

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

**SUSPEITA DE PNEUMONIA ASSOCIADA VENTILAÇÃO  
MECÂNICA: O QUE REALMENTE IMPORTA PARA O  
DIAGNÓSTICO ?**

*Luciane de Fraga Gomes Martins*

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

**SUSPEITA DE PNEUMONIA ASSOCIADA VENTILAÇÃO  
MECÂNICA: O QUE REALMENTE IMPORTA PARA O  
DIAGNÓSTICO ?**

*Luciane de Fraga Gomes Martins*

**Orientador:** Prof. Dr. Josué Almeida Victorino

*Dissertação de Mestrado  
apresentada no Programa de Pós-  
Graduação em Medicina para  
obtenção do título de Mestre em  
Medicina*

2010

## **Agradecimentos**

- Aos Doutores Josué Almeida Victorino e Cícero Dias, pela orientação e estímulo à minha formação profissional e pela dedicação à pesquisa em Terapia Intensiva.
- Aos fisioterapeutas colaboradores dessa pesquisa que tornaram possível a conclusão desse estudo, pelo empenho nas coletas de dados e amostras de aspirados traqueais.
- Aos bioquímicos, biomédicos, enfermeiros, médicos, técnicos de enfermagem e secretárias do serviço de terapia intensiva que sempre dispostos, colaboraram.
- Ao Valério Martins, por todo o apoio gracioso durante a elaboração deste estudo e pela colaboração na estruturação do artigo.
- Aos meus familiares, pelo carinho, compreensão e incentivo durante o período desta pesquisa.

## SUMÁRIO

### LISTA DE ABREVIATURAS

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

RESUMO.....10

1 INTRODUÇÃO.....11

2 REVISÃO DA LITERATURA.....13

2.1 . *Aspectos gerais* .....13

2.2 . *Definição de PAV*.....13

2.3 . *Testes diagnósticos*.....14

2.4 . *Marcador inflamatório*.....23

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....25

4 HIPÓTESE.....30

4.1 . *Hipótese Nula* .....30

4.2 . *Hipótese Alternativa* .....30

5 OBJETIVOS.....30

5.1 . *Objetivo Geral* .....30

5.2 . *Objetivos Específicos* .....30

Artigo em inglês: **Suspicion of Ventilator-Associated Pneumonia: what really matters for diagnosis?**.....31

ABSTRACT õ ...õ .....32

1 INTRODUCTION.....õ .....34

2 MATERIAL AND METHODSõ ...37

2.1 Study populationõ ....õ .37

2.2 Instruments õ .37

2.3 Data collectionõ .38

2.4 Statiscal analysis õ 38

<b>3 RESULTS</b>	õ ...õ õ	40
3.1 Patientsqcharacteristics	õ ...õ õ õ õ õ	.40
<b>4 DISCUSSION</b>	.õ õ	47
<b>5 CONCLUSION</b>	õ ...õ	50
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	õ ...õ	.51
<b>REFERENCES BIBLIOGRAFICS</b>	.....	52
<b>ANEXOS</b>	.....	58
ANEXO A . Ficha de Acompanhamento	.....	58
ANEXO B . Termo de consentimento para pesquisa	.....	60
ANEXO C . Técnica de coleta e processamento do ATQ	.....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS

### ABREVIATURAS DA DISSERTAÇÃO

**AT** Ë aspirado traqueal

**ATQ** Ë aspirado traqueal quantitativo

**ATS** Ë American Thoracic Society

**BFR** - broncofibroscopia

**C** Ë celsius

**Cm** Ë centímetros

**CPIS** - Clinical Pulmonary Infection Score

**CTI** - centro de tratamento intensivo

**DPOC** Ë doença pulmonar obstrutiva crônica

**UFC**- unidade formadora de colônia

**EBP** - escovado brônquico protegido

**L** - litros

**LBA** - lavagem broncoalveolar

**MRSA** - Staphylococcus aureus metilino-resistente

**Mini-BAL** - mini-lavagem broncoalveolar

**Mg**- miligramas

**MI** - mililitros

**Mm** - milímetro

**PAV** - pneumonia associada à ventilação mecânica

**PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>** - partial pressure of arterial oxygen/fraction of inspired oxygen ratio

**PCR** - proteína C reativa

**RX** - radiografia

**SARA** - síndrome da angustia respiratória do adulto

**SOFA** - sepsis-related organ failure assessment

**VM** - ventilação mecânica

**Nota:** Várias siglas foram mantidas conforme a língua inglesa, bem como a sua definição, por assim serem conhecidas universalmente

## ABREVIATURAS DO ARTIGO EM INGLÊS

**APACHE II** - acute physiology and chronic health evaluation II

**ATB** - antibiotic

**ATS** - American Thoracic Society

**BFR** - bronchofiberoscopy

**C** - celsius

**CFU** - colony forming unit

**CmH<sub>2</sub>O** - centimeters of water

**COPD** - chronic obstructive pulmonary disease

**CRP** - C-reactive protein

**FiO<sub>2</sub>** - fraction of inspired oxygen

**HMD** - Hospital Mãe de Deus

**ICU** - intensive care unit

**MI** - mililitres

**MV** - mechanical ventilation

**PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>** - partial pressure of arterial oxygen/fraction of inspired oxygen ratio

**QTA** - quantitative tracheal aspirate

**SOFA** - sepsis-related organ failure assessment

**TA** - tracheal aspirate

**LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO EM INGLÊS**

**Figure 1.** ROC curve for C-reactive protein values from the first Day of VAP suspicion  
.....  
..43



## TABELAS DO ARTIGO EM INGLÊS

<b>Table 1</b> Ë General characteristics of the patients	õ õ õ õ õ õ õ õ õ .õ õ õ ....	41
<b>Table 2</b> Ë Main clinical and laboratorial characteristics.....	õ õ õ õ õ õ õ ..õ ...	42
<b>Table 3</b> Ë Sensitivity and specificity for the diagnosis of VAP (ATS*).....		43
<b>Table 4</b> Ë Main outcomes.....		44
<b>Table 5</b> Ë Microorganisms isolated in QTA culture.....	õ ....õ .	45
<b>Table 6</b> Ë Microorganisms isolated in VAP suspected cases.....		45
<b>Table 7</b> Ë Prescription of antibiotics.....	õ õ õ ...õ õ .....õ õ õ õ õ õ õ õ õ .....	46

## RESUMO

A pneumonia é a principal causa de morte dentre as infecções hospitalares. Quando associada à ventilação mecânica (VM) desenvolve-se após 48 horas da sua instalação. É um importante fator independente de mortalidade para os doentes graves. As limitações e imprecisões dos recursos diagnósticos incentivaram o emprego de técnicas diagnósticas de PAV (pneumonia associada à ventilação mecânica), que incluem uma variedade de métodos para coleta de material, tais como aspirado traqueal, métodos broncoscópicos e não broncoscópicos. A escolha de uma ou de outra técnica diagnóstica depende da experiência local, dos custos e da disponibilidade das diferentes técnicas. E o tratamento da pneumonia pode ser baseado nestes testes diagnósticos.

Palavras-chave: pneumonia, diagnóstico e cultura quantitativa.

## 1 È INTRODUÇÃO

A Pneumonia é definida como a infecção do parênquima pulmonar. Em sua patogênese, a principal via de infecção é a aspiração de secreções contaminadas do trato respiratório superior, mas outros mecanismos podem estar na sua origem, tais como a disseminação hematogênica a partir de focos à distância ou fontes exógenas ou pela utilização de técnicas invasivas (1).

Cerca de 60% das pneumonias nosocomiais são causadas por patógenos aeróbios Gram-negativos. Os germes mais freqüentes são *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp* e *Streptococcus aureus*. A pneumonia polimicrobiana ocorre em cerca de 1/4 a 1/5 dos casos e os fungos em cerca de 11% dos pacientes em ventilação mecânica, embora outras enterobactérias polirresistentes sejam agentes importantes. Microrganismos causadores das denominadas "pneumonias atípicas" são pouco expressivos, mas podem ocorrer raramente (5,7/1.000) como infecções por *Legionella spp*, *Mycoplasma spp*, *Chlamydia spp* e vírus.

Na Síndrome da angustia respiratória do adulto (SARA), os organismos mais freqüentes são o *Staphylococcus aureus metilino-resistente* (MRSA) (23%), as bactérias Gram-negativas não-fermentadoras (21%) e as *Enterobacteriaceae* (21%). O risco relativo para *Pseudomonas aeruginosa* é de 29,9%, aumentado quando o tempo de ventilação mecânica for superior a oito dias com uso prévio de antibióticos. O *Haemophilus influenzae* pode ser o agente da pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), mesmo após vários dias, quando não foi usada antibioticoterapia prévia. Mas pacientes imunodeprimidos podem apresentar outros microrganismos como agentes patogênicos (2).

Considerara-se que a causa é de PAV quando os sinais de infecção respiratória surgem após 48 horas na VM. É definida como precoce quando surge nos primeiros quatro dias e tardio quando se manifesta após o 5º dia. Os agentes

etiológicos mais encontrados são *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *Moraxella catarrhalis*. Seguidos de *S. aureus* metilino-resistente, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp* e *Enterobacter spp* (2).

Trata-se da principal complicação infecciosa em doentes críticos. Cada dia de VM aumenta a sua incidência em 1 a 3 %. Já a sua prevalência é difícil de estimar, uma vez que o tipo de doentes avaliados e os critérios de diagnóstico utilizados variam. Esta doença associa-se a elevada morbidade, com dificuldade de desmame do ventilador e aumento do tempo de internação hospitalar. A sua mortalidade é também elevada, variando de 24% a 50 % segundo os vários estudos, aumentando o risco de morte de 2 a 10 vezes por cada dia de intubação e ventilação mecânica (3). Devido à sua gravidade é necessário efetuar um diagnóstico adequado para melhor orientar o tratamento, uma vez que o uso precoce de antibioticoterapia melhora o seu prognóstico e associa-se a uma redução significativa da mortalidade (4,5).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 . Aspectos gerais

O diagnóstico de pneumonia nem sempre é fácil, pois os critérios clínicos e radiológicos são pouco específicos e os exames padrões que permitem um diagnóstico definitivo são caros o que dificulta seu uso rotineiro e sistemático (6). Com o intuito de contornar estas dificuldades e de propor alternativas para o diagnóstico de pneumonia, vários trabalhos têm sido desenvolvidos na última década a respeito deste tema, mas ainda não há consenso nas pesquisas para definir a melhor estratégia a ser seguida.

A colonização generalizada da orofaringe e traquéia destes doentes por microrganismos potencialmente patogênicos contamina culturas de expectoração, de aspirado traqueal, assim como as amostras colhidas por exames broncoscópicos de rotina. Pode, por isso, não refletir com exatidão a flora microbiana da infecção. Este fato levou ao desenvolvimento de técnicas de coleta, com proteção das amostras e de culturas quantitativas de forma a permitir distinguir colonização de infecção (7).

### 2.2 . Definição de PAV

A PAV foi, durante muitos anos, diagnosticada pelos critérios clínicos definidos, em 1972, por Johanson (8). Atualmente é definida pela presença de pelo menos dois critérios clínicos: febre ( $>38.4^{\circ}\text{C}$ ) ou hipotermia ( $<36.50^{\circ}\text{C}$ ), secreções traqueais purulentas e leucocitose ( $> 11.000$ ) ou leucopenia ( $< 4.000$ ), associados à presença de infiltrado pulmonar novo ou progressivo. Estes critérios apresentam uma sensibilidade elevada, com valor preditivo negativo, mas uma especificidade baixa (2,6,9).

Quando Wunderink tentou determinar a utilidade da radiografia no diagnóstico de PAV, não encontrou nenhuma alteração radiológica, isolada ou associada, a achados clínicos que fosse suficientemente sensível e específica para confirmar de forma viável o diagnóstico de PAV. A sensibilidade da presença de infiltrados alveolares é de 50% a 78 %, aumentando para 58% a 83%, quando existe broncograma aéreo e quando comparado o exame radiológico com técnicas invasivas ou critérios histológicos (10).

