



UNIVERSITAT_{DE}
BARCELONA

Evaluación de nuevas estrategias no farmacológicas para prevenir infecciones respiratorias nosocomiales en un modelo porcino de ventilación mecánica

Néstor Alejandro Luque Chipana

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**EVALUACIÓN DE NUEVAS ESTRATEGIAS NO
FARMACOLÓGICAS PARA PREVENIR INFECCIONES
RESPIRATORIAS NOSOCOMIALES EN UN MODELO PORCINO
DE VENTILACIÓN MECÁNICA**

Tesis presentada por

Néstor Alejandro Luque Chipana

Servicio de Neumología y Alergia Respiratoria. Instituto del Tórax

Hospital Clinic y Provincial de Barcelona, España

Para acceder al título de Doctor en Medicina,

En el tema de

Biopatología y bioingeniería respiratoria, cardiovascular y renal:

Manejo y prevención de las enfermedades infecciosas, intersticiales y tumorales pulmonares

Dirigida por los Doctores:

Dr. Antoni Torres Martí

Dr. Miquel Ferrer Monreal

Barcelona, España

Julio, 2015

EVALUACIÓN DE NUEVAS ESTRATEGIAS NO FARMACOLÓGICAS PARA PREVENIR INFECCIONES RESPIRATORIAS NOSOCOMIALES EN UN MODELO PORCINO DE VENTILACIÓN MECÁNICA

Tesis presentada por

Néstor Alejandro Luque Chipana

Servicio de Neumología y Alergia Respiratoria. Instituto del Tórax

Hospital Clinic y Provincial de Barcelona, España

Para acceder al título de **Doctor en Medicina**

En el tema de

Biopatología y bioingeniería respiratoria, cardiovascular y renal:

Manejo y prevención de las enfermedades infecciosas, intersticiales y tumorales pulmonares

Dirigida por los Doctores:

Dr. Antoni Torres Martí

Dr. Miquel Ferrer Monreal

Barcelona, España

Julio, 2015

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL

EL DR. ANTONI TORRES MARTI, JEFE DE LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA Y CATEDRÁTICO DE LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que lleva por título " Evaluación de nuevas estrategias no farmacológicas para prevenir infecciones respiratorias nosocomiales en un modelo porcino de ventilación mecánica", presentada para optar al grado de Doctor en Medicina, ha sido realizada bajo mi supervisión. Una vez finalizada, autorizo su presentación para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Para que quede constancia firmo la presente en Barcelona, Abril de 2015.

Prof. Antoni Torres, MD, PhD

AUTORIZACIÓN DEL CODIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL

EL DR. MIQUEL FERRER MONREAL, CONSULTOR SENIOR DE LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA Y PROFESOR ASOCIADO DE LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA DEL HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que lleva por título " Evaluación de nuevas estrategias no farmacológicas para prevenir infecciones respiratorias nosocomiales en un modelo porcino de ventilación mecánica", presentada para optar al grado de Doctor en Medicina, ha sido realizada bajo mi supervisión. Una vez finalizada, autorizo su presentación para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Para que quede constancia firmo la presente en Barcelona, Abril de 2015.

Miquel Ferrer MD, PhD

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	4
PRESENTACIÓN.....	6
FONDOS DE INVESTIGACIÓN.....	8
ACRÓNIMOS.....	10
INTRODUCCIÓN.....	12
NEUMONÍA ASOCIADA A LA VENTILACIÓN MECÁNICA.....	13
ROL DEL TET EN LA PATOGÉNESIS DE NAV.....	14
DETERIORO DE LA CLEARANCE MUCOCILIAR DURANTE LA VENTILACIÓN MECÁNICA INVASIVA Y POTENCIAL ROL EN LA PATOGÉNESIS DE LA NAV.....	16
ESTRATEGIAS NO FARMACOLÓGICAS PARA LA PREVENCIÓN DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A LA VENTILACIÓN MECÁNICA.....	17
<i>Posición semisentada.....</i>	17
<i>Ruta de intubación orotraqueal.....</i>	18
<i>Presión positiva al final de la espiración.....</i>	19
<i>Neumotaponamiento de los tubos endotraqueales.....</i>	19
<i>Tubos endotraqueales con aspiración de secreciones subglóticas.....</i>	21
<i>Tubos endotraqueales impregnados de plata.....</i>	21
<i>Camas cinéticas.....</i>	24
BRONCOSCOPIA DE AUTOFLUORESCENCIA.....	25
RACIONALIZACIÓN.....	27
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	31
PRIMER ESTUDIO.....	32
<i>Hipótesis.....</i>	32
<i>Objetivos.....</i>	32
SEGUNDO ESTUDIO.....	34
<i>Hipótesis.....</i>	34
<i>Objetivos.....</i>	34
PUBLICACIONES.....	36
DISCUSIÓN.....	87
BALONES RELACIONADOS A LESIONES TRAQUEALES.....	88

ASPIRACIÓN SUBGLÓTICA RELACIONADA A LESIÓN TRAQUEAL.....	90
CLEARANCE MUCOCILIAR.....	90
LA EFICACIA EN EL SELLADO TRAQUEAL.....	91
ESTRATEGIAS VENTILATORIAS EXPERIMENTALES.....	91
IMPLICACIONES CLÍNICAS.....	93
CONCLUSIONES.....	98
BIBLIOGRAFÍA.....	100

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Antoni Torres Martí, maestro y profesor por sus enseñanzas y contribución al engrandecimiento de mi formación profesional y personal.
- Al Dr. Miquel Ferrer Monreal, por su humana visión y apoyo incondicional.
- Al Dr. Gianluigi Li Bassi, por su generosa ayuda y desprendido apoyo.
- A todo el grupo de investigación por su apoyo; Oriol S. , Pilar M., Montserrat R., Raquel P., Cristina E. Adamantia L. Mariano Esperatti, Lina S., Otavio R, Elizabet A., Dani M., Valeria G., Talitha C., Silvia T., Francesca de R., L. Laia F. Mariano R., Ernesto C.
- A esas personas que influyeron en el trayecto de mi vida, como es el caso de mis ex compañeros de trabajo del Hospital Nacional Almenara Irigoyen, con los que comparto trabajo actualmente en la Clínica del Pilar y del Hospital Universitario Sagrado Corazón.
- A esos amigos de siempre; David Quispe, Manuel Ávalos, José Pampa, Jesús Huamani. Ricardo Mamani. José Aguilar, José Málaga, José Peña, Reiser Macedo, José Santos. Walter Llerena. Willy Diaz, Luis Guerrero, Pedro Morales, Yarela Caballero. Náyade Rojas. Pierina Moscoso. Francisco Alvarez, Mauricio Valencia. Catia. Cilloniz. Eva Polverino, Elia Tomas, Nini Bustos, Adriana Mejia, Paco Blanco, Jorge Cerna, Hernan Manrique, Carlos Arauco y JC Arapa.
- A mis queridos padres Miguel y Martina Ninfa por estar siempre pendientes de mi y por los valores que me inculcaron desde siempre. A mis hermanos; Juan Pedro, Edgar Raúl, Mary Antonieta, Jesús Manuel, Isaac Miguel, Rene Carlos, Vilma Yolanda, Angélica Doris y Soledad Irma por su permanente apoyo.

PRESENTACIÓN

La presentación de esta Tesis Doctoral se realiza en forma de compendio de artículos publicados según la normativa aprobada por la Comisión de Doctorado de la Universidad de Barcelona.

Los estudios que forman parte de esta tesis doctoral pertenecen a una misma línea de investigación. Estos resultados pretenden aportar información relevante y novedosa en este campo y está recopilado en los siguientes artículos originales:

- (**t**) “Endotracheal tubes for critically ill patients: an *in vivo* analysis of associated tracheal injury, mucociliary clearance and sealing efficacy”
- (**u**) “Gravity predominates over ventilator pattern in the prevention of Ventilator-Associated Pneumonia”

Ambos artículos han sido publicados recientemente en revistas de amplia difusión internacional, Chest/Critical Care Medicine respectivamente, con factor de impacto global de 13.279 puntos.

FONDOS DE INVESTIGACIÓN

Los estudios experimentales que forman parte de esta Tesis Doctoral se realizaron con la ayuda de fondos de:

Institut d' Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS)

Ministerio de Ciencia e Innovación

European Society of Intensive Care medicine ESICM

Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP)

Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR)

Centro de Investigaciones Biomédicas En Red-Enfermedades Respiratorias (CIBER)

Universidad de Barcelona

Covidien Ltd.

SEPAR-fellowship

ACRÓNIMOS

Ventilación mecánica	VM
Neumonía asociada a la ventilación mecánica	NAV
Tubo endotraqueal	TET
Baja presión y alto volumen	HVLP
Broncoscopia de autofluorescencia	BAF
Presión positiva al final de la espiración	PEEP
Aspiración de las secreciones subglóticas	ASS
Policloruro de vinilo	PVC
Poliuretano	PU
Flujo espiratorio promedio – flujo inspiratorio promedio	MEF-MIF
Clearance mucociliar	MCR
Intervalo de confianza	CI
Riesgo relativo	RR

INTRODUCCIÓN

Neumonía asociada a la ventilación mecánica

La Neumonía Asociada a la Ventilación Mecánica (NAV) es una complicación común de la unidad de cuidados intensivos¹, que ocurre después de 48 horas de iniciada la ventilación mecánica (VM). El riesgo de desarrollar NAV es, aproximadamente, 3 % por día en la primera semana de VM, 2 % durante la segunda semana de VM, y 1 % en las semanas consiguientes². La densidad de incidencia de la NAV varía entre 5 y 16 episodios por 1000 días de VM³. Según datos del Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial (ENVIN), las tasas de NAV a nivel nacional se han mantenido alrededor a 15 episodios por 1000 días de VM entre los años 2000 y 2008, pero tras la aplicación de la estrategia Neumonía Zero, reportan menos de nueve episodios por 1000 días de VM, según datos del ENVIN 2012 a 2014⁴. Es necesario precisar que la real incidencia de la NAV es difícil de medir por la extrema limitación de los criterios diagnósticos, en parte debido al debate vigente y no resuelto respecto al diagnóstico microbiológico de la NAV entre la “no invasiva⁵” y la “invasiva⁶”. Esto no permite tener un patrón de referencia para el diagnóstico microbiológico, creando controversia respecto a los algoritmos diagnósticos. Pero está ampliamente demostrado que la NAV está asociada al empeoramiento de los resultados de los pacientes y costos en cuidados de salud¹⁵.

La aspiración de los gérmenes que colonizan la cavidad orofaríngea es el mecanismo patogénico primario para el desarrollo de NAV. Material contaminado acumulado en la región subglótica es aspirado dentro las vías aéreas cuando el tubo endotraqueal (TET) se desplaza o el balón no sella correctamente la vía aérea. Otros mecanismos de entrada descritos son la

inhalación, la vía hematógica, traslocación bacteriana, biofilm del TET^{1, 7, 8}. Estudios previos reportan la presencia de sobrecrecimiento bacteriano en la orofaringe en pacientes con ventilación mecánica, estaba asociada a la presencia de las mismas especies bacterianas en más del 50% de los enfermos con neumonía⁹. Asimismo, otro estudio reportó la misma cepa en la secreción orofaríngea y en los pulmones en 28 de los 31 episodios de NAV estudiados¹⁰. Así, basados en el entendimiento actual de la patogénesis de la NAV, las bacterias inicialmente colonizan la orofaringe¹¹ y luego se desplazan hacia los pulmones a causa de una continua filtración de fluidos colonizados a lo largo del balón del TET^{12, 13}.

Rol del TET en la patogénesis de NAV

La aspiración de secreciones orofaríngeas colonizadas a través del balón del TET hacia los pulmones es el principal mecanismo patogénico para el desarrollo de NAV. El TET, comúnmente utilizado en la UCI durante periodos prolongados de ventilación mecánica, incluye un balón de alto volumen y baja presión (HVLP). Estos balones de HVLP fueron diseñados originalmente para controlar la presión ejercida contra la pared traqueal y prevenir la lesión traqueal¹⁴.

Los patógenos también pueden crecer en la superficie interna del TET y en última instancia trasladarse a los pulmones. El TET se hace comúnmente de policloruro de vinilo (PVC), y las bacterias se adhieren fácilmente a su superficie interna para formar una estructura compleja llamada biofilm¹⁶ (Figura 1). Biofilm se compone de bacterias sésiles incrustadas dentro de una matriz de exopolisacáridos de producción propia¹⁷. El biofilm en la superficie interna de un TET puede ser identificado tempranamente después de la intubación traqueal^{18, 19, 20}; bacterias sésiles experimentan diferenciación fenotípica de sus homólogos planctóni-

cos, la mayoría de esa diferenciación constituye una ventaja para la supervivencia. De hecho, las bacterias dentro de la biopelícula son difíciles de erradicar, y la eficacia antibacteriana del sistema inmune del huesped y de los antibióticos se reduce en gran medida²¹. Durante la ventilación mecánica, las partículas de biofilm pueden ser removidas hacia las vías respiratorias como resultado de flujo de aire inspiratorio²¹; de igual forma también en las intervenciones médicas invasivas, como la aspiración traqueal²² y la broncoscopia. Varios estudios^{18, 19, 20, 23} evaluaron el papel de la biopelícula bacteriana en la patogénesis de la NAV y confirman que el biofilm del TET es difícil de erradicar y constituye una fuente persistente de la colonización.

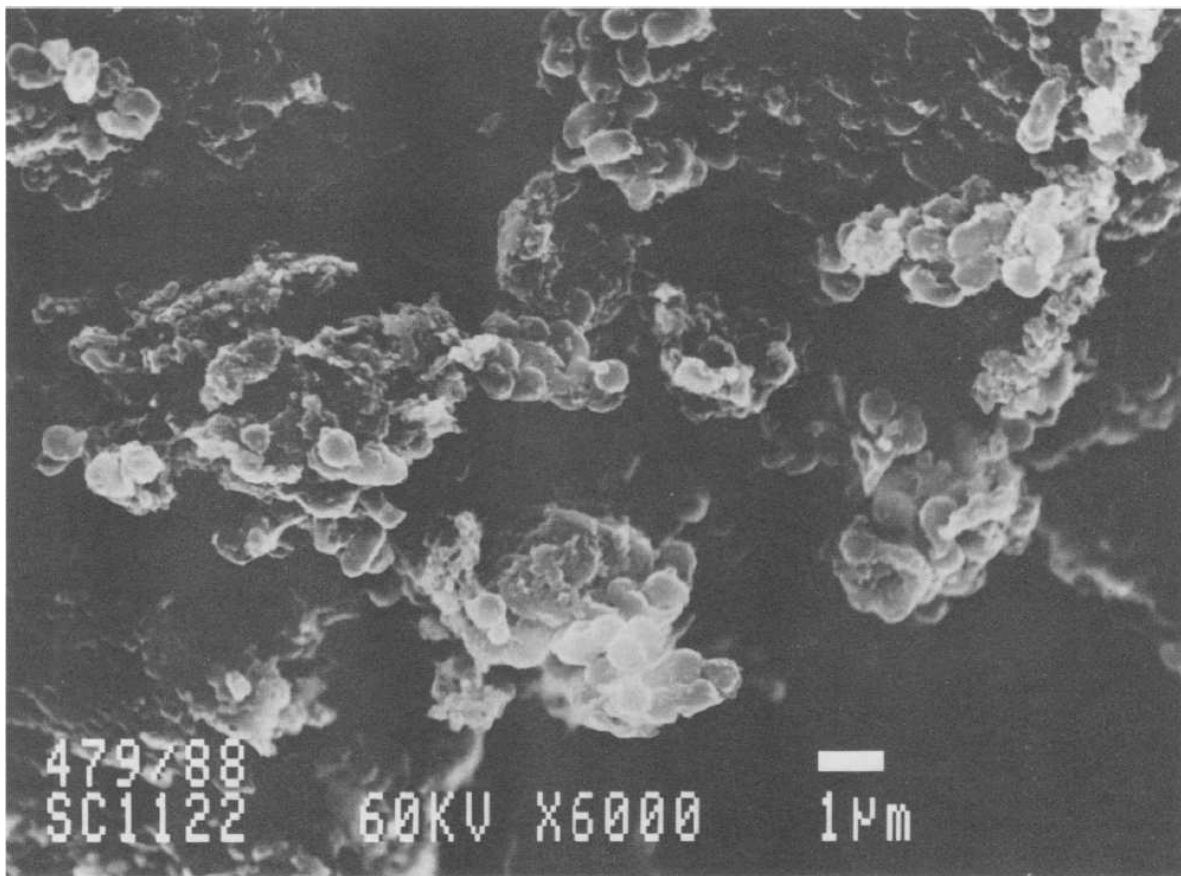


Fig.1 Micrografía electrónica de la superficie interna del TET que muestra biofilm

Deterioro de la clearance mucociliar durante la ventilación mecánica invasiva y potencial rol en la patogénesis de la NAV

La clearance mucociliar (MCR) es la primera línea de defensa contra patógenos aspirados, pero los pacientes gravemente enfermos son incapaces de remover eficientemente la mucosidad de las vías respiratorias^{24, 25}. Previamente se mostró que en la posición semirecumbente, las secreciones colonizadas se movían continuamente de la tráquea proximal hacia los pulmones, guiados por la gravedad, y que en última instancia causan NAV²⁶. Estos resultados plantearon interrogantes mayores acerca de la seguridad de la posición semirecumbente en pacientes con colonización orofáringeas. En un estudio experimental con ovejas en posición semirecumbente, el moco acumulado en el balón del TET se dirigió a la parte dependiente de la tráquea proximal y eventualmente cambió de dirección y se movió hacia los pulmones, seguido de la colonización bacteriana de los pulmones y consecuentemente neumonía. En cambio, en las ovejas donde el TET y tráquea estaban ligeramente por debajo de horizontal, el moco siempre se movió hacia la glotis y los pulmones se mantuvieron libres de la colonización bacteriana²⁶. *Zanella et al.*, en un estudio con cerdos reporta que la posición de la tráquea por encima de la horizontal fue asociado con NAV y fallo respiratorio, mientras que la posición de la tráquea por debajo del horizontal previno el desarrollo de NAV²⁷ y, en el estudio de *Panigada et al.*, en ovejas, muestra que la posición horizontal del TET y de la tráquea, estuvo asociado con buen intercambio gaseoso y función pulmonar, la colonización bacteriana de la tráquea y los pulmones fue nula o baja, mientras que las ovejas ventiladas utilizando métodos ampliamente practicados en el entorno clínico (cabeza y cuello elevados en un ángulo de 30 grados desde la horizontal), tenía una colonización bacteriana alta a nivel traqueo bronquial

y en los pulmones, además de una alta incidencia de neumonía nosocomial y muerte²⁸. Los estudios experimentales previamente descritos sugieren que la gravedad^{26, 27, 28} y flujos de aire^{29, 30} tienen un impacto en la aspiración pulmonar, retención de mucosidad y desarrollo de NAV. Durante la ventilación mecánica, el flujo de aire interactúa con la capa de mucosidad a través de un mecanismo de flujo gas-liquido de dos fases^{30, 31, 32} y estudios animales^{29, 30} demostraron que el flujo inspiratorio promueve el transporte de mucosidad hacia los pulmones, mientras que, un margen de flujo espiratorio-inspiratorio adecuado facilita la MCR hacia afuera.

Estrategias no farmacológicas para la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica

La prevención de la NAV comprende estrategias no farmacológicas y estrategias farmacológicas^{33, 34, 35}. En particular, en esta tesis nos centraremos y describiremos exhaustivamente las medidas de prevención no farmacológicas.

Posición semisentada

Los primeros estudios demostraron claramente que los pacientes intubados tienen un mayor riesgo de aspiración gastropulmonar cuando son colocados en la posición supina (0 grados), en comparación con la posición semisentada (45 grados)^{36, 37, 38}. Un ensayo aleatorizado³⁹ demostró una reducción en la incidencia de NAV en pacientes colocados en la posición semisentada comparada con los pacientes en completa posición supina. Por otra parte, el estudio confirmó un mayor riesgo para la NAV en pacientes alimentados por vía enteral. Posteriormente, un ensayo aleatorizado⁴⁰ estudió la viabilidad de mantener la cabecera de la

cama orientada en 45 grados durante la ventilación mecánica. Este estudio encontró que los pacientes se colocaron en promedio 28 grados sobre la horizontal, y no se encontraron diferencias en la incidencia de NAV. Por lo tanto, como se sugiere fuertemente por las guías Americanas¹ y Europeas⁴¹, los pacientes intubados deben mantenerse preferentemente en la posición semisentada (30-45 grados) y no en posición supina (0 grados) para evitar la aspiración, especialmente cuando esten recibiendo alimentación enteral.

El estudio en laboratorio²⁸ de *Panigada et al.*, desafía el papel de la posición semisentada en pacientes con colonización orofaríngea con TET y ventilación mecánica. Teóricamente, en estos pacientes una orientación traqueal encima de la horizontal, como en la posición semisentada, podría facilitar la aspiración a través del balón del tubo traqueal. Un estudio de laboratorio en animales²⁶ encontró que una orientación de la tráquea respecto a la posición del cuerpo, podría evitar la aspiración a través del balón del TET mejorando el drenaje de moco y disminuyendo el riesgo para la NAV. En la actualidad, un ensayo clínico multicéntrico está valorando en pacientes críticamente enfermos la eficacia, la seguridad y la viabilidad de la posición lateral en trendelenburg (LTP) para la prevención de la NAV (disponible en ClinicalTrials.gov, NLM Identificador: NCT01138540).

Ruta de intubación orotraqueal

La asociación entre la sinusitis y NAV es un tema debatido⁴³. Varios estudios han confirmado que la intubación orotraqueal en comparación con la nasotraqueal se asocia con una disminución de la incidencia de la sinusitis^{44, 45, 46}, asimismo la incidencia de NAV fue menor en los pacientes que no desarrollaron sinusitis⁴⁷. Un estudio realizado por *Holzappel et al.*⁴⁸ evaluó la incidencia de la sinusitis maxilar y neumonía nosocomial en pacientes que

fueron intubados ya sea por vía nasotraqueal u orotraqueal. Los autores encontraron que la sinusitis incremento el riesgo de neumonía nosocomial por un factor de 3,8.

Presión positiva al final de la espiración

El ajuste de los parámetros ventilatorios puede desempeñar un rol en la patogénesis de la NAV. En particular, la PEEP puede disminuir la incidencia de la NAV al contrarrestar la presión hidrostática ejercida por las secreciones de la orofaringe por encima del balón del TET, por lo tanto, reduce la aspiración pulmonar^{49, 50}. *Lucangelo et al.*⁵¹, evaluó los efectos de PEEP 5-8 cm H₂O en pacientes normoxémicos ventilados y mostró una reducción de la tasa de NAV (grupo PEEP 9,4%, grupo control 25.4%, RR 0,37; IC del 95% = 0,15 - 0,84; P = 0,017). Por lo tanto, en ausencia de contraindicación importante, un bajo nivel de PEEP debe mantenerse hasta la extubación para evitar la aspiración continua.

