

## HASTANE KÖKENLİ PNÖMONİLERDE LABORATUVAR YÖNTEMLERİNİN AKILCI KULLANIMI

Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, ANKARA  
yctinka@hacettepe.edu.tr

### ÖZET

*Hastane kökenli pnömoniler, nozokomiyal infeksiyonlar arasında sıklık yönünden üriner sistem infeksiyonlarının ardından ikinci sırada yer almaktadır. Mekanik ventilatöre bağlı olmayan hastalarda gelişen nozokomiyal pnömonilerin tanısı için genellikle klinik ve radyolojik kriterler kullanılmaktadır. Ventilatör ilişkili pnömoni tanısının güvenle konulması diğer nozokomiyal pnömonilere oranla daha güçtür. Klinik bulgular ve radyolojik değişiklikler tanı için yeterli olmamakta ve ek tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.*

**Anahtar sözcükler:** nozokomiyal pnömoni, tanı

### SUMMARY

#### Rationalizing the Laboratory Methods in Nosocomial Pneumonia

*Nosocomial pneumonia is the second most common nosocomial infection after nosocomial urinary tract infections. In nonventilated patients usually clinical and radiological criteria are used for diagnosis of nosocomial pneumonia. It is more difficult to make accurate diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Generally, clinical and radiological findings are not sufficient for diagnosis and additional tests are required.*

**Keywords:** diagnosis, nosocomial pneumonia

Hastane kökenli pnömoniler, nozokomiyal infeksiyonlar arasında sıklık yönünden üriner sistem infeksiyonlarının ardından ikinci sırada yer almaktadır<sup>(10,17)</sup>. Sık görülmesinin yanı sıra, tüm nozokomiyal infeksiyonlar içinde en yüksek mortaliteye sahip olması hastane kökenli pnömonilerin önemini bir kat daha arttırmaktadır. Nozokomiyal pnömoni gelişimi yönünden en yüksek riske sahip hasta grubunu entübe edilen, mekanik ventilatöre bağlanan ve çoğunlukla Yoğun Bakım Ünitelerinde (YBÜ) yatmakta olan hastalar oluşturmaktadır<sup>(2)</sup>. Bu nedenle nozokomiyal pnömoniler içinde ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) önemli bir alt başlık oluşturmaktadır. Trakeostomisi olan veya entübe olan ve pnömoni tanısının konduğu günden önceki 48 saat içinde kalan dönemde solunuma destek olmak veya kontrol etmek amacıyla bir mekanik ventilatöre bağlı olan hastalarda gelişen nozokomiyal pnömoni, VİP olarak tanımlanmaktadır<sup>(2)</sup>.

Mekanik ventilatöre bağlı olmayan hastalarda gelişen nozokomiyal pnömonilerin tanısı için genellikle klinik ve radyolojik kriterler kullanılmaktadır. Sürveyans amacıyla kullanılması önerilen "Centers for Disease Control and Prevention" (CDC) tanı kriterleri tablo 1'de sunulmuştur<sup>(7)</sup>. Bu

kriterler 2002 yılında revize edilmiştir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde "National Nosocomial Infections Surveillance" (NNIS) Sistemi'ne üye hastanelerde pilot olarak kullanılmasına başlanmış, ancak henüz yayımlanmamıştır. VİP tanısının güvenle konulması diğer nozokomiyal pnömonilere oranla daha güçtür. Bu amaçla CDC tanımlarında bazı modifikasyonlar ve skorlama sistemleri önerilmiştir<sup>(2)</sup>. Bu kriterlerin hemen hepsinin ortak özelliği duyarlılığının yüksek, seçiciliğinin veya özgüllüğünün ise düşük olmasıdır.

VİP tanısında kullanılan testlerin geçerliliklerini (validite) değerlendirebilmek için duyarlılık (sensitivity), özgüllük veya seçicilik (specificity), negatif prediktif değer (negative predictive value) ve pozitif prediktif değer (positive predictive value) tanımlarının bilinmesi gerekmektedir. Herhangi bir tanısal testin duyarlılık, seçicilik, negatif prediktif değer ve pozitif prediktif değerinin belirlenmesinde kullanılan formüller tablo 2'de sunulmuştur<sup>(19)</sup>. VİP tanısında kullanılan yöntemler için bu değerlerin hesaplanabilmesi için altın standardın doğru seçilmesi gerekmektedir. Bu amaçla kullanılacak altın standartlar akciğer dokusunun patolojik veya bakteriyolojik

**Tablo 1:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından sürveyans amacıyla kullanılması önerilen tanı kriterleri<sup>(7)</sup>.

