

## Celularidade do líquido de LBA em crianças e adolescentes saudáveis e com doenças pulmonares\*

Cell profile of BAL fluid in children and adolescents with and without lung disease

Isabela Furtado de Mendonça Picinin, Paulo Augusto Moreira Camargos, Christophe Marguet

### Resumo

Este estudo teve como objetivo rever a literatura existente sobre a celularidade do LBA em crianças e adolescentes saudáveis, bem como sobre sua utilização como método propedêutico e de acompanhamento nas afecções pulmonares neste grupo etário. Para tanto, utilizamos o banco de dados médico Medline com a seleção de artigos publicados entre 1989 e 2009 utilizando os seguintes descritores MeSH com operadores booleanos: bronchoalveolar lavage AND cytology OR cell AND child. Em crianças saudáveis, a celularidade é composta por macrófagos alveolares (> 80%), linfócitos (cerca de 10%), neutrófilos (cerca de 2%) e eosinófilos (< 1%). O perfil celular sofre alterações de acordo com a doença estudada. Ocorre uma elevação no número de neutrófilos em sibilantes, especialmente os não atópicos, bem como em indivíduos com quadros infecciosos e inflamatórios pulmonares, incluindo fibrose cística e doenças intersticiais pulmonares. Os eosinófilos se elevam em crianças/adolescentes com asma e podem atingir níveis acentuados na aspergilose broncopulmonar alérgica e nas síndromes hipereosinofílicas. A elevação dos linfócitos pode ocorrer em um grupo heterogêneo de doenças. Conclui-se que a celularidade do líquido de LBA, juntamente com dados clínicos e de imagem, tem se mostrado um instrumento essencial de investigação de diversas afecções pulmonares. O LBA possui uma grande utilidade clínica e é menos invasivo que a biópsia pulmonar transbrônquica e a céu aberto. Estudos sobre a celularidade normal do líquido de LBA utilizando-se protocolos internacionalmente padronizados e em diversas faixas etárias para a verificação de valores de referência são necessários para a interpretação mais acurada de resultados em crianças e adolescentes com pneumopatias.

**Descritores:** Lavagem broncoalveolar; Líquido da lavagem broncoalveolar/citologia; Criança; Adolescente.

### Abstract

The objective of this study was to review the literature on bronchoalveolar lavage fluid cell profiles in healthy children and adolescents, as well as on the use of BAL as a diagnostic and follow-up tool for lung disease patients in this age bracket. To that end, we used the Medline database, compiling studies published between 1989 and 2009 employing the following MeSH descriptors (with Boolean operators) as search terms: bronchoalveolar lavage AND cytology OR cell AND child. In healthy children, the cell profile includes alveolar macrophages (> 80%), lymphocytes (approximately 10%), neutrophils (approximately 2%) and eosinophils (< 1%). The profile varies depending on the disease under study. The number of neutrophils is greater in wheezing children, especially in non-atopic children, as well as in those with pulmonary infectious and inflammatory profiles, including cystic fibrosis and interstitial lung disease. Eosinophil counts are elevated in children/adolescents with asthma and can reach high levels in those with allergic bronchopulmonary aspergillosis or eosinophilic syndromes. In a heterogenous group of diseases, the number of lymphocytes can increase. Evaluation of the BAL fluid cell profile, when used in conjunction with clinical and imaging findings, has proven to be an essential tool in the investigation of various lung diseases. Less invasive than transbronchial and open lung biopsies, BAL has great clinical value. Further studies adopting standard international protocols should be carried out. Such studies should involve various age groups and settings in order to obtain reference values for BAL fluid cell profiles, which are necessary for a more accurate interpretation of findings in children and adolescents with lung diseases.

**Keywords:** Bronchoalveolar lavage; Bronchoalveolar lavage fluid/cytology; Child; Adolescent.

\* Trabalho realizado na Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil, em conjunto com a Universidade de Rouen, Rouen, França

Endereço para correspondência: Paulo Camargos. Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina da UFMG, Avenida Professor Alfredo Balena, 190, sala 267, CEP 30130-100, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Tel 55 31 3409-9773. Fax: 55 31 3409-9664. E-mail: [pcamargos@medicina.ufmg.br](mailto:pcamargos@medicina.ufmg.br) ou [pauloamcamargos@gmail.com](mailto:pauloamcamargos@gmail.com)

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 9/2/2010. Aprovado, após revisão, em 25/2/2010.

## Introdução

Em 1965, a LBA foi introduzida na prática clínica de adultos, com o advento da broncoscopia flexível (BF). Nos últimos 20 anos, a BF passou a ser utilizada progressivamente na clínica pediátrica, e a LBA tem se tornado cada vez mais difundida, inclusive em neonatologia.<sup>(1)</sup>

A análise dos componentes celulares do líquido de LBA tem se mostrado útil no diagnóstico e na avaliação da resposta ao tratamento de um grande número de doenças pulmonares.<sup>(1,2)</sup> O estabelecimento de valores de referência em crianças sem doenças pulmonares é baseado em alguns poucos estudos na Europa, Austrália e Coreia,<sup>(3,4)</sup> não havendo até o momento publicações semelhantes em países latino-americanos, incluindo o Brasil.

Atualmente, a LBA está bem estabelecida como um procedimento de grande importância na obtenção de material biológico proveniente dos pulmões e tem sido amplamente utilizada com finalidades diagnósticas, terapêuticas e de pesquisa.<sup>(1)</sup> Mesmo quando realizada em crianças de alto risco, a taxa de complicações, geralmente leves e autolimitadas, é mínima.<sup>(5,6)</sup> A LBA correlaciona-se com a biópsia pulmonar, evitando sua realização em um grande número de afecções. Em vista disso, é chamado por alguns estudiosos de “biópsia líquida”. A imunofenotipagem dos linfócitos T encontrados no líquido de LBA tem se mostrado uma ferramenta de diagnóstico importante para uma série de doenças pulmonares na infância.

## Aspectos técnicos

Em crianças e adolescentes, a LBA é habitualmente realizada utilizando-se um broncoscópio flexível, cujo diâmetro externo pode variar de 2,8 a 4,9 mm. O procedimento pode ser realizado sob anestesia geral com respiração espontânea, embora um grande número de centros opte por utilizar anestesia tópica local e sedação consciente.<sup>(3)</sup>

A LBA é realizada com a instilação de solução salina isotônica pelo canal de função do broncoscópio flexível, com um volume que varia de acordo com o peso da criança (em geral, 3 mL/kg), divididos em três alíquotas iguais.<sup>(3)</sup>

A primeira alíquota, de origem predominantemente brônquica, é reservada para estudos microbiológicos e as outras duas

são homogeneizadas e submetidas a estudos citológicos, análises de proteínas e mediadores inflamatórios.<sup>(3)</sup>

O processamento do material deve ser realizado por um profissional experiente, de acordo com normas padronizadas, seguindo recomendações internacionais que incluem<sup>(3)</sup>: armazenamento do material a 4°C, até que amostra seja analisada, para otimizar a viabilidade das células; filtragem do material utilizando gaze estéril para remover partículas de muco (exceto na amostra que será encaminhada para cultura); obtenção da citologia total e diferencial após a citocentrifugação (em centrifugas tipo Cytospin®; Shandon Inc., Pittsburgh, PA, EUA), através da coloração por Giemsa. Outras colorações especiais podem ser utilizadas de acordo com a suspeita clínica e laboratorial. A amostra reservada para o estudo microbiológico deve ser analisada o mais rapidamente possível a fim de se evitar contaminação e prejuízo na identificação de agentes.<sup>(3)</sup>

Segundo as diretrizes da *European Respiratory Society* (ERS),<sup>(3)</sup> o líquido de LBA pode ser considerado tecnicamente aceitável quando o volume recuperado é superior a 40% do volume infundido, além de conter poucas células epiteliais, conforme será comentado posteriormente.

