

## COMPARAÇÃO ENTRE A CULTURA DE MATERIAL OBTIDO POR ASPIRAÇÃO TRANSTRAQUEAL E POR EXPECTORAÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO DA FLORA BACTERIANA NO TRATO RESPIRATÓRIO BAIXO \*

Maria Elizabeth GIMENEZ \*\*  
Luiz Carlos PEREIRA \*\*  
Dilma Scala GELLI \*\*\*  
Gil Vital Alvares PESSÓA \*\*\*  
Mancel Novais PAPALEO \*\*

RIALA6/455

GIMENEZ, M.E.; PEREIRA, L.C.; GELLI, D.S.; PESSÓA, G.V.A. & PAPALEO M.N. — Comparação entre a cultura de material obtido por aspiração transtraqueal e por expectoração para a determinação da flora bacteriana no trato respiratório baixo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(1):43-49, 1978.

**RESUMO:** Procedeu-se à cultura quantitativa do material obtido por aspiração transtraqueal e do obtido por expectoração espontânea de 27 pacientes hospitalizados, afetados por infecções traqueobrônquicas e pulmonares, agudas ou crônicas. Nenhum dos pacientes havia recebido tratamento antimicrobiano prévio. Os resultados revelam que a cultura do escarro tem valor diagnóstico nos isolados das diluições maiores ou iguais a  $10^{-8}$ , equiparando-se aos isolamentos do material aspirado. A cultura quantitativa é de utilidade no estabelecimento da etiologia, patogenia e terapêutica para recuperação do paciente.

**DESCRIPTORIOS:** escarro, cultura; escarro, flora bacteriana; doenças do trato respiratório, bacteriologia do escarro.

### INTRODUÇÃO

O diagnóstico e tratamento das infecções tranqueobrônquicas e pulmonares necessita, em nosso meio, de orientação laboratorial efetiva e segura. A análise bacteriológica do escarro, via de regra, fornece informações pobres e falsas acerca do agente etiológico. Isso porque a expectoração espontânea permite a contaminação do escarro pelos microrganismos presentes no trato respiratório alto (flora

bacteriana nasal e orofaríngea). Essa contaminação é inevitável e influi na qualidade e grau de confiança dos resultados de cultura; além disso, quer pela contaminação, quer pelas características próprias do microrganismo patogênico presente, as bactérias se distribuem irregularmente no escarro<sup>10, 11, 12</sup>.

Na tentativa de se reduzirem as causas de erro do exame bacteriológico do escarro têm sido propostas técnicas de colheita e de tratamento laboratorial da amostra, tais como o

\* Realizado na Unidade de Pneumologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP., e na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da U.S.P.

\*\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

uso de cateteres per orais e nasais, de broncoscópios e de lavagens sucessivas do escarro, a fim de evitar, diminuir ou eliminar a flora contaminante das vias aéreas superiores. Porém, essas técnicas não se mostraram efetivas<sup>3, 4, 17</sup>.

PECORA & BROOK<sup>14</sup>, em 1959, propuzeram e desenvolveram a técnica de obtenção de amostra por punção transtraqueal, adaptação da técnica amplamente usada em Anestesiologia (aplicação anestésica transtraqueal)<sup>3, 7</sup> e que é relativamente segura. A qualidade de amostra obtida por este método é extremamente adequada<sup>14, 15, 16, 23</sup>. Análises comparativas revelam que o material aspirado é equivalente ao material obtido dos brônquios e pulmões, nas toracotomias. O trabalho de Pecora foi confirmado por outros pesquisadores, como KALINSKE *et alii*<sup>8</sup>, HAHN & BEATY<sup>9</sup>, SCHREINER<sup>24</sup>, BJERKESTRAND<sup>1</sup>, SCHOUTENS<sup>10</sup>, SCHOUTENS *et alii*<sup>20</sup> e DE COSTER *et alii*<sup>5</sup>.

