

OLECI PEREIRA FROTA

**COLHEITA DE ASPIRADO TRAQUEAL PARA O DIAGNÓSTICO
MICROBIOLÓGICO DE PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA:
COMPARAÇÃO DE DUAS TÉCNICAS**

CAMPO GRANDE/MS
2013

OLECI PEREIRA FROTA

**COLHEITA DE ASPIRADO TRAQUEAL PARA O DIAGNÓSTICO
MICROBIOLÓGICO DE PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA:
COMPARAÇÃO DE DUAS TÉCNICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Saúde e Sociedade

Linha de Pesquisa: Avaliação de tecnologias, políticas e ações em saúde

Orientador: Prof. Dr. Adriano Menis Ferreira

CAMPO GRANDE/MS
2013

**COLHEITA DE ASPIRADO TRAQUEAL PARA O DIAGNÓSTICO
MICROBIOLÓGICO DE PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA:
COMPARAÇÃO DE DUAS TÉCNICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Adriano Menis Ferreira (Presidente)
Instituição: Curso de Enfermagem/Três Lagoas (UFMS)

Prof. Dr. Evandro Watanabe (Membro titular)
Instituição: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (USP)

Prof. Dr. Marisa Dias Rolan Loureiro (Membro titular)
Instituição: Curso de Enfermagem/Campo Grande (UFMS)

Prof. Dr. Odanir Garcia Guerra (Membro suplente)
Instituição: Curso de Biologia/Enfermagem/Três Lagoas (UFMS)

DEDICATÓRIA

Às fontes primárias de inspiração para meus valores e sonhos de vida

Aos meus pais

Ovídio Oneci Frota e Ana Pereira da Costa Frota, meus maiores exemplos de amor e honestidade, pelo apoio, dedicação e ensinamentos compartilhados em todos os momentos, incondicionalmente. Obrigado pelos inúmeros esforços dedicados à formação do meu caráter.

Aos meus irmãos

Amanda Cassia Pereira Frota Garcia e Thiago Pereira Frota, que tanto amo, pelo incentivo, compreensão e amizade. Sem vocês não teria a mesma perseverança.

À minha querida Avó

Maria Pereira dos Santos Costa, manancial de sabedoria e fonte inesgotável de força, que me encheu de coragem no momento mais crítico e ao mesmo tempo tão fundamental da minha formação profissional. Você foi mais que uma avó, uma dádiva de Deus.

À minha tia

Auxiliadora Pereira da Costa, humildade e fraternidade em pessoa, que muitas vezes renunciou seus interesses em prol dos meus. Sem você, certamente não chegaria até aqui.

Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A minha esposa

Nájlá Moreira Amaral Borges, pelo amor, companheirismo e cumplicidade, mas, sobretudo, pela compreensão neste momento tão conturbado e igualmente importante de nossas vidas. Amo você!

AGRADECIMENTOS

Esta é a concretização de uma trajetória longa e árdua, mas, sem dúvida, bela. Com garra, vontade, respeito, disciplina e dedicação, inúmeros obstáculos e desafios, eu venci, e muitas conquistas vieram. Para tanto, houve contribuição de várias pessoas entre familiares, professores, mestres, amigos e colegas. Cada um de uma forma particular, segundo a sua capacidade e condição, porém, todas importantes. Por isso, não cesso de agradecer a todos, mesmo os que não estão mencionados aqui, mas sabem, por si só, da sua contribuição.

A Deus, pelas graças recebidas durante todo percurso de minha formação pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Adriano Menis Ferreira, que, nos anos de convivência, enxergou o meu potencial e muito me ensinou, não apenas na vida acadêmica, mas como ser humano melhor.

Meu reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de uma pessoa que foi muito mais que um orientador: um amigo. Meu infindável respeito e admiração pela humildade, sabedoria, perfil acadêmico e ético, bem como pelo dom e dedicação à pesquisa, suprimindo por vezes prazeres da vida em prol do trabalho. Minha eterna gratidão por acreditar em mim, aceitar a difícil tarefa de me orientar nesta tarefa e proporcionar condições para que este sonho tivesse êxito.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro na concessão da bolsa, fundamental para a efetivação e conclusão deste estudo.

*Ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na
Região Centro-Oeste (PPGSD), pelo qualificado corpo docente e
empenho em busca de melhorias.*

*Aos professores do PPGSD, pela inestimável contribuição para o meu
crescimento pessoal, profissional e intelectual por meio dos
ensinamentos e exemplos.*

*A Vera Nascimento da Silva e Áurea Gobi, respectivamente
secretária e auxiliar do PPGSD, sempre dispostas a atender
prontamente às solicitações dos pós-graduandos, pela paciência e
auxílio nas necessidades e dificuldades encontradas durante este
percurso.*

*À Prof^a. Dr^a. Marisa Dias Rolan Loureiro, pela oportunidade de
convivência, competência e amizade excepcional. Sempre
incentivadora, compreensiva e zelosa para com os colegas de trabalho
e pessoas que ama.*

*À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Meinberg Cheade, pelo carinho, apoio e
por ter acreditado e empenhado seus esforços na concretização da
Residência Multiprofissional em Saúde, formação pilar das minhas
competências profissionais.*

*Às Professoras do Curso de Enfermagem da UFMS Campo Grande,
pela receptividade e oportunidade de crescimento mútuo.*

Ao Prof. Dr. Mário Augusto da Silva Freitas, pela motivação, pelos sábios ensinamentos e, acima de tudo, por fazer-me acreditar na minha capacidade. A minha admiração e o meu sincero e especial agradecimento.

A Nádia Cristina Pereira de Carvalho, pela valorosa colaboração no processamento e análise microbiológica das amostras.

A Rodrigo Koch, amigo e imprescindível para o desenvolvimento da pesquisa, pelo auxílio na colheita das amostras e interpretação dos resultados.

Aos Familiares, por me amarem, compreenderem e apoiarem.

Aos Amigos, por me impulsionarem.

Aos amigos especiais Wesley Gondim Barros e Luís Gonçalves de Lima Filho, por me ajudarem a dar os primeiros passos na vida acadêmica, e, sobretudo, pelo incentivo e apoio durante a graduação.

Aos Colegas de Residência Multiprofissional, pelo convívio e amizade, além da oportunidade única de crescimento por meio de experiências e discussões travadas durante esta fase tão iluminada da minha vida.

À equipe multiprofissional da UTI adulta do NHU da UFMS, pela disponibilidade e auxílio nos momentos em que precisei.

*Descobrir
consiste em olhar
para o que todo mundo está
vendo e pensar uma coisa diferente.*

Roger Von Oech

RESUMO

FROTA, O. P. **Colheita de aspirado traqueal para o diagnóstico microbiológico de pneumonia associada à ventilação mecânica: comparação de duas técnicas**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) – Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2013.

O diagnóstico preciso de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) permanece como um dos mais árduos desafios enfrentados pelos profissionais que cuidam de pacientes submetidos à ventilação mecânica (VM), haja vista a ausência de um diagnóstico padrão ouro e a carência de protocolos validados que contemplam as mais diversas facetas de caráter multidisciplinar que envolvem o diagnóstico. O principal objetivo desse estudo foi avaliar a concordância qualitativa e quantitativa dos resultados de culturas de aspirado traqueal (AT) colhido por técnica tradicional e protegida para o diagnóstico microbiológico de PAV. Para tanto, foi realizado estudo clínico, prospectivo, comparativo, unicegado. As amostras de AT foram colhidas pelos mesmos profissionais: um enfermeiro e um fisioterapeuta, executor e assistente, respectivamente. Na ocasião da suspeita clínica de PAV, 40 pacientes com idade ≥ 18 anos e submetidos à VM por período superior a 48 horas foram incluídos no estudo. De cada paciente foi obtido um par de amostras de secreção traqueal colhidas por técnica protegida e tradicional, uma imediatamente seguida da outra. A ordem de execução das técnicas foi aleatória, segundo randomização por um *software* disponível *on line*. Uma vez colhidas, as mostras foram codificadas, acondicionadas numa caixa térmica, transportadas imediatamente a um laboratório de microbiologia e processadas segundo técnicas convencionais de cultivo. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) por mililitro (ml) e os agentes identificados por automação (Aparelho Vitek[®] 2 AES, BioMérieux, França). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, sob o protocolo Nº. 114311/2012. Os dados foram analisados estatisticamente pelo *Minitab for Windows* (versão 14). Foram utilizados os testes Qui-quadrado (χ^2) e *Teste Exato de Fisher*, sendo ambos realizados com 95% de confiabilidade (valor significativo de $p < 0,05$) e aplicados no cruzamento de variáveis categóricas. A maioria dos pacientes era do sexo masculino, de idade avançada, com muitos dias de internação e VM, acometidos por diversas comorbidades, número de leucócitos e bastonetes aumentados e todos em antibioticoterapia. Pela técnica tradicional, 23 (57,5%) pacientes apresentaram, em suas amostras, crescimento microbiano $\geq 10^5$ UFC/ml. Houve concordância qualitativa e quantitativa entre as técnicas ($p=0,004$), contudo, maior quantidade de microrganismos extras e resultados duvidosos foram associados à técnica protegida. Os microrganismos mais frequentemente identificados por ambas as técnicas foram *Acinetobacter baumannii* ($n=7$), *Candida albicans* ($n=6$) e *Pseudomonas aeruginosa* ($n=5$). Esses resultados preliminares não mostraram diferenças significantes nos resultados de cultivo de amostras colhidas por técnica protegida e tradicional, mas suscitaram a necessidade de mais estudos, incluindo a análise de concordância genética dos agentes isolados na parede do tubo endotraqueal e nas secreções traqueobrônquicas.

Palavras-chave: Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica; Técnicas de Cultura; Infecção; Terapia Intensiva; Cuidados de Enfermagem.

ABSTRACT

FROTA, O. P. **Collection of tracheal aspirate for microbiological diagnosis of ventilator-associated pneumonia: comparison of two techniques.** 95 f. Dissertation (Master Degree in Health and Development in the Midwest Region of Brazil) – Dr. Helio Mandetta Medicine Faculty, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2013.

The accurate diagnosis of ventilation-associated pneumonia (VAP) remains one of the most difficult challenges faced by professionals who care for patients submitted to mechanical ventilation (MV), as proved by the lack of a gold standard diagnosis and the shortage of validation protocols that cover several distinct facets of multidisciplinary nature involving such diagnosis. The main purpose of this study was to assess the qualitative and quantitative agreement of the results of crops of tracheal aspirate (TA) collected through traditional and protected techniques for the microbiological diagnosis of VAP. To that end, we have performed a clinical, prospective, comparative and single-blinded study. The TA samples were collected by the same professionals: a nurse and a physiotherapist, performer and assistant, respectively. At the time of clinical suspicion of VAP, 40 patients aged ≥ 18 years, who were submitted to MV for a period over than 48 hours, were included in the study. It was obtained a pair of samples of tracheal aspirates from each patient, which was collected by traditional and protected techniques, one immediately after the other one. The enforcement order of the techniques was random, according to randomization held by available online software. Once samples have been collected, they are coded and packed in a thermal box. Next, they are immediately transported to a microbiology laboratory and processed on conventional cultivation techniques. The results were expressed in colony forming units (CFU) per milliliter (ml) and the agents were identified by automation (AES Vitek[®] 2 Device, BioMerieux, France). The study was approved by the Ethics Committee on Researches involving Human Beings, under the Protocol nº 114311/2012. The data were statistically analyzed by means of the Minitab for Windows (version 14). Chi-square Test (χ^2) and Fisher Exact Test were conducted, both with a level of 95% reliability (significant p value of $<0,05$) and applied at the intersection of categorical variables. Most of patients were male, elderly, with many days of hospitalization and MV, affected by several comorbidities, with increased number of leukocytes and rods and all of them were being submitted to antibiotic therapy. Through the traditional technique, 23 (57,5%) patients showed, in their samples, microbial growth $\geq 10^5$ CFU/ml. There was qualitative and quantitative agreement between the techniques ($p=0,004$), however, the greater amount of extras microorganisms and doubtful results were associated with the protected technique. The most common microorganisms identified by both techniques were *Acinetobacter baumannii* ($n=7$), *Candida albicans* ($n=6$) and *Pseudomonas aeruginosa* ($n=5$). These preliminary results did not show significant differences in the results of cultivation of samples through protected and traditional techniques, but raised the necessity for further studies, including analysis of genetic concordance of agents isolated in the endotracheal tube wall and in tracheobronchial secretions.

Keywords: Pneumonia, Ventilator-Associated; Culture Techniques; Infection; Intensive Care; Nursing Care.

RESUMEN

FROTA, O. P. **Cosecha de aspirado traqueal para el diagnóstico microbiológico de la neumonía asociada al ventilador: comparación de dos técnicas.** 95 f. Disertación (Maestría en Salud y Desarrollo en la Región Centro-Oeste de Brasil) - Dr. Helio Mandetta Facultad de Medicina de la Universidad Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2013.

El diagnóstico preciso de neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV) permanece como uno de los más arduos desafíos enfrentados por los profesionales que cuidan de pacientes sometidos a la ventilación mecánica (VM), habiendo ausencia de un diagnóstico padrón oro y la carencia de protocolos validados que contemplan las más diversas facetas de carácter multidisciplinar que envuelven el diagnóstico. El principal objetivo de ese estudio fue evaluar la concordancia cualitativa y cuantitativa de los resultados de culturas de aspirado traqueal (AT) recogido por técnica tradicional y protegida para el diagnóstico microbiológico de NAV. Para tanto, fue realizado un estudio clínico, prospectivo, comparativo, cegado. Las muestras de AT fueron recogidas por los mismos profesionales: un enfermero y un fisioterapeuta, ejecutor y asistente, respectivamente. En la ocasión de la sospecha clínica de NAV, 40 pacientes con edad ≥ 18 años y sometidos a la VM por período superior a 48 horas fueron incluidos en el estudio. De cada paciente se obtuvo un par de muestras de secreción traqueal recogidas por técnica protegida y tradicional, una inmediatamente seguida de la otra. El orden de ejecución de las técnicas fue aleatorio, según aleatoriedad por un *software* disponible *online*. Una vez recogidas, las muestras fueron codificadas, acondicionadas en una caja térmica, transportadas inmediatamente a un laboratorio de microbiología y procesadas según técnicas convencionales de cultivo. Los resultados fueron expresados en unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro (ml) y los agentes identificados por automatización (Aparato Vitek[®] 2 AES, BioMérieux, Francia). El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación con Seres Humanos sobre el protocolo N^o. 114311/2012. Los datos fueron analizados estadísticamente por el *Minitab for Windows* (versión 14). Fueron utilizados los tests Chi-cuadrado (χ^2) y *Test Exacto de Fisher*, siendo ambos realizados con 95% de confiabilidad (valor significativo de $p < 0,05$) y aplicados en el cruzamiento de variables categóricas. La mayoría de los pacientes era del sexo masculino, de edad avanzada, con muchos días de internación y VM, acometidos por diversas comorbilidades, número de leucocitos y bastonetes aumentados y todos en antibioticoterapia. Por la técnica tradicional, 23 (57,5%) pacientes presentaron, en sus muestras, crecimiento microbiano $\geq 10^5$ UFC/ml. Hubo concordancia cualitativa y cuantitativa entre las técnicas ($p=0,004$), con todo, mayor cantidad de microorganismos extras y resultados dudosos fueron asociados a la técnica protegida. Los microorganismos más frecuentemente identificados por ambas técnicas fueron *Acinetobacter baumannii* ($n= 7$), *Candida albicans* ($n= 6$) y *Pseudomonas aeruginosa* ($n= 5$). Esos resultados preliminares no mostraron diferencias significantes en los resultados de cultivo de muestras recogidas por técnica protegida y tradicional, pero suscitaron la necesidad de más estudios, incluyendo el análisis de concordancia genética de los agentes aislados en la pared del tubo endotraqueal y en las secreciones traqueobronquicas.

Palabras clave: Neumonía Asociada al Ventilador; Técnicas de Cultivo; Infección; Cuidados Intensivos; Atención de Enfermería.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Microrganismos causadores de PAV	26
Tabela 2	Parâmetros do cálculo do Escore Clínico de Infecção Pulmonar	31
Tabela 3	Características demográficas e clínicas dos pacientes. Campo Grande, MS, Brasil, 2011	62
Tabela 4	Concordância entre as técnicas analisadas segundo microrganismo isolado e UFC/ml. Campo Grande, MS, Brasil, 2011	64
Tabela 5	Resultados da comparação das culturas de aspirado traqueal colhido por de técnica protegida e tradicional. Campo Grande, MS, Brasil, 2011.....	65
Tabela 6	Patógenos isolados pelo aspirado traqueal colhido por técnica protegida e tradicional em paciente com Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica. Campo Grande, MS, Brasil, 2011	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fotomicrografias do biofilme com matriz fragmentada e composta	44
Figura 2	Fotomicrografias da superfície do tubo endotraqueal com presença de A- hemácias e B- linfócitos	44
Figura 3	Fotomicrografias da superfície do tubo endotraqueal com biofilme em estrutura na forma de colmeia	45
Figura 4	Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com presença de fungos filamentosos e leveduras	45
Figura 5	Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com presença de cocos	46
Figura 6	Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com presença de bastonetes	46
Figura 7	Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com interação microbiana tipo espiga de milho entre fungos filamentosos e cocos	47
Figura 8	Dispositivos envolvidos na técnica protegida de colheita de aspirado traqueal	55
Figura 9	Arranjo dos dispositivos utilizados na colheita do aspirado traqueal por técnica protegida	55
Figura 10	Implementação da colheita de aspirado traqueal por técnica tradicional	58
Figura 11	Implementação da colheita de aspirado traqueal por técnica protegida	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APACHE II	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
AT	Aspirado Traqueal
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EBP	Escovado Brônquico Protegido
ECIP	Escore Clínico de Infecção Pulmonar
ESBL	<i>Extended Spectrum β-Lactamase</i>
FE	Fibras de Elastina
FNT-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
IL-1 β	Interleucina-1 Beta
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde
LBA	Lavado Broncoalveolar
MBL	Metalo- β -Lactamases
MDR	Multidrogarresistente
Mini-LBA	Mini-Lavado Broncoalveolar
mL	Mililitro
mm	Milímetros cúbicos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NHU	Núcleo de Hospital Universitário
PAV	Pneumonia Associada a Ventilação Mecânica
PCR	Proteína C-reativa
PCT	Procalcitonina
PMN	Polimorfonucleares
SARA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
Strem	Receptor Solúvel de Desencadeamento Expresso em Células Mielóides
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TET	Tubo Endotraqueal
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UTI	Unidades de Terapia Intensiva
VAS	Vias Aéreas Superiores

VAI	Vias Aéreas Inferiores
VM	Ventilação Mecânica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1	Aspectos gerais.....	21
2.2	PAV: breves apontamentos.....	22
2.2.1	Conceito	22
2.2.2	Classificação.....	23
2.2.3	Patogênese	23
2.2.4	Fatores de risco	24
2.2.5	Epidemiologia	25
2.2.6	Agentes etiológicos.....	27
2.2.7	Critérios sugestivos de PAV	28
2.2.8	Métodos diagnósticos	29
2.2.9	Prevenção	40
2.2.10	Tratamento	41
2.3	Biofilme do TET.....	42
3	OBJETIVOS	49
3.1	Geral	49
3.2	Específicos.....	49
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
4.1	Delineamento e local do estudo	50
4.2	População e amostra	50
4.3	Critérios de inclusão.....	50
4.4	Critérios de exclusão.....	51
4.5	Variáveis de interesse	51
4.6	Definições	51
4.6.1	Amostras adequadas para cultura	51
4.6.2	Amostras inadequadas para cultura ²	52
4.6.3	Aspirado traqueal positivo	52
4.6.4	Colonizadores.....	52
4.6.5	Concordância de microrganismo	52
4.6.6	Concordância de UFC/ml	52
4.6.7	Concordância global	52

4.6.8	Concordância parcial	52
4.7	Colheita das amostras de secreção traqueal por sistema aberto de sucção	53
4.7.1	Materiais utilizados	53
4.7.2	Procedimento de coleta	53
4.7.3	Operacionalização da coleta	57
4.8	Transporte	59
4.9	Processamento microbiológico da secreção traqueal	59
4.10	Procedimentos éticos em pesquisas	60
4.11	Análise estatística	61
5	RESULTADOS	62
6	DISCUSSÃO	68
7	CONCLUSÃO	73
8	REFERÊNCIAS	74
9	APÊNDICES	87
9.1	Apêndice 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	87
9.2	Apêndice 2: Instrumento de coleta de dados	89
10	ANEXOS	92
10.1	Anexo 1: Sequência aleatória das técnicas investigadas nos 40 pacientes incluídos nesse estudo, segundo <i>software</i> de randomização.	92
10.2	Anexo 2: Carta aprovação comitê ética.....	95

1 INTRODUÇÃO

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) é um tipo de infecção nosocomial que ocorre em pacientes submetidos à ventilação mecânica (VM) invasiva por período superior a 48 horas. Está associada ao aumento significativo da morbimortalidade, tempo de hospitalização, uso de medicamentos e custos. A incidência é bastante variável entre os estudos, ficando por volta de 7,6 casos por 1000 pacientes ventilados dia, em termos percentuais, em torno de 28 a 32%; embora possa apresentar valores mais elevados a depender dos recursos materiais e humanos disponíveis, protocolos utilizados, perfil epidemiológico, ambiente da unidade e população. Estas diferenças também são resultantes da ausência de um diagnóstico padrão ouro, bem como da diversidade e limitações dos testes diagnósticos empregados no cenário mundial (CHARLES et al., 2013).

