

RECIBIDO:
29 abril 2022
APROBADO:
5 agosto 2022

Concordancia del antígeno de galactomanano en lavado broncoalveolar broncoscópico y mini lavado broncoalveolar a ciegas

Galactomannan Antigen Concordance in Bronchoscopic Bronchoalveolar Lavage and Blind Mini Bronchoalveolar Lavage

Isabel Villanueva
0000-0002-7892-2449
Nicolás Arechavaleta
0000-0002-4526-024X
Eduardo Quintana
0000-0002-2509-3042
Jimena Núñez
0000-0001-7130-9214
María Pía González
0000-0002-0730-2939
Mauricio Carbia
0000-0002-5560-654X
Pablo Álvarez
0000-0002-1053-313X
Federico Verga
0000-0002-7917-1616
Ana Gruss
0000-0002-9616-7985

Isabel Villanueva¹, Nicolás Arechavaleta^{1,2}, Eduardo Quintana², Jimena Núñez², María Pía González³, Mauricio Carbia³, Pablo Álvarez⁴, Federico Verga⁴, Ana Gruss^{1,2}

1. Instituto del Tórax, Cátedra de Neumología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; Hospital Maciel, Montevideo, Uruguay
2. Unidad de endoscopia respiratoria, Hospital Maciel, Montevideo, Uruguay
3. Departamento de Laboratorio de Patología Clínica, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
4. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Maciel, Montevideo, Uruguay

AUTOR CORRESPONSAL:
Isabel Villanueva isabel.vi.se@gmail.com

Resumen

Introducción: las neumonías virales aumentan la susceptibilidad de sobreinfecciones fúngicas. Con la pandemia COVID-19, se reportaron múltiples casos de aspergilosis pulmonar invasiva asociada a COVID-19 (CAPA), lo que aumentó la mortalidad. No se recomienda realizar broncoscopia cursando COVID-19 dado el riesgo de aerosolización. Surgen entonces nuevas técnicas como el mini lavado broncoalveolar (LBA) a ciegas. Al no existir puntos de corte para la positividad del antígeno de galactomanano (GM) en muestras respiratorias no obtenidas por broncoscopia, surge la necesidad de validar la medición de GM en muestras obtenidas mediante mini LBA a ciegas.

Objetivo: valorar la concordancia de medición de GM en muestras respiratorias obtenidas mediante mini LBA a ciegas y LBA por broncoscopia.

Materiales y métodos: realizamos un estudio prospectivo, observacional y analítico, incluyendo pacientes ingresados en cuidados intensivos con sospecha de CAPA, que requirieron obtención de muestras respiratorias para estudio de GM. En todos se obtuvieron muestras de LBA y mini LBA a ciegas en un mismo procedimiento. Se consideró positivo GM mayor a 1.

Resultados: se estudiaron 11 pacientes, se diagnosticaron 6 (54.5%) casos positivos para CAPA mediante LBA broncoscópico. La sensibilidad del mini LBA fue 33% y la especificidad 100%; valor predictivo positivo 100% y valor predictivo negativo 55%. El coeficiente de correlación de concordancia fue de 0,28 (IC -0,078 a 0,57), lo que mostró pobre concordancia entre ambos métodos.

Conclusiones: el test de GM por mini LBA podría resultar un buen método confirmatorio, mientras que un resultado negativo no descarta CAPA.

Palabras clave: Aspergilosis pulmonar, COVID-19, galactomanano, lavado broncoalveolar.

Keywords: pulmonary aspergillosis, COVID-19, galactomannan, bronchoalveolar lavage.

Abstract

Introduction: viral pneumonias increase the susceptibility to develop fungal secondary infections. With COVID-19 pandemic, multiple cases of invasive pulmonary aspergillosis associated with COVID-19 (PAAC) have been reported, increasing mortality. It is not recommended to perform bronchoscopy during COVID-19 illness given the risk of aerosolization, so new techniques such as mini bronchoalveolar lavage (BAL) emerge. The necessity to perform a validating task for the galactomannan (GM) measurement in samples obtained through mini-BAL emerges from the absence of cutting points for the GM antigen positivity in respiratory samples non obtained by bronchoscopy.

Aim: to validate the concordance of GM measurement in respiratory samples obtained through mini-BAL and BAL by bronchoscopy.