Neumotaponamiento de los tubos endotraqueales

Varias estrategias se han aplicado para mejorar el diseño de los tubos traqueales y reducir la probabilidad de aspiración de secreciones cargadas de patógenos a través del balón. Actualmente, en las unidades de cuidados críticos los pacientes son intubados con TET que tienen balón de HVLP. Luego de la inflación dentro de la tráquea, se forman pliegues a lo largo de la superficie del balón y las secreciones orofaríngeas colonizadas pueden filtrarse a través de estos pliegues. Los nuevos balones hechos de nuevos materiales como el poliuretano⁵², silicona⁵³ y látex⁵⁴ se han desarrollado, probado en laboratorios y ensayos clínicos. Particularmente, el balón de poliuretano tiene un espesor de 5 a 10 micras en comparación con 50 micras de balón de PVC; Por lo tanto, tras el inflado, forma pliegues más pequeño, y la aspiración de las secreciones por encima del balón puede prevenirse o reducirse. Algunos investigadores también intentaron evitar la aspiración modificando la

forma del balón⁵⁵. En comparación con los balones estándar de formas cilíndrica, los balones cónicos diseñados con una superficie lisa, permiten la eliminación de pliegues haciendo una circunferencia completa de la zona de la tráquea /contacto del balón, independientemente del tipo de material del balón.

Escasos estudios en pacientes de UCI médicas han demostrado que los balones de poliuretano reduzcan el riesgo de NAV^{12, 56}. El balón de poliuretano del TET también ha mostrado beneficios en la reducción de la neumonía postoperatoria precoz en pacientes quirúrgicos cardíacos^{13, 57}. Interesantemente, un estudio multicéntrico reciente⁵⁸ comparó los balones; PVC cilíndrico, poliuretano cilíndrico, PVC cónico y poliuretano cónico y no encontró beneficios con el uso de balones cónicos o de poliuretano para prevenir la NAV.

Silicona⁵³ y látex⁵⁴ son balones de bajo volumen, de baja presión y son potenciales alternativas a los balones de PVC. Tras la inflación, los pliegues no se forman; sin embargo, la compliance de esos materiales es extremadamente alta. Por lo tanto, permiten un control fiable de la presión ejercida contra la tráquea. En un ensayo clínico en pacientes sometidos a anestesia o ingresados en la UCI, Young et al.⁵³, demostró alta eficacia de un balón de silicona para reducir la aspiración pulmonar.

Es importante mantener la presión interna del balón del TET entre 25 y 30 cm H₂O, en particular cuando no se aplica PEEP. Esto sirve para evitar fugas de secreciones contaminadas hacia las vías respiratorias inferiores o lesión traqueal. Varios estudios^{59, 60, 104} demostraron que con frecuencia el balón del TET se había desinflado o estaba sobre inflado, aún usando controles estándar de medición. Tomando en consideración que el control continuo de la presión del balón interno reduce los riesgos de deflación significativa y aspiración pulmonar.

Tubos endotraqueales con aspiración de secreciones subglóticas

La aspiración de secreciones subglóticas colonizadas a través de TET acondicionados con un dispositivo para la aspiración, reduce la presión hidrostática ejercida por encima del balón y potencialmente evita la macroaspiración a través del balón. Un metaanálisis⁹¹ de 13 ensayos clínicos aleatorizados con un total de 2.442 pacientes han demostrado que el drenaje de la secreción subglótica (ASS) redujo el riesgo relativo general (RR) para la NAV a la mitad (RR 0,55; IC del 95%, 0,46-0,66; $p < 0,00001$). En el ensayo multicéntrico de *Lacherade et al.*⁶², 333 pacientes fueron aleatorizados previo a la intubación orotraqueal, ya sea con una TET que permitía la ASS o un TET estándar. NAV fue confirmada por microbiología en el 14,8% de los pacientes en el grupo de tratamiento, en comparación con el 25,6% de los pacientes intubados con tubos estándar ($p = 0,02$). Es importante destacar que este fue el primer ensayo que informó la eficacia de las ASS en la reducción de la NAV de inicio temprano y tardío en comparación con estudios anteriores (NAV de inicio tardío en 18,6% de los pacientes en el grupo de tratamiento en comparación con el 33,0% de los pacientes del grupo de control, $P = 0,01$). Basados en la evidencia actual, la aspiración intermitente (cada 4-6 horas) es recomendable en lugar de aspiración continua, ya que el drenaje de secreciones subglótica se ha asociado consistentemente con el riesgos de lesión traqueal en la práctica clínica⁶³ y estudios de laboratorio⁶⁴.

Tubos endotraqueales impregnados de plata.

Recubrir el TET con agentes antimicrobianos tales como la plata, es una estrategia prometedora para prevenir la formación de biofilm dentro de la superficie interna del TET y por lo tanto de disminuir la NAV⁶⁵. *Olson et al.*⁶⁶ evaluó TET recubierto de plata en

comparación con TET estándar en perros, a estos animales se les instilo a nivel de orofaringe *P. Aeruginosa*, utilizando el tubo recubierto, los investigadores fueron capaces de retrasar la colonización de la superficie interior del TET ($3,2 \pm 0,8$ vs $1,8 \pm 0,4$ días; $p = 0,02$) y reducir la carga bacteriana en el parénquima pulmonar ($4,8 \pm 0,8$ vs $5,4 \pm 9$ de unidades formadoras de colonias [CFU]/g de tejido pulmonar; $P = 0,01$). Del mismo modo, *Berra et al.*⁶⁷, aleatorizó 16 ovejas para ser intubados con un TET estándar o recubierto con sulfadiazina de plata/clorhexidina. Después de 24 horas de ventilación mecánica, los ocho TET y circuitos de la ventilación mecánica del grupo control fueron fuertemente colonizados y se encontró biofilm dentro del TET. Las bacterias patógenas colonizaron la tráquea y los pulmones en cinco de ocho ovejas (hasta 10^9 CFU/g). En el grupo de estudio, siete de ocho TET y los circuitos de ventilación no mostraron crecimiento tampoco biofilm; Por otra parte, no hubo crecimiento bacteriano en los pulmones y los bronquios, excepto en un bronquio de una oveja. Interesantemente, la eficacia de los revestimientos a base de plata parece disminuir con el tiempo. De hecho, los estudios en animales reportan nula formación de colonias y de biofilm después de 24 horas de ventilación mecánica. Sin embargo, se informó de alta colonización del TET cuando se prolongaron los estudios después de 72 horas. Hasta la fecha, sólo un estudio laboratorio⁶⁸ ha reportado la ausencia de la colonización y formación de biofilm del TET hasta 168 horas de ventilación mecánica. En este estudio, los autores utilizaron TET revestidos internamente con plata sulfadiazina que fue limpiado con regularidad con un nuevo dispositivo de silicona inflable concéntrico⁶⁹, denominado *Mucus Shaver*, ideado para mantener el lumen interno del TET libre de moco.

El estudio *North American Silver-Coated Endotracheal Tube* (NASCENT)⁶⁸ evaluó 1.509

pacientes que se esperase sean tributarios de ventilación mecánica durante más de 24 horas, fueron asignados al azar al ser intubados ya sea con un TET estándar o recubierto de plata. El TET recubierto de plata se asoció con una menor incidencia de NAV confirmada microbiológicamente (37/766 (4,8%) vs 56/743 (7,5%), $p = 0,03$), una reducción del riesgo relativo del 35,9%. Más importante aún, el tubo recubierto de plata tuvo su mayor impacto durante los primeros 10 días de intubación traqueal. Un análisis retrospectivo de cohortes por Afessa *et al.*⁷¹, basado en el estudio NASCENT, mostró que la TET recubierta se asoció con reducción de la mortalidad en pacientes con NAV (TET con plata vs control, 5/37 [14%] vs 20/56 [36%]; $p = 0,03$). Sin embargo, la mortalidad fue mayor en aquellos sin NAV (plata vs control, 228/729 [31%] vs 178/687 [26%]; $p = 0,03$). En conclusión, existe evidencia prometedora que TET recubierto con agentes antimicrobianos podría reducir la incidencia de NAV, pero la evidencia que apoya su uso sólo viene de un estudio, con importantes limitaciones⁷². Por lo tanto, los médicos deben considerar cuidadosamente los beneficios y limitaciones de éstos TET recubiertos y dirigir adecuadamente el uso de tubos recubiertos de plata en los pacientes que se espere, sean ventilados por períodos prolongados y con mayores riesgos asociados para la neumonía nosocomial. De hecho, Shorr *et al.*⁷³ analiza el costo-efectividad de TET recubierto de plata como una herramienta preventiva para NAV. Basado en el ensayo NASCENT, los autores supusieron una reducción en el riesgo relativo de NAV de 35,9% a 24%. Asumiendo que los costos marginales de NAV son \$ 16,620 y los costos de TET recubiertos de plata de \$ 90.00 y \$ 2.00 por TET sin recubrimiento, los autores encontraron que se impidió el ahorro de \$ 12.840 por cada caso de NAV.

Camas cinéticas

Normalmente las personas saludables cambian de posición corporal, incluso durante el sueño, cada pocos minutos. Por el contrario, cuando los pacientes críticamente enfermos están con TET y ventilación mecánica, se mantienen en supino y posición semisentada durante días con pocos o sin cambio en la posición del cuerpo. Algunas camas en UCI permiten la rotación de los pacientes en el eje longitudinal desde una posición lateral a la contraria y parecen reducir el agua extravascular pulmonar, mejorar la relación ventilación-perfusión, y mejorar la movilización de las secreciones de las vías respiratorias⁷⁴. Varios estudios han evaluado los efectos de la terapia de rotación en NAV; Sin embargo, la mayoría de estos estudios presentan limitaciones. Por ejemplo, la mayoría de los estudios se hicieron con diagnóstico clínico de la neumonía, sin la estandarización de las medidas preventivas NAV y además incluyeron valores heterogéneos de la duración y tipo de terapia de rotación. Los metaanálisis^{75, 76, 77} mostraron una reducción significativa en la incidencia de NAV en pacientes sometidos a terapia de rotación, pero fallaron en mostrar efectos beneficiosos sobre los resultados secundarios tales como la duración de la ventilación mecánica, la duración de la estancia y la mortalidad. Un artículo de *Staudinger et al.*⁷⁸ evaluó los efectos de la terapia de rotación lateral continua sobre la incidencia de NAV microbiológicamente confirmada en tres UCI médicas y se encontró una incidencia de 11% en el grupo de rotación y el 23% en el grupo control ($P = 0,048$). Los autores encontraron también que la duración de la ventilación (8 ± 5 vs 14 ± 23 días, $p = 0,02$) y la duración de la estancia (25 ± 22 días vs 39 ± 45 días, $p = 0,01$) fueron significativamente más cortas en el grupo de rotación. En conclusión, en pacientes con mayor riesgo de inmovilización prolongada e infección respiratoria, la terapia de rotación lateral continua debe ser considerada como un método factible para ejercer efectos sumatorio a otras

medidas preventivas para NAV.

Broncoscopia de autofluorescencia

La broncoscopia de autofluorescencia es una herramienta usada para detectar lesiones de las vías centrales respiratorias, mayormente del carcinoma de células escamosas pre-invasivas. Cuando se ilumina una superficie con luz, esta puede ser reflejada, retrodispersada o absorbida; la broncoscopia de autofluorescencia (BAF) del tejido revela los cambios bioquímicos subyacentes en las células concretamente, la estructura electrónica de los cromóforos de absorción. Los cromóforos principales en la mucosa de las vías respiratorias son la elastina, el colágeno, las flavinas, la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), NADH y las porfirinas. El tejido respiratorio normal fluoresce verde cuando ésta se expone a una luz de espectro violeta-azul (400-450nm). En nuestro estudio aplicamos una luz azul de 408 nanómetros (nm). Desde 1990 recién se han visto una oleada de nuevas técnicas como la broncoscopia fluorescente que ha sido empleada para el diagnóstico de cánceres en fase temprana^{79, 80}. Pero la autofluorescencia está disminuida en estados patológicos tales como inflamaciones y lesiones por lo que las zonas dañadas se observan oscuras y marrones⁸¹. Basado en estos conceptos, computamos la tasa de la intensidad rojo/verde, como se reportó previamente^{82, 83}, y la suma de las intensidades verde + azul para cuantificar la severidad de la lesión relacionada al balón. Estos conceptos fueron aplicados al modelo animal *in vivo* el cual fue similar a los que desarrollamos en estudios previos²⁹, pero en este estudio los animales fueron extubados a las 72 horas y luego sacrificados a las 96 horas.

RACIONALIZACIÓN

Los pacientes con NAV son portadores de TET, los que en la actualidad constan de un balón de baja presión y alto volumen (HVLP). Estos TET de HVLP fueron desarrollados a comienzos de 1970^{84, 85, 86} con un diámetro mayor al de la tráquea para prevenir daño traqueal y disminuir la microaspiración de secreciones orofaríngeas. Estos dispositivos para la ventilación mecánica implican severos cambios en las vías aéreas de los pacientes⁸.

Está descrito que la colocación del TET es el mayor factor independiente en la génesis de la NAV al alterar la anatomía normal laríngea, actuando como reservorio para microorganismos potencialmente infectantes y servir como puente entre la orofaringe y el espacio broncoalveolar estéril⁸⁷. Luego del inflado del balón dentro de la tráquea se alteran los mecanismos de defensa como el aclaramiento mucociliar y la tos^{24, 88}. Al afectarse pierden efectividad y son colonizadas a las pocas horas de iniciarse la ventilación mecánica. El estudio de *Feldman et al.*, reportó que a las 12 horas de TET, los pacientes tenían secreciones con carga bacteriana en el interior de esta, incrementando su pico en cantidad a las 48 horas¹¹.

La eficacia del sellado del balón tiene un importante impacto en la NAV. Existen estudios en los cuales se trata de establecer que material es más óptimo. Los balones de los TET en un principio tenían un grosor de 500 micrómetros (μm); estos balones de látex de caucho requerían una presión aproximada de 200-400 cmH_2O para inflarlos, con la finalidad de sellar en forma adecuada la vía aérea, pero estos balones de bajo volumen y alta presión causaban frecuentemente lesión traqueal. En la década de los 70 se desarrollaron los balones de policloruro de vinilo de HVLP que mantenían una presión en el balón inferior a 30 cmH_2O protegiendo así el flujo sanguíneo de la mucosa traqueal pero presentan un mayor riesgo de aspiración de secreciones orofaríngeas hacia las vías aéreas inferiores⁵⁴.

Además, debemos agregar que este balón forma pliegues a lo largo de su superficie para acomodarse al largo de la luz de la tráquea⁵². Un estudio experimental donde se compara un TET con balón de látex compatible con dos micrómetros (μm) de grosor de HVLP comparado con balones convencionales de HVLP (*Portex Profile*, *Mallinckrodt Hi-Lo* y *Sheridan preformed*) muestran la superioridad del primero, pero hay que recordar que el látex natural es inadecuado para el uso *in vivo*⁵⁵. Inclusive se han ensayado balones de doble capa que tienen muy buen rendimiento evitando la fuga pero su larga exposición al estrés, secreciones biológicas, fricción y pH bajos podrían deteriorar este prototipo⁸⁹.

Muchas mejoras en el diseño de los balones HVLP se han alcanzado recientemente. Los balones HVLP hechos de poliuretano u de forma cónica se idearon para superar las limitaciones del sellado de fluido. La eficacia del sellado de los balones de poliuretano, en comparación con los balones estándar de PVC, ha sido constantemente demostrada en laboratorio^{50, 52, 90} y estudios clínicos⁵¹, mientras que la eficacia de balones cónicos se confirmó solamente en estudios experimentales⁵⁰.

Otras mejoras en el diseño de los TET también han sido obtenidas en los últimos años como el uso de TET que permiten la ASS, los balones cónicos⁵⁵ o los de material de poliuretano⁵². En comparación con los TET estándar usados en la actualidad, estas nuevas características de los TET reducen la fuga de secreciones orofaríngeas acumuladas. Por lo tanto, la iatrogenia de pacientes críticos podría también reducirse con estos TET. De hecho, hay unos cuantos estudios clínicos^{12, 13} donde los pacientes intubados con TET, que tenían balón de poliuretano, estuvieron expuestos a un menor riesgo de sufrir una neumonía asociada al ventilador. Además, hay evidencia convincente de que ASS disminuye el riesgo de una neumonía asociada al ventilador⁹¹.

Sin embargo, la seguridad de estos nuevos balones HVLP no ha sido evaluada de forma exhaustiva. Recientemente demostramos que los balones de HVLP *in vitro*, inflados en rangos de presión clínica recomendada, podría transmitir altas presiones respecto a la mucosa traqueal⁹². Otros estudios informan que el inflado del balón a niveles recomendados causa lesiones en la mucosa traqueal⁹³. Asimismo, los pliegues formados a lo largo de la superficie del balón y de la mucosa traqueal adyacente a un pliegue, podrían sufrir presiones más altas.

Respecto a la seguridad de ASS, para citar solo unos cuantos estudios, se ha reportado lesión traqueal asociada a ASS, particularmente cuando hay pocas secreciones dentro de la región subglótica⁶³ o cuando la ASS es continúa, en vez de intermitente^{64, 94}. Aunque está descrito que la ASS disminuye la incidencia de NAV^{64, 62}. Sin embargo, los efectos de estos nuevos balones sobre la *clearance* mucociliar no han sido investigados en estudios integrales comparativos.

A la fecha, no se dispone de ninguna recomendación específica para manufacturar balones eficientes porque los elementos determinantes del diseño de un balón idóneo no están aún identificados.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Primer estudio

Endotracheal tubes for critically ill patients: an *in vivo* analysis of associated tracheal injury, mucociliary clearance, and sealing efficacy

Chest 2015; 147: 1327-35

Hipótesis

La NAV es una iatrogenia que se desarrolla frecuentemente en pacientes intubados en la tráquea. La implementación de dispositivos para la ventilación mecánica implica severos cambios en las vías aéreas de los pacientes^{1, 24, 88}. El cambio más importante acontece cuando el paciente tiene un TET por lo tanto hay una puerta directa hacia las vías aéreas, que pierden esterilidad y son colonizadas a las pocas horas de iniciarse la ventilación mecánica^{7, 97}. La intubación también altera la *clearance* mucociliar reduciendo su velocidad y su efectividad en forma importante²⁴.

Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que los nuevos tubos de HVLP son más eficaces y seguros que los de PVC en función a la *clearance* mucociliar, lesión traqueal, y la eficacia de sellado en un modelo animal de NAV.

Objetivos

1. Estudiar la lesión traqueal asociada con el uso de los TET nuevos y estándar diseñados para pacientes críticamente enfermos
2. Estudiar la lesión asociada a ASS intermitente de los TET con HVLP en el modelo animal porcino de NAV.

3. Evaluar la velocidad del moco a nivel traqueal y el filtrado del moco a través del balón de TET con HVLP en el modelo animal porcino de NAV.
4. Probar la eficacia de los TET nuevos y estándar diseñados para pacientes críticamente enfermos en la prevención de la fuga de las secreciones orofaríngeas.

Segundo estudio

Gravity predominates over ventilator pattern in the prevention of Ventilator-Associated Pneumonia

Crit Care Med 2014; 42: 620-7

Hipótesis

Sobre el entendimiento actual de la patogénesis de la NAV en donde las bacterias colonizan la orofaringe^{12, 13, 11}, previamente se mostró que en la posición semirecumbente, las secreciones colonizadas se movían continuamente de la tráquea proximal hacia los pulmones, guiados por la gravedad, y que en última instancia causan NAV²⁶. Debido a que los patrones de flujo de aire pueden ser fácilmente modificados a través de la programación del ventilador mecánico es que:

Postulamos que la posición *Trendelenburg* es mejor que una estrategia ventilatoria para disminuir la migración de secreciones de los mocos traqueales hacia los pulmones, con la consecuente prevención de la NAV.

Objetivos

1. Evaluar la eficacia de una nueva estrategia ventilatoria que promueve la limpieza de moco para prevenir la NAV.
2. Estudiar la performance de la posición *Trendelenburg* en relación a las estrategias ventilatorias en la prevención de la neumonía asociada al ventilador.

PUBLICACIONES



If there is Online Only content that cannot be converted to a Word processing format, you may have to click the Supplemental Files icon on the menu bar in your Reviewer Center to access.

ENDOTRACHEAL TUBES FOR CRITICALLY ILL PATIENTS: AN IN-VIVO ANALYSIS OF ASSOCIATED TRACHEAL INJURY, MUCOCILIARY CLEARANCE AND SEALING EFFICACY

Journal:	<i>CHEST</i>
Manuscript ID:	CHEST-14-1438.R2
Manuscript Type:	Original Research
Date Submitted by the Author:	09-Nov-2014
Complete List of Authors:	Li Bassi, Gianluigi; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine Luque, Nestor; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine Marti, Joan; Hospital Clínic, Thorax Institute, Pneumology Department Aguilera Xiol, Eli; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine Di Pasquale, Marta Francesca; University of Milan, Pneumology Giunta, Valeria; Centro de Investigación Biomedica En Red-Enfermedades Respiratorias (CibeRes, CB06/06/0028), ; University of Milan, Pneumology; Dipartimento Toraco-Polmonare e Cardiocircolatorio, Università degli studi di Milano, IRCCS Fondazione Cà Granda, ; Servei de Pneumologia, Institut del Torax, Hospital Clinic, IDIBAPS, Universitat de Barcelona, Comaru, Talitha; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine Rigol, Montserrat; Hospital Clínic, Thorax Institute, Pneumology Department; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine; Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), ; Centro de Investigación Biomedica En Red- Enfermedades Respiratorias (CIBERES), ; Hospital Clínic, Thorax Institute, Cardiology Department Terraneo, Silvia; University of Milan, Pneumology; Dipartimento Toraco- Polmonare e Cardiocircolatorio, Università degli studi di Milano, IRCCS Fondazione Cà Granda, De Rosa, Francesca; University of Milan, Anesthesiology; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine Rinaudo, Mariano; Hospital Clinic, IDIBAPS, Universitat de Barcelona., Servei de Pneumologia, Institut del Torax. Crisafulli, Ernesto; Ospedale Villa Pineta, Dpt. Pulmonary Rehabilitation Peralta Lepe, Rogelio Cesar; Hospital Clinic, Pulmonary and Critical Care Medicine Agusti, Carles; Hospital Clínic, Bronchoscopy Lucena, Carmen M; Hospital Clinic, Pneumology Ferrer, Miquel; Hospital Clinic, Pneumology Fernandez, Laia; Hospital Clínic, Thorax Institute, Pneumology Department; Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Applied Research in Respiratory Diseases; Centro de Investigación Biomedica En Red- Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Torres, Antoni; Hospital Clinic,

Keywords:

MUCOCILIARY CLEARANCE, ANESTHESIOLOGY, ANIMAL STUDIES,
BRONCHOSCOPY, INTUBATIONSCHOLARONE™
Manuscripts

Privileged Communication

WORD COUNTS: 2498

TITLE: ENDOTRACHEAL TUBES FOR CRITICALLY ILL
PATIENTS: AN *IN-VIVO* ANALYSIS OF ASSOCIATED
TRACHEAL INJURY, MUCOCILIARY CLEARANCE AND
SEALING EFFICACY

RUNNING HEAD: ENDOTRACHEAL TUBE-ASSOCIATED TRACHEAL
INJURY

Gianluigi Li Bassi, MD, PhD^{*1-3}; Nestor Luque, MD^{*1}; Joan Daniel Marti, RPT, PhD^{1;3};
Eli Aguilera Xiol, Msc^{1;3}; Marta Di Pasquale, MD^{1;4}; Valeria Giunta, MD^{1;4}; Talitha
Cumaro, RPT, PhD¹; Montserrat Rigol, DVM, PhD¹⁻³; Silvia Terraneo, MD^{1;4}; Francesca
De Rosa, MD^{1;4}; Mariano Rinaudo, MD¹; Ernesto Crisafulli, MD, PhD¹; Rogelio Cesar
Peralta Lepe, MD¹; Carlos Agusti, MD, PhD⁵; Carmen Lucena, MD⁵; Miguel Ferrer,
MD, PhD¹⁻³; Laia Fernandez, PhD¹⁻³; and Antoni Torres, MD, PhD^{1-3;6}.

