG-3'	47°C
<i>E. faecium</i>	5'-TTG AGG CAG ACC AGA TTG ACG-3' 5'-TAT GAC AGC GAC TCC GAT TCC-3'	50°C
<i>Staphylococcus</i> sp.	5'-GGC CGT GTT GAA CGT GGT CAAATC A-3' 5'-TIA CCA TTT CAG TAC CTT CTG GTAA-	50°C
<i>Pseudomonas</i> sp.	5'- GAC GGG TGA GTAATG CCT A-3' 5'- CACTGG TGT TCC TTC CTA TA-3'	54°C
<i>P. aeruginosa</i>	5'-GGG GGA TCT TCG GAC CTC A-3' 5'-TCC TTA GAG TGC CCA CCC G-3'	58°C

RESULTADOS

A maioria dos nebulizadores estudados era de uso hospitalar (54%), seguida pelos de uso doméstico (30%) e de clínicas particulares (10%) ou públicas (6%). Quanto aos protocolos de desinfecção ou esterilização, verificou-se que apenas 8% dos aparelhos (máscaras, reservatórios e mangueiras), todos oriundos de ambiente hospitalar, eram esterilizados entre o uso de um para outro paciente. A maioria dos aparelhos de uso domiciliar somente recebeu limpeza semanal ou mensal com água e sabão, enquanto os de uso hospitalar e de clínicas públicas e privadas eram higienizados com água e sabão e descontaminados com álcool (etanol 70% v/v) por fricção, embora o tempo de fricção não tenha sido uniforme, variando de 30 s. a 1 minuto. Três aparelhos eram descontaminados com hipoclorito de sódio a 1% e outros dois com hipoclorito de sódio a 2,5%. Os dados completos estão apresentados na Tabela 2.

A figura 1 traz os dados obtidos com cultura, enquanto a figura 2 apresenta os dados obtidos com o PCR. Os resultados mostram que as estruturas mais freqüentemente contaminadas dos nebulizadores são as máscaras, as quais apresentam *Staphylococcus* sp., enterococos e *P. aeruginosa* com freqüência. Pôde-se verificar que a probabilidade de uma máscara se mostrar contaminada por algum dos microrganismos alvo é, geralmente, duas vezes maior do que observada para as demais partes do nebulizador.

Os enterococos, estafilococos e pseudomonados foram mais relevantes nos nebulizadores do que os bastonetes Gram-negativos da família *Enterobacteriaceae*, particularmente porque, entre esses

microrganismos, a contaminação recaiu sobre espécies sabidamente patogênicas como *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, enquanto na família *Enterobacteriaceae* muitas espécies foram identificadas e a maioria das mesmas não é notadamente patogênica, embora seja oportunista.

Com relação à influência de protocolos de descontaminação sobre a ocorrência de microrganismos alvo, verificou-se que a presença de pseudomonados (teste de Mann-Whitney, $p=0,028$) e enterococos (teste de Mann-Whitney, $p=0,021$) foi mais elevada em aparelhos submetidos à desinfecção com etanol, enquanto os bastonetes Gram-negativos da família *Enterobacteriaceae* foram mais freqüentes em aparelhos que não receberam nenhum tipo de descontaminação ou apenas foram higienizados com água e sabão ou similares (teste de Mann-Whitney, $p=0,037$). Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de contaminação médios entre os nebulizadores de clínicas públicas ou privadas, bem como hospitalares, mas esses foram significativamente menores do que o observado nos nebulizadores domiciliares. Por outro lado, a ocorrência dos patógenos superinfetantes avaliada aqui, não mostrou diferenças significativas de prevalência, com exceção da maior ocorrência de *Enterobacteriaceae* nos nebulizadores que não recebiam desinfecção.

