

# Técnicas fibrobronoscópicas especiales: lavado broncoalveolar, biopsia bronquial y biopsia transbronquial

A. Escribano Montaner<sup>a</sup>, A. Moreno Galdó<sup>b</sup> y Grupo de Técnicas de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica

<sup>a</sup>Hospital Clínico Universitario. Universidad de Valencia. <sup>b</sup>Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Este artículo completa las recomendaciones sobre el uso y aplicaciones del broncoscopio flexible en la infancia, del Grupo de Técnicas de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica, incluyendo los procedimientos que, con fines diagnósticos y ocasionalmente terapéuticos, se aplican con mayor frecuencia durante la práctica de la broncoscopia flexible: el lavado broncoalveolar y las biopsias bronquial y transbronquial. Se realizan también recomendaciones para la práctica del lavado broncoalveolar no broncoscópico.

Se revisan las indicaciones, contraindicaciones, recursos materiales, el cuidado y monitorización del paciente previo, durante y posterior al procedimiento, y las complicaciones de las técnicas. Estas recomendaciones pueden adoptarse, modificarse o rehusarse, según las necesidades clínicas de cada centro.

## Palabras clave:

*Broncoscopia flexible. Lavado broncoalveolar. Biopsia bronquial. Biopsia transbronquial. Niños. Guías.*

## FLEXIBLE BRONCHOSCOPY TECHNIQUES: BRONCHOALVEOLAR LAVAGE, BRONCHIAL BIOPSY AND TRANSBRONCHIAL BIOPSY

This article completes previous recommendations of the Techniques Group of the Spanish Society of Pediatric Pulmonologists on the practice of flexible bronchoscopy in children. We review the most frequently performed diagnostic and therapeutic procedures applied through the flexible bronchoscope: bronchoalveolar lavage, bronchial biopsy and transbronchial biopsy. Recommendations are also provided on the practice of nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage.

We review the indications and contraindications of these techniques, the equipment required, and the prepa-

ration and monitoring of the patient before, during and after the procedure. The complications of these techniques are also discussed. These recommendations may be adopted, modified or rejected according to clinical needs and constraints.

## Key words:

*Flexible bronchoscopy. Bronchoalveolar lavage. Bronchial biopsy. Transbronchial biopsy. Children. Guidelines.*

## INTRODUCCIÓN

Las recomendaciones sobre el uso y aplicaciones del broncoscopio flexible en la infancia, del Grupo de Técnicas de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica (SENP)<sup>1</sup>, se completan ahora con un nuevo capítulo en el que se incluyen los procedimientos que, con fines diagnósticos y/o terapéuticos, se aplican con mayor frecuencia durante la broncoscopia: el lavado broncoalveolar y las biopsias bronquial y transbronquial.

Se intenta con ello establecer unas bases que faciliten la aplicación de ambas técnicas, recogiendo sus indicaciones, forma de realización, procesamiento de las muestras, valores de referencia para la población infantil y rendimiento de las mismas en diversas enfermedades y edades.

## LAVADO BRONCOALVEOLAR

El lavado broncoalveolar (LBA) es un procedimiento sencillo y bien tolerado que permite obtener información acerca de los constituyentes celulares y bioquímicos de la superficie epitelial del tracto respiratorio inferior, a través de la instilación y posterior aspiración de líquido en uno o varios segmentos o subsegmentos pulmonares.

**Correspondencia:** Dra. A. Escribano Montaner.  
Santa Teresa, 8, 2<sup>º</sup> 46110 Godella. Valencia. España.  
Correo electrónico: aescribano@separ.es

Recibido en enero de 2005.

Aceptado para su publicación en enero de 2005.

Se estima que con la realización del LBA se toma muestra de alrededor de un millón de alvéolos (1% de la superficie pulmonar), obteniéndose aproximadamente 1 ml de secreciones reales pulmonares en el total del líquido recuperado.

Se diferencia del lavado o aspirado bronquial en el que se aspiran pequeñas cantidades de suero fisiológico instilado en las vías respiratorias grandes<sup>2</sup>.

Generalmente el LBA se efectúa a través del broncoscopio (LBA broncoscópico [LBA-B]), aunque en ocasiones se realiza directamente con una sonda a través de un tubo endotraqueal (LBA no broncoscópico [LBA-NB]).

En la infancia, la aplicación de la técnica se ha visto limitada por el inadecuado tamaño de los fibrobroncoscopios disponibles en relación al calibre de la vía aérea de los niños de menor edad y por su mayor grado de "invasividad", cuando se utilizaba bajo anestesia. Sin embargo, tanto el LBA-NB como el uso creciente de sedación han favorecido su utilización en cualquier niño, sea cual sea su edad o condición<sup>3,4</sup>. A pesar de ello, hasta el año 2000 no existía ninguna normativa pediátrica que estandarizara su metodología y aplicaciones clínicas. Desde ese año, gracias a la labor desarrollada por el Grupo de Trabajo en Lavado Broncoalveolar en niños de la Sociedad Europea Respiratoria (ERS)<sup>2</sup>, se dispone de una guía pediátrica que recoge todos estos aspectos, los valores de normalidad en la infancia y las futuras líneas de investigación. A ella se hará referencia completando sus contenidos con las aportaciones de la literatura médica en estos últimos 2 años y con nuevos apartados, como el referido al LBA-NB.

## INDICACIONES Y APLICACIONES DIAGNÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS

### Infecciones pulmonares

El LBA se ha usado ampliamente en el diagnóstico de las infecciones pulmonares<sup>5,8</sup>, pero su sensibilidad y especificidad varían en función de que se trate de un enfermo inmunocompetente, o no, del microorganismo causal, de la técnica empleada y de la utilización, o no, de antibioterapia previa.

### Niños inmunocomprometidos

Es una de las principales aplicaciones del LBA en la infancia<sup>2</sup>, con un alto rendimiento diagnóstico (alrededor del 80%)<sup>5,8</sup>.

El hallazgo de *Pneumocystis carinii*, uno de los patógenos más comúnmente identificados<sup>6</sup>, de *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella pneumophila*, *Nocardia*, *Histoplasma*, *Cryptococcus*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, virus Influenza y virus respiratorio sincitial es significativo de infección pulmonar, con un valor similar al obtenido con la biopsia a cielo abierto<sup>2</sup>. Tan sólo en aquellos casos en los que se sospeche una infección viral o fúngica la

muestra tisular es más fiable por lo que, si no está contraindicada, puede ser aconsejable la práctica simultánea de una biopsia transbronquial<sup>9</sup>. La detección de organismos como *Aspergillus*, *Candida*, micobacterias atípicas, citomegalovirus, virus del herpes simple y flora común del tracto respiratorio superior no les implica necesariamente como agentes etiológicos de la enfermedad<sup>2</sup>. Los recuentos celulares diferenciales también pueden ayudar en el diagnóstico de los infiltrados pulmonares<sup>10</sup>.

### Niños inmunocompetentes

El LBA puede estar indicado en las neumonías graves que no responden de forma adecuada al tratamiento o que precisan ventilación mecánica así como en el estudio de las neumonías nosocomiales en niños intubados y ventilados<sup>11</sup>. En estos últimos pueden utilizarse diferentes métodos (LBA-B, LBA-NB, catéteres protegidos o cepillos protegidos), ya que en los diversos estudios practicados no se aprecian diferencias importantes en cuanto a sensibilidad y especificidad (sensibilidad entre el 60 y el 80% y especificidad entre el 70 y el 90%).

Dada la posibilidad de contaminación se han de efectuar siempre cultivos cuantitativos e investigar la presencia de bacterias intracelulares en el examen directo de la muestra<sup>2</sup>. En algunos casos se podría realizar un doble lavado, en un lóbulo sano y en el afectado, con ánimo de aclarar dudas sobre la posible contaminación del fibrobroncoscopio por flora orofaríngea<sup>12</sup>.

La utilización del LBA en la obtención de muestras para el diagnóstico de tuberculosis es discutida, dado que no aumenta la sensibilidad del aspirado gástrico<sup>13,14</sup>. A pesar de ello, cuando se utilizan ambos procedimientos se dobla el rendimiento diagnóstico del obtenido en cada uno por separado<sup>15</sup>.

### Enfermedades pulmonares no infecciosas

El LBA puede ser diagnóstico en enfermedades como proteinosis alveolar, hemorragia alveolar, histiocitosis pulmonar y neumonía por acumulación de lípidos<sup>2,16</sup> (tabla 1).

1. En la proteinosis es característico el aspecto macroscópico lechoso del líquido del LBA, la presencia de material extracelular lipoproteínico positivo al ácido peryódico de Schiff y negativo al azul alcian de los característicos cuerpos lamelares al microscopio electrónico<sup>17</sup>.

2. El aspecto rojizo del líquido del LBA, que aumenta en las sucesivas alícuotas, podría ser indicativo de hemorragia. Con la tinción de Pearls<sup>18</sup> se pueden identificar los hemosiderófagos, aunque su ausencia no excluye la posibilidad de hemorragia alveolar reciente (< 48 h) o remota (> 12 días)<sup>9</sup>. En adultos se considera positiva la tinción cuando hay más del 25% de macrófagos teñidos, pero en niños un ligero aumento puede ser ya significativo<sup>19</sup>. En 1999, Ahrens et al<sup>19</sup> presentan los primeros va-

**TABLA 1. Utilidad del lavado broncoalveolar en el diagnóstico de las enfermedades pulmonares**

LBA diagnóstico	Aumento de linfocitos T (predominio CD4)	LBA útil en el diagnóstico diferencial		
		Aumento de linfocitos T (predominio CD8)	Aumento de eosinófilos	Aumento de neutrófilos
Proteinosis alveolar	Enfermedad de Crohn	Neumonitis por hipersensibilidad	Neumonía eosinofílica aguda	Neumopatías intersticiales (FPI)
Hemorragia alveolar	Sarcoidosis	BONO	Neumonía eosinofílica crónica	Enfermedades del colágeno
Histiocitosis X	Artritis reumatoide	Vasculitis	Síndrome de Churg-Strauss	Granulomatosis de Wegener
Neumonía lipídica		Histiocitosis X	Aspergilosis broncopulmonar alérgica	SDRA
		Neumonitis inducidas por fármacos	Reacciones a fármacos	Asma (crisis aguda)
			Asma	Infección

LBA: lavado broncoalveolar; BONO: bronquiolitis obliterante neumonía organizativa; FPI: fibrosis pulmonar idiopática; SDRA: síndrome de dificultad respiratoria del adulto. Modificada de De Blic et al<sup>2</sup> y De Gracia<sup>16</sup>.

lores de referencia en niños, junto a una puntuación diagnóstica de la enfermedad.

