

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université De Blida -1-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

INTERET DE L'ETUDE CYTOLOGIQUE DE LAVAGE BRONCHO-
ALVEOLAIRE(LBA) CHEZ LES ENFANTS

Soutenu le : 24-09-2020

Réalisé par: M^{lle}. Bouleghmane Amel et M^{lle}. Maskri Kaouther.

Devant le Jury composé de :

M ^{me} Rahim I.	M.C.B	Univ. de Blida 1	Présidente
M ^{me} Abdul Hussein A.	M.C.A	Univ. de Blida 1	Examinatrice
M ^{me} . Kanane A.	M. A. A	Univ. de Blida 1	Promotrice
M ^{me} Boudiaf R.	Pr	CPMC-Alger	Co-promotrice

Année Universitaire : 2019 – 2020

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu "ALLAH" qui nous a donné la santé, la volonté et le courage sans les quels ce travail n'aurait pas été réalisé.

Toute notre sincère gratitude pour notre promotrice : M^{me} Kanane Amel, qui nous a honorés d'encadrer ce travail, nous la remercions de nous avoir orienté, aidé et conseillé.

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de jury : M^{me} RAHIM I. et M^{me} Abdul Hussein A. Qui nous ont fait honneur d'évaluer notre projet de fin d'étude.

Nous adressons également nos profonds remerciements à notre co-promotrice M^{me} Boudiaf R. chef service du laboratoire de Biologie Cellulaire CPMC-Alger, pour vouloir co-diriger notre travail.

Enfin, on tient à remercier sincèrement, toutes les personnes qui nous ont aidés à réaliser ce travail. Qu'elles trouvent en ces mots, l'expression de nos profondes gratitude même si leurs noms ne figurent pas.

Merci...

Dédicace

*En premier lieu, je remercie **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour terminer ce modeste travail.*

Je dédie ce travail

A Mes chers parents

***Ma mère**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

***Mon père**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*A Mes sœurs « **Sabria, Mounira** » et mon frère « **Yacine** » pour leurs encouragements et leurs prières pour moi tout le long de mes années d'étude. A toute la famille qui m'a toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*A Mon binôme « **Kawthar** » qu'à toute sa famille.*

Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble.

A Tous ceux et celles que j'ai rencontré et qui m'ont aidé durant 5 ans des études universitaires.

Amel...

Dédicace

*Mes remerciements s'adressent d'abord à **ALLAH** le tout puissant qui m'a donné la force et la patience pour achever ce modeste travail.*

Je dédie ce modeste travail

*A celle qui m'a toujours dirigé, guidé et encouragé afin de me voir affronter la vie avec sérénité et courage, **ma mère**.*

*A **mon père** qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, pour m'avoir montré comment résoudre les problèmes et se tenir prêt à toutes éventualités.*

Avoir des parents comme vous à mes côtés fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Merci beaucoup de m'avoir soutenu sans condition, de la confiance que vous m'avez accordée et de l'amour éternel dont vous m'avez bénie.

*A mes chères et adorables sœurs «**Anfal, Asmaa**» et mon chères frère «**Mouad**» qui sont toujours à mes côtés, me soutenir ces longs jours et me donnant leurs sourires qui ont rendu ma journée plus heureuse.*

*À ma chère binôme **Amel** pour son amitié, son entente et sa sympathie ainsi qu'à toute sa famille.*

*A ma chère amie **Asma** qui m'a toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.*

Pour tous mes amis et ceux qui m'ont soutenu et encouragé durant mon parcours éducatif, Merci.

Kawthar...

Résumé

Les poumons sont en contact direct avec l'environnement extérieur, qui est sujets à un large éventail de troubles causés par les polluants dans l'air, en particulier chez les enfants. Cela les rend vulnérables à plusieurs maladies notamment l'asthme, et les pneumonies.

Afin de diagnostiquer et traiter rapidement ces pathologies, il existe un ensemble de techniques et d'outils d'analyse, principalement pour détecter les cellules immunitaires liées à la maladie et trouver le pathogène responsable.

Dans notre étude, nous nous sommes focalisés sur l'étude de l'importance de l'analyse cytologique du lavage broncho alvéolaire (**LBA**) comme outil de diagnostic.

Suite à la pandémie **Covid-19**, nous étions obligés d'effectuer une étude comparative entre certains résultats de recherche qui traitent différentes pneumo-pathologies pédiatrique avec une analyse cellulaire de **LBA**.

Plusieurs travaux ont montré une présence plus dominante de neutrophiles dans le liquide du **LBA** avec un taux de **49,59 %**, ce qui confirme une inflammation. Par ailleurs, une augmentation en éosinophiles corrélée à une toux chronique d'asthme a été constaté.

Pour les infections, certaines études ont rapporté que l'analyse **LBA** donne un diagnostic définitif dans **47% à 53%** des cas, montrant l'agent pathogène spécifiques, notamment, ***Pneumocystis jirovecii*** et ***Aspergillus***.

De plus, la **LBA** donne un diagnostic même pour des maladies rares chez l'enfant telles que les maladies de **Gaucher** et **L'histiocytose** à cellules de Langerhans.

Ces résultats laissent conclure que le **LBA** est un outil simple, utile et efficace pour diagnostiquer, soutenir ou aider à affiner le diagnostic pour la plupart des pathologies pédiatriques pulmonaires.

Bien que cette étude soit limitée par la pandémie, elle a donné des renseignements précieux dans ce domaine. Les études sur le **LBA** continuent d'être un terrain fertile pour la recherche pédiatrique, qui peut inclure l'étude moléculaire des cellules immunitaires et les biomarqueurs des carcinomes broncho alvéolaire.

Mots-clés : Lavage broncho alvéolaire, Poumons, Enfant, Pathologies pulmonaire, analyse cytologique.

Abstract

The lungs are in direct contact with the external environment; and which are prone to a wide range of disorders caused by air pollutants, particularly in children. This makes them vulnerable to several diseases including asthma; and pneumonia.

In order to diagnose and treat these pathologies quickly, there is a set of techniques and analysis tools mainly to detect the immune cells linked to the disease and find the responsible pathogen.

In our study, we focused on investigating the importance of Broncho alveolar lavage (*BAL*) cytological analysis as a diagnostic tool. Following the Covid-19 pandemic we were forced to carry out a comparative study between certain researches results, which treat different pediatric lung pathologies with cellular analysis of *BAL*.

Several studies have shown a more dominant presence of neutrophils in the BAL fluid with a rate of **49.59%**, which confirms inflammation. In addition, an increase in eosinophils correlated with a chronic asthma-related cough has been observed.

For infections, some studies have reported that *BAL* analysis gives a definitive diagnosis in **47%** to **53%** of cases, showing the specific pathogen including *Pneumocystis jirovecii* and *Aspergillus*.

In addition, *BAL* gives a diagnosis even for rare diseases in children such as *Gaucher disease* and *Langerhans cell histiocytosis*.

These results lead to the conclusion that *BAL* cytology analysis is a useful, simple, and effective tool for diagnosing, support or help refine the diagnosis in most of the pediatric pulmonary pathologies.

Although this study is limited by the pandemic, it has provided valuable information in this area. The studies on *BAL* continue to be fertile ground for pediatric research, which may include the molecular study of immune cells, and biomarkers of broncho-alveolar carcinoma.

Keywords: Broncho alveolar lavage, Lungs, Child, Pulmonary pathologies, cytological analysis.

ملخص

الرئتان على اتصال مباشر بالبيئة الخارجية ؛ وهي معرضة لمجموعة واسعة من الاضطرابات التي تسببها ملوثات الهواء ، وخاصة عند الأطفال ؛ مما يجعلهم عرضة لعدة أمراض بما في ذلك الربو و الالتهاب الرئوي.

من أجل التشخيص السريع لهذه الأمراض وعلاجها، هناك مجموعة من التقنيات وأدوات التحليل الخاصة للكشف عن الخلايا المناعية المرتبطة بالمرض و للعثور على العامل الممرض المسؤول.

ركزنا في دراستنا، على دراسة أهمية التحليل الخلوي لسائل غسيل القصبات الهوائية كأداة تشخيصية.

بعد وباء **كوفيد-19**، اضطررنا إلى إجراء دراسة مقارنة بين العديد من المقالات البحثية ، والتي تشخص أمراض الجهاز التنفسي المختلفة للأطفال بالتحليل الخلوي لسائل غسيل القصبات الهوائية .

أظهرت العديد من الدراسات وجودا مهيما للعدلات في سائل غسيل القصبات الهوائية بنسبة **49.59%** مما يؤكد على وجود التهاب. بالإضافة إلى ذلك، لوحظت زيادة في الحمضات مرتبطة بسعال الربو المزمن.

بالنسبة للعدوى، أفادت بعض الدراسات أن تحليل غسيل القصبات الهوائية يعطي تشخيصًا نهائيًا في **47%** إلى **53%** من الحالات ، موضحةً العامل الممرض بما في ذلك المتكيسة الرئوية الجؤجؤية و الرشاشيات.

بالإضافة إلى ذلك، يوفر غسيل القصبات الهوائية تشخيصًا حتى للأمراض النادرة لدى الأطفال، مثل مرض جوشر وكثرة المنسجات لخلايا لانجرهانز.

تؤدي هذه النتائج إلى استنتاج مفاده أن التحليل الخلوي لغسيل القصبات الهوائية هو أداة مفيدة وبسيطة وفعالة لتشخيص، دعم أو مساعدة في صقل التشخيص في أغلب أمراض الرئة لدى الأطفال.

على الرغم من محدودية هذه الدراسة بسبب الوباء ، فقد قدمت معلومات قيمة في هذا المجال. و لا تزال الدراسات المتعلقة بغسيل القصبات الهوائية تشكل أرضًا خصبة لأبحاث طب الأطفال، والتي قد تشمل دراسة جزيئات الخلايا المناعية، و العلامات الحيوية لسرطان القصبات الهوائية.

الكلمات المفتاحية: غسيل القصبات الهوائية ، الرئتين ، طفل، أمراض الرئة ، التحليل الخلوي.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Rôle antimicrobien des molécules du mucus et du surfactant.....	13
Tableau 2 : Intérêt des principales colorations dans l'analyse cytologique.....	22
Tableau 3 : Analyse cellulaire des LBA chez les enfants	34

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma d'une partie d'un lobule du poumon.....	8
Figure 2 : Micrographie électronique scannée du parenchyme pulmonaire humain.....	8
Figure 3 : Caractéristiques morphologiques cellulaires.....	23
Figure 4 : Échantillon de LBA d'un patient diagnostiqué d'asthme et d'un patient sain.....	34
Figure 5 : Vue représentative d'un échantillon LBA chez un enfant mucoviscidose.....	35
Figure 6 : Cellules mousseuses élargies dans le liquide de lavage broncho alvéolaire.....	37

LISTE DES ABREVIATIONS

ATI : Cellules de revêtement alvéolaire (Alveolar Type I Cells).

AT II : Grandes cellules alvéolaires ou septales (Alveolar Type II Cells).

APC : Cellule présentatrice d'antigène.

BPCO : Broncho-pneumopathie chronique obstructive.

CCSP : Protéine sécrétoire de cellule de Clara.

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CMV : CytomégaloVirus.

DC : Cellules dendritiques.

ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine.

HIA : Hémorragie intra-alvéolaire.

HSV : Virus de l'herpès simplex.

IMD : Enfants immunodéprimés.

ILD : Maladies pulmonaires interstitielles.

IIP : Pneumonies interstitielles idiopathiques.

LBA : Lavage broncho-alvéolaire.

LLM : Les macrophages chargés de lipides.

MA : Macrophage alvéolaire

MGG : Coloration de May-Grünwald Giemsa.

MALT : Mucosa-associated lymphoid tissue.

NK : Cellules tueuses naturelles (Natural Killer).

NET : Pièges neutrophiliques extracellulaires (Neutrophil Extracellular Trap).

NSS : Solution saline normale.

PAMP : Modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (Pathogen-Associated

Molecular Pattern).

PRR : Récepteur de reconnaissance de formes (Pattern Recognition Receptor)

PNN : Polynucléaires neutrophiles.

PNE : Polynucléaires éosinophiles.

PAS : Coloration de Periodic Acid Schiff.

PINS : Pneumopathie interstitielle non spécifique.

PHS : Pneumopathies d'hypersensibilité.

SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aigüe.

TCC : Nombre total moyen de cellules (Totale Cell Count).

VRS : Virus respiratoire syncitial.

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

TABLE DES MATIÈRES

Introduction..... 1

PREMIÈRE PARTIE – ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les poumons..... 3

I.1 Définition 3

I.2 Fonction et Anatomie de l'appareil respiratoire..... 4

I.2.1 Fonction..... 4

a) Fonctions respiratoires des poumons..... 4

b) Fonctions non respiratoires des poumons..... 5

I.2.2 Anatomie de l'appareil respiratoire (L'arbre bronchique)..... 6

a) Trachée..... 6

b) Poumons..... 7

c) Parenchyme pulmonaire..... 7

d) Alvéole pulmonaire..... 8

I.3 Histologie des poumons..... 9

I.3.1 Voies conductrices de l'aire..... 9

I.3.2 Acini pulmonaires..... 11

I.4 Défenses de l'appareil respiratoire..... 12

I.4.1 Défenses physiologiques..... 12

I.4.2 Défenses physiques..... 14

I.4.3 Défenses immunitaires, inflammatoires et leurs cellules.....	14
I.5 Pathologies pulmonaires et moyens de diagnostics.....	18
II. Lavage Broncho alvéolaire.....	19
II.1 Définition.....	19
II.2 Technique du LBA.....	19
II.2.1 Site de lavage broncho alvéolaire.....	19
II.2.2 Sédation.....	20
II.2.3 Volume de solution de lavage.....	20
II.3 Traitement du prélèvement de LBA.....	20
II.3.1 Analyses microbiologique.....	21
II.3.2 Analyses cytologiques.....	21
II.3.3 Valeurs normales du LBA.....	23
II.4 Indications du LBA.....	24
II.4.1 Enfants immunocompétents.....	24
II.4.2 Enfants immunodéprimés.....	25
II.4.3 LBA et les pathologies pulmonaires chez les enfants.....	26
II.5 Complications.....	28
DEUXIEME PARTIE – ÉTUDE RÉTROSPECTIVE	
I. Objectifs de l'étude.....	29
II. Matériel et Méthodes.....	29
II.1 Matériel.....	29
II. 2 Méthodes.....	29
III. Résultats et Discussion.....	33
Conclusion.....	39
Références.....	41

Annexe

INTRODUCTION

Introduction

Le poumon est le seul organe en contact direct avec l'environnement extérieur ; car il fait partie du système respiratoire. Il est responsable de la ventilation assurée par le processus cyclique d'inspiration-expiration et responsable de l'échange gazeux d'oxygène et de dioxyde de carbone entre l'atmosphère et la circulation sanguine au niveau des alvéoles.

Vu que nous inspirons **6 à 12 L d'air/min**, le poumon est constamment exposé aux microbes inhalés, aux allergènes et aux particules qui doivent être éliminés sans provoquer d'inflammation afin de maintenir l'homéostasie. Cet échange gazeux a lieu à travers une barrière physique relativement complexe, composée du mince film aqueux qui tapisse l'alvéole, les cellules épithéliales alvéolaires, la couche interstitielle et les cellules endothéliales qui forment les capillaires sanguins, le plasma sanguin et la membrane d'érythrocytes. (*Scanlon et Sanders, 2007*).

Par ailleurs, il est indispensable de connaître les bases anatomiques de l'appareil respiratoire afin de savoir interpréter les symptômes pneumologiques, l'imagerie et les examens fonctionnels.