O método laboratorial da análise quantitativa de escarro foi introduzido por LOURIA<sup>11</sup> em 1962. Porém KILBOURN *et alii*<sup>6</sup> e PIETLE *et alii*<sup>18</sup> obtiveram resultados contraditórios quando usaram esse método. Avaliações da cultura de escarro em dias sucessivos, na vigência e após processos infecciosos, fornecem informações quanto à interrelação das bactérias presentes, eficiência da antibioticoterapia usada, mudança da flora bacteriana e ocorrência de superinfecções<sup>18, 22</sup>.

O presente trabalho tem por finalidade comparar os resultados da cultura quantitativa do escarro e da cultura do material aspirado obtido por punção transtraqueal, assim como estabelecer parâmetros que permitam avaliar qual a densidade bacteriana presente no escarro, significativa de infecções broncopulmonares.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Seleção dos pacientes

Os 27 pacientes hospitalizados foram selecionados com base em elementos clínicos, radiológicos e hematológicos (conforme tabela 1). Nenhum dos pacientes havia recebido tratamento antibiótico e/ou quimioterápico prévio; a determinação da atividade protrombínica e a contagem de plaquetas dos mesmos indicavam ausência de possíveis transtornos hemorrágicos motivados pela técnica de coleta.

### 2. Técnica de coleta dos materiais

2.1 *Escarro*: primeira expectoração espontânea, colhida pela manhã, com o paciente ainda em jejum e imediatamente após a higiene oral — remoção das próteses dentárias,

dentescovados e a boca enxaguada, por bochechos, com água. O material expectorado é recolhido em frasco estéril.

2.2 *Material aspirado*: logo após a colheita do escarro, obtém-se o material aspirado, segundo a técnica que se segue e conforme a figura abaixo:

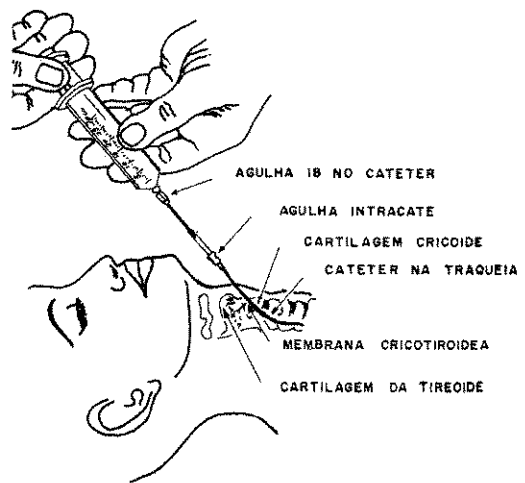
a) paciente deitado com um coxim sob os ombros para a hiperextensão adequada do pescoço, assepsia da face anterior do pescoço com solução de mertiolato (merthiolate) e aplicação do anestésico em um botão intradérmico logo abaixo da cartilagem tireóide. Como anestésico, utiliza-se lidocaína a 2%, sem adrenalina;

b) perfuração da membrana crico-tireoideana, com agulha 14 do intracate; o cateter, então, é rapidamente introduzido na traquéia, através da agulha colocada no sentido caudal; após a introdução do cateter, retira-se a agulha da traquéia;

c) injeção de 2 a 4 ml de solução de cloreto de sódio a 0,9%, estéril, pelo cateter, a fim de se provocar paroxismo de tosse;

d) aspiração da secreção pelo cateter até a seringa;

e) remoção do cateter, fazendo-se pressão no local da punção por 3 a 5 minutos, para assegurar a hemostasia.



Técnica de coleta de material por aspiração transtraqueal

### 3. Análise laboratorial

As amostras são encaminhadas imediatamente para o laboratório, que as processa preferencialmente de imediato. Caso não seja possível, as amostras são refrigeradas a 4°C por, no máximo, 8 horas.

