

Übersicht und Empfehlungen der SULTM zur Liquordiagnostik

Andreas R. Huber, Jens Kuhle, Norbert Goebels, Martin Risch, Roland Zweifel, Axel Regeniter

Allgemeiner Teil: Liquordiagnostik

Einleitung

Um 400 vor Christus beschrieb Hippokrates das Vorkommen von Flüssigkeitskammern im Gehirn. Nachdem Quincke 1891 erstmals eine transkutane Lumbalpunktion durchgeführt hatte, wurden um die Jahrhundertwende bereits regelmässig diagnostische Lumbalpunktionen in europäischen und amerikanischen Krankenhäusern eingesetzt. Einhergehend mit der Erstbeschreibung der Blut-Liquor-Schranke durch Walter 1929 gewann auch der Begriff der eingeschränkten Blut-Liquor-Schranke an Bedeutung [1]. Kabat beschrieb 1942 erstmals eine Gammaglobulin-Vermehrung im Liquor cerebrospinalis (Liquor) bei der Multiplen Sklerose und der Neurosyphilis [2].

Die isoelektrische Fokussierung zur Bestimmung oligoklonaler Banden im Liquor, d.h. im ZNS produzierter Immunglobuline (OB), wurde erstmals 1965 erwähnt und findet bis in die heutige Zeit in verschiedenen Variationen Anwendung [3]. Neben diesem qualitativen Nachweis einer intrathekalen Immunglobulin-Synthese können Immunglobuline auch quantitativ im Liquor gemessen werden, was zur Entwicklung zahlreicher unterschiedlicher Formeln zur Quantifizierung der lokalen Antikörpersynthese führte [4–8].

Die Liquordiagnostik stellt in Verbindung mit modernen bildgebenden Verfahren einen zentralen Bestandteil der Diagnostik von ZNS-Erkrankungen dar. Vor allem bei inflammatorischen Krankheitsbildern (infektiöser und nicht-infektiöser Genese) des Gehirns, des Rückenmarks und der Meningen

ist die Untersuchung des Liquors eine standardisierte, ungefährliche und etablierte diagnostische Methode. Das Liquorkompartiment bietet durch die räumliche Nähe und durch die nur sehr eingeschränkt vorhandene Barriere zum ZNS die Möglichkeit, Informationen direkt aus dem eigentlichen «Zielorgan» zu erhalten und zu interpretieren.

Gehirn – Blut – Liquor: Prinzipien und Pathomechanismen

Liquor cerebrospinalis und Blut-Liquor-Schranke

Die Liquorräume umfassen die vier Ventrikel und den Subarachnoidalraum (innere und äussere Liquorräume). 80–90% des Liquors werden durch die Plexus chorioidei der Seitenventrikel sowie des dritten und vierten Ventrikels gebildet. Darüber hinaus stellen die Blutgefässe des Gehirns und das Hirnparenchym selbst weniger relevante Quellen dar. Aus der produzierten Liquormenge von ungefähr 500–600 ml pro 24 Stunden ergibt sich bei einem Gesamtvolumen des Liquorraumes von ca. 150–170 ml ein Liquorumsatz von drei bis viermal pro Tag. Der grösste Teil wird über die Arachnoidalzotten (knötchenartige Wucherungen der Arachnoidea) in die venösen Sinus abgeleitet. Zusätzlich bildet die Dura entlang der austretenden Spinalnervenwurzeln Aussackungen, wo der Liquor zu einem kleinen Teil in die Endoneuralflüssigkeit abfließt.

Liquor stellt ein Ultrafiltrat des Blutes dar, etwa 80% der Liquorproteine stammen aus dem Blut, wobei Albumin (150–350 mg/l) und IgG (bis 40 mg/l) im Liquor dominieren. Etwa 20% sind intrathekal, d.h. im ZNS synthetisierte Proteine (z.B. neuronenspezifische Enolase, S100, Glial fibrillary Acidic Protein) [9]. Im Liquor ist die Proteinkonzentration bei intakter Blut-Liquor-Schranke ungefähr 200-