De la pneumonie à la bronchite en passant par les maladies pulmonaires interstitielles (*ILD*), l'asthme, le syndrome de détresse respiratoire aigüe (*SDRA*) et le cancer du poumon, toutes ces maladies affectent l'appareil respiratoire. Ceci rend l'intégrité des voies respiratoires dépendante de façon critique d'un appareil de défense de l'hôte étroitement réglementé. Ce contact du système respiratoire avec l'environnement extérieur a conduit à la diversité et à l'émergence de plusieurs maladies et nécessite ainsi, différents moyens de diagnostic et de traitement.

Les bases de la pathologie pulmonaire comprennent la façon optimale, le prélèvement et le traitement des échantillons pulmonaires.

Il existe actuellement une variété d'options pour obtenir des cellules pulmonaires, des liquides et des tissus. Elles diffèrent en ce qui concerne leur rendement diagnostique potentiel. En effet, la bronchoscopie est généralement effectuée à des fins de diagnostic, mais elle est également utile pour certaines manœuvres thérapeutiques (*Wood, et Boesch, 2012*).

L'utilité du lavage broncho-alvéolaire (*LBA*) en pneumologie pédiatrique s'est étendue avec la disponibilité de bronchoscopes flexibles. Le liquide collecté est le plus souvent utilisé en clinique pour l'identification de pathogènes microbiologiques et les analyses cellulaires.

Introduction

Plus récemment, de puissantes méthodes de recherche analytique ont été utilisées pour étudier des échantillons de **LBA** afin de mieux comprendre les bases physiopathologiques des maladies respiratoires pédiatriques. Les recherches se sont concentrées sur les composants cellulaires contenus dans le liquide, ainsi que sur les composants non cellulaires notamment les molécules de sérum, les protéines inflammatoires et le surfactant.

L'objectif de cette étude est double :

- Effectuer une synthèse des données actuelles sur les méthodes **LBA** et les analyses cytologiques,
- Une comparaison entre les différents résultats de recherche pour une meilleure compréhension de l'utilité clinique de l'analyse **LBA**, afin d'établir un diagnostic valide en pneumologie pédiatrique.

PREMIÈRE PARTIE
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le système respiratoire

Le système respiratoire constitue le lieu privilégié d'échanges avec l'environnement extérieur et représente une cible majeure pour les agressions de nature diverse. Les poumons sont les principaux organes du système respiratoire chez l'homme et de nombreux autres animaux et quelques poissons.

Chez les mammifères et la plupart des autres vertébrés, deux poumons sont situés près de la colonne vertébrale de chaque côté du cœur. Leur fonction dans le système respiratoire est d'extraire l'oxygène de l'atmosphère et de le transférer dans la circulation sanguine, puis libérer du dioxyde de carbone de la circulation sanguine dans un processus d'échange de gaz.

Chez l'homme, le principal muscle qui motive la respiration est le diaphragme. Les poumons fournissent également un flux d'air qui rend possibles les sons vocaux y compris la parole humaine (*Scanlon et Sanders, 2007*)

I.1 Définition

Le système respiratoire est composé d'un ensemble d'organes et des tissus impliqués dans l'absorption d'oxygène de l'atmosphère et la libération de dioxyde de carbone générée lors de la respiration aérobie. Il est formé de deux composants, la partie conductrice (nez, pharynx, larynx, trachée et bronches) qui amène l'air de l'extérieur vers le site de la respiration et la partie respiratoire (voies aériennes inférieures qui constituent la plus grande surface d'échanges gazeux (composé de : bronchioles, canaux alvéolaires et alvéoles). (*Murray, 2010*)

Les poumons sont situés dans la poitrine de chaque côté du cœur dans la cage thoracique. Ils sont de forme conique avec un sommet arrondi étroit en haut et une large base concave qui repose sur la surface convexe du diaphragme.

Les surfaces médiales des poumons font face au centre de la poitrine et reposent contre le cœur, les gros vaisseaux et la carène où la trachée se divise en deux bronches principales. L'impression cardiaque est une empreinte formée sur les surfaces des poumons où elles reposent contre le cœur. Les deux poumons ont une récession centrale dite le hile à la racine du poumon, où les vaisseaux sanguins et les voies respiratoires passent dans les poumons. (*Scanlon et Sanders, 2007*)

Il existe également des ganglions lymphatiques broncho-pulmonaires sur le hile. Chaque poumon est enfermé dans un sac pleural qui contient du liquide pleural, ce qui permet aux

parois intérieure et extérieure de glisser l'une sur l'autre pendant la respiration. Ce sac divise chaque poumon en sections appelées lobes. Le poumon droit à trois lobes et le gauche en a deux. Les lobes sont ensuite divisés en segments broncho-pulmonaires et lobules pulmonaires.

Les poumons ont un apport sanguin unique, recevant du sang désoxygéné du cœur dans la circulation pulmonaire, dans le but de recevoir de l'oxygène et de libérer du dioxyde de carbone et un approvisionnement séparé en sang oxygéné pour les tissus des poumons dans la circulation bronchique. (*Riquet, 2012*)

I.2 Fonction et Anatomie de l'appareil respiratoire

I.2.1 Fonction

Le système respiratoire a deux types de fonctions :

a)- Fonctions respiratoires

✓ Respiration

Les poumons sont les principaux organes de la respiration, où l'échange de gaz a lieu. Dans les alvéoles qui sont les unités fonctionnelles des poumons. L'oxygène est absorbé et le dioxyde de carbone est éliminé de la circulation sanguine à travers le lit capillaire alvéolaire.

✓ Compliance

La compliance pulmonaire est une mesure de la capacité du poumon à s'étirer et à se dilater ; elle dépend de la différence de pression entre les alvéoles et l'espace pleural (La pression Trans pulmonaire). La pression Trans pulmonaire est le gradient de pression entre la pression alvéolaire intérieure et la pression pleurale extérieure. Il mesure principalement la force d'élasticité pulmonaire à chaque point de respiration.

Lors de l'inspiration, une pression thoracique négative s'instaure, donc la pression dans l'espace pleural diminue. Ainsi, la pression dans les alvéoles augmente et ces dernières s'ouvrent.

La compliance est diminuée en cas d'épaississement de la paroi des alvéoles. Cela provoque une diminution des échanges gazeux conduisant à une augmentation du travail lors de l'inspiration. (*Desai et Moustarah, 2020*)

✓ L'élasticité

C'est l'inverse de la compliance, les poumons sont des organes spongieux présentant une certaine élasticité. Cette dernière est liée à la présence de fibres élastiques entourant les

alvéoles ainsi qu'au surfactant doué de propriétés tensioactives réduisant la tension superficielle.

En cas de perte d'élasticité, une expiration active est nécessaire pour assurer le retour du volume pulmonaire à une taille physiologique. (*Gold, et Koth, 2016*)

✓ *Tension de surface*

Les alvéoles sont tapissées d'une fine couche de liquide, une tension de surface apparaît du fait de l'interface entre cette couche de liquide et l'air. Elle provoque une grande résistance à la distension pulmonaire et réduit la surface alvéolaire.

Cette tension provoque le collapsus des alvéoles (effondrement sur elles-mêmes). Cependant, la dépression permanente de l'espace pleural et la présence de surfactant, diminuent la tension de surface en assurant l'ouverture des alvéoles, ce collapsus est absent en situation physiologique. (*Goerke, 1998*)

✓ *Climatisation*

La fonction de la partie conductrice n'est pas seulement de diriger l'air, mais agit également comme un climatiseur efficace. Ce conditionnement se fait en chauffant / refroidissant l'air inhalé pour l'amener au niveau de la température corporelle, en humidifiant l'air et en éliminant toutes les particules étrangères présentes en lui. L'élimination des particules étrangères comme la poussière, les bactéries, les virus, etc., se fait par la sécrétion muqueuse, qui emprisonne les particules en suspension et le battement des cils élimine le mucus du passage respiratoire. (*Khan et Lynch, 2020*)

b)- Fonctions non respiratoires

Les poumons sont principalement destinés à la respiration, mais certaines études indiquent qu'ils ont d'autres fonctions non respiratoires qui sont importantes pour le corps humain notamment :

1. La conversion d'un précurseur chimique inactif en sa forme active, comme la transformation de l'angiotensine-I en angiotensine-II, ce qui aide à augmenter la pression artérielle.
2. La dégradation et l'inactivation d'importants médiateurs chimiques vasoactifs comme la bradykinine, la sérotonine et la norépinephrine.
3. La muqueuse bronchique contient également un petit groupe de cellules neuroendocrines, connues sous le nom de cellules bronchiales de Kulchitsky, qui

peuvent sécréter plusieurs facteurs comme la catécholamine et les hormones polypeptidiques telles que la calcitonine, la sérotonine et les facteurs de libération de la gastrine.

4. L'épithélium pulmonaire agit comme la première ligne de défense de l'air inspiré.

(Khan et Lynch, 2020)

I.2.2 Anatomie de l'appareil respiratoire (L'arbre bronchique)

Les voies respiratoires sont divisées en voies aériennes supérieures et voies aériennes inférieures.

a/ Appareil respiratoire supérieur

Il est composé du nez, des voies nasales, les sinus para nasaux, le pharynx et la partie du larynx au-dessus des cordes vocales (cordes).

b/ Appareil respiratoire inférieur

Il est formé de la partie du larynx sous les cordes vocales, la trachée, les bronches et les bronchioles. Les poumons peuvent être inclus dans les voies respiratoires inférieures ou comme entité séparée et comprennent les bronchioles respiratoires, canaux, sacs alvéolaires, alvéoles et de la plèvre. *(Scanlon et Sanders, 2007)*

En outre, les voies respiratoires peuvent être divisées en une zone conductrice et respiratoire selon leur distinction de transport ou d'échange de gaz.

- ***La zone conductrice*** assure un rôle de défense majeur et dirige l'air respirable filtré, réchauffé et humidifié dans les poumons. Elle comprend des structures à l'extérieur des poumons « le nez, le pharynx, le larynx et la trachée » et des structures à l'intérieur des poumons « les bronches, les bronchioles et les bronchioles terminales ».
- ***La zone respiratoire*** comprend les bronchioles respiratoires, les canaux alvéolaires et les alvéoles. C'est le site d'échange d'oxygène et de dioxyde de carbone avec le sang. Les bronchioles respiratoires et les canaux alvéolaires sont responsables de **10%** des échanges gazeux. Les cellules sont responsables des **90%** restants.

a)-Trachée

C'est le plus grand tube des voies respiratoires et se compose d'anneaux trachéaux de cartilage hyalin. Dans le médiastin, la trachée se divise en deux bronches, une bronche principale gauche et une droite qui se ramifient en bronches segmentaires puis bronchioles. Chaque bronchiole se ramifie en **5 à 7** bronchioles terminales qui sont les segments terminaux

de la partie de conduction de l'appareil respiratoire. Ces bronchioles donnent naissance aux sacs aériens des poumons appelés alvéoles. (*Scanlon et Sanders, 2011*)

b) -Poumons

Ils occupent les côtés gauche et droit de la cavité thoracique. Ils sont suspendus dans la cavité pleurale du thorax. Leur forme s'adapte à celle de la cavité mais ils sont séparés de sa paroi par un mince film de liquide qui permet les glissements. L'espace pleural pauvre en protéines et constituée de cellules mésothéliales est délimité par deux feuillets tissulaires continus qui constituent la plèvre. Cette dernière entoure le poumon et s'insinuant dans les scissures inter-lobulaires, la plèvre pariétale tapissant la face profonde de la cavité thoracique et sécrètent les cellules mésothéliales.

Les poumons sont divisés en différents lobes, le poumon droit qui est plus grand que le gauche, car le cœur est situé à gauche de la ligne médiane. Il a trois lobes - supérieur, moyen et inférieur- et le poumon gauche en a deux - supérieur et inférieur, plus une petite portion en forme de langue du lobe supérieur connue sous le nom de lingula. Chaque lobe est ensuite divisé en segments appelés segments broncho-pulmonaires. (*Chaudhry et Bordonni, 2020*)

c)-Parenchyme pulmonaire

Le parenchyme pulmonaire est l'unité de base des poumons, c'est le site anatomique d'échange gazeux, appelés *unités respiratoires terminales* ou *acini*. Il est représenté le site primordial des maladies pulmonaires.

Les acini pulmonaires comportent une série de structures associées qui proviennent des bronchioles terminales "les bronchioles respiratoires, les canaux alvéolaires et les alvéoles" qui sont délimités par des septa inter-alvéolaires.

Il est possible de définir un lobule pulmonaire, qui associe **3 à 5** acini plus ou moins bien délimité par un septum inter-lobulaire (*Figure 1*). (*Murray, 2010*)

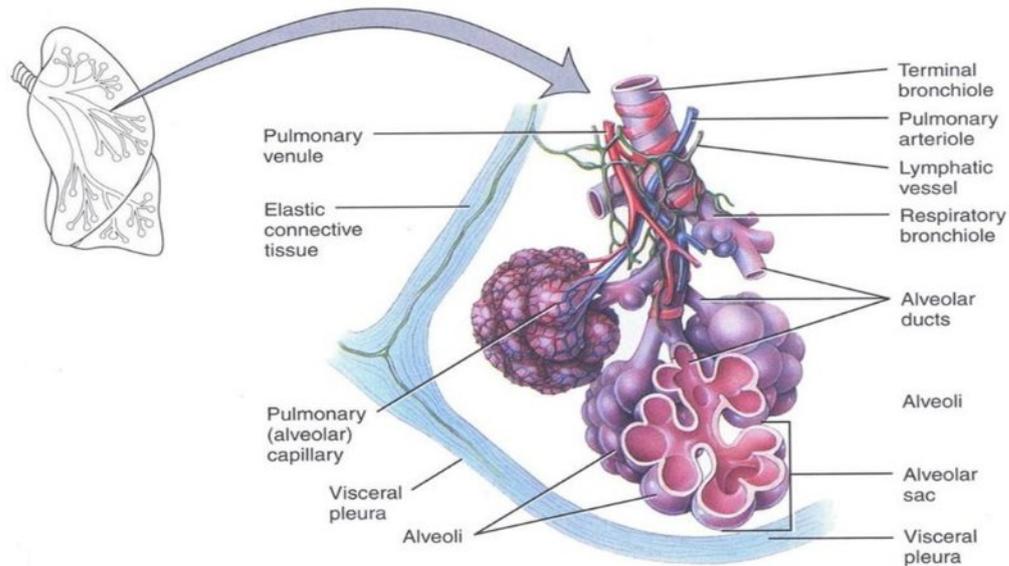


Figure 1 : Schéma d'une partie d'un lobule du poumon. (Tortora et Derrickson, 2015)

Il existe une succession de bronchioles respiratoires qui ont une fonction à la fois de transit de l'air et d'échange de gaz, mais qui deviennent progressivement plus alvéolées lors des branchements successifs.