Pnömoni, diğer alt solunum yolları infeksiyonlarından ayrı olarak tanımlanır. Pnömoni kriterleri, klinik, laboratuvar ve radyografik bulguların değişen kombinasyonlarıdır. Genel olarak, balgam kültürleri pnömoni tanısında yararlı değildir, ama yararlı olabilecek antimikrobiyal duyarlılık verileri sağlar. Bir zaman dilimi içinde çekilen birden fazla akciğer grafileri tek bir grafiden daha yararlı olabilir. Pnömoni için aşağıdaki kriterlerden biri bulunmalıdır:

1. Fizik incelemede raller veya perküsyonda matite bulunması ve aşağıdakilerden birinin olması:
  - Hastanın pürülan balgam çıkarmaya başlaması veya balgamın niteliğinde değişiklik olması,
  - Kan kültüründe mikroorganizma izole edilmesi,
  - Transtrakeal aspirat, bronşial fırçalama veya biyopsi ile elde edilen örnekten patojen izole edilmesi.
2. Akciğer grafisinde yeni veya progresif infiltrasyon, konsolidasyon, kavitasyon veya plevral efüzyon saptanması ve aşağıdaki bulgulardan birinin olması:
  - Hastanın pürülan balgam çıkarmaya başlaması veya balgamın niteliğinde değişiklik olması,
  - Kan kültüründe mikroorganizma izole edilmesi,
  - Transtrakeal aspirat, bronşial fırçalama veya biyopsi ile elde edilen örnekten patojen izole edilmesi,
  - Solunum sekresyonlarından virüs izole edilmesi veya viral antijen saptanması,
  - Patojene özgü IgM antikorların bir serumda, IgG antikorlarında dört kat artış aralıklı iki serumda gösterilmesi,
  - Histopatolojik olarak pnömoninin saptanması.
3. 12 aylıktan küçük bebeklerde apne, takipne, bradikardi, wheezing, ronküsler veya öksürükten ikisinin ve aşağıdakilerden birinin olması:
  - Solunum sekresyonlarında artış görülmesi,
  - Hastanın pürülan balgam çıkarmaya başlaması veya balgamın niteliğinde değişiklik olması,
  - Kan kültüründe mikroorganizma izole edilmesi,
  - Transtrakeal aspirat, bronşial fırçalama veya biyopsi ile elde edilen örnekten patojen izole edilmesi,
  - Solunum sekresyonlarından virüs izole edilmesi veya viral antijen saptanması,
  - Patojene özgü IgM antikorların bir serumda, IgG antikorlarında dört kat artış aralıklı iki serumda gösterilmesi,
  - Histopatolojik olarak pnömoninin saptanması.
4. 12 aylıktan küçük bebeklerde akciğer grafisinde yeni veya progressif infiltrasyon, konsolidasyon, kavitasyon veya plevral efüzyon saptanması ve aşağıdaki bulgulardan birinin olması:
  - Solunum sekresyonlarında artış görülmesi,
  - Hastanın pürülan balgam çıkarmaya başlaması veya balgamın niteliğinde değişiklik olması,
  - Kan kültüründe mikroorganizma izole edilmesi,
  - Transtrakeal aspirat, bronşial fırçalama veya biyopsi ile elde edilen örnekten patojen izole edilmesi,
  - Solunum sekresyonlarından virüs izole edilmesi veya viral antijen saptanması,
  - Patojene özgü IgM antikorların bir serumda, IgG antikorlarında dört kat artış aralıklı iki serumda gösterilmesi,
  - Histopatolojik olarak pnömoninin saptanması.

incelemesidir. Bu değerlendirmeler ancak açık akciğer biyopsisi veya otopsi ile mümkündür<sup>(2)</sup>. Literatürdeki çalışma sonuçları değerlendirilirken bu nokta unutulmamalıdır.

**Tablo 2:** Duyarlılık, seçicilik ve prediktif değerlerin hesaplanması<sup>(19)</sup>.

Test sonucu	Hastalık var	Hastalık yok	Toplam
+	a	b	a + b
-	c	d	c + d
Toplam	a + c	b + d	a + b + c + d

Duyarlılık =  $a/a + c$ ; seçicilik =  $d/b + d$ ; negatif prediktif değer =  $d/c + d$ ; pozitif prediktif değer =  $a/a + b$ .

