

PONTO DA SITUAÇÃO

Lavagem broncoalveolar: metodologia e aplicação clínica

PEDRO SILVEIRA* MARIA DO CARMO PALMARES** LUÍS DELGADO***

RESUMO

A lavagem broncoalveolar é um método largamente utilizado no estudo da patologia pulmonar. Nas doenças intersticiais, a análise da lavagem broncoalveolar fornece, com frequência, informações relevantes para o diagnóstico, orientação terapêutica, prognóstico e interpretação etiopatogénica das mesmas. Os autores abordam a técnica e metodologia do processamento da lavagem broncoalveolar, as suas principais indicações clínicas e os achados mais característicos em diferentes patologias pulmonares.

Palavras-chave: lavagem broncoalveolar, broncofibroscopia, citometria de fluxo, doenças pulmonares intersticiais.

SUMMARY

Bronchoalveolar lavage is a technic widely used in the study of pulmonary diseases. In interstitial lung diseases, its analysis reveals useful information for diagnosis, therapeutic orientation, prognosis and ethiopathogenic interpretation. The authors resume the technic

* Interno Complementar de Pneumologia, Hospital de S. João (Dir.: Prof. J. Agostinho Marques).

** Assessora de Imunologia, Serviço de Imunologia da Faculdade de Medicina do Porto.

*** Prof. Auxiliar de Imunologia e Assistente Hospitalar. Serviço de Imunologia da Faculdade de Medicina do Porto e Hospital de S. João (Dir.: Prof. J. A. Fleming Torrinha).

Recebido para Publicação em : 96.12.6

and methodology of processing bronchoalveolar lavage, its indications, and the most characteristic findings in different pulmonary diseases.

Key-Words: bronchoalveolar lavage, bronchofiberscopy, flow cytometry, interstitial lung diseases.

INTRODUÇÃO

A introdução do broncoscópio flexível no final dos anos 60 teve uma implicação imediata na prática clínica em Pneumologia (1), pela diminuição da utilização da broncoscopia rígida, naturalmente mais agressiva e sujeita a um maior número de complicações, e pelo desenvolvimento de novos métodos que permitem um estudo mais seguro da árvore brônquica, parênquima e interstício pulmonares. A lavagem broncoalveolar (LBA) foi introduzida na mesma época, sendo inicialmente descrita como forma de terapêutica para remoção de secreções na asma grave, bronquiectasias e fibrose quística (2). Em 1973, Cantrell et al efectuaram, pela primeira vez, uma LBA com o objectivo de recuperar macrófagos alveolares de fumadores e não fumadores para determinar as concentrações de enzimas do seu citoplasma (3). A potencialidade diagnóstica da LBA foi equacionada no ano seguinte (4) e desde então, tem sido um campo de permanente desenvolvimento e investigação, particularmente no estudo do interstício pulmonar, levando Crystal a propôr pela primeira vez o termo alveolite, em 1981 (5). Actualmente a LBA pode ser definida como uma técnica que permite a recuperação de componentes celulares e não celulares da superfície epitelial dos segmentos distais do aparelho respiratório inferior. Difere do lavado brônquico, que tem por objectivo a aspiração de secreções ou de pequenas quantidades de uma solução salina instilada nas grandes vias aéreas (6). A LBA é uma técnica bem tolerada, repetível, que não aumenta a morbidade e permite com frequência obter informações para orientar e/ou formar um diagnóstico; necessita, no entanto, de uma standardização do método de colheita e processamento, para permitir a comparação de resultados (7).

TÉCNICA DE COLHEITA E COMPLICAÇÕES

A LBA é, na maior parte dos casos, realizada em conjugação com a broncofiberscopia e após o exame de toda a árvore brônquica (8). A anestesia é normalmente feita com lidocaína, localmente, embora em alguns centros tem sido utilizada a anestesia geral (9). A lidocaína deve ser removida das vias aéreas antes da instilação do fluido, dado que pode influenciar a viabilidade celular (10). Está recomendada uma pré-medicação com atropina, com o objectivo de reduzir as secreções brônquicas, permitindo uma maior recuperação (10). A selecção de doentes e as contra-indicações são semelhantes às da broncofiberscopia (11,12), encontrando-se resumidas no Quadro I. No caso de

QUADRO I

Contra-indicações da LBA

<p>Infiltrados pulmonares ou áreas de condensação extensas (mais que 50% de toda a área pulmonar) PaO₂ <60 mmHg Saturação Hb <90% Hiperreactividade brônquica com um PD20 <2,µg/ml de metacolina VEMS <60% do previsto ou <1 l Tempo de protrombina <50% Contagem de plaquetas <20.000 por ml Alterações significativas do ECG Intolerância à pré-medicação Enfarte do miocárdio há menos de 6 meses Angina instável Falência ventricular esquerda e/ou direita Não colaboração</p>

PaO₂ - pressão arterial do oxigénio, Hb - hemoglobina; PD20 - dose de metacolina que provoca uma queda no VEMS > que 20%; VEMS - volume expiratório máximo no 1º segundo; ECG - electrocardiograma

doentes asmáticos ou com outra doença subjacente, estão recomendados alguns procedimentos adicionais, nomeadamente monitorização electrocardiográfica e oximétrica, administração de oxigénio suplementar através de catéter nasal e, nos primeiros, administração de um beta 2 - agonista nebulizado (10). No nosso centro, por rotina, os dois primeiros procedimentos são efectuados em todos os doentes, sendo raras as complicações observadas.

Em relação ao local de lavagem, e no caso de doenças difusas, o encravamento do fibroscópio num dos segmentos do lobo médio ou da língula está recomendado, preferencialmente num brônquio de 4ª ou 5ª ordem (13). Nestes locais e em relação aos lobos inferiores, a recuperação é maior em cerca de 20% (14). A lavagem em apenas um segmento parece ser representativa de todo o pulmão, justificando-se a utilização de dois segmentos no diagnóstico de infecções pulmonares em doentes imunocomprometidos (15). No entanto, existem centros em que a lavagem é efectuada em mais do que um local (8,16). No caso de doenças localizadas, o que evidencia as maiores alterações radiográficas, deve ser o local escolhido para a lavagem (6,10). O fluido utilizado deve ser uma solução salina apirogénica, aquecida a 37° C (14). O aquecimento à temperatura corporal provoca menos tosse e menos broncoespasmo, determinando assim uma maior recuperação. É consensual que a instilação seja fraccionada em várias aliquotas de igual volume, devendo ser efectuada a uma velocidade de 5 ml por segundo (17). O número de aliquotas e o volume instilado é muito variável de centro para centro (18), geralmente variando entre 100 e 300 ml em aliquotas de 20 a 100 ml. No nosso centro, a LBA é habitualmente efectuada num dos segmentos do lobo médio, em 4 aliquotas de 50 ml, perfazendo um volume total de 200 ml. A aspiração pode ser mecânica, com pressões entre 25 e 100 mmHg ou manual, utilizando uma seringa conectada ao canal de aspiração do broncofibroscópio e que pode ser a mesma que serviu para instilar o fluido. Este método é, por rotina, preferido no nosso centro. No caso da aspiração mecânica, não devem ser utilizadas maiores pressões, para prevenir o colapso brônquico e a consequente quebra na recupera-

ção e para prevenir o traumatismo e aparecimento de eritrócitos no fluido recuperado (8,10). Qualquer recipiente serve para recolher o fluido recuperado, desde que não seja de vidro não siliconado. Os macrófagos aderem ao vidro, subvalorizando assim a sua contagem (10).

Se o processamento da LBA for efectuado na 1ª hora, este pode ser mantido à temperatura ambiente, sem perda de viabilidade celular e sem risco de contaminação bacteriana. Caso contrário, deverá ser mantido em gelo (8).

O volume recuperado é muito variável e depende de vários factores, resumidos no Quadro II. Como é lógico, quanto maior for o volume instilado, maior será a recuperação. Num indivíduo saudável, esta poderá atingir 60-70% do volume instilado (6,18). Há uma série em que a recuperação foi de 77% (19). Se o doente tossir, não colaborar, ou se usarmos grandes pressões de aspiração, a recuperação vai certamente ser menor. Nos fumadores e nos indivíduos com doença obstrutiva a recuperação também é menor, podendo nestes últimos atingir valores de 10% do volume instilado (8,20). A idade tem também um efeito negativo na recuperação, especialmente em indivíduos maiores de 50 anos. Em relação à raça, parece existir uma menor recuperação nos negros, embora este ainda não seja um dado seguro (21).

Como dissemos atrás, a LBA é um exame seguro, com complicações praticamente sobreponíveis às da broncofibroscopia e na maior parte dos casos reversíveis, não pondo em causa a vida do paciente. A taxa de

QUADRO II

Factores que influenciam a recuperação do fluido instilado na LBA

Factores técnicos:	
	- volume instilado
	- pressão de aspiração
	- experiência do broncologista
Idade	- menor nos idosos
Raça	- maior nos negros
Fumo do tabaco	- menor nos fumadores
Patologia subjacente	- menor nas doenças obstrutivas

complicações para uma broncofibroscopia com LBA é de 0 a 2,3%, não estando descrita nenhuma complicação letal atribuível à lavagem (11). Os efeitos laterais da LBA estão resumidos no Quadro III. A infiltração alveolar, com imagem de condensação na telerradiografia do tórax e crepitações à auscultação acontece em menos de 10% dos casos e resolve em 24 horas (22,23). Podem ser audíveis sibilos até 15 dias após o procedimento, mas apenas em doentes com hiperreactividade brônquica (23,24). Algumas horas após a LBA, pode ser observada febre em 10-30% dos doentes, mas que cede aos antipiréticos usuais (12,14). A deterioração dos parâmetros de função pulmonar é ligeira e transitória, sendo os doentes com alteração prévia destes valores os de maior risco (12,14). A hemorragia é rara e insignificante e a diminuição dos movimentos ciliares é transitória (11).

QUADRO III
Efeitos laterais da LBA

Infiltração alveolar na telerradiografia do tórax Crepitações e sibilos na auscultação Febre Diminuição do VEMS, CV e PaO ₂ Hemorragia

VEMS - volume expiratório máximo no 1º segundo; CV - capacidade vital; PaO₂ - pressão arterial do oxigénio.

PROCESSAMENTO DA LBA

A análise da LBA inclui a identificação e contagem do componente celular e o estudo do componente não celular (proteínas, imunoglobulinas, contaminantes inalatórios, etc). Neste artigo, referimo-nos apenas ao método utilizado na rotina do nosso centro, particularmente para a preparação do componente celular.

O líquido obtido após a broncofibroscopia é mantido em gelo e transportado para o laboratório, sendo processado no dia da sua colheita. O clínico poderá obter os primeiros resultados 24 h após. Além dos nossos doentes, também processamos amostras colhidas noutros centros. Segundo Rankin et al (25), o processamento do líquido de LBA deve ser efectuado

num laboratório central, pois, além da rapidez de resposta, é a única maneira de aumentar o número de amostras que irão fazer parte de futuros projectos de investigação. A utilização de laboratórios sem experiência irá criar situações de subdiagnóstico, contribuindo para o descrédito desta valiosa técnica (26).

A 1ª das 4 aliquotas colhidas é a que contém menos fluido recuperado (8) e, se analisada separadamente, verifica-se que é mais representativa da árvore brônquica que do interstício pulmonar. Nela, aparecem células epiteliais ciliadas, mais neutrófilos, menos macrófagos, menos linfócitos e maior quantidade de IgA (19,27). Por este motivo, para a avaliação da patologia intersticial, no nosso centro, rejeitamos a 1ª aliquota, sendo apenas utilizadas no processamento as 3 últimas.