A maioria dos trabalhos não fornece a informação relativa ao número de doentes ventilados sem pneumonia e com radiografia normal. Também a especificidade da radiografia do tórax é desconhecida. A qualidade das radiografias efetuadas em aparelhos portáteis é baixa, não permitindo interpretá-las de forma segura e isenta de erros. Também a exatidão na interpretação das radiografias ainda não foi exaustivamente avaliada. Estas dificuldades levam, freqüentemente, a erros de diagnóstico, com conseqüente uso excessivo de antibióticos de largo espectro em doentes sem pneumonia.

Este fato é importante, pois a prescrição inapropriada de antibióticos predispõe à emergência de cepas resistentes (11). Por outro lado, o subdiagnóstico de PAV leva a não instituição de antibioticoterapia em doentes com pneumonia, contribuindo assim para o agravamento da morbidade e conseqüentemente a mortalidade. Este aspecto é particularmente importante em doentes com SARA, uma vez que as duas entidades se confundem clínica e radiologicamente (12). Segundo Andrews, os critérios clínicos levam ao erro de diagnóstico em 29 % dos casos. Já para Bell, os erros são de 62 % nos doentes com esta patologia (13,14).

### *2.3 . Testes diagnósticos*

Os testes de diagnóstico são pedidos para dois propósitos: para definir se o paciente tem ou não uma pneumonia, explicando uma constelação de novos

sinais e sintomas, e para determinar a etiologia patogênica quando a pneumonia está presente (7). As linhas de orientações definidas por consenso internacional defendem que os critérios clínicos associados a alterações radiológicas podem ser usados no rastreio inicial de pneumonia, mas devido à sua pouca especificidade, são necessários procedimentos adicionais no trato respiratório inferior (2,3).

A coleta de aspirado traqueal (AT) consiste na introdução, às cegas, de um cateter esterilizado através do tubo endotraqueal, seguido de aspiração suave de secreções traqueais. Este material é analisado por exame de microscopia do esfregaço corado por Gram e culturas qualitativas ou quantitativas (15). Quando o doente não possui secreções, instilam-se 5 mililitros (ml) de soro fisiológico através do tubo endotraqueal e aspira-se posteriormente, sendo necessária a recuperação mínima de 1ml de aspirado. Esta técnica é freqüentemente utilizada em centros de terapia intensiva pela sua simplicidade e facilidade de execução, com pessoal pouco treinado gerando um baixo custo às clínicas (16).

As culturas qualitativas de AT identificam, geralmente, os mesmos microrganismos encontrados em amostras colhidas por técnicas invasivas, possuindo, por isso, uma elevada sensibilidade, sendo sua especificidade, no entanto, baixa, pois identificam também microrganismos colonizantes. Esta baixa especificidade é corroborada por Fagon e colaboradores, os quais encontraram uma taxa elevada de falsos positivos quando compararam resultados de culturas de AT com estudos biópticos (17,18). A combinação de culturas qualitativas e dados clínicos têm também uma taxa de falsos positivos, inaceitavelmente elevada. Por outro lado, a negatividade das culturas qualitativas de AT diminui a probabilidade de existir pneumonia, a menos que o doente tenha sido tratado previamente com antibióticos (19).

A detecção de bactérias com cobertura de anticorpos, desenvolvida para tentar distinguir colonização de infecção, pressupondo que uma infecção provoca uma resposta de anticorpos no hospedeiro, não é um indicador seguro de

pneumonia e por isso não é recomendado. O mesmo acontece com a detecção de fibras de elastina, através do uso de hidróxido de potássio a 40 %, a qual foi proposta como um método rápido e econômico de demonstração da destruição do parênquima pulmonar (16).

A dificuldade em distinguir colonização, infecção e contaminação ou de diferenciar infecção do trato respiratório superior e inferior levou ao desenvolvimento de culturas quantitativas para coleta de aspirado traqueal. O limiar diagnóstico mais utilizado é  $10^6$  unidade formadora de colônia (UFC) /ml. A sua sensibilidade varia de 38% a 100% e a sua especificidade de 14% a 100%, sendo o valor preditivo negativo elevado em doentes não tratados previamente com antibióticos. Quando comparados os resultados de culturas quantitativas obtidas por aspiração traqueal com os obtidos por técnicas broncoscópicas, alguns trabalhos verificaram que os primeiros apresentam boa sensibilidade e especificidade, mesmo em doentes com má resposta a antibioticoterapia. Nem todos os estudos, no entanto, tem verificado estes resultados, tendo sido observada uma baixa especificidade mesmo com o uso de culturas quantitativas (2,3,19,20).

Algumas limitações têm sido apontadas às culturas quantitativas de AT devido à dificuldade em interpretar os resultados que variam de acordo com o estado imunitário do hospedeiro: a carga patogênica, a duração da ventilação mecânica e o uso prévio de antibióticos (3,16). A padronização dos métodos de coleta e das técnicas microbiológicas ainda não foi realizada. Também aumentam os custos dificultando o seu emprego de maneira rotineira em todos os hospitais. Assim, por consenso internacional, não há evidência de que o Gram e a cultura do AT possam ser úteis no diagnóstico de PAV.

O escovado brônquico protegido (EBP) e a lavagem broncoalveolar (LBA) orientadas por broncofibroscopia (BFR) foram introduzidas com o intuito de obter secreções, o menos contaminadas possível, do trato respiratório inferior. A sua



validação foi baseada em trabalhos que compararam estas duas técnicas com o exame histopatológico e com culturas quantitativas do parênquima pulmonar, demonstrando vantagens em relação a critérios clínicos, radiológicos e as técnicas de coleta não invasivas (17,18,21,22). Trabalhos de Fagon mostraram também que o uso de técnicas broncoscópicas melhora o prognóstico e leva ao menor consumo de antibióticos, assim como a menor mortalidade, do que abordagens não invasivas (17,23,24).

No entanto, nem todos os estudos têm demonstrado o seu valor. Ruiz, por exemplo, comparou culturas quantitativas de AT com EBP e LBA dirigidos por BFR, e verificou que o campo diagnóstico com técnicas invasivas e não invasivas para a PAV é similar (25). A EBP consiste na coleta de secreções do trato respiratório inferior através de cateter protegido, que é inserido por intermédio do canal de trabalho do broncofibroscópio, após o seu encravamento no brônquio segmentar ou subsegmentar a ser estudado. O cateter exterior é colocado 2 a 3 centímetros além da ponta do broncoscópio e, após a retirada da rolha de proteção, avança-se o cateter interno para o segmento brônquico, exterioriza-se a escova e realiza-se o escovado. Após recolocação da escova dentro do cateter protetor e deste dentro da bainha exterior, todo o sistema é retirado do broncofibroscópio. Coloca-se, então, o material colhido num recipiente esterilizado, com 1ml de soro fisiológico. Amostras com menos de 1ml de fluido no EBP devem ser rejeitadas. O material é enviado imediatamente para o laboratório, para realização de culturas quantitativas (3,26,27).

O limiar utilizado na técnica de EBP para diferenciar colonização de infecção é  $\geq 10^3$  UFC/ml. A sua sensibilidade situa-se em média, em 67 % (com mínimo de 33% e máximo de 100%) e a especificidade em 95% (com mínimo de 50 % e máximo de 100%) (26, 27, 47). Na lavagem broncoalveolar, o broncofibroscópio é encravado num brônquio segmentar ou subsegmentar. Injetam-se 20ml de soro fisiológico até perfazer 100-150 ml. Assim, o fluido que retorna será de bronquíolos e alvéolos distais do segmento, diminuindo o risco de

contaminação do material e obtendo um lavado dessa área. A primeira seringa é eliminada, recuperando-se o restante lentamente com aspiração suave, após o lavado é transportado de imediato para análise microbiológica.

Por vezes, utiliza-se um cateter protegido para minimizar o efeito da contaminação. Quando ocorre menos de 10% de recuperação ou quando são observadas mais de 1% de células epiteliais deverá ser rejeitado. O limiar definidor de infecção é  $\geq 10^4$  UFC/ml. A sensibilidade desta técnica é de 73% (com mínimo de 42% e máximo de 93%) e a sua especificidade é de 82% (com mínimo de 45 % e máximo de 100%). Apesar destes valores, existe um risco de não diagnosticar pneumonia em quase 1/4 dos doentes e o diagnóstico ser incorreto em cerca de 1/5 das situações (26,28).

Outra técnica microbiológica que tem sido desenvolvida é a pesquisa de agentes patogênicos intracelulares no LBA ( $\geq 5$  % de neutrófilos ou macrófagos com agentes intracelulares no esfregaço corado com Wright-Giemsa). Esta técnica tem sido considerada muito específica (89% a 100 %) e com elevado valor preditivo positivo, mas não muito sensível (37% a 100 %) (3,29).

Numa meta-análise efetuada foi feita uma comparação entre as duas técnicas broncoscópicas, constatou-se que nenhuma apresenta benefício sobre a outra, sendo o LBA geralmente mais sensível e o EBP mais específico. Também não ficou esclarecido se as duas técnicas são complementares. Em relação ao EBP, o LBA tem a vantagem de colher uma amostra representativa de uma área maior do pulmão, não sofrendo o efeito negativo da antibioticoterapia e envolve menos custos, mas tem a desvantagem de provocar mais hipoxemia e apresenta maior risco de contaminação (27).

Uma limitação do uso das técnicas é o efeito da antibioticoterapia prévia, sobretudo quando iniciada ou alterada nas 72 horas prévias à realização das coletas, a qual diminui a sensibilidade das culturas, levando muitas vezes a

resultados falsos negativos. Isto se verifica, sobretudo para o EBP, pelo fato de representar uma área menor do pulmão. No entanto, em doentes tratados com antimicrobianos dirigidos à outra fonte de infecção, o diagnóstico não é afetado (30,31).

Apesar de estas técnicas serem bem toleradas e consideradas seguras, elas não estão isentas de riscos, pois as complicações inerentes à realização de BFR acrescem os riscos associados à própria técnica. A hipóxia e hipercapnia secundárias a alterações das trocas gasosas são as complicações mais importantes e freqüentes, principalmente com o LBA. A realização de lavagem broncoalveolar associa-se também ao bronco espasmo, instabilidade hemodinâmica e, raramente, a síndrome *sepsis-like* (32). O risco de hemorragia brônquica, sobretudo em doentes com coagulopatias e de pneumotórax deve estar presente, especialmente quando se realiza a EBP (6).

Além do efeito da antibioticoterapia e dos riscos inerentes ao seu uso, as técnicas broncoscópicas apresentam outras limitações: são caras, exigem pessoal especializado, consomem tempo, nem sempre estão disponíveis, não são absolutamente assépticas e os resultados não se obtêm de forma imediata. Os métodos broncoscópico e bacteriológico também não estão padronizados e há estudos mostrando que o prognóstico (morbidade e mortalidade) da PAV não é influenciado por investigações microbiológicas invasivas ou não (16,33).

A aspiração brônquica, a mini-lavagem broncoalveolar (mini-BAL) e o escovado brônquico protegido, realizados sem controle visual foram desenvolvidas com o objetivo de ultrapassar algumas das limitações da BFR (7). A mini-lavagem broncoalveolar pode ser realizada através de cateter protegido ou não<sup>1</sup>. O primeiro método oferece maior confiança e não necessita de mais manipulações do que o método não protegido. O cateter é inserido através do tubo endotraqueal e

---

<sup>1</sup> Geralmente cateter telescópico de bainha simples, com 50 cm, esterilizado e tapado com uma rolha de polietileno glicol.

avanzado sem controle visual até uma via aérea distal, onde é encravado. Quando se realiza de forma não protegida, injetam-se 20 ml de soro fisiológico esterilizado pela extremidade proximal do cateter e depois se aspira suavemente.

Se a técnica for protegida, retira-se a rolha e se passa um segundo cateter esterilizado através do primeiro, que avança até o local. Injetam-se 20 ml de soro fisiológico através do cateter interno e, em seguida, faz-se uma aspiração ligeira, sendo necessária a recuperação de pelo menos 2 ml de lavado para realização de exame microbiológico. A concentração bacteriana considerada significativa é de  $10^3$  a  $10^4$  UFC/ml nas culturas quantitativas. A sua sensibilidade é estimada em 63% a 100% e a sua especificidade em 66% a 96 % (34,35). A variabilidade das sensibilidades e especificidades nos diferentes trabalhos resulta do tipo de população estudada, do uso de antibioticoterapia antes da realização das coletas e do teste de referência utilizado.

