

陈小竹, 盛正尧, 沈嘉仪, 等. 犬支气管肺泡灌洗术建立及灌洗液细胞学统计分析 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (6): 72-77.

CHEN X Z, SHENG Z Y, SHEN J Y, et al. Development of bronchoalveolar lavage and cytological analysis of lavage fluid in dogs [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (6): 72-77.

犬支气管肺泡灌洗术建立及灌洗液细胞学统计分析

陈小竹¹, 盛正尧¹, 沈嘉仪², 杨德吉¹, 姚大伟^{1*}

(1. 南京农业大学动物医学院兽医影像诊断中心, 江苏 南京 210095;

2. 南京中医药大学针灸推拿学院/养生康复学院, 江苏 南京 210023)

摘要: 旨在建立规范的支气管肺泡灌洗术 (BAL) 操作、支气管肺泡灌洗液 (BALF) 细胞学检测流程和健康犬 BALF 相关指标的参考数据, 为 BAL 在兽医临床上的应用提供参考。本研究选择无呼吸道疾病指征的 14 只健康比格犬进行多次经支气管镜肺泡灌洗术, 回收 BALF, 统计回收率, 并对其进行有核细胞总计数 (TNCC)、细胞分类计数分析, 通过 BAL 操作绘制健康犬的内镜下支气管解剖图。结果显示, 98 份 BALF 中样品合格回收率是 92.1%, 出血的概率为 3.4%; 成功采集的 89 份样本中, 犬 BALF 回收率较高的肺叶为右副叶 (64.5%)、左前叶后部 (60.4%)、左前叶前部 (57.7%), 其余肺叶回收率均在 40%~50% 之间; BALF 平均有核细胞数 304.48×10^6 个/L, 细胞类型出现频率由高到低依次为巨噬细胞 (85.9%)、淋巴细胞 (13.0%)、中性粒细胞、肥大细胞、浆细胞, 而上皮细胞比例受人为操作影响较大, 一般在分类计数时忽略不计。本研究绘制了健康犬内镜下支气管镜解剖图, 建立了兽医临床犬 BAL 操作流程, 获得了健康犬 BALF 细胞学参考值, 为兽医临床上犬的下呼吸道疾病的诊断和鉴别诊断提供帮助。

关键词: 支气管镜; 支气管肺泡灌洗; 细胞学; 呼吸系统

中图分类号: S857.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)06-0072-06

Development of bronchoalveolar lavage and cytological analysis of lavage fluid in dogs

CHEN Xiaozhu¹, SHENG Zhengyao¹, SHEN Jiayi², YANG Deji¹, YAO Dawei^{1*}

(1. Veterinary Imaging Diagnosis Center, College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. College of Acupuncture, Moxibustion and Massage/College of Health Preservation and Rehabilitation, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

Abstract: To establish standardized BAL procedures, BALF cytological testing procedures, and a standard database for healthy dogs in order to provide reference for the clinical application of bronchoalveolar lavage through fiberoptic bronchoscopy in veterinary medicine, in this study, 14 healthy Beagle dogs with no signs of respiratory diseases were selected for multiple bronchoscopic alveolar lavage. BALF was recovered and the recovery rate was calculated. The total nucleated cell count (TNCC), cell classification counts and statistical analyses were performed. Atlas of endoscopic bronchial anatomy in healthy dogs was performed by BAL manipulation. The results were that the qualified rate of the samples in 98 BAL was 92.1%, and the probability of bleeding was 3.4%. In the 89 qualified samples, the highest BAL recovery rates were found in the right accessory lobe (64.5%), the posterior left cranial lobe (60.4%) and the anterior left cranial lobe (57.7%). The average quantity of the nucleated cells in BALF was 304.48×10^6 /L, and the frequency of the cell types from high to low were that of macrophages (85.9%), lymphocytes (13.0%), neutrophils, mast cells and plasma cells; while the proportion of epithelial cells was strongly affected by human manipulation, and was generally ignored in classification and counting. In this study, the atlas of endoscopic bronchial anatomy in healthy dogs was drawn, the BAL operation procedure and the reference value of BALF cytology were established, which would be of help for the diagnosis and differentiation of canine lower respiratory diseases in veterinary clinic practice.

