



Contaminação microbiológica de nebulizadores usados por pacientes com fibrose cística: um problema subestimado

Barbara Riquena^{1,a}, Luciana de Freitas Velloso Monte^{2,b}, Agnaldo José Lopes^{3,c}, Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva-Filho^{4,5,d}, Neiva Damaceno^{6,e}, Evanirso da Silva Aquino^{7,f}, Paulo Jose Cauduro Marostica^{8,9,g}, José Dirceu Ribeiro^{10,h}

1. Novartis Biociências S.A. Brasil, São Paulo (SP), Brasil.
 2. Hospital da Criança de Brasília José Alencar, Brasília (DF), Brasil.
 3. Departamento de Pneumologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, (RJ), Brasil.
 4. Unidade de Pneumologia, Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil.
 5. Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo (SP), Brasil.
 6. Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil
 7. Associação Mineira de Assistência a Mucoviscidose – AMAM, Belo Horizonte (MG), Brasil.
 8. Hospital de Clínicas, Porto Alegre (RS), Brasil.
 9. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), Brasil.
 10. Laboratório de Fisiologia Pulmonar, Centro de Investigação em Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP), Brasil
- a. <http://orcid.org/0000-0003-4145-9945>
b. <http://orcid.org/0000-0001-5595-351X>
c. <http://orcid.org/0000-0001-8598-4878>
d. <http://orcid.org/0000-0001-8431-1997>
e. <http://orcid.org/0000-0001-5284-3585>
f. <http://orcid.org/0000-0001-5670-0434>
g. <http://orcid.org/0000-0003-0252-7570>
h. <http://orcid.org/0000-0002-3387-5642>

RESUMO

Objetivo: Nebulizadores caseiros são usados rotineiramente no tratamento de pacientes com fibrose cística (FC). Este estudo objetiva avaliar a contaminação de nebulizadores utilizados por pacientes de FC que estão cronicamente colonizados por *Pseudomonas aeruginosa* e a associação da contaminação do nebulizador com a higienização, esterilização e método de secagem. **Métodos:** Um estudo transversal, observacional, multicêntrico foi conduzido em sete centros de referência de FC no Brasil para obter dados de registros médicos; foram feitas entrevistas estruturadas com os pacientes/cuidadores e partes de nebulizadores (máscara e copo) foram coletados para cultura microbiológica. **Resultados:** No geral, 77 pacientes com FC foram incluídos. A frequência da contaminação do nebulizador foi de 71,6%. *Candida* spp. (52,9%), *Stenotrophomonas maltophilia* (11,9%), *P. aeruginosa* não mucoide (4,8%), *Staphylococcus aureus* (4,8%) e complexo *Burkholderia cepacia* (2,4%) foram os patógenos isolados mais comuns. A frequência de higienização dos nebulizadores foi de 97,4%, e 70,3% dos pacientes relata higienização, esterilização e secagem dos aparelhos. A lavagem com água da torneira e secagem das partes no tempo, em espaço aberto, aumentou significativamente (9 a 10 vezes) a chance de contaminação dos nebulizadores. **Conclusões:** Apesar dos relatos de frequente higienização dos nebulizadores, os métodos de limpeza e esterilização usados eram inadequados. Uma proporção significativa de nebulizadores foi contaminada com microrganismos potencialmente patogênicos para pacientes com FC. Estes resultados apoiam a necessidade de inclusão dos pacientes/cuidadores em programas educacionais e/ou novas estratégias para fornecimento de antibióticos inalatórios.

Descritores: Fibrose cística; *Pseudomonas aeruginosa*; Nebulizadores e vaporizadores; Contaminação de equipamento; Esterilização.

Recebido: 27 outubro 2017

Aceito: 23 setembro 2018

Trabalho realizado na Novartis Biociências S.A., São Paulo (SP), Brasil.

INTRODUÇÃO

Fibrose Cística (FC) é uma doença recessiva autossomal, que afeta predominantemente pessoas caucasianas e é potencialmente fatal.^(1,2) Estimativa de incidência no Brasil varia através do país, de 1/1,587 a 1/32,258 nascidos vivos.⁽³⁾ As infecções respiratórias crônicas são a principal causa de morte entre esses pacientes e *Pseudomonas aeruginosa* é o patógeno mais frequentemente associado à deterioração clínica.⁽⁴⁾

Os nebulizadores domésticos são amplamente utilizados por pacientes com FC como parte de seu tratamento para administrar mucolíticos e antibióticos diretamente nos pulmões.^(5,6) Estudos epidemiológicos relatam o uso do tratamento inalatório entre 35,8% a 82,1% dos pacientes com FC, dependendo do tipo de medicação.⁽⁷⁾ Diversos estudos que avaliaram a contaminação do equipamento e a frequência de pelo menos um patógeno, relataram uma alta taxa de contaminação por nebulização, em

Correspondência para:

Barbara Riquena. Novartis Pharma Brasil, Av. Prof. Vicente Rao, 90, Brooklin, CEP 04636-000, São Paulo, SP, Brasil.

Tel.: +55 11 5532-4552. E-mail: publicacao.brasil@novartis.com

Apoio financeiro: Novartis Biociências SA.

torno de 60%.⁽⁸⁻¹⁴⁾ O uso de nebulizadores domésticos foi associado com uma chance 28,5 vezes maior de contaminação bacteriana.⁽¹⁵⁾ Nebulizadores podem ser a principal fonte de colonização para alguns pacientes,⁽¹⁴⁾ já que as instruções de limpeza não são seguidas adequadamente.⁽¹⁰⁾ Portanto, ao invés de agir como uma ferramenta auxiliar para o tratamento da FC, os nebulizadores podem se tornar um dispositivo prejudicial se não forem conduzidos adequadamente.