Vários estudos encontraram os resultados obtidos por estas técnicas comparáveis aos obtidos por técnicas broncoscópicas (34,35,36,37). Num estudo de Bregeon, o aspirado brônquico distal protegido e o mini-BAL têm boa especificidade e uma sensibilidade aceitável para o diagnóstico de PAV, quando comparados com o exame histológico e as culturas de tecido pulmonar (38). Estas técnicas têm sido consideradas uma alternativa com boa relação custo-benefício às técnicas invasivas. Requerem pouca preparação técnica, são rápidas, seguras, capazes de atravessar tubos endotraqueais muito finos, de 4 milímetro (mm), proporcionam menos desconforto ao doente e são menos onerosas. Além disso, os efeitos colaterais parecem mínimos ou, no máximo, similares aos da BFR (35).

Uma limitação apontada é a dificuldade em dizer que parte do pulmão está sendo analisada (35). Entretanto, determinados autores consideram que na pneumonia nosocomial as bactérias podem ser encontradas em qualquer parte do pulmão, diminuindo assim essa limitação. Por outro lado, a PAV é multifocal, geralmente mais intensa no pulmão direito e predomina em áreas dependentes.

Assim, um cateter introduzido às cegas no pulmão dirige-se quase sempre para um segmento dependente do pulmão direito. E quando instilado soro fisiológico obtém-se fluidos e secreções, provavelmente desse segmento (28,39).

Estas técnicas parecem promissoras, mas apesar dos vários estudos desenvolvidos, ainda nenhuma se encontra estandardizada, nomeadamente em relação ao tipo de cateter utilizado, sua posição, volume de fluido instilado na mini-BAL e técnicas microbiológicas (3,34). Várias dúvidas envolvem os métodos diagnósticos, como a variabilidade de sensibilidade e de especificidade e a valorização do resultado quando a coleta é realizada durante antibioticoterapia (7).

A indicação de um método invasivo para coleta de material das vias aéreas inferiores visando diagnóstico do agente etiológico deve considerar os riscos e benefícios e a facilidade de realização de cada método (7). Observe em seguida a tabela que apresenta a sensibilidade e especificidade das técnicas de coletas de culturas quantitativas. (7)

Técnicas	Sensibilidade:	Especificidade:
Aspiração traqueal	38-100 %	14-100%
Escovado brônquico dirigido por BFR	67 (33-100%)	95 (50-100%)
Lavagem broncoalveolar dirigida por BFR	73 (42-93 %)	82 (45-100%)
Pesquisa de bactérias intracelulares no LBA	89-100 %	37-100 %
Aspiração brônquica não dirigida	74-97 %	74-100 %
Escovado brônquico não dirigido	58-86 %	71-100%
Minilavagem broncoalveolar não dirigida	63-100 %	66-96 %

O aspirado traqueal tem valor semelhante ao escovado broncoscópico e pode ser realizado facilmente sem as dificuldades e os riscos da broncoscopia. A mini-BAL, realizada às cegas e com cateter especial, é utilizada para coletar

material das regiões mais dependentes e inferiores dos pulmões e tem boa correlação com o EBP. Quando o objetivo for realizar lavado broncoalveolar dos lobos superiores, indica-se o método broncoscópico (40).

Existe uma recomendação para a obtenção de amostras do trato respiratório inferior logo que se suspeite de PAV, desencorajando o uso isolado de Gram e culturas qualitativas de aspirados endotraqueais. Mas não há evidência de que os testes quantitativos melhorem os resultados ao tratamento empírico. Ainda não foi determinado o impacto das técnicas invasivas no prognóstico e na diminuição da mortalidade. Há pesquisas que mostram que o uso destas técnicas se associa a um melhor prognóstico, com menor tempo de VM, menor tempo de internação, menor uso de antibióticos e menor mortalidade, enquanto que em outros estudos não se verifica (2,3,41).

As técnicas invasivas permitem reduzir o espectro do antibiótico de acordo com os resultados das culturas. A suspensão segura da antibioticoterapia quando os resultados das culturas são negativos e a atenção para outros possíveis locais de infecção extrapulmonar proporcionam uma informação epidemiológica útil, na qual podemos basear a antibioticoterapia empírica. A suspensão dos antibióticos quando os testes invasivos não confirmam pneumonia não se associou à recorrência da mesma ou a aumento da mortalidade (40). O aumento dos custos com BFR e técnicas quantitativas é compensado por uma melhor racionalização do uso dos antibióticos levando a redução dos gastos e do desenvolvimento de cepas resistentes (39,45).

A importante vantagem dos métodos não broncoscópicos é a facilidade técnica e a segurança com que podem ser executados. Não é exigido que o médico execute ou supervisione estes procedimentos. Isto reduz o seu custo e permite que o material seja obtido no momento mais oportuno, especialmente em relação ao início da terapia antimicrobiana. A técnica mini-BAL foi realizada por fisioterapeutas respiratórios empregando-se como limiar o valor de 1.000 ufc/ml,

portanto menor que o padrão, sendo validada para o diagnóstico de PAV, comparando-se com o exame histológico de tecido pulmonar obtido ~~postmortem~~. O mini-BAL também foi realizado por fisioterapeutas respiratórios para o diagnóstico de infecções oportunistas, inclusive por *Pneumocystis carinii*, em pacientes infectados ou colonizados (40, 42, 43, 44).

Tradicionalmente considera-se como a principal desvantagem dos métodos não broncoscópicos a sua menor especificidade, identificando maior número de microrganismos que os métodos broncoscópicos (EBP ou LBA) (39,41). Isto pode aumentar o custo devido ao emprego de antibióticos adicionais, ou seja, tratar todos os microrganismos identificados. Porém, esta menor especificidade não é universalmente aceita. Como vimos anteriormente, investigações mais recentes demonstraram que estas técnicas têm características semelhantes e, freqüentemente, superiores para o diagnóstico de PAV (38,40).

Apesar dos avanços substanciais no diagnóstico da PAV, ainda há muita controvérsia acerca deste assunto. Assim, sugere-se a seguinte orientação: a suspeita de pneumonia deve surgir quando se verifica a presença de pelo menos dois critérios clínicos. Deve-se, então, realizar uma radiografia (RX) do tórax. Se esta for normal, devem ser pesquisadas outras causas, mas se mostrar infiltrados alveolares ou broncograma aéreo ou se há agravamento de infiltrados anteriores, recomenda-se duas opções: ou a realização de testes quantitativos, orientados ou não por BFR (pois não há evidência da superioridade de um teste invasivo sobre outro) ou, então, a antibioticoterapia empírica e a execução de testes qualitativos (3, 46).

#### 2.4 Marcador inflamatório

A análise microbiológica do aspirado traqueal com *Pseudomonas aeruginosa* acima de 1,000,000 UFC/ml e maior que 10,000 UFC/ml no LBA demonstrou ter maior risco de morte nos pacientes sem critérios clínicos de PAV

do que nos indivíduos que apresentavam sinais de PAV. A razão de risco foi de 37,53 com intervalo de confiança de 95% entre 3,79-371,96 ( $p= 0,002$ ) (29). Este estudo também mostrou altos níveis de contagem de proteína C reativa (PCR) em pacientes com elevada contagem de *Pseudomonas*. A PCR é uma proteína reagente de fase aguda cuja concentração plasmática aumenta, ou diminui, em 25% ou mais em resposta a inflamação induzida por trauma, alterações metabólicas, imunológicas, infecciosas ou outro processo em qualquer lugar do corpo (29,44). Durante a resposta de fase aguda os níveis de PCR podem aumentar acima de 10 mg (miligramas) /litros (L) e mesmo níveis altos como 100-200 mg/L podem ser encontrados (44).

Vários esquemas de antimicrobianos podem ser utilizados. No paciente com PAV, a antibioticoterapia correta diminui a mortalidade. A orientação terapêutica empírica dependerá do conhecimento da microbiologia local e da sua sensibilidade. A antibioticoterapia deve ser feita contra as bactérias mais comuns e com antimicrobianos específicos, através do conhecido padrão de sensibilidade e resistência dos germes locais. Após chegarem os resultados das culturas (hemocultura, secreções das vias aéreas inferiores, líquido pleural), o esquema de antimicrobianos deverá ser acertado (3, 45, 48,49).

A escolha de uma ou de outra técnica diagnóstica depende da experiência local, dos custos e da disponibilidade das diferentes técnicas. E o tratamento da pneumonia deve ser baseado nestes testes diagnósticos (3, 31, 44). Sendo assim, as culturas quantitativas de aspirado traqueal é um método confiável para detectar germes em pacientes com pneumonia. Ainda não existe um padrão definido da contagem ideal para esse diagnóstico que pode variar de 10.000 até 10.000.000 UFC/ml (29,48). A identificação de um ponto de corte com maior sensibilidade propiciará o diagnóstico, possibilitando uma melhor orientação no uso adequado dos antibióticos, reduzindo o tempo de ventilação mecânica, o tempo de internação no centro de tratamento intensivo (CTI) e a mortalidade.



### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Glen Mayhall C. Ventilator-Associated Pneumonia or Not? Contemporary Diagnosis. *Emerging Infectious Diseases*, 2001. Centers for Disease Control.
2. American Thoracic Society. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Med* 2005; 171 388-416.
3. Grossman R, Fein A. Evidence-based assessment of diagnostic tests for ventilator-associated pneumonia. Executive summary. *Chest* 2000; 117 (4 Suppl 2): 177S-181S.
4. Heyland DK, Cook DJ, Griffith L, et al. The attributable morbidity and mortality of ventilator-associated pneumonia in the critically ill patient: the Canadian Critical Trials Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1249-1256.
5. Luna CM, Vujacich P, Niederrman MS, et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997; 111: 676-685.
6. Fagonj-y, Chastre J, Hance AJ, et al. Evaluation of clinical judgment in the identification and treatment of nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest* 1993; 103:547-53.
7. Machado MA, Magalhães A, Hespanhol V. Dificuldades no diagnóstico da pneumonia associada ao ventilador. *Rev Port Pneumol* 2003; 6: 503-514.
8. Johanson WG JR, Pierce AK, Sanford JP, Thomas GD. Nosocomial respiratory infections with gram negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. *Ann Intern Med* 1972; 77: 701-706.
9. Wunderink RG. Clinical criteria in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000; 117: 191S-194S.
10. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, et al. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated. *Chest* 1992; 101: 458-463
11. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann Intern Med* 2001; 134:298-314.

12. Timsit JF, Misit B, Goldnestein FW, et al. Reappraisal of diagnosis testing in diagnosis of ICU-acquired pneumonia. *Chest* 1995; 108: 1632-1639.
13. Andrews CP, Coalson JJ, Smith JD, et al. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest* 1981; 80: 254-258.
14. Bell RC, Coalson JJ, Smith JD, et al. Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med* 1983; 99:293-298.
15. Kirtland SH, Corley DE, Winterbauer RH, et al. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia. A comparison of histology, microbiology and clinical criteria. *Chest* 1997; 112: 445-457.
16. Cook D, Mandell L. Endotracheal Aspiration in the Diagnosis of Ventilator-Associated Pneumonia. *Chest* 2000; 117: 195S-197S.
17. Fagon J-Y, Chastre J, Hance AJ, et al. Detection of nosocomial lung infection in ventilated patients: use of a protected specimens brush and quantitative culture techniques in 147 patients. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138:110-116.
18. Hill JD, Ratliff JL, Parrot JCW, et al. Pulmonary pathology in acute respiratory insufficiency: lung biopsy as a diagnostic tool. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1976; 71:64-71.
19. EL-Ebiary M, Torres A, Gonzales J, et al. Quantitative cultures of endotracheal aspirates for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1552-1557.
20. Jourdain B, Novara A, Joly-Guillou M-L, et al. Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 241-6.
21. Chastre J, Fagon JY, Bornet-Lecso M, et al. Evaluation of bronchoscopic techniques for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am Rev Respir Crit Care Med* 1995; 152: 231-240.
22. Heyland DK, Cook DJ, Marshall J, et al. The clinical utility of invasive diagnostic techniques in the setting of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1999; 115: 1076-1084.

