

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
PNEUMOLÓGICAS**

MARCUS SILVANE SANCHEZ CHAVES

Dissertação de Mestrado

**ESTUDO MICROBIOLÓGICO SIMULTÂNEO DO
ESCARRO DESSALIVADO E DA SALIVA EM PACIENTES
COM DOENÇA PULMONAR INFECCIOSA**

Orientador: José S. Moreira

PORTO ALEGRE – RS

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

DEDICATÓRIA

Dedico este Mestrado aos meus pais, Silvane e Maria do Carmo Chaves, pelo incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

A Vitória desta conquista dedico com todo meu amor, unicamente, a vocês! Parabéns!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu DEUS, por estar sempre ao meu lado.

Ao Dr. José S. Moreira pela orientação e por sempre ter acreditado em mim e no potencial desse Projeto de Pesquisa.

Ao Dr. Nelson S. Porto pela influência na execução do trabalho.

Ao Dr. Jorge Hetzel pela amizade e oportunidade de me tornar Pneumologista pelo Pavilhão Pereira Filho.

A minha irmã Alessandra pela parceria, carinho e força nos momentos mais difíceis.

A minha namorada Bianca pela importante ajuda na reta final desse projeto de Mestrado.

Ao Laboratório Central da Santa Casa de Porto Alegre pela participação indispensável nesse estudo, cumprimento a todos, em especial aos Drs. Carlos Franco Voegeli, Claudia Fogaça, Ionara Kohler e Cristiane Gomes.

Aos meus amigos da residência de Pneumologia, Fernandinha, Fernandinho, Jemerson, Fábio, Jamilla, Danilo, Renata e Simone, e a todos do Pavilhão Pereira Filho pela oportunidade da convivência, meu muito obrigado.

Por fim, ao saudoso Dr. Vitor F. Petrillo, por tudo que o que ele fez na primeira metade do trabalho.

MENSAGEM

“O homem não teria alcançado o possível, se inúmeras vezes
não tivesse tentado **atingir o impossível**”

Max Weber

SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA	II
DEDICATÓRIA	III
AGRADECIMENTOS	IV
MENSAGEM	V
SUMÁRIO	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
RESUMO	IX
ABSTRACT	XI
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	11
Geral	
Específicos	
METODOLOGIA	12
RESULTADOS	18
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Esquema do processamento do material	15
Figura 02: <i>Dessalivação</i> do material	16
Figura 03: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar devida a <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
Figura 04: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar devida a <i>Haemophilus influenzae</i>	22
Figura 05: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar devida a <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Figura 06: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar devida a Pneumococo e <i>Haemophilus influenzae</i>	24
Figura 07: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar devida a <i>Moraxella catarrhalis</i>	25
Figura 08: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar por <i>Legionella pneumophila</i>	26
Figura 09: Aspectos radiológicos e microscópicos de uma infecção pulmonar por germes anaeróbios (abscesso)	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 01: Percentual de infecção por sexo	12
TABELA 02: Tipos de Germes no escarro e na saliva	18
TABELA 03: Cultura no escarro e na saliva	19
TABELA 04: Celularidade no escarro e na saliva	20

RESUMO

O tratamento das infecções do trato respiratório inferior – em especial as pneumonias adquiridas na comunidade – fundamenta-se em critérios clínico-radiológicos, de acordo com consensos e publicações sobre o assunto. A valorização diagnóstica do exame bacteriológico do escarro nessas infecções tem se mostrado controversa, esbarrando em diversos obstáculos, entre eles o fato de o material transitar pela orofaringe e boca, sofrendo a contaminação por microorganismos residentes nessas estruturas.

No presente estudo procurou-se verificar se era possível identificar a flora bacteriana envolvida em infecções bronco-pulmonares de indivíduos adultos, diferenciando-a daquela presente nas estruturas supra-glóticas, particularmente na boca, examinando-se simultaneamente o escarro “dessalivado”, cuidadosamente obtido e processado, e a saliva.

Nos períodos 1995-1997 e 2005-2007 foram estudados 164 pacientes adultos, 80 homens e 84 mulheres, com idades entre 22 e 92 anos (média de 57 anos), todos com escarro purulento, e evidências clínicas e radiográficas de infecção do trato respiratório inferior. Casos de tuberculose e de micose foram excluídos.

De cada um desses 164 indivíduos, amostras de escarro foram cuidadosamente colhidas em frascos esterilizados. Com uma alça de platina, recolhia-se um grumo do material purulento, o qual, após ser arrastado pela margem de uma lâmina ou parede do frasco, onde o excesso de saliva ficava retido (“*dessalivação*” do material), ele era distendido no centro da mesma lâmina e corado (gram), e também cultivado em meio apropriado (ágar-sangue). Com outra alça de platina buscava-se, no mesmo frasco, o material não purulento (saliva) que ficava em torno do grumo, o qual era distendido em outra lâmina, e também corado pelo método de gram, e cultivado no mesmo tipo de meio usado para a cultura do material purulento.

Os germes identificados e a celularidade encontrada ao exame direto (gram), tanto do grumo de pus (escarro) como da saliva, e os resultados das culturas de ambos os materiais eram registrados. As lâminas foram

inicialmente examinadas por algum dos diferentes microbiologistas do Serviço, e finalmente por um único deles (referência).

Ao exame direto, os tipos de germes encontrados no escarro (grumo purulento) mostraram-se significativamente diferentes dos que foram vistos na saliva ($p < 0,001$). No grumo purulento observou-se, em geral, um único ou predominante tipo de bactéria, enquanto que na saliva, contendo células epiteliais, uma flora mista foi mais vezes identificada. A mesma diferenciação, entretanto, não foi observada nas culturas, mais freqüentemente crescendo um mesmo tipo de bactéria em ambos os materiais (*Streptococcus sp.*), comumente presente em orofaringe e boca. A presença de macrófagos e ausência de células epiteliais foram verificadas quase que exclusivamente no escarro ($p < 0,0001$), enquanto que polimorfonucleares foram igualmente observados em ambos os materiais.

Em conclusão, em indivíduos com infecções pulmonares diversas, o exame direto do escarro adequadamente obtido e processado, “*dessalivado*”, corado pelo método de gram, e mostrando a presença de macrófagos, pareceu discriminar – de modo superior à cultura – os germes provenientes do trato respiratório inferior.

Palavras-chave: Escarro, Saliva, Infecção respiratória, Macrófagos, Gram, Cultural.

ABSTRACT

The treatment of the lower respiratory tract infections – in special community acquired pneumonias – is today based in clinical and radiographic criteria, according to guidelines and publications about the subject. The diagnostic value of the sputum examination in these infections have been considered controversial. Among the several obstacles for its natural acceptance is the fact of the material to transit through pharynx and mouth suffering contamination by resident microorganisms of these structures.

The aim of this study was to verify the possibility to identify the bacteriological flora involved in adult pulmonary infections, and differentiate it from those of the upper structures, particularly the mouth, through the simultaneous examination of a valid sample of sputum and saliva.

In two periods (1995-1997; 2005-2007), 164 adult patients – 80 males, 84 females; age 22 to 92 years (mean 57) – all with purulent sputum and clinical-radiographic features of a lower respiratory tract infection. Cases of tuberculosis and mycosis were excluded.

In sterilized bottles sputum samples were carefully obtained from every of the 164 individuals. With a platinum wire, a bit of purulent portion of the material was token and dragged by the inner surface of the bottle or over the glass slide, until the excess of saliva was reduced (“de-salivation”). The material was then distended on the center of the slide and stained (gram) for microscopic examination, and also cultivated in an appropriate media. From the same sample, saliva near the purulent material was token, fixed, stained (gram), and cultivated. The germs and cell types found at the direct examination and the culture results of both materials (sputum and saliva) were registered. The smears were at first examined by one of different microbiologists of the service, and finally by one of them (reference) in each period of the study.

At the bacterioscopy, the germs found in the sputum smears were significantly different of those found in saliva ($p < 0.001$). There were either one or a predominant type of bacteria in the sputum, whereas in saliva (containing epithelial cells) a mixed flora was often observed. In the cultures, however, the

results were others, growing more frequently a type of microorganism in both materials, often Streptococcus sp, germ commonly present in mouth and pharynx. Presence of macrophages and absence of epithelial cells were found almost exclusively in the sputum ($p < 0.0001$), whereas the inverse were observed in saliva. Polymorphonuclear cells were identified in both materials of all patients.

In conclusion, individuals with different pulmonary infections, the direct examination of the properly collected and processed (“dessalived”) purulent sputum , stained by gram method, and with presence of macrophages, seemed indicate – better than the culture – the germs from the lower respiratory tract.

Key words: Sputum, Saliva, Respiratory infection, Macrophages, Gram, Culture.

INTRODUÇÃO

As Infecções do trato respiratório inferior constituem-se em importantes causas de admissão hospitalar e de morbimortalidade em todo o mundo (HEDLUND, 1995; NEILL et al, 1996; GEORGES et al, 1999; ARANCIBIA et al, 2001; ADERAYE, 2005; YEN et al, 2005; DRUMMOND et al, 2005), especialmente quando acometendo crianças pequenas, indivíduos idosos e portadores de algum tipo de co-morbidade (RUIZ et al, 1999; GOWARDMAN & TRENT, 2000; DON et al, 2000; EL-SOLH et al, 2005; LAUDERDALE et al, 2005; MANDELL et al, 2007).

Diretrizes para o melhor manejo dessas infecções têm sido conduzidas e revisadas constantemente. Sabe-se existir, hoje, mais de 100 tipos de germes que podem infectar e determinar doença nas estruturas bronco-pulmonares, de onde a maioria deles já foram isolados pelo menos uma vez (MANDELL et al, 2000). A tomada de decisão sobre esquemas terapêuticos a serem utilizados em pneumonias, em especial as adquiridas na comunidade, segue fundamentada, na maioria dos casos, em critérios clínico-radiológicos, mas não raras vezes, também, havendo a necessidade do emprego de métodos mais invasivos para melhor

esclarecer sua causa (NIEDERMAN et al, 1993; SBPT, 2004). Todavia, a conduta diagnóstica mais simples, de baixo custo, destituída de risco para o paciente, e aparentemente óbvia para determinar o agente etiológico da infecção do trato respiratório inferior, seria a de examinar a secreção (escarro) proveniente diretamente das estruturas infra-glóticas, onde está localizada a alteração (BARTLETT et al, 2000) – como costuma ser feito em casos de infecções em outros órgãos e tecidos (sistemas urinário, nervoso central, sangue e pele).