Finalement, les bronchioles respiratoires se transforment en canaux alvéolaires qui sont entourés par les alvéoles (*figure 2*). (Murray, 2010)

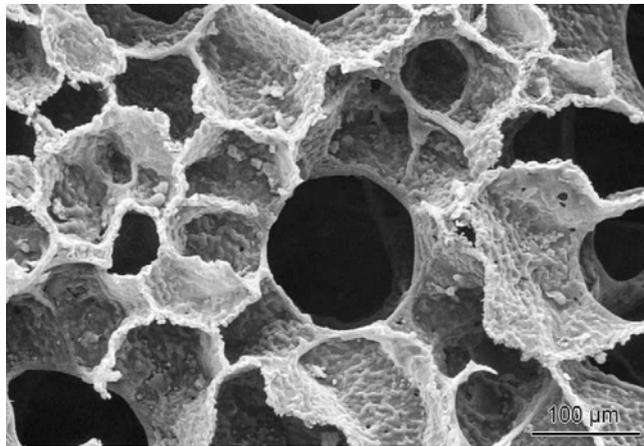


Figure 2 : Micrographie électronique scannée du parenchyme pulmonaire humain. (Murray, 2010)

d)- Alvéoles pulmonaires

Ces sacs aériens se trouvent aux extrémités des voies respiratoires. Ce sont des invaginations sacculaires de la paroi, tapissées par des cellules épithéliales pavimenteuses assez minces pour permettre les échanges gazeux entre le sang et l'air inspiré.

Elles présentent une grande surface d'échange. Toutes les alvéoles en aval de celles des bronchioles respiratoires sont séparées par de minces cloisons inter-alvéolaires qui contiennent des fibroblastes, des macrophages et un réseau de capillaires. L'air dans les alvéoles est séparé du sang par une barrière alvéolo-capillaire qui permet une résistance faible à la diffusion d' O_2 et du CO_2 . (*Khan et Lynch, 2020*)

Au niveau de cette barrière, il y a une continuité anatomique entre l'interstitium péri vasculaire et l'interstitium de la paroi alvéolaire. Il existe des fibres élastiques et de collagène, des fibroblastes, des cellules musculaires lisses et des mastocytes (*Khan et Lynch, 2020*)

La paroi épithéliale des alvéoles contient deux principaux types de cellules (pneumocytes) :

- ✓ *Cellules de type I* (squameuses alvéolaires).
- ✓ *Cellules de type II* (grande alvéolaire)

1.3 Histologie du tissu pulmonaire

1.3.1 Voies conductrices de l'air

La structure histologique de la paroi des voies aériennes est très bien adaptée à la conduction car elle permet d'associer la rigidité, la flexibilité et l'extensibilité. Elle est formée de différentes couches (muqueuse, musculuse, glandulaire et cartilagineuse), dont la composition et la répartition varient de la trachée à la bronchiole afin de s'adapter au mieux au diamètre des voies aériennes et à leur fonction, ce qui permet de les diviser en deux régions:

- Voies aériennes proximales cartilagineuses, et
- Voies aériennes distales non cartilagineuses respectivement (*Ganesan, et al., 2013*)

a) La muqueuse

Elle tapisse la lumière bronchique, elle est composée d'un :

- ✓ Épithélium de type respiratoire pseudostratifié cilié ;
- ✓ Lamelle basale
- ✓ Chorion conjonctif (lamina propria) constitué de fibres collagènes et élastiques -qui permettent une certaine flexibilité-, avec des glandes, des vaisseaux capillaires sanguins et lymphatiques.

L'épithélium respiratoire de la trachée et bronches terminales est le même, seules son épaisseur et la répartition des cellules varient. Il est principalement composé de **5 types** de cellules :

- **Les cellules ciliées** sont plus abondantes. Elles possèdent des cils (**200 à 300/cellule**) à leur pôle apical et battant à une fréquence régulière de **10 à 20** battements /sec. (*Serafini et Michaelson, 1977*); Ces cellules jouent un rôle dans la restauration et la régénération de l'épithélium bronchique (*Park, et al.2006*), et contrôle les actions de l'escalator mucociliaire comme un mécanisme de défense primaire.
- **Les cellules caliciformes** contiennent un noyau condensé sur le côté basal, elles ont des granules transparents aux électrons qui contiennent des glycoprotéines de mucine acide. Le rapport des cellules caliciformes aux cellules ciliées est d'environ **1** pour **5** et ce rapport augmente dans les conditions de maladies chroniques des voies respiratoires, telles que l'asthme et la maladie pulmonaire obstructive chronique. (*Ganesan et al., 2013*)
- **Les cellules basales** sont des petites cellules situées dans la partie profonde de l'épithélium. Elles sont très importantes dans le renouvellement cellulaire et considérés comme des cellules souches ou cellules d'amplification transitoires de l'épithélium. (*Hajj et Baranek, 2007*)
- **Les cellules séreuses** se trouvent aux extrémités distales des glandes sous-muqueuses et ressemblent morphologiquement aux cellules caliciformes. Elles sécrètent du liquide glandulaire qui contribue directement au volume du liquide de surface des voies respiratoires à l'hydratation du mucus libéré par les cellules caliciformes et à l'immunité innée. (*Ganesan, et al., 2013*)
- **Les cellules de Clara** sont des cellules pyramidales dont le pôle apical est garni de microvillosités, elle possède des granules sécrétoires denses aux électrons, qui sécrètent la protéine **CC10 (ou CCSP)**, qui est utilisée comme marqueur (*Singh et al., 1990*). Elles participent à la protection d'épithélium bronchiolaire (sécrétion des protéines tensioactives et des anti protéinases) et au renouvellement des cellules broncho alvéolaires. (*Evans et al., 1978*)

Ils existent d'autres types de cellules mineures présentes dans les voies aériennes conductrices (*Ganesan, et al., 2013*) :

- Les cellules neuroendocrines pulmonaires qui sont hautes, de forme pyramidale, s'étendent à partir de la lame basale de l'épithélium et possèdent des microvillosités.
- Les cellules chimio-sensorielles contiennent des touffes apicales de microvillosités et jouent un rôle dans la régulation de la sécrétion et de la respiration.

I.3.2 Acini pulmonaires

Un acinus est constitué d'une série de structure "les bronchioles respiratoires, les canaux alvéolaires et les alvéoles". A ce niveau, le muscle disparaît, l'armature est faite de fibres collagènes et élastiques.

La structure histologique des alvéoles est adaptée à leur fonction. L'épithélium alvéolaire se compose de ***pneumocytes de type I et II*** et de cellules de brosse occasionnelles. Les cellules du *Clara* et les macrophages alvéolaires sont également présents dans les parois alvéolaires contenant les ***pores de Kohn*** et permettent la communication entre les alvéoles adjacentes.

A l'état normal, les cellules principales dans la lumière alvéolaire sont les macrophages (***Khan et Lynch, 2020***)

❖ *Pneumocytes de type I (ATI cellules de revêtement alvéolaire)*

Les ***ATI*** sont des cellules simples squameuses très atténuées avec un noyau dense, petit et aplati. Les organites sont regroupés autour du noyau, laissant une grande zone de cytoplasme exempte qui via leurs extensions forme un voile souple, très fin et de grande surface comme une barrière alvéolo-capillaire. Le cytoplasme mince présente de nombreuses vésicules pinocytotiques. Les cellules adjacentes sont connectées par des jonctions serrées (occlusives), qui empêchent la fuite de fluide tissulaire dans la lumière alvéolaire (***Khan et Lynch, 2020***).

Les ***ATI*** sont impliqués dans de multiples fonctions pour le maintien de l'homéostasie de l'alvéole (transport d'eau et d'ions, contrôle de la prolifération cellulaire). (***Williams, 2003***)

❖ *Pneumocytes de type II (ATII grandes cellules alvéolaires ou septales)*

Les ***ATII*** sont des cellules plus volumineuses cubo-cylindriques qui joue un rôle important dans les processus inflammatoires pulmonaires (présentation antigénique et sécrétion de cytokines). Leur cytoplasme renferme de nombreux organites arrondis, les corps

lamellaires, sécrétant le surfactant pulmonaire dont le rôle est de réduire la tension superficielle air/liquide et empêche l'alvéole de se collaber.

De plus, les *ATII* contrairement aux *ATI* peuvent se diviser et se trans-différencier pour remplacer les *ATI* quand ces derniers meurent. Ils jouent donc un rôle de cellules souches. (*Fehrenbach, 2001*)

❖ Macrophage alvéolaire (Poussières)

Les macrophages se situent dans la lumière et la muqueuse des voies aériennes, mais ils représentent **90%** des cellules immunitaires à la surface alvéolaire. Les macrophages alvéolaires ont une membrane plasmique très active. En plus de la phagocytose et de l'endocytose médiées par les récepteurs, ils intériorisent, les tensioactifs et les agents pathogènes par une gamme de mécanismes de froissement et de pliage de la membrane plasmique indépendants du récepteur et peuvent recycler la membrane plasmique entière toutes les **30 mn** à la suite du trafic endosomal.

Les macrophages alvéolaires sont des producteurs actifs de cytokines et de leucotriènes, et ont des rôles pro et anti-inflammatoires importants dans l'alvéole. Elles présentent un antigène pauvre et elles régulent les réponses des lymphocytes T à l'antigène. (*Gordon et Read., 2002*)

I.4 Défenses de l'appareil respiratoire

L'appareil respiratoire représente la plus grande surface de l'organisme exposée à l'environnement extérieur et ses agents nocifs et pathogènes. Il existe de nombreux moyens de défense pour le protéger.

I.4.1 Défenses physiologiques

La première ligne de défense pour les voies respiratoires est les barrières physiologiques, composé du liquide de surface, du mucus et du surfactant. Ceci forme un filtre continu à l'interface épithélium/air et servent de barrière physique vis-à-vis des particules nocives inhalées, des bactéries et des virus qui s'y trouvent piégés. L'élimination de ces derniers se fait par la clairance muco-ciliaire, les réflexes de toux, éternuement et la sécrétion de molécules de défense. (*Vareille, et al., 2011*)

a) Escalator muco-ciliaire

L'escalator muco-ciliaire est le système de clairance des conduits aériens. Il nécessite un couplage efficace des deux composants pour fonctionner correctement.

- *Le mucus* forme un revêtement continu tapissant toutes les voies de conduction. Il est assimilable à un gel viscoélastique hétérogène avec deux couches : une couche profonde aqueuse et une couche visqueuse superficielle, piégeant les particules et les microorganismes. Il participe à la défense antibactérienne de l'épithélium des voies aériennes.
- *Les cellules ciliées* participent à l'épuration muco-ciliaire en évacuant le mucus grâce au battement actif de leurs cils comme un moteur.

b) Molécules de défense du mucus et du surfactant :

Le mucus contient de nombreuses molécules protectrices possédant des activités antimicrobiennes et même le surfactant synthétisé par les cellules épithéliales alvéolaires et les cellules de *Clara*. (Tableau1)

Tableau 1 : Rôle antimicrobien des molécules du mucus et du surfactant (Coraux, et al. 2005, Nevalainen et al. 2008, Eisele et al. 2011)

Molécule	Rôle
<i>Phospholipase A2</i>	Hydrolyse les phospholipides de la membrane bactérienne.
<i>Lysozyme</i>	Favorisant la phagocytose des bactéries, ou agit comme une enzyme lytique capable de lyser des bactéries.
<i>Lactoperoxydase</i>	Catalyse l'oxydation du thiocyanate en libérant des ions et des molécules qui dénaturent les protéines bactériennes.
<i>Lactoferrine et la broncho transferrine</i>	Chélatent le fer.
<i>Inhibiteur de leucoprotéase sécrétoire (SLPI)</i>	Protège l'épithélium des sérine-protéases endogènes.
<i>Défensines (peptides lytiques)</i>	Capables de se lier à la membrane bactérienne et créent des pores.
<i>Collectines du surfactant (SP-A, SP-B, SP-D)</i>	Fonction antimicrobienne et modulent l'inflammation des voies aériennes.

Il existe d'autres produits antimicrobiens qui sécrètent le surfactant : β -défensines, lipocaline et oxyde nitrique. (Eisele et Anderson., 2011)

c) Les réflexes (toux et éternuement)

L'appareil pulmonaire possède d'autres mécanismes de défenses physiques tels que l'éternuement ou la toux, qui permettent une élimination rapide et efficace des agents déclencheurs.

1.4.2 Défenses physiques

La seconde ligne de défense des voies aériennes est assurée par quatre principaux types de complexes jonctionnels intercellulaires responsables de l'étanchéité de l'épithélium : les jonctions serrées, les jonctions intermédiaires, les jonctions communicantes et les desmosomes. [Vareille, et al., 2011]

- ***Jonctions serrées*** sont les plus importantes pour le maintien de l'intégrité épithéliale par la formation d'un réseau autour du pôle apicolatéral des cellules épithéliales. Elles permettent la polarisation de l'épithélium et régulent la perméabilité transépithéliale. La dégradation des jonctions serrées par les facteurs de virulence bactériens peut rendre le pôle basolatéral des cellules accessible aux agents pathogènes.
- ***Jonctions intermédiaires*** permettent l'adhésion des cellules épithéliales voisines.
- ***Jonctions communicantes*** sont des canaux qui permettent la diffusion des petits métabolites, des seconds messagers, des ions et d'autres molécules (< ***1 kDa***) entre les cellules voisines.
- ***Desmosomes*** sont des jonctions intercellulaires qui permettent une forte adhérence entre les cellules conférant ainsi une résistance mécanique aux tissus.

Ces complexes agissent comme une barrière contre l'entrée et la diffusion des pathogènes dans la sous-muqueuse des voies respiratoires. (Vareille et al., 2011)

1.4.3 Défenses immunitaires et inflammatoires

Lorsque les premières lignes de défense sont inefficaces ou dépassées, le système immunitaire doit être stimulé à travers différents effecteurs, notamment, l'immunité innée (Cellules présentatrices d'antigène (***CPA***) et l'immunité adaptative.

Les défenses immunitaires innées existent chez tous les organismes multicellulaires, alors que seuls les vertébrés sont capables d'avoir une réponse immunitaire adaptative. Ces deux systèmes fonctionnent en interaction et en coopération pour mettre en place la réponse la plus

efficace. Ils ont des mécanismes conduisant à la mise en place et la régulation de la réaction inflammatoire. (*Delves et & Roitt., 2000*)

a) L'immunité innée

Les réponses immunitaires innées sont la première ligne de défense. Ils doivent également déclencher des réponses immunitaires adaptatives spécifiques. Ce système se caractérise par sa rapidité de mise en place, son absence de spécificité et de mémorisation de la rencontre avec l'agent agresseur.

Les réponses immunitaires innées dépendent de la capacité du corps à reconnaître les caractéristiques conservées des agents pathogènes. Il s'agit notamment de nombreux types de molécules sur les surfaces microbiennes et de l'ARN double brin de certains virus (*PAMP*). (*Basset, et al., 2003*)

a-1 Cellules de l'immunité innée : À côté des cellules épithéliales, il existe de nombreux types de leucocytes qui travaillent pour défendre et protéger le corps humain. Afin de patrouiller tout le corps, les leucocytes voyagent par le biais du système circulatoire.

- *Cellules épithéliales*

Tous les épithéliums de l'organisme constituent des barrières physiques et chimiques contre les infections. (*Bals, et Hiemstra, 2004*). En outre, les épithéliums contiennent un certain type de lymphocytes. Les lymphocytes intraépithéliaux *LT, γ et δ* (gamma, delta et T cells) expriment un récepteur à l'antigène particulier qui présente une spécificité limitée. Ils libèrent des facteurs de croissance, des cytokines et des chimiokines qui leur confèrent un rôle dans la réparation tissulaire et la régulation de l'inflammation. Ils peuvent lyser des cellules infectées et tumorales. (*Born, et al., 2006*)

- *Les phagocytes : monocytes/macrophages et neutrophiles* : Il existe deux types de phagocytes circulants, les neutrophiles et les monocytes.