### İnvaziv olmayan yöntemler

VİP tanısının sadece klinik bulgular, akciğer grafisindeki parankimal infiltratlar ve trakeal sekresyonların kültür sonuçları esas alınarak doğru bir şekilde konulması mümkün değildir. Akciğer grafisinde infiltrasyon saptanmasının VİP tanısı için duyarlılığı yüksek, özgüllüğü ise çok düşüktür. Hava bronkogramı, hızlı kavitasyon gibi daha özgül değişiklikler ise nadiren görülmektedir<sup>(20)</sup>. Otopsi veya histopatolojik inceleme sonuçlarının altın standart olarak kullanıldığı çalışmalar klinik bulgularla radyolojik bulguların kombinasyonunun bile nozokomiyal pnömoninin güvenilir tanısı için yeterli olmadığını göstermiştir<sup>(1,4,20)</sup>. Ventilatöre bağlı hastalar üzerinde yapılan bir otopsi çalışmasında herhangi bir radyolojik değişikliğin pnömoni tanısının predikte edilmesindeki değerinin  $< \% 68$  olduğu ve klinik

bulgularla balgam kültürü sonuçlarının radyolojik değişikliklere eklenmesinin prediktif değeri ancak  $\% 72$ 'ye kadar arttırabildiği gösterilmiştir<sup>(20)</sup>. İki farklı çalışmada mekanik ventilatöre bağlı hastaların  $\% 49-69$ 'unda ateş ve pulmoner infiltratların pnömoni dışı nedenlere bağlı olduğu bildirilmiştir<sup>(5,13)</sup>. İlaç reaksiyonları, atelektazi, kimyasal aspirasyon, kalp yetmezliği, vb. birçok durum nozokomiyal pnömoninin radyolojik ve klinik bulgularını taklit edebilir<sup>(12)</sup>.

Yukarıda özetlenen sonuçlar VİP tanısında klinik bulguların ve radyolojik değişikliklerin başlangıç taraması amacıyla kullanılacak yöntemler olduğunu göstermektedir. Yeterli özgüllüğe sahip olmaması nedeniyle mutlaka ek tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Endotrakeal sekresyonların kalitatif kültürlerinin tanisal amaçla kullanımı konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Kalitatif kültürlerin en önemli avantajları invaziv girişim gerektirmemesi ve özel bir eğitime gerek olmaksızın sağlık çalışanlarının çoğu tarafından kolayca hasta başında yapılabilir olmasıdır. Ancak bu yöntemle etken mikroorganizmaların yanı sıra çok sayıda patojen olmayan mikroorganizmanın da saptanması en önemli dezavantajdır (düşük pozitif prediktif değer) ve kan kültürü veya plevral sıvı kültüründe üreme olmaz ise bildirilen mikroorganizmalardan hangisinin etken olduğu konusunda yorum yapmak mümkün değildir<sup>(8)</sup>. Antibiyotik almayan hastalarda endotrakeal sekresyonların kalitatif kültürünün negatif sonuç vermesi, VİP bulunmadığı şeklinde yorumlanabilir (negatif prediktif değeri yüksek).

Aspirasyon yoluyla elde edilen endotrakeal sekresyonların kantitatif kültür sonuçları bakteri yükü, mekanik ventilasyon süresi ve antibiyotik kullanımı gibi çeşitli parametrelere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu yöntemin duyarlılığının % 38-100 ve özgüllüğünün % 14-100 arasında değiştiği bildirilmiştir<sup>(8)</sup>. Tanı için anlamlı eşik değer  $> 10^5$ - $10^6$  kob/ml olarak kabul edilmektedir<sup>(18)</sup>.

Endotrakeal aspiratta antikor kaplı mikroorganizmaların ve elastin liflerinin varlığı VİP tanısı için duyarlı veya seçici bir yöntem değildir ve kullanılması önerilmez<sup>(8)</sup>.