Tal atitude mostra-se excelente em casos de tuberculose e de micoses pulmonares, com suas respectivas técnicas microbiológicas. Para os demais tipos de bactérias, entretanto, o emprego dessa metodologia no escarro (coloração de gram e cultivo) esbarra em uma série de dificuldades, tanto nas etapas de colheita e processamento do material, como na interpretação dos resultados (SAN PEDRO & CAMPBELL, 1997; DONOWITZ & MANDELL, 2005). Um estudo de meta-análise reunindo 12 trabalhos sobre o tema, encontrou grande variabilidade na sensibilidade (15-100%) e na especificidade (11-100%) desse exame, e mostrou, ainda, que em cerca de um terço das vezes o material sequer é obtido (REED et al, 1996). De 274 casos de pneumonia adquirida na comunidade, recentemente estudados em

nosso meio, o escarro foi examinado em 92 pacientes (33,6%), com as amostras consideradas válidas somente em 37 (40,2%) destes, levando ao diagnóstico etiológico em 26 (SIGNORI et al, 2008). Adicionalmente, o uso prévio de antibióticos é, também, uma das situações que dificulta a identificação do patógeno causador da pneumonia, como também recentemente mostrado em uma série de 201 pacientes hospitalizados (ENDEMAN et al, 2008). De todos esses germes, o que mais vezes é referido apresentar boa correlação do seu encontro no exame do escarro com os demais dados do diagnóstico tem sido o pneumococo, embora nem sempre ele se apresente como único germe (REIN et al, 1978; MUSHER et al, 2004). Em um grupo pacientes com quadro radiológico compatível com pneumonia, os dados de história clínica, exame direto do escarro (gram) e contagem de leucócitos sanguíneos, em conjunto, mostraram valor preditivo positivo de 80,0% para a etiologia pneumocócica (BOHTE et al, 1996).

Outro fator também importante – além da colheita inadequada do material e do uso prévio de antibióticos – interferindo na interpretação e valorização diagnóstica do exame bacteriológico do escarro, é a contaminação que sofre o material ao transitar desde o pulmão, passando pela orofaringe e boca, estruturas que habitualmente contêm numerosos microorganismos, tanto aeróbios

como anaeróbios (SCHUSTER, 1999), especialmente várias espécies de estreptococos (CHOW, 2005). Sabe-se que quanto mais demorada for a semeadura do escarro após a colheita, mais problemática se torna a identificação dos germes na cultura, em especial do pneumococo, uma vez que o crescimento de microorganismos oriundos da orofaringe acaba prevalecendo. Uma amostra bem colhida de escarro, imediatamente processada e semeada, pode melhorar o rendimento do exame como um todo (THORSTEINSSON et al, 1999). Por outro lado, a demora no processamento do material – o que é comum acontecer na rotina de muitos serviços – o diminui, podendo torná-lo irrelevante para a tomada da decisão terapêutica (EWIG et al, 2002).

Quando há a necessidade de se identificar o germe causador da infecção (em geral grave e com má resposta aos esquemas terapêuticos prévios), no sentido de melhor orientar o tratamento, tentativas são feitas mesmo com o exame do escarro, ou então o material para exame é colhido da árvore brônquica ou do parênquima pulmonar através da broncoscopia, punção ou excisão, ou ainda a hemocultura poderá ser efetuada. A pesquisa de anticorpos e/ou antígenos no sangue e na urina podem ser também exploradas no caso de alguns microorganismos (MANDELL et al, 2000). Em cada uma dessas situações, rendimento, riscos e

benefícios do procedimento devem sempre ser avaliados e dimensionados. Contudo, mesmo com o emprego de todos esses testes, uma acurácia não superior a 50,0% é observada no que diz respeito ao diagnóstico etiológico das infecções pulmonares (GUZZETTA et al, 1983). Mesmo quando a colheita direta do material encontra-se facilitada, como no caso de pacientes em ventilação mecânica, o emprego de métodos mais sofisticados, tais como culturas quantitativas dos espécimes, não parece obter vantagens apreciáveis sobre procedimentos qualitativos mais simples, quanto ao desfecho dos casos (BERTON et al, 2008), ainda que, nesse tipo de paciente, as culturas quantitativas sejam usadas como padrão-ouro para avaliar resultados de outros métodos, como os do LBA corado pelo gram (DAVIS KA et al, 2005; RAGHAVENDRAN et al, 2007).

Os principais agentes que mais comumente infectam as vias aéreas inferiores de indivíduos imunocompetentes são *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* e os chamados agentes filtráveis (Vírus, *Mycoplasma pneumoniae*, e *Chlamydomphila pneumoniae*), sendo o *Streptococcus Pneumoniae* (Pneumococo) o que mais vezes é citado na literatura (NEILL, et al,

1996; GARCIA-VÁSQUEZ et al, 2004; DONOWITZ & MANDELL, 2005; YEN MY et al, 2005).

A recomendação dos consensos quanto à rotina do exame bacteriológico do escarro em pacientes com Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC) tem sido variável. Recente consenso da *Infectious Diseases Society of America and American Thoracic Society* (MANDELL et al, 2007) recomenda a utilização do exame do escarro como rotina nos pacientes com indicação de internação hospitalar, ou na ausência de resposta à terapia empírica, ou ainda na suspeita de germes previamente resistentes. A Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia recomenda, através de suas Diretrizes para o tratamento dessas pneumonias, que a solicitação do exame do escarro deve ser realizada em pacientes internados que consigam expectorar material purulento, ainda não tratados, ou que foram tratados e não apresentaram evidências de melhora (SBPT, 2004).

A importância de se determinar o agente etiológico nas infecções do trato respiratório inferior sustenta-se em sua potencialidade para definir o esquema terapêutico mais adequado em cada caso, na exclusão ou identificação de etiologias menos comuns, na seleção de drogas para prevenir resistência bacteriana, na identificação de etiologias de interesse epidemiológico e nas

informações sobre tendências de resistência bacteriana. Todavia, a comparação entre o uso de antibióticos especificamente dirigidos aos germes e antimicrobianos de largo espectro pode não mostrar diferenças quanto à efetividade no tratamento de pneumonias comunitárias (VAN DER EERDEN et al, 2005).

A bacterioscopia com a coloração de Gram, em material adequadamente processado e interpretado, por muitos considerada parte indispensável da investigação microbiológica do escarro, pode constituir-se em um indicador rápido e confiável para orientar o início da terapêutica em pacientes adultos com doença pulmonar de natureza infecciosa (BOERNER & ZWADYK, 1982; ADERAYE, 1994; SATO et al, 2002; DONOWITZ & MANDELL, 2005). Os resultados das culturas do escarro, mais demorados, por sua vez, devem manter a coerência com o que foi verificado nos achados bacterioscópicos, e interpretados lado a lado com os dados clínico-radiológicos e epidemiológicos (HEINEMAN et al, 1977; GUDIOL et al, 2000). Alguns estudos mostraram que o exame do escarro (gram e cultural), em uma amostra adequada, associado à detecção do antígeno pneumocócico, foi o modo mais rápido para estabelecer a etiologia da infecção respiratória (KALIN & LINDBERG, 1983; VAN DER EERDEN et al, 2005), e que a coloração de gram era um procedimento bastante específico para o diagnóstico de

Pneumococo e *H.influenzae*, podendo ser útil na orientação terapêutica (ROSON et al, 2000). Anteriormente, contudo, já havia sido mostrado que o exame cultural do escarro, realizado em pacientes com pneumonia pneumocócica bacteriêmica, não fora capaz de identificar em 40,0% a 50,0% das vezes o agente, mesmo quando ele era visualizado no exame direto do mesmo material (BARRET-CONNOR, 1971). Isto foi também verificado em 34,0% a 47,0% das culturas de escarro em casos de pneumonia por *H. influenzae* identificado por métodos mais invasivos (DAVIDSON et al, 1976). Em casos menos graves de pneumonias comunitárias, tem sido referido que o exame do escarro não acrescenta benefícios quanto ao manejo da infecção, e poucas vezes é ele efetuado (THEERTHAKARAI R, 2001). Por outro lado, em amostras aceitáveis de escarro obtidas de 220 pacientes com fibrose cística – em especial aqueles com mais de 5 anos de idade – os resultados do exame direto do escarro coincidiram com os da cultura em mais de 80.0% das vezes, ambos mostrando a presença de *Pseudomonas aeruginosa*, *P. cepacea*, *Staphylococcus aureus* e *Haemophilus influenzae* (SADEGHI et al, 1994). Estudo experimental usando modelo animal (ratos com pneumonia), comparando resultados da bacterioscopia e cultural no lavado bronco-alveolar com a histobacteriologia, apontou o exame direto

como sendo o mais acurado para o diagnóstico da infecção pulmonar provocada, especialmente quando macrófagos eram também identificados no mesmo espécime (BRANDÃO DA SILVA et al, 2007).

Uma amostra de escarro é considerada de boa qualidade quando à microscopia do material mostra predomínio do número de neutrófilos sobre o de células epiteliais, principalmente se ela contiver mais de 25 neutrófilos e menos 10 células epiteliais por campo de pequeno aumento (100x) (MURRAY PR & WASHINGTON JA III, 1975; HEINEMAN et al,1977; SBPT, 2004), não levando em conta outro tipo de célula.

De um modo geral, todavia, as amostras de escarro rotineiramente colhidas costumam acompanhar-se por significativa quantidade de saliva, a qual contém germes da boca, o que muitas vezes torna difícil, ao exame microbiológico, saber-se de onde o germe identificado é originário. Treinamento do pessoal para realizar esses procedimentos faz-se, assim, necessário no sentido da melhora do rendimento deste exame (FINE et al, 1991).

Uma pequena porção de escarro purulento, adequadamente colhido, distendido na lâmina após dele ser retirado o máximo possível de saliva, teria menor chance de sofrer a interferência

contaminante dos germes que existem na boca? A flora bacteriana encontrada ao exame direto desse material, no qual fosse também identificada a presença de macrófagos – tipo celular mais numeroso no interior dos alvéolos normais (SPANVELLO et al, 2000) –, poderia ser representativa auxiliando na indicação do agente da infecção pulmonar, como já sugerido (COURCOL et al, 1984)?.

OBJETIVOS

Geral

- Estudar as populações bacterianas (à bacterioscopia e ao exame cultural) e a celularidade observadas em exames simultâneos do escarro *dessalivado* e da saliva de pacientes com doença pulmonar infecciosa.

Específicos

- Verificar a interferência da via aérea superior e da cavidade oral na acurácia do exame bacteriológico do escarro.

- Analisar o que significa no exame direto do escarro a presença de macrófagos.

- Avaliar se o *dessalivamento* do escarro melhora o rendimento do exame microbiológico desse material.

METODOLOGIA

Nos períodos 1995-1997 e 2005-2007 foram estudados 164 pacientes adultos atendidos no Complexo Hospitalar da Santa Casa de Porto Alegre (RS) – 80 homens e 84 mulheres, com idades entre 22 e 92 anos (média de 57 anos), com evidências clínicas e radiográficas de doença infecciosa do trato respiratório inferior, e todos eliminando escarro purulento (Tabela 1). No primeiro período foram reunidos 102 casos; no segundo, 62 casos.

TABELA 01: 164 pacientes adultos (22 a 92 anos) com infecção do trato respiratório inferior e escarro purulento.

