

Ultrastruktur und Pathogenese der BCG-Histiocytose (sog. BCG-Granulomatose)

E. Kaiserling, K. Lennert, K. Nitsch und J. Drescher

Pathologisches Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. K. Lennert),
Universitäts-Kinderklinik Kiel (Direktor: Prof. Dr. H.-R. Wiedemann) und
Kinderkrankenhaus DRK Ceciliengärtchen Hannover (Chefarzt: Prof. Dr. K. Nitsch)

Eingegangen am 29. Januar 1972

Ultrastructure and Pathogenesis of the BCG-Histiocytosis (BCG-Granulomatosis)

Summary. After BCG-vaccination of a newborn girl, some enlarged regional lymph-nodes were noticed at the age of ten months. Light-microscopically the lymph nodes showed the typical histological pictures of "BCG-granulomatosis". The acid-fast bacilli, cultured from fresh lymph node tissue were shown by bacteriological tests to be indistinguishable from BCG. During the investigation period intradermal tuberculin reactions remained negative. Serum immunoglobulins showed deficiency of IgA level.

In vitro responses of leukocytes to tuberculin were depressed, whereas PHA-stimulation revealed normal values. During the investigation period of two years no generalized tuberculosis was observed.

The normal architecture of the enlarged lymph-nodes was obscured by a diffuse overgrowth of macrophages, which had ingested myriads of acid-fast bacilli. Epithelioid-cells were present only in a small number; there were no Langhans giant cells and no tubercles had developed. The phagocytic ability of the macrophages appeared to be fairly well-preserved. Accordingly, these cells showed a high activity of acid-phosphatase and non-specific esterase. Nevertheless, it was observed electron-microscopically that bacterial breakdown was very slight. It also seems likely that there was a marked reduction in bacteriocidal activity. The ultrastructural appearance of the macrophages did not indicate they were abnormal.

Impairment of cell-mediated immunity, as evidenced by the negative tuberculin reaction and the depressed stimulation of cultured leukocytes, may have caused the pathologic alteration of "BCG-granulomatosis" in this case, whereas IgA deficiency is probably without pathogenetic significance. To that extent these pathogenetic factors are similar to those that occur in Leprosy lepromatosa.

We suggest that instead of the misleading expression "BCG-granulomatosis" the term "BCG-histiocytosis" be used.

Zusammenfassung. Bei einem 10 Monate alten Mädchen trat nach einer im Neugeborenenalter durchgeführten BCG-Impfung eine Vergrößerung der regionären Leistenlymphknoten auf. Hier konnte biotisch eine „BCG-Granulomatose“ diagnostiziert werden. Bakteriologisch wurde aus dem Lymphknoten BCG gezüchtet. Die Tuberkulinreaktion war negativ. Im Serum waren die IgA-Globuline ständig deutlich vermindert. Blutlymphocyten des Kindes ließen sich durch PHA regelrecht stimulieren, dagegen war die Blastentransformation durch Tuberkulin vermindert. In einer insgesamt zweijährigen Beobachtungszeit gedieh das Kind gut, es zeigte keine tuberkulöse Generalisation.

Histologisch bestand das typische Bild einer diffusen, retikuloseartigen Makrophagenvermehrung mit weitgehender Zerstörung der Lymphknotenstruktur. In den Makrophagen lagen Myriaden säurefester Stäbchen. Epithelioidzellen wurden in kleiner Zahl, Langhanssche Riesenzellen nicht gebildet. Zu einer Formation von Tuberkeln kam es nicht. Elektronenmikroskopisch konnten nur geringe Abbauerscheinungen an den Mykobakterien beobachtet werden,

wobei die Makrophagen regelhaft entwickelt schienen. Enzymcytochemisch ließen sich sehr reichlich saure Phosphatase und unspezifische Esterase in den Makrophagen nachweisen. Ein primärer Defekt der Makrophagen dürfte also nicht vorliegen. Dagegen halten wir die nachgewiesene Störung der zellgebundenen Immunität (cell mediated immunity) für die Ursache der abartigen Reaktion, wogegen der IgA-Mangel wahrscheinlich keine pathogenetische Bedeutung hat. Insofern liegen bei der „BCG-Granulomatose“ ganz ähnliche pathogenetische Mechanismen vor wie bei der Lepra lepromatosa.

Wir schlagen vor, anstelle des mißverständlichen Begriffes „BCG-Granulomatose“ die Bezeichnung „BCG-Histiocytose“ anzuwenden.

Einleitung

Die Tuberkuloseschutzimpfung mit BCG-Lebendvaccinen führt nur in seltenen Fällen zu klinisch schwerwiegenden Komplikationen. Neben lokalen unspezifischen Begleitreaktionen an der Applikationsstelle des Impfstoffes kommt es gelegentlich zum Bild eines regional begrenzten Lupus vulgaris (Sato et al., 1962) und etwas häufiger zu einer spezifischen, teils suppurativen Lymphadenitis (Guld et al., 1955; Ustvedt, 1956; Horwitz und Meyer, 1957; Spiess, 1963). Vereinzelt wurden Osteomyelitiden nach BCG-Impfung beschrieben (Imerslund und Jonsen, 1955; Bang et al., 1960; Haraldsson, 1960; Virtanen und Lindgren, 1962; Felländer, 1963; Siniö et al., 1965; Wallerström und Enell, 1966; Foucard und Hjelmstedt, 1971), die aber unter klinischer Behandlung beherrscht werden können. An letalen Verlaufsformen sind bis heute 14 Fälle infolge einer generalisierten BCG-Infektion nach Vaccination bekannt geworden (Übersicht bei Carlgren et al., 1966; Watanabe et al., 1969). Die Pathogenese ist bis heute nicht geklärt, wenngleich es einige auffällige klinische und morphologische Gemeinsamkeiten gibt, die an ein einheitliches pathogenetisches Prinzip denken lassen. Die histologischen Veränderungen des Lymphknotens und verschiedener anderer Organe (besonders des RES) sind gekennzeichnet durch eine hochgradige Vermehrung von Makrophagen, die in ihrem Cytoplasma große Mengen säurefester Stäbchen enthalten. Durch die Makrophagenvermehrung wird ein reticuloseartiges Bild hervorgerufen, dagegen werden Tuberkel nicht oder nur ungenügend gebildet. Auch fehlen gelegentlich Langhanssche Riesenzellen vollständig (Hollström und Hård, 1953; Falkmer et al., 1955; Watanabe et al., 1969). Dieses morphologische Bild ermöglicht in Verbindung mit dem bakteriologisch-kulturellen Nachweis säurefester Stäbchen (BCG) die Diagnose einer sog. BCG-Granulomatose. Dieser Begriff erscheint uns unglücklich, da die Erkrankung ja gerade durch das Fehlen von Granulomen besonders definiert ist. Wir schlagen daher vor, die Bezeichnung BCG-Granulomatose durch BCG-Histiocytose (BCG-H) zu ersetzen. Diese Bezeichnung beinhaltet weiterhin eine klare Abgrenzung gegenüber dem BCG-Granulom: Dieses besteht aus typischem tuberkulösem Granulationsgewebe, das sich nach der BCG-Impfung in verschiedenen Organen, u.a. in den regionären Lymphknoten, nachweisen lässt (Gormsen, 1956; Vortel, 1962; Stojanov und Zagurov, 1963).

Die BCG-H kommt im wesentlichen bei Kleinkindern vor, ein Patient war 7, der älteste Patient war 19 Jahre alt. Von den klinischen Befunden ist hervorzuheben, daß in allen Fällen die Tuberkulinreaktion negativ oder nur schwach positiv ausfiel. Am Anfang der Erkrankung steht fast regelmäßig eine Lymphadenitis. Wesentlich für die Pathogenese der fatalen Fälle kann nach den Befunden von Carlgren et al. (1965, 1966) eine Agamma-Globulinämie mit Lymphocytopenie sein, die in 2 Fällen bewiesen und in 2 weiteren Fällen wahrscheinlich ist. Watanabe et al. (1969) sehen in dem verminderten Abbau der Bakterien bei regelrechter Phagocytoseaktivität den möglichen pathogenetischen Faktor. Von anderen Autoren wird eine allgemein verminderte Resistenz gegenüber verschiedenen Infektionen als für das Krankheitsbild entscheidend angesehen.

In einem jüngst beobachteten Falle versuchten wir, Einblicke in die Pathogenese der BCG-Histiocytose zu gewinnen, indem wir zu der histologischen

Analyse folgende Untersuchungen anstellten: Wiederholte Bestimmung der Immunglobuline im Blut des Kindes. — Prüfung der Lymphocytenfunktion mit Phythämagglutinen (PHA) und Tuberkulin. — Enzymhistochemische Untersuchung der Makrophagen. — Elektronenmikroskopische Untersuchung der Makrophagen, besonders im Hinblick auf den Abbau der Bakterien.

Klinischer Teil

Kasuistik

Bei dem am 18. 12. 69 geborenen Mädchen verlief die im Neugeborenenalter durchgeführte BCG-Impfung zunächst komplikationslos. Im Alter von 10 Monaten wurde erstmals eine beträchtliche Lymphknotenschwellung in der linken Leiste beobachtet. Die Injektionsstellen nach BCG-Impfung waren unauffällig, aber doch deutlich sichtbar. Aufgrund der Verdachtsdiagnose einer BCG-Lymphadenitis wurde eine tuberkulostatische Therapie mit Neoteben vom behandelnden Kinderarzt eingeleitet. Wegen Zunahme der Lymphknotenschwellung wurde das Kind in das Kinderkrankenhaus Ceciliengärtchen Hannover überwiesen. Das 1 Jahr alte Kind bot folgenden Befund: Es war annähernd altersgemäß entwickelt, und eine besondere Neigung zu Infektionen war nicht zu ermitteln. In der linken Leiste ließen sich mehrere bis walnußgroße Knoten abgrenzen. Über zwei Lymphknoten war die Haut stark, im übrigen Bereich nur leicht gerötet. Eine generalisierte Lymphknotenschwellung lag nicht vor, doch waren auch in der rechten Leiste Lymphome tastbar. Die Blutsenkung war nicht beschleunigt, das Blutbild zeigte keine Besonderheiten, insbesondere lag keine Lymphocytopenie vor. Die Tuberkulinreaktion war wiederholt mit 1:10 negativ. Wegen des unklaren Lokalbefundes wurden die Lymphknoten der linken Leiste durch zwei operative Eingriffe entfernt. Aus dem 2. exstirpierten Lymphknoten wurde kulturell BCG gezüchtet.