3. En la histiocitosis la fórmula celular del LBA es inespecífica<sup>9</sup>. La identificación de células de Langerhans mediante el empleo de anticuerpos monoclonales OKT-6 y/o microscopía electrónica hacen sospechar la existencia de una histiocitosis X<sup>20</sup>. Se requiere la presencia de igual o más del 5% de células CD1a(+) para confirmar el diagnóstico, ya que hasta el 3% de ellas pueden estar presentes en sujetos normales<sup>20</sup>.

Existen otras enfermedades en las que los hallazgos del LBA no son patognomónicos, pero son útiles para el diagnóstico diferencial (tabla 1). Por ejemplo, en la neumonía eosinofílica aguda en la que el porcentaje de eosinófilos en el lavado es superior al 25%<sup>21,22</sup>. En la neumonitis por hipersensibilidad existe linfocitosis, como en el adulto, pero la relación CD4/CD8 no se encuentra elevada. La valoración de las células *natural killer* y de la expresión del antígeno-DR en los leucocitos humanos parece ser útil<sup>23</sup>.

El hallazgo de macrófagos cargados de lípidos se han asociado a síndromes aspirativos<sup>24,25</sup> pero su valor diagnóstico cada día está más discutido<sup>26,27</sup>.

En la enfermedad pulmonar intersticial el valor del LBA es controvertido. A pesar de ello sus resultados permiten diferenciar la existencia o no de esta enfermedad y su estadio evolutivo<sup>28</sup>, aportan información sobre el patrón celular y pueden ayudar a valorar el proceso inflamatorio alveolar y a orientar el diagnóstico<sup>2</sup>. En niños inmunocomprometidos o con sida, el LBA puede evitar la biopsia en el diagnóstico de la neumonía intersticial linfocítica pero aunque refleja el grado de inflamación pulmonar<sup>29</sup> no informa del curso evolutivo posterior<sup>30</sup>.

Como resumen de sus indicaciones podríamos plantear un LBA<sup>2</sup> en:

1. Niños inmunocomprometidos, trasplantados o con problemas oncológicos que comienzan a presentar de forma aguda taquipnea, disnea e hipoxemia con hallaz-

gos radiográficos de nuevos infiltrados intersticiales difusos en la radiografía de tórax. En este caso, la técnica se debe efectuar antes de iniciar antibioterapia y siempre que no exista mejoría tras 48 h de tratamiento, tanto si tenían o no un LBA positivo previo.

2. Neumonías intersticiales crónicas o bronconeumonías recurrentes o crónicas en niños infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana en las que no se detecta el posible organismo causal por técnicas no invasivas.

3. Enfermedad pulmonar intersticial de niños inmunocompetentes y en trasplantados con enfermedad pulmonar, junto a biopsia transbronquial o abierta.

**Neonatos**

El LBA es una técnica muy útil para la investigación de procesos respiratorios en este grupo de edad. Es segura y fácil de realizar, incluso en los niños sometidos a ventilación mecánica. Hasta el momento sólo se cuenta con valores de referencia obtenidos en recién nacidos ventilados, mediante LBA-NB, por lo que no pueden considerarse estrictamente normales<sup>2</sup>. En Pediatric Pulmonology<sup>31</sup> existe una excelente revisión al respecto.

**INDICACIONES Y APLICACIONES TERAPÉUTICAS**

La utilización terapéutica del LBA no está bien definida. Una aplicación generalizadamente aceptada es el tratamiento de la proteinosis alveolar. En los niños no es posible utilizar como en los adultos, un tubo endotraqueal de doble luz y ventilar un pulmón mientras se lava el otro. La técnica habitual consiste en colocar, con la ayuda del broncoscopio flexible, un catéter con balón en un bronquio, inflar el balón para aislar este árbol bronquial y realizar un LBA masivo a través del catéter, mientras se ventila el otro pulmón mediante una mascarilla laríngea<sup>32,33</sup>.

La utilidad de los lavados en el tratamiento de las atelectasias no está clara, aunque algunos autores la aplican con éxito<sup>34</sup>, incluso sin utilizar el fibrobroncoscopio<sup>35</sup>. Existen numerosas aportaciones de lavados terapéuticos en pacientes con fibrosis quística que presentan graves

impactos mucosos, aunque en los niños de menor edad, el pequeño canal del fibrobronoscopio es insuficiente, para aspirar el moco espeso y viscoso que invade sus vías respiratorias.

## LAVADO BRONCOALVEOLAR BRONCOSCÓPICO

### Requisitos previos

La realización de un LBA se ha de apoyar siempre en un estudio clínico previo que lo justifique. Se debe disponer de radiografías de tórax y, a ser posible, de una tomografía computarizada (TC) que permitan delimitar el segmento más idóneo donde efectuarlo.

La cifra de plaquetas debe ser superior a 60.000 cél./ $\mu$ l, y el tiempo de Quick superior al 50%, que debe corregirse previamente si están alteradas.

### Instrumental y material necesario

Lo más habitual es que se plantee en el curso de una fibrobronoscopia convencional por lo que, además del instrumental necesario para ella<sup>1</sup>, sólo se precisarán jeringas para la instilación y aspiración del líquido y recipientes estériles para recoger y transportar el material recuperado.

La edad y el peso del niño van a limitar la utilización del fibrobronoscopio convencional pediátrico que, con un diámetro externo de 3,6 mm y un canal interno de 1,2 mm, obturaría por completo la vía aérea de los recién nacidos o de los lactantes con pesos inferiores a 3 kg. En la actualidad, sólo uno de los cuatro tamaños de broncoscopios flexibles disponibles en niños (tabla 2), el de diámetro externo 2,8-3,1 mm puede ser empleado en recién nacidos con peso inferior a 3,5 kg y ningún fibrobronoscopio puede introducirse a través de tubos endotraqueales iguales o inferiores a 3,5-4 mm, lo que impide la realización de lavados broncoscópicos en niños intubados, con tubos de este diámetro. En ellos se pueden efectuar LBA no broncoscópicos.

### Técnica

Hasta la realización del lavado los pasos a dar son idénticos a los propugnados para la fibrobronoscopia<sup>1</sup>, aunque con ciertas precauciones<sup>9</sup>:

1. Si se van a solicitar estudios bacteriológicos debe ser la primera prueba que se realice, antes de explorar el árbol bronquial, evitando aspirar previamente secreciones con el fin de impedir o reducir la contaminación del canal de succión por la flora orofaríngea<sup>36,37</sup>.

2. Se debe evitar la instilación de anestesia tópica en el segmento que va a ser lavado, ya que podría inhibir el crecimiento bacteriano en los cultivos<sup>38</sup>.

3. Se debe efectuar antes que otras técnicas (biopsia, cepillado o punción) que podría provocar hemorragias y falsear los resultados del lavado.

### Localización del lavado

El LBA se puede realizar en cualquier territorio pulmonar. En niños con patología pulmonar localizada debe efectuarse en el segmento o lóbulo más afectado o de previsible mayor rendimiento (zona de mayor actividad inflamatoria identificada por una TC previa).

Cuando se trata de una enfermedad difusa cualquier zona podría ser idónea para realizar este estudio, ya que los resultados del LBA son reproducibles sea cual sea el lugar escogido para hacerlo<sup>39</sup>. En estos casos, los segmentos más apropiados son el lóbulo medio y la llingula, tanto por su accesibilidad y facilidad para la impactación del fibrobronoscopio, como por la mayor recuperación del líquido instilado en ellos<sup>40</sup> ya que cuando el niño se coloca en posición supina, quedan situados anterior y superiormente, lo cual favorece la acción de la gravedad. En cualquier caso, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad y de su heterogeneidad, el lavado de más de una zona del pulmón podría reducir las posibilidades de error<sup>41</sup>. En los lactantes es más fácil realizar el lavado en el lóbulo inferior derecho<sup>2</sup>.

### Líquido utilizado y métodos de instilación y recuperación

Debe emplearse suero salino isotónico estéril (cloruro sódico al 0,9%), a temperatura ambiente<sup>9,42,43</sup>, o a temperatura corporal (37 °C)<sup>2</sup>. Esta última parece reducir los tos y el broncospasmo, provocar menor deterioro de la función pulmonar y favorecer la recuperación del líquido instilado<sup>44,45</sup>. Sin embargo, los grupos que utilizan soluciones a temperatura ambiente, no aprecian estos efectos negativos<sup>5,42</sup>.

La solución salina se introduce con una jeringa a través del canal de trabajo del fibrobronoscopio, en forma de embolada, seguida por la instilación de una cantidad de aire suficiente que asegure el vaciado de todo el canal de succión.

La recuperación del líquido mediante aspiración manual con la misma jeringa no es tan efectiva como en el adul-

TABLA 2. Fibrobronoscopios disponibles en pediatría

Diámetro externo (mm)	Canal de trabajo (mm)	Edad	Utillaje
4,8-4,9	2-2,2	> 4 años (> 20-25 kg) TET $\geq$ 6,5 mm	Pinzas biopsia Catéteres y cepillos protegidos
3,5-3,6	1,2	RN a término ( $\geq$ 3,5 kg) TET $\geq$ 5 mm	Pinzas biopsia No catéteres protegidos
2,8-3,1	1,2	RN a término-pretérmino TET $\geq$ 3,5 mm	Pinzas biopsia No catéteres protegidos
2,2	No contiene	Pretérminos TET $\geq$ 3,5 mm	

TET: tubo endotraqueal; RN: recién nacidos.

to, sobre todo en los niños más pequeños<sup>6,39,42,43</sup>, por lo que se suele utilizar un sistema de varios recipientes interconectados, unidos a su vez por uno de sus extremos con el canal de trabajo del fibrobronoscopio y, por el otro, con un aspirador, al que se aplica, de forma intermitente, una presión negativa entre -25 y -100 mmHg<sup>2</sup>. Una llave de tres pasos permite la utilización consecutiva del canal del fibrobronoscopio para introducir el líquido desde la jeringa, o para aspirarlo hacia el recipiente de plástico. Se debe evitar una excesiva presión negativa que podría ocasionar el colapso de la vía aérea distal impidiendo la recuperación del líquido del lavado.