*GLB and NL equally contributed to this work

- 1) Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Division of Animal Experimentation, Thorax Institute, Hospital Clinic, Barcelona, Spain
- 2) Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
- 3) Centro de Investigación Biomedica En Red- Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona, Spain
- 4) University of Milan, Milan, Italy
- 5) Department of Pulmonary Medicine, Division of Bronchoscopy, Thorax Institute, Hospital Clinic, Barcelona, Spain
- 6) University of Barcelona, Barcelona, Spain

Address correspondence to:

Antoni Torres, MD, PhD
Pulmonary and Critical Care Unit
Hospital Clínic
Calle Villarroel 170, Esc 6/8 Planta 2
08036 Barcelona
SPAIN
Voice/Fax: 0034 932275549
Email: atorres@clinic.ub.es
Web: www.idibapsrespiratoryresearch.org

Summary conflict of interest statements:

Dr. Gianluigi Li Bassi received research grants, through his affiliated institutions, from Covidien Ltd; Antoni Torres received research grants, through his affiliated institutions, and consulting fee from Covidien Ltd; Nestor Luque, MD; Joan Daniel Marti; Eli Aguilera Xiol; Marta Di Pasquale; Valeria Giunta; Talitha Cumaro; Montserrat Rigol;

Silvia Terraneo; Francesca De Rosa; Mariano Rinaudo; Ernesto Crisafulli; Rogelio Cesar Peralta Lepe; Carlos Agusti; Carmen Lucena; Miguel Ferrer; and Laia Fernandez do not have conflict of interests related to this manuscript;

Funding Information: Support was provided by Covidien Ltd.

Notation of prior abstract publication/presentation:

1. *26th European Society of Intensive Care Medicine Meeting 2013, Paris, France.*

- a. F. De Rosa, G. Li Bassi, J.D. Martí, M. Cabanas, M. Rigol, T. Comaru, S. Terraneo, E. Aguilera, M. Rinaudo, M. Di Pasquale, R.C. Peralta, N. Luque, V. Giunta, J. Ramirez, A. Torres. HISTOLOGICAL EVALUATION OF THE RECOVERY OF CUFF-INDUCED TRACHEAL INJURY: ASSESSMENT AT 72 HOURS FROM EXTUBATION *Intensive Care Medicine*. 2013; 39 Supplement 2: Abstract 0680

2. *American Society of Critical Care Medicine 44th Critical Care Congress, 2012, Puerto Rico, USA.*

- a. Li Bassi, Gianluigi; Martí, Joan Daniel; Xiol, Eli Aguilera; Rigol, Montserrat; Di Pasquale, Marta Francesca; Rinaudo, Mariano; Comaru, Talitha; Luque, Nestor; Crisafulli, Ernesto; Torres, Antoni. EFFECTS OF HIGH-VOLUME LOW-PRESSURE CUFF DESIGNS AND MATERIALS ON MUCOCILIARY CLEARANCE. *Critical Care Medicine*. 2012; 40(12) Supplement 1: Abstract 440

- 1
2
3 b. Li Bassi, Gianluigi; Xiol, Eli Aguilera; Marti, Joan Daniel; Rigol, Montserrat;
4
5 Di Pasquale, Marta Francesca; Comaru, Talitha; Rinaudo, Mariano; Crisafulli,
6
7 Ernesto; Luque, Nestor; Torres, Antoni. ASSESSMENT OF CUFF-INDUCED
8
9 TRACHEAL INJURY BY COMMERCIALY AVAILABLE
10
11 ENDOTRACHEAL TUBES. *Critical Care Medicine*. 2012; 40(12)
12
13
14
15 Supplement 1: Abstract 443
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

ABBREVIATION LIST

ETT, Endotracheal Tube

FB, Fluorescence bronchoscopy

G+B, Green-plus-blue

HVLP, High-Volume Low-Pressure

MCC, Mucociliary clearance

MV, Mechanical Ventilation

PVC, Polyvinylchloride

R/G, Red-to-green intensity ratio

SSA, Subglottic secretion aspiration

ABSTRACT

Background: Improvements in the design of the endotracheal tube (ETT) have been achieved in recent years. We evaluated tracheal injury associated with ETTs with novel high-volume low-pressure (HVLP) cuffs and subglottic secretions aspiration (SSA) and the effects on mucociliary clearance (MCC).

Methods: Twenty-nine pigs were intubated with ETTs comprising cylindrical or tapered cuffs and made of polyvinylchloride or polyurethane. In specific ETTs, every 2 h SSA was performed. Following 76 h of mechanical ventilation, pigs were weaned and extubated. Images of the tracheal wall were recorded before intubation, extubation and 24 and 96h thereafter, through a fluorescence bronchoscope. We computed the red-to-green intensity ratio (R/G) –an index of tracheal injury– and the green-plus-blue (G+B) intensity –an index of normalcy– of the most injured tracheal regions. MCC was assessed through fluoroscopic tracking of radio-opaque markers. After 96h from extubation, pigs were sacrificed, and a pathologist scored injury.

Results: Cylindrical cuffs presented smaller increase in R/G vs. tapered cuffs ($p=0.011$). Additionally, cuffs made of polyurethane produced a minor increase in R/G ($p=0.012$) and less G+B intensity decline ($p=0.022$), vs. polyvinylchloride cuffs. Particularly, a cuff made of polyurethane and with smaller outer diameter outperformed all cuffs. SSA-related histological injury ranged from cilia loss to subepithelial inflammation. MCC was 0.9 ± 1.8 and 0.4 ± 0.9 mm/min for polyurethane and polyvinylchloride cuffs, respectively ($p<0.001$).

Conclusions: HVLP cuffs and SSA produce tracheal injury, and the recovery is incomplete up to 96h following extubation. Small, cylindrical-shaped cuffs made of polyurethane cause less injury. MCC decline is reduced with polyurethane cuffs.

KEYWORDS: Endotracheal tube; Mucociliary clearance; Tracheal Injury; Mechanical Ventilation; Fluorescence Bronchoscopy

INTRODUCTION

Several improvements in the design of the endotracheal tube (ETT) have been achieved in recent years.¹ Critically ill patients are often intubated with ETTs comprising tapered² or polyurethane cuffs.³ These novel cuffs have shown enhanced sealing effectiveness,²⁻⁸ in comparison with standard high-volume low-pressure (HVLP) cuffs of cylindrical shape, and made of polyvinylchloride (PVC). Additionally, some ETTs are designed to aspirate subglottic secretions (SSA). In two clinical studies,^{9,10} patients intubated with ETT comprising polyurethane cuffs were at lower risk of developing ventilator-associated pneumonia (VAP). Likewise, there is compelling evidence that SSA decreases the risk of VAP.¹¹

Nevertheless, the safety of these novel ETTs has not been extensively evaluated. We recently demonstrated⁷ that HVLP cuffs, inflated at the clinically recommended pressure range, might transmit high pressure against the trachea. In particular, we found that folds form along the cuff's surface and the tracheal mucosa adjacent to a fold could be subject to potentially harmful transmitted pressure. As for the safety of SSA, only a few studies have shown tracheal injury associated with SSA, particularly when few secretions are present within the subglottic region¹² or when continuous aspiration is applied.^{13,14} Finally, inflation of the cuff impairs the mucociliary escalator.¹⁵ Yet, the effects of these novel cuffs on the mucociliary clearance (MCC) rate is largely unknown.

Thus, we designed this prospective randomized study to evaluate in tracheally intubated pigs the effects of commercially available HVLP cuffs on tracheal injury, MCC

1
2
3 and prevention of leakage across the cuff. Additionally, injury associated with
4
5
6 intermittent SSA was assessed.
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Privileged Communication

MATERIALS AND METHODS

The Institutional Ethics Committee approved the protocol. Animals were managed according to the National Institutes of Health guidelines for the use and care of animals.¹⁶ Further methodological details are provided as supplemental material.

Randomization and Animal handling

Large White–Landrace pigs (37.3±3.6 Kg) were randomized to be intubated with one of the ETTs reported in table 1, connected to a mechanical ventilator (SERVO-I, Maquet, NJ USA) and ventilated as previously reported.¹⁷ Anesthesia was maintained through infusion of propofol and remifentanyl. Gases were conditioned to 37°C with a heated humidifier (Conchatherm III, Hudson RCI, NC, USA). The internal ETT cuff pressure was maintained at 28 cm H₂O, through a mechanical device,¹⁸ to optimize sealing efficacy,⁷ while avoiding tracheal ischemia.¹⁹⁻²⁴ In ETTs with SSA, every 2h, patency of the suction lumen was tested, and secretions aspirated with a syringe. In case of resistance upon aspiration, 10 mL of air were insufflated into the suction lumen, and aspiration was attempted one additional time only. Importantly, every 6h, the cuff was deflated and the ETT gently rotated to ensure that the evacuation port was directed toward the most dependent tracheal regions. Following 76 h of MV, pigs were weaned, extubated and housed with water and food *ad libitum* (e-Figure 1).

Tracheal Injury

Fluorescence bronchoscopy (FB): At baseline, extubation, and 24, 96h thereafter, images of the tracheal region where the cuff was located were recorded through a fluorescence bronchoscope (SAFE 3000, Pentax, Germany). White-light and

46

fluorescence pictures were concomitantly recorded. Upon laser activation, normal tracheal regions appeared bluish/greenish; while, injured regions were darker and brownish.²⁵ We computed, through image analysis software (ImageJ, NIH, USA), the red-to-green intensity ratio (R/G)^{26,27} – an index of injury – and the green-plus-blue (G+B) intensity – an index of normalcy – of the most injured tracheal region (100x100 pixels). Thus, tracheal injury was expected to increase R/G and decrease G+B values. To correct for inter-subject fluorescence variability, all values were adjusted per baseline values as follows: [(current–baseline value)/baseline value]*100, namely R/G and G+B intensity differentials, and reported as percentage. Upon imaging analysis, the observers were blinded to treatment allocation.

White-light Bronchoscopy: The white-light bronchoscopy pictures were scored by 2 bronchoscopists blinded to treatment allocation (figure 1).

Histopathology: After 96h from extubation, pigs were sacrificed and the length of the trachea, adjacent to the cuff, was measured. The worst histologic injury of the first and last tracheal rings in contact with the cuff, and every other ring between these two segments was scored (0,no injury; 1,epithelial layer compression; 2,cilia loss; 3,epithelial denudation; 4,subepithelial/glandular inflammation; 5,perichondrium inflammation) by a pathologist (e-Figure 2) blinded to treatment allocation. Injury of the area adjacent to the SSA opening was also studied by gross examination and microscopy.

Mucociliary clearance

Following 28 hours of MV, MCC was measured through fluoroscopic tracking of radiopaque markers, as previously described.^{17,28}

Cuff leakage

Following 52 and 73 hours from intubation, animals were placed prone, the bed oriented 30 degrees above horizontal and positive end expiratory pressure was reduced to 0. We instilled 2 mL of methylene blue and 3 ml of phosphate buffer solution with 1.5 μ L of 2.0 μ m fluorescent microspheres (InvitrogenTM, Madrid, Spain) into the subglottic region. One hour from instillation, leakage was estimated by the presence of methylene blue and quantification of microspheres in tracheal secretions.²⁹ We computed the percentage of recovered microspheres, per gram of tracheal secretions, per the total amount of instilled microspheres (aspirated microspheres).²⁹

Statistical analysis

One-way ANOVA or Kruskal-Wallis tests, with post-hoc Student's t-test or Wilcoxon-Mann Whitney test and Bonferroni correction, were employed to analyze continuous variables. Repeated one-way ANOVA, Friedman tests with post-hoc paired t-test and Wilcoxon signed ranks test and Bonferroni correction were used to detect differences between paired measurements. Association of tracheal injury scores between raters was tested using kappa statistic. Linear regression was used to assess association between parameters. A two-sided p value < 0.05 was considered statistically significant. All analyses were performed using SAS 9.2 software.

RESULTS

Study population

Four animals were included into each group; whereas 5 animals were intubated with the Kimvent* Microcuff* ETT. Twenty-seven animals completed the study, two animals, intubated with the Kimvent* Microcuff* ETT, were euthanized during weaning for pneumonia and cardiac arrest.

Cuff-related injury: Fluorescence and White-light Bronchoscopy

Figure 1 shows images of fluorescence and white-light bronchoscopy per ETT type. As showed in figure 2A, cylindrical cuffs presented smaller increase in R/G differentials vs. tapered cuffs. Additionally, cuffs made of polyurethane produced a minor degree of injury (figure 2B) and less deterioration of tracheal normalcy (figure 3B) vs. PVC cuffs. As for the comparison among ETTs, R/G differential did not vary, but significantly increased upon extubation ($15.2 \pm 16.0\%$) and 24h thereafter ($15.2 \pm 15.4\%$), and then reverted to baseline values ($3.4 \pm 12.5\%$) after 96h ($p < 0.001$, Friedman test) (figure 2C). The G+B intensity differential changed significantly among ETTs (figure 3C); in particular the SacettTM presented the greatest degree of injury ($-43.2 \pm 20.4\%$) and the Kimvent* Microcuff* the least ($-10.1 \pm 21.8\%$).

As for the white-light bronchoscopy, the kappa score indicated substantial agreement (weighted $K = 0.69$, 95% confidence interval 0.61–0.76, $p < 0.001$) between observers. The white-light bronchoscopy score did not differ between cuffs of cylindrical or tapered shape ($p = 0.513$, Wilcoxon-Mann-Whitney test) and polyurethane or PVC cuffs ($p = 0.198$ Wilcoxon-Mann-Whitney test). Likewise, there were not differences among

ETTs ($p=0.453$, Kruskal-Wallis test); whereas, the white-light bronchoscopy score was 2.2 ± 1.1 , 1.4 ± 1.3 , and 0.3 ± 0.5 upon extubation, 24h and 96h thereafter ($p<0.001$, Friedman test). The R/G differential was linearly correlated with the white-light bronchoscopy score ($r\text{-square } 0.14$, $p<0.001$); likewise, the G+B intensity decline was also associated with the bronchoscopy score ($r\text{-square } 0.19$, $p<0.001$)

Cuff-related injury: Gross Examination and Histological Assessment

Data are reported in table 2, and e-Figure 3. The length of the excised trachea differed among groups; yet it did not vary between cuffs of different shapes ($p=0.071$, t-test) or made of different materials ($p=0.105$, t-test). The shortest excised trachea was 2.6 ± 0.4 cm in the SacettTM group. The histological injury score of cylindrical and tapered cuff was 2.6 ± 0.7 , 2.7 ± 0.6 , respectively ($p=0.802$, Wilcoxon-Mann-Whitney test). Whereas, in polyurethane and PVC cuffs, it was 2.7 ± 0.6 , 2.6 ± 0.7 , respectively ($p=0.987$, Wilcoxon-Mann-Whitney test). No significant differences were found among groups. Importantly, following 96h from extubation, the injury recovery was incomplete, but only ranged from compression of the epithelial layer to epithelial loss.

Subglottic secretions aspiration-related injury

The volume of subglottic secretions per aspiration varied among tubes (figure 4). Additionally, aspirated secretions linearly increased with the study days (slope 0.052, y-intercept 0.157, $r\text{-square } 0.37$, $p<0.001$). Injury caused by SSA was found in 12.2% of the bronchoscopic assessments (figure 5). Whereas, upon autopsy, 25% of the tracheas presented gross findings of mucosal injury. Histological assessment was carried out in 2.0 ± 0.7 tracheal rings in proximity with the evacuation port. Histological tracheal injury

1
2
3 ranged from cilia loss to subepithelial/glandular inflammation and it did not differ among
4
5 groups (table 2).
6
7

8 **Mucociliary clearance**

9
10 Overall, 138 disks were tracked; 4.9 ± 2.2 disks per ETT type ($p=0.495$). As shown
11
12 in figure 6C, MCC rates differed among groups. Cuff material significantly affected
13
14 MCC rate (figure 6B, $p<0.001$, Wilcoxon-Mann-Whitney test). Conversely, cuff shape
15
16 did not impact MCC rate (figure 6A, $p=0.129$, Wilcoxon-Mann-Whitney test). In
17
18 particular, the Kimvent* Microcuff* was associated with the fastest rates (1.1 ± 2.1
19
20 mm/min, 0-9.7 mm/min); whereas the Ruschelit® Safety Clear Plus the slowest (0.2 ± 0.3
21
22 mm/min, 0-1.1 mm/min).
23
24
25

26 **Leakage across the ETT cuff**

27
28 Methylene blue dye was never found in aspirated secretions. Aspirated
29
30 microspheres did not differ between cuffs of different material ($p=0.545$, Wilcoxon-
31
32 Mann-Whitney test) or shape ($p=0.222$, Wilcoxon-Mann-Whitney test). Yet, as reported
33
34 in figure 7, the percentage of aspirated microspheres varied among ETTs ($p=0.006$,
35
36 Kruskal-Wallis test). The Taperguard™ showed the best sealing performance (aspirated
37
38 microspheres $0.008 \pm 0.004\%$), whereas the Sacett™ the worst ($0.356 \pm 0.650\%$).
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

DISCUSSION

We found that commercially available HVLP cuffs produce tracheal injury and the recovery is incomplete up to 96 hours following extubation. Of note, the Kimvent* Microcuff*, which is a cylindrical shaped cuff of small outer diameter^{3,7} and made of polyurethane causes less injury. Additionally, MCC rate is less impaired with polyurethane cuffs. Finally, intermittent SSA increases the risk of tracheal injury and subepithelial/glandular inflammation may be present even 96h following extubation.

Cuff-related Tracheal injury

HVLP cuffs seal the trachea without being stretched; consequently, their internal pressure estimates the pressure transmitted against the mucosa.^{30,31} Based on the FB assessment, we found that cuffs made of polyurethane and with a cylindrical shape caused less injury. In particular, as showed in figure 2 and 3, the Kimvent* Microcuff* and the SacettTM were the best and worst outliers, respectively. This suggests that specific features in the design of these superior-performing and under-performing cuffs could play a critical role in the development of tracheal injury. Indeed, we previously demonstrated⁷ that the pressure transmitted by HVLP cuffs might be higher than expected, particularly using very large cuffs, i.e. the SacettTM, since the cuff's surface becomes highly irregular, due to the formation of folds. Conversely, the Kimvent* Microcuff* has a thickness of approximately 5µm and a very small outer diameter;^{3,7} thus, upon inflation fewer thin folds are formed, and its surface is more homogeneous. Yet, tapered cuffs presented smaller contact areas in comparison with cylindrical ones (table 2). This factor should be taken into account, because it could limit the extension of tracheal injury.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

FB has been employed for the diagnosis of early-stage airway cancers.^{32,33} To the best of our knowledge, this is the first report using this technique to quantify cuff-related tracheal injury. When the trachea is excited by blue light (408 nm), chromophore elements, i.e. tryptophan, collagen and elastin, emits fluorescence light in the greenish/bluish spectra. Autofluorescence is diminished in pathologic states, such as inflammation and injury. This is due to thickened epithelium; reduced density of chromophore elements; hyperemic mucosa, consequently the bronchoscope light is attenuated – additionally, the red surface completely absorbs blue and green lights. Based on these concepts, we computed the R/G, as previously reported,^{26,27} and the G+B intensity to quantify the severity of injury. As clearly showed by the association of these parameters with the white-light bronchoscopy scores, FB could be a potential tool to quantify *in-vivo* tracheal injury.

Subglottic aspiration-related Tracheal injury

In line with previous investigations,^{12-14,34} we found important injury associated with SSA, irrespective of our attempts to avoid mucosal invagination, through intermittent aspiration and hasty interruption of aspiration if resistance was encountered. A potential explanation for these results is that few secretions were present upon aspiration, particularly during the first days of ventilation. This may have been related to the use of the lateral-Trendelenburg position. Another potential reason is related to the design of the evacuation port. Ideally, the suction port should be as close as possible to the cuff to allow a safe distance between the port and the mucosa³⁵ and avoid mucosal invagination. Unfortunately, in all tested ETTs the suction port was not in full proximity of the cuff.

Mucociliary clearance

Previous studies^{15,28,36} have shown that MCC rate decreases following intubation. In healthy pigs, MCC rate ranges between 7-15 mm/min.³⁷ Thus, in line with prior findings,^{15,28,36} in the present study, MCC was highly depressed. Sackner and collaborators¹⁵ suggested the activation of a neurogenic reflex arc upon cuff inflation, but the exact mechanism for this impairment is still unknown. In this context, we found that polyurethane cuffs, in particular the Kimvent* Microcuff*, caused less tracheal injury and impairment in mucociliary velocity.

Tracheal sealing efficacy

Interestingly, according to our previous *in-vitro* findings,⁷ we found that the sealing efficacy of the SacettTM was highly limited. The SacettTM is a tapered cuff with a very large outer diameter, and we first hypothesized that the sealing circumference of a large tapered cuff is inefficient. Our current study supports this theory; indeed, the conical-shaped TaperguardTM cuff, which has a very small outer diameter, performed better in comparison with the SacettTM.

Clinical Implications

In the last decades, post-intubation complications have drastically reduced with HVLP cuffs.^{38,39} Nevertheless, Touat et al.³⁴ recently found tracheal ischemic lesions in 83% of critically ill patients intubated with these cuffs. These data highlight that prevention of cuff-related tracheal injury is often overlooked in clinical practice. Our

study also calls attention to the severe reduction in MCC rate during tracheal intubation. The pathophysiologic mechanisms underlying this impairment should be identified to develop new preventive/therapeutic strategies. As for the SSA, undoubtedly this technology has an important role in the prevention of VAP.¹¹ Nonetheless, the design of these ETTs should be further improved to ensure safety.