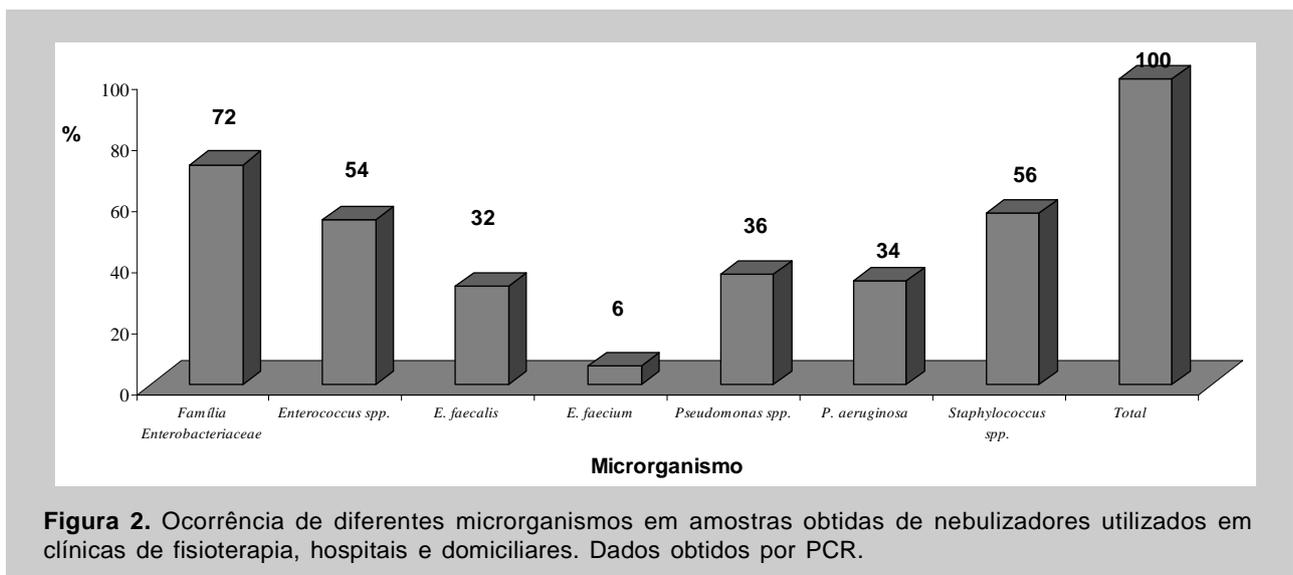
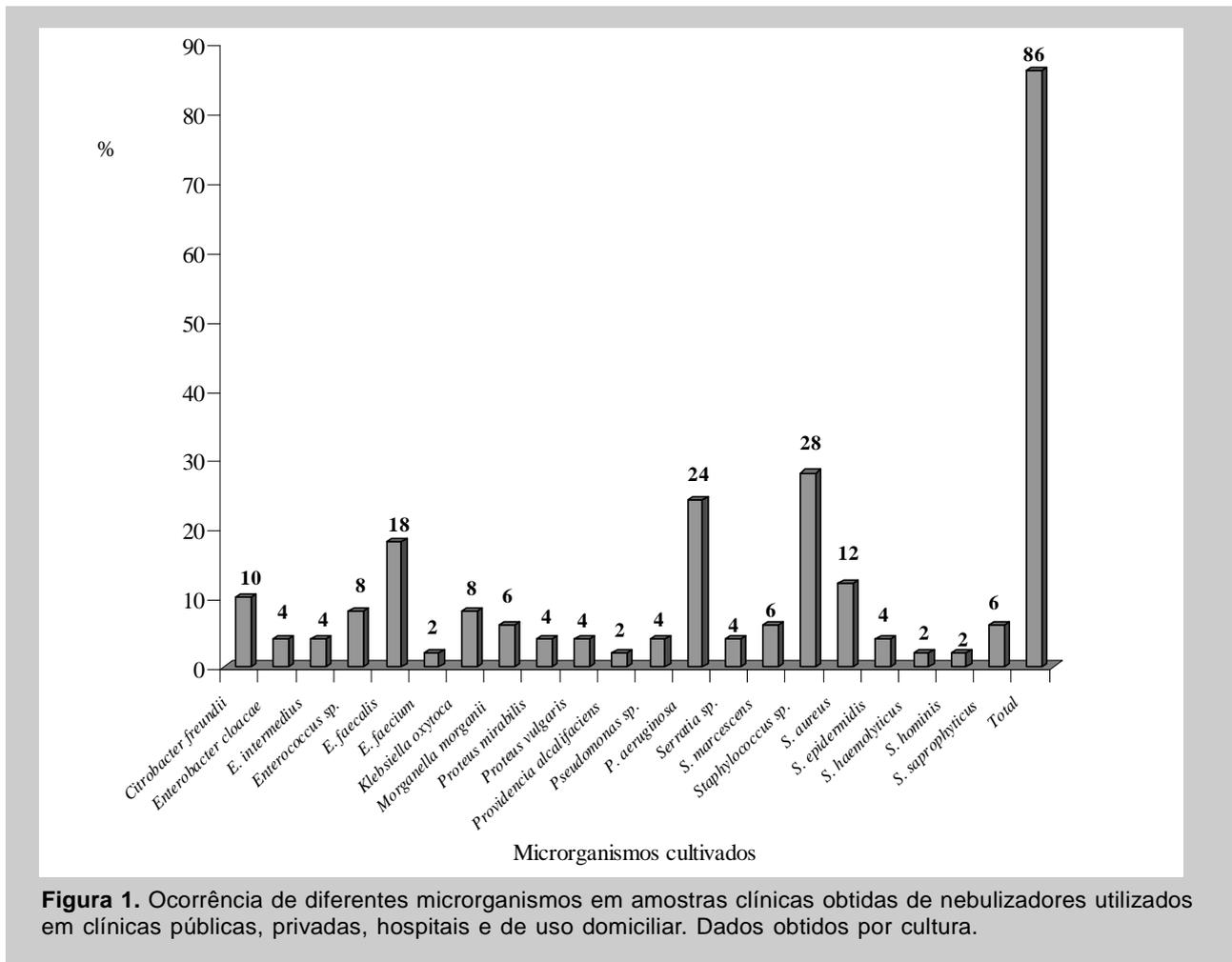
A detecção de microrganismos alvo por PCR evidenciou uma sensibilidade superior à observada na cultura, entretanto, essa diferença não foi significativa para a maioria dos microrganismos. Os resultados obtidos por cultura foram confirmados com o método molecular (Figura 2).