Material and methods: observational and analytical prospective study. Patients admitted to intensive care unit with suspected PAAC who were asked to obtain respiratory samples for MG study were included. In all the cases, BAL and mini-BAL samples were obtained in one same procedure. It was considered positive GM with a value higher than 1.

Results: 11 patients were studied, 6 (54.5%) cases were diagnosed positive for PAAC through bronchoscopic BAL. The mini-BAL sensitivity was 33% and the specificity 100%; predictive positive value 100% and negative predictive value 55%. The concordance correlation coefficient was 0,28% (IC -0,078 a 0,57), which showed a poor concordance between both methods.

Conclusion: The GM test through mini-BAL could prove to be a fine confirmatory method, while a negative result does not discard PAAC.

Introducción

Las neumonías virales aumentan la susceptibilidad de los pacientes a desarrollar sobreinfecciones bacterianas o fúngicas, incluida la aspergilosis pulmonar invasiva (API). Independientemente de los factores del huésped, esto se debe en parte a los mismos virus respiratorios que causan daño directo del epitelio respiratorio y facilitan la invasión del tejido pulmonar por parte de *Aspergillus spp.*, y otros microorganismos.^{1,2}

En diciembre de 2019, COVID-19 emergió en Wuhan, China, y se convirtió pronto en una pandemia.³ Desde entonces han surgido varios reportes sobre aspergilosis pulmonar invasiva asociada a COVID-19 (CAPA), uno de los agravantes de la enfermedad que contribuye a la elevada mortalidad por COVID-19.^{4,5}

Se estima una prevalencia de CAPA que oscila entre 3 y 35% de los pacientes admitidos en unidad de cuidados intensivos (UCI) con COVID-19.⁶ La misma varía en función de los criterios diagnósticos utilizados, así como distribución geográfica y tasa de vacunación.

En Uruguay, contamos con datos preliminares de un estudio monocéntrico en el que 3 de cada 10 pacientes ingresados en UCI por COVID-19 presentaron CAPA por galactomanano positivo en miniLBA a ciegas y 7 de cada 9 pacientes diagnosticados fallecieron.

Recientes publicaciones de series de pacientes con "probable CAPA" plantean las dificultades existentes a la hora de alcanzar un diagnóstico. Tradicionalmente, el diagnóstico de API se basa en una combinación de factores del huésped, sumado a manifestaciones clínicas e imagenológicas típicas. Sin embargo, los pacientes con CAPA no tienen ni los factores predisponentes clásicos ni las manifestaciones clínicas ni radiológicas habituales.^{4,7}

En COVID-19 se agrega la dificultad de obtener evidencia micológica para confirmar el diagnóstico debido a que las sociedades internacionales de broncoscopía no recomiendan realizar broncoscopías (BC) en pacientes cursando infección aguda por SARS CoV 2 por el riesgo de aerosolización del virus.⁸ A su vez, se suma el bajo rendimiento diagnóstico del galactomanano (GM) sérico en este grupo de pacientes.⁴

A raíz de estas dificultades diagnósticas y de la necesidad de instaurar un tratamiento, surgen nuevas técnicas para la obtención de muestras respirato-

rias representativas del tracto respiratorio inferior como el "mini LBA a ciegas" o "LBA no broncoscópico".⁷ Se trata de instilar suero salino a través de una sonda colocada en la vía aérea del paciente y su posterior aspiración trayendo consigo secreciones del tracto respiratorio inferior sin conocer con exactitud la topografía del extremo distal de la sonda.

Basados en la importancia del tema y las dificultades para llegar al diagnóstico de CAPA, The European Confederation for Medical Mycology (ECMM) y la International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM) propusieron criterios diagnósticos con diferentes grados de certeza: CAPA confirmada o probada, CAPA probable y CAPA posible; basados en una combinación de las diferentes técnicas diagnósticas disponibles, medidas en distintas muestras biológicas (tejido pulmonar, LBA, LBA no broncoscópico, aspirado traqueal o suero) en un paciente con manifestaciones clínicas e imagenológicas compatibles con CAPA.⁷ La principal dificultad del diagnóstico de CAPA y sus diferentes grados de certeza surge de la falta de puntos de corte claros para la positividad del antígeno de GM en muestras respiratorias no obtenidas por BC, así como del tipo de muestra obtenida.

Es por todo esto que se pone de manifiesto la necesidad de realizar un trabajo de validación de la medición del antígeno de GM en muestras respiratorias obtenidas mediante Mini LBA a ciegas o LBA no broncoscópico.