## Segurança do procedimento

Diversos estudos realizados com pacientes pediátricos e mesmo em recém-nascidos têm demonstrado que a LBA é um procedimento seguro, com pequenas taxas de complicações, geralmente leves e autolimitadas.<sup>(5-7)</sup> Entre as complicações, as mais frequentes são tosse e broncoespasmos transitórios (inferiores a 7% dos casos), assim como um pico febril isolado após o procedimento (em cerca de 15% dos casos).<sup>(8)</sup>

Preconiza-se, no entanto, que o procedimento seja realizado por uma equipe experiente e especificamente treinada para o atendimento de possíveis urgências, em local apropriado e equipado com monitores de FC, saturação de oxigênio e material para suporte de vida. Uma adequada limpeza e desinfecção do broncoscópio são essenciais para prevenir contaminações entre pacientes e evitar interpretações equivocadas dos resultados laboratoriais.<sup>(3)</sup>

## Indicações

A avaliação da celularidade é uma das principais indicações para a realização de LBA, na tentativa de se obter dados adicionais do ambiente alveolar, essenciais ao diagnóstico e acompanhamento de diversas afecções pulmonares, como será discutido posteriormente. A análise de citocinas e moléculas pró e anti-inflamatórias presentes no líquido de LBA também é alvo de um interesse crescente, tanto na área clínica como em pesquisa.

Outras indicações, que fogem ao objetivo deste artigo, incluem a identificação de agentes infecciosos (quando há suspeita de infecção pulmonar e outras formas de identificação não foram possíveis ou não foram conclusivas), bem como a remoção terapêutica de acúmulo de secreções em vias aéreas, presentes, por exemplo, na proteinose alveolar e nas pneumonias lipoidicas.<sup>(3)</sup>

## Obtenção de valores de referência de celularidade: aspectos éticos e operacionais

Apesar de a LBA ser bem tolerada em crianças, além de ter um papel importantíssimo tanto na área clínica como em pesquisa, o estabelecimento de valores de referência em crianças saudáveis é difícil de ser obtido pela limitação ética de se utilizar voluntários hígidos, como é frequente na pesquisa com adultos.<sup>(9)</sup>

Em vista das questões éticas e operacionais envolvidas, o estabelecimento de valores de referência em crianças é possível de ser obtido em indivíduos que serão submetidos a cirurgias eletivas, geralmente ortopédicas, otorrinolaringológicas, urogenitais ou a partir de broncoscopias para esclarecimento de estridor laríngeo, após o consentimento dos pais ou responsáveis. Para que esses indivíduos sejam representativos da população infantil sem afecções pulmonares, deve-se ter o cuidado de selecionar aqueles sem histórico de asma, atopia, infecções respiratórias agudas ou pneumopatias crônicas.<sup>(3)</sup>

## Celularidade em crianças e adolescentes saudáveis

Nos últimos 20 anos, alguns estudos foram realizados para avaliar a celularidade do líquido

de LBA em crianças e adolescentes saudáveis. No primeiro deles,<sup>(10)</sup> a LBA foi realizada sob anestesia local em 11 crianças e adolescentes submetidos à BF, principalmente para a avaliação de estridor laríngeo. Essa população apresentava exame físico, radiografias de tórax e saturação de oxigênio normais. Posteriormente, outros autores<sup>(2)</sup> descreveram a celularidade do líquido de LBA de crianças sem doenças pulmonares e submetidas à cirurgia eletiva. Crianças com sintomas respiratórios crônicos, infecções de vias aéreas superiores nos três meses anteriores e de infecções de vias aéreas inferiores nos dois anos anteriores à pesquisa, assim como com história de hiper-reatividade das vias aéreas e atopia foram excluídas.

Em dois estudos,<sup>(1,11)</sup> a seguir, foram estudadas crianças investigadas para o esclarecimento de estridor laríngeo sem doença pulmonar ou sistêmica, após exame físico e radiografia de tórax normais. Outros autores<sup>(9)</sup> descreveram a celularidade do líquido de LBA de 16 crianças e adolescentes sem doenças pulmonares, investigadas pela presença de estridor ou por suspeita de corpo estranho, com exame físico, radiografia de tórax e função pulmonar normais.

Mais recentemente, um grupo de autores<sup>(4)</sup> realizou LBA em 10 crianças sem história de doença pulmonar aguda ou crônica, submetidas a cirurgias eletivas. Essas crianças compuseram o grupo controle para o estudo da celularidade do líquido de LBA na bronquiolite obliterante pós-viral.

Nenhum dos autores citados anteriormente documentou a ocorrência de complicações clínicas relevantes durante ou após o procedimento, incluindo sangramento, tosse ou sibilância. Em um dos estudos acima citados,<sup>(11)</sup> relatou-se que, em poucas crianças, houve queda discreta e transitória na saturação de oxigênio (em níveis não descritos pelo autor) durante a realização da LBA, que não foi acompanhada por mudanças na FC.

Na Tabela 1, estão descritos os resultados sobre a celularidade encontrada pelos autores citados acima, assim como algumas características da população estudada.

Apesar de ter sido encontrada uma variabilidade nos valores normais da celularidade nos estudos já realizados, percebe-se que os macrófagos alveolares representam o tipo

**Tabela 1-** Celularidade total e diferencial do líquido de LBA em estudos com crianças sem doenças pulmonares.

Variáveis	Estudo					
	Clement et al. <sup>(10)</sup>	Koh et al. <sup>(4)</sup>	Midulla et al. <sup>(11)</sup>	Ratjen et al. <sup>(2)</sup>	Riedler et al. <sup>(11)</sup>	Tessier et al. <sup>(9)</sup>
Participantes, n	11	10	16	48	18	11
Faixa etária	1-15 anos	1-4 anos	2 meses a 3 anos	3-5 anos	1 mês a 10 anos	4-16 anos
Tipo de sedação	AL	AG	AL	AG	AG	AL
Alíquotas, n	6	NI	2	3	3	6
Volume injetado, mL	10% CRF	NI	20 mL	3 mL/kg	3 mL/kg	10% CRF
Fluido recuperado (% do volume injetado)						
Média ± dp	NR	NI	43,1 ± 12,2	58 ± 15	NR	69,7 ± 9,6
Mediana	NR	NI	42,5	NR	62,5	68
Variação	NR	NI	20-65	NR	42,5-71,5*	52-87
Células/mL, × 10 <sup>4</sup>						
Média ± dp	25,5 ± 13,6	NI	59,9 ± 32,9	10,3 ± 11,1	NR	35,1 ± 18,4
Mediana	24	15,6	51	7,3	15,5	30,5
Variação	7,0-50,0	7,9-18,1*	20-130	0,5-57,1	7,5-25,8*	9-68
Macrófagos, %						
Média ± dp	89,7 ± 5,2	NI	86 ± 7,8	81,2 ± 12,7	NR	89,9 ± 5,5
Mediana	89	85	87	84	91	92,5
Variação	85-97	81,5-89,0*	71-98	34,6-94,0	84,2-94,0*	77-98
Linfócitos, %						
Média ± dp	8,7 ± 4,6	NI	8,7 ± 5,8	16,2 ± 12,4	NR	8,9 ± 5,5
Mediana	10	7,5	7	12,5	7,5	8
Variação	1-17	5-10,8*	2-22	2-61	4,7-12,8*	2-22
Neutrófilos, %						
Média ± dp	1,3 ± 0,9	NI	5,5 ± 4,8	1,9 ± 2,9	NR	1,2 ± 1,2
Mediana	1	2,3	3,5	0,9	1,7	1
Variação	0-3	1-3,9*	0-17	0-17	0,6-3,5*	0-3
Eosinófilos, %						
Média ± dp	NR	NI	0,2 ± 0,3	0,4 ± 0,6	NR	0
Mediana	NR	0	0	0,2	0,2	0
Variação	NR	0-0,1*	0-1	0-3,6*	0-0,3*	0

AL: anestesia local; AG: anestesia geral; CRF: capacidade residual funcional; NR: não realizado; e NI: não informado.  
\*Primeiro quartil ao terceiro quartil.

celular predominante no líquido de LBA normal, correspondendo a mais de 80% das células encontradas. De acordo com o subtipo e dependendo do estímulo a que são expostas, essas células podem desempenhar papéis na fagocitose, na atividade inflamatória e, especialmente, na atividade anti-inflamatória pulmonar.<sup>(12)</sup> Sua presença assegura a origem alveolar do material recuperado e a correta interpretação da celularidade. Por outro lado, a presença de células epiteliais em grande número revela material brônquico, não alveolar, o que impede ou dificulta a interpretação da distribuição citológica global e diferencial.

