

# Die bronchoalveoläre Lavage – das Blutbild der Pneumologen

A. Gschwendtner

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) mit einem flexiblen Bronchoskop wurde erstmals 1974 von Reynolds und Newball als Forschungsinstrument eingeführt<sup>1</sup>. Die BAL ist ein Verfahren, bei dem eine sterile 0,9 %ige NaCl-Lösung in ein alveoläres Segment der Lunge appliziert und zur weiteren Analyse wieder entnommen wird<sup>2</sup>. Die Technik setzte sich damals rasch durch, und zahlreiche Zentren begannen sie zur Gewinnung von Zellen und Proteinen aus den unteren Atemwegen einzusetzen<sup>3</sup>. Die BAL entwickelte sich zu einem wichtigen diagnostischen Instrument, das die Diagnose verschiedener diffuser Lungenerkrankungen und Infektionen erleichtern kann. Obwohl die BAL selten als eigenständiger diagnostischer Test für die Diagnose diffuser Lungenerkrankungen eingesetzt wird, können die Leukozytenprofile der BAL in Kombination mit klinischen Daten und hochauflösenden Computertomographien des Brustkorbs wesentlich zur Diagnose bestimmter Formen interstitieller Lungenerkrankungen (ILD) beitragen<sup>4</sup>. Insbesondere im deutschsprachigen Raum sind die Arbeiten von Prof. Dr. Ulrich Costabel (Essen) hervorzuheben, der diese Methode in der pneumologisch-klinischen Anwendung etablierte und entscheidend dazu beitrug, dass die BAL heute in nationalen und internationalen Leitlinien als integraler Bestandteil der ILD-Diagnostik gilt<sup>5-11</sup>.

## Technik

Viele Forschungszentren haben in der Vergangenheit ihre eigenen Techniken zur Durchführung von Lavagen verwendet. In einer Umfrage Mitte der 1980er Jahre wurden die Unterschiede und Gemeinsamkeiten der weltweit etablierten Techniken untersucht. Es wurde deutlich, dass eine große Heterogenität der Techniken bestand und diese auch zu unterschiedlichen Ergebnissen führten<sup>12</sup>. Dies hat zur Entwicklung standardisierter Methoden für die Durchführung der BAL geführt. Sowohl die European Respiratory Society als auch die American Thoracic Society haben Empfehlungen zur Durchführung und Auswertung der BAL herausgegeben<sup>13,14</sup>. Insgesamt ist aber zu beklagen, dass für die Durchführung einer BAL noch kein standardisiertes Verfahren flächendeckend etabliert ist, standardisierte Kriterien in der Diagnostik jedoch weitgehend vorliegen<sup>8</sup>. Die Ergebnisse einer BAL variieren nicht

nur stark in Abhängigkeit von der Methodik, sondern auch von der Lokalisation der Probenentnahme. Klinisch relevante Unterschiede ergeben sich vor allem hinsichtlich der nachzuweisenden Zellpopulationen<sup>15</sup>. Der rechte Mittellappen (RML) und die Lingula sind die Bereiche der Lunge, die am leichtesten zugänglich sind und bei Patienten in Rückenlage einen guten Rückfluss der Lavageflüssigkeit ermöglichen. Daher werden diese Bereiche traditionell zur Beurteilung diffuser Infiltrate gespült<sup>13,15</sup>. Dieses Verfahren verliert jedoch zunehmend an Bedeutung und wird durch die gezielte Entnahme von Lavage-Proben ersetzt. Dank verbesserter Technik ist die Entnahme von distalen Lavage-Proben heute leichter möglich<sup>2</sup>. Als Spülmedium in der BAL wird eine 0,9 %ige NaCl-Lösung verwendet. Sowohl die European Respiratory Society als auch die American Thoracic Society empfehlen die physiologische Kochsalzlösung unmittelbar vor der Verabreichung auf 37,8 °C zu erwärmen, um den Hustenreiz bei Patienten mit reaktiven Atemwegen zu verringern<sup>13,14</sup>. In den Protokollen für die Durchführung der BAL werden im Allgemeinen Kochsalzlösungsmengen von 20 bis 60 ml verwendet, wobei bis zu sechs Einheiten für die BAL an einer einzigen Lavagegestelle mit einem Gesamtvolumen von 100 bis 250 ml verwendet werden. Einige Untersucher gehen davon aus, dass die erste Einheit der Spülflüssigkeit hauptsächlich Zellen und Sekrete aus den oberen Atemwegen enthält und bewahren diese als separates Material für die mikrobiologische Diagnostik auf. Die folgenden Teilmengen (in der Regel drei bis fünf) gelten als repräsentativer für die distalen Lufträume (alveoläre Probenahme) und werden primär für die anschließende Zellanalyse verwendet<sup>9</sup>. Andere Zentren führen eine vollständige Aggregation aller entnommenen BAL-Einheiten durch, bevor sie die BAL zur Laboranalyse einsenden. Es liegen keine Daten vor, die zeigen, dass dieses Vorgehen zu einer Verschlechterung der Auswertbarkeit der BAL führt<sup>9</sup>.

## Indikationen

Die Einsatzmöglichkeiten der BAL sind vielseitig. Sie umfasst einerseits die Abklärung von infektiösen Erkrankungen und andererseits die Abklärung von infiltrativen und immunologischen Veränderungen in der Lunge<sup>10</sup>. Am

häufigsten wird die BAL zur Differenzialdiagnose der interstitiellen Lungenerkrankungen (ILD) verwendet, da in zahllosen Arbeiten der Wert der Differenzialzytologie aus der BAL für die Klassifikation und Aktivitätsbeurteilung der interstitiellen Lungenerkrankungen nachgewiesen werden konnte. Entsprechend sind die Empfehlungen der Fachgesellschaften in den Leitlinien zur ILD-Diagnostik verankert<sup>16</sup>. Aber auch bei anderen Erkrankungen, wie zur Differentialdiagnose von Lungenerkrankungen bei immungeschwächten Patienten, zur Abklärung ätiologisch unklarer intrapulmonaler Infiltrate (Milchglas-Trübungen im HRCT) oder einer unzureichend erklärbaren Hypoxie ist die Durchführung einer BAL sinnvoll<sup>2</sup>. Zusätzlich ist die BAL diagnostisch hilfreich bei diffuser alveolärer Hämorrhagie, Asbestose oder Karzinosen<sup>2</sup>. Die BAL besitzt jedoch oft nur im Zusammenhang mit anderer Diagnostik (z. B. Anamnese, Labordiagnostik und bildgebende Verfahren) eine adäquate Aussagekraft<sup>2,10</sup>.

