

Surto de bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa* na unidade de hemodiálise de um hospital de Campinas, São Paulo, Brasil

Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a Hemodialysis Center in Campinas, São Paulo, Brazil

Beatriz PISANI^{1*}
Marise SIMÕES¹
Maria Angela G. PRANDI¹
Marilu M. M. ROCHA¹
Célia R. GONÇALVES²
Tânia M. I. VAZ²
Kinue IRINO²

RIALA6/883

Pisani, B. et al. Surto de bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa* na unidade de hemodiálise de um hospital de Campinas, São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 59(1/2):51-56, 2000

RESUMO. Foram analisadas amostras de água e de dializados coletados de diferentes pontos do sistema de hemodiálise de um Centro de Hemodiálise de um hospital de Campinas, São Paulo, Brasil, após um surto de bacteriemia ocorrido em setembro de 1996. As amostras foram submetidas à contagem de bactérias heterotróficas e pesquisa de coliformes totais, assim como foram realizadas as hemoculturas dos pacientes com bacteriemia. As cepas isoladas e identificadas como *Pseudomonas aeruginosa* foram submetidas à sorotipagem e à piocinotipagem e, naquelas pertencentes ao mesmo sorotipo e piocinotipo, procurou-se determinar o perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos e o ribotipo. Quanto à pesquisa de *Pseudomonas*, 80% das amostras correspondentes à segunda coleta foram positivas e em todas as amostras referentes à terceira coleta foram isoladas *Pseudomonas aeruginosa* ou *Bulkholderia cepacia*. Apenas uma cepa de *P.aeruginosa* de água pertencia aos mesmos sorotipo (O15) e piocinotipo (P10) daqueles obtidos dos pacientes. A compatibilidade genética das amostras das duas origens, verificada pela ribotipagem, sugere um veículo comum na propagação da infecção.

PALAVRAS-CHAVE. Hemodiálise; água; bacteriemia; *Pseudomonas aeruginosa*; sorotipagem; piocinotipagem; ribotipagem.

INTRODUÇÃO

Pacientes renais crônicos submetidos ao processo de hemodiálise estão mais expostos à contaminação da água do que a população normal, resultando assim no risco de apresentar

reações pirogênicas e/ou bacteriemias, quase sempre associadas à reutilização de dializadores^{5,15}.

Bacilos Gram negativos, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*²⁰, têm sido freqüentemente associados à ocorrência de surtos de bacteriemias por fluidos de diálise conta-

¹ Instituto Adolfo Lutz, Campinas, S.P.

² Instituto Adolfo Lutz, S.P.

* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Regional de Campinas – Rua São Carlos, 720 CEP 1305-420 Campinas – SP
Tel/Fax (019)272-7977

minados, onde a desinfecção inadequada do sistema de tratamento da água e da máquina de diálise representam a principal causa na maioria dos surtos^{13,24}.

Neste trabalho é relatado um surto de bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa*, ocorrido em setembro de 1996, em uma unidade de hemodiálise de um hospital localizado em Campinas, São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Caracterização do surto

O Centro de Hemodiálise é uma das unidades de um hospital geral, localizado em Campinas, São Paulo e constituído de três salas, sendo duas destinadas aos pacientes com sorologia negativa para HBsAg e a outra para pacientes com sorologia positiva para HBsAg. O surto teve início em 11 de setembro de 1996, quando três pacientes, de distintas salas, evidenciaram sinais de bacteriemia durante a hemodiálise. Em 16 de setembro, a equipe de Vigilância Epidemiológica local voltou a relatar a ocorrência de vários casos de bacteriemia nesta unidade, sendo indicada a realização da análise da água que abastecia o Centro de Diálise. A última análise da água datando de maio/1996 apresentava contagem de microrganismos acima do padrão. Casos de bacteriemia continuaram mesmo após a revisão realizada pela empresa responsável pelo sistema de tratamento da água que abastecia a unidade. Nesta data, 16 de setembro, foram coletadas amostras de sangue de 11 pacientes um dos quais foi a óbito. Entre 18 e 19 de setembro, foi realizada uma completa revisão do sistema de desmineralização da água. No entanto, casos de bacteriemia continuaram ocorrendo, razão pela qual todos os pacientes foram transferidos para outras unidades de hemodiálise da região. A partir de 23 de setembro, a unidade foi interditada e lacrada pela Vigilância Sanitária e amostras de água e dos dialisados foram coletados nesta data e repetidas em outras datas.