Diretrizes internacionais e, recentemente, a diretriz brasileira sobre FC reforçam a importância do cuidado adequado com nebulizadores.^(16,17) Diferenças culturais, socioeconômicas e até mesmo climáticas podem interferir na qualidade do cuidado com nebulizadores e, consequentemente, na contaminação deste.^(12,14) Desta forma, o conhecimento das particularidades regionais é essencial, uma vez que poucos estudos sobre o perfil de contaminação dos nebulizadores domiciliares estão disponíveis nos países em desenvolvimento, principalmente no Brasil. Este estudo objetiva analisar a contaminação de nebulizadores usados por pacientes com FC, cronicamente colonizados por *P. aeruginosa* e sua associação com higienização, esterilização e método de secagem.

MÉTODOS

Aprovação de ética

O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética independentes de cada área participante. O consentimento informado (para os menores de 18 anos) foi assinado para cada paciente antes de qualquer procedimento do estudo.

Planejamento do estudo

Um estudo transversal, observacional, multicêntrico foi realizado em sete centros de referência brasileiros para FC. Coleta de dados foi feita de Janeiro de 2013 a Dezembro de 2014. Os dados foram obtidos de três formas (amostras de nebulizadores, registros médicos e entrevistas). Foi pedido aos pacientes que levassem seus nebulizadores às consultas de rotina. Neste ponto, eles não sabiam da coleta de amostras para evitar um viés de informação causado por limpeza excepcional do equipamento. Amostras para cultura foram coletadas da máscara e do copo para avaliar a contaminação dos nebulizadores. Os registros médicos foram revisados para coleção de dados como diagnóstico, escore de Shwachman-Kulczycki, função pulmonar, idade, gênero, etnia e índice de massa corporal (IMC) do paciente. Durante uma entrevista estruturada cara-a-cara, o paciente/cuidador (dependendo de quem era responsável pela limpeza do equipamento) respondia questões relacionadas à rotina de higienização, uso do nebulizador e sobre características sociodemográficas. Para este estudo, o processo de higienização considerado tinha os seguintes passos: higienização, esterilização e secagem.

Critério de elegibilidade

Os pacientes elegíveis foram os com 6 anos ou mais; diagnosticados com FC confirmada pelo teste de cloro

no suor acima de 60 mEq/dl ou evidência de ao menos duas mutações causadas pela FC e em terapia com antibióticos inalatórios devido à colonização crônica das vias aéreas por *P. aeruginosa*. Os pacientes deveriam estar usando nebulizador da marca PARI® e compressor PRONEB® por pelo menos 3 meses. Foram excluídos pacientes que usassem o nebulizador para terapia de antibióticos inalatórios por menos de 30 dias; que compartilhassem o nebulizador com outras pessoas; que tivessem participado de um estudo semelhante nos últimos 12 meses ou estivessem participando de outro estudo.

Coleta de amostras e testes laboratoriais

A avaliação do nebulizador foi realizada entre o dia 21 e o dia 28 do período de inibição da terapia de antibióticos inalatórios. As amostras foram coletadas usando técnica asséptica descrita no manual do laboratório e enviadas em meio de cultura Amies, que é um líquido utilizado para manter a viabilidade de microrganismos durante o transporte.⁽¹⁸⁾ As amostras foram enviadas para um laboratório central e analisadas quanto à presença de patógenos de FC, como *P. aeruginosa* (cepas mucoides e não mucoides), complexo *B. cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus aureus* (sensível e resistente à metilicina), *Acinetobacter* sp. *Chromobacter* sp. e fungo. Os meios de cultura utilizados para isolamento de bactérias foram ágar sangue⁽¹⁹⁾ e ágar seletivo para o complexo *B. cepacia*.⁽²⁰⁾ A identificação bacteriana foi realizada em Vitek 2 ou espectrometria de massa (Vitek MS), ambos sistemas automatizados.⁽²¹⁻²³⁾ O teste de sensibilidade aos antibióticos foi realizado no Vitek 2, usando uma confirmação manual quando aplicável de acordo com as diretrizes do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais. Os meios de cultura utilizados para isolar os fungos foram ágar sabouraud e ágar mycosel. Estes meios de cultura foram usados anteriormente em FC.^(24,25) Bacilos Gram-negativos não fermentadores não identificados nos meios de cultura foram analisados e identificados através de biologia molecular.⁽²⁶⁾

Análise estatística

Considerando o risco de contaminação de 63%¹², uma amostra de 80 pacientes forneceria um intervalo de confiança de 95% (IC) com uma margem de erro de $\pm 10,5\%$ para avaliar o desfecho primário do estudo. Entretanto, devido às dificuldades de recrutamento, o estudo foi interrompido com 77 pacientes, que forneceram IC 95% com margem de erro de $\pm 10,7\%$ (ainda menor que o estudo de referência, cujo IC foi de 14,3%, considerando o mesmo risco de contaminação 63%).

A análise descritiva foi realizada por meio de medidas de tendência central, medidas de dependência e medidas de dispersão para variáveis quantitativas, e frequência para variáveis qualitativas. Para determinar a associação entre as variáveis, foi estimado o valor de p pelo teste do qui-quadrado de Pearson e a relação de probabilidade por regressão logística binária. Os dados foram analisados utilizando o software estatístico

Stata MP11 e o Projeto R 2.13.1, utilizando IC 95% e valor de $p \leq 0,05$ como significativo.

RESULTADOS

Características demográficas e de doença dos pacientes

As características demográficas e de doença dos pacientes incluídos estão na Tabela 1.

Perfil de contaminação de nebulizadores

O perfil de contaminação microbiológica dos nebulizadores caseiros foi agrupado de acordo com as partes do equipamento (máscara, copo ou qualquer parte do aparelho) e o patógeno contaminante (bactérias, fungos ou qualquer contaminação) - Tabela 2. Avaliando as partes de qualquer nebulizador, houve

uma prevalência de 71,6% (IC95% = 61,3-81,9) de contaminação por patógenos no estudo. De acordo com a parte do nebulizador, a frequência observada foi de 60,8% (IC95% = 49,7-71,9) na interface e 62,2% (IC95% = 51,2-73,2) na taça.