Atualmente, o diagnóstico preciso de PAV constitui-se de grande dificuldade e permanece como desafio constante para a prática em unidade de terapia intensiva (UTI). O adequado manejo de pacientes portadores desse tipo de infecção é multifatorial, pois depende de uma série de conhecimentos, práticas e recursos humanos, materiais e organizacionais. A instituição precoce de antimicrobianos necessários, eficazes e seguros é parte integrante desse contexto e está subordinada, em parte, aos procedimentos diagnósticos empregados nas instituições.

Segundo Kowalczyk et al. (2011), as técnicas microbiológicas qualitativas, como a coloração de Gram e análise qualitativa de aspirado traqueal (AT), têm oferecido resultados relevantes, porém, apenas para o tratamento inicial, pois apresentam grandes limitações e são recomendadas somente até que os resultados microbiológicos (identificação microbiana e antibiograma) estejam disponíveis para guiar a antibioticoterapia. As técnicas quantitativas, em contrapartida, oferecem importantes resultados para o diagnóstico de PAV e também podem servir para monitorar a eficácia do tratamento. Atualmente estão disponíveis vários métodos de colheita de secreção traqueobrônquica para cultura. Basicamente, estes são divididos em dois grupos: os broncoscópicos e não broncoscópicos ou cegos que não utilizam equipamentos que permitam visualizar a árvore brônquica durante a coleta. Embasado em parâmetros de sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo

positivo e valor preditivo negativo, esses métodos apresentam resultados semelhantes, apesar de dados inconstantes entre os estudos.

Os métodos broncoscópicos como o lavado broncoalveolar (LBA) e o escovado brônquico protegido (EBP) – embora possam diagnosticar com precisão a pneumonia – são procedimentos invasivos, complexos, caros e demandam equipe especializada. Já os métodos cegos, como o AT e o mini-lavado broncoalveolar (Mini-LBA), são os mais simples e menos invasivos, facilmente realizados à beira do leito, relativamente baratos, têm acurácia comprovadamente aceitável e requerem um mínimo de treinamento dos profissionais de saúde. Dentre estes, o AT destaca-se como o mais comumente utilizado na obtenção de secreções para cultura, especialmente em países emergentes e subdesenvolvidos (SHIN et al., 2011).

Alguns autores apontam, no entanto, que o AT ainda é desprovido de evidências para o seu manejo, especialmente relacionado com as técnicas de colheita e processamento microbiológico das amostras; faltam protocolos e estudos de investigação. A colonização bacteriana e fúngica da superfície interna do tubo endotraqueal (TET) é um dos fatores que mais contribuem para a colheita de amostras não representativas, ocorrência de falsos resultados ou culturas questionáveis e sem valor diagnóstico, haja vista a possibilidade de contaminação das amostras durante a fase de colheita (FUJITANI; YU, 2006; NIEDERMAN, 2010).

Conforme Zolfaghari e Wyncoll (2011), a formação de biofilme na parede interna do TET é um fator imodificável que ocorre em todos os pacientes submetidos à VM invasiva, e consolida-se em horas após a intubação, tornando-se abundante em 96 horas. Os microrganismos que sobrevivem nesse sistema de comunidades estruturadas em matrizes poliméricas, coordenadas e funcionais, são numerosos e diversos – incluindo bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos. Acredita-se que o biofilme, além de poder causar sérias infecções recorrentes, atua como um reservatório de microrganismos que prejudica a análise microbiológica de conteúdos traqueobrônquicos e acarreta dúvidas na interpretação dos resultados de culturas quanto à contaminação, colonização e infecção.

Em 2012, Gil-Perotin et al. documentaram que o biofilme esteve presente na superfície interna de 95% dos TET de pacientes submetidos à VM por período superior a 24 horas. Nesta investigação, independentemente de cultura com contagem significativa ou não, em 56% dos casos, o mesmo agente foi isolado em ambos, biofilme e AT. Ademais, embora na presença de antibioticoterapia

adequada, as bactérias causadoras da PAV foram encontradas no biofilme em 50% dos casos. Contudo, apesar da alta prevalência, a formação desse biofilme não se mostrou preditivo de PAV, pois apenas 19% dos pacientes foram diagnosticados com base em critérios clínicos, radiográficos e de cultura de secreção traqueal coletada por Mini-LBA. Portanto, os microrganismos, que colonizam o TET e não estão causando a pneumonia, podem ser coletados pelo AT por técnica tradicional e prejudicar a acurácia diagnóstica.

Nesse sentido, já que a infecção está no parênquima pulmonar e não no TET, infere-se que a colheita de secreções traqueobrônquicas livre de agentes do biofilme do TET, mediante técnica protegida, propicia melhores resultados de cultura para o diagnóstico de PAV. Assim, surgiu a seguinte indagação: a colheita de AT por técnica protegida, isto é, sem que a sonda de aspiração propriamente dita entre em contato com a superfície interna do TET, apresenta correlação com a técnica tradicional e é segura? Assim, com o escopo de investigar essa frequente dúvida e proporcionar avanços para confirmar ou refutar o AT com técnica protegida, é a que se propõe este estudo.

A realização deste estudo é justificada pelo fato de agregar conhecimento científico acerca da eficácia do AT colhido com técnica protegida e tradicional, aqui analisadas, proporcionando melhorias no manejo diagnóstico dos pacientes submetidos à VM e com pneumonia clínica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos gerais

Conforme Pombo et al. (2010), o cenário atual da assistência à saúde é cercado por avanços tecnológicos especializados e complexos aplicados em procedimentos invasivos, diagnósticos e terapêuticos que, em conjunto, aumentam a sobrevida dos pacientes críticos nas mais diversas situações. Em contrapartida, crescem os fatores de riscos predisponentes que levam a efeitos adversos nos pacientes internados.

Nesse sentido, um dos mais importantes problemas de saúde pública da atualidade são as infecções relacionada à assistência à saúde (IRAS). Tal situação estabelece a necessidade de se buscar, incessantemente, a melhor forma de prevenir, controlar e tratar infecção da espécie, sobretudo em pacientes críticos internados em UTI.

Todavia, essa tarefa não é fácil, pois além de exigir ampla gama de conhecimentos, práticas baseadas em evidências e habilidades psicomotoras, impõe a necessidade do trabalho e interação multiprofissional, visto que alcançar níveis aceitáveis de infecção depende da adequada assistência realizada por toda uma equipe, composta por médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, nutricionistas, farmacêuticos, biomédicos, odontólogos, fonoaudiólogos, psicólogos, auxiliares/técnicos de enfermagem e de laboratório e serviços de apoio (limpeza, transporte, exame de imagem e dentre outros), a qual colabora direta ou indiretamente, de acordo com as necessidades de cada unidade (CHEADE et al., 2013).

Nas UTIs a intubação orotraqueal, a traqueostomia e a VM são artifícios muitas vezes necessários e amplamente utilizados na assistência a pacientes gravemente enfermos, especialmente àqueles acometidos por algum tipo de insuficiência respiratória. Essas terapêuticas, contudo, são fatores reconhecidos e fortemente associados à ocorrência de pneumonia nosocomial (GUPTA et al., 2006), nomeadamente porque reduz a eficácia dos mecanismos de defesa naturais do sistema respiratório (*clearance* mucociliar, expectoração, fechamento da glote e outros), deprecia o reflexo de tosse e facilita o acesso de microrganismos às vias aéreas inferiores (BIEL et al., 2011).

De maneira geral, pneumonia é uma resposta inflamatória decorrente da penetração e multiplicação descontrolada de patógenos no trato respiratório inferior (LOPES; LÓPEZ, 2009). Na grande maioria das vezes, é causada por bactérias, porém, fungos, vírus e protozoários também podem propiciar a infecção, especialmente em pacientes imunocomprometidos (YPARRAGUIRRE et al., 2001).

2.2 PAV: breves apontamentos

2.2.1 Conceito

Conforme Gupta et al. (2011), a PAV, um dos efeitos adversos mais temido em UTI, é definida como um tipo de infecção pulmonar que surge após as primeiras 48 a 72 horas do evento de intubação endotraqueal e instituição da VM invasiva, que não estava incubada no período de admissão do paciente, ou quando surge em até 72 horas após a extubação.

Para Joseph (2010a), apesar da clareza teórica deste conceito, na prática a definição de PAV é uma tarefa difícil e, por vezes, incerta. Várias definições operacionais têm sido propostas ao longo de décadas, e nenhuma é universalmente aceita. Mesmo definições baseadas em análises histopatológicas de biópsia ou autópsia podem ser imprecisas para o diagnóstico de PAV. O envolvimento de áreas focais específicas de um lobo pulmonar pode não ser obtido para exame anatomopatológico, e os resultados negativos, apesar da presença de inflamação no parênquima pulmonar. A ausência de um padrão ouro para o diagnóstico continua a alimentar a controvérsia sobre a adequação e precisão dessas definições.

O *guideline* da *American Thoracic Society* (2005), produzido em conjunto com a *Infectious Diseases Society of America*, documenta que a PAV está associada a altas taxas de morbidade e mortalidade, maior duração da VM e internação na UTI e custos adicionais, que, já em 2005, excediam a US\$ 40.000 por paciente. A mortalidade está essencialmente relacionada com a gravidade da doença no momento do diagnóstico, as doenças de base e comorbidades, idade avançada, terapia inicial inadequada de antibiótico e infecção causada por patógenos altamente virulentos ou multipatógenos.

2.2.2 Classificação

A PAV é classificada, segundo o tempo de seu desenvolvimento, em precoce e tardia. A primeira ocorre em até quatro dias após o procedimento de intubação e esta associada a melhor prognóstico. Já a segunda, ocorre após os primeiros quatro dias de VM e tem maior associação com patógenos multidrogarresistente (MDR) e altas taxas de morbimortalidade (NIEDERMAN; CRAVEN, 2005; HUNTER, 2006).

2.2.3 Patogênese

Normalmente, os mecanismos de defesa do hospedeiro – filtragem e umidificação do ar nas vias aéreas superiores, agentes antimicrobianos na saliva, reflexo da tosse, depuração mucociliar, fagócitos e opsoninas no pulmão, e imunidade celular e humoral sistêmica – evitam a invasão bacteriana. Inobstante, em pacientes críticos, essas defesas são geralmente alteradas devido às doenças subjacentes, comorbidades, sedação, desnutrição, intubação endotraqueal e outros. Dessa forma, a incursão pulmonar por parte dos agentes patogênicos é facilitada e, se houver multiplicação, podem causar doença invasiva (KOLLEF, 2012).

Tem sido registrado há mais de 30 anos que a colonização orofaríngea por patógenos Gram-negativos ocorre rapidamente em pacientes criticamente doentes e a pneumonia nosocomial incide mais frequentemente em pacientes que são colonizados. Estudos têm demonstrado que um biofilme se forma rapidamente em TETs: horas após o processo de intubação, e esse biofilme funciona como reservatório contínuo para a contaminação da árvore traqueobrônquica (WIENER-KRONISH; DORR, 2008). Partindo dessa premissa, Feldman et al. (1999) estudaram vítimas de traumas que eram anteriormente saudáveis e encontraram que, em 21 pacientes consecutivos, o interior do TET já apresentava secreções com alta densidade de bactérias após 12 horas de intubação, aumentando progressivamente a quantidade até que foi atingido um pico: às 48 horas. Os pesquisadores realizaram culturas sequenciais de secreções orofaríngeas e pulmonares e descobriram que o primeiro sítio anatômico a ser colonizado por bactérias patogênicas foi à boca – depois de 36 horas – seguidas pela colonização do TET e do trato respiratório inferior.

Segundo Bahrani-Mougeot et al. (2007), em frente da hipótese que a microbiota bucal e/ou os biofilmes do TET (formadas por bactérias das vias superiores) atingem as vias aéreas inferiores, investigações foram e têm sido

desenvolvidas com o objetivo de conhecer melhor a relação microrganismos presentes na cavidade bucal, biofilme do TET e infecções em pacientes intubados. Para os autores, métodos de cultura convencionais não detectam todos os agente microbianos na orofaringe e, portanto, também não identificam todas os microrganismos nas vias respiratórias de pacientes intubados. Para caracterizar mais precisamente o grupo total, ou comunidade de sgentes na orofaringe e na secreção traqueobrônquica, fazem-se necessários métodos de identificação molecular.

Recente ensaio clínico, envolvendo pacientes de trauma, comparou *swabs* orais de línguas de pacientes intubados com os resultados de cultura de secreção traqueal colhida por LBA. Neste estudo, análises genético-moleculares assim como cultura padrão foram implementadas em cada amostra. Os investigadores descobriram que 88% dos pacientes tinham o mesmo isolado causador de PAV diagnosticada pelo LBA e na cavidade bucal . Esses dados sugerem que a microbiota da boca era a fonte de bactérias. Neste estudo, também foi registrado que 56% dos agentes patogênicos não foram identificados pelas culturas realizadas no laboratório de microbiologia clínica (BAHRANI-MOUGEOT et al., 2007).

Da mesma forma, Flanagan et al. (2007), utilizando técnicas moleculares similares em secreções endotraqueais de pacientes com PAV causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, documentaram que muitas das bactérias presentes nas secreções analisadas pelas técnicas biomoleculares avançadas não foram identificadas pelas culturas realizadas no serviço.

Apesar dos resultados anteriormente mencionados e das limitações metodológicas, estes dois estudos corroboram que, quando um paciente é diagnosticado como PAV, o patógeno causador, em porcentagem muito grande, também é encontrado na microbiota bucal e no LBA. Logo, é possível inferir que as vias aéreas superiores (VAS) na grande maioria das vezes funcionam como fonte para a PAV. Além disso, é provável que os pacientes sem PAV por métodos convencionais também apresentem bactérias oriundas das VAS em seus pulmões e não são identificados pelos métodos de cultivo.

2.2.4 Fatores de risco

Conforme o *Centers for Disease Control and Prevention*-CDC (2003), os fatores de risco para o desenvolvimento da PAV podem ser classificados em

modificáveis e não modificáveis. Entre os não modificáveis, destacam-se idade avançada (>70 anos), elevado escore de gravidade na admissão do paciente na UTI, uso de drogas imunossupressoras, gravidade da doença, tempo prolongado de VM por incapacidade de manter ventilação espontânea normal (maior que sete dias) e presença de comorbidades (insuficiência cardíaca, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), diabetes *melittus*, doenças neurológicas, neoplasias, traumas e pós-operatório de cirurgias).

Quanto aos modificáveis, pode-se citar a desnutrição, nível de consciência (quando relacionada com a sedação demasiada, escala de Ramsay acima de quatro), reintubação traqueal, aspirado do condensado contaminado dos circuitos do ventilador, e aspectos relacionados com o ambiente (microbiota) da própria UTI (CDC, 2003). Rea-Neto et al. (2008) acrescentam a presença de doenças pulmonares crônicas de maneira geral, sepse e síndrome da angústia respiratória aguda, uso prévio de antibióticos e transfusão de células vermelhas.

Os fatores de risco também podem ser classificados segundo a relação com o hospedeiro ou intervenções dos profissionais de saúde. Colonização orofaríngea e gástrica, lesão térmica (feridas), politraumatizado, pós-cirúrgico, alterações do nível de consciência, imunossupressão, falência de órgãos, sinusite, gravidade da doença subjacente, idade avançada (≥ 60 anos) e presença de comorbidades, são fatores relacionados com o hospedeiro. Já a intubação de emergência, reintubação, traqueostomia, broncoscopia, sondagem nasogástrica, duração da internação na UTI, múltiplas linhas de cateter venoso central, uso de sedativos, profilaxia para úlcera de estresse, antibioticoterapia inadequada, uso de drogas imunossupressores e cabeceira do leito com ângulo $< 30^\circ$, são fatores relacionados com as intervenções dos profissionais de saúde (JOSEPH et al., 2010b).

2.2.5 Epidemiologia

É importante iniciar pontuando que os dados epidemiológicos variam na literatura, especialmente porque os mais diversos estudos são conduzidos em ambientes distintos. Assim, os dados podem diferenciar-se devido à heterogeneidade de pacientes, UTI, rotina de cuidados do serviço, métodos empregados no diagnóstico, qualidade e quantidade de recursos materiais e humanos, gestão e organização dos serviços e instituições, dentre outros.

A PAV – em contraste com o que se observa em outras infecções como as de pele e sistema urinário em que a mortalidade varia entre 1 e 4% – são responsáveis por altas taxas de mortalidades que variam entre 20 e 80% tornando-se, dessa forma, um importante preditor de mortalidade. Além disso, implica o aumento do tempo de VM, da permanência no hospital e na UTI, do consumo de insumos e dentre outros, como consequência, acarreta um aumento considerável nos custos do tratamento (TEIXEIRA et al., 2004; CARRILHO et al., 2006, REA-NETO et al., 2008).

A incidência de PAV é de três a 10 vezes maior do que pneumonia em pacientes não ventilados, e ocorre em 8% a 28% dos pacientes ventilados mecanicamente de forma invasiva. Segundo Wunderink et al. (1992), a VM invasiva é o principal fator de risco para o desenvolvimento de PAV e deve-se a várias razões:

- 1) O próprio TET funciona como um canal a partir do trato respiratório superior e o inferior;
- 2) Com a deglutição prejudicada, as secreções acumuladas em torno do *cuff* do tubo acabam atingindo as vias aéreas inferiores: fenômeno considerado o principal mecanismo causador de PAV;
- 3) A sedação dos pacientes que são submetidos à VM inibe mecanismos fisiológicos e naturais de defesa: tosse e adequada depuração mucociliar;
- 4) Pacientes submetidos à VM são frequentemente alimentados por via nasogástrica, proporcionando uma fonte de fluido de aspiração e microaspiração;
- 5) Pacientes criticamente doentes, especialmente aqueles que são instáveis com relação ao estado neurológico ou cardíaco, são muitas vezes mantidos em decúbito dorsal; e
- 6) Atividades/mobilidade são frequentemente limitadas durante o período de VM.

As fontes de patógenos para as pneumonias nosocomiais incluem dispositivos utilizados nos cuidados, o meio ambiente (ar, água, equipamentos e fômites), e a transferência de microrganismos entre o paciente e os funcionários ou outros pacientes, mais frequentemente através das mãos dos profissionais de saúde. No entanto, a maioria das pneumonias nosocomiais é considerada uma infecção endógena secundária (resultante da própria microbiota do paciente). A prevalência de patógenos MDR varia de acordo com população de pacientes,

hospital, e do tipo de UTI, o que enfatiza a necessidade de dados de vigilância locais (GREENE; SPOSATO, 2009).

2.2.6 Agentes etiológicos

O agente etiológico varia de acordo com a população de pacientes, unidade, hospital ou país. Os organismos causadores de PAV e o seu padrão de susceptibilidade pode variar não apenas de uma unidade para outra, mas também numa determinada unidade ao longo do tempo. Em revisão bibliográfica, Joseph et al. (2010b) documentaram os principais agentes causadores de PAV e os estratificaram em comuns e incomuns, segundo o quantitativo de ocorrência encontrado em diversos estudos (Tabela 1).

Tabela 1: Micorganismos causadores de PAV.

Causadores mais comuns	Causadores raros/incomuns
<u>Cocos gram-positivos</u>	<u>Bacilos gram-positivos</u>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium</i> spp.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Outros <i>Streptococcus</i>	<i>Nocardia</i> spp.
<i>Streptococcus</i> coagulase-negativa	<u>Bacilos aeróbios gram-negativos</u>
<i>Enterococcus</i>	<i>Serratia</i> spp.
<u>Bacilos aeróbios gram-negativos</u>	<i>Hafnia alvei</i>
Bacilos Gram-Negativos entéricos	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Klebsiella</i> spp.	<u>Cocos gram-positivos</u>
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Neisseria</i> spp.
<i>Proteus</i> spp.	<i>Moraxella</i> spp.
<i>Citrobacter</i> spp.	<u>Bactérias anaeróbias</u>
<u>Bacilos gram-negativos não fermentadores de glicose</u>	<u>Bacilos</u>
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Bacteroides</i> spp.
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Fusobacterium</i> spp.
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Prevotella</i> spp.
<u>Fungos</u>	<i>Actinomyces</i> spp.
<i>Candida</i> spp.	<u>Cocos</u>
	<i>Veillonella</i> spp.
	<u>Bactérias atípicas</u>
	<i>Legionella</i> spp.
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
	<u>Fungos</u>
	<i>Aspergillus</i> spp.
	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
	<u>Vírus</u>
	Influenza e outros vírus respiratórios
	Vírus da herpes simples
	Citomegalovírus

Causas diversas
Mycobacterium tuberculosis

Estes agentes podem ser adquiridos a partir de outros pacientes, profissionais de saúde, dispositivos, ou ambiente hospitalar, mas também da própria microbiota residente do hospedeiro. A PAV precoce é muitas vezes causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, enquanto PAV tardia é frequentemente causada pelos agentes MDR mais presentes em terapia intensiva: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ou *Enterobacter* spp, *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). Não rara vezes, infecções polimicrobionas estão presentes (RELLO et al., 2002).