Tabela 2. Métodos utilizados na descontaminação dos nebulizadores e contaminação heterotrófica das amostras.

Método de descontaminação	Origem do Nebulizador			
	Domiciliar (N=15)	Clín. Particular ¹ (N=5)	Clín. Pública ² (N=3)	Hospital (N=27)
Só sabão e água	10 (66,7)*	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Esterilização**	0 (0,0)	4 (80,0)	0 (0,0)	4 (14,8)
Etanol 70% v/v**	3 (20,0)	1 (20,0)	3 (100,0)	19 (70,4)
NaOCl 1% **	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,4)
NaOCl 2,5% **	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,4)
Nenhum	2 (13,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Contaminação média(UFC/amostra)	$8,7 \times 10^4$	$4,68 \times 10^3$	$5,1 \times 10^3$	$9,1 \times 10^2$

¹ Clínicas particulares ou privadas
* N(%)

² Clínicas públicas
** Métodos associados à realização de limpeza mecânica prévia



DISCUSSÃO

A inalação de secreções contaminadas constitui sério risco a saúde de pacientes que necessitam do uso de nebulizadores e é pouco relevante em que parte do nebulizador a contaminação se encontra, visto que, em função da pressão do ar e da formação de aerossóis, a contaminação do reservatório, mangueira e da máscara interagem e são continuamente permutadas. Recentemente muita atenção tem sido dada à presença de patógenos oportunistas em nebulizadores de uso domiciliar e ambulatorial, sendo que a possibilidade desses aparelhos de se converterem em veículos de infecção cruzada foi levantada para usuários crônicos (ROSENFELD *et al.*, 2001; BLAU *et al.*, 2007; WOODHOUSE *et al.*, 2008).

Entretanto, fica claro que a preocupação maior se dá com os nebulizadores de uso domiciliar, visto que o equipamento de uso ambulatorial está sujeito, ou pelo menos deveria estar, a um maior controle de contaminação por se tratar de material crítico ou semi-crítico, dependendo das condições dos usuários, sendo causa freqüente de pneumonias adquiridas em hospitais, pela contaminação que carregam (ROSENFELD *et al.*, 2001).

Nas amostras colhidas, embora o equipamento de uso domiciliar tenha mostrado maior contaminação heterotrófica, a microbiota superinfectante cultivada ou detectada por PCR mostra que as condições de uso desses aparelhos também são bastante precárias, mesmo em ambiente hospitalar. Nesse sentido, deve-se ressaltar o fato de que, em função da grande sensibilidade do PCR, mesmo as amostras esterilizadas pareciam albergar microrganismos e isso pode ser fruto de um artefato de técnica já que o método molecular simplesmente detecta a presença do DNA do microrganismo alvo, não podendo discriminar entre um microrganismo que perdeu a viabilidade celular, mas cujo DNA ainda está em condições de ser amplificado, de um microrganismo viável e que pode se multiplicar em um paciente imunodeprimido ou com grande predisposição às doenças respiratórias, como os portadores de fibrose cística.