Keywords: bronchoscopy; bronchoalveolar lavage; cytology; respiratory system

收稿日期: 2023-11-27; 修回日期: 2024-03-26

基金项目: 中央高校基本科研业务费项目 (KYYJ202104)

第一作者: 陈小竹, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 姚大伟, 副教授, 主要从事兽医影像诊断技术研究, E-mail: yaodawei@njau.edu.cn。

肺部疾病是动物常发的呼吸系统疾病，然而目前兽医临床上对肺部疾病的诊断能力有限，主要依靠胸部X线检查以及CT检查。胸部X线检查对检测直径小于3~5 mm的病变不敏感，CT检查虽然能够检测较小的病灶，但是对于判断病灶性质的能力有限。有研究表明，组织学证实的肺转移病例中有25%没有被常规的影像学检查发现。在慢性咳嗽的犬中，X线几乎不能准确评估犬呼吸道病变程度^[1]，而且影像学发现的异常表现很少是单一的疾病过程。例如，真菌性感染、肿瘤感染、寄生虫病、非典型细菌感染和非传染性炎症性疾病都可引起结节性间质模式^[2]。支气管肺泡灌洗术（bronchoalveolar lavage, BAL）是经支气管内窥镜管道用药物或生理盐水灌洗目标肺叶，并对回收的支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid, BALF）进行病原学、细胞学等检查的一项较为安全和有效的诊疗技术。BAL除了能够筛查引起肺部感染性疾病的病原并指导用药以外，BALF有核细胞计数（total nucleated cell count, TNCC）和细胞分类计数（differential Count, DC），可以为诊断某些肺部非感染性疾病如嗜酸性粒细胞型肺病、肺癌^[3]、寄生虫病^[4]、间质性肺疾病^[5-7]等提供非常有价值的参考依据。虽然国外有文献已经公布了犬猫BALF细胞学的“正常范围”^[2]，也有相关对BAL操作的描述，然而国内关于犬的BAL技术以及BALF分析的研究还鲜有报道。BAL专家Connett^[8]建议每个实验室应建立自己的“正常范围”，以排除操作、判读的影响。因此建立适合国内小动物诊疗大环境的技术操作规范、数据库等是当下所亟需解决的问题。本研究对BAL技术、BALF细胞学检查等内容进行了详细的研究，旨在为犬的下呼吸道疾病的诊断和鉴别诊断提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物

健康比格犬14只（仪征安立卵生物科技有限公司），年龄均为1.5岁，雄性8只，雌性6只。无咳嗽、发热、流鼻涕、呼吸困难等呼吸道症状。血常规检查无白细胞计数及分类计数的异常。胸部X线摄影和CT检查显示肺纹理清晰，肺野内无明显异常密度病灶。

1.2 主要试剂、药品和设备

快速瑞氏姬姆萨染色液（南京建成生物科技有限公司）；快速法革兰染色液（珠海贝索生物技术有限公司）；Ocus40便携式玻片扫描仪（芬兰Grundium公司）；舒泰50（法国维克有限公司）；陆眠灵注射液、陆醒宁注射液（圣达动物药品有限公

司）；盐酸利多卡因注射液（吉林省华牧动物保健品有限公司）；VBS30小动物多功能电子软镜（南京宠阳企业管理有限公司），32排16层螺旋CT（日本日立公司）。

1.3 动物麻醉方法

试验犬在麻醉前禁食、禁水12 h，舒泰：陆眠灵=1：3混合麻醉，静脉注射0.03 mL/kg。进入麻醉状态后，进行气管插管连接呼吸机，连接监护仪进行生命体征的监测。

