

Standardisation and applications of bronchoalveolar lavage cytology

Citation for published version (APA):

De Brauwer, E. I. G. B. (2000). *Standardisation and applications of bronchoalveolar lavage cytology*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

Document status and date:

Published: 01/01/2000

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

CHAPTER 8

Summary and general discussion

Pulmonary diseases have traditionally been evaluated by laboratory tests, lung function tests, imaging procedures and tissue biopsies.¹ Bronchoalveolar lavage (BAL) represents an additional tool in assessing the health status of the lung. BAL is a procedure in which the bronchoalveolar region of the respiratory tract is lavaged with an isotonic salt solution. It samples cells and solutes from the epithelial layer of the lower respiratory tract. After its introduction as a research tool, BAL has been appreciated extensively for clinical applications in the field of infections and interstitial lung diseases. Diagnostic application of BAL fluid analysis is mainly based on cellular characteristics of the fluid, therefore, appropriate cellular analysis is mandatory. Normally, BAL fluid samples from healthy non-smoking controls contain alveolar macrophages, lymphocytes, and, to a lesser extent, polymorphonuclear neutrophils (PMNs), eosinophils and mast cells.

Although the value of BAL fluid cytology in the assessment of interstitial lung disease and pulmonary infections is apparent, it should be realised that the actual determination of the cell types does require technical skill and training, and that the entire BAL fluid processing requires considerable time and effort.

The procedure of cytocentrifugation has been used for many years in haematology and cytology laboratories, as it enables excellent observation of cell morphology in specimens of low volume. During the past decades, applications of cytocentrifugation have been developed for diagnostic microbiology. Among others, these applications included screening for urinary tract infections, visualisation of bacteria in normally sterile body fluids, and detection of acid-fast bacilli in sputum preparations.²⁻⁴ Despite encouraging results, cytocentrifugation has failed to become a widespread technique in diagnostic microbiology.

The diagnostic value of cytology largely depends on the possibilities for standardising the procedures of cytocentrifugation. Indeed, technical factors interfering with the cytocentrifugation process may cause distortion of the BAL fluid differential cell count. Such errors include the "bull's eye" appearance of the cytocentrifuge spot (due to low sample volumes in the cytospin chamber), and the "crescent shaped" appearance of this spot (due to a delayed start of the centrifuge after loading of the chambers).⁵

Although progress has been made in non-morphologic diagnosis (*e.g.* flow cytometry and polymerase chain reaction-techniques), the microscopic identification of cells and pulmonary pathogens constitutes the *cornerstone* of BAL fluid analysis in the daily practice of the diagnostic laboratory, and it is likely to remain so in the near future. Indeed, analysis of the cellular profile in BAL fluid samples

can give more insight into the underlying lung disease. The use of refined techniques of specimen processing and microscopy not only offers fast and reliable diagnosis, but also fits the needs for cost-accountable specimen management and round-the-clock patient care.

Despite the recommendations of the European Society of Pneumology and those of the American Thoracic Society,^{6,7} further study on standardisation of the cytocentrifugation process is necessary.

Chapters 2 and 3 were conceived as a spin-off of this search for standardisation. In these chapters, the influence of the cytocentrifugation parameters on the differential cell count of BAL fluid samples was investigated. In **chapter 2**, the impact of three cytocentrifugation parameters (*i.e.* speed, time and acceleration rate) on the BAL fluid differential cell count was investigated. As cytocentrifugation entails selective loss of lymphocytes, the recovery rate of these cells at various cytocentrifugation conditions was of special interest.^{8,9} A cytocentrifugation speed of 1200 revolutions per minute (rpm), and a duration of 10 minutes ascertained the highest recovery rate of lymphocytes. At intermediate (1200 rpm) and high speed (2000 rpm) conditions however, morphological cell damage became apparent, and thus we elected to use the low cytocentrifugation speed as the one preferred for BAL fluid cytology. In **chapter 3**, it was concluded that lymphocytes and alveolar macrophages were not randomly distributed on the cytocentrifuge spot, and that the centre of the cytocentrifuge spot appeared to be the most reliable area for performance of the differential cell count. Although the findings in both chapters were statistically significant, their clinical significance remains debatable. The mean absolute differences in lymphocyte percentages for the different quadrants (**chapter 3**) and for the different cytocentrifugation conditions (**chapter 2**) were small, but there were many individual BAL fluid samples for which the absolute difference exceeded 10%. Although no tolerance limits have been defined for interassay variability of BAL fluid differential cell counts, a 10% difference is considered technically significant when assessing interlaboratory variabilities.¹⁰ Further investigation on the limits for interassay variability of BAL fluid differential cell count, without clinical impact, should be done and will increase the application of BAL fluid cytology in the daily practice.