Nesse sentido, não se pode eliminar a possibilidade de que essas amostras esterilizadas tenham sido contaminadas no manuseio do material (O'MALLEY *et al.*, 2007), previamente à coleta dos espécimes, visto que o ambiente hospitalar e de clínicas públicas e particulares é bastante contaminado e os próprios funcionários e pacientes podem se converter em portadores assintomáticos desses microrganismos (ZUCKERMAN *et al.*, 2009), de forma que a melhora

das condições de higiene e esterilização dos materiais após o uso constituem a melhor estratégia para minimizar a transmissão desses patógenos (COBBEN *et al.*, 1996; DEVRAJANI *et al.*, 2009).

Os dados do presente estudo sugerem que, embora a higiene mecânica seja capaz de reduzir significativamente a contaminação microbiana, como também observado por COHEN *et al.*, (2006), apenas essa limpeza mecânica é insuficiente para reduzir significativamente a presença de patógenos oportunistas. Assim, patógenos pouco exigentes, como os membros da família *Enterobacteriaceae* (DEVRAJANI *et al.*, 2009), mas principalmente *S. aureus* e *P. aeruginosa* (COHEN *et al.*, 2006), podem se manter viáveis degradando apenas resíduos presentes na máscara e outras peças do aparelho, sendo que a origem desses microrganismos pode ser variada, desde água (WOODHOUSE *et al.*, 2008), pele (KÖHLER, 2007; BEN ZAKOUR *et al.*, 2008), até a própria cavidade bucal, onde próteses totais (DANILUK *et al.*, 2006) e parciais albergam grande quantidade desses patógenos, principalmente no biofilme dental (GONÇALVES *et al.*, 2007; GAETTI-JARDIM *et al.*, 2008).

Os resultados do presente estudo deixam evidente que os cuidados adotados no controle dos nebulizadores não são adequados, tampouco condizentes com os sérios riscos à saúde representados pelos microrganismos isolados ou detectados, os quais estão entre as principais causas de óbitos entre pacientes internados em unidades de terapia intensiva, entre outros, sendo que a possibilidade do uso de antimicrobianos nessas enfermidades infecciosas é bastante restrita (MACHADO *et al.*, 2008, SIEGEL, 2008).

Avaliar presença desses microrganismos é importante porque os mesmos estão entre os principais patógenos hospitalares, com notável resistência a maioria das drogas antimicrobianas (MACHADO *et al.*, 2008; SIEGEL, 2008; BEN ZAKOUR *et al.*, 2008). Até algumas espécies consideradas menos virulentas, como *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, são patógenos oportunistas de difícil erradicação do ambiente hospitalar e causa comum de óbitos em pacientes debilitados (ZIEBUHR *et al.*, 1999, DEVRAJANI *et al.*, 2009).

A ocorrência de infecções respiratórias adquiridas nos hospitais ou em outros ambientes clínicos é considerada um importante problema no Brasil e em outras partes do mundo, devido às condições clínicas de seus pacientes, destacando-se o gênero *Staphylococcus* como agente de infecções respiratórias oportunistas (EGGIMANN, PITTET, 2000), além de

membros da família *Enterobacteriaceae* (DANILUK *et al.*, 2006). Outros cocos, como os membros do gênero *Enterococcus*, são causa de infecções urinárias e intra-abdominais, endocardite e septicemia, comportando-se, muitas vezes, como um agente oportunista em infecções hospitalares (KÖHLER, 2007). Os enterococos podem ser causa de pelo menos 10% das infecções hospitalares e em algumas casuísticas se situam em terceiro lugar como causa destas infecções, após *E. coli* e *S. aureus*. As principais espécies causadoras de infecção no homem são *E. faecalis* e *E. faecium*, que apresentam resistência natural a diversos antimicrobianos (RICE *et al.*, 2004; MACAULEY *et al.*, 2007).