O procedimento laboratorial é descrito a seguir:

a) preparo de esfregaços dos materiais, em lâminas: os esfregaços, de ambos os materiais, são corados pelo método de Gram, para a observação das formas bacterianas predominantemente fagocitadas (no interior de leucócitos) e pelo método de Ziehl-Neelsen, para a pesquisa de presença ou ausência de bacilos álcool-ácido resistentes;

b) liquefação das amostras, por mistura de volumes iguais do material e de N-acetil-cisteína, a 2%; a mistura, colocada em tubo estéril com 5 esferas de vidro de 5 mm (pérolas de vidro), é homogeneizada em um agitador tipo Vortex, por um minuto; a concentração final do escarro e/ou do aspirado, imediatamente após a liquefação, é de 1/2;

c) preparo das diluições: a diluição  $10^{-1}$  é obtida diluindo-se 1 ml da solução homogeneizada em 4 ml de solução tampão-fosfato (pH 6,8); as demais diluições são obtidas em série, colocando-se 0,1 ml da diluição precedente em 9,9 ml de solução tampão-fosfato; as diluições de trabalho são  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-7}$  e  $10^{-8}$ ;

d) com o auxílio de uma alça calibrada, é semeado 0,01 ml de cada diluição em uma placa de ágar-sangue e 1 placa de ágar-chocolate; o material de diluição  $10^{-1}$ , além das placas já citadas, é também semeado em ágar-eosina — azul de metileno (0,01 ml), ágar Sabouraud (1 ml) e meio de Löwenstein-Jensen (1 ml). Todos os meios semeados são incubados adequadamente;

e) após a incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}/24-48$  h, as placas de ágar-sangue, ágar-chocolate e ágar-eosina — azul de metileno são lidas (contagem, isolamento e identificação das colônias); as diluições de leitura são, respectivamente,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  e  $10^{-11}$ , por causa da alíquota semeada (0,01 ml);

f) após a identificação procede-se ao antibiograma das bactérias que cresceram concomitantemente no material aspirado e nas últimas diluições do material expectorado; para o antibiograma, usam-se substâncias antimicrobianas de valor terapêutico nas infecções broncopulmonares.

### RESULTADOS

Os resultados das culturas estão expressos na tabela 2, que relaciona microrganismos que cresceram nas maiores diluições do material expectorado, e em até que diluição houve o

crescimento desses microrganismos no material aspirado. Nas diluições menores do escarro, detecta-se também a presença de outros germes, participantes da flora do trato respiratório superior. Nas sementeiras das diluições do material aspirado, não houve desenvolvimento desses germes contaminantes.

O significado estatístico dos resultados é avaliado pelo método de Wilcoxon. Para a cultura do material aspirado, estabelece-se o valor 2; para a do expectorado, o valor 0 (zero) para a diluição  $10^{-7}$ , o valor 1 para a diluição  $10^{-8}$ , e o valor 2 para a de  $10^{-11}$ . A média dos resultados é 9,259, o desvio padrão é 2,211 e o intervalo de confiança vai de 8,286 até 10,132. Adota-se o nível de confiança de 5%. Pelo teste de Wilcoxon o T obtido é de 14, para um T crítico, a 5%, de 17, do que se conclui que não houve diferença significativa entre os resultados da cultura do material expectorado e do aspirado.

### DISCUSSÃO

Considerando-se as diluições iguais ou maiores que  $10^{-8}$ , os resultados obtidos das culturas quantitativas do material expectorado espontaneamente e do obtido por aspiração se correlacionam estatisticamente<sup>2, 9, 8</sup>. Os microrganismos que crescem nas diluições menores que  $10^{-8}$  podem ser considerados contaminantes do trato respiratório alto quando o material é o escarro, com excessão dos bacilos álcool-ácido resistentes. Essa conclusão é semelhante à de Pirtle, quando trabalhou com pacientes afetados por pneumonias bacterianas<sup>20</sup>.