Chapters 4 and 5 present refinements of the previously published recommendations on the number of BAL fluid cells to be differentiated. In **chapter 4**, it was demonstrated that a 200-cell count (which the American Thoracic Society proposed as the minimum number of cells to be enumerated)⁶, only warranted a reliable count of PMNs and alveolar macrophages. When increasing the number of cells counted to a total of 300, the lymphocytes and eosinophils were also reliably enumerated. However, the percentages of mast cells, plasma cells, squamous and bronchial epithelial cells were not reliably estimated, even at a count of 500 cells by one observer. On May-Grünwald-Giemsa stained preparations, it appeared that reliable counting of mast cells was not possible, and therefore caution should be exercised when interpreting mast cell percentages. Extended

microscopic screening of BAL fluid cytocentrifuged preparations was recommended, in order to evaluate the presence of epithelial cells and plasma cells. Chapter 5 demonstrated that MGG stained preparations offered a more reliable counting of infected cells than did the Gram and the Acridine Orange stained preparations. Reliable estimation of the percentage of infected cells was achieved at a count of 200 cells. The results obtained in chapters 4 and 5 may be regarded as a further attempt to standardise the BAL fluid differential cell count. The studies presented in chapters 4 and 5 should be complemented by a detailed investigation of inter-laboratory differences in the processing of BAL fluid samples, in order to achieve a better standardisation of the BAL differential cell counts.¹¹

From the scope of instrumentation and automation, several attempts have been made to simplify the processing of BAL fluid samples in the diagnostic setting. Calibration of a Coulter Counter D apparatus enabled fast and accurate electronic measurement of the total cell count of BAL fluid samples, and a commercial Dip Slide method compared favourably to conventional quantitative culture methods.^{12,13} In line with these evolutions, a commercial Leukocyte esterase strip, designed for urinalysis, was evaluated for its ability to detect elevated numbers of PMNs in BAL fluid samples. The results of this study, presented in chapter 6, showed that the Multistix 7 reagent strip proved to be useful as a rapid screening test for the BAL fluid PMNs percentage. However, from the viewpoint of diagnostic and analytical sensitivity, further study on the false-negative readings and refinements of the reading scale are needed. Furthermore, adaptations of the other Multistix parameters to the BAL fluid ranges are desired. Although BAL fluid samples on their own do not represent a large field of application (and sale) for such reagent strip, they would be a useful adjunct to conventional microscopy in those situations where trained cytologists are not available.

In chapter 7, the usefulness of BAL fluid cytology was assessed in intensive care patients suspected of having pneumonia. In these patients, pulmonary densities noted on chest radiograph are numerous, and non-infectious disorders may be just as prevalent as those produced by organisms.¹⁴ From the study presented in chapter 7, it was clear that BAL fluid cytology may offer valuable information in the detection of at least part of these non-infectious conditions. Readily discernible cytological findings such as haemosiderin laden macrophages, eosinophils and malignant cells clearly pointed to a non-infectious condition such as aspiration of gastric contents, the Adult Respiratory Distress Syndrome, diffuse alveolar haemorrhage and lymphangitis carcinomatosa. It is important, however, to realise that none of these findings was exclusive, a reason why thorough microbiological examination of the BAL fluid samples is still required in order to rule out an infectious origin.