Os linfócitos são o segundo tipo celular mais encontrado no líquido de LBA normal de pacientes pediátricos, com valores que variam de 8-16% das células. Essas células contribuem de forma importante para a defesa contra tumores e infecções, bem como pela modulação da inflamação nos pulmões.<sup>(12)</sup>

Os neutrófilos também representam células inflamatórias que são encontradas em menor proporção no líquido de LBA normal, representando cerca de 2% das células. Sua função primordial é a fagocitose e a eliminação de patógenos invasores, tendo participação fundamental no processo inflamatório pulmonar.<sup>(12)</sup> Sua elevação

é comum em enfermidades de patogênese distinta.

Os eosinófilos não são habitualmente encontrados no líquido de LBA, ou são encontrados em valores muito baixos, inferiores a 1% das células.<sup>(12)</sup>

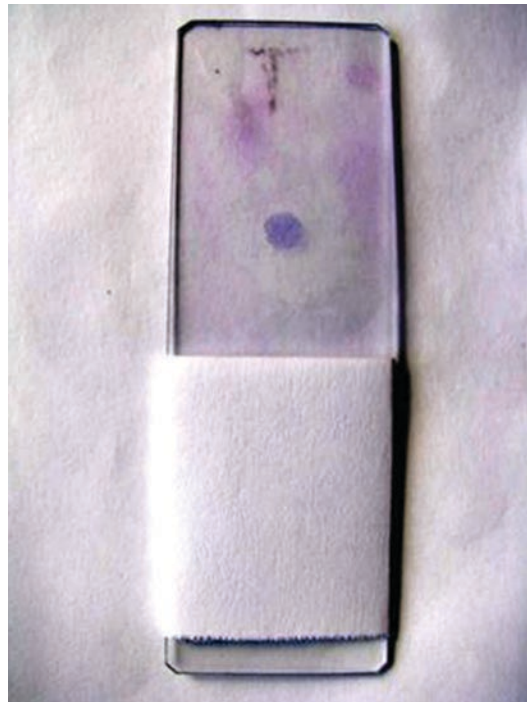
As células epiteliais de origem brônquica que são encontradas no líquido de LBA, bem como eventuais células escamosas provenientes das vias aéreas superiores, não são incluídas na contagem celular diferencial do líquido de LBA,<sup>(12)</sup> mas, idealmente, devem ser mencionadas no laudo citológico, de forma a permitir ao clínico a avaliação da fidedignidade (ou não) da amostra analisada. O mesmo deve ser feito em relação às hemácias, que podem estar presentes mesmo em líquido de LBA normal, em virtude de pequenos traumatismos advindos do contato do broncoscópio com a mucosa brônquica.

As imagens a seguir revelam o aspecto macroscópico (Figura 1) e microscópico (Figura 2) de uma lâmina de LBA normal após citocentrifugação.

### Utilidade da análise da celularidade do líquido de LBA no diagnóstico das pneumopatias

Diversas doenças cursam com alteração no padrão normal de celularidade habitualmente encontrado no líquido de LBA. O estudo citológico pode colaborar para o adequado diagnóstico dessas doenças, bem como para a melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos e da resposta ao tratamento. Deve-se ter em mente, no entanto, que o resultado do líquido de LBA não deve ser interpretado isoladamente, mas sim em conjunto com os dados obtidos a partir de uma história clínica detalhada, um exame físico completo e uma avaliação cuidadosa dos exames laboratoriais e de imagem disponíveis.

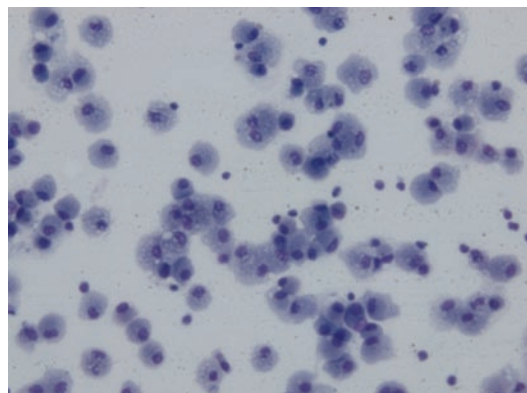
De uma maneira geral, processos infecciosos (pneumonia, bronquite bacteriana), supurativos (bronquiectasias) ou inflamatórios pulmonares (pneumopatias intersticiais, colagenoses, displasia broncopulmonar, fibrose cística e, até mesmo, asma) são responsáveis por um maior recrutamento de neutrófilos para os pulmões, causando um aumento destas células no líquido de LBA.<sup>(3,12)</sup> Em pacientes com infecção bacteriana pulmonar ativa, por exemplo, os neutrófilos



**Figura 1** - Lâmina com amostra de líquido de LBA após citocentrifugação (aspecto macroscópico). O círculo de coloração arroxeada corresponde ao local onde as células estão fixadas.

são encontrados em valores que podem variar de 25-95% da celularidade total.<sup>(12)</sup> A elevação da contagem diferencial dessas células também ocorre nas pneumonias intersticiais.

Enfermidades de etiologia diversa são responsáveis pelo incremento dos linfócitos no líquido de LBA. Entre elas, podemos citar a sarcoidose (linfócitos podem corresponder a 20-50% das células), pneumonia de



**Figura 2** - Aspecto microscópico de lâmina com líquido de LBA normal após citocentrifugação. Observar o predomínio de macrófagos alveolares.

hipersensibilidade e doença de Crohn, além de algumas doenças intersticiais.<sup>(3,12)</sup>

Já uma infiltração eosinofílica pode ser vista em outras situações, incluindo asma, reações a drogas, aspergilose broncopulmonar alérgica e nas síndromes hipereosinofílicas, como, por exemplo, síndrome de Churg-Strauss, síndrome hipereosinofílica idiopática e pneumonia eosinofílica crônica.<sup>(3)</sup>

A seguir, são abordados aspectos relacionados à celularidade do líquido de LBA em algumas doenças e condições de elevada importância clínica e epidemiológica. Alguns destes dados estão sintetizados na Tabela 2.

### ***Asma e sibilância***

O estudo da celularidade do líquido de LBA tem contribuído para a melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos e imunológicos envolvidos na asma e sibilância da infância, que se diferem daqueles encontrados em adultos.

Estudos revelam que o número de eosinófilos no líquido de LBA está aumentado em crianças asmáticas atópicas, em comparação com sibilantes não atópicos ( $p < 0,01$ ).<sup>(13,14)</sup> Esses achados indicam que há uma inflamação eosinofílica na via aérea de indivíduos sibilantes atópicos, o que pode ajudar a diferenciar sibilantes transitórios daqueles que realmente desenvolverão asma. Em um estudo,<sup>(15)</sup> concluiu-se que um aumento dos eosinófilos no líquido de LBA está claramente presente em indivíduos asmáticos (entre 4 e 15 anos, com história de sibilância recorrente e crises de dispneia, com comprovada reversibilidade da obstrução do fluxo aéreo após o uso de  $\beta_2$ -agonistas), mas é raro em lactentes sibilantes (entre 5 e 43 meses, com no mínimo 3 episódios de sibilância ou tosse, associadas à infecção viral). Esse aumento foi identificado em 64% das crianças asmáticas e em apenas 27% dos lactentes sibilantes ( $p = 0,04$ ). O número de eosinófilos parece diferenciar os lactentes sibilantes alérgicos dos não alérgicos, sugerindo que a inflamação eosinofílica começa em um estágio muito precoce na asma alérgica.<sup>(13)</sup> No entanto, outros autores<sup>(16)</sup> não encontraram diferença significativa na presença de eosinófilos no líquido de LBA entre um grupo de 47 sibilantes atópicos estudados em comparação com 19 sibilantes não atópicos. Esse mesmo estudo encontrou um número normal de eosinófilos e um número significativamente aumentado de

neutrófilos em crianças menores de 3 anos com sibilância recorrente grave.