### **Volúmenes de líquido que se deben utilizar**

No existe acuerdo acerca de la cantidad de líquido o del número idóneo de alícuotas necesarias que permitan obtener datos significativos del compartimento alveolar en niños de diferentes pesos y edades.

Se han utilizado varios protocolos:

1. Algunos usan, de forma similar a los adultos, de 2 a 5 fracciones del mismo volumen (10-20 ml), independientemente del peso y edad del niño<sup>7,39,40</sup>.
2. Otros calculan entre 0,25-1 ml/kg/alícuota<sup>5,44</sup>, con volúmenes finales que oscilan entre el 10-15 % de la capacidad residual funcional<sup>6,43</sup>.
3. En algunos casos los volúmenes se corrigen de acuerdo con la edad, de forma que en los niños menores de 20 kg se utiliza un total de 3 ml/kg dividido en tres fracciones iguales, mientras que los niños con un peso superior a 20 kg reciben alícuotas de 20 ml, hasta un volumen final de 3 ml/kg<sup>43,46,47</sup>.

Tan sólo dos estudios evalúan la influencia del volumen utilizado sobre los resultados del LBA: Midulla et al<sup>39</sup> observan que el recuento celular diferencial apenas se ve afectado por él, que la segunda fracción proporciona resultados similares a los de las siguientes muestras y que dos alícuotas son suficientes para separar la muestra bronquial de la alveolar. Por ello, para simplificar la técnica, propugnan la utilización de un volumen fijo por alícuota. Pohunek et al<sup>40</sup> también recomiendan utilizar volúmenes fijos, de 20 ml, que proveen una correcta información de los compartimentos bronquial y alveolar. Sin embargo, Ratjen y Bruch<sup>46</sup> consideran que durante la infancia las vías aéreas crecen paralelamente al tamaño corporal, por lo que el volumen necesario para lavar los bronquios debe adecuarse a la edad y el peso de cada niño. En cualquier caso los escasos trabajos que en los últimos años han tratado de aplicar protocolos de LBA en niños sanos para obtener valores de referencia, utilizan volúmenes calculados de acuerdo con el peso<sup>6,43,46,48</sup>.

Nuestra recomendación sería utilizar la tercera opción (alícuotas de 1 ml/kg hasta un máximo de 20 ml, hasta completar un volumen total de 3 ml/kg), y en los adoles-

centes de más de 50 kg de peso utilizar tres alícuotas de 50 ml.

### **Procesamiento del líquido recuperado**

El LBA-B puede ser considerado técnicamente aceptable si el líquido recuperado es igual o superior al 40 % del instilado y contiene escasas células epiteliales<sup>2</sup>. Algunos autores aceptan como muestra adecuada una recuperación de, al menos, el 10%<sup>49</sup>. En los niños normales se logra aspirar entre el 43 y el 85 % del volumen introducido, aunque la primera muestra suele ser claramente menor (36-40 %) que las restantes<sup>6,43,46,48</sup>.

En el LBA-NB la cantidad del líquido recuperado suele ser baja y se necesitan estudios comparativos entre LBA-B y no B que permitan valorar si los resultados de ambas técnicas son similares para los constituyentes celulares y no celulares<sup>2</sup>.

En general se considera que la primera alícuota es una muestra bronquial. Contiene más neutrófilos y menos linfocitos que las restantes<sup>39,40,48</sup> por lo que, si se mezcla con ellas, puede interferir el análisis global<sup>37</sup>. Por este motivo, la mayor parte de autores<sup>5,39,48</sup> separan esta primera alícuota y la destinan a cultivos microbiológicos, mientras que todas las restantes, como ofrecen resultados comparables<sup>40,48</sup>, se procesan mezcladas en un solo "pool"<sup>6,40,43,46,48</sup>. En los casos en que se sospeche inflamación bronquial (asma, bronquitis) el análisis celular de la primera muestra podría ofrecer información al respecto<sup>40</sup>.

El procesamiento del líquido obtenido durante el LBA (L-LBA) debe ser inmediato, dentro de las 4 h posteriores a su obtención<sup>9,35</sup>, manteniéndose hasta entonces a 4 °C, para favorecer la viabilidad celular<sup>2</sup>. La muestra se debe recoger en recipiente plástico o de vidrio con silicona para evitar la adherencia selectiva al vaso, sobre todo de los macrófagos.

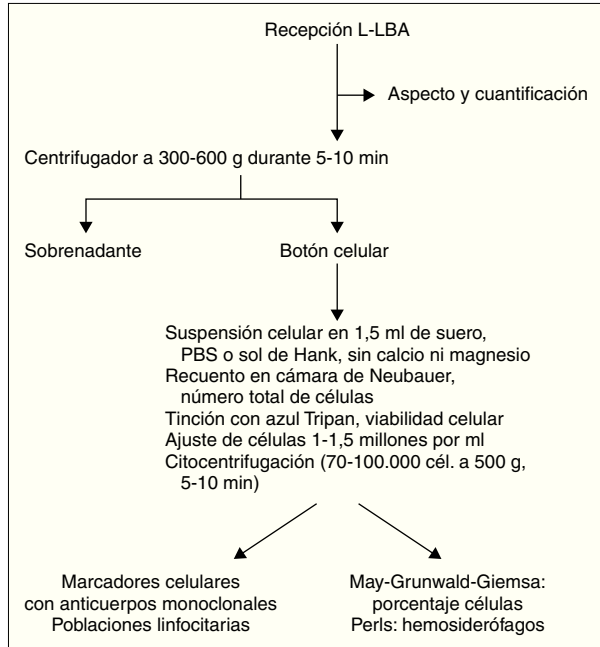
### **EVALUACIÓN DEL LÍQUIDO RECUPERADO**

Se pueden analizar diversos componentes: células, sustancias químicas en solución, microorganismos, partículas minerales, etc. Se debe anotar el volumen instilado y el recuperado, el recuento celular total, el porcentaje de los distintos tipos de células y para los componentes no celulares, la concentración por mililitro del L-LBA.

### **Células**

Se debe tener en cuenta el método empleado en la cuantificación y tipificación celular, ya que puede afectar de manera significativa a los resultados<sup>9,50</sup>. En la figura 1 se resume el procesamiento habitual del LBA para el análisis celular<sup>9</sup>.

Los procedimientos citológicos de aplicación clínica habitual en el líquido de LBA incluyen el recuento celular (se considera válido si > 300-500 cél./ml), la fórmula diferencial de los diferentes tipos celulares presentes y la



**Figura 1.** Procesamiento del líquido del lavado broncoalveolar (L-LBA) para estudio celular<sup>9</sup>.

visualización de gérmenes en la tinción realizada. En ocasiones, según la patología sospechada es útil solicitar la práctica de tinciones de PAS si se sospecha una proteinosis alveolar, de Pearls (para el estudio de macrófagos cargados de hemosiderina) y *oil-red* (para el estudio de macrófagos cargados de lípidos). También, como se ha comentado, en algunas enfermedades puede ser de interés el estudio de poblaciones linfocitarias o de algunos marcadores tumorales (proteína S-100 en la histiocitosis X).

**Valores de normalidad**

No existe acuerdo unánime en la literatura médica sobre los valores normales de la celularidad en el LBA por varias razones<sup>2</sup>:

1. Los estudios realizados en niños son escasos<sup>39,43,48,51-54</sup>, y con un número pequeño de casos. La tabla 3 muestra un resumen de los mismos.
2. La mayor parte de los estudios parten de una población control, no de niños totalmente sanos.
3. La técnica de LBA empleada en ellos no es idéntica.

Recuento celular total. Se observa una amplia variabilidad interindividual<sup>39,48</sup>, lo que dificulta su utilización para diferenciar la existencia o no de enfermedad pulmonar. El número de células es mayor en los niños de menor edad<sup>48</sup>, lo cual podría estar relacionado con el proceso de crecimiento activo, bronquial y alveolar, que se da en este grupo de edad<sup>39</sup> pero, en general, tanto la concentración total de células como el porcentaje de los distintos tipos son similares a los encontrados en el adulto<sup>2,43,55</sup> (tabla 3).

**TABLA 3. Recuento celular diferencial en LBA de diferentes estudios de niños “normales”**

	Clement et al <sup>52</sup>	Ratjen et al <sup>48</sup>	Riedler et al <sup>43</sup>	Midulla et al <sup>39</sup>	Tessier et al <sup>53</sup>
Número de niños	11	48	18	16	11
Edades (años)	1-15	3-5	1-10	2-3	4-16
Número de alícuotas	6	3	3	2	6
Volumen del SF	10% CRF	3 ml/kg	3 ml/kg	20 ml	10% CRF
Líquido de LBA recuperado (%)					
Media ± DE	No hecho	58 ± 15	No hecho	43,1 ± 12,2	69,7 ± 9,6
Mediana	No hecho	No hecho	62,55	42,5	68
Rango	No hecho	No hecho	42,5-71,5*	20-65	52-87
10 <sup>4</sup> células/ml					
Media ± DE	25,5 ± 13,6	10,3 ± 11,1	No hecho	59,9 ± 32,9	35,1 ± 18,4
Mediana	24	7,3	15,5	51	30,5
Rango	7,0-50,0	0,5-57,1	7,5-25,8*	20-130	9-68
Macrófagos (%)					
Media ± DE	89,7 ± 5,2	81,2 ± 12,7	No hecho	86 ± 7,8	89,9 ± 5,5
Mediana	89	84	91	87	92,5
Rango	85-97	34,6-94	84,2-94*	71-98	77-98
Linfocitos (%)					
Media ± DE	8,7 ± 4,6	16,2 ± 12,4	No hecho	8,7 ± 5,8	8,9 ± 5,6
Mediana	10	12,5	7,5	7	8
Rango	1-17	2-61	4,7-12,8*	2-22	2-22
Neutrófilos (%)					
Media ± DE	1,3 ± 0,9	1,9 ± 2,9	No hecho	5,5 ± 4,8	1,2 ± 1,2
Mediana	1	0,9	1,7	3,5	1
Rango	0-3	0-17	0,6-3,5*	0-17	0-3
Eosinófilos (%)					
Media ± DE	No hecho	0,4 ± 0,6	No hecho	0,2 ± 0,3	0
Mediana	No hecho	0,2	0,2	0	0
Rango	0-3,6	No hecho	0-0,3*	0-1	0

\*Del primer al tercer percentil.  
SF: suero fisiológico; CRF: capacidad residual funcional; LBA: lavado broncoalveolar; DE: desviación estándar.