In summary

1. Optimal recovery of the different BAL fluid cell types combined with excellent cytomorphology can be achieved by cytocentrifugation at intermediate speed (650 rpm), for a duration of 10 minutes and at the low acceleration rate.
2. For reliable estimation of the BAL fluid lymphocyte and alveolar macrophage numbers, the differential cell count of cytocentrifuged BAL fluid samples should be performed in a circular pattern around the center of cytocentrifuge spot.
3. Reliable estimation of the number of PMNs, alveolar macrophages, lymphocytes and eosinophils in cytocentrifuged BAL fluid samples is reached at a count of 300 cells by one observer. Extended microscopic screening is recommended to evaluate the presence of epithelial cells (low magnification) and plasma cells (high magnification).
4. For enumeration of the infected cells in cytocentrifuged BAL fluid samples, the MGG stain is the preferred stain, and reliable enumeration by a single observer is achieved at a count of 200 cells.
5. For estimation of the BAL fluid PMN count, the leukocyte esterase reagent (LE) Multistix 7 reagent strip (designed for urinalysis) can be of adjunct value: negative LE readings consistently predict a BAL fluid PMN count of < 20%, and the “+++” LE category predict PMN counts above and below 50% with a sensitivity of 71% and a specificity of 97%.
6. In intensive care patients suspected of having pneumonia, BAL fluid cytological findings such as > 20% haemosiderin laden macrophages, the presence of activated lymphocytes, plasma cells, > 5% eosinophils, a preponderance of foamy macrophages, reactive type II pneumocytes and malignant cells, point to a non-infectious origin of the symptoms.

Further refinements of these findings in a prospective study will increase the diagnostic accuracy of the BAL fluid cytology in the prediction of non-infectious as well as infectious conditions. The studies in the previous chapters illustrated the value of a multidisciplinary approach in the processing and interpretation of BAL fluid cytology. Excellent technical and statistical support enabled to refine BAL fluid processing. However, appropriate clinical information is mandatory to improve the diagnostic accuracy of BAL fluid analysis. When applied according to standardized protocols, and considered in the context of other diagnostic tests and appropriate clinical information, BAL appears to be useful in the diagnosis of certain lung diseases. Attempts have to be made to further improve the procedure and explore the value of the procedure for clinical as well as research application.

REFERENCES

1. Drent M, Jacobs JA, Wagenaar SJS. Bronchoalveolar lavage. *Eur Respir Mon* 2000;5: 63-78.
2. Lampert F, Brandl A, Daschner F. Urinalysis with the cytocentrifuge: a method to supplement quantitative bacterial culture. *J Stud Treat Infect* 1975;3:40-43.
3. Shanholtzer CJ, Schaper PJ, Peterson LR. Concentrated gram stain smears prepared with a cytospin centrifuge. *J Clin Microb* 1982;16:1052-1056.
4. Saceanu CA, Pfeiffer NC, McLean T. Evaluation of sputum smears concentrated by cytocentrifugation for detection of acid-fast bacilli. *J Clin Microb* 1993;31:2371-2374.
5. Grover ML, Blee E, Stokes BO. Effect of sample volume on cell recovery in cytocentrifugation. *Acta Cytol* 1995;39:387-390.
6. Klech H, Pohl W. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL): report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. *Eur Respir J* 1989;2:561-585.
7. Goldstein R. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:481-486.
8. Saltini C, Hance AJ, Ferrans VJ, Basset F, Bitterman PB, Crystal RG. Accurate quantification of cells recovered by bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:650-658.
9. Laviolette M. Lymphocyte fluctuation in bronchoalveolar lavage fluid in normal volunteers. *Thorax* 1985;40:651-656.
10. Kleykamp BO, Baughman RP. Who should perform bronchoalveolar lavage analysis? *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:67.
11. Baughman RP. Is bronchoalveolar lavage clinically useful for every day practice in interstitial lung disease? *J Bronchol* 1999;6:211-216.
12. Heaney LG, McKirgan J, Stanford CF, Ennis M. Electronic cell counting to measure total numbers in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir J* 1994;7:1527-1531.
13. Speich R, Wüst J, Hess T, Kayser F, Russi EW. Prospective evaluation of a semi-quantitative dip slide method compared with quantitative bacterial cultures of BAL fluid. *Chest* 1996;109:1423-29.
14. Santos E, Talusan A, Brandstetter RD. Roentgenographic mimics of pneumonia in the critical care unit. *Crit Care Clin* 1998;14:91-104.