1.4 支气管肺泡灌洗方法

先将灭菌聚乙烯管（内径0.6 mm，外径1.0 mm）置入柔性支气管镜活检通道内，然后经气管插管插入支气管镜，使用操控杆进行方向控制，依次观察气管以及支气管各亚段。使用2%利多卡因采用“边麻边进”的方法进行局部支气管黏膜表面麻醉：将装有利多卡因的注射器与聚乙烯管连接，当支气管镜在气道内通行引起犬咳嗽反射时，推注0.1~0.2 mL利多卡因（内镜下可见水滴流入气道），随后等待2~3 s咳嗽停止即可继续进镜。经支气管镜检查气道内壁情况，然后将支气管镜末端送入目标肺叶的段支气管（3~4级支气管）处，然后进行灌洗操作。将5 mL 37℃灭菌生理盐水通过聚乙烯管快速注入肺叶内，并立即用合适的负压（以液体可顺利回收，支气管壁不塌陷为宜）将液体回抽进注射器内，获取BALF，当呼气末支气管镜视野下无流动液体时停止回抽，回收尽量多的液体，计算BALF回收率（回收率=回收的BALF体积/5×100%），回收率>30%为宜。BALF分装于1.5 mL灭菌离心管中保存。在1 h内进行细胞计数和细胞涂片制作。最终收集每只试验犬所有7个肺叶（右前叶、中叶、后叶、副叶，左前叶前部、前叶后部、后叶）的BALF相关数据，每次采集3~4个距离相对较远的肺叶，间隔15 d以上再次进行肺泡灌洗术。

1.5 BALF理学检查

将BALF收集到一次性注射器内，肉眼观察BALF的透明度、颜色和性状，泡沫的多少。

1.6 BALF细胞计数

取10 μL BALF加入血细胞计数板的计数池中，静置2 min后，计数BALF中的有核细胞数量，并观察上皮细胞、红细胞污染的情况，注意有无寄生虫、虫卵、真菌菌丝、孢子或异常细胞等。

1.7 BALF细胞学检查

取1 mL BALF，1 000 r/min离心10 min，用一次性吸管去除上清液，留底部沉淀物和部分液体（约50 μL），使用振荡器混匀制成细胞悬液。采用推片法制备细胞涂片：取10 μL细胞悬液滴于载玻片的一

端,以适当的速度推片,迅速干燥。对细胞涂片进行瑞氏姬姆萨染色,显微镜下观察细胞形态并进行细胞分类计数,计数200个细胞,统计BALF中巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞、上皮细胞等细胞的比例。另取细胞涂片进行革兰染色,显微镜下观察有无胞内细菌及细菌的形态。使用树脂封片便于保存并使用便携式玻片扫描仪扫描涂片感兴趣区域并留存数据。

1.8 数据统计与分析

使用Excel软件输入试验数据建立数据库,使用SPSS 24.0版进行数据统计分析,数据采用“平均数±标准差”描述,组间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异显著具有统计学意义。

2 结果

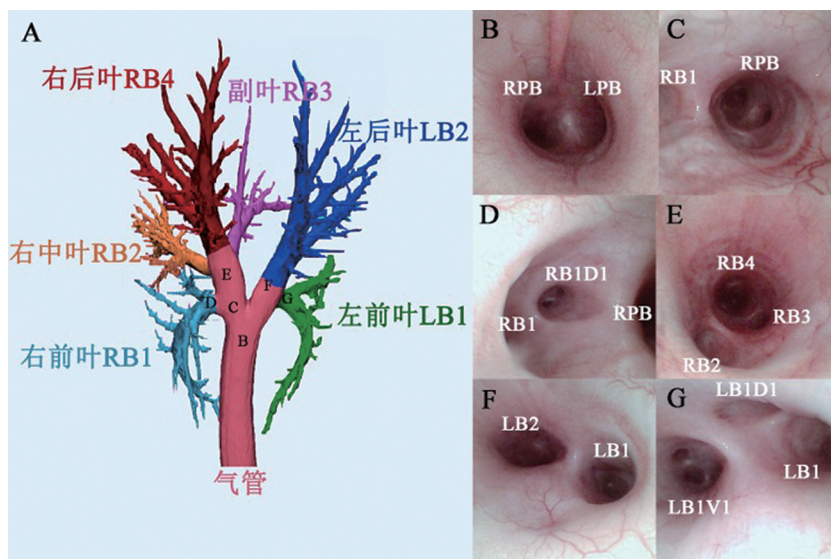
2.1 支气管镜影像解剖

健康犬支气管树示意图如图1A所示,包括气管、主支气管、肺叶支气管、肺段支气管经多次分支,最后与肺泡连通。在支气管镜下可见气管背侧赘膜(图1B),赘膜在支气管镜下可作为初始的方向定位标志。气管向后分叉形成左右主支气管(图1B),