### **Aufbereitung**

Zum Nachweis von Infektionserregern und zur Untersuchung zellulärer Bestandteile muss eine BAL aufbereitet und weiterverarbeitet werden. Die Beachtung bestimmter Aspekte der BAL-Aufbereitung und Laboranalyse kann das diagnostische Potenzial der BAL optimieren. Daher sollte die BAL-Flüssigkeit innerhalb von zwei Stunden (bei ungekühlter BAL) oder innerhalb von vier Stunden (bei gekühlter BAL bei 5 °C) im Aufbereitungslabor eintreffen<sup>17</sup>. Ist bei einer rein zytologischen Präparation eine Transportzeit von mehr als 24 Stunden unvermeidlich, müssen die Zellen in der BAL in einem Nährmedium resuspendiert werden, da die physiologische NaCl-Lösung der BAL, in der die Zellen transportiert werden, für das Überleben der Zellen suboptimal ist<sup>18</sup>. Neben den Zellen, der extrazellulären Flüssigkeit und der physiologischen NaCl-Lösung, mit der die BAL gewonnen wurde, kann die BAL auch Schleim enthalten. Um den Bronchialschleim zu entfernen, wird die BAL von einigen Arbeitsgruppen durch Gaze vorfiltriert. Die Zellen in der BAL können jedoch unterschiedlich stark an der Gaze haften, so dass die zelluläre Zusammensetzung der BAL-Probe beeinflusst werden kann.<sup>19</sup> Darüber hinaus ist bei der Handhabung der BAL zu beachten, dass bestimmte Zellen, z. B. Makrophagen, gut an Materialien wie Glas und ähnlichen Oberflächen haften. Daher sollte die Lavage ab dem Zeitpunkt der Entnahme in silikonbeschichteten oder vergleichbaren Behältern aufbewahrt werden. Nach der Filtration wird die Flüssigkeit zentrifugiert, die Zellen werden resuspendiert und gezählt (z. B.

mit einem Hämozytometer). Die Gesamtzellzahl wird immer auf das Gesamtvolumen der Waschflüssigkeit bezogen (Gesamtzellzahl/ml). Die Zentrifugation erfolgt in der Regel für 10 min. bei 500 g<sup>10</sup>. Anschließend erfolgt eine Anfärbung nach May-Grünwald-Giemsa. Die May-Grünwald-Giemsa Färbung (MGG-Färbung oder auch Pappenheim-Färbung) ist die am häufigsten verwendete Färbung in der Zytodiagnostik<sup>22</sup>. Das Grundprinzip der Färbung besteht darin, dass sie saure und basische Farbstoffe enthält, die an unterschiedliche Bestandteile der Zelle binden. Die sauren Komponenten binden an das alkalische Zytoplasma und die zytoplasmatischen Granula, die rot angefärbt werden. Die basischen Farbstoffe binden an die sauren Zellkerne und führen zu einer blau-violetten Färbung<sup>23</sup>.

### **Zellpopulationen**

Die für diese Betrachtung interessanten Zellen und Objekte, die bei der zytologischen Auswertung einer BAL gefunden werden können, werden im Folgenden kurz vorgestellt. Dabei ist zu beachten, dass es sich um Zellen der unspezifischen und spezifischen Immunabwehr handelt, die aufgrund der Exposition des Alveolarraumes der Lunge zur Verteidigung der körperlichen Unversehrtheit mobilisiert werden und daher auch bei verschiedenen Krankheitsprozessen in unterschiedlicher relativer und absoluter Menge angetroffen werden, weshalb ihre Differenzialzytologie direkte Rückschlüsse auf die Schädigung des Alveolarraumes zulässt.

### **Makrophagen**

Die Hauptaufgabe der Makrophagen ist die Phagozytose schädlicher Partikel. Sie sind neben den neutrophilen Granulozyten die wichtigsten professionellen Phagozyten des Organismus. Morphologisch sind sie an ihrem unregelmäßigen Zellkern, den Pseudopodien und dem lysosomreichen Zytoplasma zu erkennen<sup>24</sup>. Charakteristisch für Makrophagen ist, dass sich ihre lichtmikroskopisch erkennbare Morphologie in Abhängigkeit vom phagozytierten Material ändert<sup>24</sup>. Makrophagen, die fettreiches Material phagozytieren, zeigen ein eher schaumiges Zytoplasma. Kommt es zur Beladung der Makrophagen mit Hämosiderin (Hämosiderophagen), zeigen die Makrophagen ein dunkelbraunes Zytoplasma mit braunen Korpuskeln, die ehemaligen Erythrozyten entsprechen. Hämosiderophagen können bei der alveolären Hämorrhagie auftreten, einer seltenen, aber potenziell lebensbedrohlichen Erkrankung, bei der es aufgrund einer mikrovaskulären Schädigung zu einem diffusen Blutaustritt aus der pulmonalen

Mikrozirkulation in den Alveolarraum kommt <sup>26-30</sup>. Bei den dunklen Ablagerungen in den Makrophagen kann es sich aber nicht nur um Hämosiderin handeln, sondern auch um Rußpartikel und mineralische Stäube, die häufig bei Rauchern und in der Steinbearbeitung tätigen Patienten zu finden sind <sup>31</sup>. Allein dieses Beispiel zeigt, dass die Analyse von Makrophagen viele verschiedene Aspekte aufweist und eine detaillierte Zellanalyse erfordert.

### **Lymphozyten**

Morphologisch sind Lymphozyten an ihrem runden, relativ chromatindichten Zellkern und dem kleinen Zytoplasmasaum zu erkennen. Ihre Größe ist variabel, und man unterscheidet kleine (6-8 µm), mittelgroße und große (>15 µm) Lymphozyten <sup>32</sup>. Die Lymphozyten können funktionell in drei Subpopulationen unterteilt werden. Die B-Lymphozyten, die T-Lymphozyten und die natürlichen Killerzellen. Eine Lymphozytensubdifferenzierung sollte in der BAL ab einem Lymphozytenanteil von  $\geq 12-15\%$  der differenzierten Zellen durchgeführt werden <sup>2</sup>. Hierbei werden die auxilliären Proteine immunhistochemisch aufgearbeitet, so dass CD4+ T-Lymphozyten (T-Helferzellen) von CD8+ T-Lymphozyten (eine Untergruppe sind die zytotoxischen T Zellen) unterschieden werden können. Die Bestimmung des CD4+/CD8+-Verhältnisses der Lymphozyten kann bei der Diagnose verschiedener Lungenerkrankungen hilfreich sein. Als Normalwert gilt ein Bereich von 1,1 - 3,5. Die häufigste Ursache für ein erhöhtes CD4+/CD8+-Verhältnis (>3,5) ist die Sarkoidose <sup>33</sup>. Das Verhältnis muss jedoch nicht immer verändert sein <sup>34</sup>. Der CD4+/CD8+ Quotient kann auch eine prognostische Einschätzung der Sarkoidose liefern. So ist ein höherer Quotient mit einer besseren Prognose assoziiert <sup>35</sup>. Die Aussagekraft des CD4+/CD8+ Quotienten ist jedoch nicht auf die Sarkoidose beschränkt. Ein stark erniedrigter Quotient kann u.a. ein Hinweis auf eine Immunkompromittierung sein, z.B. durch eine immunsuppressive Therapie oder im Rahmen einer HIV-Infektion. Häufig kommt es dann zu Infektionen, z.B. mit *Mycobacterium tuberculosis* <sup>36</sup> oder *Pneumocystis jirovecii*. Ein erniedrigter Quotient findet sich auch bei idiopathischer Lungenfibrose <sup>37</sup> und der exogenen allergischen Alveolitis <sup>38</sup>.

