

Aportación del laboratorio de microbiología al diagnóstico de la neumonía asociada a la ventilación mecánica

Emilio Bouza^a, María V. Torres^a y Almudena Burillo^b

^aServicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España. ^bServicio de Microbiología. Hospital de Madrid-Monterrey. Madrid. España.

El diagnóstico etiológico de la neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM) es una urgencia microbiológica por su repercusión en la morbilidad y mortalidad asociadas a él. La obtención de muestras del tracto respiratorio inferior (TRI) debe hacerse antes del comienzo del tratamiento y de cualquier cambio de éste. No se recomiendan los cultivos sistemáticos en pacientes sin sospecha de NAVM. No existe una superioridad manifiesta de las técnicas broncoscópicas frente a las no broncoscópicas, pero es esencial que los procedimientos microbiológicos aporten resultados con cuantificación bacteriana que permitan diferenciar colonización de infección. En las condiciones anteriores, los cultivos negativos prácticamente excluyen la infección bacteriana, o al menos seleccionan a un grupo de pacientes que no mejora con antibióticos o los requiere durante un período muy corto.

Dado que la identificación y la determinación de la sensibilidad frente a los antimicrobianos suele demorarse hasta 3 o 4 días, se hace preciso recurrir a procedimientos rápidos que permitan avanzar información útil al clínico. La información rápida, si bien parcial o imperfecta, es claramente más beneficiosa para el paciente que la perfecta y tardía. La técnica de Gram proporciona una información orientadora e inmediata y tiene un razonable correlato con los resultados posteriores de los cultivos. En el momento presente se buscan procedimientos de antibiograma que, realizados en una muestra clínica directa, permitan disponer en menos de 24 h de una identificación presuntiva y de información sobre la sensibilidad frente a antibióticos de uso frecuente, y se está evaluando la repercusión clínica de aplicar este procedimiento.

Palabras clave: Neumonía nosocomial. Neumonía asociada a ventilación mecánica. Infección respiratoria. Diagnóstico microbiológico.

Correspondencia: Dr. E. Bouza.
Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
Dr. Esquerdo, 46. 28007 Madrid. España.
Correo electrónico: ebouza@microb.net

The contribution of the microbiology laboratory to the diagnosis of ventilator-associated pneumonia

The etiologic diagnosis of ventilator-associated pneumonia (VAP) should be considered as a microbiological emergency due to its impact on morbidity and mortality. Sampling of the lower respiratory tract (LRT) must be performed before starting or modifying antimicrobial therapy. Surveillance cultures in patients without criteria of VAP are not recommended. There is no evidence of any superiority of bronchoscopic over non-bronchoscopic sampling procedures, but quantitative bacterial cultures are essential to allow colonization to be differentiated from true infection of the LRT. Under these conditions, negative cultures practically rule out bacterial infection or, at least, identify patients who will not benefit from antibiotic therapy or who will require a very short course of treatment.

Given that identification and antimicrobial susceptibility testing of microorganisms usually takes up to 3 or 4 days, rapid procedures that provide the clinician with useful information are essential. Rapid information, even if partial or less than perfect, is clearly better for the patient than a perfect but delayed report. Gram stain of LRT secretions is an immediate procedure that can guide management and it has a reasonable correlation with culture results. At present, new antibiogram procedures, performed on direct clinical samples, allow presumptive identification and information on susceptibility to commonly used antibiotics in less than 24 hours after sampling. The impact of using this procedure in clinical practice is currently under research.

Key words: Nosocomial pneumonia. Ventilator-Associated pneumonia. Respiratory infection. Microbiological diagnoses.

Introducción

La neumonía nosocomial (NN) es una de las principales causas de infección hospitalaria y de muerte por infección dentro de una institución sanitaria¹⁻³. Su tratamiento incorrecto en las primeras horas conlleva un peor pronóstico vital, lo que obliga al uso de antimicrobianos de espectro suficiente para englobar la mayor parte de los patógenos posibles^{2,4}. Por otro lado, el uso excesivo de antibióticos en unidades de cuidados intensivos condiciona una mayor morbilidad y mortalidad en ellas^{5,6}.

Al laboratorio de microbiología le corresponde, por tanto, proporcionar información que permita que el período de tratamiento empírico sea lo más corto posible, garantizando el uso más restringido y ajustado de antimicrobianos. Para ello la NN debe considerarse a todos los efectos como una urgencia microbiológica, con los mismos grados de diligencia en el manejo de las muestras que condiciona, por ejemplo, la sospecha de meningitis bacteriana.

En este capítulo intentaremos resumir las principales medidas de esa colaboración que debe prestar el laboratorio de microbiología, centrándonos muy particularmente en la neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM). Aunque lo afirmado para esta forma de neumonía puede ser en su mayoría aplicable a otras formas de NN, no mencionaremos las peculiaridades de la neumonía nosocomial no asociada a ventilación mecánica, la neumonía de pacientes procedentes de asilos y otras instituciones sanitarias y la neumonía del paciente inmunodeprimido.

Microorganismos causales

Hoy se admite que las bacterias que colonizan el tracto respiratorio superior o el tracto digestivo alto, aspiradas al tracto respiratorio inferior, constituyen la causa principal de NAVM^{7,8}. De estas bacterias algunas tienen un carácter poco patógeno para el pulmón tales como la mayoría de las especies del género *Corynebacterium*, los *Streptococcus* con hemólisis verde, los microorganismos de los géneros *Enterococcus* y *Bacillus* y los *Staphylococcus* coagulasa negativos. Su aislamiento en el tracto respiratorio inferior (TRI) en pacientes sometidos a ventilación mecánica no suele tener significado patológico. En este mismo caso pueden encontrarse algunas bacterias gramnegativas no fermentadoras de la glucosa. Por el contrario, los microorganismos más frecuentemente causantes de NAVM son *Staphylococcus aureus*, la mayoría de los microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* y algunos bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. A la búsqueda de estos patógenos se orienta preferentemente la metodología del laboratorio de microbiología. No hay que olvidar que la NAVM es en muchas ocasiones polimicrobiana, aunque esto no es un hecho agravante⁹. Los microorganismos más resistentes aparecen en las llamadas formas tardías, aquellas que ocurren después de 5-7 días de ventilación mecánica o de hospitalización¹⁰.