Objetivo

El objetivo del presente trabajo fue valorar la concordancia de la medición del antígeno GM en muestras respiratorias obtenidas mediante mini LBA a ciegas y LBA por BC.

Material y métodos

Se realizó un estudio prospectivo observacional y analítico en la UCI del Hospital Maciel en Montevideo, Uruguay, en el período de junio de 2021 a agosto de 2021.

Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años ingresados en dicha unidad con diagnóstico de infección por SARS CoV-2 en los que se sospechó coinfección o sobreinfección por *Aspergillus spp.* y se les solicitó la obtención de muestras respiratorias para estudio de antígeno GM. Se sospechó coinfección

o sobreinfección por *Aspergillus spp.* en aquellos pacientes con deterioro del intercambio gaseoso y/o extensión del compromiso radiológico, a pesar de estar bajo tratamiento dirigido a microorganismo ya conocido o cuyos cultivos fueron negativos.

Se excluyeron aquellos pacientes que presentaron contraindicaciones para la realización de BC o mini LBA a ciegas o que el familiar no aceptara firmar el consentimiento informado.

Previo al estudio endoscópico, se valoró la afectación radiológica, se consideró difusa aquella que era a nivel bilateral y localizada cuando era unilateral.

Se procedió a realizar BC flexible para obtención de LBA en la topografía orientada por imagen, siguiendo las recomendaciones internacionales de BC en pacientes COVID-19.⁸ Posteriormente, se procedió a obtener una muestra para detección de antígeno GM mediante mini LBA a ciegas. Esta técnica consiste en introducir una sonda de aspiración a través del adaptador (Swivel) colocado en el extremo de la sonda orotraqueal. Se avanza la sonda de aspiración hacia una posición de enclavamiento. En segunda instancia, se instilan 20-40 cc de SF estéril a través de la sonda para su posterior aspiración hacia frasco estanco. Se envía la muestra al laboratorio para su procesamiento siguiendo las recomendaciones del laboratorio. En cuanto a las complicaciones de ambos procedimientos, se consideraron como tales broncoespasmo, desaturación, hemorragia e interrupción del procedimiento. Dado que se trataba de pacientes graves que podían no tolerar la realización de dos procedimientos consecutivos, se priorizó realizar la BC en primera instancia ya que contamos con valores de referencia de GM en LBA y no así en mini LBA a ciegas; se garantizó de este modo el diagnóstico al paciente.

Las muestras obtenidas por ambos métodos se procesaron en el Departamento de Laboratorio de Patología Clínica del Hospital de Clínicas, por el equipo automatizado Evolis™ System-BioRad con el kit Platelia™ *Aspergillus Ag* (Bio-Rad Marnes-la-Coquette, Francia) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se trata de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo sandwich en microplaca para la detección del antígeno de GM de *Aspergillus spp.* en muestras de suero y/o lavado broncoalveolar. Se consideró como positivo un valor de GM mayor a 1 (valor de referencia del fabricante). Utilizamos el GM en LBA como prueba de referencia (gold estándar) para la comparación con el mini LBA.

Consideraciones éticas

La investigación fue aprobada por el comité de ética del Hospital Maciel. Dado que todos los pacientes se encontraban en estado crítico, se solicitó firmar consentimiento informado a un familiar o responsable.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de las variables cualitativas se resumió a través de porcentajes y para las variables cuantitativas a través de la media/ desvío estándar (DE) o mediana (Md)/ rango intercuartílico (RIQ), según correspondiera. Se determinó la normalidad de la distribución de las variables continuas mediante el test de Kolmogorov – Smirnov.

Para la comparación de medianas de muestras apareadas, se utilizó la prueba de los rangos de Wilcoxon.

Para analizar la relación entre el valor de GM obtenido por ambos métodos de estudio, se calculó el coeficiente de correlación de concordancia (coeficiente de Lin) junto con un intervalo de confianza (IC) del 95%.

Para la validez intrínseca del test, se calculó sensibilidad y especificidad de acuerdo al punto de corte establecido, complementándose con el valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). En todos los test se consideró como significativo un valor de p menor a 0,05. El procesamiento estadístico de los datos se llevó a cabo por medio del programa *Statistical Package for Social Sciences (SPSS)* versión 22.

Resultados

Se estudiaron un total de 11 pacientes. Todos los pacientes se encontraban en asistencia respiratoria mecánica (ARM) invasiva, presentando una media de días de ARM prolongada ($16.5 \pm 10,6$), al igual que estaba prolongada en UCI (25 ± 14 días). Las características de la población se describen en la Tabla 1.