23. Fagon J-Y, Chastre J, WoittM, et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. *Ann Intern Med* 2000; 132: 621-630.
24. Fagon J-Y, Chastre J, and on Behalf of the Vap Trial Group. Comparison of two diagnostic strategies in patients with a clinical suspicion of ventilator associated pneumonia (VAP). *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: A518.
25. Ruiz M, Torres A, Ewig S, et al. Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia. Evaluation of outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 119-125.
26. Torres A, EL-Ebiary M. Bronchoscopic BAL in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000; 117: 198S-202S.
27. Baughman RP. Protected-Specimen Brush technique in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000; 117: 203S-206S.
28. Chastre J, Combes A, Luyt C. The invasive (quantitative) diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Med* 2005; 50: 797-812.
29. Zhuo H, Yang K, Lynch S, et al. Increased mortality of ventilated patients with endotracheal *Pseudomonas aeruginosa* without clinical signs of infection. *Crit Care Med* 2008; 36: 2495-2502.
30. Marik PE, Lynott J, Croxton M, et al. The effect of blind- protected specimen brush sampling on antibiotic use in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *J Intensive Care Med* 2001; 16:42-46.
31. Tinsit JF, Misset B, Renaud B, et al. Effect of previous antimicrobial therapy on the accuracy of the main procedures used to diagnose nosocomial pneumonia in patients who are using ventilation. *Chest* 1995; 108: 1036-40.
32. Meduri GU. Diagnosis of Ventilator-Associated Pneumonia. *Infect Dis Clin North Am* 1993; 7:295-329.
33. Gomes JCP, Pedreira WL, Araujo EMP, et al. Impact of BAL in the management of pneumonia with treatment failure: positivity of BAL culture under antibiotic therapy. *Chest* 2000; 118: 1739-1746.
34. Campbell GD. Blinded invasive diagnostic procedures in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000; 117: 207S- 211S.

35. Gauvin F, Lacroix J, Guertin MC, et al. Reproducibility of blind protected bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated children. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1618-1623.
36. Kollef MH, Wards S. The influence of mini-BAL cultures on patients outcomes: implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1998; 113: 412-420.
37. Bellos, Tajada A, Chacon E, et al. Blind+protected specimen brushing versus bronchoscopic techniques in the etiological diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 1996; 9: 1494-1499.
38. Bregeon F, Papazian L, Thomas P, et al. Diagnostic accuracy of protected catheter sampling in ventilator associated bacterial pneumonia. *Eur Respir J* 2000; 16 (5): 969-975.
39. Godard J, Allaouhoiche B. Bronchopneumopathies nosocomiales en réanimation: valeur des différents outils diagnostiques. *Ann Fr Anesth Reanim* 1994; 13: 699-704.
40. Papazian L, THOMAS P, GARBEL , et al. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1982.
41. Noyal M J, Sujathas S, et al. Ventilator-associated pneumonia - A review. *European Journal of Internal Medicine* 2010; 21: 360. 368
42. Rouby JJ, De Lassale EM, Poete P, et al. Nosocomial bronchopneumonia in the critically ill. Histologic and bacteriologic aspects. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 1059.
43. Kollef, MH, Bock, KR, Richards, RD, Hearn, ML. The safety and diagnostic accuracy of minibronchoalveolar lavage in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Ann Intern Med* 1995; 122: 743.
44. Koeing W, Pepys MB. C-reactive protein risk prediction: Low specificity, high sensitivity. *Ann Intern ed.* 2002; 136(7):550-2.
45. Singh N, Rogers P et al. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the Intensive Care Unit a proposed solution for

- indiscriminate antibiotic prescription. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 505-511.
46. Calandra T, Cohen J. The International Sepsis Forum Consensus Conference on Definitions of Infection in the Intensive Care Unit. *Crit Care Med* 2005; 33: 1538-1548.
47. Tegerina E, Estebana, et al. Accuracy of clinical definitions of ventilator-associated pneumonia: comparison with autopsy findings. *J Crit Care* 2010. Mar;25(1):62-8.
48. Valencia M Arango et al. Diagnostic value of quantitative culture of endotracheal aspirate pneumonia acquired during mechanical ventilation. Multicenter Study. *Arch Bronconeumol*. 2003; 39:394-9
49. Esperetti M, Ferrer M. Nosocomial Pneumonia in the Intensive Care Unit Acquired during Mechanical Ventilation or Not. American Thoracic Society, August 2010.

## 4 HIPÓTESES

### 4.1 Hipótese Nula

A técnica de aspirado traqueal quantitativo analisada com contagem de  $10^6$  UFC/ml detecta mais precocemente germes relacionados à infecção respiratória, quando comparado com o ponto de corte de  $10^5$  UFC/ml.

### 4.2 Hipótese Alternativa

A técnica de aspirado traqueal quantitativo analisada com contagem de  $10^5$  UFC /ml detecta mais precocemente germes relacionados à infecção respiratória, quando comparado com o ponto de corte de  $10^6$  UFC/ml.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Geral

Validar a técnica de aspirado traqueal quantitativo no diagnóstico de pneumonia.

### 5.2 Específico

Comparar a confiabilidade de dois pontos de corte na análise laboratorial de aspirado traqueal quantitativo no diagnóstico bacteriológico de pneumonia.

Associar quantidade de UFC/ml com níveis de PCR e mortalidade dos pacientes suspeitos de infecção respiratória.

## SUSPICION OF VENTILATOR-ASSOCIATED PNEUMONIA: WHAT REALLY MATTERS FOR DIAGNOSIS?

*Luciane de Fraga Gomes Biz  
Josué Almeida Victorino  
Research Group on PAV\**

Centro de Tratamento Intensivo  
Hospital Mãe de Deus  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

**Correspondence to:**  
***Luciane de Fraga Gomes Biz***  
Centro de Tratamento Intensivo  
Hospital Mãe de Deus  
Rua Jose de Alencar, 286  
Porto Alegre, RS . Brasil . 90880480  
Fone: (51) 81598395  
e-mail: [lugomesm@hotmail.com](mailto:lugomesm@hotmail.com)

\* Research Group: Cícero Dias, Maria Cristina Martins Moraes.

## SUSPICION OF VENTILATOR-ASSOCIATED PNEUMONIA: WHAT REALLY MATTERS FOR DIAGNOSIS?

### ABSTRACT

**Introduction:** The limitations and inaccuracy of the diagnosis resources of mechanical ventilator-associated pneumonia (VAP) motivated the use of quantitative tracheal aspirate techniques to the distinction between colonization and infection.

**Objective:** To validate the quantitative tracheal aspirate technique in the diagnosis of VAP, associated factors and evolution.

**Material and Methods:** This study is a prospective observational cohort. Patients admitted in the Intensive Care Unit (ICU) from March 2009 to June 2010 were studied.

A quantitative cultures of tracheal aspirate (QTA) sample and a C-reactive protein (CRP) dosage were collected in all cases whenever there was clinical suspicion. The diagnosis of pneumonia is based on clinical, radiological and laboratorial criteria, according to the American Thoracic Society. Comparisons between groups were done by Student's t test, Mann-Whitney U test and chi-square ( $\chi^2$ ) test. The significance level was established as  $p < 0.05$ .

**Results:** We analyzed 193 cases of patients with clinical suspicion of pneumonia. The VAP incidence was 34.2%, from which 59% were male patients ( $p = 0.749$ ). The QTA exam  $\geq 10^5$  CFU/ml ( $n = 15$ ) showed an RR=1.3 (CI 95% 0.58-3.04)  $p = 0.492$ , and QTA  $\geq 10^6$  CFU/ml (104) had an RR=2.9 (CI 95% 1.85-4.66)  $p < 0.001$  for VAP diagnosis. Quantitative tracheal aspirates with a growth of  $10^5$  UFC/ml and  $10^6$  UFC/ml had a sensitivity of 87.9% and 81.8%, and specificity of 52.0% and 60.6%, respectively. CRP had a median of 125 mg/L (53-203) in the



non-VAP group versus 195.5mg/L (131-271) in the VAP group ( $p=0.001$ ). The cases of death were not influenced by the adequate treatment as indicated in QTA. 56% (n=91) of the patients who received the proper antibiotics died ( $p=0.8$ ).

**Conclusions:** It is not possible to define the diagnosis of VAP utilizing only one criterion. It is necessary to associate clinical, laboratorial, radiological and, if possible, microbiological parameters in order to assure the identification.

Keywords: pneumonia, diagnosis, quantitative culture.

## 1 INTRODUCTION

The occurrence of VAP is considered when signs of respiratory infection arise after 48 hours on mechanical ventilation (1,2). It is the main infectious complication in critical patients. Each day in mechanical ventilation increases its incidence from 1% to 3%. This disease is related to a high morbidity rate with difficulty in weaning from the ventilator and increase of the hospital admission period. It presents high mortality, which varies from 24% to 50%, raising the risk of death from 2 to 10 times for each day on mechanical ventilation (3,4,5). There is still no agreement in literature to define the best diagnosis strategy to be used.

According to the American Thoracic Society, VAP is defined by the presence of at least two of the following clinical criteria: fever ( $>38.4^{\circ}\text{C}$ ) or hypothermia ( $<36.5^{\circ}\text{C}$ ), purulent tracheal secretions and leukocytosis ( $>11000$ ) or leucopenia ( $<4000$ ), associated with the presence of a new or progressive pulmonary infiltrate. These criteria present high sensitivity with elevated negative predictive value, but with low specificity (2,6,7,8).

According to Wunderink, the sensitivity in the presence of alveolar infiltrates goes from 50% to 78%, increasing to 58% to 83% when there is air bronchogram and when the radiological exam is compared to invasive techniques or histological criteria (9). Radiological limitations frequently lead to diagnosis errors, with the consequent excessive use of antibiotics in patients with no pneumonia (10,11).

Andrews points out that clinical criteria lead to diagnosis errors in 29% of the cases and, according to Bell, in 62% of the patients with this pathology (12,13). The microbiological diagnosis tests are requested with two purposes: to define whether the patient has pneumonia or not, explaining the new signs and symptoms and, thus, to determine the pathogenic etiology when there is pneumonia (7). The guidelines defined by international agreements state that the clinical criteria

associated to radiological alterations can be used in the initial tracking of pneumonia, but, due to its low specificity, additional procedures, such as cultures of the lower respiratory tract, are necessary (2,3,14,15).

The difficulty in distinguishing colonization, infection and contamination led to the development of quantitative cultures to the collection of tracheal aspirate. The most used diagnosis threshold is  $10^6$  colony-forming unit (CFU)/milliliter (ml). Its sensitivity varies from 38% to 100% and its specificity from 14% to 100%, and the negative predictive value in patients who were not previously treated with antibiotics is high (16-21).

The immunological state of the patient, the pathogenic load, the duration of mechanical ventilation and the previous use of antibiotics are limitations to the quantitative cultures of tracheal aspirate (QTA) (3,15). The standardization of the collection methods and of the microbiological techniques is not defined yet (21,22,23). Thus, there is no evidence that the microscopic gram stain examination and the culture of the tracheal aspirate (TA) can be useful in the diagnosis of VAP (24). The main disadvantage of the non-bronchoscopic methods is considered to be their lower specificity, since they identify a larger number of microorganisms than the bronchoscopic methods (25-28).

However, recent researches show that these techniques have similar and often superior features for the diagnosis of VAP (29-32). The major difficulty in the diagnosis of pneumonia is the absence of a gold standard test to compare the results. Even the best criteria regarding the existence of pneumonia, performed in post-mortem examination, may be imprecise (14,33).

The suspicion of pneumonia arises when at least two clinical criteria are verified. Then, a thoracic radiograph must be taken, and two options are recommended: either the performance of quantitative tests, oriented or not by bronchofiberoscopy (BFR), because there is no evidence of the superiority of an

invasive test over any other, or the empirical antibiotic therapy and the execution of qualitative tests (2,3,34-42).

Studies show high levels of CRP in patients with elevated count of *Pseudomonas* (31,43). During the response of the acute phase, the levels of CRP can rise over 10 mg/L and even high levels such as 100-200 mg/L may be found (43).