分叉角度约为 40° ,左侧开角大于右侧。

犬俯卧状态下,支气管镜由气管分叉处左转进入右主支气管(RPB)(图1C),可见RPB向右分出右前叶支气管(RB1)进入右前叶,然后向头腹侧走行,尖端趋近正中矢状面,中途分出右前叶背侧第1段支气管(RB1D1)(图1D)。RPB主干向后延续,向7~8点钟方向分出右中叶支气管(RB2)向尾腹侧走行,进入右中叶(图1E)。RPB主干继续向后延续,向4~5点钟方向分出右副叶支气管(RB3),向腹内侧走行进入右副叶(图1E)。RPB主干分出RB3之后延续为右后叶支气管(RB4)进入右后叶(图1E)。

支气管镜由气管分叉处右转进入左主支气管(LPB),在隆突左侧4点钟方向分出左前叶支气管(LB1),进入左前叶(图1F)。LB1入口处向后方发出左前叶腹侧第1段支气管(LB1V1)进入“左前叶后部”,随后LB1主干进入“左前叶前部”,先于入口背侧发出左前叶背侧第1段支气管(LB1D1)后向头腹侧走行,尖端趋近正中矢状面(图1G)。LPB主干分出LB1向后延续为左后叶支气管(LB2),进入左后叶(图1F)。



RPB. 右主支气管; LPB. 左主支气管; RB1. 右前叶支气管; RB1D1. 右前叶背侧第1段支气管; RB2. 右中叶支气管; RB3. 右副叶支气管; RB4. 右后叶支气管; LB1. 左前叶支气管; LB2. 左后叶支气管; LB1V1. 左前叶腹侧第1段支气管; LB1D1. 左前叶背侧第1段支气管。

图1 支气管树示意图(A)和支气管镜影像解剖(B~G)

2.2 BALF回收率

本研究采集了14只犬7个不同肺叶的BALF,共收集98份BALF样品,因堵管造成的无法顺利采样的样品9份,剩余成功记录回收率的样品89份。以 $\geq 30\%$ 为合格回收率,89份中有82份回收率达标,故合格回收率为92.1%。按照不同肺叶统计回

收率,结果如表1所示,左前叶前部、左前叶后部灌洗的合格率最高,所有均合格,右中叶肺叶灌洗的合格率最低。不同的肺叶BALF的回收率不同,其中右副叶的回收率最高,为64.5%,其次为左前叶后部、左叶前部。

表 1 不同肺叶灌洗合格率与回收率

肺叶	合格率/%	回收率/%
右前叶 (n=13)	92.3	48.8±12.7
右中叶 (n=13)	76.9	49.5±18.8
右后叶 (n=10)	90.0	41.2±10.4
右副叶 (n=13)	92.3	64.5±15.3
左前叶前部 (n=13)	100.0	57.7±10.4
左前叶后部 (n=14)	100.0	60.4±14.2
左后叶 (n=13)	92.3	42.6±9.2

2.3 BALF 理学检查

成功采集的 89 份的 BALF 可以观察到，健康犬 BALF 样品大体分为 3 层：最上层为不易破碎的白色泡沫，中层为漂浮的灰白絮状物，其主要成分为脱落的上皮细胞，下层为无色澄清或轻微浑浊的液体（图 2A）。如果 BALF 颜色变橙或红色，可能表示在灌洗过程因人为操作导致气道壁出血（图 2B）。在内镜下可以直接观察到黏膜充血、出血等情况。本研究中有 3 份样品中有少量出血，BALF 呈淡黄/红色，因此在操作过程损伤黏膜导致出血的概率为 3.4%。另外有 14 份 BALF 性状为澄清无泡沫（图 2C），这些无泡沫 BALF 可能是生理盐水并未充分灌洗肺泡，视为不合格样品，这些数据将从细胞学检查数据中去除。