A análise microscópica do esfregaço dos materiais analisados confirma os resultados de cultura — as formas bacterianas localizadas intraleucocitariamente são as que crescem nas diluições maiores — e auxilia na presunção precoce do agente etiológico. A pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes é importante para excluir possível infecção pelo agente. O exame microscópico do material corado pelo método de Gram e pelo de Ziehl-Neelsen é auxiliar na suspeição de ocorrência de pneumopatia por fungos.

A técnica de cultura quantitativa do escarro é por nós recomendada, sobretudo pela superioridade dos resultados e porque permite corrigir erros inerentes à técnica da cultura qualitativa deste material:

a) com a liquefação e homogeneização do escarro, obtemos uma amostra homogênea; a alíquota semeada não é constituída por saliva e as bactérias estão regularmente distribuídas, mesmo o *Diplococcus pneumoniae* e o *Haemophilus influenzae* que podem estar irregularmente distribuídas no material expectorado<sup>1, 2</sup>, evitando-se pois, resultados falsos de cultura;

TABELA 1

Elementos de caracterização clínica, radiológica e hematológica dos pacientes

Paciente	Elementos clínicos		Interpretação da Radiologia	Elementos hematológicos	
	Febre	Expectoração purulenta		Leucocitose	Desvio à esquerda
1	+	+	Bronquiectasia bilateral e pneumonite crônica L.I.E.	+	+
2	+	+	Neoplasia abscedada de L.S.D.	++	++
3	+	+	Pneumonia segmentar de base D.	++	++
4	-	+	Bronquite, peribronquite, enfisema e espessamento pleural	-	++
5	+	+	Pneumonia de L.I.E.	++	++
6	+	+	Pneumonia de L.I.D.	++	++
7	+	+	Supuração crônica de pulmão E.	++	++
8	+	+	Pneumonia de L.I.E.	++	++
9	+	+	Broncopneumonia à E.	++	++
10	+	+	Abscesso de pulmão à D.	-	++
11	+	+	Bronquite crônica	+	++
12	+	+	Bronquite crônica, bronquiectasia e enfisema	-	++
13	+	+	Bronquiectasia bilateral	+	++
14	+	-	Lesão pulmonar abscedada	-	-
15	+	+	Pneumonia lobar	++	++
16	+	+	Bronquite e broncopneumonia à E.	++	++
17	-	+	Pulmão policístico	-	++
18	-	+	Bronquiectasia bilateral	-	++
19	+	+	Pneumonia abscedada	+	++
20	+	+	Bronquiectasia bilateral	+	++
21	+	+	Pulmão policístico	-	++
22	+	+	Pulmão policístico	+	++
23	+	+	Bronquiectasia bilateral	++	++
24	+	+	Bronquiectasia bilateral	++	++
25	+	+	Abscesso de L.S.D.	++	++
26	+	+	Pneumonia de L.I.D.	++	++
27	+	-	Pneumonia de L.I.D.	+	+

L.I.E. = lobo inferior esquerdo

L.S.D. = lobo superior direito

L.I.D. = lobo inferior direito

E. = esquerdo

D. = direito

+ positivo

- negativo

GIMENEZ, M. E.; PEREIRA, L. C.; GELLI, D. S.; PESSOA, G. V. A. & PAPALEO, M. N. — Comparação entre a cultura de material obtido por aspiração transtraqueal e por expectoração para a determinação da flora bacteriana no trato respiratório baixo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(1):43-49, 1978

TABELA 2

Estudo comparativo entre os resultados dos exames bacteriológicos do material expectorado e do material aspirado através de punção transtraqueal