Les monocytes constituent 3 à 8% des leucocytes circulants et dans le tissu conjonctif ou le parenchyme des organes donnent naissance à des macrophages et à des cellules dendritiques myéloïdes. Les monocytes / les macrophages sont des phagocytes efficaces, engloutissant les agents pathogènes et les débris cellulaires. Outre leur capacité d'ingestion des particules, les macrophages produisent des cytokines qui recrutent et activent les leucocytes et vont pouvoir si nécessaire, présenter l'antigène pour les *LT* via les molécules du *CMH* afin d'amplifier la réponse immunitaire. (*Aderem, et & Underhill, 1999*)

Les polynucléaires neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants dans le sang périphérique. Ils sont les premiers à répondre à la plupart des infections bactériennes et fongiques avec un rôle dans les premiers stades de la réaction inflammatoire et sensibles aux agents chimiotactiques. Elles sont parmi les premières cellules à migrer des vaisseaux vers les tissus attirés par les chimiokines, telles que *l'IL-8* et sont activées par divers stimuli, tels que les produits bactériens, les chimiokines et les cytokines.

Les *PNN* phagocytent les microorganismes dans la circulation et dans les tissus. En plus, ils sont capables de produire des puissants oxydants, de libérer des peptides antibactériens contenus dans des granules et de former des pièges neutrophiliques extracellulaires (*NET*). (*Brinkmann, 2004*)

Dans des conditions normales, les neutrophiles sont éliminés par apoptose. La perte de cette capacité est associée à plusieurs conditions auto-immunes. (*Brinkmann, 2004*)

- **Cellules dendritiques**

Elles sont douées de phagocytose, elles épurent les sites inflammatoires des cellules apoptotiques et nécrotiques. Les *DC* spécialisées dans la capture et la présentation d'antigènes aux lymphocytes, sont considérées comme un pont entre l'immunité innée et l'immunité adaptative.

Ces cellules immatures sont caractérisées par une forte capacité d'internalisation et une faible capacité de stimulation des *LT*. Après activation par phagocytose de l'agent pathogène, elles secrètent différentes cytokines comme *l'INF-g* et *l'IL-6* qui orientent essentiellement les lymphocytes vers une réponse cellulaire de type *Th1* et les cytokines *IL-4*, *IL-5*, *IL-10* et *IL-13* vers une réponse humorale de type *Th2*. Ces cytokines permettent le recrutement des *PNN* et des macrophages. (*Blanco et al., 2008*)

- **Cellules NK**

Les cellules tueuses naturelles (*NK*, Natural Killer) retrouvées au niveau de la circulation sanguine et dans de nombreux tissus dont la rate, les poumons, le foie, etc., proviennent de la moelle osseuse d'un ancêtre commun aux *LT*, constituant **5 à 20%** des cellules mononucléaires du sang. Ils constituent une ligne de défense non spécifique importante, reconnaissant et lysant les cellules infectées par des virus, des bactéries et des protozoaires, ainsi que des cellules tumorales. De plus, ils recrutent des neutrophiles et des macrophages, activent les *DC* et les lymphocytes *T* et *B*. Elles produisent un grand nombre de cytokines

importantes dans l'immunité, notamment de l'interféron (*IFN*) et jouent un rôle dans la régulation immunitaire. (*Cerwenka, et Lanier, 2001*), (*Vivier, et al., 2011*)

- **Granulocytes : Éosinophiles et Basophiles**

Les basophiles sont des granulocytes dérivés de progéniteurs de la moelle osseuse, elles font partie des cellules portant le plus de récepteurs membranaires d'*IgE*, impliquées dans la réaction d'hypersensibilité immédiate et les chocs anaphylactiques (réactions allergiques exacerbées). (*Min, et Paul, 2008*)

Les éosinophiles (ou polynucléaires éosinophiles, *PNE*) représentent **2 à 5%** des leucocytes circulants, c'est des cellules anti-infectieuses et leur action antiparasitaire est l'une des plus puissantes et efficaces. Ils peuvent se trouver dans les voies gastro-intestinales, respiratoires et génito-urinaires (*Hogan, et al., 2008*). Les éosinophiles sont recrutés sur les sites d'infections parasitaires et de réactions allergiques par les molécules d'adhésion et les chimiokines (*Parkin, et al. 2001*). Ils s'attaquent aux parasites de l'organisme, sans les phagocyter. (*Hogan, et al., 2008*)

b) Immunité adaptative

Le système immunitaire utilise la réponse immunitaire adaptative qui implique les lymphocytes et leurs produits, en particulier des anticorps. Elle a quatre propriétés caractéristiques : la spécificité antigénique, la diversité, la mémoire immunitaire et la reconnaissance de soi et du non soi.

Les effecteurs de l'immunité adaptative sont principalement les lymphocytes, car ce sont les seules cellules qui portent des récepteurs spécifiques pour les antigènes, en fonction du pathogène impliqué et des médiateurs sécrétés par les cellules de l'immunité innée, la réponse immunitaire adaptative peut être modulée en **2 types** de réponses :

- La réponse humorale agit contre les pathogènes extracellulaires et implique la **LB**.
- La réponse cellulaire agit contre les cellules infectées et les cellules cancéreuses et implique la **LT** (*Parkin, et al. 2001*).

c) L'inflammation

Elle correspond à l'ensemble des phénomènes réactionnels en réponse à des dommages cellulaires ou tissulaires. Les causes de l'inflammation sont diverses, notamment, les agents physiques, agents chimiques et corps étrangers. Les signes de l'inflammation sont caractérisés

par une chaleur, douleur, rougeurs, enflure et perte de fonction, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire. (*Ferrero-Miliani, et al., 2006*)

L'inflammation est considérée comme un mécanisme de l'immunité innée et elle peut être classée comme aiguë ou chronique. (*Ferrero-Miliani, et al., 2006*)

1.5 Pathologies pulmonaires et moyens de diagnostiques

Parmi les pathologies touchant le poumon, les pneumonies qui sont des infections pulmonaires causées par divers virus ou bactéries, en allant de la simple grippe causée par le *virus Influenza*, aux pneumopathies bactériennes (les *Pneumococci*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, ect.), jusqu'à la tuberculose due à l'infection par le *Mycobacterium tuberculosis*.

De plus, les poumons sont fortement touchés par des maladies hyperprolifératives dont le cancer. Il existe divers types de cancer pulmonaire, les carcinomes à petites cellules, les adénocarcinomes (tumeurs malignes glandulaires) et les carcinomes épidermoïdes.

Par ailleurs, l'hypertension artérielle pulmonaire est caractérisée par un remodelage vasculaire pulmonaire important causé par une prolifération anormalement élevée des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales vasculaires (*Seferian, et al. 2014*). Il y a aussi des maladies pulmonaires obstructives comme l'asthme et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (*BPCO*), avec des origines et des caractéristiques bien différentes. (*Roche, et al., 2011*). L'asthme touche essentiellement l'enfant et le jeune adulte et est principalement d'origine allergique.

Afin de diagnostiquer ces maladies, différents examens sont pratiqués en pneumologie. Parmi les plus courants, la radiographie du thorax, le scanner des poumons, la scintigraphie, la fibroscopie des bronches (bronchoscopie) ou encore l'analyse des gaz du sang.

Certaines procédures de diagnostiques et thérapeutiques nécessitent l'utilisation d'une bronchoscope, un excellent outil de visualisation. Ils fournissent un moyen efficace pour obtenir des échantillons des poumons et des voies respiratoires. Le *LBA* est systématiquement effectué chez l'adulte pour l'échantillonnage des composants cellulaires et biochimiques. Il est de plus en plus utilisé dans le monde entier chez les enfants, y compris les nouveau-nés. (*Wood, et Boesch, 2012*)

II. Lavage Broncho-alvéolaire

II.1 Définition

Le lavage broncho alvéolaire ou **LBA** est un examen complémentaire permettant de récupérer du matériel pulmonaire contenu dans les bronches et les alvéoles. Elle consiste à l'instillation d'une solution saline normale stérile dans un sous-segment du poumon, suivie d'une aspiration et d'une collecte de l'instillation pour analyse. Cette procédure est facilitée par l'introduction d'une bronchoscope flexible dans un sous-segment du poumon. (*Lachant, et al. 2018*). Aujourd'hui, il sert d'outil de diagnostic pour l'évaluation des infections pathogènes des voies respiratoires inférieures (exemple pneumonie ou *Covid-19*) et il est de plus en plus utilisé chez les enfants. (*Nieto, Alcaraz, 1995*), (*L'OMS, 2020*)

II.2 Technique du LBA

La pratique clinique actuelle utilise deux techniques :

- **LBA non bronchoscopique** et
- **LBA bronchoscopique**.

- **LBA non bronchoscopique**

Elle implique l'insertion de cathéters simples ou d'appareils à ballo-type (taille **4–8 Fr**) à travers une sonde endotrachéale. Malheureusement, cette méthode ne permet pas de visualiser le site de lavage, bien que la rotation de la tête de l'enfant vers la gauche dirige le cathéter vers le poumon droit de façon prévisible.

- **LBA bronchoscopique**

Elle est réalisée en injectant une solution saline normale (**NSS**) via une seringue dans le canal de travail d'une bronchoscope flexible pédiatrique (*Midulla, et Nenna, 2010*)

II.2.1 Site de lavage broncho alvéolaire

Habituellement, la **LBA** est réalisée dans la zone la plus touchée (identifiée radiologiquement et / ou endoscopiquement). Dans les maladies pulmonaires diffuses, le lobe moyen droit est le site privilégié, elle offre une meilleure récupération des fluides. Chez les nourrissons, il est souvent plus facile d'effectuer une **LBA** dans le lobe inférieur droit. Si le **LBA** et les biopsies transbronchiques sont prévus chez le même patient, le **LBA** doit être effectué en premier. (*De Blic et al., 2000*)

II.2.2 Sédation

Tandis que la **LBA** peut être réalisée sous anesthésie générale, la majorité des patients sont étudiés sous sédation et anesthésie topique, comme c'est le cas pour la bronchoscopie flexible chez l'enfant.

Chez les enfants la voie intraveineuse est généralement préférée pour la sédation. Les médicaments les plus fréquemment utilisés sont la mépéridine associée au diazépam, au propofol ou au rémifentanyl. L'objectif est d'obtenir suffisamment de sédation, l'induction d'une amnésie antérograde et une action de courte durée. Une anesthésie topique efficace des voies aériennes est obtenue avec **1 à 4%** de lignocaïne (Xylocaïne) dans les voies aériennes supérieures et **0,5 à 2,0%** de lignocaïne dans les voies aériennes inférieures. (*De Blic et al., 2000*)

II.2.3 Volume de la solution de lavage

L'objectif le plus important lors de l'exécution de la **LBA** c'est que les quantités adéquates de solution saline instillée atteignent les zones pathologiques impliquées. Ainsi, le liquide de **LBA** récupéré reflète les changements dans les cellules et les solutés. (*Meyer, 2004*)

Le volume instillé est variable, certains utilisent **2 à 4** fractions de **10 à 20 ml** quels que soient l'âge et le poids. D'autres utilisent **3** fractions de **3 ml/kg** chez les enfants de moins de **20 kg** et **3 ml/kg** en fractions de **20 ml** si plus de **20 kg**.

Un **LBA** est considéré acceptable si **40 %** au moins du liquide instillé est récupéré. Toutefois, la récupération peut être inférieure notamment chez les enfants avec une maladie pulmonaire obstructive. (*Denize, et al., 2018*)

II.3 Traitement du prélèvement de LBA

Les échantillons des **LBA** doivent être traités dès que possible, le liquide est collecté dans un contenant ne permettant pas l'adhésion des cellules (verre siliconé, polypropylène ou autres plastiques) et conservés à **+4 °C** avant l'analyse, pour optimiser la viabilité des cellules. Si le temps de transport est très long, il est conseillé de centrifuger les cellules et de les mettre en suspension dans un milieu nutritif RPMI (à **+4 °C**), ce qui permet une conservation de **24 h**.

A la suite de ces prélèvements pulmonaires, deux analyses sont effectuées :

II.3.1 Analyses microbiologique

Une autre mesure de précaution importante pour conserver les échantillons dans des milieux de transport anaérobies, contenant des agents réducteurs afin d'éviter une exposition à l'air qui détruit les bactéries anaérobies. (Meyer, 2007). Les bactéries, les champignons, les protozoaires et les virus sont détectés par microscopie optique directe après centrifugation ou alternativement par frottis.

Des teintures spéciales telles que *Gram, Papanicolaou, Gomori-Grocott ou bleu de toluidine* sont utilisées dans les préparations séchées à l'air. Les échantillons de *LBA* centrifugés peuvent être utilisés pour cultiver des virus et des agents pathogènes bactériens atypiques (*Legionella, Mycoplasma et Chlamydia*), des mycobactéries, des champignons et des échantillons cytocentrifugés (préparations de cytopspine) et peuvent être colorés pour détecter la présence de bactéries, *Pneumocystis carinii*, mycobactéries ou champignons. (Midulla, et Nenna, 2010)

II.3.2 Analyses cytologiques

La cytologie du liquide *LBA* est une analyse des composants cellulaires de l'échantillon. Cela consiste à observer la cellularité, le type de cellules, les caractéristiques du mucus, la présence ou non de bactéries intracellulaires et de parasites dans le prélèvement. Les cellules les plus abondantes récupérées par *LBA* sont des cellules inflammatoires qui tapissent l'espace alvéolaire. Il s'agit notamment des macrophages, des lymphocytes et des neutrophiles. Le macrophage alvéolaire est la cellule la plus courante dans le *LBA*. Chez un sujet normal, il représente plus de **80%** des cellules récupérées. (Midulla, et Nenna, 2010)

Le *LBA* peut être préparé de 2 manières :

- (a) En obtenant des préparations de cytopspine de l'ensemble du *LBA* et,
- (b) Par remise en suspension de l'échantillon dans une petite quantité de medium qui est centrifugé. Au moins **4** lames doivent être préparées pour chaque patient. Le compte total de cellules est effectué sur cellules de *Malassez* et rapporté en nombre de cellules par *ml*. La viabilité cellulaire est obtenue par test d'exclusion au *bleu de Trypan*.

Alternativement, les lames peuvent être colorées avec des colorations *May-Grünwald, Giemsa ou Diff-Quick* pour l'évaluation du nombre de cellules différentielles et leurs caractéristiques morphologiques. La présence de macrophages mousseux indique une *ILD*.

Les lymphocytes ont un gros noyau taché de noir avec peu ou pas de cytoplasme basophile. Les éosinophiles sont des cellules à noyaux bilobés, qui sont normalement transparentes mais après coloration à l'éosine par la méthode **Romanowsky**, elles apparaissent en rouge brique. (Denize, et al., 2018)

Dans des contextes cliniques particuliers, les lames peuvent être préparées avec des colorations spécifiques à l'**Oil Red O** pour détecter les macrophages chargés de lipides (**LLM**), coloration de **Perls** pour identifier les macrophages fer-positifs chez les patients atteints d'hémorragie alvéolaire (utilisant le **Scor de Golde**) et l'**Acide-Schiff périodique** pour identifier le glycogène.

La coloration **immunocytochimique** des marqueurs de surface des lymphocytes est utilisée pour différencier les sous-ensembles de lymphocytes dans des cas spécifiques tels que la **maladie pulmonaire parenchymateuse diffuse**.