Samenvatting

De introductie van de flexibele bronchoscoop door Ikeda in 1968 betekende een belangrijke diagnostische en therapeutische aanwinst voor de pneumologie. Via de flexibele bronchoscoop kan er een spoeling van het distale deel van de long plaatsvinden, de bronchoalveolaire lavage (BAL) genaamd. Door onderzoek van het spoelvocht, verkregen met de BAL, heeft men meer inzicht gekregen in de morfologische, microbiologische, immunologische en chemische aspecten van processen in de kleine luchtwegen en de alveolaire ruimten. De onderzoeksresultaten hebben geleid tot een ruimer toepassingsgebied van de BAL in de diagnostiek van zowel niet-infectieuze als infectieuze long-aandoeningen.

In de spoelvloeistof van gezonde personen komen alveolaire macrofagen (80 tot 90% van de totale celtelling), lymfocyten (5 tot 10%), polymorphonucleaire neutrofielen (PMN) (1 tot 2%), eosinofielen en mast cellen (1 tot 2%) voor. Plaveisel-, trilhaarepithelcellen, plasma cellen en maligne cellen zijn onder normale omstandigheden niet aanwezig in de spoelvloeistof. Door de bepaling van de differentiatie van de cellen aanwezig in de spoelvloeistof is het mogelijk een inzicht te krijgen in het ziekteproces van de long. De cytocentrifugatietechniek, in het bijzonder de Cytospin (Shandon Ltd.), is de meest gebruikte methode voor het maken van cytologische preparaten. De cellen aanwezig in de spoelvloeistof worden door het cytocentrifugatieproces geconcentreerd op een rond oppervlak met 6 mm diameter, de cytocentrifugatiespot genaamd. Wanneer een juiste hoeveelheid vocht wordt gecytocentrifugeerd komen de cellen juist naast elkaar te liggen op de cytocentrifugatiespot en is er een uitstekende morfologie van de verschillende cellen. Een aantal factoren interfereert met het cytocentrifugatieproces waardoor de kwaliteit van de preparaten, c.q. de cytomorfologie, wordt aangetast. Een van de factoren is het gebruik van een te kleine hoeveelheid materiaal in de cytospinkamer. De cellen komen aan de rand van de cytocentrifugatiespot te liggen met in het midden een celarm deel, het "bull's eye" effect genaamd. Een andere factor is de tijd tussen het vullen van de cytocentrifugatiekamer en het starten van het cytocentrifugatieproces. Indien de tijd te lang is, ontstaat er een onregelmatige verdeling van de cellen op de cytocentrifugatiespot, de "crescent" genaamd.

De cytologie eist ervaren en getrainde microscopisten en is een arbeidsintensieve en dure bepaling. Voor de toepassing van de cellululaire analyse in de diagnostiek van zowel niet-infectieuze als infectieuze longaandoeningen, is het belangrijk dat de techniek waarop de BAL vloeistof verwerkt wordt in het laboratorium betrouwbaar en reproduceerbaar is. Ondanks het bestaan van aanbevelingen van o.a. de European Society of Pneumology en de American Thorax Society wordt voor het cytologisch onderzoek van de BAL-vloeistof niet altijd aan deze voorwaarden voldaan. Er is een noodzaak naar verdere standaardisatie van zowel de

cytocentrifugatietechniek, dan de differentiële celtelling van BAL-vloeistof. Dit proefschrift heeft als doel zowel de cytocentrifugatietechniek als de differentiatie van de cellen in een BAL-vloeistof te optimaliseren, en de diagnostische meerwaarde van een BAL bij een beademde patiënt met een infiltraat op de röntgenfoto van de thorax aan te tonen.