O número de neutrófilos no líquido de LBA tende a aumentar em indivíduos com cultura microbiológica positiva.<sup>(13,17)</sup> No entanto, diversos autores também confirmaram a participação dos neutrófilos na inflamação brônquica encontrada em indivíduos asmáticos e, especialmente, em lactentes sibilantes.<sup>(15-19)</sup> independentemente da presença de infecção bacteriana. Diversos trabalhos<sup>(14,15,18,20)</sup> associaram o aumento no número de neutrófilos com a maior gravidade dos sintomas.

Esses achados sugerem que, em crianças menores e em lactentes sibilantes não atópicos, os eosinófilos parecem não desempenhar um papel tão importante no processo inflamatório, ao contrário dos neutrófilos, que são encontrados em grande número e já foram associados à gravidade dos sintomas e à inflamação presente nos quadros virais desencadeantes de broncoespasmo. O perfil da celularidade em crianças atópicas asmáticas escolares e adolescentes parece ser semelhante ao dos adultos, com maior participação de eosinófilos.<sup>(15,17,21)</sup> Nesse fato reside a possível explicação para a má resposta de grande parte dos lactentes sibilantes à corticoterapia inalatória.<sup>(22)</sup> Outra diferença encontrada em um estudo<sup>(15)</sup> no perfil celular do líquido de LBA de indivíduos citados anteriormente, foi a maior proporção de linfócitos CD8 (59% vs. 40%) e, conseqüentemente, uma menor relação CD4/CD8 (0,266 vs. 0,455) em crianças com asma quando comparadas com lactentes sibilantes ( $p = 0,02$ ).

Alguns autores reforçam a teoria de que a maior presença de eosinófilos está associada a uma sensibilização alérgica em indivíduos predispostos, mas não está associada necessariamente à maior gravidade ou à persistência dos sintomas.<sup>(14,23)</sup>

Sem dúvida, esses achados fornecem informações essenciais para se direcionar melhor as estratégias terapêuticas, além de contribuir para um melhor entendimento dos diversos fenótipos envolvidos na doença. No entanto, o seguimento clínico das crianças investigadas e a avaliação objetiva da resposta ao tratamento proposto são indispensáveis para se fazer uma análise crítica da significância dos achados encontrados.<sup>(15)</sup>

**Tabela 2** – Celularidade do líquido de LBA em algumas doenças e condições de importância clínica e/ou epidemiológica.

Estudo	Doença estudada	Participantes		Idade	Células totais <sup>a</sup>	Macrófagos		Linfócitos		Neutrófilos		Eosinófilos	
		n	%			Células*	%	Células <sup>a</sup>	%	Células <sup>a</sup>	%	Células <sup>a</sup>	%
Najafi et al. <sup>(13)b</sup>	Asma/Sibilância	39											
	Atópicos	21	3 (0,3-11,9) a	177 (7-1.030)	39 (5-81)	62 (1-560)	12 (3-51)	22 (1-181)	39 (2-91)	92 (0-808)	3 (0-19)	4 (0-68)	
	Não atópicos	18	1,0 (0,3-8,8) a	245 (9-1.804) a	24 (7-90)	58 (2-527)	10 (1-34)	19 (0-136)	56 (0-83)	92 (0-1.257)	0 (0-3)	0 (0-13)	
	Cultura positiva	16	2,1 (0,4-10,7) a	460 (9-1.804) a	17 (5-62)	52 (2-560)	7 (1-34)	25 (3-112)	73 (19-91)	342 (3-1.257)	0 (0-4)	0 (0-29)	
	Cultura negativa	23	2,1 (0,3-11,9) a	126 (7-952)	47 (10-90)	79 (1-517)	12 (2-51)	18 (0-181)	22 (0-71)	19 (0-646)	2 (0-19)	2 (0-68)	
	Asma/Sibilância	79											
Just et al. <sup>(14)c</sup>	Lactentes sibilantes	21	15 ± 7,2 m	292,9 ± 142,4	235,3 ± 123,4								0 ± 0,2
	Crianças com asma	58	92,9 ± 56,0 m	244,7 ± 148,7	178,4 ± 118,3								6,4 ± 11,9
	Atópicos	38		273,4 ± 170,7	199,6 ± 140,9								8,4 ± 13,5
	Não atópicos	41		251,3 ± 130,3	191,8 ± 107,3								0,4 ± 1,5
	Cultura positiva	13		240,0 ± 109,8	195,0 ± 83,9								6,5 ± 15,6
	Cultura negativa	66		261,2 ± 154,6	193,3 ± 128,2								4,4 ± 9,4
	Asma episódica	45		267,7 ± 154,6	212,5 ± 120,4								4,4 ± 10,1
	Asma persistente	34		246,1 ± 141,3	171,0 ± 122,0								5,3 ± 11,4
	Em uso de CI	60		239,0 ± 137,5	178,9 ± 118,2								3,8 ± 9,2
	Sem uso de CI	19		313,9 ± 167,3	239,8 ± 123,5								7,7 ± 13,8
Le Bourgeois et al. <sup>(16)d</sup>	Lactentes sibilantes	83	10 (7-13) m	400 (272-582)	87 (75-92)	812 (230-438)	5,0 (3,0-8,8)	19,4 (9,6-37,7)	4 (2-10)	12,4 (5,4-39)	0 (0-0)	0 (0-0)	
	Asma	28											
de Blic et al. <sup>(20)d</sup>	Pouco sintomáticas	15	13,3 (10,1-15,0) a	130 (100-150)	72 (50-85)		4,6 (3,7-8)		3,2 (1,3-6)		1,0 (0,7-2,4)		
	Muito sintomáticas	13	10,4 (9,6-12,5) a	125 (115-175)	42 (28-54)		3,5 (2,2-4,4)		4,0 (3,0-14,4)		1,0 (0,4-6,5)		
Marguet et al. <sup>(15)d</sup>	Asma/Sibilância	26	24 (5-48) m	705 (291-930)	252 (8-440)								0 (0-5)
	Lactentes sibilantes	14	85 (50-180) m	521 (400-700)	342 (217-490)								13 (0-47)
	Crianças com asma	12	51,7 (10-143) m	630 (403-986)	434 (227-599)								0 (0-4)
	Tosse crônica	10	78,5 (32-187) m	1.015 (692-1.460)	625 (381-756)								23 (0-81)

a: anos; m: meses; CI: corticoterapia inalatória. <sup>b</sup>Dados expressos em média ± dp. <sup>c</sup>Dados expressos em mediana (variação). <sup>d</sup>Dados expressos em média ± dp. <sup>e</sup>Dados expressos em mediana (1°-3° quartis).

Novos estudos e novas estratégias são necessários para identificar a sequência dos processos inflamatórios envolvidos no desenvolvimento da asma e sibilância.<sup>(22)</sup> Neste sentido, BF e LBA se apresentam como instrumentos essenciais de investigação.

### **Fibrose cística**

A LBA tem sido cada vez mais incorporada no acompanhamento de crianças fibrocísticas, tanto para a detecção precoce de microorganismos, como para o monitoramento da resposta inflamatória, bem como para avaliação de estratégias terapêuticas.

Um grupo de autores<sup>(15)</sup> estudou o líquido de LBA de 10 crianças e adolescentes com fibrose cística e encontrou um incremento no número de células totais que foi proporcional a um aumento no número de neutrófilos ( $p = 0,004$ ) e de macrófagos alveolares ( $p = 0,05$ ) em relação aos outros grupos estudados. Altas porcentagens de eosinófilos foram encontradas nas crianças com diagnóstico de aspergilose broncopulmonar alérgica, condição que acomete cerca de 5% das crianças com fibrose cística.