Segundo Walsh et al. (2005), a maioria dos patógenos da VAP, tais como espécies de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, MRSA, e bacilos entéricos Gram-negativos são capazes de expressar substâncias, *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL) e AmpC β -lactamases, que exibem elevados níveis de resistência aos antibióticos. Estas bactérias são referidas como MDR. De acordo com a literatura, não resta dúvida de que a antibioticoterapia prévia ou hospitalização prévia, nos últimos 90 dias, predispõe à colonização e infecção por patógenos MDR.

Em 2007, Perez et al. conduziram revisão bibliográfica que resumiu o surgimento mundial de *Acinetobacter Baumannii* resistente a antibióticos e apresentaram os principais mecanismos de resistência desses e de outros patógenos. Segundo os autores, os mecanismos básicos de resistência aos β -lactâmicos são a produção de β -lactamases, a falta de penetração da droga devido a uma mutação nas porinas, a presença de bombas de fluxo e alterações nas proteínas de ligação à penicilina, que impedem a sua ação. Em conformidade com Joseph et al. (2010b), ESBL e AmpC β -lactamases conferem principalmente resistência às penicilinas e cefalosporinas, enquanto metalo- β -lactamases (MBL) contribui para a resistência aos carbapenêmicos.

2.2.7 Achados sugestivos de PAV

A suspeita de PAV ocorre quando do aparecimento de infiltrado pulmonar novo ou progressivo na radiografia do tórax, associado à presença de sinais clínicos e alterações laboratoriais definidos como: febre ($> 38^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia ($< 36^{\circ}\text{C}$), leucocitose ($> 10.000/\text{mm}^3$) ou leucopenia ($< 4.000/\text{mm}^3$) e presença de secreção

traqueobrônquica purulenta. Entretanto, a acurácia desses critérios é baixa e, consequentemente, o diagnóstico preciso de PAV nos dias atuais é uma grande dificuldade e constitui-se num constante desafio para a prática em UTI (CLEC'H et al., 2006; MORROW; KOLLEF, 2010).

Diante disso, alguns autores recomendam que seja valorizada a presença de mais de um critério clínico associado ao radiológico para aumentar a sensibilidade e a especificidade. A utilização apenas de critérios clínicos pode incorrer em erro diagnóstico e em tratamentos inadequados, haja vista que esses critérios são bastante inespecíficos e podem estar presentes numa série de situações a que os pacientes graves estão expostos, como atelectasias, edema pulmonar cardiogênico, infarto pulmonar, síndrome do desconforto respiratório agudo e hemorragia alveolar (CARVALHO, 2006; CLEC'H et al., 2006; MORROW; KOLLEF, 2010; TEJERINA et al., 2010; VINCENT et al., 2010).

2.2.8 Métodos diagnósticos

O diagnóstico preciso da VAP permanece como problemática porque recursos diagnósticos padrão de pneumonia – como febre, taquicardia, leucocitose, secreção purulenta, e consolidação na radiografia de tórax – não são confiáveis em pacientes críticos em ventilação mecânica. A febre, a leucocitose, e a taquicardia são achados inespecíficos e observados em qualquer paciente criticamente doente com resposta inflamatória a uma determinada injúria, como trauma, queimaduras, pancreatite, etc. A secreção traqueal purulenta pode ser uma consequência da traqueobronquite e nem sempre refletir envolvimento parenquimatoso. O infiltrado pulmonar à radiografia de tórax pode estar relacionado com uma série de condições não infecciosas, incluindo o edema pulmonar, hemorragia, e contusão (HUNTER, 2005). Em estudo prospectivo de 50 pacientes com suspeita clínica de PAV e na presença de febre e infiltrados pulmonares, Meduri et al. (1994) comprovaram algumas destas dificuldades, pois apenas 42% do estudados tiveram diagnóstico definitivo de VAP.

Devido a esses obstáculos, testes diagnósticos específicos são necessários, idealmente antes do início da terapia com antimicrobianos. Estes são solicitados basicamente para dois propósitos: ajudar a definir se o paciente é ou não portador de pneumonia, explicando uma constelação de novos sinais e sintomas; e para determinar a etiologia patogênica quando a pneumonia está presente, guiando a terapia antimicrobiana. As linhas de orientações definidas por consenso

internacional defendem que critérios clínicos associados a alterações radiológicas podem ser utilizados no rastreio inicial de pneumonia, mas devido à sua pouca especificidade, são necessários procedimentos adicionais no trato respiratório inferior (NIEDERMAN; CRAVEN, 2005).

Sabe-se que atraso no diagnóstico retarda o início da terapia apropriada e pode associar-se a piores resultados para os pacientes. Por outro lado, diagnóstico incorreto pode levar a tratamento desnecessário ou equivocado e complicações subsequentes relacionadas com a terapia, como o surgimento de cepas agentes MDR e injúrias orgânicas. O diagnóstico precoce e preciso, portanto, é de fundamental importância para a sobrevivência desses pacientes. Vários critérios foram propostos para auxiliar no diagnóstico de PAV em diversos contextos, incluindo análises anatomopatológicas, manifestações clínicas, técnicas de imagem, biomarcadores e culturas quantitativas de secreção traqueal colhida por diferentes métodos. Devido à falta de um padrão ouro aceitável, operacionalmente viável e eficaz, a precisão destes métodos é controversa (REA-NETO et al., 2008).

2.2.8.1 Critérios clínicos

Embora inespecíficos conforme discutido anteriormente, os critérios clínicos resultantes da PAV são leucocitose ou leucopenia, febre ou hipotermia, novo ou progressivo infiltrado na radiografia de tórax e secreções traqueobrônquicas purulentas. Infelizmente – ao contrário da pneumonia adquirida na comunidade – essas manifestações são de valor limitado para firmar o diagnóstico da infecção (TABLAN et al., 2004).

Para Koenig e Truwit (2006), a pouca precisão dos critérios clínicos não é surpreendente, considerando que secreções traqueobrônquicas purulentas estão invariavelmente presentes em pacientes submetidos à VM prolongada e raramente estão relacionadas com a pneumonia. Além disso, os sinais sistêmicos da infecção, como as alterações térmicas, contagem leucocitária e taquicardia, são inespecíficos, visto que podem ser desencadeados por diversas condições clínicas que estimulam a liberação de citocinas, interleucina 1 e 6, fator de necrose tumoral alfa e interferon gama. A título de exemplo, podem-se citar traumas, cirurgias, a fase fibroproliferativa da síndrome do desconforto respiratório agudo (SARA), trombose venosa profunda, embolia pulmonar e infarto pulmonar.

Assim, visando melhorar a definição clínica de PAV, a associação de diversos critérios diagnósticos de pneumonia é veementemente recomendada. Nesse sentido, um índice de pontuação chamado de “Escore Clínico de Infecção Pulmonar” (ECIP) foi desenvolvido utilizando a ponderação de vários critérios. Na descrição original do ECIP, os pontos foram atribuídos com base na magnitude das anormalidades em seis avaliações clínicas, cada um no valor de 0-2 pontos: febre, contagem de leucócitos, quantidade e purulência da secreção traqueobrônquica, oxigenação, tipo de anormalidade radiográfica, resultados de cultura de secreção traqueobrônquica e coloração de Gram. Quando aplicados de forma prospectiva, o último critério pode não ser sempre utilizado, e se for omitido, o intervalo de pontuação é de 0 a 10, em vez de 0 a 12 (NIEDERMAN, 2010). Nos últimos anos, várias modificações das ECIP têm sido propostas (FLANAGAN et al., 2000; SINGH et al., 2000; FARTOUKH et al., 2003; LUNA et al., 2003; SCHURINK et al., 2004; LUYT et al., 2004). Embora com algumas características distintas, os mais variados escores de ECIP disponíveis baseiam-se nos componentes descritos na Tabela 2 (MARTINS, 2010; ROYER, 2013).

Tabela 2: Parâmetros do cálculo do Escore Clínico de Infecção Pulmonar.

Parâmetros	Pontos
Temperatura, °C	
36,5 - 38,4	0
38,5 - 38,9	1
≥ 39,0 e ≤ 36,0	2
Contagem de Leucócitos no sangue, Leucócitos/mm-3	
4.000 - 11.000	0
≤ 4.000 ou ≥ 11.000	1
+ 50% em forma de bastões	2
Secreção Traqueal	
Ausência de secreção traqueal	0
Secreção não purulenta	1
Secreção purulenta	2
Oxigenação, PaO₂: FiO₂, mmHg	
> 240 ou SARA	0
≤ 240 e sem SARA	2
Radiografia Pulmonar	
Sem infiltrado	0
Infiltrado difuso ou irregular	1
Infiltrado localizado	2
Progressão do infiltrado pulmonar	
Sem progressão radiológica	0

Progressão radiológica (excluir congestão pulmonar e SARA)	2
Cultura do aspirado traqueal	
Cultura negativa ou crescimento baixo	0
Cultura com bactérias patogênicas em crescimento significativo	1
Crescimento da mesma bactéria observado por coloração de Gram	2

Nota: SARA - Síndrome da Angústia Respiratória Aguda; PaO_2 : FiO_2 - razão da pressão parcial de oxigênio arterial pela fração de oxigênio inspirado.

Quando relatada pela primeira vez, a correlação entre as ECIP e as culturas de LBA, a partir de amostras de secreção traqueobrônquica de pacientes que receberam VM, era de 80%, indicando boa concordância pelo coeficiente de Cohen-Kappa. Além disso, se um ECIP >6 fosse usado para definir a pneumonia, 93% das amostras de LBA dos pacientes eram positivas a partir de critérios microbiológicos. Outro dado, é que se o ECIP fosse ≤ 6 , nenhum paciente apresentava cultura de secreção traqueobrônquica positiva. Assim, nas análises de validação do ECIP original, escores >6 como definição clínica de PAV, houve uma sensibilidade de 93% e uma especificidade e valor preditivo positivo de 100% (NIEDERMAN, 2010). Portanto, o ponto de corte frequentemente utilizado em dias atuais é 6.

2.2.8.2 Radiografia de tórax

A radiografia de tórax é, sem dúvida, o exame de imagem mais comumente realizado em pacientes sob VM. É solicitado para diversos fins diagnósticos – posicionamento de tubos, cateteres, drenos, análise de estruturas anatômicas, dentre outras. Em relação à PAV, é amplamente aceito que novo ou progressivo infiltrado pulmonar na radiografia torácica é sugestivo de pneumonia. Alguns autores defendem que o diagnóstico clínico de PAV pode ser feito, quando esses dados estão associados, a pelo menos, dois dos seguintes três critérios: febre, secreção purulenta ou leucocitose. Inobstante, diferentes estudos têm mostrado que esta conduta pode até ser sensível, mas não é específica (WOOD et al., 2005; NIEDERMAN, 2010).

Segundo Koenig e Truwit (2006), embora permaneça como componente importante para o diagnóstico de pacientes ventilados com suspeita de PAV, a radiografia torácica à beira do leito tem consideráveis problemas com a sensibilidade e especificidade. Filmes de baixa qualidade – não raros em pacientes críticos internados em UTI – comprometem ainda mais a precisão do método. Além disso,

mesmo diante de filmes de boa qualidade, infiltrados pulmonares assimétricos consistentes podem ser causados por várias doenças não infecciosas, incluindo atelectasia, pneumonite química, edema pulmonar, embolia pulmonar, contusão pulmonar, hemorragia pulmonar, a reações a determinadas drogas, SARA e outras. A especificidade radiográfica global de uma opacidade pulmonar consistente com pneumonia é de apenas 27% a 35%. Assim, mesmo frente a imagens radiográficas típicas de PAV, o diagnóstico é incerto.

No entanto, alguns resultados de radiografias de tórax podem ser úteis no diagnóstico de PAV, maiormente quando associados a dados clínicos, epidemiológicos, laboratoriais e de culturas de conteúdo pulmonar (KHILNANI, et al., 2011).

2.2.8.3 Análises anatomopatológicas

O estabelecimento do diagnóstico de PAV, com base na histologia, patologia ou cultura de tecido pulmonar, tem um elevado grau de incerteza, no entanto, são considerados como os melhores métodos disponíveis atualmente. Um dos principais problemas é que a análise cito-histológica (biópsia, necropsia ou autópsia) do parênquima pulmonar pode incluir tecido não doente levando a falsos negativos. Além disso, os critérios diagnósticos baseados em exame patológico de tecido pulmonar não estão bem definidos e a biópsia não é viável na prática clínica (KOENIG; TRUWIT, 2006; REA-NETO et al., 2008; JOSEPH et al., 2010a).

Vinte e cinco pacientes falecidos, mecanicamente ventilados por mais de 72h, foram estudados prospectivamente por Fabregas et al. (1996) imediatamente após a morte, vários espécimes de biópsia pulmonar bilateral (16 amostras por paciente) foram obtidos para exame histológico e cultura quantitativa. Os resultados apontam que a histologia e a cultura de tecido pulmonar foram mal correlacionados, desafiando o valor do exame histológico do tecido pulmonar no diagnóstico de PAV.

2.2.8.4 Microscopia

Técnicas de coloração de Gram e análise a fresco de secreções traqueobrônquicas têm as vantagens de reprodutibilidade, exigir pouca “expertise” técnica e de não requerer nenhum equipamento especializado ou procedimento. No entanto, estes métodos apresentam como principais pontos negativos a pouca sensibilidade e especificidade. Isso em detrimento do fato de que o trato respiratório

superior é rapidamente, dentro de poucas horas após a intubação, colonizado por patógenos pulmonares potenciais, mesmo quando a pneumonia não está presente. Assim, se um organismo é cultivado ou identificado na coloração de gram, não se sabe se é a causa da pneumonia ou simplesmente colonização (KOENIG;TRUWIT, 2006).

Não obstante, segundo Chastre e Gagon (2002), a coloração de Gram ainda é útil, porque detecta bactérias e leveduras nas secreções respiratórias e pode indicar a antibioticoterapia inicial, antes que os resultados de cultura e antibiograma estejam disponíveis. As percentagens de células epiteliais escamosas podem ser utilizadas para prever a contaminação das vias respiratórias superiores. A presença de mais do que 1% de células epiteliais, ou 10 células epiteliais por campo de baixa potência (ampliação de x 100), tem sido proposto como um critério de rejeição. O número de polimorfonucleares (PMN), leucócitos, geralmente não é um bom preditivo de que a amostra deve ser interpretada. No entanto, contradições são encontradas na literatura. Em estudo pós-morte com 39 cadáveres, Kirtland et al. (1997) encontraram que a secreção colhida pela LBA com < 50% de neutrófilos teve um valor preditivo negativo de 100% para pneumonia histológica. Já a presença de leucócitos não se mostrou bom preditor para cultura positiva, mas na sua ausência, uma cultura positiva foi improvável.

Segundo Koenig e Truwit (2006), vários documentos da literatura médica registram que apenas 15% das amostras de AT são adequadas, quando critérios rigorosos de definição são seguidos (microrganismos na coloração de Gram, menos que 10 células epiteliais escamosas e mais de 25 leucócitos por campo de pequeno aumento 10 vezes). Esses dados sugerem a necessidade de melhorias na fase de colheita das amostras de secreção traqueal.

2.2.8.5 Hemoculturas e cultura de líquido pleural

Dados disponíveis numa revisão sistemática (REA-NEO et al., 2008) registram que as taxas de hemoculturas positivas em pacientes portadores de PAV variam de 8 a 20% segundo os diferentes estudos. Estudo observacional prospectivo conduzido por Luna et al. (1999) objetivou analisar a eficácia da hemocultura para confirmar o patógeno e a gravidade da doença em pacientes acometidos por PAV. Os pesquisados coletaram amostras de sangue e LBA 24 horas após a suspeita clínica de PAV em 162 pacientes. Segundo os resultados, a sensibilidade das

hemoculturas em 90 pacientes com PAV confirmada por LBA foi de apenas 26% e, em muitos casos, as bactérias isoladas nas hemoculturas tinham provavelmente uma fonte extrapulmonar. Além disso, em cinco de 72 pacientes sem PAV (6,9%) as culturas foram positivas.

Contudo, segundo Chastre e Fagon (2002), embora a PAV possa estender-se para o sangue ou espaço pleural em apenas 10% dos casos, sua utilidade não está descartada. Para os autores, se um patógeno tipicamente causador de pneumonia é cultivado na presença de suspeita clínica desta infecção, ela deve ser considerada e o tratamento guiado por antibiograma iniciado imediatamente. Os pesquisadores ressaltam que alguns especialistas recomendam que dois conjuntos de hemocultura e uma toracocentese, para derrames pleurais ≥ 10 mm de diâmetro em uma radiografia de tórax em decúbito lateral, devam fazer parte da investigação dos pacientes com suspeita de PAV.

2.2.8.6 Cultura qualitativa de secreção traqueal

Para Torres e Carlet (2001), atualmente a análise qualitativa de conteúdos pulmonares, enquanto estratégia diagnóstica de PAV, é fortemente contraindicada pelas diretrizes internacionais. Assim, a maioria dos estudos sobre a temática é antiga. Com base nesses estudos, é possível assegurar que o aspirado traqueobrônquico analisado qualitativamente é bastante sensível ($>75\%$), mas pouco específico ($<25\%$). Logo, está associado à alta porcentagem de falsos positivos devido à colonização do trato respiratório inferior.

No entanto, em detrimento do elevado valor preditivo negativo, eles podem ser úteis para excluir a PAV em alguns casos, particularmente nos doentes sem tratamento antimicrobiano previamente. Como a cultura qualitativa é muito sensível, vale ressaltar que a continuação da terapia com antibióticos baseada apenas num relatório positivo pode levar ao uso desnecessário de antibióticos, estimulando a resistência bacteriana e, conseqüentemente, custos mais elevados (LUNA; CHIRINO, 2004).

2.2.8.7 Cultura quantitativa de secreção traqueal

Para melhorar potencialmente a especificidade do diagnóstico de PAV e, conseqüentemente, o uso desnecessário de antibióticos e os problemas associados, numerosos estudos têm investigado o papel de culturas quantitativas de secreções

respiratórias (WOOD et al., 2003; BUTLER et al., 2004; DAVIS et al., 2004; ELATROUS et al., 2004; MONDI et al., 2005; BRUN-BUISSON et al., 2005; EL SOLH et al., 2007; KHILNANI et al., 2011).

A cultura quantitativa de secreção traqueal é realizada pela diluição das amostras. Os resultados são expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL), após correção para a diluição inicial. Se o número de UFC/ml é igual ou excede os valores limites para a técnica particular, o diagnóstico de pneumonia é confirmado. O ponto de corte, entretanto, varia entre protocolos, serviços e métodos de obtenção das amostras (JOSEPH et al., 2010b).

Conforme Luna e Chirino (2004), as culturas quantitativas são geralmente preferíveis às qualitativas para a tomada de decisões sobre a terapia para PAV. Outrossim, vale ressaltar que os resultados das culturas quantitativas podem ser influenciados por vários fatores, como o estágio de pneumonia, terapia antimicrobiana prévia, adequação da amostra, habilidade do operador, método de processamento, atraso no transporte, entre outros. Resultados falso-positivos podem ser secundários à DPOC e bronquiolite, devido às altas contagens bacterianas sem pneumonia características dessas doenças. Considerando essas limitações potenciais, a cultura quantitativa que excede um valor limite nem sempre é diagnóstico de PAV.

Vários métodos de colheita de secreção traqueobrônquica foram desenvolvidos e testados ao longo dos anos e têm sido aprimorados nos dias de hoje para auxiliar no diagnóstico de PAV e, além disso, determinar o patógeno causador (diagnóstico microbiológico). Tudo isso visando à melhoria na qualidade do diagnóstico e, conseqüentemente, terapêutica antimicrobiana racional, específica, eficaz e segura, com menor risco para o surgimento de cepas de agentes MDR. Entre esses métodos, destacam-se o AT, o mini-LBA (métodos cegos), o LBA e o EBP- (métodos broncoscópicos) (RIAZ et al., 2011).

2.2.8.8 Técnicas fibrobronoscópicas

Nestas técnicas, o paciente que tem condições clínica é preparado para o procedimento que, normalmente, inclui sedação e analgesia tópica e sistêmica. Um broncoscópio é introduzido sem aspiração através do TET até o sítio sugerido pelas alterações na radiografia do tórax. O segmento comprometido é selecionado e o broncoscópio inserido dentro do seu óstio. Dependendo do método empregado, a

amostra pulmonar é coletada de uma forma ou de outra para a investigação microbiológica (KOENIG; TRUWIT, 2006).