2. Coleta das amostras

Foram recolhidas 18 amostras de diferentes pontos do sistema de hemodiálise e em diferentes datas, especificadas no Quadro 1.

3. Análise das amostras

Com exceção das amostras A17 e A18, as demais foram submetidas à contagem de bactérias heterotróficas, às pesquisas de coliformes totais e de *Pseudomonas* spp. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Alimentar da Seção de Bromatologia e Química do Laboratório Regional de Campinas, seguindo as metodologias clássicas¹. As cepas, com identificação presuntiva de *Pseudomonas* sp, foram encaminhadas à Seção de Bacteriologia – Laboratório Central, para a posterior caracterização.

Quadro 1. Localização dos pontos de coleta das amostras no período de setembro a outubro de 1996

| Data da coleta | Amostras e pontos de coleta |
|----------------|---|
| 23.09.1996 | Água do poço – A1 Água da rede municipal – A2 Água do reservatório (água da rede municipal+água do poço) – A3 |
| 25.09.1996 | Máquina 1 – A4* Máquina 2 – A5 Máquina 3 – A6 Máquina 4 – A7 Máquina 5 – A8 Máquina 6 – A9 Máquina 7 – A10 Máquina 8 – A11 Máquina 9 – A12 Máquina 10 – A13 |
| 01.10.1996 | Água da saída do reservatório – A14 Água coletada antes da entrada da máquina 10 – A15 Água coletada antes da entrada da máquina 5 – A16 Água da cápsula de filtro da máquina 5 – A17 Água da cápsula de filtro da máquina 10 – A18 |

* dialisados das máquinas

4. Hemocultura

Das 11 amostras de sangue coletadas, 3 foram processadas no Laboratório do próprio hospital e 8 foram encaminhadas ao Setor de Bacteriologia do Laboratório Regional de Campinas. As hemoculturas foram realizadas seguindo os procedimentos recomendados pelo Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁹. Todas as cepas isoladas foram encaminhadas ao Laboratório Central para as caracterizações fenotípica e genotípica.

5. Caracterização de espécies

As espécies do gênero *Pseudomonas* foram classificadas segundo o critério apresentado pelo Bergey's Manual of Systematic Bacteriology²⁷.

5.1 Sorotipagem e Piocinotipagem

As cepas bioquimicamente caracterizadas como *Pseudomonas aeruginosa* foram sorotipadas segundo Lanyi e Bergan²² e os piocinotipos determinados pela técnica descrita por Fyfe et al.¹⁴.

5.2 Determinação do perfil de resistência aos agentes antimicrobianos

Nas cepas identificadas como *Pseudomonas aeruginosa* sorotipo O15, foi determinado o perfil de resistência aos seguintes antimicrobianos (Cecon – Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico Ltda., São Paulo, Brasil): amicacina (AM, 30mg), ampicilina (AP, 10mg), carbenicilina (CB, 100mg), cefalexina (CX, 30mg), cefalotina (CF, 30mg), cefoperazona (CZ, 75mg), ceftoxitina (CO, 30mg), ciprofloxacina (CP, 5mg), cloranfenicol (CL, 30mg), gentamicina (GN, 10mg), tetraciclina

(TT, 30mg) e imipenem (IP, 10mg). Utilizou-se a técnica de antibiograma recomendado pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards²⁶. Como controles foram utilizadas as seguintes cepas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