mal niedriger als im Serum. Kleinere Moleküle diffundieren besser in das Liquorkompartiment als grössere; so beträgt der Quotient für IgG, IgA und IgM 1:500, 1:1000 und 1:5000 [10, 11]. Der Begriff der Blut-Hirn-Schranke wird einerseits als Oberbegriff für die Epithelbarrieren zwischen Blut und Nervengewebe (Blut-ZNS-Schranke, Blut-Liquor-Schranke, Blut-Nerven-Schranke) verwendet, genau genommen bezeichnet er jedoch die Grenze zwischen Gefässen und zerebraler Extrazellulärflüssigkeit. Die spezielle Gestaltung der Blutkapillaren im Gehirn (Endothelzellen durch enge Tight junctions verbunden, Perizyten und kontinuierliche Basalmembran) mit starker Einschränkung des Molekültransfers aus dem Blut stellt die Grundlage der Blut-Hirn-Schranke dar. Die zerebrale Extrazellulärflüssigkeit steht dagegen über die Ependymzellen ohne Tight junctions in direktem Liquor-Kontakt (Abb. 1).

Die Funktion der Blut-Liquor-Schranke wird entscheidend von der Liquorflussgeschwindigkeit beeinflusst. Entsprechend diesem weitestgehend anerkannten, biophysikalisch hergeleiteten und empirisch bestätigten Konzept führt ein reduzierter Liquorfluss zu einer Blut-Liquor-Schrankendysfunktion. Der reduzierte Liquorfluss kann durch eine reduzierte Bildungsgeschwindigkeit, eine Flussverminderung im Subarachnoidalraum oder durch eine Abflussbehinderung der Arachnoidalzotten hervorgerufen werden [12]. Unklar ist, ob eine Permeabilitätssteigerung der Endothelbarriere die Blut-Liquor-Schranken-Dysfunktion zusätzlich beeinflusst. Wahrscheinlich spielen beide Mechanismen je nach Situation eine unterschiedlich starke synergistische Rolle [9].

Da Albumin ausschliesslich in der Leber synthetisiert wird, wird der Albumin-Quotient ($Q_{alb} = \text{Alb}_{CSF} / \text{Alb}_{Serum}$) als Mass für die Blut-Liquor-Schran-

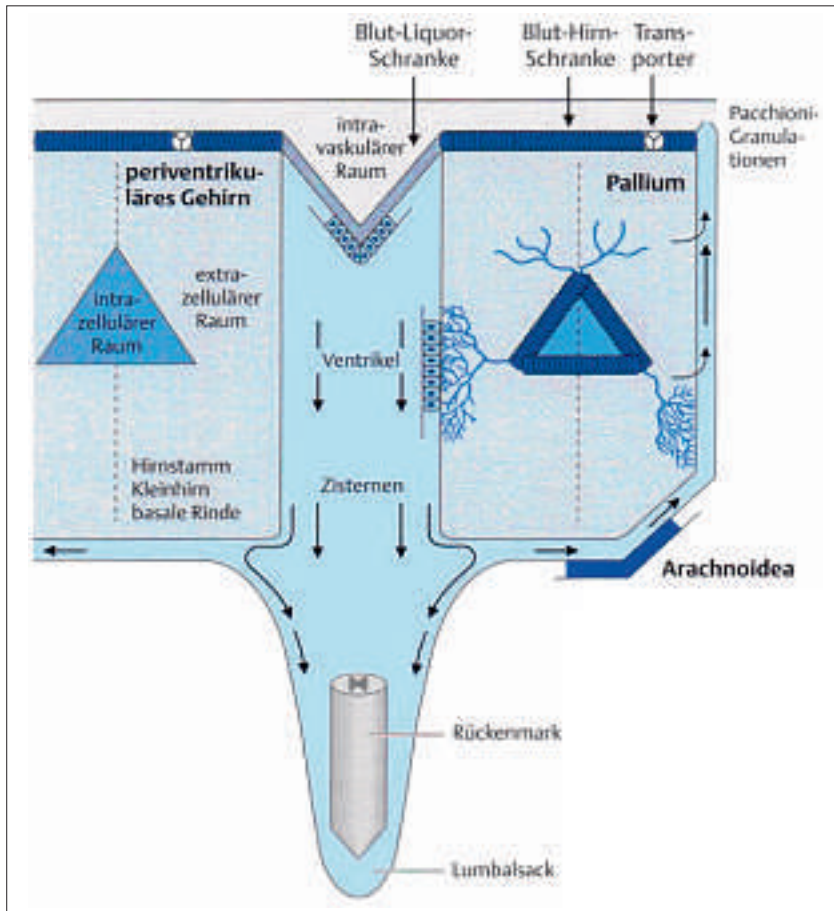


Abbildung 1.