No EBP, as amostras são coletadas por meio de uma pequena escova flexível, internalizada dentro de dois cateteres – interno e externo. Com o escopo de evitar contaminação a partir das vias aéreas superiores, o cateter externo é introduzido dentro do canal principal do broncoscópio até o nível desejado da árvore brônquica, na maioria das vezes, até os terceiros brônquios subsegmentares. Depois, o cateter interno é introduzido dentro do externo e a escova dentro do interno. A escova é friccionada na parede brônquica e recolhe-se aproximadamente de 0,001 a 0,01 ml de material. Na retirada dos dispositivos, após a colheita da amostra, a sequência é invertida. A escova é assepticamente cortada, colocada em 1 ml de diluente e transportada o mais rapidamente possível ao laboratório para processamento (SHARP et al., 2004).

Já no LBA, conforme o mesmo autor, método que fornece uma das amostras de maior volume e mais versátil, o broncoscópio é introduzido, geralmente, ao nível do terceiro brônquio subsegmentar. Um volume variável de solução salina é instilado através de uma via do broncoscópio, porém, não mais que 160 ml. Depois, três a quatro alíquotas são aspiradas. O volume recuperado varia de acordo com o volume instilado, normalmente de 10 a 100 ml. Estima-se que, aproximadamente, apenas 1 ml de secreção pulmonar propriamente dita é obtida, entretanto, mais de um milhão de alvéolos são amostrados por essa técnica. Visando evitar a excessiva contaminação brônquica por agentes das vias aéreas superiores, a primeira alíquota é desprezada e, portanto, somente as demais consideradas para cultura.

Apesar de coletar amostras de qualidade satisfatória do possível sítio infeccioso – segundo informações radiológicas –, esses procedimentos permitem uma análise visual do trato respiratório inferior. Existem vários problemas técnicos que podem comprometer a qualidade das amostras obtidas. Estes fatores incluem a contaminação do lúmen de trabalho do broncoscópio, a supressão do crescimento de determinadas bactérias por agentes anestésicos tópicos, a relação quantitativa de fluido instilado e recuperado posteriormente e erros na localização exata da área afetada no universo do parênquima pulmonar (SHARP et al., 2004).

Baseados em parâmetros de sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo negativo e positivo, alguns trabalhos (SHIN et al., 2011; FICA et al., 2011) apontam que técnicas broncoscópicas são discretamente superiores às cegas.

Entretanto, este se constitui de tema controverso e até mesmo divergente na literatura, uma vez que, em vários estudos, a qualidade dos resultados das culturas de secreção traqueobrônquica, coletada por diferentes métodos broncoscópicos e não broncoscópicos, parece ser equivalente para o diagnóstico de PAV (BARREIRO et al., 1993; EL-EBIARY et al., 1993; RUMBAK; BASS, 1994; VALLÉS et al., 1994; KOLLEF et al., 1995; MARIK; BROWN, 1995; JOURDAIN et al., 1995; ALLAOUCHICHE et al., 1996; BELLO et al., 1996; PREKATES et al., 1998; SOUWEINE et al., 1998; ALLAOUCHICHE et al., 1999; CASETTA et al., 1999; FLANAGAN et al., 2000; MIMOZ et al., 2000; DUFLO et al., 2001; WU et al., 2002; MILLER et al., 2003; SIRVENT et al., 2003; WOOD et al., 2003; BUTLER et al., 2004; DAVIS et al., 2004; ELATROUS et al., 2004; MONDI et al., 2005; BRUN-BUISSON et al., 2005; EL SOLH et al. 2007; KHILNANI et al., 2011; SHIN et al., 2011).

Considerando vários estudos já realizados na área e tendo o diagnóstico de PAV confirmado por análise anatomopatológica para efeito de comparação, o LBA (ponto de corte de 10^4) apresenta sensibilidade entre 19 e 83% e uma especificidade de 45 a 100%; o EBP (10^3), uma sensibilidade entre 36 e 83% e uma especificidade de 50 a 95%; e o AT (10^5), uma sensibilidade entre 44 a 87% e especificidade entre 31 a 92% (ROUBY et al., 1989; TOREES et al., 1994; MARQUETTE et al., 1995; PAPAIZIAN, et al., 1995; TOREES et al., 1996; PAPAIZIAN et al., 1997; KIRTLAND et al., 1997; FÀBREGAS et al., 1999; LBATHAZAR et al., 2000; TOREES et al., 2000, EL SOLH et al. 2007, KHILNANI et al., 2011).

Outro dado relevante é que o uso de técnicas broncoscópicas tem sido limitado, especialmente devido ao fato de serem procedimentos invasivos e complexos, consumirem muito tempo e requererem recursos humanos e materiais especializados para a colheita (TASBAKAN et al., 2011).

2.2.8.9 Aspirado traqueal

Em contrapartida, o AT, por ser um método simples, rápido, seguro, barato, não exigir “expertise” e na maioria das vezes melhor tolerado, tem sido largamente utilizado para identificar microrganismos presentes nas secreções traqueobrônquicas e, em combinação com as características epidemiológicas locais e achados clínicos/radiológicos, guiar a antibioticoterapia precoce e adequada. Por

isso, tem sido frequentemente empregado em UTI (CLEC'H et al., 2006; RIAZ et al., 2011).

A colheita é realizada pela introdução suave e às cegas de um cateter estéril no interior do TET, seguido de aspiração de secreções traqueobrônquicas. O material é analisado por microscopia a fresco e por coloração de Gram, assim como por culturas qualitativas, semiquantitativas e quantitativas. Os resultados quantitativos são espessos em UFC por mililitro (ml) (SHIN et al., 2011).

Na literatura, não há consenso quanto ao exato ponto de corte entre culturas positivas e negativas para o AT. Apesar disso, a maioria dos estudos consideram culturas positivas quando há crescimento $\geq 10^5$ ou $\geq 10^6$ UFC/mL. Acerca dessa temática, a Anvisa esclarece que quando se utiliza ponto de corte de $\geq 10^6$ UFC/mL, a especificidade é aumentada, mas a sensibilidade é reduzida em relação ao $\geq 10^5$. Por outro lado, $\geq 10^5$ UFC/mL podem ser utilizados como critério, no entanto com baixa especificidade (ANVISA, 2009). Atualmente, a maioria dos estudos (WU et al., 2002; PORZECANSKI I; BOWTON, 2006; NAIR et al., 2008, KOENIG SM; TRUWIT, 2010; JOSEPH et al., 2011) consideram AT positivo quando a cultura microbiana revelava 10^5 UFC/mL ou mais.

Em relação à eficácia do AT, usando valores de corte de $\geq 10^6$ UFC/ml, a sensibilidade e especificidade do método tem variado largamente de um estudo para outro. A sensibilidade varia de 38 a 82%, com média de $76\% \pm 9\%$, e a especificidade varia de 72 a 85%, com média de $75\% \pm 28\%$ (KOENIG; TRUWIT, 2006).

Em 2005, a *American Thoracic Society* publicou um *Guideline* que recomenda o AT (força de evidência II) para a colheita de secreções respiratórias inferiores quando as técnicas broncoscópicas não estiverem disponíveis, como também enfatiza que os resultados podem ser utilizados para estabelecer o diagnóstico microbiológico da PAV, bem como guiar a terapia antimicrobiana.

2.2.8.10 Biomarcadores

Quando mecanismos anatômicos, fisiológicos e mecânicos de defesa (vibrissas, produção de muco, tosse, movimento mucociliar de depuração) que impedem a invasão de microrganismos falham, uma complexa resposta imunológica do hospedeiro é desencadeada. Produtos microbianos são liberados e ativam macrófagos alveolares locais, que liberam diversos mediadores endógenos. Entre

estes, é possível destacar o fator de necrose tumoral alfa (FNT- α), a interleucina-1 beta (IL-1 β) e outras citocinas. Esses mediadores são aumentados em vários tipos de infecções pulmonares e, portanto, têm potenciais implicações de prognóstico. Porém, não há valores de corte confiáveis de tal forma que possam ser utilizados para diagnosticar a pneumonia. Assim, visando melhorar a rapidez e o desempenho dos procedimentos diagnósticos de PAV, vários biomarcadores têm sido investigados (REA-NETO et al., 2008).

A PCR (Proteína Creativa), a PCT (procalcitonina), e o Strem (receptor solúvel de desencadeamento, expresso em células mielóides) são biomarcadores promissores para o diagnóstico de PAV, enquanto que as concentrações de EF (fibras de elastina) e endotoxinas são de valor limitado. Mais estudos são necessários para determinar totalmente a precisão do diagnóstico por meio dos biomarcadores (REA-NETO et al., 2008).

2.2.9 Prevenção

Segundo Tolentino-DelosReyes et al. (2007), em detrimento aos efeitos deletérios para os pacientes críticos internados em UTI, a prevenção da PAV tem sido uma prioridade mundial. Diretrizes clínicas, baseadas em evidências ou não, destinadas a reduzir a VAP já estão disponíveis há muitos anos e incluem dezenas de estratégias claras de prevenção. Nesse sentido, os “*bundles*” – pacotes de recomendações preventivas baseadas em evidências – surgiram recentemente com o intuito de guiar a abordagem multiprofissional no combate às infecções. No caso da PAV, há vários disponíveis no mundo, cuja implementação em situação real de assistência é comprovadamente capaz de reduzir as taxas de pneumonia.

Dentre as diversas recomendações contempladas nesses “*bundles*”, as principais são a higienização das mãos antes e após o contato com cada paciente, tratar as causas reversíveis de insuficiência respiratória (equilíbrio hidroeletrólítico, broncoespasmo, analgesia, sedação, etc.), VM não invasiva, evitar a distensão gástrica, procedimento asséptico, sondagem orogástrica, elevação da cabeceira do leito de 30 a 45° (a menos que clinicamente contraindicada), uso de filtros no circuito do ventilador (quando apropriado), troca de circuitos ventilatórios apenas quando necessário, boas práticas assépticas, sistema de aspiração fechado, aspiração de secreções supraglóticas de forma contínua, higiene bucal com clorexidina em pacientes submetidos a cirurgias cardíacas, sedação mínima para reduzir a duração

da VM, uso de protocolo de desmame, adequado suporte nutricional, descontaminação intestinal seletiva, esquema rotacional de antibióticos, TOT impregnado com antibióticos, extubação o mais precocemente possível, prevenção dos fatores de risco modificáveis, como a traqueostomia, reintubação, corticoterapia, profilaxia úlcera de estresse e contaminação de equipamentos de assistência respiratória, água ou ambiente, entre outros (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2005; KOENIG; TRUWIT, 2006; JOSEPH, 2010a)

Vale ressaltar que, apesar do conhecimento e reconhecimento do valor dessas medidas, infelizmente muitas vezes não se observam alterações de comportamentos no ambiente clínico, e a PAV permanece como problema de saúde, em parte devido à resistência dos profissionais de saúde às mudanças impostas pelo novo cenário da assistência à saúde mundial (BIRD et al., 2010).

2.2.10 Tratamento

O tratamento da PAV inclui o empírico ou inicial – até que os resultados microbiológicos estejam disponíveis – e o definitivo (baseado no perfil de sensibilidade aos antimicrobianos). Contudo, em consequência da influência de diversos fatores, como a ausência de um diagnóstico padrão e definitivo de VAP, a dificuldade em diferenciar colonização de infecção ativa, a falta de uma técnica adequada e viável para provar o local específico da infecção pulmonar e frequente associação com agentes patogênicos MDR, o sucesso do tratamento de pacientes com PAV permanece como tarefa árdua e complexa (REECHAIPICHITKUL, et al. 2013).

Com relação a esses fatores, os agentes MDR se destacam como mais novo e preocupante desafio. Thakuria et al. (2013) conduziram estudo prospectivo com o objetivo de avaliar o perfil microbiológico das bactérias Gram-negativas causadoras de PAV, bem como a sua relação com a antibioticoterapia inicial empírica, padrões de sensibilidade e resultado. A prevalência de produtores de carbapenemases foi elevadíssima, 24/50 (48%). Os produtores de carbapenemases mostraram elevado grau de resistência cruzada aos antibióticos com alguma sensibilidade à polimixina B (94%) e tigeciclina (96%), antibióticos de grande espectro e de última escolha no cenário atual. Com esses dados, é possível perceber que o adequado tratamento dos pacientes acometidos por PAV é majoritário, não apenas para a sobrevivência dos

afetados mas também para outros pacientes que ocupam ou que ocuparão leitos onde há casos de PAV.

Há várias recomendações para a escolha da antibioticoterapia empírica adequada para a VAP, com destaque para o conhecimento dos patógenos que possam estar presentes, os padrões de resistência microbiana dentro na unidade, estado clínico do paciente, resultado da técnica de coloração de Gram e regime racional de antibióticos (SHARP et al., 2004; AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2005; KOENIG; TRUWIT, 2006). Apesar disso, não há uma fórmula pronta e acabada, pois a terapêutica é multifatorial e cada caso é um caso. Por exemplo, embora se conheça bem a epidemiologia patogênica da PAV em um determinado serviço ou infecções anteriores do paciente, isso não garante que o diagnóstico microbiológico diante de uma PAV clínica será equivalente.

É consenso na literatura que a terapia precoce e eficaz para VAP está associada à redução das taxas de mortalidade. Estudo realizado em uma UTI de um hospital-escola da Argentina demonstrou que a terapia inadequada durante as primeiras 48h da PAV, apesar de terapêutica adequada após diagnóstico microbiológico pelo LBA, foi associada a uma taxa de mortalidade de 91%. Por outro lado, quando a terapia empírica era apropriada, a taxa de mortalidade foi de 38% (LUNA et al., 1997). Portanto, atrasos na administração de terapia antibiótica apropriada para a PAV aumenta a mortalidade.

Além disso, para Joseph et al. (2010), na escolha de antibióticos específicos também deve ser levado em consideração a microbiota local, custo, viabilidade e disponibilidade do fármaco. Os autores ressaltam que, embora a duração da terapêutica empírica seja, tradicionalmente, de 14 a 21 dias, em doentes com boa resposta clínica com relação à resolução da infecção, o tempo pode ser reduzido para sete dias, exceto nos casos que se tratam de *Pseudomonas aeruginosa*, espécie de *Acinetobacter* ou outros não fermentadores.

2.3 Biofilme do TET

Segundo Chen et al. (2013), o biofilme é um complexo conglomerado de células vivendo em forma de comunidades estruturadas ligadas a um substrato ou superfície. Os microrganismos do biofilme são embutidos em uma matriz extracelular polimérica sintetizada pelos próprios microrganismos. Essa forma organizada de sobrevivência é encontrada em superfícies banhadas por fluidos, tais como sistemas

aquáticos naturais, tubos de condução de água, tecidos vivos, superfícies dentárias, dispositivos médicos de longa permanência e implantes. Nestes dois últimos, as bactérias mais frequentemente relacionadas são *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus viridans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Battin et al. (2007) apresentam estudo mais aprofundado e registram que a arquitetura dos biofilmes maduros é bastante complexa, visto que é formada por agregados celulares e lipoproteínas que, em conjunto, formam macrocolônias. Estas são atravessadas por canais, cuja função é o abastecimento de água e de nutrientes nas regiões mais profundas. Flemming e Wingender (2010) completam que a matriz extracelular, que dá sustentação às comunidades microbianas, é formada por lipídeos, polissacarídeos, ácidos nucleicos extracelulares e proteínas. Tais substâncias desempenham papéis importantes nos biofilmes, pois mediam a adesão de substrato, conexão intercelular, arquitetura estrutural, estabilidade mecânica e retenção de água. Compostos orgânicos solúveis são retidos na substância fundamental amorfa e, por meio de reações químicas mediadas por enzimas extracelulares, fornecem nutrientes às comunidades.

Na área da saúde, o biofilme tem sido considerado um novo paradigma de infecções nas últimas décadas e, amplamente responsabilizado por IRAS, sobremaneira, nos implantes de próteses, válvulas cardíacas mecânicas, marca-passos, articulações protéticas, lentes de contato, tubos, sondas e cateteres. No caso da VM invasiva, a presença do TET sem dúvida favorece a colonização microbiana e contribui para o desenvolvimento de biofilme, o que, em determinados casos, pode explicar a ocorrência de PAV (SOUZA, 2009).

Nesse contexto, é consenso na literatura médica que após três dias de VM, a superfície interna do TET torna-se densamente colonizada por diversos microrganismos organizados na forma de biofilme maduro (LIU et al., 2013). A formação de biofilmes no TET e subsequente transferência recorrente de patógenos para o trato respiratório inferior pode acarretar o desenvolvimento de infecção do trato respiratório inferior e PAV (GIL-PEROTIN et al., 2012; BERRA et al., 2012; LIU et al., 2013).

Em tese de doutorado, Souza (2009) analisou a superfície interna e externa de 30 TET utilizados por pacientes críticos após extubação por indicação médica.

Em capela de fluxo laminar, os tubos foram cortados com rigor de assepsia em três pequenos fragmentos obtidos abaixo do balonete. Um dos fragmentos era encaminhado para cultura; os outros dois eram preparados para análise do biofilme por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados revelaram que todos os tubos desenvolveram biofilme nas mais variadas características morfológicas, incluindo matriz em estrutura compacta, fragmentada ou em colmeia, hemácias, fibrinas, leucócitos, cocos, integração microbiana, fungos filamentosos, leveduras e bastonetes.

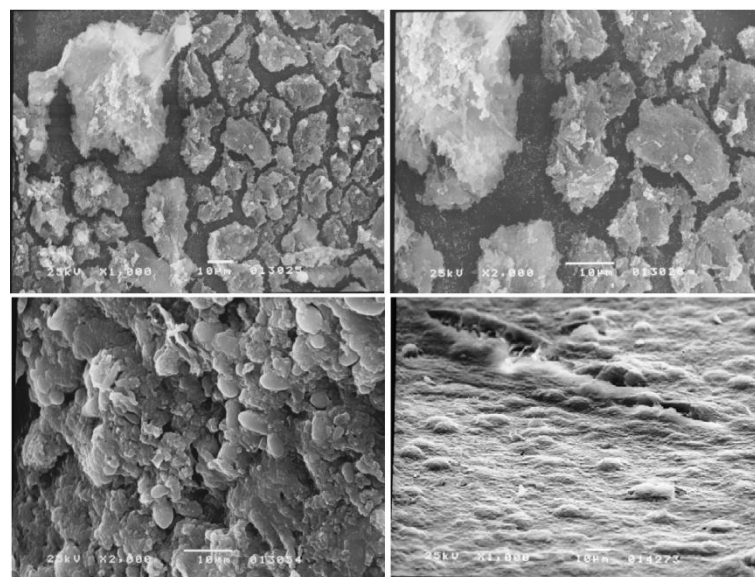


Figura 1: Fotomicrografias do biofilme com matriz fragmentada e composta.

Fonte: Souza (2009)

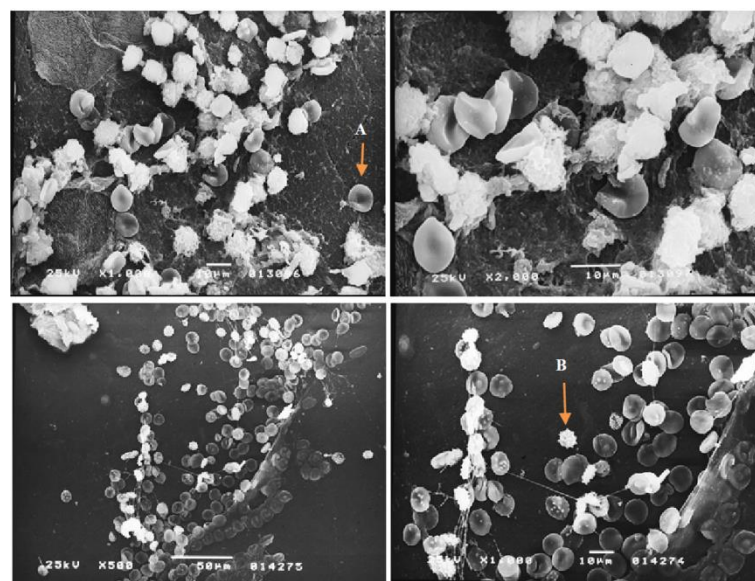


Figura 2: Fotomicrografias da superfície do tubo endotraqueal com presença de A-hemácias e B- linfócitos.