Im Zeitraum der 2 ersten Lebensjahre fanden sich keine Zeichen für ein generalisiertes infektiöses Geschehen. Das Kind entwickelte sich gut und erschien klinisch mit Ausnahme der Lymphknotenschwellung gesund. Es wurde tuberkulostatisch (Rifambicin, Myambutol und Gluronazid) sowie mit Gammaglobulin und isoliertem Gamma-A behandelt. Der klinische Verlauf dieses Falles und das therapeutische Vorgehen sind von einem von uns (K. N.) andernorts ausführlich dargelegt.

Elektrophorese

Die wiederholte quantitative Immunglobulinbestimmung deckte eine isolierte IgA-Schwäche bei normalen IgG- und IgM-Werten auf. Im einzelnen wurden die Befunde von Tabelle 1 erhoben. Die Immunglobulinwerte der Eltern und eines 7jährigen Bruders lagen im Normbereich.

Tabelle 1. Immunelektrophorese-Untersuchungen

Datum	IgG (mg/100 ml)	IgA (mg/100 ml)	IgM (mg/100 ml)
10. 12. 70	868	24	126
19. 5. 71	651	29	149
16. 7. 71	608	29	124
12. 11. 71	664	27	141

Leukocytenkulturen

Material und Methode. Steril entnommenes, heparinisiertes Venenblut wurde nach Zusatz von Kulturmedium (McCoys-5a-Medium, Grand Island Biological Co.) zunächst auf 4°C abgekühlt. Nach dreistündigem Transport Vermischen mit Dextranlösung und Sedimentation der Erythrocyten in 25 min. Ein durch Zentrifugation (10 min bei 150 g) des Überstandes

gewonnenes Leukocytensediment wurde in frischem Kulturmedium aufgeschwemmt und in kleine Kulturröhrchen (vgl. Drescher und Müller, 1970) gebracht (je 2,5 ml Flüssigkeit, Zellzahl 1500/mm³). Zwei Kulturen unter Zusatz von Phythaemagglutinin M (0,02 ml/ml, Difeo-Laboratories, Detroit) wurden 72 Std., zwei Kulturen in Tuberkulin (2 µg/ml, Tuberkulin „GT Hoechst“) und zwei Kulturen ohne Zusatz 90 Std bebrütet (37°C). 50 min vor der Verarbeitung erhielten die Kulturröhrchen ³H-Thymidin (2 µCi/ml, spez. Aktivität 1,9 Ci/mM, Schwarz Bio Research, Orangeburg, N.Y.). Zuletzt Unterschichtung des Inhalts mit 3 ml Serum (Biostest Serumkonserv) und Zentrifugation bei 110 g. Herstellung von Sedimentausstrichen nach der „Spaltmethode“ (Drescher und Rüssler), die z.T. nach Pappenheim (modifiziert) gefärbt, z.T. autoradiographisch nach der Strippingfilm-Methode (Kodak AR 10, Exposition 7 Tage) verarbeitet und anschließend nach GIEMSA gefärbt wurden. Auf ersten wurden pro Kultur 500 Zellen differenziert, auf letzteren die markierten Zellen unter 1000 Zellen gezählt. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden in größeren Kulturgefäßen (je 10 ml Zellsuspension, vgl. Drescher und Müller, 1970) gleichartige Kulturen durchgeführt, aus denen buffy coats gewonnen wurden.

Befunde. Die Lymphocytenkulturen des peripheren Blutes lassen bei PHA-Zusatz nach einer Inkubation von 72 Std eine deutliche Transformation in große und sehr große basophile Zellen (Blasten) erkennen (Tabelle 2). Insgesamt sind 40% der Lymphocyten aufgrund ihres basophilen Cytoplasmas und ihrer Zellgröße (Durchmesser 13 µ und mehr) als stimuliert anzusehen.

Tabelle 2. Differentialzählung der Lymphocyten nach 72- bzw. 90stündiger Inkubation mit Phythaemagglutinin, mit Tuberkulin und in reinem Kulturmedium. Die Prozentzahlen beziehen sich auf jeweils 500 differenzierte Lymphocyten. Der mittlere Durchmesser ist bei der hier angewandten Ausstrichtechnik um 1,5—2 µ kleiner als bei der gewöhnlichen Ausstrichtechnik

Differenzierte Zelltypen	Zell-durchmesser (µ)	Kulturbedingungen		
		reines Kultur- medium 90 Std	mit PHA 72 Std	mit Tuber- kulon 90 Std
Kleine Lymphocyten und kleine Reaktionsformen	11	77,4	26,6	69,2
Mittelgroße Reaktionsformen	11—13	17,6	30,6	20,4
Große schwach basophile Zellen	13—15	1,2	2,4	0,4
Große basophile Zellen	13—15	2,6	22,4	7,2
Sehr große basophile Zellen („Blasten“)	15	1,2	18,0	2,8

Deutlich geringer ist die Stimulierbarkeit der Zellen unter der Wirkung von Tuberkulin. Nach 90stündiger Bebrütung finden sich nur 10% stimulierte Lymphocyten. Die von mitogenen Stoffen freien Zellkulturen lassen eine geringe unspezifische Stimulierung mit 3,8% der Lymphocyten erkennen. Die DNS-Synthese (³H-Thymidin-Einbau) ist nach Stimulierung mit Tuberkulin deutlich geringer als unter Wirkung von PHA. Unter 1000 ausgezählten Zellen finden sich im PHA-Versuch im Durchschnitt 173, in den Tuberkulin-Kulturen 12 markierte

Zellen. In den Versuchen ohne Zusatz eines Mitogens sehen wir dagegen unter 1000 Zellen nur eine einzige Zellmarkierung.

Morphologischer Teil

Material und Methode

Wir untersuchten mehrere Lymphknoten, die der Patientin im Alter von 12 und 13 Monaten aus der linken Leiste in der Chirurgischen Klinik Henriettenstiftung Hannover (Prof. Dr. Bordasch) extirpiert worden waren. Von dem in 10%igem Formalin fixierten Gewebe wurden Paraffinschnitte angefertigt, die mit Hämatoxylin-Eosin, Perjodsäure-Schiff (PAS) sowie nach Bielschowsky, Giemsa und Ziehl-Neelsen gefärbt wurden. Bei der zweiten Lymphknotenextirpation wurde an Tupfpräparaten die unspezifische Esterase (alpha-Naphthyl-acetat-Esterase und Naphthol-AS-acetat-Esterase), die Peroxidase sowie die saure Phosphatase nachgewiesen (Methode s. Leder, 1967).

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde Gewebe unmittelbar nach der Operation in kleine Blöcke von etwa 1 mm Kantenlänge geschnitten. Die Blöckchen wurden teils in 1%igem Osmium-Tetroxyd (Rhodin-Puffer pH 7,2) 2 Std bei 4°C fixiert, teils nach Karnovsky (1965) aufgearbeitet und mit Osmium-Tetroxyd nachfixiert. Die mit Araldit eingebetteten Blöckchen (Glauert und Glauert, 1958; modifiziert nach Seifert, 1962) wurden zunächst mit einer Schnittdicke von ca. 0,5 µ angeschnitten und mit einer Azur-II-Methylenblau-Lösung gefärbt. Ein Teil der Schnitte wurde nach Movat versilbert und mit Azur-Methylenblau-Lösung gegengefärbt (Abb. 3). Feinschnitte für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden mit Diamant- und Glasmessern angefertigt und mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen verwendeten wir ein Siemens-Elmiskop I.

Makro- und mikroskopische Befunde

Die exstirpierten Lymphknoten sind bis auf Haselnußgröße vergrößert, von mäßig derber Konsistenz und zeigen eine gleichförmig grauweiße Schnittfläche. Lichtmikroskopisch ist die Lymphknotenkapsel verbreitert und im GIEMSA-Präparat metachromatisch gefärbt. Die Struktur des Lymphknotens selbst ist zerstört. Der stärkste Umbau findet sich im Lymphknotenmark, während die Lymphknotenrinde zumindest an einzelnen Stellen erhalten ist und an einem weniger befallenen Lymphknoten vereinzelte aktive Keimzentren mit typischem Lymphocytenwall sowie einen mäßigen Lymphcytengehalt in der Rinden- und Paracorticalzone aufweist. In einzelnen Lymphknotenbezirken sind die Rand- und Intermediärsinus noch erhalten. Sie sind mittelweit und enthalten reichlich Makrophagen, Monozyten, Lymphocyten sowie vereinzelt auch neutrophile Granulozyten und Gewebsmastzellen. Überwiegend ist das lymphatische Gewebe im Rindenbereich jedoch durch Fibroblasten und wechselnd breite, unregelmäßig sich durchflechtende, kollagene Fasern und kleine Makrophagengruppen gekennzeichnet. Im Lymphknotenmark findet sich ein lymphocytarmes, einförmiges Gewebsbild (Abb. 1 und 2), das von Makrophagen beherrscht ist, die einen hellen ovalen, teils gebuchteten Kern mit einem prominenten Nucleolus sowie ein schaumiges, breites, unscharf begrenztes Cytoplasma zeigen. Auch die Lymphknotenkapsel und die Rindenzone sind mit diesen hier meist spindelförmig ausgezogenen Zellen durchsetzt. Bei der Ziehl-Neelsen-Färbung enthalten die Makrophagen aller Regionen massenhaft säurefeste Stäbchen. Auch die Versilberung der Semidünnnschnitte nach Movat lässt zahlreiche schwarz gefärbte Partikel in den Makrophagen erkennen, die den säurefesten Stäbchen oder ihren Abbau-