Contaminação bacteriana foi observada em 56,8% (IC95% = 45,5-68,1) dos casos e contaminação fúngica em 45,9% (IC95% = 34,5-57,3). Entre aqueles com contaminação bacteriana, a bactéria Gram-negativa foi o patógeno mais comumente encontrado (85,7%; IC95% = 75,1-96,3). As espécies bacterianas Gram-negativas mais frequentemente observadas foram *Pseudomonas* spp. (31,0%; IC95% = 17,0-45,0) e *Acinetobacter* spp. (21,4%; IC95% = 9,0-33,8). *Staphylococcus* spp. (21,4%; IC95% = 9,0-33,8) e *Micrococcus* spp. (14,3%; IC95% = 3,7-24,9) foram as espécies bacterianas Gram-positivas

Tabela 1. Perfil dos pacientes com fibrose cística.

Características	N (%)
Idade (anos)	15,8 ± 6,5
Gênero	
Masculino	44 (57,9)
Feminino	32 (42,1)
Etnia	
Branco	51 (66,2)
Afrodescendente	11 (14,3)
Pardo	13 (17,1)
Não informado	2 (2,6)
Nível educacional do responsável pela limpeza do nebulizador	
Nunca foi à escola	--
Ensino Fundamental incompleto	19 (25,0)
Ensino Fundamental completo	6 (7,9)
Ensino Médio incompleto	7 (9,2)
Ensino Médio completo	25 (32,9)
Ensino Superior incompleto	7 (9,2)
Ensino Superior completo	12 (15,8)
Renda Familiar Mensal (BRL\$)	2.972,3 ± 2.975,4
Número de pessoas que coabitam	3,9 ± 1,4
irmãos que moram na mesma residência	0,9 ± 1,0
Cômodos na casa	3,7 ± 1,6
Distância entre a casa e o centro de tratamento (km)	56,3 ± 92,2
IMC (kg/m ²)	18,7 ± 3,65
Altura (cm)	155,0 ± 17,2
Peso (kg)	49,7 ± 16,1
Tempo desde diagnóstico de FC (anos)	10,2 ± 5,68
Escore Shwachman-Kulczycki	
Excelente	4 (5,2)
Bom	10 (13,0)
Médio	11 (14,3)
Moderado	6 (7,8)
Grave	1 (1,3)
Teste de função pulmonar	
VEF ₁ (%)	61,3 ± 22,9
CVF (%)	75,5 ± 24,1
VEF ₁ /CVF (%)	76,8 ± 19,4

Os valores são apresentados como média ± SD ou número (%). IMC: Índice de Massa Corporal; VEF₁: Volume expiratório forçado em 1 segundo; CVF: Capacidade vital forçada; VEF₁/CVF: relação entre volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital forçada.

Tabela 2. Perfil de contaminação de nebulizadores domiciliares de pacientes com fibrose cística: tipo de fungo e bactéria segundo local de contaminação.

Características	Máscara		Copo		Qualquer parte do equipamento	
	N (%)	95%CI	N (%)	95%CI	N (%)	95%CI
Qualquer contaminação	45 (60,8)	49,7 - 71,9	46 (62,2)	51,2 - 73,2	53 (71,6)	61,3 - 81,9
Contaminação bacteriana	35 (47,3)	35,9 - 58,7	37 (50,0)	38,6 - 61,4	42 (56,8)	45,5 - 68,1
Bactérias Gram-negativas ^a	25 (71,4)	56,4 - 86,4	23 (62,2)	46,6 - 77,8	36 (85,7)	75,1 - 96,3
<i>Pseudomonas</i> spp. ^a	5 (14,3)	2,7 - 25,9	9 (24,3)	10,5 - 38,1	13 (31,0)	17,0 - 45,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> não-mucoide ^a	--	--	2 (5,4)	0,0 - 12,7	2 (4,8)	0,0 - 11,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> mucoide ^a	--	--	--	--	--	--
Outros <i>Pseudomonas</i> ^a	5 (14,3)	2,7 - 25,9	7 (18,9)	6,3 - 31,5	10 (23,8)	10,9 - 36,7
<i>Acinetobacter</i> spp. ^a	8 (22,9)	9,0 - 36,8	7 (18,9)	6,3 - 31,5	9 (21,4)	9,0 - 33,8
<i>Stenotrophomonas</i> spp. ^a	5 (14,3)	2,7 - 25,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	5 (11,9)	2,1 - 21,7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ^a	5 (14,3)	2,7 - 25,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	5 (11,9)	2,1 - 21,7
<i>Enterobacter</i> spp. ^a	3 (8,6)	0,0 - 17,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	4 (11,9)	2,1 - 21,7
<i>Klebsiella</i> spp. ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	4 (10,8)	0,8 - 20,8	4 (9,5)	0,6 - 18,4
<i>Sphingobacterium</i> spp. ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	1 (2,7)	0,0 - 7,9	2 (4,8)	0,0 - 11,3
<i>Delftia</i> spp. ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	2 (5,4)	0,0 - 12,7	2 (4,8)	0,0 - 11,3
<i>Burkholderia</i> spp. ^a	--	--	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i> ^a	--	--	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
Outros ^a	12 (34,3)	18,6 - 50,0	9 (24,3)	10,5 - 38,1	15 (35,7)	21,2 - 50,2
<i>Chryseobacterium indologenes</i> ^a	5 (14,3)	2,7 - 25,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	5 (11,9)	2,1 - 21,7
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> ^a	2 (5,7)	0,0 - 13,4	1 (2,7)	0,0 - 7,9	3 (7,1)	0,0 - 14,9
<i>Pantoea agglomerans</i> ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	1 (2,7)	0,0 - 7,9	2 (4,8)	0,0 - 11,3
<i>Aeromonas hydrophila</i> ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	--	--	1 (2,4)	0,0 - 7,0
<i>Comamonas testosteroni</i> ^a	--	--	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
<i>Moraxella osloensis</i> ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	--	--	1 (2,4)	0,0 - 7,0
<i>Rhizobium radiobacter</i> ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
<i>Serratia marcescens</i> ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
Bactérias Gram-positivas ^a	10 (28,6)	13,6 - 43,6	10 (27,0)	12,7 - 41,3	17 (40,5)	25,7 - 55,3
<i>Staphylococcus</i> spp. ^a	6 (17,1)	4,6 - 29,6	7 (18,9)	6,3 - 31,5	9 (21,4)	9,0 - 33,8
<i>Staphylococcus aureus</i> ^a	2 (5,7)	0,0 - 13,4	2 (5,4)	0,0 - 12,7	2 (4,8)	0,0 - 11,3
<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à coagulase oxacilina negativa ^a	1 (2,9)	0,0 - 8,5	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
Outros <i>Staphylococcus</i> ^a	3 (8,6)	0,0 - 17,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	6 (14,3)	3,7 - 24,9
<i>Micrococcus</i> spp. ^a	4 (11,4)	0,9 - 21,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	6 (14,3)	3,7 - 24,9
<i>Bacillus</i> spp. ^a	3 (8,6)	0,0 - 17,9	4 (10,8)	0,8 - 20,8	5 (11,9)	2,1 - 21,7
<i>Streptococcus</i> spp. ^a	--	--	1 (2,7)	0,0 - 7,9	1 (2,4)	0,0 - 7,0
Contaminação fúngica	20 (27,0)	16,9 - 37,1	28 (37,8)	26,8 - 48,8	34 (45,9)	34,5 - 57,3
<i>Candida</i> spp. ^b	11 (55,0)	33,2 - 76,8	14 (50,0)	31,5 - 68,5	18 (52,9)	36,1 - 69,7
<i>Candida</i> spp. não- <i>albicans</i> ^b	9 (45,0)	23,2 - 66,8	14 (50,0)	31,5 - 68,5	16 (47,1)	30,3 - 63,9
<i>Candida albicans</i> ^b	1 (5,0)	0,0 - 14,6	--	--	1 (2,9)	0,0 - 8,5
<i>Candida</i> spp. ^b	1 (5,0)	0,0 - 14,6	--	--	1 (2,9)	0,0 - 8,5
Fungo contaminante ambiental ^b	4 (20,0)	2,5 - 37,5	8 (28,6)	11,9 - 45,3	9 (26,5)	11,7 - 41,3
Outros ^b	7 (35,0)	14,1 - 55,9	7 (25,0)	9,0 - 41,0	10 (29,4)	14,1 - 44,7
<i>Cladosporium</i> sp. ^b	3 (15,0)	0,0 - 30,6	3 (10,7)	0,0 - 22,1	4 (11,8)	1,0 - 22,6
<i>Rhodotorula</i> spp. ^b	3 (15,0)	0,0 - 30,6	3 (10,7)	0,0 - 22,1	4 (11,8)	1,0 - 22,6
<i>Aspergillus niger</i> ^b	--	--	1 (3,6)	0,0 - 10,5	1 (2,9)	0,0 - 8,5
<i>Penicillium</i> sp. ^b	1 (5,0)	0,0 - 14,6	--	--	1 (2,9)	0,0 - 8,5