Fonte: Souza (2009)

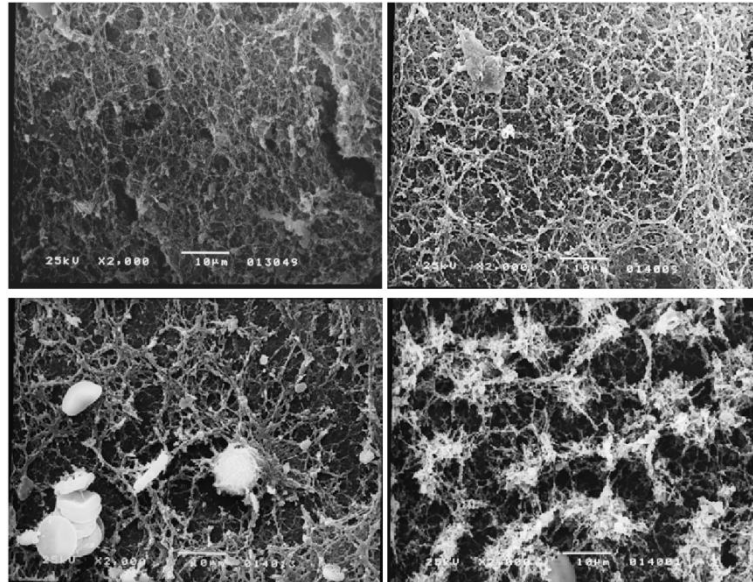


Figura 3: Fotomicrografias da superfície do tubo endotraqueal com biofilme em estrutura na forma de colmeia.

Fonte: Souza (2009)

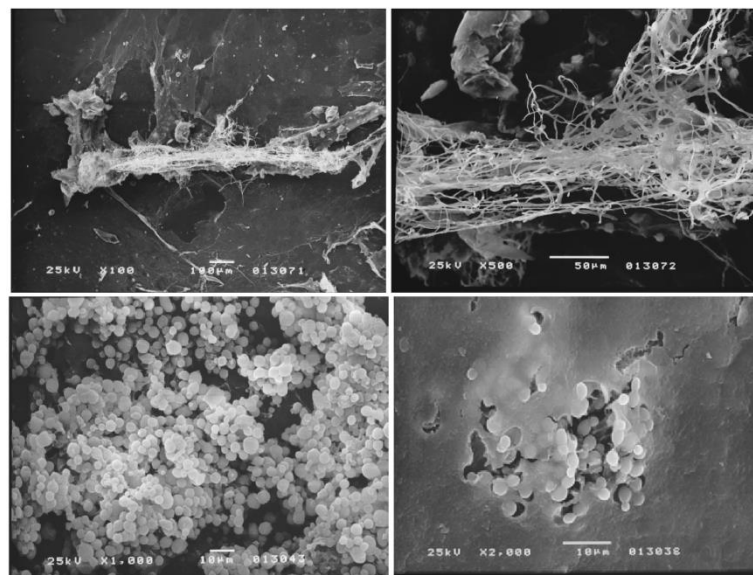


Figura 4: Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com presença de fungos filamentosos e leveduras.

Fonte: Souza (2009)

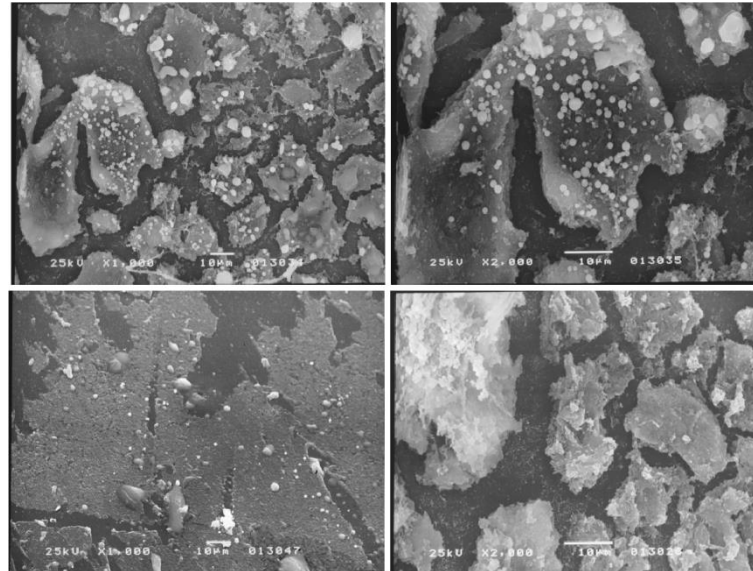


Figura 5: Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com presença de cocos.

Fonte: Souza (2009)

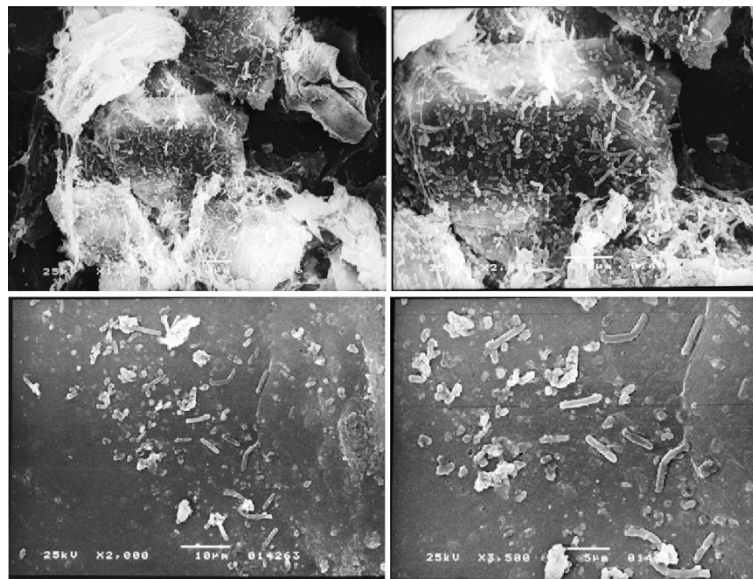


Figura 6: Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com presença de bastonetes.

Fonte: Souza (2009)

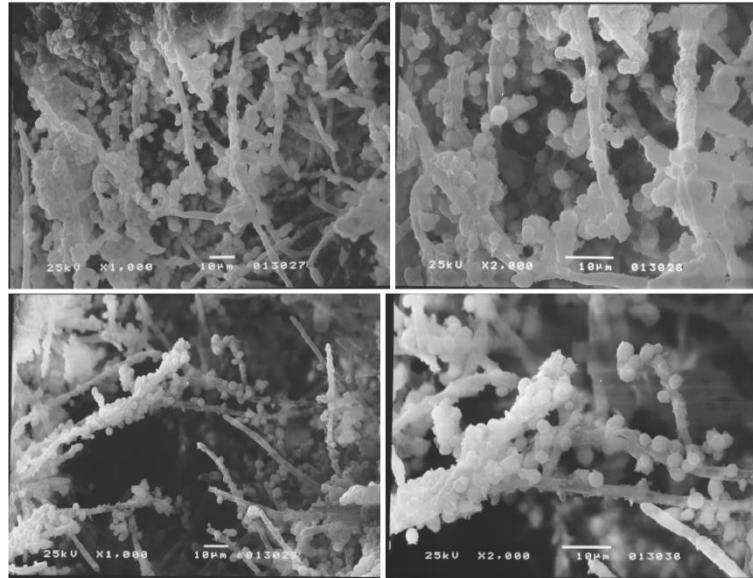


Figura 7: Fotomicrografias do biofilme do tubo endotraqueal com interação microbiana tipo espiga de milho entre fungos filamentosos e cocos.

Fonte: Souza (2009)

Liu et al. (2013) investigaram a eficácia da limpeza mecânica da superfície interna dos TET como medida profilática à formação de biofilmes em 46 pacientes randomizados em três grupos de igual número. Os autores constataram que mais de 60% dos pacientes tiveram isolados da mesma espécie tanto no biofilme do TET quanto na secreção traqueobrônquica e que a ponta do TET foi a região com maior densidade de patógenos relacionados à PAV. Ademais, a limpeza diária do TET reduziu a colonização e preveniu a formação do biofilme no TOT, além de reduzir a ocorrência de PAV. Esses dados demonstram que o biofilme, além de poder contaminar as amostras durante a fase de coleta, pode causar infecções no parênquima pulmonar.

Na literatura, não resta dúvida que, por viverem de maneira diferente da forma planctônica – não aderida a nenhuma superfície –, os microrganismos na forma de biofilme ostentam comportamentos peculiares, inclusive em termos de resposta ao tratamento com antibióticos. Assim, muitos microrganismos presentes no biofilme são frequentemente MDR e, por estarem numa superfície inanimada, não são atingidos por antibióticos sistêmicos, logo se desenvolvem, utilizam oxigênio fornecido pelo ventilador mecânico e substrato da secreção pulmonar, sofrem alterações adaptativas de ordem genotípicas e fenotípicas e são capazes de multiplicar essas adaptações, algumas de resistência a antibióticos (BERRA et al., 2012). Assim, atualmente, há uma crescente preocupação com o controle desse

biofilme, sobretudo em relação a melhorias nas vias aéreas artificiais a partir de novos modelos, como TET revestido com antimicrobianos e terapia fotodinâmica (BIEL et al., 2011).

Além das complicações microbiológicas, o biofilme prende e estabiliza boa quantidade de secreções, causando estreitamento intraluminal do TET e aumento na resistência das vias aéreas, o que evolui para aumento do trabalho respiratório, retardo no manejo de desmame do ventilador e maior permanência na UTI. A aspiração padrão de secreção traqueal ou broncoscopia pode atrasar esse processo, mas não impedir. Ademais, as secreções podem abruptamente obstruir o TET, resultando em iminente risco de vida com a necessidade emergente de reintubação (LORENTE et al., 2010; BERRA et al., 2012).

Portanto, o biofilme do TET está envolvido com complicações mecânicas e microbiológicas em pacientes submetidos à VM invasiva. Além de poder causar PAV e outras infecções importantes, pode ser aspirado na colheita do AT e prejudicar a qualidade dos resultados provenientes de cultura.

Dentre os métodos de colheita de AT, não foi identificado nenhum que relaciona-se a técnica protegida com as demais existentes na literatura, o que demonstra a relevância deste estudo.

Isso posto, propôs-se nesta pesquisa buscar respostas a uma prática executada rotineiramente no serviço investigado, a fim de direcionar a uma prática assistencial segura.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a concordância qualitativa e quantitativa dos resultados de culturas de aspirado traqueal colhido por técnica tradicional e protegida para o diagnóstico microbiológico de pneumonia associada à ventilação mecânica.

3.2 Específicos

Caracterizar os pacientes críticos e com suspeita clínica de pneumonia associada à ventilação mecânica, segundo dados demográficos e clínicos; e

Analisar os resultados qualitativo e quantitativo da microbiota do aspirado traqueal entre as técnicas de colheita de secreção traqueal protegida e tradicional.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento e local do estudo

Trata-se de estudo clínico, aberto, comparativo, com abordagem quantitativa, cuja coleta de dados foi realizada de janeiro a julho de 2013. Foi conduzido no Núcleo de Hospital Universitário (NHU), “Maria Aparecida Pedrossian”, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Hospital 100% público, com 235 leitos e que oferece assistência em nível terciário. O cenário do estudo foi a Unidade de Terapia Intensiva Adulta (UTI-A), localizada no andar térreo e constituída por oito leitos, dos quais um é destinado para isolamento. Todos os leitos estão equipados com monitores cardíacos e ventiladores mecânicos, possibilitando oferecer suporte ventilatório, concomitantemente aos pacientes críticos frequentemente admitidos na unidade.

4.2 População e amostra

A população do estudo foram 40 pacientes internados na UTI-A. Os responsáveis legais – após receber esclarecimentos acerca de aspectos relacionados ao procedimento de aspiração endotraqueal, bem como dos objetivos e métodos de coleta de dados da pesquisa – assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1). As características sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas foram obtidas do prontuário e uma ficha individual foi preenchida com os dados dos pacientes (Apêndice 2). A coleta de dados foi realizada de janeiro a julho de 2013, portanto caracterizada como amostra de conveniência.

4.3 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes com 18 ou mais anos de idade, submetidos à VM por período superior a 48 horas e na ocasião da suspeita clínica de PAV. A suspeita de pneumonia foi baseada nos seguintes critérios: leucocitose (>11.000 cels/mm³) ou leucopenia (<4.000 cels/mm³), febre ($>38,4^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia ($<36,5^{\circ}\text{C}$), novo ou progressivo infiltrado na radiografia de tórax e secreções traqueobrônquicas purulentas (KHILNANI et al., 2011). A confirmação foi efetuada quando o AT, colhido pela técnica tradicional, alcançou contagem $\geq 10^5$ UFC/ml (SHIN et al., 2011).

4.4 Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes com pneumonia prévia à VM.

4.5 Variáveis de interesse

- Sexo;
- Idade;
- Tempo de permanência na UTI;
- Procedência;
- Tempo de VM invasiva;
- PAV diagnosticada previamente na internação atual e curada;
- PAV em tratamento (análise microbiológica de AT para confirmar cura);
- Comorbidades;
- APACHE II¹;
- Uso de antimicrobianos;
- Leucograma;
- Temperatura axilar;
- Aspecto da secreção traqueal;
- Escala de sedação de Ramsey;
- Infecções hospitalares;
- Desfecho na UTI; e
- Resultados de culturas.

4.6 Definições

4.6.1 Amostras adequadas para cultura²

Em aumento de 100 vezes, amostras com a presença de microrganismo e com <25 células do epitélio escamoso.

¹ Escore segundo site da Sociedade Francesa de Anestesiologia e Reanimação <http://www.sfar.org/scores2/apache22.html>

² Baseado no protocolo para processamento de secreção traqueal do laboratório de microbiologia do NHU que se encontra em consonância com o guia da ANVISA (2009) intitulado "Trato respiratório: critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde" e "Cumitech 7B" da American Society for Microbiology.

4.6.2 Amostras inadequadas para cultura²

As amostras que, em aumento de 100 vezes, não revelaram microrganismo ou que tiveram contagem ≥ 25 células do epitélio escamoso foram consideradas inadequadas e, portanto, desprezadas.

4.6.3 Aspirado traqueal positivo

Quando a contagem foi $\geq 10^5$ UFC/ml (WU et al., 2002; PORZECANSKI I; BOWTON, 2006; NAIR et al., 2008, KOENIG; TRUWIT, 2010; JOSEPH et al., 2011; SHIN et al., 2011).

4.6.4 Colonizadores

Microrganismos isolados do AT com contagem menor que 10^5 CFU/ml, em ambos os pacientes com PAV e sem PAV, foram referidos como colonizadores neste estudo (JOSEPH et al., 2011).

4.6.5 Concordância de microrganismo

Quando os resultados de cultura revelaram isolados idênticos ou ausentes em ambas as técnicas tradicional e protegida.

4.6.6 Concordância de UFC/ml

Quando contagem $< 10^5$ idêntica ou $\geq 10^5$ em ambas as técnicas tradicional e protegida.

4.6.7 Concordância global

Concordância simultânea entre microrganismo e UFC/ml em ambas as técnicas tradicional e protegida.

4.6.8 Concordância parcial

Concordância apenas para microrganismo ou UFC/ml entre as técnicas tradicional e protegida.

4.7 Colheita das amostras de secreção traqueal por sistema aberto de sucção³

4.7.1 Materiais utilizados

- Um par de luvas estéreis;
- Um par de luvas de procedimento;
- Cateter de aspiração para a técnica tradicional de calibre externo menor que 50% do diâmetro interno do TET (calibre do TET [mm] - 2) x 2) e para a técnica protegida 10 Fr;
- Gazes estéreis;
- Óculos de proteção;
- Avental descartável;
- Máscara cirúrgica;
- Frasco coletor estéril de secreções (Bronco coletor; Zammi[®], Brasil);
- Extensão de látex/silicone estéril;
- Lâmina de bisturi n° 22;
- Sonda gástrica 20 Fr;
- Campo estéril;
- Água de injeção ou SF 0,9% para lavagem do sistema de aspiração; e
- Caixa térmica para transporte.

4.7.2 Procedimento de coleta

4.7.2.1 Técnica protegida

- Realizar a higienização das mãos;
- Providenciar o material necessário;
- Explicar o procedimento e finalidade ao paciente, bem como as sensações que podem ser sentidas e que poderão ser minimizadas com a administração de oxigênio;
- Proteger os olhos do paciente de secreções com gaze ou compressa;
- Elevar ou manter o decúbito em 30° a 45°;
- Colocar avental descartável, máscara cirúrgica e óculos de proteção;

³ Baseado no protocolo para colheita de secreção traqueal do manual de rotinas e procedimentos de enfermagem da instituição, na literatura sobre o tema e na experiência dos pesquisadores.

- Testar o funcionamento do aspirador;
- Pré-oxigenar o paciente com FiO_2 a 100%;
- Calçar luva estéril;
- Abrir de forma asséptica o pacote do cateter de aspiração e o frasco coletor em campo estéril (profissional assistente);
- Cortar a sonda gástrica num comprimento de 7cm a mais do que a do TET que o paciente faz uso;
- Introduzir a sonda de aspiração propriamente dita dentro da nasogástrica;
- Conectar a sonda de aspiração ao frasco coletor de secreção;
- Verificar a frequência cardíaca, pressão arterial e saturação de oxigênio;
- Conectar o intermediário do aspirador ao frasco coletor com ajuda do profissional assistente, tocar apenas nas superfícies estéreis (conjunto de aspiração e coletor);
- Ligar a fonte de sucção (profissional assistente);
- Pinçar o intermediário (profissional assistente);
- Estimular o reflexo da tosse (profissional assistente);
- Desconectar o TET do ventilador (profissional assistente);
- Introduzir o conjunto de aspiração no TET, sem sucção, até ultrapassar 2 cm da extremidade distal do tubo, ficando, assim, externalizada 5 cm em relação à extremidade proximal;
- Introduzir o cateter de aspiração até encontrar resistência: retrain 2 cm;
- Liberar a fonte de sucção (profissional assistente);
- Recuar o cateter de aspiração com movimentos circulares suaves, enquanto a secreção está sendo recolhida dentro do frasco coletor;
- Manter o conjunto de aspiração no interior do TET por no máximo 15 segundos;
- Repetir as aspirações quantas vezes forem necessárias, sempre intercalando com a ventilação do paciente;
- Recuar o cateter de aspiração até ficar completamente no interior da sonda gástrica;
- Retirar o conjunto de aspiração do TET;
- Reconectar o ventilador ao paciente;
- Retirar o cateter de aspiração de dentro da sonda gástrica;
- Desconectar o cateter de aspiração e o intermediário do frasco coletor após

aquisição de pelo menos 1 ml de secreção;

- Ocluir completamente o frasco coletor com o seu próprio látex;
- Lavar o sistema de aspiração com SF 0,9% ou água de injeção;
- Desligar o aspirador;
- Retornar à FiO_2 inicial para os respiradores que não oferecem o modo de hiperoxigenação eletrônica para a aspiração endotraqueal;
- Verificar a frequência cardíaca, pressão arterial e saturação de oxigênio; e
- Identificar imediatamente o frasco coletor anotando o nome e registro do paciente, data e hora da coleta, tipo de amostra (secreção traqueal) e o código da técnica de colheita (nesse caso, o da técnica protegida).

A Figura 8 ilustra os dispositivos presentes no conjunto de aspiração prontos para serem montados para a execução da técnica protegida de colheita de AT. Nela, é possível observar a dimensão das sondas em relação ao tubo orotraqueal. Na Figura 9, é apresentado o arranjo dos dispositivos, isto é, o conjunto já montado para a colheita de secreção.



Figura 8: Dispositivos envolvidos na técnica protegida de colheita de aspirado traqueal. (a) Tubo orotraqueal; (b) Sonda Nasogástrica n. 18 Fr; (c) Sonda de aspiração n. 10 Fr, (d) lâmina de bisturi utilizada para cortar a sonda nasogástrica, segundo o tamanho do TET.

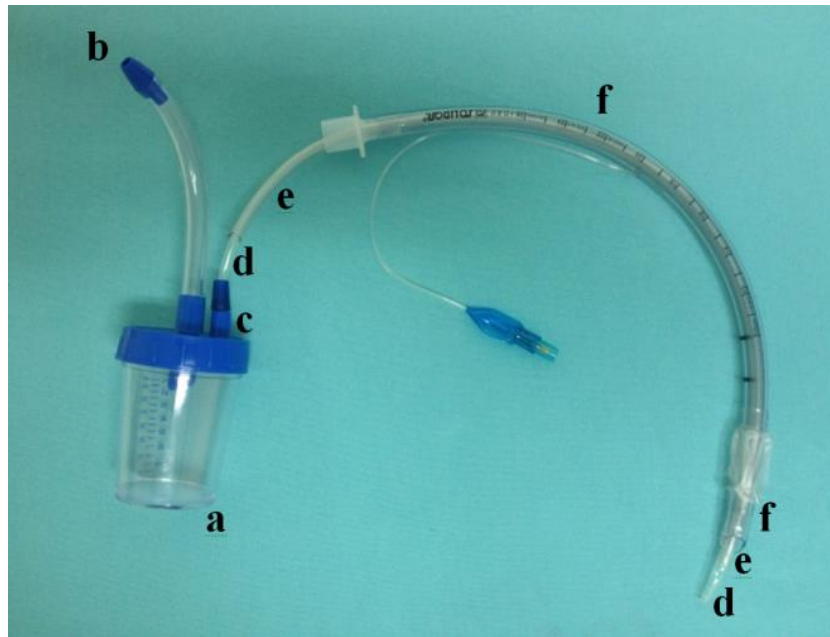


Figura 9: Arranjo dos dispositivos utilizados na colheita do aspirado traqueal por técnica protegida. (a) Frasco coletor; (b) Saída para vácuo; (c) Entrada de secreções; (d) Sonda de aspiração n. 10 Fr; (e) Sonda Nasogástrica n. 18 Fr; (f) Tubo orotraqueal.