	N	%
HOMENS	80	48.8
MULHERES	84	51.2

Pneumonias, DPOC, Bronquiectasias infectadas, e Abscesso pulmonar foram as doenças mais freqüentemente diagnosticadas nesses pacientes, na rotina de atendimento assistencial, tanto em regime ambulatorial como hospitalar, a

partir de dados clínicos, laboratoriais e imagéticos (estudo radiológico simples de tórax, nas projeções pósterio-anterior e perfil e, quando julgado indicado, também investigação tomográfica).

Foram aceitas amostras de escarro obtidas com definitivo material purulento ou muco-purulento.

Os critérios de exclusão foram os seguintes:

- Ausência de purulência na amostra do escarro;
- Pacientes com mais de 48hs de uso de antibióticos;
- Ausência de saliva na amostra coletada (informação relatada pelo laboratório);
- Pacientes em uso de ventilação mecânica;
- Pacientes com tuberculose ou com micose pulmonar

As amostras de escarro foram obtidas espontaneamente pelos pacientes previamente e insistentemente instruídos sobre como proceder: limpeza da boca, material trazido pela tosse, recolhimento em frasco esterilizado e encaminhamento imediato para o laboratório. Não foram realizados procedimentos especiais (provocação) para a obtenção das amostras. Em 95,0% das vezes,

nesse grupo de 164 pacientes, a antibioticoterapia foi iniciada após a colheita do material.

No laboratório de bacteriologia, o processamento consistiu na separação dos grumos de pus com realização de exame bacterioscópico (germes e celularidade) e bacteriológico do escarro “*dessalivado*” e da saliva, buscados no mesmo material colhido (Figuras 01 e 02). Com uma alça de platina, recolhia-se um grumo do material purulento, o qual, após ser arrastado pela margem de uma lâmina, onde o excesso de saliva ficava retido (“*dessalivação*” do material), ele era distendido no centro da mesma lâmina e corado (Gram) (PETRILLO, 1991), e também cultivado em meio de rotina apropriado. Com outra alça de platina buscava-se, no mesmo frasco, o material não purulento, translúcido (saliva), que se encontrava em torno do grumo purulento, o qual era distendido em outra lâmina, corado pelo Gram, e cultivado no mesmo tipo de meio usado para a cultura do material purulento.

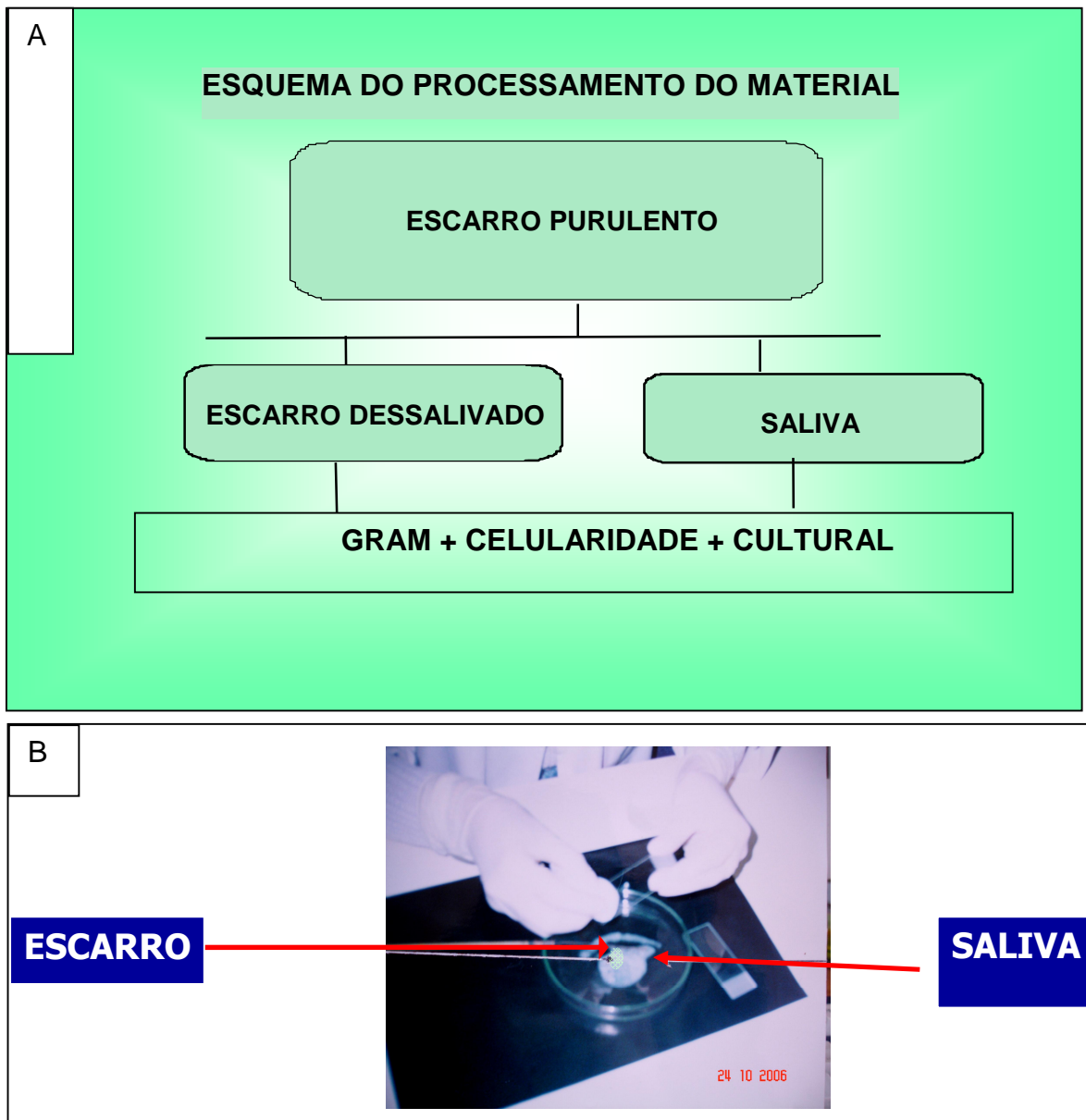


Figura 01 – Processamento. A) Esquema; B) Grumo purulento (escarro) e saliva da mesma amostra são separadamente processados para exame direto e para cultivo.

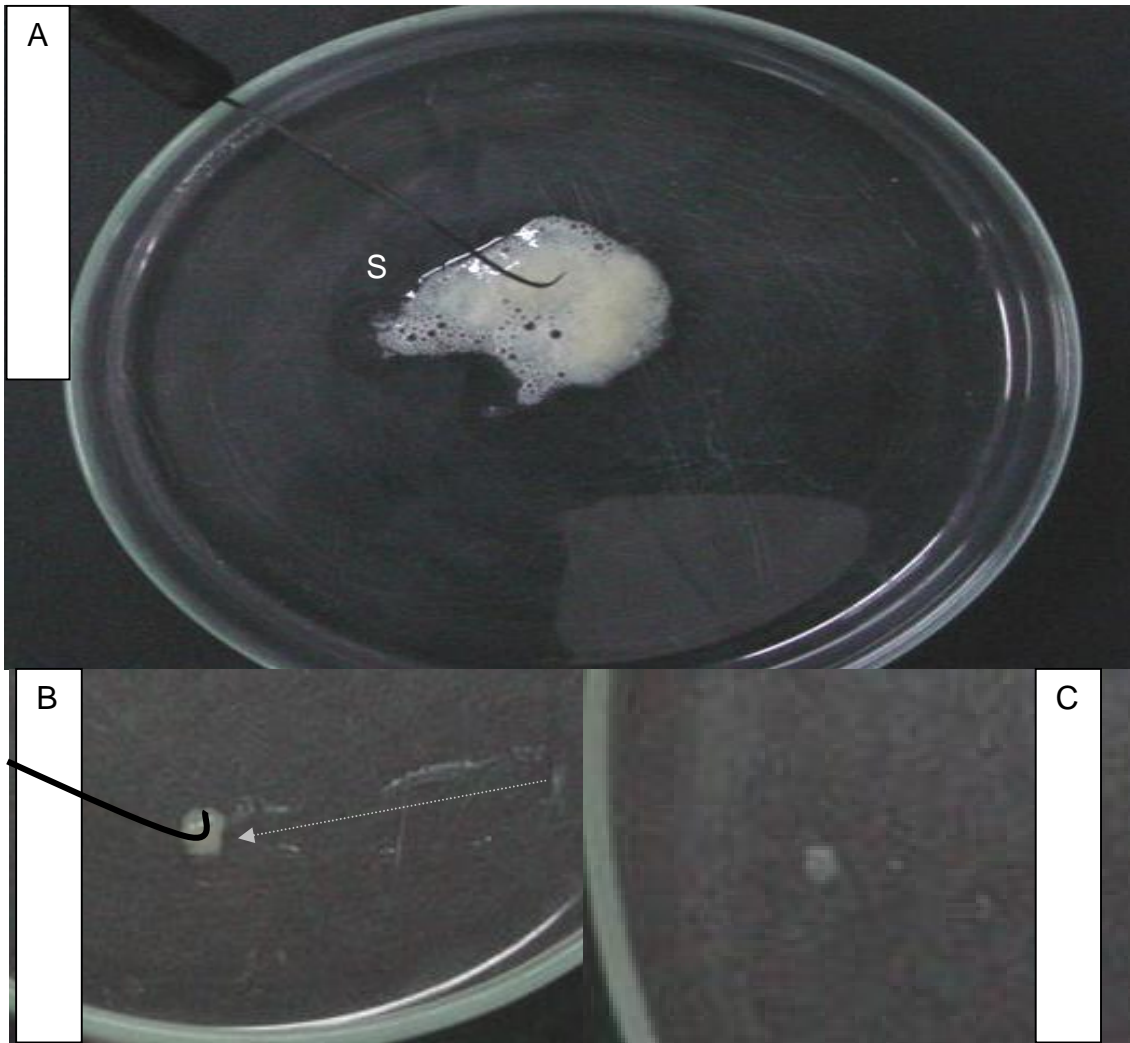


Figura 02 - Dessalivação. A) Com uma alça de platina recolhe-se um grumo purulento do material (escarro), o qual é inicialmente arrastado (B) pela superfície da placa (sentido da seta), por onde vai se depositando o excesso de saliva. A seguir, o grumo praticamente “seco” (C) é recolhido e distendido no centro de uma lâmina e corado pelo Gram. Com outra alça de platina recolhe-se uma porção do material translúcido (saliva - S) que circunda o escarro, com ela confeccionando-se outra lâmina, também corada pelo Gram. Tanto o escarro, como a saliva são, ainda, separadamente semeados em meio apropriado.

A leitura das lâminas (em microscopia de luz, com 100 aumentos) foi efetuada por mais de um microbiologista; mas, ao final do estudo, em cada uma dos períodos citados, elas eram revisadas por somente um deles, atuando como referência.

Na análise estatística usaram-se testes para comparação entre proporções (Qui-quadrado). O nível de significância adotado foi de 5,0 %.

O trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre-RS.