Todos los pacientes presentaron afectación difusa en la radiografía de tórax. En sólo un paciente contamos con tomografía de tórax, de la cual se destaca afectación con franco predominio derecho a modo de vidrio deslustrado difuso, y áreas de consolidación en todos los lóbulos.

En la tabla 2 se resumen los datos para el análisis de la precisión diagnóstica del mini LBA a ciegas. Se obtuvo una sensibilidad del 33% (2/6), especificidad 100% (5/5), VPP 100% (2/2) y VPN 55% (5/9).

Tabla 1.

Características de la población.

*: media \pm desvío estándar, ARM: asistencia respiratoria mecánica, UCI: unidad de cuidados intensivos, PaFi: presión arterial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno

	n= 11
Sexo F	36,4%
Edad *	59,2 \pm 14,6
Patología respiratoria previa conocida	0
Desnutrición	2 (18,2%)
Trasplante de órgano sólido	0
Días ARM totales *	16,5 \pm 10,6
Días UCI totales *	25 \pm 14
Pacientes con antifúngicos empíricos al momento del enrolamiento	6 (54%)
PaFi * al momento del procedimiento	179 \pm 64,5

Tabla 2.

Precisión diagnóstica del mini lavado broncoalveolar a ciegas.

LBA: lavado broncoalveolar. Positivo= >1. Negativo = <1

Mini LBA		Positivo	Negativo	Totales
LBA (gold estándar)	Positivo	2	4	6
	Negativo	0	5	5
Totales		2	9	11

En el análisis cuantitativo para la mediana del GM de ambos test hallamos una mediana (rango intercuartílico) para el LBA por BC de 1.24 (0.26 – 2.20) frente a 0.51 (0.33 – 0.92) para el mini LBA a ciegas. Esta diferencia fue estadísticamente significativa al realizar la comparación de medianas apareadas por test de Wilcoxon (valor P < 0.04).

En lo que respecta a la correlación entre ambos métodos, el coeficiente de correlación de Pearson fue de 0.49 (IC 95%: -0.15 a 0,84) mientras que el coeficiente de correlación de concordancia (coeficiente de Lin) fue de 0,28 (IC -0,078 a 0,57), lo que mostró una pobre concordancia entre ambos métodos. En la Figura 1 se muestra el diagrama de dispersión correspondiente.

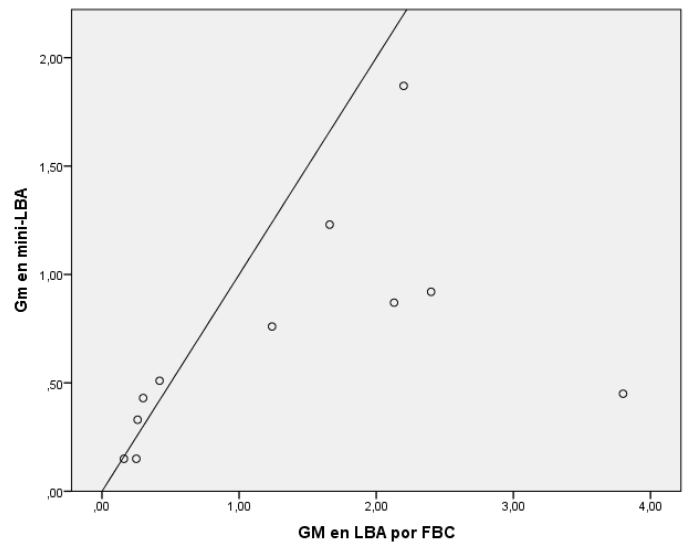
En cuanto al procedimiento, no se observaron complicaciones por el LBA ni por el mini LBA a ciegas.

A todos los pacientes que obtuvieron un resultado de GM positivo en el LBA se les había iniciado antifúngico empírico por sospecha clínica de CAPA continuando con su indicación.

Fallecieron un total de 5 pacientes (45.5%), de los cuales 3 (60%) tenían CAPA confirmada.

Figura 1.
Diagrama de dispersión, correlación entre GM obtenido por LBA y por mini LBA.

GM: galactomanano, LBA: lavado broncoalveolar



En cuanto a la seguridad del equipo de salud, no se reportaron casos de contagio de COVID-19 durante la investigación.