### **Neutrophile Granulozyten**

Neutrophile Granulozyten sind mobile phagozytische Leukozyten, die als erste Zellen an akuten Entzündungsherden rekrutiert werden. Nach Actor <sup>39</sup> sind Neutrophile kurzlebig und werden im Knochenmark durch Stimulation

mit Granulozyten-Kolonie stimulierendem Faktor gebildet. Sie nehmen mikrobielle Pathogene auf, töten sie ab und verdauen sie. Neutrophile Granulozyten sind in der BAL an ihren 3-4 segmentierten Anteilen des Zellkerns erkennbar. Ihr Zytoplasma enthält wenig Mitochondrien, aber viel Glykogen. Ihre Aufgabe, die Abtötung pathogener Bakterien, erfolgt entweder durch Phagozytose oder durch Freisetzung gespeicherter Substanzen aus ihren Granula. Eine weitere Funktion der neutrophilen Granulozyten ist die Beseitigung körpereigener Zellen nach Ereignissen wie z.B. physischen Verletzungen oder Ischämie.

### **Eosinophile Granulozyten**

Eosinophile Granulozyten stammen wie neutrophile Granulozyten aus der myeloischen Zellreihe. Die Hauptaufgabe der eosinophilen Granulozyten ist die Entleerung der Granula zur Bekämpfung von Parasiten. Sie setzen ihre zytotoxischen Komponenten frei, sobald sie eine mit Ig-E-Antikörpern opsonierte Oberfläche erkennen <sup>41</sup>. Morphologisch sind Eosinophile meist durch zwei Kernsegmente gekennzeichnet. In ihrem Zytoplasma finden sich große Granula (modifizierte Lysosomen). Neben der Parasitenabwehr spielen eosinophile Granulozyten eine entscheidende Rolle im Verlauf vieler entzündlicher und allergischer Erkrankungen, wie z.B. dem allergischen Asthma bronchiale <sup>42,43</sup>.

### **Mastzellen**

Mastzellen sind aufgrund ihrer stark basophilen, lichtmikroskopisch gut sichtbaren Granula in der MGG-Färbung gut erkennbar. In ihren Granula enthalten sie polyanionisches Heparin, Histamin und verschiedene andere Proteasen und Hydrolasen <sup>32</sup>. Bei Stimulation setzen Mastzellen ihre Granula sowie akut synthetisierte Arachidonsäurederivate und Zytokine frei <sup>44</sup>. Mastzellen spielen eine wichtige Rolle bei der Antigen-induzierten Bronchokonstriktion <sup>45</sup> und beim symptomatischen Asthma der Atemwege.

### **Epithel**

Epithelzellen, sowohl Zylinderepithelzellen als auch Plattenepithelzellen, sind als ein Kriterium für die Qualität der bei der BAL gewonnenen Probe anzusehen. Je mehr Epithelzellen vorhanden sind, desto wahrscheinlicher ist es, dass die Bronchoskopie erschwert war und die Spülflüssigkeit auch die oberen Atemwege gespült und aspiriert hat. Machen sie mehr als 5% der Gesamtzellen aus, ist davon auszugehen, dass die Kontamination zu hoch ist und das vorliegende BAL-Material nicht mehr

sinnvoll untersucht werden kann, um die Diagnose einer diffusen interstitiellen Lungenerkrankung zu sichern <sup>10</sup>. Die Plattenepithelzellen stammen in der Regel aus dem unverhornten mehrschichtigen Plattenepithel des Larynx, Mesopharynx und Hypopharynx <sup>48</sup>.

### Erythrozyten

Erythrozyten sind keine physiologisch vorkommenden Zellen in den luftgefüllten Anteilen der Lunge. Sie können z.B. durch Verletzungen bei der Entnahme, durch vorangegangene Blutungen oder andere pathologische Mechanismen in die Lunge gelangen <sup>9,30</sup>. Eine zu große Anzahl von Zellen aus dem Blut kann die zytologische Diagnostik der BAL erheblich erschweren <sup>9</sup>. Zur Unterscheidung von frischen und bereits länger in der Lunge befindlichen Erythrozyten wird die Hämosiderinbeladung der Makrophagen untersucht (vergleiche oben, Abschnitt Makrophagen).

### Artefakte

Artefakte sind künstliche Produkte, die bei der Präparation entstehen <sup>44</sup>. Artefakte können viele Ursachen haben. Dazu gehören schlechte Probenvorbereitung, mangelnde Qualität der Reagenzien, Variabilität der angewandten Techniken und technische Fehler <sup>49</sup>.

### Befundinterpretation der bronchoalveolären Lavage

Die BAL ist immer im Kontext der Anamnese, der klinischen und radiologischen Untersuchungsbefunde sowie

der Laborbefunde zu beurteilen. Von besonderer Bedeutung ist der zytomorphologische Befund. Nicht nur die alleinige Differenzialzytologie, sondern auch der Nachweis von Partikeln (Asbestkörperchen), das Vorhandensein von Tumorzellen oder die Morphologie der Makrophagen (z. B. schaumig bei exogen-allergischer Alveolitis, monomorph bei Sarkoidose) sind richtungsweisend und für die Diagnosestellung von großer Bedeutung <sup>10</sup>.

Das Differenzialzellbild einer BAL eines gesunden Nicht-rauchers besteht zu 80-90 % aus Alveolarmakrophagen, 5-15 % Lymphozyten, ca. 3 % Neutrophilen und < 1 % Eosinophilen <sup>9</sup>. Die Differenzialzytologie der BAL ist nicht nur von der jeweiligen Erkrankung, sondern auch von Alter und Geschlecht des Patienten sowie von exotoxischen Einflussfaktoren abhängig. So gibt es beispielsweise deutliche Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern <sup>10</sup>. Daher ist es bei der Interpretation einer BAL von größter Bedeutung, die Differenzialzytologie im Kontext der individuellen klinischen Situation des Patienten zu betrachten und auch andere verfügbare Befunde des Patienten (Labor, Bildgebung) in die Beurteilung mit einzubeziehen (Vergleiche Tabelle 1).