Estas são misturadas e homogeneizadas, sendo preparada a contagem total de células, que é efectuada num hemocítmetro (câmara de Neubauer) a partir de uma diluição em violeta cristal e ácido acético da mistura das 3 últimas aliquotas. O resultado é expresso em número de células por mililitro (10). Esta contagem manual poderá ser substituída por uma contagem electrónica, utilizando um "Coulter", mais rápida e mais simples. Segundo Heaney et al (28), este método é preferível por ser menos subjectivo, e por isso, mais fiável. As recomendações da ERS (10) e da ATS (6) não apontam para esse sentido, devido ao risco da contagem electrónica subestimar o número de macrófagos e não incluir os eritrócitos.

Posteriormente, são preparados dois esfregaços utilizando 40 µl da mistura directamente numa centrifugação rápida (2000 rpm, 20 a 30 seg). Seguidamente os esfregaços são corados com Wright e Giemsa (6,8). Colorações especiais (PAS, negro do Sudão, Pearls, etc) poderão estar indicadas em determinadas patologias (ver adiante). A contagem diferencial é efectuada em microscopia óptica, em ampliação de 100x, sendo contadas 500 células. A existência de mais de 5% de células epiteliais ciliadas indica contaminação de material brônquico por má técnica de colheita, pelo que a LBA deixa de ser representativa (10).

Posteriormente, o líquido de lavagem é centrifugado durante 10 min a 1400 rpm para separação do botão

celular, sendo as células ressuspensas em solução de Hanks ou outra, desde que isenta de cálcio e magnésio, para prevenir a formação de agregados celulares (29). Este material é sujeito a nova centrifugação e a partir daqui, tem início a preparação para a citometria de fluxo, sobre a qual nos debruçaremos mais adiante. O sobrenadante obtido após a primeira centrifugação contém os componentes solúveis da LBA, ou seja, os componentes não celulares. Este é conservado em tubos de plástico, idealmente a -70°C (8), podendo vir a ser utilizado em posteriores estudos.

Habitualmente, é feito o doseamento de albumina e IgG no componente acelular, utilizando a nefelometria. O doseamento destas substâncias poderá ser um indicador do grau de inflamação, mas a interpretação destes resultados é difícil, pois a falta de standardização, com a instilação de diferentes volumes nos vários centros, afecta a concentração dos componentes solúveis. Actualmente, a maior parte dos investigadores usam a albumina como valor padrão, apesar da concentração desta estar aumentada nas doenças inflamatórias do pulmão. No entanto, os "ratios" entre outras substâncias e a albumina (IgA/albumina, IgG/albumina, etc) não variam muito entre a 1^a aliquota e o volume total da lavagem (30).

O papel da albumina pode ser desempenhado pela ureia, assumindo que a sua concentração no epitélio pulmonar é similar à sua concentração plasmática. Determinando estes dois valores, podemos encontrar o coeficiente de diluição do fluido epitelial. O maior problema é a existência de uma rápida difusão da ureia para os espaços alveolares. No entanto, é aceite que quando a LBA é efectuada rapidamente (menos de 2 min), a ureia pode fornecer uma estimativa correcta do factor de diluição, sendo nesses casos de um valor próximo de 2 (31).

Além da ureia e da albumina, têm sido utilizadas outras substâncias como valor de referência, nomeadamente a glicose e o potássio (32), mas nenhuma delas provou ser melhor que a albumina.

CITOMETRIA DE FLUXO

A citometria de fluxo é um método que utiliza a injeção de partículas em suspensão numa corrente de líquido, estabelecendo um fluxo co-axial, isto é uma fila de partículas isoladas no seu centro, as partículas atravessam um feixe de luz, medindo-se a deflexão desta em diferentes ângulos. A presença de partículas fluorescentes pode ser estudada pela luz emitida em diferentes comprimentos de onda. A associação da citometria à imunofluorescência - estudo de antígenos da superfície celular por anticorpos marcados com diferentes fluorocromos - permite a fenotipagem linfocitária em diferentes amostras biológicas nomeadamente na LBA (33).

Para a citometria as células da LBA são ressuspensas, após centrifugação, numa concentração de $10 \times 10^6/\text{ml}$ em solução salina tamponada, contendo 5% de soro de coelho (Gibco, BRL) descomplementado por aquecimento e incubadas 30 min. a temperatura ambiente para bloqueio dos receptores celulares FcIgG. Amostras de $2,5 \times 10^5$ células da LBA ou 100 μl de sangue são incubados 30 min a 4°C com anticorpos monoclonais directamente conjugados com fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE) ou PerCP ou com soros controlo com o mesmo isotipo e igualmente conjugados. Finalmente os eritrócitos são lisados e os leucócitos estabilizados e fixados usando o sistema Coulter-Q-Prep® (Coulter Corporation, FL, USA) e as células mantidas a 4°C até à análise. Após uma lavagem em PBS, as amostras são analisadas num citómetro equipado com um laser de argon (488nm), que permite a leitura de três tipos de fluorescência de acordo com o filtro aplicado: FL1 F488/530 - FITC (fluorescência verde), FL2 F488/585 - Pe (fluorescência laranja) e FL3 F488/650 - PerCP (fluorescência vermelha). Os dados da distribuição de dispersão de luz em ângulo fechado (FSC) e ortogonal (SSC) das amostras de sangue são adquiridas em escala aritmética (256 canais). Para a dispersão de luz ortogonal das amostras de LBA e para a fluorescência, utiliza-se amplificação logarítmica de 4 décadas (256 canais). Em ambos os tipos de amostra são adquiridos 10000 eventos, grava-

dos em ficheiros «listmode» e posteriormente analisados com a aplicação informática PC-Lysys (34).

A definição de *gates* consiste na selecção de células de acordo com as suas características de fluorescência, tamanho (FSC-*forward scatter*) e granularidade (SSC-*side scatter*). No sangue periférico distinguem-se facilmente as seguintes populações: linfócitos, monócitos, granulócitos e eritrócitos misturados com restos celulares (Fig. 1B) Na LBA, as células geralmente

mais frequentes são os macrófagos e linfócitos, que apresentam grandes variações de tamanho (Fig. 1D). Para estabelecimento *do gate* dos linfócitos é particularmente útil associar a marcação CD45 (35), o antígeno comum dos leucócitos, com o *side scatter* (granularidade) (Fig. 1A e 1C). Como a maioria dos macrófagos da LBA são grandes e apresentam elevada granularidade são facilmente distinguíveis dos linfócitos, de baixa granularidade e forte sinal de fluorescência com o

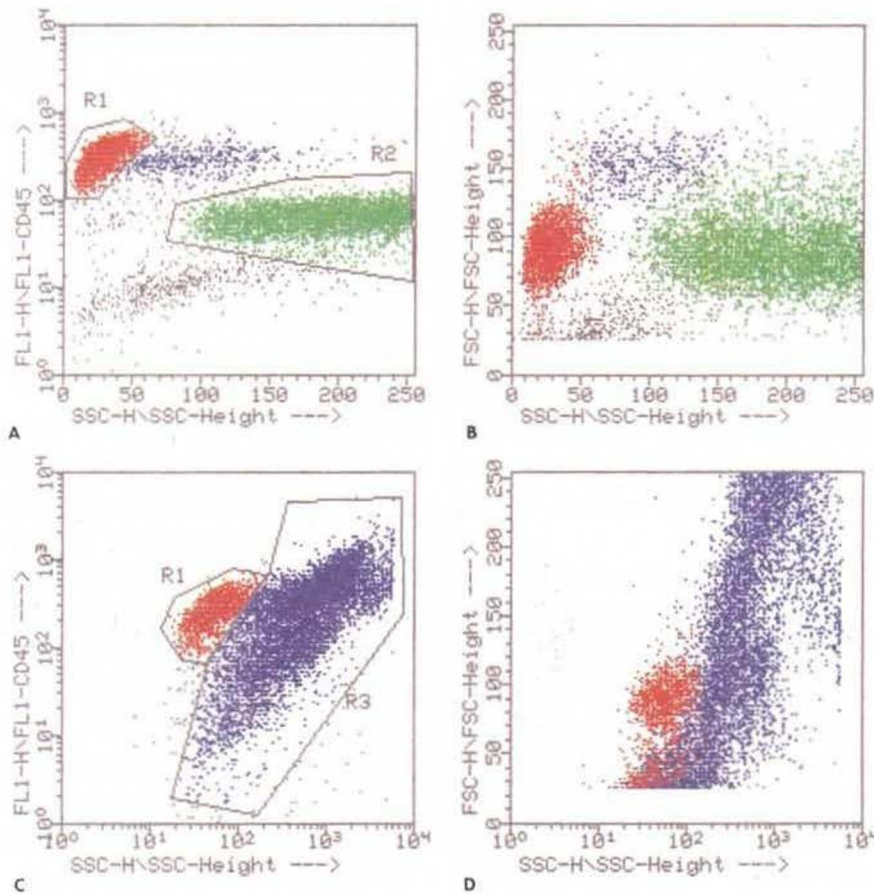


Fig 1— Citometria de fluxo. Identificação das diferentes populações celulares no sangue (Fig. 1A, 1B) e na lavagem broncoalveolar (Fig 1C, 1D). As populações celulares são definidas associando a marcação CD45 (antígeno leucocitário comum) com o SSC (granularidade celular) (Fig 1A, 1C) e posteriormente analisadas associando o FSC (tamanho celular) com o SSC (Fig 1B, 1D). No sangue periférico (Fig 1A) distingue-se a região dos linfócitos (a vermelho) caracterizada por elevada fluorescência para o CD45 e baixo SSC; a região dos neutrófilos (a verde) apresenta menor fluorescência para o CD45 e alto SSC; os monócitos (a azul) têm características intermédias localizando-se por isso entre as outras duas regiões; restos celulares estão representados a preto. Na lavagem broncoalveolar (Fig 1C), os linfócitos (a vermelho) distinguem-se dos macrófagos (a azul) por apresentarem elevada expressão CD45 mas um SSC mais baixo.

anticorpo anti-CD45 (Fig. 1C). Este *gate* é posteriormente delimitado no quadrante que relaciona o FCS com o SSC (Fig. 1D). Após o estabelecimento *do gate* dos linfócitos, os histogramas obtidos com os diferentes anticorpos monoclonais são analisados, determinando a percentagem de células positivas.

VALORES DE REFERÊNCIA

Vários estudos têm sido publicados sobre a celularidade total e sua contagem diferencial em indivíduos saudáveis submetidos voluntariamente a LBA, com alguma divergência nos resultados, como se pode observar no Quadro IV. É de assinalar que a técnica utilizada a colheita e processamento da LBA nestes diferentes estudos nem sempre foi uniforme, o que poderá explicar as diferenças entre os vários resultados.

Os valores esperados obtidos em indivíduos saudáveis, não fumadores, em séries mais alargadas, estão resumidos no Quadro V. Em resumo, na maior parte das revisões, é de esperar uma celularidade total de 0,4 a $2,0 \times 10^5$ /ml, com uma contagem diferencial onde predominam os macrófagos (80,0 a 95,0%), com menor número de linfócitos (3,0 a 15,0%) e um pequeno número de neutrófilos (0,6 a 2,0%) e de eosinófilos (menos de 1,0%) (Fig. 2).