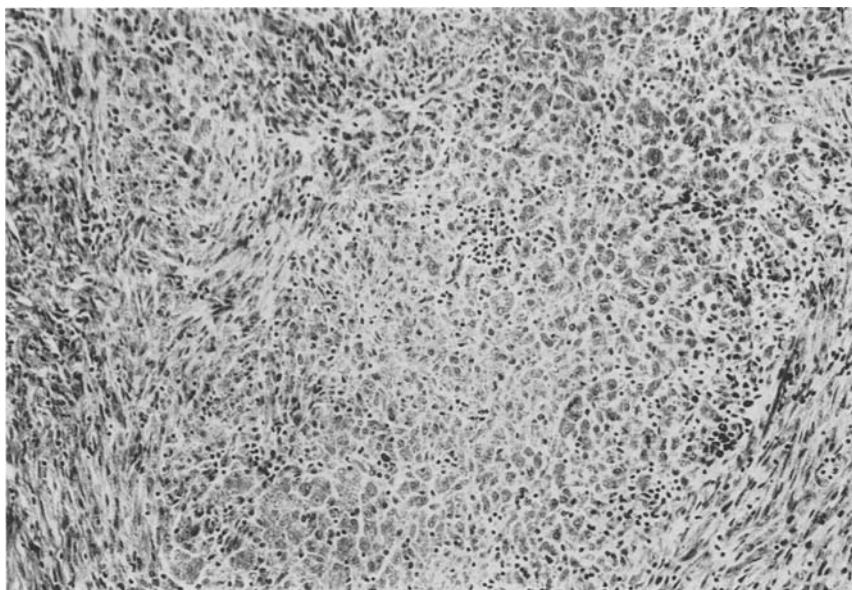


Abb. 1. Ausgedehnte Infiltration des Lymphknotens mit Makrophagen. Spärliche Lymphozyten. Breite Züge von Fibroblasten am rechten und linken Bildrand. Giemsa, $140 \times$

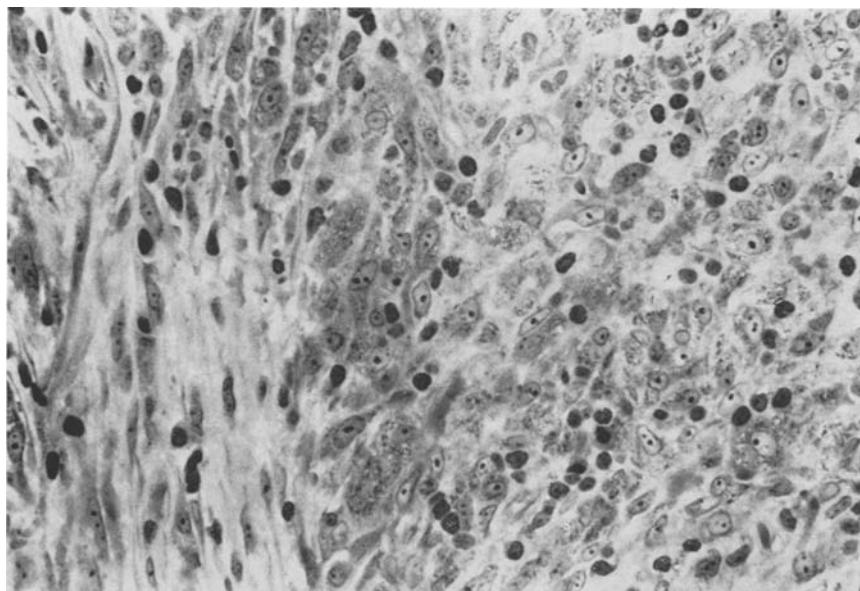


Abb. 2. Makrophagen mit granuliertem und vakuolisiertem Cytoplasma. Dazwischen einzelne Lymphocyten. Links kollagene Fasern und einzelne Fibroblasten. Semidünnenschmitt, Azur II-Methylenblau, $650 \times$

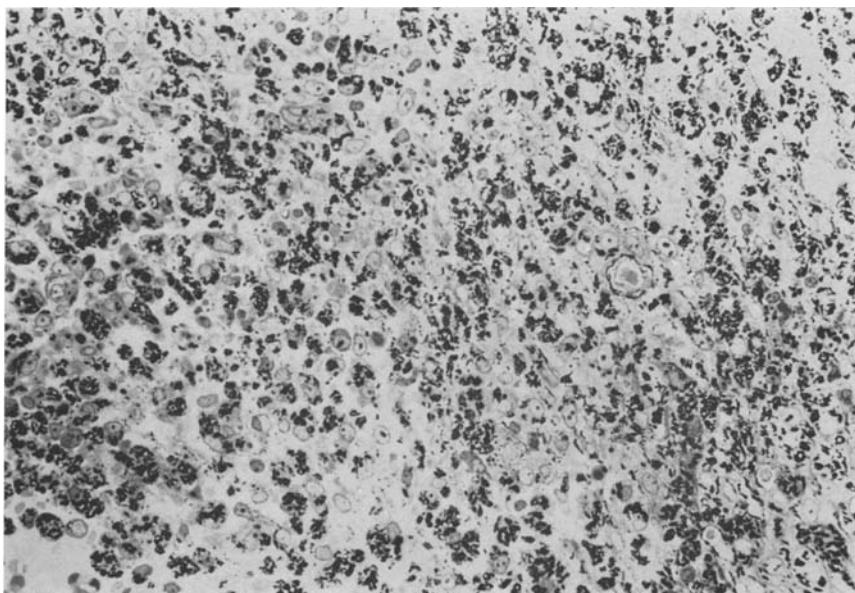


Abb. 3. Zahlreiche Makrophagen mit Mykobakterien, die sich bei der Versilberung als schwarze Stäbchen darstellen. Semidünnabschnitt, Azur II-Methylenblau und Versilberung nach Movat, 350 ×

produkten entsprechen (Abb. 3). Riesenzellen kommen vereinzelt vor. Sie zeigen ein schaumiges Cytoplasma mit einzelnen säurefesten Stäbchen und sind als mehrkernige Makrophagen anzusprechen. In dem zweiten exstirpierten Lymphknoten fand sich rindennah ein Fremdkörpergranulom mit stark doppeltbrechenden Talkumkristallen und kernreichen Riesenzellen mit einem breiten, in den Plasmaaußenzonen stark basophilen Cytoplasmasaum. Die Riesenzellen zeigen die typische Struktur von Langhansschen Riesenzellen (Lennert, 1961) und unterscheiden sich grundsätzlich von den mehrkernigen Makrophagen dieses Lymphknotens. In keinem der untersuchten Lymphknoten finden sich Epitheloidzell-tuberkel. Auch fehlen käsige Nekrosen, und nur vereinzelt sieht man Einzelzelluntergänge.

Histochemische Befunde

Bei der unspezifischen Esterase-Reaktion (α -Naphthylacetat-Esterase-Technik) und der sauren Phosphatase-Reaktion (Abb. 4) sieht man das gleiche Bild: Die Reaktionen sind sehr stark ausgeprägt und bringen etwa 2—3 μ große rundlich bis ovale Gebilde zum Vorschein. Diese füllen das Cytoplasma ziemlich gleichmäßig aus. Sie scheinen umhüllt von einer stark enzym-positiven Schale, während sich das Innere schwach enzym-positiv und das umgebende Cytoplasma stark enzym-positiv darstellen. Bei der ebenfalls stark positiven N-AS-Esterase-Reaktion kommt diese strukturelle Gliederung der enzym-positiven Strukturen nicht zum Vorschein. Die PAS-Reaktion ist in den Makrophagen diffus positiv, das Reaktionsprodukt ist fein- bis mittelgrobkörnig.

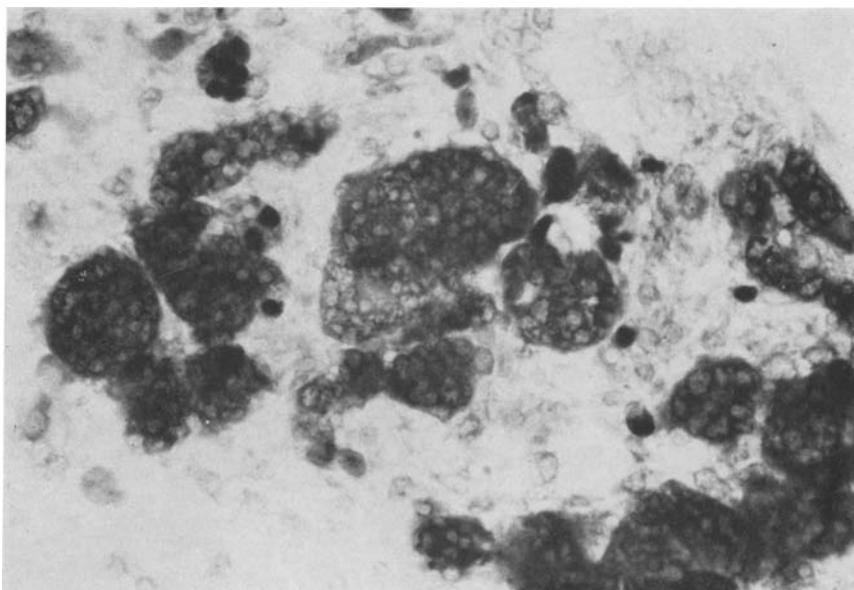


Abb. 4. Stark phosphatasepositive, ringförmige Reaktionszonen im Cytoplasma von Makrophagen. Säure Phosphatase-Reaktion, Tupfpräparat, 560 ×

Elektronenmikroskopische Befunde

Bei der Beschreibung der ultrastrukturellen Befunde werden wir im wesentlichen die verschiedenen Zellen charakterisieren und ihre morphologischen Besonderheiten im Vergleich zur Cytologie der typischen tuberkulösen Lymphadenitis herausstellen.

Lymphocyten. Im Bereich der makrophagenreichen Lymphknotenpulpa finden sich Lymphocyten nur vereinzelt, während sie in der Lymphknotenrinde und in der Paracorticalzone in größerer Zahl vorkommen. Die Lymphocyten besitzen einen schmalen Cytoplasmasaum, in dem einige freie Ribosomen und vereinzelt Ergastoplasmalamellen anzutreffen sind. In den Keimzentren kommen typische Germinocyten und Germinoblasten mit einem breiten ribosomen- und polysomenreichen Cytoplasma vor.

Plasmazellen. Vereinzelte Plasmazellen finden sich in allen Regionen des Lymphknotens. Plasmoblasten sieht man hingegen selten. Die Plasmazellen haben ein typisch ausgeprägtes lamelläres rauhes endoplasmatisches Reticulum mit einer dichten Innensubstanz der Ergastoplasmaschlüche. Manchmal ist das ER auch konzentrisch geschichtet.