Ziel der Differenzialzellzählung ist es, eine fibrosierende Lungenerkrankung (neutrophile Proliferation) von einer granulomatösen oder rheumatischen Erkrankung (lymphozytäre Proliferation) zu unterscheiden. Die relative Vermehrung der jeweiligen Zellen lässt sich jedoch nicht

Diagnose	Makrophagen	Lymphozyten	Neutrophile	Eosinophile
Kind	81 ± 13	16 ± 12	2 ± 3	0,4 ± 0,6
Nichtraucher	92 ± 4	7 ± 3	1 ± 1	1 ± 0,3
Raucher	96 ± 3	3 ± 2	1 ± 1	0,4 ± 0,6
Sarkoidose	55 ± 21	41 ± 21	3 ± 5	1 ± 1
EAA	18 ± 10	78 ± 10	2 ± 2	1 ± 1
IPF	66 ± 23	15 ± 15	14 ± 16	5 ± 5
COP/BOOP	39 ± 19	44 ± 19	10 ± 3	6 ± 8
CEP	27 ± 18	22 ± 18	6 ± 6	46 ± 22

Tabelle 1: Differenzialzellbild der BAL mit Werten nach Totsch, et al. <sup>10</sup>. Angaben in Prozent. Kein Anspruch auf Vollständigkeit. EAA Exogen allergische Alveolitis, IPF Idiopathische Lungenfibrose, COP chronische organisierende Pneumonie, BOOP Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie, CEP Chronische eosinophile Pneumonie.



immer eindeutig einer bestimmten Diagnose oder Erkrankung zuordnen, zudem gibt es Mischbilder, die sich überlagern und schwer zu interpretieren sind (Vergleiche Tabelle 2).

#### Hoher Anteil an Lymphozyten

Exogene allergische Alveolitis, Sarkoidose, Tuberkulose, Medikamente, AIDS, Asbestose, Alveolarproteinose, Lymphangiosis carcinomatosa

#### Neutrophile hoch

Idiopathische Lungenfibrose, ARDS, Kollagenosen, Asbestose, Pneumokoniosen, bronchopulmonaler Infekt

#### Eosinophile hoch

Eosinophile Pneumonie, Churg-Strauss-Syndrom, allergische bronchopulmonale Aspergillose, idiopathische Lungenfibrose, Medikamente, Asthma bronchiale

Tabelle 2: Krankheiten mit lymphozytärer, neutrophiler, und eosinophiler Alveolitis. Überschneidungen kommen vor, keine Vollständigkeit.

Der CD4/CD8-Quotient kann auch als guter Leitfaden für die Differenzialdiagnose verwendet werden. Besonders niedrige CD4/CD8-Quotienten werden im akuten Stadium der exogen-allergischen Alveolitis, bei bestimmten medikamentös induzierten Lungenerkrankungen, bei Silikose, HIV-Infektionen und chronischen Pneumonien erwartet. Dagegen deutet ein CD4/CD8-Quotient über 3,5 eher auf eine Sarkoidose, eine Berylliose, eine asbestinduzierte Alveolitis, einen Morbus Crohn oder eine Kollageno-

#### CD4/CD8 hoch (>3,5)

Sarkoidose, Berylliose, Asbestose, Morbus Crohn

#### CD4/CD8 normal (1,1-3,5)

Tuberkulose, Lymphangiosis

#### CD4/CD8 niedrig (<1,1)

Exogen-allergische Alveolitis, Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie, HIV, Silikose, Medikamente

Tabelle 3: CD4/CD8 Quotient in der BAL bei verschiedenen Krankheiten.

se hin. Aufgrund dieser Fülle von Differenzialdiagnosen ist der Bezug zum klinischen Bild des Patienten von großer Bedeutung <sup>10</sup> (Vergleiche Tabelle 3).

Im folgenden werden die häufigsten Diagnosen, die anhand einer BAL herausgearbeitet werden können, durch beispielhafter Fälle illustriert, siehe folgende Tableaus:

- Exogen allergische Alveolitis, Hypersensitivitätspneumonie (EAA, HP)
- Eosinophile Pneumonie (EP)
- Histiozytosis X, pulmonale Langerhanshistiozytose (HX, pLH)
- Opportunistische Infektion der Lunge bei Immunsuppression
- Sarkoidose

#### Exogen allergische Alveolitis, Hypersensitivitätspneumonie (EAA, HP)



Abb. 1: Radiologie: sog. Mosaikmuster: Milchglasteile in unterschiedlicher Dichte, air trapping (cystisch anmutende dunkle Areale). Verdacht auf EAA, DD DIP DDpLH, DD Infekt.

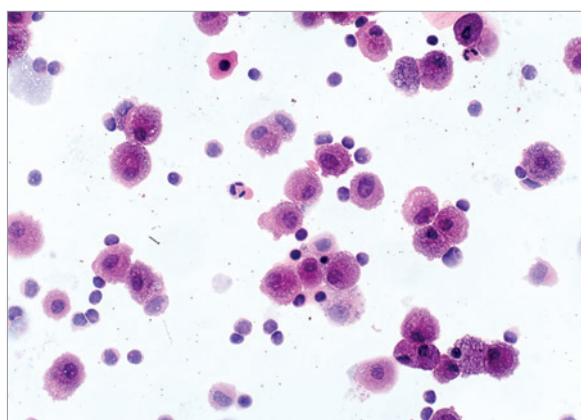


Abb. 2: BAL: Deutlich erkennbare Lymphozytose und leichte Granulozytenerhöhung. Zu Beginn einer EAA starker Influx von Granulozyten, später Verdrängung durch Lymphozyten. Erhöhung der Lymphozyten oft > 60%.

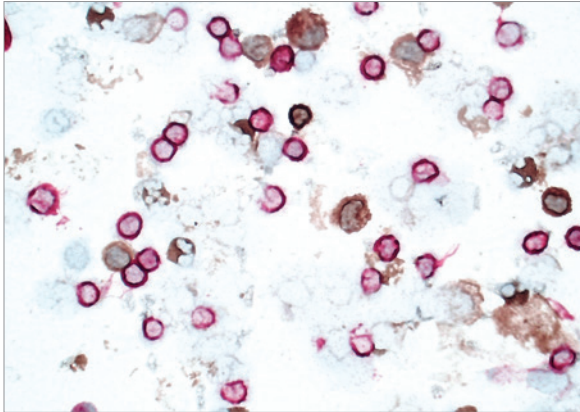


Abb. 3: BAL IHC: erniedrigte CD4/CD8 Ratio meist  $<0,5$  (CD 4 positive Lymphozyten braun, CD8 positive Lymphozyten rot).



Abb. 1: Radiologie: Symmetrische Konsolidierungen. DD Organisierende Pneumonie, DD Malignom.

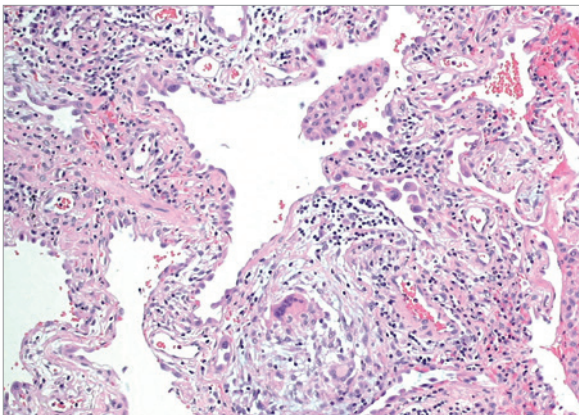


Abb. 4: Histologie: Verbreiterung des Lungeninterstitiums durch Lymphozyten und Ausbildung von epitheloidzelligen Mikrogranulomen im Interstitium (fast ausschließlich bestehend aus Riesenzellen und kleineren Epitheloidzellen), sowie einer organisierenden Pneumonie (im Lumen der Alveolen).