RESULTADOS

Pelo exame direto (GRAM) foram evidenciadas as presenças de flora mista em 3.7% das lâminas de escarro *dessalivado* (casos de abscesso pulmonar) e em 55.5% das lâminas da saliva; de cocos Gram positivos em 47.6% das lâminas de escarro e em 29.3% das lâminas de saliva; bacilos Gram negativos em 40.8% das lâminas de escarro e em 9.8% das de saliva – diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os dois materiais (tabela 02).

Tabela 02: Tipos de Germes encontrados no escarro e na saliva ao exame direto (coloração de Gram) em 164 pacientes adultos

GERMES	ESCARRO	SALIVA	P
COCOS GRAM (+)	78(47,6%)	48 (29,3%)	< 0,001
COCOS GRAM (-)	3 (1,8%)	4 (2,4%)	1,000
BACILOS GRAM (+)	0 (0,0%)	2 (1,2%)	0,478
BACILOS GRAM (-)	67 (40,8%)	16 (9,8%)	< 0,0001
FLORA MISTA	6 (3,7%)	91 (55,5%)	< 0,0001
AUSÊNCIA DE BACTERIAS	10 (6,1%)	3 (1,8%)	0,047

Cocos Gram negativos foram vistos em 1.8% das lâminas de escarro e em 2.4% das de saliva; bacilos Gram positivos em nenhuma das lâminas de escarro e em 1.2% das de saliva; e ausência de bactérias em 6.1% das lâminas de escarro e em 1.8% das de saliva.

No exame cultural, o mesmo microorganismo - na maioria das vezes *Streptococcus sp* - cresceu de modo predominante ou único em 61,0% das lâminas do escarro *dessalivado* e em 70,0% das amostras da saliva (tabela 03), não sendo observada diferença significativa entre o que foi encontrado nos dois materiais ($p = 0,081$). Nas amostras restantes, pneumococo, estafilococo e gram-negativos aeróbios foram observados mais vezes nas culturas do escarro que nas da saliva, também sem diferença apreciável

TABELA 03: Exames culturais do escarro e da saliva

CULTURAL (germe mais freqüente)	ESCARRO	SALIVA	P
<i>STREPTOCOCCUS sp</i>	100 (61,0%)	115 (70,1%)	0,081
<i>OUTROS GERMES</i>	56 (34,1%)	45 (27,5%)	0,188
<i>NEGATIVO</i>	8 (4,9%)	4(2,4%)	0,239

A presença de células mononucleares (macrófagos) nas lâminas de escarro *dessalivado* ocorreu em 100,0% dos casos, e em 6,7% nas da saliva. Células epiteliais, por outro lado, se mostraram presentes em 1,2% das lâminas do escarro *dessalivado* e em 94,0% nas lâminas de saliva (Tabela 04). Em relação aos leucócitos polimorfonucleares (PMN), eles foram vistos em 100,0% das lâminas de escarro *dessalivado* e em 97,0% das de saliva.

TABELA 04: Celularidade no escarro e na saliva

CELULARIDADE	ESCARRO DESSALIVADO	SALIVA	P
MACRÓFAGOS	164 (100,0%)	11 (6.7%)	< 0,0001
CÉLULAS EPITELIAIS	2 (1.2%)	154 (94,0%)	< 0,0001
LEUCÓCITOS (PMN)	164 (100,0%)	159 (97.0%)	0,0710

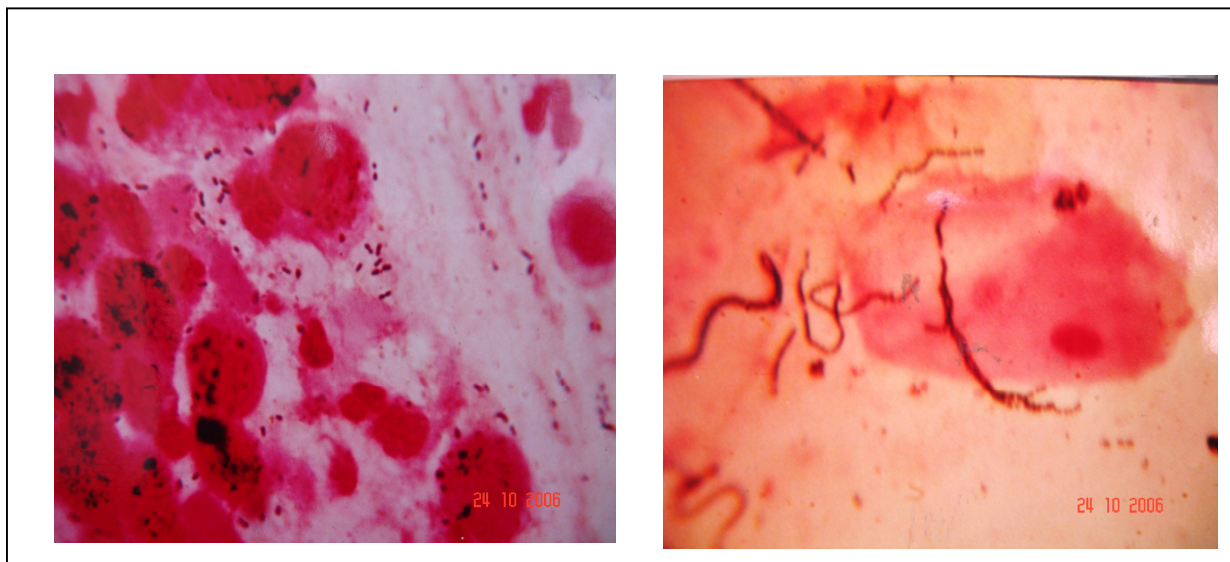
PMN: Polimorfonucleares

Segue-se a descrição de alguns casos ilustrativos, com apresentação de dados clínicos, radiográficos, exames diretos e culturais do escarro e da saliva (sempre da mesma amostra).

CASO 1 – Paciente feminina, 62 anos, com tosse, escarro purulento, dor no hemitórax esquerdo e febre. Hemograma com leucocitose e desvio à esquerda. Dentes em mau estado de conservação.



Figura 03 - RX tórax mostrando focos de consolidação na metade inferior do pulmão esquerdo



ESCARRO

Exame direto: Cocos Gram (+) aos pares, macrófagos e polimorfonucleares.
Exame cultural: Streptococcus sp

SALIVA

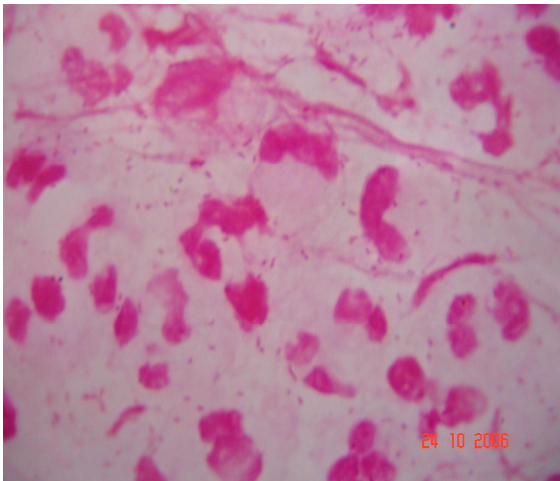
Exame direto: Cocos Gram (+) em cadeias, alguns bacilos Gram (-); célula epitelial e PMN.
Exame cultural: Streptococcus sp.

Conclusão diagnóstica: Pneumonia pneumocócica

CASO 2 – Paciente masculino, 72 anos, fumante, portador de DPOC, com tosse, expectoração purulenta, febre e aumento da dispnéia. Hipoxemia (SpO₂ 88,0%).

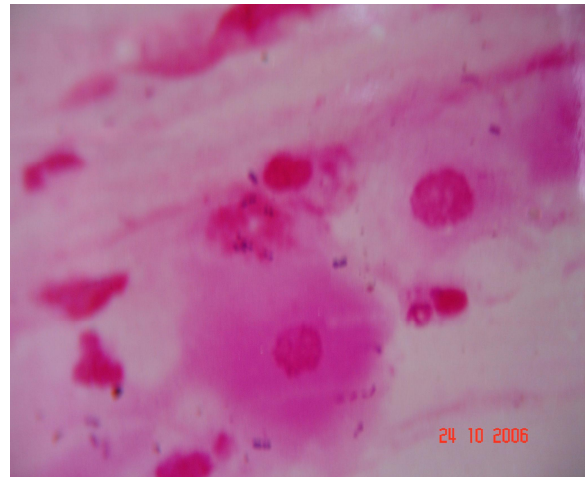


Figura 04 - Ao RX tórax, opacidades heterogêneas, predominando na metade inferior do pulmão direito.



ESCARRO

Ex direto: Presença de cocobacilos Gram(-), macrófagos e polimorfonucleares (PNM).
Exame cultural: Haemophilus, Streptococcus sp



SALIVA

Ex direto: Raros cocos Gram (+), presença de célula epitelial e de PNM
Exame cultural: Streptococcus sp.

Conclusão diagnóstica: Infecção por *Haemophilus*

CASO 3 – Paciente masculino, 36 anos, portador de fibrose cística, com tosse, expectoração piossanguinolenta e febre.

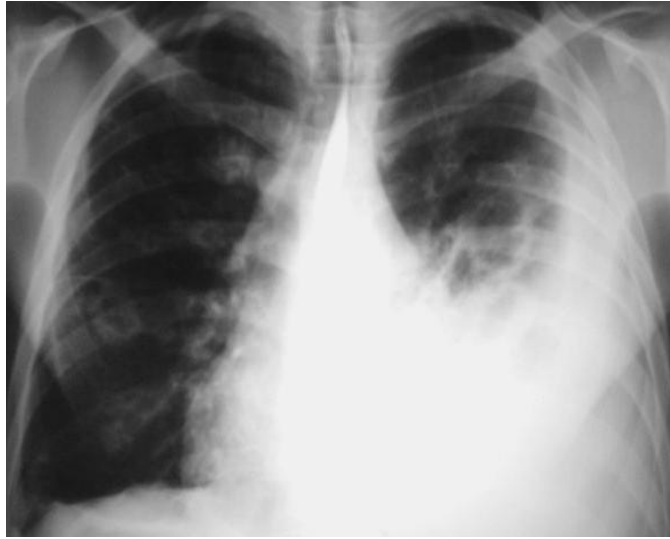
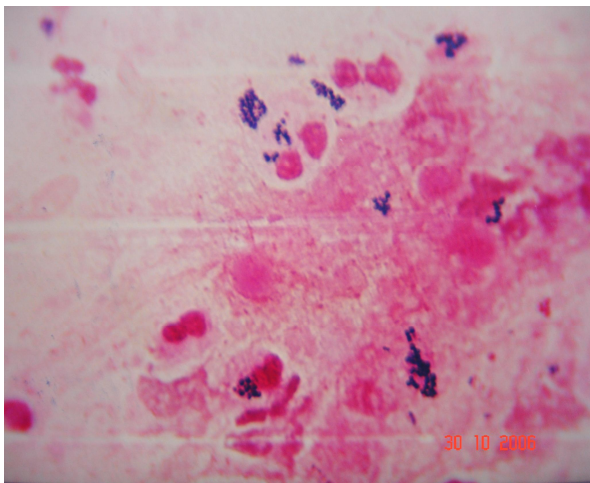


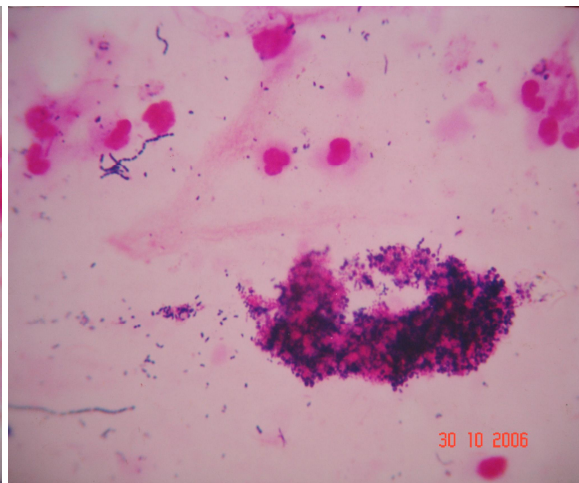
Figura 05 - Ao Rx de tórax, opacidade irregulares, cavidades com nível hidroaéreo em metades inferiores de ambos os pulmões. Ramos centrais da artéria pulmonar proeminentes Cúpulas diafragmáticas abaixada e retificadas.