O líquido de LBA tem contribuído também para se compreender o impacto da presença de agentes infecciosos no processo inflamatório pulmonar em crianças fibrocísticas. Estudos<sup>(24,25)</sup> revelam que crianças com culturas positivas para *Pseudomonas aeruginosa*, especialmente cepas mucoides, apresentam um aumento importante no número total de células e uma maior porcentagem de neutrófilos, bem como de citocinas inflamatórias, em relação a indivíduos com culturas negativas ou positivas para outros agentes ( $p < 0,01$ ). Similarmente, indivíduos dos quais foi isolado *Staphylococcus aureus* apresentaram uma maior contagem de neutrófilos ( $p < 0,0001$ ) e de marcadores inflamatórios ( $p = 0,003$ ) em relação àqueles com culturas negativas para esse agente. Crianças coinfectadas por *P. aeruginosa* e *S. aureus* apresentaram a taxa mais elevada de marcadores associados à inflamação entre todos os indivíduos estudados.<sup>(24)</sup> Outros autores<sup>(26)</sup> também mostraram que fatores associados à infecção bacteriana e à defesa do hospedeiro contribuem de forma mais importante para a resposta inflamatória mediada pelos neutrófilos do que a desregulação inata decorrente da mutação do gene que codifica a proteína

*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* e afirmaram que a detecção precoce e o tratamento adequado das infecções parece ser a melhor estratégia para prevenir o dano pulmonar irreversível decorrente da inflamação. No entanto, outro grupo de autores<sup>(27)</sup> ponderou que mais de um mecanismo pode estar associado ao remodelamento de vias aéreas em jovens crianças com fibrose cística, independentemente da presença de marcadores inflamatórios.

Outro papel importante da celularidade do líquido de LBA é a avaliação da efetividade de estratégias terapêuticas. Um grupo de autores<sup>(28)</sup> observou que, em crianças tratadas com dornase alfa, o aumento no número de neutrófilos no líquido de LBA, ao longo de três anos de acompanhamento, ocorreu de forma menos pronunciada ( $p < 0,01$ ) em relação a pacientes não tratados com essa medicação ( $p < 0,005$ ), e sugeriram que o tratamento tem um efeito positivo na inflamação de vias aéreas dos pacientes com fibrose cística.

### **Doenças intersticiais**

As doenças intersticiais pulmonares representam um grupo heterogêneo de doenças raras e constituem um desafio diagnóstico mesmo à luz dos conhecimentos atuais. A análise celular do líquido de LBA pode auxiliar no diagnóstico, principalmente nas seguintes situações: na histiocitose pulmonar, através da identificação de CD1 presente na superfície das células de Langerhans; na proteinose alveolar, pela pesquisa de material preparado com *periodic acid-Schiff* (PAS, ácido periódico de Schiff) positivo; na identificação de macrófagos contendo lípidos, quando há suspeita de aspiração de material oriundo do trato digestivo e na pneumonia lipóidica; e na identificação de macrófagos contendo hemossiderina, nos quadros suspeitos de hemorragia pulmonar e hemossiderose.<sup>(29)</sup>

O diagnóstico de histiocitose pulmonar pode ser documentado, através do líquido de LBA, com o uso de anticorpos monoclonais, revelando a presença de mais de 5% de células CD1a positivas.<sup>(3,30)</sup> Esse achado, juntamente com os dados clínicos e radiológicos, pode contribuir para reduzir a indicação de biópsia pulmonar em um número significativo de casos.<sup>(30)</sup> Estudos em adultos com histiocitose revelam uma tendência a um aumento discreto no número de eosinófilos, mas novos estudos são necessários



para confirmar esse achado, especialmente em crianças.<sup>(30)</sup>

A proteinose alveolar é caracterizada pelo acúmulo de material intra-alveolar de origem lipoproteica, semelhante ao surfactante. Essa semelhança sugere que haja um defeito na reabsorção (ou uma superprodução) de surfactante pelos pneumócitos tipo II ou pelos macrófagos alveolares. O líquido de LBA representa uma ferramenta chave para o diagnóstico ao recuperar um líquido com aparência leitosa e ao possibilitar a identificação de material PAS positivo no interior dos macrófagos alveolares. Análises citológicas de amostras do líquido de LBA não revelam um padrão específico, embora a hiper celularidade e a linfocitose sejam comuns.<sup>(31)</sup>

A pesquisa de macrófagos contendo lípidos, conhecidos como *lipid-laden alveolar macrophages* (LLAM), é classicamente citada como uma forma de auxiliar no diagnóstico de quadros aspirativos associados a doenças que têm origem no trato gastrointestinal, como a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE).<sup>(32,33)</sup> Considera-se que, quando há suspeita clínica, um índice de LLAM maior que 165 é útil para o diagnóstico de aspiração, com sensibilidade de 98,6% e especificidade de 78,0%.<sup>(32)</sup> No entanto, esse índice é bastante questionado por sua baixa especificidade e pela grande variabilidade nos pontos de corte citados em diferentes estudos.<sup>(32)</sup> Um grupo de autores<sup>(34)</sup> ponderou que exames mais sensíveis, como a pHmetria, devem permanecer como o padrão ouro para o diagnóstico de DRGE e propôs que a pesquisa de macrófagos contendo inclusões lipídicas seja reservada para crianças que permaneçam com diagnóstico indefinido e sem melhora com a terapêutica proposta. Por outro lado, essa pesquisa é dispensável quando há uma forte evidência de aspiração, como na presença de fistula traqueoesofágica, identificada por radiologia ou endoscopia, ou em quadros neurológicos graves, já que, nesses casos, não será fornecida nenhuma informação adicional.

Uma grande proporção de LLAM está presente nos quadros de pneumonia lipóidica, geralmente secundários à aspiração de óleo mineral. Nesses casos, a realização de múltiplas LBAs tem sido descrita como um tratamento válido, ao remover as células preenchidas por lípidos, que estão envolvidas na fibrose alveolar e intersticial.<sup>(35,36)</sup>

A avaliação seriada da celularidade do líquido de LBA permite uma avaliação mais objetiva dos resultados do tratamento. Em um estudo recente,<sup>(35)</sup> revelou-se que, após a realização de múltiplas LBAs (de 4-10 procedimentos), o número de LLAM passou de 1.179 para 265 células ( $p < 0,004$ ), e a média da contagem total de células reduziu de 1.574 células/mm<sup>3</sup> para 363 células/mm<sup>3</sup>, um valor considerado normal ( $p < 0,003$ ).

Embora a biópsia pulmonar seja considerada o padrão ouro, a presença de *hemosiderin-laden macrophages* (HLM, macrófagos contendo hemossiderina) no líquido de LBA é considerada crucial para o diagnóstico de hemossiderose pulmonar idiopática diante de achados sugestivos da doença, como hemoptise, infiltrado intersticial em radiografia de tórax e anemia ferropriva.<sup>(37,38)</sup> Um grupo de autores<sup>(38)</sup> revisou dados do perfil celular de líquido de LBA coletado de crianças para correlacionar a presença de HLM e hemossiderose e concluiu que a presença de 36% de HLM entre o total de macrófagos apresenta 100% de sensibilidade e 96% de especificidade para o diagnóstico da doença.

O líquido de LBA também pode auxiliar no diagnóstico de outras doenças intersticiais ao revelar alterações no padrão normal da celularidade, contribuindo assim para o melhor direcionamento da investigação propedêutica. O artigo publicado pela *Task Force* da ERS<sup>(39)</sup> analisou 119 amostras de líquido de LBA de crianças e adolescentes com doenças intersticiais e revelou uma tendência de linfocitose ( $33,2 \pm 22,6\%$ ) e neutrofilia ( $11,3 \pm 16,5\%$ ), sendo essa última mais pronunciada em crianças menores de dois anos ( $19,8 \pm 20,5\%$ ). O acúmulo de linfócitos T (20-50%) com predomínio de CD4+ é, por sua vez, sugestivo de sarcoidose, enquanto a prevalência de CD8+ é sugestiva de pneumonia de hipersensibilidade. Um aumento no número de eosinófilos sugere infiltrado pulmonar associado a doenças pulmonares eosinofílicas.<sup>(39)</sup> Em algumas dessas, como na pneumonia eosinofílica aguda, pneumonia eosinofílica crônica e na síndrome de Churg-Strauss, a porcentagem de eosinófilos geralmente ultrapassa 25%. Na síndrome hipereosinofílica idiopática, esse valor pode ser superior a 75%.<sup>(40)</sup>

Para ilustrar a utilização do líquido de LBA no diagnóstico de afecções pulmonares, exibe-se

a seguir a imagem radiológica (Figura 3) e do líquido de LBA (Figura 4) que auxiliaram no diagnóstico de hemossiderose pulmonar em uma criança com histórico de hemoptise e anemia ferropriva.