Monocyten. Monocyten kommen recht zahlreich, insbesondere in den Intermediärsinus vor. Sie zeigen die typische Ultrastruktur von Blutmonocyten mit gebuchtetem Kern und kleinen, elektronenoptisch dichten, im Cytoplasma verteilten Granula. Das tubuläre vesiculäre Golgi-Gebd liegt im Bereich der Kernbucht. Meist zeigen die Zellen nur ein spärlich entwickeltes, überwiegend vesiculäres, teils glattes, teils rauhes endoplasmatisches Reticulum, das mitunter in Form kurzer Ergastoplasmalamellen stark hervortritt. Ein Übergang zu den phagocytoseaktiven Histiocyten lässt sich eindeutig darstellen.

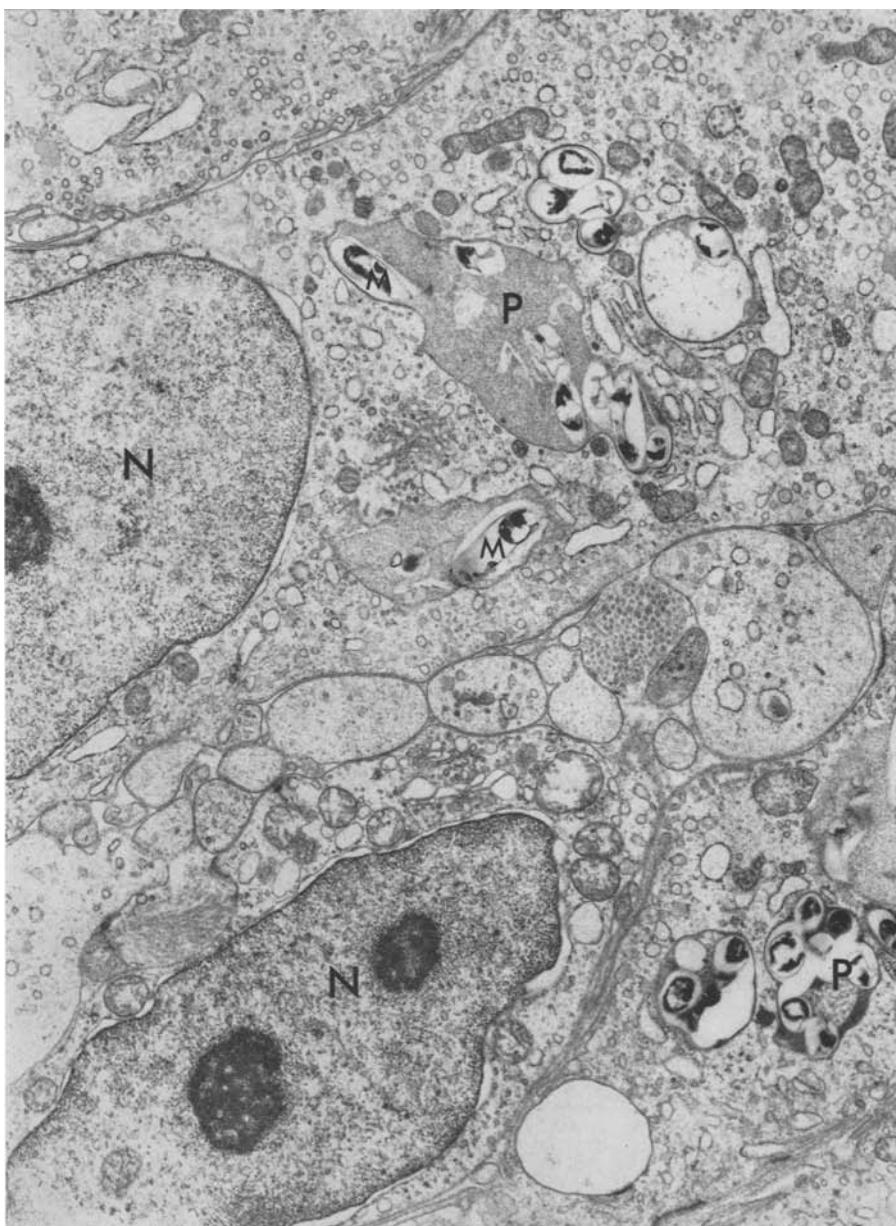


Abb. 5. Anchnitt mehrerer Makrophagen. Große Phagosomenkomplexe (P) mit zahlreichen Tuberkeletbakterien (M) und unterschiedlich transparentem Phagosomeninhalt. N Zellkern.
 $4000 \times 2,3$

Makrophagen. Nach Zahl und Morphologie beherrschen Makrophagen das Gewebsbild. Sie sind insbesondere hinsichtlich ihrer Phagocytoseaktivität gegenüber Mykobakterien und der Ultrastruktur der Phagosomen verschieden.

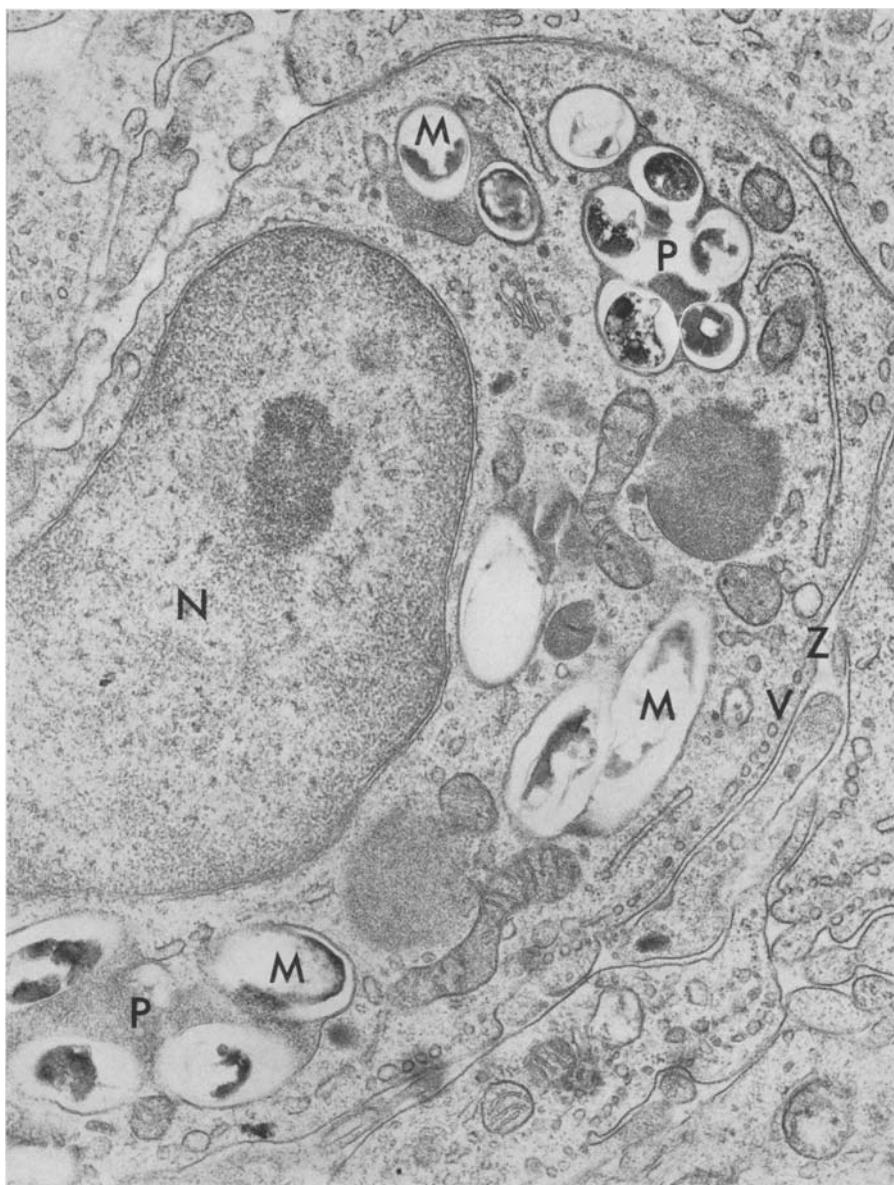


Abb. 6. Makrophag mit zahlreichen Tuberkelbakterien (*M*). Zwei doldenförmige Phagosomenkomplexe (*P*) mit Querschnitten von Bakterien. Zwischen der Phagosomenmembran und dem nur schemenhaft erkennbaren Bakterienkörper ist ein schmaler feingranulärer Saum erkennbar. Perlschnurartig angeordnete Vesikel (*V*) entlang der Cytomembran (*Z*). *N* Zellkern.
 $9200 \times 2,3$

Makrophagen ohne erkennbare Mykobakterien finden sich vereinzelt in allen Lymphknotenregionen, gelegentlich auch in den Sinus und auch beim Durchtritt durch die Sinuswand. Im Cytoplasma dieser Zellen sieht man häufig Phago-

somen mit eingeschlossenen Zellen oder deren Fragmenten. Die Makrophagen besitzen oft kleine plumpe Cytoplasmäfüßchen und kleine perlchnurartig aufgereihte Vesikel entlang der Cytomembran.

Die vorherrschenden Makrophagenformen enthalten zahlreiche Mykobakterien (Abb. 5 und 6). Im Cytoplasma der Makrophagen findet sich neben Polysomen und einzelnen rauhen Ergastoplasmaschlängen ein überwiegend glattes vesikuläres ER. Die Golgi-Zone besteht meist nur aus wenigen Lamellen und Vesikeln. Die Mitochondrien lassen eine elektronendichte Matrix erkennen. Die äußere Zellmembran zeigt nur vereinzelt plumpe Cytoplasmäausläufer. Nahe der Cytoplasmamembran sieht man gelegentlich perlchnurartig angeordnete Vesikel. Der große gebuchtete Kern enthält einen großen zentralen Nucleolus, das Chromatin ist marginal verdichtet. Einzelne Makrophagen enthalten 2—3 im Zentrum der Zelle gruppierte Zellkerne. Die Phagosomen lassen trotz einiger Abweichungen einen übereinstimmenden Grundaufbau erkennen. Sie sind meist rund oder oval und werden gegenüber dem Cytoplasma durch eine unit membrane allseitig umgrenzt. Sie enthalten meist mehrere Bakterien. Zwischen Phagosomen-Membran und Bakterien liegt eine feingranuläre, unterschiedlich dichte Zwischensubstanz, die meist dunkel erscheint und gelegentlich wolkig aufgehellt ist (Abb. 5). Zuweilen ist sie auch transparent und von gleicher Dichte wie das Grundplasma der Zelle. Die Bakterien sind von einem elektronenoptisch hellen Hof umgeben, gegen den diese Zwischensubstanz mit einer granulär verdichteten Grenzlamelle abschließt. Diese Grenzschicht ist in vielen Fällen nicht oder nur teilweise nachweisbar. Sie zeigt keinen typischen Membranaufbau.