Liquoranalytisches Gehirn (schematisch). Der lumbale Liquor spiegelt überwiegend die Veränderungen im Liquorkompartiment des absteigenden Schenkels: innere Hälfte des Hemisphärenmarks, Stammganglien, Kleinhirn, basale Rinde, subpontines Zentralnervensystem. Nachdruck mit freundlicher Genehmigung aus: Felgenhauer K, Beuche W. Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1999.

ken-Funktion benutzt. Der Q_{alb} ist abhängig vom Lebensalter. Zum Zeitpunkt der Geburt erreicht er seinen Maximalwert (bis zu 30×10^{-3}), nach vier Monaten den Tiefstwert, um dann durch die altersbedingte Abnahme der Liquorproduktion im Plexus choroideus wieder zuzunehmen (0,4 ml/min bei jungen und 0,1 ml/min bei älteren Probanden) [13].

Neuroimmunologische Konzepte und die intrathekale Immunglobulinproduktion

Das zentrale Nervensystem wurde lange als immunprivilegiertes, d.h. als ein nur gering durch das Immunsystem «überwachtes» Organ betrachtet. Zahlreiche Untersuchungen zeigen deutlich, dass trotz der Blut-Liquor-Schranke aktivierte B- und T-Lymphozyten unabhängig von ihrer Spezifität

durch das ZNS zirkulieren [14]. Unter physiologischen Bedingungen löst dies keine Immunreaktion aus. Im Gegensatz dazu können Infektionen, Traumen oder degenerative Veränderungen über Entzündungsreaktionen komplexe immunologische Kaskaden auslösen. Möglicherweise spielt die Freisetzung von Antigenen in das periphere Immunsystem mit nachfolgender Aktivierung und Proliferation antigenspezifischer Lymphozyten dabei eine wichtige Rolle. Durch das ZNS patrouillierende und ihr Antigen lokal im ZNS wiedererkennende B-Zellen könnten zu Plasmazellen differenzieren und lokal Antikörper sezernieren. Auch das vorübergehende Auftreten einer intrathekalen Immunglobulinproduktion bei primär nicht entzündlichen Erkrankungen ist hierdurch erklärbar (Infarkte, Subarachnoidalblu-

tungen, Hirnkontusionen) [15]. Ob diese Immunglobuline im Gehirnparenchym oder im Liquor selbst produziert werden, ist bisher unklar. Unter physiologischen Bedingungen (intakte Blut-Liquor-Schranke) gelangen immer auch Immunglobuline in geringen Mengen grössenabhängig aus dem Serum in den Liquor ($IgM < IgA < IgG$). Die isoelektrische Fokussierung (IEF), bei der die Immunglobulinbandenmuster zwischen Serum und Liquor eines Patienten verglichen werden, ist die empfindlichste und spezifischste Methode zum Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion. Werden mehrere IgG-Banden gefunden, die ausschliesslich im Liquor, aber nicht im Serum vorkommen, ist eine intrathekale IgG-Synthese nachgewiesen («positive isoelektrische Fokussierung»). Aufgrund der Anzahl der Banden im Bereich der Immunglobuline ist es nicht möglich, auf die Zahl der Plasmazellklone zu schliessen, da mit aktuellen Techniken, je nach Leistungsfähigkeit, auch monoklonales IgG in mehrere Banden aufgetrennt wird [16–18].