Les différentes colorations ont pour but de calculer la formule cytologique du **LBA**, évaluer la morphologie (macrophages spumeux, cellules géantes et surcharge), identifier des agents infectieux et discuter d'éventuelles étiologies des **ILD** (interstitial lung diseases) chez l'adulte ou l'enfant. (Tableau 2)

Tableau 2 : Intérêt des principales colorations dans l'analyse cytologique. [Denize, et al., 2018]

MGG	Compte cellulaire, analyse cytologique (aspect des cellules, cellules anormales), recherche de spumes ou de matériel exogène, de germes (pneumocystis, bactéries...)
PAS (Periodic Acid Schiff)	Mycoses (paroi des cryptocoques, filaments mycéliens...). Coloration du matériel exogène dans les protéinoses alvéolaires, de surcharges glycogéniques macrophagiques dans certaines thésaurismoses.
Papanicolaou	Mise en évidence aisée des cellules épithéliales malpighiennes par une couleur orangée ou bleu vif. Bonne visualisation des inclusions virales nucléaires, du pneumocystis en immunofluorescence.
Perls	Évaluation des sidérophages en utilisant le score de Golde. Recherche de corps ferrugineux dans les suspicions d'asbestose.
Huile rouge/noir soudan	Recherche de surcharge lipidique ou lipoprotéique, endogène ou exogène utile dans les lipoprotéinoses, les pneumopathies d'inhalation.
Grocott	Recherche de cryptocoque, d'histoplasmose et de pneumocystis.

Le **score de Golde** est réalisé en cas de présence de sidérophages pour calculer l'intensité de la pigmentation bleue dans les macrophages après coloration de Perls de **0 à 4**, sur au moins **100** macrophages. La moyenne normale est inférieure à **25**, s'il est supérieur à **100**, il

est évocateur d'une hémorragie intra-alvéolaire (*HIA*) et un score de **50 à 100** correspond à une sidérose.

L'examen cytologique est aussi utilisé pour détecter une tumeur maligne. Cette technique est assez standard et les critères de malignité sont les même que ceux utilisés pour d'autres échantillons bronchiques (*Midulla, et Nenna, 2010*)

La composition du **LBA** peut être influencée par plusieurs facteurs techniques, notamment le site de lavage, le **pH** du fluide, la température et le volume du **NSS** instillé, le nombre d'aliquotes et la pression d'aspiration.

II.3.3 Valeurs normales du LBA

Ils sont difficiles à obtenir à partir des enfants en bonne santé qui pour des raisons éthiques évidentes, ne peut être étudiée en utilisant une procédure invasive. Par conséquent, les données disponibles proviennent en partie d'enfants subissant une bronchoscopie pour diverses indications cliniques, après plusieurs recherches, les valeurs de référence des différentes cellules (*figure3*) ont été établies comme suit : (*Midulla, et Nenna, 2010*)

- ✓ Le nombre total moyen de cellules (**TCC**) de **LBA** varie de **10,3 à 59,9 × 10⁴ cellules / ml**.
- ✓ **81,2–90%** pour les **macrophages**.
- ✓ **8,7-16,2%** pour les **lymphocytes**.
- ✓ **1,2–5,5%** pour les **neutrophiles**.
- ✓ **0,2–0,4%** pour les **éosinophiles**
- ✓ **> 5%** pour les **cellules bronchiques**

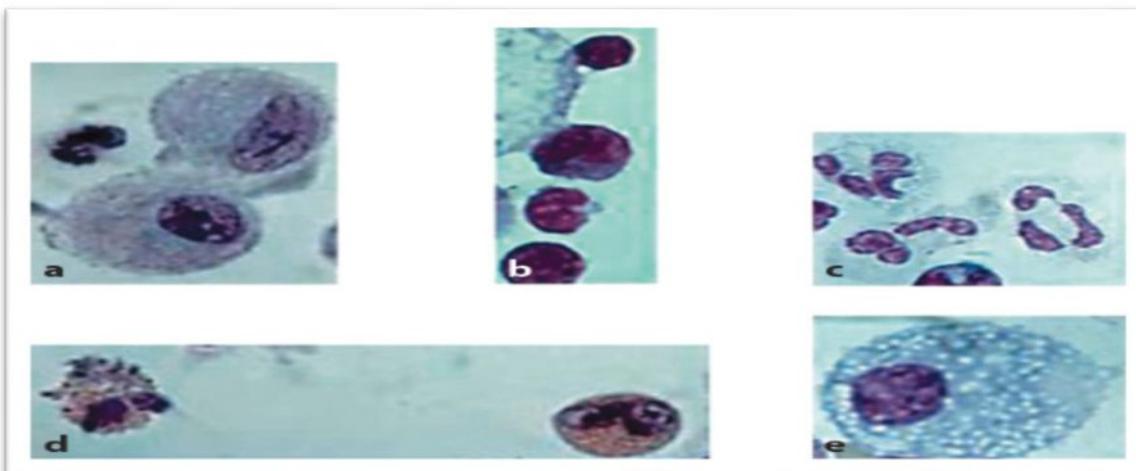


Figure 3 : Caractéristiques morphologiques cellulaires (Midulla, et Nenna, 2010).

a Macrophages. **b** Lymphocytes. **c** Neutrophiles. **d** Éosinophiles. **e** Macrophage mousseux. *Teinture May-Grünwald Giemsa. × 100.*

Selon ces valeurs, lorsqu'il a une augmentation du nombre total de dénombrements de cellules (plus de 150×10^6 cellules /litre) ceci est une caractéristique commune de nombreuses maladies pulmonaires.

Dans un profil microbiologique, les cultures de fluide **LBA** positives sont associées à une numération cellulaire anormalement accrue et à une numération différentielle anormale. En cas de culture positive, une telle augmentation permet de diagnostiquer une infection pulmonaire par opposition à une contamination bactérienne des voies respiratoires supérieures.

Dans un autre sens, les valeurs normales des lymphocytes de **LBA** chez les enfants, ressemblent à celles trouvées chez les adultes en bonne santé, sauf pour le rapport **CD4/CD8**, est souvent plus faible chez les enfants, suite aux infections virales. (Midulla, et Nenna, 2010)

II.4 Indications du LBA

Le **LBA** est principalement réalisé pour le diagnostic, mais aussi pour des applications thérapeutiques et de recherche qui nécessitent une évaluation des composants cellulaires et/ou microbiologiques. Les indications de **LBA** comprennent des symptômes respiratoires chroniques non spécifiques, des résultats radiologiques non spécifiques et des symptômes cliniques suggérant une maladie pulmonaire interstitielle. (Midulla, et Nenna, 2010)

II.4.1 Indications chez les enfants immunocompétents

Le **LBA** a pour but de :

- **Diagnostiquer des infections** : Pour les infections suspectées, le **LBA** peut fournir des échantillons pour les cultures microbiennes et l'examen cytologique. Cependant, l'utilité du **LBA** pour la détection d'une infection dans le compartiment alvéolaire peut être limitée par la contamination. Par conséquent, les résultats doivent être interprétés sur la base de cultures quantitatives avec l'utilisation d'un seuil de diagnostic et / ou l'identification de bactéries intracellulaires lors de l'examen direct de l'échantillon.

(De Blic et al. 2000)

- **Diagnostiquer des maladies pulmonaires non infectieuses** : L'utilité du **LBA** dépend des conditions pathologiques étudiées, notamment dans la protéinose alvéolaire, l'hémorragie alvéolaire et l'histiocytose pulmonaire.

Dans la protéinose alvéolaire, le liquide **LBA** a un aspect laiteux et les formes idiopathiques et secondaires de protéinose alvéolaire peuvent être différenciées. Le

diagnostic d'hémorragie alvéolaire est facilité lorsque le fluide **LBA** a une couleur rose sanglante ou rose orangé. Cependant, une hémorragie pulmonaire active peut survenir sans ces éléments et l'apparence brute du **LBA** peut être normale. Dans de nombreux cas, les différents modèles de profils de cellules **LBA** aident à orienter les investigations futures. (*Denize, et al., 2018*), (*De Blic et al. 2000*)

- **Élimination thérapeutique des matériaux des voies respiratoires** : Le **LBA** peut aider à éliminer les matières exogène ou endogène (pneumonie lipidique endogène) ou exogène (inhalation).

L'application de cette technique peut être limitée par la tolérance de l'enfant. Cependant, la limitation peut être surmontée en effectuant un lavage pulmonaire d'un seul lobe sous endoscopie en association avec la ventilation de l'autre poumon (*De Blic et al. 2000*)

II.4.2 Indications chez les enfants immunodéprimés :

Le **LBA** est devenu un outil important dans l'évaluation des infiltrats pulmonaires diffus ou localisés chez les enfants immunodéprimés (**IMD**).

L'identification d'agents pathogènes primaires que l'on ne trouve généralement pas dans les poumons des effluents **LBA**, permet d'affirmer le diagnostic d'infection pulmonaire (*Mycobacterium tuberculosis*, virus Influenza et le virus respiratoire syncytial **VRS**).

Par contre l'identification du Herpès simplex virus (**HSV**), Cytomégalovirus (**CMV**) et *Aspergillus* dans le **LBA** à partir de l'**IMD**, ne permet pas nécessairement d'établir un diagnostic d'infection, car ils peuvent être présents sous forme de contaminants des voies respiratoires ou de commensaux. (*De Blic et al. 2000*)

Des pathologies sont à discuter et à mettre en rapport avec le contexte clinique indiqué, en fonction des formules cytologiques ou d'autres anomalies identifiées.

- Lorsqu'il y a une **lymphocytose** à plus de **50 %**, le pathologiste doit suspecter une pneumopathie d'hypersensibilité ou une pneumopathie interstitielle non spécifique.
- Une **polynucléose neutrophile** à plus de **50 %** doit étudier une lésion inflammatoire aiguë du poumon (**SDRA**), une pneumopathie d'inhalation et une infection suppurée.
- Une **éosinophilie** à plus de **25 %** fait discuter un poumon éosinophile aigu ou chronique.
- Une formule avec plus de **1 %** de mastocytes, **50 %** de lymphocytes et plus de **3 %** de neutrophiles suggère une pneumopathie d'hypersensibilité (*Denize, et al., 2018*)

II.4.3 LBA et pathologies pulmonaires chez les enfants

Il y a quelques pathologies spécifiques que le pathologiste doit bien connaître lors d'une analyse de **LBA**, parmi eux :

a) Pneumopathies infectieuses (pneumonies) :

La pneumonie du parenchyme pulmonaire distal reste un contributeur majeur à la mortalité et à la morbidité dans le monde dans tous les groupes d'âge. Selon l'**OMS 2017**, la pneumonie a causé **15%** de tous les décès d'enfants de moins de cinq ans dans le monde.

Pour les pneumopathies bactériennes, l'analyse du liquide montre une augmentation de la cellularité avec un excès relatif de **PNN (> 3%)**. La coloration **MGG** aide à détecter les germes à la surface et à l'intérieur des **PNN** et des macrophages (**Denize, et al., 2018**)

La pneumonie virale est le plus souvent observée chez les patients immunodéprimés. Dans les infections à **HSV**, l'analyse de **LBA** montre des cellules multinuclées avec un noyau de verre dépoli ou de grandes inclusions intranucléaires basophiles. Pendant les infections à **CMV**, des inclusions nucléaires éosinophiles peuvent être observées avec un halo périphérique clair dans "**l'œil de hibou**". (**Denize, et al., 2018**)

Cependant, la cytologie du **LBA** ne permet pas d'établir le diagnostic à chaque fois, il est possible d'effectuer d'autres analyses, comme une charge virale par **qPCR** sur le liquide.

Il est également possible de détecter les champignons et les levures qui sont sphériques, colorées en violet avec un halo clair au **MGG**, dans le cas des pneumopathies mycosiques, les colorations par le **PAS** et le **Gomori-Grocott** permettent de mettre en évidence les mycoses. (**Denize, et al., 2018**)

b) Pneumopathies interstitielles

Les maladies pulmonaires infiltrantes parenchymateuses bilatérales aiguës et chroniques avec des degrés variables d'inflammation et de fibrose tissulaires sont appelées les **ILDs**. Leurs causes varient entre infectieux bactériennes, virales ou fongiques. Les non infectieux sont caractérisés pathologiquement par une accumulation de cellules inflammatoires et immunitaires, souvent accompagnée d'une **MEC** anormale dans les voies respiratoires distales, parois alvéolaires et interstitium.

Les **ILD** ont deux types :

- **ILD** de cause connue (les pneumoconioses, les **ILD** associées à la maladie du tissu conjonctif (**CTD-ILD**) et pneumopathies d'hypersensibilité (**PHS**));
- **ILD** de cause inconnue (la sarcoïdose et les pneumonies interstitielles idiopathiques (**IIP**)) (*Meyer, et al., 2012*).

Le **LBA** joue un rôle important pour confirmer un diagnostic spécifique et avoir des cellules alvéolaires pour une évaluation fonctionnelle. (*Connett, 2000*)

Pour **la sarcoïdose** qui est une maladie inflammatoire systémique, elle est caractérisée par une infiltration des tissus par des granulomes épithélioïdes sans nécrose caséuse. (*Aouadi, et al., 2017*)

Habituellement, ce profil montre une alvéolite lymphocytaire avec un taux moyen de **40%** et un rapport **CD4/CD8** élevé (>**3.5**) et des taux sériques élevés d'enzyme de conversion de l'angiotensine (**ECA**), qui est un indicateur fiable lors du diagnostic de la sarcoïdose. (*Ben Amar, et al., 2016*), (*Maruyama, et al., 2016*)

La **protéïnose alvéolaire pulmonaire** est une alvéolite dans laquelle il y a un remplissage généralisé des alvéoles avec une lipoprotéine laiteuse (surfactant), qui donne aux **LBA** un aspect laiteux et interagit avec la coloration **PAS**. Dans cette pathologie, le **LBA** a un double rôle diagnostique et thérapeutique. Un fond granuleux basophile dense au **MGG** et d'aspect rosé par le **PAS** est observé avec des macrophages spumeux et des vacuoles cytoplasmiques mises en évidence au **PAS** et à **l'Huile Rouge**. (*Connett, 2000*)

c) LBA et Néoplasies

Le lavage broncho alvéolaire est bénéfique pour diagnostiquer des tumeurs malignes pulmonaires qui n'impliquent pas les structures bronchiques visibles par endoscopie. L'adénocarcinome et les tumeurs à croissance lymphangitique ou lipidique sont plus facilement diagnostiqués par **LBA**, avec un rendement diagnostique supérieur à **80%**.

Le rendement diagnostique est assez bon dans des **lymphomes non Hodgkinien B** plutôt à petites cellules (**75-80 %**) avec une majorité de lymphomes de la zone marginale de type **MALT** (Mucosa-associated lymphoid tissue), mais faible dans la maladie de **Hodgkin**. Mais un prélèvement tissulaire est nécessaire pour affirmer le diagnostic. (*Poletti, et al., 2007*)

Pour les adénocarcinomes broncho-pulmonaires, la présence de cellules épithéliales pulmonaires aux colorations standards, peut suspecter une tumeur maligne. Une étude immunohistochimique de facteur de transcription thyroïdien (**TTF-1**) est nécessaire pour

confirmer l'origine pulmonaire des cellules, en incluent le culot de centrifugation du liquide de **LBA** dans la paraffine. (*Denize, et al., 2018*)

Le lavage broncho alvéolaire est un outil de diagnostic des pneumonies bactériennes, lésions tuberculeuses, infections fongiques et les tumeurs malignes. Son rôle est limité dans le diagnostic et le pronostic des **ILD** (*Radha, et al, 2014*).