Tipos de células. El porcentaje de linfocitos es similar al de los adultos<sup>43,49,53</sup>. Riedler et al<sup>43</sup>, encuentran una correlación positiva con la edad, sobre todo durante los primeros 2 años de vida. Sin embargo, en los estudios de Ratjen et al<sup>47,48</sup> el número de linfocitos está constantemente aumentado. Los neutrófilos son más numerosos en los niños menores de 12 meses, quizá porque en ellos el porcentaje de líquido bronquial es mayor que el alveolar en la muestra del L-LBA<sup>39,48</sup>.

Poblaciones linfocitarias. Son las que ofrecen mayor diferenciación con el adulto. Lo más llamativo es la disminución del cociente CD4/CD8, debido a un aumento absoluto de los CD8, ya que los recuentos CD4 son similares a los del adulto<sup>43,47</sup>. Este cociente es inferior al encontrado en sangre periférica durante la infancia. Las células T helper (Th) son aproximadamente la mitad de las células T citotóxicas, con una relación entre ellas de

**TABLA 4. Poblaciones linfocitarias en el niño**

	Ratjen et al <sup>48</sup>	Riedler et al <sup>43</sup>
Número de niños	28	10
Rango de edad	3-14	3-10
CD3 (%)		
Media	85,8	No hecho
Mediana	87	81
Rango	72-92	75,5-88*
CD4 (%)		
Media	35,1	No hecho
Mediana	34,5	27
Rango	10-57	22-32*
CD8 (%)		
Media	56,8	No hecho
Mediana	57	45
Rango	30-84	33,8-57*
CD4/CD8 (%)		
Media	0,7	No hecho
Mediana	0,6	0,6
Rango	0,1-1,9	0,4-1*
CD19 (%)		
Media	0,9	No hecho
Mediana	0,5	5
Rango	0-7	4-9,5*
CD25 (%)		
Media	1,9	No hecho
Mediana	2	2
Rango	0-4	0-3*
CD3/HLA-DR (%)		
Media	1,4	No hecho
Mediana	1	No hecho
Rango	0-7	No hecho
CD56 (%)		
Media	7,8	No hecho
Mediana	5	4

\*Del primer al tercer percentil.  
HLA-DR: antígeno leucocitario humano.

0,58 comparada con 1,8-2,7 encontrada en adultos<sup>43</sup>. Esto podría reflejar el proceso de maduración del sistema inmunitario en los pulmones del niño, o la respuesta a las frecuentes infecciones virales respiratorias que éstos sufren, ya que una de las funciones fundamentales de los CD8 es la eliminación de organismos infecciosos, como los virus.

En la tabla 4 se expresan los valores encontrados en niños normales.

### Sustancias químicas

El estudio de otros solutos como la urea o albúmina para la cuantificación del líquido de recubrimiento epitelial, o de marcadores de la inflamación tiene un carácter fundamentalmente experimental<sup>2,9,39,46,56-58</sup>.

### Microorganismos

Dado que el fibrobronoscopio arrastra microorganismos de la flora orofaríngea y contamina la vía aérea, nor-

malmente estéril, los cultivos bacterianos habituales del líquido efluyente son difíciles de interpretar.

Para el diagnóstico de infecciones bacterianas se debe realizar una tinción de Gram y un cultivo cuantitativo del L-LBA. En adultos, se valoran como significativos los aislamientos de 10.000 UFC/ml<sup>9</sup>. La elección de un determinado punto de corte es discutible ante el desconocimiento de la dilución de la secreción respiratoria en el líquido recuperado. La detección de más de 1% de células escamosas epiteliales puede indicar una excesiva contaminación de la muestra por secreciones orofaríngeas. Existen otros métodos capaces de medir el crecimiento bacteriano<sup>59</sup> y técnicas para minimizar la contaminación, tales como el LBA con catéteres protegidos<sup>60</sup>, que no pueden aplicarse en los niños menores de 4-5 años a causa del pequeño tamaño del canal del fibrobronoscopio. En las neumonías localizadas existe la posibilidad de realizar un doble lavado: en el lugar afectado y en un segmento contralateral sano<sup>12</sup>.

### Citocinas

Desempeñan un papel esencial en la inflamación y en la regulación de la respuesta inmunitaria y su estudio en el LBA constituye uno de los campos de investigación más prometedores<sup>61-63</sup>. Su detección puede realizarse mediante análisis biológicos, inmunoanálisis o técnicas de biología molecular<sup>9</sup>.

### LAVADO BRONCOALVEOLAR NO BRONCOSCÓPICO

Sus aplicaciones se dirigen especialmente a recién nacidos o lactantes intubados con tubos endotraqueales menores de 3,5-4 mm de diámetro interno en los que, como se ha comentado anteriormente, es imposible la utilización de fibrobronoscopios con canal de trabajo. En ellos, algunos autores han desarrollado métodos sencillos y reproducibles para realizar la técnica del LBA sin fibrobronoscopio<sup>35,42,44,64</sup>, siempre que se trate de una enfermedad pulmonar difusa, que no precisa un lugar de lavado concreto. También se puede realizar en niños mayores intubados. Las principales indicaciones son el estudio de las neumonías de mala evolución, neumonías nosocomiales en pacientes intubados y neumonías en pacientes inmunodeprimidos.

Se han utilizado catéteres de presión, en cuña, 4F, con balón incorporado<sup>44</sup>, simples sondas de alimentación, 8F, de 2,5 mm de diámetro externo<sup>35</sup>, catéteres de succión<sup>5,64</sup>, o incluso, en los neonatos más pequeños, catéteres para canalización de la arteria umbilical<sup>42</sup>. Lo más adecuado es utilizar un doble catéter protegido.

En cualquier caso, se introducen, a través de un adaptador, por el tubo endotraqueal, manteniendo la cabeza inclinada hacia el lado opuesto al pulmón que va a ser estudiado, haciéndolo avanzar hasta notar una pequeña resistencia. Se retira entonces unos 3 mm, reintroducién-

dolo de nuevo hasta el lugar de resistencia, considerado ya como posición en cuña<sup>5,35,44</sup>.

La cantidad de líquido que se debe instilar no está estandarizada. Recomendamos realizar 3 instilaciones de suero fisiológico de 1 ml/kg, hasta un máximo de 10 ml en cada instilación. La aspiración del líquido introducido se puede realizar manualmente con la jeringa, o utilizando un aspirador con una presión de succión continua, con la que el porcentaje de líquido recuperado es mayor<sup>35</sup>.

## COMPLICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS DEL LBA

El LBA es un procedimiento seguro que no incrementa el riesgo de la fibrobroncoscopia y puede ser aplicado a niños de cualquier edad o enfermedad pulmonar<sup>2,5,6,42,44</sup>, o incluso con hipoxemias relativamente graves<sup>65</sup>.

En lactantes o niños pequeños la impactación del fibrobroncoscopio es más proximal, por lo que la proporción de pulmón lavado y obstruido es mayor. Esto explica, en ellos, la mayor tendencia a la hipoxia, causada por el desequilibrio entre ventilación y perfusión, circunstancia que se evita con la aplicación de oxígeno durante la realización de la técnica.

Aunque en la mayor parte de casos no se describen efectos adversos<sup>5,39,44</sup> en un pequeño porcentaje pueden producirse elevaciones pasajeras de la temperatura, generalmente no superiores a 38,5 °C, 4-6 h después del procedimiento<sup>47,48</sup>. En general se trata de una fiebre autolimitada no relacionada con agentes infecciosos.

## BIOPSIA BRONQUIAL

El término biopsia bronquial o biopsia endobronquial engloba el análisis microscópico de lesiones endobronquiales y de la mucosa bronquial (fig. 2). En este último caso se incluye habitualmente el epitelio, la membrana basal y, con menos frecuencia, el músculo liso<sup>66</sup>.

### Indicaciones

Puede ser indicación de biopsia bronquial cualquier alteración de la pared del bronquio desde irregularidades de la mucosa hasta la presencia de masas. En niños se puede utilizar para el diagnóstico de enfermedades granulomatosas (tuberculosis o sarcoidosis), o de otras enfermedades menos frecuentes como tumores endobronquiales, sarcoma de Kaposi y enfermedades fúngicas crónicas<sup>67</sup>.

La realización de una biopsia de la mucosa bronquial ha sido una indicación ampliamente admitida para obtener células ciliadas en el diagnóstico de la discinesia ciliar primaria<sup>68</sup>, aunque el cepillado nasal, con igual rendimiento y mayor sencillez, es la técnica más recomendable en estos pacientes<sup>69</sup>. La biopsia de la mucosa se ha aplicado también experimentalmente en el estudio de la inflamación bronquial en niños con asma o fibrosis quística<sup>70-72</sup> y recientemente se ha propuesto su inclusión

dentro del protocolo diagnóstico de niños con síntomas respiratorios crónicos de etiología no aclarada<sup>73</sup>.