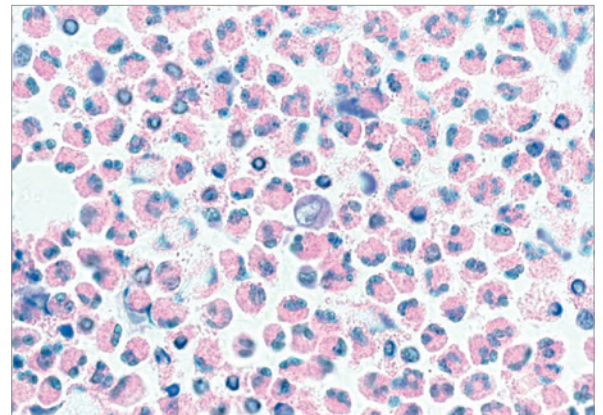


Abb. 2: BAL: Ausgeprägte Vermehrung der Eosinophilen Granulozyten. In aller Regel  $> 60\%$  und höher.

### Eosinophile Pneumonie (EP)

Ursachen dieser Erkrankung sind vielfältig: Häufig in Verbindung mit Hypereosinophilie im Blut (HES) oder Asthma. Bei begleitendem Auftreten von Lungenblutungen Teilaspekt einer Eosinophilen Granulomatose mit Polyangiitis (früher Churg Strauss Syndrom), seltener bei Wurmerkrankungen und als medikamentös toxische Reaktion.

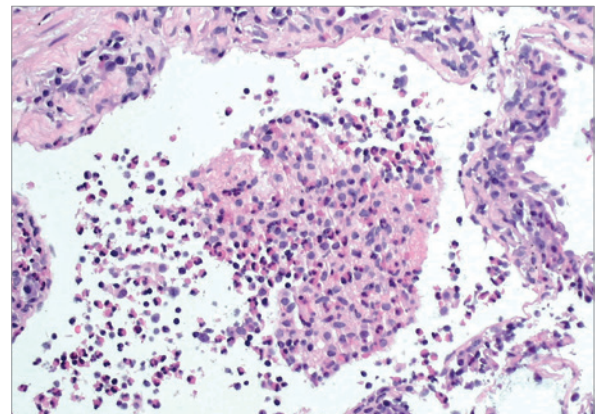


Abb. 3: Histologie: Intraalveoläre Ansammlung von eosinophilen Granulozyten, z.T. mit Übergang in organisierende Pneumonie.



## Histiozytosis X, pulmonale Langerhanshistiozytose (HX, pLH)

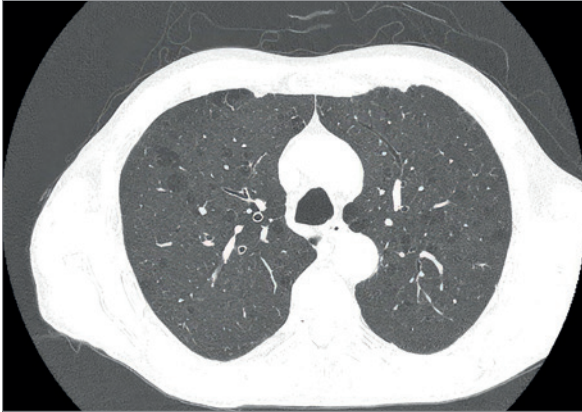


Abb. 1: Radiologie: liegt eine multizystische Lungenerkrankung vor. DD Kongenitale Zysten, DD DIP, DD EAA oder pLH.

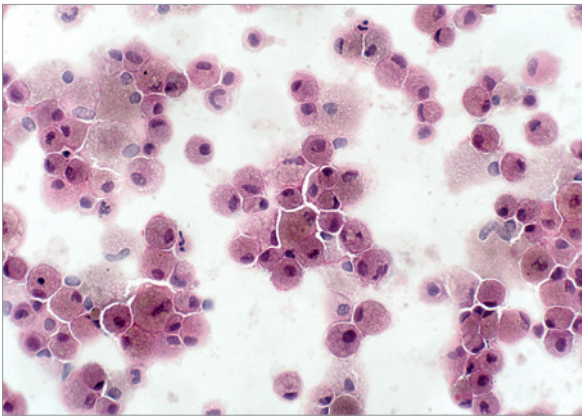


Abb. 2: BAL: Typisches Bild einer Raucher BAL mit braunem Pigment in den Makrophagen und reduzierten Lymphozyten und vermehrten Granulozyten.

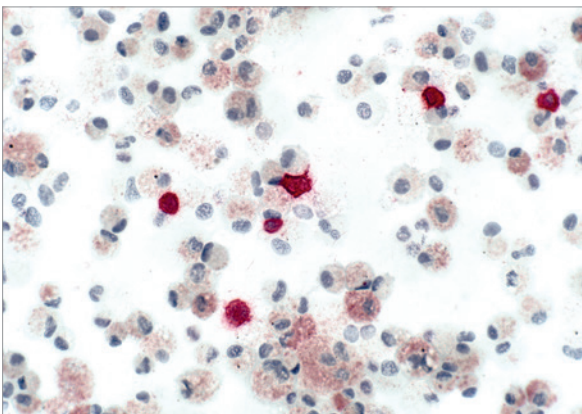


Abb. 3: BAL IHC zeigt vermehrt CD1a positive Zellen (Marker für Langerhans Histiozyten – rot gefärbt). Anteil >6 % Langerhanshistiozyten erlaubt die Diagnose einer pLH.

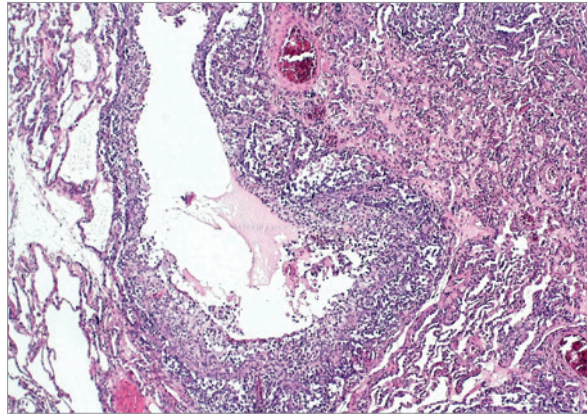


Abb. 4: Histologisch erkennt man Granulome, die aus Langerhanshistiozyten bestehen, die zentral nekrotisch werden und die Zystenbildung verursachen (Hohlraum im Zentrum).

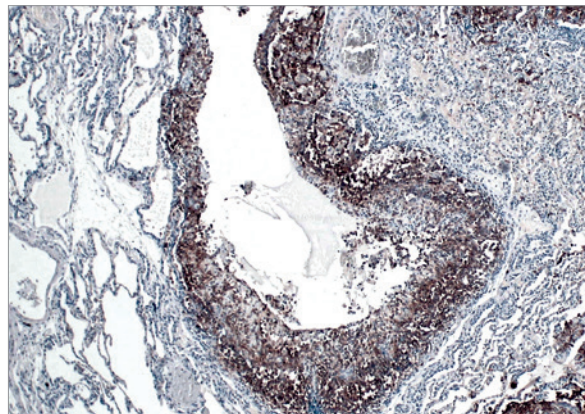


Abb. 5: Immunhistochemisch sind die Zellen in der Zystenwand CD1a positiv (hier braun gefärbt) und damit Langerhanshistiozyten.

## Opportunistische Infektion der Lunge bei Immunsuppression

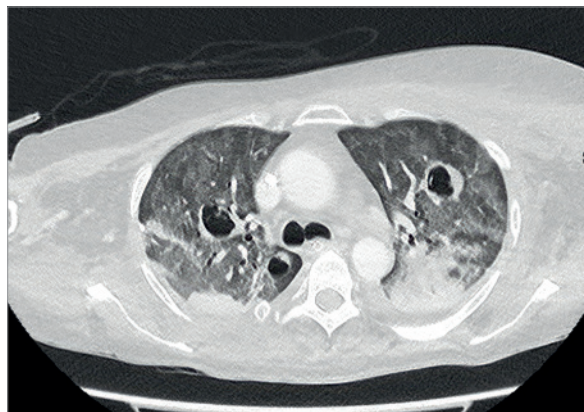


Abb. 1: Radiologie: Mehrere Kavernen mit wandständigen Verdichtungen DD Tbc, DD einschmelzende Pneumonie DD Aspergillom; zusätzlich bipulmonale Milchglasinfiltrate unter Aussparung der Peripherie.



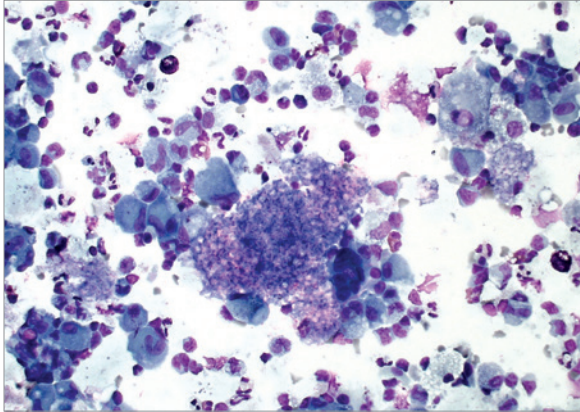


Abb. 2: BAL 1: Lymphozytöres Zellbild mit wolkigen amorphen Strukturen in der MGG.

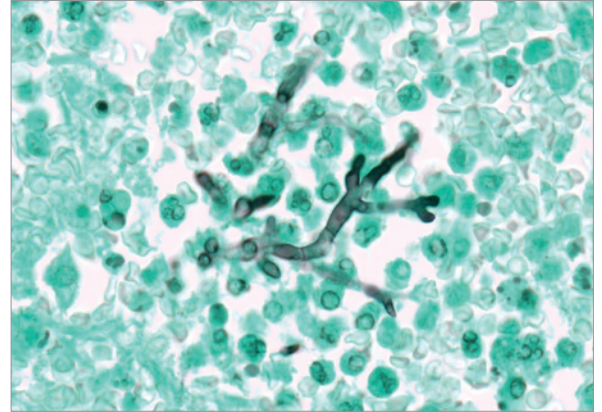


Abb. 5: BAL 2 ebenfalls Spezialfärbung: Zusätzlich besteht in diesem Fall eine Mischinfektion mit *Aspergillus fumigatus*, was die kavernen Lungenstrukturveränderungen erklärt.

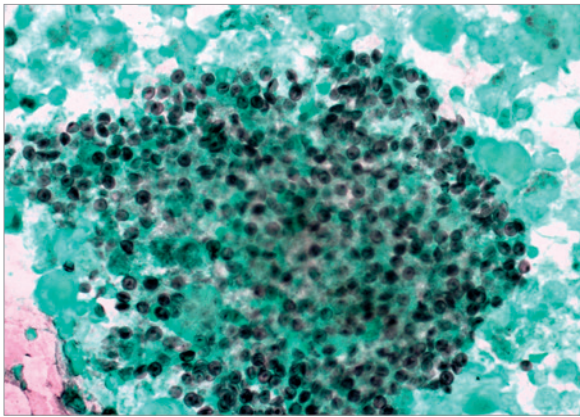


Abb. 3: BAL mit Spezialfärbung: In der Grocottfärbung erkennt man die Mikroorganismen, die in Haufen liegen, mit zentralem Kern und doppel konturierter Zellmembran. Die Pneumocysti Jirovecii Pneumonie erklärt die milchglasartigen Veränderungen in der Radiologie.

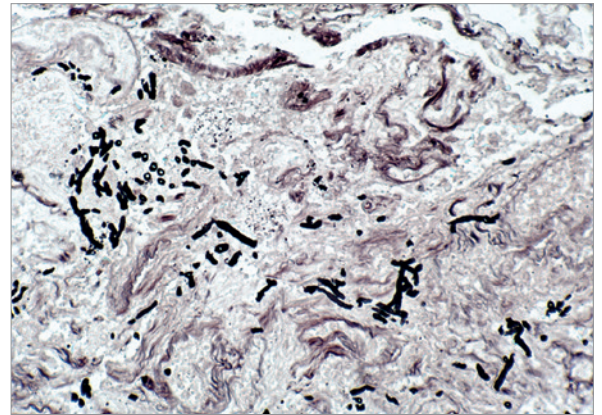


Abb. 6: Histologie 2: In der Histologie findet man auch die Aspergillen (wiederum Grocottfärbung mit etwas weniger Lichtgrün in der Gegenfärbung), die hier nicht auf die Kavernen beschränkt sind, aufgrund der starken Immunsuppression der Patientin.

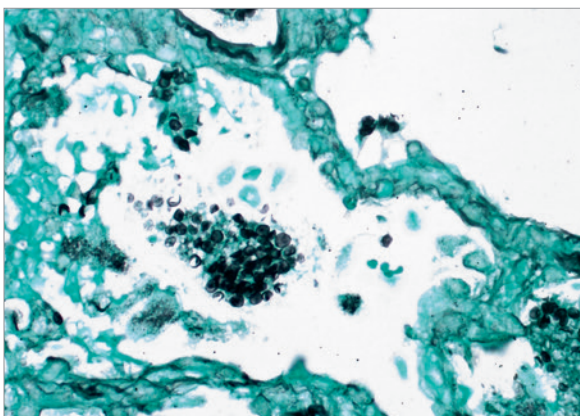


Abb. 4: Histologie 1: In der Histologie (auch hier nur in der Grocottfärbung) erkennt man die streng intraalveoläre Ansammlung der Pneumocysten. Dies ist der Grund warum ein Bronchialsekret für den Nachweis nicht ausreicht und nur die BAL diagnostisch ist.

## Sarkoidose

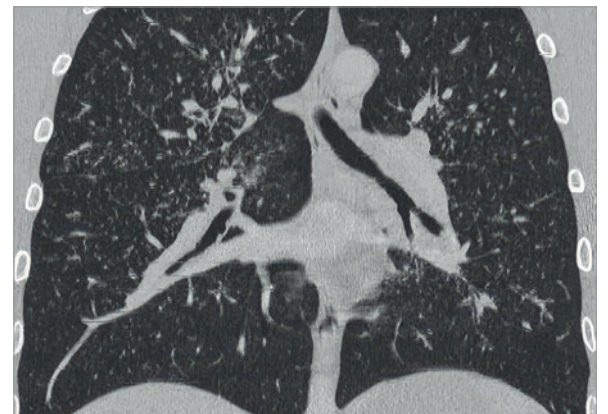


Abb. 1: Radiologie: Multiple kleine disseminierte Knötchen entlang der Gefäße und der Lappenspaltan mit Betonung der Oberlappen. DD Sarkoidose, DD Lymphangiosis carcinomatosa pulmonum DD Tuberkulose.ch bipulmonale Milchglasinfiltrate unter Aussparung der Peripherie.



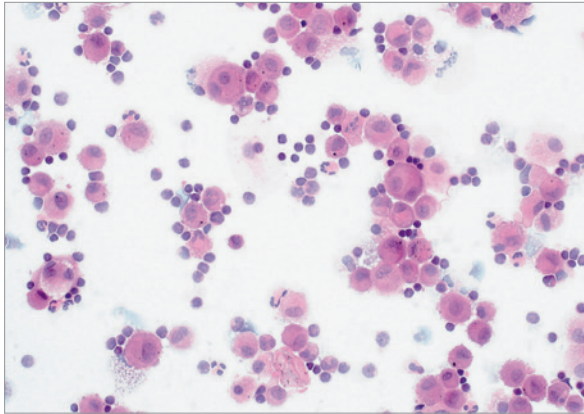


Abb. 2: BAL: Lymphozytäre BAL, meist über 20% aber nicht so ausgeprägt wie bei EAA, meist <60%.

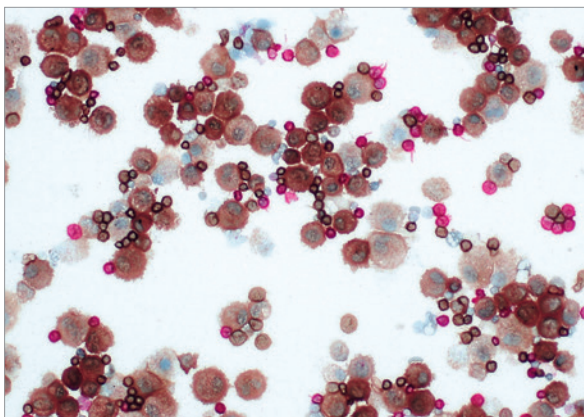


Abb. 3: BAL IHC: T4/T8 Ratio meist erhöht >5% (Normwert 2). Kann aber auch erniedrigt sein.

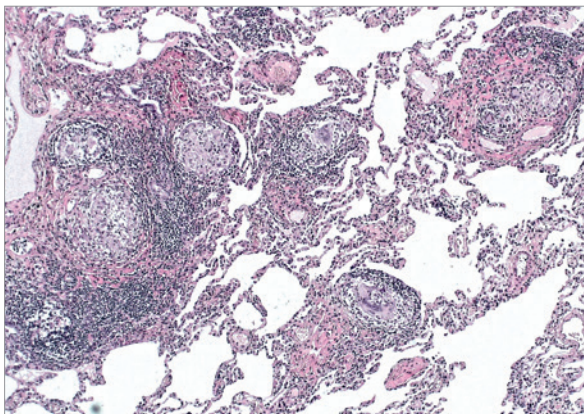


Abb. 4: Histologie: multiple nicht verkäsende epitheloidzellige Granulome, perlschnurartig aufgefädelt entlang der Gefäße. (Beachte Granulome viel größer als bei EAA und anders verteilt). Sarkoidose ist immer eine Ausschlussdiagnose! Negativer Nachweis für Tuberkelbakterien in Ziehl Neelsen Färbung und in der MTB- PCR sowie in der Kultur Voraussetzung für die Diagnose.

#### Autor

Prof. Dr. med. univ. Andreas Gschwendtner  
Institut und MVZ für Pathologie  
Klinikum Kulmbach  
Albert-Schweitzer-Str. 10, 95346 Kulmbach

#### Danksagung

Der Autor bedankt sich ausdrücklich für die Unterstützung bei der Erstellung des Manuskriptes und der Auswahl der Fälle und Bilder bei:

Sebastian Rumpf - Würzburg - (meinem Dissertanten) dessen Doktorarbeit als Vorlage für den Artikel diente.

Frau PD Dr. med. Karina Hofmann Preiss - Radiologie Erlangen/ Tennenlohe - für die radiologischen Bilder unserer gemeinsamen Patienten.

Prof. Dr. med. Matthias Held - Missionsärztliches Spital Würzburg - für die vielen interessanten Fälle von gemeinsamen Patienten, die die Grundlage der Fallbeispiele waren.

#### Literatur

1. Reynolds, H. and N. HH, Analysis of protein and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage. 1974.
2. Gillissen, A., Über die Spülflüssigkeit der Lunge der Erkrankung auf die Spur kommen. Pneumo News, 2020. 12(7-8): p. 44-50.
3. Reynolds, H., Use of bronchoalveolar lavage in humans—past necessity and future imperative. Lung, 2000. 178(5): p. 271-293.
4. Meyer, K.C., Bronchoalveolar lavage as a diagnostic tool. in Seminars in respiratory and critical care medicine. 2007. © Thieme Medical Publishers.
5. Baughman, R.P., U. Costabel, and K.C. Meyer, Bronchoalveolar lavage. in Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2007. © Thieme Medical Publishers.
6. Costabel, U., et al., Diagnostic modalities in sarcoidosis: BAL, EBUS, and PET. in Seminars in respiratory and critical care medicine. 2010. © Thieme Medical Publishers.
7. Costabel, U. and J. Guzman, Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. Current opinion in pulmonary medicine, 2001. 7(5): p. 255-261.
8. Hetzel, J., et al., Bronchoscopic performance of bronchoalveolar lavage in germany – a call for standardization. Sarcoidosis, Vasculitis, and Diffuse Lung Diseases, 2021. 38(1).
9. Meyer, K.C., et al., 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, 2012. 185(9): p. 1004-1014.
10. Totsch, M., et al., Bronchoalveolar lavage. Pathologe, 2007. 28(5): p. 346-53.