II.5 Complication

En général, le **LBA** est une procédure bien tolérée et sûre, peut être réalisée en toute sécurité chez la plupart des patients ; une toux, une respiration sifflante transitoire et des infiltrats pulmonaires, qui dans la plupart des cas disparaissent en **24 h**, sont parfois observés. (*Midulla, et Nenna, 2010*)

Les complications mineures chez environ **10 à 30%** des enfants, sont une fièvre transitoire, tandis qu'un bronchospasme est observé chez environ **1%** des patients. Malgré son bon profil d'innocuité, le **LBA** élève la durée de la procédure bronchoscopique de **2 ± 3 min**, augmentant légèrement le risque d'**hypercapnie** et / ou d'**hypoxie**. (*De Blic et al. 2000*)

Pour les complications majeures comme les **saignements sévères**, la **perforation bronchique**, **l'emphysème médiastinal**, **le pneumothorax** et **l'arrêt cardiaque** sont extrêmement rares (moins de **2%** des patients).

A ce jour, aucun rapport publié n'a décrit des complications mortelles directement liée à la procédure **LBA** (*Midulla, et Nenna, 2010*)

DEUXIÈME PARTIE
ÉTUDE RÉTROSPECTIVE

I. Objectif de l'étude

Cette étude vise à identifier l'utilité clinique de l'étude cytologique du liquide de lavage broncho alvéolaire, à voir la relation entre les informations fournies par les composants cellulaires de *LBA* et la capacité à faire un diagnostic fiable basé sur celui-ci; en se concentrant sur le nombre de cellules, leurs morphologies et leurs fonctionnalités.

➤ **Lieu de travail**

Notre travail devait se réaliser au niveau du service de *Biologie Cellulaire du Centre de Pierre et Mary Curry (CPMC)* et service de *Pédiatrie de l'Hôpital Mustapha -Alger-* pendant une durée de *3 mois*.

En raison de la pandémie *Covid 19*, la durée de notre étude expérimentale est due 1 mois uniquement.

➤ **Taille de l'échantillonnage**

L'étude a été réalisée sur *30* enfants de différents âges qui varient entre *5 mois à 14 ans*.

II. Matériels et Méthodes

II. 1 Matériels

a) Matériels utilisés pour un lavage broncho-alvéolaire

- ✓ Bronchoscope à fibre optique ;
- ✓ Vidéo-endoscope ;
- ✓ Pièges de collecte stériles pour la collecte des échantillons d'essai ;
- ✓ Un dispositif d'aspiration ;
- ✓ Un tube d'aspiration ;
- ✓ Solution salin normal ; seringues stériles et anesthésie locale (*Xylocaïne à 5%, 2%, 1%*).

b) Matériels utilisés pour l'analyse cytologique (Annexe I)

II. 2 Méthodes

La technique de réalisation de *LBA* est effectuée selon les étapes suivantes :

1) Préparation des patients :

Les patients été à jeûne pendant plus de *4 heures* pour les aliments solides et *2 heures* pour les liquides clairs.

Des observations préopératoires sont effectuées et les sujets sont transférés dans la salle de bronchoscopie.

Cette technique est effectuée par un clinicien en recherche respiratoire expérimenté en bronchoscopie.

L'oxygène est administré jusqu'à 4 L/mn et l'anesthésie topique à la lidocaïne est réalisée dans les voies nasales et la muqueuse buccale. (Collins et al., 2014)

2) *Bronchoscope insérée et positionnée :*

L'intubation se fait généralement par le nez, si cela n'est pas possible en raison de polypes nasaux, de turbines enflammées ou de tout inconfort, le sujet est intubé par la bouche.

La bronchoscope est positionnée dans le lobe moyen droit (*LMD*), idéalement dans le segment médial dans une position où il est suffisamment distal pour être dans une position sûre, mais pas trop distale pour que les voies respiratoires s'effondrent lors de l'application de l'aspiration. (Collins et al., 2014)

3) *Technique LBA:*

Selon Collins, et al., (2014) elle est exécutée comme suit :

- ✓ Quatre seringues de 60 ml sont pré remplies par une *NSS* chauffée avec des volumes suivantes 60 ml , 50 ml , 50 ml et 40 ml successivement.
- ✓ Lorsque le sujet et le bronchoscopiste sont prêts, la première seringue de solution saline est instillée, tandis que le bronchoscopiste maintient la position dans la *LMD*.
- ✓ Une aspiration manuelle douce est ensuite effectuée par l'assistant en utilisant une seringue de 50 ml . Cette procédure est répétée en 3 fois avec un volume maximal de 200 ml .
- ✓ Le fluide *LBA* est récupéré est expulsé dans des récipients étiquetés. Il est trouble à la lumière avec des bulles de savon de surface formées par des tensioactifs. La bronchoscope est soigneusement retirée.
- ✓ Le fluide est ensuite transporté pour un traitement immédiat et les *LBA* ne doivent pas être congelés ou transportés dans la glace.

4) *Analyse cytologique :*

Dès que le fluide arrive au laboratoire, il est divisé en 4 tubes secs, puis centrifuger à une vitesse comprise entre $250\text{ et }500 \times g$ pendant $5\text{ à }10\text{ min}$.

Le culot est recueilli avec une pipette pasteur, mit sur la lame puis étalé pour réaliser un frottis.

Après le séchage, une coloration standard de *May-Grünwald Giemsa*, et autres colorations *PAS*, et *Papanicolaou* en respectant le l'objectif de l'étude.

Coloration MGG (Piaton et al., 2016):

- Placer le frottis horizontalement dans une cuve et verser le colorant *May-Grünwald* de façon à recouvrir totalement les lames.
- Après agitation laisser reposer **5 à 7 mn** pour que le méthanol fixe les cellules.
- Rincer la lame à l'eau neutre de robinet.
- Diluer le *Giemsa* immédiatement, en mettant **20 à 25 ml** de colorant dans une éprouvette puis ajouter l'eau jusqu'à **85 ml**.
- Verser le contenu dans la cuve et mélanger par agitation
- Laisser agir **20 mn** et rincer à l'eau neutre.
- Laisser la lame sécher à l'air libre
- Observation au microscope.

Coloration Papanicolaou (Marshall P. N, 1983):

- Réhydratation du frottis à l'aide d'une immersion ultérieure dans la concentration graduelle d'alcool (**70%** d'éthanol pendant 1 min puis **50%** d'éthanol durant 1 min), après rinçage à l'eau distillée (**1 min**).
- Coloration nucléaire à l'hématoxyline (**3 à 10min**).
- Eau courante **5 à 10 min** (bleuté).
- Immersion dans la concentration graduelle d'alcool (2 min à **70%** d'éthanol et **90%** d'éthanol pendant 2 min)
- Coloration cytoplasmique par *l'Orange G* (OG) (**5 min**).
- Immersion dans l'alcool à **95% d'éthanol** (**2 min**).
- Coloration cytoplasmique par *EA50* (**2min**).
- Déshydratation a l'alcool éthylique absolu (**2min**) en 2 fois.
- Laisser la lame sécher à l'air libre.
- Montage par support de montage *DPX*.
- Observation au microscope.

Coloration PAS (Tabatabaei Shafiei et al., 2014) :

- Préparer la solution de fixateur en mélangeant **0,5 ml** de *formaldéhyde* à 37% et **4,5 ml d'éthanol** à 99%,
- Verser la solution sur la lame de manière à couvrir toute la surface pendant **1 min**, une fois les lames sont séchées
- Rincez la lame pendant **1 min** à l'eau du robinet puis sécher à l'air.
- Placer la lame sur une surface plane et verser **1,50 à 2,00 ml** de la solution *d'acide périodique* sur l'échantillon et incubé pendant **5 min** à température ambiante.
- Rincer les lames avec de l'eau distillée.
- Verser **1,50 à 2,00 ml** du *réactif de Schiff* sur la lame et incubé à température ambiante pendant **15 min**.
- Lavez la lame avec de l'eau distillée pendant **5 min** et sécher à l'air.
- Appliquer **50 µl** de support de montage sur la lame et couvrir par une lamelle.
- Appliquez du vernis à ongles transparent sur les bords de la lamelle, laissez sécher pendant toute une nuit.
- Observation au microscope.

III- Résultats et Discussion

A cause de la pandémie *Covid 19*, nous étions obligés d'orienter notre étude vers une comparaison entre plusieurs articles de recherche, qui traitent différentes Pneumo-pathologies chez les enfants avec une analyse cellulaire de *LBA*.

Ces articles sont obtenus à partir des bases de données en ligne notamment : **PubMed Central® (PMC), Science Direct, Springer Link et Wiley Online Library.**

Les pathologies pulmonaires chez les enfants sont diverses, ce qui nécessite des techniques efficaces pour leur diagnostic rapide. Dans cette étude, nous avons choisi la technique de *LBA*.

III.1 Diagnostique d'inflammation par LBA

Plusieurs études ont rapporté que l'analyse cellulaire du *LBA* montre une inflammation caractérisée par des pourcentages élevés de neutrophiles, ce qui est fortement prouvé par l'étude de *Gidaris et al. (2010)*. Ces auteurs ont comparé les composants cellulaires et non cellulaires chez 52 enfants, divisés en deux groupes ; (groupe A) atteints de maladies non inflammatoires et (groupe B) atteints de maladies pulmonaires inflammatoires. Ils ont trouvé que la population cellulaire prédominante du *LBA* des enfants du groupe A est composée de macrophages alvéolaires avec un taux de **93,33 %**, par contre le pourcentage du groupe B est significativement plus faible avec une valeur de **42,59 %**.

D'autre part, le taux de neutrophiles est significativement plus réduit chez le groupe A par rapport au groupe B avec des taux respectivement de **2,94 %** contre **49,59 %**.

Par ailleurs, aucune différence significative n'est observée entre les deux groupes pour les lymphocytes.

L'analyse des cytokines *IL-8* et de *TNF- α* sont significativement plus élevés dans le groupe B comparativement au groupe A (*Tableau 3*)

Tableau 3 : Analyse cellulaire des LBA des enfants des groupes A et B (Gidaris et al. 2010)

Groupe	A	B
Nombre	20	32
TCC ($10^4/ml$)	17.92	55.038
Macrophage %	93.33	42.59
Lymphocytes %	3.93	5.94
Neutrophiles %	2.94	49.59
IL-8	234.9	685.83
TNF- α	60.2	220.73

TCC: nombre totale des

Les résultats de l'étude de *Gidaris et al. (2010)* a révélé la présence d'un processus d'infection et d'inflammation dans l'arbre trachéobronchique du groupe B, ce qui est récemment confirmé par les travaux de *Van Rensburg et al. 2019)* sur l'asthme. En effet, ces auteurs ont démontré que le liquide du *LBA* des patients atteint d'inflammation pulmonaire et caractérisé par une neutrophilie (*figure 4*).

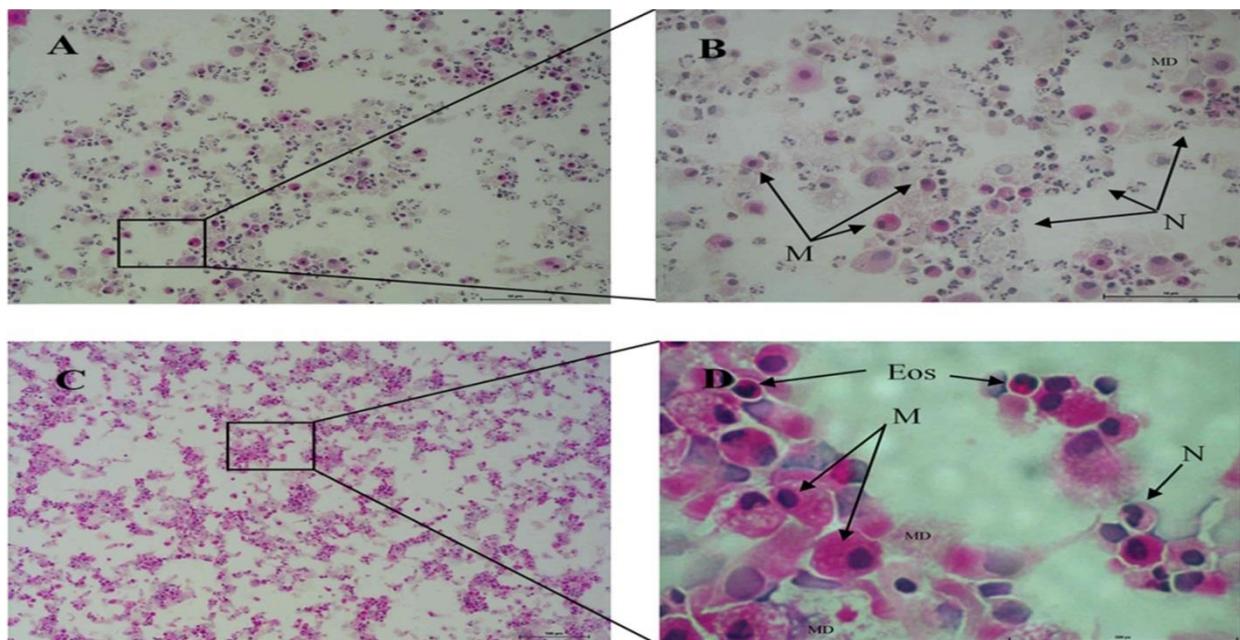


Figure 4 : Échantillon de LBA après isolement de cellules mononucléées d'un patient diagnostiqué d'asthme (A et B) et d'un patient sain avec une obstruction des voies respiratoires (C et D) (Van Rensburg et al. 2019)

Abréviations : M: Macrophage, N: Neutrophile, Eos: Eosinophile, MD: Débris de mucus.

La barre d'échelle représente : (A et B) $\times 50 \mu m$, (C) $\times 100 \mu m$, (D) $\times 500$.

Dans une autre étude sur les modèles d'inflammation chez les enfants atteints de mucoviscidose, *Regamey et al. 2012*, ont confirmé à travers l'analyse cellulaire du LBA que l'inflammation est dominée par les neutrophiles (*figure 5*).

De plus, ces auteurs ont révélé par biopsie que la muqueuse bronchique est caractérisée par le recrutement et l'accumulation de lymphocytes. Ceci prouve que dans certaines maladies l'analyse du *LBA* à elle seule n'est pas suffisante pour un diagnostic complet.

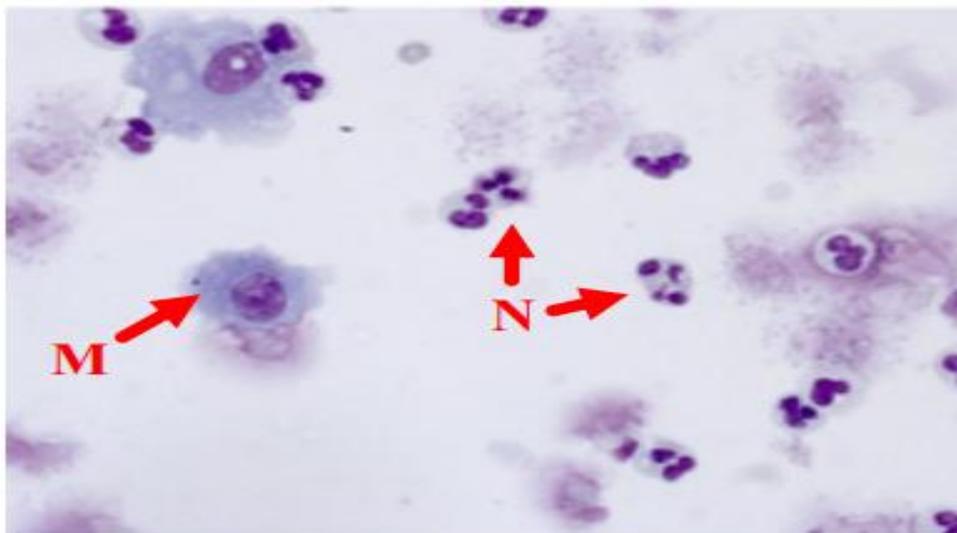


Figure 5 : Echantillon LBA d'un enfant atteint de mucoviscidose pendant 10 ans (May Grunwald Giemsa, original $\times 400$) (Regamey et al. 2012)

III.2 Utilisation de LBA dans le diagnostic d'asthme

La toux chronique isolée dans l'enfance est une plainte courante. Même si la toux est incluse dans la définition de l'asthme infantile, il n'est pas sûr que la majorité de ces enfants souffrent d'asthme.