## İnvaziv yöntemler

Bronkoskopik yöntemler:

Fiberoptik bronkoskopi ile üst solunum yollarında kolonize olan mikroorganizmaların kontaminasyonu olmaksızın alt solunum yolu sekresyonlarından örnek almak mümkündür. Çok zor olmamakla birlikte belirli bir eğitim ve deneyim gerektiren bir yöntemdir. Mekanik ventilatöre bağlı hastalarda oksijenizasyon değişikliklerine neden olabilir. Ancak ventilatör ayarları değiştirilerek bu durum düzeltilebilir<sup>(18)</sup>. İyi tanımlanmış iki bronkoskopik yöntem bulunmaktadır: Korunmuş fırçalama yöntemi (protected specimen brush=PSB) ve bronkoalveoler lavaj (BAL).

Bronkoskopik PSB, 20 yılı aşkın süredir kullanılmakta olan bir yöntemdir<sup>(18)</sup>. Bu süre içinde alınan örneğin üst solunum yolu sekresyonları ile kontamine olma ihtimalini azaltmak için yöntemde çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. Alınan örneğin direkt incelemesinde  $< 1$  skuamöz epitel hücresinin bulunması örnek kalitesinin iyi olduğunu gösterir. Bu yöntemle akciğerin küçük bir segmentinden örnek alınması yalancı negatif sonuçlara neden olabilir. PSB örneğinin kantitatif kültür sonucu için eşik değer  $> 10^3$  kob/ml olarak belirlenmiştir<sup>(18)</sup>. Bu yöntemin VAP tanısı için duyarlılığı % 33-100 (ortanca % 67), seçiciliği ise % 50-100 (ortanca % 95) arasında değişmektedir<sup>(8)</sup>. En önemli komplikasyonları kanama ve pnömotorakstır<sup>(18)</sup>.

Bronkoskopik BAL yönteminde bronkoskop akciğer grafisindeki infiltrasyon görüntüsü ile uyumlu lokalizasyondaki orta boy bir bronşun ağzına kadar ilerletilmektedir. Bu bölge 30-50 ml steril serum fizyolojik ile yıkanmakta ve 5-10 saniye sonra 5-10 ml'lik bir örnek aspire edilmektedir<sup>(18)</sup>. Alınan örnekte  $> 1$  oranında skuamöz epitel hücre görülmesi üst solunum yolu sekresyonları ile kontaminasyonun göstergesidir. Alınan örneğin hücre-içi mikroorganizmaların varlığı yönünden incelenmesinin kültür sonuçları çıkana kadar yönlendirici olabileceğini bildiren çalışmalar bulunmakla birlikte, yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada bu yöntemin duyarlılığının çok düşük olduğu ve bu nedenle herhangi bir klinik değer taşımadığı bildirilmiştir<sup>(3,16)</sup>. Bronkoskopik BAL örneğinin kantitatif kültür sonucu için eşik değer  $10^4$  kob/ml'dir. Bu yöntemin VAP tanısı için duyarlılığı % 42-93 (ortanca % 73),

seçiciliği ise % 45-100 (ortanca % 82) arasında değişmektedir<sup>(8)</sup>. En önemli komplikasyonları arteriyel oksijenizasyon değişiklikleri, akciğerde geçici inflamasyon ve aritmidir<sup>(18)</sup>.

VİP tanısında kullanılan bronkoskopik yöntemlerle ilgili önemli bir konu antibiyotik tedavisinin bu yöntemlerin duyarlılığı üzerindeki etkisidir. Montravers ve ark.<sup>(14)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada PSB yöntemiyle VİP tanısı konulan 76 hastadan 135 mikroorganizma üretilmiştir ( $> 10^3$  kob/ml). Aynı hastalarda tedaviye başlanmasını takiben ilk 72 saat içinde PSB tekrarlandığında 135 mikroorganizmadan 126'sının (% 93) üretilmesinin mümkün olmadığı, yedi mikroorganizmanın düşük konsantrasyonda üretilmediği ( $< 10^3$  kob/ml), sadece iki mikroorganizmanın hâlâ  $> 10^3$  kob/ml konsantrasyonda varlığını devam ettirebildiği gösterilmiştir. Bu iki mikroorganizmanın antibiyotik seçimindeki hatalar nedeniyle mevcut tedavi rejiminin kapsamadığı mikroorganizmalar olduğu bildirilmiştir. Yetmişikinci saatte tekrarlanan tetkikte 32 yeni patojen üretilmiş ve bunların 26'sının (% 81) verilen antibiyotik tedavisine dirençli olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları başlangıç antibiyotik tedavisine duyarlı olan mikroorganizmaların 72. saat sonunda alınan kültürde üretilmediğine işaret etmektedir. Bu sonuca dayanarak antibiyotik tedavisi almakta olan ve infeksiyon belirti ve bulguları devam eden hastalarda, son 72 saat içinde antibiyotik değişikliği yapılmamış ise, devam eden infeksiyondan sorumlu ve mevcut tedaviye dirençli olan mikroorganizmaların PSB ile gösterilmesinin ( $> 10^3$  kob/ml) mümkün olduğu söylenebilir<sup>(11)</sup>. Son 72 saat içinde antibiyotik değişikliği yapılmış ve başlanan antibiyotikler başlangıç tedavisine dirençli olan mikroorganizmalar üzerinde etkili ise PSB sonucu muhtemelen negatif olacaktır. Bu nedenle antibiyotik almakta olan bir VİP olgusunda PSB veya bronkoskopi yapılması planlanıyorsa, antibiyotiklerin son 72 saat içinde değiştirilmemiş olması önerilir<sup>(11)</sup>.