A microbiota apresentada nas figuras 1 e 2 se mostra mais complexa do que a observada por BLAU *et al.*, (2007); COHEN *et al.*, (2006); DEVRAJANI *et al.*, (2009), sendo que, ao contrário de BLAU *et al.*, (2007), no presente estudo, a máscara facial se apresentou como a área mais contaminada. A ocorrência de *P. aeruginosa*, por outro lado, foi bastante similar à reportada por COHEN *et al.*, (2006) e se mostrou particularmente elevada. Dessa forma, a participação dos principais

microrganismos observada no presente estudo também foi descrita em estudos internacionais (BLAU *et al.*, 2007; COHEN *et al.*, 2006), mesmo que em nenhum deles um conjunto tão grande e significativo de patógenos tenha sido estudado.

COMENTÁRIOS

Os resultados demonstraram que não existe uma orientação adequada sobre como deve ser a descontaminação dos dispositivos dos nebulizadores, sendo que a frequência de microrganismos entéricos, estafilococos e pseudomonados foi bastante elevada, particularmente nas amostras obtidas de aparelhos descontaminados com etanol ou que apenas recebiam higiene mecânica, demonstrando que o uso de nebulizadores, independentemente se realizado no âmbito hospitalar ou domiciliar, é uma possível via de transmissão de patógenos associados com infecções respiratórias e sistêmicas graves.

REFERÊNCIAS

- BEN ZAKOUR NL, GUINANE CM, FITZGERALD JR. Pathogenomics of the staphylococci: insights into niche adaptation and the emergence of new virulent strains. *FEMS Microbiol Lett*, 289 (1): 1-12, 2008.
- BLAU H, MUSSAFFI H, MEI ZAHAV M, PRAIS D, LIVNE M, CZITRON BM *et al.*. Microbial contamination of nebulizers in the home treatment of cystic fibrosis. *Child Care health Dev*, 33 (4): 491-495, 2007.
- CHENG S, MCCLESKEY FK, GRESS MJ, PETROZIELLO JM, LIU R, NAMDARI H *et al.*. A PCR assay for identification of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol*, 35 (5): 1248-50, 1997.
- COBBEN NA, DRENT M, JONKERS M, WOUTERS EF, VANEECHOUTTE M, STOBBERINGH EE. Outbreak of severe *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infections due to contaminated nebulizers. *J Hosp Infect*, 33 (1): 63-70, 1996.
- COHEN HA, KAHAN E, COHEN Z, SARRELL M, BENI S, GROSMAN Z *et al.*. Microbial colonization of nebulizers used by asthmatic children. *Pediatr Int*, 48 (5): 454-8, 2006.
- DANILUK T, FIEDORUK K, SCIEPUK M, ZAREMBA ML, ROZKIEWICZ D, CYLWIK-ROKICKA D *et al.*. Aerobic bacteria in the oral cavity of patients with removable dentures. *Adv Med Sci*, 51 (Suppl 1): 86-90, 2006.
- DEVRAJANI BR, SHAH SZ, DEVRAJANI T, ALI QURESHI G. Nosocomial infections in medical ward (Four months descriptive study in a tertiary care hospital). *World J Med Sci*, 4 (1): 13-17, 2009.
- DOOLEY SW JR, CASTRO KG, HUTTON MD, MULLAN RJ, POLDER JA, SNIDER DE JR. Guidelines for preventing the transmission of tuberculosis in health-care settings with special focus on HIV-related issues. *MMWR Recomm Rep*, 7; 39(RR-17):1-29, 1990.
- EGGIMANN P, PITTET D. Catheter-related infections in intensive care units: an overview with special emphasis on prevention. *Adv Sepsis* 1: 2-15, 2000.
- FENOLLAR F, ROUX V, STEIN A, DRANCOURT M, RAOULT D. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections. *J Clin Microbiol*, 44 (3): 1018-28, 2006.
- FOSCHI F, CAVRINI F, MONTEBUGNOLI L, STASHENKO P, SAMBRI V, PRATI C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol*, 20 (5): 289-95, 2005.
- GAETTI-JARDIM JÚNIOR E, NAKANO V, WAHASUGUI TC, CABRAL FC, GAMBÁ R, AVILA-CAMPOS MJ. Occurrence of yeasts, enterococci and other enteric bacteria in subgingival biofilm of hiv-positive patients with chronic gingivitis and necrotizing periodontitis. *Braz J. Microbiol* 39 (2): 257-261, 2008.
- GONÇALVES MO, COUTINHO-FILHO WP, PIMENTA FP, PEREIRA GA, PEREIRA JA, MATTOS-GUARALDI AL *et al.*. Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. *Lett Appl Microbiol*, 44 (5): 488-94, 2007.
- GOULD D. Nurses' hands as vectors of hospital-acquired infection: a review. *J Adv Nurs*, 16 (10): 1216-25, 1991.