This study has a few limitations. First, the small sample size may have limited the power of our observations. Second, animals were healthy and ventilated for a limited number of days; thus, we may speculate that a long-term use of these cuffs in critically ill patients could cause even greater tracheal damage; yet, further laboratory and clinical studies should corroborate these assumptions. Third, throughout the study, the ETT depth of insertion was strictly monitored and the internal cuff pressure kept at 28 cmH₂O. Conversely, in clinical settings position of the ETT⁴⁰ and internal cuff pressure may vary;^{41,42} consequently, we may have underestimated the extension and severity of tracheal injury.

CONCLUSIONS

In summary, we found that HVLP cuffs cause tracheal injury and the Kimvent* Microcuff*, which is a small cylindrical cuff, made of polyurethane, reduces this risk. Additionally, HVLP cuffs made of PVC impair MCC and the sealing efficacy of very large tapered PVC cuffs is highly limited. Finally, intermittent SSA frequently causes tracheal lesions and recovery is incomplete up to 96h from extubation.

ACKNOWLEDGMENTS:

We thank Marco Carbonara for his support with FB figures and Otavio Tavares Ranzani for his critical review.

Privileged Communication

Reference List

1. Haas CF, Eakin RM, Konkle MA, Blank R. Endotracheal tubes: old and new. *Respir Care*. 2014;59(6):933-55.
2. Young PJ, Blunt MC. Improving the shape and compliance characteristics of a high-volume, low-pressure cuff improves tracheal seal. *Br J Anaesth*. 1999;83(6):887-9.
3. Dullenkopf A, Gerber A, Weiss M. Fluid leakage past tracheal tube cuffs: evaluation of the new Microcuff endotracheal tube. *Intensive Care Med*. 2003;29(10):1849-53.
4. Ouane I, Lyazidi A, Danin PE, et al. Mechanical influences on fluid leakage past the tracheal tube cuff in a benchtop model. *Intensive Care Med*. 2011;37(4):695-700.
5. Zanella A, Scaravilli V, Isgrò S, et al. Fluid leakage across tracheal tube cuff, effect of different cuff material, shape, and positive expiratory pressure: a bench-top study. *Intensive Care Med*. 2011;37(2):343-7.
6. Pitts R, Fisher D, Sulemanji D, Kratochvil J, Jiang Y, Kacmarek R. Variables affecting leakage past endotracheal tube cuffs: a bench study. *Intensive Care Med*. 2010;36(12):2066-73.
7. Li Bassi G, Ranzani OT, Marti JD, et al. An in vitro study to assess determinant features associated with fluid sealing in the design of endotracheal tube cuffs and exerted tracheal pressures. *Crit Care Med*. 2013;41(2):518-26.
8. Young PJ, Ridley SA, Downward G. Evaluation of a new design of tracheal tube cuff to prevent leakage of fluid to the lungs. *Br J Anaesth*. 1998;80(6):796-9.

- 1
2
3 9. Lorente L, Lecuona M, Jiménez A, Mora ML, Sierra A. Influence of an endotracheal
4 tube with polyurethane cuff and subglottic secretion drainage on pneumonia. *Am J Respir*
5
6 *Crit Care Med.* 2007;176(11):1079-83.
7
8
9
- 10
11 10. Poelaert J, Depuydt P, De Wolf A, Van de Velde S, Herck I, Blot S. Polyurethane
12 cuffed endotracheal tubes to prevent early postoperative pneumonia after cardiac surgery:
13 a pilot study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;135(4):771-6.
14
15
16
- 17
18 11. Muscedere J, Rewa O, McKechnie K, Jiang X, Laporta D, Heyland DK. Subglottic
19 secretion drainage for the prevention of ventilator-associated pneumonia: a systematic
20 review and meta-analysis. *Crit Care Med.* 2011;39(8):1985-91.
21
22
23
24
25
- 26 12. Suys E, Nieboer K, Stiers W, De Regt J, Huyghens L, Spapen H. Intermittent
27 subglottic secretion drainage may cause tracheal damage in patients with few
28 oropharyngeal secretions. *Intensive Crit Care Nurs.* 2013;29(6):317-20.
29
30
31
32
- 33 13. Berra L, De Marchi L, Panigada M, Yu ZX, Baccarelli A, Kolobow T. Evaluation of
34 continuous aspiration of subglottic secretion in an in vivo study. *Crit Care Med.*
35
36 2004;32(10):2071-8.
37
38
39
40
- 41 14. Harvey RC, Miller P, Lee JA, Bowton DL, MacGregor DA. Potential mucosal injury
42 related to continuous aspiration of subglottic secretion device. *Anesthesiology.*
43
44 2007;107(4):666-9.
45
46
47
48
- 49 15. Sackner MA, Hirsch J, Epstein S. Effect of cuffed endotracheal tubes on tracheal
50 mucous velocity. *Chest.* 1975;68(6):774-7.
51
52
53
- 54 16. *Guide for the care and use of laboratory animals.* 2011;
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 17. Li Bassi G, Saucedo L, Marti JD, et al. Effects of duty cycle and positive end-
4 expiratory pressure on mucus clearance during mechanical ventilation*. *Crit Care Med.*
5
6 2012;40(3):895-902.
7
8
9
10 18. Farré R, Rotger M, Ferre M, Torres A, Navajas D. Automatic regulation of the cuff
11 pressure in endotracheally-intubated patients. *Eur Respir J.* 2002;20(4):1010-3.
12
13
14 19. Stenqvist O, Bagge U. Cuff pressure and microvascular occlusion in the tracheal
15 mucosa. An intravital microscopic study in the rabbit. *Acta Otolaryngol.* 1979;88(5-
16 6):451-4.
17
18
19 20. Nordin U, Lindholm CE, Wolgast M. Blood flow in the rabbit tracheal mucosa under
20 normal conditions and under the influence of tracheal intubation. *Acta Anaesthesiol*
21 *Scand.* 1977;21(2):81-94.
22
23 21. Nordin U. The trachea and cuff-induced tracheal injury. An experimental study on
24 causative factors and prevention. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1977;3451-71.
25
26 22. Nordin U, Lindholm CE. The vessels of the rabbit trachea and ischemia caused by
27 cuff pressure. *Arch Otorhinolaryngol.* 1977;215(1):11-24.
28
29 23. Dobrin P, Canfield T. Cuffed endotracheal tubes: mucosal pressures and tracheal wall
30 blood flow. *Am J Surg.* 1977;133(5):562-8.
31
32 24. Seegobin RD, van Hasselt GL. Endotracheal cuff pressure and tracheal mucosal
33 blood flow: endoscopic study of effects of four large volume cuffs. *Br Med J (Clin Res*
34 *Ed).* 1984;288(6422):965-8.
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

25. Gabrecht T, Lovisa B, van den Bergh H, Wagnières G. Autofluorescence bronchoscopy: quantification of inter-patient variations of fluorescence intensity. *Lasers Med Sci.* 2009;24(1):45-51.
26. Lee P, van den Berg RM, Lam S, et al. Color fluorescence ratio for detection of bronchial dysplasia and carcinoma in situ. *Clin Cancer Res.* 2009;15(14):4700-5.
27. Nakanishi K, Ohsaki Y, Kurihara M, et al. Color auto-fluorescence from cancer lesions: improved detection of central type lung cancer. *Lung Cancer.* 2007;58(2):214-9.
28. Li Bassi G, Zanella A, Cressoni M, Stylianou M, Kolobow T. Following tracheal intubation, mucus flow is reversed in the semirecumbent position: possible role in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med.* 2008;36(2):518-25.
29. Li Bassi G, Marti JD, Saucedo L, et al. Gravity Predominates Over Ventilatory Pattern in the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia. *Crit Care Med.* 2014;
30. Carroll RG. Evaluation of tracheal tube cuff designs. *Crit Care Med.* 1973;1(1):45-6.
31. Carroll RG, Grenvik A. Proper use of large diameter, large residual volume cuffs. *Crit Care Med.* 1973;1(3):153-4.
32. Chen W, Gao X, Tian Q, Chen L. A comparison of autofluorescence bronchoscopy and white light bronchoscopy in detection of lung cancer and preneoplastic lesions: a meta-analysis. *Lung Cancer.* 2011;73(2):183-8.
33. Sun J, Garfield DH, Lam B, et al. The value of autofluorescence bronchoscopy combined with white light bronchoscopy compared with white light alone in the diagnosis of intraepithelial neoplasia and invasive lung cancer: a meta-analysis. *J Thorac Oncol.* 2011;6(8):1336-44.

34. Touat L, Fournier C, Ramon P, Salleron J, Durocher A, Nseir S. Intubation-related tracheal ischemic lesions: incidence, risk factors, and outcome. *Intensive Care Med.* 2013;39(4):575-82.
35. Diaz E, Rodríguez AH, Rello J. Ventilator-associated pneumonia: issues related to the artificial airway. *Respir Care.* 2005;50(7):900-6; discussion 906-9.
36. Trawöger R, Kolobow T, Cereda M, Sparacino ME. Tracheal mucus velocity remains normal in healthy sheep intubated with a new endotracheal tube with a novel laryngeal seal. *Anesthesiology.* 1997;86(5):1140-4.
37. Hoegger MJ, Awadalla M, Namati E, et al. Assessing mucociliary transport of single particles in vivo shows variable speed and preference for the ventral trachea in newborn pigs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(6):2355-60.
38. Honeybourne D, Costello JC, Barham C. Tracheal damage after endotracheal intubation: comparison of two types of endotracheal tubes. *Thorax.* 1982;37(7):500-2.
39. Arola MK, Anttinen J. Post-mortem findings of tracheal injury after cuffed intubation and tracheostomy. A clinical and histopathological study. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1979;23(1):57-68.
40. Minonishi T, Kinoshita H, Hirayama M, et al. The supine-to-prone position change induces modification of endotracheal tube cuff pressure accompanied by tube displacement. *J Clin Anesth.* 2013;25(1):28-31.
41. Nseir S, Zerimech F, Fournier C, et al. Continuous control of tracheal cuff pressure and microaspiration of gastric contents in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184(9):1041-7.

1
2
3 42. Valencia M, Ferrer M, Farre R, et al. Automatic control of tracheal tube cuff pressure
4
5 in ventilated patients in semirecumbent position: a randomized trial. *Crit Care Med.*
6
7 2007;35(6):1543-9.
8
9

10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Privileged Communication

Table 1 Endotracheal tubes features

Endotracheal tube	Cuff material	Cuff shape	Subglottic Secretions Aspiration
Ruschelit® Safety Clear Plus (Teleflex Inc., Limerick, PA, USA)	PVC	Cylindrical	No
Hi-Lo Evac™ (Covidien-Nellcor™ and Puritan Bennett™, Boulder, CO, USA)	PVC	Cylindrical	Yes
Sacett™ (Smiths Medical-Portex™, St Paul, MN, U.S.A)	PVC	Tapered	Yes
Taperguard™ (Covidien-Nellcor™ and Puritan Bennett™, Boulder, CO, USA)	PVC	Tapered	Yes
Sheridan/HVT® (Hudson RCI®, Durham, NC, USA)	PVC	Tapered	No
Kimvent® Microcuff® (Kimberly-Clark Health Care, Roswell, GA, USA)	Polyurethane	Cylindrical	No
SealGuard Evac™ (Covidien-Nellcor™ and Puritan Bennett™, Boulder, CO, USA)	Polyurethane	Tapered	Yes

Table 1 Caption:

We studied commercially available endotracheal tubes with high-volume low-pressure cuffs, most commonly used in critically ill patients. These tubes comprise cuffs made of PVC or polyurethane and with a cylindrical or tapered shape. Five out of seven tubes allowed aspiration of subglottic secretions. PVC, Polyvinylchloride

Table 2 Post-mortem assessment of tracheal injury

	Ruschelit® Safety Clear Plus	Hi-Lo™	Sacett™	Taperguard™	Sheridan/HVT	Kimvent* Microcuff*	SealGuard Evac™	p-value
Gross Examination								
Length Excised Trachea (cm)	3.1±0.1	3.5±0.2	2.6±0.4	2.9±0.4	3.6±0.2	3.8±0.6	3.4±0.5	0.026^a
Extent Tracheal Injury (cm)	1.9±0.7	2.1±0.5	0.7±0.8	1.2±0.7	1.4±1.2	1.5±1.1	1.9±1.5	0.552 ^b
Histological Assessment								
Number Analyzed Tracheal rings	4.2±0.9	5.2±0.9	6±1.4	6.7±1.2	4.7±0.5	4.5±0.6	6.5±1.0	0.035^a
Histological Injury Score	2.8±0.7 (0-3)	2.3±1.0 (0-3)	2.7±0.6 (1-3)	2.7±0.6 (1-3)	2.7±0.6 (1-3)	2.7±0.5 (2-3)	2.6±0.7 (1-3)	0.740 ^a
Histological Injury Score by Subglottic Secretion Aspiration	NA	2.8±0.8 (2-4)	2.6±0.7 (1-3)	1.8±1.1 (0-3)	NA	NA	2.7±0.9 (1-4)	0.225 ^a

Table 2 Caption:

Of note, the length of the excised trachea, which was in contact with the cuff during the study, varied among endotracheal tubes, because the cuffs were of different length. The first and last rings of the excised trachea, and every other ring between these two segments were analyzed. As a result, the number of analyzed rings also differed among endotracheal tubes. ^a Kruskal-Wallis Test; ^b One-way ANOVA; NA, Not available

FIGURE LEGENDS:**Figure 1**

Fluorescence and white-light bronchoscopy assessments upon intubation, extubation, 24 and 96 hours thereafter, per endotracheal tube type. The white-light bronchoscopy pictures were scored as follows: 0, no injury; 1, mild 2, moderate and 3, severe hyperemia, edema or discoloration without ulceration; 4, superficial ulceration, and 5 deep ulceration of the mucous membrane; 6, deep ulceration with exposed cartilage. Of note, we only report bronchoscopic still images of animals with the worst cuff-related tracheal injury. A, Ruschelit[®] Safety Clear Plus; B, Hi-LoTM; C, SacettTM; D, TaperguardTM; E, Sheridan/HVT[®]; F, Kimvent* Microcuff*; G, SealGuard EvacTM.

Figure 2

Red to green intensity ratio (R/G) differential, which is an index of tracheal injury, vs. time of intubation (%). In each box plot, the median value of R/G differential is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. A, Cylindrical cuffs presented smaller increase in R/G differentials vs. tapered cuffs (t-test). B, Additionally, cuffs made of polyurethane produced a minor increase in R/G differentials, in comparison with polyvinylchloride cuffs (Wilcoxon-Mann-Whitney test). C, The R/G differential did not significantly vary among endotracheal tube types (One-way ANOVA). The R/G differential was higher upon extubation and 24 hours thereafter, and decreased after 96 hours ($p < 0.001$,

Friedman test). a, $p < 0.001$ vs. 24 and 96 hours after extubation (Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction).

Figure 3

Green+Blue intensity (G+B) differential, which is an index of tracheal normalcy, vs. time of intubation (%). In each box plot, the median value of G+B intensity differential is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. A, Cuff shape did not affect the G+B intensity differential (t-test). B, Cuffs made of polyurethane produced less G+B intensity differential decline vs. polyvinylchloride cuffs (Wilcoxon-Mann-Whitney test). C, The G+B intensity differential was different among endotracheal tube types ($p = 0.047$, Kruskal-Wallis test). Also, The G+B intensity differential differed throughout the time of the study ($p < 0.001$, One-way repeated measures ANOVA). a, $p < 0.001$ vs. 24 and 96 hours after extubation (Repeated measures t-test with Bonferroni correction).

Figure 4

Aspirated subglottic secretions per endotracheal tube type. In each box plot, the median value of aspirated subglottic secretions is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. The volume of subglottic secretions per aspiration varied among tubes, Hi-Lo™ 0.12 ± 0.19 ml,

Sacett[®] 0.21 ± 0.33 ml, Sealguard[®] 0.34 ± 0.53 ml and Taperguard[™] 0.26 ± 0.30 ml ($p=0.013$, Kruskal-Wallis test)

Figure 5

Upon autopsy, tracheal mucosal erythema/edema in proximity of the evacuation lumen was observed in 1 animal (A) and mucosal erosion in 3 animals (B-D). The same mucosal injury was often observed during bronchoscopy (B-C, upper pictures). A, Sacett[™]; B, Sacett[™]; C, Taperguard[™] and D, Hi-Lo[™]. The arrows highlight the injured tracheal regions.

Figure 6

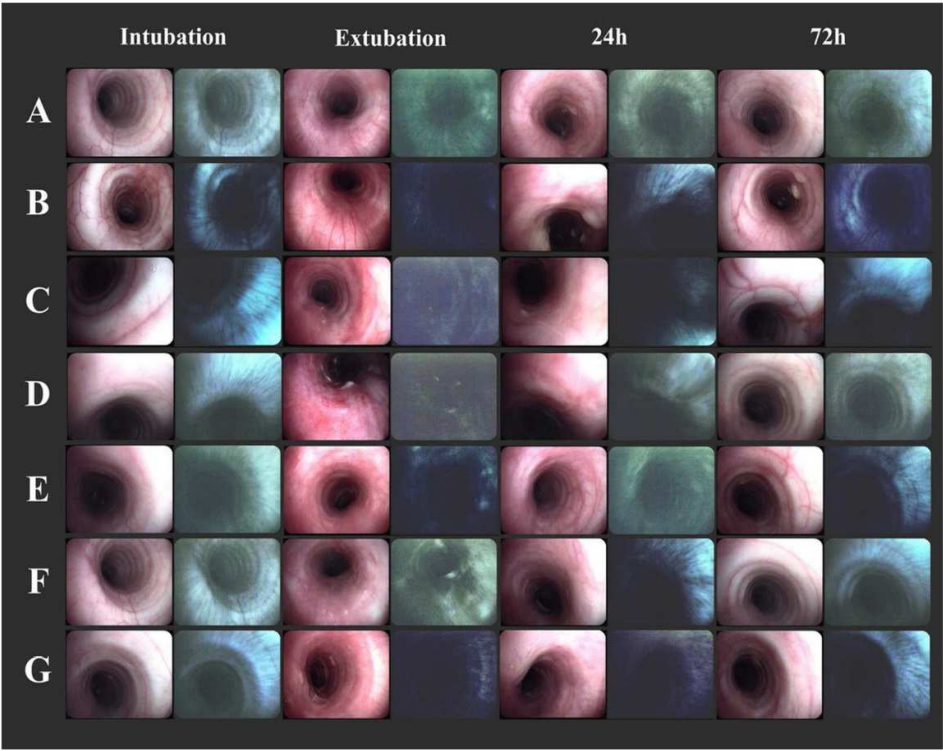
Mucociliary clearance by endotracheal tube type. In each box plot, the median value of disks movements is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. A, Cuff shape did not affect the mucociliary clearance rate (Wilcoxon-Mann-Whitney test). B, Cuffs made of polyurethane were associated with faster mucociliary clearance velocity, in comparison with polyvinylchloride cuffs (Wilcoxon-Mann-Whitney test) C, mucociliary movements differed among endotracheal tube types ($p<0.001$, Kruskal-Wallis test). a, $p \leq 0.008$ vs Rushelit[®] and Hi-Lo[™]; b, $p=0.002$ vs Rushelit[®], Hi-Lo[™] and Sacett[™] (Wilcoxon-Mann-Whitney test with Bonferroni correction)

Figure 7

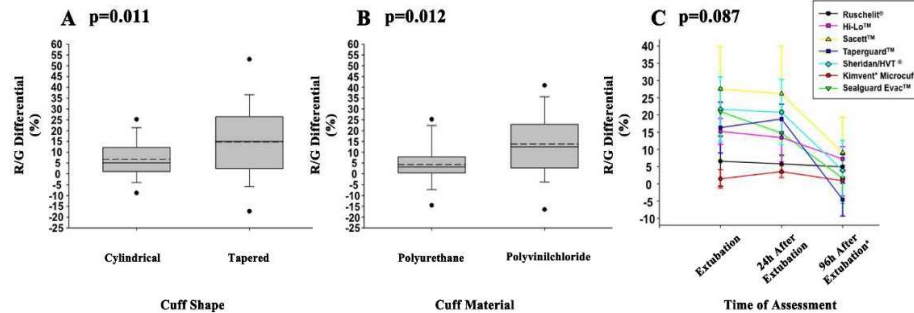
Aspirated microspheres (percentage of recovered microspheres, per gram of tracheal secretions, of the total amount of instilled microspheres) per endotracheal tube type.

Percentage of aspirated microspheres differed among groups ($p=0.006$, Kruskal-Wallis test).

Privileged Communication

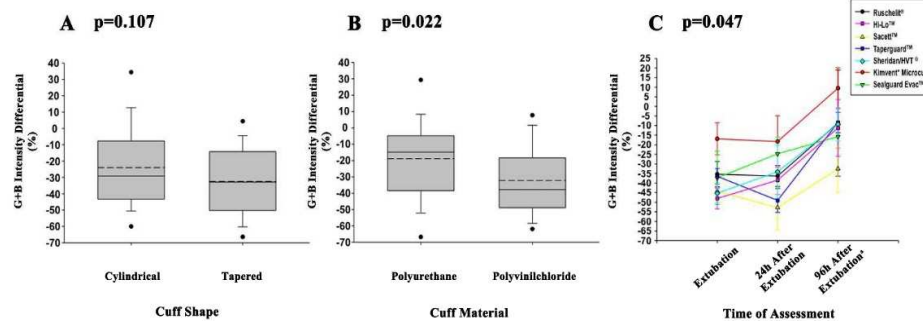


Fluorescence and white-light bronchoscopy assessments upon intubation, extubation, 24 and 96 hours thereafter, per endotracheal tube type. The white-light bronchoscopy pictures were scored as follows: 0, no injury; 1, mild 2, moderate and 3, severe hyperemia, edema or discoloration without ulceration; 4, superficial and 5 deep ulceration of the mucous membrane; 6, deep ulceration with exposed cartilage. Of note, we only report bronchoscopic still images of animals with the worst cuff-related tracheal injury. A, Ruschelit® Safety Clear Plus; B, Hi-LoTM; C, SacettTM; D, TaperguardTM; E, Sheridan/HVT®; F, Kimvent* Microcuff*; G, SealGuard EvacTM.
97x74mm (300 x 300 DPI)



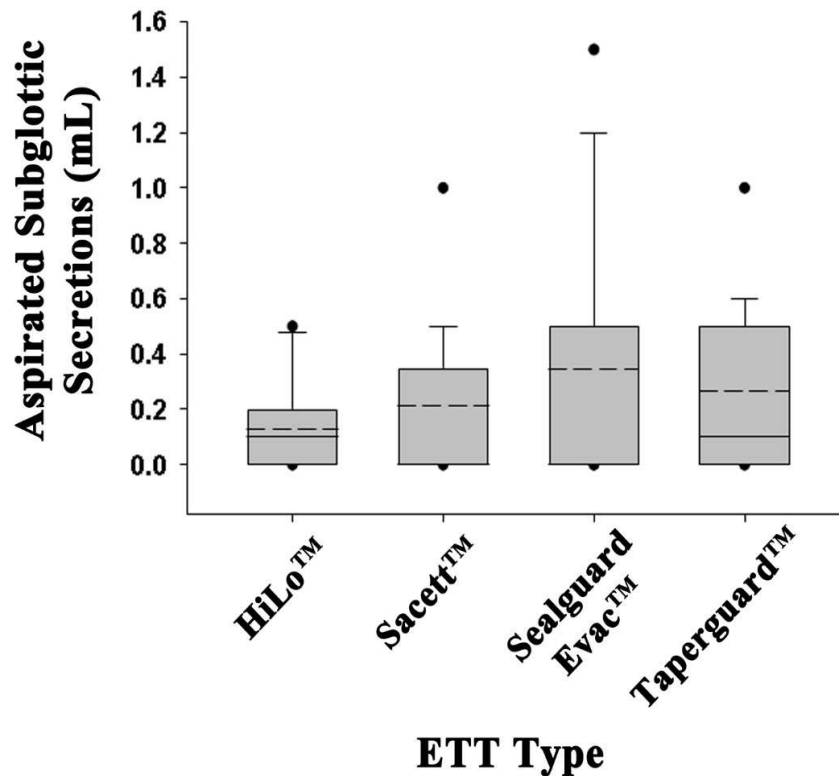
Red to green intensity ratio (R/G) differential, which is an index of tracheal injury, vs. time of intubation (%). In each box plot, the median value of R/G differential is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. A, Cylindrical cuffs presented smaller increase in R/G differentials vs. tapered cuffs (t-test). B, Additionally, cuffs made of polyurethane produced a minor increase in R/G differentials, in comparison with polyvinylchloride cuffs (Wilcoxon-Mann-Whitney test). C, The R/G differential did not significantly vary among endotracheal tube types (One-way ANOVA). The R/G differential was higher upon extubation and 24 hours thereafter, and decreased after 96 hours ($p < 0.001$, Friedman test). a, $p < 0.001$ vs. 24 and 96 hours after extubation (Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction).