^aProporção calculada entre o número de máscaras (N = 35), copos (N = 37) e qualquer parte do nebulizador (N = 42) com contaminação bacteriana. ^bProporção calculada entre o número de máscaras (N = 20), copos (N = 28) e qualquer parte do nebulizador (N = 34) com contaminação bacteriana.

mais frequentes. *Candida* spp. foi o fungo mais frequentemente observado (52,9%; IC95%=36,1-69,7), seguido pelo fungo contaminante ambiental (26,5%;

IC95% = 11,7-41,3). Outros patógenos de interesse e com importante papel na prática clínica também foram isolados: *P. aeruginosa* não mucoide (4,8%; IC95% =

0,0-11,3), complexo *B. cepacia* (2,4%; IC95%=0,0-7,0), *S. maltophilia* (11,9%; IC95% = 2,1-21,7) e *S. aureus* (4,8%; IC95% = 0,0-11,3) - Tabela 2.

Características da higienização dos nebulizadores

Considerando as características do uso de nebulizadores, frequência de higienização e método empregado, 76 pacientes responderam às questões da entrevista. Os pacientes relataram o uso dos seguintes medicamentos no nebulizador: dornase alfa (N = 72; 94,7%), solução inalatória de tobramicina (N = 64; 84,2%), solução salina hipertônica (N = 17; 22,4%), colistina (N = 15; 19,7%), broncodilatador (N = 5; 6,6%) e solução salina isotônica (N = 1; 1,3%). Todos os pacientes relataram usar apenas uma droga durante cada nebulização.

Em relação à reposição de peças dos nebulizadores, a maioria dos pacientes não realizou no equipamento analisado (N = 48; 63,2%) e os motivos relatados foram: intervalo recomendado para troca não foi alcançado (N = 29; 60,4%); falta de conhecimento sobre a necessidade (N = 12; 25,0%); esquecimento (N = 2; 4,2%); e outras razões (N = 7; 14,6%). Para aqueles que relataram substituir pelo menos uma parte, o copo foi substituído em 85,7% (N = 24), mangueira em 64,3% (N = 18), máscara e filtro em 60,7% (N = 17) dos casos, outras partes em 7,1% (N = 2) e todas as partes em 21,4% (N = 6). Para os pacientes que substituíram todas as partes, metade o fez após mais de seis meses de uso.

Higienização regular foi relatada em 97,4% dos casos. Entre os que relataram higienização regular, o copo foi a parte mais citada (N = 74; 100,0%), seguido pela máscara 79,7% (N = 59), mangueira 50,0% (N = 37) e filtro 12,2% (N = 9). A maioria dos pacientes (71,1%) relatou realizar o processo de higienização após cada uso do nebulizador - Tabela 3.

Considerando cada etapa de higienização, 64 (86,5%) pacientes realizaram o processo de limpeza, 62 (83,8%) pacientes realizaram o processo de esterilização e 73 (96,0%) realizaram o processo de secagem. O processo de limpeza mais frequente observado foi ensaboamento e enxágue com água da torneira (N = 49; 76,6%). Uma ampla variedade de métodos de esterilização foi relatada e os mais frequentes foram imersão em água fervente (24,2%) e imersão em solução de hipoclorito (21,0%). Todo o processo de higienização, utilizando pelo menos um método de limpeza, esterilização e secagem, foi relatado pela maioria da amostra do estudo (70,3%) - Tabela 3.