4.7.2.2 Técnica tradicional

- Realizar a higienização das mãos;
- Providenciar o material necessário;
- Explicar o procedimento e finalidade ao paciente, bem como as sensações que podem ser sentidas e que poderão ser minimizadas com a administração de oxigênio;
- Proteger os olhos do paciente de secreções com gaze ou compressa;
- Elevar ou manter o decúbito em 30° a 45°;
- Colocar avental descartável, máscara cirúrgica e óculos de proteção.
- Testar o funcionamento do aspirador;
- Pré-oxigenar o paciente com FiO_2 a 100%;
- Calçar luva estéril;
- Abrir de forma asséptica o pacote do cateter de aspiração e o frasco coletor em campo estéril (profissional assistente);
- Conectar a sonda de aspiração ao coletor estéril;
- Conectar o intermediário do aspirador ao frasco coletor estéril com ajuda do assistente, tocar apenas nas superfícies estéreis (sonda de aspiração e coletor);

- Ligar a fonte de sucção (profissional assistente);
- Pinçar o intermediário (profissional assistente);
- Verificar a frequência cardíaca, pressão arterial e saturação de oxigênio;
- Desconectar o TET do ventilador (profissional assistente);
- Estimular o reflexo da tosse (profissional assistente);
- Introduzir o cateter de aspiração no TET durante a inspiração, sem sucção, até o ponto de resistência;
- Recuar o cateter 2 cm;
- Liberar a fonte de sucção (profissional assistente);
- Realizar a aspiração da secreção, diretamente para dentro do frasco coletor;
- Retirar o cateter de aspiração com movimentos circulares suaves;
- Manter o cateter no interior do TET por no máximo 15 segundos;
- Repetir as aspirações quantas vezes forem necessárias, sempre intercalando com a ventilação do paciente;
- Reconectar o ventilador ao paciente;
- Desconectar o cateter de aspiração e o intermediário do frasco coletor após aquisição de pelo menos 1 ml de secreção;
- Ocluir completamente o frasco coletor com o seu próprio látex;
- Lavar o sistema de aspiração com SF 0,9% ou água de injeção;
- Desligar o aspirador;
- Proteger a extremidade da fonte de sucção com o invólucro do cateter de aspiração;
- Retornar à FiO₂ inicial;
- Verificar a frequência cardíaca, pressão arterial e saturação de oxigênio; e
- Identificar o frasco coletor anotando o nome e registro do paciente, data e hora da coleta, tipo de amostra (secreção traqueal) e o código da técnica de colheita (nesse caso, técnica não protegida).

4.7.3 Operacionalização da colheita

A colheita do material para cultura foi realizada mediante as duas técnicas (protegida e tradicional) no mesmo paciente, uma imediatamente seguida da outra (Figura 10 e 11); e em todos os casos em que os pacientes atenderam aos critérios de inclusão.

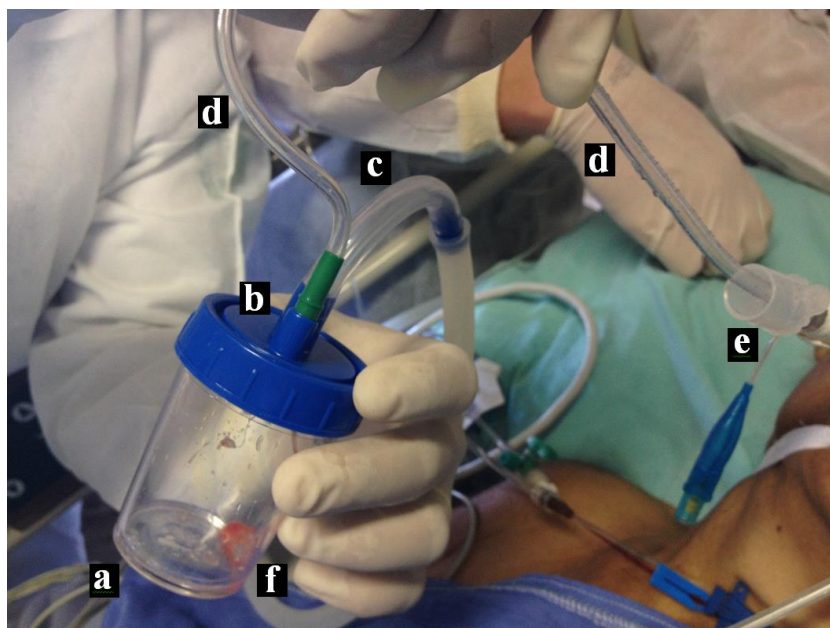


Figura 10: Implementação da colheita de aspirado traqueal por técnica tradicional. (a) Frasco coletor; (b); Entrada de secreções via sonda de aspiração (c) Saída para vácuo; (d) Sonda de aspiração n. 12 Fr; (e) Tubo orotraqueal; (f) Secreção traqueobrônquica retida dentro do frasco coletor.

Com a ajuda de um assistente (no caso um fisioterapeuta), o pesquisador (enfermeiro) implementou a colheita de secreção pulmonar conforme descrito anteriormente. Foi realizado um estudo piloto com cinco pacientes visando verificar a operacionalidade da pesquisa. Destaca-se que a ordem de execução das técnicas em cada paciente foi determinada por um sistema de randomização disponível no *site* <http://www.randomization.com>. A sequência aleatória das técnicas nos 40 pacientes incluídos nesse estudo está apresentada no Anexo 1.

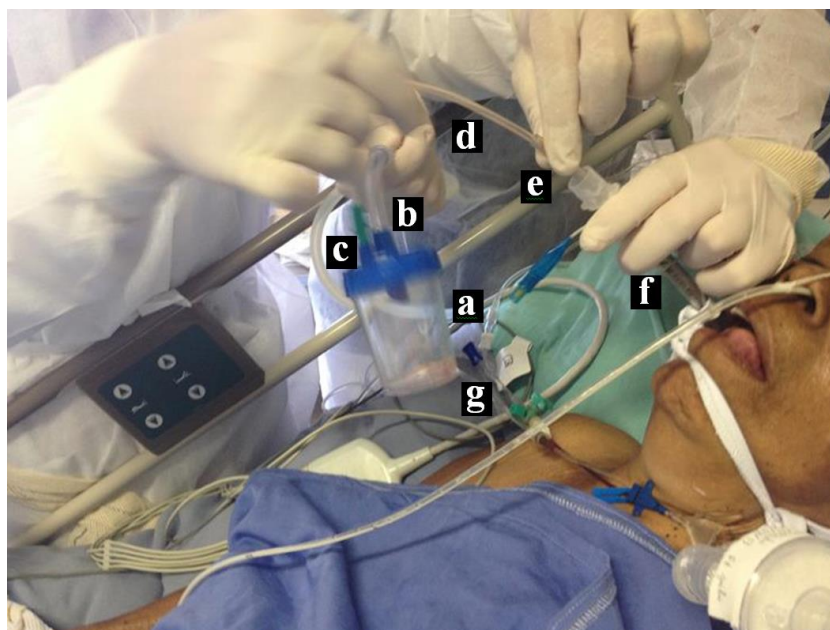


Figura 11: Implementação da colheita de aspirado traqueal por técnica protegida. (a) Frasco coletor; (b) Saída para vácuo; (c) Entrada de secreções via sonda de aspiração; (d) Sonda de aspiração n. 10 Fr; (e) Sonda Nasogástrica n. 18 Fr; (f) Tubo Orotraqueal; (g) Secreção traqueobrônquica retida dentro do frasco coletor.

4.8 Transporte

Todas as amostras foram criteriosamente identificadas, acondicionadas em uma caixa térmica e transportadas, imediatamente, pelo pesquisador, ao laboratório de microbiologia. Após as coletas, o pesquisador realizou as anotações tanto no instrumento de coleta de dados como no prontuário do paciente, descrevendo características das secreções (coloração, odor, aspecto) e reações do paciente.

4.9 Processamento microbiológico da secreção traqueal

Ambas as amostras foram submetidas a processamento microbiológico idêntico e cego, isto é, sem que a equipe do laboratório soubesse por qual técnica foi coletado as amostras. Foram empregados os códigos “A” e “B” para diferenciar as amostras colhidas pela técnica protegida e tradicional. A cada semana, foi realizado um sorteio para determinar qual dos códigos (“A” ou “B”) representaria cada uma das técnicas. Após o resultado final do processamento microbiológico, foi revelada a identidade dos códigos para liberação dos resultados via sistema de gerenciamento de exames. Assim, a equipe do laboratório trabalhou apenas com amostra de

secreção traqueal A e B de um mesmo paciente, sem ter o conhecimento de qual delas foi coletada pela técnica protegida e tradicional.

O processamento microbiológico das amostras de secreção traqueal foi realizado conforme as seguintes etapas (SHARP et al., 2004; EL SOLH et al., 2007; ANVISA, 2009; OPLUSTIL et al., 2010):

- Validar a amostra: considerar apenas aquelas amostras que, em campo de 100 vezes, apresentar contagem <25 células epiteliais, além da presença de bactérias;
- Fluidificar a amostra: adicionar à secreção traqueal igual volume de N-acetilcisteína 1%;
- Homogeneizar a amostra: agitar em Vortex (agitador de Tubos Mod.QL-901-BIOMIXE[®]) por 1 minuto a 3.000 rpm ou até tornar-se homogênea;
- Diluir e homogeneizar 0,1mL da amostra em 9,9mL de solução fisiológica estéril;
- Semear de maneira uniforme 0,01mL (alça calibrada) da amostra nas placas de Ágar Mac Conkey, Ágar Sangue Azida e Ágar chocolate;
- Incubar a placa de Ágar Mac Conkey e Ágar Sangue Azida em aerobiose a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$. As placas de Ágar chocolate em capnofilia com 5% de CO_2 a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 24h;
- Realizar a primeira leitura quantitativa após 24 horas;
- Reincubar por mais 24 horas, nos casos de difícil diferenciação macroscópica entre colônias ou ausência de colônias;
- Interpretação do resultado: cada colônia corresponde a 20.000 UFC/mL;
- Considerar como significativo as contagens $\geq 10^5$ UFC/mL;
- Realizar identificação e teste de sensibilidade a antimicrobiano (TSA) por automação por meio do aparelho Vitek[®] 2 AES (BioMérieux, França);
- Realizar TSA somente para as colônias com contagens significativas; e
- Liberar apenas a identificação, sem TSA, para microrganismos em contagens inferiores a 10^5 UFC/mL.

4.10 Procedimentos éticos em pesquisas

Foram respeitadas todas as recomendações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, sendo a investigação iniciada somente após aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS – Protocolo Nº. 114311/2012

(Anexo 2) –, autorização do comitê diretivo do NHU, e após assinatura do TCLE pelos familiares/responsáveis do paciente, assegurando voluntariedade na participação e anonimato dos sujeitos.

4.11 Análise estatística

Os dados foram armazenados pelo *Software Microsoft Excel* versão 2010 e analisados estatisticamente pelo *Minitab for Windows* (versão 14). Além de estatísticas descritivas, foram utilizados os testes Qui-quadrado (χ^2) e *Teste Exato de Fisher*, sendo ambos realizados com 95% de confiabilidade (valor significativo de $p < 0,05$) e aplicados no cruzamento de variáveis categóricas.

5 RESULTADOS

A análise envolveu 40 pacientes com suspeita clínica de PAV que geraram 80 amostras para cultura. As características demográficas e clínicas desses pacientes estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3- Características demográficas e clínicas dos pacientes com e sem Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica. Campo Grande, MS, Brasil, 2013*.

Variáveis	PAV	Sem PAV	Valor p
Sujeitos (n)	23	17	
Idade (anos)	62,6 ± 18,0	55,7 ± 16,8	0,222
Sexo			
Masculino	12/26	14/26	0,048
Feminino	11/14	3/14	
Dias de hospitalização	17,0 ± 14,1	15,7 ± 10,8	0,735
Dias de internação (UTI)	8,7 ± 9,2	7,9 ± 9,3	0,796
Procedência			
Pronto Socorro	16	14	
Clínica Cirúrgica	2	2	
Clínica Médica	4	0	
Outra	1	1	
Tempo de VM (horas)	212,0 ± 190,3	191,0 ± 202,1	0,739
Comorbidades			
HAS	15	9	
Doenças Infecto-Parasitárias	7	9	
DM	10	4	
ICC	7	5	
Injúrias neurológicas	8	2	
Injúrias digestivas	4	6	
DPOC	5	1	
IRC	1	3	
Cânceres	1	0	
APACHE II na admissão	22,3 ± 6,3	23,7 ± 6,3	0,495
Uso de antimicrobiano	23	17	

Continua

Classe farmacológica

Antibacterianos

Carbapenêmicos	11	9
Penicilinas	9	8
Glicopeptídeos	9	6
Macrolídeos	5	4
Cefalosporinas	5	2
Polimixinas	4	1
Aminoglicosídeos	3	0
Outros	7	3

Antifúngicos

Triazólicos	3	4
Equinocandinas	4	1
Polienos	2	2

Tempo de antibioticoterapia	13,1 ± 12,5	11,6 ± 9,2	0,678
-----------------------------	-------------	------------	-------

Leucograma

Leucócitos (n)	17.745 ± 21.644	12.238 ± 5.735	0,314
Neutrófilos (%)	81,0 ± 11,1	75,1 ± 13,4	0,133
Bastonetes (%)	16,6 ± 10,2	12,1 ± 7,7	0,138
Linfócitos (%)	9,3 ± 5,5	12,7 ± 9,9	0,173
Temperatura (°C)	37,1 ± 0,7	36,9 ± 0,9	0,641

Aspecto da secreção traqueal

Mucoide	20	15	1
Purulenta	3	2	

Desfecho da UTI

Alta	8	10	0,131
Transferência	1	0	
Óbito	14	7	

*Valores expressos em números absolutos e média ± DP. Valor p: comparação entre os grupos pelo teste *Exato de Fisher*; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; DM: Diabetes Mellitus; ICC: Insuficiência Cardíaca Congestiva; DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; IRC: Insuficiência Renal Crônica; APACHE II: *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation*.

De maneira global, a maioria dos pacientes eram do sexo masculino, de idade avançada, com muitos dias de internação e VM, oriundos do pronto socorro, acometidos por diferentes comorbidades, com pontuação de mortalidade estimada, elevada pelo APACHE II, número de leucócitos e bastonetes aumentados, normotérmicos e todos em antibioticoterapia. Pelo cruzamento das variáveis demográficas e clínicas, verifica-se que apenas o sexo feminino teve relação estatisticamente significativa com a ocorrência de PAV ($p=0,048$).

Tabela 4: Concordância entre as técnicas analisadas, segundo microrganismo isolado e UFC/ml. Campo Grande, MS, Brasil, 2013.

Microrganismo x UFC/ml		Concordância UFC/ml		P*
		Não	Sim	
Concordância	Não	5	3	0,004
Microrganismo	Sim	3	29	

*Teste *Exato de Fisher*

Considerando microrganismo e UFC/ml, quando implementadas as técnicas no mesmo paciente – uma imediatamente seguida da outra –, a concordância entre as mesmas foi estatisticamente significativa (Tabela 4). Interpretou-se como concordância de microrganismo quando os resultados de cultura revelaram isolados idênticos ou ausentes em ambas às técnicas, e concordância de UFC/ml quando contagem $<10^5$ idêntica ou $\geq 10^5$ nas duas técnicas. A concordância global, concordância simultânea entre microrganismo e UFC/ml, foi de 72,5% ($n=29$).

Tabela 5: Comparação das culturas de Aspirado traqueal colhido por técnica protegida e tradicional. Campo Grande, MS, Brasil, 2013.

Resultado	nº. (%) pacientes	Microrganismo(s) cultivado(s)	
		Técnica protegida	Técnica tradicional
1	22 (55)	Idêntico	Idêntico
2	10 (25)	Nenhum	Nenhum
3	2 (5)	Nenhum	<i>Candida albicans</i>
4	1 (2,5)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Nenhum
5	1 (2,5)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -
6	1 (2,5)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -
7	1 (2,5)	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i> -
8	1 (2,5)	<i>Candida albicans</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida albicans</i> - -
9	1 (2,5)	<i>Candida tropicalis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida tropicalis</i> -

Conforme a Tabela 5, levando em consideração apenas o microrganismo isolado, independentemente de contagem superior ou inferior a 10^5 UFC/ml, verifica-se que houve concordância total entre as técnicas em 75% dos episódios de suspeita clínica de PAV (resultado 1 e 2). Em três episódios (7,5%), houve resultados completamente discordantes (crescimento de agentes nas amostras de um método e não no outro, ou crescimento em ambas as técnicas, porém de espécies diferentes). Neste caso (resultado 3 e 4), vale destacar que os três agentes identificados tiveram contagem $<10^5$ UFC/ml. Em cinco episódios (12,5%), houve concordância parcial (resultados 5, 6, 7, 8 e 9), sendo curioso o fato de que todos os microrganismos isolados na técnica tradicional foram encontrados na protegida, entretanto esta última acrescida de pelo menos mais um agente – seis ao todo. Vale

ressaltar que, destes seis agentes extras isolados na técnica protegida, cinco tiveram contagem $<10^5$ UFC/ml.

Tabela 6: Microrganismos isolados pelo Aspirado traqueal colhido por técnica protegida e tradicional em paciente com Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica. Campo Grande, MS, Brasil, 2013.

Microrganismos	Técnica	
	Protegida	Tradicional
Gram-negativos		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1
Moraxella sp.	1	1
Gram-positivos		
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	1
Fungos		
<i>Candida albicans</i>	6	6
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1
<i>Candida glabrata</i>	1	1

A Tabela 6 apresenta os microrganismos causadores de PAV isolados pelo AT, segundo as técnicas investigadas. A frequência de isolados entre as técnicas não foi estatisticamente diferente. Considerando a técnica tradicional, foram isolados ao todo 28 agentes, 20 (71,4%) bactérias e oito (28,6%) fungos. Entre as bactérias, a maioria (80%) foi bacilos Gram-negativos, com destaque para os não fermentadores, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia*, que representaram 65% (13/20) dos isolados de bactérias. As bactérias Gram-positivas corresponderam a 20% (4/20) das isoladas. A *Candida albicans*, 75% (6/8) dos fungos e 21,4% (6/28) do total de microrganismos causadores da PAV.

Em relação à segurança das duas técnicas, não houve eventos estatisticamente significantes ($p < 0,05$) de queda da saturação de oxigênio, instabilidade hemodinâmica e hemorragias traqueobrônquicas.

6 DISCUSSÃO

Em relação aos agentes causadores de PAV, os resultados deste estudo corroboram com a maioria dos estudos sobre o tema (KHILNANI et al., 2011; CLINE et al., 2012; THAKURIA et al., 2013), visto que as bactérias gram-negativas foram os patógenos predominantes. Esse dado é preocupante porque esse grupo de microrganismos está intimamente relacionado ao surgimento de cepas MDR: uma das mais árduas lutas travadas pela terapia intensiva no cenário atual.

Estudo conduzido na Índia com 100 pacientes randomizados durante um ano documenta que a incidência de PAV em uma UTI de emergência foi de 51%. As bactérias gram-negativas, *Citrobacter* (n = 28; 52,83%) e *Klebsiella pneumoniae* (n = 7; 13,21%), foram os patógenos mais comumente isolados. A prevalência de produtores de carbapenemases foi elevadíssima 24/50 (48%). Os produtores de carbapenemases mostraram elevado grau de resistência cruzada aos antibióticos com alguma sensibilidade à polimixina B (94%) e tigeciclina (96%) (THAKURIA et al. 2013).

Na busca de melhorias na qualidade da colheita – amostras livres de contaminação –, este estudo avaliou a concordância entre duas técnicas de colheita de AT para o diagnóstico microbiológico de PAV. Os resultados sugerem que não há diferença estatisticamente significativa ($p=0,004$) entre as técnicas, tanto qualitativamente (microrganismo isolado) quanto quantitativamente (UFC/ml). Contudo, maior quantidade de microrganismos recuperados e resultados duvidosos foram associados à técnica protegida.

Vale destacar que, embora as culturas de amostras colhidas por técnica protegida tenham apresentado maior quantitativo de agentes isolados, não é possível distinguir esses agentes extras em microrganismo do biofilme endotraqueal ou colonizantes do parênquima pulmonar, pois não há conceito que diferencie contaminação de colonização para secreção traqueal, além de não haver método diagnóstico padrão ouro para efeito de comparação (KHILNANI et al., 2011). Uma das possíveis alternativas seria analisar geneticamente, mediante reação em cadeia da polimerase ou método compatível, os microrganismos extras isolados na técnica protegida com aqueles presentes no biofilme do TET.