Discusión

Las muestras respiratorias obtenidas por mini LBA a ciegas surgen como una técnica prometedora para obtener muestras del tracto respiratorio inferior, por su fácil accesibilidad y baja complejidad.

Hasta el momento el rendimiento diagnóstico de los test microbiológicos en mini LBA a ciegas se comparó con el del aspirado traqueal y LBA en tuberculosis pulmonar,^{9,10} neumonía asociada al ventilador^{11,12} y neumonía asociada a los cuidados de salud.¹³ Todos los trabajos coinciden en que el mini LBA a ciegas tiene un rendimiento igual o incluso mayor que el método con el que se comparó.

Con el surgimiento de la pandemia COVID-19 y la recomendación de no realizar BC dado el riesgo de aerosolización, el rol del mini LBA a ciegas cobra aún más importancia. Junto con esta nueva enfermedad surge también la existencia de CAPA cuyo diagnóstico requiere la medición del antígeno de GM en muestras del tracto respiratorio inferior. Por lo tanto, el mini LBA a ciegas resulta un método ideal para obtener muestras respiratorias en estos pacientes.

No se conocen hasta el momento publicaciones que validen la medición de GM en muestras obtenidas por mini LBA. En el año 2020, el consenso de EMM/ISHAM propone un punto de corte de GM en muestras obtenidas por mini LBA a ciegas, de 4,5 en una única muestra y 1,2 en dos muestras repetidas, y de 1,0 en muestras obtenidas por LBA.

En nuestra investigación obtuvimos una baja con-

cordancia entre GM obtenido por mini LBA a ciegas y por LBA. Si bien al analizar el dispersograma podemos observar una mejor correlación entre ambas técnicas para los valores inferiores a 0.5, a medida que estos valores aumentan, la dispersión de ambas técnicas es mayor.

En comparación con la correlación de Pearson, el coeficiente de concordancia de Lin califica la fuerza del acuerdo entre dos variables cuantitativas de una forma más exigente. Para variables continuas, la concordancia será casi perfecta para valores mayores a 0,99; sustancial, de 0,95 a 0,99; moderada, de 0,90 a 0,95 y pobre cuando está por debajo de 0,90. En nuestro caso, el coeficiente de Lin fue de 0,28 (IC -0,078 a 0,57), lo que mostró una muy pobre concordancia.

Por lo tanto, a diferencia de los estudios en los que se comparó mini LBA a ciegas con aspirado traqueal, en nuestro trabajo observamos que el rendimiento del mini LBA a ciegas es menor que el del LBA para medición de GM. Según nuestros resultados, el mini LBA subestimó el valor de GM en la mayoría de las mediciones apareadas, evidenciado por una mediana significativamente menor en este grupo frente a LBA por BC (0.51 vs 1.24, $p < 0.04$).

Teniendo en cuenta el análisis de validez intrínseca del test, encontramos una especificidad de 100%, por lo que los resultados positivos del mini LBA a ciegas podrían tomarse como un método confirmatorio de CAPA, mientras que de acuerdo a la baja sensibilidad hallada (33%), un resultado negativo no descartaría el diagnóstico.

Ante estos resultados proponemos un algoritmo diagnóstico secuencial (Figura 2) en pacientes con afectación pulmonar difusa. Realizar en primera ins-

Figura 2.

Algoritmo de manejo propuesto ante pacientes con sospecha de CAPA.

CAPA: aspergilosis pulmonar asociada a COVID-19, LBA: lavado broncoalveolar, BC: broncoscopia, GM: galactomanano



tancia un mini LBA a ciegas. Si el resultado es mayor a 1 tomarlo como positivo e iniciar tratamiento; pero si es menor a 1, solicitar BC con LBA. El objetivo de este algoritmo es facilitar la toma de muestras respiratorias con técnicas seguras de baja complejidad al pie de la cama del paciente.

La mortalidad reportada en nuestros resultados coincide con la mortalidad de CAPA publicada hasta el momento.

Como limitación de nuestro trabajo destacamos el bajo número de pacientes incluidos.

Conclusiones

La posibilidad de estudiar el antígeno de GM en muestras respiratorias obtenidas mediante mini LBA a ciegas en pacientes con sospecha de CAPA resulta prometedora. No existen hasta el momento trabajos publicados que estudien la concordancia de los resultados de GM en mini LBA a ciegas y LBA por BC.