### ***Bronquiolite obliterante pós-infecciosa***

Estudos feitos em crianças com bronquiolite obliterante (BO) pós-infecciosa revelaram que há um aumento no número de neutrófilos e de linfócitos CD8+, o que provoca uma queda na relação CD4/CD8.<sup>(4,41)</sup> Um grupo de autores<sup>(4)</sup> comparou 12 crianças que evoluíram com BO pós-infecção pelo vírus do sarampo com 10 crianças controles sem doenças pulmonares e verificou que o número de neutrófilos foi consideravelmente maior no primeiro grupo (16% vs. 2,3%;  $p < 0,05$ ), enquanto a relação CD4/CD8 foi menor no grupo doente em relação ao controle (0,41 vs. 0,65;  $p < 0,01$ ). Outro grupo de autores<sup>(41)</sup> estudou 11 crianças com BO pós-infecciosa e relatou uma queda na relação CD4/CD8 (mediana = 0,45; intervalo interquartilico: 0,4-0,6) e um elevado aumento no número de neutrófilos (mediana = 50%; intervalo interquartilico: 1-66%). Esse aumento no recrutamento de neutrófilos é comum em distúrbios pulmonares inflamatórios e, no caso específico da BO, parece ter um efeito no dano pulmonar após a infecção inicial, bem como no curso clínico da doença e no declínio da função pulmonar.<sup>(41)</sup>

### ***Tosse crônica***

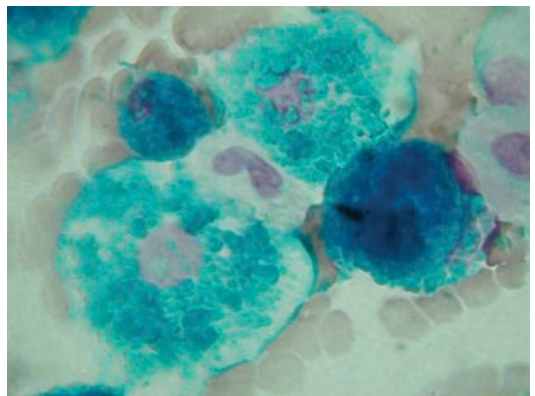
A celularidade do líquido de LBA também tem sido estudada em crianças com tosse crônica (ou seja, presença de tosse há mais de seis meses; sem sibilância associada; ausência de um diagnóstico alternativo, como imunodeficiência, fibrose cística ou discinesia ciliar) na tentativa de compreender seus mecanismos e até onde ela se associa à asma. Estudos sugerem que a fisiopatologia da tosse, nessas crianças, é diferente da encontrada naquelas com asma e que a associação de tosse crônica com asma é realmente controversa.<sup>(15,42)</sup> Um estudo<sup>(42)</sup> demonstrou que crianças com tosse crônica, independente da presença de atopia, apresentaram uma maior percentagem de neutrófilos no líquido de LBA comparativamente aos valores de referência descritos na literatura, que pode estar relacionada a um processo



**Figura 3** – Radiografia de tórax revelando infiltrado pulmonar difuso.

inflamatório de base. Poucas crianças atópicas e nenhuma não atópica com tosse persistente apresentaram uma inflamação eosinofílica típica da asma, o que pode predizer a má resposta ao uso de corticoides inalatórios.<sup>(42)</sup> Embora o exame microbiológico tenha sido negativo em todos os pacientes estudados, os autores associaram a neutrofilia a uma possível infecção não diagnosticada pelos métodos disponíveis; à presença de DRGE, detectado por pHmetria em 9 pacientes; ou mesmo à exposição a fatores ambientais, como tabaco, que não foram investigados no estudo.<sup>(42)</sup>

O diagnóstico etiológico mais comumente encontrado nos 108 pacientes com tosse crônica estudados por um grupo de autores<sup>(43)</sup> foi o de bronquite bacteriana protraída (definida como tosse produtiva; cultura do líquido de LBA positiva e resposta à antibioticoterapia, com resolução da tosse até duas semanas após o término do tratamento), que foi identificada



**Figura 4** – Amostra de líquido de LBA com macrófagos contendo hemossiderina.

pelo estudo do líquido de LBA em 39,8% dos casos. A mediana da porcentagem de neutrófilos encontrada no líquido de LBA desse grupo (em relação ao total de células) foi de 40%. Doenças habitualmente citadas em associação com a tosse crônica, como asma, DRGE e problemas em vias aéreas superiores, foram encontradas em menos de 10% dos pacientes desse estudo, segundo os critérios diagnósticos utilizados.

### ***Tuberculose***

A celularidade do líquido de LBA pode ajudar a compreender o papel das células inflamatórias na patogênese de algumas doenças infecciosas, como a tuberculose, podendo contribuir para o melhor direcionamento das estratégias diagnósticas e terapêuticas. Evidências recentes sugerem que os neutrófilos ( $78,8 \pm 5,8\%$ ) são mais abundantes do que os macrófagos ( $11,8 \pm 4,1\%$ ) no líquido de LBA de indivíduos infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* e que mais bacilos são encontrados no interior dos neutrófilos ( $65,1 \pm 14,4\%$ ) do que no interior dos macrófagos ( $28,3 \pm 1,6\%$ ). Esses achados sugerem que os neutrófilos funcionam como um sítio ativo de replicação do bacilo nas fases iniciais da doença.<sup>(44)</sup> Em outro estudo,<sup>(45)</sup> o líquido de LBA de crianças tuberculosas apresentou uma maior média de linfócitos ( $22 \times 10^6$  células/100 mL) e de eosinófilos ( $10 \times 10^6$  células/100 mL) em comparação com o grupo de crianças controle sem a doença ( $10 \times 10^6$  células/100 mL e  $< 1 \times 10^6$  células/100 mL, respectivamente;  $p < 0,02$ ). Além disso, um outro estudo<sup>(46)</sup> revelou que parece haver um recrutamento preferencial de um tipo específico de linfócito T CD4+ para os locais da infecção tuberculosa ativa, e a identificação específica dessas células no líquido de LBA pode agilizar o diagnóstico e auxiliar na distinção desses pacientes daqueles com outras doenças que não a tuberculose.<sup>(46)</sup>

### ***Complicações pós-transplante pulmonar e de medula óssea***

O seguimento do perfil de celularidade do líquido de LBA pode auxiliar no diagnóstico de complicações pós-transplante pulmonar. Em um estudo conduzido com adolescentes e adultos jovens submetidos a transplante pulmonar, demonstrou-se que um aumento no número de neutrófilos ( $> 40\%$ ) pode indicar evolução

para BO, enquanto a linfocitose ( $> 20\%$ ) e/ou eosinofilia ( $> 5\%$ ), acompanhada por uma queda na relação CD4/CD8 e sem evidência de infecção pulmonar, pode sugerir rejeição aguda.<sup>(47)</sup> Um grupo de autores<sup>(48)</sup> concluiu que a celularidade do líquido de LBA também pode ser útil no reconhecimento da doença do enxerto versus hospedeiro (DEVH) pulmonar em crianças após o transplante de medula óssea com sintomas respiratórios e de DEVH em outros órgãos, ao revelar linfocitose ( $> 18\%$ ) e atipia importante das células epiteliais.

### ***Imunodeficiências e neoplasias***

Nas doenças que levam à imunossupressão primária e adquirida, alterações na celularidade do líquido de LBA estão geralmente associadas a infecções bacterianas. Um grupo de autores<sup>(49)</sup> ponderou que, quando há forte suspeita clínica mas o isolamento específico não é possível, o achado de neutrofilia ( $> 30\%$ ), linfocitose ( $> 12\%$ ) ou o aumento no número de células pode fornecer um achado indireto da presença do agente infeccioso e embasar o uso de antibioticoterapia empírica.