A técnica tradicional, em contrapartida, não apresentou resultados de cultura com microbiota extra em relação à protegida, quando ambas revelaram algum agente. Em apenas dois episódios (resultado 3), o agente isolado pela técnica

tradicional não foi corroborado pela protegida, mas, neste caso, a última foi negativa e os agentes isolados na primeira tiveram contagem $< 10^5$ UFC/ml.

O primeiro motivo que pode ter contribuído para esses resultados é que o paciente intubado é submetido a diversas aspirações endotraqueais de rotina diária. Isso pode acarretar em disseminação de agentes do biofilme para as vias aéreas inferiores e vice-versa. Desse prisma, o AT colhido por técnica protegida e tradicional não seriam diferentes quanto à contaminação das amostras pelos microrganismos do TET. O segundo, favorável à técnica tradicional, é que a sonda espessa pode ter causado atrito na parede interna do TET e conduzido agentes do biofilme para as vias inferiores, bem como para sua própria superfície distal ou interna, o que explicaria o maior quantitativo de amostras com resultados duvidosos e sem valor diagnóstico na técnica protegida de acordo com padrões estabelecidos.

Sendo esses os reais motivos que levaram a esses resultados ou não, o fato é que a técnica protegida associou-se a maiores taxas de resultados duvidosos e, conseqüentemente, é potencialmente capaz de prejudicar a evolução dos pacientes submetidos à VM e aumentar os custos hospitalares, já que demanda maior tempo de colheita e requer materiais específicos em relação à tradicional. Além disso, pode ocasionar atrasos no diagnóstico, uma vez que resultados duvidosos, como a presença de microbiota mista, não devem prosseguir para a identificação e teste de sensibilidade, devendo o microbiologista registrar como amostra inadequada para cultura e o clínico solicitar recolheita (SHARP et al., 2004). Como não há consenso para distinguir contaminação de colonização, incluir agentes do biofilme do TET na amostra de secreção traqueal pode acarretar em erros de interpretação ou, até mesmo, resultados falsos positivos e acréscimos indevidos na antibioticoterapia.

Como ainda não há um padrão ouro, e os problemas relacionados à utilização excessiva de antibióticos e resistência antimicrobiana continuam a crescer, melhorar a acurácia do diagnóstico microbiológico de PAV torna-se um elemento essencial para garantir adequada cobertura de antibióticos aos agentes MDR, bem como para limitar o uso e duração da antibioticoterapia de amplo espectro prescrita empiricamente. Nesse contexto, ao utilizar técnicas de cultura quantitativas, a colheita de secreção traqueal destaca-se como etapa de fundamental importância para a acurácia do diagnóstico (FUJITANI et al., 2009). Por outro lado, o biofilme do TET é uma das variáveis que pode implicar negativamente nesse processo.

Após três dias de intubação e VM, o lúmen do TET torna-se fortemente colonizado por diversos microrganismos. Estes passam a sobreviver na superfície abiótica do tubo em forma de biofilme maduro, isto é, em um sistema de comunidades estruturadas, coordenadas e funcionais com elevado grau de organização (LIU et al., 2013). Estudos têm mostrado que a ocorrência de PAV e outras infecções do trato respiratório inferior pode ser uma consequência da transferência recorrente de agentes presentes nesse biofilme às vias aéreas inferiores (GIL-PEROTIN et al., 2012; BERRA et al., 2012; LIU et al., 2013). Recente ensaio clínico randomizado controlado (LIU et al., 2013) constatou que mais de 60% dos pacientes tiveram isolados da mesma espécie tanto no biofilme do TET quanto na secreção traqueobrônquica, e que a ponta do TET foi a região com maior densidade de patógenos relacionados à PAV.

As bactérias do biofilme são frequentemente MDR porque os mecanismos imunológicos de defesa não são capazes de atingir o interior do tubo. Com isso, esses agentes se desenvolvem e se organizam em placas multimicrobianas densas, promovem alterações de ordem genética, fenotípica e morfológica, o que pode propiciar o surgimento de cepas de importância hospitalar e epidemiológica (BERRA et al., 2012). Assim, vários pesquisadores e empresas têm focado seus esforços visando melhorias nas vias aéreas artificiais a partir de novos modelos, como TET revestido com antimicrobianos e terapia fotodinâmica (BIEL et al., 2011).

É amplamente recomendado que a colheita de qualquer tipo de material biológico para cultura seja feita na ausência da antibioticoterapia, visto que o uso prévio de antibióticos pode acarretar em resultados falsos negativos. No caso de culturas de secreção traqueobrônquica, isso tem sido um problema tanto para a prática clínica como para a pesquisa, pois, dependendo do perfil de pacientes e da UTI, a grande maioria dos pacientes com suspeita clínica de PAV estão gravemente enfermos e foi submetidos a diversos procedimentos e tratamentos, dos quais, muitos são potencialmente capazes de propiciar ou desenvolver alterações clínicas típicas de infecção. Assim, muitos pacientes acabam recebendo antibioticoterapia antes da suspeita de PAV; alguns, antes mesmos de chegar à terapia intensiva (FUJITANI et al., 2009).

Neste estudo, 100% dos pacientes estavam em uso de antimicrobianos – muitos de amplo espectro (Tabela 3). Isso poderia ser uma limitação, entretanto, especialmente considerando o aumento dos índices de infecções nosocomiais,

surgimento de cepas de agentes MDR, pressão sofrida pelo médico para o início precoce da antibioticoterapia, estado em que se encontra o paciente quando há suspeita clínica de PAV e uso de antibiótico em UTI por causas não pneumônicas, acredita-se que os resultados deste estudo sejam válidos, pois corresponde ao cenário atual da saúde nacional e internacional, não sendo vantajoso realizar estudos numa realidade diferente da atual.

Apesar de recomendada em alguns documentos (Cumitech 7B” da *AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY* de 2004; KIRTLAND et al., 1997; MARTINS, 2010; MOURANI et al., 2011), ressalta-se que não foi instilada solução fisiológica 0,9% para facilitar a colheita de secreções porque isso comprometeria a comparação entre as técnicas. Além disso, se os resultados são expressos em UFC/ml, a referida prática torna essa relação matemática instável, já que a quantidade de líquido instilado e posteriormente recuperado é variável. Por exemplo, se apenas um pequeno volume de líquido é recuperado pela aspiração, logo a contagem de bactérias pode ser equivocadamente maior devido ao menor volume de diluente. Por outro lado, se um maior volume de líquido é recuperado, a concentração será menor em detrimento do aumento da diluição (FUJITANI; YU, 2006).

Embora a implementação da técnica protegida oclua mais de 50% do lúmen do TOT, é importante frisar que não foram observadas complicações iatrogênicas de ordem oxi-hemodinâmica relevantes entre as técnicas, mesmo hemorrágicas. Inferia-se que esta última seria uma das possíveis complicações relacionadas à técnica protegida, visto que a sonda externa não era romba e relativamente mais espessa e rígida em comparação às tradicionais sondas de aspiração. Apenas uma paciente apresentou sangramento durante a coleta, mas este não se relacionou com a técnica protegida porque a hemorragia iniciou durante a execução da técnica tradicional (primeira a ser executada na paciente, segundo a randomização). Além disso, a paciente apresentava graves alterações de coagulação sanguínea e invariavelmente sangrava nos procedimentos de aspiração endotraqueais de rotina.

Este estudo tem várias limitações importantes, incluindo a ausência de um método de cultura padronizado e aceitável, bem com a falta de outro método diagnóstico de PAV para efeito de comparação. Outra limitação foi não analisar por meio de testes de genotipagem a concordância entre os microrganismos extras isolados e $<10^5$ UFC/ml pela técnica protegida com o possível biofilme do TET.

Contudo, apesar dessas limitações, este é o primeiro estudo de nosso conhecimento que focou na análise comparativa do aspirado traqueal protegido versus tradicional. Os resultados não foram conclusivos, mas levantaram uma importante questão potencialmente capaz de interferir na qualidade dos resultados de cultura de secreção traqueal para auxílio diagnóstico de PAV, apontando a necessidade de reflexões e discussões futuras por intermédio de pesquisas robustas e bem desenhadas.

7 CONCLUSÃO

Ao comparar os resultados de culturas microbiológicas de secreções do trato respiratório inferior colhidas por técnica protegida e tradicional, conclui-se que houve concordância estatisticamente significativa e não constatou-se complicações iatrogênicas de ordem oxi-hemodinâmica relevantes entre as técnicas. Entretanto, resultados duvidosos foram mais relacionados à técnica protegida e são potencialmente capazes de conduzir a erros na gestão de antibióticos, com potencial para tratamento inadequado ou excessivo. Todavia, não foi possível afirmar que tais resultados não são representativos de patógenos presentes no trato respiratório inferior. Portanto, pesquisas adicionais são necessárias para elucidar a questão.

Finalmente, ensaios robustos incluindo análise da concordância genética dos isolados do biofilme do TET e do AT são necessários para elucidar esta questão, além de fundamentais para elaboração de protocolos baseados em evidências para a colheita de secreção traqueal para o auxílio diagnóstico de PAV.

8 REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Trato respiratório: critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde. Unidade de investigação e prevenção das infecções e dos eventos adversos. Brasília, 2009.
2. Allaouchiche B, Jaumain H, Chassard D, Bouletreau P. Gram stain of bronchoalveolar lavage fluid in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Br J Anaesth*. 1999;83(6):845-849.
3. Allaouchiche B, Jaumain H, Dumontet C, Motin J. Early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Is it possible to define a cutoff value of infected cells in BAL fluid? *Chest*. 1996;110(6):1558-1565.
4. American Association of Respiratory Care. AARC clinical practice guidelines: endotracheal suctioning of mechanically ventilated patients with artificial airways 2010. *Respir Care*. 2010;55(6):758-64.
5. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(4):388-416.
6. Greene LR, Sposato K; Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology. Guide to the Elimination of Ventilator-Associated Pneumonia [Internet]. Washington; 2009 [citado 2013 mar. 25]. Disponível em: http://www.apic.org/Resource/EliminationGuideForm/18e326ad-b484-471c-9c35-6822a53ee4a2/File/VAP_09.pdf
7. Bahrani-Mougeot FK, Paster BJ, Coleman S, Barbuto S, Brennan MT, Noll J, et al. Molecular analysis of oral and respiratory bacterial species associated with ventilator-associated pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2007;45(5):1588-93.
8. Balthazar AB, Von NA, De Capitani EM, Bottini PV, Terzi RG, Araujo S. Diagnostic investigation of ventilator-associated pneumonia using bronchoalveolar lavage: comparative study with a postmortem lung biopsy. *Braz J Med Biol Res*. 2001;34(8):993-1001.
9. Barreiro B, Dorca J, Manresa F, Catalá I, Esteban L, Verdaguer R, Gudiol F. Protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 1996;9(7):1500-07.

10. Battin TJ, Sloan WT, Kjelleberg S, Daims H, Head IM, Curtis TP, Eberl L. Microbial landscapes: new paths to biofilm research. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5(1):76-81.
11. Bello S, Tajada A, Chacón E, Villuendas MC, Senar A, Gascón M, Suarez FJ. 'Blind' protected specimen brushing versus bronchoscopic techniques in the aetiological diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 1996;9(7):1494-99.
12. Berra L, Coppadoro A, Bittner EA, Kolobow T, Laquerriere P, Pohlmann JR, et al. A clinical assessment of the Mucus Shaver: a device to keep the endotracheal tube free from secretions. *Crit Care Med*. 2012;40(1):119-24.
13. Biel MA, Sievert C, Usacheva M, Teichert M, Wedell E, Loebel N, et al. Reduction of Endotracheal Tube Biofilms Using Antimicrobial Photodynamic Therapy. *Lasers Surg Med*. 2011;43(7):586-90.
14. Bird D, Zambuto A, O'Donnell C, Silva J, Korn C, Burke R, et al. Adherence to ventilator-associated pneumonia bundle and incidence of ventilator-associated pneumonia in the surgical intensive care unit. *Arch Surg*. 2010;145(5):465-70.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos. Resolução 196 de 1996.
16. Bregeon F, Papazian L, Thomas P, Carret V, Garbe L, Saux P, Drancourt M, Auffray JP. Diagnostic accuracy of protected catheter sampling in ventilator-associated bacterial pneumonia. *Eur Respir J*. 2000;16(5):969-75.
17. Brun-Buisson C, Fartoukh M, Lechapt E, Honoré S, Zahar JR, Cerf C, Maitre B. Contribution of blinded, protected quantitative specimens to the diagnostic and therapeutic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2005;128(2):533-544.
18. Butler KL, Best IM, Oster RA, Katon-Benitez I, Lynn WW, Bumpers HL. Is bilateral protected specimen brush sampling necessary for the accurate diagnosis of ventilator-associated pneumonia? *J Trauma*. 2004;57(2):316-22.
19. Canadian Critical Care Trials Group. A randomized trial of diagnostic techniques for ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med*. 2006 21;355(25):2619-30.

20. Carrilho CMDM, Grion CMC, Carvalho LM, Grion AS, Matsuo T. Pneumonia associada à ventilação mecânica em Unidade de Terapia Intensiva cirúrgica. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2006;18(1):38-44.
21. Carvalho CRR. Pneumonia associada à ventilação mecânica. *J Bras Pneumol*. 2006;32(4):1-3.
22. Carvalho MVCF, Winkeler GFP, Costa FAM, Bandeira TJG, Pereira EDB, Holanda MA. Concordância entre o aspirado traqueal e o lavado broncoalveolar no diagnóstico das pneumonias associadas à ventilação mecânica. *J Bras Pneumol*. 2004;30(1):34-46.
23. Casetta M, Blot F, Antoun S, Leclercq B, Tancrede C, Doyon F, Nitenberg G. Diagnosis of nosocomial pneumonia in cancer patients undergoing mechanical ventilation: a prospective comparison of the plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Chest*. 1999;115(6):1641-45.
24. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R; CDC; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guidelines for preventing health-care--associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep*. 2004;53(RR-3):1-36.
25. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(7):867-903.
26. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(7):867-903.
27. Cheade MFM, Frota OP, Loureiro MDR, Quintanilha ACF. Residência multiprofissional em saúde: a busca pela integralidade. *Cogitare Enferm*. 2013;18(3):592-5.
28. Chen M, Yu Q, Sun H. Novel strategies for the prevention and treatment of biofilm related infections. *Int J Mol Sci*. 2013;14(9):18488-501.
29. Clec'h C, Jauréguy F, Hamza L, Karoubi P, Fosse JP, Hamdi A et al. Agreement between quantitative cultures of postintubation tracheal aspiration and plugged telescoping catheter, protected specimen brush, or LBA for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Chest*. 2006;130(4):956-61.
30. Cline JM, Woods CR, Ervin SE, Rubin BK, Kirse DJ. Surveillance tracheal aspirate cultures do not reliably predict bacteria cultured at the time of an acute

- respiratory infection in children with tracheostomy tubes. *Chest*. 2012;141(3):625-31.
31. Cook D, Mandell L. Endotracheal aspiration in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2000;117(4 Suppl 2):195S-7S.
 32. Croce MA, Fabian TC, Mueller EW, Maish GO 3rd, Cox JC, Bee TK, Boucher BA, Wood GC. The appropriate diagnostic threshold for ventilator-associated pneumonia using quantitative cultures. *J Trauma*. 2004;56(5):931-34.
 33. Davies K, Monterosso L, Leslie G. Determining standard criteria for endotracheal suctioning in the paediatric intensive care patient: an exploratory study. *Intensive Crit Care Nurs*. 2011;27(2):85-93
 34. Davis KA, Eckert MJ, Reed RL 2nd, Esposito TJ, Santaniello JM, Poulakidas S, Luchette FA. Ventilator-associated pneumonia in injured patients: do you trust your Gram's stain? *J Trauma*. 2005;58(3):462-6.
 35. Day T, Iles N, Griffiths P. Effect of performance feedback on tracheal suctioning knowledge and skills: randomized controlled trial. *J Adv Nurs*. 2009;65(7):1423-31.
 36. Duflo F, Allaouchiche B, Debon R, Bordet F, Chassard D. An evaluation of the Gram stain in protected bronchoalveolar lavage fluid for the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Anesth Analg*. 2001;92(2):442-7.
 37. El Solh AA, Akinnusi ME, Pineda LA, Mankowski CR. Diagnostic yield of quantitative endotracheal aspirates in patients with severe nursing home-acquired pneumonia. *Crit Care*. 2007;11(3):R57.
 38. Elatrous S, Boukef R, Ouanes Besbes L, Marghli S, Nooman S, Nouria S, Abroug F. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: agreement between quantitative cultures of endotracheal aspiration and plugged telescoping catheter. *Intensive Care Med*. 2004;30(5):853-8.
 39. El-Ebiary M, Torres A, González J, de la Bellacasa JP, García C, Jiménez de Anta MT, Ferrer M, Rodríguez-Roisin R. Quantitative cultures of endotracheal aspirates for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148(6 Pt 1):1552-7.
 40. Estella A, Monge MI, Perez Fontaina L, Sainz de Baranda A, Gala MJ, Moreno E. Bronchoalveolar lavage for diagnosing pneumonia in mechanically ventilated patients. *Med Intensiva*. 2008;32(9):419-23.

41. Fàbregas N, Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Ramirez J, de La Bellacasa JP, Bauer T, Cabello H. Clinical diagnosis of ventilator associated pneumonia revisited: comparative validation using immediate post-mortem lung biopsies. *Thorax*. 1999;54(10):867-73.
42. Fartoukh M, Maitre B, Honore S, Cerf C, Zahar JR, Brun-Buisson C. Diagnosing pneumonia during mechanical ventilation: the clinical pulmonary infection escore revisited. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(2):173-9.
43. Feldman C, Kassel M, Cantrell J, Kaka S, Morar R, Goolam Mahomed A, et al. The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation. *Eur Respir J*. 1999;13(3):546-51.
44. Fica CA, Cifuentes DM, Hervé EB. Update of the consensus document on ventilator-associated pneumonia: part I. Diagnostic aspects. *Rev Chilena Infectol*. 2011;28(2):130-51.
45. Flanagan JL, Brodie EL, Weng L, Lynch SV, Garcia O, Brown R, et al. Loss of bacterial diversity during antibiotic treatment of intubated patients colonized with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*. 2007;45(6):1954-62.
46. Flanagan PG, Findlay GP, Magee JT, Ionescu A, Barnes RA, Smithies M. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia using non-bronchoscopic, non-directed lung lavages. *Intensive Care Med* 2000;26(1):20-30.
47. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(9):623-33.
48. Freire ILS, Farias GM, Ramos C.S. Prevenindo pneumonia nosocomial: cuidados da equipe de saúde ao paciente em ventilação mecânica invasiva. *Rev Eletr Enferm*. 2006;8(3):377-97.
49. Fröls S. Archaeal biofilms: widespread and complex. *Biochem Soc Trans*. 2013;41(1):393-8.
50. Fujitani S, Cohen-Melamed MH, Tuttle RP, Delgado E, Taira Y, Darby JM. Comparison of semi-quantitative endotracheal aspirates to quantitative non-bronchoscopic bronchoalveolar lavage in diagnosing ventilator-associated pneumonia. *Respir Care*. 2009;54(11):1453-61.
51. Fujitani S, Yu VL. Quantitative Cultures for Diagnosing VAP: A Critique. *Clin Infect Dis*. 2006;43(Suppl 2):S106-13.

-
52. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, Sahuquillo JM, Gonzalez E, Calleja I, Menendez R, Bonastre J. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care*. 2012;16(3):R93
 53. Gupta A, Agrawal A, Mehrotra S, Singh A, Malik S, Khanna A. Incidence, risk stratification, antibiogram of pathogens isolated and clinical outcome of ventilator associated pneumonia. *Indian J Crit Care Med*. 2011;15(2):96-101.
 54. Hunter JD. Ventilator associated pneumonia. *Postgrad Med J*. 2006;82(965):172-8.
 55. Joseph NM, Sistla S, Dutta TK, Badhe AS, Parija SC. Ventilator-associated pneumonia: role of colonizers and value of routine endotracheal aspirate cultures. *Int J Infect Dis*. 2010a;14(8):723-9.
 56. Joseph NM, Sistla S, Dutta TK, Badhe AS, Parija SC. Ventilator-associated pneumonia: a review. *Eur J Intern Med*. 2010b;21(5):360-8.
 57. 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. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(1):241-6.
 58. Kelleher S, Andrews T. An observational study on the open-system endotracheal suctioning practices of critical care nurses. *J Clin Nurs*. 2008;17(3):360-9.
 59. Khilnani GC, Arafath TK, Hadda V, Kapil A, Sood S, Sharma SK. Comparison of bronchoscopic and non-bronchoscopic techniques for diagnosis of ventilator associated pneumonia. *Indian J Crit Care Med*. 2011;15(1):16-23.
 60. 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(2):445-7.
 61. 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(2):445-57.
 62. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818-29.