Ainda como objetivo secundário do estudo, avaliou-se a associação entre escolaridade e dados demográficos dos pacientes e/ou cuidadores e a frequência de limpeza dos nebulizadores e não foram observadas diferenças significativas (dados não apresentados).

Relação entre limpeza de nebulizadores e contaminação por patógenos

A análise bivariada da associação entre a limpeza dos nebulizadores e uma cultura positiva para bactérias e/ou

fungos nas peças analisadas está descrita na Tabela 4. Observou-se diferença estatisticamente significativa na frequência de contaminação para o método de limpeza (somente água da torneira = 92,9% de contaminação vs. ensaboamento e enxágue sob água da torneira = 66,0% de contaminação; $p = 0,049$), realizando ou não esterilização (Sim = 66,7% de contaminação vs. não = 100,0% de contaminação; $p = 0,015$) e método de secagem (com um pano, toalhas de papel, ventilador/secador ou compressor/ar comprimido = 60,5% de contaminação vs. somente ao ar livre = 84,4% de contaminação; $p = 0,028$). Uma análise multivariada por regressão logística binária para os fatores associados à positividade da cultura foi realizada utilizando a estratégia passo a passo inverso. Para esta análise, qualquer contaminação no nebulizador e as variáveis relatadas na Tabela 4 foram incluídas. O uso apenas da água da torneira como método de limpeza aumentou 9 vezes a chance de contaminação (OR = 9,10; IC95% = 1,01-81,77; $p = 0,049$) quando comparado ao ensaboamento e enxágue sob água corrente. A secagem ao ar livre aumentou 4,87 vezes a chance de contaminação (OR = 4,87; IC95% = 1,10-21,61; $p = 0,038$) quando comparado com o uso de algum material, como pano, toalha de papel, ventilador/secador ou compressor/ar comprimido.

Como o processo de secagem do nebulizador realizado ao ar livre é uma prática recomendada, foi avaliada a frequência de uma limpeza inadequada (nenhuma ou apenas água da torneira) ou esterilização (nenhuma, hipoclorito de sódio ou solução de vinagre). Um método de limpeza inadequado foi observado em 26% da amostra (N = 7), uma esterilização inadequada em 40,7% (N = 11), métodos inadequados de limpeza e esterilização em 7,4% (N = 2) e métodos inadequados de limpeza ou desinfecção em 59,2% (N = 16).

DISCUSSÃO

Neste estudo brasileiro multicêntrico, uma alta prevalência de contaminação por nebulizador foi observada entre pacientes com FC cronicamente colonizados por *P. aeruginosa* sob terapia com antibióticos inalatórios. O papel dos nebulizadores domiciliares como fonte de contaminação para pacientes com FC tem sido estudado desde 1987,⁽⁸⁻¹⁴⁾ mas a quantidade de dados bons e representativos dentro dos pacientes brasileiros com FC é escassa. Além disso, uma alta taxa de não-conformidades foi observada no uso de nebulizadores por pacientes e cuidadores. Esta é uma questão importante, pois a limpeza inadequada do nebulizador tem sido associada à sua contaminação.⁽¹²⁾

Considerando a prevalência de contaminação em qualquer parte do dispositivo, estudos brasileiros anteriores encontraram estimativas de 25,0% a 57,5%, inferiores às encontradas no presente estudo 10,13. Essa diferença pode ser possivelmente atribuída a características clínicas distintas entre as populações, como a gravidade do comprometimento da função pulmonar e o comportamento dos pacientes. No

Tabela 3. Perfil de higienização dos nebulizadores domiciliares de pacientes com fibrose cística.

Características	N (%)
Nebulizador é regularmente higienizado	
Sim	74 (97,4)
Não	2 (2,6)
Partes do nebulizador geralmente higienizadas	
Máscara	59 (79,7)
Copo	74 (100,0)
Magueira	37 (50,0)
Filtro	9 (12,2)
Outro	1 (1,4)
Higienização após cada uso	
Sim	54 (71,1)
Não	20 (26,3)
Não informado	2 (2,6)
Duração de cada limpeza/esterelização	
Menos de 15 minutos	44 (57,9)
Mais de 15 minutos	30 (39,5)
Não informado	2 (2,6)
Limpeza	64 (86,5)
Apenas água da torneira	15 (23,4)
Ensaboamento e enxágue com água da torneira	49 (76,6)
Esterelização	62 (83,8)
Imersão em água fervente	15 (24,2)
Imersão em solução de hipoclorito de sódio	13(21,0)
Imersão em água fervente e imersão em solução de hipoclorito de sódio	11 (17,7)
Imersão em solução de vinagre	5 (8,1)
Imersão em água fervente e imersão em álcool	4 (6,5)
Imersão em água fervente, imersão em álcool e imersão em solução de vinagre	1 (1,6)
Imersão em água fervente e imersão em solução de vinagre	3 (4,8)
Imersão em álcool	2 (3,2)
Imersão em solução de hipoclorito de sódio e microondas	2 (3,2)
Imersão em água fervente, imersão em solução de hipoclorito de sódio e imersão em álcool	2 (3,2)
Imersão em água fervente, imersão em solução de hipoclorito de sódio e imersão em solução de vinagre	2 (3,2)
Imersão em água fervente, imersão em solução de hipoclorito de sódio, imersão em solução de vinagre e imersão em álcool	1 (1,6)
Imersão em solução de hipoclorito de sódio e imersão em álcool	1 (1,6)
Secagem	73 (98,6)
Apenas ao tempo	32 (43,8)
Com uma toalha	20 (27,4)
Com papel-toalha	19 (26,0)
Com ventilador/secador	1 (1,4)
Com um compressor/ar comprimido	1 (1,4)
Método de higienização	
Limpeza, esterelização e secagem	52 (70,3)
Limpeza e secagem	11 (14,9)
Esterelização e secagem	10 (13,5)
Apenas limpeza	1 (1,4)

presente estudo, o cuidado adequado com nebulizadores foi analisado sistematicamente e uma baixa taxa de manejo adequado foi observada.