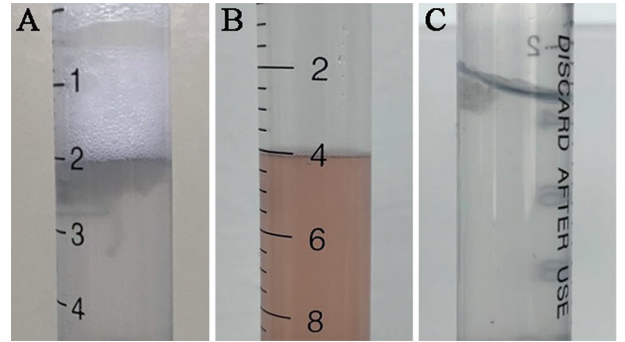
2.4 BALF 有核细胞计数

共收集可靠 BALF 细胞计数结果 60 份，统计结果如表 2 所示，所有健康犬有核细胞数在 $97.5 \times 10^6 \sim 712.5 \times 10^6$ 个/L，平均有核细胞数为 304.48×10^6 个/L。不同的肺叶之间有核细胞数不存在显著差异 ($P > 0.05$)。

2.5 BALF 细胞分类计数

共收集可靠 BALF 分类计数结果 60 份，各类型

的细胞形态如图 3 所示，健康犬 BALF 中可见巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞以及纤毛柱状上皮细胞等。统计各类型的有核细胞的数量结果如表 3 所示，健康犬 BALF 有核细胞中巨噬细胞为主，约占总数的 85.9%，其次是淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、浆细胞，偶见上皮细胞。

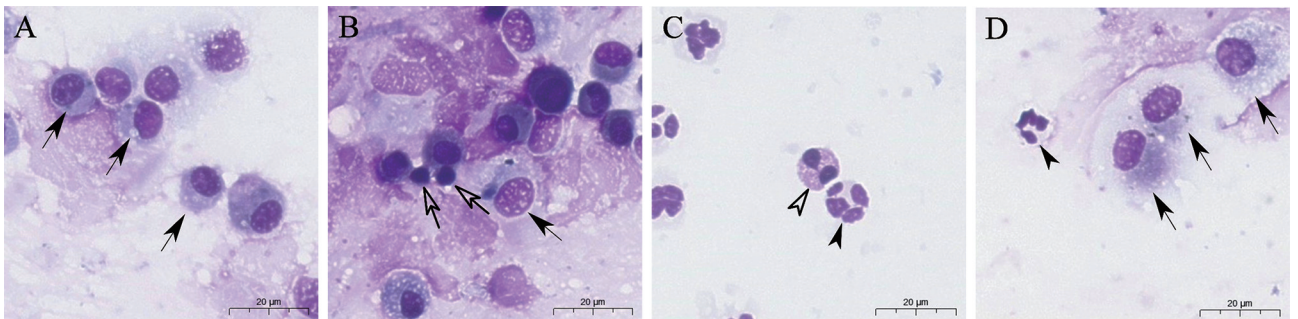


A. 正常犬的 BALF; B. 操作引起气道出血的 BALF; C. 缺少肺泡表面活性物质的 BALF。

图 2 不同类型 BALF 性状

表 2 不同肺叶有核细胞计数 $\times 10^6$ 个/L

肺叶	范围	平均值
右前叶 (n=9)	105.0~412.5	246.1
右中叶 (n=7)	145.0~362.5	263.9
右后叶 (n=5)	197.5~712.5	444.4
右副叶 (n=9)	132.5~572.0	271.3
左前叶前部 (n=7)	97.5~607.5	267.5
左前叶后部 (n=11)	130.0~502.5	294.3
左后叶 (n=12)	230.0~545.0	369.4
所有肺叶	97.5~712.5	304.48