5.3 Ribotipagem

Cinco cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (quatro isoladas de sangue e uma isolada de água), que apresentavam as mesmas características fenotípicas, foram submetidas à extração de DNA cromossômico segundo Brenner et al.⁸. As amostras de DNA cromossômico purificado foram clivadas com as enzimas de restrição *EcoRI* e *BamHI*, sendo os fragmentos de restrição separados por eletroforese em gel de agarose e transferidos a vácuo para a membrana de *nylon*. Procedeu-se à hibridização com a sonda cDNA preparada por transcrição reversa a partir de rRNA²⁹. O tamanho dos fragmentos foi estimado em relação ao tamanho dos fragmentos de DNA de *Haemophilus aegyptius* 3031 clivado com a enzima *EcoRI* (fragmentos com tamanhos variando de 1.5 a 17 kb), utilizado como referência de tamanho molecular. Os tamanhos dos fragmentos foram estimados no programa DNASTar.

RESULTADOS

1. Análise de amostras de água e dos dialisados

Os resultados das análises das três coletas estão apresentadas na Tabela 1. Quanto à pesquisa de *Pseudomonas*, as amostras A1, A2 e A3 foram negativas e na segunda coleta (A4 a A13), 80% das amostras revelaram a presença da bactéria, assim como as cinco amostras (A14 a A18) da terceira coleta evidenciaram *Pseudomonas aeruginosa* e/ou *Burkholderia cepacia* (*Pseudomonas cepacia*).

2. Hemoculturas

De quatro pacientes foram isoladas *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Caracterização fenotípica de *Pseudomonas aeruginosa*

As cepas isoladas de sangue pertenciam ao sorotipo O15 e ao piocinotipo P10, acrescida de uma cepa isolada de água que também pertencia ao sorotipo O15 e piocinotipo P10. Quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos, dessas cinco cepas, observou-se o mesmo padrão de resistência (Tabela 2).

Tabela 1. Resultados das análises de amostras de água coletadas no período 23 de Setembro a 1º de Outubro de 1996, dos diferentes pontos do sistema de hemodiálise

| Amostra | Ponto de coleta | Pesquisa | | | |
|---------|--|-------------------------|---------------------|-------------------|------------------------|
| | | CPP(1) | Bolores e leveduras | Coliformes totais | <i>Pseudomonas</i> spp |
| A1 | Poço | < 30UFC(2) | < 10 UFC | Ausente | Ausente |
| A2 | Rede Municipal | < 30 UFC | < 10 UFC | Ausente | Ausente |
| A3 | Reservatório (água do poço+água da rede) | < 30 UFC | < 10 UFC | Ausente | Ausente |
| A4 | Máquina 1 ⁽³⁾ | 2.8.10 ² UFC | < 10 UFC | 3 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A5 | Máquina 2 | > 3.10 ³ UFC | < 10 UFC | >300 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A6 | Maquina 3 | 1.1.10 ³ UFC | < 10 UFC | 18 UFC | Ausente |
| A7 | Maquina 4 | > 3.10 ³ UFC | < 10 UFC | Ausente | <i>P.aeruginosa</i> |
| A8 | Máquina 5 | > 3.10 ³ UFC | < 10 UFC | >300 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A9 | Máquina 6 | 2.1.10 ³ UFC | < 10 UFC | >300 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A10 | Máquina 7 | 2.2.10 ³ UFC | < 10 UFC | >300 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A11 | Máquina 8 | 7.1.10 ² UFC | < 10 UFC | >300 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A12 | Máquina 9 | 2.0.10 ³ UFC | < 10 UFC | >300 UFC | <i>P.aeruginosa</i> |
| A13 | Máquina 10 | 3.2.10 ² UFC | < 10 UFC | 132 UFC | Ausente |
| A14 | Saída do reservatório de água tratada | > 3.10 ³ UFC | < 10 UFC | 15 UFC | <i>B.cepacia</i> |
| A15 | Antes da entrada da máquina 5 | > 3.10 ³ UFC | < 10 UFC | Ausente | <i>B.cepacia</i> |
| A16 | Antes da entrada da máquina 10 | > 3.10 ³ UFC | < 10 UFC | Ausente | <i>B.cepacia</i> |
| A17 | Cápsula do filtro da máquina 5 | -(⁴) | - | - | <i>B.cepacia</i> |
| A18 | Cápsula do filtro da da máquina 10 | - | - | - | <i>P.aeruginosa</i> |