Dans l'étude de *Fitch et al. (2000)*, ils ont étudié la toux chronique en recherchant des signes d'inflammation des voies respiratoires typiques de l'asthme, avec un nombre accru d'éosinophiles des voies respiratoires. Ils ont noté une augmentation faible mais significative d'éosinophiles chez les enfants atteints de toux chronique par rapport aux témoins non asthmatiques *0,28%* contre *0,10%* respectivement.

Cependant, le pourcentage d'éosinophiles est inférieur à celui des témoins asthmatiques atopiques *0,28%* contre *0,66%* respectivement ; à l'exception de **3** enfants qui présentaient des éosinophiles *LBA* supérieurs à l'intervalle normal. D'autre part, une

augmentation faible mais significative de neutrophiles chez les enfants atteints de toux par rapport aux témoins non asthmatiques, avec respectivement des taux de **5,85%** contre **3,21%**.

Seuls **4** enfants avaient des neutrophiles **LBA** supérieurs à l'intervalle normal.

Ces auteurs concluent que seule une minorité d'enfants atteints de toux chronique inexpliquée, présentaient une inflammation des voies respiratoires de type asthmatique.

En **2003**, **Just et al.**, ont confirmé les résultats de l'étude précédente et ont précisé les types d'asthme qui peuvent être diagnostiqués avec des éosinophiles et des neutrophiles de **LBA**. Leurs résultats suggèrent que l'asthme allergique est associé à la présence d'éosinophiles alvéolaires ; l'asthme persistant sévère et son ancienneté sont liés à une augmentation du nombre de neutrophiles alvéolaires.

L'étude de **Teague et al. (2019)** a rapporté que le **LBA** aide à distinguer les différents types d'asthme (éosinophilie, neutrophilie, granulocytes mixtes et pauci-granulocytes) à travers la numération cellulaire, dans le but de confirmer le diagnostic et la sélection d'un traitement non corticostéroïdes. En outre, ils ont suggéré le nombre de cellules du **LBA** dans chaque type (**Annexe II**) et suggéré un traitement alternatif de l'asthme pauci-granulocyttaire avec des thérapies ciblant l'épithélium bronchique tel que les macrolides. D'autre part, ils ont trouvé que l'évaluation des granulocytes **LBA**, pourrait améliorer la sélection des thérapies biologiques par rapport à l'utilisation du sang seul.

III.3 Diagnostique des infections pulmonaires chez les enfants immunodéprimés par LBA

Dans une étude récente de **Rizik et al. (2018)**, l'association de la **fibroscopie optique (FOB)** avec le **LBA**, a prouvé son efficacité et sa sécurité comme outil de diagnostic, afin d'identifier le pathogène causal chez les patients hémato-oncologiques, qui ont été évalués pour une atteinte pulmonaire. L'identification de l'agent pathogène exact causant la maladie, par analyse du **LBA** et **FOB**, a permis un changement plus orienté et même complet du cours du traitement chez **63%** des patients.

Comparativement aux travaux de **Efrati et al. (2007)** et **Rao et al. (2013)**, l'étude de **Rizik et al. (2018)**, a rapporté que l'association de **FOB** et **LBA** est très utile pour identifier des agents pathogènes spécifiques liées aux infections pulmonaires chez les enfants immunodéprimés. Ainsi, un diagnostic définitif d'un pathogène infectieux majoritairement

viral comme le *CMV* et des pathogènes opportunistes tels que la pneumocystose (*PCP*) et *Aspergillus* (*Annexe II*) a été établi dans 47% des cas.

D'autres analyses ont publié des étiologies infectieuses de *LBA* chez 53% et 30% des patients (*Efrati et al. 2007*) et (*Park et al. 2002*) respectivement. Ces auteurs ont indiqué que les résultats du *LBA* positifs et négatifs sont importants pour adapter une gestion appropriée. Par conséquent, le *LBA* doit être considérée comme un outil de diagnostic initial dans l'évaluation des patients pédiatriques immunodéprimés présentant des manifestations pulmonaires.

III.4 *LBA et diagnostic des maladies rares*

La maladie de *Gaucher* est une maladie autosomique récessive résultant de la mutation du gène (*GBA, MIM 606463*) codant pour la *glucocérébrosidase (GBA)*, qui se traduit par l'accumulation de cette enzyme dans le cytoplasme des macrophages.

Une étude réalisée par *Adachi et al. (2017)*, a rapporté que la détection de ces macrophages mousseux hypertrophiés dans les poumons à l'aide de *LBA* est hautement possible en utilisant les colorations au *Giemsa, Papanicolaou* et autres. (*Figure 6*)

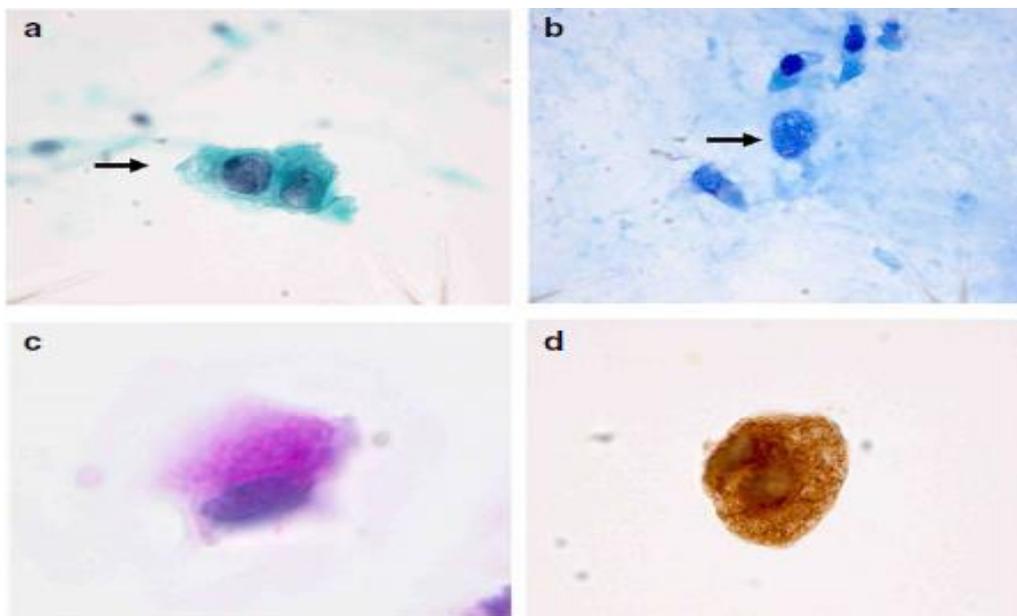


Figure 6 : Cellules mousseuses élargies dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (*Adachi et al. 2017*),

(a) flèche ; Coloration Papanicolaou, (b) Coloration Giemsa, (c) PAS,

(d) CD68 très suggestive des cellules de Gaucher.

L'histiocytose à cellules de Langerhans (**LCH**) est une maladie rare touchant principalement les enfants et les jeunes adultes, mais qui peut être trouvée dans n'importe quel groupe d'âge. Le diagnostic de la **LCH** est souvent difficile et peut être retardé en raison de sa rareté.

En **2019 Phulware et al.**, ont mis en évidence les caractéristiques cytomorphologiques dans une grande cohorte des cas, dont la majorité est située dans la tranche d'âge *de 0-5 ans*.

Ainsi, en utilisant des aspirations à *l'aiguille fine (FNA)* et un **LBA**, les frottis cytologiques ont montré que la cellularité s'est avérée modérée à hautement cellulaire dans la majorité des cas environ **58%** alors que les cellules de Langerhans ont été observées en abondance dans **72%** des cas.

De plus, des zones de nécrose ont été observées dans **38%** des cas, tandis que **78%** présentaient des cellules géantes.

La majorité des cas ont montré une éosinophilie légère de **61%**, une lymphocytose clairsemée à **83%** et une infiltration neutrophile légère de **64%**, ces résultats indiquent fortement la présence de **LCH**.

Ces résultats confirment qu'un diagnostic cytologique précis peut éviter des procédures inutiles et invasives, comme la ponction et la biopsie de la moelle osseuse et guider une prise en charge appropriée.

CONCLUSION

Les voies respiratoires humaines sont ouvertes sur le monde extérieur, ce qui les rend sensibles à un certain nombre de maladies, en particulier chez les enfants qui n'ont pas encore acquis l'immunité contre les virus et bactéries. Ceci fait un problème de santé majeur pour le monde entier.

La sensibilité du corps d'un enfant, fait disposer un ensemble de techniques d'analyse pour diagnostiquer et traiter efficacement et rapidement ces pathologies, ce qui est une grande préoccupation dans la recherche pédiatrique.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés, à l'étude de l'importance de l'analyse cytologique du *lavage broncho alvéolaire (LBA)* et les informations fournies par ces composants cellulaires comme un outil de diagnostic chez l'enfant.

Au début, notre travail était censé être menée sur **30** enfants, mais à cause de la pandémie du *Covid-19*, nous étions obligés de modifier l'étude, en faisant une comparaison de résultats d'articles de recherches publiées dans différentes pathologies pulmonaires chez l'enfant.

Nous avons constaté que l'analyse cytologique *LBA* est un outil utile pour diagnostiquer la plupart des pathologies pédiatriques pulmonaires courantes, dont l'inflammation et ses causes en détectant les types de cellules immunitaires dominant dans le liquide.

D'après l'étude de *Gidaris et al. (2010)* sur l'inflammation chez les enfants, ils ont démontré que le liquide *LBA* était dominé par les neutrophiles à raison de **(49,59%)** contre **(2,94 %)** chez les enfants non inflammatoires, avec une diminution de **(42,59%)** de macrophages contre **(93,33 %)**. Un résultat similaire a été trouvé par *Van Rensburg et al. (2019)*. Ceci laisse conclure que la présence d'un profil neutrophile dominant avec une diminution des macrophages est une forte preuve d'inflammation et d'infection.

De plus, le *LBA* aide à détecter les agents pathogènes provoquant une inflammation infectieuse, particulièrement en cas de maladies sensibles comme la mucoviscidose. Ceci permet de créer un meilleur plan thérapeutique pour chaque cas, mais une étude de biopsie en parallèle est nécessaire (*Regamey et al. 2012*).

De même pour la maladie d'asthme, le *LBA* donne des informations importantes pour définir le type d'asthme, les agents pathogènes qui peuvent augmenter la gravité de la maladie, ainsi que le bon plan thérapeutique *Teague et al. (2019)*.

Le **LBA** peut donner un diagnostic même pour des maladies rares chez les enfants, notamment, la maladie de **Gaucher** en détectant les macrophages mousseux hypertrophiés **Adachi et al. (2017)**.

Dans la **LCH**, l'étude de **Phulware et al. (2019)** a révélé l'existence de cellules de langerhance dans (72%) des cas, avec une présence excessive d'éosinophiles environ (61%) et (83%) de lymphocytes.

Conclusion

Par ailleurs, la **LBA** reste une procédure simple et efficace pour détecter les pathologies pulmonaires chez les enfants immunodéprimés, en raison de leur fragilité corporelle et de leur capacité à saigner facilement (**Rizik et al., 2018**).

Le **LBA** peut soutenir le diagnostic d'un type spécifique de pathologies ou aider à affiner le diagnostic différentiel, lorsqu'il est considéré dans le contexte des résultats cliniques et radiologiques. Bien que son rôle soit limité dans le diagnostic et le pronostic de certaines pathologies, le nombre de lésions avec un diagnostic spécifique dépasse le nombre de lésions qui ne peuvent pas être diagnostiquées. Ceci laisse déduire, que le **LBA** est une méthode de diagnostic importante pour le diagnostic de routine et les techniques de dépistages supplémentaires à des fins de recherche, avec l'association d'analyse radiologiques et même les analyses du sang.

L'étude du fluide **LBA** continue d'être un terrain fertile pour la recherche pédiatrique. Les informations obtenues de l'étude des composants cellulaires sont importantes pour améliorer les capacités à identifier les marqueurs précoces de la sensibilité aux pathologies respiratoires. D'autre part, surveiller et prédire la progression de la maladie, comprendre la pathogenèse et les résultats des maladies pulmonaires.

A l'issue de cette étude, plusieurs orientations peuvent être envisagées et pourront faire l'objet de travaux futurs :

- Augmenter la taille d'échantillonnage.
- Choisir une tranche d'âge différente ou plus restreinte.
- Inclusion de l'étude moléculaire des cellules immunitaires (le rapport **CD8/CD4**, **IL-8** et **TNF- α** ...).
- Utilisant d'autres types de coloration (**Coloration de Perls**, **Huile rouge**, et **Grocott**).
- Étudier les biomarqueurs des carcinomes broncho alvéolaire, par exemple les protéines des cellules de Clara (la protéine **CC10**).

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Adachi H., Noguchi A., Ota S., Takahashi T., et Nanjo H. (2017).** Bronchoalveolar lavage fluid in an infant with perinatal lethal Gaucher disease. *Pediatrics International*, 59(5), p636–637.
- Aderem A., et Underhill D. M. (1999).** Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual Review of Immunology*, 17(1), p593–623.
- Aouadi S., Majdoub Fehri S., Gharsalli H., Moussa I., Brahem E., Maalej S., et Douik El Gharbi L. (2017).** Profil cytologique du lavage broncho-alvéolaire dans la sarcoïdose médiastino-pulmonaire. *Revue Des Maladies Respiratoires*, volume 34, pA145.
- Basset C., Holton J., O'Mahony R., et Roitt I. (2003).** Innate immunity and pathogen–host interaction. *Vaccine*, 21, Suppl 2, pS12–S23.
- Bals R et Hiemstra P. S. (2004).** Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *European Respiratory Journal*, 23(2), p327–333.
- Ben Amar J., Maazaoui S., et Zaibi H. (2016).** Profil du lavage broncho-alvéolaire dans la sarcoïdose pulmonaire. *Revue Des Maladies Respiratoires*, volume 33, pA208.
- Born W. K., Reardon C. L., et O'Brien, R. L. (2006).** The function of $\gamma\delta$ T cells in innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 18(1), p31–38.
- Blanco P., Palucka A., Pascual V., et Banchereau J. (2008).** Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 19(1), p41–52.
- Brinkmann V. (2004).** Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*, 303 (5663), p1532–1535.
- C. Coraux R. Hajj, P. Lesimple E. Puchelle (2005).** Réparation et régénération de l'épithélium respiratoire, *M/S : médecine sciences* 21, p1063–1069.
- Cerwenka A., et Lanier L. L. (2001).** Natural killer cells, viruses and cancer. *Nature Reviews Immunology*, 1(1), p41–49.
- Chaudhry R, Bordoni B (2020).** Anatomie, thorax,lungs. *In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-*.
- Collins A. M., Rylance J., Wootton D. G., Wright A. D., Wright A. K. A., Fullerton D. G., Gordon S. B (2014).** Bronchoalveolar Lavage (BAL) for Research; Obtaining Adequate Sample Yield. *Journal of Visualized Experiments* (85), p4345.
- Connett G. J. (2000).** Bronchoalveolar lavage. *Paediatric Respiratory Reviews*, 1(1), p52-56.
- Delves P. J., et Roitt I. M. (2000).** The Immune System. *New England Journal of Medicine*, 343(1), p37–49.