La evidencia de una participación importante de las bacterias anaerobias como agentes causales de la NAVM es escasa y su papel en este momento no puede considerarse más que anecdótico¹¹⁻¹⁴.

La NAVM causada por hongos es muy poco frecuente, salvo en el pequeño subgrupo de enfermos con grave inmunodepresión que les predisponga a ello, fundamentalmente neutropenia y el uso de cantidades elevadas de corticoides¹⁵⁻¹⁸. Los aislados del género *Candida*, cuando se obtienen de muestras del TRI, no suelen indicar neumonía en la inmensa mayoría de las veces sino una simple colonización¹⁹. Lo mismo puede decirse de *Aspergillus* y otros hongos filamentosos, cuya presencia en muestras del TRI hay que interpretar a la luz de la presencia o ausencia de esos factores de inmunodepresión. *Aspergillus* es una causa de NAVM sólo en pacientes sometidos a tratamiento es-

teroideo con neutropenia o con otras graves formas de inmunodepresión¹⁶.

Los virus no son una causa habitual de NAVM pero no cabe duda de que algunos herpesvirus se aíslan con frecuencia en muestras respiratorias de pacientes con y sin NAVM^{20,21}. En nuestra propia institución (Bouza et al, manuscrito en preparación), tras una búsqueda sistemática y prospectiva en pacientes ventilados mecánicamente, el 6,8% (28 enfermos) de los pacientes sin NAVM y el 13,4% (19 casos) de todos los enfermos con NAVM tenían *Herpes simplex* aislado en el cultivo de muestras del TRI. Su presencia es un marcador de gravedad pero la información disponible no permite conocer el potencial papel de estos virus como causa de NAVM.

El citomegalovirus se ha descrito como causa de NAVM en pacientes inmunocompetentes sin enfermedades hematológicas y es posible que este cuadro esté subdiagnosticado, ya que las técnicas para recuperación de virus no son parte sistemática de la investigación de la NAVM²².

La adquisición de gripe en pacientes sometidos a ventilación mecánica es muy poco frecuente²³.

Obtención de las muestras

El tipo de muestras a obtener para el diagnóstico de NAVM sigue siendo una fuente de controversia y no existe una recomendación indiscutible. No cabe duda de que estas muestras deben tomarse antes de comenzar con la primera dosis de tratamiento antibiótico o antes de cualquier cambio de éste para que su interpretación tenga el máximo valor. Una aproximación basada exclusivamente en los datos clínicos es claramente deficiente²⁴.

Cultivos sistemáticos de vigilancia

Con relación al momento actual, la principal cuestión es si la obtención sistemática de cultivos del TRI (cultivos de vigilancia) en pacientes que todavía no tienen NAVM permite seleccionar a un grupo de enfermos con más riesgo de desarrollarla. La otra cuestión consiste en saber si, cuando se produce la NAVM, el microorganismo que la causa es uno de los obtenidos en los cultivos de los días anteriores. Los estudios sobre el tema son limitados en número, incluyen series pequeñas de pacientes, utilizan una metodología distinta, tanto para los cultivos de vigilancia como para los que identifican la neumonía, y distan de ser concluyentes²⁵⁻²⁸. En un estudio prospectivo realizado por nuestro grupo, en una unidad de cuidados intensivos para pacientes sometidos a cirugía cardíaca, se tomaron sistemáticamente cultivos de vigilancia 2 veces por semana. La colonización bacteriana en este estudio era un marcador de peor pronóstico, pero ese pronóstico podía deducirse de otros muchos datos distintos de la positividad de los cultivos. En este trabajo, el microorganismo causante de la NAVM estaba presente en los cultivos de vigilancia previos sólo en 1 de los 28 casos de NAVM²⁹. En ese sentido, desaconsejamos la obtención sistemática de cultivos del TRI en pacientes sin criterios de sospecha de NAVM. Suponen una gran cantidad de trabajo para la enfermería y para el microbiólogo, inducen con frecuencia a error al clínico en su interpretación y ocupan tiempo que el microbiólogo debe dedicar a otros aspectos de vital importancia en relación con este tema.

Muestras a obtener en el momento de la sospecha de neumonía

Las muestras a obtener en el momento de la sospecha de NAVM son otro tema que ha producido gran cantidad de literatura médica. Sin duda alguna, la muestra más inmediata, fácil y económica de obtener es el aspirado endotraqueal (AE). La duda estriba en si muestras tomadas mediante la dirección del broncoscopio (catéter telescopado o lavados broncoalveolares, etc.) tienen un rendimiento suficientemente mayor que el aspirado endotraqueal como para justificar el mayor coste de éstas y fundamentalmente el retraso que esta metodología más complicada frecuentemente conlleva³⁰.

Procedimientos broncoscopicos o no broncoscopicos

Indudablemente, en las muestras aspiradas a ciegas pueden cometerse errores de muestreo, pero la utilización de broncoscopio tiene también riesgos tales como la inducción de arritmias cardíacas, la hipoxemia, el broncospasmo, la hemorragia, el neumotórax y el mayor coste en tiempo y recursos.

En el momento actual creemos que puede concluirse que la potencial superioridad diagnóstica de la búsqueda de la etiología de la NAVM mediante el uso de técnicas broncoscopicas no justifica su uso rutinario^{31,32}. En 3 estudios realizados en España no se encontraron diferencias de mortalidad ni de morbilidad comparando técnicas invasoras (lavado broncoalveolar [LBA o BAL] o catéter telescopado) frente a procedimientos no broncoscopicos (cultivo cuantitativo de aspirado traqueal), si bien el número de casos estudiados fue limitado y sería deseable contar con series más amplias³³⁻³⁵.