(1)CPP, contagem padrão em placa; UFC/mL (2)unidade formadora de colonia/mL; (3)as amostras coletadas correspondem ao dialisado das máquinas; (4) testes não realizados

4. Ribotipagem

As cinco cepas de *P.aeruginosa* com as mesmas características fenotípicas apresentaram um padrão único de bandas quando as amostras de DNA foram clivadas com a enzima *EcoRI*. A identidade genética destas cepas foi confirmada com a utilização de uma segunda enzima, *BamHI* (Figura 1) e os resultados completos de todos os ensaios realizados foram lançados na Tabela 2.

Tabela 2. Características fenotípicas e genotípicas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de sangue e de amostras de água coletadas de diferentes pontos do sistema de hemodiálise

| Material | Sorotipos | Piocinotipo | Perfil de resistência aos antimicrobianos | Ribotipo |
|------------------|-----------|-------------|---|----------|
| Sangue | O15 | P10 | AP,CF,CL,CO,CX,TT | E1B1 |
| Sangue | O15 | P10 | AP,CF,CL,CO,CX,TT | E1B1 |
| Sangue | O15 | P10 | AP,CF,CL,CO,CX,TT | E1B1 |
| Sangue | O15 | P10 | AP,CF,CL,CO,CX,TT | E1B1 |
| Água- Amostra A4 | O7,8 | -* | | - |
| Água- Amostra A5 | O15 | P10 | AP,CF,CL,CO,CX,TT | E1B1 |
| Água- Amostra A7 | O10 | - | | - |
| Água- Amostra A8 | O4 | - | | - |
| Água- Amostra A9 | O10 | - | | - |
| Água-Amostra A10 | O11 | - | | - |
| Água-Amostra A18 | O7,8 | - | | - |

*A determinação do piocinotipo e do padrão de resistência e a ribotipagem foram realizadas somente nas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pertencentes ao sorotipo O15. AP, ampicilina; CF, cefalotina; CL, cloranfenicol; CO, cefoxitina; CX, cefalexina; TT, tetraciclina

DISCUSSÃO

Os microrganismos frequentemente associados à contaminação de dialisados e água utilizada no preparo de fluidos de diálise e na desinfecção das máquinas de hemodiálise são os bacilos Gram negativos, particularmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas spp*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Stenotrophomonas maltophilia*^{5,12,24}.

Espécies do gênero *Pseudomonas* estão amplamente disseminadas na natureza (sistemas aquáticos doce e marinho, superfícies de vegetais e solo), facilitada pela sua extraordinária versatilidade fisiológica, podendo se multiplicar mesmo em água destilada^{10,11,17,30}.

A rápida multiplicação destes microrganismos nos dialisados é favorecida pela presença de elementos químicos do sangue dos pacientes que passam para os dialisados durante o processo de hemodiálise. Concentrações bacterianas semelhantes às obtidas em meios de cultura podem ser observadas nos dialisados, representando um risco potencial para pacientes de outras unidades^{11,12}. *Pseudomonas aeruginosa*, reconhecida como um dos mais importantes agentes etiológicos de infecções nosocomiais^{4,21}, propaga-se com facilidade para outros pacientes imunocomprometidos de diferentes unidades do mesmo hospital, além de disseminar a resistência às drogas¹². Por esta razão, a “Association for the Advancement of Medical Instrumentation” (AAMI)² recomenda que a contagem bacteriana não deve exceder 2.000 UFC/mL. Por outro lado, recomenda-se que a contagem bacteriana não deve ser superior a 200 UFC/mL na água utilizada no preparo de soluções germicidas