Kör (bronkoskopik olmayan) yöntemler:

Bronkoskopik yöntemlerle ilişkili riski ve maliyeti azaltmak amacıyla bronkoskopik olmayan invaziv yöntemler geliştirilmiştir: kör bronşiyal örnekleme (blind bronchial sampling), mini-BAL ve kör korunmuş fırçalama (blind protected specimen brush=BPSB). Daha az tecrübe ve eğitim gerektiren bu yöntemlere daha kolay ulaşılabilir. Kantitatif kültürlerin eşik değerleri bronkoskopik yöntemlerinki ile aynıdır. Bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri aşağıda belirtilmiştir<sup>(8)</sup>:

- BBS: duyarlılık= % 74-97, özgüllük= % 74-100
- Mini-BAL: duyarlılık= % 63-100, özgüllük= % 66-96
- BPSB: duyarlılık= % 58-86, özgüllük= % 71-100.

Akciğer biyopsisi:

Akciğer biyopsisi iki farklı yöntemle yapılabilir: açık ve transbronşiyal. Açık akciğer biyopsisi için hastaya genel anestezi verilmesi gereklidir. Videotorakoskopi veya küçük bir torakotomi insizyonu ile gerçekleştirilir. Pnömotoraks ve kanama en önemli komplikasyonlardır. Tekniğe ve genel anesteziye bağlı komplikasyonlar

nedeniyle açık akciğer biyopsisine diğer yöntemlerle tanı konulamayan ve tedaviye yanıt vermeyen olgularda başvurulmalıdır. Kantitatif kültürde tanı için eşik değer  $\geq 10^4$  kob/g doku'dur. Transbronşiyal biyopsi, VİP tanısı için nadiren başvurulmuş bir yöntemdir. En önemli komplikasyonları kanama ve pnömotokrakstur<sup>(18)</sup>.

### Tanı yöntemlerinin sonuç üzerindeki etkisi

Kanada'da yapılan ve 10 YBÜ'yü kapsayan bir kohort çalışmasında VİP şüphesiyle bronkoskopi yapılan hastalarla yapılmayan hastalar karşılaştırılmış ve invaziv diagnostik yöntem kullanılan hastaların daha az antibiyotik aldığı ve mortalitenin daha düşük olduğu bildirilmiştir (% 18.5 vs % 34.7, p=0.03)<sup>(9)</sup>. Bu çalışmada invaziv olmayan tanısal testlerin sonuç üzerindeki etkisi değerlendirilmemiştir. Fransa'da yapılan randomize, kontrolsüz, çok merkezli bir çalışmada 413 hastada invaziv yöntemlerle (bronkoskopik BAL veya PSB örneklerinin direkt incelenmesi) invaziv olmayan yöntemler (klinik kriterler ve endotrakeal aspiratın nonkantitatif analizi) karşılaştırılmış, invaziv yöntem kullanılan grupta 14 gün sonunda daha az ölüm olduğu, organ disfonksiyonlarının daha erken düzeldiği ve daha az antibiyotik kullanıldığı sonucuna varılmıştır<sup>(6)</sup>. Ancak bu