- Denize T., Boussen I., Delecourt F., Leclerc J., et Molina T. J. (2018).** Lavage bronchoalvéolaire de l'enfant et de l'adulte, rôle du pathologiste. *Revue Francophone Des Laboratoires*, (498), p49–59.
- Desai JP et Moustarah F., (2020).** Pulmonary Compliance. *In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-*.
- Efrati O., Gonik U., Bielorai B., Modan-Moses D., Neumann Y., Szeinberg A., Vardi A., Barak A., Paret G., Toren A. (2007)** Fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage for the evaluation of pulmonary disease in children with primary immunodeficiency and cancer. *Pediatr Blood and Cancer.*;48 (3) p324–329.
- Eisele N. A., et Anderson, D. M. (2011).** Host Defense and the Airway Epithelium: Frontline Responses That Protect against Bacterial Invasion and Pneumonia. *Journal of pathogens*, 2011, p249802.
- Evans MJ, Cabral-Anderson LJ, Freeman G (1978).** Role of the Clara cell in renewal of the bronchiolar epithelium. *Lab Invest*, 38:p648–53
- Fehrenbach H. (2001).** Alveolar epithelial type II cell: defender of the alveolus revisited. *Respiratory research*, 2(1), p33–46.
- Ferrero-Miliani L., Nielsen O. H., Andersen P. S., et Girardin, S. E. (2007).** Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clinical and experimental immunology*, 147(2), p227–235.
- Fitch P. S., Brown V., Schock B., Taylor R., Ennis M., et Shields M. (2000).** Chronic cough in children: bronchoalveolar lavage findings. *European Respiratory Journal*, 16(6), p1109–1114.
- Ganesan S., Comstock A. T., et Sajjan U. S. (2013).** Barrier function of airway tract epithelium. *Tissue Barriers*, 1(4), pe24997.
- Gidaris D., Kanakoudi-Tsakalidou F., Papakosta D., Tzimouli V., Taparkou A., Ventouri M., et Tsanakas I. (2010).** Lavage bronchoalvéolaire chez les enfants atteints de maladie pulmonaire inflammatoire et non inflammatoire. *Hippokratia*, 14 (2), p109–114.
- Goerke J. (1998).** Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*, volume 1408(2-3), p79–89.
- Gold W. M., et Koth L. L. (2016).** Pulmonary Function Testing. *In: Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine (Sixth Edition)*, volume 1, chapitre 25, p407-435.e18.
- Gordon S. B., et Read R. C. (2002).** Macrophage defences against respiratory tract infections. *British Medical Bulletin*, 61(1), p45–61.

- Hajj R, Baranek T, Le Naour R, Lesimple P, Puchelle E, Coraux C (2007).** Basal cells of the human adult airway surface epithelium retain transit-amplifying cell properties. *Stem Cells*, 25: p139–48.
- Henderson A. J. (1994).** Bronchoalveolar lavage. *Archives of Disease in Childhood*, 70(3), p167–169.
- Hogan S. P., Rosenberg H. F., Moqbel R., Phipps S., Foster P. S., Lacy P., Rothenberg M. E. (2008).** Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical & Experimental Allergy*, 38(5), p709–750.
- J. de Blic, Midulla F, Barbato A, Clement A, Dab I, Eber E, Green C, Grigg J, Kotecha S, Kurland G, Pohunek P, Ratjen F, Rossi G.(2000).** Bronchoalveolar lavage in children. ERS Task Force on bronchoalveolar lavage in children. *European Respiratory Society. Eur Respir Jan*;15: p217-31.
- Just J., Fournier L., Goudard E., Momas I., Sahraoui F., et Grimfeld A. (2003).** L'éosinophile et le neutrophile alvéolaires chez l'enfant asthmatique : quelle signification clinique ? *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 43(3), p153–158.
- Khan YS, Lynch DT (2020).** Histologie, poumon. *In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-*.
- Lachant DJ, Croft DP, McGrane Minton H, Hardy DJ, Prasad P, Kottmann RM (2018).** L'impact clinique des pneumocystes et des tests de PCR virale sur le lavage broncho-alvéolaire chez les patients immunodéprimés. *Respir Med*, 145 : p35-40.
- Marshall P. N. (1983).** Papanicolaou staining-a review. *Microscopica acta*, 87(3), p233–243.
- Maruyama K., Inaba T., Tamada T., et Nakazawa T. (2016).** Vitreous lavage fluid and bronchoalveolar lavage fluid have equal diagnostic value in sarcoidosis. *Medicine*, 95(49), pe5531.
- Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, du Bois RM, Drent M, Haslam PL, Kim DS, Nagai S, Rottoli P, Saltini C, Selman M, Strange C, Wood B, (2012).** An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: The Clinical Utility of Bronchoalveolar Lavage Cellular Analysis in Interstitial Lung Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 185(9), p1004–1014.
- Meyer K. C. (2004).** The role of bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Clinics in Chest Medicine*, 25(4), p637–649.
- Meyer K. (2007).** Bronchoalveolar Lavage as a Diagnostic Tool. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 28(5), p546–560.
- Midulla F., et Nenna R. (2010).** Bronchoalveolar Lavage: Indications and Applications. *In: Priftis KN, Anthracopoulos MB, Eber E, Koumbourlis AC, Wood RE (eds): Paediatric Bronchoscopy. Prog Respir Res. Basel, Karger 2010, vol 38, pp 30–41.*

- Min B., et Paul W. E. (2008).** Basophils and type 2 immunity. *Current Opinion in Hematology*, 15(1), p59–63.
- Murray JF(2010).** The structure and function of the lung. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 14(4):p391–396.
- Nieto JMS; Alcaraz AC (1995).** "Le rôle du lavage broncho-alvéolaire dans le diagnostic de pneumonie bactérienne". *Journal européen de microbiologie clinique et des maladies infectieuses*. 14 : p 839-50.
- Organisation mondiale de la santé (19 mars 2020).** "Tests de laboratoire pour la maladie à coronavirus (COVID-19) dans les cas suspects chez l'homme: directives provisoires». *WHO / COVID-19 / Laboratory / Organisation mondiale de la santé*.
- Park JR, Fogarty S, Brogan T.V(2002).** Clinical utility of bronchoalveolar lavage in pediatric cancer patients. *Med Pediatr Oncol.*; 39: p175–180.
- Park K.-S., Wells J. M., Zorn A. M., Wert S. E., Laubach V. E., Fernandez L. G., et Whitsett J. A. (2006).** Transdifferentiation of Ciliated Cells during Repair of the Respiratory Epithelium. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 34(2), p151–157.
- Parkin J., et Cohen B. (2001).** An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270), p1777–1789.
- Phulware R. H., Guleria P., Iyer V. K., Bakhshi S., Seth R., Mridha A. R., Jain D., Mallick S., Arava S. K., Agarwal S., Kaushal S., Yadav R., et Mathur S. R. (2019).** Cytological diagnosis of Langerhans cell histiocytosis: A series of 47 cases. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology*, 30(4), p413–418.
- Piaton E., Fabre M., Goubin-Versini I., Bretz-Grenier M. F., Courtade-Saïdi M., Vincent S., Belleannée G., Thivolet F., Boutonnat J., Debaque H., Fleury-Feith J., Vielh P., Egelé C., Bellocq J. P., Michiels J. F., et Cochand-Priollet B. (2016).** Guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining in haematology and non-gynaecological cytopathology: recommendations of the French Society of Clinical Cytology (SFCC) and of the French Association for Quality Assurance in Anatomic and Cytologic Pathology (AFAQAP). *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology*, 27(5), p359–368.
- Poletti V., Poletti G., Murer B., Saragoni L., et Chilosi M. (2007).** Bronchoalveolar Lavage in Malignancy. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 28(5), p534–545.
- Radha S., Ravindra N., Afroz T., et Prasad S. (2014).** Diagnostic utility of bronchoalveolar lavage. *Journal of Cytology*, 31(3), p136-138.
- Rao U., Piccin A., Malone A., O'Hanlon K., Breatnach F., O'Meara A., McDermott M., Butler K., O'Sullivan N., Russell J., O'Marcaigh A., Smith O P. (2013)** Utility of bronchoalveolar lavage in the diagnosis of pulmonary infection in children with haematological malignancies. *Ir J Med Sci.*;182 (2) p177–183.

Regamey Nicolas, LEMONIA Tsartsali, Tom N Hilliard, Oliver Fuchs, Hui-Leng Tan, Jie Zhu, Yu-Sheng Qiu, Eric W F W Alton, Peter K Jeffery, Andrew Bush, Jane C Davies (2012). Distinct patterns of inflammation in the airway lumen and bronchial mucosa of children with cystic fibrosis. *Thorax*, 67(2), p164–170.

Riquet M., (2012). Anatomie du poumon humain. *EMC - Pneumologie*, 9(3), p1–11.

Rizik S., Hakim F., Bentur L., Arad-Cohen N., et Kassis I. (2018). Bronchoscopy and Bronchoalveolar Lavage in the Diagnosis and Management of Pulmonary Infections in Immunocompromised Children. *Journal of Pediatric Hematology Oncology*;40(7) p532-535.

Roche N., Perez T., Neukirch F., Carré P., Terrioux P., Pouchain D., J.Ostinelli C. Suret S. Meleze G. Huchon (2011). High prevalence of COPD symptoms in the general population contrasting with low awareness of the disease. *Revue Des Maladies Respiratoires*, 28(7), p58–65

Scanlon VC, anders T (2011). Essentials of anatomy and physiology. 6th eds. F.A. Davis. Philadelphia. chapter 15: respiratory system, p342-361.

Seferian A., et Simonneau, G. (2014). Hypertension pulmonaire : définition, diagnostic et nouvelle classification. *La Presse Médicale*, 43(9), p935–944.

Serafini SM, Michaelson ED (1977). Length and distribution of cilia in human and canine airways. *Bull Eur Physiopathol Respir*, 13:p551–9.

Singh G, Katyal SL, Brown WE, Kennedy AL, Singh U, Wong-Chong ML (1990). Clara cell 10 kDa protein (CC10): comparison of structure and function to uteroglobin. *Biochim Biophys Acta*, 1039:p348–55.

Tabatabaei Shafiei M., Carvajal Gonczi CM, Rahman MS, East A., François J., et Darlington PJ (2014). Détection du glycogène dans les cellules mononucléées du sang périphérique avec coloration périodique à l'acide schiff. *Journal des expériences visualisées: JoVE*, (94), p52199.

Teague W Gerald, Monica G Lawrence, Debbie-Ann T Shirley, Andrea S Garrod, Stephen V Early, Jackie B Payne, Julia A Wisniewski, Peter W Heymann, James J Daniero, John W Steinke, Deborah K Froh, Thomas J Braciale, Michael Ellwood, Drew Harris, Larry Borish (2019). Lung Lavage Granulocyte Patterns and Clinical Phenotypes in Children with Severe, Therapy-Resistant Asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 7(6) p1803-1812.e10.

T. J. Nevalainen, G. G. Graham, K. F. Scott (2008). Antibacterial actions of secreted phospholipases A2. *Review, Biochim. Biophys. Acta* 1781, p1–9.

Tortora G. J. et Bryan H. Derrickson (2015); Principles of anatomy and physiology 14th Ed, John Wiley and Sons, Inc. chapter 23: THE RESPIRATORY SYSTEM, p854.

Valerie C. Scanlon, Tina Sanders. ‘Essentials of Anatomy and Physiology’ *fifth edition, Philadelphia, F. A. Davis Company, 2007.*

Van Rensburg L, van Zyl JM, Smith J, Goussard P. (2019). Effect of exogenous surfactant on Paediatric Bronchoalveolar lavage derived macrophages’ cytokine secretion. *BMC Pulmonary Medicine, 19(1), p236.*

Vareille M., Kieninger E., Edwards M. R., et Regamey N. (2011). The Airway Epithelium: Soldier in the Fight against Respiratory Viruses. *Clinical Microbiology Reviews, 24(1), p210–229.*

Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, Yokoyama WM, Ugolini S. (2011). Innate or Adaptive Immunity? The Example of Natural Killer Cells. *Science, 331(6013), p44–49.*

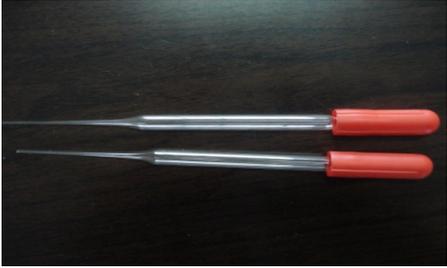
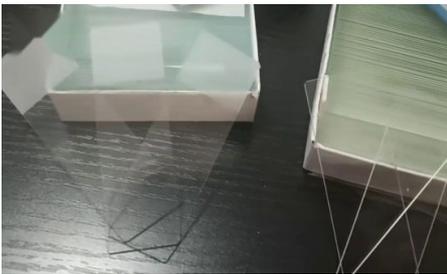
Williams M. C. (2003). Alveolar Type I Cells: Molecular Phenotype and Development. *Annual Review of Physiology, 65(1), p669–695.*

Wood R. E., et Boesch P. R. (2012). Bronchoscopy and Bronchoalveolar Lavage in Pediatric Patients. *In: Kendig & Chernicka’s Disorders of the Respiratory Tract in Children, p131–144.*

Annexes

Annexe I

Matérielles utilisés pour l'analyse cytologique

Tubes Secs	
Pipettes Pasteur	
Lames en verre	
Centrifugeuse	
Eprouvette graduée	
Coloration May-Grünwald Giemsa	

Coloration Papanicolaou		
Coloration PAS		
Cuve à coloration en verre		
Microscope optique.		

Annexe II

Tableau I : Profils et constituants des granulocytes LBA prévalents chez 126 enfants souffrant d'asthme mal contrôlé. (Teague et al. 2019)

BAL constituents	Isolated eosinophilia	Isolated neutrophilia	Mixed granulocytic	Pauci-granulocytic
Sample, n (%) [*]	12 (9.5)	20 (15.9)	28 (22.2)	66 (52.4)
Total cell count [†] (× 10 ⁶ cells)	1.78 (0.96-2.25)	1.79 [‡] (1.22-5.51)	1.61 (0.57-2.92)	1.08 (0.52-2.20)
Differential cellular constituents, n (%) [§]				
Macrophages	72 (59-82)	61 (38-82)	43 (15-64)	76 (64-90)
Neutrophils	1 (0-2)	12 (7-38)	23 (11-56)	1 (1-3)
Eosinophils	4 (1-6)	0 (0-0)	3 (2-9)	0 (0-0)
Lymphocytes	3 (2-7)	3 (1-6)	3 (1-8)	2 (1-5)
Ciliated epithelial cells	16 (8-30)	10 (4-14)	11 (4-20)	15 (5-28)
Aspiration marker [¶]				
Lipid-laden macrophage index	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-1)

Tableau II : Agents pathogènes isolés des échantillons LBA. (Rizik et al. 2018)

Pathogen Types	No. Patients With Each Pathogen (n)
Bacteria	33
<i>Haemophilus influenza</i>	15
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	2
<i>Pseudomonas</i>	7
Virus	34
CMV	18
Adenovirus	5
hMPV	3
RSV	4
Influenza	4
Parainfluenza	3
HSV6	2
Fungi	17
PCP	4
<i>Aspergillus</i>	9
<i>Candida nonalbicans</i>	4

CMV indicates cytomegalovirus; hMPV, human metapneumovirus; HSV, herpes simplex virus; PCP, *P. jirovecii*; RSV, respiratory syncytial virus.