Nos fumadores, a celularidade total pode aumentar até 4-5 vezes. Verifica-se também uma queda da percentagem de linfócitos e um aumento da percentagem de neutrófilos e de macrófagos. Alguns valores de referência encontram-se resumidos no Quadro VI. Em relação aos linfócitos, deve ser efectuada a quantificação de subpopulações linfocitárias através de imunocitoquímica ou por citometria de fluxo. Dever-se-á quantificar os linfócitos B e, sobretudo, os T, nomeadamente as suas subpopulações CD4 (auxiliar) e CD8

QUADRO IV

Valores de referência para a celularidade da LBA no indivíduo saudável, não fumador (estão registadas as medias)

autor	(n)	volume instilado (ml)	celularidade total ($\times 10^5$ /ml)	macrófagos (%)	linfócitos (%)	neutrófilos (%)	eosinófilos (%)	ref.
Reynolds	5	150	-	74,0	15,0	0	0	4
Yeager	10	250	1,76	70,0	8,0	12,0	-	36
Low	14	240	1,12	94,8	3,5	1,7	-	37
Pingleton	10	-	2,06	89,9	7,7	1,7	0,6	14
Velluti	8	150	1,63	88,1	10,6	0,9	0,4	38
La Violette	42	100-300	0,58	89,0	10,0	2,0	0	39
Baughman	16	150	-	92,2	6,6	1,3	-	40
Ettensohn	78	120	0,93	95,1	3,9	0,7	0,2	41
Costabel	11	100	1,39	92,0	7,0	1,0	-	42
Merchant	111	100	1,27	93,2	6,1	0,5	0,1	43
Drent	15	200	1,33	87,0	11,0	1,6	0,3	44
Merrill	24	200	1,58	88,0	8,7	1,5	-	45

QUADRO V

Valores esperados na LBA de indivíduos saudáveis não fumadores

autor	celularidade total (x10 ⁵ /ml)	macrófagos (%)	linfócitos (%)	neutrófilos (%)	eosinófilos (%)	ref.
ATS	0,4 – 2,3	95,0 ± 3,0	3,5 ± 2,5	1,7 ± 1,6	–	6
ERS	–	–	< 15,0	< 3,0	< 0,5	10
SEPAR	1,0 – 2,0	80,0 – 95,0	< 15,0	< 5,0	< 1,0	7
Teles de Araújo	1,2 – 2,0	93,0 ± 4,0	6,0 ± 3,0	0,6 ± 0,8	0,2 ± 0,4	46
Daniele	1,0 – 1,5	80,0 – 90,0	11,0 ± 1,0	< 1,0	< 1,0	17
Reynolds	1,5	85,0	7,0 – 12,0	1,0 – 2,0	< 1,0	8
Israel-Biet	1,3 ± 0,2	85,0 ± 2,0	12,0 ± 1,0	2,0 ± 0,1	0,2 ± 0,1	32
BAL Com.	1,3 ± 0,2	85,2 ± 1,6	11,8 ± 1,1	1,6 ± 0,7	0,2 ± 0,1	21

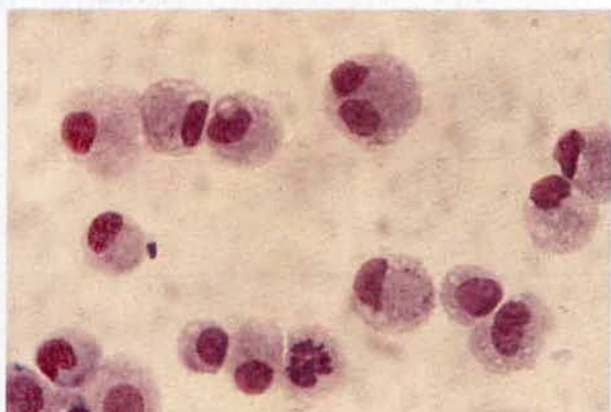


Fig. 2 – Aspecto da citologia de uma LBA normal, onde predominam os macrófagos (80,0 a 95,0%) (Wright-Giemsa).

(supressor, citotóxico). Os valores considerados normais estão resumidos no Quadro VII. Existem algumas variações associadas a determinados factores. Por exemplo, há um ligeiro aumento dos CD4 com a idade e um aumento dos CD8 no sexo masculino, com as consequentes alterações da relação CD4 / CD8 (21). O fumo do tabaco provoca um marcado aumento dos CD8, o que se reflecte na diminuição da relação CD4 / CD8 (21,42).

No componente não celular da LBA podemos

determinar as concentrações de vários componentes solúveis, nomeadamente proteínas totais, albumina, imunoglobulinas, hidratos de carbono, fosfolípidos, ácido hialurónico, angiotensina convertase e muitas outras. A existência de diferentes técnicas de colheita e processamento da LBA nos vários centros e a impossibilidade de estabelecer com segurança o factor de diluição, torna a interpretação dos resultados particularmente difícil e variável (6,21). Têm sido efectuados estudos em fumadores e não fumadores que demonstram uma duplicação dos valores de IgG nos primeiros (45,47).

APLICAÇÃO CLÍNICA

A LBA tem sido particularmente aplicada na avaliação diagnóstica das doenças do interstício pulmonar. Considera-se que as células recuperadas são mais representativas da população intersticial do que a análise microscópica de fragmentos histológicos (29), uma vez que a LBA abrange um número muito superior de alvéolos. Além de ser um método fundamental para o conhecimento da patogénese destas doenças (48), a LBA fornece elementos que, na maior parte dos casos,

QUADRO VI

Valores de referência para a celularidade da LBA no indivíduo saudável, fumador (estão registadas as médias)

autor	n	volume instilado (m/l)	celularidade total ($\times 10^5/m/l$)	macrófagos (%)	linfócitos (%)	neutrófilos (%)	eosinófilos (%)	ref.
Merchant	19	100	4,9	98,6	2,1	0,8	0,2	43
Costabel	12	100	5,4	96,0	3,0	1,0	—	42
Low	12	240	7,6	93,5	5,0	1,4	—	37
Drent	15	200	3,0	91,6	6,8	1,2	0,4	44
Merrill	32	200	7,8	93,8	3,1	3,1	—	45
Daniele	—	—	—	>90,0	1,0–5,0	1,0–4,0	—	17
BAL Com.	—	—	4,2	92,5	5,2	1,6	0,6	21
Reynolds	5	150	—	96,0	6,0	—	—	4

QUADRO VII

Valores de referência das subpopulações linfocitárias, na LBA

autor	linfócitos B (%)	linfócitos T (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD4/CD8	ref.
Teles de Araújo	8,0	70,0–73,0	—	—	1,8	46
Daniele	5,0 \pm 2,0	62,0 \pm 2,0	46,0 \pm 3,0	25,0 \pm 2,0	1,6	17
BAL Com.	4,4 \pm 0,7	71,1 \pm 2,3	41,0 \pm 2,0	23,0 \pm 1,5	2,3 \pm 0,2	21
SEPAR	5,0–10,0	62,0–90,0	39,0–50,0	22,0–27,0	1,4–1,8	7
Reynolds	5,0–10,0	70,0	50,0	30,0	—	8

contribuirão para o diagnóstico e seguimento das doenças intersticiais. Em determinadas situações particulares, a LBA pode ser, só por si, diagnóstica (Quadro VIII). Para comprovar a importância da LBA na orientação do diagnóstico, Stoller (53) mostrou que após a análise celular do fluido, 59% dos clínicos inquiridos alteraram a hipótese inicial de diagnóstico e que estas alterações foram, na maior parte das vezes, apropriadas.

Seguidamente, apresentamos o papel da LBA na abordagem diagnóstica de diferentes patologias.

SARCOIDOSE

Tem sido a doença pulmonar para cujo estudo mais tem contribuído a LBA. A alveolite que a caracteriza é tipicamente linfocítica, à custa dos linfócitos T (Fig. 3) (17). Tem sido sugerido que a alveolite precede a formação dos granulomas, característicos da sarcoidose, participando na sua gênese, assim como da fibrose (54). Nos casos mais avançados, em que a fibrose é já evidente na telerradiografia do tórax, o número de linfócitos pode ser normal ou discretamente elevado,

QUADRO VIII
Situações em que a LBA pode ser diagnóstica

	Diagnóstico	Características	ref.
Doenças	Histiocitose X	Estruturas tubulares citoplasmáticas na ME, CD1a +	49
não ocupacionais	Hemorragia alveolar	Macrófagos com pigmentos hemossidérico	50
	Proteinose alveolar	Aspecto macroscópico leitoso Material lipoproteico amorfo PAS+, com estrutura lamerar na ME	51
Doenças ocupacionais	Exposição a asbestos	Fibras ou corpos de asbestos	52
	Exposição a sílica	Partículas birrefringentes no citoplasma dos macrófagos	13
Infecções	CMV		26
	<i>P. carinii</i>		6
	Fungos		26
	<i>M. tuberculosis</i>		6
Neoplasias	Carcinoma		26
	Linfoma		26

ME - microscopia electrónica; CMV - citomegalovírus

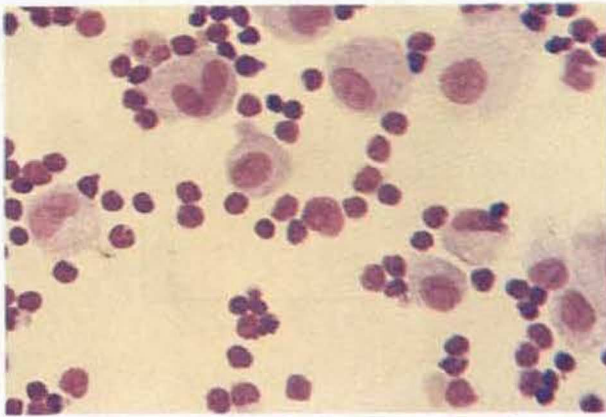


Fig. 3 - Alveolite linfocítica (Wright-Giemsa).

dando lugar a uma alveolite neutrofilica, normalmente sem eosinófilos (26).

Um método relativamente simples e fiável para distinguirmos a alveolite linfocítica da sarcoidose, é a relação CD4 / CD8 (Quadro IX). Na sarcoidose, esta relação está muito aumentada, podendo atingir valores de 10/1. Uma relação superior a 3,5 tem uma especificidade

diagnóstica de 93% e é um critério importante para diagnóstico diferencial com a fibrose pulmonar idiopática (FPI) (55).

Apesar da percentagem de macrófagos estar diminuída, o seu número total está aumentado, existindo evidencia de estas células estarem activadas (17), pois são capazes de estimular a proliferação de células T, em resposta a antígenos solúveis (56). Estes macrófagos são ainda capazes de produzir citocinas pró-inflamatórias, factores de crescimento de fibroblastos, como a fibronectina e, finalmente, entre outros, enzima conversor da angiotensina (ECA) (57).

Tem sido alvo de discussão o papel da LBA como marcador da actividade da sarcoidose. Em 1978, Weinberger et al (58) afirmavam que a linfocitose não se relacionava com o estadio da doença, mas sim com a sua actividade. Actualmente, a intensidade da alveolite, bem como a relação CD4 / CD8, não são usados como marcadores de actividade, nem como indicadores para iniciar tratamento (59,60). Este facto não diminui a aplicação clinica da LBA, tanto mais que, quer na

QUADRO IX
Relação CD4/CD8 nas alveolites linfocíticas

Aumentada	Normal	Diminuída
Sarcoidose	Tuberculose	Pneumonite de hipersensibilidade
Beriliose	Linfangiomiomatose	Pneumonite por fármacos
Asbestose		Bronquiolite obliterante (BOOP)
D. Crohn		Infecção HIV
Artrite reumatóide		Silicose

sarcoidose, quer nas pneumonites de hipersensibilidade, há uma boa correlação entre as subpopulações celulares recuperadas na LBA e na biópsia pulmonar transbrônquica (61), sendo a primeira um método que acarreta menor morbidade.