566x198mm (300 x 300 DPI)



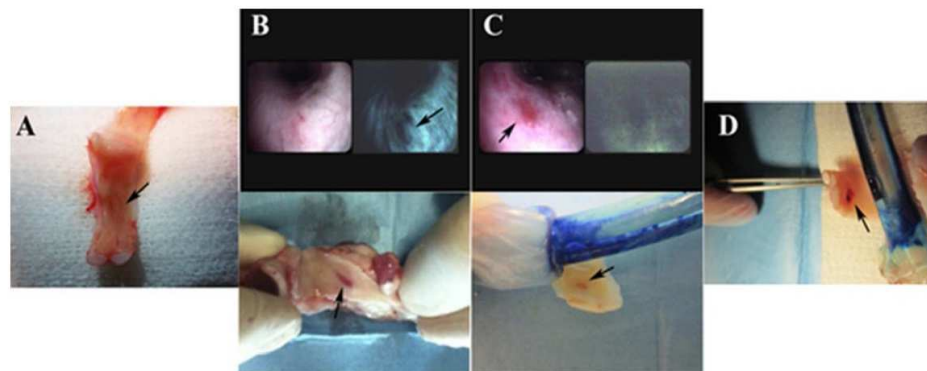
Green+Blue intensity (G+B) differential, which is an index of tracheal normalcy, vs. time of intubation (%). In each box plot, the median value of G+B intensity differential is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. A, Cuff shape did not affect the G+B intensity differential (t-test). B, Cuffs made of polyurethane produced less G+B intensity differential decline vs. polyvinylchloride cuffs (Wilcoxon-Mann-Whitney test). C, The G+B intensity differential was different among endotracheal tube types ($p=0.047$, Kruskal-Wallis test). Also, The G+B intensity differential differed throughout the time of the study ($p<0.001$, One-way repeated measures ANOVA). a, $p<0.001$ vs. 24 and 96 hours after extubation (Repeated measures t-test with Bonferroni correction).

575x196mm (300 x 300 DPI)



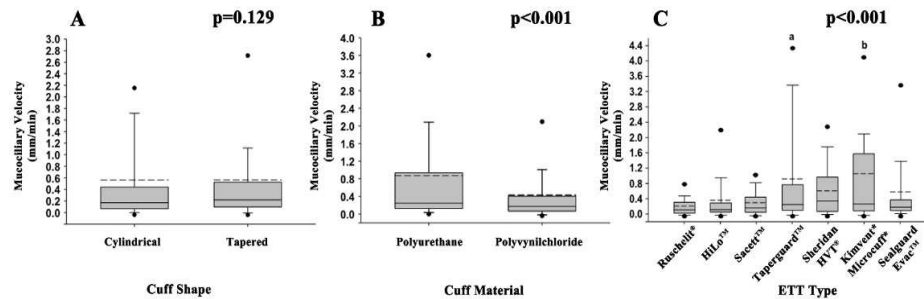
Aspirated subglottic secretions per endotracheal tube type. In each box plot, the median value of aspirated subglottic secretions is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. The volume of subglottic secretions per aspiration varied among tubes, Hi-Lo™ 0.12 ± 0.19 ml, Sacett® 0.21 ± 0.33 ml, Sealguard® 0.34 ± 0.53 ml and Taperguard™ 0.26 ± 0.30 ml ($p=0.013$, Kruskal-Wallis test)

176x162mm (300 x 300 DPI)



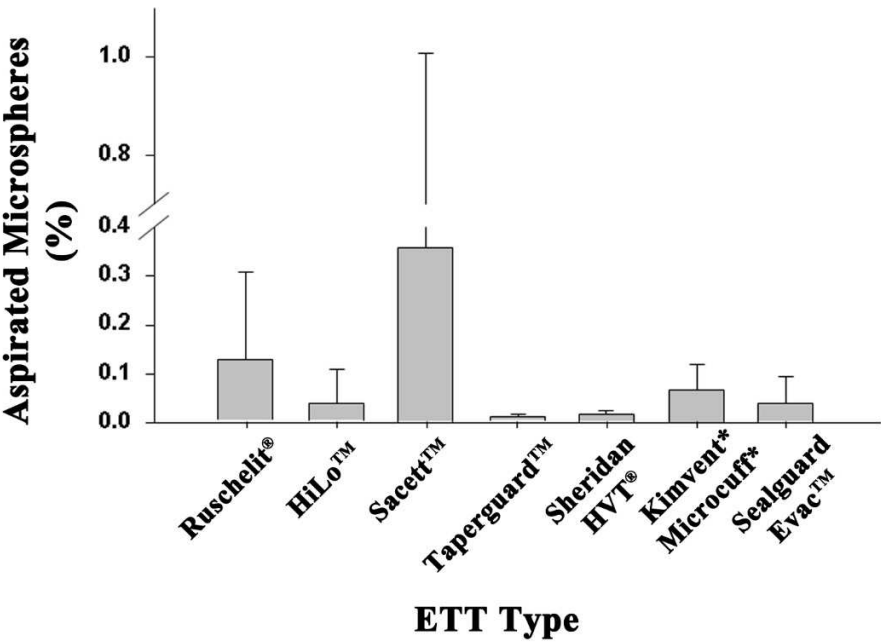
Upon autopsy, tracheal mucosal erythema/edema in proximity of the evacuation lumen was observed in 1 animal (A) and mucosal erosion in 3 animals (B-D). The same mucosal injury was often observed during bronchoscopy (B-C, upper pictures). A, SacettTM; B, SacettTM; C, TaperguardTM and D, Hi-LoTM. The arrows highlight the injured tracheal regions.

48x18mm (300 x 300 DPI)



Mucociliary clearance by endotracheal tube type. In each box plot, the median value of disks movements is indicated by the center horizontal line, the mean by the dashed line, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Dots, above and below whiskers, show the 95th and 5th percentiles. A, Cuff shape did not affect the mucociliary clearance rate (Wilcoxon-Mann-Whitney test). B, Cuffs made of polyurethane were associated with faster mucociliary clearance velocity, in comparison with polyvinylchloride cuffs (Wilcoxon-Mann-Whitney test). C, mucociliary movements differed among endotracheal tube types ($p<0.001$, Kruskal-Wallis test). a, $p\leq 0.008$ vs Rushelit® and Hi-Lo™ ; b, $p=0.002$ vs Rushelit®, Hi-Lo™ and Sacett™ (Wilcoxon-Mann-Whitney test with Bonferroni correction)

560x173mm (300 x 300 DPI)



Aspirated microspheres (percentage of recovered microspheres, per gram of tracheal secretions, of the total amount of instilled microspheres) per endotracheal tube type. Percentage of aspirated microspheres differed among groups ($p=0.006$, Kruskal-Wallis test).
212x157mm (300 x 300 DPI)

Gravity Predominates Over Ventilatory Pattern in the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia

Gianluigi Li Bassi, MD, PhD^{1,2,3*}; Joan Daniel Marti, RPT, PhD^{1,2,3*}; Lina Saucedo, MD¹; Montserrat Rigol, DVM, PhD^{1,2,4}; Ignasi Roca, PhD⁵; Maria Cabanas, MD⁶; Laura Muñoz, BSc⁵; Otavio Tavares Ranzani, MD^{1,3,7}; Valeria Giunta, MD¹; Nestor Luque, MD¹; Mariano Esperatti, MD¹; Albert Gabarrus, MSc⁸; Laia Fernandez, PhD^{1,2,3}; Mariano Rinaudo, MD¹; Miguel Ferrer, MD, PhD¹; Jose Ramirez, MD, PhD⁶; Jordi Vila, MD, PhD^{5,9}; Antoni Torres, MD, PhD^{1,2,3,9}

¹Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Division of Animal Experimentation, Hospital Clínic, Thorax Institute, Barcelona, Spain.

²Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona, Spain.

³Centro de Investigación Biomédica En Red-Enfermedades Respiratorias, Barcelona, Spain.

⁴Department of Cardiology, Hospital Clínic, Thorax Institute, Barcelona, Spain.

⁵Department of Clinical Microbiology, School of Medicine, and Barcelona Centre for International Health Research (CRESIB, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona), Barcelona, Spain.

⁶Department of Pathology, Hospital Clínic, Barcelona, Spain.

⁷Pulmonary Intensive Care Unit, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

⁸Department of Pneumology, Hospital Clínic, Thorax Institute, Office of Biostatistics, Barcelona, Spain.

⁹University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Dr. Li Bassi had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. Drs. Li Bassi and Marti contributed equally. Drs. Li Bassi, Ferrer, and Torres did the study concept and design. Drs. Li Bassi, Marti, Saucedo, Rigol, Tavares Ranzani, Giunta, Luque, Esperatti, Fernandez, and Rinaudo acquired the data. Dr. Li Bassi, Dr. Marti, Dr. Saucedo, Dr. Rigol, Dr. Roca, Dr. Cabanas, Ms. Muñoz, Dr. Tavares Ranzani, and Dr. Giunta analyzed and interpreted the data. Drs. Li Bassi and Marti drafted the manuscript. Drs. Ferrer, Ramirez, Vila, and Torres did the critical revision of the manuscript for important intellectual content. Dr. Li Bassi and Mr. Gabarrus did the statistical analysis. Dr. Fernandez gave administrative, technical, or material support.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website (<http://journals.lww.com/ccmjournal>).

Supported by the Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer; Ministerio de Ciencia e Innovación (PS09/01249); European Society of Intensive Care Medicine (2009 Alain Harf Award on Applied Respiratory Physiology); Fundació Catalana de Pneumologia; Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR); Centro de Investigación Biomédica En Red-Enfermedades Respiratorias; and Hipertensión Esencial: Red de Análisis de Canales iónicos de la musculatura lisa arterial y su explotación terapéutica Sistemática (RD06/0009/0008).

Dr. Li Bassi lectured for Covidien Ltd. and received support for travel from Astella and Covidien. Dr. Torres lectured for Covidien Ltd. His institution received grant support from Covidien, Toray Medical, and Astellas. The remaining authors have disclosed that they do not have any potential conflicts of interest.

For information regarding this article, E-mail: atorres@clinic.ub.es; glibassi@clinic.ub.es

Copyright © 2014 by the Society of Critical Care Medicine and Lippincott Williams & Wilkins

DOI: 10.1097/CCM.0000000000000487

Objective: In the semirecumbent position, gravity-dependent dissemination of pathogens has been implicated in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. We compared the preventive effects of a ventilatory strategy, aimed at decreasing pulmonary aspiration and enhancing mucus clearance versus the Trendelenburg position.

Design: Prospective randomized animal study.

Setting: Animal research facility, University of Barcelona, Spain.

Subjects: Twenty-four Large White–Landrace pigs.

Interventions: Pigs were intubated and on mechanical ventilation for 72 hours. Following surgical preparation, pigs were randomized to be positioned: 1) in semirecumbent/prone position, ventilated with a duty cycle ($T_{I,TOT}$) of 0.33 and without positive end-expiratory pressure (control); 2) as in the control group, positive end-expiratory pressure of 5 cm H₂O and $T_{I,TOT}$ to achieve a mean expiratory-inspiratory flow bias of 10 L/min (treatment); 3) in Trendelenburg/prone position and ventilated as in the control group (Trendelenburg). Following randomization, *Pseudomonas aeruginosa* was instilled into the oropharynx.

Measurements and Main Results: Mucus clearance rate was measured through fluoroscopic tracking of tracheal markers. Microspheres were instilled into the subglottic trachea to assess pulmonary aspiration. Ventilator-associated pneumonia was confirmed by histological/microbiological studies. The mean expiratory-inspiratory flow in the treatment, control, and Trendelenburg groups were 10.7 ± 1.7 , 1.8 ± 3.7 and 4.3 ± 2.8 L/min, respectively ($p < 0.001$). Mucus clearance rate was 11.3 ± 9.9 mm/min in the Trendelenburg group versus 0.1 ± 1.0 in the control and 0.2 ± 1.0 in the treatment groups ($p = 0.002$). In the control group, we recovered $1.35\% \pm 1.24\%$ of the instilled microspheres per gram of tracheal secretions, whereas $0.22\% \pm 0.25\%$ and $0.97\% \pm 1.44\%$ were recovered in the treatment and Trendelenburg groups, respectively ($p = 0.031$). Ventilator-associated pneumonia developed in 66.67%, 85.71%, and 0% of the animals in the control, treatment, and Trendelenburg groups ($p < 0.001$).

Conclusions: The Trendelenburg position predominates over expiratory flow bias and positive end-expiratory pressure in the prevention of gravity-dependent translocation of oropharyngeal pathogens and development of ventilator-associated pneumonia.

These findings further substantiate the primary role of gravity in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. (*Crit Care Med* 2014; 42:e620–e627)

Key Words: mechanical ventilation; mucus clearance; semirecumbent position; ventilator-associated pneumonia

Ventilator-associated pneumonia (VAP) frequently develops in tracheally intubated patients. Based on the current understanding of the pathogenesis of VAP, bacteria colonize the oropharynx (1) and then translocate into the lungs due to a continuous seepage of colonized fluids across the endotracheal tube (ETT) cuff (2, 3).

The rationale for this study arose by previous laboratory observations that implied gravity (4–6) and airflows (7, 8) have an impact on pulmonary aspiration, mucus retention, and development of VAP.

Clearance of mucus is the first line of defense against aspirated pathogens, but critically ill patients are unable to efficiently remove airway mucus (9, 10). We previously showed that in the semirecumbent position, colonized secretions continuously move from the proximal trachea into the lungs, driven by gravity, and ultimately cause VAP (4). These results raised major questions about the safety of the semirecumbent position in patients with oropharyngeal colonization.

Importantly, during mechanical ventilation, airflows interact with the mucus layer via a two-phase gas-liquid flow mechanism (11). In vitro (12, 13) and animal studies (7, 8) demonstrated that the inspiratory flow promotes transport of mucus toward the lungs, whereas an adequate expiratory-inspiratory flow bias facilitates outward mucus clearance. Given that airflow patterns can be easily modified through the settings of the mechanical ventilator, the potential clinical implications of these results are varied. However, to date, it is unknown whether the adjustment of the mechanical ventilator settings could counterbalance the deleterious effects of gravity and prevent pulmonary infections.

Thus, the present work was aimed at exploring whether gravity-driven pulmonary aspiration and development of VAP could be prevented through either a ventilatory strategy or the Trendelenburg position.

MATERIALS AND METHODS

The protocol was approved by the institutional ethics committee. Animals were managed according to the National Institutes Health guidelines for the use and care of animals (14). Detailed methods are provided in the supplemental data (Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/CCM/A979>) and a previous publication (15).

Animal Preparation and Handling

Pigs (30.6 ± 2.6 kg; range, 25–38) were anesthetized, orotracheally intubated with a Hi-Lo Evac 7.5 (Covidien, Boulder, CO), and connected to a mechanical ventilator (SERVO-I; Maquet, Wayne, NJ). Pigs were initially ventilated in volume-control,

square-wave inspiratory flow, duty cycle ($T_{IT_{TOT}}$) 0.33, tidal volume (V_T) 10 mL/kg, positive end-expiratory pressure (PEEP) 2 cm H₂O, and respiratory rate (RR) adjusted to maintain $Paco_2$ in range. In all animals, inspiratory gases were conditioned through a heated humidifier (Conchatherm III; Hudson RCI, Temecula, CA), set to maintain the airway temperature at 37°C. The internal ETT cuff pressure was maintained at 28 cm H₂O, through a mechanical device (16, 17). Endogenous pneumonia was prevented with ceftriaxone. Pigs were paralyzed with vecuronium. We surgically cannulated the femoral artery and jugular vein for hemodynamic monitoring. Urinary output was continuously monitored. Endotracheal suctioning was performed every 6 hours or when clinically indicated. Every 24 hours, quantity of aspirated secretions was estimated with a semiojective scale of 0–5 (none, few, mild, moderate, and abundant); additionally, quality of mucus (normal or purulent) was recorded (18). Body temperature, WBC count, and fluid balance were assessed every 12 hours.

Randomization

Following surgical preparation, pigs were randomized as follows:

1. Control: Pigs were placed in prone position and ventilated as reported above but without PEEP. The surgical bed was oriented 30° above horizontal (15).
2. Treatment: Pigs were positioned as in the control group. The $T_{IT_{TOT}}$ was adjusted daily to achieve a mean expiratory-inspiratory flow bias of 10 L/min and PEEP of 5 cm H₂O.
3. Trendelenburg: Pigs were in prone position and ventilated as in the control group. The surgical bed was oriented approximately 5° below horizontal.

Bacterial Challenge

Shortly after randomization, and 4 hours thereafter, the ETT cuff was inflated to 40 cm H₂O and PEEP was set to 5 cm H₂O. The surgical bed was oriented 15° above horizontal. Then, 5 mL of 10⁷–10⁸ ceftriaxone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* suspension was instilled into the oropharynx. After 15 minutes, the animals were placed in the randomized position, the internal cuff pressure deflated to 28 cm H₂O, and PEEP readjusted based on randomization.

Respiratory and Hemodynamic Measurements

Respiratory mechanics were assessed daily as previously reported (8). We calculated the difference between peak expiratory flow (PEF) and mean inspiratory flows (MIF) and between mean expiratory flow (MEF) and MIF. The static elastance of the respiratory system and inspiratory resistances were calculated using standard formulae (19). Every 12 hours, gas exchange and hemodynamic variables were measured.

Tracheal Mucus Velocity

Following 52 hours of mechanical ventilation, tracheal mucus movement was measured as previously reported (8). Timed serial lateral fluoroscopic images of the trachea were taken to compute mucus velocity through movement of radio-opaque markers.

Semiquantitative Assessment of Leakage Across the ETT Cuff

Following 27 and 73 hours from intubation, we instilled 3 mL of phosphate buffer solution with 1.5 μ L of 2.0 μ m fluorescent microspheres (Invitrogen, Madrid, Spain) into the ETT subglottic evacuation lumen. After 10 minutes and 1 hour from instillation, we aspirated tracheal secretions. We quantified instilled microspheres and microspheres in tracheal secretions through flow cytometry. We computed the percentage of recovered microspheres, per gram of tracheal secretions, per the total amount of instilled microspheres (aspirated microspheres).

Autopsy, Microbiological, and Histological Studies and VAP Definition

Seventy-six hours after tracheal intubation, the ETT cuff pressure was increased to 40 cm H₂O; then, the animal was euthanized, turned to supine position, and autopsied. We took two samples from the most affected region of each of the five lobes for histological (20) and microbiological assessments (5). VAP was confirmed according to a histological injury score more than or equal to 3, associated with a quantitative *P. aeruginosa* culture more than or equal to 3 log cfu/g (21).

Statistical Analysis

One-way analysis of variance or Kruskal-Wallis tests, with post hoc Student *t* test or Wilcoxon-Mann-Whitney test and Bonferroni correction, were used to analyze continuous variable differences among groups. Categorical variables were analyzed using Fisher exact test. Friedman test, Wilcoxon signed ranks test, and repeated measures logistic regression were used to detect differences among continuous and categorical sequential assessments. A two-sided *p* value of less than 0.050 was considered statistically significant. All analyses were performed using SAS (SAS institute Inc., Cary, NC) and SPSS (IBM, Armonk, NY) software.

RESULTS

Nine, eight, and seven pigs were randomized in the control, treatment, and Trendelenburg groups, respectively. One control pig and one in the treatment group were euthanized earlier for severe respiratory instability and accidental extubation, respectively. In the extubated pig, colonization/histology of the lungs was not examined. In the control and treatment groups, bed and tracheal orientations were 27.0 ± 1.3 and 16.2 ± 2.4 degrees above horizontal, respectively. Conversely, in the Trendelenburg group, they were -7.0 ± 1.2 ($p < 0.050$ vs all groups) and -17.8 ± 2.9 degrees below horizontal ($p < 0.050$ vs all groups).

Airflows and Pulmonary Mechanics

The lowest rate of breathing, 15.4 ± 1.5 breaths/min, was found in the Trendelenburg group, in comparison with 17.2 ± 1.3 in the control ($p < 0.001$) and 16.7 ± 1.4 in the treatment group ($p = 0.005$). The $T_{I,TOT}$ in the control and Trendelenburg group was 0.33, whereas in the treatment group, it was 0.70 ± 0.02 ($p < 0.001$ vs all groups). As a result, the inspiratory flow significantly decreased in the treatment group, 7.6 ± 0.7 L/min

($p < 0.050$ vs all groups), whereas in the control group, it was 15.3 ± 1.7 L/min and in the treatment group, 13.4 ± 1.4 L/min ($p < 0.050$ vs control group). **Figure 1** depicts the PEF-MIF and MEF-MIF differences among groups. As intended by the protocol, the MEF-MIF difference in the treatment group was 10.7 ± 1.7 L/min. Likewise, the PEF-MIF difference drastically increased in the treatment group to 47.4 ± 4.5 L/min.