Outros autores<sup>(50)</sup> estudaram 26 pacientes com imunodeficiências, incluindo AIDS, leucemia e câncer, e infiltrado pulmonar e concluíram que a contagem diferencial de células no líquido de LBA de crianças com cultura positiva para fungos ou bactérias apresenta uma maior porcentagem de neutrófilos do que a encontrada em indivíduos do grupo controle ( $31,4\%$  vs.  $0,3\%$ ;  $p < 0,001$ ) ou do grupo de imunossuprimidos com cultura negativa ( $31,4\%$  vs.  $0,8\%$ ;  $p = 0,003$ ). No entanto, nesse estudo, uma maior porcentagem de linfócitos foi encontrada entre os imunossuprimidos não infectados em comparação com o grupo infectado ( $14,5\%$  vs.  $4,3\%$ ;  $p = 0,62$ ) e com o grupo controle ( $14,5\%$  vs.  $1,8\%$ ;  $p = 0,008$ ).

Esses achados sugerem que a contagem diferencial de células no líquido de LBA, especialmente a neutrofilia, pode ser útil no diagnóstico de infecção pulmonar em crianças imunossuprimidas com infiltrado pulmonar. Vale ressaltar que o achado de cultura positiva sem a presença de neutrofilia ou sem correspondência com os achados na coloração de gram são fortemente sugestivos de contaminação. Novos estudos são necessários para se compreender

a resposta inflamatória diante de agentes etiológicos específicos.<sup>(50)</sup>

### ***Ventilação mecânica e LBA não broncoscópica***

A LBA realizada de forma seriada pode auxiliar no estudo da evolução do processo inflamatório presente nos distúrbios respiratórios, especialmente em crianças intubadas, e no diagnóstico da pneumonia associada à ventilação mecânica (VM), além de possibilitar a obtenção de amostras para cultura e identificação de agentes causais. Deve-se ter em mente, no entanto, que a VM é por si só um fator de risco para a injúria pulmonar. Dessa forma, torna-se difícil obter um grupo controle de crianças “normais” que sirva de comparação para o estudo de crianças doentes intubadas.<sup>(23)</sup>

A LBA não broncoscópica é uma estratégia válida para avaliar a inflamação brônquica e obter amostras para cultura em crianças intubadas, especialmente em recém-nascidos prematuros (que requerem broncoscópicos flexíveis ultrafinos de 2,2 mm). A técnica consiste na introdução de um cateter no interior do tubo traqueal e na progressão do mesmo até que haja sua impactação na árvore brônquica. Nesse momento, é instilado um volume de solução salina de acordo com o peso da criança, que é imediatamente aspirado com o uso de seringas, seguindo-se praticamente as mesmas orientações já citadas para a realização de LBA via BF. Algumas vantagens dessa estratégia incluem a possibilidade da passagem do cateter mesmo em tubos endotraqueais de pequeno diâmetro (< 4 mm), a facilidade de realização ao lado do próprio leito do doente, o pequeno desconforto para o paciente e o baixo custo. A grande desvantagem é que, sem a visão direta proporcionada pelo BF, torna-se impossível prever de qual área do pulmão a amostra obtida é proveniente, embora se espere que as amostras originárias do pulmão direito sejam predominantes, devido às suas características anatômicas. A LBA não broncoscópica pode ser obtida usando-se ou não um cateter protegido (de duplo lúmen). Esse último tem a vantagem de evitar a contaminação da amostra com a flora e secreções da via aérea superior.<sup>(51)</sup> Alguns estudos têm confirmado a reprodutibilidade tanto dos resultados de cultura<sup>(51)</sup> quanto da celularidade

diferencial<sup>(52)</sup> em diferentes amostras obtidas com essa técnica.

### **Considerações finais**

Uma vez que a celularidade do líquido de LBA pode apresentar padrões semelhantes em afecções de etiologias diversas, ela deve ser analisada conjuntamente com achados clínicos, laboratoriais e radiológicos, para que sejam feitos um adequado diagnóstico e um acompanhamento das afecções pulmonares na infância e adolescência. Por ser um exame com baixas taxas de complicação, a LBA pode ser realizada mesmo em crianças imunossuprimidas e em VM, permitindo uma maior compreensão do processo inflamatório pulmonar e evitando a realização de biópsia pulmonar em um número considerável de situações.

Tornam-se necessários, no entanto, novos estudos sobre a celularidade do líquido de LBA em crianças sem doenças pulmonares de diversas faixas etárias, utilizando-se protocolos semelhantes aos já existentes para a verificação dos valores de referência, essenciais à interpretação mais acurada de resultados em crianças com pneumopatias.

A partir da ampliação dos estudos envolvendo LBA em crianças e adolescentes normais e naqueles com pneumopatias, será possível melhorar a compreensão e a abordagem das doenças pulmonares nesse grupo etário, além de permitir novas perspectivas terapêuticas e de pesquisa.

### **Referências**

1. Midulla F, Villani A, Merolla R, Bjermer L, Sandstrom T, Ronchetti R. Bronchoalveolar lavage studies in children without parenchymal lung disease: cellular constituents and protein levels. *Pediatr Pulmonol.* 1995;20(2):112-8.
2. Ratjen F, Bredendiek M, Brendel M, Meltzer J, Costabel U. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in normal children. *Eur Respir J.* 1994;7(10):1865-70.
3. de Blic J, Midulla F, Barbato A, Clement A, Dab I, Eber E, et al. Bronchoalveolar lavage in children. ERS Task Force on bronchoalveolar lavage in children. *European Respiratory Society. Eur Respir J.* 2000;15(1):217-31.
4. Koh YY, Jung da E, Koh JY, Kim JY, Yoo Y, Kim CK. Bronchoalveolar cellularity and interleukin-8 levels in measles bronchiolitis obliterans. *Chest.* 2007;131(5):1454-60.
5. Ahrens P, Pabelick C, Schledt U, Behne M, Zielen S. Safety aspects of bronchoalveolar lavage in risk patients in childhood--continuous end-expiratory pCO2 monitoring [Article in German]. *Pneumologie.* 1998;52(3):157-60.