La biopsia endobronquial se considera el patrón de referencia para estudiar la inflamación de la pared bronquial con el que se comparan para su validación otros métodos indirectos menos invasores, como el lavado broncoalveolar y el esputo inducido.

### Instrumental necesario

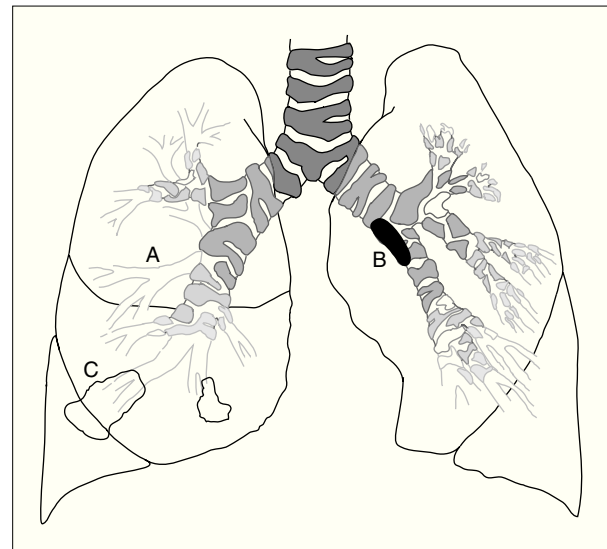
Para la práctica de la biopsia es necesario emplear pinzas de biopsia estándar de 1,8 mm de diámetro, iguales a las utilizadas en pacientes adultos, por lo que sólo se puede llevar a cabo a través del broncoscopio de 4,9 mm de tamaño, con un canal de trabajo de 2-2,2 mm. El uso de mascarilla laríngea para la sedación y anestesia permite emplear este broncoscopio para efectuar la biopsia a partir de 2-2,5 años de edad<sup>73</sup>. Las pinzas más pequeñas, disponibles para el broncoscopio de 3,6 mm, no permiten obtener una muestra suficientemente representativa. Algunos autores utilizan el broncoscopio rígido para la realización de este tipo de biopsias<sup>70,74</sup>.

Se recomienda usar pinzas de un solo uso, o pinzas reutilizables que no se empleen en más de 5 procedimientos.

### Técnica

#### Biopsia de lesiones endobronquiales

La técnica es sencilla. Se sitúa el extremo del broncoscopio frente a la lesión y se introduce la pinza por el ca-



**Figura 2.** Esquema que muestra la diferente localización en que se realiza **A)** la biopsia de la mucosa bronquial en una carina segmentaria o subsegmentaria, **B)** la biopsia bronquial de una lesión endobronquial, y **C)** la biopsia transbronquial o biopsia pulmonar broncoscópica en posición subpleural.



nal de trabajo hasta que sobresale algunos milímetros del mismo. Se abre la pinza y se continúa introduciendo hasta hacer contacto con la lesión. Se cierra la pinza y se retira sin mover el broncoscopio. La maniobra se repite en la misma zona hasta lograr de 3 a 5 muestras óptimas. En ocasiones los resultados obtenidos en lesiones accesibles son negativos debido a la presencia de necrosis o inflamación superficial, o por tratarse de lesiones muy sangrantes que impiden repetir la toma. Otras veces, si la lesión está situada en la pared lateral del bronquio, puede ser difícil realizar la biopsia.

En lesiones muy vascularizadas es aconsejable instilar previamente 1-2 ml de adrenalina al 1/20.000, aunque en estos casos habría que valorar de forma cuidadosa la relación riesgo-beneficio antes de realizarla. Se ha descrito un fallecimiento por hemorragia masiva en un paciente adulto tras la biopsia de una lesión de la mucosa bronquial que en la autopsia se comprobó que correspondía a una arteria intrabronquial anómala<sup>75</sup>.

#### **Biopsia de la mucosa bronquial**

La biopsia se realiza bajo visión directa, en una carina bronquial segmentaria o subsegmentaria, entre la segunda y la quinta generación<sup>76</sup> (en niños generalmente entre la tercera y la cuarta<sup>73</sup>). Tras colocar la pinza sobre la carina elegida se cierra sin una fuerza excesiva para no producir artefactos en la muestra. Se debe mantener unos segundos en esta posición, antes de retirarla<sup>76</sup>. Normalmente se realizan un mínimo de tres biopsias. El tamaño de las muestras que se obtienen oscila entre 1-2 mm. Los fragmentos de tejido obtenido se introducen en formol al 10%.

#### **Anestesia y sedación**

Para la realización de una biopsia de la mucosa bronquial en niños, es preferible la utilización de sedación profunda o anestesia general, ya que así se evitan los movimientos del paciente durante el procedimiento y se aumenta la seguridad del mismo<sup>73,74,76</sup>.

#### **Complicaciones**

La biopsia de la mucosa bronquial es bien tolerada y no se han descrito casos de neumotórax ni de sangrado importante, no siendo necesario instilar adrenalina<sup>73,74</sup>. Por este motivo algunos autores consideran que no es necesario disponer de forma rutinaria de pruebas de coagulación antes de la realización de la prueba<sup>76</sup>, aunque puede ser prudente obtenerlas. Tampoco es necesaria la práctica habitual de una radiografía de tórax tras efectuar una biopsia endobronquial<sup>68</sup>.

#### **Aspectos éticos**

La biopsia de las lesiones endobronquiales tiene una justificación clínica, por lo que requiere únicamente el consentimiento informado de los responsables del niño.

La biopsia de la mucosa bronquial, inicialmente realizada en pacientes adultos, se está extendiendo a pacientes pediátricos<sup>66</sup>. Se ha publicado una normativa realizada por un grupo de expertos en la que se dan recomendaciones éticas y metodológicas para la realización de estas técnicas<sup>76</sup>. Se considera que cualquier proyecto de investigación debe estar aprobado por un comité de ética y que en ningún caso la broncoscopia puede realizarse únicamente con propósitos de investigación. No existen en cambio contraindicaciones éticas para realizar una biopsia endobronquial si se está realizando una broncoscopia indicada clínicamente o si el niño está intubado para la realización de otro procedimiento (intervención quirúrgica), que permite introducir el broncoscopio a través del tubo endotraqueal<sup>76</sup>. En esta situación sería más discutible y probablemente no éticamente aceptable, la realización de una biopsia transbronquial, ya que tiene unos riesgos superiores a los de la biopsia bronquial.

#### **BIOPSIA TRANSBRONQUIAL**

La biopsia transbronquial o biopsia pulmonar broncoscópica constituye un método relativamente no invasivo y seguro de obtener parénquima pulmonar para su estudio, pudiendo evitar la necesidad de realizar una toracotomía<sup>77,78</sup> (fig. 2).

En los últimos años, la necesidad de monitorizar los episodios de rechazo agudo en los pacientes trasplantados de pulmón ha dado un mayor impulso a la utilización de esta técnica, lo que explica que el mayor porcentaje de biopsias en niños se realice en este tipo de pacientes<sup>79</sup>. No obstante, la biopsia transbronquial puede ayudar también al diagnóstico de otras enfermedades pulmonares pediátricas<sup>67</sup>.

#### **Indicaciones**

La indicación general de esta técnica es la investigación de infiltrados pulmonares localizados o difusos, con patrón intersticial, alveolar, miliar o nodular fino, tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunodeprimidos, siempre que no sea posible su diagnóstico por otros métodos menos invasivos.

La biopsia transbronquial puede ser útil en la investigación de los nódulos pulmonares localizados, sobre todo con la ayuda de la fluoroscopia, aunque en estos casos suele ser más útil la biopsia pulmonar transtorácica.

#### **Utilidad diagnóstica**

La biopsia transbronquial es la técnica de elección para el diagnóstico y vigilancia de los episodios de rechazo en los niños trasplantados de pulmón, ya que su sensibilidad diagnóstica en estos casos es del 72-94% y su especificidad del 90-100%. Se debe realizar siempre que haya sospecha de rechazo agudo y de forma electiva a los 7-15 días, 6 semanas, 3, 6 y 12 meses del trasplante<sup>80</sup>. Algunos equipos, a partir de los 6 meses, la indican única-

mente en la sospecha de rechazo. La biopsia transbronquial tiene menos valor para el diagnóstico de rechazo crónico o bronquiolitis obliterante, ya que la distribución de las lesiones pulmonares es muy parcheada.

En las neumopatías intersticiales ofrece unos resultados variables. Con la aplicación de criterios diagnósticos estrictos, la positividad diagnóstica en estos pacientes ha sido del 19 a 39%<sup>81</sup>. En el estudio de las neumopatías intersticiales idiopáticas suele ser necesaria una biopsia abierta para establecer un diagnóstico anatomopatológico.

En las enfermedades granulomatosas como la sarcoidosis o tuberculosis miliar, y en la linfangitis carcinomatosa, se puede conseguir un alto porcentaje de diagnósticos positivos. Otras enfermedades en las que puede proporcionar buenos resultados son la alveolitis alérgica extrínseca, la neumonía eosinofílica, vasculitis, proteinosis alveolar, histiocitosis X, microlitiasis alveolar, neumonía intersticial linfocítica y enfermedad de injerto contra huésped pulmonar.

La biopsia transbronquial puede ser también útil para diagnosticar algunas enfermedades pulmonares en el paciente inmunodeprimido<sup>82</sup>. Tal es el caso de la neumonía por *P. carinii* que puede detectarse en un 60-90% de los casos, aunque dado que el lavado broncoalveolar proporciona mejores resultados no debería realizarse sistemáticamente una biopsia transbronquial si se sospecha este patógeno.

La infección por citomegalovirus es difícil de diagnosticar mediante broncoscopia. El aislamiento del virus a partir de muestras de lavado broncoalveolar puede representar una contaminación. Para establecer un diagnóstico cierto se necesita la demostración de inclusiones intranucleares en el tejido pulmonar, por lo que la biopsia transbronquial puede ser útil, aunque, dada la naturaleza focal de la infección, la frecuencia de resultados positivos es del 11 al 55%.

### Contraindicaciones

Son contraindicaciones absolutas la inestabilidad hemodinámica, la hipoxemia marcada refractaria, la diátesis hemorrágica no corregida, o la no autorización del paciente para la realización del procedimiento.