空心箭头表示嗜酸性粒细胞；黑色箭号表示巨噬细胞；空心箭号表示淋巴细胞；黑色箭头表示中性粒细胞。

图 3 BALF 有核细胞形态

表3 有核细胞分类计数 %

细胞分类	范围	平均值
巨噬细胞	65.3~98.6	85.9
淋巴细胞	0.7~34.7	13.0
中性粒细胞	<7.5	1.0
嗜酸性粒细胞	<1	<0.1
肥大细胞	<1.8	<0.1
浆细胞	<2.5	0.2
鳞状/纤毛柱状上皮细胞	<25.2	7.6

3 讨论

犬经纤维支气管镜进行 BAL 需要全身麻醉，一般情况下，为了降低麻醉的风险，小动物全身麻醉多使用吸入麻醉。但是，在 BAL 实际操作中会遇到麻醉药泄露的问题，由于本研究中试验动物均为无基础疾病的比格犬，故未采用吸入麻醉，采用静脉注射麻醉，并对犬实施气管插管。良好的麻醉是获取高质量 BALF 样本的前提，若麻醉较浅，进镜时会导致强烈的气道反应，有研究建议支气管镜检查过程中使用 2% 利多卡因^[9]，本研究在实际操作中发现“边麻边进”的方法可能更加实用和有效。遇到支气管反射性痉挛时，给予 1~2 滴 2% 利多卡因，一般情况下痉挛会立即平息，便可继续进镜，这样可以避免过多的药液进入支气管腔。灌洗过程中过多使用利多卡因会影响细菌定量结果和有何细胞计数^[10]，因此在灌洗过程中尽量减少利多卡因用量。

关于灌洗量目前兽医临床上没有较权威的标准可以参考，有文献建议犬灌洗量 15~25 mL 或可采用儿童标准（体重小于 20 kg），每次 1 mL/kg^[11]，灌洗量、次数多由医生经验决定。Melamies 等^[12]的一项研究发现：BAL 灌洗量根据犬体重调整时可以更规律的获得小气道及肺泡表面的液体。2020 年 BALF 细胞形态学检验中国专家共识^[13]中指出：若怀疑大气道疾病时应单独处理第 1 管 BALF 样本，若无此需要，则可将所有灌洗的样本混合。本研究针对 13~15 kg 健康犬只，每次针对单独肺叶进行 5 mL 的单次灌洗，所获 BALF 中细胞浓度较高，便于计数和镜检操作，但该操作下 BALF 中上皮细胞比例也相应地有所升高。针对这种情况，支气管肺泡灌洗液细胞形态学检验中国专家共识（2023）建议进行“让步检验”，在细胞分类计数时忽略上皮细胞并进行半定量备注，直接进行其他类别细胞的分类计数^[14]。

采用上述的灌洗操作方法，统计分析各肺叶 BALF 回收率发现右副叶和左前叶后部的 BALF 回收率最高，左前叶前部次之。所以，若影像学诊断可定

位病变的肺叶，则于病变处进行灌洗；若犬只罹患广泛性的肺部感染，建议优先灌洗右副叶和左前叶后部，可获得较多的 BALF 用于检验。在实际操作中，支气管镜探头到达左右后叶和右副叶的路径较直，操作较为简单，不易对气道造成人为损伤，不导致出血或上皮脱落。但是，若遇体型较长的犬种，左右后叶和右副叶较深支气管镜无法顺利嵌合，则建议选用靠前的肺叶。Creedy^[15]建议罹患弥漫性肺病的动物应将支气管镜分别从左右两侧肺进入最远端的支气管腔进行 BAL，如果插入管不够长，则在最后拐进一个次级气道进行嵌合。需要注意的是犬右前叶和左前叶前部的支气管折转角度较大，较难进镜，操作不当可能导致灌洗失败或误入其他肺叶，若需要灌洗此肺叶，需要谨慎操作。