Studies based on the suspicion of pneumonia did not evaluate the individualized potential of each one of the criteria of the VAP diagnosis. From this context, we tested the main signs, symptoms and complementary exams in order to improve the way of detecting the disease in its beginning.

## 2 MATERIAL AND METHODS

### 2.1 *Study population*

This study is an observational prospective cohort and it involved patients who were on mechanical ventilation for more than 48 hours and presented suspicion of pneumonia, in the period from March 2009 to June 2010. During the study, all medical care followed the parameters determined by the assistant doctors, without the intervention of the researchers.

The criteria of inclusion were patients on mechanical ventilation for more than 48 hours with the suspicion of respiratory infection by a new pulmonary infiltrate or radiological change associated to the presence of at least two clinical criteria: fever ( $>38.4^{\circ}\text{C}$ ) or hypothermia ( $<36.5^{\circ}\text{C}$ ), tracheal secretions, leukocytosis ( $>11000$ ) or leucopenia ( $<4000$ ). The criteria of exclusion are patients whose QTA sample was rejected because it presented, in the microscopic examination, more than 10 squamous epithelial cells/field (100x), patients who are under 18 years old and immunosuppressed patients.

### 2.2 *Instruments*

The patients were included in the protocol in the moment that the medical staff considered them apt for the study. In this moment, the research group was asked to develop the protocol<sup>1</sup>. The demographic data and the outcomes were collected. A free and clarified consent term<sup>2</sup> was signed by the person who is responsible for the patient so that the researchers could use the information from the medical record and from the database of Hospital Mãe de Deus, preserving the privacy of the patients. This study was approved by the Ethics and Research Committee of Hospital Mãe de Deus.

---

<sup>1</sup> See evaluation form in Appendix 1.

<sup>2</sup> See Appendix 2.

### 2.3 Data collection

A QTA sample, two samples of blood culture and dosage of C-reactive protein were collected in all cases in which there was clinical suspicion. Based on this suspicion, an empirical antibiotic therapy was carried out, according to the protocol of the unit. The QTA samples were collected by physical therapists who were trained to perform the technique. The description of the collection technique and the processing of the culture of quantitative tracheal aspirate is showed in Appendix C.

All tracheal aspirate samples were microscopically examined using gram's method, and the morphotypes were registered. The blinding of the samples was performed by using different numbers, and different professionals read the samples.

The diagnosis of pneumonia was based on clinical, radiological and laboratorial criteria. We used the ATS criteria, which set as the diagnosis of pneumonia the presence of at least two of the following clinical criteria: fever ( $>38.4^{\circ}\text{C}$ ) or hypothermia ( $<36.5^{\circ}\text{C}$ ), purulent tracheal secretions, and leukocytosis ( $>11000$ ) or leucopenia ( $<4000$ ), associated with the presence of a new or progressive pulmonary infiltrate with a radiological report of pneumonia (2,24,44).

### 2.4 Statistical Analysis

Microsoft Excel 2003 software was used to store data. Statistical Package for Social Science (SPSS, version 16.0) was used to data analysis. The results were presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD) for continuous variables, as medians (25-75 interquartile interval) for non-parametric variables and proportions for categoric variables. For continuous variables comparisons student's t test was used, and for the non-parametric variables comparisons Mann-Whitney U test was used. For the comparisons of dichotomous variables, it was used chi-square ( $\chi^2$ )

test or the exact Fisher's test. It analyses sensibilities, specificities and ROC curve. The significance level was established as  $p < 0.05$ .

### 3 RESULTS

#### 3.1 Patients Characteristics

The analysis involved 193 patients with clinical suspicion of pneumonia. The VAP incidence was 34.2%, from which 59% were male patients ( $p=0.749$ ). The clinical presentation of the 66 cases of VAP was 37.5% (32) of neurological disease and 36.4% (11) of heart disease, ventilatory insufficiency in 33.3% (96), and postoperative in 33.3% (54) of the cases ( $p=0.973$ ).

Table 1 presents the description of the sample regarding age, risk scores, duration of admission, period on MV, use of antibiotics, inflammatory markers and comorbidities. The average number of comorbidities in the VAP group was 2.24 ( $\pm 1.22$ ) and 2.33 ( $\pm 1.16$ ) in the non-VAP group ( $p < 0.59$ ). Table 2 shows the clinical characteristics of both groups. The variables which are related to the presence of VAP are localized infiltrate on radiographs, body temperature  $\geq 39^\circ\text{C}$  or  $\leq 36^\circ\text{C}$ , leucopenia or leukocytosis, purulent tracheal secretion, hypoxemia ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 240$ ), presence of tracheotomy, presence of gram-negative rod morphotype and  $\text{QTA} \geq 10^6$  CFU/ml.

Based on Poisson regression model, we suggested the predictive equation of VAP: Equation =  $-4.19 + 1.08 (\text{QTA} \geq 10^6) + 0.92$  (localized infiltrate on X-ray) +  $0.7$  (body temperature  $\geq 39^\circ\text{C}$  and  $\leq 36^\circ\text{C}$ ) +  $0.67$  (leukocytes  $\leq 4000$  and  $\geq 11000$ ) +  $0.9$  ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 240$  = hypoxemia) +  $0.39$  (tracheotomy) +  $0.36$  (purulent secretion).

Table 3 shows the sensitivity and specificity for the VAP diagnosis, with a better accuracy of the tracheal aspirate  $\geq 10^6$  CFU/ml.



**Table 1. General characteristics of the patients**

	<b>NVAP (n=127)</b>	<b>VAP (n=66)</b>	<b>p-values</b>
Age (years)	70.12* ±17	67.58* ± 19	0.35
APACHE II	21.47* ±7	20.19* ± 7	0.25
SOFA 1	5 (3-8)	5 (3,7-7,2)	0,89
Duration of hospitalar admission (days)	60 (34-106)	60.5 (32-122)	0.95
Duration of admission in ICU (days)	29 (17-53)	37.5 (21-59)	0.12
Duration of MV until tracheotomy (days)	13.5 (8-22)	15(9-21)	0.93
Total duration of MV (days)	22 (11-41)	26.5 (15-44)	0.09
<b>Duration of MV until VAP suspicion (days)</b>	<b>6 (3-13)</b>	<b>9 (5-18)</b>	<b><u>0.004</u></b>
Duration of ATB before suspicion (days)	10 (7-13)	10 (7-13)	0.96
Duration of ATB replaced after suspicion (days)	10 (7-14)	10 (7,5 -14)	0.3
Duration of ATB applied after suspicion (days)	9 (7-11)	10 (7-12)	0.8
<b>C-reactive protein (mg/L)</b>	<b>125 (53-203)</b>	<b>195.5 (131-271)</b>	<b><u>&lt; 0.001</u></b>
<b>Comorbidities (n)</b>			
No comorbidities (19)	6.3%	16.7%	0.02
Diabetes melitus (43)	20.5%	25.8%	0.4
COPD (40)	18.1%	25.8%	0.2
Chronic renal insufficiency (25)	11.8%	15.2%	0.5
Cancer (43)	26%	15.2%	0.08
Liver disease (7)	3.9%	3%	0.7
Chemical addiction (21)	11.8%	9.1%	0.5
Arterial hypertension (85)	45.7%	40.9%	0.5
Heart disease (44)	24.4%	19.7%	0.4
Neurological disease (55)	29.9%	25.8%	0.5
Other comorbidities (25)	11.8%	15.2%	0.5

NVAP = non mechanical ventilator-associated pneumonia; VAP = mechanical ventilator-associated pneumonia; n = number of patients; APACHE II = acute physiology and chronic health evaluation II; SOFA 1 =sepsis-related organ failure assessment - on the first day of VAP suspicion; ATB = antibiotics; COPD = chronic obstructive pulmonary disease; ICU = intensive care unit; MV = mechanical ventilation; p-values = comparisons between groups by t-test, chi-square test or Mann-Whitney U test. Values in mean\* ± SD, n (%) or median (25-75 interquartile interval).

Table 2. Main clinical and laboratorial characteristics

Characteristics (n)	NVAP (127)	VAP (66)	p-value	RR	p-value
Temperature $\bar{36,5}^{\circ}\text{C}$ and $\bar{38,9}^{\circ}\text{C}$ (96)	<u>76%</u>	24%		1.0	
Temperature $\bar{39}^{\circ}\text{C}$ and $\bar{36}^{\circ}\text{C}$ (97)	55.7%	<u>44.3%</u>	0.003	2.02 (1.48- 2.75)	< 0.001
Leukocytes $\bar{4000}$ and $\bar{11000}$ (47)	83%	17%		1,0	
Leukocytes $\bar{4000}$ and $\bar{11000}$ (146)	60.3%	<u>39.7%</u>	0.004	1.96 (1.19- 3.21)	0.008
Mucupurulent secretion (52)	76.9%	23.1%		1,0	
Purulent secretion (141)	61.7%	<u>38.3%</u>	0.048	1.4 (0.93- 2.2)	0.09
Diffuse infiltrate on X-ray (145)	78.6%	21,4%		1,0	
Localized infiltrate on X-ray (35)	27.1%	<u>72.9%</u>	0.001	2.5 (1.82- 3.42)	<0.001
PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> >240 (96)	81.3%	18.8%		1,0	
PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> $\bar{240}$ (97)	50.5%	<u>49.5%</u>	0.001	2.4 (1.17- 3.48)	< 0.001
QTA = 0 (74)	<u>89.2%</u>	10.8%		1.0	
QTA = 10 <sup>5</sup> (15)	73.3%	26.7%		1.3 (0.58- 3.04)	0.492
QTA $\bar{10}^6$ (104)	48.1%	<u>51.9%</u>	0.001	2.9 (1.85- 4.66)	<0.001
No tracheotomy (99)	<u>75.8%</u>	24.2%		1,0	
Tracheotomy (94)	52.3%	<u>44.7%</u>	0.003	1.5 (1.06- 2.04)	0.02
Cpis < 6 (87)	98%	1.1%		1.0	
Cpis > 6 (106)	38.7%	61.3%	-*	53.3 (7.5-376)	-
No progression on X-ray (55)	98,2%	1,8%		1,0	
Progression on X-ray (138)	52.9%	47.1%	-	25.9(3.6-182)	-
Negative blood culture (128)	67%	32.8%		1.0	
Positive blood culture (64)	62.5%	37.5%	0,5	1.14 (0.76-1.7)	0.5

NVAP = non mechanical ventilator-associated pneumonia; VAP = mechanical ventilator-associated pneumonia; n = number of patients; C=celsius, QTA = quantitative tracheal aspirate; PaO<sub>2</sub>/ FiO<sub>2</sub> = partial pressure of arterial oxygen/fraction of inspired oxygen ratio; Cpis = Clinical Pulmonary Infection Score; -\* = large confidence interval does not allow the calculation of p-values; RR = Relative risk and comparisons between groups by RR with CI of 95%; p-values = comparisons between groups by chi-square test.

**Table 3. Sensitivity and specificity for the diagnosis of VAP (ATS\*)**

	S (%)	Sp (%)	Pv -	Pv +	Accuracy
Tracheal aspirate = $10^5$ CFU/ml	87.9%	52.0%	89.2%	48.7%	64.2%
Tracheal aspirate $\geq 10^6$ CFU/ml	81.8%	60.6%	86.5%	51.9%	67.9%
Microscopic examination	69.7%	58.3%	78.7%	46.5%	62.2%
Gram-negative rod morphotype	67.2%	66.1%	78.7%	51.9%	66.5%
Gram-positive cocci morphotype	35.5%	77.1%	78.7%	33.3%	66.9%

S = sensitivity; Sp = specificity; Pv- = negative predictive value; Pv+ = positive predictive value; VAP = mechanical ventilator-associated pneumonia; ATS\* = American Thoracic Society; CFU = colony-forming unit; ml = milliliters; Microscopic examination = Microscopic gram stain examination.

As it is demonstrated on the ROC curve graph (Figure 1), the cut-off score for 151.5 mg/L C-reactive protein is the value that presents better relation between sensitivity and specificity, with 72% and 60%, respectively, and the 69% area of the ROC curve.