Son contraindicaciones relativas la presencia de hipertensión pulmonar grave o de cardiopatías congénitas cianóticas con aumento de vasos colaterales bronquiales, la insuficiencia respiratoria grave, la incapacidad de controlar la tos del paciente durante el procedimiento y la presencia de alteraciones de la coagulación (hemofilia, uremia, plaquetopenia o tratamiento anticoagulante).

### Condiciones para la exploración

Son aplicables las medidas generales de toda broncoscopia flexible.

Se debe explicar la técnica a los padres y al niño o niña, en términos adecuados para su edad, y solicitar el consentimiento informado.

El procedimiento se puede realizar de forma ambulatoria si se trata de pacientes previamente no hospitalizados. Sólo el 10-20% de los pacientes adultos, según sus condiciones basales, precisan ingresar para la realización de la prueba. En niños se recomienda que se mantengan en observación hasta el día siguiente del procedimiento<sup>68</sup>.

Antes de iniciar la prueba es necesario contar con una radiografía de tórax, hemograma con plaquetas, pruebas de coagulación y, en caso de alteración de la función renal, con la urea, creatinina y electrolitos séricos. Además, se deben corregir las alteraciones de los tiempos de coagulación hasta rango normal, y administrar plaquetas hasta conseguir un recuento superior a 60.000/ $\mu$ l. Hay que tener en cuenta que en los pacientes urémicos el riesgo de hemorragia es mayor.

### Anestesia y sedación

La exploración se puede realizar con anestesia local y sedación "consciente" o con anestesia general mediante la utilización de intubación traqueal o mascarilla laríngea<sup>67</sup>. En niños es recomendable usar anestesia general ya que la colocación de un tubo endotraqueal o de una mascarilla laríngea permite un mejor manejo de la vía aérea, en el caso de que el paciente sangre, y facilitan la inserción y retirada repetidas del broncoscopio. El tubo endotraqueal permite la introducción de una sonda gruesa de aspiración en caso de sangrado importante, mientras que la mascarilla laríngea permite inspeccionar también las cuerdas vocales y la tráquea, y utilizar, en los niños pequeños, un broncoscopio de mayor tamaño que con el tubo endotraqueal. En cualquier caso, son indicaciones absolutas de anestesia general la existencia de una vía aérea inestable, la presencia de problemas en la oxigenación o ventilación y los pacientes difíciles de sedar.

### Equipo y material necesario

#### Fluoroscopia

Aunque no es totalmente imprescindible, la fluoroscopia facilita la realización de la técnica, ya que permite visualizar la localización de las pinzas en el momento de hacer la biopsia y la distancia de éstas a la pleura. Su empleo es más importante en los niños que en el adulto, ya que en el niño el tórax es más pequeño y el pulmón más flexible, y hay menor sensibilidad táctil con las pinzas de biopsia. El uso de la fluoroscopia disminuye en gran parte el riesgo de neumotórax<sup>83</sup>.

#### Tipo de broncoscopio

La biopsia se puede realizar con un broncoscopio rígido, tal como se describió inicialmente o con el broncoscopio flexible.

Broncoscopio flexible. En los niños a partir de 4 años, con el empleo de la mascarilla laríngea o con sedación,

es posible utilizar el broncoscopio de 4,9 mm que permite el paso de las pinzas estándar. En algunos casos se puede también emplear este broncoscopio en niños de 2 años de edad a través de una mascarilla laríngea, pero si el niño está intubado sólo se podría realizar a través de tubos endotraqueales iguales o superiores a 6 mm de diámetro interno. En los niños más pequeños se debe usar el broncoscopio de 3,6 o de 2,8 mm, ya que el broncoscopio de 2,2 mm, al no tener canal de succión, no permite la realización de la biopsia broncoscópica. Se ha ideado un método indirecto en el que se emplea este broncoscopio, pero no se utiliza mucho actualmente<sup>84</sup>.

**Broncoscopio rígido.** El broncoscopio rígido ofrece una buena protección de la vía respiratoria y control de la ventilación. Algunos autores lo consideran de elección para la realización de las biopsias en los niños pequeños, ya que permite utilizar las pinzas estándar de mayor tamaño<sup>67</sup>. Con el broncoscopio rígido es más difícil posicionar las pinzas en el segmento deseado y acceder a los lóbulos superiores. También el riesgo de neumotórax es mayor.

#### **Pinzas de biopsia**

Con el broncoscopio de 4,9 mm, o con el broncoscopio rígido, se pueden utilizar las pinzas de biopsia estándar de adulto de 1,8 mm de diámetro. Existen diferentes tipos: dentadas o de "cocodrilo", y de bordes lisos. Las dentadas tienen un mayor efecto de desgarro sobre el tejido pulmonar. Se cree, en cambio, que las de bordes lisos pueden proporcionar una muestra mayor y con más tejido alveolar que las dentadas, que proporcionarían más muestra de pared bronquiolar. En cualquier caso, no se ha demostrado que un tipo de pinza tenga mayor utilidad diagnóstica que otro. Para el broncoscopio de 3,6 mm se han desarrollado unas pinzas de biopsia de bordes lisos de 1,1 mm de diámetro, que pasan por el canal de 1,2 mm. Son menos utilizadas, ya que la cantidad de tejido que extraen es menor y no tan adecuada y estandarizada para estudio histológico.

#### **Otros materiales**

Se debe disponer de suero fisiológico frío y adrenalina para aplicarlos en caso de hemorragia.

Como es lógico la sala de exploración debe disponer de monitorización adecuada y de material de reanimación cardiopulmonar.

#### **Técnica de la biopsia**

Se introduce el broncoscopio y se sitúa aproximadamente 1-2 cm por encima de la entrada al lóbulo pulmonar que se va a biopsiar. Con ayuda de la fluoroscopia, la pinza de biopsia se introduce en el segmento pulmonar deseado y se avanza con cuidado hasta notar resistencia o hasta estar próximos a la periferia del pulmón,

justo por debajo de la pleura. En ese momento se retira 1 o 2 cm la pinza y se abre. Entonces, se avanza a la posición subpleural con una ligera presión, se cierra la pinza mientras el paciente está en espiración y se retira con suavidad. Si el niño está en ventilación mecánica o manual, se interrumpe la ventilación momentáneamente antes de cerrar la pinza.

Tras cada una de las biopsias obtenidas, se realiza un lavado con suero fisiológico (ayuda a la hemostasia y previene la formación de coágulos en el canal de aspiración) y al finalizarlas se comprueba que no existe hemorragia antes de retirar el broncoscopio.

Finalizada la técnica, se valora con fluoroscopia si se ha producido neumotórax. Se debe realizar una radiografía de control a las 2-4 h para descartar neumotórax<sup>68</sup>.

Si la afectación es focal, la biopsia se efectúa en el segmento o lóbulo pulmonar alterado; si es difusa, se suele realizar en el lóbulo inferior derecho que es la localización más fácil y segura. Es conveniente evitar el lóbulo medio y la lingula, porque hay más riesgo de neumotórax. Las biopsias siempre se realizarán en un solo pulmón en cada sesión, para evitar la posibilidad de provocar un neumotórax bilateral.

Existe cierta controversia en cuanto al número de biopsias necesarias. Es razonable obtener de 4 a 6 buenas muestras de tejido (no intentos) para el estudio histológico. Las biopsias se obtienen de diferentes segmentos del lóbulo biopsiado. Si se necesita realizar estudios microbiológicos se obtendrá una muestra más.

#### **Procesamiento y validez de las muestras**

Normalmente se obtienen varias muestras de pulmón de 1-2 mm de longitud, que se deben colocar inmediatamente en suero salino o formol, ya que la exposición al aire origina atelectasias y artefactos de desecación<sup>81</sup>. Para poder desprenderlas de las pinzas nos podemos ayudar, si es necesario, de una aguja de punción intramuscular. Normalmente se colocan en suero salino y posteriormente se añade una cantidad equivalente de formol al 20%, para enviarlas en formol al 10% al laboratorio de anatomía patológica.

La destinada a cultivo microbiológico se recoge por separado y se suele enviar en suero salino estéril.

El aspecto macroscópico del tejido obtenido no se correlaciona con su validez histológica. El hecho de que un fragmento flote en la superficie del líquido indica que se ha obtenido tejido que contiene aire, pero no garantiza su validez. Por el contrario, un fragmento de biopsia que se hunde puede contener material útil, ya que un infiltrado patológico extenso en el tejido pulmonar puede llenar o comprimir los espacios aéreos.

Se considera que una biopsia es adecuada cuando contenga, al menos, un fragmento de parénquima pulmonar con alvéolos. Algunos autores consideran que debe contener como mínimo 20 alvéolos. Ocasionalmente una

biopsia podría no tener alvéolos y ser útil, por ejemplo, si contiene fragmentos de pared bronquial en la que se aprecien lesiones específicas como granulomas.

En la muestra pueden aparecer artefactos que dificultan el trabajo del patólogo: lo más frecuente y presente hasta cierto grado en casi todas las biopsias es la presencia de atelectasias, que si son muy intensas pueden hacer que no se distingan bien los compartimentos intersticiales y aéreos. También es frecuente la hemorragia intraalveolar relacionada con la propia técnica, y es necesaria la presencia de hemoderiva, además de hemáties, para considerarla significativa<sup>81</sup>.

### **Complicaciones de la biopsia transbronquial**

La biopsia transbronquial tiene más riesgos que una broncoscopia flexible normal con realización de lavado broncoalveolar.

Las complicaciones específicamente asociadas con la biopsia transbronquial son el neumotórax y la hemorragia.

La complicación más frecuente es la aparición de neumotórax. Con el broncoscopio rígido se han descrito incidencias del 8-10% en las primeras series, aunque en estudios posteriores evitando realizar la biopsia en el lóbulo medio y en la línula, y ayudándose del control fluoroscópico, ha disminuido su frecuencia<sup>67</sup>. Con el broncoscopio flexible la incidencia oscila entre menos del 1 y el 3,5%. La presentación del neumotórax es más frecuente en caso de lesiones bullosas pulmonares, localización periférica de la lesión, ventilación mecánica y en pacientes inmunodeprimidos<sup>77-78</sup>.