Clinicamente, os melhores marcadores de actividade da sarcoidose parecem ser o cintilograma com Gálio⁶⁷ e os níveis séricos do ECA (62), ou mesmo, testes mais simples, como uma telerradiografia do tórax de boa qualidade e testes de função pulmonar (63). A LBA pode ter um papel na avaliação da actividade da doença e no seu prognóstico, não através da intensidade da alveolite, mas sim de outros achados. Por exemplo, a existência de neutrofilia e a observação de mastócitos pressupõe fibrose pulmonar (55,64), ou seja, a fase mais avançada da sarcoidose. Em relação aos componentes solúveis da LBA, muitos têm sido propostos como marcadores de actividade, mas ainda com limitada utilidade clínica. Os mais consistentes, parecem ser os níveis de hialuronano, que se relacionam directamente com o número de mastócitos (65) e os níveis do ECA, que parecem reflectir o grau de actividade pulmonar melhor que os níveis séricos desse enzima (66). Mais recentemente, a colagenase, um enzima detectado na LBA de doentes com FPI, ARDS e sarcoidose, tem sido associado à necessidade de corticoterapia e a um mau prognóstico a curto prazo (67). No entanto, são necessários mais estudos, com maiores tempos de "follow-up", para confirmar, ou não, a utilidade deste marcador (68).

FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA (ALVEOLITE FIBROSANTE CRIPTOGENICA)

A fibrose pulmonar é o estadio terminal e irreversível da doença intersticial pulmonar. A alveolite que caracteriza a FPI é similar a de muitas outras doenças que cursam com fibrose, sendo caracterizada por um aumento nas percentagens de neutrófilos e eosinófilos e uma ligeira elevação dos linfócitos T, que normalmente não ultrapassam os 15-20% (6,21). A observação de um grande número de neutrófilos (especialmente em fumadores) pode significar apenas contaminação brônquica e não ser tradução de doença intersticial (69), pelo que temos de estar atentos a esse facto. Outro diagnóstico diferencial que deve ser colocado é a asbestose, dado a alveolite desta ser similar à da FPI. Nestes casos, a identificação de corpos de asbestos é indicador de exposição (70). As principais causas de neutrofilia na LBA encontram-se resumidas no Quadro X.

No que diz respeito aos macrófagos, estes estão aumentados em número absoluto, mas a sua percentagem está diminuída, como consequência da neutrofilia (21). O achado de macrófagos que reagem distintamente com os anticorpos monoclonais RFD1 e RFD7 (71), sugere que existem subpopulações destas células que desempenham um papel importante na patogénese da fibrose. Em relação ao componente não celular, observa-se um aumento das proteínas totais, IgG, IgA e IgM, mas não da albumina (21). Em termos de prognóstico, a LBA pode ser uma fonte de informação

QUADRO X

Principais causas de neutrofilia na LBA

Causas	Características
Fibrose pulmonar idiopática	Exclusão de outras causas de fibrose pulmonar
Contaminação brônquica	Má técnica de colheita
Tabagismo	História clínica
Asbestose	Exposição, corpos ferruginosos
Colagenoses	História clínica, marcadores séricos
Histiocitose X	Fumadores, pneumotoraces de repetição, células CD1a+

importante. Está demonstrado que uma maior linfocitose está relacionada com uma melhor resposta à corticoterapia e que, nos casos em que há predominio de neutrófilos e/ou eosinófilos, há uma deterioração funcional mais rápida (72,73). Haslam et al (74) propõem valores "cutoff" com significado prognóstico: mais de 3% de eosinófilos, e/ou mais de 4% de neutrófilos, com linfócitos inferiores a 11% determinam uma menor resposta clínica à corticoterapia; um predominio de eosinófilos poderá significar uma melhor resposta à ciclofosfamida (75). Perante estes dados, é lícito afirmar que a LBA pode ajudar na decisão terapêutica da FPI.

COLAGENOSSES (VASCULITES)

São um vasto grupo de doenças inflamatórias sistêmicas, muitas vezes com repercussão pulmonar e intersticial. A alveolite que as caracteriza é, em tudo, indistinguível da FPI (8). O facto mais interessante neste grupo de doenças, é o da presença de uma alveolite não implicar a existência de fibrose pulmonar (76), mas as suas características poderão sugerir-las. Por exemplo, na artrite reumatóide sem evidência de fibrose existe uma linfocitose T de predominio CD4, mas, quando existe fibrose, a alveolite é predominantemente neutrofilica (77).

O componente não celular apresenta concentrações de proteínas, albumina, IgG e IgM aumentadas (76), o que é um dado inespecífico; no entanto, em situações particulares, como a granulomatose de Wegener, a presença de anticorpos anti-citoplasma dos neutrófilos (ANCA) no fluido da LBA pode ser diagnóstica, distinguindo-a de outras doenças que também cursam com alveolites neutrofilicas (78).

Em relação ao prognóstico, o papel da LBA é semelhante ao anteriormente descrito para a FPI, ou seja, a evidência de uma alveolite linfocítica pressupõe uma melhor resposta à corticoterapia (76).

PNEUMONITES DE HIPERSENSIBILIDADE (ALVEOLITES ALÉRGICAS EXTRÍNSECAS)

As alveolites alérgicas extrínsecas (AAE) são consequência de fenómenos imunológicos locais em resposta à inalação de poeiras orgânicas, podendo ser observadas em cerca de 10% dos indivíduos expostos (79). São caracterizadas por alveolites linfocíticas, mas com contagens diferenciais de linfócitos substancialmente maiores que na sarcoidose, podendo atingir os 60 - 70%, ou mais (17). São também linfócitos T, mas a sua análise revela um predominio da linha citotóxica, com a relação CD4 / CD8 baixa (10) (80,81). Na fase aguda, logo após a exposição, pode-se observar um

aumento de neutrófilos (82) e o aparecimento de mastócitos (Fig.4) (83), alterações estas que desaparecem cerca de uma semana após a exposição. Estas células podem reaparecer posteriormente, numa fase crónica, de fibrose pulmonar.

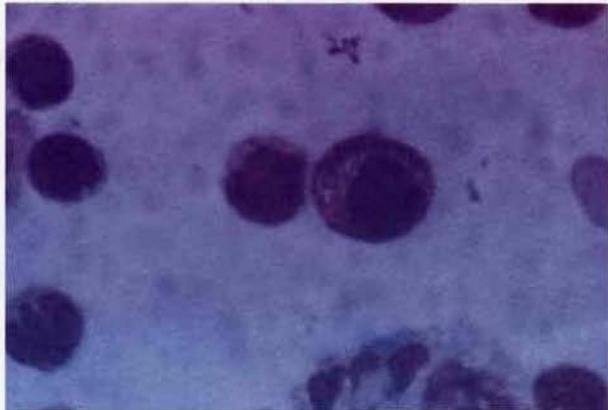


Fig. 4 – Mastócito na LBA. Estas células são heterogêneas e, relativamente aos linfócitos, distinguem-se por terem habitualmente maior tamanho e granularidade citoplasmática, também variável (Wright-Giemsa).

Os macrófagos alveolares encontram-se diminuídos em percentagem, mas normais quando considerados em número absoluto (80). O conteúdo proteico do líquido de lavagem está aumentado, especialmente à custa das imunoglobulinas. A concentração de IgG, IgA e IgM é elevada, com uma relação IgG/albumina superior a 1, o que não acontece na sarcoidose (58), assim como o aumento de IgM (84). O péptido procologénio tipo III e o hialuronano podem ser usados como marcadores de fase aguda das AAE, sendo o seu aumento proporcional à mastocitose observada nessa fase (85). Posteriormente, na fase crónica, os mastócitos estão envolvidos na activação e proliferação dos fibroblastos, através da libertação de triptase, histamina, leucotrieno 4 e TNF- α . Por sua vez, os fibroblastos activados, através da produção de "stem-cell factor", estimulam o recrutamento, expansão e desgranulação dos mastócitos no pulmão (86).

O papel da LBA como marcador de actividade das AAE não está bem definido, existindo séries contradi-

tórias. Em Portugal, Sapage et al (87) obtiveram uma relação positiva entre os dados obtidos pela LBA e a função pulmonar, nomeadamente entre a celularidade total e a capacidade vital forçada e entre a linfocitose e a capacidade de difusão do monóxido de carbono em doentes com suberose, não sendo encontrada qualquer correlação com a hipoxemia. Nesse mesmo estudo está bem demonstrada a importância da LBA no diagnóstico das AAE.

EXPOSIÇÃO A POEIRAS INORGÂNICAS (ASBESTOS, SÍLICA, BERILIO)

Neste vasto grupo de doenças por inalação de poeiras inorgânicas, a LBA pode fornecer informações de vários tipos, nomeadamente a documentação da exposição, a documentação da alveolite e a exclusão de outras causas de doença intersticial em doentes expostos a tais poeiras (88). A observação destas na LBA é indicação de exposição, mas não é sinónimo de doença (52), pelo que, por exemplo, o achado de corpos de asbestos na LBA de um doente exposto, não significa que esse mesmo indivíduo tenha uma asbestose.

O uso da LBA não deve ser rotina na documentação da exposição aos asbestos. A citologia de expectoração é um método prático, não invasivo e sensível na detecção de corpos e/ou fibras de asbestos, especialmente quando se usam filtros de celulose (89).

O aparecimento de corpos ferruginosos de forma regular, alongados, visíveis à microscopia óptica (Fig. 5), são sugestivos de asbestos, mas deve ser feito o diagnóstico diferencial com o talco, vidro e carvão, que formam corpos pseudo-ferruginosos, de forma mais irregular (88). Para uma avaliação mais correcta da sua composição química, deverá ser utilizada a microscopia electrónica com microanálise de raios-X (90). Os corpos de asbestos obtidos na LBA representam cerca de 1-2% de todos os corpos armazenados na área pulmonar abrangida pela lavagem, pelo que é possível efectuar uma estimativa da concentração destes corpos em todo o parênquima pulmonar (88,91).

Em relação à alveolite, não está definida a sua relação com a clínica, existindo resultados controver-



Fig. 5 – O aparecimento de corpos ferruginosos de forma regular, alongados, na microscopia óptica (Violeta de Cristal, no hemocitómetro) são sugestivos de asbestos.

sos. Nos indivíduos expostos, sem sinais de doença, pode não existir alveolite ou esta ser linfocítica, com linfócitos entre 15 e 20% (92), com ou sem neutrofilia. Quando já há evidência de asbestose, a alveolite é predominantemente neutrofílica, podendo também coexistir linfocitose e/ou eosinofilia (88,93). A relação CD4 / CD8 está aumentada, quer nos doentes apenas com exposição, quer nos doentes com asbestose (88). No entanto, Gellert et al (94) encontraram relações CD4 / CD8 diminuídas em ambos os grupos de doentes. Nesse mesmo estudo, indivíduos com mais de 5 anos de exposição tinham "ratios" menores que 1,2 e os com menos de 5 anos de exposição, estavam associados a "ratios" maiores que 1,2. Em alguns estudos, foram obtidas relações positivas entre a neutrofilia e a presença de crepitações à auscultação, PaO₂ e gradiente alvéoloarterial do O₂ (95). Noutros estudos, não foram encontradas correlações entre a alveolite e as alterações radiográficas e fisiológicas (93).