Pulmonary mechanics are shown in **Table 1**. The best static elastance of the respiratory system was found in the treatment group (35.8 ± 4.5 cm H₂O/L). Conversely, in the Trendelenburg group, it was 44.7 ± 5.1 cm H₂O/L, due to an increase of chest wall elastance. The viscoelastic resistance was higher in the treatment group, whereas the highest airflow resistance was found in the Trendelenburg group.

Hemodynamics

As reported in **Table 2**, heart rate increased up to 71.5 ± 19.6 beats/min in the treatment group. The highest mean systemic pressure was found in the Trendelenburg group. Systemic vascular resistances were lower in the control and treatment groups. Fluid balance was more positive in the control and treatment groups.

Mucus Clearance

Following insufflations, disks were placed 74.3 ± 24.3 mm from the ETT tip (range, 19.8–117.7 mm). Overall, 1,103 movements of 112 tantalum disks were obtained. Finally, 662 movements of disks, on the most dependent tracheal regions, were averaged and included in the final analysis. As shown in **Figure 2**, in the Trendelenburg position, 89.41% of the disk movements were directed toward the glottis at a velocity of 11.3 ± 9.9 mm/min. In the control and treatment groups, velocity of disks directed toward the lungs was -2.6 ± 5.9 and -0.8 ± 0.7 , respectively ($p = 0.798$).

Leakage Across the ETT Cuff

As shown in **Figure 3**, aspirated microspheres were $2.91\% \pm 4.09\%$ (median, 1.48; interquartile range [IQR], 2.42), $1.12\% \pm 2.11\%$ (median, 0.23; IQR, 0.80), and $1.24\% \pm 2.13\%$ (median, 0.46; IQR, 0.89) in the control, treatment, and Trendelenburg groups, respectively ($p = 0.031$). At 10 minutes from instillation, the aspirated microspheres were $2.67\% \pm 3.87\%$ and $0.81\% \pm 1.11\%$ at 1 hour ($p = 0.038$).

Clinical Signs of Infection

Body temperature in the control, treatment, and Trendelenburg groups was $37.3^\circ\text{C} \pm 1.7^\circ\text{C}$, $38.5^\circ\text{C} \pm 1.9^\circ\text{C}$ ($p < 0.001$ vs control and Trendelenburg groups), and $37.2^\circ\text{C} \pm 1.1^\circ\text{C}$, respectively; whereas WBC count in the control, treatment, and Trendelenburg groups was 14.5 ± 6.3 , 14.3 ± 5.3 , and 18.9 ± 5.6 10^9 cells/mL ($p < 0.001$ vs control and treatment groups). Estimated amounts of tracheal secretions were 2.0 ± 1.2 in the control group ($p = 0.024$ vs treatment group) and 0.9 ± 0.7 and 1.3 ± 0.8 in the treatment and Trendelenburg groups, respectively ($p = 0.017$). Prevalences of purulent secretions were 43.7%, 40.0%, and 63.6% in control, treatment,

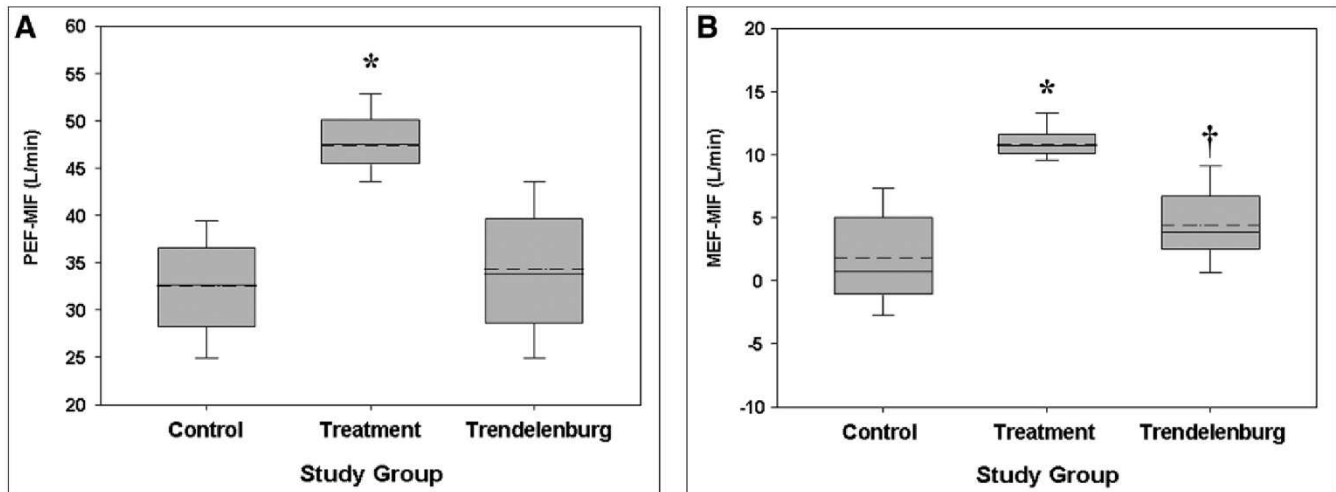


Figure 1. In each box plot, the median value is indicated by the center *horizontal line*, the mean is indicated by the *dashed line*, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the *lower and upper box horizontal lines*. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. **A.** Peak expiratory flow-mean inspiratory flow (PEF-MIF) differed among the study groups ($n = 87$, $p < 0.001$). *Post hoc analysis, p value of less than 0.001 versus all groups. **B.** Mean expiratory flow-mean inspiratory flow (MEF-MIF) differed among the study groups ($n = 87$, $p < 0.001$). †Post hoc analysis, $p = 0.039$ versus control group.

and Trendelenburg groups ($p = 0.366$), and it increased throughout the experiment from 12.5% to 50.0%, 62.5%, and 66.7%, per day 0, 1, 2, and 3 ($p < 0.050$). *P. aeruginosa* concentration in tracheal secretions did not differ among groups and increased throughout the study: 1.5 ± 2.3 , 4.3 ± 2.3 , and 5.4 ± 1.8 log cfu/mL at day 1, 2, and 3 ($p < 0.001$).

Lung *P. aeruginosa* Colonization and Pneumonia

The carina was colonized in all animals in the control group (3.2 ± 1.4 log cfu/g), treatment group (4.0 ± 1.1 log cfu/g), and

never in the Trendelenburg group ($p = 0.002$ vs control and $p = 0.003$ vs treatment group); 84.4%, 51.4%, and 14.3% of the lobes in the control, treatment, and Trendelenburg groups were colonized, respectively ($p < 0.001$). Pulmonary *P. aeruginosa* burden in the control and treatment groups was 2.4 ± 1.5 and 1.9 ± 2.1 log cfu/g, respectively (Fig. 4A), whereas in the Trendelenburg group, it was 0.3 ± 0.6 log cfu/g ($p < 0.001$ vs control and treatment groups). The lowest histology score (0.6 ± 0.9) was found in the Trendelenburg group ($p < 0.001$ vs control and 0.006 vs treatment group), whereas in the

TABLE 1. Pulmonary Mechanics and Gas Exchange Among Groups

Variables	Group			<i>p</i>
	Control (9 Pigs)	Treatment (8 Pigs)	Trendelenburg (7 Pigs)	
Peak airway pressure (cm H ₂ O)	15.2 ± 1.9^a	18.8 ± 1.6	16.7 ± 1.9^b	< 0.001
Plateau airway pressure (cm H ₂ O)	11.8 ± 1.5^a	16.6 ± 1.2	13.4 ± 1.6^b	< 0.001
Respiratory system elastance (cm H ₂ O/L)	38.7 ± 6.9	35.8 ± 4.5	44.7 ± 5.1^b	< 0.001
Lung elastance (cm H ₂ O/L)	26.1 ± 7.1	23.7 ± 4.8	27.7 ± 5.7	0.062
Chest wall elastance (cm H ₂ O/L)	15.1 ± 5.4	12.9 ± 3.0	16.8 ± 2.9^a	0.006
Total inspiratory resistance (cm H ₂ O/L/s)	13.3 ± 3.5^a	17.7 ± 3.8	14.8 ± 2.0^b	< 0.001
Inspiratory airflow resistance (cm H ₂ O/L/s)	7.3 ± 1.2	7.2 ± 1.6	8.2 ± 1.0^b	0.002
Inspiratory tissue resistance (cm H ₂ O/L/s)	5.9 ± 3.4	10.4 ± 4.7^c	6.5 ± 2.0	< 0.001
Auto-positive end-expiratory pressure (cm H ₂ O) ^e	0.06 ± 0.3	0.48 ± 0.5^c	0.0 ± 0	< 0.001
PaO ₂ /FiO ₂ (mm Hg)	426.4 ± 95.7	421.8 ± 61.1	441.4 ± 43.7	0.168
PaCO ₂ (mm Hg)	43.1 ± 5.8	44.6 ± 6.1	39.8 ± 5.0^b	< 0.001

^a $p < 0.050$ vs treatment group.

^b $p < 0.050$ vs control and treatment groups.

^c $p < 0.050$ vs control and Trendelenburg groups.

^eAbove positive end-expiratory pressure set at the ventilator.

TABLE 2. Hemodynamic Variables Among Groups

Variables	Group			p
	Control (9 Pigs)	Treatment (8 Pigs)	Trendelenburg (7 Pigs)	
Heart rate (beats/min)	58.9±13.9	71.5±19.6 ^a	58.7±15.4	< 0.001
Mean arterial pressure (mm Hg)	73.3±10.4	72.7±11.3	89.6±10.0 ^b	< 0.001
Mean pulmonary arterial pressure (mm Hg)	16.3±4.9	17.3±3.8	15.9±2.7	0.115
Cardiac output (L/min)	2.3±0.6	2.5±0.6	2.3±0.5	0.226
Systemic vascular resistance (dynes · s · cm ⁻⁵)	2399.8±563.5	2236.9±622.9	3107.4±649.9 ^b	< 0.001
Pulmonary vascular resistance (dynes · s · cm ⁻⁵)	332.9±132.5	330.6±123.1	297.3±85.9	0.186
Fluid balance (mL)	236.8±271.8 ^c	83.3±326.4	-145.7±242.3 ^b	< 0.001

^ap < 0.050 vs control and Trendelenburg groups.

^bp < 0.050 vs control and treatment groups.

^cp < 0.050 vs treatment group.

control and treatment group, it was 2.5 ± 1.6 and 2.0 ± 1.9 , respectively (Fig. 4B). Thus, VAP developed in 66.7% of the control animals, 85.7% of the treatment animals, and never in Trendelenburg animals ($p = 0.002$). VAP was multilobar in 33.3% and 57.1% of the animals in the control and treatment groups, respectively ($p = 0.614$). Finally, as shown in Figure 5, the improvement in mucus velocity rate was associated with an exponential decay of lung *P. aeruginosa* burden.

DISCUSSION

We demonstrated that during invasive mechanical ventilation in the semirecumbent position: 1) a ventilatory strategy, aimed at improving mucus clearance and preventing cuff-related seepage of oropharyngeal pathogens, plays an irrelevant role in the prevention of VAP; 2) gravity-driven translocation of oropharyngeal pathogens into the lungs is the main culprit in the development of VAP; 3) the Trendelenburg position preserves physiologic mucus clearance

rate (MCR); consequently, colonization is compartmentalized within the proximal airways.

Previous studies (7, 8, 12, 13) have shown that ventilatory patterns influence movement of retained mucus. In particular, we found, in an animal model of the semirecumbent position, that duty cycle prolongation beyond 0.50 increased expiratory-inspiratory flow bias and slightly promoted the outward clearance of mucus (8). Thus, in our current study, we adjusted the ventilatory settings to achieve a MEF-MIF bias of 10 L/min. We targeted such flow bias, because in aforementioned studies we demonstrated maximal improvement in mucus clearance with minimal risks of pulmonary/hemodynamic complications (8). Importantly, previous in vitro studies (11–13) implied a pivotal role of the PEF in the transport of mucus; accordingly, in our experiments, an important increase in the PEF-MIF difference was also achieved. An additional element of our ventilatory strategy was the use of 5 cm H₂O of PEEP to increase the PEF (8) and to avoid aspiration across the ETT cuff. The effects of

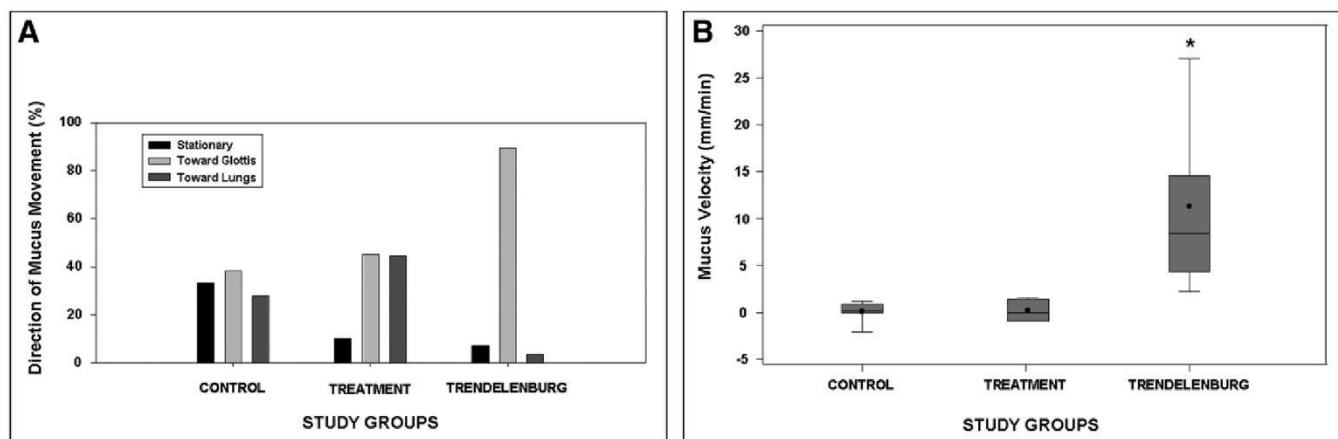


Figure 2. A, Distribution of frequency (%) of mucus movement measurements directed either toward the glottis, the lungs, or stationary by study groups ($n = 648$, $p < 0.001$). **B,** Averaged tracheal mucus velocity among groups. In each box plot, the median value is indicated by the center horizontal line, the mean by the black dot, and the 25th and 75th percentiles are indicated by the lower and upper box horizontal lines. Whiskers above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. Mucus clearance significantly differed among groups ($n = 20$, $p = 0.002$). *Post hoc analysis, p value of less than 0.05 versus all groups.

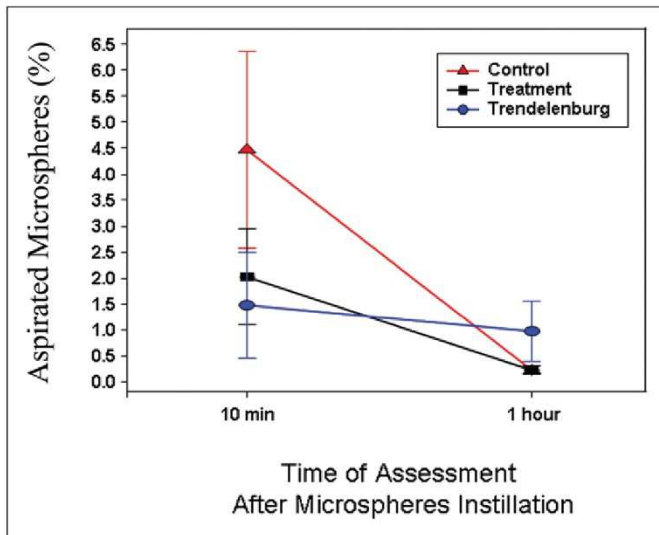


Figure 3. Aspired microspheres (percentage of recovered microspheres, per gram of tracheal secretions, of the total amount of instilled microspheres) per time of assessment and among groups. Percentage of aspired microspheres differed among groups ($n = 47$, $p = 0.031$). Additionally, in post hoc comparisons, aspired microspheres between the control and treatment group were different ($p = 0.037$).

PEEP in the prevention of VAP have been extensively demonstrated in several studies (22–26). Accordingly, we found that PEEP reduced leakage across the cuff. Nevertheless, our ventilatory strategy did not fully counterbalance the effects of gravity on translocation of oropharyngeal pathogens, and VAP ultimately developed in 86% of the animals in the treatment group.

Aforementioned findings substantiate the primary role of gravity in the pathogenesis of VAP (4–6). In animals positioned in a model of the semirecumbent position, we found that VAP developed mostly in the right middle and lower lobes, as shown in Figure 4. These findings emphasize that oropharyngeal pathogens mainly translocate into the gravity-dependent lung regions, nearly reproducing bacterial dissemination

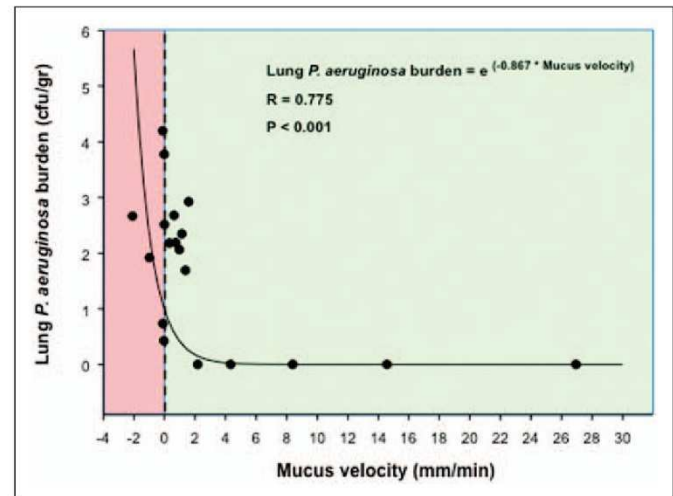


Figure 5. Lung *Pseudomonas aeruginosa* burden as a function of mucus clearance rate (MCR). The exponential decay equation was fitted to predict lung *P. aeruginosa* burden by MCR. The red and green sections of the graph emphasize mucus velocity rates toward the lungs or glottis, respectively. As predicted by the regression, mucus moving toward the lungs at a velocity of -1.27 mm/min was associated with a lung *P. aeruginosa* burden of 3 log cfu/g.

in aspiration pneumonia. These results are in agreement with histopathologic characterizations of human VAP (21, 27).

Our study also highlighted the role of mucus clearance in the prevention of VAP. In the control and Trendelenburg animals, we found similar leakage across the cuff and *P. aeruginosa* highly colonized tracheal secretions. These results could seem unexpected in animals positioned in the Trendelenburg position. Nevertheless, tracheal suction could have promoted the aspiration of oropharyngeal pathogens (28) and disseminated *P. aeruginosa* biofilm debris (29) from within the ETT. In animals in the Trendelenburg position, the infection was compartmentalized at the proximal trachea, likely because all aspirated pathogens were efficiently cleared through mucus clearance. The strong association between

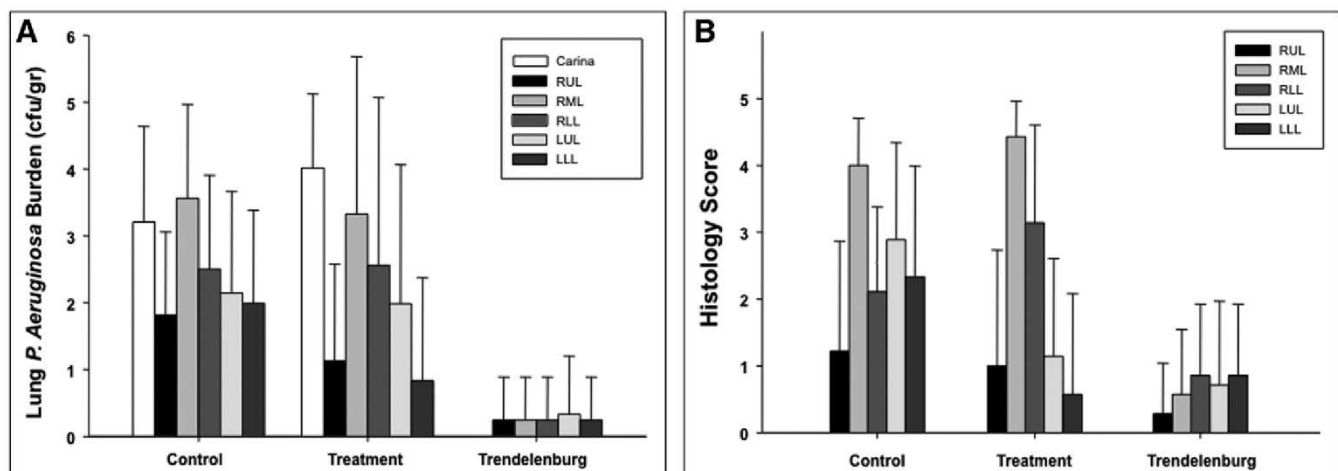


Figure 4. A, Lung *Pseudomonas aeruginosa* burden per biopsied location and study group. **B,** Histology score per biopsied location and study group. Of note, in the control and treatment groups, the right middle lobe (RML) and the right lower lobe (RLL) presented the highest *P. aeruginosa* burden and histological injury, suggesting a gravity-dependent dissemination of the infection. LLL = left lower lobe, LUL = left upper lobe, RUL = right upper lobe.

mucus clearance velocity and pulmonary colonization (Fig. 5) supports this argument.

Our study had additional features that merit consideration. Interestingly, airflow resistance was higher in the Trendelenburg group. This could have been caused by the increased clearance of mucus toward the ETT. The Trendelenburg position was also associated with an augmented chest wall elastance because the abdominal contents were forced against the diaphragm. As for the impact of the study interventions on the animal's hemodynamic status, we found optimal stability in the Trendelenburg group due to blood volume centralization and higher systemic vascular resistance. Conversely, in the control and treatment groups, hemodynamic stability was maintained through more positive fluid balances and increased heart rate.

A few limitations should also be discussed. First, we originally planned to achieve similar MEF-MIF in the control and Trendelenburg groups, but we found a higher flow bias in the latter group. This was caused by a higher RR in the control group to maintain normocapnia and could have favored outward mucus clearance in the Trendelenburg group. Second, humans in the semirecumbent position are supine, whereas our animals were prone, as prolonged mechanical ventilation in the supine position is unfeasible; this could have further promoted clearance of mucus in the Trendelenburg group, because the trachea, as in humans, assumes an oblique course (Fig. E1, Supplemental Digital Content 2, <http://links.lww.com/CCM/A980>). Third, in humans, oropharyngeal colonization is more gradual (1). Thus, our results should be interpreted with caution, particularly in patients undergoing antibiotic therapy or mechanically ventilated for short periods. Fourth, in our model, VAP was associated with marginal systemic signs of infection and hemodynamic compromise; therefore, the effects of the applied interventions may not be applicable in unstable patients. Fifth, the animals were mechanically ventilated with a V_T of 10 mL/kg, which is hardly applied in critically ill patients, due to the potential risks of ventilator-induced lung injury. Nevertheless, as recently demonstrated (30) in pigs, such V_T is not associated with lung injury. Additionally, as reported in Table 1, the plateau airway pressure was always less than the currently known threshold limits of injurious ventilation. Finally, it is important to emphasize that different bed inclination angles, bacterial inoculums, suctioning frequency, and ETT cuff pressures could have led to different conclusions.