Al realizar la biopsia siempre se produce una mínima hemorragia que es autolimitada. Se han descrito sangrados moderados (> 25 ml) a graves (> 100 ml) entre el 0,6 y el 5,4% de los pacientes que en algún caso han producido fallecimientos (1-2/1.000 procedimientos)<sup>77</sup>. Es importante realizar una adecuada selección de los pacientes y no realizar la biopsia en los que tengan riesgo de hemorragia aumentado: inmunodepresión, uremia, linfoma, leucemia, trasplante renal y trastornos de la coagulación.

Las medidas que se deben emplear en caso de hemorragia importante serían las siguientes:

1. Realizar lavados con alícuotas de 5 ml de suero fisiológico frío o de 2-3 ml de suero fisiológico frío con adrenalina (1 ml de adrenalina 1:1.000 diluido en 20 ml de suero fisiológico).

2. Enclavar el broncoscopio en un bronquio segmentario o subsegmentario y aspirar de forma continua durante 3-5 min con lo que las paredes del bronquio, al colapsarse sobre el extremo distal del broncoscopio, suelen detener la hemorragia.

3. Colocar al paciente en decúbito lateral, con el pulmón que sangra en posición declive.

### **Grupo de Técnicas de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica**

D. Álvarez Gil (Hospital Infantil Margarita, Cabra, Córdoba); V. Alzina de Aguilar (Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona); A. Andrés Martín (Hospital Universitario de Valme, Sevilla); C. Antelo Landeira (Hospital Infantil La Paz, Madrid); O. Asensio de la Cruz (Corporació Sanitaria Parc Taulí, Sabadell, Barcelona); M.I. Barrio Gómez de Agüero (Hospital La Paz, Madrid); J. Blanco González (Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares, Madrid); M. Bermejo Pastor (Hospital Materno-Infantil Badajoz); A. Bonillo Perales (Hospital Torrecárdenas, Almería); M. Bosque García (Corporació Sanitaria Parc Taulí, Sabadell, Barcelona); G. Cabrera Roca (Hospital Universitario Materno-Infantil, Las Palmas de Gran Canaria); M. Carrasco Zalvide (Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva); A. Cordón Martínez (Hospital Universitario Carlos Haya Materno-Infantil, Málaga); I. Cortell Aznar (Hospital Universitario La Fe, Valencia); J. Elorz Lambarri (Hospital de Cruces, Baracaldo, Bizkaia); A. Escribano Montaner (Hospital Clínico Universitario, Valencia); J. Figuerola Mulet (Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca); D. Gómez-Pastrana Durán (Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz); M.D. Gutiérrez Guerra (Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva); C. Landaluce Ugarte (Hospital de Txagorritxu, Vitoria); S. Liñán Cortés (Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona); C. Luna Paredes (Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid); M. Machuca Contreras (Hospital Virgen del Rocío, Sevilla); C. Martínez Carrasco (Hospital Infantil La Paz, Madrid); A. Martínez Jimeno (Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid); A. Moreno Galdó (Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona); C. Oliva Hernández (Hospital Nuestra Señora de la Candelaria, Santa Cruz de Tenerife); B. Osona Rodríguez de Torres (Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca); T. Pascual Sánchez (Hospital de San Joan, Reus, Tarragona); L. Pardos Rocamora (CAP Balaguer, Lleida); J. Pérez Frías (Hospital Universitario Carlos Haya Materno-Infantil, Málaga); G. Pérez Pérez (Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla); E. Pérez Ruiz (Hospital Universitario Carlos Haya Materno-Infantil, Málaga); C. Reverté Bover (CAP Amposta, Tarragona); A. Salcedo Posadas (Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid); J. Sánchez Jiménez (Hospital de San Jaume, Calella, Barcelona); E. Sánchez Sánchez (CAP Premià del Mar, Barcelona); L. Sanz Borrell (Hospital de San Joan, Reus, Tarragona); A. Sequeiros González (Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid); J. Sirvent Gómez (Complejo Hospitalario Juan Canalejo, A Coruña); J.M. Tabarés Lezcano (Hospital Cristal-Piñón, Orense); J.M. Torres Simón (Hospital de Palamós, Girona); M.I. Úbeda Sansano (CAP Godella, Valencia); J.R. Villa Asensi (Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid).

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Pérez Ruiz E, Barrio Gómez De Agüero MI y Grupo de Técnicas de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica. Broncoscopia flexible en el niño: Indicaciones y aspectos generales. *An Pediatr (Barc)*. 2004;60:354-66.
2. 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;15:217-31.

3. Henderson AJW. Bronchoalveolar lavage. *Arch Dis Child.* 1994;70:167-69.
4. Nicolai T. Pediatric bronchoscopy. *Pediatr Pulmonol.* 2001;31:150-64.
5. Riedler J, Grigg J, Robertson CF. Role of bronchoalveolar lavage in children with lung disease. *Eur Respir J.* 1995;8:1725-30.
6. De Blic J, McKelvie P, Le Bourgeois M, Blanche S, Benoist M, Scheinmann P. Value of bronchoalveolar lavage in the management of severe acute pneumonia and interstitial pneumonitis in the immunocompromised child. *Thorax.* 1987;42:759-65.
7. McCubbin MM, Trigg ME, Hendricker CM, Wagener JS. Bronchoscopy with bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary complications of bone marrow transplantation in children. *Pediatr Pulmonol.* 1992;12:43-7.
8. Abadco DL, Amaro-Gálvez, Rao M, Steiner P. Experience with flexible fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage as a diagnostic tool in children with AIDS. *AJDC.* 1992;146:1056-9.
9. Castellá Riera J, Ancochea Bermúdez J, Llorente Fernández JL, Puzo Ardanuy C, Sánchis Aldás J, Sueiro Bendito A, et al. Lavado broncoalveolar. Recomendaciones SEPAR. Disponible en: [www.separ.es](http://www.separ.es)
10. Ratjen F, Costabel U, Havers W. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in immunosuppressed children with pulmonary infiltrates. *Arch Dis Child.* 1996;74:507-11.
11. Labenne M, Poyart C, Rambaud C, Goldfarb B, Pron B, Jouvot P, et al. Blind protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in ventilated children. *Crit Care Med.* 1999;27:2537-43.
12. Grigg J, Van den Borre C, Malfrout A, Pierard D, Wang D, Dab Y. Bilateral fiberoptic bronchoalveolar lavage in acute unilateral lobar pneumonia. *J Pediatr.* 1993;122:606-8.
13. De Blic J, Azevedo Y, Barren CP, Le Bourgeois M, Lallemant D, Scheinmann P. The value of flexible bronchoscopy in childhood pulmonary tuberculosis. *Chest.* 1991;100:688-92.
14. Somu N, Swaminathan S, Paramasivan CN, Vijayasekaran D, Chandrabhooshanam A, Vijayan VK, et al. Value of bronchoalveolar lavage and gastric lavage in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children. *Tubercle Lung Dis.* 1995;76:295-9.
15. Singh M, Moosa NV, Kumar L, Sharma M. Role of gastric lavage and broncho-alveolar lavage in the bacteriological diagnosis of childhood pulmonary tuberculosis. *Indian J Pediatr.* 2000;37:947-51.
16. De Gracia J. Lavado broncoalveolar. En: Morell F, editor. *Pneumologica. Pautas, exploraciones y datos en medicina respiratoria.* SCM. 2002. p. 180-3.
17. Milleron BJ, Costabel U, Teschler H, Ziesche R, Cadranet JL, Matthys H, et al. Bronchoalveolar lavage cell data in alveolar proteinosis. *Am Rev Respir Dis.* 1991;144:1330-2.
18. Levy J, Wilmot RW. Pulmonary hemosiderosis. *Pediatr Pulmonol.* 1986;2:384-91.
19. Ahrens P, Kitz R, Weimer B, Hofmann D. Reference values of hemosiderin-laden alveolar macrophages in bronchoalveolar lavage in children. *Pneumologie.* 1999;53:262-5.
20. Réfabert L, Rambaud C, Mamou-Mani T, Schienmann P, De Blic J. Cd la-positive cells in bronchoalveolar lavage samples from children with Langerhans cell histiocytosis. *J Pediatr.* 1996;129:913-5.
21. Fan LL, Lung MC, Wagener JS. The diagnostic value of bronchoalveolar lavage in immunocompetent children with chronic diffuse pulmonary infiltrates. *Pediatr Pulmonol.* 1997;23:8-13.
22. Oermann CM, Panesar KS, Langston C, Larsen GL, Menéndez AA, Schofield DE, et al. Pulmonary infiltrates with eosinophilia syndromes in children. *J Pediatr.* 2000;136:351-8.
23. Ratjen F, Costabel U, Griesse M, Paul K. Bronchoalveolar lavage fluid findings in children with hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J.* 2003;21:144-8.
24. Columbo JL, Hallberg TK. Recurrent aspiration in children: Lipid-laden alveolar macrophage quantitation. *Pediatr Pulmonol.* 1987;3:86-91.
25. 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;28:83-8.
26. Knauer-Fischer S, Ratjen F. Lipid-laden macrophages in bronchoalveolar lavage fluid as a marker for pulmonary aspiration. *Pediatr Pulmonol.* 1999;27:419-22.
27. Kazachkov MY, Muhlebach MS, Livasy CA, Noah TL. Lipid-laden macrophage index and inflammation in bronchoalveolar lavage fluids in children. *Eur Respir J.* 2001;18:790-5.
28. Ronchetti R, Midulla F, Sandstrom T, Bjermer L, Zebrak J, Pawlik J, et al. Bronchoalveolar lavage in children with chronic diffuse parenchymal lung disease. *Pediatr Pulmonol.* 1999;27:395-402.
29. Boccon-Gibod L, Berthier-Falissard M, Ben-Lagha N, Josset P, Courpotin C. Bronchoalveolar lavage. *Pediatr Pulmonol Suppl.* 1997;16:192-3.
30. Midulla F, Strappini P, Sandstrom T, Bjermer L, Falasca C, Capocaccia P, et al. Cellular and noncellular components of bronchoalveolar lavage fluid in HIV-1-infected children with radiological evidence of interstitial lung damage. *Pediatr Pulmonol.* 2001;31:205-13.
31. Kotecha S. Bronchoalveolar lavage of newborn infants. *Pediatr Pulmonol Suppl.* 1999;18:122-4.
32. Wood RE. The emerging role of flexible bronchoscopy in pediatrics. *Clin Chest Med.* 2001;22:311-7.
33. Mahut B, Delacourt C, Scheinmann P, De Blic J, Mani TM, Fournet JC, et al. Pulmonary alveolar proteinosis: Experience with eight pediatric cases and a review. *Pediatrics.* 1996;97:117-22.
34. Holmgren NL, Cordova M, Ortuzar P, Sánchez I. Role of flexible bronchoscopy in the re-expansion of persistent atelectasis in children. *Arch Bronconeumol.* 2002;38:367-71.
35. Koumbourlis AC, Kurland G. Nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated infants: Technique, efficacy and applications. *Pediatr Pulmonol.* 1993;15:257-62.
36. Avital A, Wuyyed K, Picard E, Godfroy S, Springer Ch. Sensitivity and specificity of oropharyngeal suction versus bronchoalveolar lavage in identifying respiratory tract pathogens in children with chronic pulmonary infection. *Pediatr Pulmonol.* 1995;20:40-3.
37. Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB, Carzino R, Olinsky A, Phelan PD. Bronchoalveolar lavage or oropharyngeal cultures to identify lower respiratory pathogens in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1996;21:267-75.
38. Reynolds HY. Bronchoalveolar lavage. En: Feinsilver SH, Fein AM, editors. *Baltimore: Williams & Wilkins; 1995.* p. 49-57.
39. 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;20:112-8.
40. Pohunek P, Pokorna H, Striz Y. Comparison of cell profiles in separately evaluated fractions of bronchoalveolar lavage (BAL) fluid in children. *Thorax.* 1996;51:615-8.
41. Klech H, Pohl W, editors. *Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL).* *Eur Respir J.* 1989;2:561-85.
42. Birnkrant DJ, Besunder JB. Continuous manual ventilation during bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in critically ill infants and children. *J Bronchol.* 1995;2:182-7.