Es werden nach internationalem Konsens fünf Muster der oligoklonalen IgG-Banden unterschieden (Abb. 2). Dabei entsprechen Typ 2 und Typ 3 einer intrathekalen Immunglobulinsynthese. Typ 4 und Typ 5 widerspiegeln in der Peripherie ablaufende Immunantworten, d.h. die erhaltenen Muster lassen somit auch Rückschlüsse auf primär systemische Ursachen eines intrathekalen Immunglobulinnachweises zu. Für den qualitativen Nachweis von oligoklonalen IgA oder IgM mittels isoelektrischer Fokussierung stehen momentan keine validierten Methoden zur Verfügung. Quantitative Berechnungen beruhen auf der Messung von Immunglobulinen und Albumin in Serum und Liquor können ebenfalls eine intrathekale Immunglobulinproduktion nachweisen. Der IgG-Nachweis ist aber weniger sensitiv und spezifisch als die isoelektrische Fokussierung. Neben den von Reiber erarbeiteten Formeln, die im deutschen Sprachraum die Standardberechnungen darstellen (Hyperbelfunktion in doppelt logarithmischen Darstellungen getrennt für IgG, IgM und IgA, Abb. 2) [16, 17, 19] existieren

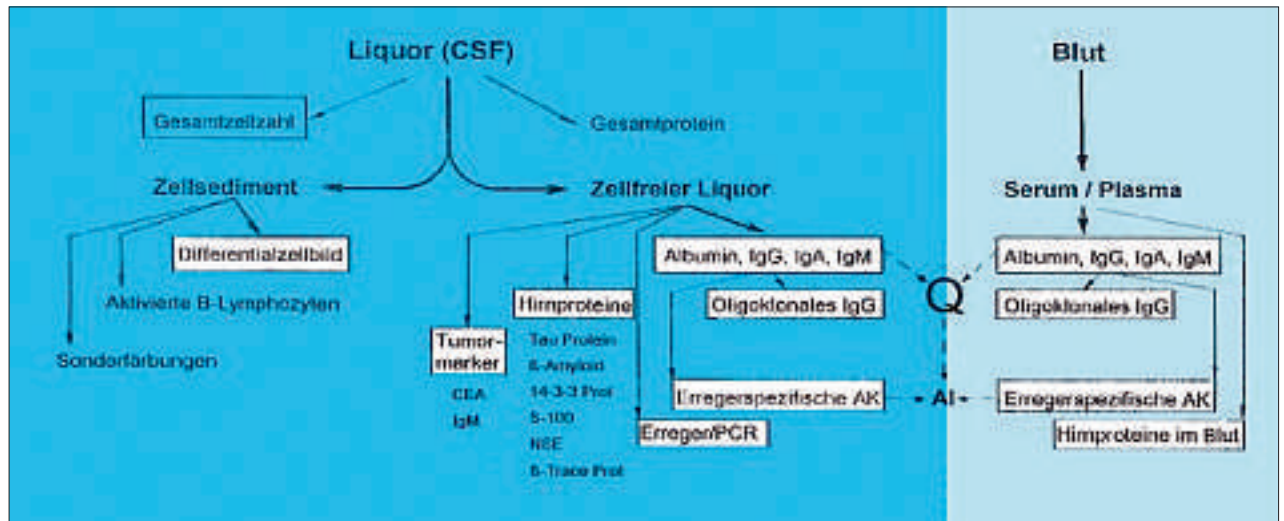


Abbildung 2.

Liquoruntersuchungen. Ablauf der Untersuchungen. Nachdruck mit freundlicher Genehmigung aus: Reiber H. Grundlagen der Liquoranalytik mit Fallbeispielen neurologischer Erkrankungen. CD-Rom, Beckman Coulter, 2000. Best-Nr. 844101602.

unter anderen der IgG-Index nach Link (Q_{IgG}/Q_{alb}) [20] und die IgG-Synthese-Rate nach Tourtellotte [21] sowie weitere mathematische Berechnungsmodelle. Während im Bereich normaler Albuminquotienten nur geringfügige Unterschiede festzustellen sind, finden sich bei hohen Albuminquotienten häufig falsch-positive Werte. Für sehr niedrige Albuminwerte (z.B. Ventrikelliquor, Kinder) zeigen sich im IgG-Index darüber hinaus häufig falsch-negative Resultate [20, 22, 23]. Trotz der geringeren Sensitivität und Spezifität der quantitativen Methoden im Vergleich zur IEF ermöglicht ihre Bestimmung, krankheitstypische Muster durch die charakteristische Verteilung der einzelnen Immunglobulinsubklassen (IgG, IgA, IgM) zu ermitteln (Abb. 2).