En este trabajo los valores de GM obtenidos por mini LBA a ciegas y por LBA tuvieron una baja concordancia. El rendimiento diagnóstico de mini LBA a ciegas es menor que el del LBA por BC. El test de GM por mini LBA podría resultar en un buen método confirmatorio (especificidad 100%), mientras que un resultado negativo no descarta CAPA (sensibilidad 33%). El LBA por BC continúa siendo el gold estándar en estos pacientes.

Serán necesarios estudios con mayor número de pacientes para continuar en la validación de este método.

Financiamiento: los autores declaran que el trabajo no tuvo financiamiento.

Conflictos de interés: los autores declaran que no tienen conflictos de intereses relacionados con el tema de esta publicación.

Contribuciones de los autores: IV: recolección de muestras, interpretación de resultados, redacción. NA: recolección de muestras. EQ y JN: recolección de muestras. MPG: procesamiento de muestras. MC: interpretación de los resultados, procesamiento de muestras. PA: interpretación de los resultados, revisión crítica. FV: análisis e interpretación de los resultados, redacción, revisión crítica. AG: Planteamiento del problema, diseño del estudio, interpretación de los resultados, redacción, revisión crítica.

El Editor en Jefe, Dr. Carlos Luna, aprobó este artículo.

Referencias

1. Short KR, Kasper J, Van Der Aa S et al. Influenza virus damages the alveolar barrier by disrupting epithelial cell tight junctions. *Eur Respir J* 2016;47:954–66. Doi: [10.1183/13993003.01282-2015](https://doi.org/10.1183/13993003.01282-2015)
2. Herold S, Becker C, Ridge KM, Budinger GRS. Influenza virus-induced lung injury: Pathogenesis and implications for treatment. *Eur Respir J* 2015;45:1463–78. Doi: [10.1183/09031936.00186214](https://doi.org/10.1183/09031936.00186214)
3. Guan W, Ni Z, Hu Y et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382:1708–20. Doi: [10.1056/NEJMoa2002032](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032).
4. Bartoletti M, Pascale R, Cricca M et al. Epidemiology of invasive pulmonary aspergillosis among COVID-19 intubated patients: a prospective study. *Clin Infect Dis* 2020;1–35. Doi: [10.1093/cid/ciaa1065](https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1065)
5. White PL, Rishi D, Cordey A et al. A national strategy to diagnose COVID-19 associated invasive fungal disease in the ICU. *Clin Infect Dis* 2020; e1634–e1644
6. Apostolopoulou A, Garrigos ZE, Vijayvargiya P, Lerner AH, Farmakiotis D. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with SARS-CoV-2 infection: A systematic review of the literature. *Diagnostics* 2020;10:807.
7. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *Lancet Infect Dis* 2021;21:e149–62. Doi: [10.1016/S1473-3099\(20\)30847-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30847-1)
8. Wahidi MM, Lamb C, Murgu S et al. American Association for Bronchology and Interventional Pulmonology (AABIP) Statement on the Use of Bronchoscopy and Respiratory Specimen Collection in Patients with Suspected or Confirmed COVID-19 Infection. *J Bronchol Interv Pulmonol* 2020;27:e52–4. Doi: [10.1097/LBR.0000000000000681](https://doi.org/10.1097/LBR.0000000000000681)
9. Neves CP, Costa AG, Safe IP et al. The role of mini-bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in critically ill patients. *BMC Infect Dis* 2020;20:1–7. Doi: [10.1186/s12879-020-04954-3](https://doi.org/10.1186/s12879-020-04954-3)
10. Muñoz L, Gallego C, Joza K et al. Estudio comparativo del rendimiento de GeneXpertMTB/RIF en lavado broncoalveolar frente al lavado bronquial en pacientes con sospecha clínica de tuberculosis. *Rev Am Med Respir* 2021;21:1–5.
11. Artuk C, Hanefi CeG, Gurkan M. Comparison of endotracheal aspiration and mini.BAL culture results in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Mikrobiyol Bul* 2012;46:421–31.
12. Schellenberg M, Inaba K. Pneumonia in Trauma Patients. *Curr Trauma Reports* 2017;3:308–14.
13. Lacroix G, Prunet B, Bordes J et al. Evaluation of early mini-bronchoalveolar lavage in the diagnosis of health care-associated pneumonia: A prospective study. *Crit Care* 2013;17:R24. Doi: [10.1186/cc12501](https://doi.org/10.1186/cc12501)