çalışmada nonkantitatif endotrakeal aspirat (ETA) analizi ile kantitatif BAL ve PSB karşılaştırmasının sonuçları etkilediği düşünülmektedir<sup>(18)</sup>. Kantitatif ETA analizi ile kantitatif BAL veya PSB'yi karşılaştıran bir başka açık, randomize çalışmada iki grup arasında sonuç, YBÜ'de kalış süresi veya mekanik ventilasyon süresi yönünden fark olmadığı sonucuna varılmıştır<sup>(15)</sup>. Mevcut bilimsel kanıtlar bir stratejinin diğerine üstünlüğünü göstermek konusunda yetersiz kalmaktadır<sup>(18)</sup>. Bu nedenle hangi yöntemin izleneceğine fayda-zarar karşılaştırması yapılarak karar verilmelidir (Tablo 3)<sup>(18)</sup>.

**Tablo 3:** VİP tanısında kullanılan invaziv yöntemlerin avantaj ve dezavantajları<sup>(18)</sup>.

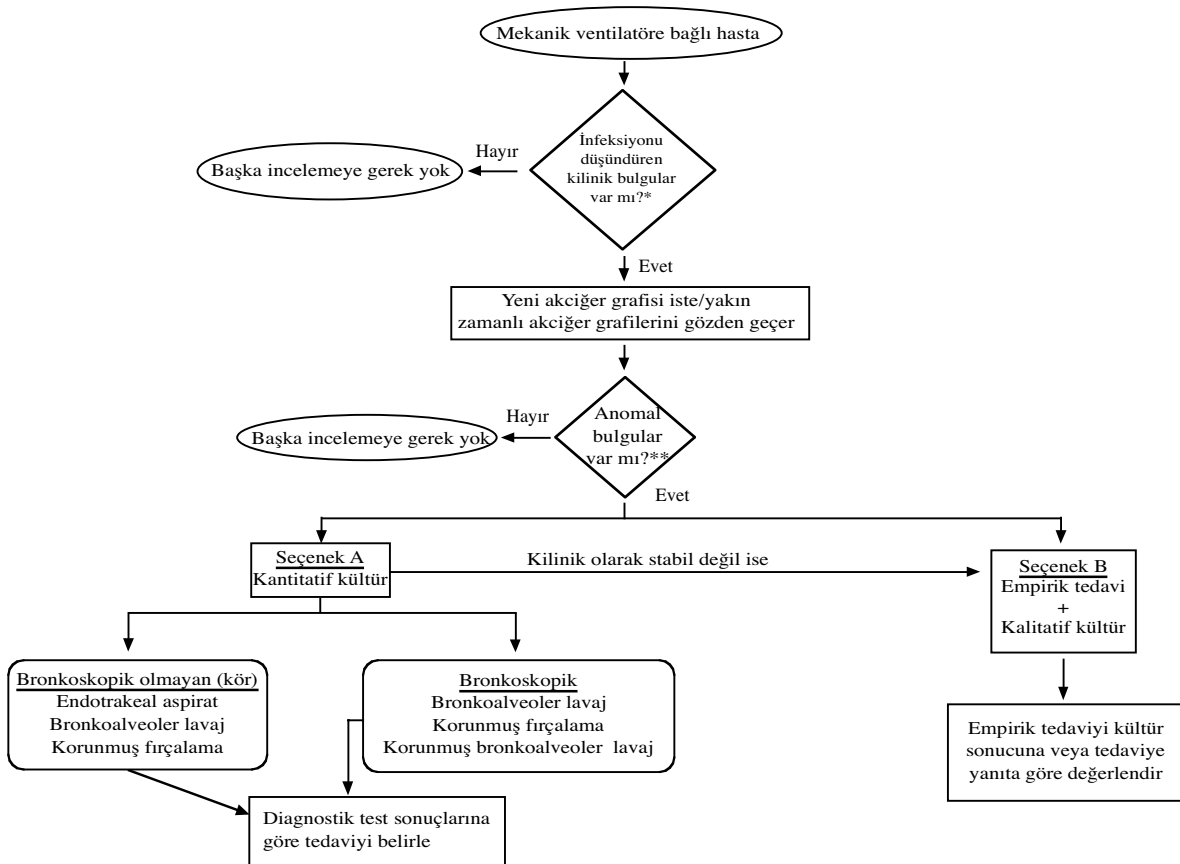
#### Avantajlar

- Tanı koyma şansında artış,
- Patojenlerin daha doğru değerlendirilmesi,
- Direnç gelişme riskinde azalma,
- Maliyette azalma.