Die stark osmiophilen Bakterien entsprechen in ihrer Morphologie und ihren Abmessungen den Mykobakterien. Sie sind meist quer, selten schräg oder längs angeschnitten. Außen sind die Bakterien von einer osmiophilen Doppelschicht umgeben, wobei die äußere Membran oft zipfelförmig ausgezogen ist (Abb. 7). Das Cytoplasma der Bakterien zeigt eine unregelmäßige, grobschollige oder granuläre Verdichtung; gelegentlich sieht man auch eine feinfilamentäre Struktur, die dann dem Kernäquivalent entspricht. In einem Phagosom sind meist mehrere Tuberkelbakterien zu größeren Komplexen zusammengefaßt.

Es lassen sich verschiedene Phagosomenformen unterscheiden, die als Varianten des beschriebenen Grundaufbaus aufzufassen sind. Zunächst finden sich Phagosomen, bei denen die Zwischensubstanz überwiegt und die nur 2—3 Bakterienanschnitte in einer marginalen Phagosomenzone erkennen lassen (Abb. 7). Kleine Kanälchen durchziehen gelegentlich die Randbezirke der sonst gleichförmig granulierte Zwischensubstanz, die meist dicht, gelegentlich auch optisch hell erscheint. Sodann sind Phagosomen mit gruppenförmig angeordneten, meist 5—10 Tuberkelbakterien zu sehen (Abb. 5 und 6), die von einem nur schmalen Saum der elektronenoptisch gleichförmig granulären Zwischensubstanz umgeben sind. Diese Formen kommen am häufigsten vor, wobei sich häufig die Bakterienkomplexe bis zu 5mal im Cytoplasma einer Zelle gleichzeitig angeschnitten finden. Weiterhin sieht man Phagosomen mit einzelnen oder gruppenförmig angeordneten Bakterien, bei denen sich eine transparent flockige Zwischensubstanz findet. Die dichten Strukturen fehlen hier oder bilden nur einen schmalen Saum. Ganz vereinzelt erkennt man Phagosomen, in denen sich Tuberkelbakterien nur

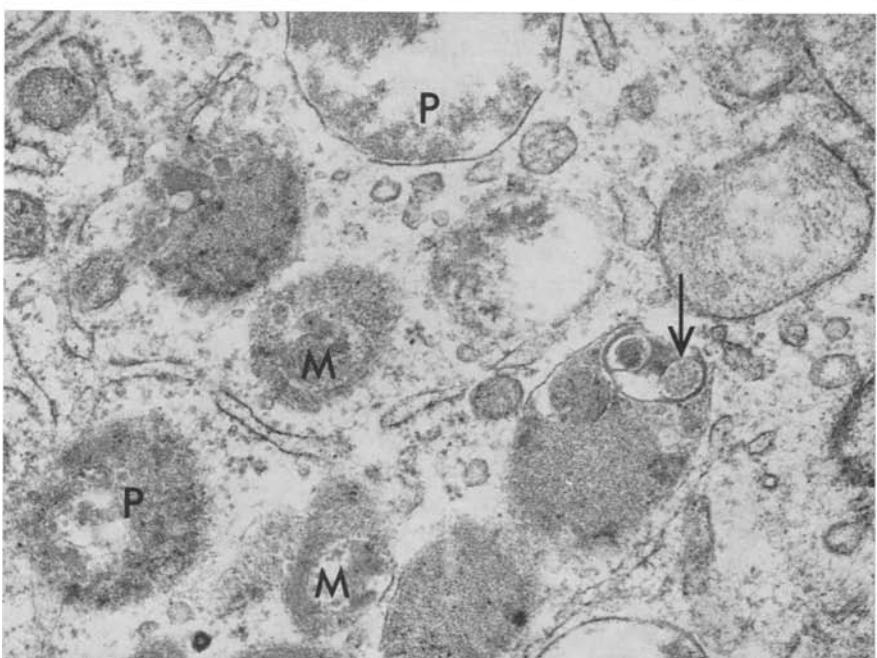
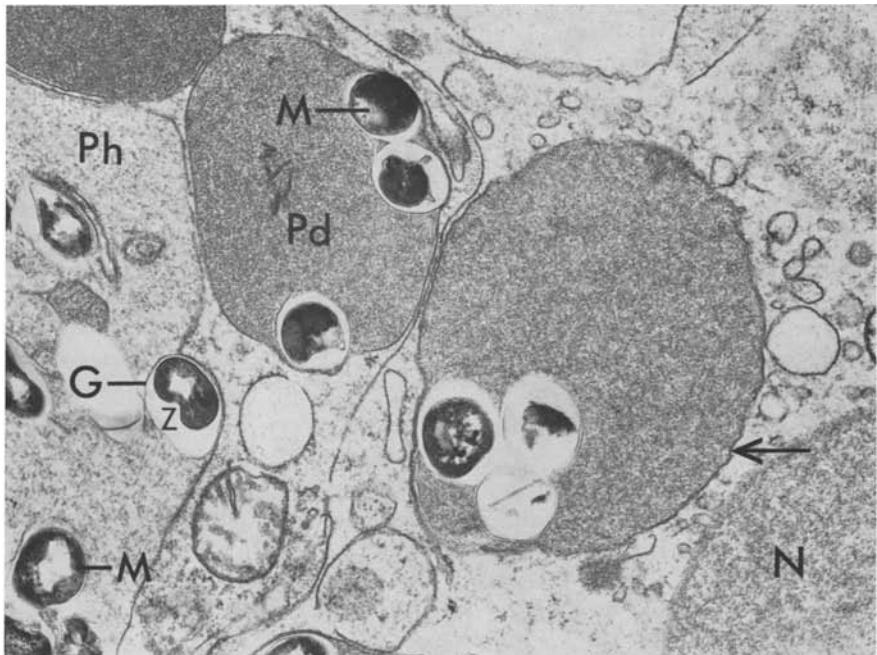


Abb. 7. Verschiedene Phagosomenformen im Cytoplasma eines Makrophagen mit Querschnitten von Mykobakterien (*M*). Phagosomen mit einer elektronenoptisch dichten (*Pd*) und einer hellen, transparenten Zwischensubstanz (*Ph*). Pfeil = Phagosomenmembran. Elektronenoptisch leerer Zwischenraum (*Z*) zwischen Bakterium und der Grenzschicht (*G*). *N* Zellkern. $1800 \times 1,8$

Abb. 8. Digestivformen von Tuberkelbakterien (*M*) mit teils noch erhaltenen Bakterienhüllen (Pfeil). Aufgelockerte Phagosomenstruktur (*P*). $1800 \times 2,3$

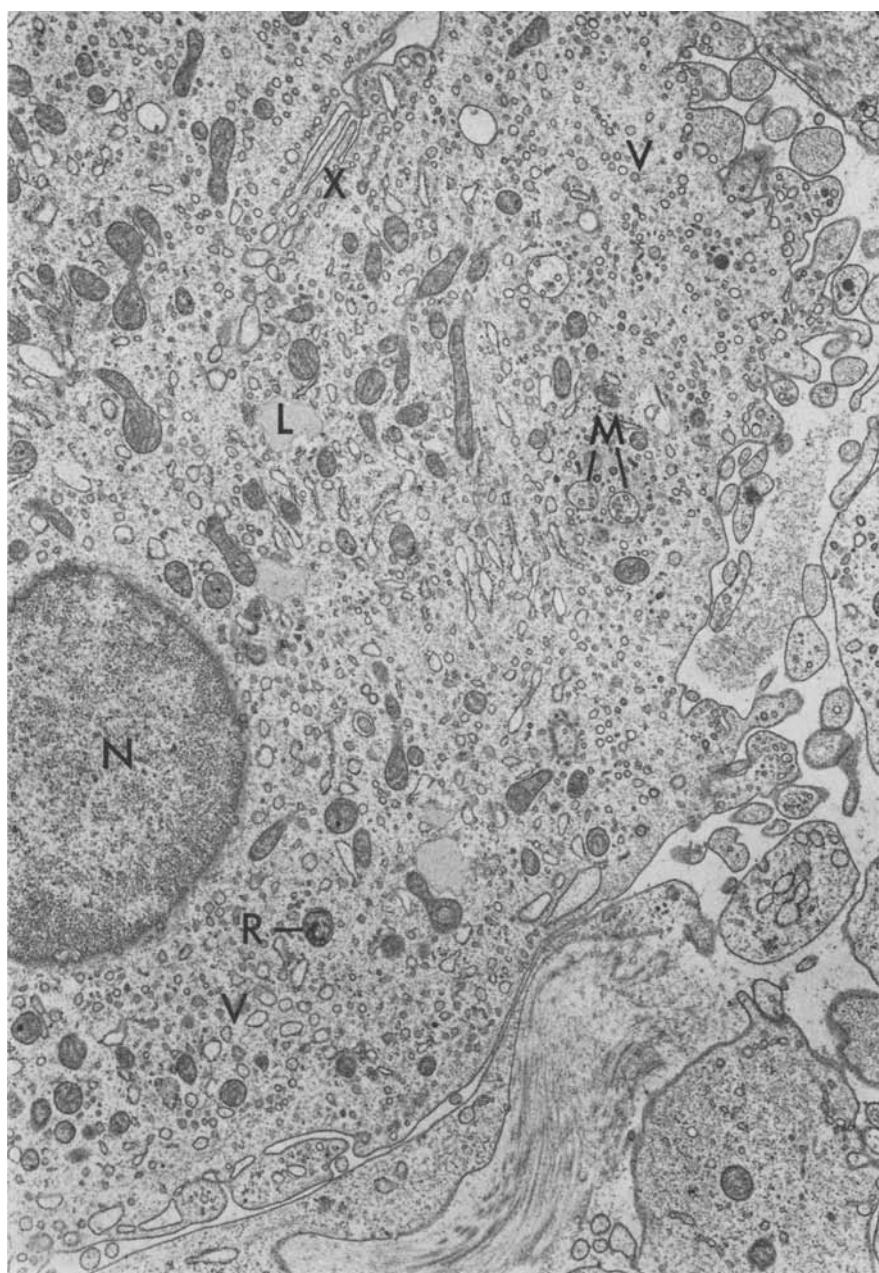


Abb. 9. Epitheloidzelle mit plumpen Cytoplasmaausläufern und axial gestellten Cytoplasmainvaginationen (X). Im Cytoplasma zahlreiche Vesikel (V) und einzelne kurze Ergastoplasmalschläuche. Zarte Filamente im Grundplasma. Einzelne Restkörper (R), Lipidtropfen (L) und Multivesikularkörper (M). N Zellkern. $3500 \times 2,5$