Paciente	Material expectorado		Material aspirado	
	Maior diluição positiva	Cultura positiva, na maior diluição, para:	Maior diluição positiva	Cultura positiva, até a maior diluição, para:
1	10 <sup>-9</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp., Estrept. $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-7</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp., Estrep. $\alpha$ hemolítico
2	10 <sup>-11</sup>	Pneumococo, Estrep. $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-9</sup>	Pneumococo, Estrept. $\alpha$ hemolítico
3	10 <sup>-11</sup>	Pneumococo	10 <sup>-7</sup>	Pneumococo
4	10 <sup>-9</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-7</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico
5	10 <sup>-9</sup>	Pneumococo	10 <sup>-7</sup>	Pneumococo
6	10 <sup>-9</sup>	Pneumococo	10 <sup>-7</sup>	Pneumococo
7	10 <sup>-9</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-9</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico
8	10 <sup>-11</sup>	Pneumococo	10 <sup>-9</sup>	Pneumococo
9	10 <sup>-11</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>-9</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>
10	10 <sup>-11</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-11</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico
11	10 <sup>-9</sup>	<i>Enterobacter</i> sp.	10 <sup>-9</sup>	<i>Enterobacter</i> sp.
12	10 <sup>-9</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp., Estrep. $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-9</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp., Estrept. $\alpha$ hemolítico
13	10 <sup>-7</sup>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , Pneumococo	10 <sup>-5</sup>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , Pneumococo
14	10 <sup>-1</sup>	Bacilo álcool-ácido resistente	10 <sup>-1</sup>	Bacilo álcool-ácido resistente
15	10 <sup>-9</sup>	Bacilo difteróide	10 <sup>-7</sup>	Bacilo difteróide
16	10 <sup>-11</sup>	<i>Haemophilus</i> sp.	10 <sup>-11</sup>	<i>Haemophilus</i> sp.
17	10 <sup>-9</sup>	<i>S. epidermidis</i> , Estrep. $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-3</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp.
18	10 <sup>-9</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-7</sup>	Estrept. $\alpha$ hemolítico
19	10 <sup>-9</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>-9</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>
20	10 <sup>-9</sup>	<i>Branhamella catarrhalis</i>	10 <sup>-7</sup>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
21	10 <sup>-11</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico	10 <sup>-7</sup>	Estreptococo $\alpha$ hemolítico
22	10 <sup>-11</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp.	10 <sup>-11</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp.
23	10 <sup>-11</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp.	10 <sup>-11</sup>	<i>Pseudomonas</i> sp.
24	10 <sup>-9</sup>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 <sup>-3</sup>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
25	10 <sup>-7</sup>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , Pneumococo	—	Negativa
26	10 <sup>-9</sup>	Pneumococo	—	Negativa
27	10 <sup>-9</sup>	Estrept. $\beta$ hemolítico <i>N. pharyngis</i>	—	Negativa

GIMENEZ, M. E.; PEREIRA, L. C.; GELLI, D. S.; PESSOA, G. V. A. & PAPALEO, M. N. — Comparação entre a cultura de material obtido por aspiração transtraqueal e por expectoração para a determinação da flora bacteriana no trato respiratório baixo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(1):43-49, 1978

b) a N-acetil-cisteína, além do efeito específico como agente liquefaciente do escarro, tem função na eliminação de substâncias inibidoras de certos microrganismos, como por exemplo o *Haemophilus influenzae*; o processo de lavagens sucessivas do escarro, já citado, tem também a finalidade de retirar essas substâncias inibidoras<sup>3</sup>;

c) a diluição seriada para a cultura permite a avaliação da densidade populacional das bactérias no escarro; admitindo-se que há multiplicação do agente etiológico durante o processo infeccioso, como conseqüência lógica este agente se encontra em número superior ao dos microrganismos contaminantes da flora oronasofaríngea, sendo essa avaliação quantitativa de importância para o estabelecimento da etiologia da infecção;

d) pelo exposto, quando se consegue cultura do agente etiológico pela diluição seriada, está-se eliminando outra fonte de erro: se o agente etiológico for de crescimento lento, sua presença pode ser mascarada por outro microrganismo, de crescimento menos lento ou rápido, na cultura qualitativa.