ESCARRO



Ex direto: cocos Gram (+) em aglomerados, polimorfonucleares e macrófagos.
Exame cultural: *Staphylococcus aureus*

SALIVA



Ex direto: Cocos Gram (+) em cadeias, PMN, macrófagos, e artefato de coloração
Exame cultural: *Streptococcus* sp.

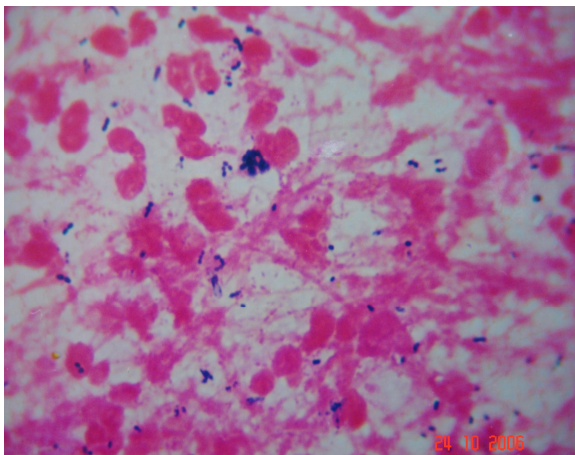
Conclusão diagnóstica: Broncopneumonia estafilocócica

CASO 4 – Paciente masculino, 76 anos, portador de DPOC. Dispnéia, tosse, expectoração purulenta, febre. Hipoxêmico e hipercápnico.

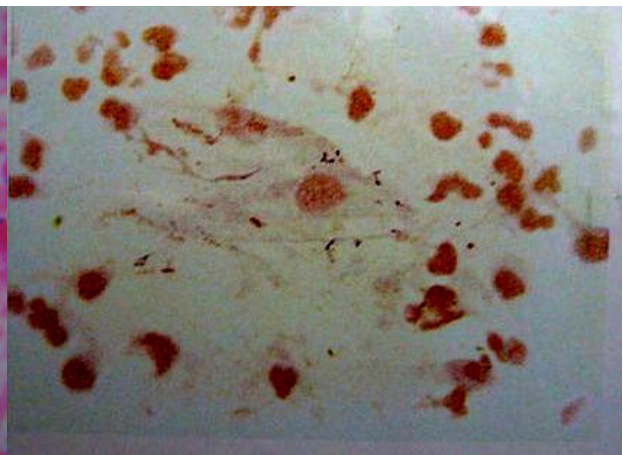


Figura 06 - Ao Rx de tórax, sinais de DPOC com predomínio de enfisema, focos de consolidação nas metades inferiores de ambos os pulmões.

ESCARRO



SALIVA



Exame direto: Cocos Gram (+) aos pares, cocobacilos Gram(-), PMN e macrófagos.
Exame cultural: Streptococcus pneumoniae

Exame direto: Raros cocos Gram (+), PMN, macrófagos e célula epitelial.
Cultura: Streptococcus pneumoniae.

Conclusão diagnóstica: Infecção por Pneumococo e Haemophilus

CASO 5 – Paciente masculino, 79 anos, portador de DPOC avançada, com dispnéia, tosse, expectoração purulenta, febre.

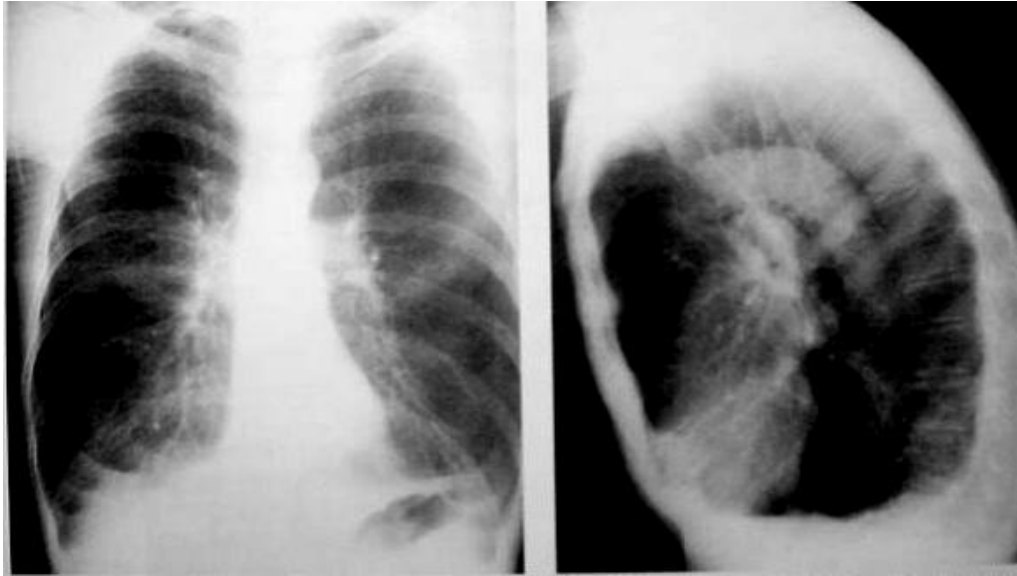
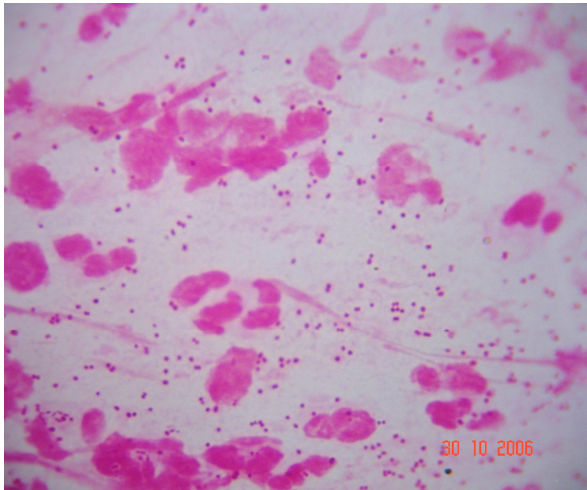


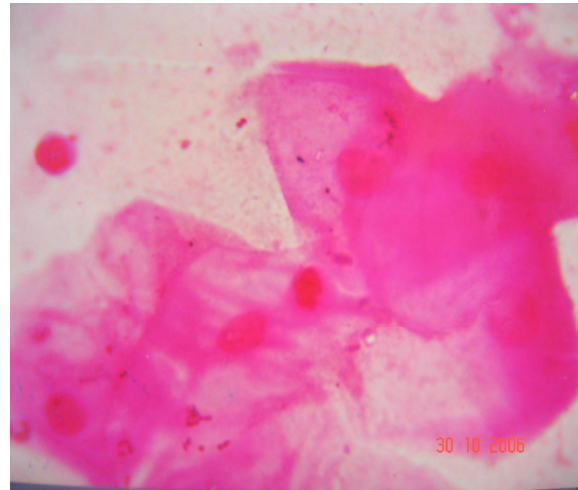
Figura 07 - Ao Rx de tórax, sinais de DPOC, algumas opacidades esparsas por ambos os pulmões, especialmente à esquerda.

ESCARRO



Exame direto: Vários diplococos Gram (-),
macrófagos e polimorfonucleares
Exame cultural: *Moraxella catarrhalis*

SALIVA



Exame direto: Raros diplococoss Gram (-), e
céluas epiteliais
Exame cultural: *Moraxella catarrhalis*

Conclusão diagnóstica: Infecção por *Moraxella catarrhalis*

CASO 6 – Paciente masculino, 43 anos. Dor torácica à esquerda, tosse com expectoração purulenta, febre. Lavador de paredes. Sorologia positiva para *Legionella pneumophila*.

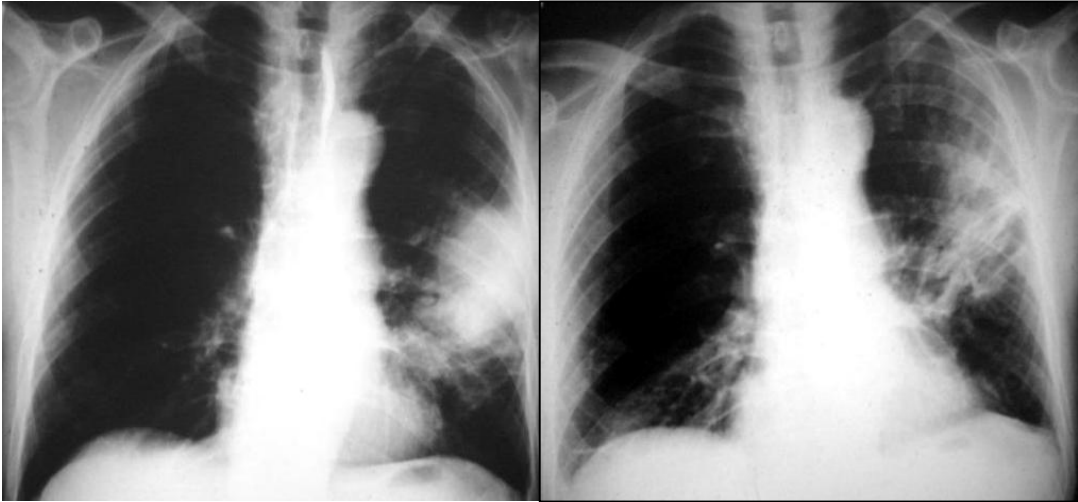
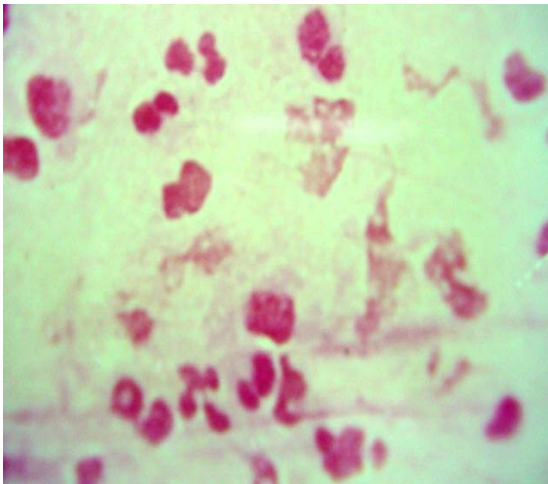