#### Dezavantajlar

- İnvaziv işlemlerin maliyeti (antibiyotikten sağlanacak kazançla dengelenebilir),
- Teknik deneyim gerekliliği,
- Gaz değişimini ve arteriyel oksijenizasyonu etkilemesi,
- Antibiyotik tedavisine başlanmasını geciktirebilir.

**Şekil:** Ventilatör ilişkili pnömoni için diagnostik algoritma<sup>(8)</sup>.



\*Şunlardan iki veya daha fazlasının birlikte bulunması: vücut sıcaklığı  $>38^{\circ}\text{C}$  veya  $<36^{\circ}\text{C}$ , lökopeni/lökositoz, pürülan trakeal sekresyon,  $\text{PaO}_2$ 'de azalma.

\*\*Akciğer grafisinde alveoler infiltrat, hava bronkogramı, yeni ortaya çıkan veya ilerleyen infiltrasyon.

VİP tanısı konusunda daha fazla bilgi birikene kadar American College of Chest Physicians tarafından önerilen kanita dayalı bir algoritmanın izlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir (Şekil)<sup>(8,18)</sup>.

### KAYNAKLAR

1. Bell RC, Coalson JJ, Smith JD et al: Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome, *Ann Intern Med* 1983; 99:293-8.
2. Bergmans DCJJ, Bonten MJM: Nosocomial pneumonia, "Mayhall CG (ed): Hospital Epidemiology and Infection Control, 3. baskı" kitabında s. 311-39, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia (2004).
3. Chastre J, Fagon JY, Soler P et al: Quantification of BAL cells containing intracellular bacteria rapidly identifies ventilated patients with nosocomial pneumonia, *Chest* 1989;95:190-2S.
4. Chastre J, Viau F, Brun P et al: Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated patients, *Am Rev Resp Dis* 1984;130:924-9.
5. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ et al: Detection of nosocomial lung infection in ventilated patients: use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques in 147 patients, *Am Rev Resp Dis* 1988;138:110-6.
6. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Montravers P, Novara A, Gilbert C: Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay, *Am J Med* 1993;94:281-8.
7. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM: CDC definitions for nosocomial infections, 1988, *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
8. Grossman RF, Fein A: Evidence-based assessment of diagnostic tests for ventilator-associated pneumonia, *Chest* 2000;117:177-81S.
9. Heyland DK, Cook DJ, Marshall J et al: The clinical utility of invasive diagnostic techniques in the setting of ventilator-associated pneumonia. Canadian Clinical Trials Group, *Chest* 1999;115:1076-84.
10. Horan TC, White JW, Jarvis WR et al: Nosocomial infection surveillance, 1984, *MMWR* 1986;35:17-29SS.
11. Mayhall CG: Nosocomial pneumonia: diagnosis and prevention, *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:427-57.
12. Meduri GU: Diagnosis of ventilator-associated pneumonia, *Infect Dis Clin North Am* 1993;7:295-329.
13. Meduri GU, Mauldin GL, Wunderink RG et al: Causes of fever and pulmonary densities in patients with clinical manifestations of ventilator-associated pneumonia, *Chest* 1994;106:221-35.
14. Montravers P, Fagon J, Chastre J et al: Follow-up protected specimen brushes to assess treatment in nosocomial pneumonia. *Am Rev Resp Dis* 1993;147:238-44.
15. Ruiz M, Torres A, Ewig S et al: Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome, *Am J Resp Crit Care Med* 2000;162:119-25.
16. Sirvent JM, Viadur L, Gonzales S et al: Microscopic examination of intracellular organisms in protected bronchoalveolar mini-lavage fluid for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia, *Chest* 2003;123: 518-23.
17. Tablan OC, Anderson LJ, Arden NH et al: Guideline for prevention of nosocomial pneumonia, *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15:587-627.
18. Vincent JL: Ventilator-associated pneumonia, *J Hosp Infect* 2004;57:272-80.
19. Woolf SH: Analytic principles in evaluating the performance characteristics of diagnostic tests for ventilator-associated pneumonia, *Chest* 2000; 117: 182-5S.
20. Wunderinck RG, Wondenberg LS, Zeiss J: The radiologic diagnosis of autopsy proven ventilator-associated pneumonia, *Chest* 1992;101:458-63.