La utilización de técnicas que permitan una valoración cuantitativa de los cultivos es el elemento clave para un servicio de microbiología. La técnica más recomendable para el diagnóstico etiológico de la NAVM es aquella que con mayor rapidez pueda llevar a cabo cada institución y con la que se tenga experiencia. Pasamos a describir el valor de las más comunes de ellas³⁶.

Aspirado endotraqueal

El AE es el método más sencillo de obtener secreciones respiratorias en el paciente ventilado. Obtiene una muestra de secreciones nada o muy poco diluida en la que un recuento bacteriano significativo es aquél en el que se obtienen $\geq 10^5$ ufc/ml.

Tratada de forma cualitativa en el laboratorio de microbiología, presenta una sensibilidad alta (80-100%), pero su especificidad es inaceptablemente baja (14-47%). Por el contrario, cuando se compara el cultivo cuantitativo del AE, a las concentraciones arriba indicadas, con los del catéter telescopado o con el LBA se obtienen, en general, datos no significativamente diferentes entre estas técnicas³⁶⁻⁴⁴.

Catéter telescopico

Está fuera de los límites de este capítulo describir las características y la técnica de la obtención de muestras del TRI mediante brocha telescopica (BT), detalles que el lector puede encontrar en otra documentación^{30,45-49}.

El punto de corte recomendado es de 10^3 ufc/ml para considerarlo clínicamente significativo. Ello resulta de consi-

derar que el cepillo toma entre 0,001 y 0,01 ml de secreciones y que se envía al laboratorio diluido en 1 ml de Ringer. Por ello, 10^3 ufc/ml representan aproximadamente 10^5 o 10^6 ufc/ml en secreciones respiratorias no diluidas.

La utilidad del catéter protegido en el diagnóstico de la neumonía nosocomial se ha comprobado en numerosos estudios tanto en pacientes no ventilados como en pacientes ventilados mecánicamente. Su sensibilidad oscila entre el 33 y el 100% y su especificidad entre el 50 y el 100%. En general, se admite que la probabilidad de que un resultado positivo traduzca la existencia de NAVM es muy alta. Por el contrario, la tasa de falsos negativos oscila entre el 0 y el 40%⁵⁰⁻⁵². La técnica repetida en los mismos pacientes y circunstancias es poco reproducible en la experiencia de algunos autores^{48,53}.

Los falsos negativos son atribuibles a faltas de estandarización de la técnica, a la obtención en estadios muy precoces de la infección, a muestreo unilateral o ciego y al uso previo de antibióticos⁵⁴⁻⁵⁷.

La cifra de falsos positivos oscila alrededor del 30% y puede atribuirse a que las muestras se contaminan con microorganismos del tracto respiratorio superior o recogen microorganismos que colonizan el TRI, lo que puede verse favorecido por enfermedades acompañantes, como por ejemplo, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Diversos estudios dan tanto valor a la realización a ciegas como a la guiada por broncoscopio^{58,59} y le conceden un valor diagnóstico comparable al del aspirado endotraqueal⁶⁰.

Lavado broncoalveolar

El LBA se realiza avanzando el broncoscopio hasta un bronquio subsegmentario (generalmente un bronquio de 3.^a o 4.^a generación) hasta que se ocluye su luz. El paso siguiente consiste en instilar distalmente alícuotas de 20 a 50 ml de suero salino estéril y reaspiración del contenido del bronquio distal. No hay un consenso definido sobre la cantidad concreta a instilar y diferentes investigadores han utilizado desde 100 hasta 240 ml de suero salino para el diagnóstico de neumonía. Aunque el volumen recogido suele oscilar entre el 5 y el 70% del volumen instillado, generalmente bastan 5 ml para los análisis microbiológicos. Se realizan tinciones de Giemsa y Gram y el recuento celular. Como regla general, la presencia de más de 1% de células epiteliales escamosas es signo de contaminación orofaríngea. Los cultivos cuantitativos bacterianos son imprescindibles para distinguir colonización de infección y actualmente se acepta que el umbral de diferenciación es de 10^4 - 10^5 ufc/ml.

La media \pm desviación estándar de sensibilidad del LBA fue de $69 \pm 22\%$ y la especificidad media obtenida en 22 estudios fue de $88 \pm 14\%$. Esta variabilidad hallada tanto en la sensibilidad como en la especificidad depende del tratamiento antibiótico previo, del tipo de población estudiada y del método aceptado como referencia. Las razones para explicar falsos positivos y falsos negativos son las mismas que las descritas al hablar de la BT.

Hemocultivos

Los hemocultivos tienen baja sensibilidad y baja especificidad para el diagnóstico de la NAVM. Son positivos sólo en 10-30% de los casos y, por el contrario, la bacteriemia no tiene un origen pulmonar en aproximadamente la mi-

tad de los pacientes con hemocultivos positivos⁶¹⁻⁶⁵. No obstante, la positividad es un elemento marcador de gravedad y el tipo de microorganismo que crece en sangre con frecuencia orienta el diagnóstico del paciente crítico a otras fuentes de infección distintas del TRI. En enfermos con recuentos bacterianos del TRI en el límite o por debajo de la significación diagnóstica, la presencia de la misma bacteria en sangre contribuye a establecer el diagnóstico de neumonía. Su limitado coste y su baja invasividad justifican por tanto, pese a sus limitaciones, su obtención habitual en el paciente séptico y con sospecha de NAVM.