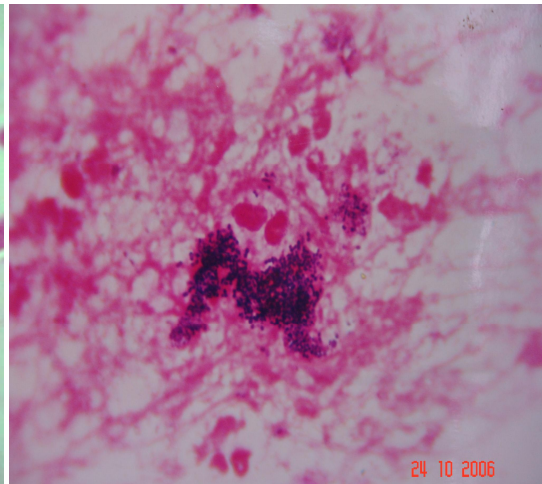
Figura 08 - Ao Rx de tórax, bloco de consolidação no terço médio do pulmão esquerdo, que se alastrou cranialmente no período de 4 dias.

ESCARRO



Exame direto: Ausência de bactérias;
presença de macrófagos e PMN
Exame cultural: Negativo

SALIVA



Exame direto: PMN; artefato de coloração.
Exame cultural: Streptococcus sp.

Conclusão diagnóstica: Pneumonia por Legionella

CASO 7 – Paciente masculino, 47 anos, com tosse, escarro piossanguinolento fétido, dor torácica à esquerda. Dentes em mau estado de conservação. Alcoolista

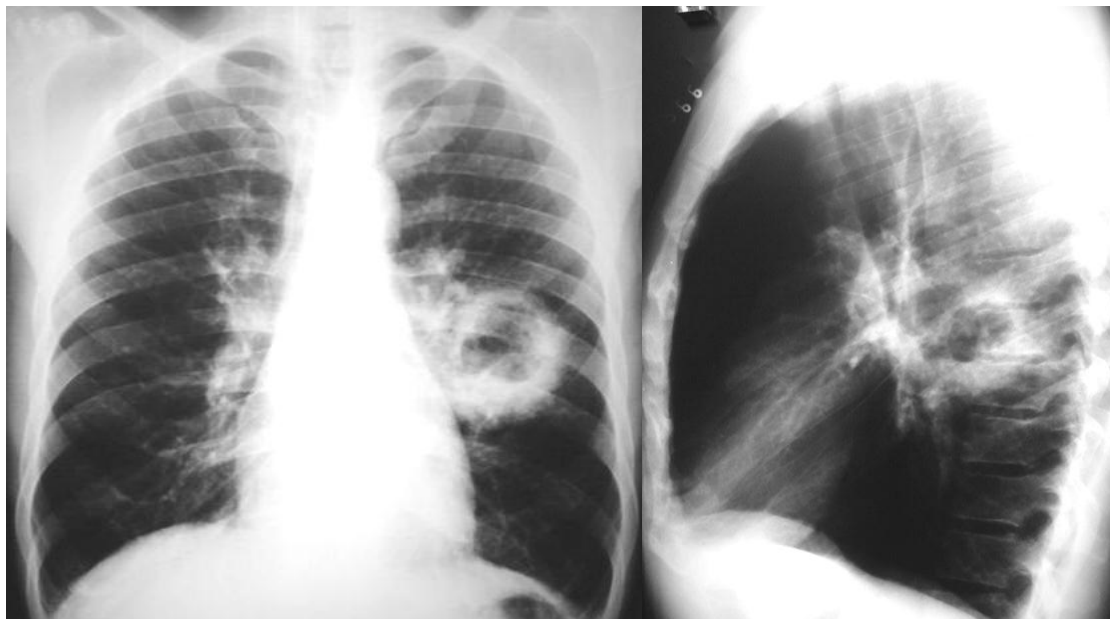
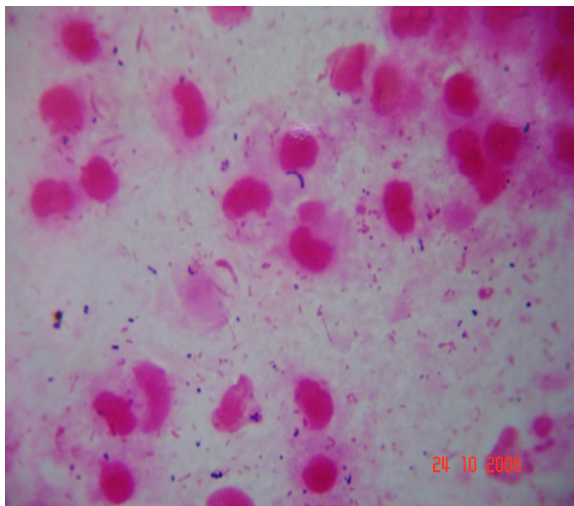
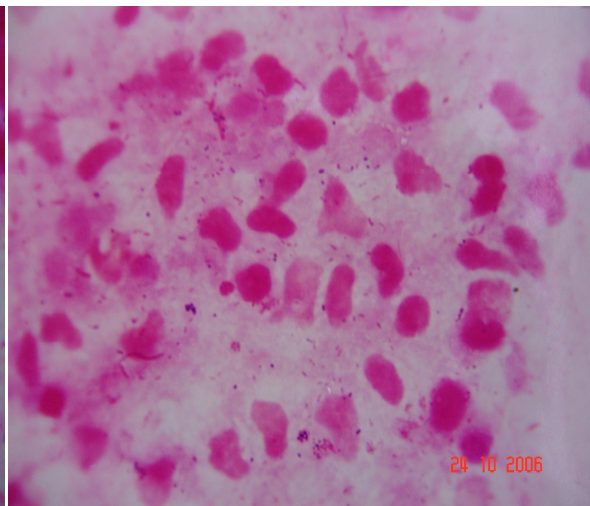


Figura 09 - Ao Rx tórax, lesão escavada, necrótica, com paredes espessas, no segmento superior do lobo inferior do pulmão esquerdo

ESCARRO



SALIVA



Exame direto: Bacilos Gram (-), cocos Gram (+) em cadeias, isolados e aos pares (flora mista); macrófagos e PMN.
Cultura (em aerobiose): Streptococcus sp

Exame direto: Bacilos Gram (-), cocos Gram (-); Macrófagos e PMN
Cultural: Streptococcus sp.

Conclusão diagnóstica: Abscesso pulmonar (por anaeróbios)

CASO 8 – Paciente masculino, 32 anos, com tosse, expectoração purulenta escassa, febre. Manifestações prévias em vias aéreas superiores. Sorologia positiva para *Mycoplasma pneumoniae*.

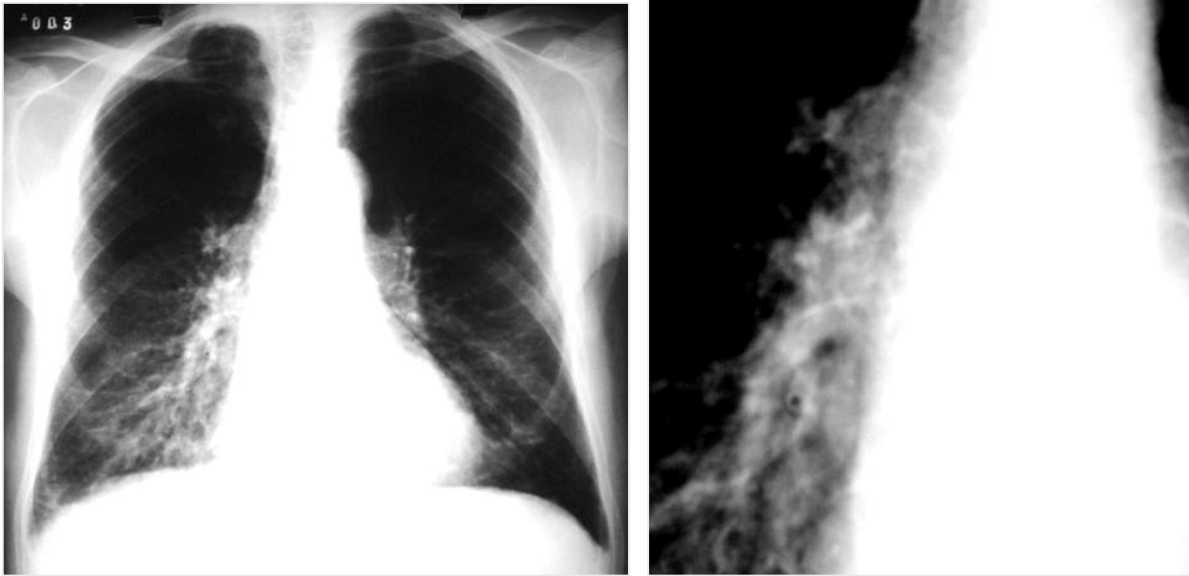
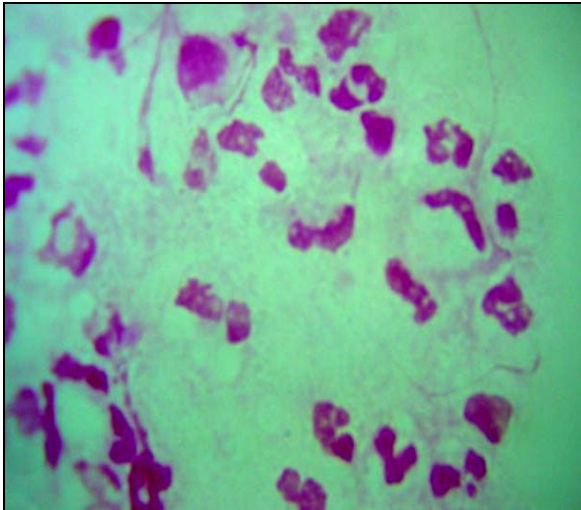


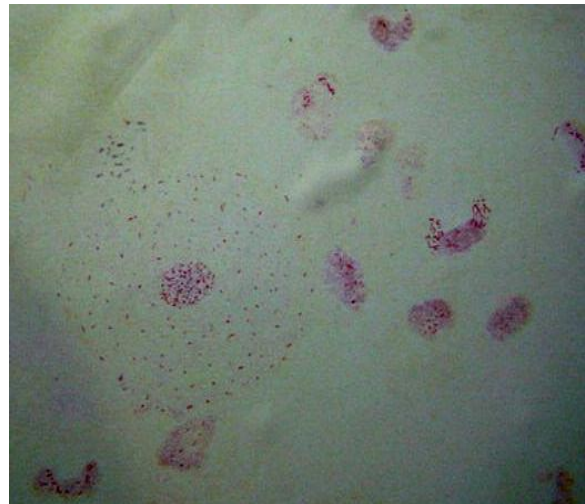
Figura 10 - Ao Rx de tórax, achados de uma broncopneumonia intersticial, envolvendo metades inferiores de ambos os pulmões, com paredes brônquicas espessadas.