A silicose é uma doença pulmonar granulomatosa provocada pela inalação de poeira de sílica (SiO₂) (96). A sílica apresenta-se em forma de partículas não alongadas, birrefringentes, no interior do citoplasma dos macrófagos alveolares de indivíduos expostos. O diagnóstico diferencial destas partículas inclui, entre outros, o carvão, metais pesados, antimónio e alumínio. A quantidade de sílica não varia entre os indivíduos expostos profissionalmente e os doentes com silicose

(88). No entanto, 90% dos macrófagos alveolares dos primeiros podem conter estas partículas, enquanto que nos indivíduos com exposição não profissional (ambiental), as partículas de sílica são apenas encontradas em 5% dos macrófagos (6).

Em relação à alveolite, esta é predominantemente linfocítica (6,96,97), embora estejam descritas séries com percentagem normal de linfócitos e neutrofilia, especialmente em doentes com grau avançado de fibrose (98). A linfocitose é habitualmente CD8 (88,97), sendo proporcional ao tempo de exposição (90). Em casos de silicose pseudo-tumoral pode encontrar-se uma relação CD4 / CD8 elevada (96).

A beriliose crónica é uma doença granulomatosa do interstício pulmonar, clínica e histologicamente similar à sarcoidose, causada pela inalação de pó ou sais solúveis de berílio (17). Os achados da LBA são idênticos nestas duas patologias, ou seja, uma celularidade aumentada à custa de linfócitos T auxiliares, com uma relação CD4 / CD8 que pode estar entre 4,7 e 7,2 (88). A linfocitose pode ser exuberante, atingindo valores 5 vezes superiores ao normal (99). A LBA pode ter importância diagnóstica nesta patologia, quando se estuda a proliferação dos linfócitos da LBA em presença de sais de berílio (100).

PNEUMONITES INDUZIDAS POR FÁRMACOS:

A doença pulmonar iatrogénica pode evoluir para a fibrose com irreversibilidade. O principal objectivo deve ser um reconhecimento precoce, de modo a evitar essa evolução. Existe uma lista interminável de fármacos susceptíveis de lesar o interstício pulmonar (101), não sendo o nosso objectivo a referência individual a cada um deles.

A amiodarona é uma das causas mais conhecidas de infiltrados pulmonares. A maior parte destes casos cursam com alveolites linfocíticas de predomínio CD8 e às quais se associam normalmente uma diminuição do número total de macrófagos, podendo também haver neutrofilia e eosinofilia associadas (102). Em alguns doentes, esta linfocitose não se observa, mas mesmo nestes, continua a existir uma diminuição da

relação CD4 / CD8, à custa da diminuição dos T auxiliares (102). Tipicamente, a amiodarona determina a acumulação de inclusões lamelares de natureza fosfolipídica no citoplasma dos macrófagos, que surgem com aspecto vacuolado e demonstráveis por histoquímica (Fig.6) (103). Estas inclusões podem ser detectadas em todos os indivíduos a fazer terapêutica com amiodarona, mesmo sem evidência de alveolite (103). A linfocitose de predomínio CD8 da pneumonite por amiodarona é comum à maior parte das pneumonites por fármacos (104), o que sugere um mecanismo imunopatogénico semelhante às alveolites alérgicas extrínsecas (101). Por aqui se vê a necessidade de excluir uma causa ambiental, através de uma história clínica exaustiva, quando se faz o diagnóstico de pneumonite iatrogénica.

Alguns fármacos podem estar associados com alveolites não linfocíticas. Por exemplo, as tetraciclina, sulfasalazina e bleomicina cursam com alveolites eosinofílicas (104,105,106) e a D-penicilamina com hemorragia alveolar (101). Neutrofilia pode ser observada quando existe evolução para a fibrose ou nalguns casos de toxicidade pela bleomicina (101).

HISTIOCILOSE X (GRANULOMA EOSINOFÍLICO PULMONAR, GRANULOMATOSE DE CÉLULAS DE LANGERHANS)

É uma doença de causa desconhecida, caracterizada

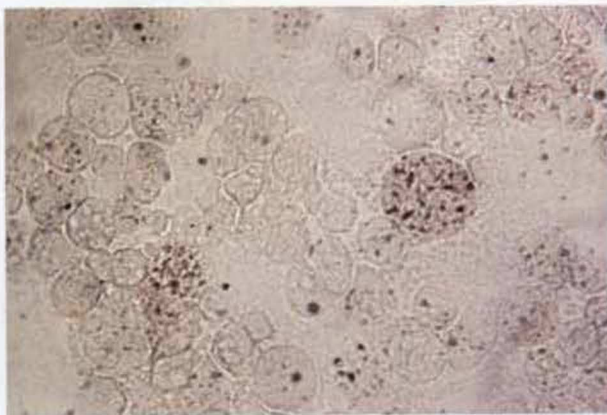


Fig. 6 - Pneumonite por amiodarona. Presença de macrófagos vacuolados, cujas inclusões coram pelo Negro Sudão.

pela proliferação de células de Langerhans, um tipo de histiócitos de forma dendrítica (107). O seu diagnóstico é feito pela identificação destas células, através da visualização de grânulos de Birbeck (estruturas intracitoplasmáticas alongadas, pentalaminares, em forma de raquete de ténis-corpos X) na microscopia electrónica, ou através de imunofluorescência indirecta usando anticorpos monoclonais CD1a (OKT6) (108).

Tem sido questionada a especificidade destas células no diagnóstico de granuloma eosinofílico pulmonar (GEP). Trata-se de uma doença associada ao fumo do tabaco, tendo Casaloro et al (109) identificado células de Langerhans em fumadores sem GEP, sugerindo que estas células tenham propriedades que contribuem para as alterações parenquimatosas observadas nos fumadores. Também foram identificadas células de Langerhans em doentes com doenças fibróticas, doenças inflamatórias benignas e carcinoma bronquioloalveolar (110). Actualmente, para que a LBA seja diagnóstica de GEP, é necessário observar pelo menos 5% de células alveolares CD1a positivas (111).

No que diz respeito à microscopia óptica, a LBA é semelhante à de um fumador, ou seja, uma celularidade elevada à custa de um aumento do número de macrófagos. Pode também observar-se eosinofilia, neutrofilia ou mastocitose discretas (49,112). Em relação aos linfócitos, quando expressos em número absoluto, mas não em percentagem, verifica-se uma linfocitose com diminuição da relação CD4 / CD8 (110).

PROTEINOSE ALVEOLAR:

A realização da LBA nestes doentes pode evitar a biopsia pulmonar transbrônquica, sendo considerada diagnóstica quando se cumprem os seguintes 4 critérios: aspecto macroscópico do fluido opaco e leitoso (Fig.7), escassez de macrófagos alveolares, apresentando-se estes com citoplasma vacuolizado, visualização de corpos eosinofílicos acelulares num fundo de pequenos grânulos eosinofílicos e detritos celulares, e, finalmente, material fosfolipoproteico PAS positivo e azul de Alcian negativo (Fig.8) (6,51). Este material fosfolipoproteico também reage e cora com

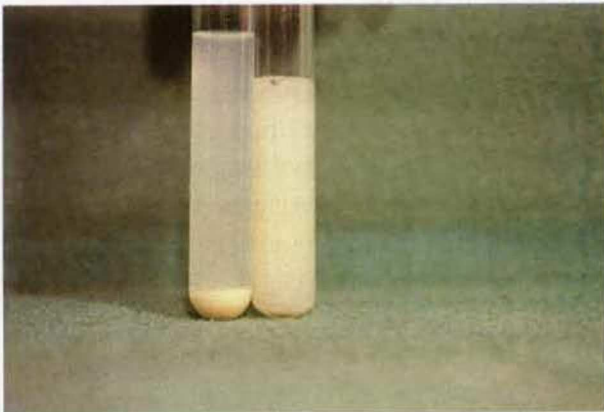


Fig. 7 – Proteinose alveolar. Líquido da LBA com aspecto opalescente (tubo da Dta); após centrifugação obtém-se uma fracção de aspecto amorfo e leitoso.

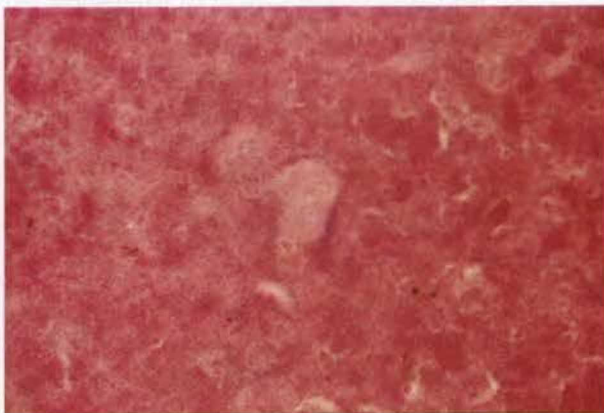


Fig. 8 – Proteinose alveolar. Aspecto do esfregaço que apresenta abundante material amorfo, PAS positivo.

anticorpos específicos para a apoproteína do surfactante (113), o que pode ser útil quando subsistem dúvidas sobre o diagnóstico.

Na análise por microscopia electrónica, observam-se corpos lamelares e estruturas do tipo da mielina com uma região central densa (114). O componente não celular do líquido de lavagem mostra um aumento da concentração de proteínas e fosfolípidos, com alterações qualitativas nos últimos (110).

Nestes doentes, a LBA desempenha um papel crucial no diagnóstico, *follow-up* e tratamento, podendo as lavagens periódicas serem curativas (8,110).

PNEUMONIAS EOSINOFÍLICAS:

A constatação de eosinofilia na LBA (Fig.9) é um achado importante, mas inespecífico, dado que um grande número de patologias podem cursar com esta situação (Quadro XI), sendo a fibrose pulmonar idiopática a causa mais frequente de eosinofilia na LBA (115,116). No entanto, eosinofílias superiores a 40% só foram descritas em doentes com pneumonia eosinofílica, aguda ou crónica, doentes com eosinofilia pulmonar tropical aguda (6) e em doentes com asma brônquica ou doença de Churg-Strauss (Fig.10) (117). O valor diagnóstico da eosinofilia na LBA é tanto maior quanto menor for a contagem de eosinófilos no sangue periférico (110).



Fig. 9 – Alveolite eosinofílica (Wright-Giemsa).

QUADRO XI

Causas de eosinofilia na LBA

- | |
|-------------------------------------|
| Fibrose pulmonar idiopática |
| Pneumonia em doentes com SIDA |
| Síndrome de Loeffler |
| Pneumonia eosinofílica crónica |
| Pneumonites por fármacos |
| Asma brônquica |
| Doença de Churg-Strauss |
| Aspergilose broncopulmonar alérgica |
| Transplante de medula óssea |
| Parasitoses |
| Eosinofilia pulmonar tropical aguda |

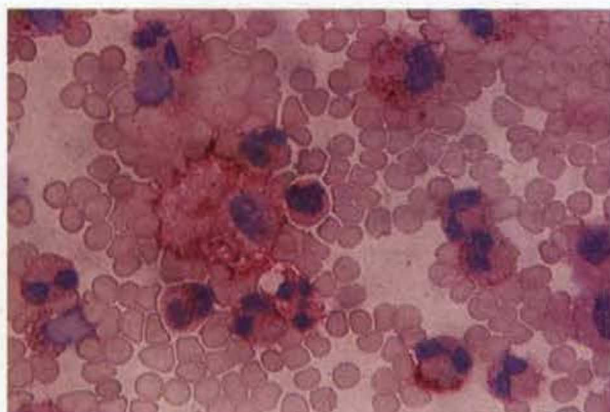


Fig.10 – Síndrome pulmonar eosinofílica. Os eosinófilos e alguns macrófagos apresentam a forma excretada da proteína catiónica do eosinófilo (ECP), demonstrada por um anticorpo monoclonal (EG2) e imunocitoquímica (coloração vermelha, APAAP).