El tejido pulmonar como último referente

La biopsia pulmonar no es una muestra rutinaria para el diagnóstico de la NAVM por sus riesgos obvios. Ha sido utilizada fundamentalmente en estudios *post mortem*, para validar otras técnicas y para conocer aspectos de la fisiopatología de este cuadro^{66,67}. Estos estudios han permitido concluir que la NAVM tiene un origen broncogénico; que es un proceso multifocal; que los métodos ciegos, usando catéteres telescopados o lavados, son tan seguros como los métodos guiados por broncoscopio, y que el tratamiento antimicrobiano previo modifica la precisión diagnóstica de los cultivos cuantitativos obtenidos por cualquier método.

Transporte al laboratorio

Las muestras deben ser idealmente transportadas al laboratorio de microbiología en menos de 30 min para asegurar que se les presta la atención inmediata necesaria y evitar el sobrecrecimiento bacteriano⁶⁸. Existen pocos estudios que hayan esclarecido las consecuencias microbiológicas de la refrigeración de las muestras y de su procesamiento horas o días después de la recepción⁶⁹. Aun en el supuesto de que no se produjeran pérdidas sustanciales en la recuperación cuali o cuantitativa de microorganismos, el retraso de la información tiene consecuencias clínicas catastróficas.

Rello et al⁷⁰ sugieren que el transporte de los cepillos telescopados en medio de tioglicolato puede asociarse a un mayor rendimiento de la técnica de Gram en una serie limitada de casos, pero no contribuye significativamente al aislamiento de anaerobios.

Información rápida con la técnica de Gram

Persiste la controversia sobre el valor de la técnica de Gram en la anticipación del diagnóstico microbiológico de la NAVM. Las razones de esta controversia pueden residir en la diferente metodología aplicada en los diferentes estudios que lo valoran. Hay diferencias en el tipo de muestra evaluada, el tratamiento que se da a la muestra en el laboratorio antes de realizar el Gram, el patrón oro utilizado y la interpretación del impacto que esta información tiene en el tratamiento.

En nuestra opinión y experiencia, una técnica de Gram aplicada a las secreciones del TRI obtenidas por AE de pacientes con sospecha de NAVM, cuyo resultado es transmitido inmediatamente a los clínicos responsables del paciente, constituye un método de extraordinario valor en el

diagnóstico etiológico de la NAVM y en la orientación precoz de su tratamiento.

La literatura médica, sin embargo, está cargada de datos variables en cuanto a la sensibilidad (57-95%), especificidad (48-87%), valor predictivo positivo (VPP) (47-78%), valor predictivo negativo (VPN) (69-96%) y precisión (60-88%) de la técnica de Gram en el manejo del enfermo con NAVM⁷¹⁻⁷⁴ (tabla 1).

Blot et al⁷⁴ estudian el valor de la técnica de Gram en pacientes con sospecha de NAVM, aplicada a secreciones respiratorias tomadas tanto por AE como con catéter telescopado. En relación con la AE encuentran una alta sensibilidad para el diagnóstico de NAVM probada microbiológicamente (91%) y un alto VPN de la prueba (94%) en pacientes sin cambios recientes en el tratamiento antibiótico. En el caso de las muestras obtenidas por medio de catéteres telescopados, la técnica de Gram tiene una especificidad elevada (95%) pero una sensibilidad menor (67%). Los autores afirman que una tinción de Gram negativa en una muestra tomada por AE tiene un gran VPN para el diagnóstico de NAVM y permite no iniciar tratamiento antibiótico. Si la tinción de Gram es positiva en la muestra de catéter telescopado, la NAVM es altamente probable y debe iniciarse el tratamiento sin dilación. En pacientes con AE positivo y catéter telescopado negativo la actitud a tomar es dudosa, pero probablemente debe inclinarse por iniciar tratamiento antimicrobiano con la oportuna corrección sobre la base de los resultados de los cultivos.

Frente a estos datos compartidos por otros⁷⁷, hay autores que no comparten una visión tan optimista, particularmente a la hora de excluir NAVM por bacilos gramnegativos⁷¹. Las cifras de sensibilidad muy bajas (20%) del estudio de Pham et al⁷⁹ pueden correlacionarse con que se estudian muestras muy diluidas cuyo examen requiere técnicas de citocentrifugación⁷⁹.

Otros procedimientos rápidos

En el momento presente no existe ningún procedimiento rápido distinto de los mencionados que haya demostra-

TABLA 1. Algunos datos sobre la sensibilidad y especificidad de la técnica de Gram, aplicada a distintas muestras, en la predicción de la NAVM

Referencia	Tipo de muestra	Aspirado endotraqueal		
		Primer autor	Sensibilidad	Especificidad
75	Marquette		50%	75%
74	Blot		89%	62%
74	Blot		91%	64%
			Aspiración broncoscópica	
76	Papazian		62%	73%
74	Blot		70%	96%
			Brocha telescopica	
77	Marquette		47%	88%
74	Blot		67%	95%
			Lavado broncoalveolar	
67	Marquette		47%	87%
76	Papazian		54%	100%
78	Meduri		54%	87%

do un rendimiento incontestable en el manejo de la NAVM. No cabe duda de que la popularización de técnicas moleculares que permiten la detección de uno o varios microorganismos y la detección rápida de la presencia de determinados mecanismos de resistencia en la muestra clínica directa tienen que estudiarse en el campo específico de la NAVM.

Cultivos rápidos anticipativos

El procesamiento tradicional en el laboratorio de microbiología de una muestra de secreciones para el aislamiento bacteriano suele tardar entre 3 y 4 días en proporcionar resultados definitivos al clínico. Tras la siembra y la incubación de 24-48 h es preciso proceder al recuento bacteriano y al aislamiento de las cepas en cultivo puro. Tras ello, se hace la identificación y la determinación de la sensibilidad frente a antimicrobianos, lo que retrasa al menos otras 24 h. A ello hay que sumar los retrasos en la transmisión de la información, en su elaboración por los clínicos y en tomar decisiones terapéuticas. Esa información tardía, al menos en otros campos como el de los hemocultivos, influye claramente en la mejor prescripción de fármacos, el mejor consumo de éstos y la reducción de costes, pero no ha sido posible demostrar que influya en una menor estancia hospitalaria o en una disminución de la mortalidad⁸⁰.