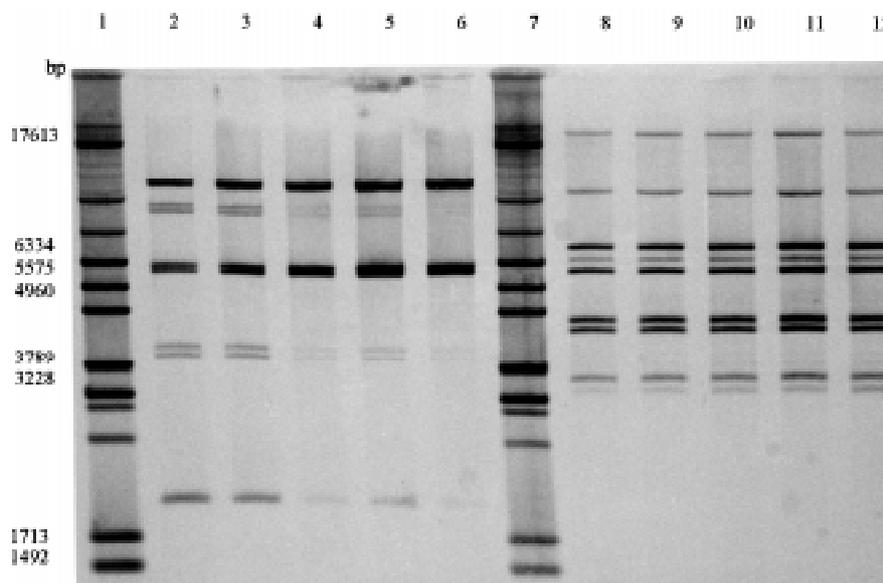


Figura 1. Ribotipo de cepas *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de sangue e de água, obtido após digestão do DNA com *EcoRI* (2-6) e *BamHI* (8-12). O marcador de peso molecular (DNA de *H.aegyptius* 3031 digerido com *EcoRI*) está mostrado em 1 e 7. O perfil de cepas isoladas de sangue correspondem a 2-5 e 8-11, e da cepa isolada da água está mostrado em 6 e 12

para a desinfecção de dializadores, assim como na água tratada utilizada na preparação de solução de diálise e fluidos de diálise e ainda na água utilizada para lavar os dializadores^{2,3}.

Pela inexistência de uma legislação específica vigente no país, os resultados obtidos nas análises das amostras de água e dos dialisados da unidade onde ocorreu o surto de bacteriemia foram comparados com os padrões microbiológicos estabelecidos pela Farmacopéia Britânica⁷, que recomenda que a contagem bacteriana não deva exceder a 10^2 microrganismos/ml. Somente em 11 de outubro de 1996, entrou em vigor a Portaria 2042 do Ministério da Saúde, atualmente substituída pela Portaria 82/2.000 de 03 de janeiro de 2000 que estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços e as normas para cadastramento destes serviços ao Sistema Único de Saúde²⁵.

A alta contagem de bactérias nos dialisados de todas as máquinas, excedendo o limite recomendado pela Farmacopéia Britânica⁷, demonstra que aquele centro estava processando as hemodíalises em condições totalmente inadequadas. Segundo Favero et al.¹¹, fatores que podem estar associados à contaminação microbiana dos fluidos utilizados em máquinas de hemodiálise são os métodos de tratamento e distribuição de água e tipos de sistemas de diálise.

Os casos de bacteriemia ocorridos neste surto tiveram uma fonte única de contaminação, como ficou demonstrado pela caracterização das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de sangue. Os marcadores fenotípicos como o sorotipo, piocinotipo e o perfil de resistência aos agentes antimicrobianos sugerem uma origem comum para estas cepas. A utilização da ribotipagem, técnica amplamente utilizada em estudos epidemiológicos de surtos de infecções por *Pseudomonas* spp^{6,16,18,28}, demonstra a identidade genética das cepas isoladas dos quatro pacientes com bacteriemia. É

interessante observar que uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa* com as mesmas características fenotípicas e genotípicas também foi isolada do dialisado da máquina 2 (Amostra A5), coletada nove dias após a coleta de sangue dos pacientes. Durante a coleta de dialisados, as máquinas não estavam em funcionamento e haviam sido formolizadas três dias antes da coleta.