43. Riedler J, Grigg J, Stone C, Tauro G, Robertson CF. Bronchoalveolar lavage cellularity in healthy children. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:163-8.
44. Alpert BE, O'Sullivan BP, Panitch HB. Nonbronchoscopy approach to bronchoalveolar lavage in children with artificial airways. *Pediatr Pulmonol.* 1992;13:38-41.
45. Pingleton SK, Harrison GF, Stechschelte DJ, Wesselius LJ, Kerby GR, Ruth WE. Effect of location, pH and temperature of instilate in bronchoalveolar lavage in normal volunteers. *Am Rev Respir Dis.* 1983;128:1035-7.
46. Ratjen F, Bruch J. Adjustment of bronchoalveolar lavage volume to body weight in children. *Pediatr Pulmonol.* 1996;21:184-8.
47. Ratjen F, Bredendiek M, Zheng L, Brendel M, Costabel U. Lymphocyte subsets in bronchoalveolar lavage fluid of children without bronchopulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:174-8.
48. Ratjen F, Bredendiek M, Brendel M, Meltzer J, Costabel U. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in normal children. *Eur Respir J.* 1994;7:1865-70.
49. Baughman RP. How I do bronchoalveolar lavage. *J Bronchol.* 2003;10:309-14.
50. Walters EH, Gardiner PU. Bronchoalveolar lavage as a research tool. *Thorax.* 1991;46:613-8.
51. Thomson AB, Teschler H, Wang YM, Konietzko N., Costabel U. Preparation of bronchoalveolar lavage fluid with microscope slide smears. *Eur Respir J.* 1996;9:603-8.
52. 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;136:1424-8.
53. Tessier V, Chadelat K, Baculard A, Housset B, Clement A. A controlled study of differential cytology and cytokine expression profiles by alveolar cells in pediatric sarcoidosis. *Chest.* 1996;109:1430-8.
54. Heaney LG, Stevenson EC, Turner G, Cadden IS, Taylor R, Shields MD, et al. Investigating paediatric airways by non-bronchoscopic lavage: Normal cellular data. *Clin Exp Allergy.* 1996;26:799-806.
55. Merchant RK, Schwartz DA, Helmers RA, Dayton, CS, Hunninghake GW. Bronchoalveolar lavage cellularity. The distribution in normal volunteers. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146:448-53.
56. Von Vichert P, Jodeph K, Muller B, Frank WM. Bronchoalveolar lavage quantification of intraalveolar fluid? *Am Rev Respir Dis.* 1993;147:855-61.
57. Ward G, Duddridge M, Fenwick J. Evaluation of albumin as a reference marker of dilution in bronchoalveolar lavage fluid of asthmatic and control subjects. *Thorax.* 1993;48:518-22.
58. Ratjen F, Rehn B, Costabel U, Bruch J. Age dependency of surfactant phospholipid and surfactant protein A in bronchoalveolar lavage fluid of children without bronchopulmonary disease. *Eur Respir J.* 1996;9:328-33.
59. Speich R, Wust J, Hess T, Kayser FH, Russi EW. Prospective evaluation of a semiquantitative dip slide method compared with quantitative bacterial cultures of BAL fluid. *Chest.* 1996;109:1423-9.
60. Meduri GU, Beals DH, Majjub AG, Baselski V. Protected bronchoalveolar lavage: A new bronchoscopy technique to retrieve uncontaminated distal airway secretions. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143:855-64.
61. Marguet C, Dean TP, Basuyau JP, Warner JO. Eosinophil cationic protein and interleukin-8 levels in bronchial lavage fluid from children with asthma and infantile wheeze. *Pediatr Allergy Immunol.* 2001;12 81:27-33.
62. Brown V, Warke TJ, Shields MD, Ennis M. T cell cytokine profiles in childhood asthma. *Thorax.* 2003;58:311-6.
63. Kim CK, Kim SW, Park CS, Kim BI, Kang H, Koh YY. Bronchoalveolar lavage cytokine profiles in acute asthma and acute bronchiolitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:64-71.
64. Everard ML, Swarbrick A, Wright M, McIntyre J, Dunkley C, James PD, et al. Analysis of cells obtained by bronchial lavage of infants with respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child.* 1994;71:428-32.
65. Midulla F, Saleri T, Merolla R, Pontesilli C, Barbieri MA, Villani A. Is bronchoalveolar lavage (BAL) a safe diagnose procedure for children? *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;149:A372.
66. Bush A, Pohunek P. Brush biopsy and mucosal biopsy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:S18-S22.
67. Whitehead BF. Bronchoscopic lung biopsy in pediatric patients. *J Bronchol.* 1999;6:48-54.
68. Midulla F, De Blic J, Barbato A, Bush A, Eber E, Kotecha S, et al. Flexible endoscopy of paediatric airways. *Eur Respir J.* 2003;22:698-708.
69. MacCormick J, Robb I, Kovesi T, Carpenter B. Optimal biopsy techniques in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *J Otolaryngol.* 2002;31:13-7.
70. Cokugras H, Akcakaya N, Seckin I, Camcioglu Y, Sarimurat N, Aksoy F. Ultrastructural examination of bronchial biopsy specimens from children with moderate asthma. *Thorax.* 2001;56:25-9.
71. Payne DNR, Adcock IM, Wilson NM, Oates T, Scallan M, Bush A. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:1376-81.
72. Payne DNR, Rogers AV, Adelroth E, Vandi V, Guntupalli KK, Bush A, et al. Early thickening of the reticular basement membrane in children with difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:78-82.
73. Salva PS, Theroux C, Schwartz D. Safety of endobronchial biopsy in 170 children with chronic respiratory symptoms. *Thorax.* 2003;58:1058-60.
74. Payne DN, McKenzie SA, Stacey S, Misra D, Haxby E, Bush A. Safety and ethics of bronchoscopy and endobronchial biopsy in difficult asthma. *Arch Dis Child.* 2001;84:423-6.
75. Maxeiner H. Lethal hemoptysis caused by biopsy injury of an abnormal bronchial artery. *Chest.* 2001;119:1612-5.
76. Jeffery P, Holgate S, Wenzel S. Methods for the assessment of endobronchial biopsies in clinical research: Application to studies of pathogenesis and the effects of treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:S1-17.
77. McDougall JC, Cortese DA. Bronchoscopic lung biopsy. En: Prakash UBS, editor. *Bronchoscopy.* New York: Raven Press; 1994. p. 141-6.
78. Villeneuve MR, Kvale P. Transbronchial lung biopsy. En: Feinsilver SH, Fein AM, editors. *Textbook of bronchoscopy.* Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. p. 58-84.
79. Whitehead BF. Endoscopic monitoring of lung transplantation. *Pediatr Pulmonol.* 1997; Suppl 16:103-4.
80. Huddleston CB, Mendeloff E, Mallory GB. Trasplante pulmonar pediátrico. *An Esp Pediatr.* 2001;54:359-71.
81. Katzenstein AA. Transbronchial lung biopsy. En: Katzenstein AA, Askin FB, editors. *Katzenstein and Askin's Surgical Pathology of Non-Neoplastic Lung Disease.* New York: WB Saunders; 1997. p. 442-59.

- 82.** Becker HD, Shirakawa T, Tanaka F, Müller KM, Herth F. Transbronchial lung biopsy in the immunocompromised patient. *Eur Respir Mon.* 1998;9:193-208.
- 83.** Whitehead B, Scott JP, Helms P, Malone M, Macrae D, Higenbottam TW, et al. Technique and use of transbronchial biopsy in children and adolescents. *Pediatr Pulmonol.* 1992;12:240-6.
- 84.** Mullins D, Livne M, Mallory GB Jr, Kemp JS. A new technique for transbronchial biopsy in infants and small children. *Pediatr Pulmonol.* 1995;20:253-7.