Los procedimientos de antibiograma necesitan un inóculo estandarizado y se realizan habitualmente partiendo de bacterias ya aisladas en cultivo puro. Se conoce, sin embargo, que los antibiogramas realizados directamente sobre muestras clínicas, sin esperar al aislamiento bacteriano, pueden proporcionar una información preliminar que normalmente guarda un buen correlato con los procedimientos estándar. Es el caso de lo que se viene realizando con los caldos de hemocultivo crecidos y en muestras de orina o de líquido cefalorraquídeo en circunstancias en que la urgencia lo requiere. Un procedimiento que no se influye por el inóculo es el llamado E-test, consistente en una tira impregnada en una concentración progresiva de un antibiótico que permite determinar, tras su difusión en agar, una concentración mínima inhibitoria para la bacteria frente al fármaco estudiado. Nosotros comparamos los resultados de un antibiograma directo, realizado por el procedimiento de E-test, con 6 antimicrobianos de par-

ticular relevancia en pacientes con NAVM, con los obtenidos por el método habitual. Los 6 antimicrobianos incluidos en la prueba rápida son: oxacilina, cefepima, imipenem, piperacilina-tazobactam, amicacina y ciprofloxacino. Los datos de sensibilidad concuerdan con los del procedimiento estándar en el 98% de los casos⁸¹. En el momento presente elaboramos el manuscrito de un trabajo que demuestra el impacto de la utilización de esta técnica en un mejor y más reducido uso de los antimicrobianos en pacientes con NAVM. Estudiamos a un grupo de 253 pacientes con sospecha de NAVM aleatorizados (1/2) para recibir un diagnóstico microbiológico convencional o el convencional más la prueba rápida con E-test. En 165 casos se confirmó el diagnóstico de NAVM, de los cuales 111 recibieron información del antibiograma previo y en 54 no se realizó. El primer grupo se diferenció significativamente del segundo en: menos días de fiebre, menos dosis diarias definidas (DDD) de antibióticos, menos DDD inadecuadas, menos episodios de diarrea asociada a *C. difficile* y menos gasto en antimicrobianos (Bouza E et al, manuscrito en preparación).

Cultivos convencionales

Los cultivos convencionales, cuya lentitud ya hemos comentado, permiten la confirmación del cuadro y el proceso de corrección del tratamiento. El hecho de que las distintas muestras tengan dinteles distintos de recuentos bacterianos que se establecen como significativos guarda relación con el grado de dilución de las secreciones respiratorias con las que trabaja el microbiólogo (tabla 2). Ello no impide aceptar que esas diferentes cifras pueden constituir un elemento de confusión y que sería necesario acordar un procedimiento estándar, referido a las cantidades en las secreciones no diluidas, que permitiera una cifra común de aceptación general.

Es evidente que a cifras menores obtenemos una mejor sensibilidad a expensas de perder especificidad⁴² y que elevando las cifras nos encontramos con el problema contrario.

Es importante insistir en que si bien un cultivo positivo con la identificación y sensibilidad bacteriana suele tardar en estar disponible entre 48 y 72 h, la negatividad es una información igualmente útil para el intensivista y de la que se puede tener información fidedigna tras 18-24 h de incubación.

TABLA 2. Valor de diferentes tipos de muestras para el diagnóstico etiológico de neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM)

Técnica	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Referencias
Broncoscópica				
Aspirado traqueal	10^5 ufc/ml	80% (60-97)	62% (41-74)	36, 38, 40, 44
Aspirado bronquial	10^6 ufc/ml	66% (38-82)	78% (72-85)	82-84
Lavado broncoalveolar	10^4 ufc/ml	73% (42-93)	82% (45-100)	67, 85-90
Brocha telescopada	10^3 ufc/ml	66% (33-100)	90% (50-100)	67, 82, 89, 90
Catéter telescopado	10^3 ufc/ml	72% (54-100)	82% (58-93)	38, 50, 79
No broncoscópica				
Aspirado traqueal	10^5 ufc/ml	94%	50%	32
Aspirado bronquial	10^3 - 10^4 ufc/ml	74-97%	74-100%	91
Mini lavado broncoalveolar	10^3 - 10^4 ufc/ml	63-100%	66-100%	32, 91
Brocha telescopada	10^3 ufc/ml	66% (54-98)	91% (57-100)	36, 58, 91
Catéter telescopado	10^3 ufc/ml	65%	83%	32

Entre paréntesis figuran los rangos.

Vehiculización de la información y su interpretación clínica

Una de las variables candidatas a una clara mejoría es la de la comunicación entre los microbiólogos y los intensivistas en el cuidado de los pacientes con NAVM. Es importantísimo que los microbiólogos comprendan que este cuadro no es uno más de los que se enfrentan cada día en la infección nosocomial sino una de las causas más frecuentes de ésta y, sin duda, la de mayor gravedad. Al mismo tiempo, la NAVM es quizás uno de los cuadros donde con más claridad se haya demostrado que la precocidad de la intervención salva vidas. Los intensivistas, por su parte, deben extender a otros especialistas la corresponsabilidad de disminuir la incidencia y mejorar el pronóstico de la NAVM, extendiendo la cultura sobre su importancia y gravedad a otros y contribuyendo a la formación de equipos multidisciplinarios hospitalarios que cooperen a diario en facilitar y controlar su prevención, su diagnóstico temprano y el tratamiento antimicrobiano correcto, de forma similar a lo que se ha hecho en otras enfermedades como la endocarditis infecciosa.