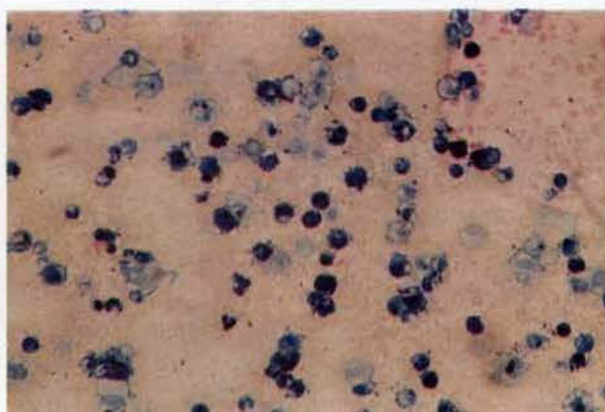


Fig.11 – Hemorragia alveolar pulmonar. Para além da presença de numerosos eritrócitos os macrófagos alveolares apresentam abundante pigmento hemossidérico que cora de azul escuro pelo Pearls.

Na pneumonia eosinofílica podemos observar, além da eosinofilia, neutrofilia e mastocitose (110). A LBA é também útil no follow-up destes doentes, uma vez que a diminuição do número de eosinófilos após terapêutica está associada a um melhor prognóstico (8,118,119).

HEMORRAGIAS PULMONARES

Estas situações podem ter uma lista interminável de causas, nas quais se incluem as doenças cardiovasculares, síndromes pulmão-rim, colagenoses, fármacos, doenças malignas, infecções e outras menos frequentes, como a hemossiderose pulmonar idiopática.

A LBA é o método de escolha para o diagnóstico das hemorragias pulmonares ocultas, ou seja, as que não cursam com hemoptises. O aspecto macroscópico do fluido recuperado pode ser hemático nas primeiras aliquotas, mas, habitualmente, vai-se tornando progressivamente hemático nas últimas aliquotas (110). O diagnóstico da hemorragia é feito com segurança através da observação de macrófagos com pigmento hemossidérico (Fig. 11) (50). A presença de eritrócitos intactos também é importante, mas tem de ser excluída a existência de traumatismo durante a realização da broncofibroscopia (110). Em relação à celularidade,

esta está aumentada à custa dos macrófagos e dos neutrófilos (50,120).

ASMA BRÔNQUICA

A asma brônquica é essencialmente uma doença inflamatória crónica das vias aéreas que condiciona uma reactividade brônquica exagerada a diversos estímulos. Nos últimos anos a caracterização mais detalhada dessa inflamação, por recurso à broncofibroscopia com lavagem broncoalveolar ou biópsias brônquicas, tem permitido uma melhor compreensão da patogenia da asma e demonstrado que a inflamação das vias aéreas é um fenómeno constante, mesmo em asmáticos ligeiros e moderados, fora de crise (121). A sua indicação clínica é, no entanto, limitada dada a inespecificidade dos achados e a possibilidade de objectivar a gravidade da doença por parâmetros não invasivos (122).

A celularidade da LBA está aumentada, podendo existir uma alveolite mista à custa de todas as linhas celulares (123), com a presença de mastócitos e eosinófilos, desgranulados ou com sinais de activação, neutrófilos e linfócitos T activados. Na asma extrínseca, por sensibilização e produção de IgE para antigéni-

os ambientais comuns, esta resposta inflamatória parece estar essencialmente dependente de linfócitos CD4+, de tipo Th2 que produzem citocinas que colaboram na síntese de IgE (IL-4) e no recrutamento e activação dos eosinófilos (IL-3, IL-5 e GM-CSF) (124,125). Nas situações de asma que não se associam à produção de IgE específica - a asma intrínseca - a regulação da inflamação das vias aéreas poderá estar também dependente de outras subpopulações T, nomeadamente CD8+ (125). De facto, em alguns estudos, há uma correlação negativa entre os parâmetros funcionais e o número de linfócitos T CD8+ (126) e sabe-se hoje que linfócitos T de doentes asmáticos, quer sejam CD4+ quer CD8+, produzem citocinas que aumentam a sobrevivência dos eosinófilos - IL3, IL-5 e GM-CSF (125).

SÍNDROME DE DIFICULDADE RESPIRATÓRIA DO ADULTO (ARDS)

A lesão pulmonar difusa que caracteriza o ARDS é acompanhada por um processo inflamatório intenso a nível alveolar (127). A LBA destes doentes mostra uma celularidade aumentada, principalmente à custa dos neutrófilos, bem como um aumento das proteínas do componente não celular (128). Relativamente ao prognóstico, a LBA parece desempenhar um papel decisivo. A persistência da neutrofilia, como marcador da inflamação alveolar, ao longo dos dias, sugere um pior prognóstico e está associada a uma maior mortalidade (129).

NEOPLASIAS PULMONARES

A pesquisa de sinais citológicos de malignidade obriga à utilização da coloração de Papanicolau, devendo as lâminas ser analisadas por um observador experiente, nomeadamente um anátomo-patologista (130).

A eficácia diagnóstica da LBA nas neoplasias pulmonares, com atingimento de pelo menos dois lobos, pode atingir uma média de 76%, subindo para os 93% no caso dos carcinomas bronquioloalveolares

(131). A capacidade diagnóstica da LBA não se resume às neoplasias primitivas do pulmão, abrangendo também as metástases pulmonares, a linfangite carcinomatosa e as neoplasias de origem hematológica (132).

A análise dos marcadores tumorais e das alterações induzidas pelos tumores nas funções imune e de defesa criam um vasto campo de investigação, mas ainda sem valor clínico comprovado (133).

INFECÇÕES PULMONARES

A LBA é considerada o método de escolha no diagnóstico de infecções pulmonares em doentes imunocomprometidos, mesmo naqueles com alterações da coagulação ou da função respiratória (134), podendo a eficácia diagnóstica atingir os 80% (135). É possível obter valores ainda mais altos se à LBA adicionarmos outras técnicas, como os escovados ou as biópsias pulmonares transbrônquicas (135).

Em doentes imunocompetentes, a LBA deve ser considerada nos casos em que não há resposta ao tratamento e os métodos de diagnóstico menos invasivos não identificaram o agente etiológico da infecção (134). No Quadro XII está resumido o papel da LBA no diagnóstico das infecções (6).

QUADRO XII

Valor diagnóstico da LBA nas infecções pulmonares. No grupo A, o isolamento é diagnóstico de infecção; no grupo B, o isolamento não é diagnóstico mas contribui para ele

Grupo A	Grupo B
<i>Pneumocystis</i>	Herpes simplex
<i>Toxoplasma</i>	Cytomegalovirus
<i>Strongyloides</i>	Bactérias
<i>Legionella</i>	Micobactérias atípicas
<i>Histoplasma</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Candida</i>
<i>Mycoplasma</i>	<i>Cryptococcus</i>
Virus influenza	
Virus sincicial respiratório	

CONCLUSÃO

A lavagem broncoalveolar continua a ser, actualmente, um método de eleição no estudo da patologia do interstício pulmonar, tanto mais que é praticamente desprovida de complicações em relação às da broncofibroscopia. Frequentes vezes fornece informações relevantes para o diagnóstico, orientação terapêutica, prognóstico e monitorização das diferentes doenças intersticiais pulmonares.

O seu interesse não se resume à clínica, abrangendo também a investigação das interrelações celulares no pulmão profundo e dos factores etiopatogénicos das doenças inflamatórias, infecciosas ou neoplásicas. Trata-se, assim, de uma inesgotável fonte de informação, com inúmeras potencialidades, e, certamente, manterá no futuro um papel crucial no desenvolvimento da investigação pneumológica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. João Moura e Sá (Centro Hospitalar de V.N. Gaia) a revisão crítica do manuscrito. Agradecem ainda a colaboração do mesmo e dos Drs. Venceslau Hespagnol (H. S. João, Porto) e Luis Goes Pinheiro (H. Pedro Hispano, Matosinhos), na realização das lavagens broncoalveolares. Agradece-se também a colaboração, no Serviço de Imunologia, do Dr. João Carlos Winck, Dr. Carlos Cuesta, Dr^a Josefina Rodrigues, Dr. João Pedro Ramos, Dr^a Irene Dória e Dr^a Conceição Magalhães, no desenvolvimento da metodologia do processamento da LBA. Este trabalho foi iniciado e parcialmente financiado pelo projecto 901.86.55 da Junta Nacional de Investigação Científica.

Correspondência:

Pedro Silveira

Praça Cidade do Salvador, 312 - P.E.

4450 Matosinhos

BIBLIOGRAFIA

1. MA SACKNER, A WANNER, J LANDA. Applications of bronchofiberscopy. *Chest* 1972; 62 (Suppl. Part 2): 70-78.
2. JA KYLSTRA, DC RAUSCH, KD HALL et al. Lung lavage in cystic fibrosis. *Am Rev Resp Dis* 1971; 103: 651-662.
3. ET CANTRELL, GA WARR, DL BUSBEE et al. Induction of aryl hydrocarbon hydroxylase in human pulmonary alveolar macrophages by cigarette smoking. *J Clin Invest* 1973; 52: 1881-1884.
4. HY REYNOLDS, HH NEWBALL. Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage. *J Lab Clin Med* 1974; 84: 559-573.
5. RG CRYSTAL, JE GADEK, VJ FERRANS et al. Interstitial lung disease: current concepts of pathogenesis, staging and therapy. *Am J Med* 1981; 70: 542-568.
6. THE ATS COMMITTEE ON HEALTH CARE POLICY AND CLINICAL PRACTICE. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 481-486.
7. GRUPO DE TRABAJO DE LA SEPAR. Normativa sobre la práctica del lavado broncoalveolar. Ediciones Doyma, S.A, Barcelona 1989.
8. HY REYNOLDS. Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 250-263.
9. H KLECH, P HASLAM, M TURNER-WARWICK et al. World wide clinical survey on bronchoalveolar lavage in sarcoidosis. Experience in 62 centres in 19 countries. *Sarcoidosis* 1986; 3: 113-122.
10. EUROPEAN SOCIETY OF PNEUMOLOGY TASK GROUP ON BAL. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage. *Eur Respir J* 1989; 2: 561-585.
11. H KLECH, W POHL, C HUTTER. Safety and side-effects of bronchoalveolar lavage. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 54-57.
12. P COLE, C TURTON, H LANYON et al. Bronchoalveolar lavage for the preparation of free lung cells: technique and complications. *Br J Dis Chest* 1980; 74: 273-277.
13. AJA ROBALO CORDEIRO. In "Pneumologia fundamental", Ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1995.
14. AK PINGLETON, GF HARRISON, DJ STECHSCHULTE et al. Effect of location, pH and temperature of instillate in bronchoalveolar lavage in normal volunteers. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 1035-1037.
15. E GREBSKI, EW RUSSI, R SPEICH et al. The role of