Potential Clinical Implications

To the best of our knowledge, our study is the first comprehensive report that differentiates the roles of ventilatory settings and gravity in VAP pathogenesis. Albeit we previously found (8) that duty cycle prolongation improves mucus clearance in the semirecumbent position, the specific expiratory-inspiratory flow bias achieved in our model had marginal preventive effects. Yet, different pulmonary mechanics and different modes of ventilation, V_T , RRs, and inspiratory rise times/pauses could have led to different outcomes. It should also be emphasized that duty cycle prolongation could be harmful in specific clinical settings.

Indeed, given that the time to fully exhale depends on the elastic recoil and resistances of the respiratory system, a good proportion of intubated patients, that is, with chronic obstructive pulmonary disease, could develop harmful levels of intrinsic PEEP.

As for the body position, our results do not dispute the use of the semirecumbent position in intubated patients. This position undoubtedly reduces gastroesophageal reflux (31) and pulmonary aspiration of gastric pathogens. Nevertheless, our results suggest that the use of the semirecumbent might be deleterious in patients who develop oropharyngeal colonization. Based on these arguments, oropharyngeal colonization surveillance could be of primary importance. Finally, novel preventive strategies such as the lateral Trendelenburg position, along with the use of oropharyngeal antiseptics or a short course of systemic antibiotics, deserve further investigations. Importantly, several complications could be associated with the lateral Trendelenburg position, and the additional workload for the nursing staff could be a matter of concern. Hence, a clinical trial is currently evaluating the efficacy, safety, and feasibility of this position (available from ClinicalTrials.gov, NLM identifier: NCT01138540).

CONCLUSIONS

Our findings demonstrated that following oropharyngeal colonization by pathogens, the adjustment of ventilator settings to achieve a MEF-MIF bias of 10 L/min and low PEEP have marginal effects in the prevention of VAP. The Trendelenburg position preserves MCR and fully prevents VAP. Although these experimental findings have not yet been shown to have clinical relevance, they call attention to the risks of lung infections in patients who develop oropharyngeal colonization while positioned in the semirecumbent position.

REFERENCES

1. Feldman C, Kassel M, Cantrell J, et al: The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation. *Eur Respir J* 1999; 13:546–551
2. Lorente L, Lecuona M, Jiménez A, et al: Influence of an endotracheal tube with polyurethane cuff and subglottic secretion drainage on pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:1079–1083
3. Poelaert J, Depuydt P, De Wolf A, et al: Polyurethane cuffed endotracheal tubes to prevent early postoperative pneumonia after cardiac surgery: A pilot study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135:771–776
4. Li Bassi G, Zanella A, Cressoni M, et al: Following tracheal intubation, mucus flow is reversed in the semirecumbent position: Possible role in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2008; 36:518–525
5. Panigada M, Berra L, Greco G, et al: Bacterial colonization of the respiratory tract following tracheal intubation-effect of gravity: An experimental study. *Crit Care Med* 2003; 31:729–737
6. Zanella A, Cressoni M, Epp M, et al: Effects of tracheal orientation on development of ventilator-associated pneumonia: An experimental study. *Intensive Care Med* 2012; 38:677–685
7. Benjamin RG, Chapman GA, Kim CS, et al: Removal of bronchial secretions by two-phase gas-liquid transport. *Chest* 1989; 95:658–663
8. Li Bassi G, Saucedo L, Marti JD, et al: Effects of duty cycle and positive end-expiratory pressure on mucus clearance during mechanical ventilation. *Crit Care Med* 2012; 40:895–902
9. Konrad F, Schreiber T, Grünert A, et al: Measurement of mucociliary transport velocity in ventilated patients. Short-term effect of general anesthesia on mucociliary transport. *Chest* 1992; 102:1377–1383

10. Sackner MA, Hirsch J, Epstein S: Effect of cuffed endotracheal tubes on tracheal mucous velocity. *Chest* 1975; 68:774–777
11. Kim CS, Rodriguez CR, Eldridge MA, et al: Criteria for mucus transport in the airways by two-phase gas-liquid flow mechanism. *J Appl Physiol* (1985) 1986; 60:901–907
12. Kim CS, Iglesias AJ, Sackner MA: Mucus clearance by two-phase gas-liquid flow mechanism: Asymmetric periodic flow model. *J Appl Physiol* (1985) 1987; 62:959–971
13. Volpe MS, Adams AB, Amato MB, et al: Ventilation patterns influence airway secretion movement. *Respir Care* 2008; 53:1287–1294
14. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute for Laboratory Animal Research (ILAR), Division on Earth and Life Studies (DELS), and National Research Council: Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, DC, National Academies Press, 2011
15. Li Bassi G, Rigol M, Marti JD, et al: A novel porcine model of ventilator-associated pneumonia caused by oropharyngeal challenge by *Pseudomonas aeruginosa*. *Anesthesiology* 2014; 120:1205–1215
16. Valencia M, Ferrer M, Farre R, et al: Automatic control of tracheal tube cuff pressure in ventilated patients in semirecumbent position: A randomized trial. *Crit Care Med* 2007; 35:1543–1549
17. Farré R, Rotger M, Ferre M, et al: Automatic regulation of the cuff pressure in endotracheally-intubated patients. *Eur Respir J* 2002; 20:1010–1013
18. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, et al: Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and non-bronchoscopic “blind” bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:1121–1129
19. D’Angelo E, Calderini E, Torri G, et al: Respiratory mechanics in anesthetized paralyzed humans: Effects of flow, volume, and time. *J Appl Physiol* (1985) 1989; 67:2556–2564
20. Luna CM, Baquero S, Gando S, et al: Experimental severe *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia and antibiotic therapy in piglets receiving mechanical ventilation. *Chest* 2007; 132:523–531
21. Rouby JJ, Martin De Lassale E, Poete P, et al: Nosocomial broncho-pneumonia in the critically ill. Histologic and bacteriologic aspects. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:1059–1066
22. Ouane I, Lyazidi A, Danin PE, et al: Mechanical influences on fluid leakage past the tracheal tube cuff in a benchtop model. *Intensive Care Med* 2011; 37:695–700
23. Pitts R, Fisher D, Sulemanji D, et al: Variables affecting leakage past endotracheal tube cuffs: A bench study. *Intensive Care Med* 2010; 36:2066–2073
24. Zanella A, Scaravilli V, Isgrò S, et al: Fluid leakage across tracheal tube cuff, effect of different cuff material, shape, and positive expiratory pressure: A bench-top study. *Intensive Care Med* 2011; 37:343–347
25. Lucangelo U, Zin WA, Antonaglia V, et al: Effect of positive expiratory pressure and type of tracheal cuff on the incidence of aspiration in mechanically ventilated patients in an intensive care unit. *Crit Care Med* 2008; 36:409–413
26. Manzano F, Fernández-Mondéjar E, Colmenero M, et al: Positive-end expiratory pressure reduces incidence of ventilator-associated pneumonia in nonhypoxemic patients. *Crit Care Med* 2008; 36:2225–2231
27. Fàbregas N, Torres A, El-Ebiary M, et al: Histopathologic and microbiologic aspects of ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology* 1996; 84:760–771
28. Dave MH, Frotzler A, Weiss M: Closed tracheal suction and fluid aspiration past the tracheal tube. Impact of tube cuff and airway pressure. *Minerva Anesthesiol* 2011; 77:166–171
29. Adair CG, Gorman SP, Feron BM, et al: Implications of endotracheal tube biofilm for ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 1999; 25:1072–1076
30. Protti A, Cressoni M, Santini A, et al: Lung stress and strain during mechanical ventilation: Any safe threshold? *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183:1354–1362
31. Torres A, Serra-Batlles J, Ros E, et al: Pulmonary aspiration of gastric contents in patients receiving mechanical ventilation: The effect of body position. *Ann Intern Med* 1992; 116:540–543

DISCUSIÓN

En el primer estudio demostramos que los balones HVLP disponibles comercialmente, inflados a la presión clínica recomendada, producen lesión traqueal y la recuperación es incompleta hasta 96 h después de la extubación. Es importante destacar que el *Kimvent** *Microcuff**, que tiene un balón de forma cilíndrica de poliuretano y con balón de diametro externo pequeño^{52, 92} causa menos daño a nivel de mucosa. Adicionalmente, la disminución en la MCR es menos prominente con los balones de poliuretano. La eficacia del sellado varía entre los TET disponibles comercialmente. Una aspiración intermitente de las ASS incrementa el riesgo de una lesión traqueal y se encontró inflamación subepitelial/glandular aun 96 h después de la extubación. Además, demostramos que durante la ventilación mecánica invasiva en la posición semirecumbente: 1) una estrategia ventilatoria, orientada a mejorar la MCR y prevenir la filtración relacionada al balón HVLP de patógenos orofaríngeos, juega un rol irrelevante en la prevención de NAV; 2) El desplazamiento guiado por la gravedad de patógenos orofaríngeos hacia los pulmones es el principal determinante del desarrollo de NAV; 3) La posición Trendelenburg conserva la MCR fisiológica; en consecuencia, la colonización es compartimentada dentro de las vías respiratorias proximales.

Balones relacionados a lesiones traqueales.

Estos dispositivos de HVLP sellan la tráquea sin que ésta sea comprimida; consecuentemente, su presión interna se aproxima a la presión transmitida a la mucosa^{84, 85}. Basados en los resultados de BAF, balones hechos de poliuretano y con un balón de forma cilíndrica causan menos lesiones, tal es así que *Kimvent** *microcuff** fueron los mejores, *Sacett™* es el más deletéreo. Esto sugiere que hay balones con características específicas en los diseños de alto rendimiento y bajo rendimiento que podrían jugar un rol crítico en el

desarrollo del daño de la mucosa traqueal. En efecto, nosotros demostramos⁹², primero que la presión transmitida por los balones de HVLP podrían ser más altas que las esperadas, particularmente usando balones muy largos por ejemplo *SacettTM*, ya que la superficie del balón se vuelve altamente irregular, debido a la formación de pliegues. Por el contrario, el *microcuff* Kimvent** tiene un grosor de aprox. 5µm y un diámetro externo más pequeño^{52, 92}; así, en la inflación se forman menos pliegues siendo la superficie más homogénea debido a los pliegues delgados y ejercen menos presión contra la tráquea. Sin embargo, también debe hacerse hincapié en que los balones cónicos presentan áreas de contacto más pequeños en comparación con los cilíndricos. Este factor debe tenerse en cuenta, ya que podría limitar la extensión de la lesión traqueal.

La BAF ha sido empleada para el diagnóstico de cánceres en fase temprana^{79, 80}. Lo excepcional de esto es que este trabajo de tesis doctoral es el primer estudio que usa la técnica para cuantificar la lesión traqueal relacionada a los balones. La BAF está disminuida en estados patológicos tales como inflamaciones y lesiones. Esto se debe a que el epitelio engrosado reduce la densidad de los elementos cromóferos; consecuentemente, la luz broncoscópica es atenuada, adicionalmente la superficie roja absorbe completamente las luces azul y verde, por lo que las zonas dañadas se observan oscuras y marrones⁸¹. Basado en estos conceptos, computamos la tasa de la intensidad rojo/verde, como se reportó previamente^{82, 83}, y la suma de las intensidades verde + azul para cuantificar la severidad de la lesión relacionada al balón. Como se mostró claramente por la asociación de estos parámetros con la evaluación de las fotos de luz blanca por los broncoscopistas, la BAF es un arma potencial para cuantificar la lesión traqueal *in vivo*.

Aspiración subglótica relacionada a lesión traqueal.

Similarmente investigaciones previas^{63, 64, 94, 93}, encontraron lesiones importantes asociadas con las ASS, independientemente de nuestros esfuerzos para evitar una invaginación de la mucosa, a través de una aspiración intermitente y una interrupción inmediata de la aspiración si la resistencia fuese encontrada. Una explicación potencial para estos resultados es que pocas secreciones fueron encontradas en la aspiración, particularmente durante los primeros días de ventilación. Esto podría haber sido relacionado al uso de la posición lateral-*Trendelenburg*. Otra razón potencial está relacionada al diseño del puerto de evacuación. Idealmente, el puerto de succión debería estar lo más cerca posible al balón para permitir que al insuflar el balón, haya una distancia segura entre el puerto a mucosa y así aspirar completamente las secreciones acumuladas sobre el balón. Desafortunadamente, en todos los TETs probados, el puerto de succión no estuvo en una proximidad completa al balón. Esto podría haber facilitado la invaginación de la mucosa tras el desigual inflado del balón.

Clearance mucociliar.

Estudios previos^{24, 95, 96} han corroborado consistentemente que la MCR decrece drásticamente después de la intubación. En cerdos saludables, la tasa de *clearance* mucociliar tuvo rangos entre 7-15mm/min⁹⁵. Los resultados de nuestro estudio están en línea con los resultados encontrados previamente en los que la velocidad de la limpieza mucociliar fue altamente reducida. *Sackner et al.*²⁴, sugirieron la activación de un arco de reflejos neurogénicos debido a la presión ejercida por el balón contra la tráquea, aunque se desconoce el mecanismo exacto para el impedimento de la función ciliar después de la inflación del balón. En este contexto, nosotros encontramos que los balones de poliuretano,

en particular *Kimvent** *Microcuff**, causaron menos lesión traqueal y fueron también asociados con una menor alteración en la velocidad mucociliar.

La eficacia en el sellado traqueal.

Si nos remitimos a los resultados previos del estudio *in vitro*⁹², encontramos que la eficacia en el sellado del *Sacett*TM fue altamente limitada. El *Sacett*TM es un balón cónico con un diámetro externo muy grande y nosotros teníamos inicialmente la hipótesis de que la circunferencia del sellado de un balón cónico largo es ineficiente. Nuestro actual estudio sostiene esta teoría; asimismo, la forma cónica del balón *Tapeguard*TM, la cual tiene un diámetro externo muy pequeño, actuó muy bien en comparación con el balón *Sacett*.

Estrategias ventilatorias experimentales.

Estudios previos^{29, 30, 31, 32} han mostrado que los patrones de ventilación influyen en el movimiento de la mucosidad retenida. En particular, encontramos en un modelo animal con posición semirecumbente, que la prolongación del tiempo inspiratorio del ciclo respiratorio más allá de 0.50, incrementaba el margen de flujo espiratorio-inspiratorio y condicionaba ligeramente la MCR hacia afuera²⁹. De este modo, en nuestro estudio actual, ajustamos las posiciones ventilatorias para alcanzar un margen MEF-MIF de 10L/min. Apuntamos a tal margen de flujo porque en estudios antes mencionados, demostramos una mejora máxima en la limpieza de moco con riesgo mínimo de complicaciones pulmonares / hemodinámicas²⁹. De manera importante, estudios previos *in vitro*^{31, 32, 61} insinuaban un rol fundamental del PEF en el transporte de la mucosidad. En consecuencia, en nuestros experimentos también se alcanzó un incremento importante en la diferencia Flujo espiratorio pico– flujo inspiratorio promedio (PEF-MIF). Un elemento adicional de nuestra estrategia ventilatoria fue el uso de 5 cm H₂O de PEEP para aumentar el Flujo espiratorio

pico (PEF)²⁹ y para evitar la aspiración a lo largo del balón TET. Los efectos de PEEP en la prevención de NAV han sido demostrados extensamente en diversos estudios^{50, 51, 98, 99, 102}. Consecuentemente, encontramos que el PEEP redujo la fuga a través del balón. Sin embargo, nuestra estrategia ventilatoria no contrapesó completamente los efectos de la gravedad en el desplazamiento de patógenos orofaríngeos, y la NAV en última instancia se desarrolló en el 86% de los animales en el grupo de tratamiento.

Los hallazgos antes mencionados corroboran el rol primario de la gravedad en la patogénesis de la NAV^{26, 27, 28}. En animales en posición semirecumbente, encontramos que la NAV se desarrolló en su mayoría en los lóbulos derecho medio e inferior. Estos resultados enfatizan que los patógenos orofaríngeos principalmente se desplazan hacia las regiones pulmonares dependientes de la gravedad, casi reproduciendo diseminación bacterial en neumonía por aspiración. Estos resultados están de acuerdo con las caracterizaciones histopatológicas de NAV humana^{99, 100}.

Nuestro estudio también resalta el rol de la MCR en la prevención del NAV. En los animales de control y *Trendelenburg*, encontramos una fuga similar a través del balón y secreciones traqueales altamente colonizadas de *Pseudomonas aeruginosa*. Estos resultados podrían parecer inesperados en animales posicionados en la posición *Trendelenburg*. No obstante, las succiones traqueales podrían haber fomentado la aspiración de los patógenos orofaríngeos¹⁰¹ y diseminado residuos de la biocapa con *Pseudomonas aeruginosa*²³ desde el interior del TET. En animales en la posición *Trendelenburg*, la infección fue compartimentada en la tráquea proximal, probablemente porque todos los patógenos aspirados se desalojaron eficientemente mediante la MCR. La fuerte asociación entre la velocidad de la MCR y la colonización pulmonar respaldan este argumento.

El estudio de las estrategias ventilatorias tuvo características adicionales que precisan consideración. La resistencia al flujo de aire fue mayor en el grupo *Trendelenburg*. Esto podría haber sido causados por la MCR incrementada, que inducía que las secreciones de moco se dirijan hacia el TET. La posición *Trendelenburg* también se asoció con una elastancia aumentada de las paredes del tórax porque los contenidos abdominales se presionaron contra el diafragma. En cuanto al impacto de las intervenciones del estudio en el estado hemodinámico animal, encontramos una óptima estabilidad en el grupo *Trendelenburg* a causa de la centralización del volumen de sangre y una resistencia vascular sistémica superior. Al contrario, en los grupos de control y tratamiento, la estabilidad hemodinámica fue mantenida mediante balances de fluido más positivos y un ritmo cardíaco aumentado.

Implicaciones Clínicas.

En las últimas décadas, las complicaciones post intubación se han reducido drásticamente con los balones de HVLP. *Touat et al.*⁹³, encontró lesiones traqueales isquémicas en 83 % de los pacientes críticos intubados con balones HVLP. La duración de los fármacos de bloqueo neuromuscular, la sobreinflación del balón, la duración de la ventilación asistida-controlada, y la presión *plateau*, fueron asociados con la lesión traqueal. Estos datos ponen de relieve que el daño traqueal relacionado al balón es a menudo obviado en la práctica clínica.

Este estudio llama la atención por el severo daño sobre la limpieza mucociliar durante la intubación traqueal. Es importante destacar que los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a este deterioro deben ser evaluados exhaustivamente para desarrollar nuevas estrategias preventivas y terapéuticas. En cuanto a la ASS, sin duda, esta tecnología tiene

un papel importante en la prevención de la neumonía asociada al ventilador⁹¹. No obstante, el diseño de estos TET debe mejorarse aún más para garantizar un uso seguro.

En cuanto al segundo estudio presentado en esta tesis, a nuestro entender, es el primer reporte exhaustivo que diferencia los roles de las posiciones experimentales ventilatorias y la gravedad en la patogénesis de la NAV. Aunque encontramos previamente²⁹ que la prolongación del tiempo inspiratorio del ciclo respiratorio mejora la limpieza del moco en la posición semirecumbente, el margen del flujo espiratorio-inspiratorio específico alcanzado en nuestro modelo tuvo efectos preventivos marginales. Sin embargo, mecánicas pulmonares diferentes y modos diferentes de ventilación (*Volumen tidal*, frecuencia respiratoria y pausas / tiempo inspiratorio incrementado) podrían haber guiado a diferentes resultados. También se debería enfatizar que la prolongación del “*duty cycle*” podría ser perjudicial en escenarios clínicos específicos.

Efectivamente, dado que el tiempo para exhalar completamente depende del retroceso elástico y resistencias del sistema respiratorio, una buena proporción de pacientes intubados, que podrían tener enfermedad pulmonar obstructiva crónica, pueden desarrollar niveles dañinos de PEEP intrínseco.

En cuanto a la posición del cuerpo, nuestros resultados no cuestionan el uso de la posición semirecumbente en pacientes intubados. Esta posición indudablemente reduce el reflujo gastroesofágico³⁶ y aspiración pulmonar de patógenos gástricos. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que el uso de la posición semirecumbente podría ser nocivo en pacientes que desarrollan colonización orofaríngea. Basado en estos argumentos, la vigilancia de la colonización orofaríngea podría ser de suma importancia. Finalmente,

nuevas estrategias preventivas tales como la posición *Trendelenburg* lateral, junto con el uso de antisépticos orofaríngeos o un corto tratamiento de antibióticos sistémicos, merece investigaciones posteriores. De manera importante, diversas complicaciones podrían estar asociadas a la posición *Trendelenburg* lateral, y la adicional carga de trabajo para el personal de enfermería pueden ser motivos de preocupación.

Las limitaciones del primer estudio del análisis de la lesión traqueal, limpieza mucociliar y eficacia de sellado fueron: en primer lugar, el pequeño tamaño de la muestra que podría haber limitado el poder de nuestras observaciones. Segundo, los animales fueron ventilados por un número limitado de días. Así, no obstante, especulamos de los efectos dañinos asociados con un uso a largo plazo de estos balones. Más estudios clínicos y de laboratorio se necesitan para corroborar estas suposiciones. Tercero, a través del estudio, la profundidad de inserción del TET fue estrictamente monitorizada y la presión interna del balón fue constantemente mantenida a 28 cmH₂O. Contrariamente, en posiciones clínicas del TET⁴² y la presión interna del balón, podría variar^{60, 59}. Así, nosotros podríamos haber subestimado la extensión y la severidad de la lesión traqueal que podría ocurrir en otros escenarios clínicos.

En el segundo estudio de las estrategias ventilatorias, tuvimos las siguientes limitaciones. Primero, originalmente planeamos alcanzar un MEF-MIF similar en los grupos de control y *Trendelenburg*, pero encontramos un margen de flujo superior en el último grupo. Esto fue causado por una frecuencia respiratoria mayor en el grupo de control para mantener la normocapnia y podría haber favorecido la MCR hacia afuera en el grupo *Trendelenburg*.