Bibliografía

1. Rello J. Bench-to-bedside review: Therapeutic options and issues in the management of ventilator-associated bacterial pneumonia. *Crit Care*. 2005;9:259-65.
2. Kollef MH. What is ventilator-associated pneumonia and why is it important? *Respir Care*. 2005;50:714-21.
3. Chastre J. Conference summary: ventilator-associated pneumonia. *Respir Care*. 2005;50:975-83.
4. Park DR. Antimicrobial treatment of ventilator-associated pneumonia. *Respir Care*. 2005;50:932-52.
5. Kollef M, Niederman M. Antimicrobial resistance in the ICU: The time for action is now. *Crit Care Med*. 2001;29 Suppl 4:N63.
6. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann Intern Med*. 2001;134:298-314.
7. Park DR. The microbiology of ventilator-associated pneumonia [discussion 763-5]. *Respir Care*. 2005;50:742-63.
8. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:867-903.
9. Combes A, Figliolini C, Trouillet JL, Kassis N, Wolff M, Gibert C, et al. Incidence and outcome of polymicrobial ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2002;121:1618-23.
10. Ibrahim EH, Ward S, Sherman G, Kollef MH. A comparative analysis of patients with early-onset vs late-onset nosocomial pneumonia in the ICU setting. *Chest*. 2000;117:1434-42.
11. Dore P, Robert R, Grollier G, Rouffineau J, Lanquetot H, Charriere JM, et al. Incidence of anaerobes in ventilator-associated pneumonia with use of a protected specimen brush. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:1292-8.
12. Grollier G, Dore P, Robert R, Ingrand P, Grejon C, Fauchere JL. Antibody response to *Prevotella* spp. in patients with ventilator-associated pneumonia. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1996;3:61-5.
13. Robert R, Grollier G, Dore P, Hira M, Ferrand E, Fauchere JL. Nosocomial pneumonia with isolation of anaerobic bacteria in ICU patients: therapeutic considerations and outcome. *J Crit Care*. 1999;14:114-9.
14. Marik PE, Careau P. The role of anaerobes in patients with ventilator-associated pneumonia and aspiration pneumonia: a prospective study. *Chest*. 1999;115:178-83.
15. Crnich CJ, Safdar N, Maki DG. The role of the intensive care unit environment in the pathogenesis and prevention of ventilator-associated pneumonia [discussion 836-8]. *Respir Care*. 2005;50:813-36.
16. Bouza E, Guinea J, Peláez T, Pérez-Molina J, Alcalá L, Muñoz P. Workload due to *Aspergillus fumigatus* and significance of the organism in the microbiology laboratory of a general hospital. *J Clin Microbiol*. 2005;43:2075-9.
17. Muñoz P, Alcalá L, Sánchez Conde M, Palomo J, Yáñez J, Peláez T, et al. The isolation of *Aspergillus fumigatus* from respiratory tract specimens in heart transplant recipients is highly predictive of invasive aspergillosis. *Transplantation*. 2003;75:326-9.
18. Chen KY, Ko SC, Hsueh PR, Luh KT, Yang PC. Pulmonary fungal infection: emphasis on microbiological spectra, patient outcome, and prognostic factors. *Chest*. 2001;120:177-84.
19. El-Ebiary M, Torres A, Fabregas N, De la Bellacasa JP, González J, Ramírez J, et al. Significance of the isolation of *Candida* species from respiratory samples in critically ill, non-neutropenic patients. An immediate postmortem histologic study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156:583-90.
20. Daubin C, Vincent S, Vabret A, Du Cheyron D, Parienti JJ, Ramakers M, et al. Nosocomial viral ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2005;31:1116-22. Epub 2005 Jul 6.
21. Bruynseels P, Jorens PG, Demey HE, Goossens H, Pattyn SR, Elseviers MM, et al. Herpes simplex virus in the respiratory tract of critical care patients: a prospective study. *Lancet*. 2003;362:1536-41.
22. Papazian L, Fraisse A, Garbe L, Zandotti C, Thomas P, Saux P, et al. Cytomegalovirus. An unexpected cause of ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology*. 1996;84:280-7.
23. Stott DJ, Kerr G, Carman WF. Nosocomial transmission of influenza. *Occup Med (Lond)*. 2002;52:249-53.
24. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Domart Y, Trouillet JL, Gibert C. Evaluation of clinical judgment in the identification and treatment of nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest*. 1993;103:547-53.
25. Michel F, Franceschini B, Berger P, Arnal JM, Gainnier M, Sainty JM, et al. Early antibiotic treatment for BAL-confirmed ventilator-associated pneumonia: a role for routine endotracheal aspirate cultures. *Chest*. 2005;127:589-97.
26. Hayon J, Figliolini C, Combes A, Trouillet JL, Kassis N, Dombret MC, et al. Role of serial routine microbiologic culture results in the initial management of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:41-6.
27. Delclaux C, Roupie E, Blot F, Brochard L, Lemaire F, Brun Buisson C. Lower respiratory tract colonization and infection during severe acute respiratory distress syndrome: incidence and diagnosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156:1092-8.
28. Nopmaneejumruslers C, Chan CK. Is there a role for routine surveillance endotracheal aspirate cultures in the treatment of BAL-confirmed ventilator-associated pneumonia? *Chest*. 2005;127:425-7.
29. Bouza E, Pérez A, Muñoz P, Jesús Pérez M, Rincón C, Sánchez C, et al. Ventilator-associated pneumonia after heart surgery: a prospective analysis and the value of surveillance. *Crit Care Med*. 2003;31:1964-70.
30. Chastre J, Combes A, Luyt CE. The invasive (quantitative) diagnosis of ventilator-associated pneumonia [discussion 807-12]. *Respir Care*. 2005;50:797-807.
31. 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;26:20-30.
32. Mentec H, May-Michelangeli L, Rabbat A, Varon E, Le Turdu F, Bleichner G. Blind and bronchoscopic sampling methods in suspected ventilator-associated pneumonia. A multicentre prospective study. *Intensive Care Med*. 2004;30:1319-26. Epub 2004 Apr 20.
33. Sánchez-Nieto JM, Torres A, García-Cordoba F, El-Ebiary M, Carrillo A, Ruiz J, et al. Impact of invasive and noninvasive quantitative culture sampling on outcome of ventilator-associated pneumonia: a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:371-6.
34. Ruiz M, Torres A, Ewig S, Marcos MA, Alcon A, Lledo R, et al. Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:119-25.
35. Solé Violán J, Fernandez JA, Benítez AB, Cardenosa Cendrero JA, Rodríguez de Castro F. Impact of quantitative invasive diagnostic techniques in the management and outcome of mechanically ventilated patients with suspected pneumonia. *Crit Care Med*. 2000;28:2737-41.
36. Wood AY, Davit AJ Jr, 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;55:825-34.
37. Elatrous S, Boukef R, Ouane Besbes L, Marghli S, Nooman S, Nouira S, et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: agreement between quantitative cultures of endotracheal aspiration and plugged telescoping catheter. *Intensive Care Med*. 2004;30:853-8. Epub 2004 Mar 30.
38. Valencia Arango M, Torres Martí A, Insausti Ordenana J, Álvarez Lerma F, Carrasco Joaquinet N, Herranz Casado M, et al. Valor diagnóstico del cultivo cuantitativo del aspirado endotraqueal en la neumonía adquirida durante la ventilación mecánica. Estudio multicéntrico. *Arch Bronconeumol*. 2003;39:394-9.