15. KÖHLER W. The present state of species within the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Int J Med Microbiol*, 297 (3): 133-50, 2007.
16. MACAULEY JJ, ADAMS CD, MORMILE MR. Diversity of *tet* resistance genes in tetracycline resistant bacteria isolated from a swine lagoon with low antibiotic impact. *Can J Microbiol*, 53 (12): 1307-1315, 2007.
17. MACHADO E, COQUE TM, CANTÓN R, SOUSA JC, PEIXE L. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* isolates recovered from chickens and swine in Portugal. *J. Antimicrob Chemother*, 62 (2): 296-302, 2008.
18. MARTINEAU F, PICARD FJ, KE D, PARADIS S, ROY PH, OUELLETTE M *et al.*. Development of a PCR assay for identification of staphylococci at genus and species levels. *J Clin Microbiol*, 39 (7): 2541-7, 2001.
19. O'MALLEY CA, VANDENBRANDEN SL, ZHENG XT, POLITO AM, MCCOLLEY SA. A day in the life of a nebulizer: surveillance for bacterial growth in nebulizer equipment of children with cystic fibrosis in the hospital setting. *Respir Care*, 52 (3): 258-62, 2007.
20. RAMOS MMB, GAETTI-JARDIM EC, GAETTI-JARDIM JR E. Resistance to tetracycline and β -lactams and distribution of resistance markers in enteric microorganisms and pseudomonads isolated from oral cavity. *J Appl Oral Sci*, NO PRELO.
21. **RICE LB, BELLAIS S, CARIAS LL, HUTTON-THOMAS R, BONOMO RA, CASPERS P *et al.***. Impact of specific *pbp5* mutations on expression of β -lactam resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*, 48 (8): 3028-3032, 2004.
22. ROSENFELD M, JOY P, NGUYEN CD, KRZEWINSKI J, BURNS JL. Cleaning home nebulizers used by patients with cystic fibrosis: is rinsing with tap water enough? *J Hosp Infect*, 49 (3): 229-30, 2001.
23. ROTSTEIN C, EVANS G, BORNA, GROSSMAN R, LIGHT RB, MAGDER S *et al.*. Clinical practice guidelines for hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 19 (1):19-53, 2008.
24. SIEGEL RE. Emerging Gram-negative antibiotic resistance: daunting challenges, declining sensitivities, and dire consequences. *Respir Care*, 53 (4): 471-9, 2008.
25. SONG JH. Treatment recommendations of hospital-acquired pneumonia in Asian countries: first consensus report by the Asian HAP Working Group. *Am J Infect Control*, 36 (4 Suppl): S83-92, 2008.
26. SPILKER T, COENYE T, VANDAMME P, LIPUMA JJ. PCR-based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*, 42 (5): 2074-9, 2004.
27. WOODHOUSE R, PECKHAM DG, CONWAY SP, DENTON M. Water filters can prevent *Stenotrophomonas maltophilia* contamination of nebuliser equipment used by people with cystic fibrosis. *J Hosp Infect*, 68 (4): 371-372, 2008.
28. ZIEBUHR W, KRIMMER V, RACHID S, LÖSSNER I, GÖTZ F, HACKER J. A novel mechanism of phase variation of virulence in *Staphylococcus epidermidis*: evidence for control of the polysaccharide intercellular adhesion synthesis by alternating insertion and excision of the insertion sequence element IS256. *Mol Microbiol*, 32 (2): 345-56, 1999.
29. ZUCKERMAN JB, ZUARO DE, PRATO BS, RUOFF KL, SAWICKI RW, QUINTON HB *et al.*. Bacterial contamination of cystic fibrosis clinics. *J Cyst Fibros*, 8 (3): 186-92, 2009.

CORRESPONDÊNCIA

Elerson Gaetti-Jardim Júnior
R. José Bonifácio 1193
16015-050, Araçatuba – São Paulo – Brazil

E-mail
egaettij@foa.unesp.br ou gaettijardim@gmail.com