Ainda, como decorrência da análise da tabela 2, chamamos a atenção para se reavaliarem determinados conceitos, sobretudo da presença de novas espécies bacterianas, colonizando patogenicamente o trato respiratório baixo, como o *Staphylococcus epidermidis* e bacilo difteróide, de ocorrência de superinfecções (diluição 10<sup>-11</sup> positiva, sugerindo que diluições maiores também podem ser positivas), e de ocorrência de infecções mistas.

## CONCLUSÕES

Do presente trabalho concluímos que:

a) o diagnóstico bacteriológico correto é fundamental para a prática médica: determina a etiologia, avalia a ocorrência de superinfecções ou de infecções mistas, o que permite estabelecer uma antibioticoterapia adequada, prevenindo a possível ocorrência de efeitos colaterais indesejáveis de uma medicação não dirigida (que pode conduzir a uma superinfecção e/ou a uma infecção mista), e reduz o tempo de permanência do paciente no hospital, diminuindo o custo do tratamento;

b) a técnica da cultura quantitativa do escarro é eficiente e superior à da cultura qualitativa;

c) o microrganismo isolado das diluições do escarro, maiores ou iguais a 10<sup>-8</sup>, pode ser considerado o agente etiológico da infecção;

d) apesar de a técnica da punção transtraqueal para se obter o material aspirado ser segura, não deve ser usada rotineiramente por se tratar de um método de colheita invasivo;

e) a técnica de cultura quantitativa do escarro, fornecendo informações seguras acerca da etiologia da infecção do trato respiratório baixo, deve ter ampla aceitação.

Sugerimos que pesquisas correlatas, incluindo o acompanhamento clínico do paciente até seu restabelecimento, sejam feitas, tendo em vista a terapêutica antimicrobiana sugerida pelo laboratório, estabelecendo precisamente o valor diagnóstico da técnica aqui descrita.

RIALA6/455

GIMENEZ, M.E.; PEREIRA, L.C.; GELLI, D.S.; PESSÔA, G.V.A. & PAPALEO, M.N. — Comparison between transtracheal aspiration and quantitative cultivation of sputum for establishing the bacterial flora of the lower respiratory tract. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(1):43-49, 1978.

SUMMARY: Serial quantitative cultures of fresh homogenized sputum and transtracheal aspirate were made on the admission of 27 patients with infection of the lower respiratory tract. The patients had not received prior antimicrobial treatment. A comparison of the results showed correlation when the germs were found in the sputum in concentrations greater than 10<sup>-8</sup> per ml. This technique is within the reach of most laboratories capable of identifying organisms causing bronchopulmonary infection and may find wide acceptance.

DESCRIPTORS: sputum culture; sputum, bacterial flora; respiratory tract diseases, bacteriology of sputum.

GIMENEZ, M.E.; PEREIRA, L.C.; GELLI, D.S.; PESSÓA, G.V.A. & PAPALEO, M.N. — Comparação entre a cultura de material obtido por aspiração transtraqueal e por expectoração para a determinação da flora bacteriana no trato respiratório baixo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(1):43-49, 1978