11. Welker, L., et al., Predictive value of BAL cell differentials in the diagnosis of interstitial lung diseases. *European respiratory journal*, 2004. 24(6): p. 1000-1006.
12. Klech, H., P. Haslam, and M. Turner-Warwick, Worldwide clinical survey on bronchoalveolar lavage (BAL) in sarcoidosis: experience in 62 centers in 19 countries. *Sarcoidosis*, 1986. 3: p. 113-117.
13. Klech, H., Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). *Eur Respir J.*, 1989. 2: p. 561-585.
14. Haslam, P.L. and R.P. Baughman, Report of ERS Task Force: guidelines for measurement of acellular components and standardization of BAL. *European Respiratory Journal*, 1999. 14(2): p. 245-248.
15. Clements, P.J., et al., Regional differences in bronchoalveolar lavage and thoracic high resolution computed tomography results in dyspneic patients with systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 2004. 50(6): p. 1909-1917.
16. Raghu, G., et al., Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2018. 198(5): p. e44-e68.
17. Rankin, J.A., G.P. Naegel, and H.Y. Reynolds, Use of a central laboratory for analysis of bronchoalveolar lavage fluid. *American Review of Respiratory Disease*, 1986. 133(2): p. 186-190.
18. Ewig, S., et al., Behandlung von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie und Prävention—Update 2016. *Pneumologie*, 2016. 70(03): p. 151-200.
19. Kelly, C., et al., The effect of filtration on absolute and differential cell counts in fluid obtained at bronchoalveolar lavage. *Respiratory Medicine*, 1989. 83(2): p. 107-110.
20. Mordelet-Dambrine, M., et al., Processing of lung lavage fluid causes variability in bronchoalveolar cell count. *American Review of Respiratory Disease*, 1984. 130(2): p. 305-306.
21. Baughman, R.P., Technical aspects of bronchoalveolar lavage: recommendations for a standard procedure. in *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2007. © Thieme Medical Publishers.
22. Begemann, H., et al., Staining methods. *Atlas of Clinical Haematology*, 1972: p. 9-21.
23. Gressner, A.M. and T. Arndt, *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2019: Springer Berlin Heidelberg.
24. Lüllmann-Rauch, R., *Taschenlehrbuch Histologie*. 2012: Thieme.
25. Marzahl, C., et al., Deep Learning-Based Quantification of Pulmonary Hemosiderophages in Cytology Slides. *Sci Rep*, 2020. 10(1): p. 9795.
26. Cordier, J.F., *Orphan Lung Diseases: European Respiratory Monograph*. 2011: European Respiratory Society.
27. Rabe, C., et al., Severe respiratory failure due to diffuse alveolar hemorrhage: clinical characteristics and outcome of intensive care. *Journal of critical care*, 2010. 25(2): p. 230-235.
28. Jin, S.M., et al., Aetiologies and outcomes of diffuse alveolar haemorrhage presenting as acute respiratory failure of uncertain cause. *Respirology*, 2009. 14(2): p. 290-294.
29. Kahn, F.W., J.M. Jones, and D.M. England, Diagnosis of pulmonary hemorrhage in the immunocompromised host. *American Review of Respiratory Disease*, 1987. 136(1): p. 155-160.
30. Azoulay, E., *Pulmonary Involvement in Patients with Hematological Malignancies*. 2011: Springer Berlin Heidelberg.
31. Henderson, R., et al., New approaches for the evaluation of pulmonary toxicity: bronchoalveolar lavage fluid analysis. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1985. 5(3): p. 451-458.
32. Lüllmann-Rauch, R. and E. Asan, *Zellenlehre, in Taschenlehrbuch Histologie*, R. Lüllmann-Rauch and E. Asan, Editors. 2019, Georg Thieme Verlag.
33. Drent, M., K. Mansour, and C. Linssen, Bronchoalveolar lavage in sarcoidosis. in *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2007. © Thieme Medical Publishers.
34. Kantrow, S., et al., The CD4/CD8 ratio in BAL fluid is highly variable in sarcoidosis. *European Respiratory Journal*, 1997. 10(12): p. 2716-2721.
35. Baughman, R.P. and D. Valeyre, *Sarcoidosis: A Clinician's Guide*. 2018: Elsevier Health Sciences.
36. Yongmei, Y., et al., The CD4+/CD8+ ratio in pulmonary tuberculosis: systematic and meta-analysis article. *Iranian journal of public health*, 2015. 44(2): p. 185.
37. Papiris, S.A., et al., Relationship of BAL and lung tissue CD4+ and CD8+ T lymphocytes, and their ratio in idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest*, 2005. 128(4): p. 2971-2977.
38. Wahlstrom, J., et al., Lung and blood T-cell receptor repertoire in extrinsic allergic alveolitis. *European Respiratory Journal*, 1997. 10(4): p. 772-779.
39. Actor, J.K., *Elsevier's Integrated Review Immunology and Microbiology E-Book: with STUDENT CONSULT Online Access*. 2011.



- 40. Welsch, U. and J. Sobotta**, Atlas Histologie: Zytologie, Histologie, mikroskopische Anatomie ; 15 Tabellen. 2005: Elsevier, Urban & Fischer.
- 41. Sokollik, C. and H.-U. Simon**, Eosinophile Granulozyten–Physiologie und Pathophysiologie. Zeitschrift für Rheumatologie, 2019. 78(4): p. 306-312.
- 42. Nakagome, K. and M. Nagata**, Pathogenesis of airway inflammation in bronchial asthma. Auris Nasus Larynx, 2011. 38(5): p. 555-563.
- 43. Venge, P.**, Eosinophil activity in bronchial asthma. in Allergy and Asthma Proceedings. 1994. OceanSide Publications.
- 44. Welsch, U. and T. Deller**, Histologie - Das Lehrbuch. 2018: Elsevier Health Sciences.
- 45. Casale, T.B., et al.**, Direct evidence of a role for mast cells in the pathogenesis of antigen-induced bronchoconstriction. The Journal of clinical investigation, 1987. 80(5): p. 1507-1511.
- 46. Hart, P.H.**, Regulation of the inflammatory response in asthma by mast cell products. Immunology and cell biology, 2001. 79(2): p. 149-153.

- 47. Broide, D.H., et al.**, Evidence of ongoing mast cell and eosinophil degranulation in symptomatic asthma airway. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1991. 88(4): p. 637-648.
- 48. Ulfing, N. and G. Ritschel**, Kurzlehrbuch Histologie. 2011: Georg Thieme Verlag.
- 49. Rolls, G.O., N.J. Farmer, and J.B. Hall**, Artifacts in histological and cytological preparations.
- 50. Armbruster, C., L. Pokieser, and A. Hassl**, Diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia by bronchoalveolar lavage in AIDS patients. Comparison of Diff-Quik, fungifluor stain, direct immunofluorescence test and polymerase chain reaction. Acta cytologica, 1995. 39(6): p. 1089-1093.

#### **Bildnachweis**

Prof. Dr. med. univ. Andreas Gschwendtner

Radiologische Abbildungen: PD Dr. med. Karina Hofmann Preiss