ESCARRO



Exame direto: Ausência de bactérias, PMN e macrófagos.
Cultura: Negativa

SALIVA



Exame direto: Raros cocos Gram (+), célula epitelial, PMN
Cultura: Streptococcus sp.

Conclusão diagnóstica: Broncopneumonia por Mycoplasma

DISCUSSÃO

A contaminação bacteriana do escarro ao transitar pela orofaringe e boca certamente existe (SCHUSTERI, 1999; CHOW, 2005), interferindo no entendimento do que pode ser identificado no material e sua conseqüente valorização para o diagnóstico da infecção respiratória. A investigação microbiológica do escarro, tanto pela bacterioscopia como pela cultura tem suscitado permanentes discussões, controvérsias, diferentes tomadas de posição, por vezes até conflitantes (BARRET-CONNOR, 1971; DAVIDSON et al, 1976; KALIN & LINDBERG, 1983; EWIG et al, 2002; VAN DER EERDEN et al, 2005). Uma das razões para tais atitudes é a dificuldade de se precisar corretamente a procedência da flora identificada nesses exames: provêm do pulmão ou de estruturas supra-glóticas? Seria possível dissociar esses componentes, identificando-os melhor?

No presente trabalho, o esforço foi dirigido no sentido de avaliar se a introdução de pequenas e simples modificações na metodologia rotineiramente empregada na confecção do exame bacteriológico do escarro poderia adicionar alguma vantagem,

resultando em benefícios para o diagnóstico da doença pulmonar de natureza infecciosa.

A primeira e essencial medida a ser tomada é na etapa da colheita do material, orientando os pacientes, instruindo-os a obter secreção realmente de boa qualidade, proveniente de vias aéreas inferiores, trazida pela tosse, e não por manobra de aspiração da nasofaringe, ou tão somente colocando saliva no frasco. Diversas publicações registram a frequência com que a amostra do escarro encaminhada ao laboratório é inadequada (SAN PEDRO & CAMPBELL, 1997; DONOWITZ & MANDELL, 2005), ou, em apreciável número de casos, ele nem mesmo é colhido (REED et al, 1996). Esta etapa da coleta foi cuidadosamente e insistentemente cumprida.

Obtido o material, ele foi imediatamente processado, uma vez que a demora em fazê-lo compromete os resultados, especialmente da cultura, passando a predominar então o crescimento da flora bacteriana da boca e orofaringe (THORSTEINSSON et al, 1999). Já aqui, é provável que não se tenha conseguido um controle tão rígido. O número elevado de culturas mostrando crescimento de *Streptococcus sp*, tanto no escarro como na saliva, pode ser explicado, pelo menos em parte, pela ocorrência de alguma demora na semeadura do material. Mas isto pode também se dever ao fato

de a flora bacteriana da orofaríngea aeróbica crescer mais facilmente nos meios rotineiramente utilizados que os germes provenientes do pulmão, como o pneumococo (BARRET-CONNOR, 1971).

No grumo purulento (escarro) selecionado da amostra, “dessalivado”, distendido na lâmina e corado pelo gram, foi possível verificar à microscopia a presença de macrófagos e de polimorfonucleares em todas as preparações, e células epiteliais em quase nenhuma delas, enquanto que na saliva, processada do mesmo modo, as células epiteliais, além de polimorfonucleares, é que se mostraram numerosos, raramente observando-se alguma célula mononuclear. Cocos gram positivos e bacilos gram negativos ocorreram em número significativamente maior no escarro que na saliva; por outro lado, flora mista foi na maioria das vezes encontrada na saliva e, quando identificada também no escarro, o foi em casos de abscesso de pulmão (por anaeróbios). “Ausência de bactérias” no escarro ocorreu mais vezes em pacientes com infecção por agente filtrável (*Mycoplasma pneumoniae* ou por *Legionella*), germes que não são corados pelo gram, não sendo possível visualizá-los ao exame direto. Nos casos de abscesso pulmonar de aspiração (por germes anaeróbios), uma flora mista foi vista tanto no escarro como na saliva, o que poderia ser esperado,

uma vez que o inóculo aspirado para o pulmão é, de fato, originário da boca doente.

Os achados concordam com o ponto de vista corrente na literatura de que o diagnóstico das infecções respiratórias utilizando a investigação microbiológica do escarro deve compatibilizar os achados da cultura com o que é encontrado no exame direto (HEINEMAN et al,1977; GUDIOL et al, 2000). A celularidade presente na amostra do escarro tem sido valorizada, em especial o número elevado de polimorfonucleares e baixo de células epiteliais, como critério de amostra adequada do material (MURRAY PR & WASHINGTON JA III, 1975; MANDELL & DONOWITZ, 2005). O significado da presença de macrófagos – embora sejam os habitantes mais numerosos do interior dos alvéolos (SPANVELLO et al, 2000) – no material examinado, todavia, tem merecido menor atenção (COURCOL et al, 1984). No presente estudo, entretanto, o fato de esta célula ter sido identificada em todos os espécimes de escarro (grumo purulento), e poucas na saliva, poderia ser encarado como de importância para predizer a procedência alveolar do material colhido. Os germes associados a essas células, no exame direto, poderiam também vir do mesmo local.

Assim, a presença simultânea de bactérias e macrófagos ao exame direto do escarro adequadamente colhido e judiciosamente

processado, com mínima quantidade de saliva, poderia auxiliar na indicação do agente da infecção pulmonar, e ainda auxiliar na valorização do resultado das culturas.

CONCLUSÕES

A análise simultânea do escarro purulento “*dessalivado*” e da saliva, em material adequadamente colhido de 164 pacientes com infecção pulmonar, e imediatamente processado, permitiu as seguintes conclusões:

1. Ao exame direto (gram) os germes encontrados no escarro *dessalivado* foram significativamente diferentes ($p < 0.001$) e ocorreram geralmente em maior número que na saliva, o mesmo não ocorrendo com relação à cultura, crescendo na maioria das vezes, em ambos os materiais, o mesmo tipo de microorganismo (*Streptococcus sp*).
2. A presença de células mononucleares (macrófagos) encontradas no escarro foi significativamente maior ($p < 0,0001$) que a registrada na saliva (100,0% e 6,7%, respectivamente).
3. Células polimorfonucleares ocorreram de modo semelhante em ambos os materiais.
4. Os achados à bacterioscopia do escarro purulento, na presença simultânea de macrófagos, podem ser representativos do que está ocorrendo no compartimento alveolar do pulmão.

REFERÊNCIAS

ADERAYE. G. **The value of sputum gram stain in the diagnosis of pneumococcal pneumonia.** West Afr J Med. 1994;13(3):142-145.

ADERAYE. G. **The etiology of community acquired pneumonia in adults in Addis Abeba.** Respir Med. 2005; 99(9).1079-1086.

ARANCIBIA F, BAUER TT, EWIG S, MENSA JM GONZALEZ J, NIEDERMAN MS, et al. **Community-acquired pneumonia due to gram-negative bacteria and pseudomonas aeruginosa: incidence, risk, and prognosis.** Am J Respir Crit Care Med. 2001; 163(3 pt 1): 645-651.

BARRET-CONNOR E. **The non-value of sputum cultures in the diagnosis of pneumococcal pneumonia.** Am Rev Respir Dis 1971; 103(6):845-848.

BARTLETT JG, DOWELL SF, MANDELL LA, FILE Jr TM, MUSER DM, FINE MJ. **Practice guidelines for management of community-acquired pneumonia in adults.** Clin Infec Dis 2000; 31(2):347-382.

BELLIVEAU P, HICKINGBOTHAM N, MADERAZO EG, MAZENS-SULLIVAN M, ROBINSON AI. **Institution-specific patterns of infection and Gram's**

stain as guides for empiric treatment of patients hospitalized with typical community-acquired pneumonia. JAMA, 1982 5; 247(5):642-645.

BERTON DC, KALIL AC, CAVALCANTI M, TEIXEIRA PJ. **Quantitative versus qualitative cultures of respiratory secretions for clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia.** Cochrane Database Syst Rev. 2008 Oct 8;(4):CD006482.

BOERNER DF, ZWADYK P. **The value of the sputum gram's stain in community-acquired pneumonia.** JAMA, 1982; 247(5):642-645.

BOHTE R, HERMANS J, VAN DER BROEK PJ. **Early recognition of Streptococcus pneumonia in patients with community-acquired pneumonia.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis.1996;15(3):201-205.

BRANDÃO DA SILVA N, MARTINS L, MARTINS F, ANFLOR J Jr, TONIETTO T, KOEFENDER C, CARDOSO PG, MOREIRA J. **Direct examination and cultures of bronchoalveolar lavage in pneumonia diagnosis: a comparative experimental study.** Intensive Care Med. 2007; 33(10):40-47.

CHOW AW. **Infections of Oral Cavity, Neck, and Head.** In Mandel GL et Al: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Elsevier, Philadelphia 2005; c.57, p.787-802.

CORRÊA RA, LOPES RM, OLIVEIRA LM, CAMPOS FT, REIS MA, ROCHA MOI. **Estudo de casos hospitalizados por pneumonia comunitária no período de um ano.** J Pneumol. 2001:27(5):243-248.

COURCOL RJ, DAMIEN JM, RAMON P, VOISIN C, MARTIN GR. **Presence of alveolar macrophages as a criterion for determining the suitability of sputum specimens for bacterial culture.** Eur j Clin Microbiol 1984; 3(2):122-125.

DAVIDSON M, TEMPEST B, PALMER DL.. **Bacteriologic diagnosis of acute pneumonia: Comparison of sputum, transtracheal aspirates, and lung aspirates.** JAMA 1976; 235:158-163.

DAVIS KA, ECKERT MJ, REED RL 2nd, ESPOSITO TJ, SANTANIELLO JM, POULAKIDAS S, LUCHETTE FA.. **Ventilator-associated pneumonia in injured patients: do you trust your Gram's stain?** J Trauma 2005; 58(3):462-466.

DON M, FASOLI L, PALDANIUS M, VAINIONPAA R, KLEEMOLA M, RARY R, et al. **Aetiology of community-acquired pneumonia: serological results of a paediatric survey.** Chest. 2000 Nov;118(5):1344-1354.

DONOWITZ GR, MANDELL GL. **Acute Pneumonia.** In Mandel GL et Al: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Elsevier, Philadelphia 2005; c.61, p.819-845.