Bactérias foram os principais contaminantes patogênicos identificados nos dispositivos estudados (56,8% dos pacientes), principalmente os Gram-negativos. No entanto, a contaminação por fungos

também foi um achado relevante, uma vez que 40,5% dos pacientes estavam contaminados por grande variedade de espécies de fungos. A literatura atual, que abrange vários países, também mostrou uma ampla variedade de espécimes bacterianos com resultados heterogêneos, variando a maior prevalência entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Tabela 4. Associação entre higienização dos nebulizadores e positividade da cultura.

Características	Contaminação por fungos ou bactérias, pelo menos em uma parte do nebulizador		p-value
	Sim N (%)	Não N (%)	
Partes do nebulizador geralmente higienizadas ^a			
Máscara	40 (70,2)	17 (29,8)	0,380
Copo	51 (71,8)	20 (28,2)	0,378
Mangueira	24 (66,7)	12 (33,3)	0,262
Filtro	5 (55,6)	4 (44,4)	0,221
Outro	1 (100,0)	0 (--)	0,536
Duração de cada higienização			
Menos de 15 minutos	31 (72,1)	12 (27,9)	0,951
Mais de 15 minutos	20 (71,4)	8 (28,6)	
Higienização após cada uso			
Sim	23 (45,1)	28 (54,9)	0,710
Não	8 (40,0)	12 (60,0)	
Limpeza			
Sim	44 (72,1)	17 (27,9)	0,839
Não	9 (75,0)	3 (25,0)	
Método de limpeza			
Apenas água da torneira	13 (92,9)	1 (7,1)	0,049
Ensaboamento e enxágue em água da torneira	31 (66,0)	16 (34,0)	
Esterelização			
Sim	40 (66,7)	20 (33,3)	0,015
Não	13 (100,0)	0 (--)	
Método de esterelização			
Imersão em água fervente e/ou álcool e/ou microondas apenas ou em associação com hipoclorito de sódio e/ou solução de vinagre	30 (69,8)	13 (30,2)	0,595
Imersão em água sanitária e/ou solução de vinagre, sem outros métodos	10 (62,5)	6 (37,5)	
Secagem			
Sim	50 (71,4)	20 (28,6)	0,277
Não	3 (100,0)	0 (--)	
Método de secagem			
Com um pano, papel toalha, ventilador/secador ou compressor/ar comprimido	23 (60,5)	15 (39,5)	0,028
Ao ar livre	27 (84,4)	5 (15,6)	
Método de higienização			
Não há higienização	2 (100,0)	0 (--)	0,197
Limpeza, esterelização e secagem	33 (66,0)	17 (34,0)	
Apenas limpeza	1 (100,0)	0 (--)	
Limpeza e secagem	10 (100,0)	0 (--)	
Esterelização e secagem	7 (70,0)	3 (30,0)	

^aComo as respostas não eram mutuamente exclusivas, cada opção foi analisada como uma variável dicotômica gerando diferentes valores de p.

Acinetobacter spp. e *Pseudomonas* spp. foram as bactérias Gram-negativas mais frequentemente relatadas e *Staphylococcus* spp., foi a bactéria Gram-positiva mais freqüente.⁽⁸⁻¹⁴⁾ Estudos brasileiros anteriores encontraram *Staphylococcus* spp. como o patógeno mais frequente contaminando nebulizadores.^(10,13) No presente estudo, a avaliação da contaminação por nebulização foi realizada em uma população significativamente maior, embora ainda pediátrica, mais velha do que em estudos

anteriores. Além disso, descreve-se bem a relação entre o aumento da colonização das vias aéreas por bactérias Gram-negativas em pacientes com FC com aumento da idade, associada a uma diminuição por Gram-positivos¹. Esse comportamento pode interferir na contaminação do nebulizador e pode explicar os diferentes resultados nesse campo.

A infecção pulmonar é a principal causa de morte em pacientes com FC, sendo a maioria dos casos associada à infecção crônica por *P. aeruginosa*.

Diversas fontes diferentes podem estar envolvidas na colonização das vias aéreas por *P. aeruginosa*, incluindo nebulizadores.^(12,14) Apesar das altas estimativas de *Pseudomonas* spp detectadas no presente estudo, a maioria dos casos foi relacionada a diferentes espécies de *P. aeruginosa*. A prevalência de *P. aeruginosa* na literatura varia de 0% a 38%^{8–14}. Uma baixa frequência de contaminação por este patógeno em nossos dados provavelmente pode estar associada ao perfil específico de nossa amostra. A definição dos critérios de inclusão permitiu apenas pacientes com colonização crônica por *P. aeruginosa* no uso regular de antibióticos inalatórios anti-*Pseudomonas* que pudessem interferir no crescimento bacteriano mesmo no mês de descanso do tratamento.

A contaminação por fungos é menos explorada na literatura disponível e os espécimes encontrados não foram claramente avaliados em outros estudos.^(8–14) Em nossa amostra, *Candida* spp. foi o fungo mais encontrado. Outros estudos relataram contaminação por levedura, especificamente por *Candida albicans* (14,0%), o que também foi observado em nossa amostra (2,9%).^(10,12,13) Peckham et al. também realizaram um estudo para analisar especificamente a flora fúngica dos nebulizadores de pacientes adultos com FC e encontraram uma maior frequência de positividade (57,7%) do que o relatado em nosso estudo (45,9%).⁽²⁴⁾

Encontramos uma frequência consideravelmente maior de pacientes que relataram uma higienização regular do nebulizador em comparação com outras pesquisas.^(5,9,10,13) Diretrizes nacionais e internacionais enfatizam a necessidade de cuidados adequados com nebulizadores.^(16,17) As etapas de limpeza devem ser executadas com sabão detergente e água, a esterilização com água fervente, no micro-ondas, lava-louças, álcool ou peróxido de hidrogênio e secagem do equipamento ao tempo.⁽²⁷⁾ Uma alta porcentagem de pacientes relatou realizar todas as etapas propostas. No entanto, métodos não recomendados como limpeza com água da torneira, esterilização através do uso de hipoclorito de sódio ou solução de vinagre e uso de materiais para secagem foram frequentemente relatados. Essa discrepância entre a alta frequência de contaminação dos nebulizadores, apesar de uma alta taxa autorreferida de cuidados adequados dos dispositivos, aponta para a necessidade de melhor educação dos pacientes e dos cuidadores. É importante enfatizar que auto cobrança do cuidado com o nebulizador não necessariamente se transmite para o dia-a-dia. No entanto, neste estudo, observou-se um alto índice de ações de higienização não recomendadas, reforçando ainda mais a necessidade de melhorar o conhecimento nesta população. Por se tratar de um estudo multicêntrico, abrangendo diferentes regiões do país, consideramos esses dados como altamente relevantes, pois caracteriza um problema encontrado em todos os centros estudados e reflete um problema generalizado.