Bacilos Gram negativos, particularmente aqueles designados como bactérias da água como as espécies do gênero *Pseudomonas*, embora sejam os mais frequentes, não são os únicos que representam riscos aos pacientes renais crônicos. Bactérias do gênero *Mycobacterium* ("não tuberculosas") também são frequentes em águas de hemodiálise, responsabilizadas inclusive por um surto de bacteriemia ocorrido na Califórnia, EUA^{9,23}.

Manter um nível baixo de contaminação bacteriana na água que abastece o sistema de hemodiálise pode representar uma maneira de prevenir os riscos aos pacientes. Segundo Gordon et al.¹⁵, a obtenção de resultados satisfatórios depende da rigorosa e sistemática adoção das recomendações tais como a análise rotineira (mensal) de água tratada utilizada nos processos de hemodiálise, estabelecimento de um sistema de vigilância ativa para reações adversas em pacientes submetidos à hemodiálise, controle rotineiro das membranas de diálise e desinfecção mensal do sistema de distribuição da água.

A frequente ocorrência de surtos, alguns de extrema gravidade, levando inúmeros pacientes a óbito, mostra a importância do cumprimento da Portaria 82/2000 do Ministério da Saúde que estabelece os procedimentos que asseguram a qualidade da água empregada em todas as etapas do processo de diálise, a monitorização dos parâmetros microbiológicos, bem como os procedimentos de tratamento da água.

RIALA6/883

Pisani, B. et al. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a Hemodialysis Center, Campinas, São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 59(1/2):51-56, 2000

ABSTRACT. Between September 11 and 20, 1996, an outbreak of bacteremia occurred in patients undergoing hemodialysis at one dialysis center in Campinas, São Paulo, Brazil. Water and dialysate samples as well as blood samples from patients with bacteremia were collected for bacteriological analysis. All *Pseudomonas aeruginosa* strains were serotyped and pyocin-typed. *P. aeruginosa* strains belonging to the same serotype (O15) and pyocin type (P10) were submitted to antimicrobial susceptibility testing and to ribotyping using two restriction enzymes, *EcoRI* and *BamHI*. The high concentrations of bacteria detected in all hemodialyzers and their heavy rate of contamination (86.7%) by *Pseudomonas aeruginosa* or *Burkholderia cepacia* showed that this dialysis center was operating in inadequate conditions. One strain of *P. aeruginosa* isolated from hemodialyzer and the strains recovered from blood cultures of patients showed similar phenotypical and genetic traits which suggest a common source of infection in this outbreak. We report the potential risk for patients undergoing hemodialysis to acquire infections due to the inadequate practice of reusing disposable dialyzers during the reprocessing procedures.

KEY WORDS. Hemodialysis; bacteremia; *Pseudomonas aeruginosa*; serotyping; pyocintyping; ribotyping.