Notfalldiagnostik und krankheitsbezogene Befundmuster

Das diagnostische Notfallprogramm: Bei der diagnostischen Lumbalpunktion kommt es selten zu ernsthaften Komplikationen, weswegen diagnostische Suboccipital- oder Ventrikelpunktionen weitestgehend verlassen worden sind. Zu beachten sind Kontraindikationen wie ein erhöhter intrakranieller Druck oder eine Gerinnungsstörung mit Blutungsneigung. Liquor sollte ohne Zusatz in sterilen verschlossenen Plastikröhrchen gesammelt werden. Bei stark blutigem

Liquor soll zusätzlich ein EDTA-Röhrchen (wie für die hämatologische Analytik) abgenommen werden. Um die Adsorption von Eiweißen an der Gefäßwand zu vermeiden, sind Polypropylengefäße am besten geeignet. Proben mit zellulären Bestandteilen werden bei vier bis acht Grad gelagert. Das Liquorzellbild muss so früh wie möglich erstellt werden, da es ex vivo zu Zelldegeneration und Zellverlust kommt [24]. Für Proteinuntersuchungen kann die Probe vorübergehend bei 4 °C gelagert werden, für eine längere Lagerung sind –80 °C erforderlich.

Bei Verdacht auf eine akute entzündliche ZNS-Erkrankung muss der Liquor notfallmässig untersucht werden. Bewusstseinsklare Patienten ohne neurologische Herdsymptomatik und Hirndruckzeichen oder Gerinnungsstörungen sollten bei klinischem Verdacht auf eine bakterielle oder virale Meningitis bzw. Enzephalitis so früh wie möglich lumbalpunktiert werden. Unmittelbar nach zusätzlicher Entnahme von Blutkulturen sollte dann die erste Antibiotikadosis verabreicht werden. Ein CT zum Ausschluss eines Hirnödems ist bei bewusstseinsgestörten Patienten sowie bei neurologischen Herdsymptomen vor der Lumbalpunktion erforderlich. Zusätzliche Kontraindikationen für eine Liquorentnahme sind eine Mittellinienverlagerung, eine grosse zerebelläre Raumforderung (z.B. Abszess), Zeichen

einer transtentoriellen Herniation oder ein deutliches generalisiertes Hirnödem.

Routinemässig sollte eine optische Beurteilung des Liquors (trüb ab etwa 100 Leukozyten/ μ l, eitrig, blutig, xanthochrom) erfolgen, sowie labormedizinisch Totalprotein, Laktat, Zellzahl bestimmt werden und eine Zelldifferenzierung durchgeführt werden. Bei erhöhter Zellzahl oder erhöhtem Liquorlaktat ist ein Grampräparat, gegebenenfalls ein Latexschnelltest für häufige Bakterien und zusätzlich eine Ziehl-Neelsen-Färbung sinnvoll. Der Liquor/Serum-Glukose-Quotient beträgt beim Gesunden ungefähr 0,6, entsprechend einer Liquor-Glukose von 2,7–4,2 mmol/l bei normaler Glukose-Serum-Konzentration. Bei bakteriellen Meningitiden, Pilzmeningitiden und Meningeosis carcinomatosa ist der Liquor/Serum-Glukose-Quotient oft erniedrigt (<0,5). Diese grundlegende Erregerdiagnostik muss durch weitere Analysen ergänzt werden, hierfür wird genügend Liquor (etwa 7–10 ml) benötigt. Für eine molekularbiologische Diagnostik (PCR) ist zusätzlich unzentrifugierter Liquor erforderlich.