Segundo, los humanos en semirecumbente están en posición de decúbito dorsal, mientras que nuestros animales estuvieron boca abajo, ya que la ventilación mecánica prolongada en la posición boca arriba es inviable en los animales, lo que pudo haber favorecido posteriormente la MCR en el grupo Trendelenburg, ya que su tráquea, como en los humanos, asume una dirección oblicua. Tercero, en humanos, la colonización orofaríngea es más gradual¹¹. De este modo, nuestros resultados deberían ser interpretados con cuidado, particularmente en pacientes sometidos a terapia de antibióticos o ventilación mecánica por periodos cortos. Cuarto, en nuestro modelo, la NAV fue asociada a signos sistémicos marginales de infección y compromiso hemodinámico; en consecuencia, los efectos de las intervenciones aplicadas podrían no ser aplicables en pacientes inestables. Quinto, los animales con ventilación mecánica con un volumen tidal (V_t) de 10mL/kg, lo cual es difícilmente aplicado en pacientes en estado crítico, debido a los riesgos potenciales de lesión pulmonar causada por el ventilador. No obstante, como se demostró recientemente¹⁰³ en cerdos, este volumen tidal no está asociado con lesión pulmonar. Adicionalmente, la presión *plateau* en las vías respiratorias fue siempre menor que los límites umbral de ventilación perjudicial actualmente conocidos. Finalmente, es importante resaltar que diferencias en los ángulos de inclinación de la cama, en los inoculantes bacterianos, en la frecuencia de succión y en las presiones del balón TET, podrían haber conducido a conclusiones diferentes.

CONCLUSIONES

Primero. Los balones HLVP causan lesión traqueal. El *microcuff*^{ff}* *Kimvent**, que tiene un pequeño balón cilíndrico, hecho de poliuretano, reduce ese riesgo.

Segundo. Los balones HVLP hechos de PVC perjudican drásticamente la *clearance* mucociliar y la eficacia del sellado.

Tercero. La ASS intermitentes causa frecuentemente lesiones traqueales, con lesiones histológicas severas que se detectan en las primeras 96 horas después de la extubación.

Cuarto. Nuestros hallazgos demostraron que después de la colonización orofaríngea por patógenos bacterianos, el ajuste de los parámetros del ventilador para alcanzar un margen MEF-MIF de 10mL/min y PEEP baja tiene efectos marginales en la prevención de la NAV.

Quinto. La posición Trendelenburg mantiene la *clearance* mucociliar y previene la NAV.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Thoracic Society and American Journal of Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 388–416
2. Cook DJ, SD Walter, RJ Cook, LE Griffith, GH Guyatt, D Leasa, RZ Jaeschke, and C Brun-Buisson. “ Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients.” *Annals of internal medicine* 1998; 129(6): 433-40
3. Rosenthal VD, Bijie H, Maki DG, Mehta J, Apisarnthanarak A, et al: International Nosocomial infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 204-2009. *Am J Infect control* 2012; 40: 396-407
4. Sociedad Española de Medicina Intensiva. Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas (SEMICYUC-GTEI). Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en UCI (ENVIN-UCI). Informes de los años 2001-2009. En la web: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/>
5. Niederman MS, Torres A, Summer W. Invasive diagnostic testing is not needed routinely to manage suspected ventilator associated pneumonia. *Am J Resp Crit Care Med* 1994; 50: 565-9
6. Chastre J Fagon JY. Invasive diagnostic testing should be routinely used to manage ventilated patients with suspected pneumonia. *Am J Resp Crit Care Med* 1994; 150: 570-4
7. Diaz E, Rodriguez A, Rello J. ventilator-associated pneumonia: Issues related to the artificial airway. *Respir Care* 2005; 50(7): 900-6
8. Ramirez P, Ferrer M and Torres A. Prevention measures for ventilator-associated pneumonia: a new focus on the endotracheal tube. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20: 190-75.
9. Van Uffelen R, Van Saene HKF, Fidler V, Lowenberg A. Oropharyngeal flora as a source of bacteria colonizing the lower airways in patients on artificial ventilation. *Intensive Care Med* 1984; 10: 233-7

10. Garouste-Orgeas M, Chevret S, Arlet G, Marie O, Rouveau M, Popoff N, et al. Oropharyngeal or gastric colonization and nosocomial pneumonia in adult intensive care patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1647-55
11. Feldman C, Kassel M, Cantrell J, et al: The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation. *Eur Respir J* 1999; 13: 546–51
12. Lorente L, Lecuona M, Jiménez A, Mora ML, and Sierra A. Influence of an endotracheal tube with polyurethane cuff and subglottic secretion drainage on pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007; 176: 1079-83
13. Poelaert J, Depuydt P, De Wolf A, Van de Velde S, Herck I, and Blot S. Polyurethane cuffed endotracheal tubes to prevent early postoperative pneumonia after cardiac surgery: a pilot study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 771-6
14. Nordin U: The trachea and cuff-induced tracheal injury. An experimental study on causative factors and prevention. *Acta Otolaryngol Suppl* 1977; 345: 1-71
15. Warren, David K, Sunita J Shukla, Margaret A Olsen, Marin H Kollef, Christopher S Hollenbeak, Michael J Cox, Max M Cohen, and Victoria J Fraser. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med*. 2003; 31(5): 1312-7
16. Inglis TJ, Millar MR, Jones JG, et al: Tracheal tube biofilm as a source of bacterial colonization of the lung. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2014-8
17. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP: Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318-22
18. De Souza EL, Meira QG, et al. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food contact surfaces in a meat-based broth and sensitivity to sanitizers. *Braz J Microbiol*. 2014; 45(1): 67-75
19. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, Sahuquillo JM, Gonzalez E, Calleja I, et al. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care*. 2012; 16: R93

20. Wilson A, Gray D, Karakiozis J, Thomas J. Advanced endotracheal tube biofilm stage, not duration of intubation, is related to pneumonia. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012; 72: 916–23
21. Høiby N, Bjarnsholts T et al: Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 35: 322–32
22. Ng KS, Kumarasinghe G, Inglis TJ: Dissemination of respiratory secretions during tracheal tube suctioning in an intensive care unit. *Ann Acad Med Singapore* 1999; 28: 178-82
23. Adair CG, Gorman SP, Feron BM, Byers LM, Jones DS, Goldsmith CE, et al. Implications of endotracheal tube biofilm for ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 1999; 25: 1072–6
- 101
24. Sackner MA, Hirsch J, and Epstein S. Effect of cuffed endotracheal tubes on tracheal mucous velocity. *Chest* 1975; 68: 774-7
25. Konrad F, Schreiber T, Grünert A, et al: Measurement of mucociliary transport velocity in ventilated patients. Short-term effect of general anesthesia on mucociliary transport. *Chest* 1992; 102: 1377–83
26. Li Bassi G, Zanella A, Cressoni M, Stylianou M, and Kolobow T. Following tracheal intubation, mucus flow is reversed in the semirecumbent position: possible role in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2008;36:518-25
27. Zanella A, Cressoni M, Epp M, et al: Effects of tracheal orientation on development of ventilator-associated pneumonia: An experimental study. *Intensive Care Med* 2012; 38:677–85
28. Panigada M, Berra L, Greco G, et al: Bacterial colonization of the respiratory tract following tracheal intubation-effect of gravity: An experimental study. *Crit Care Med* 2003; 31: 729–37

29. Li Bassi G, Saucedo L, Marti JD, Rigol M, Esperatti M, Luque N, Ferrer M, Gabarrus A, Fernandez L, Kolobow T, and Torres A. Effects of duty cycle and positive end-expiratory pressure on mucus clearance during mechanical ventilation. *Crit Care Med* 2012; 40: 895-902
30. Benjamin RG, Chapman GA, Kim CS, et al: Removal of bronchial secretions by two-phase gas-liquid transport. *Chest* 1989; 95: 658–63
31. Kim CS, Iglesias AJ, Sackner MA: Mucus clearance by two-phase gas-liquid flow mechanism: Asymmetric periodic flow model. *J Appl Physiol* (1985) 1987; 62: 959–71
32. Volpe MS, Adams AB, Amato MB, et al: Ventilation patterns influence airway secretion movement. *Respir Care* 2008; 53: 1287–94
33. Diaz LA, Llauro M, Rello J. Non-pharmacological prevention of ventilator associated pneumonia. *Arch Bronconeumol*, 2010; 46(4): 188-95
34. Ulldemolins M, Restrepo MI, Rello J. Pharmacological measures for the prevention of ventilator-associated pneumonia. *Med Clin* 2011; 136(1): 21-5
35. M. Valencia, G. Li Bassi, A. Torres VAP prevention: non-pharmacological strategies. *Eur Respir Mon* 2011; 53, 83-97
36. Torres A, Serra-Batlles J, Ros E, et al: Pulmonary aspiration of gastric contents in patients receiving mechanical ventilation: The effect of body position. *Ann Intern Med* 1992; 116: 540–3
37. Orozco-Levi M, Torres A, Ferrer M, et al: Semirecumbent position protects from pulmonary aspiration but not completely from gastroesophageal reflux in mechanically ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1387-90
38. Torres A, El-Ebiary M, Soler N, et al: Stomach as a source of colonization of the respiratory tract during mechanical ventilation: association with ventilator-associated pneumonia. *Eur respir J* 1996; 9: 1729-35

39. Drakulovic MB, Torres A, Bauer TT, Nicolas JM, Nogué S, Ferrer M. Supine body position as a risk factor for nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 1851-8
40. Van Nieuwenhoven CA, Vandenbroucke-Grauls C, van Tiel FH, Joore HC, van Schijndel RJ, van der Tweel I, et al Feasibility and effects of the semirecumbent position to prevent ventilator-associated pneumonia: a randomized study. *Crit Care Med* 2006; 34: 396-402
41. Rello J, Lode H, Cornaglia G, Masterton R; VAP Care Bundle Contributors. A European care bundle for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2010; 36: 773-80
42. Minonishi T, Kinoshita H, Hirayama M, et al. The supine-to-prone position change induces modification of endotracheal tube cuff pressure accompanied by tube displacement. *J Clin Anesth* 2013; 25(1): 28-31
43. Agrafiotis M, Vardakas KZ, Gkegkes ID, Kapaskelis A, Falagas ME: Ventilator-associated sinusitis in adults: systematic review and meta-analysis. *Respir Med* 2012; 106; 1082-95
44. Salord F, Gaussorgues P, Marti-Flich J, et al: Nosocomial maxillary sinusitis during mechanical ventilation: a prospective comparison of orotracheal versus the nasotracheal route for intubation. *Intensive Care Med* 1990; 16: 390-3
45. Michelson A, Kamp HD, Schuster B: Sinusitis in long-term intubed, intensive care patients: nasal versus oral intubation. *Anaesthesist* 1991; 40: 100-4
46. Bach A, Boehrer H, Schmidt H, Geiss HK. Nosocomial sinusitis in ventilated patients. Nasotracheal versus orotracheal intubation. *Anaesthesia* 1992; 47(4): 335-9
47. Rouby JJ, Laurent P, Gosnach M, Cambau E, Lamas G, Zouaoui A, Leguillou JL, Bodin L, Khac TD, Marsault C, et al: Risk factors and clinical relevance of nosocomial maxillary sinusitis in the critically ill. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 776-83

48. Holzapfel L, Chastang C, Demingeon G, Bohe J, Piralla B, Coupry A. A randomized study assessing the systematic search for maxillary sinusitis in nasotracheally mechanically ventilated patients. Influence of nosocomial maxillary sinusitis on the occurrence of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(3): 695-701
49. Ouanes I, Lyazidi A, Danin PE, et al: Mechanical influences on fluid leakage past the tracheal tube cuff in a benchtop model. *Intensive Care Med* 2011; 37: 695–700
50. Zanella A, Scaravilli V, Isgrò S, et al: Fluid leakage across tracheal tube cuff, effect of different cuff material, shape, and positive expiratory pressure: A bench-top study. *Intensive Care Med* 2011; 37: 343–7
51. Lucangelo U, Zin WA, Antonaglia V, et al: Effect of positive expiratory pressure and type of tracheal cuff on the incidence of aspiration in mechanically ventilated patients in an intensive care unit. *Crit Care Med* 2008; 36: 409–13
52. Dullenkopf A, Gerber A, Weiss M: Fluid leakage past tracheal tube cuffs: Evaluation of the new Microcuff endotracheal tube. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1849–53
53. Young PJ, Burchett K, Harvey I, Blunt MC: The prevention of pulmonary aspiration with control of tracheal wall pressure using a silicone cuff. *Anaesth Intensive Care*. 2000; 28: 660-5
54. Zanella A, Cressoni M, Epp M, et al: A double-layer tracheal tube cuff designed to prevent leakage: A bench-top study. *Intensive Care Med* 2008; 34: 1145–9
55. Young PJ, and Blunt MC. Improving the shape and compliance characteristics of a high-volume, low-pressure cuff improves tracheal seal. *Br J Anaesth* 1999; 83: 887- 9
56. Miller MA, Arndt JL, Konkle MA, et al: A polyurethane cuffed endotracheal tube is associated with decreased rates of ventilator-associated pneumonia: *J Crit Care* 2011; 26: 280-6
57. Poelaert J, Haentjens P, Blot S.: Association among duration of mechanical ventilation, cuff material of endotracheal tube, and postoperative nosocomial pneumonia in cardiac surgical patients: a prospective study *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014; 148: 1622-7

58. Philippart F, Gaudry S, Quinquis L, Lau N, Ouanes I, Touati S, Nguyen JC, Branger C, Faibis F, Mastouri M, Forceville X, Abroug F, Ricard JD, Grabar S, Misset B; TOP-Cuff Study Group. Randomized intubation with polyurethane or conical cuffs to prevent pneumonia in ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015; 91(6): 637-45
59. Nseir S, Zerimech F, Fournier C, et al. Continuous control of tracheal cuff pressure and microaspiration of gastric contents in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184(9): 1041-7
60. Valencia M, Ferrer M, Farre R, Navajas D, Badia JR, Nicolas JM, Torres A. Automatic control of tracheal tube cuff pressure in ventilated patients in semirecumbent position: A randomized trial. *Crit Care Med* 2007; 35: 1543–9
61. Kim CS, Rodriguez CR, Eldridge MA, et al: Criteria for mucus transport in the airways by two-phase gas-liquid flow mechanism. *J Appl Physiol* (1985) 1986; 60:901–7
62. Lacherade JC, De Jonghe B, Guezennec P, Debbat K, Hayon J, Monsel A, Fangio P, Appere de Vecchi C, Ramaut C, Outin H, Bastuji-Garin S. Intermittent subglottic secretion drainage and ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 910-7
63. Suys E, Nieboer K, Stiers W, De Regt J, Huyghens L, and Spapen H. Intermittent subglottic secretion drainage may cause tracheal damage in patients with few oropharyngeal secretions. *Intensive Crit Care Nurs* 2013; 29: 317-20
64. Berra L, De Marchi L, Panigada M, Yu ZX, Baccarelli A, and Kolobow T. Evaluation of continuous aspiration of subglottic secretion in an in vivo study. *Crit Care Med* 2004; 32: 2071-8
65. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, Hall-Stoodley L, Holá V, Imbert C, Kirketerp-Møller K, Lebeaux D, Oliver A, Ullmann AJ, Williams C; ESCMID Study Group for Biofilms (ESGB) and Consulting External Expert Werner Zimmerli. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clin Microbiol Infect*. 2015; 21 Suppl 1: S1-S25.

66. Olson ME, Harmon BG, Kollef MH. Silver-coated endotracheal tubes associated with reduced bacterial burden in the lungs of mechanically ventilated dogs *Chest*. 2002; 121: 863-70
67. Berra L, de Marchi L, Yu ZX, Laquerriere P, Baccarelli A, Kolobow T. Endotracheal tubes coated with antiseptics decrease bacterial colonization of the ventilator circuits, lungs, and endotracheal tube. *Anesthesiology* 2004; 100: 1446-56
68. Berra L, Curto F, Li Bassi G, Laquerriere P, Baccarelli A, Kolobow T. Antibacterial-coated tracheal tubes cleaned with the Mucus Shaver: a novel method to retain long-term bactericidal activity of coated tracheal tubes. *Intensive Care Med* 2006; 32: 888-93
69. Kolobow T, Berra L, Li Bassi G, Curto F. Novel system for complete removal of secretions within the endotracheal tube: the Mucus Shaver. *Anesthesiology* 2005; 102: 1063-5
70. Kollef MH, Afessa B, Anzueto A, Veremakis C, Kerr KM, Margolis BD, et al. NASCENT Investigation Group. Silver-coated endotracheal tubes and incidence of ventilator-associated pneumonia: the NASCENT randomized trial. *JAMA* 2008; 300: 805-13
71. Afessa B, Shorr AF, Anzueto AR, Craven DE, Schinner R, Kollef MH. Association between a silver-coated endotracheal tube and reduced mortality in patients with ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2010; 137: 1015-21
72. Chastre J: Preventing ventilator-associated pneumonia: could silver-coated endotracheal tubes be the answer? *JAMA*. 2008; 300: 842-4
73. Shorr AF, Zilberberg MD, Kollef M. Cost-effectiveness analysis of a silver-coated endotracheal tube to reduce the incidence of ventilator-associated pneumonia. 2009 *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009 ; 30: 759-63
74. Wanless S, Aldridge M. Continuous lateral rotation therapy - a review. *Nurs Crit Care*. 2012; 17: 28-35

75. Delaney A, Gray H, Laupland KB, Zuege DJ. Kinetic bed therapy to prevent nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2006; 10: R70
76. Goldhill DR, Imhoff M, McLean B, Waldmann C. Rotational bed therapy to prevent and treat respiratory complications: a review and meta-analysis. *Am J Crit Care* 2007; 16: 50-61
77. Hess DR. Patient positioning and ventilator-associated pneumonia. *Respir Care*. 2005; 50: 892-8; discussion 898-9
78. Staudinger T, Bojic A, Holzinger U, Meyer B, Rohwer M, Mallner F, Schellongowski P, Robak O, Laczika K, Frass M, Locker GJ. Continuous lateral rotation therapy to prevent ventilator-associated pneumonia. *Critical Care Medicine*. 2010; 38: 486–490
79. Chen W, Gao X, Tian Q, and Chen L. A comparison of autofluorescence bronchoscopy and white light bronchoscopy in detection of lung cancer and preneoplastic lesions: a meta analysis. *Lung Cancer* 2011; 73: 183-8
80. Sun J, Garfield DH, Lam B, Yan J, Gu A, Shen J, and Han B. The value of autofluorescence bronchoscopy combined with white light bronchoscopy compared with white light alone in the diagnosis of intraepithelial neoplasia and invasive lung cancer: a meta-analysis. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 1336-44
81. Gabrecht T, Lovisa B, van den Bergh H, and Wagnières G. Autofluorescence bronchoscopy: quantification of inter-patient variations of fluorescence intensity. *Lasers Med Sci* 2009; 24: 45-51
82. Lee P, van den Berg RM, Lam S, Gazdar AF, Grunberg K, McWilliams A, Leriche J, Postmus PE, and Sutedja TG. Color fluorescence ratio for detection of bronchial dysplasia and carcinoma in situ. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4700-5
83. Nakanishi K, Ohsaki Y, Kurihara M, Nakao S, Fujita Y, Takeyama K, Osanai S, Miyokawa N, and Nakajima S. Color auto-fluorescence from cancer lesions: improved detection of central type lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 58: 214-9

84. Carroll RG: Evaluation of tracheal tube cuff designs. *Crit Care Med* 1973; 1:45–6
85. Carroll RG, Grenvik A: Proper use of large diameter, large residual volumen cuffs. *Crit Care Med* 1973; 1: 153–4
86. Knowlson GT, Bassett HF: The pressures exerted on the trachea by endotracheal inflatable cuffs. *Br J Anaesth* 1970; 42: 834–7
87. Coppadoro A, Bitter E and Berra L. Novel preventive strategies for ventilator-associated pneumonia. *Crit Care* 2012; 16(2): 210-5
88. Gal T. Effects of endotracheal intubation on normal cough performance. *Anesthesiology* 1980; 52: 324-9
89. Dave MH, Frotzler A, Spielmann N, et al: Effect of tracheal tube cuff shape on fluid leakage across the cuff: An in vitro study. *Br J Anaesth* 2010; 105: 538–43
90. Kolobow T, Cressoni M, Epp M, et al: Comparison of a novel lycra endotracheal tube cuff to standard polyvinyl chloride cuff and polyurethane cuff for fluid leak prevention. *Respir Care* 2011; 56: 1095–9
91. Muscedere J, Rewa O, McKechnie K, Jiang X, Laporta D, and Heyland DK. Subglottic secretion drainage for the prevention of ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2011; 39: 1985-91
92. Li Bassi G, Ranzani OT, Marti JD, Giunta V, Luque N, Isetta V, Ferrer M, Farre R, Pimentel GL, and Torres A. An in vitro study to assess determinant features associated with fluid sealing in the design of endotracheal tube cuffs and exerted tracheal pressures. *Crit Care Med* 2013; 41: 518-26
93. Touat L, Fournier C, Ramon P, Salleron J, Durocher A, and Nseir S. Intubation-related tracheal ischemic lesions: incidence, risk factors, and outcome. *Intensive Care Med* 2013; 39: 575-82

94. Harvey RC, Miller P, Lee JA, Bowton DL, and MacGregor DA. Potential mucosal injury related to continuous aspiration of subglottic secretion device. *Anesthesiology* 2007; 107: 666-9
95. Hoegger MJ, Awadalla M, Namati E et al. Assessing mucociliary transport of single particles in vivo shows variable speed and preference for the ventral trachea in newborn pigs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(6): 2355-60
96. Trawoger R, Kolobow T, Cereda M, Sparacino ME. Tracheal mucus velocity remains normal in healthy sheep intubed with a new endotracheal tube with a novel laryngeal seal. *Anesthesiology* 1997; 86(5): 1140-4
97. Ewing S, Torres A, El-Ebiary M, Fabregas N, Hernandez C, Gonzales J, Nicolas JM, Soto L. Bacterial colonization patterns in mechanically ventilated patients with traumatic and medical head injury: incidence, risk factors, and association with ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care* 1999; 159(1): 188-98
98. Pitts R, Fisher D, Sulemanji D, et al: Variables affecting leakage past endotracheal tube cuffs: A bench study. *Intensive Care Med* 2010; 36: 2066–73
99. Rouby JJ, Martin De Lassale E, Poete P, et al: Nosocomial bronchopneumonia in the critically ill. Histologic and bacteriologic aspects. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 1059–66
100. Fàbregas N, Torres A, El-Ebiary M, et al: Histopathologic and microbiologic aspects of ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology* 1996; 84: 760–71
101. Dave MH, Frotzler A, Weiss M: Closed tracheal suction and fluid aspiration past the tracheal tube. Impact of tube cuff and airway pressure. *Minerva Anestesiol* 2011; 77: 166–71
102. Manzano F, Fernández-Mondéjar E, Colmenero M, Poyatos ME, Rivera R, Machado J, Catalán I, Artigas A. Positive-end expiratory pressure reduces incidence of ventilator-associated pneumonia in nonhypoxemic patients. *Crit Care Med* 2008; 36: 2225-31
103. Protti A, Cressoni M, Santini A, et al: Lung stress and strain during mechanical ventilation: Any safe threshold? *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 1354–62

104. Rouze A, Nseir S.: Continuous control of tracheal cuff pressure for the prevention of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients: where is the evidence?. *Curr Opin Crit Care*. 2013; 19: 440-7