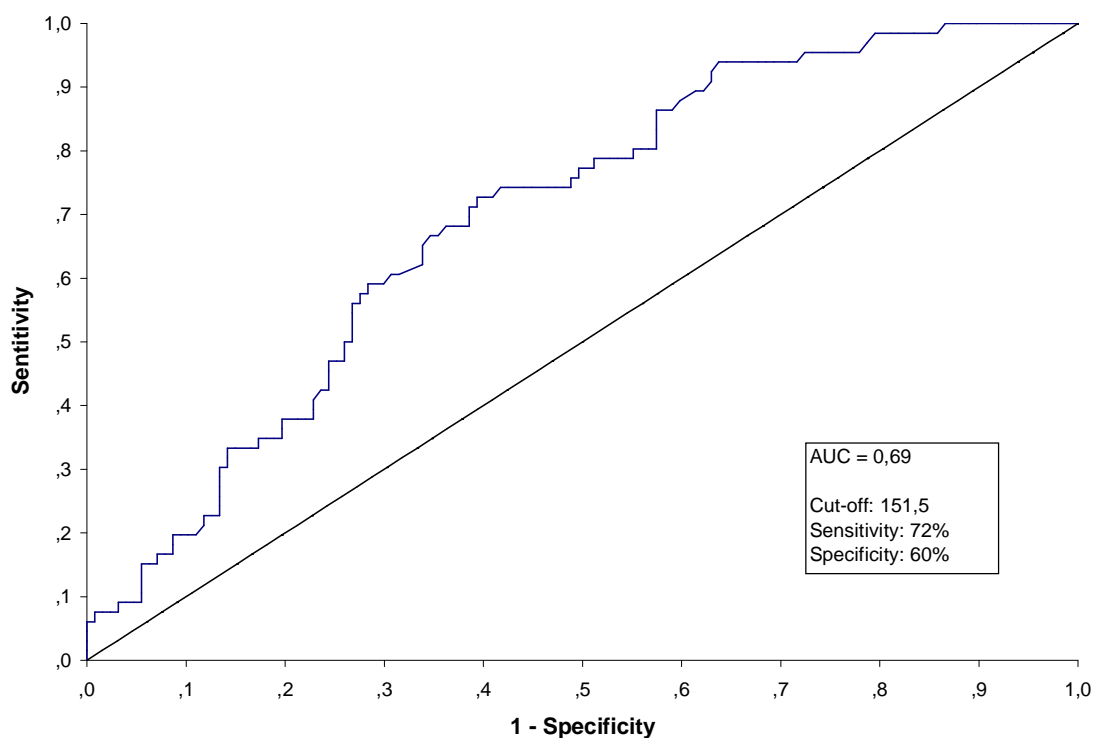


Figure 1. ROC curve for C-reactive protein values from the first Day of VAP suspicion.

The death rate in ICU was, in this period, 14.3% (from 1965 admitted patients), and, out of 193 cases of VAP suspicion, it was 57%. Among the 66 patients with VAP, mortality was 59.1%. Despite the high mortality rate in the study, there was no association between the deaths and VAP (Table 4). The average of comorbidities is 1.96 ( $\pm 0.94$ ) in the patients who were discharged from hospital and 2.56 ( $\pm 1.28$ ) in the patients who died ( $p < 0.001$ ).

**Table 4. Main outcomes**

(n)	Hospital discharge (83)	Deaths (110)	p-values
<b>NPAV (127)</b>	44.1%	55.9%	
<b>VAP (66)</b>	40.9%	<b>59.1%</b>	0.672
<b>Without other infections (113)</b>	53.1%	46.9%	
<b>Presence of other infections (80)</b>	28.8%	<b>71.3%</b>	0.001
<b>Abdominal infection (26)</b>	34.6%	65.4%	
<b>Urinary infection and others (25)</b>	37.5%	62.5%	
<b>Sepsis/septic shock (29)</b>	13.8%	<b>86.2%</b>	0.001

NVAP = non mechanical ventilator-associated pneumonia; VAP = mechanical ventilator-associated pneumonia; (n) = number of patients; p-values = comparison between groups by chi-square.

Mortality was not influenced by the proper QTA treatment, because 56% (n=91) of the patients who received indicated antibiotics with the quantitative culture died ( $p=0.8$ ). The indicators of assisting quality, such as the use of dialysis, cardiorespiratory arrest, the use of hemoderivatives, total parenteral nutrition, enteral nutrition, instruction for non-reanimation, presence of vesical probe, delirium, readmission into ICU, decubitus ulcer, did not show significant differences in both groups, and the use of vasopressors 38.4% (53) and the presence of artery line 43.5% (30) showed significant differences in the VAP group ( $p=0.05$  and  $p=0.04$  respectively). *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumonia* were the most frequent bacteria found in the VAP group (tables 5 and 6).

**Table 5. Microorganisms isolated in QTA culture**

	<b>QTA &lt;10<sup>6</sup> (n=89)</b>	<b>QTA ≥ 10<sup>6</sup> (n=104)</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.1%	<b>31.7%*</b>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0%	<b>17,3%*</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.2%	<b>9.6%*</b>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4.5%	<b>9.6%*</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.5%	6.7%
<i>Escherichia coli</i>	3.4%	2.9%
<b>Negative culture</b>	<b>58.4%*</b>	0%
<b>Others</b>	16.9%	22.1%

QTA = quantitative tracheal aspirate; p= 0.001\*; p-values = comparison between groups by chi-square.

**Table 6. Microorganisms isolated in VAP suspected cases**

	<b><u>NVAP (127)</u></b>	<b><u>VAP (66)</u></b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17.3%	<b>30.3%*</b>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4.7%	<b>18.2%*</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.7%	<b>9.1% *</b>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	7.1%	7.6%
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.5%	6.1%
<i>Escherichia coli</i>	3.9%	1.5%
<b>Negative culture</b>	<b>36.2%*</b>	9.1%
<b>Others</b>	20.5%	18.2%

NVAP = non mechanical ventilator-associated pneumonia; VAP = mechanical ventilator-associated pneumonia; QTA = quantitative tracheal aspirate; p= 0.001\*; p-values = comparison between groups by chi-square.

The analysis of microscopic gram stain examination slides, the presence of leukocytes did not show association neither with the microbiological diagnosis nor with the VAP diagnosis (p=0.7). The gram-negative rod morphotype presents concordance with the bacillus that grows 64.4% in the culture and 62.1% with the diagnosis of VAP (p=0.001). On the other hand, gram-positive cocci morphotype does not have any association, 16.7%, with the VAP diagnosis (p=0.909). Table 7 describes the antimicrobial therapy used during the research. The most used antibiotics were Piperacillin-Tazobactam, Meropenem, Cefepime, Polymyxin B and

Vancomycin. Previous antibiotic therapy (n=135) did not show any association with the microbiological diagnosis, because 78.4% (n=74) of the patients did not present microbiological growth, 66.7% (n=15) presented growth  $\geq 10^5$  CFU/ml and 64.4% (n=67) had a growth of  $\geq 10^6$  CFU/ml of some pathogen (p=0.12).

**Table 7. Prescription of antibiotics**

ATB (n)	Previous ATB *		Replaced ATB **		Applied ATB***	
	(135)		(98)		(71)	
	NPAV	PAV	NPAV	PAV	NPAV	PAV
No ATB	38	20	66	29	84	32
Piperacilin-Tazobactam (74)	24	11	10	7	11	11
Meropenem (52)	16	3	15	10	5	3
Cefepime (34)	17	3	4	1	6	3
Polymyxin B (34)	5	2	17	6	3	1
Vancomycin (25)	4	5	10	4	1	1
Vancomycin+Meropenem (24)	4	7	8	4	0	1
Ampicillin-sulbactam (14)	8	4	0	1	1	0
Ceftazedime (7)	1	1	1	0	0	4
Ertapenem (6)	0	1	2	2	1	0
Ciprofloxacin (4)	3	2	3	1	2	1
Ceftriaxone (4)	4	0	-	-	-	-
Bactrim (4)	1	1	0	1	1	0
Levofloxacin (3)	1	1	-	-	1	0
Ampicillin (2)	0	2	-	-	-	-
Oxacillin (2)	0	1	1	0	-	-
Penicillin (1)	-	-	-	-	1	0
Amoxicillin-clavulanate (1)	1	0	-	-	-	-
Azithromycin (1)	0	1	-	-	-	-
Fluconazole (antifungal) (14)	0	1	-	-	10	3

ATB = antibiotic; \*ATB previous to VAP suspicion; \*\*ATB replaced after VAP suspicion; \*\*\*ATB applied after VAP suspicion; NPAV = non mechanical ventilator-associated pneumonia; PAV = mechanical ventilator-associated pneumonia; - = did not use ATB.

## 4 DISCUSSION

The incidence of VAP in ICU is still frequent, in spite of prevention measures, increasing mortality especially when it is associated with other infections and sepsis (45). In this study, the incidence of VAP was 34.2% in patients with similar period of admission in the hospital and in ICU, period on mechanical ventilation, duration of antibiotic therapy, average age, comorbidities, severity and morbidity scores (acute physiology and chronic health evaluation - APACHE II e sepsis-related organ failure assessment - SOFA). When VAP was associated with sepsis or septic shock, mortality was 86.2%.

We point out that this is one of the few studies that assess results of cultures of tracheal aspirates with quantitative processing regarding clinical criteria for the definition of VAP. Whenever there is suspicion of VAP, it is important to collect tracheal secretion, because it does not only help with the confirmation of diagnosis, but it also clarifies the strategy to be used in antibiotic therapy (19). In the analyzed population, the cut-off score for QTA  $\geq 10^6$  CFU/ml showed a stronger relation to the presence of pneumonia, with sensitivity of 81.8%, specificity of 60.6%, and accuracy of 67.9%.

Our results were similar to those found by Valencia Arango et al., in which the  $10^5$  CFU/ml cut-off score had 71% of sensitivity and 58% of specificity for the VAP diagnosis, and the culture over  $10^6$  CFU/ml had 54% of sensitivity and 75% of specificity for microbiological diagnosis of VAP when compared to bronchial brushing (46). The bacterial concentration that is considered significant ranges from  $10^3$  to  $10^4$  CFU/ml in invasive quantitative cultures. Its sensitivity is estimated in 63% to 100%, and its specificity in 66% to 96% for VAP (18,38-40). The variability in sensitivity and specificity in different researches is due to the type of analyzed population, to the use of antibiotic therapy before the collection, and to the reference test performed.

We demonstrated that microscopic gram stain examination had a sensitivity of 69.7%, specificity of 58.3% and negative predictive value of 78.1%, and is an important tool in the diagnosis of VAP. It is necessary to state that the results of sensitivity and specificity vary according to the observed morphotype. The presence of gram-negative rod morphotype had sensitivity of 67.2% and specificity of 66.1%, allowing early empirical treatment or the option for interrupting antibiotic therapy. On the other hand, gram-positive cocci morphotype presented low sensitivity of 35.5% and specificity of 77.1%, thus having a limited diagnosis utility.

Our findings are in agreement with literature, since studies show evidence that microscopic examination and the quantitative culture of QTA may be useful for this diagnosis (3,15). The studies present variable data regarding sensitivity (57-95%), specificity (48-87%), positive predictive value (PPV) (47-78%), negative predictive value (NPV) (69-96%) and accuracy (60-88%) of the gram-staining technique in dealing with patients with VAP. In the study by Blot et al., microscopic gram stain examination had sensitivity of 89% and specificity of 62% for the diagnosis of VAP (47). The use of previous antibiotic therapy did not show any interference in the microbiological diagnosis of tracheal secretion, which can be considered as a limitation of the study, since 135 patients belonging to both groups received antibiotics previously.

Studies also show high levels of CRP (100-200mg/L) in patients with an elevated count of *Pseudomonas* (31,43). In Lisboa's study, C-reactive protein was correlated to the bacterial load of QTA and was considered a good inflammatory marker for the diagnosis of VAP (48). The use of the level of C-reactive protein for the diagnosis of VAP was affected by the fact that the patients were in critical conditions and presented high levels of CRP, which may be under the influence of other factors. We identified a cut-off score of 151 mg/L that showed a better relation between specificity and sensitivity, which suggests it can be an additional tool for the diagnosis.



A Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS) higher than 6, progression on chest X-ray, presence of microorganisms in blood culture and comorbidities did not show any relation with VAP. Positive blood culture were not associated with VAP (37.5%,  $p=0.5$ ). In Luna's study, it is recommended to utilize blood cultures for extrapulmonary infections, because its sensitivity for VAP was 26% (45,49).

Our study, similar to Cook et al. (50), shows that the longer MV is used until the suspicion of VAP, the higher is the risk for the disease, 6 days of MV in the non-VAP group versus 9 days in the VAP group ( $p=0,004$ ).

One limitation regarding the collection of QTA is the difficulty in predicting which part of the lung is under analysis (38). However, Godard (27) and Baughman (29) consider that, in nosocomial pneumonia, bacteria can be found in any part of the lung, which diminishes its limitation. VAP is multifocal, usually more intense in the right lung and predominant in dependent areas. A catheter blindly inserted in the lung almost always goes to a dependent segment of the right lung. Whenever saline solution is instilled, fluids and secretions are obtained, probably from this segment.

The present study analyzed patients with VAP suspicion, and this was an inclusion criterion, differently from other studies that compare groups which are over 48 hours in MV with or without VAP (3,5,18-23,25-27). We identified important criteria that can help in the suspicion of pneumonia: appearance of localized infiltrate on X-ray, quantitative culture with microorganism growth  $\geq 10^6$  CFU/ml, hypoxemia ( $PaO_2/FiO_2 < 240$ ), hypothermia or hyperthermia, use of tracheotomy, significant alteration in leukocytes and purulent secretion. These risk factors, when combined, make the diagnosis of VAP more likely (45,51).

## 5 CONCLUSION

We can claim that it is not possible to define the diagnosis of VAP based on only one criterion. It is necessary to associate clinical, laboratorial, radiological and, if possible, microbiological parameters for a proper diagnosis, which can permit an adequate treatment for patients in critical conditions. The  $10^6$  CFU/ml cut-off point from the secretion culture is an important assistant to the etiology of pneumonia, although the quantitative culture alone is not conclusive. C-reactive protein >150 mg/L may be useful for the diagnosis of VAP. We identified an equation that could work as a risk predictor for VAP. However, it does not eliminate a thorough evaluation of all the diagnosis parameters established by ATS.

## 6 CONSIDERACOES FINAIS

Devido a análises de estudos prévios que concordavam com a utilização do ponto de corte  $10^6$  UFC/ml, para análise de aspirado traqueal quantitativo, nós podemos concordar que esse ponto de corte pode ser usado para investigação precoce de pneumonia, mas lembramos que o diagnóstico de PAV é formado por uma associação de fatores e não por um exame isolado. A análise do ponto de corte  $10^5$  UFC/ml não pode ser considerada nesse estudo, pois apesar de ter associação com PAV foi uma pequena amostra com somente 15 casos.

Embora a antibioticoterapia prévia não tenha apresentado associação significativa com o diagnóstico microbiológico, isso pode ser uma limitação importante desse estudo. Entretanto, não é possível realizar estudos privando pacientes de tratamentos e são raros os pacientes críticos que não recebem tratamento com antibióticos para diversos focos infecciosos.

Pode-se considerar a utilização da proteína C reativa  $>150$  mg/L para auxiliar no diagnóstico de PAV.

Muitos dos nossos resultados foram semelhantes à literatura e ainda existem variáveis que precisam ser melhor analisadas como controle radiológico, escores de risco, protocolo de prevenção de PAV e traqueostomia precoce.

## REFERENCES

1. Mayhall CG. Ventilator-associated pneumonia or not? Contemporary diagnosis. *Emerging infectious diseases* 2001;7:200-204.
2. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388-416.
3. Grossman RF, Fein A. Evidence-based assessment of diagnostic tests for ventilator-associated pneumonia. Executive summary. *Chest* 2000;117:177S-181S.
4. Heyland DK, Cook DJ, Griffith L, Keenan SP, Brun-Buisson C. The attributable morbidity and mortality of ventilator-associated pneumonia in the critically ill patient. The canadian critical trials group. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1999;159:1249-1256.
5. Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, Vay C, Gherardi C, Matera J, Jolly EC. Impact of bal data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997;111:676-685.
6. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Domart Y, Trouillet JL, Gibert C. Evaluation of clinical judgment in the identification and treatment of nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest* 1993;103:547-553.
7. Machado MA, Magalhaes A, Hespanhol V. [difficulties on diagnosis of ventilator associated pneumonia]. *Revista portuguesa de pneumologia* 2003;9:503-514.
8. Wunderink RG. Clinical criteria in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000;117:191S-194S.
9. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Annals of internal medicine* 2001;134:298-314.
10. Timsit JF, Misset B, Goldstein FW, Vaury P, Carlet J. Reappraisal of distal diagnostic testing in the diagnosis of icu-acquired pneumonia. *Chest* 1995;108:1632-1639.

11. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, Day CM, Ciemins J, Lacher DA. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;101:458-463.
12. Andrews CP, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG, Jr. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest* 1981;80:254-258.
13. Bell RC, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG, Jr. Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome. *Annals of internal medicine* 1983;99:293-298.
14. Kirtland SH, Corley DE, Winterbauer RH, Springmeyer SC, Casey KR, Hampson NB, Dreis DF. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia: A comparison of histologic, microbiologic, and clinical criteria. *Chest* 1997;112:445-457.
15. Cook D, Mandell L. Endotracheal aspiration in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000;117:195S-197S.
16. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Guiguet M, Trouillet JL, Domart Y, Pierre J, Gibert C. Detection of nosocomial lung infection in ventilated patients. Use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques in 147 patients. *The American review of respiratory disease* 1988;138:110-116.
17. Hill JD, Ratliff JL, Parrott JC, Lamy M, Fallat RJ, Koeniger E, Yaeger EM, Whitmer G. Pulmonary pathology in acute respiratory insufficiency: Lung biopsy as a diagnostic tool. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 1976;71:64-71.
18. el-Ebiary M, Torres A, Gonzalez J, de la Bellacasa JP, Garcia C, Jimenez de Anta MT, Ferrer M, Rodriguez-Roisin R. Quantitative cultures of endotracheal aspirates for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *The American review of respiratory disease* 1993;148:1552-1557.
19. Jourdain B, Novara A, Joly-Guillou ML, Dombret MC, Calvat S, Trouillet JL, Gibert C, Chastre J. Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1995;152:241-246.

20. Chastre J, Fagon JY, Bornet-Lecso M, Calvat S, Dombret MC, al Khani R, Basset F, Gibert C. Evaluation of bronchoscopic techniques for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1995;152:231-240.
21. Heyland DK, Cook DJ, Marshall J, Heule M, Guslits B, Lang J, Jaeschke R. The clinical utility of invasive diagnostic techniques in the setting of ventilator-associated pneumonia. Canadian critical care trials group. *Chest* 1999;115:1076-1084.
22. Calandra T, Cohen J. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Critical care medicine* 2005;33:1538-1548.
23. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, Gervais C, Parer-Aubas S, Stephan F, Similowski T, Mercat A, Diehl JL, Sollet JP, et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. A randomized trial. *Annals of internal medicine* 2000;132:621-630.
24. Fagon JY, Chastre J, and on behalf of the VAP trial group. Comparison of two diagnostic strategies in patients with a clinical suspicion of ventilator associated pneumonia (vap). *American journal of respiratory and critical care medicine* 1999;159:A518.
25. Ruiz M, Torres A, Ewig S, Marcos MA, Alcon A, Lledo R, Asenjo MA, Maldonado A. Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: Evaluation of outcome. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;162:119-125.
26. Torres A, El-Ebiary M. Bronchoscopic bal in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000;117:198S-202S.
27. Godard J, Allaouchiche B. [nosocomial pneumonia in intensive care. Value of different diagnostic tools]. *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* 1994;13:699-704.
28. Rouby JJ, Martin De Lassale E, Poete P, Nicolas MH, Bodin L, Jarlier V, Le Charpentier Y, Grosset J, Viars P. Nosocomial bronchopneumonia in the

- critically ill. Histologic and bacteriologic aspects. *The American review of respiratory disease* 1992;146:1059-1066.
29. Baughman RP. Protected-specimen brush technique in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000;117:203S-206S.
  30. Chastre J, Combes A, Luyt CE. The invasive (quantitative) diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Respiratory care* 2005;50:797-807; discussion 807-712.
  31. Zhuo H, Yang K, Lynch SV, Dotson RH, Glidden DV, Singh G, Webb WR, Elicker BM, Garcia O, Brown R, et al. Increased mortality of ventilated patients with endotracheal pseudomonas aeruginosa without clinical signs of infection. *Critical care medicine* 2008;36:2495-2503.
  32. Papazian L, Thomas P, Garbe L, Guignon I, Thirion X, Charrel J, Bollet C, Fuentes P, Gouin F. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1995;152:1982-1991.
  33. Tejerina E, Esteban A, Fernandez-Segoviano P, Frutos-Vivar F, Aramburu J, Ballesteros D, Rodriguez-Barbero JM. Accuracy of clinical definitions of ventilator-associated pneumonia: Comparison with autopsy findings. *Journal of critical care* 2010;25:62-68.
  34. Marik PE, Lynott J, Croxton M, Palmer E, Miller L, Zaloga GP. The effect of blind-protected specimen brush sampling on antibiotic use in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Journal of Intensive Care Medicine* 2001;16:42-46.
  35. Kollef MH, Bock KR, Richards RD, Hearn ML. The safety and diagnostic accuracy of minibronchoalveolar lavage in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Annals of internal medicine* 1995;122:743-748.
  36. Meduri GU. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Infectious disease clinics of North America* 1993;7:295-329.
  37. Pereira Gomes JC, Pedreira Jr WL, Jr., Araujo EM, Soriano FG, Negri EM, Antonangelo L, Tadeu Velasco I. Impact of bal in the management of

- pneumonia with treatment failure: Positivity of bal culture under antibiotic therapy. *Chest* 2000;118:1739-1746.
38. Campbell GD, Jr. Blinded invasive diagnostic procedures in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000;117:207S-211S.
  39. Kollef MH, Ward S. The influence of mini-bal cultures on patient outcomes: Implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1998;113:412-420.
  40. Bello S, Tajada A, Chacon E, Villuendas MC, Senar A, Gascon M, Suarez FJ. "Blind" protected specimen brushing versus bronchoscopic techniques in the aetiological diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 1996;9:1494-1499.
  41. Bregeon F, Papazian L, Thomas P, et al. Diagnostic accuracy of protected catheter sampling in ventilator associated bacterial pneumonia. *Eur Respir J* 2000; 16 (5): 969-975.
  42. Timsit JF, Misset B, Renaud B, Goldstein FW, Carlet J. Effect of previous antimicrobial therapy on the accuracy of the main procedures used to diagnose nosocomial pneumonia in patients who are using ventilation. *Chest* 1995;108:1036-1040.
  43. Koenig W, Pepys MB. C-reactive protein risk prediction: Low specificity, high sensitivity. *Annals of internal medicine* 2002;136:550-552.
  44. Singh N, Rogers P, Atwood CW, Wagener MM, Yu VL. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit. A proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;162:505-511.
  45. Noyal Mariya J, Sujatha S, Tarun Kumar D, Ashok Shankar B, Subhash Chandra P. Ventilator-associated pneumonia: A review. *European journal of internal medicine* 2010;21:360-368.
  46. Valencia Arango M, Torres Marti A, Insausti Ordenana J, Alvarez Lerma F, Carrasco Joaquin N, Herranz Casado M, Tirapu Leon JP. [diagnostic value of quantitative cultures of endotracheal aspirate in ventilator-associated



- pneumonia: A multicenter study]. *Archivos de bronconeumologia* 2003;39:394-399.
47. Blot F, Raynard B, Chachaty E, Tancrede C, Antoun S, Nitenberg G. Value of gram stain examination of lower respiratory tract secretions for early diagnosis of nosocomial pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;162:1731-1737.
  48. Lisboa T, Seligman R, Diaz E, Rodriguez A, Teixeira PJ, Rello J. C-reactive protein correlates with bacterial load and appropriate antibiotic therapy in suspected ventilator-associated pneumonia. *Critical care medicine* 2008;36:166-171.
  49. Luna CM, Videla A, Mattera J, Vay C, Famiglietti A, Vujacich P, Niederman MS. Blood cultures have limited value in predicting severity of illness and as a diagnostic tool in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1999;116:1075-1084.
  50. Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, Griffith LE, Guyatt GH, Leasa D, Jaeschke RZ, Brun-Buisson C. Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Annals of internal medicine* 1998;129:433-440.
  51. Esperatti M, Ferrer M, Theessen A, Liapikou A, Valencia M, Saucedo LM, Zavala E, Welte T, Torres A. Nosocomial pneumonia in the intensive care unit acquired by mechanically ventilated versus nonventilated patients. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010;182:1533-1539.