- two-segment bronchoalveolar lavage in the diagnosis of pulmonary infections. *Chest* 1994; 106: 414-420.
16. JGN GARCIA, RG WOLVEN, PL GARCIA et al. Assessment of interlobar variation of bronchoalveolar lavage cellular differentials in interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 444-449.
 17. RP DANIELE, JA ELIAS, PE EPSTEIN et al. Bronchoalveolar lavage: role in the pathogenesis, diagnosis, and management of interstitial lung disease. *Ann Int Med* 1985; 102: 93-108.
 18. MN DOHN, RP BAUGHMAN. Effect of changing instilled volume for bronchoalveolar lavage in patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 390-392.
 19. GS DAVIS, MS GIANCOLA, MC CONSTANZA et al. Analyses of sequential bronchoalveolar lavage samples from healthy human volunteers. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 611-616.
 20. TR MARTIN, G RAGHU, RJ MAUNDER et al. The effects of chronic bronchitis and chronic air flow obstruction on lung cell populations recovered by bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 254-60.
 21. THE BAL COOPERATIVE GROUP STEERING COMMITTEE. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparisons groups. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141 (Suppl.): 169-202.
 22. JW GURNEY, WC HARRISON, K SEARS et al. Bronchoalveolar lavage: radiographic manifestations. *Radiology* 1987; 163: 71-74.
 23. JA, PE SYNDER, EN SCHACTER et al. Bronchoalveolar lavage, its safety in subjects with mild asthma. *Chest* 1984; 85: 723-728.
 24. C KELLY, D HENDRICK, H WALTERS. The effect of bronchoalveolar lavage on bronchial responsiveness in patients with airflow obstruction. *Chest* 1988; 93: 325-328.
 25. JA RANKIN, GP NAEGEL, HY REYNOLDS. Use of a central laboratory for analysis of bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 186-190.
 26. M TURNER-WARWICK, PL HASLAM. Clinical applications of bronchoalveolar lavage. *Clin Chest Med* 1987; 8: 15-26.
 27. SIRENNARD, MO GHAFOURI, AB THOMPSON et al. Fractional processing of sequential bronchoalveolar lavage to separate bronchial and alveolar samples. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 208-217.
 28. LG HEANEY, J MCKIRGAN, CF STANFORD et al. Electronic cell counting to measure total cell numbers in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir J* 1994; 7: 1527-31.
 29. WW MERRILL, HY REYNOLDS. Bronchial lavage in inflammatory lung disease. *Clin Chest Med* 1983; 4: 71-83.
 30. RP DANIELE. Bronchoalveolar lavage. In "Immunology and immunologic diseases of the lung. Ed. Blackwell Scientific Publications, Inc, Massachusetts, 1988; 303-318.
 31. AB THOMPSON, JR SPURZEM, SI RENNARD. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. In "Interstitial lung disease", Ed. Marvin I. Schwarz and Talmadge E. King, Denver; 119-126.
 32. D ISRAEL-BIET, K GILLET-JLTVIN, J CADRANEL et al. Lavage bronchoalveolaire d'exploration. Ed. Techniques - Encycl. Méd. Chir. (Paris), Pneumologie, 6000 M^o, 1992; 1-10.
 33. AL GIVAN. Flow cytometry. First principles. Wiley-Liss Inc, 1992.
 34. L DELGADO, JP RAMOS, JC WINCK et al. Heterogeneidade dos macrófagos alveolares em doenças pulmonares granulomatosas. Caracterização por citometria de fluxo. *Rev Soc Port Imunol* 1996; 1: 15-43.
 35. JH DALTBER, M WAGNER, S BRUNSVOLD et al. Flow cytometric analysis of lymphocyte phenotypes in bronchoalveolar lavage fluid: comparison of a two-color technique with a standard immunoperoxidase assay. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 531-541.
 36. H YEAGER, MC WILLIAM, JF BEEKMAN et al. Sarcoidosis: analysis of cells obtained by bronchial lavage. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 951-955.
 37. RB LOW, GS DAVIS, MS GIANCOLA. Biochemical analyses of bronchoalveolar lavage fluids of healthy human volunteer smokers and nonsmokers. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118: 863-875.
 38. G VELLUTI, O CAPELLI, M LUSUARDI et al. Bronchoalveolar lavage in the normal lung. II. Cell distribution and cytomorphology. *Respiration* 1984; 46: 1-7.
 39. M LAVIOLETTE. Lymphocyte fluctuation in bronchoalveolar lavage fluid in normal volunteers. *Thorax* 1985; 40: 651-656.
 40. R BAUGHMAN, S STROHOFER, CK KIM. Variation of differential cell counts of bronchoalveolar fluid. *Arch Pathol Lab Med* 1986; 110: 341-343.
 41. DB ETTENSOHN, MJ JANKOWSKI, PC DUNCAN et al. Bronchoalveolar lavage in the normal volunteer subjects. I. Technical aspects and intersubject variability. *Chest* 1988; 94: 275-280.
 42. U COSTABEL, KJBROSS, C REUTER et al. Alterations in immunoregulatory T-cell subsets in cigarette smokers. A phenotypic analysis of bronchoalveolar and blood lymphocytes. *Chest* 1986; 90: 39-44.
 43. RK MERCHANT, DA SCHWARTZ, RA HELMERS et al. Bronchoalveolar lavage cellularity. The distribution in normal volunteers. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 448-453.

44. MDRENT, MAMF van NIEROP, FA GERRITSEN et al. A computer program using ALF-analysis results as a diagnostic tool in interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 736-741.
45. WW MERRILL, D GOODENBERGER, W STROBER et al. Free secretory component and other proteins in human lung lavage. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122: 156-161.
46. A TELES de ARAÚJO, E ALFARROBA, M FREITAS e COSTA. Populações celulares no líquido de lavagem broncoalveolar. Aplicação clínica. *Arq SPPR* 1987; 3: 29-32.
47. GA WARR, RR MARTIN, PM SHARP et al. Normal human bronchial immunoglobulins and proteins. Effects of cigarette smoking. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 25-30.
48. GW HUNNINGHAKE, JE GADEK, O KAWAMANI et al. Inflammatory and immune processes in human lung in health and disease: evaluation by bronchoalveolar lavage. *Am J Pathol* 1979; 97: 149-206.
49. F BASSET, P SOLER, MD JAURAND et al. Ultrastructural examination of bronchoalveolar lavage for diagnosis of pulmonary histiocytosis-X: preliminary report on 4 cases. *Thorax* 1977; 32: 303-306.
50. WL DREW, TN FINLEY, DW GOLDE. Diagnostic lavage and occult pulmonary hemorrhage in thrombocytopenic immunocompromised patients. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 215-221.
51. RJ MARTIN, JJ COALSON, RM ROGERS et al. Pulmonary alveolar proteinosis: the diagnosis by segmental lavage. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 819-825.
52. P De VUYST, J JEDWAB, P DUMORTIER et al. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 972-976.
53. JK STOLLER, JA RANKIN, HY REYNOLDS. The impact of bronchoalveolar lavage cell analysis on clinicians' diagnostic reasoning about interstitial lung disease. *Chest* 1987; 92: 839-843.
54. BA KEOGH, GW HUNNINGHAKE, BR LINE et al. The alveolitis of pulmonary sarcoidosis. Evaluation of natural history and alveolitis-dependent changes in lung function. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 256-265.
55. LW POULTER, GA ROSSI, L BJERMER et al. The value of bronchoalveolar lavage in the diagnosis and prognosis of sarcoidosis. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 75-82.
56. A VENET, AJ HANCE, C SALTINI et al. Enhanced alveolar macrophage-mediated antigen-induced T-lymphocyte proliferation in sarcoidosis. *J Clin Invest* 1985; 75: 293-301.
57. JC WEISSLER. Southwestern Internal Medicine conference. Sarcoidosis: Immunology and clinical management. *Am J Med Sci* 1994; 307: 233-245.
58. ST WEINBERGER, JA KELMAN, NA ELSON et al. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Ann Int Med* 1978; 89: 459-466.
59. A VERSTRAETEN, M DEMEDTS, J VERWILGHEN et al. Predictive value of bronchoalveolar lavage in pulmonary sarcoidosis. *Chest* 1990; 98: 560-567.
60. M LAVIOLETTE, J LA FORGE, S TENNINA et al. Prognostic value of bronchoalveolar lavage lymphocyte count in recently diagnosed pulmonary sarcoidosis. *Chest* 1991; 100: 380-384.
61. G SEMENZATO, M CHILOSI, E OSSI et al. Bronchoalveolar lavage and lung histology. Comparative analysis of inflammatory and immunocompetent cells in patients with sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 400-404.
62. HKLECH, H KOHN, F KUMMER et al. Assessment of activity in sarcoidosis. Sensivity and specificity of ⁶⁷Gallium scintigraphy, serum ACE levels, chest roentgenography, and blood lymphocyte subpopulations. *Chest* 1982; 82: 732-738.
63. M TURNER-WARWICK, W MC ALLISTER, R LAWRENCE et al. Corticosteroid treatment in pulmonary sarcoidosis: do serial lavage lymphocyte counts, serum angiotensin converting enzyme measurements, and gallium-67 scans help management? *Thorax* 1986; 41: 903-913.
64. L BJERMER, L ROSENHALL, T ANGSTROM et al. Predictive value of bronchoalveolar lavage cell analysis in sarcoidosis. *Thorax* 1988; 43: 284-288.
65. L BJERMER, A ENGSTROM-LAURENT, M THINELL et al. Hyaluronic acid in bronchoalveolar lavage fluid in patients with sarcoidosis: relationship to lavage mast cells. *Thorax* 1987; 42: 933-938.
66. U SPECKS, WJ MARTIN II, MS ROHRBACH. Bronchoalveolar lavage fluid angiotensin-converting enzyme in interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 117-123.
67. K WARD, CM O'CONNOR, C ODLUM et al. Pulmonary disease progress in sarcoid patients with and without bronchoalveolar lavage collagenase. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 636-641.
68. THIRD WASOG MEETING, LOS ANGELES, USA, September 8-11, 1993. Consensus conference: activity of sarcoidosis (meeting report). *Eur Respir J* 1994; 7: 624-627.
69. G HUNNINGHAKE, J CADEK, RG CRYSTAL. Mechanisms by which cigarette smoke attracts polymorphonuclear leukocytes to lung. *Chest* 1980; 77: 273.
70. PL HASLAM, W BAUER, V de ROSE et al. The clinical role of BAL in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 58-63.
71. DA CAMPBELL, LW POULTER, RM DU BOIS. Phenotypic analysis of alveolar macrophages in normal subjects and in patients with interstitial lung disease.