schemenhaft abgrenzen lassen (Abb. 8). Die Außenschicht des Bakteriums ist teils abgehoben, teils bruchstückhaft sichtbar oder fehlt ganz. Die wolkige Zwischensubstanz lässt eine durchgehende Abgrenzung gegenüber den Bakterien nicht mehr sicher erkennen. Alle beschriebenen Phagosomenformen konnten in einer Zelle gleichzeitig nachgewiesen werden, wobei die Phagosomen sich ungleichmäßig im Cytoplasma verteilt finden. Primäre Lysosomen sieht man im Cytoplasma der Makrophagen nur ganz vereinzelt. Insbesondere sind Membranverschmelzungen von primären Lysosomen mit Phagosomen nicht mit Sicherheit nachweisbar.

Epitheloidzellen. Epitheloidzellen kommen nur vereinzelt vor. Meist liegen sie einzeln zwischen den Makrophagen, selten sind sie gruppenförmig angeordnet, niemals bilden sie Tuberkele. Die plumpen Cytoplasmatausläufer enden meist ohne Kontakt mit benachbarten Zellen frei im interzellulären Raum. Eine für Epitheloidzellen typische enge Verzahnung der Zellfortsätze ist nur gelegentlich sichtbar. Cytoplasma-Invaginationen verlaufen teils parallel zur Zelloberfläche, selten sind sie axial gerichtet (Abb. 9), wobei sie im Anschnitt als perl schnurartig angeordnete Vesikel erscheinen. Der ovale exzentrisch gelagerte Kern ist durch ein helles, feingranuläres Plasma gekennzeichnet. Im Cytoplasma überwiegt das glatte vesiculäre ER, wobei neben Ribosomen und Polyribosomen auch einzelne Ergastoplasmabläue vorkommen. Die Endoplasmavakuolen liegen im Cytoplasma unregelmäßig verstreut. Die nur gelegentlich angeschnittene Golgi-Zone ist selten multizentrisch angelegt und von lamellärer und vesiculärer Struktur. Besonders charakteristisch für die Epitheloidzellen sind die durch eine einfache Membran abgegrenzten elektronenoptisch hellen und dichten Cytoplasmaorganellen. Letztere kommen hier in auffällig geringer Zahl vor. Mitochondrien sind zahlreich und lassen eine dichte Matrix erkennen. Wechselnd große Multivesikulärkörper und einzelne Lipiddropfen sind fast regelmäßig nachzuweisen. Vereinzelt finden sich Körper mit einem teils lamellären, teils unterschiedlich dichten granulären Inhalt (sog. Restkörper), in keinem Fall waren jedoch Mykobakterien oder deren Abbauformen aufzufinden.

Fibroblasten. Fibroblasten kommen in allen Bereichen des Lymphknotens vor. Besonders zahlreich sind sie in den makrophagenarmen Lymphknotenabschnitten. Sie haben hier weit auslaufende Cytoplasmafortsätze und sind von wechselnd breiten Kollagenfaserbüscheln umgeben. Tropokollagenfibrillen und feine Kollagenfasern durchflechten sich zu einem lockeren Gefüge. Zwischen den Fasern sieht man gelegentlich ein feinfädiges granuläres Material. Die Fibroblasten zeigen ein kräftig entwickeltes, cisternenartiges Ergastoplasma. Intracytoplasmatisch finden sich wiederholt Lipiddropfen sowie einzelne elektronenoptisch dichte Granula. Ferner sind im Cytoplasma reichlich Tonofilamente vorhanden, die sich in Nähe der Cytomembran büschelförmig verdichten.

Elektronenmikroskopische Befunde der Leukocytenkurzzeit-Kulturen

Elektronenmikroskopisch zeigen die stimulierten Lymphocyten in der Phytohaemagglutinin-Kultur einen locker strukturierten Kern und ein breites ribosomenreiches Cytoplasma mit großer Golgi-Zone, einzelnen Multivesicularkörpern und zahlreichen oft geschwollenen Mitochondrien. An stimulierten Zellen der Tuberkulinkulturen sind diese Veränderungen weniger stark ausgeprägt.

Diskussion

Die BCG-Vaccination führt regelmäßig zu spezifischen Veränderungen in der Haut und in einem hohen Prozentsatz zur Ausbildung von Tuberkeln in den regionären Lymphknoten (Vortel, 1962). Spezifische Granulome sind auch in entfernt liegenden Lymphknoten und relativ häufig in der Lunge sowie in Leber und Milz nachgewiesen worden (Gormsen, 1956; Vortel, 1962; Stojanov und Zagurov, 1963). Die Ausbildung von Epitheloidzellgranulomen ist daher als ein für die BCG-Vaccination typischer und regelhafter Vorgang anzusehen.

Bei der BCG-H ist dies anders. Nach den übereinstimmenden Befunden der Literatur unterbleibt hier eine Tuberkelbildung oder aber sie ist deutlich unwertig (Hollström und Hård, 1953; Meyer und Jensen, 1954; Thrap-Meyer, 1954; Waaler und Oeding, 1954; Falkmer et al., 1955; Gardborg et al., 1963; Watanabe et al., 1969). Auch im vorliegenden Fall kommen Tuberkel nicht vor. Im Gegensatz zu den Angaben der Literatur vermissen wir eine stärkere Entwicklung von Epitheloidzellen. Diese wurden in dem von Watanabe et al. beobachteten Fall in hoher Zahl, allerdings mit atypischer Morphologie, beschrieben. Die wenigen zwischen den Makrophagen eingestreuten Epitheloidzellen unseres Falles zeigten licht- und elektronenmikroskopisch die früher beschriebenen Kennzeichen (Lennert, 1961; Mori und Lennert, 1969). Allerdings fiel im elektronenmikroskopischen Bild auf, daß die enge Verzahnung der Zellfortsätze meist fehlt und daß nur relativ wenige elektronendichte lysosomenähnliche Körper im Cytoplasma vorkommen. Somit sind die Epitheloidzellen gegenüber der Tuberkulose und Sarkoidose nicht nur vermindert, sondern auch ultrastrukturell etwas verschieden.

In unserem Fall herrschen breitleibige Makrophagen gegenüber den Epitheloidzellen vor. Sie sind mit massenhaft säurefesten Stäbchen gefüllt. Der hohe Gehalt intracellulärer Mykobakterien ist das dritte wichtige morphologische Kennzeichen der BCG-H und unterscheidet dieses Krankheitsbild eindeutig vom BCG-Granulom, bei dem sich immer nur wenige Tuberkelbakterien nachweisen lassen.

Endlich fehlt — auch im Gegensatz zur tuberkulösen Lymphadenitis — bei der BCG-H jegliche Verkäsungstendenz. Langhanssche Riesenzellen kommen in unserem Fall nicht vor und wurden auch von Hollström und Hård (1953), Falkmer et al. (1955) und Watanabe et al. (1969) nicht beobachtet. Dagegen fanden wir einige mehrkernige Makrophagen.

Die entscheidenden Veränderungen der BCG-H sind also folgender Art:

1. Epitheloidzellen werden nur spärlich gebildet, Langhanssche Riesenzellen fehlen meist.
2. Epitheloidzelltuberkel entstehen in der Regel nicht, statt dessen sieht man eine diffuse Makrophagenvermehrung, die an einen malignen Prozeß („Retikulose“) erinnert.
3. In den Makrophagen kommen Myriaden säurefester Stäbchen vor. Diese haben sich offensichtlich in den Makrophagen vermehrt.

Fragen wir nach der Pathogenese dieser Veränderungen, so müssen wir grundsätzlich folgende Möglichkeiten bedenken: Die Störung könnte auf eine primäre

Insuffizienz der Makrophagen zurückzuführen sein, wie Watanabe et al. annehmen; sie könnte aber auch auf einer Störung der Immunleistung des Organismus und schließlich auf einem Defekt beider Mechanismen beruhen. Eine gesteigerte Virulenz der injizierten BCG-Erreger dagegen erscheint ausgeschlossen, da bei Kindern, die mit der gleichen Impfstoffcharge vacciniert worden waren, keine weiteren Erkrankungen auftraten.

Zur Beurteilung der Funktion der Makrophagen stehen uns zwei Parameter zur Verfügung: das elektronenmikroskopische Bild und der Enzymgehalt der Makrophagen.

Submikroskopisch zeigen die Makrophagen keine Charakteristica, die sie von „normalen“ Makrophagen unterscheiden. Das Cytoplasma der Makrophagen enthält zahlreiche Phagosomen, in denen sich einzelne oder gruppenförmig zusammenliegende Tuberkelbakterien nachweisen lassen. Sie gleichen grundsätzlich den Phagosomen, wie man sie bei der Phagocytose humaner Tuberkelbakterien (Gusek, 1964; Dumont und Sheldon, 1965; Armstrong und d'Arcy Hart, 1971) und anderer Erreger findet (Chapman et al., 1959; North und MacKaness, 1963; Leake et al., 1971); d.h., in dem membranbegrenzten Phagosom liegt eine dichte granuläre oder — seltener — eine aufgelockerte fädig erscheinende Substanz, die die Bakterien allseitig umgibt. Zwischen Bakterien und der granulären oder fädigen Substanz ist noch eine schmale helle Zone interponiert. Diese elektronen-transparente Zone wurde sowohl bei der Tuberkulose (Merckx et al., 1964; Dumont und Sheldon, 1965; Brown et al., 1969) als auch bei Infektionen mit Myokbakterium lepraeumurium nachgewiesen (Allen et al., 1965). Ihre Bedeutung ist noch nicht geklärt, möglicherweise ist sie als Schutzwand der Bakterien anzusprechen (Draper und Rees, 1970; s. auch Brown et al., 1969).