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BJERKESTRAND, G.; DIGRANES, A. & SCHREINER, A. — Bacteriological findings in transtracheal aspirates from patients with chronic bronchitis and bronchiectasis. A preliminary report. *Scand. J. resp. Dis.*, 56: 201-7, 1975.
2. BONICA, J.J. — Transtracheal anesthesia for endotracheal intubation. *Anesthesiology*, 10: 736-8, 1949.
3. BROWN, Jr., C.C.; COLEMAN, M.B.; ALLEY, R.D.; STRANAHAN, A. & STUART-HARRIS, C.H. — Chronic bronchitis and emphysema: significance of the bacterial flora in the sputum. *Am. J. Med.*, 17: 478-84, 1954.
4. BRUMFITT, W.; WILLOUGHBY, M.L.N. & BRONLEY, L.L. — An evaluation of sputum examination in chronic bronchitis. *Lancet*, 273: 1306-8, 1957.
5. DE KOSTER, J.P.; VEREERSTRACHTEN, J. & SCHOUTENS, E. — Transtracheal puncture in the etiological diagnosis of bronchopulmonary infections. *Lille méd.*, 21(2): 108-15, 1976.
6. HAHN, H.H. & BEATY, H.N. — Transtracheal aspiration in the evaluation of patients with pneumonia. *Ann. intern. Med.*, 72(2): 133-7, 1970.
7. HARKINS, D.E. & SALZBERG, A.M. — Transtracheal anesthesia for bronchoscopy. *New Engl. J. Med.*, 239: 333-5, 1948.
8. KALINSKE, R.W.; PARKER, R.H.; BRANDT, D. & HOEPRICH, P.D. — Diagnostic usefulness and safety of transtracheal aspiration. *New Engl. J. Med.*, 276: 604-8, 1967.
9. KILBOURN, J.P.; CAMPBELL, R.A.; GRACH, J.L. & WILLIS, M.D. — Quantitative bacteriology of sputum. *Am. Rev. resp. Dis.*, 98: 831-8, 1968.
10. LAPINSKI, E.M.; FLAKAS, E.D. & TAYLOR, B.C. — Evaluation of some methods for culturing sputum from patients with bronchitis and emphysema. *Am. Rev. resp. Dis.*, 89: 760-3, 1964.
11. LOURIA, D.B. — Uses of quantitative analysis of bacterial populations in sputum. *J. am. méd. Ass.*, 182: 106-10, 1962.
12. MAY, J.R. — The bacteriology of chronic bronchitis. *Lancet*. 263: 1206-7, 1952.
13. MAY, J.R. — The bacteriology of chronic bronchitis. *Lancet*, 264: 534-7, 1953.
14. PECORA, D.V. & BROOK, R. — A method of securing uncontaminated tracheal secretions for bacterial examination. *J. thorac. Surg.*, 37: 653, 1959.
15. PECORA, D.V. & BROOK, R. — Comparison of transtracheal aspiration with other methods of determining the bacterial flora of the lower respiratory tract. *New. Engl. J. Med.*, 26: 664-6, 1963.
16. PECORA, D.V. & KOHL, M. — Transtracheal aspiration in the diagnosis of acute lower respiratory tract infection. *Am. Rev. resp. Dis.*, 86: 755-8, 1962.
17. PECORA, D.V. & YEGIAN, D. — Bacteriology of the lower respiratory tract in health and chronic diseases. *New Engl. J. Med.*, 258: 71-4, 1958.
18. PIRTLE, J.K.; MONROE, P.W.; SMALLEY, T.K.; MOHR, J.A. & RHOADES, E.R. — Diagnostic and therapeutic advantages of serial quantitative cultures of fresh sputum in acute bacterial pneumonia. *Am. Rev. resp. Dis.*, 100: 831-8, 1969.
19. SCHOUTENS, E. — Study of bacterial flora obtained by tracheal puncture in infectious pneumopathies. *Acta clin. belg.*, 26: 73-94, 1971.
20. SCHOUTENS, E.; DEMARTEAU, C. & DE KOSTER, J.P. — Advantages of transtracheal puncture in the diagnosis of infection pneumopathies due to Gram-negative bacilli (excluding haemophilus). *Lille méd.*, 21: 144-8, 1976.
21. SCHREINER, A. — Transtracheal aspiration in the diagnosis of lower respiratory tract infection. *Scand. J. infect. Dis.*, 4: 49-52, 1972.
22. TILLOTSON, J.R. & FINLAND, M. — Bacterial colonization and clinical superinfection of the respiratory tract complicating antibiotic treatment of pneumonia. *J. infect. Dis.*, 119: 597-624, 1969.
23. TRANSTRACHEAL aspiration. *New. Engl. J. Méd.*, 269: 703, 1963.

Recebido para publicação em 15 de setembro de 1977.