In **hoofdstuk 2** werd de invloed van de 3 cytocentrifugatie-parameters: snelheid, tijd en acceleratie op de celdifferentiatie van de BAL-vloeistof nagegaan. De aandacht ging vooral uit naar de opbrengst van de lymfocyten bij de verschillende cytocentrifugatie-snelheden. Er werd aangetoond dat de opbrengst van de lymfocyten het hoogst is bij een cytocentrifugatie-snelheid van 1200 rpm. Aangezien bij de hogere snelheden (1200 rpm en 2000 rpm) morfologisch meer celbeschadiging werd waargenomen, wordt een cytocentrifugatie-snelheid van 650 rpm aanbevolen. Deze snelheid werd gebruikt in dit proefschrift. Het onderzoek beschreven in **hoofdstuk 3** toonde aan dat de lymfocyten en de alveolaire macrofagen niet ad random verdeeld zijn op de cytocentrifugatiespot. De meest betrouwbare plaats voor een celdifferentiatie was rond het centrum van de cytocentrifugatiespot. Ondanks dat het verschil, zowel in het percentage lymfocyten als in het percentage alveolaire macrofagen, voor de verschillende cytocentrifugatie-parameters (**hoofdstuk 2**) en de verschillende kwadranten (**hoofdstuk 3**) in een aantal gevallen statistisch significant was, blijft de klinische betekenis controversieel. Tot heden werden geen criteria gedefinieerd over de grenzen waartussen een differentiële celtelling van een BAL, zonder dat de klinische diagnose beïnvloed wordt, kan variëren. Het is interessant om na te gaan of de beoogde criteria vastgelegd kunnen worden met behulp van verder onderzoek.

In **hoofdstuk 4** en **5** werd aandacht besteed aan de standaardisatie van het aantal te differentiëren cellen. In **hoofdstuk 4** werd aangetoond dat voor een representatieve telling van PMN en alveolaire macrofagen minimaal 200 cellen, zoals aanbevolen door de American Thorax Society, dienen te worden geteld. Indien minimaal 300 cellen door 1 observer werden geteld, bleek de celtelling ook betrouwbaar te zijn voor de lymfocyten en de eosinofielen. Voor de mast cellen, plasma cellen, trilhaar- en plaveiselepitheelcellen was het niet mogelijk het minimaal aantal cellen te bepalen om een betrouwbare celtelling te krijgen. Derhalve is het van belang een uitgebreide screening van de preparaten naar plasma cellen, trilhaar- en plaveiselepitheelcellen te doen. De herkenning van de mast cellen op May-Grünwald-Giemsma (MGG) gekleurde preparaten is erg moeilijk. De identificatie van de mast cellen op MGG gekleurde preparaten dient met alle voorzichtigheid te gebeuren. In **hoofdstuk 5** werd aangetoond dat voor de bepaling van het aantal geïnfecteerde cellen, de MGG kleuring betrouwbaarder is dan de Gram en de Acridine Oranje kleuring. De telling van het aantal geïnfecteerde cellen was reeds betrouwbaar bij een telling van 200 cellen door 1 observer. In **hoofdstuk 4** en **5** werd aangetoond dat door een differentiatie van minimaal 300 cellen gecombineerd met een uitgebreide screening van de preparaten een betrouwbare cellulaire analyse verkregen wordt. Om de resultaten van de cellulaire analyse van verschil-

lende laboratoria te kunnen vergelijken, is het belangrijk dat de laboratoria dezelfde techniek gebruiken. Vervolgens is het interessant na te gaan hoe groot de verschillen in de celtelling tussen de verschillende laboratoria kunnen zijn en of dat gevolgen heeft voor de klinische diagnose.

In **hoofdstuk 6** werd onderzocht of de commerciële Leukocyte esterase strip kan gebruikt worden om op een semi-kwantitatieve wijze de hoeveelheid PMN in BAL-vloeistof te bepalen. De studie toonde aan dat de strip, Multistix 7 reagent strip genoemd, bruikbaar is. Doch, de afleesschaal dient verfijnd te worden en verder onderzoek dient te gebeuren naar de kans op vals-negatieve aflezingen. Het toepassingsgebied van de strip is beperkt tot die situaties waar geen getrainde analist beschikbaar is. De semi-kwantitatieve bepaling biedt dan een uitkomst als aanvulling op de conventionele microscopie.