6. Birriel JA Jr, Adams JA, Saldana MA, Mavunda K, Goldfinger S, Vernon D, et al. Role of flexible bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of pediatric acquired immunodeficiency syndrome-related pulmonary disease. *Pediatrics*. 1991;87(6):897-9.
7. Pue CA, Pacht ER. Complications of fiberoptic bronchoscopy at a university hospital. *Chest*. 1995;107(2):430-2.
8. de Blic J, Marchac V, Scheinmann P. Complications of flexible bronchoscopy in children: prospective study of 1,328 procedures. *Eur Respir J*. 2002;20(5):1271-6.
9. Tessier V, Chadelat K, Baculard A, Housset B, Clement A. BAL in children: a controlled study of differential cytology and cytokine expression profiles by alveolar cells in pediatric sarcoidosis. *Chest*. 1996;109(6):1430-8.
10. Clement A, Chadelat K, Masliah J, Housset B, Sardet A, Grimfeld A, et al. A controlled study of oxygen metabolite release by alveolar macrophages from children with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis*. 1987;136(6):1424-8.
11. Riedler J, Grigg J, Stone C, Tauro G, Robertson CF. Bronchoalveolar lavage cellularity in healthy children. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(1):163-8.
12. Barnes PJ. Biology and assessment of airway inflammation. In: Chernick V, Boat TF, Wilmott RW, Bush A, editors. *Kendig's Disorders of Respiratory Tract in Children*. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2006. p. 65-74.
13. Najafi N, Demanet C, Dab I, De Waele M, Malfrout A. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol*. 2003;35(4):302-8.
14. Just J, Fournier L, Momas I, Zambetti C, Sahraoui F, Grimfeld A. Clinical significance of bronchoalveolar eosinophils in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(1):42-4.
15. Marguet C, Jouen-Boedes F, Dean TP, Warner JO. Bronchoalveolar cell profiles in children with asthma, infantile wheeze, chronic cough, or cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159(5 Pt 1):1533-40.
16. Le Bourgeois M, Goncalves M, Le Clainche L, Benoist MR, Fournet JC, Scheinmann P, et al. Bronchoalveolar cells in children < 3 years old with severe recurrent wheezing. *Chest*. 2002;122(3):791-7.
17. Schellhase DE, Fawcett DD, Schutze GE, Lensing SY, Tryka AF. Clinical utility of flexible bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in young children with recurrent wheezing. *J Pediatr*. 1998;132(2):312-8.
18. Barbato A, Panizzolo C, Gheno M, Sainati L, Favero E, Faggian D, et al. Bronchoalveolar lavage in asthmatic children: evidence of neutrophil activation in mild-to-moderate persistent asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 2001;12(2):73-7.
19. Krawiec ME, Westcott JY, Chu HW, Balzar S, Trudeau JB, Schwartz LB, et al. Persistent wheezing in very young children is associated with lower respiratory inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(6):1338-43.
20. de Blic J, Tillie-Leblond I, Tonnel AB, Jaubert F, Scheinmann P, Gosset P. Difficult asthma in children: an analysis of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(1):94-100.
21. Cloutier MM. Neutrophils or eosinophils in young children with wheezing: which comes first? *Chest*. 2002;122(3):761-3.
22. Bush A. How early do airway inflammation and remodeling occur? *Allergol Int*. 2008;57(1):11-9.
23. Gaston B. Rethinking doctrine: bronchitis, eosinophils, and bronchoscopy in pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(1):24-5.
24. Sagel SD, Gibson RL, Emerson J, McNamara S, Burns JL, Wagener JS, et al. Impact of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2009;154(2):183-8.
25. Douglas TA, Brennan S, Gard S, Berry L, Gangell C, Stick SM, et al. Acquisition and eradication of *P. aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2009;33(2):305-11.
26. Armstrong DS, Hook SM, Jansen KM, Nixon GM, Carzino R, Carlin JB, et al. Lower airway inflammation in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. *Pediatr Pulmonol*. 2005;40(6):500-10.
27. Hilliard TN, Regamey N, Shute JK, Nicholson AG, Alton EW, Bush A, et al. Airway remodelling in children with cystic fibrosis. *Thorax*. 2007;62(12):1074-80.
28. Paul K, Rietschel E, Ballmann M, Griesse M, Worlitzsch D, Shute J, et al. Effect of treatment with dornase alpha on airway inflammation in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169(6):719-25.
29. Hilman BC, Amaro-Galvez R. Diagnosis of interstitial lung disease in children. *Paediatr Respir Rev*. 2004;5(2):101-7.
30. Takizawa Y, Taniuchi N, Ghazizadeh M, Enomoto T, Sato M, Jin E, et al. Bronchoalveolar lavage fluid analysis provides diagnostic information on pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *J Nippon Med Sch*. 2009;76(2):84-92.
31. de Blic J. Pulmonary alveolar proteinosis in children. *Paediatr Respir Rev*. 2004;5(4):316-22.
32. Furuya ME, Moreno-Córdova V, Ramírez-Figueroa JL, Vargas MH, Ramón-García G, Ramírez-San Juan DH. Cutoff value of lipid-laden alveolar macrophages for diagnosing aspiration in infants and children. *Pediatr Pulmonol*. 2007;42(5):452-7.
33. Ahrens P, Noll C, Kitz R, Willigens P, Zielen S, Hofmann D. Lipid-laden alveolar macrophages (LLAM): a useful marker of silent aspiration in children. *Pediatr Pulmonol*. 1999;28(2):83-8.
34. Pérez-Tarazona S, Andreu JA, Cortell-Aznar I, Vila-Carbó JJ. Pulmonary aspiration and lipid-laden alveolar macrophages. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43(6):620-1; author reply 622-3.
35. Sias SM, Daltro PA, Marchiori E, Ferreira AS, Caetano RL, Silva CS, et al. Clinic and radiological improvement of lipid pneumonia with multiple bronchoalveolar lavages. *Pediatr Pulmonol*. 2009;44(4):309-15.
36. Sias SM, Ferreira AS, Daltro PA, Caetano RL, Moreira Jda S, Quirico-Santos T. Evolution of exogenous lipid pneumonia in children: clinical aspects, radiological aspects and the role of bronchoalveolar lavage. *J Bras Pneumol*. 2009;35(9):839-45.
37. Kabra SK, Bhargava S, Lodha R, Satyavani A, Walia M. Idiopathic pulmonary hemosiderosis: clinical profile and follow up of 26 children. *Indian Pediatr*. 2007;44(5):333-8.
38. Salih ZN, Akhter A, Akhter J. Specificity and sensitivity of hemosiderin-laden macrophages in routine bronchoalveolar lavage in children. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130(11):1684-6.

39. Clement A; ERS Task Force. Task force on chronic interstitial lung disease in immunocompetent children. *Eur Respir J*. 2004;24(4):686-97.
40. Jeong YJ, Kim KI, Seo IJ, Lee CH, Lee KN, Kim KN, et al. Eosinophilic lung diseases: a clinical, radiologic, and pathologic overview. *Radiographics*. 2007;27(3):617-37; discussion 637-9.
41. Cazzato S, Poletti V, Bernardi F, Laroni L, Bertelli L, Colonna S, et al. Airway inflammation and lung function decline in childhood post-infectious bronchiolitis obliterans. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43(4):381-90.
42. Ferreira Fde A, Filho LV, Rodrigues JC, Bush A, Haslam PL. Comparison of atopic and nonatopic children with chronic cough: bronchoalveolar lavage cell profile. *Pediatr Pulmonol*. 2007;42(10):857-63.
43. Marchant JM, Masters IB, Taylor SM, Cox NC, Seymour GJ, Chang AB. Evaluation and outcome of young children with chronic cough. *Chest*. 2006;129(5):1132-41.
44. Eum SY, Kong JH, Hong MS, Lee YJ, Kim JH, Hwang SH, et al. Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB. *Chest*. 2010;137(1):122-8.
45. Swaminathan S, Venkatesan P, Sankaran K, Prabhakar R, Vijayan VK, Somu N, et al. Cellular profile of bronchoalveolar lavage fluid in pulmonary tuberculosis. *Arch Dis Child*. 1995;73(2):182.
46. Nemeth J, Winkler HM, Zwick RH, Rumetshofer R, Schenk P, Burghuber OC, et al. Recruitment of Mycobacterium tuberculosis specific CD4+ T cells to the site of infection for diagnosis of active tuberculosis. *J Intern Med*. 2009;265(1):163-8.
47. Reynaud-Gaubert M, Thomas P, Gregoire R, Badier M, Cau P, Sampol J, et al. Clinical utility of bronchoalveolar lavage cell phenotype analyses in the postoperative monitoring of lung transplant recipients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002;21(1):60-6.
48. Rochat I, Posfay-Barbe KM, Kumar N, Pache JC, Kaiser L, Ozsahin H, et al. Bronchoalveolar cytology for diagnosing pulmonary GVHD after bone marrow transplant in children. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43(7):697-702.
49. Efrati O, Gonik U, Bielora B, Modan-Moses D, Neumann Y, Szeinberg A, et al. Fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage for the evaluation of pulmonary disease in children with primary immunodeficiency and cancer. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;48(3):324-9.
50. Ratjen F, Costabel U, Havers W. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in immunosuppressed children with pulmonary infiltrates. *Arch Dis Child*. 1996;74(6):507-11.
51. Gauvin F, Lacroix J, Guertin MC, Proulx F, Farrell CA, Moghrabi A, et al. Reproducibility of blind protected bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(12):1618-23.
52. Warke TJ, Kamath S, Fitch PS, Brown V, Shields MD, Ennis M. The repeatability of nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage differential cell counts. *Eur Respir J*. 2001;18(6):1009-12.

## ***Sobre os autores***

---

### ***Isabela Furtado de Mendonça Picinin***

Professora. Faculdade de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano, Belo Horizonte (MG) Brasil.

### ***Paulo Augusto Moreira Camargos***

Professor Titular. Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil.

### ***Christophe Marguet***

Chefe do Serviço de Pneumologia Pediátrica. Centre Hospitalier Universitaire Charles Nicole, Université de Rouen, Rouen, França.