DRUMMOND P, CLARK J, WHEELR J, GALLOWAY A, FREEMAN R, CANT A. **Community acquired pneumonia-- a prospective UK study.** Scand J Infect Dis 2005; 37(11-12):806-812

EL-SOLH AA, SIKKA P, RAMADAN F, DAVIES J. **Etiology of severe pneumonia in the very elderly.** Intern Med J 2005; 35(12):699-705.

ENDEMAN H, SCHELFHOUT V, VOORN GP, VAN VELZEN-BLAD H, GRUTTERS JC, BIESMA DH. **Clinical features predicting failure of pathogen identification in patients with community acquired pneumonia.** Scand J Infect Dis 2008;40(9):715-720.

EWIG S, SCHLOCHTERMEIER M, GOKE N, NIEDERMAN MS. **Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions.** Chest 2002;121(5):1486-1492.

FINE MJ, ORLOFF JJ, RIHS JD, VICKER RM, KOMINOS SN, KAPOOR WN et al. **Evaluation of housestaff physicians' preparation and interpretation of sputum Gram stains for community-acquired pneumonia.** J Gen Intern Med 6(3):189-198.

GARCIA-VÁSQUEZ E, MARCOS MA, MENSA J, DE ROUX A, PUIG J, FONT C, et al. **Assessment of the Usefulness of Sputum Culture for Diagnosis of Community-Acquired Pneumonia Using the PORT Predictive Scoring System.** Arch Intern Med 2004;164(16):1807-1811

GEORGES H, LEROY O, VANDENBUSSCHE C, GUERY B, ALFANDRI S, TRONCHON L, et al. **Epidemiological features and prognosis of severe community-acquired pneumococcal pneumonia.** Intensive Care Med 1999; 25(2):198-206

GOWARDMAN J, TRENT L. **Severe community acquired pneumonia: a one-year analysis in a tertiary referral intensive care unit.** N Z Med J. 2000 May 12; 113(1109):161-164.

GUZZETTA P, TOEWS GB, ROBERTSON KJ, PIERCE AK. **Rapid diagnosis of community-acquired bacterial pneumonia.** Am Rev Respir Dis 1983; 128(3):461-464.

HEDLUND J. **Community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Factors of importance for the short-and long term prognosis.** Scand J Infect Dis Suppl 1995; 97:1-60.

HEINEMAN HS, CHAWLA JK, LOPTON WM. **Misinformation from sputum cultures without microscopic examination.** J Clin Microbiol 1977; 6(5):518-527.

KALIN M, LINDBERG A.A. **Diagnosis of pneumococcal pneumonia: a comparison between microscopic examination of expectorate, antigen detection and cultural procedures.** Scand J Infect Dis 1983; 15(3):247-255.

KARALUS NC, CURSONS RT, LENG RA, MAHOOD CB, ROTHWELL RP, HANCOCK B, et al. **Community acquired pneumonia: aetiology and prognostic index evaluation.** Thorax 1991; 46(6):413-418.

LAUDERDALE TL, CHANG FY, BEN R, YUN H, NIN Y, TSAI J, et al. **Etiology of community acquired pneumonia among adult patients requiring hospitalization in Taiwan.** Respir Med. 2005; 99(9):1079-1086.

LEROY O, SANTRE C, GEORGES H, GUERY B, JACQUIER JM, BEAUCAIRE G, et al. **A five-year study of severe community-acquired pneumonia with emphasis on prognosis in patients admitted to an intensive care unit.** Intensive Care Med 1995; 21(1):24-31.

LIEBERMAN D, SCHLAEFFER F, BOLDUR IDA, HOROWITZ S, FRIEDMAN MG, LEIONONEN M, et al. **Multiple pathogens in adult patients admitted with community-acquired pneumonia: a one year prospective study of 346 consecutive patients.** Thorax 1996; 51(2):179-184.

LUNA CM, FAMIGLIETTI A, ABSI R, VIDELA AJ, NOGUEIRA FJ, FUENZALIDA AD, et al. **Community-acquired pneumonia: etiology, epidemiology, and outcome at a teaching hospital.** Chest 2000; 118(5):1344-1354.

MALCOLM C, MARRIE TJ. **Antibiotic therapy for ambulatory patients with community-acquired pneumonia in an emergency department setting.** Arch Intern Med 2003. 163(7):797-802.

MANDELL A.L.. **Community-acquired pneumonia. Etiology, epidemiology, and treatment.** Chest 1995; 108 (2 Suppl):35S-42S.

MANDELL A.L, WUNDERINK RG, ANZUETO A, BARTLETT JG, CAMPBELL GD, DEAN NC, et al. **Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults.** Clin Infect Dis 2007; 44(Suppl 2):S27-S72.

MANDELL A.L, MARRIE JT, GROSSMAN RF, CHOW AW, CHOW AW, HYLAND RH, et al. **Summary of Canadian guidelines for the initial management of community – acquired pneumonia: an evidence – based update y the Canadian infectious disease society and the Canadian thoracic society.** Can Respir J 2000; 7 (5):371-382.

MARRIE TJ, POULIN-COSTELLO M, BEECROFT MD, HERMAN-GNJIDIC Z. **Etiology of community-acquired pneumonia treated in an ambulatory setting.** Respir Med. 2005; 99(1):60-65.

MICHELOW IC, OLSEN K, LOZANO JM, ROLLINS NK, DUFFY LB, ZIEGLER T, et al. **Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children.** Pediatrics 2004; 113(4):701-707

MILLS GD, OEHLLEY MR, ARROL B. **Effectiveness of beta lactam antibiotics compared with antibiotics active against atypical pathogens in non-severe community-acquired pneumonia: meta-analysis.**BMJ 2005; 330(7489):456.

MURRAY PR, WASHINGTON JA III. **Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum.** Mayo Clin Proc 1975; 50(6):339-344.

MUSHER DM, MONTOYA R, WANAHITA A. **Diagnostic value of microscopic examination of Gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia.** Clin Infect Dis. 2004;39(2):165-169.

NAIR B; STAPP J, et al. **Utility of gram staining for evaluation of the quality of cystic fibrosis sputum samples.** J Clin Microbiol. 2002 Aug;40(8):2791-2794.

NAMIAS N, HARVILL S, BALL S, MCKENNEY MG, SLEEMAN D, LADHA A, et al. **A reappraisal of the role of Gram's stains of tracheal aspirates in guiding antibiotic selection in the surgical intensive care unit.** J Trauma 1998; 44(1):102-106

NEILL AM, MARTIN IR, WEIR R, ANDERSON R, CHERESHKY, EPTON MJ, et al. **Community acquired pneumonia: aetiology and usefulness of severity criteria on admission.** Thorax 1996; 51(10):1010-1016.

NIEDERMAN MS, BASS JB Jr, CAMPBELL GD, FEIN AM, GROSSMAN RF, MANDELL LA, et al. **Guidelines for the initial management of adults with communit-acquired pneumonia: diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy.** Am Rev Respir Dis 1993; 148(5):1418-1426.

PETRILLO VF. **Bacteriologia do Escarro.** In Correa da Silva LC: Compêndio de Pneumologia, 2ª Ed., Byk, São Paulo, 1991. C.24, p.226-231.

RAGHAVENDRAN K, WANG J, BELBER C, MISRA SR, BRUNTON K, BERBARY 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):1377-1382

REED WW, BYRD GS, GATES RH Jr, HOWARD RS, WEAVER MJ. **Sputum gram's stain in community-acquired pneumococcal pneumonia. A meta-analysis.** West J Med 1996;165(4):197-204.

REIN MF, GWALTNEY JM Jr, O'BRIEN WM, JENNINGS RH, MANDELL GL. **Accuracy of Gram's stain in identifying pneumococci in sputum.** JAMA. 1978; 239(25):2671-2673.

RILEY PD, ARONSKY D, DEAN NC. **Validation of the 2001 American Thoracic Society criteria for severe community-acquired pneumonia.** Crit Care Med. 2004;32(12):2398-2402.

ROSON B, CARRATALA J, VERDAGUER R, DORCA J, MANRESA F, GUDIOL F. **Prospective study of the usefulness of sputum Gram stain in the initial approach to community-acquired pneumonia requiring hospitalization.** Clin Infect Dis 2000; 31(4):869-874.

RUIZ M, EWIG S, TORRES A, ARANCIBIA F, MARCO F, MENSA J, et al. **Severe community-acquired pneumonia. Risk factors and follow-up epidemiology.** Am J Respir Crit Care Med 1999;160(3):923-929.

SADEGHI E, MATLOW A, MACLUSKY I, KARMALI MA, et al. **Utility of gram stain in evaluation of sputa from patients with cystic fibrosis.** J Clin Microbiol 1994; 32(1):54-58.

SAN PEDRO GS, CAMPBELL GD Jr. **Limitations of diagnostic testing in the initial management of patients with community-acquired pneumonia.** Seminar Respir Infect 1997;12(4):300-307.

SATO T, AOSHIMA M, OHMAGARI N, TADA H, CHOHNABAYASHI N. **Usefulness of sputum Gram staining in community-acquired pneumonia.** Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi 2002; 40(7):558-563.

SCHUSTER GS. **Oral flora and pathogenic organisms.** Infect Dis Clin North Am 1999; 13(4):757-774.

SIGNORI L, FERREIRA M, VIEIRA L, MULLER K, MATTOS W. **Empiric sputum examination in the clinical management of community-acquired pneumonia.** J Bras Pneumol 2008; 34(3):152-158.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. **Diretriz para Tratamento de Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC) em Adultos Iminucompetentes.** J Bras Pneumol 2004; 30(Supl 4):S1-S24.

SPANVELLO A, CONFALONIERI M, SULOTTO F, ROMANO F, BALZANO G, MIGLIOTI GB et AL. **Induced sputum cellularity. Reference values and distribution in normal volunteers.** Am J Respir Crit Care Med 2000;162(3 Pt 1):1172-1174.

THEERTHAKARAI R, EL-HALEES W, ISMAIL M, SOLIS RA, KHAN MA. **Nonvalue of the initial microbiological studies in the management of nonsevere community-acquired pneumonia.** Chest 2001;119(1):181-184.

THORSTEINSSON SB, MUSER DM, FAGAN T. **The diagnosis value of sputum culture in acute pneumonia.** JAMA 1975; 233(8):894-895.

VAN DER EERDEN MM, VLASPOLDER F, DE GRAAFF CS, et al. **Value of intensive diagnostic microbiological investigation in low- and high-risk patients with community-acquired pneumonia** .Eur J Clin Microbiol Infect Dis.2005;24(4):241-249.

VAN DER EERDEN MM, VLASPOLDER F, DE GRAAFF CS, GROOT T, BRONSVELD W, JANSEN HM, et al. **Comparison Value between pathogen directed antibiotic treatment and a empirical broad spectrum antibiotic in patients with community acquired pneumonia: a prospective randomized study.**Thorax 2005; 60(8):672-678.

YEN MY, HU BS, CHEN YS, LEE SS, LIN YS, WANN SR, et al. **A prospective etiologic study of community-acquired pneumonia in Taiwan.** J Formos Med Assoc 2005; 104(10):724-730.