-
63. Koenig SM, Truitt JD. Ventilator-Associated Pneumonia: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(4):637-57.
 64. 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(10):743-748.
 65. Kollef MH. Prevention of ventilator-associated pneumonia or ventilator-associated complications: a worthy, yet challenging goal. *Crit Care Med.* 2012;40(1):271-7.
 66. Kowalczyk W, Rybicki Z, Tomaszewski D, Truszczyński A, Guzek A. The comparison of different bronchial aspirate culturing methods in patients with ventilator-associated pneumonia (VAP). *Anestezjol Intens Ter.* 2011;43(2):74-9.
 67. Liu W, Zuo Z, Ma R, Zhang X. Effect of Mechanical Cleaning of Endotracheal Tubes With Sterile Urethral Catheters to Reduce Biofilm Formation in Ventilator Patients. *Pediatr Crit Care Med.* 2013;14(7):338-43.
 68. Lode H, Raffenberg M, Erbes R, Geerdes-Fenge H, Mauch H. Nosocomial pneumonia: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention. *Curr Opin Infect Dis.* 2000;13(4):377-84.
 69. Lopes FM, López MF. Impacto do sistema de aspiração traqueal aberto e fechado na incidência de pneumonia associada à ventilação mecânica: revisão de literatura. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2009;21(1):80-88.
 70. Luna CM, Blanzaco D, Niederman MS, Matarucco W, Baredes NC, Desmery P, et al. Resolution of ventilator-associated pneumonia: prospective evaluation of the clinical pulmonary infection score as an early clinical predictor of outcome. *Crit Care Med.* 2003;31(3):676-82.
 71. Luna CM, Chirino A. Qualitative cultures in ventilator-associated pneumonia - can they be used with confidence? *Crit Care* 2004;8(6):425-6.
 72. 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(4):1075-84.
 73. 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(3):676-85.

-
74. Luyt CE, Chastre J, Fagon JY. Value of the clinical pulmonary infection score for the identification and management of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2004;30(5):844-52.
 75. Marik PE, Brown WJ. A comparison of bronchoscopic vs blind protected specimen brush sampling in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1995;108(1):203-7.
 76. Marquette CH, Copin MC, Wallet F, Neviere R, Saulnier F, Mathieu D, et al. Diagnostic tests for pneumonia in ventilated patients: prospective evaluation of diagnostic accuracy using histology as a diagnostic gold standard. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(6):1878-88.
 77. Martins LFG. Suspeita de pneumonia associada a ventilação mecânica: o que realmente importa para o diagnóstico? [dissertação de mestrado]. Porto Alegre (RS). Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010, 63 p.
 78. Meduri GU, Mauldin GL, Wunderink RG, Leeper KV Jr, Jones CB, Tolley E, et al. Causes of fever and pulmonary densities in patients with clinical manifestations of ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1994;106(1):221-35.
 79. Miller PR, Meredith JW, Chang MC. Optimal threshold for diagnosis of ventilator-associated pneumonia using bronchoalveolar lavage. *J Trauma.* 2003;55(2):263-7.
 80. Mimos O, Karim A, Mazoit JX, Edouard A, Leprince S, Nordmann P. Gram staining of protected pulmonary specimens in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Br J Anaesth.* 2000;85(5):735-9.
 81. Mondt MM, Chang MC, Bowton DL, Kilgo PD, Meredith JW, Miller PR. Prospective comparison of bronchoalveolar lavage and quantitative deep tracheal aspirate in the diagnosis of ventilator associated pneumonia. *J Trauma* 2005;59(4):891-5.
 82. Morrow LE, Kollef MH: Recognition and prevention of nosocomial pneumonia in the intensive care unit and infection control in mechanical ventilation. *Crit Care Med* 2010;38(8 Suppl):S352–S62.
 83. Mourani PM, Harris JK, Sontag MK, Robertson CE, Abman SH. Molecular Identification of Bacteria in Tracheal Aspirate Fluid from Mechanically Ventilated Preterm Infants. *PLoS ONE.* 2011;6(10):e25959.

84. Nair S, Sen N, Peter JV, Raj JP, Brahmadathan KN. Role of quantitative endotracheal aspirate and cultures as a surveillance and diagnostic tool for ventilator associated pneumonia: a pilot study. *Indian J Med Sci.* 2008 Aug;62(8):304-13.
85. Niederman MS, Craven DE. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(4):388-416.
86. Niederman MS. The argument against using quantitative cultures in clinical trials and for the management of ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2010;51(Suppl 1):S93-9.
87. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica.* 3. Ed. São Paulo: Sarvier; 2010.
88. Papazian L, Autillo-Touati A, Thomas P, Bregeon F, Garbe L, Saux P et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: an evaluation of direct examination and presence of intracellular organisms. *Anesthesiology.* 1997;87(2):268-76.
89. Papazian L, Thomas P, Garbe L, Guignon I, Thirion X, Charrel J, et al. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152(6 Pt 1):1982-1991.
90. Pedersen CM, Rosendahl-Nielsen M, Hjermind J, Egerod I. Endotracheal suctioning of the adult intubated patient - what is the evidence? *Intensive Crit Care Nurs.* 2009;25(1):21-30.
91. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(10):3471-84.
92. Pham LH, Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Verra F, Brochard L, Lemaire F. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143(5 Pt 1):1055-61.
93. Pombo CMN, Almeida PC, Rodrigues JLN. Conhecimento dos profissionais de saúde na Unidade de Terapia Intensiva sobre prevenção de pneumonia associada à ventilação mecânica. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2010;15(suppl 1):1061-72.

94. Porzecanski I, Bowton DL. Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2006;130(2):597-604.
95. Prekates A, Nanas S, Argyropoulou A, Margariti G, Kyprianou T, Papagalos E, Paniara O, Roussos C. The diagnostic value of gram stain of bronchoalveolar lavage samples in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Scand J Infect Dis*. 1998;30(10):43-7.
96. Rea-Neto A, Youssef NC, Tuche F, Brunkhorst F, Ranieri VM, Reinhart K, Sakr Y. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a systematic review of the literature. *Crit Care*. 2008;12(2):R56.
97. Reechaipichitkul W, Phondongnok S, Bourpoern J, Chaimanee P. Causative agents and resistance among hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia patients at Srinagarind Hospital, northeastern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2013;44(3):490-502.
98. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, et al. VAP Outcomes Scientific Advisory Group. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest*. 2002;122(6):2115-21.
99. Rewa O, Muscedere J. Ventilator-associated pneumonia: update on etiology, prevention, and management. *Curr Infect Dis Rep*. 2011;13(3):287-95.
100. Riaz OJ, Malhotra AK, Aboutanos MB, Duane TM, Goldberg AE, Borchers CT, et al. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: to quantitate or not, that is the question. *Am Surg*. 2011;(3):297-303.
101. Rouby JJ, Rossignon MD, Nicolas MH, Martin de Lassale E, Cristin S, Grosset J, Viars P. A prospective study of protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Anesthesiology*. 1989;71(5):679-85.
102. Royer S. Epidemiologia clássica e molecular de pneumonias associadas à ventilação mecânica por *A. baumannii* resistente/susceptível ao imipenem em pacientes internados na unidade de terapia intensiva de adultos do hospital de clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. Universidade Federal de Uberlândia. 2013.
103. Rumbak MJ, Bass RL. Tracheal aspirate correlates with protected specimen brush in long-term ventilated patients who have clinical pneumonia. *Chest*. 1994;106(2):531-4.

-
104. Schurink CAM, Van Nieuwenhoven CA, Jacobs JA, Rozenberg-Arska M, Joore HC, Buskens E, et al. Clinical pulmonary infection escore for ventilator-associated pneumonia: accuracy and inter-observer variability. *Intensive Care Med.* 2004;30(2):217-24.
 105. Sharp SE, Robinson A, Saubolle M, Santa Cruz M, Carroll K, Baselski V. CUMITECH 7B: lower respiratory tract infections. American Society for Microbiology, Washington, DC. 2004.
 106. Shin YM, Oh YM, Kim MN, Shim TS, Lim CM, Lee SD, et al. Usefulness of Quantitative Endotracheal Aspirate Cultures in Intensive Care Unit Patients with Suspected Pneumonia. *J Korean Med Sci.* 2011;26(7):865-9
 107. 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. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(2 Pt 1):505-11.
 108. Sirvent JM, Vidaur L, Gonzalez S, Castro P, de Batlle J, Castro A, et al. Microscopic examination of intracellular organisms in protected bronchoalveolar mini-lavage fluid for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 2003;123(2):518-523.
 109. Souweine B, Veber B, Bedos JP, Gachot B, Dombret MC, Regnier B, et al. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. *Crit Care Med.* 1998;26(2):236-44.
 110. Souza PR. Análise microbiológica e genético-molecular da biota orotraqueal de paciente crítico: subsídios na prevenção da pneumonia associada à ventilação mecânica [tese de doutorado]. Ribeirão Preto (SP): Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2009, 184 p.
 111. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep.* 2004;53(RR-3):1-36.
 112. Tasbakan MS, Gurgun A, Basoglu OK, Ekren PK, Pullukcu H, Bacakoglu F. Comparison of bronchoalveolar lavage and mini-bronchoalveolar lavage in the diagnosis of pneumonia in immunocompromised patients. *Respiration.* 2011;81(3):229-35.

-
113. Teixeira PJZ, Hertz FT, Cruz DB, Caraver F, Hallal RC, Moreira JS. Pneumonia associada à ventilação mecânica: impacto da multirresistência bacteriana na morbidade e mortalidade. *J BrasPneumol*. 2004;30(6):540-8.
 114. Tejerina E, Esteban A, Fernandez-Segoviano P, et al: Accuracy of clinical definitions of ventilator-associated pneumonia: Comparison of autopsy findings. *J Crit Care* 2010;25(1):62–68.
 115. Thakuria B, Singh P, Agrawal S, Asthana V. Profile of infective microorganisms causing ventilator-associated pneumonia: A clinical study from resource limited intensive care unit. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2013;29(3):361-3.
 116. Timsit JF, Misset B, Francoual S, Goldstein FW, Vaury P, Carlet J. Is protected specimen brush a reproducible method to diagnose ICU acquired pneumonia? *Chest*. 1993;104(10):104-8.
 117. Tolentino-DelosReyes AF, Ruppert SD, Shiao SY. Evidence-based practice: use of the ventilator bundle to prevent ventilator-associated pneumonia. *Am J Crit Care*. 2007;16(1):20-7.
 118. Torres A, Carlet J. Ventilator-associated pneumonia. European Task Force on ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 2001;17(5):1034-45.
 119. Torres A, El-Ebiary M, Fábregas N, González J, de la Bellacasa JP, Hernández C, et al. Value of intracellular bacteria detection in the diagnosis of ventilator associated pneumonia. *Thorax*. 1996;51(4):378-84.
 120. Torres A, el-Ebiary M, Padró L, Gonzalez J, de la Bellacasa JP, Ramirez J, et al. Validation of different techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Comparison with immediate postmortem pulmonary biopsy. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149(2 Pt 1):324-31.
 121. Torres A, Fabregas N, Ewig S, de la Bellacasa JP, Bauer TT, Ramirez J. Sampling methods for ventilator-associated pneumonia: validation using different histologic and microbiological references. *Crit Care Med*. 2000;28(8):2799-804.
 122. Valléss J, Rello J, Fernández R, Blanch L, Baigorri F, Mestre J, et al. Role of bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated patients with suspected pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994;13(7):549-58.
 123. Vincent JL, de Souza Barros D, Cianferoni S: Diagnosis, management, and prevention of ventilator-associated pneumonia. *Drugs* 2010;70(15)1927-44.

-
124. Vonberg RP, Eckmanns T, Welte T, Gastmeier P. Impact of the suctioning system (open vs. closed) on the incidence of ventilation-associated pneumonia: Meta-analysis of randomized controlled trials. *Intensive Care Med.* 2006;32(9):1329-35.
 125. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):306-25.
 126. Wiener-Kronish JP, Dorr HJ. Ventilator-associated pneumonia: problems with diagnosis and therapy. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2008;22(3):437-49.
 127. Wood AY, Davit AJ 2nd, Ciraulo DL, Arp NW, Richart CM, Maxwell RA, et al. A prospective assessment of diagnostic efficacy of blind protective bronchial brushings compared to bronchoscope-assisted lavage, bronchoscope-directed brushings, and blind endotracheal aspirates in ventilator-associated pneumonia. *J Trauma.* 2003;55(5):825-34.
 128. Wu CL, Yang DI, Wang NY, Kuo HT, Chen PZ. Quantitative culture of endotracheal aspirates in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia in patients with treatment failure. *Chest.* 2002;122(2):662-8.
 129. Wunderink R, Mayhall CG, Gilbert C. Methodology for clinical investigation of ventilator-associated pneumonia: Epidemiology and therapeutic intervention. *Chest.* 1992;102(5 Suppl 1):580S-8S.
 130. YPARRAGUIRRE, I. T. R.; SANTANNA, C. C.; LOPES, V. G. S.; MADI, K. Acometimento pulmonar em crianças com a síndrome da imunodeficiência humana (AIDS): estudo clínico e de necrópsia de 14 casos. *Rev Assoc Med Bras.* 2001;47(2):129-36.
 131. Zolfaghari PS, Wyncoll DL. The tracheal tube: gateway to ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2011;15(5):310.

9 APÊNDICES

9.1 Apêndice 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Este estudo está sendo conduzido por Adriano Menis Ferreira.

A finalidade deste estudo é comparar duas formas de coletar secreção pulmonar (“catarro”) para o diagnóstico de pneumonia. Poderão participar deste estudo pessoas com idade superior a 18 anos que estejam intubadas por mais de 48 horas.

Serão coletados duas amostras de secreção pulmonar (“catarro”) para análise laboratorial, uma já é padronizada no hospital a outra será testada para melhorar a qualidade da assistência prestada aos pacientes intubados. O procedimento de colheita é realizado de rotina em todos os pacientes intubados neste setor (Unidade de Terapia Intensiva Adulta do Núcleo de Hospital Universitário). Nesse estudo, será realizado pelo mestrando (Oleci Pereira Frota) orientado pelo pesquisador responsável e poderá provocar os mesmos efeitos adversos previstos nas coletas de rotina: dor, hipoxemias, desconforto, alterações hemodinâmicas e outros que são minimizadas com medidas padronizadas na literatura e no setor, como a pré-oxigenação a 100% de oxigênio. A única diferença é que serão coletadas duas amostras: a tradicional (técnica não protegida) comumente realizada no setor, e a intervencionista (técnica protegida) que iremos testar sua eficácia. Se alguma intercorrência ocorrer à equipe multiprofissional dessa unidade atenderá prontamente com as medidas protocoladas para a resolução do ocorrido.

Gostaríamos de deixar documentado que: sua participação é confidencial (sigilosa) e as informações obtidas serão utilizadas apenas para fins científicos, mantendo privacidade do nome dos participantes, a menos que requerida por lei; você pode escolher não fazer parte do estudo, ou pode desistir a qualquer momento sem prejuízos ou qualquer restrição; não há previsão de gasto financeiro e/ou ressarcimento de despesas pelos participantes da pesquisa; se desejar fazer qualquer pergunta em relação à pesquisa, poderá entrar em contato com o pesquisador pelo telefone (67) 9275-4526; em caso de dúvidas sobre seus direitos como participante no estudo chame o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFMS, no telefone (67) 3345-7187; você poderá receber os resultados dessa pesquisa; terão

acesso aos arquivos, para processamento dos dados, o pesquisador e os demais profissionais envolvidos nesse estudo, sem, contudo, violar a confidencialidade necessária; o pesquisador arquivará este termo de consentimento, e, em nenhuma circunstância, ele será lido por outra pessoa; a autorização para o desenvolvimento dessa investigação será considerada a partir da assinatura do impresso deste consentimento, se concordar, você receberá uma via assinada deste termo.

Eu, _____ responsável legal do paciente _____, declaro que li e entendi este formulário de consentimento e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas, e que sou voluntário a tomar parte neste estudo.

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador

9.2 Apêndice 2: Instrumento de coleta de dados

Nome: _____ RG: _____ Data: __/__/2013 N. __

1. Idade (anos): _____

2. Sexo ()M ()F

3. Tempo internação hospitalar: _____ dias

4. Tempo internação UTI: _____ dias

5. Procedência

A. () Cirúrgica

D. () Outra UTI

B. () Médica

E. () Outro Serviço

C. () Pronto Socorro

6. Tempo de VM invasiva: _____h

7. PAV diagnosticada previamente nesta internação e curada ()S ()N

8. PAV em tratamento (análise microbiológica para confirmar cura) ()S ()N

9. Comorbidades:

A. () Nada

G. () Cânceres: _____

B. () HAS

H. () Injúrias neurológicas: _____

C. () DM

I. () Injúrias digestivas: _____

D. () DPOC

J. () Doenças Infecto-Parasitárias: _____

E. () ICC

K. () Outra: _____

F. () IRC

10. APACHE II: _____

11. Uso de antimicrobianos ()S ()N

12. Se sim, qual(is) classe(s):

A. () Carbapenêmicos

B. () Glicopeptídeos

C. () Polimixinas

- D. () Cefalosporinas
E. () Macrolídeos
F. () Aminoglicosídeos
G. () Penicilinas
H. () Sulfonamidas e trimetoprim
I. () Lincosamidas
J. () Derivados imidazólicos
K. () Fluoroquinolonas
L. () Oxazolidinonas
M. () Tetraciclinas

Descrição dos antibióticos

Antibiótico	Peso	frequência
_____	_____	_____ x/dias
_____	_____	_____ x/dias
_____	_____	_____ x/dias
_____	_____	_____ x/dias
_____	_____	_____ x/dias
_____	_____	_____ x/dias

13. Tempo de antibioticoterapia (dias): _____

14. Leucograma (valor)

- A. Leucócitos: _____
B. Neutrófilos: _____
C. Bastonetes: _____
D. Linfócitos: _____

15. Temperatura: _____ °C

16. Aspecto da secreção traqueal

- A. () Mucoide
B. () Purulenta

17. Escala de sedação de Ramsey: _____

18. Infecções hospitalares (exceto Pnm) ()S ()N

19. Se sim, qual a topografia (sítio anatômico)

- A. () Respiratória (Não pnm)
- B. () Urinária
- C. () Sistêmica
- D. () Tegumentar
- E. () Sítio cirúrgico
- F. () Ferida Crônica
- G. () Trato Gastrointestinal
- H. () Sistema Nervoso

20. Desfecho na UTI

- A. () Alta
- B. () Transferência
- C. () Óbito

21. Resultados de culturas

AT – Técnica protegida 1 Código da semana: ()	AT – Técnica Não protegida 2 Código da semana: ()
<u>Microrganismo isolado:</u>	<u>Microrganismo isolado:</u>
1. _____ UFC/ml:____	1. _____ UFC/ml:____
2. _____ UFC/ml:____	2. _____ UFC/ml:____
3. _____ UFC/ml:____	3. _____ UFC/ml:____

10 ANEXOS

10.1 Anexo 1: Sequência aleatória das técnicas investigadas nos 40 pacientes incluídos nesse estudo, segundo *software* de randomização.

10/01/13

A Randomization Plan from
<http://www.randomization.com>

1. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
2. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
3. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
4. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
5. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
6. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
7. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
8. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
9. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
10. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
11. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
12. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
13. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
14. _____
 - Técnica Não-Protegida

1/3

1001/13

- Técnica Protegida
- 15. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 16. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 17. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 18. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 19. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 20. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 21. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 22. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 23. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 24. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 25. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 26. _____
 - Técnica Não-Protegida
 - Técnica Protegida
- 27. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 28. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida
- 29. _____
 - Técnica Protegida
 - Técnica Não-Protegida

10/01/13

30. _____
◦ Técnica Protegida
◦ Técnica Não-Protegida
31. _____
◦ Técnica Não-Protegida
◦ Técnica Protegida
32. _____
◦ Técnica Protegida
◦ Técnica Não-Protegida
33. _____
◦ Técnica Protegida
◦ Técnica Não-Protegida
34. _____
◦ Técnica Não-Protegida
◦ Técnica Protegida
35. _____
◦ Técnica Não-Protegida
◦ Técnica Protegida
36. _____
◦ Técnica Protegida
◦ Técnica Não-Protegida
37. _____
◦ Técnica Não-Protegida
◦ Técnica Protegida
38. _____
◦ Técnica Protegida
◦ Técnica Não-Protegida
39. _____
◦ Técnica Protegida
◦ Técnica Não-Protegida
40. _____
◦ Técnica Não-Protegida
◦ Técnica Protegida

40 subjects randomized into 1 block
To reproduce this plan, use the seed 10409
Randomization plan created on 10/01/2013 08:40:10

10.2 Anexo 2: Carta aprovação comitê ética

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS



Avaliação comparativa das técnicas de aspiração traqueal protegida versus convencional:
perspectiva microbiológica
Oleci Pereira Frota

Carta de Aprovação

O protocolo CAAE 06971312.3.0000.0021 do Pesquisador Oleci Pereira Frota intitulado "Avaliação comparativa das técnicas de aspiração traqueal protegida versus convencional: perspectiva microbiológica", foi revisado por este comitê e aprovado, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.

Edilson dos Reis

Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 3 de outubro de 2012

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX87 345-7187