

Estudo bacteriológico do lavado broncoalveolar na gestão de antibióticos na pneumonia associada à ventilação mecânica de pacientes em unidades de terapia intensiva cirúrgica

Bacteriological study of bronchoalveolar lavage in the antibiotic management of suspected ventilator-associated pneumonia of patients in surgical intensive care units

FELIPE FRANCISCO TUON¹; LUCAS WAGNER GORTZ²; SERGIO RICARDO. PENTEADO-FILHO³; PAULO ROBERTO SOLTOSKI³; ALEXANDRE YOSHIO HAYASHI⁴; MARCELO TIZZOT MIGUEL⁴

R E S U M O

Objetivo: determinar a correlação da coloração de Gram com o resultado final das culturas de LBA em pacientes cirúrgicos sob ventilação mecânica com PAV clínica. **Métodos:** Estudo retrospectivo de 252 amostras de lavado broncoalveolar em pacientes com clínica de pneumonia associada à ventilação mecânica com trauma ou cuidados de pós-operatório. As amostras de coloração de Gram foram classificadas como cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos, todos os outros resultados foram excluídos. Culturas de lavado broncoalveolar foram comparadas aos resultados da coloração de Gram. **Resultados:** A correlação entre a coloração de Gram e a cultura do lavado broncoalveolar apresentou índice kappa de 0,27. A sensibilidade da coloração de Gram foi 53,9% e a especificidade de 80,6%. Considerando a identificação de cocos Gram-positivos comparada com os outros resultados (negativos e bacilos Gram-negativos), o valor preditivo negativo foi 94,8%. Na avaliação de bacilos Gram-negativos comparada com os outros resultados (negativos e cocos Gram-positivos), a sensibilidade foi 27,1% e a especificidade foi 95,4%. **Conclusão:** O valor preditivo negativo para cocos Gram-positivos parece ser aceitável, mas a sensibilidade da coloração de Gram na etiologia de pneumonia associada à ventilação mecânica não permite prever qual é o micro-organismo antes da cultura.

Descritores: Ferimentos e lesões. Cuidados pós-operatórios. Bacilos e cocos aeróbios gram-negativos. Respiração artificial. Terapia intensiva.

INTRODUÇÃO

Pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) é complicação comum em pacientes sob ventilação mecânica¹. O diagnóstico desta doença é baseado em critérios clínicos, radiológicos e laboratoriais, sem um teste padrão-ouro, com exceção de biópsia pulmonar aberta². PAV está associada com aumento do tempo de permanência e duração da ventilação mecânica, maior mortalidade e aumento do custo de hospitalização³.

Além de dificuldades diagnósticas, a causa é outro desafio. Métodos quantitativos e qualitativos têm sido testados⁴⁻⁶. Entre vários métodos de cultura, a quantitativa por lavado broncoalveolar (LBA) é a mais utilizada. O resultado final da cultura de um LBA leva de três a

cinco dias, que podem variar devido a condições laboratoriais, bem como, a dificuldades para posterior isolamento ou identificação de bactérias. A coloração de Gram do LBA pode guiar a terapia inicial, mas existem controvérsias no uso deste método⁷. Ela permite a identificação de cocos Gram-positivos (CGP) ou bacilos Gram-negativos (BGN). Outros aspectos morfológicos podem ser descritos, mas a identificação dessas duas formas é suficiente para iniciar a terapia guiada para CGP (oxacilina, vancomicina ou linezolida) ou para BGN (penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos ou polimixina), de acordo com a epidemiologia hospitalar. Esta terapia guiada poderia diminuir o uso excessivo de antibióticos, uma vez que muitos diagnósticos clínicos de PAV não são confirmados.

Trabalho realizado nos Departamentos de Doenças Infecciosas e Parasitárias e de Cirurgia Torácica e Cardiovascular, e Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia, Faculdade Evangélica do Paraná / Hospital Universitário Evangélico de Curitiba / Instituto de Pesquisas Médicas (IPEM), Curitiba, PR, Brasil.

1. Professor permanente do Programa de Pós Graduação em Princípios da Cirurgia do Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil; 2. Acadêmica de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil; 3. Mestre. Divisão de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil; 4. Mestre do Programa de Pós Graduação em Princípios da Cirurgia do Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil.

O objetivo deste estudo foi determinar a correlação da coloração de Gram com o resultado final das culturas de LBA em pacientes cirúrgicos sob ventilação mecânica com PAV clínica.

MÉTODOS

Análise retrospectiva dos dados de pacientes que foram submetidos à broncoscopia com LBA em duas unidades de terapia intensiva de adultos (trauma e cirúrgica), foi realizada no Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, PR, Brasil. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba.

Lavado Broncoalveolar (LBA)

O procedimento foi realizado em doentes quando PAV foi suspeitada, independentemente de critérios clínicos. Os critérios para o diagnóstico clínico desta condição eram pacientes sob ventilação mecânica >72 horas, com temperatura anormal (>38°C ou <36°C), leucitose (contagem de células brancas >10.000 ou >10% imaturas) ou leucopenia (contagem de células brancas <4000), expectoração purulenta macroscopicamente, e modificações ou novos infiltrados em radiografias de tórax⁸. Assim, foram analisados dois grupos de pacientes: aqueles que cumpriram critérios para PAV, e aqueles sem confirmação clínica de PAV.

O lavado broncoalveolar foi realizado de acordo com técnicas convencionais. Os pacientes foram ventilados com 100% de FiO₂ e adequadamente sedados. A área de amostragem foi selecionada de acordo com a radiografia de tórax. Medicamentos de uso tópico não foram utilizados devido às suas propriedades bacteriostáticas. A ponta do broncoscópio foi introduzida em um subsegmento pulmonar, e 20ml de solução salina foram injetados, aspirados, e descartados. Uma ponta foi novamente posicionada e 100ml adicionais foram lentamente injetados e aspirados, como descrito⁹.

Cultura e Coloração de Gram

A amostra de LBA foi imediatamente transportada para o laboratório. Todas foram semeadas em placas para cultura no espaço de uma hora. Todas as bactérias colhidas foram identificadas e sua susceptibilidade foi testada através do teste de disco-difusão segundo o *Clinical Laboratory Standard Institute*¹⁰. A coloração de Gram foi realizada somente quando sugerida pelos médicos. Em lâminas, um esfregaço de material de LBA foi corado com violeta cristal seguido por lugol com subsequente lavagem das lâminas com etanol a 95%, e coloração com safranina. Os resultados foram comparados com a cultura final. As colorações de Gram foram classificadas da seguinte forma: cocos Gram-positivos (CGP) para lâminas mostrando apenas bactérias Gram positivas, bacilos Gram-negativos (BGN) para lâminas

mostrando apenas bactérias Gram-negativas. Casos sem colorações de Gram, culturas sugestivas de contaminação ou com identificação fungos, foram excluídos. Casos apresentando CGP mais BGN em coloração de Gram ou cultura foram excluídos. Culturas de LBA com mais de uma bactéria isolada ou com *Staphylococcus coagulase-negativo* também foram excluídos.

Análise estatística

Independente do diagnóstico final, colorações de Gram e culturas de LBA foram comparadas. Uma nova análise de casos que preencheram os critérios clínicos para PAV foi realizada. Os dados clínicos foram excluídos da análise, pois o objetivo deste estudo foi determinar a correlação entre coloração de Gram e cultura do LBA. Teste do χ^2 foi utilizado para as variáveis categóricas. A concordância entre as colorações de Gram e as culturas foi determinada pelo índice Kappa.

RESULTADOS

Foi coletado lavado broncoalveolar em 265 pacientes. Quatro casos foram excluídos devido à contaminação e quatro por presença de fungos. Cinco casos foram excluídos devido à identificação de bacilos Gram-positivos em cultura. Um total de 252 casos foi incluído na primeira análise. A etiologia está descrita na tabela 1.

A mediana da idade dos pacientes foi 43 (12 a 92), 41% dos casos eram do sexo feminino. Diagnóstico clínico de PAV ocorreu em 111 casos (42,4%).

A leitura das colorações de Gram mostrou nenhum micro-organismo em 159 casos (63,1%), CGP em 58 casos (23,1%) e BGN em 35 casos (13,8%). Na cultura

Tabela 1 - Etiologia da pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes de unidades de terapia intensiva cirúrgica.

Micro-organismos	n	% *
Cultura negativa	124	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46	35,9%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	24	18,8%
<i>Enterobacter</i> spp.	13	10,2%
<i>Klebsiella</i> spp.	11	8,6%
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	10	7,8%
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	8	6,3%
<i>Proteus mirabilis</i>	5	3,9%
<i>Escherichia coli</i>	4	3,1%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	2,3%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0,8%
<i>Serratia marcescens</i>	2	1,6%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,8%

* Somente casos positivos

do LBA, 124 casos (49,6%) foram negativos, houve 21 casos de CGP (8,7%) e 107 casos de BGN (42,8%).

A correlação entre a coloração de Gram e a cultura de LBA mostrou índice kappa de 0,27 (Tabela 2). Considerando apenas a positividade da coloração de Gram e LBA (sem distinção de BGN ou CGP), a sensibilidade da coloração de Gram foi 53,9% e a especificidade de 80,6%. Considerando a identificação de CGP contra outros resultados (negativos mais BGN), a sensibilidade foi 52,4% e especificidade de 79,7%. O valor preditivo negativo desta última avaliação foi 94,8%. Quando BGN foi comparado com CGP ou com ausência de crescimento, a sensibilidade foi 27,1% e especificidade de 95,4%.

Os resultados dos pacientes com critérios diagnósticos de PAV foram semelhantes aos pacientes sem confirmação de PAV (sem cumprir os critérios diagnósticos) (Tabela 3). Considerando a utilidade de colorações de Gram positivas para diagnóstico ou exclusão de PAV (colorações de Gram negativas), os resultados mostraram uma sensibilidade de 43,9% e uma especificidade de 68,3%.

DISCUSSÃO

A melhor abordagem de diagnóstico para PAV permanece incerta. Os resultados da coloração de Gram após LBA foram discordantes com a cultura final. Em resumo, a sensibilidade e a especificidade da coloração de Gram

foram baixas. Estudos anteriores também demonstraram essa discordância de resultados entre a coloração de Gram e a cultura do LBA¹¹. A coloração positiva não pode prever o diagnóstico de PAV, e a decisão do uso de antibióticos deve ser guiada por achados clínicos. Além disso, coloração negativa não exclui o diagnóstico de PAV. Estes dados foram previamente demonstrados por Raghavendran *et al.*¹², mas discordantes com outro estudo¹¹. No entanto, dois resultados curiosos foram encontrados após nova análise considerando BGN e CGP separadamente. O primeiro foi alta especificidade de colorações de Gram para BGN, apesar de menor número de verdadeiros positivos que verdadeiros negativos. Isto sugere que culturas negativas são bem representadas por coloração de Gram negativa. Esta informação é inútil, considerando a coloração de Gram como um teste de triagem. A segunda descoberta foi alto valor preditivo negativo para CGP. Estes resultados sugerem que coloração de Gram sem CGP reduz a possibilidade de serem, estas bactérias, a causa da PAV.

Os dados apresentados neste estudo sugerem que as colorações de Gram são discordantes com o diagnóstico de PAV e não podem ser usadas para guiar terapia empírica para CGP ou BGN. Entretanto, os autores sugerem um protocolo baseado nos valores preditivos positivos e valores preditivos negativos anteriores: 1) coloração de Gram sem CGP, suspender a cobertura a este grupo (por exemplo, oxacilina, vancomicina ou linezolida); 2) a identificação de BGN sugere a manutenção de drogas contra

Tabela 2 - Correlação da coloração de Gram com a cultura em pacientes com critérios clínicos de pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes de unidades de terapia intensiva cirúrgica.

Coloração de Gram	Cultura			Total	
	Negativa	CGP	BGN		
Negativa	34	8	3	45	
CGP	3	6	1	10	
Kappa = 0.21					
BGN	27	16	13	56	
Total	64	30	17	111	
Coloração de Gram	Cultura		Total	Sensibilidade	
	Positiva	Negativa			
Positiva	36	11	47	75.6	
Negativa	30	34	64	76.6	
Total	66	45	111	VPN	53.1
CGP	Cultura com CGP		Total	Sensibilidade	
	Sim	Não			
Sim	6	24	30	76.2	
Não	4	77	81	20.0	
Total	10	101	111	VPN	95.1
BGN	Cultura com BGN		Total	Sensibilidade	
	Sim	Não			
Sim	13	4	17	92.7	
Não	43	51	94	76.5	
Total	56	55	111	VPN	54.3

CGP = cocos Gram-positivos; BGN = bacilos Gram-negativos; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo

Tabela 3 - Correlação da coloração de Gram com a cultura em pacientes com suspeita de pneumonia associada à ventilação mecânica (sem cumprir os critérios clínicos) em pacientes de unidades de terapia intensiva cirúrgica.

		Cultura				
Coloração de Gram	Negativa	CGP	BGN	Total		
Negativa	100	9	50	159		
CGP	19	11	28	58	Kappa = 0.27	
BGN	5	1	29	35		
Total	124	21	107	252		
		Cultura				
Coloração de Gram	Positiva	Negativa	Total	Sensibilidade	53.9	
Positiva	69	24	93	Especificidade	80.6	
Negativa	59	100	159	VPP	74.2	
Total	128	124	252	VPN	62.9	
		Cultura com CGP				
CGP	Sim	Não	Total	Sensibilidade	52.4	
Sim	11	47	58	Especificidade	79.7	
Não	10	184	194	VPP	19.0	
Total	21	231	252	VPN	94.8	
		Cultura com BGN				
BGN	Sim	Não	Total	Sensibilidade	27.1	
Sim	29	6	35	Especificidade	95.9	
Não	78	139	217	VPP	82.9	
Total	107	145	252	VPN	64.1	

CGP = cocos Gram-positivos; BGN = bacilos Gram-negativos; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo.

estas bactérias; e 3) coloração de Gram sem bactérias é uma dúvida, e sugere a espera pela cultura. Os resultados semelhantes de sensibilidade e especificidade em pacientes com suspeita de PAV e aqueles que preenchem os critérios de PAV também sugerem a importância da suspeita clínica para iniciar o tratamento empírico.

O valor preditivo positivo para CGP foi muito baixo. É estranho considerar "desaparecimento" dessas bactérias, mostrando maior possibilidade de BGN. Uma teoria a ser testada é a possibilidade de BGN inibir o crescimento de CGP no ágar de uma mesma cultura. Além disso, o hospital deste estudo o hospital onde foi realizado o estudo tem alta incidência de *Acinetobacter*, que pode ser colonizadora e dificultar o isolamento e posterior identificação de CGP. Os meios utilizados na instituição são ágar McConkey, ágar sangue e ágar chocolate. A inoculação de amostras de LBA em meios específicos poderia ser utilizada para testar esta teoria.

O baixo número de casos verdadeiros positivos foi um problema neste estudo, sugerindo futuras pesquisas e avaliação contínua de dados em nosso serviço, ou por outras publicações. A sensibilidade é baixa e a utilização da coloração de Gram como triagem para definição de tratamento pode ser um erro do tipo II, tendo em vista o número mais elevado de falsos negativos. No entanto, Albert *et al.* encontraram maior número de falsos negativos⁹.

Uma alternativa para a coloração de Gram seria o E-test rápido, utilizando meios seletivos com tiras de E-test para identificação mais rápida de cepas resistentes¹³. Este teste deveria ser validado por novos estudos e ajustado para cada hospital de acordo com a epidemiologia local.

A coloração de Gram é apenas um elemento do LBA que pode ser utilizado para diagnosticar ou excluir a presença de PAV, bem como, para estabelecer a sua causa. A contagem diferencial das células do LBA tem sido usada para estabelecer a presença ou a ausência de PAV com pontos de corte de 40% ou 50% de neutrófilos para favorecer a presença de PAV. Ainda, a presença de bactérias intracelulares dentro de neutrófilos no LBA pode determinar a presença de infecção, bem como, a sua causa¹⁴. Estes métodos são mais tecnicamente exigentes do que a coloração de Gram, mas podem aumentar o proveito imediato do LBA para o diagnóstico de PAV. Finalmente, avaliação de marcadores de LBA, tais como endotoxinas, têm sido utilizados para estabelecer a presença de PAV por bactérias Gram-negativas¹⁵. Na instituição do estudo, a coloração de Gram poderia auxiliar a evitar o uso excessivo de vancomicina ou linezolida e manutenção de carbapenêmicos. Os autores acreditam que a coloração de Gram deve ser realizada rotineiramente.

Em conclusão, cirurgiões e clínicos que tratam pacientes com suspeita de PAV devem iniciar a terapia

antimicrobiana antes do resultado de culturas, e a utilidade da coloração de Gram é duvidosa. O valor preditivo negativo para cocos Gram-positivos pode ser aceitável, mas a sensibilidade da coloração de Gram na etiologia da pneumonia associada à ventilação mecânica não pode prever o micro-organismo antes que a cultura.

Agradecimentos

Agradecemos Marcelo Dorneles, Mario, Izabel e Amina pelo estudo microbiológico; Sergio do Amaral Dergint pela broncoscopia; Virginia Helena Soares de Souza e Claudio Franck pelo contínuo cuidado dos pacientes nas UTIs.

A B S T R A C T

Objective: To determine the correlation of Gram staining with the culture of bronchoalveolar lavage in patients with clinical features of ventilator-associated pneumonia from two adult trauma and surgical intensive care units. **Methods:** We conducted a retrospective study of 252 samples of bronchoalveolar lavage from patients with clinical ventilator-associated pneumonia in trauma or surgical postoperative care. Gram staining samples were classified as Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli, all other results being excluded. Cultures from bronchoalveolar lavage were compared with Gram staining results. **Results:** The correlation between Gram staining and culture from the bronchoalveolar lavage showed a kappa index of 0.27. The sensitivity of Gram staining was 53.9% and the specificity, 80.6%. Considering the identification of Gram-positive cocci against other results (negative and Gram-negative bacilli), the negative predictive value was 94.8%. The evaluation of Gram-negative bacilli against other results (negative and Gram-positive cocci) rendered a sensitivity of 27.1% and a specificity of 95.4%. **Conclusion:** It appears that the negative predictive value for Gram-positive cocci is acceptable, but the sensitivity of Gram staining in the etiology of ventilator-associated pneumonia was not able to identify the microorganism before culture.

Key words: Trauma. Postoperative care. Gram-negative bacilli. Gram-positive cocci.

REFERÊNCIAS

- Shorr AF, Kollef MH. Ventilator-associated pneumonia: insights from recent clinical trials. *Chest*. 2005;128(5 Suppl 2):583S-91S.
- Wall RJ, Ely EW, Talbot TR, Weinger MB, Williams MV, Reischel J, et al. Evidence-based algorithms for diagnosing and treating ventilator-associated pneumonia. *J Hosp Med*. 2008;3(5):409-22.
- Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest*. 2002;122(6):2115-21.
- Rello J, Gallego M, Mariscal D, Soñora R, Valles J. The value of routine microbial investigation in ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(1):196-200.
- Kollef MH, Ward S. The influence of mini-BAL cultures on patient outcomes: implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 1998;113(2):412-20.
- Allen RM, Dunn WF, Limper AH. Diagnosing ventilator-associated pneumonia: the role of bronchoscopy. *Mayo Clin Proc*. 1994;69(10):962-8.
- Croce MA, Fabian TC, Waddle-Smith L, Melton SM, Minard G, Kudsk KA, et al. Utility of Gram's stain and efficacy of quantitative cultures for posttraumatic pneumonia: a prospective study. *Ann Surg*. 1998;227(5):743-51; discussion 751-5.
- Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis*. 2005;18(4):306-13.
- Albert M, Friedrich JO, Adhikari NK, Day AG, Verdant C, Heyland DK; Canadian Critical Care Trial Group. Utility of Gram stain in the clinical management of suspected ventilator-associated pneumonia. Secondary analysis of a multicenter randomized trial. *J Crit Care*. 2008;23(1):74-81.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Wayne, PA: CLSI; 2005.
- Davis KA, Eckert MJ, Reed RL 2nd, Esposito TJ, Santaniello JM, Poulakidas S, et al. Ventilator-associated pneumonia in injured patients: do you trust your Gram's stain? *J Trauma*. 2005;58(3):462-6; discussion 466-7.
- Raghavendran K, Wang J, Belber C, Misra SR, Brunton K, Berbari E, et al. Predictive value of sputum gram stain for the determination of appropriate antibiotic therapy in ventilator-associated pneumonia. *J Trauma*. 2007;62(6):1377-82; discussion 1382-3.
- Bouza E, Torres MV, Radice C, Cercenado E, de Diego R, Sánchez-Carrillo C, et al. Direct E-Test (AB Biodisk) of respiratory samples improves antimicrobial use in ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2007;44(3):382-7.
- Dupont H, Chalhoub V, Plantefève G, De Vaumas C, Kermarrec N, Paugam-Burtz C, et al. Variation of infected cell count in bronchoalveolar lavage and timing of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med*. 2004;30(8):1557-63.
- Flanagan PG, Jackson SK, Findlay G. Diagnosis of gram negative, ventilator associated pneumonia by assaying endotoxin in bronchial lavage fluid. *J Clin Pathol*. 2001;54(2):107-10.

Recebido em 18/04/2012

Aceito para publicação em 20/06/2012

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Como citar este artigo:

Tuon FF, Gortz LW, Penteado Filho SR, Soltoski PR, Malafaia O, Miguel Neto C, Hayashi AY, Miguel MT. Estudo bacteriológico do lavado broncoalveolar na gestão de antibióticos na pneumonia associada à ventilação mecânica de pacientes em unidades de terapia intensiva cirúrgica. *Rev Col Bras Cir*. [periódico na Internet] 2012; 39(5). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

Felipe Francisco Tuon

Email: fltuon@gmail.com