健康犬的 BALF 应接近无色，有轻微浑浊，灌洗液表面的泡沫为肺泡表面活性物质，表明该液体来自肺泡。美国胸科协会官方临床实践指南中表明：BALF 中出现鳞状上皮细胞说明样品收到上呼吸道细胞污染；含有大量上皮细胞或 BALF 表面无泡沫表明该液体并非来自远端气道^[16]。本研究剔除了无泡沫的 BALF 样品及细菌培养阳性的 BALF 样品，共收集 BALF 细胞计数结果 60 份。本研究结果显示健康犬只有核细胞数在 $97.5 \times 10^6 \sim 713.0 \times 10^6$ 个/L，平均有核细胞数为 304.22×10^6 个/L。Hawkins 等^[2]在研究中表明犬的有核细胞数应在 $54 \times 10^6 \sim 454 \times 10^6$ 个/L，该试验方法中使用 25 mL 生理盐水进行灌洗并多次灌洗同一肺叶，故 BALF 中细胞浓度较低。Rebar 等^[17]在研究中给出了 $260 \times 10^6 \sim 1\ 200 \times 10^6$ 个/L，该试验方法中使用大约 50 mL 生理盐水分别灌洗全部肺叶，该方法与本研究类似，结果也与本研究较为符合。然而，BALF 对细胞定量的结果具有一定的争议性，如果要量化细胞计数的结果，应量化灌洗过程使用的和回收的生理盐水量^[8]。

细胞分类计数对于肺部疾病的诊断和鉴别诊断具有重要的临床意义，Peeters 等^[18]发现大部分慢性咳嗽的犬下呼吸道病原培养呈阴性，故细胞分类计数成为这部分病例中关键的诊断依据。健康犬的 BALF 中几乎不可见红细胞，在 BAL 操作过程中如果因抽吸过程不顺利导致支气管壁渗血，可在 BALF 计数和涂片镜下看到红细胞。BALF 中最常见的细胞是巨噬细胞，巨噬细胞计数结果本身不具有诊断意义，巨噬细胞的比例降低通常是因为其他类型的细胞增多，激活的巨噬细胞增多可能意味着慢性炎症^[2]。淋巴细胞是犬 BALF 中占比第二的细胞，如果淋巴细胞 >20%，可能患有淋巴细胞性炎症^[19]。中性粒细胞和嗜酸性粒细胞较少，若嗜酸性粒细胞 >14% 则可能患有嗜酸

性粒细胞肺病^[19]。研究认为嗜酸性粒细胞性肺病的诊断需同时具有超过4%的嗜酸性粒细胞和肺部影像学特征作为诊断标准^[20]。Hawkins等^[2]的研究中巨噬细平均70%，范围为49%~93%，而淋巴细胞占1%~19%。Rebar的研究^[17]中人为巨噬细胞应占80%以上，甚至可以达到95%。本研究统计的巨噬细胞（平均值85.9%，范围65.3%~98.6%）与以上研究基本符合。淋巴细胞（平均值13.0%，范围0.7%~34.7%），个别犬占比略高，可能与纳入试验的犬个体差异，实验室仪器、耗材不同，人为操作、判读导致误差等有关^[21]。年龄对BALF细胞学检查有一定的影响，Mercier等^[22]发现年青年的BALF中中性粒细胞百分比高于中年和老年犬，淋巴细胞百分比高于中年犬，临床应用中应考虑犬年龄影响。

BAL在医学临床上已经有广泛的应用，细胞分类计数也有比较确定的参考范围，但在兽医临床上，由于较少应用，各诊疗机构的条件不同，难以推行标准化操作。另外，由于BALF各项指标受采集过程、样本处理等因素影响巨大，专家建议每个实验室都应建立自己的数据库，用以诊断时比对。因此，国内学者需要不断丰富犬BALF细胞学的数据资料，先建立完善的、可靠的健康犬BALF细胞学标准，再将临床案例与之参照则可得出结论。除了明确BALF中细胞数量及各类有核细胞所占百分比，准确识别BALF中各类细胞、寄生虫、结晶，发现细菌或真菌及其他有形成分也是非常重要的一环，可为兽医临床上疾病的诊断、鉴别诊断、治疗效果和预后评估提供检验诊断依据。