REFERÊNCIAS

1. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19th ed. Washington: APHA; 1995. p. 9-31 r 9-53.
2. Association for the Advancement of Medical Instrumentation. American national standard for hemodialysis systems. In: **AAMI Standards and Recommended Practices**. Volume 3: Dialysis. Arlington, VA: Association for the Advancement of Medical Instrumentation; 1990. P. 27-58.
3. Arduino, M.J. et al. Comparison of microbiologic assay methods for hemodialysis fluids. **J. Clin. Microbiol.**, 29: 592-594, 1991.
4. Bodey, G.P. et al. Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. **Rev. Infect. Dis.**, 5: 279-313, 1983.
5. Beck-Sague, C.M. et al. Outbreak of Gram-negative bacteremia and pyrogenic reactions in a hemodialysis center. **Am. J. Nephrol.**, 10: 397-403, 1990.
6. Blanc, D.S. et al. Ribotyping of *Pseudomonas aeruginosa*: Discriminatory power and usefulness as a tool for epidemiological studies. **J. Clin. Microbiol.**, 31: 71-77, 1993.
7. **British Pharmacopœia**. London: International Edition; 1993. p. 935-936.
8. Brenner, D.J. et al. *Escherichia vulneris*: a new species of *Enterobacteriaceae* associated with human wounds. **J. Clin. Microbiol.**, 15: 1133-1146, 1982.
9. Carson, L.A. et al. Prevalence of nontuberculous *Mycobacteria* in water supplies of hemodialysis centers. **Appl. Microbiol.**, 54: 3122-3125, 1988.
10. Costerton, J.W. The etiology persistence of cryptic bacterial infections: A hypothesis. **Rev. Infect. Dis.**, 6: S608- S616, 1984.
11. Favero, M.S. et al. Factors that influence microbial contamination of fluids associated with hemodialysis machines. **Appl. Microbiol.**, 28: 882-830, 1974.
12. Favero, M.S. et al. Microbial contamination of renal dialysis systems and associated health risks. **Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs.**, 20: 175-183, 1974.
13. Favero, M.S. Health hazards associated with high levels of gram-negative bacteria in hemodialysis systems. In: **AAMI Standards and Recommended Practices**. Volume 3: Dialysis. Arlington: VA: Association for the Advancement of Medical Instrumentation; 1990. P. 81-101.
14. Fyfe, J.M.; Harris, G.; Govan, J.R.W. Revised pyocin typing method for *Pseudomonas aeruginosa*. **J. Clin. Microbiol.**, 20: 47-50, 1984.
15. Gordon, S.M. et al. Pyrogenic reactions associated with the reuse of disposable hollow-fiber hemodialysers. **J. Amer. Med. Ass.** 260: 2077-2081, 1988.
16. Grattard, F. et al. Differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* strains by ribotyping: high discriminatory power by using a single restriction endonuclease. **J. Med. Microbiol.**, 40: 275-281, 1994.
17. Grundmann, H. et al. *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: reservoirs and ecology of the nosocomial pathogen. **J. Infect. Dis.**, 168: 943-947, 1993.
18. Gruner, E. et al. Ribotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from surgical intensive care patients. **J. Infect. Dis.**, 167:1216-1220, 1993.
19. Instituto Adolfo Lutz. **Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 1982. P. 533.
20. Kidd, E.E. Bacterial contamination of dialysis fluid of artificial kidney. **Brit. Med. J.**, 1: 880-882, 1964.
21. Kuikka, A.; Valtonen, V.V. Factors associated with improved outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a Finnish University Hospital. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 17: 701-708, 1998.
22. Lanyi, B.; Bergan, T. Serological characterization of *Pseudomonas aeruginosa*. **Methods Microbiol.**, 10: 93-168, 1978.
23. Lowry, P.W. et al. *Mycobacterium chelonae* infection among patients receiving high-flux dialysis in a hemodialysis clinic in California. **J. Infect. Dis.**, 161: 85-90, 1990.
24. Maki, D.G. Nosocomial bacteremia. An epidemiological overview. **Am. J. Med.**, 70:719-732, 1981.
25. Ministério da Saúde – Portaria MS – GM 82/2.000 de 03 de Janeiro de 2.000 – **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 de Fevereiro de 2.000 – Seção 1, p.13-16
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 6.ed.. Villanova: Approved Standard. M2-A6; 1997.
27. Palleroni, N.J. Genus I – *Pseudomonas*. In: **Bergey's Manual of systematic bacteriology**. Baltimore: William & Wilkins; 1986. p. 141-199.
28. Picard, B. et al. Genetic heterogeneity of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates revealed by esterase electrophoretic polymorphism and restriction fragment-length polymorphism of the ribosomal RNA gene region. **J. Med. Microbiol.**, 40: 313-322, 1994.
29. Popovic, T.; Bopp, C.A.; Wachsmuth, K. Epidemiological application of a standardized ribotype scheme for *Vibrio cholerae* O1. **J. Clin. Microbiol.**, 31: 2474-2482, 1993.
30. Romling, U. et al. A major *Pseudomonas aeruginosa* clone common to patients and aquatic habitats. **Appl. Environ. Microbiol.**, 60: 1734-1738, 1994.

Recebido em 12/05/2000; Aprovado em 29/12/2000