Die große Zahl und vor allem die herdförmige Ansammlung von Mykobakterien in den Makrophagen sprechen dafür, daß sich die Erreger intrazellulär vermehrt haben. Eine solche intrazelluläre Vermehrung wurde für virulente Tuberkelbakterien von Suter (1952), Armstrong und d'Arcy Hart (1971) und Hsu (1971) nachgewiesen. Sie ist in unserem Fall nicht auf einen besonders hohen Virulenzgrad der Bakterien zurückzuführen, sondern wohl Folge einer ungenügenden Bakteriozidie der Makrophagen.

Wenn wir die von Armstrong und d'Arcy Hart (1971) aufgestellten Kriterien anwenden, so schätzen wir den Prozentsatz vitaler Bakterien auf etwa 20—30 %. Diese zeigen eine intakte Bakterienmembran und gut strukturierte Kernäquivalente. Eine partielle Verklumpung der Bakterienzytoplasmata braucht — aufgrund eigener Untersuchungen an BCG-Reinkulturen — nicht als Ausdruck eines Bakterienuntergangs angesehen zu werden, sondern ist wohl fixationsbedingt. Intakte Bakterien liegen bevorzugt in Phagosomen mit reichlich granulärer Substanz, dagegen sind schollig zerfallene Bakterien überwiegend von einer locker strukturierten fädigen Substanz umgeben. Ob der schollige Zerfall der Bakterien auf die Wirkung zelleigener Mechanismen oder auf die vorangehende tuberkulostatische Therapie zurückzuführen ist, vermögen wir nicht zu entscheiden. Nur ganz vereinzelt sahen wir einen weitgehenden Abbau der Bakterien zu verwaschenen Gebilden (Abb. 8), wie sie auch Gusek (1964) bei einem BCG-Granulom beschrieb.

Der eigentliche Abbau der Mykobakterien scheint also nach den elektronenmikroskopischen Untersuchungen ausgesprochen gering zu sein. Wie verhält es sich aber mit dem Gehalt an Enzymen, die für den Abbau phagozytierter Substanzen wesentlich mitverantwortlich sind, nämlich an Hydrolasen vom Typ der sauren Phosphatase und unspezifischen Esterase. Damit kommen wir zu dem zweiten Parameter, der uns die Makrophagenfunktion erhellen soll.

In den Makrophagen unserer Tupfpräparate ist der Gehalt an Hydrolasen stark erhöht, wie dies von aktivierten Makrophagen, etwa des Hautfensters (Leder und Crespin, 1964; Leder, 1967) oder der Lymphknoten (Lennert et al., 1963) bekannt ist. Dabei fällt auf, daß die Phagosomen bei der sauren Phosphatase- und unspezifischen Esterase-Reaktion von einer stark positiven Hülle begrenzt erscheinen, während das Innere der Phagosomen schwächer positiv ist. Eine Interpretation dieser unterschiedlichen „Enzymaktivität“ in den Phagosomen möchten wir unterlassen, da hier Artefakte nicht ausschließbar sind. Dagegen sprechen die insgesamt sehr hohen Enzymaktivitäten der Makrophagen für eine Aktivierung und keinesfalls für eine Insuffizienz hinsichtlich der Abbaufähigkeit phagozytierter Substanzen.

Daß die Makrophagen grundsätzlich funktionstüchtig, d.h. zur Bildung von Epitheloidzellgranulomen mit Langhansschen Riesenzellen befähigt sind, ergibt sich aus dem Befund, den wir in dem 2. Lymphknoten erheben konnten: dieser zeigte im Gefolge der vorangegangenen Operation typische Talkumgranulome, also ein Granulationsgewebe von durchaus tuberkuloidem Charakter, das jedoch durch unbelebte Substanzen ausgelöst wird.

Nachdem die zellulären Voraussetzungen für den Abbau der Mykobakterien gegeben zu sein scheinen, bleibt die Frage, warum der Abbau tatsächlich in solch geringem Maße erfolgt, ja warum zusätzlich eine Bakterienvermehrung in den Makrophagen zu verzeichnen ist. Die Bakterienvermehrung ist wohl in erster Linie darauf zurückzuführen, daß die Makrophagen unfähig oder nur beschränkt fähig sind, die Mykobakterien zu töten. Diese Bakteriocidie ist aber Voraussetzung für den Abbau der aufgenommenen Bakterien; lebende Bakterien sind unangreifbar für die lysosomalen Enzyme. So erhebt sich also die Frage, ob in dem Fehlen einer Initialzündung, der Bakteriozidie, nicht der Schlüssel zum Verständnis der BCG-H mit all seinen morphologischen Erscheinungen (Fehlen von Tuberkeln, wenige Epitheloidzellen) gegeben ist.

Für die Abtötung der Mykobakterien dürfte die Immunleistung des Organismus nicht ohne Bedeutung sein, wobei das humorale und das zellgebundene Immunsystem getrennt betrachtet werden müssen.

Was die humorale Immunleistung unseres Falles betrifft, so war während der gesamten Beobachtungszeit ein erheblicher IgA-Mangel im Serum festzustellen (Tabelle 1). Ein Abfall eines primär normalen IgA-Spiegels infolge des infektiösen Geschehens kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Befunde von Haworth und Dilling (1966) machen jedoch deutlich, daß der Serum-IgA-Spiegel bei verschiedenen Infektionskrankheiten nicht signifikant absinkt. Es ist daher anzunehmen, daß der IgA-Gehalt im Serum im vorliegenden Fall primär erniedrigt war. Eine geringgradige Verminderung oder das vollständige Fehlen von IgA führen zu sehr unterschiedlichen klinischen Bildern (West et al., 1962; South et al., 1968; Ammann und Hong, 1971; South, 1971). In einigen Fällen erschienen

die untersuchten Personen trotz des vollständigen Fehlens von IgA klinisch gesund (Rockey et al., 1964; Hanson, 1968). Über Komplikationen der BCG-Vaccination bei IgA-Mangel oder IgA-Verminderung finden sich in der Literatur keine Hinweise. Ob dem niedrigen IgA-Wert in unserem Fall eine pathogenetische Bedeutung zukommt, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden. Da jedoch nach herrschender Ansicht (Mackaness, 1970) humorale Immunmechanismen, also Antikörper, bei der Entstehung der „cellular immunity“ keine Rolle spielen, scheint der IgA-Mangel eher als pathogenetisch irrelevante Komponente denn als pathogenetisch wichtiger Faktor infrage zu kommen.

Dagegen scheint das *zellgebundene Immunsystem* in unserem Falle empfindlich gestört zu sein. Wir konnten neben einer negativen Tuberkulinreaktion auch eine verminderte Stimulierbarkeit der Lymphocyten durch Tuberkulin in der Gewebekultur feststellen (Tabelle 2). Die unspezifische Stimulation durch PHA war jedoch völlig regelrecht. Daraus geht hervor, daß hier eine spezifische, gegen die Mykobakterien gerichtete Hypergie vorliegt, welche die an Lymphocyten gebundene „cell mediated immunity“ betrifft. Den gleichen Mechanismus müssen wir für die Fälle von BCG-H annehmen, die bei Agamma-Globulinämie vom lymphocytopenischen Typ beschrieben wurden (Carlgren et al., 1965, 1966). Auch hierbei dürfte nicht der Mangel an Antikörpern, sondern das Fehlen immunkompetenter Lymphocyten die BCG-H bedingt haben.

Suchen wir nach Analogien der BCG-H in der menschlichen Pathologie, so ist vor allem die Lepra zu nennen. Die Lepra lepromatosa entspricht morphologisch und pathogenetisch weitgehend der BCG-H, während die tuberkuloide Lepra der typischen menschlichen Tuberkulose an die Seite zu stellen ist. Bei der lepromatösen Form findet man licht- und elektronenmikroskopisch ähnlich aussehende Makrophagen („Virchow-Zellen“), die Pakete von Leprabakterien enthalten (Haensch und Schmalbruch, 1971). Zugrunde liegt eine totale oder partielle „Paralyse“ der cellulären thymusabhängigen Immunität (Reid, 1970; Turk und Oort, 1970; Waters et al., 1970; Turk, 1971), während die Fähigkeit zur Antikörperbildung erhalten ist. Saúl (1970) spricht daher von einer immunologischen Dichotomie. Entsprechend unseren Befunden bei der BCG-H ist auch die Stimulierbarkeit der Lymphocyten in vitro bei lepromatöser Lepra gehemmt (Bullock und Fasal, 1971).

Inwieweit das histologische Bild der BCG-H spezifisch für eine Infektion durch BCG selbst ist, vermögen wir heute noch nicht zu entscheiden. Das gleiche Bild wird offenbar durch humane oder nicht abgeschwächte Tuberkelbakterien nicht hervorgerufen. In jedem Falle von „BCG-H“ sollte die Anamnese erhoben und bakteriologisch der Erreger bestimmt werden, um Infektionen mit atypischen Mykobakterien einschließlich der aviären Tuberkelbakterien auszuschließen.

Literatur

- Allen, J. M., Brieger, E. M., Rees, R. J. W.: Electron microscopy of the host-cell parasite reaction in murine leprosy. *J. Path. Bact.* **89**, 301—306 (1965).
- Ammann, A. J., Hong, R.: Selective IgA deficiency: Presentation of 30 cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)* **50**, 223—236 (1971).
- Armstrong, J. A., d'Arcy Hart, P.: Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*, with observations on fusion of lysosomes with phagosomes. *J. exp. Med.* **134**, 713—740 (1971).

- Bang, J., Engbaek, H. C., Nielsen, E.: Osteomyelitis following BCG-vaccination. *Acta tuberc. scand.* **38**, 206—208 (1960).
- Brown, C. A., Draper, P., d'Arcy Hart, P.: Mycobacteria and lysosomes: a paradox. *Nature (Lond.)* **221**, 658—660 (1969).
- Bullock, W. E., Fasal, P.: Studies of immune mechanism in leprosy. III. The role of cellular and humoral factors in impairment of the in vitro immune response. *J. Immunol.* **106**, 888—899 (1971).
- Carlgren, L. E., Hansson, C. G., Henricsson, L., Whålén, P.: Fatal BCG infection in an infant with congenital, lymphocytopenic agammaglobulinaemia. *Acta paediat. scand.* **55**, 636—644 (1966).
- Carlgren, L. E., Henricsson, L., Hansson, G., Whålén, P.: A case of agammaglobulinaemia and fatal BCG dissemination. *Acta paediat. scand.* **54**, 631 (1965).
- Chapman, G. B., Hanks, J. H., Wallace, J. H.: An electron microscope study of the disposition and fine structure of *Mycobacterium leprae* in mouse spleen. *J. Bact.* **77**, 205—211 (1959).
- Draper, P., Rees, R. J. W.: Electron-transparent zone of mycobacteria may be a defense system. *Nature (Lond.)* **228**, 860—861 (1970).
- Drescher, J., Müller, M.: Morphologische, zytochemische und autoradiographische Untersuchungen an Drüseneiterzellen in vitro. *Blut* **21**, 315—330 (1970).
- Drescher, J., Rüssler, P.: In Vorbereitung.
- Dumont, A., Sheldon, H.: Changes in the fine structure of macrophages in experimentally produced tuberculous granulomas in hamsters. *Lab. Invest.* **14**, 2034—2055 (1965).
- Falkmer, S., Lind, A., Ploman, L.: Fatal tuberculosis from BCG vaccination. *Acta paediat. scand.* **44**, 219—236 (1955).
- Felländer, M.: Tuberculous osteitis following BCG vaccination. *Acta orthop. scand.* **33**, 116—126 (1963).
- Foucard, T., Hjelmstedt, Å.: BCG-osteomyelitis and -osteoarthritis as a complication following BCG-vaccination. *Acta orthop. scand.* **42**, 142—151 (1971).
- Gardborg, O., Iversen, O. H., Torheim, B. J., Hesselberg, I.: Generalized BCG infection with fatal course in an infant. *Acta paediat. scand.* **52**, 293—303 (1963).
- Glauert, A. M., Glauert, R. H.: Araldite as an embedding medium for electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 191—194 (1958).
- Gormsen, H.: On the occurrence of epithelioid cell granulomas in the organs of BCG-vaccinated human beings. *Acta path. microbiol. scand., Suppl.* **111**, 117—120 (1956).
- Guld, J., Magnus, K., Tolderlund, K., Biering-Sørensen, K., Edwards, Ph. Q.: Suppurative lymphadenitis following intradermal BCG vaccination of the newborn. *Brit. med. J.* **1955 II**, 1048—1054.
- Gusek, W.: Histologische und vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungsergebnisse zur Cytologie, Histogenese und Struktur des tuberkulösen und tuberculoiden Granuloms. *Med. Welt (Stuttg.)* **15**, 850—866 (1964).
- Haensch, R., Schmalbruch, H.: Zur Morphologie der Leprazelle. *Arch. Derm. Forsch.* **241**, 179—187 (1971).
- Hanson, L. A.: Aspects of the absence of the IgA system. In: *Immunologic deficiency diseases in man*, eds. R. A. Good, P. Miescher and R. T. Smith. *Birth defects Orig. Art. Series*, vol. IV, 1, 292—297. New York: Nat. Found. 1968.
- Haraldsson, S.: Osteitis tuberculosa fistulosa following vaccination with BCG strain. *Acta orthop. scand.* **29**, 121—133 (1960).
- Haworth, J. C., Dilling, L.: Concentration of γ A-globulin in serum, saliva and nasopharyngeal secretions of infants and children. *J. Lab. clin. med.* **67**, 922—933 (1966).
- Hollström, E., Hård, S.: A fatality from BCG vaccination. *Acta derm.-venereol. (Stockh.)* **33**, 159—160 (1953).
- Horwitz, O., Meyer, J.: The safety record of BCG vaccination and untoward reactions observed after vaccination. *Fortschr. Tuberk.-Forsch.* **8**, 245—271 (1957).
- Hsu, H. S.: The fate of *Mycobacterium tuberculosis* with in macrophages of guinea pigs. *Amer. Rev. resp. Dis.* **103**, 607—611 (1971).
- Imerslund, O., Jonsen, T.: Lupus vulgaris and multiple bone lesions caused by BCG. *Acta tuberc. scand.* **30**, 116—123 (1955).

- Karnovsky, M. J.: A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **27**, 137A—138A (1965).
- Leake, E. S., Evans, D. G., Myrvik, Q. N.: Ultrastructural patterns of bacterial breakdown in normal and granulomatous rabbit alveolar macrophages. *J. reticuloendoth. Soc.* **9**, 174—199 (1971).
- Leder, L.-D.: *Der Blutmonocyt*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- Leder, L.-D., Crespin, S.: *Fermenthistochemische Untersuchungen zur Genese der Haut-fenstermakrophagen*. Frankfurt. Z. Path. **73**, 611—628 (1964).
- Lennert, K.: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie. Lymph-knotendiagnostik in Schnitt und Ausstrich. Cytologie und Lymphadenitis*, Bd. I, 3. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961.
- Lennert, K., Löffler, H., Leder, L.-D.: *Fermenthistochemische Untersuchungen am lymphoretikulären Gewebe. Cytologie und Histochemie in der Haematologie*. 9. Freiburger Symposium (1962), S. 363—383. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- MacKaness, G. B.: Cellular immunity. The monocyte in delayed-type hypersensitivity. In: *Mononuclear phagocytes*, p. 461—485, ed. R. Van Furth. Oxford and Edinburgh: Blackwell scientific publications 1970.
- Merckx, J. J., Brown, A. L., Karlson, A. G.: An electron-microscopic study of experimental infections with acid-fast bacilli. *Amer. Rev. resp. Dis.* **89**, 485—496 (1964).
- Meyer, J., Jensen, K. A.: A fatal case of tuberculosis produced by BCG. *Amer. Rev. Tuberc.* **70**, 402—412 (1954).
- Mori, Y., Lennert, K.: *Electron microscopic atlas of lymph node cytology and pathology*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Nitsch, K.: In Druck.
- North, R. J., Mackaness, G. B.: Electron microscopical observations on the peritoneal macrophages of normal mice and mice immunised with *Listeria monocytogenes*. *Brit. J. exp. Path.* **44**, 601—611 (1963).
- Reid, J. D.: The pathogenesis of the immunologic granuloma. *N.Z. med. J.* **71**, 375—378 (1970).
- Rockey, J. H., Hanson, L. A., Heremans, J. F., Kunkel, H. G.: Beta-2-A-agammaglobulinemia in two healthy men. *J. Lab. clin. Med.* **63**, 205 (1964).
- Sato, M., Fujiwara, A., Takahashi, K.: A case of lupus vulgaris following BCG vaccination. *Kekkaku* **37**, 36—40, 73—79 (1962) [in Japanisch].
- Satil, A.: The response of the patient with leprosy toward *M. leprae* injected with lepromin. International Leprosy Colloquium, Borstel 1970.
- Seifert, K.: Zur Orientierung inhomogener Gewebeinbettung für die Ultramikrotomie. *Mikroskopie* **17**, 231—234 (1962).
- Sinios, A., Swoboda, W., Meissner, G., Stur, D.: Osteomyelitis als Folge der BCG-Impfung. *Mschr. Kinderheilk.* **113**, 605—609 (1965).
- South, M. A.: IgA in neonatal immunity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **176**, 40—48 (1971).
- South, M. A., Cooper, M. D., Wollheim, F. A., Good, R. A.: The IgA system. II. The clinical significance of IgA deficiency. Studies in patients with agammaglobulinemia and ataxia telangiectasia. *Amer. J. Med.* **44**, 168—178 (1968).
- Spiess, H.: Chemo- und Impfprophylaxe. In: *Handbuch der Kinderheilkunde*, Bd. V, S. 807—834, Hrsg. H. Opitz u. F. Schmidt. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- Stojanov, D. P., Zagurov, G. P.: Über die mikroskopischen Veränderungen bei BCG-geimpften Kindern. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **104**, 486—494 (1963).
- Suter, E.: The multiplication of tubercle bacilli within normal phagocytes in tissue culture. *J. exp. Med.* **96**, 137—150 (1952).
- Thrap-Meyer, H.: Generalized BCG infection in man. *Acta tuberc. scand.* **29**, 173—179 (1954).
- Turk, J. L.: Granuloma formation in lymph nodes. *Proc. roy. Soc. Med.* **64**, 2—4 (1971).
- Turk, J. L., Oort, J.: The production of sensitized cells in cell-mediated immunity. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. VII/3, S. 392—435. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970.
- Ustvedt, H. J.: Usual and unusual reactions to BCG inoculation in children. *Amer. Rev. Tuberc.* **74**, 32—42 (1956).

- Virtanen, S., Lindgren, I.: Osteomyelitis of the femur caused by BCG. *Acta tuberc. scand.* **41**, 260—267 (1962).
- Vortel, V.: Der morphologische Ablauf der Reaktion nach BCG-Impfung. *Virchows Arch. path. Anat.* **336**, 46—58 (1962).
- Waaler, E., Oeding, P.: Generalized BCG infection in man. III. Autopsy findings. *Acta tuberc. scand.* **29**, 188—192 (1954).
- Wallerström, A., Enell, H.: Bacterial metastasis following BCG-vaccination. *Acta paediat. scand.* **55**, 517—523 (1966).
- Watanabe, T., Tanaka, K., Hagiwara, Y.: Generalized tuberculosis after BCG-vaccination. *Acta path. jap.* **19**, 395—407 (1969).
- Waters, M. F. R., Turk, J. L., Wemambu, S. N. C.: Mechanisms of reactions in leprosy. International Leprosy Colloquium, Borstel 1970.
- West, C. D., Hong, R., Holland, N. H.: Immunoglobulin levels from the newborn period to adulthood and in immunoglobulin deficiency states. *J. clin. Invest.* **41**, 2054—2065 (1962).

Dr. E. Kaiserling
Pathologisches Institut der Universität Kiel
D-2300 Kiel, Hospitalstr. 42
Deutschland