39. Wu CL, Yang D, 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;122:662-8.
40. Fangio P, Rouquette-Vincenti I, Rousseau JM, Soullie B, Brinquin L. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a prospective comparison of the telescoping plugged catheter with the endotracheal aspirate. *Ann Fr Anesth Reanim*. 2002;21(3):184-92.
41. Bergmans DC, Bonten MJ, De Leeuw PW, Stobberingh EE. Reproducibility of quantitative cultures of endotracheal aspirates from mechanically ventilated patients. *J Clin Microbiol*. 1997;35:796-8.
42. Torres A, Martos A, Puig de la Bellacasa J, Ferrer M, El-Ebiary M, González J, et al. Specificity of endotracheal aspiration, protected specimen brush, and bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated patients. *Am Rev Respir Dis*. 1993;147:952-7.
43. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Haenel JB, Kaneer L, Read RA. Diagnosing pneumonia in mechanically ventilated trauma patients: endotracheal aspirate versus bronchoalveolar lavage. *J Trauma*. 1993;35:512-7.
44. Woske HJ, Roding T, Schulz I, Lode H. Ventilator-associated pneumonia in a surgical intensive care unit: epidemiology, etiology and comparison of three bronchoscopic methods for microbiological specimen sampling. *Crit Care*. 2001;5:167-73. Epub 2001 Apr 27.
45. Wimberley NW, Bass JB Jr, Boyd BW, Kirkpatrick MB, Serio RA, Pollock HM. Use of a bronchoscopic protected catheter brush for the diagnosis of pulmonary infections. *Chest*. 1982;81:556-62.
46. Baughman R. Protected-specimen brush technique in the diagnosis of ventilator associated pneumonia. *Chest*. 2000;117:203S-206S.
47. De Jaeger A, Litalien C, Lacroix J, Guertin MC, Infante-Rivard C. Protected specimen brush or bronchoalveolar lavage to diagnose bacterial nosocomial pneumonia in ventilated adults: a meta-analysis. *Crit Care Med*. 1999;27:2548-60.
48. 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;104:104-8.
49. Marquette CH, Herengt F, Saulnier F, Neviere R, Mathieu D, Courcol R, et al. Protected specimen brush in the assessment of ventilator- associated pneumonia: Selection of a certain lung segment for bronchoscopic sampling is unnecessary. *Chest*. 1993;103:243-7.
50. Casetta M, Blot F, Antoun S, Leclercq B, Tancrede C, Doyon F, et al. 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;115:1641-5.
51. Barret JP, Ramzy PI, Wolf SE, Herndon DN. Sensitivity and specificity of bronchoalveolar lavage and protected bronchial brush in the diagnosis of pneumonia in pediatric burn patients. *Arch Surg*. 1999;134:1243-6.
52. Rodriguez de Castro F, Solé Violán J, Lafarga Capuz B, Caminero Luna J, González Rodríguez B, Manzano Alonso JL. Reliability of the bronchoscopic protected catheter brush in the diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients. *Crit Care Med*. 1991;19:171-5.
53. Herer B, Fuhrman C, Demontrond D, Gazevic Z, Housset B, Chouaid C. Diagnosis of nosocomial pneumonia in medical ward: repeatability of the protected specimen brush. *Eur Respir J*. 2001;18:157-63.
54. Montravers P, Fagon JY, Chastre J, Lecos M, Dombret MC, Trouillet JL, et al. Follow-up protected specimen brushes to assess treatment in nosocomial pneumonia. *Am Rev Respir Dis*. 1993;147:38-44.
55. Butler KL, Best IM, Oster RA, Katon-Benitez I, Lynn Weaver W, Bumpers HL. Is bilateral protected specimen brush sampling necessary for the accurate diagnosis of ventilator-associated pneumonia? *J Trauma*. 2004;57:316-22.
56. Prats E, Dorca J, Pujol M, García L, Barreiro B, Verdaguer R, et al. Effects of antibiotics on protected specimen brush sampling in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 2002;19:944-51.
57. 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;26:236-44.
58. Bello S, Tajada A, Chacon E, Villuendas MC, Senar A, Gascon M, et al. "Blind" protected specimen brushing versus bronchoscopic techniques in the aetiological diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 1996;9:1494-9.
59. Marik PE, Brown WJ. A comparison of bronchoscopic vs blind protected specimen brush sampling in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 1995;108:203-7.
60. Rumbak MJ, Bass RL. Tracheal aspirate correlates with protected specimen brush in long-term ventilated patients who have clinical pneumonia. *Chest*. 1994;106:531-4.
61. Luna CM, Videla A, Mattera J, Vay C, Famiglietti A, Vujacic P, et al. Blood cultures have limited value in predicting severity of illness and as a diagnostic tool in ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 1999;116:1075-84.
62. Bryan CS. Nosocomial pneumonia: blood cultures remain useful [editorial; comment]. *Chest*. 1999;116:859-60.
63. Chendrasekhar A. Are routine blood cultures effective in the evaluation of patients clinically diagnosed to have nosocomial pneumonia? *Am Surg*. 1996;62:373-6.
64. Taylor GD, Buchanan-Chell M, Kirkland T, McKenzie M, Wiens R. Bacteremic nosocomial pneumonia. A 7-year experience in one institution. *Chest*. 1995;108:786-8.
65. Rello J, Mirelis B, Alonso C, Prats G. Lack of usefulness of blood cultures to diagnose ventilator- associated pneumonia. *Eur Respir J*. 1991;4:1020.