## ANEXOS

## Anexo A - Ficha de acompanhamento



**HOSPITAL MÃE DE DEUS**  
Centro de Terapia Intensiva - Adulto

Nº: \_\_\_\_\_

## 1. Identificação do paciente

<i>ETIQUETA</i>	Nº Atendimento: _____ Sexo: ( ) Masc ( ) Fem
-----------------	--

Procedência: ( ) UI ( ) EM ( ) SR ( ) BC ( ) UICRE ( ) Hemodinâmica ( ) Transf. ( ) Outros

## 2. Diagnóstico

( ) Isq. Coronariano ( ) Isq. Neuro ( ) Cirúrgico ( ) Clínico ( ) Trauma

CID 10 : \_\_\_\_\_ Lista Loss: \_\_\_\_\_ Lista Procedimentos: \_\_\_\_\_ : \_\_\_\_\_

## 3. Comorbidades

( ) Nada ( ) DM ( ) DPOC ( ) ICC ( ) CI ( ) IRC ( ) Demência ( ) Neoplasia ( ) AVC ( ) Cirrose  
( ) D. Neuromusc. ( ) D. Hematol. ( ) Institucional/H. Care ( ) Psiq/Droga/Alcool ( ) HAS ( ) outras

## 4. APACHE II : \_\_\_\_\_

5. SOFA: 1º dia ( / / ) 3º dia ( / / ) 8º dia ( / / )

## 6. Protocolos

	Sim	Não		Sim	Não
Sedação			Profilaxia TVP		
Extubação			Profilaxia HD		
VNI			Prevenção BCP		
Desmame Difícil			Insulina		
Sepse			VM		

## 7. Indicadores de Qualidade Assistencial

Gerais	Sim	Não	Ventilação	Sim	Não				
Readmissão no CTI < 48h			VMI						
Díálise   ( ) Conv. ( ) Ext. ( ) LC			VMNI						
PCR			LPA/ SARA						
Uso vasopressor			Extubação não planejada						
Uso de hemoderivados			Reintubação < 48 h						
Transfusão se Hg>8			Traqueostomia( / / )						
NPT			Tempo VM total ( / / ). ( / / )	_____ dias					
Nutrição Enteral			Tempo VM até traqueostomia	_____ dias					
PNR			Tempo de VM até suspeita PAV	_____ dias					
Presença Cateter Central									
Presença SVD									
Presença de Linha Arterial			<b>Infecções Nosocomiais É Número</b>						
Perda de Cateter Acidental			PAV	0	1	2	3	4	5
Delirium			ITU	0	1	2	3	4	5
Escara			Infecção cateter	0	1	2	3	4	5

## 7. Desfechos

Alta CTI: ( ) Sim ( ) Não

Data da Alta/Óbito CTI: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Destino: ( ) UI ( ) UICRE ( ) CASA ( ) Transferência

DADOS CLÍNICOS			/	/	/
	Parâmetros	Pontuação	Cpis1	Cpis3	Cpis8
Temperatura	~ 36,5 e ~ 38,4	0			
	~ 38,5 e ~ 38,9	1			
	~ 39 e ~ 36	2			
Contagem de leucócitos Usar valor	~ 4000 e ~ 11000	0			
	~ 4000 e ~ 11000	1			
	+ 50% em forma de bastões	Adicionar 1 ponto			
Secreção traqueal	~ ausência de secreção traqueal	0			
	Secreção não purulenta	1			
	Secreção purulenta	2			
PaO2/FiO2 Usar valor e pontuação	>240 ou SDRA	0			
	~ 240 e sem SDRA	2			
Radiograma de tórax	Sem infiltrado	0			
	Infiltrado difuso	1			
	Infiltrado localizado	2			
Progressão do infiltrado pulmonar	Sem progressão radiológica	0			
	Progressão radiológica (excluir congestão pulmonar e ARDS)	2			
Cultura	Cultura negativa ou crescimento baixo	0			
	Cultura com bactéria patogênica em crescimento significativo	1			
	Crescimento da mesma bactéria visualizada no gram	Adicionar 1			
TOTAL					

Diagnóstico clínico CPIS (~ 6): (0) não (1) sim

Diagnóstico Radiológico:

	1º dia	3º dia	8º dia
Sem infiltrado			
Infiltrado difuso			
Infiltrado localizado			

Diagnóstico radiológico: (0) não (1) sim

Diagnóstico Microbiológico:

Presença de outra infecção prévia ou concomitante: (sim) (não) Qual? \_\_\_\_\_

Uso de antibióticos nos 7 dias anteriores? (sim) (não) Qual e por quanto tempo? \_\_\_\_\_

ATQ ( / ) hora: \_\_\_\_\_ coletado antes do início de ATB? (1) sim (2) não

Gram: \_\_\_\_\_ Cultura: \_\_\_\_\_ Sensib: \_\_\_\_\_

Hemocultura ( / ) hora: \_\_\_\_\_ coletado antes do início de ATB? (1) sim (2) não

Gram: \_\_\_\_\_ Cultura: \_\_\_\_\_ Sensib: \_\_\_\_\_

BAL: ( / )

) hora: \_\_\_\_\_ Gram: \_\_\_\_\_ Cultura: \_\_\_\_\_ Sensib: \_\_\_\_\_

PC-R: ( / / ) ( / / ) ( / / ) ( / / )

Diagnóstico microbiológico: (0) não (1) sim Diagnóstico final: 1. ( ) comprovada 2. ( ) não PNM

DESFECHO em 72 hs : Melhora clínica (sim) (não). Piora por falha terapêutica (sim) (não).

Reinfecção (sim) (não). Evolução para sepse grave (sim) (não)

## Anexo B - Termo de Consentimento para a pesquisa

Esta pesquisa será desenvolvida no Centro de Tratamento Intensivo do Hospital Mãe de Deus e tem como objetivo validar a técnica de aspirado traqueal quantitativo no diagnóstico da pneumonia associada à ventilação mecânica. Participarão do estudo pacientes em ventilação mecânica com suspeita de pneumonia. Os pacientes com suspeita de pneumonia realizam coletas de hemoculturas, dosagem de proteína C reativa, exame radiológico e coleta de aspirado traqueal quantitativo(ATQ).

**1º fator:** Esses exames são rotineiros na investigação de pneumonia e não trazem desconfortos nem riscos para o paciente.

**2º fator:** Os pacientes não sofrerão nenhuma intervenção, exceto as coletas para o diagnóstico, e a coleta de dados da ficha de avaliação e de seu prontuário.

**3º fator:** Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

**4º fator:** As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente. Os dados e o material coletado serão utilizados somente para esta pesquisa.

**5º fator:** Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

**6º fator:** Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como as indenizações legalmente estabelecida.

Os investigadores responsáveis o Dr. Josué Victorino e a fisioterapeuta Luciane de Fraga Gomes Biz, poderão ser encontrados no CTI do HMD em Porto Alegre. Nos seguintes telefone(s) 98062799 e 81598395, respectivamente. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) . Hospital Mãe de Deus. É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

Fui suficientemente informado a respeito das informações descrevendo o estudo *%Suspeita de pneumonia associada ventilação mecânica: O que realmente importa para o diagnóstico?*+Discuti com a fisioterapeuta Luciane de Fraga Gomes, RG - 09848899003003 sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, bem como as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Minha participação é isenta de despesas e tenho garantia do acesso ao tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

----- Assinatura do paciente/representante legal  
Data     /     /

----- Assinatura da testemunha  
Data     /     /

----- Assinatura do responsável pelo estudo  
Data     /     /

### **Anexo C Ë Técnica de coleta e processamento do ATQ**

A descrição do procedimento é lavagem adequada das mãos, orientação ao paciente quanto ao procedimento a ser realizado, preparação do material necessário para a coleta que é um par de luvas estéreis, um cateter de aspiração nº12, 10ml de soro fisiológico 0,9% em uma seringa de 10ml descartável, um frasco coletor de amostra esterilizado e sistema de vácuo. Montar o circuito de aspiração, conectar o frasco coletor entre o sistema de vácuo e o cateter de aspiração, colocar as luvas esterilizadas. Instilar, então, os 10ml de soro fisiológico e aspirar rapidamente à secreção traqueal. O frasco coletor é fechado com seu próprio látex, identificado e encaminhado ao laboratório até 30 minutos após a coleta.

Todos os aspirados traqueais recebidos no laboratório foram processados para a análise microbiológica. Foi realizado cegamento das amostras por numerações diferentes e a leitura por diferentes profissionais. O material foi processado sempre do mesmo modo: O material será rejeitado se houver vazamento ou contaminação na amostra, se a mesma for menor que 1ml e se o material chegar após 2 horas da hora da coleta. O material é processado na capela de fluxo laminar, esteriliza-se a alça para obter o material das porções purulentas. Preparar duas lâminas para microscopia (uma para o método de Gram e uma reserva), acrescentar a solução de N-acetil cisteína a 1% (volume igual ao do aspirado traqueal), agitar em vórtex 30-60 segundos e com pipeta automática, semear 0,1ml nos meios de cultura apropriados (Ágar Soja Triptiacaseína com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, Ágar Mac Conkey), espalhando com a alça bacteriológica. Com pipeta automática, diluir 0,1ml do material em 9,9ml de NaCl 0,85% estéril (diluição 1:200).

Agitar em vórtex 30-60 segundos e com pipeta automática, semear 0,1ml da diluição 1:200 nos meios de cultura apropriados (Ágar Soja Triptiacaseína com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, Ágar Mac Conkey), espalhando com a

alça bacteriológica. Com pipeta automática, diluir 0,1 ml da diluição 1:200 em 9,9 ml de 9. NaCl 0,85% estéril (diluição 1:20.000). Agitar em vórtex 30-60 segundos. Com pipeta automática, semear 0,1 ml da diluição 1:10.000 nos meios de cultura apropriados (Ágar Soja Triptiacaseína com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, Ágar Mac Conkey), espalhando com a alça bacteriológica. Identificar todas as placas com as respectivas diluições e colocar as placas na estufa bacteriológica (35°C), incubar 18-24 horas. O material analisado também é rejeitado se for detectadas mais de 10 células epiteliais na cultura ou se estiver contaminado. Observe como aplicar os cálculos:

Placa semeada com 0,1 da diluição 1:200	x2000	=UFC/ml
Placa semeada com 0,1 ml da diluição 1:20.000	x200.000	=UFC/ml

Interpretar os resultados com contagens entre  $10^4$  a  $10^5$  UFC/ml como o grupo de contagem baixa e o grupo  $\geq 10^6$  UFC /ml é o grupo de contagem alta de cepas. Se não houve crescimento de patógenos do trato respiratório inferior, reincubar por mais 18-24 horas. Na análise microbiológica a concentração de bactérias considerada significativa no diagnóstico de cepa infectante é de  $10^6$  UFC/ml para o serviço hospitalar. Com os resultados da microbiologia, após aproximadamente 48 horas, se tem o diagnóstico bacteriológico ou a confirmação negativa do exame.

**M386s** Martins, Luciane de Fraga Gomes  
Suspeita de pneumonia associada ventilação mecânica: o que  
realmente importa para o diagnóstico ? / Luciane de Fraga  
Gomes Martins ; orient. Josué Almeida. . 2010.  
62 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação  
em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Pneumonia associada à ventilação mecânica 2. Diagnóstico  
3. Técnicas e procedimentos de laboratório 4. Técnicas  
microbiológicas I. Victorino, Walter José II. Título.

NLM: WC 202

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA