

**Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin  
Tübingen  
Abteilung Kinderheilkunde I mit Poliklinik  
(Schwerpunkt: Allgemeine Pädiatrie, Hämatologie und  
Onkologie)**

**Wertigkeit der Zytologie der bronchoalveolären Lavage  
im Kindesalter**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Leinert, Johanna Luca**

**2018**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Hartl

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. A. Straub

Tag der Disputation: 28.11.2016

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	5
1.1	Definition .....	5
1.2	Geschichtliche Entwicklung .....	5
1.3	Indikationen .....	5
1.4	Technik der BAL .....	6
1.5	Vergleich mit anderen invasiven diagnostischen Verfahren .....	7
1.6	Risiken und Komplikationen .....	8
1.7	Auswertung und Befunddokumentation .....	8
1.8	Die Zytologie der bronchoalveolären Lavage.....	9
1.8.1	Normalbefunde .....	10
1.8.2	Stellenwert der zytologischen Befunde in der Diagnostik.....	11
<b>2</b>	<b>Material und Methodik</b> .....	14
2.1	Auswertung der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen.....	14
2.1.1	Zytospinauswertung.....	14
2.1.2	Mikroskopische Auswertung.....	15
2.1.3	Korrelation zytologischer Parameter .....	15
2.1.4	Streuung der zytologischen Parameter .....	15
2.2	Literaturauswertung .....	16
2.2.1	Zytologische Muster.....	16
2.3	Statistik .....	17
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	18
3.1	Auswertung der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen.....	18
3.1.1	Patientenkollektiv.....	18
3.1.2	Diagnosegruppen.....	18
3.1.3	Zytologie .....	19
3.1.4	Korrelationen der zytologischen Parameter.....	29
3.1.5	Variationskoeffizient der zytologischen Parameter.....	33
3.1.6	Mikrobiologie .....	35

3.1.7	Antibiotikaklassen.....	35
3.1.8	C-reaktives Protein.....	36
3.2	Literaturauswertung und Vergleich.....	37
3.2.1	Literaturvergleich: Cystische Fibrose.....	39
3.2.2	Literaturvergleich: Pneumonien / Infektionen .....	44
3.2.3	Literaturvergleich: interstitielle Lungenerkrankungen.....	49
3.2.4	Literaturvergleich: Neoplasien / KMT.....	52
3.2.5	Zytologische Muster der Diagnosegruppen .....	56
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>58</b>
4.1	Auswertung der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen.....	58
4.1.1	Patientenkollektiv.....	58
4.1.2	Diagnosegruppen .....	59
4.1.3	Zytologie .....	59
4.1.4	Mikrobiologie .....	61
4.1.5	Antibiotikaklassen.....	62
4.1.6	C-reaktives Protein.....	62
4.1.7	Korrelationen.....	63
4.2	Literaturauswertung .....	63
4.3	Stellenwert der BAL in der Diagnostik.....	64
4.3.1	Cystische Fibrose.....	64
4.3.2	Pneumonien / Infektionen .....	65
4.3.3	Interstitielle Lungenerkrankungen .....	67
4.3.4	Neoplasien / KMT.....	70
4.3.5	Restliche Diagnosegruppen .....	71
4.3.6	Schlussfolgerung .....	72
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>74</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>76</b>
<b>7</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....</b>	<b>83</b>

# **1 Einleitung**

## **1.1 Definition**

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) ist ein Verfahren zur Diagnostik von Lungenerkrankungen, welche in der Regel im Rahmen einer Bronchoskopie mit einem flexiblen Bronchoskop durchgeführt wird. Dieses wenig invasive Verfahren ermöglicht die Gewinnung von Zellen, Zellbestandteilen und Mikroorganismen, welche anschließend weiter analysiert werden und so eine Diagnosestellung ermöglichen können [1]. Die BAL wird bei Erwachsenen in leichter Sedierung und bei Kindern in Vollnarkose durchgeführt. Zur Spülung wird in der Regel 0,9%ige Kochsalzlösung verwendet, die je nach Fragestellung in den Mittellappen der rechten Lunge, in die Lingula oder in das betroffene Segment instilliert wird. Neben den diagnostischen existieren auch therapeutische Indikationen zur Durchführung einer BAL, wie beispielsweise die die Spülung bei pulmonaler Alveolarproteinose.

## **1.2 Geschichtliche Entwicklung**

1961 nutzten Myrvik und seine Mitarbeiter die BAL erstmals im Tierexperiment zur Gewinnung von Alveolarmakrophagen [2]. 1974 wurde die BAL über das Fiberglasbronchoskop das erste Mal von Reynolds und Newball bei Menschen eingesetzt, zunächst ausschließlich zu Forschungszwecken [3]. Seit 1980 wurden zahlreiche Publikationen zur BAL veröffentlicht [4-6]. Insbesondere in der Pathogenese von interstitiellen Lungenerkrankungen ermöglichte die BAL zahlreiche neue Erkenntnisse [7-9]. Heutzutage wird die BAL als diagnostisches Werkzeug weltweit eingesetzt.

## **1.3 Indikationen**

In der Regel stellt die BAL keine Einzeldiagnostik dar, sondern in den meisten Fällen wird sie als additive Diagnostik bei unklaren Befunden eingesetzt und in Zusammenschau mit klinischer und radiologischer Diagnostik gesehen. Die häufigsten Indikationen zur Durchführung der BAL sind infektiöse und

interstitielle Lungenerkrankungen [10]. Die Durchführung der BAL kann jedoch bei allen Lungenkrankheiten unklarer Ätiologie angebracht sein. Ebenso wird bei immunkompromitierten Patienten mit Lungeninfiltraten und Menschen mit beruflicher Staubexposition regelmäßig die Indikation zur BAL gestellt [11]. Auch bei einem unauffälligen Röntgenbild kann eine BAL indiziert sein, da eine interstitielle Lungenerkrankung in der Bildgebung oft nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

Nach derzeitigem Stand ist die BAL vor allem bei unklaren Lungenerkrankungen, bei Infektionen, Tumoren, sowie bei Alveolarproteinose und Histiozytose aussagekräftig [12]. Bei anderen pathologischen Befunden ist die Einschätzung des Stellenwertes der BAL schwierig. So kann beispielsweise bei Asthma bronchiale eine Eosinophilie vorliegen und bei Aspirationen sind fettbeladene Makrophagen häufig, jedoch sind dies keine eindeutigen Diagnosezeichen [13; 14].

Ein weiteres Einsatzgebiet der bronchoalveolären Lavage ist die Surfactantproteinbestimmung in der Neonatologie [15].

Es gibt auch die Möglichkeit, das Verfahren aus therapeutischen Gründen einzusetzen, beispielsweise zur Entfernung von zähem Schleim bei zystischer Fibrose (CF).

Es besteht weiterhin die Möglichkeit, die BAL zu einer Beurteilung der Aktivität bei interstitiellen Lungenerkrankungen heranzuziehen [10]. Die Relevanz in der Prognostik ist jedoch noch nicht hinreichend geklärt, sodass es vonnöten ist, andere diagnostische Parameter, wie klinische Daten und Bildgebung (Röntgen, CT, MRT), zu Rate zu ziehen. Des Weiteren ist noch zu klären, ob die BAL zur Therapieoptimierung sinnvoll ist und in welchen Abständen diese zu wiederholen wäre. Allgemein gilt, dass die potentielle Aussagekraft der BAL, je nach Erkrankungsbild und Krankheitsstadium, sehr variabel ist.

#### **1.4 Technik der BAL**

Für die Durchführung der BAL gibt es im Kinder- und Jugendalter noch keine international eindeutig standardisierte Vorgehensweise [12]. Deswegen wird hier das am häufigsten praktizierte Vorgehen dargestellt. Aufgrund dieser

Tatsache ist auch zu beachten, dass die Ergebnisse verschiedener Studien nur bedingt vergleichbar sind. Mittlerweile gibt es jedoch zahlreiche Empfehlungen zu einer Durchführung einer BAL, welche einen Literaturvergleich in dieser Arbeit daher sinnvoll machen [16-18].

Es ist wichtig, dass der Patient während der Untersuchung nicht hustet, was durch eine ausreichende Lokalanästhesie verhindert wird. Nach dem Vordringen des Bronchoskops in den rechten Mittellappen, in die Lingula oder in das betroffene Segment, erfolgt die Instillation von 1 ml/kg warmer Kochsalzlösung 0,9% [12]. Die Lösung wird anschließend wieder abgesaugt. Dieser Vorgang wird mindestens 3 mal wiederholt. Für eine optimale Flüssigkeitsgewinnung ist es wichtig, dass die Bronchoskopspitze das Bronchiallumen abdichtet. Diese Ausrichtung wird auch „Wedge“-Position genannt.

Das zurückgewonnene Flüssigkeitsvolumen entspricht meist ca. 40 bis 70% des applizierten Volumens (sogenannte „Recovery“) [10]. Die Verwendung eines geeigneten Transportmediums ermöglicht sowohl einen Transport bei Raumtemperatur, als auch gute Untersuchungsergebnisse bis zu 24h nach Durchführung der BAL [10].

Die erste der 3 BAL-Portionen wird für die mikrobiologische Analyse verwendet. Mithilfe der Zellbestandteile aus Portion 2 und 3 („gepoolte Fraktion“) untersucht man die Zytologie.

Wichtig ist zu beachten, dass die Normwerte bei Kindern von den Normwerten Erwachsener abweichen (s. Tabelle 1).

### **1.5 Vergleich mit anderen invasiven diagnostischen Verfahren**

Im Vergleich mit der transbronchialen Lungenbiopsie sowie der offenen Lungenbiopsie ergibt sich für die BAL die geringste Invasivität, die kürzeste stationäre Verweildauer (in der Regel 0-1 Tage) und die geringste Mortalität von nahezu 0% [10; 19]. Im Vergleich hierzu liegt die stationäre Verweildauer bei transbronchialer oder offener Lungenbiopsie zwischen 0 und 5 Tagen und die Mortalität zwischen 0,1% und 1,8% [10]. Auch handelt es sich um das

günstigste Verfahren, welches auch bei beatmeten Patienten und bekannten Gerinnungsstörungen eingesetzt werden kann [18].

### **1.6 Risiken und Komplikationen**

Da die BAL mit einem flexiblen Bronchoskop durchgeführt wird, entsprechen die Risiken denen der Bronchoskopie: Bronchospasmus, Laryngospasmus sowie kardiale Arrhythmien [20]. Spezifische Komplikationen sind passagere segmentale Verschattungen in der Bildgebung, Fieber sowie eine Lungenfunktionseinschränkung mit Abfall der Vitalkapazität um bis zu 15% des Sollwertes [21].

Bekannte Risikofaktoren für das Auftreten von Komplikationen sind der Anstieg von Entzündungsparametern, ausgedehnte Lungeninfiltrate, ein arterieller Sauerstoffpartialdruck (PaO<sub>2</sub>) von unter 60mmHg, eine Sauerstoffsättigung von unter 90%, bronchiale Hyperreaktivität, eine maximale Einsekundenkapazität (FEV1) von unter 60% des Sollwertes, ein Thromboplastinwert von unter 30% des Sollwertes, ein schweres Lungenemphysem und eine bestehende Niereninsuffizienz [10; 22].

### **1.7 Auswertung und Befunddokumentation**

Der erste Schritt der Auswertung ist ein Screening auf Tumorzellen (bei Erwachsenen oder bei bestehendem Verdacht), Makrophageneinschlüsse (Fettbeladung, Staubpartikel, Asbestkörperchen, Erythrozytenfragmente), Cytomegalievirus-(CMV)-Einschlüsse, Pilze, Bakterien, dysplastische Epithelien sowie Plasmazellen [10]. Auch relevant für die Diagnostik ist die Anzahl an Epithelien, da ein hoher Anteil an Epithelzellen einen Hinweis darauf gibt, dass das gewonnene Material bronchialer und nicht alveolärer Herkunft ist.

In den Protokollen sollten folgende Basisdaten enthalten sein: Das lavagierte Segment, das Instillationsvolumen, der prozentuale Flüssigkeitsrückgewinn (sogenannte „Recovery“), die Gesamtzellzahl (entweder absolut oder pro ml rückgewonnener Flüssigkeit), die unten beschriebene Differentialzytologie und etwaige Besonderheiten.

### **1.8 Die Zytologie der bronchoalveolären Lavage**

Mit Hilfe der BAL besteht die Möglichkeit, die Gesamtzellzahl sowie ein differentielles Leukozytenbild zu bestimmen. Zur Ermittlung der Gesamtzellzahl verwendet man entweder eine Neubauer-Zählkammer oder ein automatisiertes Zählgerät. Die Bestimmung der Differentialzytologie erfolgt mittels Zellausstrich, Zytozentrifugenpräparat oder Millipore-Filterpräparat. Der Vorteil des Zellausstrichs ist, dass mehr Zellen auf dem Objektträger sichtbar werden, was ein besseres Screening auf Tumorzellen ermöglicht. Ein weiterer Vorteil ist, dass auch bei blutiger BAL-Flüssigkeit sich die Entzündungszellen darstellen lassen, wohingegen Präparate aus der Zytozentrifuge durch Erythrozyten überlagerte Entzündungszellen aufweisen. Mit dem Trypanblautest lässt sich die Vitalität der Zellen einschätzen. Normalerweise beträgt sie 80 bis 95% [10]. Des Weiteren wird eine May-Gründwald-Giemsa-Färbung (MGG) durchgeführt. Da diese Färbetechnik Mastzellen gut darstellt, sind andere Spezialfärbungen wie beispielsweise die Toluidinfärbung nicht zusätzlich notwendig. Da es abhängig von den Befunden und der klinischen Verdachtsdiagnose notwendig sein kann, weitere Spezialfärbungen (z.B. Eisen, Silber, Fett) anzufertigen, sollten mindestens 3 ungefärbte Präparate aufgehoben werden. Mit 5 bis 10 ml Vakuumfiltrat von BAL-Flüssigkeit durch eine Millipore-Membran besteht die Möglichkeit der Asbestkörperchenbestimmung [10]. Zur genaueren Bestimmung der einzelnen Subgruppen der Lymphozyten können Verfahren wie eine Immunozytochemie, Immunofluoreszenz oder Durchflusszytometrie durchgeführt werden [23].

Bei der zytologischen Auswertung werden mindestens 600 Zellen untersucht, um so einen aussagekräftigen Prozentsatz an Makrophagen, Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten, eosinophilen Granulozyten, Mastzellen sowie gegebenenfalls Plasmazellen und Blasten zu erhalten. Erythrozyten und Epithelien werden auch anteilig semiquantitativ bestimmt, jedoch nicht in der Differentialzählung berücksichtigt [24].

### 1.8.1 Normalbefunde

Beim Nichtraucher finden sich im Ausstrich- und Zytozentrifugenpräparat über 80% Makrophagen, welche sich in Bezug auf die Größe einheitlich und ohne Staubeinschlüsse darstellen [20]. Bei einem Auftreten von mehr als 10% von Makrophagen mit Staubeinschlüssen kann von einer Staubexposition (beruflich oder nicht beruflich) ausgegangen werden. Das Zytoplasma der Makrophagen ist leicht basophil und frei von Vakuolen.

Lymphozyten machen bis zu 10% der Zellen aus. Meistens sind sie nacktkernig und das Zytoplasma ist nicht sichtbar. Granulozyten machen einen sehr geringen Prozentsatz aus. Neutrophile Granulozyten finden sich zu 3%, eosinophile Granulozyten sowie Mastzellen bis zu 0,5% [25].

Die in diesem Abschnitt genannten Normwerte gelten für Erwachsene und nur für Zytozentrifugen- und Ausstrichpräparate. Bei der Verwendung von Millipore-Filterpräparaten finden sich in der Regel höhere Prozentsätze für Lymphozyten und geringere Werte für neutrophile Granulozyten [26]. Bei Rauchern steigt die Gesamtzellzahl auf das 3- bis 4-fache, insbesondere die Anzahl an Makrophagen nimmt deutlich zu [27]. (Die Makrophagen weisen insbesondere im Vergleich zu einem Nichtraucher eine auffällige Größenpolymorphie mit einem stark vergrößerten Zytoplasma auf. Häufig finden sich blauschwarze, runde oder ovale Zytoplasmainschlüsse, welche aus lipidbeladenen Zytoplasmabestandteilen bestehen, die man „smoker inclusions“ nennt. Bei der absoluten Lymphozytenzahl gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern, jedoch haben Raucher prozentual einen geringeren Anteil an Lymphozyten. Vergleicht man die Zahl an Granulozyten, so findet sich absolut bei Rauchern ein höherer Wert, aber prozentual kein Unterschied. Vergleicht man den CD4/CD8-Quotienten, so fällt auf, dass Nichtraucher einen mittleren Wert von 2,0 haben, wohingegen bei Rauchern dieser Wert um die Hälfte gesunken ist.)

Da sich diese Arbeit mit der Wertigkeit der BAL im Kindesalter befasst, ist es sehr wichtig zu beachten, dass die Normwerte bei Kindern deutlich abweichen von denen Erwachsener. Es existieren mittlerweile sogar spezielle Werte für pädiatrische Patienten, welche an CF leiden [12]. Normwerte für die Zytologie

der BAL bei gesunden Kindern in verschiedenen Studien sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Zytologie der BAL bei gesunden Kindern

	Studie <sup>1</sup>					
	Clement [28]	Koh [29]	Midulla [30]	Ratjen [31]	Riedler [32]	Tessier [33]
Patienten (n)	11	10	16	48	18	11
Alter (in Jahren; Range)	1-15	1-4	1-3	3-5	1-10	4-16
Neutrophile Granulozyten (%)	1,3±0,9 <sup>2</sup>	2,3 (1,0- 3,9) <sup>3</sup>	5,5±4,8 <sup>2</sup>	1,9±2,9 <sup>2</sup>	1,7 (0,6- 3,5) <sup>3</sup>	1,2±1,2 <sup>2</sup>
Lymphozyten (%)	8,7±4,6 <sup>2</sup>	7,5 (5,0- 10,8) <sup>3</sup>	8,7±5,8 <sup>2</sup>	16,2±12,4 <sup>2</sup>	7,5 (4,7- 12,8)	8,9±5,5 <sup>2</sup>
Makrophagen (%)	89,7±5,2 <sup>2</sup>	85,0 (81,5- 89,0) <sup>3</sup>	86,0±7,8 <sup>2</sup>	81,2±12,7 <sup>2</sup>	91 (84,2- 94,0) <sup>3</sup>	89,9±5,5 <sup>2</sup>
Eosinophile Granulozyten (%)	k. A.	0,0 (0,0- 0,1) <sup>3</sup>	0,2±0,3 <sup>2</sup>	0,4±0,6 <sup>2</sup>	0,2 (0,0- 0,3) <sup>3</sup>	0,0±0,0 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Erstautor

<sup>2</sup>Mittelwert±Standardabweichung

<sup>3</sup>Median (25%-Quantil – 75%-Quantil)

k. A.: keine Angabe

### 1.8.2 Stellenwert der zytologischen Befunde in der Diagnostik

Bisherige Studien weisen darauf hin, dass die zytologische Analyse der BAL einen Stellenwert bei der Diagnostik opportunistischer Infektionen und zur Feststellung einer beruflichen Staubexposition hat [10]. Weitere

diagnoseweisende Befunde der Zytologie sind: Staubpartikel in Makrophagen und/oder Absestkörperchen zur Diagnose von Pneumokoniosen. Eine milchig-trübe Flüssigkeit, PAS-positive azelluläre Korpuskel und viel Zelldebris lassen auf eine Alveolarproteinose schließen. Erythrozytenfragmente in Makrophagen gemeinsam mit hämosiderinbeladenen Makrophagen sprechen für ein alveoläres Hämorrhagiesyndrom. Der Nachweis von Tumorzellen, Lymphomzellen und Leukämiezellen können bei der Diagnosestellung eines Bronchialkarzinoms, einer Lymphangiosis carcinomatosa, eines malignen Lymphoms sowie einer Leukämie helfen. Pneumocystis carinii, Pilze sowie zytomegal transformierte Zellen sind diagnostische Kriterien für eine opportunistische Infektion. Eine CD4/CD8-Ratio von über 5,0 spricht für eine Sarkoidose wohingegen eine CD4/CD8-Ratio von unter 1,3 gemeinsam mit Leu7-positiven Zellen von über 17% der Lymphozyten sowie ein prozentualer Anteil an Lymphozyten von über 50% eine exogen-allergische Alveolitis vermuten lassen [10]. Weisen mehr als 3% aller Zellen CD1a (OKT6) auf, ist dies ein diagnoseweisender Befund für die Langerhans-Zell-Histiozytose [34]. Ein Lymphozytentransformationstest (LTT) mit Beryllium positiv ist typisch für eine Berylliose [35].

Bei Kindern mit Infektionen, Tumoren, Alveolarproteinose und Langerhans-Zell-Histiozytose kann eine Diagnosestellung mittels BAL möglich sein. Eine weitere Krankheit, bei der die Durchführung einer BAL von diagnostischem Nutzen sein kann, ist die Lungenhämosiderose. Man kann die Lungenhämosiderose mit Hilfe einer Eisenfärbung nachweisen. Eine unsichere Diagnose lässt sich mit anderen pathologischen Parametern der BAL stellen: Bei über 5% der Aspirationen, aber auch bei zahlreichen anderen infektiösen und entzündlichen Erkrankungen finden sich fettbeladene Makrophagen [12]. Im Vergleich mit histologischen Proben konnte gezeigt werden, dass die Infiltration der Alveolärwände und des interstitiellen Lungengewebes durch Entzündungszellen bei der Zellverteilung in der BAL relativ gut repräsentiert werden [36]. Bei interstitiellen Lungenerkrankungen dient die BAL eher als eine differentialdiagnostische Orientierung. [10] Ein pathologisches Zellbild der BAL ermöglicht in der Regel keine spezifische Diagnose, da eine Lymphozyten- und

Granulozytenvermehrung unspezifische Parameter sind. Erstere tritt insbesondere bei einer Sarkoidose, einer exogen allergischen Alveolitis sowie einer Tuberkulose auf, wohingegen sich eine Granulozytenvermehrung häufig bei einer idiopathischen Lungenfibrose und Asbestose findet. Wie bei anderen diagnostischen Werkzeugen auch, kann ein Normalbefund wichtig sein zum Ausschluss bestimmter Krankheiten. Eine Alveolitis, welche ein frühes und oft noch reversibles Stadium der interstitiellen Lungenerkrankungen darstellt, kann vorliegen, wenn in der BAL eine Zunahme an Entzündungszellen aufgefallen ist. Behandelt man die Alveolitis nicht, so kann es zunächst zu einer Lungenfibrose kommen und im weiteren Verlauf zum Umbau zu einer sogenannten Honigwabellunge. Die Alveolitis lässt sich in 3 Formen unterteilen, je nachdem welche Entzündungszellen primär vorherrschen: eine lymphozytäre, eine granulozytäre mit überwiegendem Vorkommen von neutrophilen sowie eine weitere granulozytäre mit Überwiegen der eosinophilen Granulozyten [37]. Es treten auch Mischformen der 3 genannten Typen auf. Zu den häufigsten interstitiellen Lungenerkrankungen zählen: Sarkoidose, exogen allergische Alveolitis (EAA), chronisch eosinophile Pneumonie (CEP), idiopathische pulmonale Fibrose (IPF), Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie, Mischstaubpneumokoniose, Asbestose, Morbus Wegener und die aktive Tuberkulose. Zur Verbesserung der Diagnostik ist es bei der lymphozytären Alveolitis wichtig die einzelnen Lymphozytensubpopulationen mittels monoklonaler Antikörper zu bestimmen. Um die Gruppe der lymphozytären Alveolitis weiter zu gliedern, kann man den CD4/CD8-Quotienten bestimmen [38]. Ein erhöhter Quotient spricht für eine Sarkoidose, eine Berylliose, eine Asbestose, M. Crohn oder Kollagenosen, wohingegen ein erniedrigter Quotient die Diagnose einer EAA, Silikose, einer arzneimittelinduzierten Alveolitis, Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie oder einer HIV-Infektion ermöglicht.

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Auswertung der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen**

Die im Zeitraum von September 2000 bis Juni 2014 an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin in Tübingen durchgeführten BAL wurden systematisch erfasst und ausgewertet. Es wurden Diagnosegruppen gebildet sowie mikroskopische und zytologische Proben analysiert. Des Weiteren wurde die Wahl des Antibiotikums hinsichtlich des gegebenen Keimspektrums dokumentiert und die Konzentration des C-reaktiven Proteins (CRP) im Serum zum Untersuchungszeitpunkt bestimmt.

#### **2.1.1 Zytopinauswertung**

Zytopin ist ein Verfahren zur Konzentrierung von Zellen, welche in gegebener Flüssigkeit vereinzelt vorhanden sind, wie dies bei der Spülflüssigkeit der BAL der Fall ist. Nach der Durchführung des Zytopins ist es möglich weitere zytologische Aufarbeitungen wie beispielsweise immunhistochemische Färbungen durchzuführen. Dadurch ist beispielsweise eine Unterscheidung von malignen und benignen Zellen möglich [39].

Es findet zunächst eine Waschung der Zellen im Serum oder einer Phosphatgepufferten Lösung (PBS) auf Albuminbasis statt. Daraufhin werden die Zellen resuspendiert. Die Zellen werden nun in eine Zytocentrifuge eingebracht und mit einem Cytofunnel, einer Probenkammer mit einem Loch, versehen. Anschließend wird die Zellsuspension hinzugefügt. Je nach Zelltyp werden unterschiedliche Geschwindigkeiten und eine variable Zeitdauer verwendet. Um die Zellen möglichst gut beurteilen zu können, muss das Verhältnis von Volumen zu Zellanzahl so verdünnt werden, dass ein Monolayer vorliegt. Allgemein ist die Zytopinauswertung eine schnelle Methode, um Zellen in gering vorkommender Anzahl zu konzentrieren und zu sammeln. Sie kann eine erste Übersicht über die Immunpathologie von Zellen geben.

### **2.1.2 Mikroskopische Auswertung**

Mit Hilfe eines Mikroskops werden die BAL-Proben auf Erreger wie Bakterien und Pilze, die Zelltypen (Lymphozyten, neutrophile Granulozyten und atypische Zellen) und deren prozentualen Anteile, sowie auf Besonderheiten, wie beispielsweise fettbeladene Makrophagen oder Schaumzellen untersucht.

### **2.1.3 Korrelation zytologischer Parameter**

Um eine Aussage über Korrelationen zwischen den einzelnen Zytologieparametern treffen zu können, wurden statistische Korrelationsanalysen durchgeführt. Hierzu wurde die Software GraphPad Prism (Version 5.00, GraphPad Software, LaJolla, USA) verwendet.

### **2.1.4 Streuung der zytologischen Parameter**

Um eine Aussage über das Maß an Streuung der zytologischen Parameter der verschiedenen Zelltypen der einzelnen Diagnosegruppen treffen zu können, wurde der Variationskoeffizient berechnet. Der Variationskoeffizient ist ein Maß für die Streuung einer Datenmenge und berechnet sich aus dem Mittelwert und der Standardabweichung [40]. Im Gegensatz zur Standardabweichung, welche ebenfalls ein Streuungsmaß darstellt, ist der Variationskoeffizient unabhängig vom absoluten Wert und somit ein relativer Streuungsparameter und erlaubt den Vergleich zwischen den verschiedenen Zelltypen. Der Variationskoeffizient errechnet sich folgendermaßen:

$$\text{Variationskoeffizient} = \frac{\text{Standardabweichung}}{\text{Arithmetischer Mittelwert}}$$

Je näher dieser Wert bei „0“ liegt, desto geringer ist die Streuung der untersuchten Datenmenge. Je höher hingegen der Variationskoeffizient, desto größer ist die Streuung.

## **2.2 Literaturlauswertung**

Um die Wertigkeit der BAL zu untersuchen, mussten vergleichbare Werte gefunden werden. Hierzu wurde eine systematische Literaturrecherche durchgeföhrt. Die Suche erfolgte über PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)), eine englischsprachige textbasierte Meta-Datenbank für medizinische Artikel mit Zugriff auf die MEDLINE-(Medical Literature Analysis and Retrieval System Online)-Datenbank der nationalen medizinischen Bibliothek der Vereinigten Staaten (National Library of Medicine). Folgende MeSH-(Medical Subject Headings)-Terms bzw. Suchbegriffe wurden für die Recherche verwendet: „Bronchoalveolar Lavage“, „BAL“, „Bronchial Lavage“, „Bronchioalveolar Lavage“, „Bronchopulmonary Lavage“, „Lung Lavage“, „children“, „infants“ and „cytology“. Des Weiteren wurden gezielt Suchbegriffe für die einzelnen Diagnosegruppen mit den oben genannten Begriffen kombiniert, beispielweise „cystic fibrosis“, „cf“, „mucoviscidosis“ and „pulmonary cystic fibrosis“ für die Diagnosegruppe cystische Fibrose. Es wurden lediglich Studien eingeschlossen, in denen Kinder untersucht wurden. Um die Suche zu erweitern, wurden die Referenzlisten der näher evaluierten Publikationen nach weiteren potentiellen Artikeln durchsucht. Die Suche war nicht beschränkt bezüglich Publikationszeitpunkt oder Sprache des Artikels. Die letzte Suche wurde am 19.06.2015 durchgeföhrt.

### **2.2.1 Zytologische Muster**

Die einzelnen prozentualen Anteile der zytologischen Parameter wurden in ihrer Diagnosegruppe dahingehend untersucht, ob es für gegebene Pathologien besondere zytologische Muster gibt, wie beispielsweise eine Diagnosegruppe, in der Lymphozyten den größten Anteil bilden, gefolgt von Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und eosinophilen Granulozyten. Diese Muster könnten bei einem Einsatz der BAL zur Diagnosestellung von Nutzen sein, da nicht nur ein einzelner zytologischer Parameter verwendet wird, sondern mehrere. Falls ein einzelner Parameter zwischen einzelnen Krankheitsbildern sich nicht signifikant unterscheidet, so könnte doch ein zytologisches Muster Rückschlüsse auf eine bestehende Pathologie zulassen.

### **2.3 Statistik**

Um zum einen die vorliegenden Daten zu den BAL aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin auswerten und zum anderen diese mit der gegenwärtig vorhandenen Literatur vergleichen zu können, wurden zahlreiche Werte insbesondere zu zytologischen Daten erhoben. Die Messwerte sind, falls nicht anders deklariert, stets als Mittelwert±Standardabweichung dargestellt. Mit Hilfe der Statistiksoftware „Prism“ (Version 5.00, GraphPad Software, LaJolla, USA) wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Das alpha-Niveau für die Korrelationsanalysen wurde mit 5% angenommen ( $p < 0,05$ ).

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Auswertung der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen**

##### **3.1.1 Patientenkollektiv**

Es wurden die BAL von 467 Kindern untersucht. Das Durchschnittsalter zum Untersuchungszeitpunkt betrug  $6,42 \pm 6,81$  Jahre und der Untersuchungszeitraum war zwischen September 2000 und Juni 2014.

##### **3.1.2 Diagnosegruppen**

Um das große Patientenkollektiv zu ordnen und besser vergleichen zu können, inwiefern und ob gewisse Diagnosen mit bestimmten zytologischen Ergebnissen korrelieren, wurden folgende Diagnosegruppen definiert: Cystische Fibrose (CF), Pneumonien / Infektionen, interstitielle Lungenerkrankungen, Neoplasien / Knochenmarktransplantation (KMT), Atelektasen / Dystelektasen, (Fremdkörper-) aspiration, Stenosen, angeborene Erkrankungen, Bronchitis, Tracheo-/ Broncho-/ Laryngomalazien, Blutungen und Bronchiektasen, sowie sonstige Diagnosen, welche sich keiner der vorher genannten Gruppen zuordnen ließen.

Atelektasen / Dystelektasen stellten mit  $n=124$  und  $26,6\%$  die größte Diagnosegruppe dar, gefolgt von Pneumonien / Infektionen mit  $n=75$  und  $16,1\%$  und Neoplasien / KMT mit  $n=53$  und  $11,3\%$ .

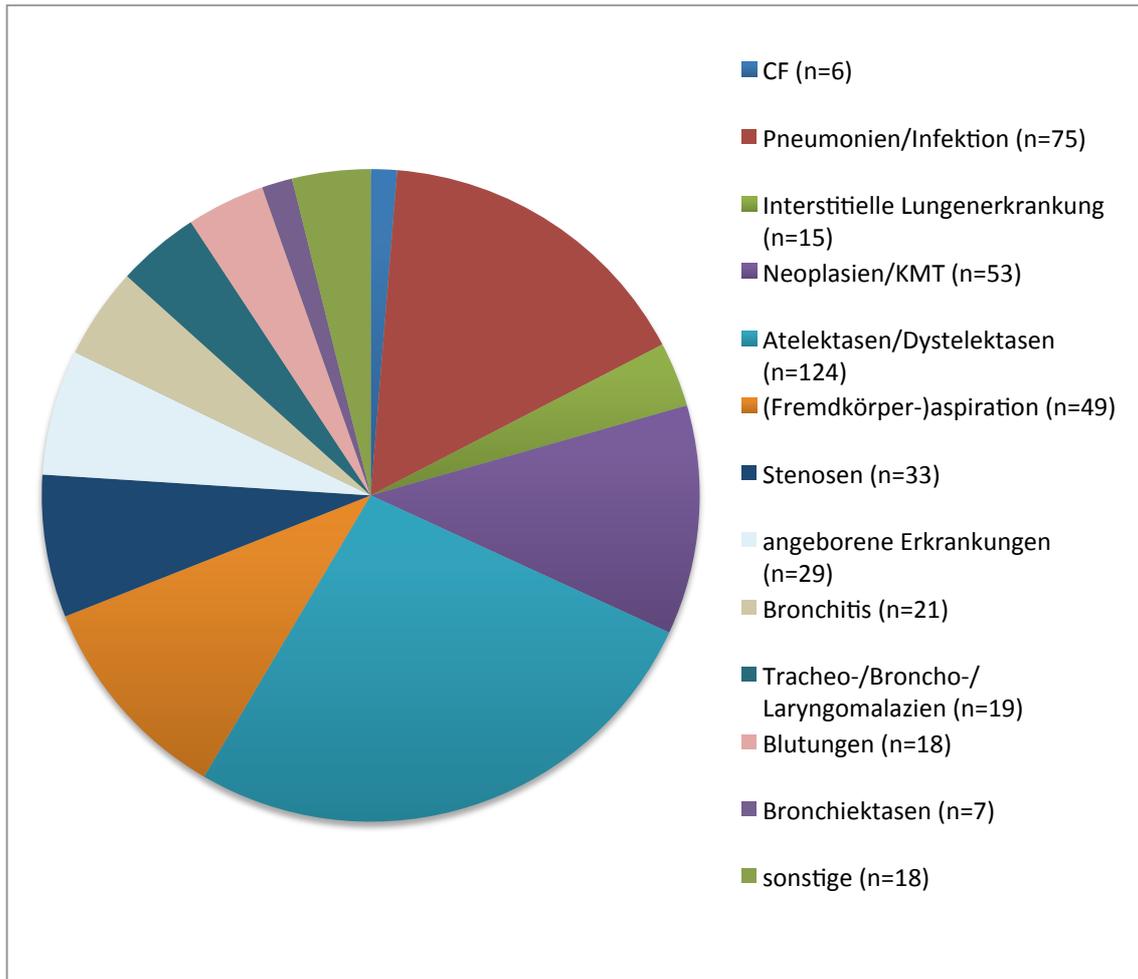


Abbildung 1: Definierte Diagnosegruppen der ausgewerteten BAL

### 3.1.3 Zytologie

Von dem Patientenkollektiv lagen von 23 Patienten Daten zur mikroskopischen Auswertung der Lymphozyten vor sowie von 58 Patienten zur mikroskopischen Auswertung von neutrophilen Granulozyten. Es wurden bei 58 Kindern atypische Zellen beschrieben.

Bei der Zytospinauswertung, auf welche im Weiteren genauer eingegangen wird, fanden sich bei 84 Kindern Werte für die Konzentrationen von Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten und Makrophagen. Für eosinophile Granulozyten wurden 75 Werte ermittelt. Somit ergibt sich für die einzelnen Diagnosegruppen folgende Anzahl an vorhandenen zytologischen Daten: cystische Fibrose n=3, Pneumonien / Infektionen n=20, interstitielle Lungenerkrankungen n=4, Neoplasien / KMT n=14, Atelektasen / Dystelektasen

n=10, (Fremdkörper-)aspiration n=4, Stenosen n=1, angeborene Erkrankungen n=6, Bronchitis n=9, Tracheo-, Broncho-, Laryngomalazien n=5, Blutungen n=1, Bronchiektasen n=3, sowie sonstige n=4.

Es fanden sich folgende allgemeine Mittelwerte für die Zytospinauswertung: Neutrophile Granulozyten  $35,99 \pm 16,33\%$ , Lymphozyten  $26,99 \pm 21,62\%$ , Makrophagen  $24,32 \pm 16,91\%$  sowie eosinophile Granulozyten  $2,65 \pm 3,22\%$ .

Für die einzelnen Diagnosegruppen wurden nun die Mittelwerte der zytologischen Parameter ermittelt und im Diagramm gegenübergestellt. Es fallen deutliche Unterschiede zu den in der Einleitung genannten Normwerten bei gesunden Kindern auf. Auch werden schon in dieser Übersicht die Verschiebungen der zellulären Parameter bei unterschiedlichen Diagnosen sichtbar. Auffällig sind beispielsweise die geringe Anzahl an Lymphozyten bei CF.

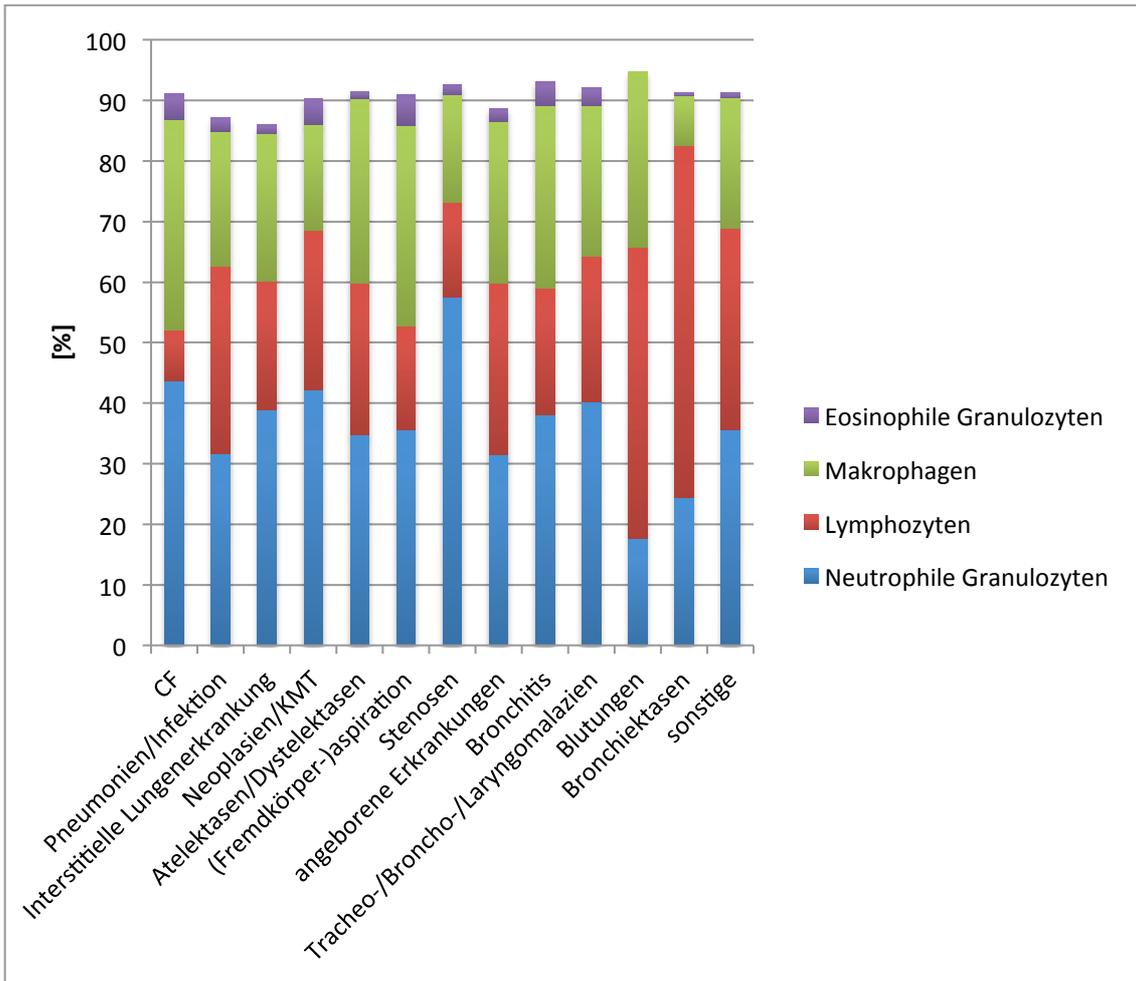
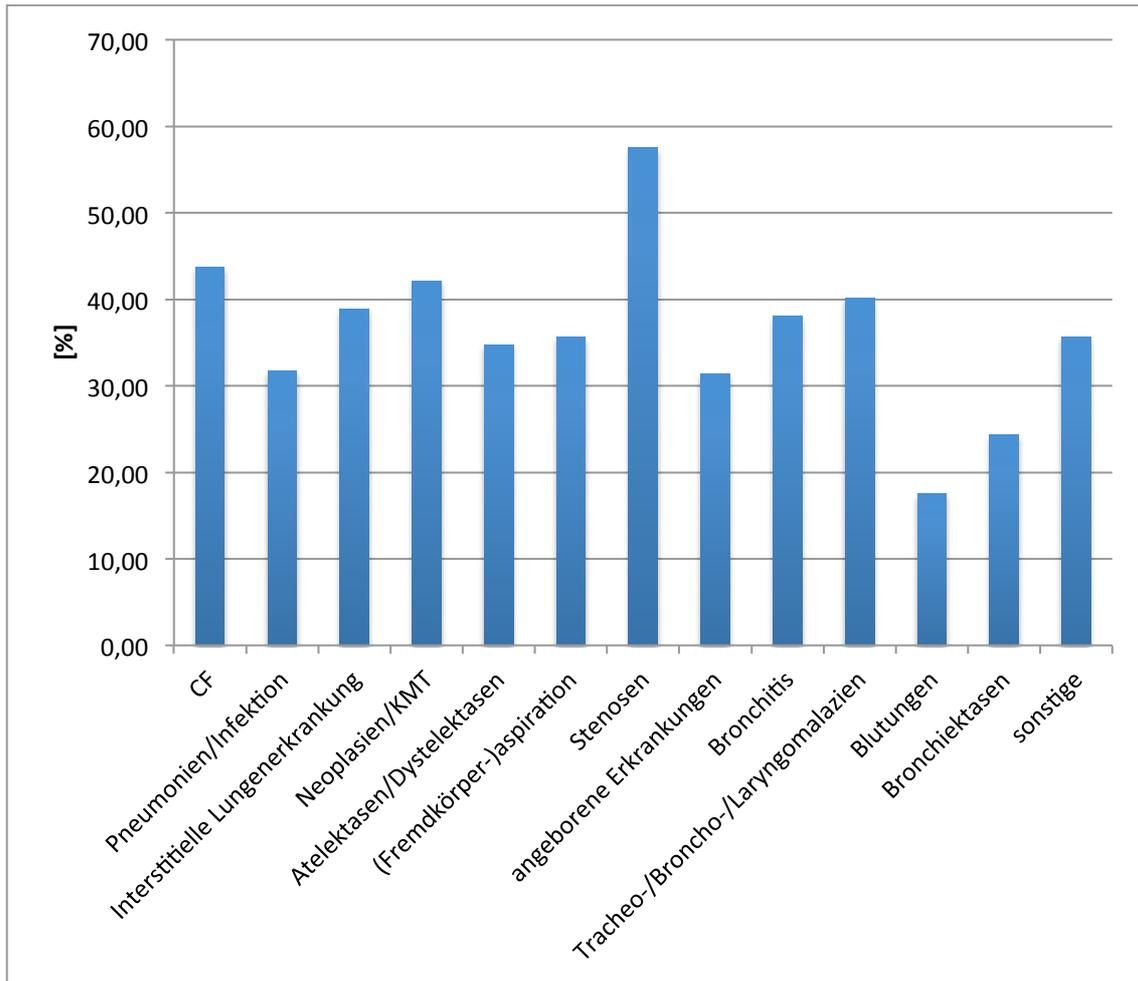


Abbildung 2: Übersicht über die Mittelwerte der zytologischen Parameter nach Zytospinauswertung

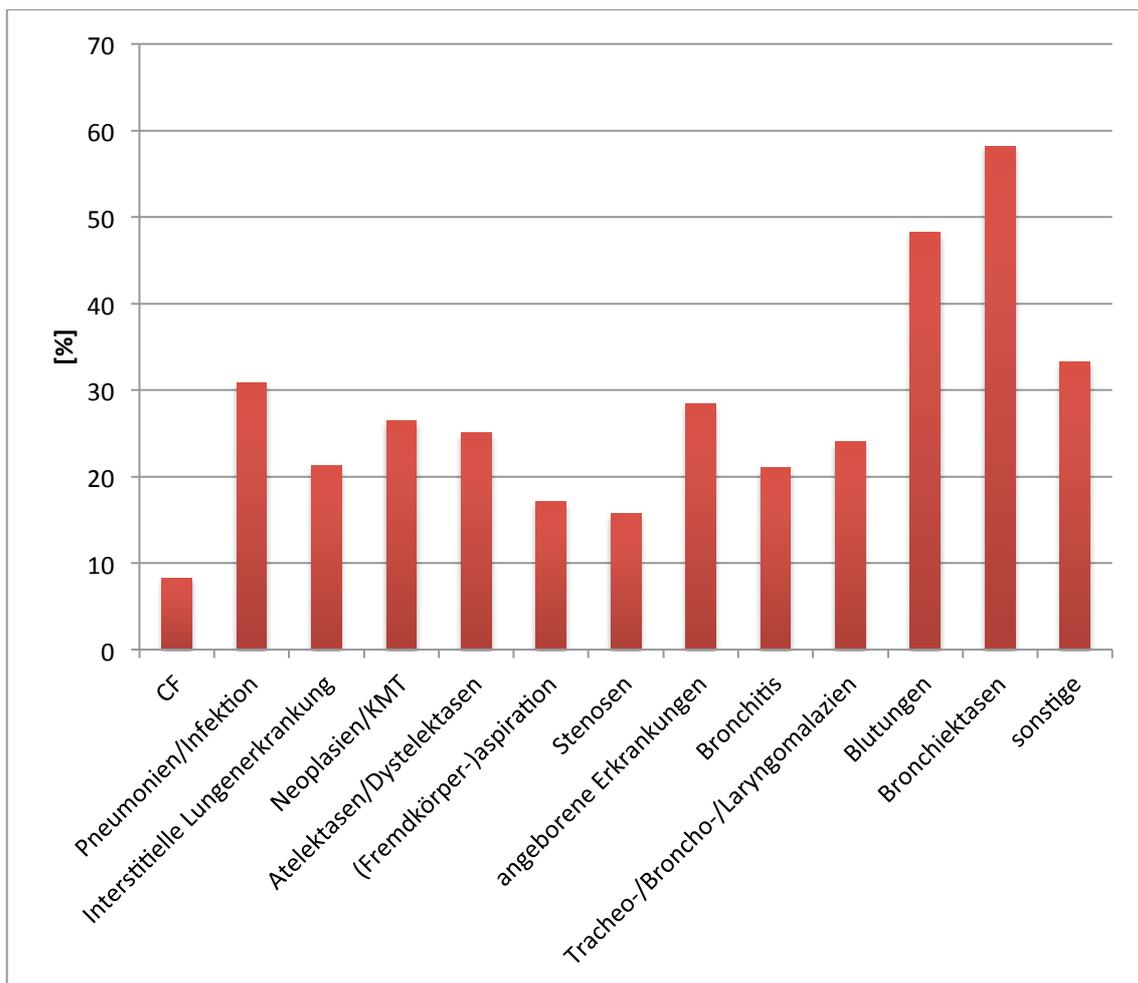
Nach dieser Übersicht wird nun auf die Zelltypen eingegangen und der ermittelte Prozentsatz für die einzelnen Diagnosegruppen verglichen.



**Abbildung 3:** Darstellung der Mittelwerte der neutrophilen Granulozyten nach Zytospinauswertung

Auch bei dem ausschließlichen Vergleich der neutrophilen Granulozyten werden deutliche prozentuale Unterschiede in den einzelnen Diagnosegruppen deutlich. Während der Mittelwert bei Blutungen nur bei 17,60% liegt, finden sich bei Stenosen 57,50% neutrophile Granulozyten. Da es bei diesen beiden Diagnosegruppen nur einen Wert gibt, ist hier keine Standardabweichung angegeben, die Aussagekraft ist hier dementsprechend eingeschränkt. Für CF, interstitielle Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT, finden sich nur gering voneinander abweichende Werte von  $43,73 \pm 2,61\%$ ,  $38,85 \pm 18,25\%$  beziehungsweise  $42,14 \pm 19,25\%$ . Der Wert für Pneumonien / Infektionen ist etwas geringer und beträgt  $31,70 \pm 13,00\%$ . Im weiteren Verlauf interessieren uns insbesondere die zytologischen Parameter der vier zuletzt genannten

Diagnosegruppen, da diese definierbare und abgrenzbare Krankheitsbilder umfassen und somit einen Literaturvergleich sinnvoll und möglich machen. Auch sind dies Erkrankungen, bei denen die klinische Symptomatik oft uneindeutig ist und die Diagnosestellung dadurch erschwert sein kann. Somit kann die BAL insbesondere bei diesen Krankheiten einen wichtigen Beitrag zur Diagnosefindung leisten [9; 41].



**Abbildung 4:** Darstellung der Mittelwerte der Lymphozyten nach Zytospinauswertung

Bei einem Vergleich der prozentualen Anteile an Lymphozyten nach Zytospinauswertung fallen, wie auch bei den neutrophilen Granulozyten, deutliche Unterschiede je nach Diagnosegruppe auf. Auffällig sind beispielsweise die hohen Werte für Blutungen (48,20%) und Bronchiektasen

(58,13±36,58%) und der geringe Prozentsatz von 8,27±7,11% für CF. Für einige Diagnosegruppen lassen sich ähnliche Werte finden, beispielsweise 30,85±19,85% für Pneumonien / Infektionen und 26,44±20,42% für Neoplasien / KMT. Bei der Diagnosegruppe interstitielle Lungenerkrankungen zeigt sich ein etwas geringerer Mittelwert von 21,30±22,85%.

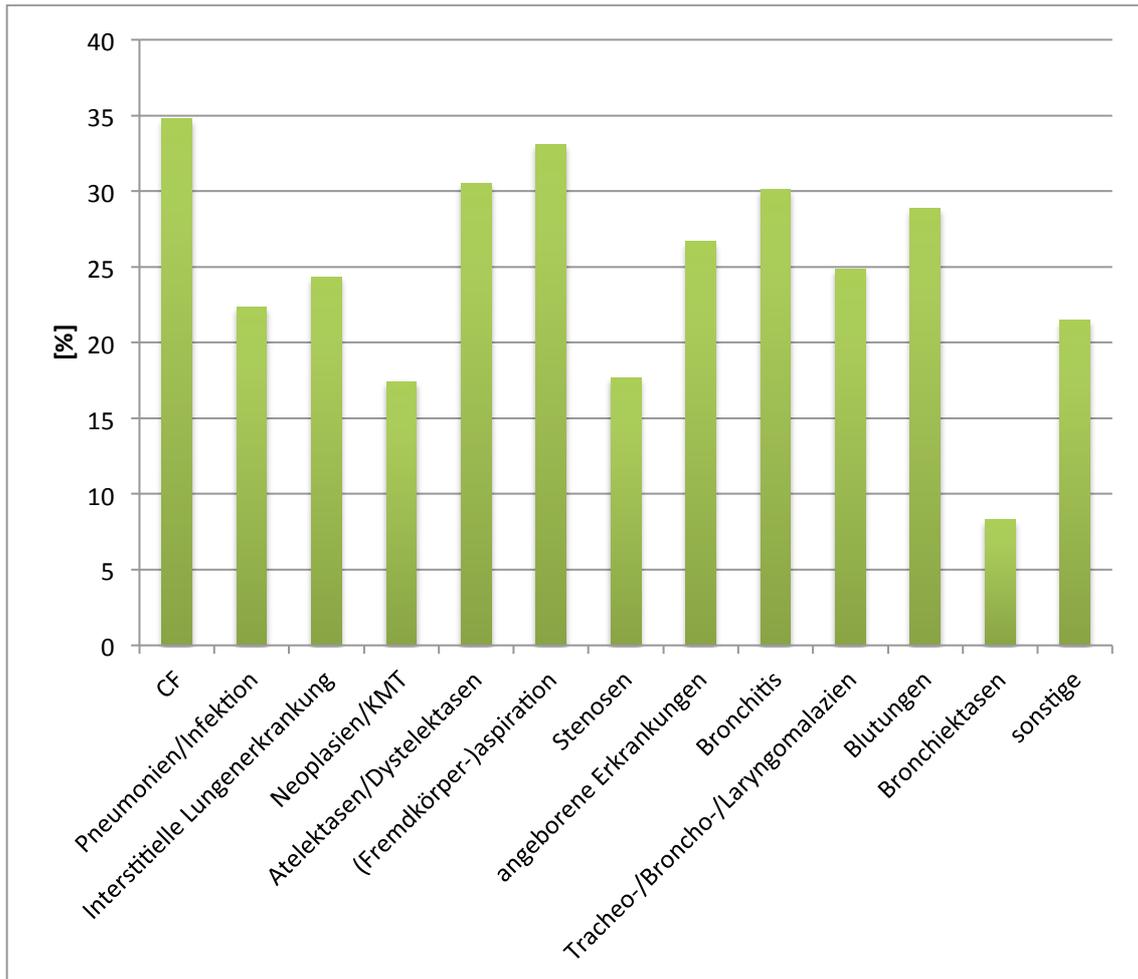


Abbildung 5: Darstellung der Mittelwerte der Makrophagen nach Zytospinauswertung

In dem oben dargestellten Diagramm werden die Prozentsätze an Makrophagen der einzelnen Diagnosegruppe dargestellt. Auch hier fallen deutliche Unterschiede auf, jedoch in einem geringeren Ausmaß als dies bei den neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten der Fall ist. Der geringste Wert findet sich bei Bronchiectasen ( $8,30 \pm 5,18\%$ ), der höchste bei CF ( $34,77 \pm 24,19\%$ ). Ähnliche Mittelwerte finden sich bei Pneumonien / Infektionen ( $22,37 \pm 13,73\%$ ) und interstitiellen Lungenerkrankungen ( $24,33 \pm 21,85\%$ ). Für Neoplasien / KMT ergibt sich ein etwas geringerer Wert von  $17,40 \pm 13,36\%$ .

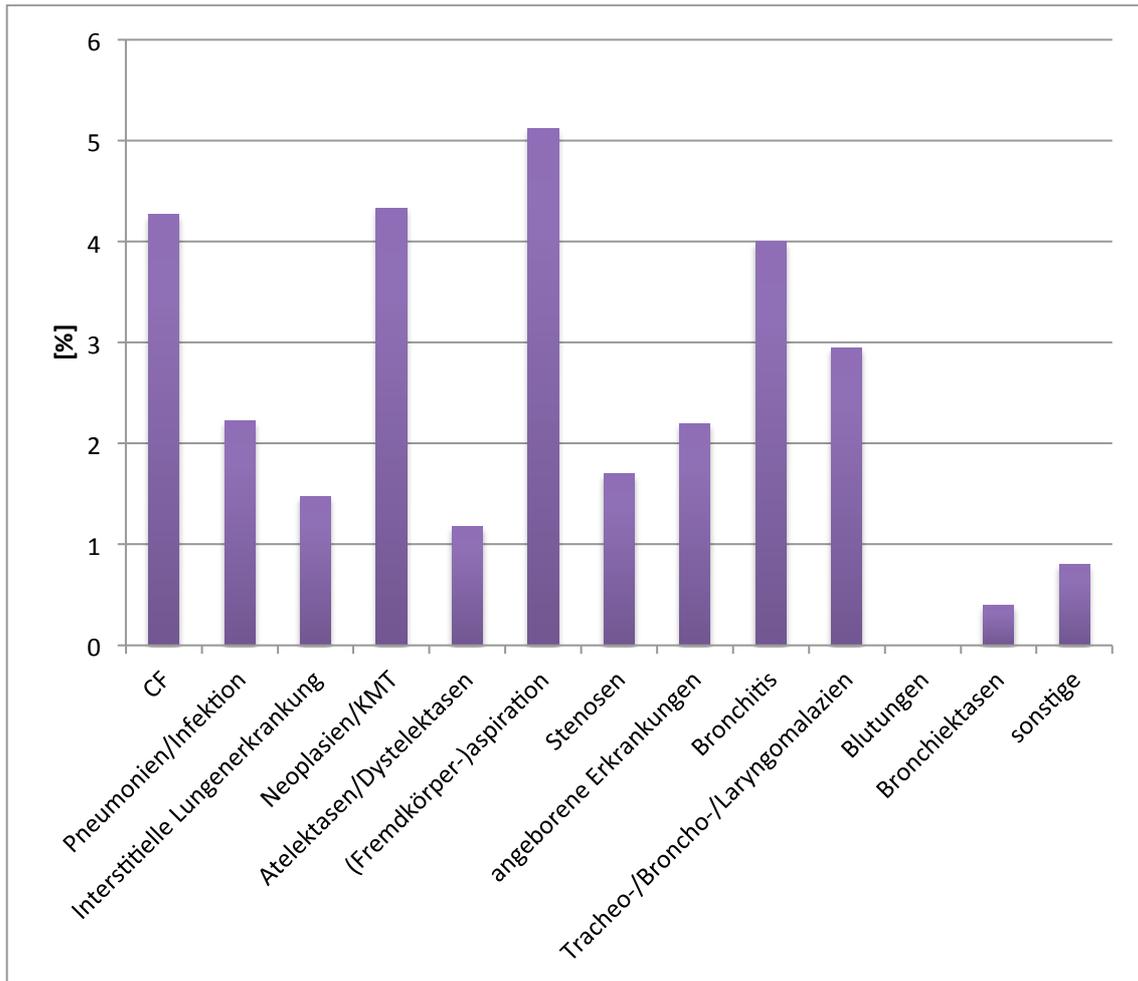


Abbildung 6: Darstellung der Mittelwerte der eosinophilen Granulozyten nach Zytospinauswertung

Zunächst muss angemerkt werden, dass keine Werte für die prozentuale Anzahl an eosinophilen Granulozyten bei Blutungen vorliegen. Generell wird in diesem Diagramm deutlich, dass die Werte zwischen  $0,40 \pm 0,40\%$  (Bronchiectasen) und  $5,13 \pm 5,19\%$  (Fremdkörper-(aspiration)) liegen und die eosinophilen Granulozyten somit den kleinsten der vier Parameter bilden. Für CF und Neoplasien / KMT ergeben sich ähnliche Werte von  $4,27 \pm 3,62\%$  und  $4,33 \pm 2,72\%$ . Die Werte für Pneumonien / Infektionen und interstitielle Lungenerkrankungen belaufen sich auf  $2,23 \pm 2,54\%$  beziehungsweise  $1,48 \pm 1,29\%$  und sind somit etwas geringer im Vergleich zu den Werten für CF und Neoplasien / KMT.

Wenn man nun abschließend die zytologischen Parameter für die einzelnen Diagnosegruppen mit den Normwerten aus Tabelle 1 vergleicht, fallen Unterschiede auf, was erste Rückschlüsse auf deren Wertigkeit geben könnte. Aus den Normwerten in Tabelle 1 ist unter Berücksichtigung der Anzahl der untersuchten Patienten der Mittelwert gebildet worden, sodass sich abschließend folgende gemittelte Normwerte ergeben, welche im weiteren Verlauf verwendet werden.

Die Werte bei gesunden Kindern für neutrophile Granulozyten liegen zwischen 1,2 und 5,5% (Mittelwert 2,28%), für Lymphozyten zwischen 7,5 und 16,2% (Mittelwert 11,58%), für Makrophagen zwischen 81,2 und 91,0% (Mittelwert 85,41%), sowie für eosinophile Granulozyten zwischen 0,0 und 0,4% (Mittelwert 0,25%).

Im Einzelnen wird nun, wie bereits erwähnt, auf die Diagnosegruppen CF, Pneumonien / Infektionen, interstitielle Lungenerkrankungen sowie Neoplasien / KMT eingegangen.

Tabelle 2: Vergleich der Mittelwerte der Normwerte mit ausgewählten Diagnosegruppen

	Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
Normwerte <sup>1</sup>	2,28	11,58	85,41	0,25
Minimalwert <sup>2</sup>	1,20	7,50	81,20	0,00
Maximalwert <sup>3</sup>	5,50	16,20	91,00	0,40
CF	43,73±2,61	8,27±7,11	34,77±24,19	4,27±3,62
Pneumonien / Infektionen	31,70±13,00	30,85±19,85	22,37±13,73	2,23±2,54
Interstitielle Lungenerkrankungen	38,85±18,25	21,30±22,85	24,33±21,85	1,48±1,29
Neoplasien / KMT	42,14±19,25	26,44±20,42	17,40±13,36	4,33±2,72

<sup>1</sup>Gemittelter Normwert aus den in Tabelle 1 aufgeführten Studien unter Berücksichtigung der Anzahl der untersuchten Patienten

<sup>2</sup>Kleinster Mittelwert für den jeweiligen Zelltypus in einer der Studien

<sup>3</sup>Größter Mittelwert für den jeweiligen Zelltypus in einer der Studien

Bei Betrachtung von Tabelle 2 fallen Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Normwerte und denen der Diagnosegruppen CF, Pneumonien / Infektionen, interstitielle Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT auf. Der Anteil an neutrophilen Granulozyten ist bei allen 4 Diagnosegruppen im Vergleich zu den Normwerten erhöht. Eine Erhöhung der Lymphozyten zeigt sich bei Pneumonien / Infektionen, interstitiellen Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT, jedoch nicht bei CF. Der prozentuale Anteil an Makrophagen ist geringer als der kleinste Mittelwert in den o.g. Studien, wohingegen der Anteil an eosinophilen Granulozyten für alle 4 Diagnosegruppen höher ist als der größte Mittelwert der Normwerte.

Auch bei einem Vergleich der Diagnosegruppen untereinander werden Unterschiede in den Mittelwerten der zellulären Parameter deutlich. Es fällt auf, dass bei CF, interstitiellen Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT der Anteil an neutrophilen Granulozyten deutlich den größten prozentualen Anteil ausmacht mit  $43,73 \pm 2,61\%$ ,  $38,85 \pm 18,25\%$  beziehungsweise  $42,14 \pm 19,25\%$ . Bei Pneumonien / Infektionen ist der Anteil an neutrophilen Granulozyten auch der prozentual größte zytologische Parameter mit  $31,70 \pm 13,00\%$ , jedoch nur unwesentlich höher als der Anteil an Lymphozyten mit  $30,85 \pm 19,85\%$ . Wenn man diese pathologisch veränderten Parameter mit den Normwerten vergleicht, fällt auf, dass da bei gesunden Probanden Makrophagen mit  $85,41\%$  den größten Anteil einnehmen, wohingegen der Anteil an neutrophilen Granulozyten mit  $2,28\%$  insbesondere im Vergleich sehr gering ausfällt. In Tabelle 2 wird deutlich, wie und in welchem Umfang die zytologischen Parameter bei verschiedenen Pathologien von den Normwerten abweichen.

#### **3.1.4 Korrelationen der zytologischen Parameter**

Es wurde untersucht, ob und wie die zytologischen Parameter generell bei pathologischen Befunden miteinander korrelieren. Dementsprechend wurden Korrelationsanalysen zwischen einzelnen zytologischen Bestandteilen durchgeführt, bei denen eine positive oder reziproke Korrelation vermutet wurde. Dies wurde in graphischer Form veranschaulicht.

Es zeigte sich keine signifikante Korrelation ( $p=0,061$ ) von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten unter Berücksichtigung aller Diagnosegruppen.

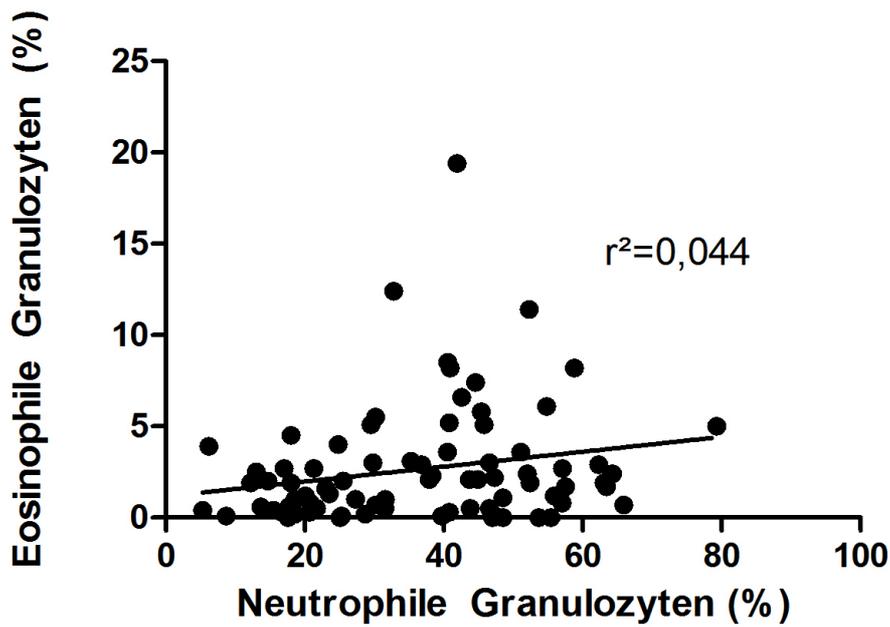


Abbildung 7: Korrelation von neutrophilen Granulozyten mit eosinophilen Granulozyten bei Berücksichtigung aller Diagnosegruppen ( $p= 0,0617$ )

In Abbildung 8 ist die Korrelationsanalyse von Makrophagen mit eosinophilen Granulozyten dargestellt, auch hierbei wurden alle Diagnosegruppen berücksichtigt. Es zeigte sich ebenso keine signifikante Korrelation ( $p=0,165$ ).

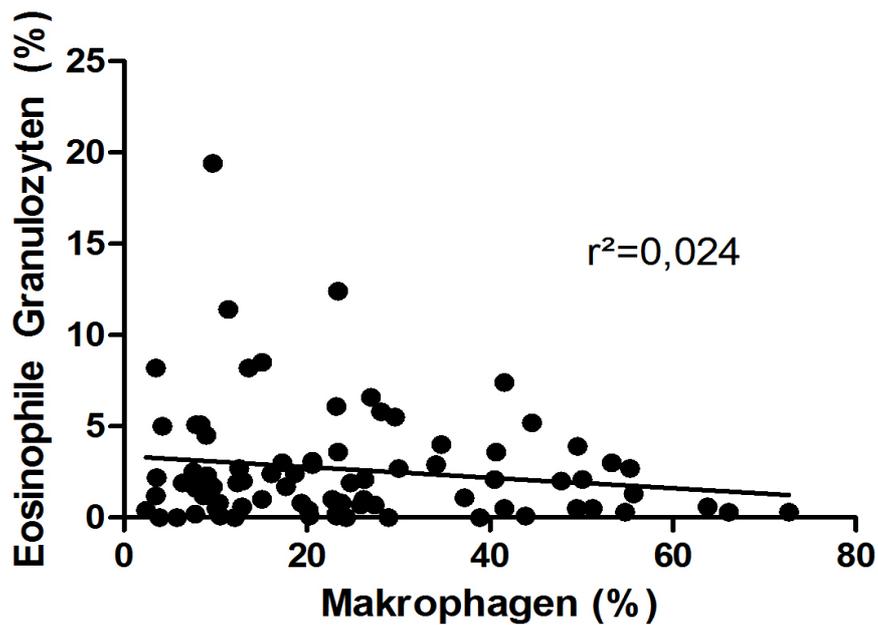


Abbildung 8: Korrelation von Makrophagen mit eosinophilen Granulozyten bei Berücksichtigung aller Diagnosegruppen ( $p=0,1645$ )

In Abbildung 9 ist die Korrelation von neutrophilen Granulozyten mit Lymphozyten für alle Diagnosegruppen dargestellt. Es zeigte sich eine signifikante reziproke Korrelation ( $p<0,001$ ). Je höher die Konzentration an Lymphozyten, desto niedriger war die Konzentration an neutrophilen Granulozyten.

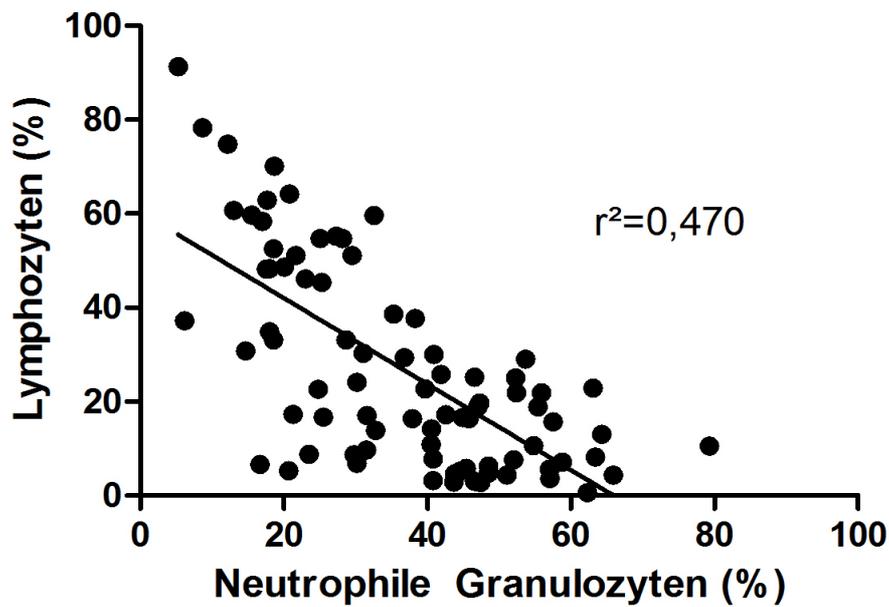


Abbildung 9: Korrelation von neutrophilen Granulozyten mit Lymphozyten bei Berücksichtigung aller Diagnosegruppen ( $p < 0,001$ )

Abbildung 10 stellt die Korrelation von neutrophilen Granulozyten mit Lymphozyten bei der Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen dar. Auch hier zeigte sich eine statistisch signifikante reziproke Korrelation der Konzentrationen von Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten. Je höher der Wert an Lymphozyten, desto niedriger war die Konzentration an neutrophilen Granulozyten.

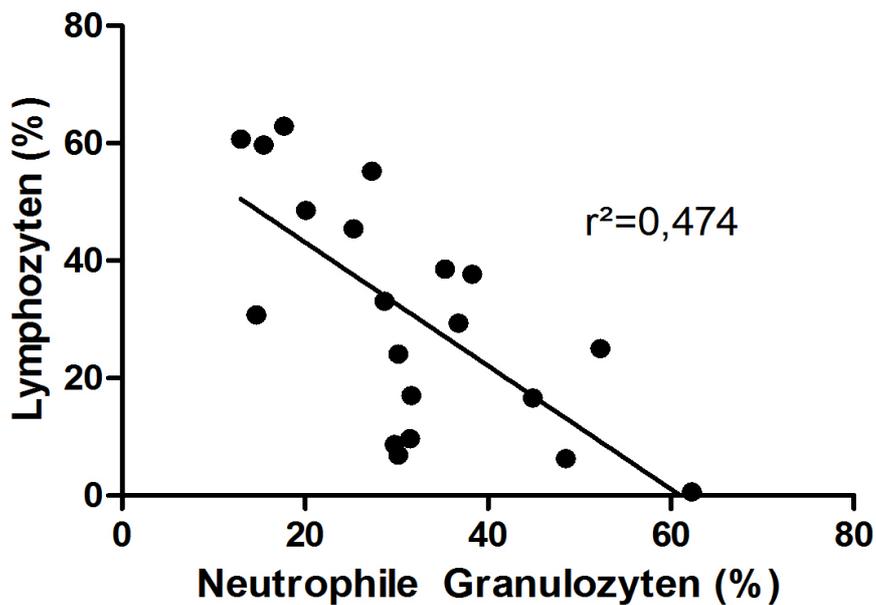


Abbildung 10: Korrelation von neutrophilen Granulozyten mit Lymphozyten bei der Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen ( $p < 0,001$ )

### 3.1.5 Variationskoeffizient der zytologischen Parameter

Da der Variationskoeffizient ein relativer Streuungsparameter ist, erlaubt er einen Vergleich zwischen den einzelnen Zelltypen. Dieses Streuungsmaß wurde bei allen zytologischen Werten berechnet und für die vier Diagnosegruppen CF, Pneumonien / Infektionen, interstitielle Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT in untenstehender Tabelle dargestellt.

Tabelle 3: Variationskoeffizient für alle Zelltypen für ausgewählte Diagnosegruppen

	Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
CF	0,060	0,861	0,696	0,849
Pneumonien / Infektionen	0,410	0,644	0,614	1,141
Interstitielle Lungenerkrankungen	0,470	1,073	0,898	0,874
Neoplasien / KMT	0,457	0,773	0,768	0,628

Zunächst muss berücksichtigt werden, dass es für die Diagnosegruppe CF nur Werte von 3 Patienten gibt und der Variationskoeffizient hier dementsprechend begrenzt aussagekräftig ist. Für die Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen gehen 20 zytologische Werte in die Berechnung ein. Die geringen Variationskoeffizienten für neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen bei dieser Diagnosegruppe lassen eine geringe relative Streuung annehmen. Ähnlich verhält es sich auch für die Werte für neutrophile Granulozyten bei interstitiellen Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT. Allgemein fällt für alle untersuchten Diagnosegruppen eine geringe Streuung der neutrophilen Granulozyten auf.

Insbesondere in der Diagnosegruppe interstitielle Lungenerkrankungen wird eine breite Streuung deutlich. Diese breite Streuung wird auch in einigen Veröffentlichungen beschrieben und lässt sich dadurch erklären, dass es sich bei der Diagnosegruppe interstitielle Lungenerkrankungen um sehr heterogene Krankheitsbilder handelt [9; 41]. Die geringste Streuung findet sich in der Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen, was sich wiederum dadurch erklären lässt, dass es sich um eine eher homogene Diagnosegruppe handelt.

### 3.1.6 Mikrobiologie

Bei 56 Kindern wurde ein mikrobieller Erreger, überwiegend Bakterien, nachgewiesen. Das Erregerspektrum spiegelt sich, wie in Abbildung 11 deutlich wird, wider.

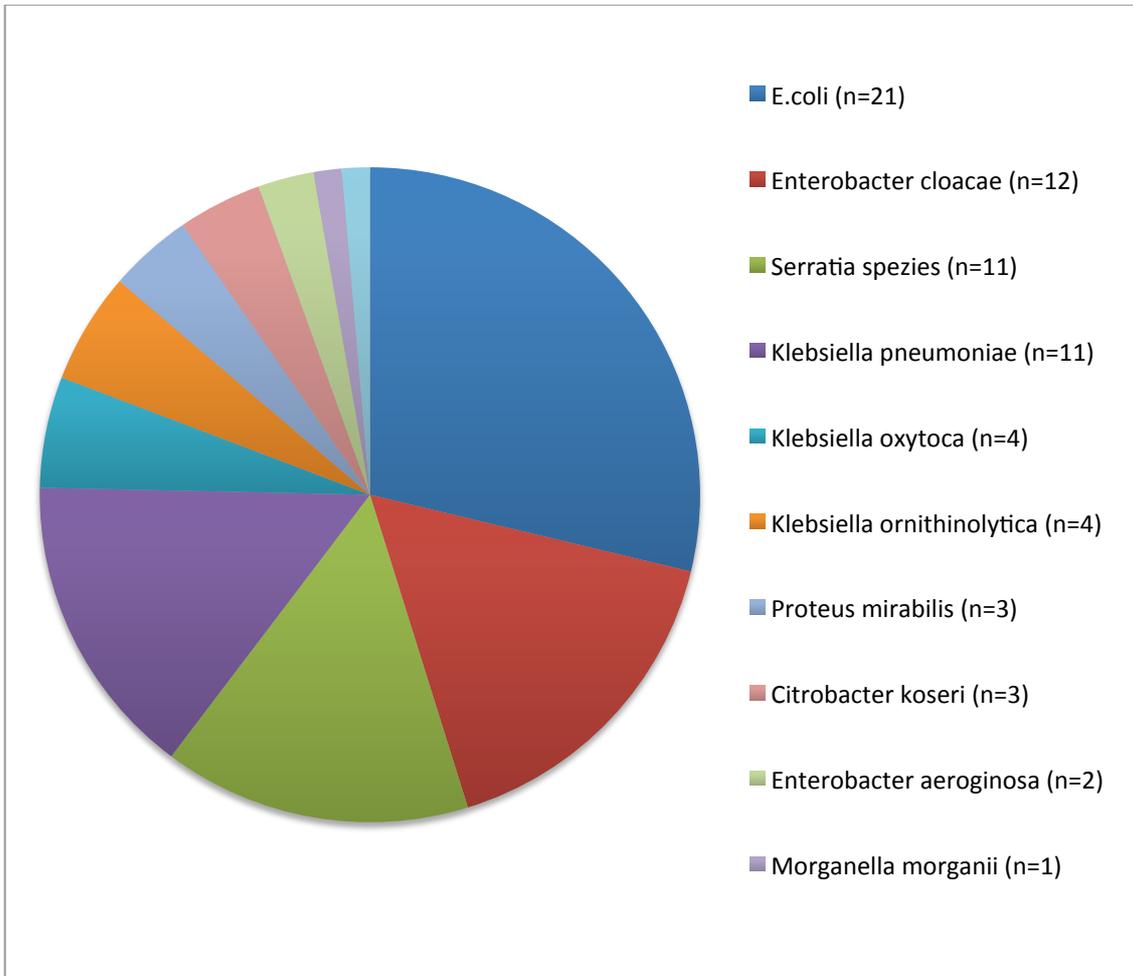


Abbildung 11: Darstellung des Erregerspektrums der Mikrobiologie

Wie im Diagramm deutlich wird, sind die häufigsten Erreger *E.coli*, *Enterobacter cloacae* und *Serratia spezies*. Zu beachten ist, dass einige Patienten mit mehreren Keimen besiedelt waren und somit die Anzahl der gefundenen Erreger größer ist als die Zahl an Patienten mit Keimbesiedelung.

### 3.1.7 Antibiotikaklassen

Es wurde auch untersucht, welche Antibiotikaklassen bei den 56 Patienten mit nachgewiesenem Erregerspektrum zur Therapie eingesetzt wurden.

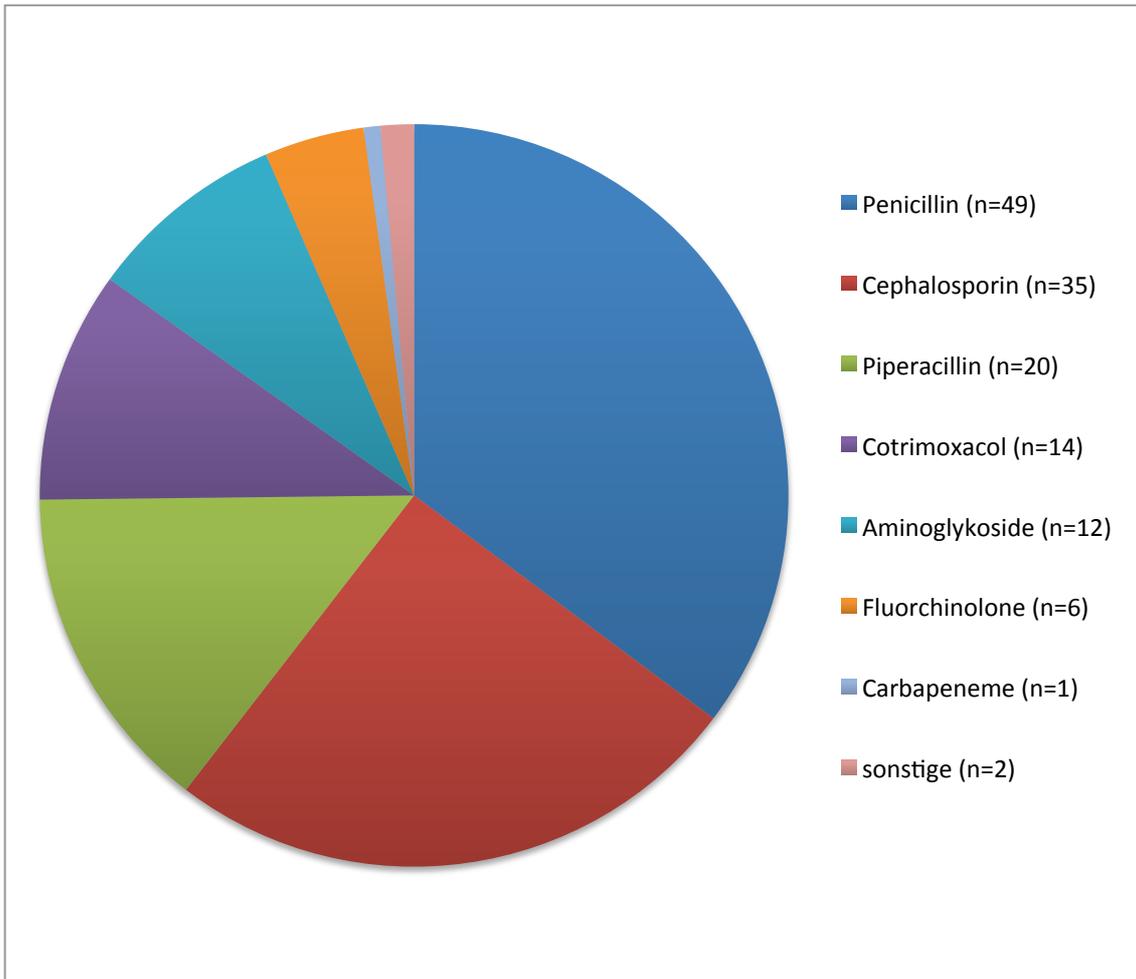


Abbildung 12: Darstellung der zur Therapie eingesetzten Antibiotikaklassen

In der obigen Abbildung wird deutlich, welche Antibiotikaklassen zur Behandlung des dargestellten Erregerspektrums eingesetzt wurden. Es fällt auf, dass häufig eine Kombinationstherapie notwendig war (n=56 behandelte Patienten bei n=139 eingesetzten Antibiotika), um beispielsweise resistente oder multiple Erreger effektiv zu behandeln.

### 3.1.8 C-reaktives Protein

Es wurde bei 39 Patienten auch die Konzentration des CRP im Blut bestimmt, um einen spezifischen bakteriellen Entzündungsparameter für das therapeutische Vorgehen und die diagnostische Einschätzung zu erhalten. Der Mittelwert beträgt  $15,64 \pm 13,55$ .

### 3.2 Literaturlauswertung und Vergleich

Ein großer Teil dieser Dissertation beschäftigt sich mit der Literaturlauswertung, um so die aus den BAL entnommenen Werte mit den Werten aus Veröffentlichungen der letzten Jahre zu vergleichen und auch um festzustellen, wo sich deutliche Unterschiede aufzeigen lassen.

Die elektronische und manuelle Literaturrecherche identifizierte 818 potentiell geeignete Publikationen. Die Literaturrecherche inklusive diverser Ausschlusskriterien ist in Abbildung 13 erläutert.

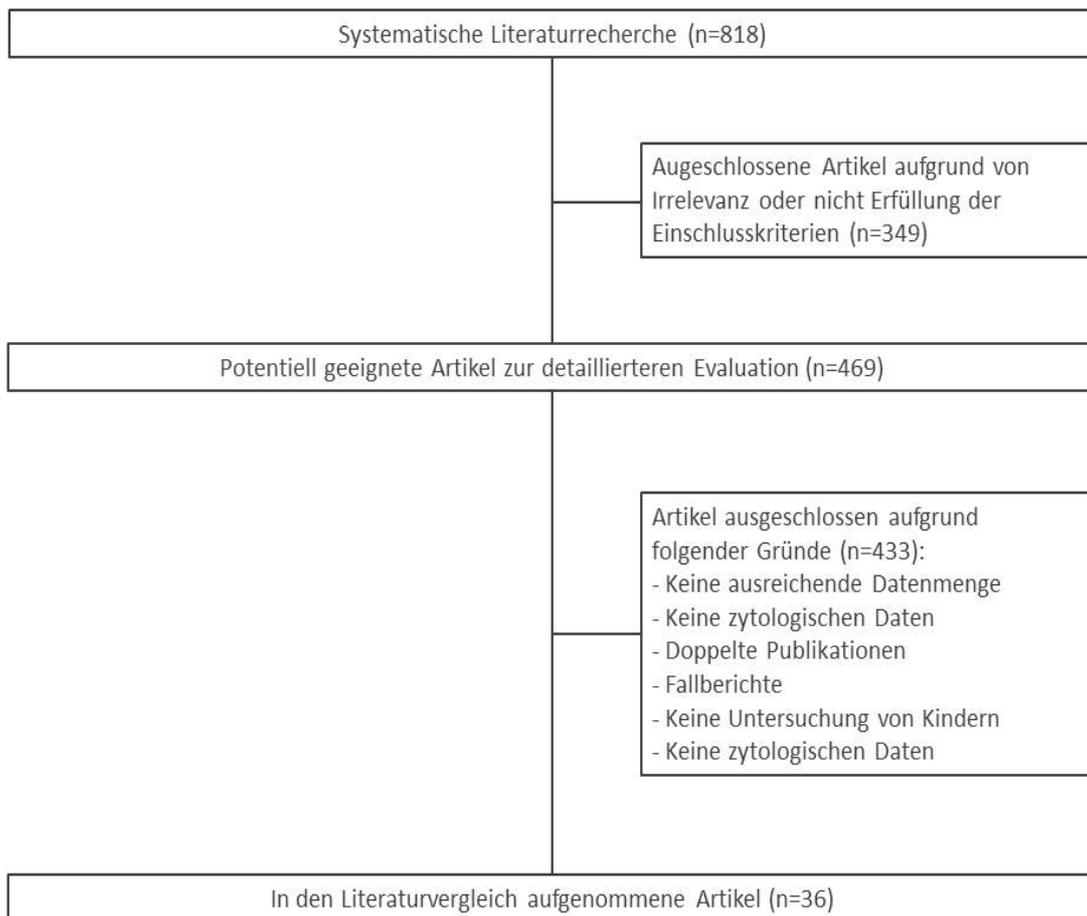


Abbildung 13: Veranschaulichung der systematischen Literaturrecherche

Es fanden sich 36 Veröffentlichungen, welche zytologische Werte der Diagnosegruppen, auf welche in dieser Studie ein Schwerpunkt gesetzt wurde, enthalten. Diese sind in unten stehender Tabelle niedergeschrieben.

Tabelle 4: Übersicht über die für die Literaturlauswertung verwendeten Veröffentlichungen

<b>Diagnose- gruppe</b>	<b>Erstautor</b>	<b>Journal, Jahr</b>
Cystische Fibrose	Regamey [42]	Thorax, 2012
	Brennan [43]	Eur Respir J, 2009
	Hilliard [44]	Thorax, 2007
	Paul [45]	Am J Respir Crit Care Med, 2004
	Armstrong [46]	Pediatric Pulmonology, 2005
	Armstrong [47]	Am J Respir Crit Care Med, 1997
	Marguet [48]	Am J Respir Crit Care Med, 1999
	Douglas [49]	Eur Respir J, 2009
	Sagel [50]	The Journal of Pediatrics, 2009
	Ranganathan [51]	Thorax, 2011
	Reinhardt [52]	Eur Respir J, 2003
	Ratjen [53]	Eur Respir J, 2000
	Marcos [54]	Respiratory Research, 2010
Interstitielle Lungen- erkrankungen	Takizawa [55]	J Nippon Med Sch, 2009
	Clement [56]	Eur Respir J, 2004
	Guillot [57]	Chest, 2011
	Chadelat [58]	Eur Respir J, 1998
	Fan [59]	Pediatric Pulmonology, 1997
	Starosta [60]	Pediatric Pulmonology, 2006
	Baculard [61]	Eur Respir J, 2001
Neoplasien / KMT	Rochat [62]	Pediatric Pulmonology, 2008
	Efrati [63]	Pediatric Blood Cancer, 2007
	Winthrop [64]	J of Pediatric Surgery, 1990
	Riedler [65]	Eur Respir J, 1995
	Griese [66]	Eur Respir J, 2002
	Park [67]	Med Pediatr Oncol, 2002
	Picard [68]	Pediatric Pulmonology, 1999
	Ratjen [69]	Thorax, 1999
Pneumonien / Infektionen	Griese [70]	Pediatr Allergy Immunol, 2008
	Ratjen [71]	Arch Dis Child, 1996
	Xu [72]	Eur Respir J, 2011
	Tafel [73]	BMC Pulm Med, 2008
	Buda [74]	Pneumonol Allergol Pol, 2013
	Starosta [60]	Pediatric Pulmonology, 2006
	Wang [75]	Internat J of Inf Disease, 2014
	Marcos [54]	Respiratory Research, 2010

Es handelt sich um Veröffentlichungen von 1990 bis 2014 aus verschiedenen anerkannten medizinischen Zeitschriften, wie beispielsweise *Pediatric Pulmonology*, *Thorax* und *Chest*. Die in der Literatur vorhandenen Werte werden nun mit den Werten der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen verglichen und hierbei insbesondere auf die genannten Diagnosegruppen eingegangen. Hierzu wurden unter Berücksichtigung der Patientenzahlen Mittelwerte für die einzelnen zytologischen Parameter errechnet. Auch werden Vergleiche zu dem gefundenen Erregerspektrum durchgeführt.

### 3.2.1 Literaturvergleich: Cystische Fibrose

Es werden nun die Werte, welche aus den an der Universitätsklinik Tübingen durchgeführten BAL gemessen werden konnten, und die in der Literatur angegebenen Werte zu cystischer Fibrose verglichen. Von den 6 Kindern mit der Diagnose cystische Fibrose liegen für n=3 zytologische Daten vor.

Tabelle 5: Mittelwerte und Standardabweichung der zellulären Parameter nach Zytospinaufarbeitung der BAL bei cystischer Fibrose (n=3)

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
43,73±2,61	8,27±7,11	34,77±24,19	4,27±3,62

Es fanden sich zahlreiche relevante Veröffentlichungen über cystische Fibrose und BAL, wie in der Tabelle deutlich wird. Um einen Vergleich zu ermöglichen, wurde ein Mittelwert der gefundenen Werte ermittelt.

Tabelle 6: Übersicht über die zum Literaturvergleich verwendeten Veröffentlichungen über cystische Fibrose

Erstautor	Journal, Jahr	Patien-ten	Alter in Jahren (Mittelwert)	Neutro- phile Granulo- zysten (%)	Lym- pho- zyten (%)	Makro- pha- gen (%)	Eosino- phile Granulo- zysten (%)
Regamey [42]	Thorax, 2012	46	7,3	49,0	2,0	-	1,0
Brennan [43]	Eur Respir J, 2009	51	3,1	18,8	-	-	-
Hilliard [44]	Thorax, 2007	43	6,2	41,1	-	-	-
Paul [45]	Am J Respir Crit Care Med, 2004	85	11,8	29,0	5,0	-	0,2
Armstrong [46]	Ped Pulmo- nology, 2005	70	-	28,6	-	-	-
Armstrong [47]	Am J Respir Crit Care Med, 1997	28	2,3	21,4	5,3	86,5	-
Marguet [48]	Am J Respir Crit Care Med, 1999	10	6,5	++ <sup>1</sup>	-	-	++
Douglas [49]	Eur Respir J, 2009	33	-	28,1	-	-	-
Sagel [50]	The J of Pediatrics, 2009	111	-	35,0	-	-	-
Ranga- nathan [51]	Thorax, 2011	36	-	25,2	-	-	-

Reinhardt [52]	Eur Respir J, 2003	14	13,1	67,0	5,1	26,0	1,61
Ratjen [53]	Eur Respir J, 2000	105	11,8	29,0	8,0	63,0	0,5
Marcos [54]	Resp Research, 2010	39	11,0	63,0	5,0	33,0	2,0

<sup>1</sup>Wenn nur über eine starke Zunahme der Zellanzahl gesprochen wurde und keine Prozentzahl genannt wurde, wird dies mit + dargestellt.

"-": Keine Angabe in der Veröffentlichung

Tabelle 7: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Literaturlauswertung bei cystischer Fibrose

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
31,75	5,95	61,10	0,55

Zunächst ist anzumerken, dass der Mittelwert für eosinophile Granulozyten und Lymphozyten sich nur aus 5 beziehungsweise 6 Mittelwerten von Veröffentlichungen zusammensetzt. Für neutrophile Granulozyten bildet sich der Mittelwert aus 12 einzelnen Angaben unterschiedlicher Veröffentlichungen. Vergleicht man nun die einzelnen zellulären Parameter, wird deutlich, dass die Werte sich deutlich unterscheiden, was möglicherweise an der niedrigen Patientenzahl (n=3) der eigenen Studie liegen kann. Die Mittelwerte für Lymphozyten  $8,27 \pm 7,11\%$  beziehungsweise 5,95% und für eosinophile Granulozyten  $4,27 \pm 3,62\%$  beziehungsweise 0,55% nehmen ähnliche Tendenzen an.

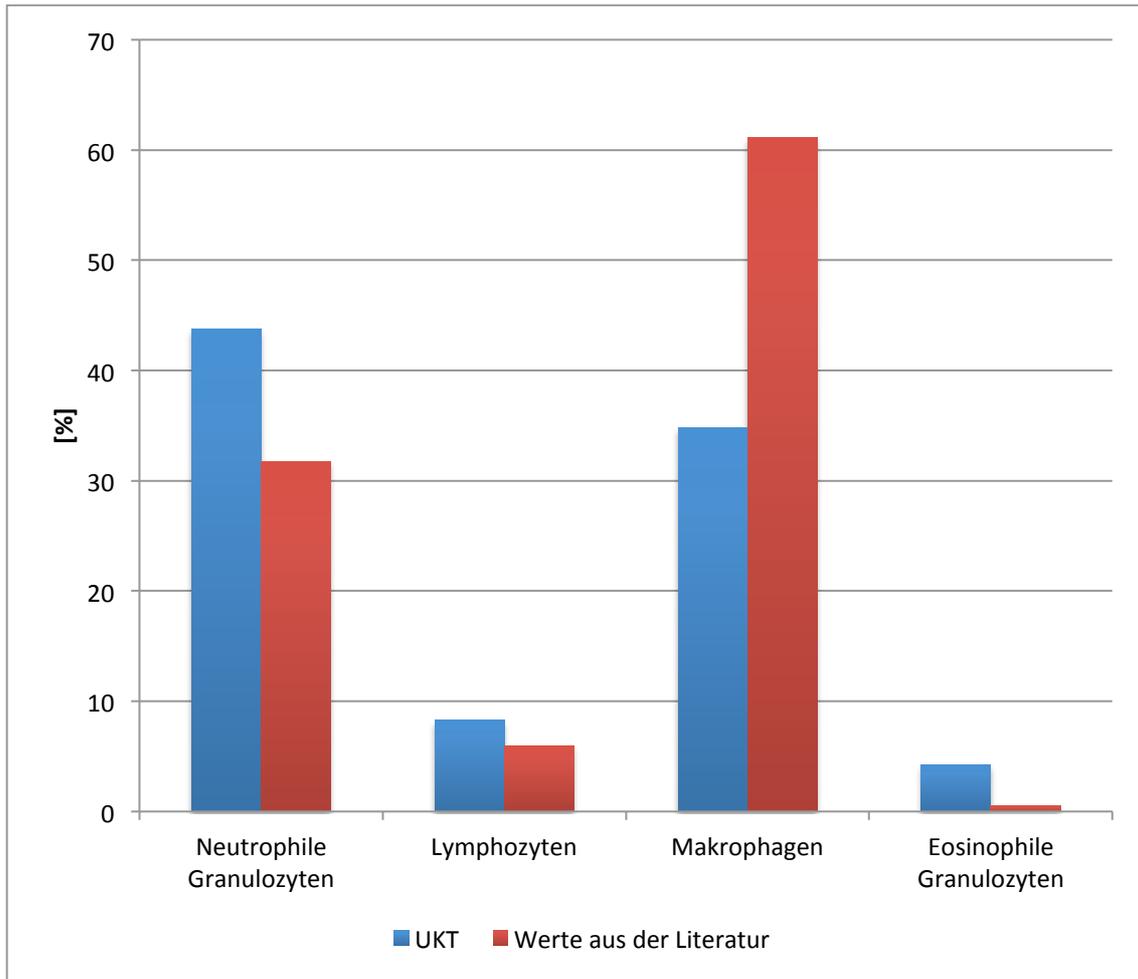


Abbildung 14: Vergleich der zellulären Komponenten von BAL, welche an der Universitätsklinik Tübingen (UKT) durchgeführt wurden, mit Werten aus der Literatur bei der Diagnose cystische Fibrose

Da keiner der 467 Patienten sowohl unter cystischer Fibrose litt als auch einen mikrobiellen Erregernachweis zeigte, werden hier nur die Daten zu cystischer Fibrose und Mikrobiologie erwähnt, welche in der Literatur beschrieben wurden.

Tabelle 8: Veröffentlichungen mit Werten zu dem Erregerspektrum bei Patienten mit cystischer Fibrose

Autor	Journal	Patienten (n)	Erreger
Regamey [42]	Thorax, 2012	26	<i>A. fumigatus</i> (n=13), <i>P. aeruginosa</i> (n=11)
Brennan [43]	Eur Resp J, 2009	16	<i>P. aeruginosa</i> (n=6), <i>S. aureus</i> (n=5), <i>H. influenzae</i> (n=2)
Armstrong [46]	Pediatric pulmonology, 2005	50	<i>S. aureus</i> (n=19), <i>P. aeruginosa</i> (n=18), andere (n=13)
Ranganathan [51]	Thorax, 2011	18	<i>S. aureus</i> (n=9), <i>P. aeruginosa</i> (n=3)
Reinhardt [52]	Eur Resp J, 2003	14	<i>P. aeruginosa</i> (n=9), <i>S. aureus</i> (n=7)
Ratjen [53]	Eur Resp J, 2000	105	<i>P. aeruginosa</i> (n=30), <i>S. aureus</i> (n=51), <i>H. influenzae</i> (n=21), andere (n=7), <i>A. fumigatus</i> (n=4), <i>C. species</i> (n=6)
Sagel [50]	The J of Pediatrics, 2009	111	<i>P. aeruginosa</i> (n=59), <i>S. aureus</i> (n=27), <i>H. influenzae</i> (n=30), <i>S. maltophilia</i> (n=8), <i>A. xylosoxidans</i> (n=3)

Insgesamt fanden sich Daten für 189 Patienten, für welche folgende Erregerverteilung errechnet wurde:

Tabelle 9: Verteilung des Erregerspektrums von Patienten mit cystischer Fibrose nach Literaturrecherche

<i>P. aeruginosa</i> (%)	<i>S. aureus</i> (%)	<i>H. influenzae</i> (%)	<i>A. fumigatus</i> (%)	<i>S. maltophilia</i> (%)	<i>C. species</i> (%)	<i>A. xylosoxidans</i> (%)	Andere (%)
39,08	33,91	15,23	4,89	2,29	1,72	0,86	5,75

In Tabelle 9 wird deutlich, dass bei cystischer Fibrose eine Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* am häufigsten auftritt. Oft kommt es auch zu einer Infektion mit *Staphylococcus aureus* und *Haemophilus influenzae*.

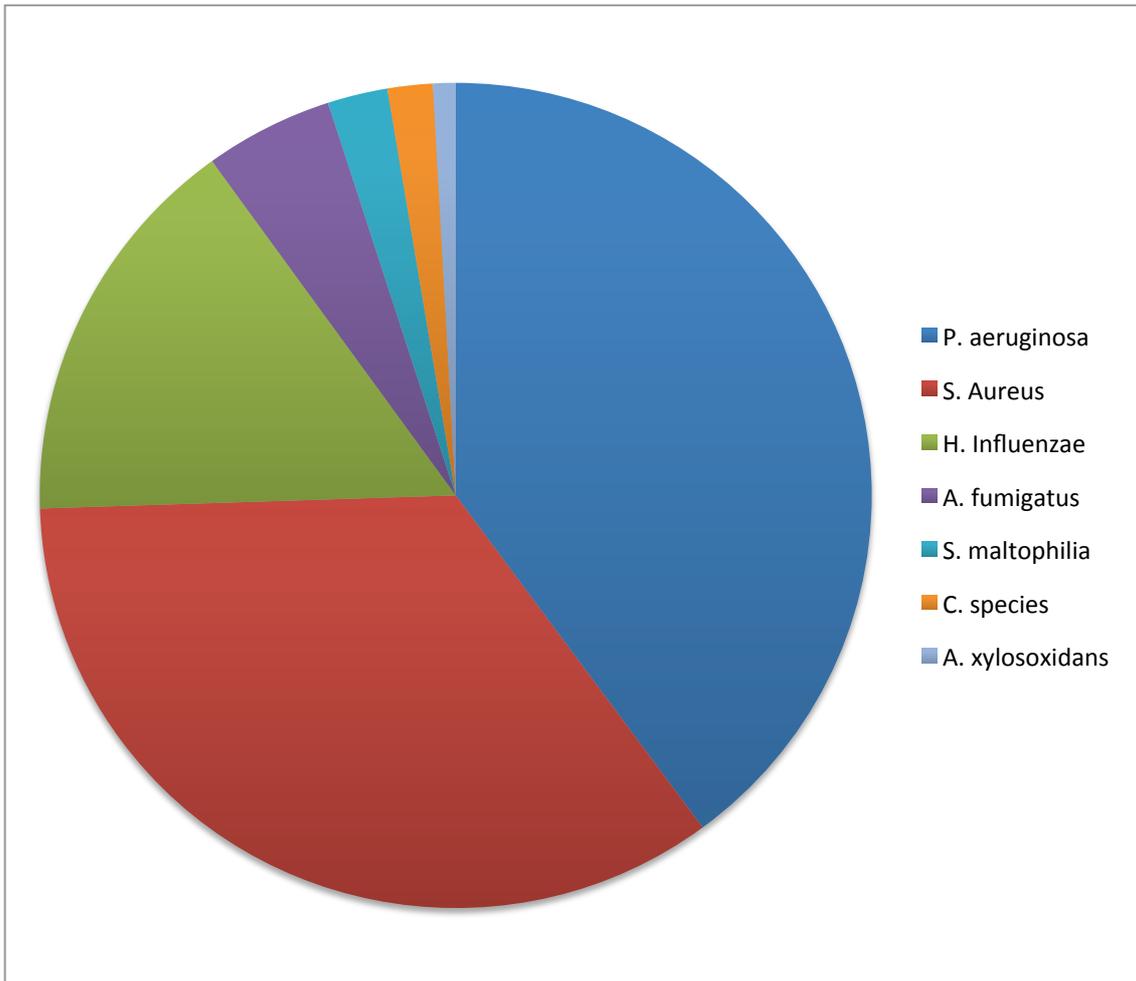


Abbildung 15: Darstellung der häufigsten Erreger bei Patienten mit CF nach Literaturlauswertung

### 3.2.2 Literaturvergleich: Pneumonien / Infektionen

Acht Veröffentlichungen zum Thema Pneumonien / Infektionen werden nun mit den Werten aus den durchgeführten BAL verglichen. Die Diagnosegruppe umfasst 74 Patienten, wobei für 20 Patienten zytologische Werte vorliegen.

Tabelle 10: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Zytospinaufarbeitung der BAL bei Pneumonien / Infektionen (n=20)

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
31,70±13,00	30,85±19,85	22,37±13,73	2,23±2,54

Es fanden sich 8 relevante Veröffentlichungen über Pneumonien / Infektionen und BAL, welche in Tabelle 10 erläutert sind. Um einen Vergleich zu ermöglichen, wurde ein Mittelwert ermittelt.

Tabelle 11: Übersicht über die zum Literaturvergleich verwendeten Veröffentlichungen über Pneumonien / Infektionen

Erst- autor	Journal, Jahr	Pat- ien- ten	Alter in Jahren (Mittel- wert)	Neutro- phile Granulo- zyten (%)	Lympho- zyten (%)	Makro- phagen (%)	Eosino- phile Granulo- zyten (%)
Griese [70]	Pediatr Allergy Immunol, 2008	45	4,8	10,6	13,7	74,4	1,6
Ratjen [71]	Arch Dis Child, 1997	27	8,2	31,4	4,3	13,0	-
Xu [72]	Eur Respir J, 2011	406	2,8	5,0	11,0	77,0	0,0
Tafel [73]	BMC Pulmonar y Medicine, 2008	14	2,1	80,0	-	-	-
Buda [74]	Pneumon ol Alergol Pol, 2013	1	3,0	62,0	18,0	6,0	-
Starosta [60]	Ped Pulmonol ogy, 2006	11	-	3,5	9,0	71,5	0,0
Wang [75]	Internat J of Infect Diseases, 2014	102	5,2	53,6	8,9	37,7	0,0
Marcos [54]	Respirato ry Research ,2010	48	11,0	28,1	14,8	57,5	3,3

Tabelle 12: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Literaturlauswertung bei Pneumonien / Infektionen

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
17,42	10,83	66,19	0,38

Zunächst ist anzumerken, dass der Mittelwert für eosinophile Granulozyten sich nur aus 5 und für Makrophagen und Lymphozyten aus 7 Mittelwerten der Veröffentlichungen zusammensetzt. Vergleicht man nun die einzelnen zellulären Parameter, wird deutlich, dass die Werte für einzelne Zelltypen ähnliche Tendenzen annehmen, sich andere Zelltypen deutlich voneinander unterscheiden, was unter anderem an dem kleinen Patientenkollektiv (n=20) der eigenen Studie liegen kann.

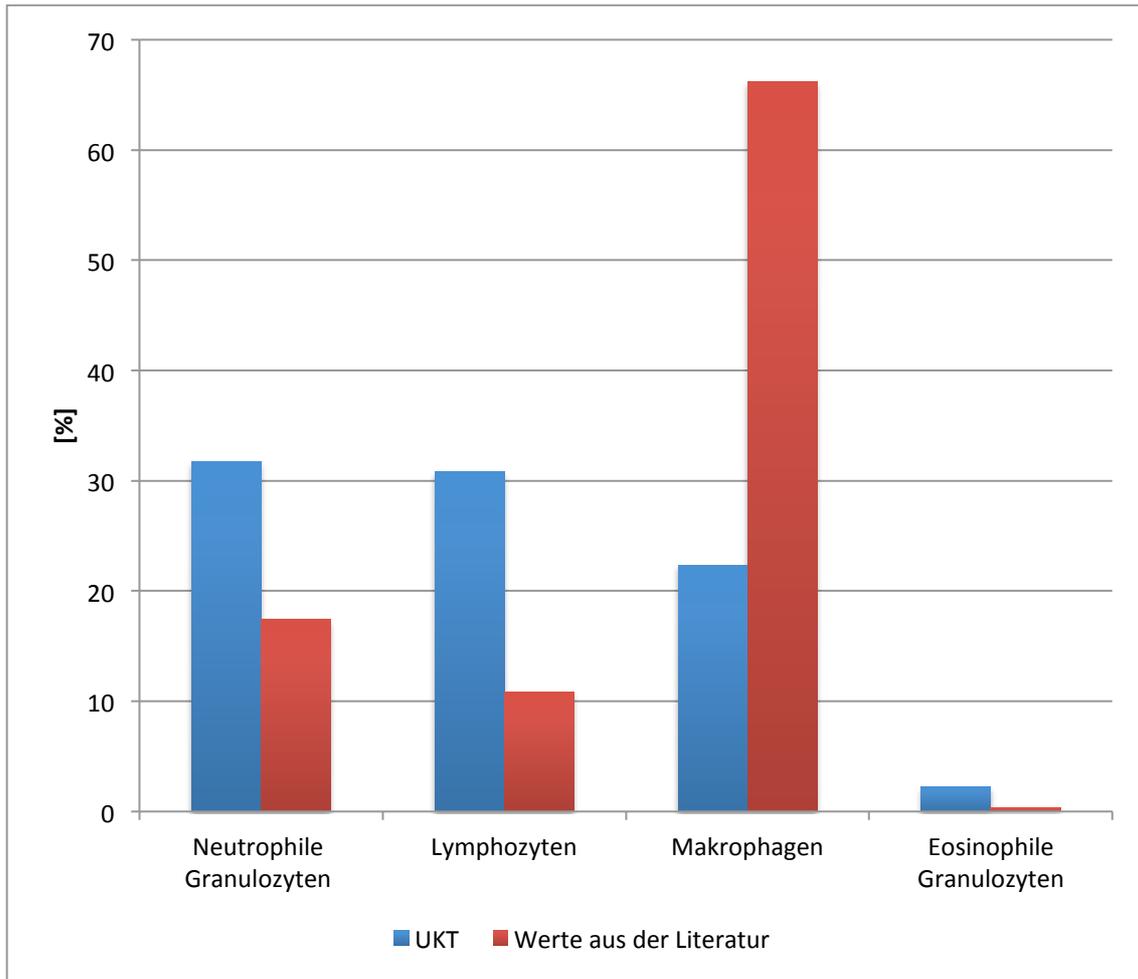


Abbildung 16: Vergleich der zellulären Komponenten von BAL, welche an der Universitätsklinik Tübingen (UKT) durchgeführt wurden, mit Werten aus der Literatur bei der Diagnose Pneumonien / Infektionen

Wie in Abbildung 16 dargestellt, erhalten wir sehr divergierende prozentuale Werte für die unterschiedlichen Zellarten bei der Auswertung der BAL bei Pneumonien / Infektionen.

Während der Wert für neutrophile Granulozyten in der eigenen Studie bei  $31,70 \pm 13,00\%$  liegt, findet sich in der Literatur ein Wert von  $17,42\%$ . Auch bei einem Vergleich der Lymphozyten und Makrophagen fallen Unterschiede auf:  $30,85 \pm 19,85\%$  im Vergleich zu  $10,83\%$  beziehungsweise  $22,37 \pm 13,73\%$  im Vergleich zu  $66,19\%$ .

Von den n=74 Patienten lassen sich bei n=7 Patienten Erreger nachweisen. Es handelt sich hierbei bei n=4 Patienten um *E.coli*, n=2 um *S. species* und n=1 *Kl. oxytoca*.

In zwei der Veröffentlichungen finden sich Angaben zum Erregerspektrum, welche in untenstehender Tabelle zusammengefasst sind und abschließend mit dem Erregerspektrum des Universitätsklinikums Tübingen verglichen wurden.

Tabelle 13: Veröffentlichungen mit Werten zu dem Erregerspektrum bei Patienten mit Pneumonien / Infektionen

<b>Autor</b>	<b>Journal</b>	<b>Patienten (n)</b>	<b>Erreger</b>
Ratjen [71]	Arch Dis Child, 1997	11	<i>A. fumigatus</i> (n=6), <i>P. aeruginosa</i> (n=2), <i>S. marescens</i> (n=1), <i>S. aureus</i> (n=1), <i>S. pneumoniae</i> (n=1)
Tafel [73]	BMC Pulmonary Medicine, 2008	12	<i>P. aeruginosa</i> (n=1), <i>S. aureus</i> (n=1), andere (n=10)

Tabelle 14: Werte des Erregerspektrums von Patienten mit Pneumonien / Infektionen nach Literaturrecherche

<i>S. pneumoniae</i> (%)	<i>S. aureus</i> (%)	<i>P. aeruginosa</i> (%)	<i>A. fumigatus</i> (%)	<i>S. marescens</i> (%)	Andere (%)
4,35	8,69	13,04	26,09	4,35	43,48

Bei den 23 Patienten, bei denen Erreger nachgewiesen werden konnten, wurden, wie in Tabelle 13 aufgelistet, bei n=6 Patienten *A. fumigatus*, bei n=3 *P. aeruginosa* und bei n=10 *andere Erreger* gefunden. Es fällt auf, dass unterschiedliche Erreger identifiziert wurden. Während bei den Patienten des Universitätsklinikums Tübingen mit 57,14% der Nachweis von *E.coli* überwiegt und des Weiteren *S. species* und *Kl. oxytoca* in der BAL-Flüssigkeit gefunden wurden, wurde in den Veröffentlichungen von Ratjen und Tafel zu 26,09% *A. fumigatus* und zu 13,04% *P. aeruginosa* nachgewiesen. Bei 43,48% handelt es sich um *andere Erreger*, welche nicht näher beschrieben werden.

### 3.2.3 Literaturvergleich: interstitielle Lungenerkrankungen

Der Diagnosegruppe interstitielle Erkrankungen sind n=15 Patienten mit n=6 zytologischen Parametern zuzuordnen.

Tabelle 15: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Zytopspinaufarbeitung der BAL bei interstitiellen Lungenerkrankungen

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
38,85±18,25	21,30±22,85	24,33±21,85	1,48±1,29

Wie in Tabelle 15 aufgezeigt, bilden die neutrophilen Granulozyten mit 38,85±18,25% den größten prozentualen Anteil bei interstitiellen Erkrankungen. Auch hier finden sich verhältnismäßig viele Makrophagen (24,33±21,85%) und wenige eosinophile Granulozyten (1,48±1,29%).

Es fanden sich bei der Literaturrecherche sieben relevante Veröffentlichungen, welche in Tabelle 16 dargestellt sind.

Tabelle 16: Übersicht über die zum Literaturvergleich verwendeten Veröffentlichungen über interstitielle Lungenerkrankungen

Erstautor	Journal, Jahr	Patien-ten	Alter in Jahren (Mittelwert)	Neutrophile Granulo-zyten (%)	Lym-pho-zyten (%)	Ma-kro-pha-gen (%)	Eo-sino-phile Gra-nulo-zyten (%)
Takizawa [55]	J Nippon Med Sch, 2009	5	3,1	3,3	8,8	75,2	4,8
Clement [56]	Eur Respir J, 2004	185	6,6	11,3	32,2	53,8	1,2
Guillot [57]	Chest, 2011	9	12	2,0	27,0	65,0	-
Chadelat [58]	Eur Respir J, 1998	11	11,6	5,8	28,7	66,0	1,1
Fan [59]	Pediatric Pulmonology, 1997	29	1,7	25,4	15,1	55,6	2,1
Starosta [60]	Pediatric Pulmonology, 2006	12	10,6	10,5	19,5	50,0	2,0
Baculard [61]	Eur Respir J, 2001	21	10,5	4,7	42,7	52,3	-

Aus den in den Veröffentlichungen angegebenen Werten zu den zytologischen Parametern von insgesamt n=272 Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen wurde, um einen Vergleich durchführen zu können, der Mittelwert gebildet.

Tabelle 17: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Literatúrauswertung bei interstitiellen Lungenerkrankungen

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
11,58	29,88	54,97	1,42

Aus den Literatúrauswertungen konnten die in Tabelle 16 ermittelten Werte entnommen werden. Auffällig ist der relativ hohe Anteil an Lymphozyten und Makrophagen von 29,88% beziehungsweise 54,97%.

Die untenstehende Abbildung vergleicht die Werte aus der eigenen Studie mit denen der Literatur.

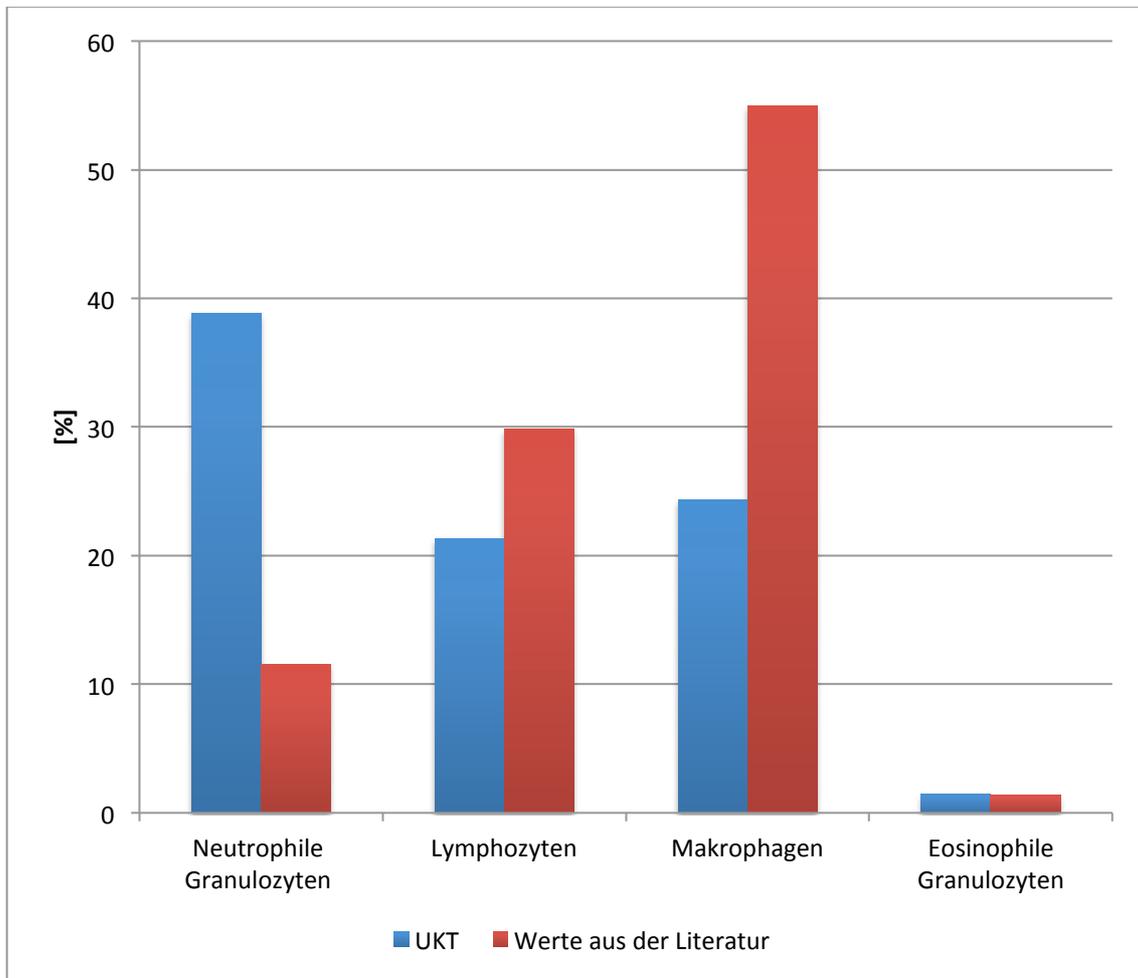


Abbildung 17: Vergleich der zellulären Komponenten von BAL, welche an der Universitätsklinik Tübingen (UKT) durchgeführt wurden, mit Werten aus der Literatur bei Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen

Beim Vergleich der eigenen Werte mit den aus den Veröffentlichungen errechneten Mittelwerten fällt ein deutlicher Unterschied bei den prozentualen Anteilen an neutrophilen Granulozyten auf. Während sich aus den 6 Werten der eigenen Studie ein Mittelwert von  $38,85 \pm 18,25\%$  ergibt, findet sich in den Veröffentlichungen ein Mittelwert von  $11,58\%$ . Bei einem Vergleich der

Lymphozyten finden sich folgende Angaben:  $21,30 \pm 22,85\%$  für die eigene Studie sowie  $29,88\%$  für die Literaturlauswertung. Bei den eosinophilen Granulozyten ergeben sich Werte von  $1,48 \pm 1,29\%$  für die eigene Studie und  $1,42\%$  für die Literaturlauswertung und bei Makrophagen  $24,33 \pm 21,85\%$  beziehungsweise  $54,97\%$ .

Bei Patienten mit der Diagnose interstitielle Lungenerkrankung finden sich weder in der eigenen Studie noch in der Literaturlauswertung Angaben zu mikrobiologischen Erregernachweisen.

### 3.2.4 Literaturvergleich: Neoplasien / KMT

Der Diagnosegruppe Neoplasien / KMT sind  $n=53$  Patienten mit  $n=14$  zytologischen Werten zuzuordnen.

Tabelle 18: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Zytospinaufarbeitung der BAL bei Neoplasien / KMT ( $n=14$ )

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
$42,14 \pm 19,25$	$26,44 \pm 20,42$	$17,40 \pm 13,36$	$4,33 \pm 2,72$

Wie in Tabelle 18 ersichtlich wird, bilden neutrophile Granulozyten mit  $42,14 \pm 19,25\%$  den größten prozentualen Anteil, gefolgt von Lymphozyten mit einem Wert von  $26,44 \pm 20,42\%$ . Für Makrophagen errechnete sich ein Mittelwert von  $17,40 \pm 13,36\%$  und für eosinophile Granulozyten von  $4,33 \pm 2,72\%$ .

Es fanden sich bei der Literaturrecherche acht relevante Veröffentlichungen, welche in unten stehender Tabelle notiert sind.

Tabelle 19: Übersicht über die zum Literaturvergleich verwendeten Veröffentlichungen über Neoplasien / KMT

Erstautor	Journal, Jahr	Patienten	Alter in Jahren (Mittelwert)	Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
Rochat [62]	Pediatric Pulmonology, 2008	17	9,1	25,9	18,0	52,4	2,3
Efrati [63]	Pediatric Blood Cancer, 2007	30	6,7	34,0	12,0	-	-
Winthrop [64]	J of Pediatric Surgery, 1990	26	-	-	-	-	-
Riedler [65]	Eur Respir J, 1995	35	8,0	21,0	7,0	-	-
Griese [66]	Eur Respir J, 2002	24	10,2	3,0	34,0	45,5	0,2
Park [67]	Med Pediatr Oncol, 2002	53	7,8	51,0	-	-	-
Picard [68]	Pediatric Pulmonology, 1999	1	8	76,0	-	-	-
Ratjen [69]	Thorax, 1999	16	8,2	6,0	14,0	45,0	-

Für die insgesamt n=202 Patienten mit der Diagnose Neoplasien / KMT, von denen für n=176 zytologische Werte angegeben waren, ergaben sich folgende berechnete Mittelwerte für die einzelnen zytologischen Parameter.

Tabelle 20: Mittelwerte der zellulären Parameter nach Literaturlauswertung bei Patienten mit Neoplasien / KMT

Neutrophile Granulozyten (%)	Lymphozyten (%)	Makrophagen (%)	Eosinophile Granulozyten (%)
29,22	15,99	47,42	1,07

Die untenstehende Abbildung vergleicht nun die Werte aus der eigenen Studie mit denen der Literatur.

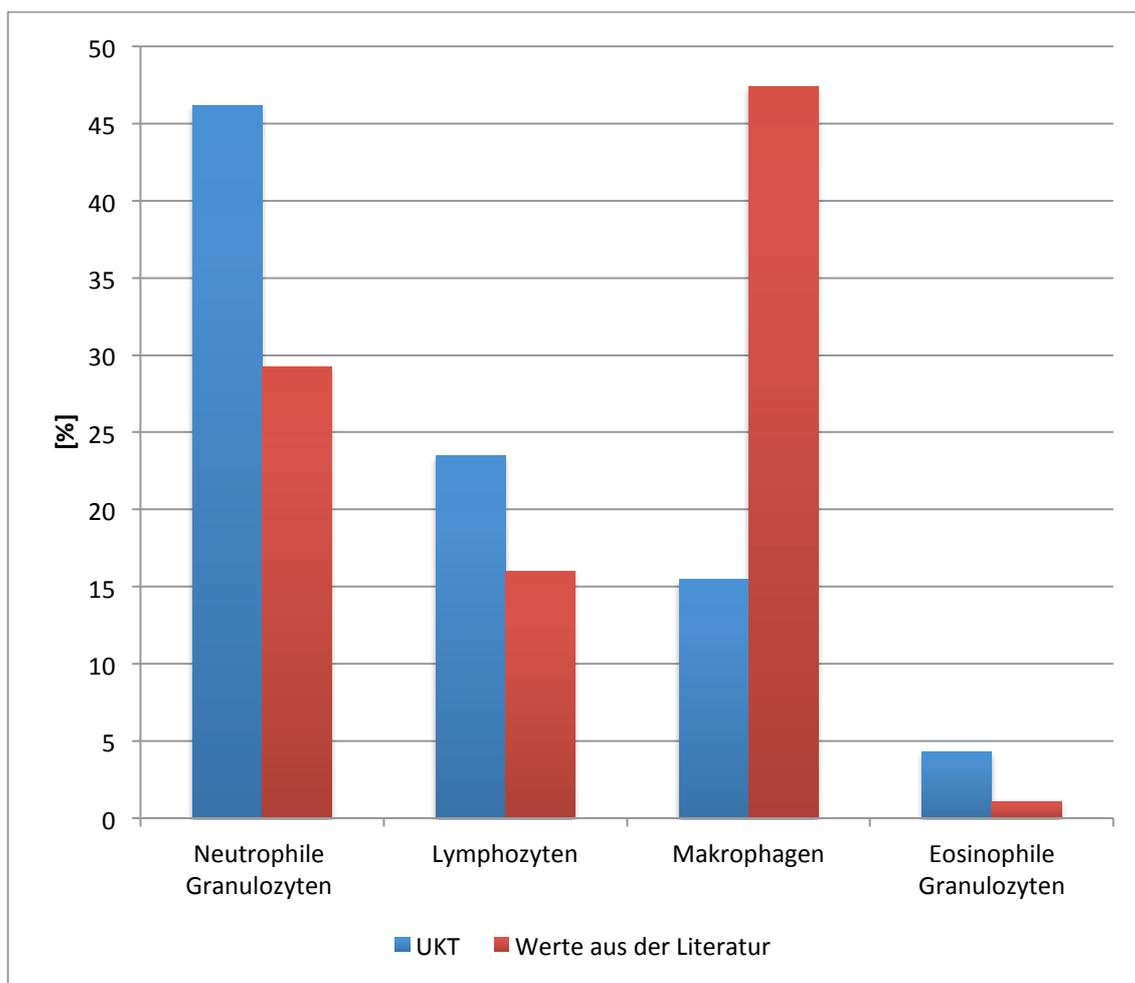


Abbildung 18: Vergleich der zellulären Komponenten von BAL, welche an der Universitätsklinik Tübingen (UKT) durchgeführt wurden, mit Werten aus der Literatur bei Patienten mit Neoplasien / KMT

Bei einem Vergleich der Parameter fallen sehr unterschiedliche Werte für Makrophagen auf,  $17,40 \pm 13,36\%$  (BAL der Universitätsklinik Tübingen) beziehungsweise  $47,42\%$  (Angabe aus der Literatur). Ebenso für neutrophile

Granulozyten: 42,14±19,25% im Vergleich zu 29,22%. Die Werte für Lymphozyten nehmen ähnliche Tendenzen an mit 26,44±20,42% und 15,99%. Bei den Patienten, welche der Diagnosegruppe Neoplasien / KMT zugeordnet wurden, wurde bei der eigenen Studie keine mikrobielle Diagnostik mit einem Erregernachweis durchgeführt. Deshalb werden nun die in den Veröffentlichungen beschriebenen Angaben zur Mikrobiologie zusammenfassend wiedergegeben. In vier der veröffentlichten Studien wurden n=60 Patienten mit positivem Erregernachweise beschrieben und folgendes Erregerspektrum protokolliert:

Tabelle 21: Veröffentlichungen mit Angaben zu dem Erregerspektrum bei Patienten mit Neoplasien / KMT

<b>Autor</b>	<b>Journal</b>	<b>Patienten (n)</b>	<b>Erreger</b>
Efrati [63]	Pediatric Blood Cancer, 2007	30	<i>P. aeruginosa</i> (n=3), <i>S. aureus</i> (n=3), <i>Kl. pneumoniae</i> (n=2), <i>E. coli</i> (n=1), <i>Actinetobacter</i> (n=1), <i>Enterobacter</i> (n=2), <i>Nocardia</i> (n=1), <i>P. mirabilis</i> (n=1), <i>P. carinii</i> (n=5), <i>A. fumigatus</i> (n=2), resp. <i>Viren</i> (n=12)
Winthrop [64]	J of Pediatric Surgery, 1990	15	<i>P. carinii</i> (n=4), grampos. Kokken (n=3), <i>C. albicans</i> (n=2), resp. <i>Viren</i> (n=6)
Griese [66]	Eur Respir J, 2002	10	<i>A. fumigatus</i> (n=5), andere (n=5)
Ratjen [69]	Thorax, 1999	5	<i>A. fumigatus</i> (n=3), <i>Pneumococcus</i> (n=1), <i>P. carinii</i> (n=1)

Es ergibt sich ein breit gefächertes Spektrum an Erregern für die Diagnosegruppe Neoplasien / KMT. Auffällig ist die hohe Anzahl an Pilzinfektionen und viralen Erregern im Vergleich zu anderen Diagnosegruppen. Am häufigsten kam es zu einer Infektion mit *P. carinii* (n=10) und *A. fumigatus* (n=10). Bei n=18 Patienten kam es zu einem Befall mit *respiratorischen Viren*. Alle weiteren Erreger, die in Abbildung 19 aufgeführt werden, traten mit einer Häufigkeit von n=3 bis n=1 auf.

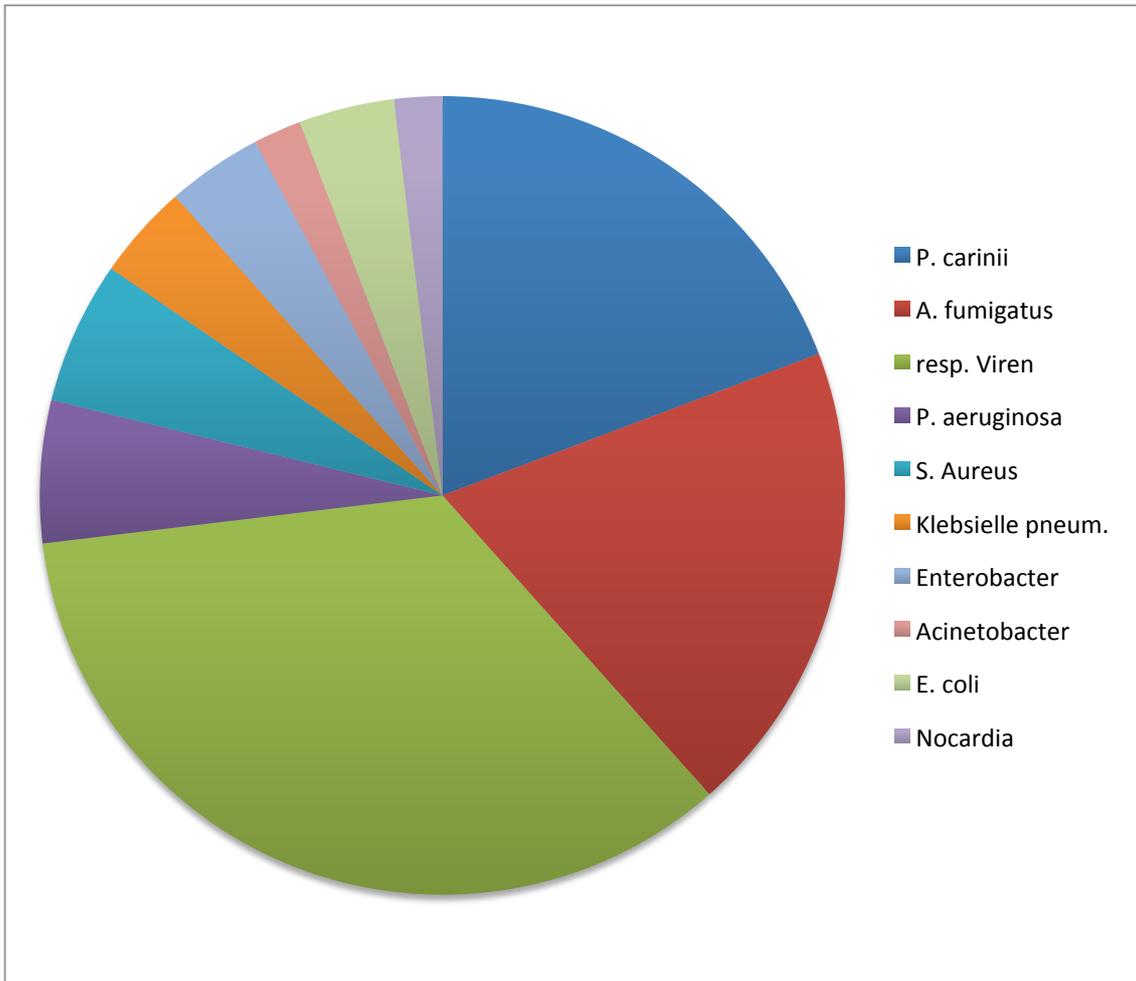


Abbildung 19: Darstellung der häufigsten Erreger bei Patienten mit Neoplasien / KMT nach Literaturlauswertung

### 3.2.5 Zytologische Muster der Diagnosegruppen

Bei der Analyse der Veröffentlichungen mit zytologischen Werten zu CF fällt auf, dass am häufigsten neutrophile Granulozyten auftreten gefolgt von Makrophagen. Den drittgrößten Anteil machen die Lymphozyten aus und, wie dies in jedem der beschriebenen zytologischen Muster der Fall ist, bilden eosinophile Granulozyten den geringsten prozentualen Anteil. Dieses beschriebene Muster zeigen auch 2 der 3 Patienten auf, von denen BAL an der Universitätsklinik Tübingen durchgeführt wurden.

Bei einer Analyse des zytologischen Musters von Pneumonien / Infektionen fällt auf, dass bei den 8 Veröffentlichungen 2 Verteilungsmuster vorherrschen.

Entweder bilden Makrophagen oder neutrophile Granulozyten die größte Fraktion. An zweiter Stelle dominieren die Lymphozyten. Es zeigte sich hier ein eher inhomogenes zytologisches Muster. Auch bei den 20 Patienten, bei denen eine BAL in Tübingen durchgeführt wurde, findet sich ein ähnliches, ebenfalls inhomogenes zytologisches Muster. In der Regel stellen auch hier die neutrophilen Granulozyten oder Makrophagen die größte Fraktion dar. In 5 Fällen bilden die Lymphozyten den größten prozentualen Anteil. Dies geht in der Regel mit der Diagnose rezidivierender Pneumonien / Infektionen einher.

Bei interstitiellen Lungenerkrankungen findet sich insbesondere im Vergleich zu den anderen Diagnosegruppen ein homogenes zytologisches Muster. Bei den 7 Veröffentlichungen stellen Makrophagen den größten Anteil, in 6 Fällen gefolgt von Lymphozyten und in wiederum 5 Veröffentlichungen bilden neutrophile Granulozyten die drittgrößte Fraktion. Bei der Analyse des zytologischen Musters der BAL, welche in Tübingen durchgeführt wurden, findet sich kein homogenes Muster, was am wahrscheinlichsten auf die geringe Anzahl an Patienten (n=4) zurückzuführen ist.

Die Analyse der Diagnosegruppe Neoplasien / KMT brachte folgende Ergebnisse für ein vorhandenes zytologisches Muster hervor: Von den 7 Veröffentlichungen finden sich nur in 3 Fällen Werte zu Makrophagen und hierbei stellt diese Zellpopulation den größten Anteil dar. Bei den restlichen ermittelten Werten dominieren die neutrophilen Granulozyten. Somit bilden neutrophile Granulozyten am häufigsten den größten prozentualen Anteil gefolgt von Makrophagen und Lymphozyten. Die 14 Patienten des Universitätsklinikums Tübingen weisen folgendes zytologisches Muster auf: Neutrophile Granulozyten bilden einen größeren Anteil als Makrophagen gefolgt von Lymphozyten und eosinophilen Granulozyten.

## **4 Diskussion**

Die BAL dient der Diagnostik von Lungenerkrankungen. Auf wenig invasive Weise wird Flüssigkeit gewonnen, welche anschließend zytologisch und mikrobiologisch ausgewertet werden kann. Diese Auswertung erfolgte bei den BAL, welche an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen in einem Zeitraum von über 13 Jahren durchgeführt wurden. Die 467 Patienten wurden in unterschiedliche Diagnosegruppen aufgeteilt, um so einen Vergleich untereinander und auch mit zahlreichen Veröffentlichungen zu ermöglichen. Bei den Patienten, von denen Werte für die einzelnen zytologischen Parameter vorliegen (n=84 für neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen, sowie n=75 für eosinophile Granulozyten), wurde ein Schwerpunkt auf folgende Diagnosegruppen gelegt: CF, Pneumonien / Infektionen, interstitielle Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT. Im weiteren Verlauf wurde eine ausführliche Literaturrecherche über PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)) durchgeführt. Die Werte der genannten Diagnosegruppen wurden mit den errechneten Mittelwerten aus den Veröffentlichungen verglichen, um so zu erfahren, ob sich ähnliche prozentuale Verteilungen und zytologische Muster aufzeigen. Es wurde darüber hinaus das Erregerspektrum, die verwendeten Antibiotikaklassen sowie die Serum-CRP-Werte untersucht, wobei es sich hierbei um größtenteils deskriptive Erhebungen handelt.

### **4.1 Auswertung der BAL der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen**

#### **4.1.1 Patientenkollektiv**

Da 467 Kinder verschiedener Altersklassen über einen langen Zeitraum von über 13 Jahren untersucht wurden, kann angenommen werden, dass die Wertigkeit der BAL an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen repräsentativ erforscht wurde.

### **4.1.2 Diagnosegruppen**

Die im Abschnitt Ergebnisse beschriebenen Diagnosegruppen sind häufige pulmonologische Krankheitsbilder bzw. Erkrankungsbilder mit pulmonologischer Manifestation, welche jeweils potentiell mit ähnlichen zytologischen Ergebnissen einhergehen. Diese Gliederung wurde gewählt, um die Wertigkeit der BAL als diagnostisches Werkzeug überprüfen zu können. Insbesondere bei Pneumonien / Infektionen und Neoplasien / KMT konnte bei einem Vergleich der eigenen BAL-Auswertungen und der Mittelwerte, welche aus den Veröffentlichungen bestimmt wurden, gezeigt werden, dass sich ähnliche Zellbildveränderungen manifestieren. Auf diese Vermutung wird im Abschnitt Literaturvergleich noch einmal näher eingegangen.

### **4.1.3 Zytologie**

Es zeigten sich folgende allgemeine Mittelwerte aller Patienten mit vorliegenden Daten für die Zytospinauswertung: Neutrophile Granulozyten  $35,99 \pm 16,33\%$ , Lymphozyten  $26,99 \pm 21,62\%$ , Makrophagen  $24,32 \pm 16,91\%$  sowie eosinophile Granulozyten  $2,65 \pm 3,22\%$ .

Wenn man diese Mittelwerte nun mit den in der Einleitung erwähnten Normwerten vergleicht, fallen deutliche Unterschiede auf, welche zu erwarten waren, da es sich hierbei um ein gesundes Patientenkollektiv handelt, die in dieser Arbeit verwendeten Daten jedoch ausschließlich kranken Kindern zuzuordnen sind.

Für die einzelnen Diagnosegruppen wurden nun die Mittelwerte, die Standardabweichung sowie der Variationskoeffizient der zytologischen Parameter ermittelt und im Einzelnen analysiert. Es ergaben sich Verschiebungen der zellulären Parameter bei unterschiedlichen Diagnosen. Bei der Übersichtsdarstellung der Mittelwerte lassen sich unterschiedliche, aber auch ähnliche Tendenzen darstellen. Insbesondere wird sichtbar, dass einige Diagnosegruppen mit Verschiebungen der zytologischen Parameter in die gleiche Richtung einhergehen, wie dies beispielsweise bei den Diagnosegruppen Pneumonien / Infektionen und Bronchitis der Fall ist. Dies lässt auf typische entzündlich bedingte Veränderungen der zytologischen

Parameter schließen. Andere Diagnosegruppen weisen eine zytologische Zusammensetzung auf, die deutlich von anderen Diagnosegruppen abweicht, so zum Beispiel bei Stenosen und Blutungen. Man kann annehmen, dass diesem abweichenden zytologischen Muster verschiedene Pathologien zu Grunde liegen, welche mit unterschiedlichen Verschiebungen der prozentualen Anteile der zytologischen Parameter einhergehen.

Die im Ergebnisteil dargestellten Werte für neutrophile Granulozyten zeigen, wie in der Gesamtdarstellung schon sichtbar wurde, deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Diagnosegruppen. Es ergab sich eine Range von 39,9% (17,6% bis 57,5%). Eine solch große Spannweite war zu erwarten, da sich die verschiedenen Erkrankungen des untersuchten Patientenkollektivs mit unterschiedlichen zellulären Veränderungen manifestieren. So sind neutrophile Granulozyten häufig bei entzündlichen Vorgängen, welche bakteriellen Ursprungs sind, während sie bei Blutungen am seltensten auftreten. Es lässt sich somit vermuten, dass die neutrophilen Granulozyten eine wichtige Rolle bei der Detektion beziehungsweise beim Ausschluss diverser Krankheiten spielen, jedoch werden zur Beurteilung der zytologischen Zusammensetzung noch weitere Zellpopulationen (Lymphozyten, Makrophagen und eosinophile Granulozyten) benötigt, da typische Verteilungsmuster einen eindeutigeren diagnostischen Hinweis liefern können, als dies der ausschließliche prozentuale An- oder Abstieg der neutrophilen Granulozyten kann. Es gibt einige Diagnosegruppen, welche ähnliche prozentuale Anteile an neutrophilen Granulozyten zeigen und sich nicht alleine anhand dieser Zellpopulation unterscheiden lassen, wie beispielsweise interstitielle Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT.

Auch bei einem Vergleich der prozentualen Anteile an Lymphozyten fallen deutliche Unterschiede je nach Diagnosegruppe auf, was sich wiederum durch die krankheitsspezifischen Veränderungen erklären lässt. Die hohen Werte bei Blutungen (48,20%) und Bronchiektasen (58,13±36,58%) lassen sich eventuell auf eine Aktivierung des Immunsystems zurückführen. Auffällig ist auch der sehr geringe Prozentsatz von 8,27±7,11% für CF. Somit ergibt sich für die

Lymphozyten ebenfalls eine breite Range von 49,86%. Einige Diagnosegruppen gehen mit einem mäßigen Anstieg an Lymphozyten einher, wie dies bei Neoplasien / KMT ( $26,44 \pm 20,42\%$ ) und angeborenen Erkrankungen ( $28,43 \pm 24,66$ ) der Fall ist, was sich möglicherweise durch ein chronisches Krankheitsgeschehen erklären lässt.

Ebenso finden sich beim Vergleich der Makrophagen zwischen den einzelnen Diagnosegruppen deutliche prozentuale Unterschiede, welche für eine Diagnosestellung hilfreich sein können.

Auch bei den Daten für eosinophile Granulozyten sind Unterschiede vorhanden, die jedoch geringer als bei den anderen Zellpopulationen ausfallen, was auf den generell niedrigeren prozentualen Anteil von maximal  $5,13 \pm 5,19\%$  zurückzuführen ist. Den höchsten Anteil an eosinophilen Granulozyten hat die Diagnosegruppe (Fremdkörper-)aspiration, was sich mit eventuellen allergischen Reaktionen oder lokalen bakteriellen Entzündungen erklären lässt.

#### **4.1.4 Mikrobiologie**

Wenn man das Erregerspektrum, das bei den Patienten detektiert wurde, betrachtet, fällt auf, dass es sich nicht, wie zu erwarten, um typische Erreger des unteren Respirationstraktes handelt, sondern eher um Bakterien, welche bei Harnwegs- oder Gastrointestinalinfekten typisch sind. Wie im Ergebnisteil bereits erwähnt, finden sich bei der Untersuchung des Erregerspektrums der an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin durchgeführten BAL am häufigsten Infektionen mit *E. coli*, *Enterobacter cloacae* und *Serratia spezie*s. Insbesondere bei den Diagnosegruppen Pneumonien / Infektionen spielen mikrobielle Erreger und ihr Nachweis für die nachfolgende Therapie eine entscheidende Rolle, um eine Erreger-spezifische Antibiotikatherapie durchführen zu können [76]. Oft kommt es auch zu einer begleitenden infektiösen Erkrankung bei Kindern mit Neoplasien, insbesondere nach immunsupprimierenden Therapiemaßnahmen. Ein Einsatz der BAL wird bei einer Infektion bei bestehender Neoplasie oder Immunsuppression in den Veröffentlichungen als sinnvoll beschrieben [72; 76; 77]. Ebenfalls wird die

diagnostische Relevanz der BAL für den Erregernachweis bei Pneumonien / Infektionen im klinischen Alltag betont [72].

#### **4.1.5 Antibiotikaklassen**

Wie im obigen Abschnitt bereits angedeutet, ist es von großer Wichtigkeit, die in der BAL nachgewiesenen Erreger adäquat zu therapieren, um sie somit möglichst rasch zu eliminieren. Deswegen wurde die Wirksamkeit verschiedener Antibiotikaklassen untersucht, um so sinnvolle Therapieschemata je nach Erreger entwickeln zu können. Bei einem Vergleich der drei Antibiotikaklassen (Penicilline, Cephalosporine, Piperacillin / Tazobactam), welche am häufigsten verabreicht wurden, fällt auf, dass insbesondere Betalaktam-Antibiotika eingesetzt wurden, welche ein breites Wirkspektrum aufweisen, jedoch gegen Chlamydien, Mykoplasmen und Legionellen resistent sind. Ein weiteres Problem bei dieser Antibiotikaklasse stellen die zahlreichen erworbenen Resistenzen dar. Es wäre durchaus interessant im weiteren Verlauf zu beobachten, ob und in welchem Umfang die primäre Medikation erfolgreich war und welche der Kombinationstherapien bei welchem Erreger die höchste Erfolgsrate bei der dauerhaften Erregerelimination aufwies.

#### **4.1.6 C-reaktives Protein**

Da nur bei 39 Patienten eine Konzentration des CRP ermittelt wurde, lassen sich für die einzelnen Diagnosegruppen sehr schwer typische CRP Anstiege ermitteln und vergleichen. Die Bestimmung des CRP ist klinischer Standard zur Diagnostik und zur Verlaufsbeurteilung bei infektiösen Erkrankungen, insbesondere bakterieller Genese. Bei Patienten mit unklaren Lungenerkrankungen kann der CRP Wert dementsprechend wichtig sein, um den Verdacht einer infektiösen Begleiterkrankung zu stärken oder zu schwächen. Es kann bei einem Mittelwert von  $15,64 \pm 13,55$  angenommen werden, dass ein Anstieg dieses Proteins bei Erkrankungen, bei denen eine BAL in der Diagnostik eingesetzt wurde, relativ häufig ist.

#### **4.1.7 Korrelationen**

Anhand der im Ergebnisteil durchgeführten Korrelationen wird deutlich, dass einige der Zellpopulationen sich tendenziell gleich- bzw. gegenseitig verändern. Diese Veränderungen manifestieren sich an den für die einzelnen Diagnosegruppen typischen prozentualen Zellpopulationen.

#### **4.2 Literaturlauswertung**

Die nach Literaturrecherche in diese Literaturlauswertung aufgenommenen 36 Veröffentlichungen aus wissenschaftlichen Zeitschriften wurden mit den Daten aus der eigenen Studie verglichen. In diesem Abschnitt soll nun darauf eingegangen werden, ob die Werte korrelieren und wenn ja, in welchem Umfang. Auch Unterschiede und Abweichungen sollen aufgedeckt werden und Überlegungen über die Ursachen angestellt werden. Es wurde überprüft, inwieweit die Streuungsmaße Standardabweichung als absoluter Parameter und Variationskoeffizient als relativer Parameter darauf hinweisen, dass bei einer Diagnose ähnliche Tendenzen zu finden sind und die BAL im klinischen Alltag als diagnostisches Werkzeug eingesetzt werden kann. Es ist anzumerken, dass es sich hierbei nicht um einen Vergleich der Werte der BAL der Universitätsklinik Tübingen mit den Werten aus den Veröffentlichungen handelt, sondern dass die Daten, welche in Tübingen ermittelt wurden, in den Kontext der ausgewerteten Studien inkludiert wurden, um so die Wertigkeit der BAL evaluieren zu können. Im weiteren Verlauf wird untersucht ob und in welchem Umfang die BAL einen Stellenwert in der Diagnostik von CF, Pneumonien / Infektionen, interstitiellen Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT hat. Ein besonderes Augenmerk wird auf die Aussagekraft der zytologischen Analyse gerichtet und ob bei einer bisher unklaren Diagnose eine BAL Auswertung einen diagnostischen Fortschritt bedeutet.

### **4.3 Stellenwert der BAL in der Diagnostik**

#### **4.3.1 Cystische Fibrose**

Bei der Diagnosegruppe CF ergibt sich ein zytologisches Muster, bei dem neutrophile Granulozyten den größten prozentualen Anteil ausmachen, gefolgt von Makrophagen und Lymphozyten. Ebendieses Muster findet sich auch bei 2 der 3 Patienten, deren BAL an der Universitätsklinik Tübingen durchgeführt wurden. Wie auch bei der Diagnosegruppe Neoplasien / KMT nimmt der Variationskoeffizient kleinere Werte an, als dies bei interstitiellen Lungenerkrankungen der Fall ist und größere Werte im Vergleich zur Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen, wobei jedoch zu beachten ist, dass der Variationskoeffizient bei dieser geringen Datenmenge (n=3) nur eine begrenzte Aussagekraft besitzt.

In der Regel wird eine cystische Fibrose bereits kurz nach der Geburt im Rahmen des Neugeborenen Screenings diagnostiziert. Dementsprechend dient die BAL in aller Regel nicht dem Nachweis der CF an sich, sondern dem Nachweis oder Ausschluss einer (Begleit-)Infektion mit Erregernachweis sowie der Untersuchung pulmonaler Umbauprozesse.

Wie auch bei den anderen Diagnosegruppen kann es sinnvoll sein, nach einer Gewinnung der BAL-Flüssigkeit sowohl eine zytologische Analyse durchzuführen, welche in der Regel mit einem erhöhten prozentualen Anteil an neutrophilen Granulozyten und einer Zunahme der absoluten Zellzahl einhergeht [69], als auch weitere Untersuchungen anzuschließen. Armstrong erwähnt hier die Analyse von Interleukinen, Tumornekrosefaktoren (TNF) und freier neutrophiler Elastase [46]. Es lässt sich auch ein Atemwegsremodelling in der BAL detektieren, welches mit einem Matrixzusammenbruch und einer Basalmembranverdickung einhergeht [44]. Wie schon bei den Diagnosegruppen Pneumonien / Infektionen und Neoplasien / KMT beschrieben, ist es auch bei Patienten mit CF sinnvoll, eine mikrobiologische Erregersuche durchzuführen, wenn ein Verdacht auf eine zusätzliche Infektion bzw. eine Erregerbesiedelung besteht [49]. Häufig kommt es bei CF zu rezidivierenden Infektionen zunächst mit *H. influenzae* und *S. aureus* und im weiteren Verlauf mit *P. aeruginosa*. Insbesondere *B. cepacia* ist ein gefürchteter

multiresistenter Keim, der leicht zwischen Patienten übertragen wird und rasch zu einer Abnahme der Lungenfunktion führen kann. Diese Infektionen verlaufen oft weniger akut als dies bei typischen Pneumonien der Fall ist und gehen dementsprechend mit leichteren klinischen Symptomen wie chronischem Husten oder Keuchen (engl. „wheezing“) einher. Gerade dies unterstreicht den Stellenwert der BAL für den Erregernachweis bei CF.

Es lässt sich zusammenfassend folgern, dass auch bei CF die BAL eine diagnostisch sinnvolle Methode ist, wobei hier der Erregernachweis, insbesondere bei chronischen Infektionen im Vordergrund steht und die zytologische Analyse nur eine sekundäre Rolle spielt.

#### **4.3.2 Pneumonien / Infektionen**

Bei der Analyse des zytologischen Musters der Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen fielen 2 Verteilungsmuster auf (neutrophile Granulozyten oder Makrophagen als führende Fraktion), jedoch mit einer relativ großen Streubreite der einzelnen zytologischen Parameter bei den analysierten Veröffentlichungen, z.B. 3,5% [60] und 80,0% [73] für neutrophile Granulozyten. Auch bei den 20 Patienten, bei denen eine BAL in Tübingen durchgeführt wurde, findet sich ein ähnliches zytologisches Muster mit ebenfalls inhomogener Verteilung. Man könnte die große Streubreite der zytologischen Parameter mit dem unterschiedlichen Erregerspektrum bei Pneumonien / Infektionen erklären, welches je nach Bakterium, Virus oder Pilz verschiedene Veränderungen der zytologischen Parameter bewirkt, was sich wiederum dadurch herleiten lässt, dass eine Pneumonie / Infektion in der Regel mit einem entzündlichen Prozess einhergeht, auf den das Immunsystem entsprechend reagiert. Zum Beispiel ist bei einer bakteriellen Pneumonie mit einer Erhöhung der neutrophilen Granulozyten zu rechnen, wohingegen bei chronischen Infektionen oft die Lymphozytenfraktion ansteigt [48]. Bei parasitären Infektionen zeigt sich hingegen eine Erhöhung der eosinophilen Granulozyten [78]. Die Zusammensetzung der zytologischen Parameter kann sich auch im Krankheitsverlauf verändern. So kann es zu Beginn einer Pneumonie durch

eine Aktivierung des unspezifischen Immunsystems zu einem Anstieg der Makrophagen kommen.

Im Gegensatz zur breiten Streuung der zytologischen Parameter in der Literaturrecherche ergab die Berechnung des Variationskoeffizienten der Tübinger BAL die geringste Streuung in der Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen.

Bei Zusammenschau der Ergebnisse (Mittelwerte der zytologischen Parameter, Betrachtung der zytologischen Muster und Berechnung des Variationskoeffizienten) lassen sich Veränderungen in der Zusammensetzung der Zytologie erkennen, die bei der Diagnosefindung eine Rolle spielen können. De Baets beschreibt in seiner Veröffentlichung einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten bei Inflammation [79]. Von einem höheren Granulozytenanteil bei bakteriellen Infektionen wird ebenfalls in der Veröffentlichung von Ratjen berichtet. Im übrigen wird eine Differentialzellzählung im Rahmen der BAL als sinnvolle Unterstützung zur Differentialdiagnostik bei pulmonalen Infektionen immunsupprimierter Kinder angesehen [71].

Wie bereits erwähnt, ist ein Einsatz der BAL insbesondere bei immungeschwächten Patienten mit unklarem Infektfokus sinnvoll, da zusätzlich zu der zytologischen Auswertung gleichzeitig ein Erregernachweis mit Resistenzaustestung und spezielle Untersuchungen, wie beispielsweise die Galactomannantestung bei hämatologischen Patienten mit invasiver Aspergillose [80], möglich sind. Eine spezielle Untersuchung, die zur Diagnostik von Pneumonien / Infektionen geeignet ist, wäre beispielsweise der Nachweis von sCD14. Ein Anstieg der Konzentration von sCD14 könnte ein potentieller Marker für Pneumonien bei Kindern sein [54]. In der Veröffentlichung von Griese wird beschrieben, dass ein Fehlen des Surfactant Proteins D mit einem häufigeren Auftreten von Pneumonien einhergeht und Tafel beschreibt, dass die Surfactant Proteine B und C Vorboten von inflammatorischen Atemwegserkrankungen sind [70; 73].

Bei der Diagnostik einer pulmonalen Infektion stehen derzeit die anamnestisch erfragten Symptome des Patienten, die körperliche Untersuchung sowie bildgebende Verfahren (konventionelle Röntgendiagnostik und

Computertomographie) im Vordergrund. In unklaren Fällen oder bei einem schweren Erkrankungsverlauf ist eine BAL mit Erregernachweis indiziert [81]. Sachdev entwickelte einen klinisch pulmonal infektiösen Score zur Diagnostik beatmungsassoziierter Pneumonien und sieht hierbei einen Einsatz der BAL vor allem zum Erregernachweis als sinnvoll an [82]. Die BAL hat somit einen additiven Stellenwert in der Diagnostik bei Pneumonien / Infektionen und lässt sich im klinischen Kontext gemeinsam mit den genannten diagnostischen Tools in einen Algorithmus eingliedern. Mit Hilfe der zytologischen Analyse kann beispielsweise zwischen einer akuten Infektion (Erhöhung der neutrophilen Granulozyten) und chronisch-rezidivierenden Infektionen (Erhöhung der Lymphozyten) differenziert werden.

Somit kann gefolgert werden, dass bei der Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen die Durchführung einer BAL im klinischen Alltag eine sinnvolle Maßnahme ist, insbesondere wenn diese mit einem Erregernachweis kombiniert wird [71-73; 76; 82; 83].

#### **4.3.3 Interstitielle Lungenerkrankungen**

Bei einer Analyse der zytologischen Ergebnisse fallen teilweise sehr ähnliche zytologische Mittelwerte auf, wie dies beispielsweise bei den Veröffentlichungen von Takizawa, Guillot und Baculard der Fall ist [55; 57; 61]. Des Weiteren findet sich ein relativ homogenes zytologisches Muster mit folgender Verteilung: Makrophagen stellen den prozentual größten Anteil, gefolgt von Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten. Starosta beschreibt einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten, der proportional zum Anstieg der Proteinoxidation ist, welcher sich bei chronischen und interstitiellen Lungenerkrankungen findet [60]. Bei der Diagnosegruppe interstitielle Lungenerkrankungen zeigt sich bei der Auswertung des Variationskoeffizienten eine breite Streuung. Diese Streuung war zu erwarten, da hier zahlreiche verschiedene Krankheitsbilder zusammengefasst sind. Trotz der großen Streuung, welche auch auf die geringere Patientenzahl zurückzuführen ist, existiert ein dominierendes zytologisches Muster, welches einen Einsatz der BAL in der Diagnostik sinnvoll erscheinen lässt.

So kann das zytologische Muster manchmal einzelne Differentialdiagnosen ausschließen und selten eine bestimmte interstitielle Lungenerkrankung bestätigen [84; 85]. Auch kann die Bestimmung der CD4/CD8-Ratio möglicherweise weiter zielführend bei der Diagnosefindung sein [86]. Da es sich bei den interstitiellen Lungenerkrankungen teilweise um seltene und schwer diagnostizierbare Erkrankungen handelt, wäre eine Eingliederung der BAL in einen diagnostischen Algorithmus wertvoll.

Dies wird beispielweise in der Veröffentlichung von Baculard für das Krankheitsbild der Sarkoidose beschrieben, in der ein Einsatz der BAL mit totaler und differentieller Zellzählung als diagnostisch relevant angesehen wird [61]. In der Regel ist bei Sarkoidose der Anteil an Lymphozyten erhöht und die Anzahl an neutrophilen und eosinophilen Granulozyten normal [87]. Eine erhöhte CD4/CD8-Ratio findet sich häufig in einem frühen und aktiven Krankheitsstadium. Bei fortgeschrittener Erkrankung nimmt dieses Verhältnis wieder ab. Die Dauer der Erkrankung und das momentane klinische Erscheinungsbild beeinflussen das zytologische Muster [88]. In der Veröffentlichung von Guillot wird beschrieben, dass es sinnvoll ist bei Kindern mit Sarkoidose die Konzentration von Surfactantprotein C zu bestimmen, da hierbei ein Zusammenhang zu parenchymalen Lungenerkrankungen besteht [57].

Auch bei einer hypersensitiven Pneumonitis ist die BAL ein sensitives Verfahren, welches die Diagnosestellung ermöglichen kann [89]. Die Detektion eines Lymphozytenanstiegs von teilweise über 50% ist zwar unspezifisch, aber dennoch wichtig, da dieser deutliche Anstieg untypisch für die meisten Differentialdiagnosen ist. Die CD4/CD8-Ratio ist meist kleiner als 1,0 [38] und ein Mastzellenanstieg auf über 1% ist häufig, aber noch nicht im klinischen Alltag zur Diagnosefindung etabliert [90].

Die BAL ist ebenso geeignet zur Diagnose der Langerhans-Zell-Histiozytose. Da die Auswertung der zytologischen Parameter hierbei in der Regel mit einer großen Range einhergeht, ist es ratsam speziellere Untersuchungen anzuordnen, wie beispielweise den Nachweis von S-100 und CD1a. Auch die

Detektion von Langerhans-Zellen ist zielführend in der Diagnostik der Langerhans-Zell-Histiozytose [55].

Da interstitielle Lungenerkrankungen sehr selten und oft auch unerkannt, da schwer diagnostizierbar, sind, ist es generell schwer Daten zu diesen Krankheitsbildern zu erheben. Clement ist dies in seiner Veröffentlichung gelungen. Er untersuchte 185 immunkompetente Kinder und konnte feststellen, dass der diagnostische Einsatz einer BAL bei Alveolarproteinose, alveolärer Hämorrhagie und Langerhans-Zell-Histiozytose von eindeutigem Nutzen ist [56].

Die zytologischen Veränderungen sind wie bereits erwähnt häufig unspezifisch, aber gut geeignet zum Ausschluss von Differentialdiagnosen. Jedoch gibt es auch einige interstitielle Lungenerkrankungen, bei denen mehrere zytologische Parameter erhöht sind oder sich die Verhältnisse im Krankheitsverlauf stark verändern. Deshalb sind für diese Krankheitsbilder die BAL Ergebnisse diagnostisch eher ungeeignet. Dies gilt beispielsweise für die idiopathische Lungenfibrose, die nicht spezifische interstitielle Pneumonie und für medikamenteninduzierte interstitielle Lungenerkrankungen.

Nach ausführlicher Literaturrecherche und Analyse der zytologischen Parameter wird die Notwendigkeit eines Einsatzes der BAL bei interstitiellen Lungenerkrankungen deutlich, da dieses diagnostische Verfahren zahlreiche Untersuchungsmöglichkeiten bietet, welche bei unklarer Diagnose weiterführend sein können. Bei der Evaluation interstitieller Lungenerkrankungen sind die Ergebnisse der BAL eher unspezifisch und suggestiv als pathognomisch. Bei Vorliegen einer interstitiellen Lungenerkrankung mit akut auftretender Dyspnoe kann die BAL darüber hinaus hilfreich sein eine alveoläre Hämorrhagie oder eine opportunistische Infektion zu erkennen [91]. Es kann also angenommen werden, dass die BAL als additives Verfahren bei interstitiellen Lungenerkrankungen eine wichtige Rolle in der Diagnostik spielt.

#### **4.3.4 Neoplasien / KMT**

Bei der Analyse des zytologischen Musters manifestierte sich ein Verteilungsmuster, welches sowohl bei den meisten Veröffentlichungen als auch nach Auswertung der eigenen Daten auftrat. Hierbei bildeten die neutrophilen Granulozyten die größte prozentuale Fraktion, gefolgt von Makrophagen und Lymphozyten. Bei Betrachtung des Variationskoeffizienten ergibt sich eine geringere Streuung als bei interstitiellen Erkrankungen und eine höhere Streuung als bei Pneumonien / Infektionen.

Beim Studium der zahlreichen Veröffentlichungen zum Thema Neoplasien / KMT werden die derzeitigen Einsatzgebiete der BAL deutlich. Die Hauptindikationen für die Durchführung einer BAL bei Neoplasien oder nach Knochenmarktransplantationen sind: Ausschluss oder Nachweis von Erregern, Nachweis einer pulmonalen Beteiligung bei anderen malignen Erkrankungen und die Detektion einer Graft-versus-Host-disease (GvHD) [62; 68]. Park und Efrati beschrieben, dass sowohl negative als auch positive Ergebnisse der BAL Auswertung die Therapie von Kindern mit Neoplasien und pulmonalen Erkrankungen beeinflussen und die BAL ein initiales Diagnosewerkzeug bei immunsupprimierten Kindern mit pulmonalen Komplikationen darstellen sollte [63; 67]. Es ist auch sinnvoll speziellere Untersuchungen mit der gewonnenen BAL-Flüssigkeit durchzuführen. Beispielsweise nehmen alle untersuchten Proteine, z.B. Albumin und  $\alpha_1$ -Antitrypsin, bei immunsupprimierten Kindern einen höheren Wert an als bei einer gesunden Kontrollgruppe, wie in der Veröffentlichung von Ratjen beschrieben [69]. Gewisse Malignitäten lassen sich durch pathognomonische Zelltypen diagnostizieren, wie beispielsweise Reed-Sternbergzellen bei einem M. Hodgkin [92].

Somit kann auch für die Diagnosegruppe Neoplasien / KMT angenommen werden, dass ein diagnostischer Einsatz der BAL sinnvoll ist und sowohl eine zytologische Analyse, ein mikrobiologischer Erregernachweis als auch weiterführende spezielle Untersuchungen zur Überwachung immunsupprimierter Patienten, zum Nachweis maligner Prozesse als auch zur Therapieoptimierung und zum Therapiemonitoring geeignet sind.

#### **4.3.5 Restliche Diagnosegruppen**

Im Folgenden wird auf die weiteren Diagnosegruppen eingegangen, für welche in dieser Arbeit keine Literaturrecherche und keine genauere Analyse durchgeführt wurde.

Bei den Diagnosegruppen (Fremdkörper-)Aspiration, Stenosen und Blutungen wird die BAL in aller Regel im Rahmen einer therapeutischen Bronchoskopie zusätzlich durchgeführt und hat somit oft im diagnostischen Kontext und auch in der zytologischen Analyse einen untergeordneten Stellenwert [93].

Atelektasen / Dystelektasen und Bronchiektasen können mit hoher Sensitivität mittels bildgebender Verfahren (in der Regel konventionelle Röntgendiagnostik oder hochaufgelöste Computertomographie) diagnostiziert werden. Der Einsatz der BAL ist dementsprechend als invasiveres und zeitaufwändigeres Verfahren nur bei unklaren Befunden indiziert.

Die Bronchitis ist eine Infektion der oberen Atemwege, sodass eine Flüssigkeitsgewinnung aus den Alveolen, wie dies bei der BAL der Fall ist, geringen diagnostischen Nutzen aufweist. Des Weiteren ist es in den meisten Fällen gut möglich eine Bronchitis klinisch zu diagnostizieren, was invasive diagnostische Maßnahmen überflüssig macht.

Die Diagnosegruppen Tracheo-/Broncho-/Laryngomalazien, angeborene Erkrankungen und Sonstige bilden ein Patientenkollektiv, welches mit sehr unterschiedlichen Krankheitsbildern und folglich sehr divergierenden zytologischen Parametern einhergeht. Außerdem fehlen bei diesen Diagnosegruppen spezifische Untersuchungen, die eine sichere Diagnose ermöglichen würden. Auch handelt es sich hierbei häufig um Krankheiten mit primär morphologischen Veränderungen, welche dem zytologischen Nachweis entgehen. Ein Einsatz der BAL als diagnostisches Werkzeug ist dementsprechend nur selten zielführend.

#### **4.3.6 Schlussfolgerung**

Wie bereits beschrieben ist die zytologische Wertigkeit der BAL innerhalb der Diagnosegruppen differenziert zu beurteilen.

Bei der Diagnosegruppe CF kommt der BAL insbesondere beim Erregernachweis ein wichtiger Stellenwert zu, die zytologische Analyse spielt hier eher eine untergeordnete Rolle. Bei unklaren Befunden erscheint sie dennoch von Bedeutung. Bei Pneumonien und Infektionen kann die Durchführung einer BAL im klinischen Alltag als eine sinnvolle Maßnahme angesehen werden, insbesondere wenn gleichzeitig ein Erregernachweis durchgeführt wird. Die zytologische Analyse kann hierbei Rückschlüsse auf die Art und den Verlauf der Infektion (akut, chronisch, bakteriell, viral oder parasitär) geben. Somit ist den zytologischen Ergebnissen, welche sich aus der Analyse der BAL-Flüssigkeit erheben lassen, eine diagnostische Wertigkeit zuzuordnen, welche jedoch nicht losgelöst von einer Untersuchung des Erregerspektrums und spezielleren Zusatzuntersuchungen betrachtet werden sollte. Bei interstitiellen Lungenerkrankungen sind die zytologischen Ergebnisse oft unspezifisch, jedoch ist mittels dieser Ergebnisse der Ausschluss von Differentialdiagnosen möglich und selten kann auch eine bestimmte interstitielle Lungenerkrankung bestätigt werden. Da Neoplasien / KMT eine sehr heterogene Diagnosegruppe darstellt, deren Pathologien sich unterschiedlich manifestieren und klinisch präsentieren, ist der Wertigkeit der zytologischen Analyse bei dieser Diagnosegruppe eher ein geringerer Stellenwert zuzuordnen. Die Durchführung einer BAL bei Patienten mit einer Neoplasie / KMT kann dennoch sinnvoll sein zur Detektion einer GvHD, eines malignen Prozesses in den Atemwegen sowie zum Erregernachweis oder –ausschluss bei immunsupprimierten Kindern. Die Differentialzytologie hat bei Neoplasien und nach Knochenmarktransplantationen eher eine untergeordnete Bedeutung.

Um auf die zytologische Wertigkeit der BAL einzugehen, sollte zunächst angemerkt werden, dass das Verfahren insbesondere bei Pneumonien / Infektionen und bei interstitiellen Lungenerkrankungen ein sinnvolles diagnostisches Werkzeug darstellen kann. Generell kommt der BAL in der

Diagnostik eher ein additiver Stellenwert zu. Gerade bei speziellen Fragestellungen und zur Abklärung seltener Erkrankungen kann ein Einsatz der BAL indiziert sein. Bei therapeutischer flexibler Bronchoskopie kann ohne wesentlichen Mehraufwand eine BAL mit zytologischer Analyse durchgeführt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung der zytologischen Analyse der BAL-Flüssigkeit evaluiert. Im klinischen Alltag wird eine zytologische Aufarbeitung selten isoliert durchgeführt, in der Regel erfolgen zusätzlich ein Erregernachweis und diverse speziellere Tests.

## **5 Zusammenfassung**

Die BAL ist ein Verfahren zur Diagnose pulmonaler Erkrankungen. Hierbei besteht unter anderem die Möglichkeit zur zytologischen Analyse der gewonnenen Flüssigkeit. Das Ziel dieser Arbeit war die Evaluation der Wertigkeit der Zytologie der BAL im Kindesalter. Es wurden 467 Kinder, bei denen an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen eine BAL im Zeitraum von September 2000 bis Juni 2014 durchgeführt wurde, in die Studie eingeschlossen. Es wurden insgesamt 13 Diagnosegruppen definiert, wobei insbesondere auf folgende Diagnosegruppen ein Schwerpunkt gelegt wurde: CF, Pneumonien / Infektionen, interstitielle Lungenerkrankungen und Neoplasien / KMT. Es wurde eine systematische Literaturrecherche durchgeführt, um zytologische Vergleichsdaten zu den vier oben genannten Diagnosegruppen erheben zu können. Für CF fanden sich 13, für Pneumonien / Infektionen 8, für interstitielle Lungenerkrankungen 7 und für Neoplasien / KMT 8 relevante Veröffentlichungen. Es fanden sich folgende allgemeine Werte (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen für alle Diagnosegruppen für die zytologische Auswertung der BAL der Universitätskinderklinik Tübingen: Neutrophile Granulozyten  $36\pm 16\%$ , Lymphozyten  $27\pm 22\%$ , Makrophagen  $24\pm 17\%$  sowie eosinophile Granulozyten  $3\pm 3\%$ . Beim Vergleich der Mittelwerte der oben genannten Diagnosegruppen mit Normwerten zeigte sich für alle Diagnosegruppen eine Erhöhung der neutrophilen und der eosinophilen Granulozyten sowie für alle Diagnosegruppen außer für CF eine Erhöhung der Lymphozyten. Die Makrophagen waren in allen vier Diagnosegruppen verringert, verglichen mit den Normwerten. Für CF ergaben sich nach Literatúrauswertung folgende zytologische Mittelwerte: Neutrophile Granulozyten 31,8%, Lymphozyten 6,0%, Makrophagen 61,1% und eosinophile Granulozyten 0,6%. Für die Diagnosegruppe Pneumonien / Infektionen ergaben sich folgende Werte: Neutrophile Granulozyten 17,4%, Lymphozyten 10,8%, Makrophagen 66,2% und eosinophile Granulozyten 0,4%. Für interstitielle Lungenerkrankungen ergab die Literatúrauswertung: Neutrophile Granulozyten 11,6%, Lymphozyten 29,9%, Makrophagen 55,0% und eosinophile

Granulozyten 1,4%. Sowie für Neoplasien / KMT: Neutrophile Granulozyten 29,2%, Lymphozyten 16,0%, Makrophagen 47,4% und eosinophile Granulozyten 1,1%. Die erhobenen eigenen Daten waren teilweise im Einklang mit der Literaturlauswertung, teils zeigten sich jedoch auch deutliche Unterschiede. Bei der Diagnosegruppe CF spielte die zytologische Analyse eher eine untergeordnete Rolle, der Erregernachweis stand hier im Vordergrund. Bei unklaren Befunden kann die BAL eine sinnvolle Maßnahme darstellen. Bei Pneumonien und Infektionen erscheint die Durchführung einer BAL im klinischen Alltag sinnvoll, insbesondere wenn gleichzeitig ein Erregernachweis durchgeführt wird. Häufig zeigen sich bei interstitiellen Lungenerkrankungen unspezifische zytologische Ergebnisse. Teilweise ist mit diesen Ergebnissen der Ausschluss diverser Differentialdiagnosen möglich und in seltenen Fällen kann eine bestimmte interstitielle Lungenerkrankung bestätigt werden. Spezialanalysen der BAL-Flüssigkeit stehen bei dieser Diagnosegruppe im Vordergrund. Die Diagnosegruppe Neoplasien / KMT stellt sich durch die vielen zugrunde liegenden Krankheitsentitäten als eine inhomogene Gruppe dar. Der Erregernachweis steht hier im Vordergrund, die zytologische Analyse besitzt bei dieser Diagnosegruppe im klinischen Alltag diagnostisch einen eher geringeren Stellenwert. Allgemein wird die zytologische Analyse der BAL eher als additives diagnostisches Verfahren eingesetzt. Schlussfolgernd lässt sich eine Wertigkeit der Zytologie der BAL feststellen, die von der zugrundeliegenden Diagnose abhängig ist und in ihrer diagnostischen Aussagekraft einen individuellen Stellenwert hat.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Goldstein, R.A., Rohatgi, P.K., Bergofsky, E.H., Block, E.R., Daniele, R.P., Dantzker, D.R., Davis, G.S., Hunninghake, G.W., King, T.E., Jr., Metzger, W.J. (1990). Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *The American review of respiratory disease* 142, 481-486.
2. Myrvik, Q., Leake, E.S., and Fariss, B. (1961). Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbit: a technique to procure them in a high state of purity. *Journal of immunology* 86, 128-132.
3. Reynolds, H.Y., and Newball, H.H. (1974). Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 84, 559-573.
4. Henderson, A.J. (1994). Bronchoalveolar lavage. *Archives of disease in childhood* 70, 167-169.
5. Henderson, R.F. (1984). Use of bronchoalveolar lavage to detect lung damage. *Environmental health perspectives* 56, 115-129.
6. Nicolai, T. (2011). The role of rigid and flexible bronchoscopy in children. *Paediatric respiratory reviews* 12, 190-195.
7. Meyer, K.C., and Raghu, G. (2011). Bronchoalveolar lavage for the evaluation of interstitial lung disease: is it clinically useful? *The European respiratory journal* 38, 761-769.
8. Daniele, R.P., Elias, J.A., Epstein, P.E., and Rossman, M.D. (1985). Bronchoalveolar lavage: role in the pathogenesis, diagnosis, and management of interstitial lung disease. *Annals of internal medicine* 102, 93-108.
9. Meyer, K.C., Raghu, G., Baughman, R.P., Brown, K.K., Costabel, U., du Bois, R.M., Drent, M., Haslam, P.L., Kim, D.S., Nagai, S., Rottoli, P., Saltini, C., Selman, M., Strange, C., Wood, B., and American Thoracic Society Committee on, B.A.L.i.I.L.D. (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, 1004-1014.
10. Costabel, U. (1994). *Atlas der bronchoalveolären Lavage*.
11. Gaensler, E.A., Jederlinic, P.J., and Churg, A. (1991). Idiopathic pulmonary fibrosis in asbestos-exposed workers. *The American review of respiratory disease* 144, 689-696.
12. Von Mutius, E.G., M.; Eber, E.; Frey U. (2014). *Pädiatrische Pneumologie*.
13. Corwin, R.W., and Irwin, R.S. (1985). The lipid-laden alveolar macrophage as a marker of aspiration in parenchymal lung disease. *The American review of respiratory disease* 132, 576-581.
14. Kim, C.K., Koh, Y.Y., and Callaway, Z. (2009). The validity of induced sputum and bronchoalveolar lavage in childhood asthma. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma* 46, 105-112.
15. Beresford, M.W., and Shaw, N.J. (2003). Bronchoalveolar lavage surfactant protein a, B, and d concentrations in preterm infants ventilated for respiratory distress syndrome receiving natural and synthetic surfactants. *Pediatric research* 53, 663-670.

16. Reynolds, H.Y. (1987). Bronchoalveolar lavage. *The American review of respiratory disease* 135, 250-263.
17. Baughman, R.P. (2007). Technical aspects of bronchoalveolar lavage: recommendations for a standard procedure. *Seminars in respiratory and critical care medicine* 28, 475-485.
18. Elston, W.J., Whittaker, A.J., Khan, L.N., Flood-Page, P., Ramsay, C., Jeffery, P.K., and Barnes, N.C. (2004). Safety of research bronchoscopy, biopsy and bronchoalveolar lavage in asthma. *The European respiratory journal* 24, 375-377.
19. Wall, C.P., Gaensler, E.A., Carrington, C.B., and Hayes, J.A. (1981). Comparison of transbronchial and open biopsies in chronic infiltrative lung diseases. *The American review of respiratory disease* 123, 280-285.
20. Costabel, U. (1993). [Recommendations for diagnostic bronchoalveolar lavage. German Society of Pneumology]. *Pneumologie* 47, 607-619.
21. Dhillon, D.P., Haslam, P.L., Townsend, P.J., Primett, Z., Collins, J.V., and Turner-Warwick, M. (1986). Bronchoalveolar lavage in patients with interstitial lung diseases: side effects and factors affecting fluid recovery. *European journal of respiratory diseases* 68, 342-350.
22. Zimmermann, P., and Klein, U. (1997). [Risks and side effects of diagnostic bronchoalveolar lavage in ventilated patients]. *Anesthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie : AINS* 32, 169-174.
23. Rennard, S.I., Ghafouri, M., Thompson, A.B., Linder, J., Vaughan, W., Jones, K., Ertl, R.F., Christensen, K., Prince, A., Stahl, M.G. (1990). Fractional processing of sequential bronchoalveolar lavage to separate bronchial and alveolar samples. *The American review of respiratory disease* 141, 208-217.
24. Thompson, A.B., Robbins, R.A., Ghafouri, M.A., Linder, J., and Rennard, S.I. (1989). Bronchoalveolar lavage fluid processing. Effect of membrane filtration preparation on neutrophil recovery. *Acta cytologica* 33, 544-549.
25. (1990). Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. *The European respiratory journal* 3, 937-976.
26. Saltini, C., Hance, A.J., Ferrans, V.J., Basset, F., Bitterman, P.B., and Crystal, R.G. (1984). Accurate quantification of cells recovered by bronchoalveolar lavage. *The American review of respiratory disease* 130, 650-658.
27. (1990). Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. The BAL Cooperative Group Steering Committee. *The American review of respiratory disease* 141, S169-202.
28. Clement, A., Chadelat, K., Masliah, J., Housset, B., Sardet, A., Grimfeld, A., and Tournier, G. (1987). A controlled study of oxygen metabolite release by alveolar macrophages from children with interstitial lung disease. *The American review of respiratory disease* 136, 1424-1428.
29. Koh, Y.Y., Jung da, E., Koh, J.Y., Kim, J.Y., Yoo, Y., and Kim, C.K. (2007). Bronchoalveolar cellularity and interleukin-8 levels in measles bronchiolitis obliterans. *Chest* 131, 1454-1460.
30. Midulla, F., Villani, A., Merolla, R., Bjermer, L., Sandstrom, T., and Ronchetti, R. (1995). Bronchoalveolar lavage studies in children without

parenchymal lung disease: cellular constituents and protein levels. *Pediatric pulmonology* 20, 112-118.

31. Ratjen, F., Bredendiek, M., Brendel, M., Meltzer, J., and Costabel, U. (1994). Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in normal children. *The European respiratory journal* 7, 1865-1870.

32. Riedler, J., Grigg, J., Stone, C., Tauro, G., and Robertson, C.F. (1995). Bronchoalveolar lavage cellularity in healthy children. *American journal of respiratory and critical care medicine* 152, 163-168.

33. Tessier, V., Chadelat, K., Baculard, A., Housset, B., and Clement, A. (1996). BAL in children: a controlled study of differential cytology and cytokine expression profiles by alveolar cells in pediatric sarcoidosis. *Chest* 109, 1430-1438.

34. Suri, H.S., Yi, E.S., Nowakowski, G.S., and Vassallo, R. (2012). Pulmonary langerhans cell histiocytosis. *Orphanet journal of rare diseases* 7, 16.

35. Schreiber, J., Zissel, G., Greinert, U., Galle, J., Schulz, K.H., Schlaak, M., and Muller-Quernheim, J. (1999). [Diagnosis of chronic berylliosis]. *Pneumologie* 53, 193-198.

36. Semenzato, G., Chilosi, M., Ossi, E., Trentin, L., Pizzolo, G., Cipriani, A., Agostini, C., Zambello, R., Marcer, G., and Gasparotto, G. (1985). Bronchoalveolar lavage and lung histology. Comparative analysis of inflammatory and immunocompetent cells in patients with sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis. *The American review of respiratory disease* 132, 400-404.

37. Sterclova, M., Vasakova, M., Dutka, J., and Kalanin, J. (2006). Extrinsic allergic alveolitis: comparative study of the bronchoalveolar lavage profiles and radiological presentation. *Postgraduate medical journal* 82, 598-601.

38. Welker, L., Jorres, R.A., Costabel, U., and Magnussen, H. (2004). Predictive value of BAL cell differentials in the diagnosis of interstitial lung diseases. *The European respiratory journal* 24, 1000-1006.

39. Ikeda, K., Tate, G., Suzuki, T., Kitamura, T., and Mitsuya, T. (2011). Diagnostic usefulness of EMA, IMP3, and GLUT-1 for the immunocytochemical distinction of malignant cells from reactive mesothelial cells in effusion cytology using cytopsin preparations. *Diagnostic cytopathology* 39, 395-401.

40. Kohn, W. (2004). *Statistik: Datenanalyse und Wahrscheinlichkeitsrechnung* (Springer Verlag).

41. Meyer, K.C. (2007). Bronchoalveolar lavage as a diagnostic tool. *Seminars in respiratory and critical care medicine* 28, 546-560.

42. Regamey, N., Tsartsali, L., Hilliard, T.N., Fuchs, O., Tan, H.L., Zhu, J., Qiu, Y.S., Alton, E.W., Jeffery, P.K., Bush, A., and Davies, J.C. (2012). Distinct patterns of inflammation in the airway lumen and bronchial mucosa of children with cystic fibrosis. *Thorax* 67, 164-170.

43. Brennan, S., Sly, P.D., Gangell, C.L., Sturges, N., Winfield, K., Wikstrom, M., Gard, S., Upham, J.W., and Arest, C.F. (2009). Alveolar macrophages and CC chemokines are increased in children with cystic fibrosis. *The European respiratory journal* 34, 655-661.

44. Hilliard, T.N., Regamey, N., Shute, J.K., Nicholson, A.G., Alton, E.W., Bush, A., and Davies, J.C. (2007). Airway remodelling in children with cystic fibrosis. *Thorax* 62, 1074-1080.
45. Paul, K., Rietschel, E., Ballmann, M., Griese, M., Worlitzsch, D., Shute, J., Chen, C., Schink, T., Doring, G., van Koningsbruggen, S., Wahn, U., Ratjen, F., and Bronchoalveolar Lavage for the Evaluation of Antiinflammatory Treatment Study, G. (2004). Effect of treatment with dornase alpha on airway inflammation in patients with cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 169, 719-725.
46. Armstrong, D.S., Hook, S.M., Jamsen, K.M., Nixon, G.M., Carzino, R., Carlin, J.B., Robertson, C.F., and Grimwood, K. (2005). Lower airway inflammation in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. *Pediatric pulmonology* 40, 500-510.
47. Armstrong, D.S., Grimwood, K., Carlin, J.B., Carzino, R., Gutierrez, J.P., Hull, J., Olinsky, A., Phelan, E.M., Robertson, C.F., and Phelan, P.D. (1997). Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 156, 1197-1204.
48. Marguet, C., Jouen-Boedes, F., Dean, T.P., and Warner, J.O. (1999). Bronchoalveolar cell profiles in children with asthma, infantile wheeze, chronic cough, or cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 159, 1533-1540.
49. Douglas, T.A., Brennan, S., Gard, S., Berry, L., Gangell, C., Stick, S.M., Clements, B.S., and Sly, P.D. (2009). Acquisition and eradication of *P. aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *The European respiratory journal* 33, 305-311.
50. Sagel, S.D., Gibson, R.L., Emerson, J., McNamara, S., Burns, J.L., Wagener, J.S., Ramsey, B.W., Inhaled Tobramycin in Young Children Study, G., and Cystic Fibrosis Foundation Therapeutics Development, N. (2009). Impact of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics* 154, 183-188.
51. Ranganathan, S.C., Parsons, F., Gangell, C., Brennan, S., Stick, S.M., Sly, P.D., and Australian Respiratory Early Surveillance Team for Cystic, F. (2011). Evolution of pulmonary inflammation and nutritional status in infants and young children with cystic fibrosis. *Thorax* 66, 408-413.
52. Reinhardt, N., Chen, C.I., Loppow, D., Schink, T., Kleinau, I., Jorres, R.A., Wahn, U., Magnussen, H., and Paul, K.P. (2003). Cellular profiles of induced sputum in children with stable cystic fibrosis: comparison with BAL. *The European respiratory journal* 22, 497-502.
53. Ratjen, F., Rietschel, E., Griese, M., Ballmann, M., Kleinau, I., Doring, G., Reinhardt, D., and Paul, K. (2000). Fractional analysis of bronchoalveolar lavage fluid cytology in cystic fibrosis patients with normal lung function. Bronchoalveolar lavage for the evaluation of anti-inflammatory treatment (BEAT) study group. *The European respiratory journal* 15, 141-145.
54. Marcos, V., Latzin, P., Hector, A., Sonanini, S., Hoffmann, F., Lacher, M., Koller, B., Bufler, P., Nicolai, T., Hartl, D., and Griese, M. (2010). Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases. *Respiratory research* 11, 32.

55. Takizawa, Y., Taniuchi, N., Ghazizadeh, M., Enomoto, T., Sato, M., Jin, E., Azuma, A., Gemma, A., Kudoh, S., and Kawanami, O. (2009). Bronchoalveolar lavage fluid analysis provides diagnostic information on pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *Journal of Nippon Medical School = Nippon Ika Daigaku zasshi* 76, 84-92.
56. Clement, A., and Force, E.R.S.T. (2004). Task force on chronic interstitial lung disease in immunocompetent children. *The European respiratory journal* 24, 686-697.
57. Guillot, L., Flamein, F., Thouvenin, G., Boule, M., Ducou le Pointe, H., Jonard, L., Clement, A., and Epaud, R. (2011). BAL fluid surfactant protein C level is related to parenchymal lung disease in children with sarcoidosis. *Chest* 140, 1104-1105.
58. Chadelat, K., Boule, M., Corroyer, S., Fauroux, B., Delaisi, B., Tournier, G., and Clement, A. (1998). Expression of insulin-like growth factors and their binding proteins by bronchoalveolar cells from children with and without interstitial lung disease. *The European respiratory journal* 11, 1329-1336.
59. Fan, L.L., Lung, M.C., and Wagener, J.S. (1997). The diagnostic value of bronchoalveolar lavage in immunocompetent children with chronic diffuse pulmonary infiltrates. *Pediatric pulmonology* 23, 8-13.
60. Starosta, V., and Griese, M. (2006). Protein oxidation by chronic pulmonary diseases in children. *Pediatric pulmonology* 41, 67-73.
61. Baculard, A., Blanc, N., Boule, M., Fauroux, B., Chadelat, K., Boccon-Gibod, L., Tournier, G., and Clement, A. (2001). Pulmonary sarcoidosis in children: a follow-up study. *The European respiratory journal* 17, 628-635.
62. Rochat, I., Posfay-Barbe, K.M., Kumar, N., Pache, J.C., Kaiser, L., Ozsahin, H., Barazzone Argiroffo, C., and Bongiovanni, M. (2008). Bronchoalveolar cytology for diagnosing pulmonary GVHD after bone marrow transplant in children. *Pediatric pulmonology* 43, 697-702.
63. Efrati, O., Gonik, U., Biorai, B., Modan-Moses, D., Neumann, Y., Szeinberg, A., Vardi, A., Barak, A., Paret, G., and Toren, A. (2007). Fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage for the evaluation of pulmonary disease in children with primary immunodeficiency and cancer. *Pediatric blood & cancer* 48, 324-329.
64. Winthrop, A.L., Waddell, T., and Superina, R.A. (1990). The diagnosis of pneumonia in the immunocompromised child: use of bronchoalveolar lavage. *Journal of pediatric surgery* 25, 878-880.
65. Riedler, J., Grigg, J., and Robertson, C.F. (1995). Role of bronchoalveolar lavage in children with lung disease. *The European respiratory journal* 8, 1725-1730.
66. Griese, M., Neumann, M., von Bredow, T., Schmidt, R., and Ratjen, F. (2002). Surfactant in children with malignancies, immunosuppression, fever and pulmonary infiltrates. *The European respiratory journal* 20, 1284-1291.
67. Park, J.R., Fogarty, S., and Brogan, T.V. (2002). Clinical utility of bronchoalveolar lavage in pediatric cancer patients. *Medical and pediatric oncology* 39, 175-180.
68. Picard, E., Udassin, R., Ramu, N., Rosenmann, E., Cohen, P., Bar-Ziv, J., Goldberg, S., and Kerem, E. (1999). Pulmonary fibrosarcoma in childhood:

fiber-optic bronchoscopic diagnosis and review of the literature. *Pediatric pulmonology* 27, 347-350.

69. Ratjen, F., Havers, W., and Braun, J. (1999). Intrapulmonary protein leakage in immunocompromised children and adults with pneumonia. *Thorax* 54, 432-436.

70. Griese, M., Steinecker, M., Schumacher, S., Braun, A., Lohse, P., and Heinrich, S. (2008). Children with absent surfactant protein D in bronchoalveolar lavage have more frequently pneumonia. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 19, 639-647.

71. Ratjen, F., Costabel, U., and Havers, W. (1996). Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in immunosuppressed children with pulmonary infiltrates. *Archives of disease in childhood* 74, 507-511.

72. Xu, D., Li, S., Chen, Z., and Du, L. (2011). Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in different respiratory specimens. *European journal of pediatrics* 170, 851-858.

73. Tafel, O., Latzin, P., Paul, K., Winter, T., Woischnik, M., and Griese, M. (2008). Surfactant proteins SP-B and SP-C and their precursors in bronchoalveolar lavages from children with acute and chronic inflammatory airway disease. *BMC pulmonary medicine* 8, 6.

74. Buda, P., Wieteska-Klimczak, A., Wlasienko, A., Mazur, A., Ziolkowski, J., Jaworska, J., Kosciesza, A., Dunin-Wasowicz, D., and Ksiazek, J. (2013). Lipoid pneumonia--a case of refractory pneumonia in a child treated with ketogenic diet. *Pneumonologia i alergologia polska* 81, 448-452.

75. Wang, M., Wang, Y., Yan, Y., Zhu, C., Huang, L., Shao, X., Xu, J., Zhu, H., Sun, X., Ji, W., and Chen, Z. (2014). Clinical and laboratory profiles of refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 29, 18-23.

76. Kahn, F.W., and Jones, J.M. (1988). Analysis of bronchoalveolar lavage specimens from immunocompromised patients with a protocol applicable in the microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology* 26, 1150-1155.

77. Forslow, U., Remberger, M., Nordlander, A., and Mattsson, J. (2010). The clinical importance of bronchoalveolar lavage in allogeneic SCT patients with pneumonia. *Bone marrow transplantation* 45, 945-950.

78. Allen, J.N., Davis, W.B., and Pacht, E.R. (1990). Diagnostic significance of increased bronchoalveolar lavage fluid eosinophils. *The American review of respiratory disease* 142, 642-647.

79. De Baets, F., De Schutter, I., Aarts, C., Haerynck, F., Van Daele, S., De Wachter, E., Malfroot, A., and Schelstraete, P. (2012). Malacia, inflammation and bronchoalveolar lavage culture in children with persistent respiratory symptoms. *The European respiratory journal* 39, 392-395.

80. Hsu, L.Y., Ding, Y., Phua, J., Koh, L.P., Chan, D.S., Khoo, K.L., and Tambyah, P.A. (2010). Galactomannan testing of bronchoalveolar lavage fluid is useful for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematology patients. *BMC infectious diseases* 10, 44.

81. Qazi, S., and Were, W. (2015). Improving diagnosis of childhood pneumonia. *The Lancet Infectious diseases* 15, 372-373.

82. Sachdev, A., Chugh, K., Sethi, M., Gupta, D., Wattal, C., and Menon, G. (2011). Clinical Pulmonary Infection Score to diagnose ventilator-associated pneumonia in children. *Indian pediatrics* 48, 949-954.
83. 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., and Smith, O.P. (2013). Utility of bronchoalveolar lavage in the diagnosis of pulmonary infection in children with haematological malignancies. *Irish journal of medical science* 182, 177-183.
84. Bradley, B., Branley, H.M., Egan, J.J., Greaves, M.S., Hansell, D.M., Harrison, N.K., Hirani, N., Hubbard, R., Lake, F., Millar, A.B., Wallace, W.A., Wells, A.U., Whyte, M.K., Wilsher, M.L., British Thoracic Society Interstitial Lung Disease Guideline Group, B.T.S.S.o.C.C., Thoracic Society of, A., New Zealand Thoracic, S., and Irish Thoracic, S. (2008). Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society. *Thorax* 63 Suppl 5, v1-58.
85. Capelozzi, V.L., Faludi, E.P., Balthazar, A.B., Fernezlian Sde, M., Filho, J.V., and Parra, E.R. (2013). Bronchoalveolar lavage improves diagnostic accuracy in patients with diffuse lung disease. *Diagnostic cytopathology* 41, 1-8.
86. Ohshimo, S., Bonella, F., Cui, A., Beume, M., Kohno, N., Guzman, J., and Costabel, U. (2009). Significance of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 179, 1043-1047.
87. Drent, M., Mansour, K., and Linssen, C. (2007). Bronchoalveolar lavage in sarcoidosis. *Seminars in respiratory and critical care medicine* 28, 486-495.
88. Poulter, L.W., Rossi, G.A., Bjermer, L., Costabel, U., Israel-Biet, D., Klech, H., Pohl, W., and Velluti, G. (1990). The value of bronchoalveolar lavage in the diagnosis and prognosis of sarcoidosis. *The European respiratory journal* 3, 943-944.
89. Lynch, D.A., Rose, C.S., Way, D., and King, T.E., Jr. (1992). Hypersensitivity pneumonitis: sensitivity of high-resolution CT in a population-based study. *AJR American journal of roentgenology* 159, 469-472.
90. Semenzato, G., Bjermer, L., Costabel, U., Haslam, P.L., and Olivieri, D. (1990). Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): extrinsic allergic alveolitis. *The European respiratory journal* 3, 945-946, 961-949.
91. Kilinc, G., and Kolsuk, E.A. (2005). The role of bronchoalveolar lavage in diffuse parenchymal lung diseases. *Current opinion in pulmonary medicine* 11, 417-421.
92. Wisecarver, J., Ness, M.J., Rennard, S.I., Thompson, A.B., Armitage, J.O., and Linder, J. (1989). Bronchoalveolar lavage in the assessment of pulmonary Hodgkin's disease. *Acta cytologica* 33, 527-532.
93. Gupta, A.A., Sehgal, I.S., Dhooria, S., Singh, N., Aggarwal, A.N., Gupta, D., Behera, D., and Agarwal, R. (2015). Indications for performing flexible bronchoscopy: Trends over 34 years at a tertiary care hospital. *Lung India : official organ of Indian Chest Society* 32, 211-215.

## **7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin in der Abteilung für Pädiatrische Infektiologie, Immunologie und Cystische Fibrose unter Betreuung von Prof. Dr. D. Hartl durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. D. Hartl und Dr. W. Baden.

Die Auswertung der erhobenen Daten, inclusive der statistischen Auswertung, sowie die Literaturrecherche erfolgten eigenständig durch mich mit Unterstützung durch Prof. Dr. D. Hartl.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Prof. Dr. D. Hartl verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 9. Januar 2016

Johanna Leinert