66. Chastre J, Viau F, Brun P, Pierre J, Dauge MC, Bouchama A, et al. Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated patients. *Am Rev Respir Dis*. 1984;130:924-9.
67. 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;151:1878-88.
68. Baselski VS, El-Torky M, Coalson JJ, Griffin JP. The standardization of criteria for processing and interpreting laboratory specimens in patients with suspected ventilator- associated pneumonia. *Chest*. 1992;102 Suppl 1:571S-579S.
69. Georges H, Santre C, Leroy O, Roussel-Delvallez M, Caillaux M, Beuscart C, et al. Reliability of quantitative cultures of protected specimen brush after freezing. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:855-7.
70. Rello J, Mariscal D, Gallego M, Valles J. Effect of enriched thioglycolate on direct examination of respiratory specimens and guiding initial empirical therapy in intubated patients with pneumonia: a prospective, randomized study. *Crit Care Med*. 2002;30:311-4.
71. Davis KA, Eckert MJ, Reed RL Jr, Esposito TJ, Santaniello JM, Poulakidas S, et al. Ventilator-associated pneumonia in injured patients: do you trust your Gram's stain? [discussion 466-7]. *J Trauma*. 2005;58:462-6.
72. 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 post-traumatic pneumonia: a prospective study [discussion 751-5]. *Ann Surg*. 1998;227:743-51.
73. Prekates A, Nanas S, Argyropoulou A, Margariti G, Kyprianou T, Papagalos E, et al. The diagnostic value of gram stain of bronchoalveolar lavage samples in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Scand J Infect Dis*. 1998;30:43-7.
74. Blot F, Raynard B, Chachaty E, Tancrede C, Antoun S, Nitenberg G. Value of gram stain examination of lower respiratory tract secretions for early diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1731-7.
75. Marquette CH, Georges H, Wallet F, Ramon P, Saulnier F, Neviere R, et al. Diagnostic efficiency of endotracheal aspirates with quantitative bacterial cultures in intubated patients with suspected pneumonia. Comparison with the protected specimen brush [see comments]. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148:138-44.
76. 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;87:268-76.
77. Marquette CH, Wallet F, Neviere R, Copin MC, Saulnier F, Drault JN, et al. Diagnostic value of direct examination of the protected specimen brush in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 1994;7:105-13.
78. Meduri GU, Reddy RC, Stanley T, El-Zeky F. Pneumonia in acute respiratory distress syndrome. A prospective evaluation of bilateral bronchoscopic sampling. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158:870-5.
79. Pham LH, Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Verra F, Brochard L, et al. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143:1055-61.
80. Bouza E, Sousa D, Muñoz P, Rodríguez-Creixems M, Fron C, Lechuz JG. Bloodstream infections: a trial of the impact of different methods of reporting positive blood culture results. *Clin Infect Dis*. 2004;39:1161-9. Epub 2004 Sep 24.
81. Cercenado E, Rico MV, Vicente T, Bouza E. Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia: Direct E-Test on Respiratory Samples. [abstract: D-51]. En: A.S.M., editor. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego; 2002.
82. Aucar JA, Bongera M, Phillips JO, Kamath R, Metzler MH. Quantitative tracheal lavage versus bronchoscopic protected specimen brush for the diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am J Surg*. 2003;186:591-6.
83. Cook D, Mandell L. Endotracheal aspiration in the diagnosis of ventilator- associated pneumonia. *Chest*. 2000;117 4 Suppl 2:195S-7S.
84. Jourdain B, Novara A, Joly Guillou ML, Dombret MC, Calvat S, Trouillet JL, et al. Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the

- diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:241-6.
- 85. Torres A, El-Ebiary M. Bronchoscopic BAL in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 2000;117 Suppl 2:198S-202S.
 - 86. Jourdain B, Joly-Guillou ML, Dombret MC, Calvat S, Trouillet JL, Gibert C, et al. Usefulness of quantitative cultures of BAL fluid for diagnosing nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest.* 1997;111:411-8.
 - 87. Solé-Violán J, Rodríguez de Castro F, Rey A, Martín-González JC, Cabrera-Navarro P. Usefulness of microscopic examination of intracellular organisms in lavage fluid in ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1994;106:889-94.
 - 88. Timsit JF, Misset B, Goldstein FW, Vaury P, Carlet J. Reappraisal of distal diagnostic testing in the diagnosis of ICU-acquired pneumonia [see comments]. *Chest.* 1995;108:1632-9.
 - 89. Chastre J, Fagon JY, Trouillet JL. Diagnosis and treatment of nosocomial pneumonia in patients in intensive care units. *Clin Infect Dis.* 1995;21 Suppl 3:S226-37.
 - 90. 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;152:1982-91.
 - 91. Campbell GD. Blinded invasive diagnostic procedures in ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 2000;117 4 Suppl 2:207S-11S.