Observou-se uma maior frequência de contaminação entre os pacientes que limpam o nebulizador somente

com água da torneira, não esterilizam e secam ao ar livre. Estudos anteriores descobriram que apenas a limpeza após cada uso teve diferenças significativas.^(8,9) Hohenwarter et al. compararam diferentes métodos de esterilização a vapor e secagem e encontraram recontaminação apenas entre os equipamentos em que uma secagem ativa (como papel ou toalhas de algodão) foi realizada.⁶ Um modelo multivariado incluindo estas características foi construído e demonstrou que a limpeza apenas sob água corrente e a secagem ao ar livre foram os fatores que aumentaram a chance de contaminação.

A secagem ao ar livre é um método recomendado como categoria II de nível de evidência (apoiado por estudos clínicos e epidemiológicos sugestivos). Contudo, no presente estudo, foi associado com um aumento de 4,87 vezes a chance de contaminação. Para verificar se esta associação estava relacionada aos padrões de limpeza e desinfecção, foram avaliadas essas frequências entre nebulizadores contaminados que foram secos ao ar livre e a maioria dos pacientes relatou pelo menos um método inadequado de limpeza ou desinfecção (59,2%). Este estudo não foi projetado para testar uma hipótese e as recomendações disponíveis não são baseadas no nível de evidência mais alto, o que destaca a necessidade de se realizar mais estudos sobre cada componente específico do processo de higienização. Outro estudo brasileiro avaliou o efeito de uma instrução padronizada sobre limpeza e desinfecção de nebulizadores com base nas recomendações internacionais sobre a frequência de contaminação^(13,28) e após uma única intervenção educativa, foi observado um impacto significativo, reduzindo a frequência de contaminação em 43%¹³. A limpeza adequada dos nebulizadores pode ter impacto clínico, pois a falta de limpeza pode reduzir o desempenho do nebulizador e o equipamento pode se tornar uma fonte potencial de contaminação.⁽²⁹⁾

Existem algumas limitações em nosso estudo. Embora este fosse um estudo multicêntrico com centros de FC de diferentes regiões do Brasil, não foi possível abranger todos os estados do país. Outra limitação refere-se à solicitação de que os pacientes levassem seus nebulizadores para avaliação pelo pessoal da FC. Os pacientes não estavam cientes do objetivo do estudo antes de chegarem à clínica de FC, mas não podemos excluir a limpeza incomum antes da visita e o viés de informação devido ao medo de relatar atos conhecidos de má conduta à equipe do estudo. Além disso, nenhum agente viral foi testado neste estudo, embora a relevância da transmissão desse tipo de patógeno pelo nebulizador ainda não esteja clara. Finalmente, os dados da cultura de escarro dos pacientes não foram avaliados. Portanto, a relação entre contaminação das vias aéreas e nebulização no presente estudo não pôde ser determinada.

Em conclusão, alta prevalência de contaminação em nebulizadores de FC foi observada apesar dos relatos de elevada frequência de higienização do nebulizador. A maioria dos pacientes relatou técnicas erradas de limpeza, enfatizando que a equipe de FC deve estar

atenta a esse problema e deve intensificar os programas educacionais. A infecção das vias aéreas é uma das questões mais importantes na gestão da FC e várias estratégias devem ser estimuladas para evitá-la. O presente estudo destaca que os nebulizadores ainda são uma fonte potencial de infecção para pacientes com FC.

Portanto, um melhor conhecimento sobre essa área deve ser incentivado entre pacientes e cuidadores e/ou novas estratégias para o fornecimento de antibióticos inalatórios, como formulações de pó seco, devem ser implementadas.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Novartis Biociências S.A., Brasil, a assistência no desenvolvimento do estudo foi fornecida pela ANOVA e a preparação do manuscrito pela EUROTIALS Brasil. Os autores agradecem à equipe dos centros clínicos participantes (Adriana Della-Zuana, Licia Cristine Marinho França, Núbia Cardoso Peixoto, Patrícia Yuki Watanabe de Medeiros, Carla Cristina Souza Gomez e Maria Angela Ribeiro) e também da Novartis Biociências SA, Brasil (Glauimar Basaglia, Paula Simões Bruna Abreu Crippa, Nadine Cordeiro Pinho). Somos gratos aos pacientes e seus familiares pela participação no estudo.