- Thorax 1986; 41: 429-434.
72. PL HASLAM, CWG TURTON, B HEARD et al. Bronchoalveolar lavage in pulmonary fibrosis: comparison of cells obtained with lung biopsy and clinical features. *Thorax* 1980; 35: 1-18.
 73. RM RUDD, PL HASLAM, M TURNER-WARWICK. Cryptogenic fibrosing alveolitis. Relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to response to treatment and prognosis. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124: 1-8.
 74. PL HASLAM, CWG TURTON, A LUKOSZEK et al. Bronchoalveolar lavage fluid cell counts in cryptogenic fibrosing alveolitis and their relation to therapy. *Thorax* 1980; 35: 328-339.
 75. M TURNER-WARWICK, PL HASLAM. The value of serial bronchoalveolar lavages in assessing the clinical progress of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 26-34.
 76. B WALLAERT, A HOORELBEKE, Y SIBILLE et al. The clinical role of bronchoalveolar lavage in collagen-vascular diseases. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 64-68.
 77. JGN GARCIA, N PARHAMI, D KILLAM et al. Bronchoalveolar lavage fluid evaluation in rheumatoid arthritis. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 450-454.
 78. G HOFFMAN, JMG SECHLER, JI GALLIN et al. Bronchoalveolar lavage analysis in Wegener's granulomatosis. A method to study disease pathogenesis. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 401-407.
 79. JESALVAGGIO, RMKARR. Hypersensitivity pneumonitis: state of the art. *Chest* 1979; 75 (Suppl.): 270-274.
 80. G SEMENZATO, L BJERMER, U COSTABEL et al. Clinical role of bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 69-74. 81.
 81. Y REYNOLDS. Bronchoalveolar lavage has extended the usefulness of bronchoscopy. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 48-53.
 82. E FOURNIER, AB TONNEL, P GOSSET et al. Early neutrophil alveolitis after antigen inhalation in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 1985; 88: 563-566.
 83. P SOLER, S NIOCHE, D VALEYRE et al. Role of mast cells in the pathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. *Thorax* 1987; 42: 565-572.
 84. NJ CALVANICO, SP AMBEGAONKAR, DP SCHLUETER et al. Immunoglobulin levels in bronchoalveolar lavage fluid from pigeon breeders. *J Lab Clin Med* 1980; 96: 129-140.
 85. L BJERMER, A ANGSTROM-LAURENT, R LUNDGREN et al. Bronchoalveolar mastocytosis in farmer's lung is related to the disease activity. *Arch Intern Med* 1988; 148: 1362-1365.
 86. L DELGADO. Imunopatologia pulmonar: contributo para o estudo da reacção imunológica e inflamatória do pulmão profundo. Dissertação de doutoramento a Faculdade de Medicina do Porto, 1996.
 87. JMSAPAGE, JL DELGADO, S TORRES et al. Suberoso: contributo da lavagem broncoalveolar no diagnóstico da patologia respiratória nos trabalhadores da indústria da cortiça. *Arq SPPR* 1992; 9: 321-327.
 88. U COSTABEL, CF DONNER, PL HASLAM et al. Clinical role of BAL in occupational lung diseases due to mineral dust exposure. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 89-96.
 89. G PELOSI. The use of cellulose membrane filters for detecting asbestos in sputum specimens (letter). *Acta Cytol* 1990; 34: 588-590.
 90. JW CHRISTMAN, RJ EMERSON, WGB GRAHAM et al. Mineral dust and cell recovery from the bronchoalveolar lavage of healthy Vermont granite workers. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 393-399.
 91. P SEBASTIEN, B ARMSTRONG, G MONCHAUX et al. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid and in lung parenchyma. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 75-78.
 92. U COSTABEL, H TESCHLER. Inflammation and immune reactions in interstitial lung disease associated with inorganic dust exposure. *Eur Respir J* 1990; 3: 363-364.
 93. BWS ROBINSON, AH ROSE, A JAMES et al. Alveolitis of pulmonary asbestosis. Bronchoalveolar lavage studies in crocidolite and chrysotile-exposed individuals. *Chest* 1986; 90: 396-402.
 94. AR GELLERT, MG MACEY, S UTHAYAKUMAR et al. Lymphocyte subpopulations in bronchoalveolar lavage fluid in asbestos workers. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 824-828.
 95. A XAUBET, R RODRIGUEZ-ROISIN, JA BOMBI et al. Correlation of bronchoalveolar lavage and clinical and functional findings in asbestosis. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 848-854.
 96. L DELGADO, C LISBOA, E GONÇALVES et al. Lavagem broncoalveolar na silicose. *Arq SPPR* 1991; 8: 53-62.
 97. A TELES de ARAÚJO, AC MENDES, G DUARTE et al. A lavagem broncoalveolar no estudo da silicose. *Arq SPPR* 1990; 7: 15-24.
 98. WN ROM, PB BITTERMAN, SI RENNARD et al. Characterization of the lower respiratory tract inflammation of nonsmoking individuals with interstitial lung disease associated with chronic inhalation of inorganic dusts. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 1429-1434.
 99. PE EPSTEIN, JH DAUBER, MD ROSSMAN et al. Bronchoalveolar lavage in a patient with chronic berylliosis: evidence for hypersensitivity pneumonitis. *Ann Intern Med* 1982; 97: 213-216.
 100. MD ROSSMAN, JA KERN, JA ELIAS et al. Proliferative response of bronchoalveolar lymphocytes to beryllium. *Ann Intern Med* 1988; 108: 687-693.

101. D ISRAELBIET, C DANIEL, U COSTABEL et al. The clinical role of BAL in drug-induced pneumonitis. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 97-99.
102. GM AKOUN, JL CADRANEL, G BLANCHETTE et al. Bronchoalveolar lavage cell data in amiodarone-associated pneumonitis. Evaluation in 22 patients. *Chest* 1991; 99: 1177-1182.
103. C DANIEL, D ISRAELBIET, A VENET et al. Ultrastructural comparison of bronchoalveolar lavage (BAL) in patients under amiodarone with or without pulmonary symptoms. *Eur Respir J* 1988; 1 (Suppl. 2): 254s.
104. GM AKOUN, JL CADRANEL, BJ MILLERON et al. Bronchoalveolar lavage cell data in 19 patients with drug-associated pneumonitis (except amiodarone). *Chest* 1991; 99: 98-104.
105. D HO, D TASHKIN, M BEIN et al. Pulmonary infiltrates with eosinophilia associated with tetracycline. *Chest* 1979; 76: 33-36.
106. Y VALCKE, R PAUWELS, M VAN DER STRAETEN. Bronchoalveolar lavage in acute hypersensitivity pneumonitis caused by sulfasalazine. *Chest* 1987; 92: 572-573.
107. PT CAGLE, CA MATTIOLI, LD TRUONG et al. Immunohistochemical diagnosis of pulmonary eosinophilic granuloma on lung biopsy. *Chest* 1988; 94: 1133-1137.
108. S CHOLLET, P SOLER, P DOURNOVO et al. Diagnosis of pulmonary histiocytosis X by immunodetection of Langerhans' cells in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Pathol* 1984; 115: 225-232.
109. MA CASOLARO, JF BERNAUDIN, C SALTINI et al. Accumulation of Langerhans' cells on the epithelial surface of the lower respiratory tract in normal subjects in association with cigarette smoking. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 406-411.
110. C DANIEL, D ISRAELBIET, U COSTABEL et al. The clinical role of BAL in rare pulmonary diseases. *Eur Respir Rev* 1991; 2: 83-88.
111. P SOLER, A MOREAU, F BASSET et al. Cigarette smoking-induced changes in the number and differentiated state of pulmonary dendritic cells/Langerhans cells. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1112-1117.
112. D BITTESNICH, A CUOMO, C PINZI et al. BAL findings in patients with pulmonary Langerhans' cells granulomatosis (abstract). *Eur Respir J* 1996; 9 (Suppl. 23): 327s-328s.
113. G SINGH, SL KATYAL, CWM BEDROSSIAN et al. Pulmonary alveolar proteinosis: staining for surfactant apoprotein in alveolar proteinosis and in conditions simulating it. *Chest* 1983; 83: 82-86.
114. H QUEIROGA, JL DELGADO, L GOES-PINHEIRO, et al. O papel da lavagem broncoalveolar no diagnóstico da proteinose alveolar pulmonar. A propósito de um caso clínico. *Arq Med* 1990; 4: 74-78.
115. JN ALLEN, WB DAVIS, ER PACHT. Diagnostic significance of increased bronchoalveolar lavage fluid eosinophils. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 642-647.
116. L DELGADO, JC WINCK, JAF TORRINHA. Ativação eosinofílica e proteína catiónica do eosinófilo nas doenças pulmonares intersticiais. *Rev Port Imunoalerg* 1993; 2: 9-17.
117. B SCHMIDT, H TESCHLER, C KROEGEL et al. Bronchoalveolar cell profiles in Wegeners granulomatosis, chronic eosinophilic pneumonia and Churg-Strauss syndrome. *Eur Respir J* 1989; 2 (Suppl. 8): 64s.
118. P DEJAEGHER, M DEMEDTS. Bronchoalveolar lavage in eosinophilic pneumonia before and during corticosteroid therapy. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 629-632.
119. WN ROM, VK VIJAYAN, MJ CORNELIUS et al. Persistent lower respiratory tract inflammation associated with interstitial lung disease in patients with tropical pulmonary eosinophilia following conventional treatment with diethylcarbamazine. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 1088-1092.
120. J LINDER, R ROBBINS, SIRENNARD. Cytologic criteria for pulmonary hemorrhages. *Acta Cytol* 1988; 32: 763.
121. D OLIVIERI, A FORESI. Correlation between cell content of bronchoalveolar lavage and histologic findings in asthma. *Respiration* 1992; 59 (Suppl. 1): 3-5.
122. LM FABBRI, V De ROSE, P GODARD et al. Guidelines and recommendations for the clinical use of bronchoalveolar lavage in asthma. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 114-120.
123. C DONNER, P HOWARD. From alveoli back to bronchi: new perspectives of bronchoalveolar lavage (conference report). *Eur Respir J* 1990; 3: 974-976.
124. EA WIERENGA, M SNOEK, C DE GROOT et al. Evidence for the compartmentalization of functional subsets of CD4+ T lymphocytes in atopic patients. *J Immunol* 1990; 144: 4651-4656.
125. C WALKER, JC VIRCHOW, PLB BRUIJNZEEL et al. T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. *J Immunol* 1991; 146: 1829-1835.
126. CA KELLY, SC STENTON, C WARD et al. Lymphocyte subsets in bronchoalveolar lavage fluid obtained from stable asthmatics, and their correlations with bronchial responsiveness. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 169-175.
127. S IDELL, AB COHEN. Bronchoalveolar lavage in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 1985; 6: 459-471.
128. AA FOWLER, TM HYERS, BJ FISHER et al. The adult respiratory distress syndrome: cell populations and soluble mediators in the air spaces of patients at high risk. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 1225-1231.
129. KP STEINBERG, JA MILBERG, TR MARTIN et al.

Evolution of bronchoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. *J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 113-122.

130. J LINDER, SJ RADIO, RA ROBBINS et al. Bronchoalveolar lavage in the cytologic diagnosis of carcinoma of the lung. *Acta Cytol* 1987; 31: 796-801.

131. G SEMENZATO, V POLETTI. Bronchoalveolar lavage in lung cancer. *Respiration* 1992; 59 (Suppl. 1): 44-46.

132. SI RENNARD. Bronchoalveolar lavage in the assessment of primary and metastatic lung cancer. *Respiration* 1992; 59 (Suppl. 1): 41-43.

133. SI RENNARD. Assessment of the clinical value of bronchoalveolar lavage in the diagnosis of cancer in the lung. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 100-105.

134. L BJERMER, M RUST, N HEURLIN et al. The clinical use of bronchoalveolar lavage in patients with pulmonary infections. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 106-113.

135. DE STOVER, MB ZAMAN, SI HAJDU et al. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosuppressed host. *Ann Int Med* 1984; 101: 1-7.