In **hoofdstuk 7** werd aangetoond dat de cytologie van een BAL-vloeistof een aanvullende diagnostische waarde heeft bij beademde intensive care patiënten met een infiltraat op de röntgenfoto van de thorax. De oorzaak van het infiltraat kan zowel infectieus als niet-infectieus zijn. De cytologie heeft vooral een meerwaarde voor de diagnose van niet-infectieuze aandoeningen, waardoor onnodig antibioticagebruik zoveel mogelijk voorkomen kan worden. Indien in de lavagevloeistof haemosiderine beladen macrofagen, eosinofielen en/of maligne cellen worden aangetroffen, kan dit een aanwijzing zijn voor niet-infectieuze aandoeningen, zoals aspiratie van maagzuur, adult respiratory distress syndrome, diffuus alveolaire haemorrhagie en lymphangitis carcinomatosa. Echter steeds dient aanvullend microbiologisch onderzoek een infectieuze oorzaak uit te sluiten.

Samenvattend

1. De meest ideale opbrengst van de verschillende celsoorten aanwezig in een BAL-vloeistof gecombineerd met een uitstekende cytomorfologie wordt bereikt bij een cytocentrifugatie proces met een gemiddelde snelheid (650 rpm), gedurende 10 minuten bij een lage acceleratie.
2. Voor een betrouwbare telling van het aantal lymfocyten en alveolaire macrofagen is het aan te bevelen een celtelling te doen rond het centrum van de cytocentrifugatiespot van de preparaten.
3. Een betrouwbare telling van het aantal polymorphonucleaire neutrofielen, alveolaire macrofagen, lymfocyten en eosinofielen wordt verkregen bij een differentiatie van 300 cellen door 1 observer. Uitgebreide screening van de cytocentrifugatie preparaten is aan te bevelen om de aanwezigheid van epiteelcellen (lage vergroting) en plasma cellen (hogere vergroting) te evalueren.
4. De bepaling van het aantal geïnfecteerde cellen in BAL-vloeistof is betrouwbaar bij een differentiatie van 200 cellen door 1 observer op May-Grünwald-Giemsa gekleurde preparaten.

5. Voor de bepaling van het aantal polymorphonucleaire neutrofielen (PMN) in BAL-vloeistof, kan de leukocyte esterase (LE) Multistix 7 reagent strip (ontworpen voor urinalysis) een toegevoegde waarde hebben. Een negatieve LE aflezing voorspelt een BAL-vloeistof met een PMN aantal < 20%, en een “+++” LE categorie voorspelt een PMN telling boven de 50% met een sensitiviteit van 71% en een specificiteit van 97%.
6. Bij intensive care patiënten verdacht van een pneumonie wijzen de cytologische bevindingen in een BAL-vloeistof zoals > 20% haemosiderine beladen macrofagen, de aanwezigheid van geactiveerde lymfocyten, > 5% eosinofielen, een meerderheid van schuimmacrofagen, reactief type II pneumocyten en maligne cellen in de richting van een niet-infectieuze oorzaak.

De studies beschreven in dit proefschrift benadrukken de waarde van een multidisciplinaire aanpak in de verwerking en interpretatie van de cytologie van BAL-vloeistof. Het onderzoek heeft geleid tot een meer gestandaardiseerde verwerking van BAL-vloeistof. Het onderzoek zal de diagnostische waarde van BAL-vloeistof cytologie voor zowel infectieuze als niet-infectieuze condities doen toenemen. Doch, de cytologie van BAL-vloeistof is arbeidsintensief en tijdrovend. Er wordt uitgebreid onderzoek gedaan naar de toepasbaarheid van snelle, geautomatiseerde technieken, zoals de flow-cytometrie om een differentiële celtelling uit te voeren of de toepassing van de polymerase chain reactie voor een snelle diagnose van een *Legionella pneumophila* pneumonie, op de BAL-vloeistof. Het onderzoek naar de mogelijkheid van automatisering in de verwerking van BAL-vloeistof in de laboratoria zal zowel de standaardisatie als de toepasbaarheid van BAL-vloeistof in de diagnostiek van longziekten doen toenemen. Een goede samenwerking tussen long- en intensive care artsen biedt de mogelijkheid om de cytologie in een klinisch kader te plaatsen. Op deze manier neemt de cytologie van een BAL-vloeistof een unieke plaats in, zowel in de dagelijkse patiëntenzorg als in het onderzoeksgebied.