REFERÊNCIAS

- Spoonhower KA, Davis PB. Epidemiology of cystic fibrosis. *Clin Chest Med.* 2016;37(1):1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccm.2015.10.002>. PMID:26857763.
- Davies JC, Ebdon A-M, Orchard C. Recent advances in the management of cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* 2014;99(11):1033-6. <http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2013-304400>. PMID:24996790.
- Raskin S, Pereira-Ferrari L, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros.* 2008;7(1):15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2007.03.006>. PMID:17544945.
- Pressler T, Bohmova C, Conway S, Dumcius S, Hjelte L, Høiby N, et al. Chronic Pseudomonas aeruginosa infection definition: EuroCareCF Working Group report. *J Cyst Fibros.* 2011;10(Suppl 2):75-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S1569-1993\(11\)60011-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1569-1993(11)60011-8). PMID:21658646.
- Jarvis S, Ind PV, Thomas C, Goonesekera S, Haffenden R, Abdolrasouli A, et al. Microbial contamination of domiciliary nebulisers and clinical implications in chronic obstructive pulmonary disease. *BMJ Open Respir Res.* 2014;1(1):e000018. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjresp-2013-000018>. PMID:25478172.
- Hohenwarter K, Prammer W, Aichinger W, Reyehler G. An evaluation of different steam disinfection protocols for cystic fibrosis nebulizers. *J Cyst Fibros.* 2016;15(1):78-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.07.005>. PMID:26233897.
- Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 2011 – Annual data report. Bethesda: CFF; 2011
- Pitchford KC, Corey M, Highsmith AK, Perlman R, Bannatyne R, Gold R, et al. Pseudomonas species contamination of cystic fibrosis patients' home inhalation equipment. *J Pediatr.* 1987;111(2):212-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(87\)80069-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(87)80069-0). PMID:3612391.
- Blau H, Mussaffi H, Mei Zahav M, Prais D, Livne M, Cziton BM, et al. Microbial contamination of nebulizers in the home treatment of cystic fibrosis. *Child Care Health Dev.* 2007;33(4):491-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2214.2006.00669.x>. PMID:17584406.
- Brzezinski LX, Riedi CA, Kussek P, Souza HH, Rosário N. Nebulizers in cystic fibrosis: a source of bacterial contamination in cystic fibrosis patients? *J Bras Pneumol.* 2011;37(3):341-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000300010>. PMID:21755189.
- Rosenfeld M, Emerson J, Astley S, Joy P, Williams-Warren J, Standaert TA, et al. Home nebulizer use among patients with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1998;132(1):125-31. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(98\)70497-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(98)70497-4). PMID:9470013.
- Vassal S, Taamma R, Marty N, Sardet A, D'Athis P, Brémont F, et al. Microbiologic contamination study of nebulizers after aerosol therapy in patients with cystic fibrosis. *Am J Infect Control.* 2000;28(5):347-51. <http://dx.doi.org/10.1067/mic.2000.110214>. PMID:11029133.
- Della Zuana A, Garcia DO, Juliani RC, Silva LV Fo. Effect of an educational program for cystic fibrosis patients and caregivers has on the contamination of home nebulizers. *J Bras Pneumol.* 2014;40(2):119-27. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132014000200004>. PMID:24831395.
- Hutchinson GR, Parker S, Pryor JA, Duncan-skingle F, Hoffman PN, Hodson ME, et al. Home-use nebulizers: a potential primary source of burkholderia cepacia and other colistin-resistant, gram-negative bacteria in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 1996;34(3):584-7. PMID:8904419.
- Burdge DR, Nakielna EM, Noble MA. Case-control and vector studies of nosocomial acquisition of Pseudomonas cepacia in adult patients with cystic fibrosis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1993;14(3):127-30. <http://dx.doi.org/10.2307/30148475>. PMID:7683031.
- Athanazio RA, Silva-Filho LVRF, Vergara AA, Ribeiro AF, Riedi CA, Procianny EFA, et al. Brazilian guidelines for diagnosis and treatment of cystic fibrosis. *J Bras Pneumol.* 2017;43(3):219-45. <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-37562017000000065>. PMID:28746534.
- Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, Bryon M, Duff A, Flume P, et al. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Best Practice guidelines. *J Cyst Fibros.* 2014;13(Suppl 1):23-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2014.03.010>. PMID:24856775.
- Amies CR. A modified formula for the preparation of Stuart's Transport Medium. *Can J Public Health.* 1967;58(7):296-300. PMID:4859908.
- Van Pelt C, Verduin CM, Goessens WHF, Vos MC, Tümmler B, Segonds C, et al. Identification of Burkholderia spp. in the clinical microbiology laboratory: comparison of conventional and molecular methods. *J Clin Microbiol.* 1999;37(7):2158-64. PMID:10364579.
- Doern GV, Brogden-Torres B. Optimum use of selective plated media in primary processing of respiratory tract specimens from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 1992;30(10):2740-2. PMID:1400978.
- Otto-Karg I, Jandl S, Müller T, Stirzel B, Frosch M, Hebestreit H, et al. Validation of Vitek 2 nonfermenting gram-negative cards and Vitek 2 version 4.02 software for identification and antimicrobial susceptibility testing of nonfermenting gram-negative rods from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2009;47(10):3283-8. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00505-09>. PMID:19710272.
- Marko DC, Saffert RT, Cunningham SA, Hyman J, Walsh J, Arbefeville S, et al. Evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of nonfermenting gram-negative bacilli isolated from cultures from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol.* 2012;50(6):2034-9. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00330-12>. PMID:22495666.
- Alby K, Gilligan PH, Miller MB. Comparison of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry platforms for the identification of gram-negative rods from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2013;51(11):3852-4. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01618-13>. PMID:23966494.
- Peckham D, Williams K, Wynne S, Denton M, Pollard K, Barton R. Fungal contamination of nebulizer devices used by people with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2016;15(1):74-7. PMID:26104996.
- Blyth CC, Harun A, Middleton PG, Sleiman S, Lee O, Sorrell TC, et al. Detection of occult scedosporium species in respiratory tract specimens from patients with cystic fibrosis by use of selective media. *J Clin Microbiol.* 2010;48(1):314-6. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01470-09>. PMID:19906904.
- Prevaes SMPJ, Winter-de Groot KM, Janssens HM, Piters WAAS, Trammer-Stranders GA, Wylie AL, et al. Development of the nasopharyngeal microbiota in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193(5):504-15. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201509-1759OC>. PMID:26492486.
- Saiman L, Siegel JD, LiPuma JJ, Brown RF, Bryson EA, Chambers MJ, et al. Infection prevention and control guideline for cystic fibrosis: 2013 update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014;35(Suppl 1):1-67. <http://dx.doi.org/10.1086/676882>. PMID:25025126.
- Saiman L, Siegel J. Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(1):57-71. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.17.1.57-71.2004>. PMID:14726455.
- Lester MK, Flume PA, Gray SL, Anderson D, Bowman CM. Nebulizer use and maintenance by cystic fibrosis patients: a survey study. *Respir Care.* 2004;49(12):1504-8. PMID:15571641.