参考文献：

- MCKIERNAN B C. Diagnosis and treatment of canine chronic bronchitis [J]. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2000, 30 (6): 1267-1278.
- HAWKINS E C, DENICOLA D B, KUEHN N F. Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat [J]. *J Vet Intern Med*, 1990, 4 (5): 267-274.
- PIROZYNSKI M. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of peripheral, primary lung cancer [J]. *Chest*, 1992, 102 (2): 372-374.
- BARÇANTE J M P, BARÇANTE T A, RIBEIRO V M, et al. Cytological and parasitological analysis of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs [J]. *Vet Parasitol*, 2008, 158 (1/2): 93-102.
- COSTABEL U, GUZMAN J, BONELLA F, et al. Bronchoalveolar lavage in other interstitial lung diseases [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2007, 28 (5): 514-524.
- REYNOLDS H Y. Present status of bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2009, 15 (5): 479-485.
- LAURILA H P, RAJAMÄKI M M. Update on canine idiopathic pulmonary fibrosis in west highland white terriers [J]. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2020, 50 (2): 431-446.
- CONNETT G J. Bronchoalveolar lavage [J]. *Paediatr Respir Rev*, 2000, 1 (1): 52-56.
- OLSEN K M, PEDDICORD T E, CAMPBELL G D, et al. Antimicrobial effects of lidocaine in bronchoalveolar lavage fluid [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2000, 45 (2): 217-219.
- BASER Y, DESHAZO R D, BARKMAN H W, et al. Lidocaine effects on immunocompetent cells [J]. *Chest*, 1982, 82 (3): 323-328.
- 王娟, 孙军, 高长龙, 等. 纤维支气管镜肺泡灌洗术治疗儿童难治性支原体肺炎疗效分析 [J]. *临床儿科杂志*, 2017, 35 (1): 16-18.
- MELAMIES M A, JÄRVINEN A K, SEPPÄLÄ K M, et al. Comparison of results for weight-adjusted and fixed-amount bronchoalveolar lavage techniques in healthy Beagles [J]. *Am J Vet Res*, 2011, 72 (5): 694-698.
- 周道银, 吴茅, 许绍强, 等. 支气管肺泡灌洗液细胞形态学检验中国专家共识 (2020) [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35 (6): 4-8.
- 君安医学细胞平台专家委员会. 支气管肺泡灌洗液细胞形态学检验中国专家共识 (2023) [J]. *现代检验医学杂志*, 2023, 38 (3): 11-16.
- CREEVY K E. Airway evaluation and flexible endoscopic procedures in dogs and cats: laryngoscopy, transtracheal wash, tracheobronchoscopy, and bronchoalveolar lavage [J]. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2009, 39 (5): 869-880.
- MEYER K C, RAGHU G, BAUGHMAN R P, et al. An official american thoracic society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185 (9): 1004-1014.
- REBAR A H, DENICOLA D B, MUGGENBURG B A. Bronchopulmonary lavage cytology in the dog: normal findings [J]. *Vet Pathol*, 1980, 17: 294-304.
- PEETERS D E, MCKIERNAN B C, WEISIGER R M, et al. Quantitative bacterial cultures and cytological examination of bronchoalveolar lavage specimens in dogs [J]. *J Vet Intern Med*, 2000, 14 (5): 534-541.
- JOHNSON L R, VERNAU W. Bronchoalveolar lavage fluid lymphocytosis in 104 dogs (2006-2016) [J]. *J Vet Intern Med*, 2019, 33 (3): 1315-1321.
- LO E J Y, SCHWARZ T, CORCORAN B M. Topographical distribution and radiographic pattern of lung lesions in canine eosinophilic bronchopneumopathy [J]. *J Small Anim Pract*, 2021, 62 (8): 655-661.
- DE LORENZI D, MASSERDOTTI C, BERTONCELLO D, et al. Differential cell counts in canine cytocentrifuged bronchoalveolar lavage fluid: a study on reliable enumeration of each cell type [J]. *Vet Clin Pathol*, 2009, 38 (4): 532-536.
- MERCIER E, BOLOGNIN M, HOFFMANN A C, et al. Influence of age on bronchoscopic findings in healthy beagle dogs [J]. *Vet J*, 2011, 187 (2): 225-228.