Eine normale Zellzahl (lumbal: 0–4/ μ l; subokzipital: 0–3/ μ l; ventrikulär: 0–1/ μ l) schliesst eine erregerbedingte, akute entzündliche ZNS-Erkrankung meist aus. Ausnahmen gibt es in frühen Stadien, in denen es noch nicht zu

einer Einwanderung von Granulozyten (prägranulozytäre Phase) gekommen ist, bei antibiotisch behandelten Patienten (möglicherweise tote Bakterien im Grampräparat) oder bei immunsupprimierten Patienten mit Leukopenie. Diese Patienten haben jedoch meist eine gestörte Schrankenfunktion (erhöhter Albuminquotient) als Frühzeichen einer Entzündung. Subarachnoidalblutungen, ZNS-Vaskulitiden und ZNS-Tumoren sind nichtinfektiöse Ursachen für eine Erhöhung des Liquorproteins [25]. Eine abnorm erhöhte Zellzahl ist nicht immer mit einer akuten entzündlichen ZNS-Erkrankung gleichzusetzen. Sie findet sich z.B. auch als Reizpleozytose nach Lumbalpunktion (bis etwa ein bis zwei Wochen nach Punktion), intrakraniellen Blutungen, nach neurochirurgischen Eingriffen oder im Rahmen einer Meningeosis neoplastica. Bei Verdacht auf eine Meningeosis neoplastica sollte reichlich Liquor entnommen werden (10–15 ml). Falsch positive Resultate ergeben sich häufig aus Verwechslungen von malignen mit entzündlich veränderten Zellen in der zytologischen Beurteilung durch Ungewöhnlichkeit oder bei durch Blut kontaminierten Punktionen [26]. Bei negativen Resultaten kann durch eine wiederholte Liquoruntersuchung die Sensitivität von 50–70% auf 85–92% gesteigert werden [27]. Dies führt häufig jedoch nicht zu einer höheren Sensitivität und kann auch durch die auftretende Reizpleozytose zu falschen Schlussfolgerungen führen. Akute bakterielle Meningoenzephalitiden können von viralen Prozessen durch eine wesentlich stärkere Erhöhung von Zellzahl (>1000/ μ l) und Liquor-Laktat (>3,5 mmol/l) unterschieden werden. Ein meningitisches Syndrom bei normalem Liquor-Laktat spricht sehr für eine virale Ätiologie. Virale Infektionen, die bei normalem Laktatwert häufig Zellzahlen unter 100/ μ l aufweisen, sind dabei nicht immer einfach von entzündlichen Autoimmunerkrankungen abzugrenzen. Die spezifische antivirale humorale Reaktion benötigt Zeit, um sich zu entwickeln, und oligoklonale Banden werden in subakuten Stadien teilweise auch bei erregbedingten ZNS-Erkrankungen beobachtet.

Erythrozyten werden unter physiologischen Verhältnissen im Liquor nicht gefunden. Vor allem bei kleineren oder älteren Subarachnoidalblutungen (mehr als eine Woche), die im CT nicht gesehen werden (etwa 10–20%), kommt der Liquoranalytik eine wichtige Bedeutung zu [28–30]. Erschwert wird die Liquordiagnostik einerseits bei einer artifiziiell blutigen Punktion, andererseits durch die starke Stadienabhängigkeit der zu erwartenden Liquorveränderungen. Bei fraglich blutiger Punktion sollten drei Röhrchen zur Erythrozytenzählung abgenommen und die Reihenfolge festgehalten werden (3-Gläser-Probe), allerdings ist auch hierdurch nicht immer ein sicherer Ausschluss einer artifiziiellen Blutbeimengung möglich [31]. Durch Blutabbauprodukte (Oxyhämoglobin: rötlich-pink, metabolisiert zu Bilirubin: gelb) kommt es im zentrifugierten Liquor frühestens 9–15 Stunden nach Blutungsereignis zu einer gelblichen, xanthochromen Verfärbung des Liquors, die bis zu zwei Wochen anhalten kann, wobei Bilirubin im Gegensatz zu Oxyhämoglobin ausschliesslich in vivo entsteht (Abgrenzung zu artifiziieller Blutbeimengung) [32–34]. Hier ist die Spektrophotometrie, die nicht von Betrachter und Tageszeit abhängig ist, der visuellen Beurteilung deutlich überlegen [35–37]. Allerdings erfordert diese Untersuchung entsprechende Instrumente und erfahrene Personal, das die Spektren richtig interpretieren kann.

Erythrophagen lassen sich im Liquor etwa 12–18 Stunden nach einer Blutung nachweisen. Die charakteristischen, Hämosiderin enthaltenden Siderophagen erscheinen erst nach ein bis zwei Tagen und persistieren für etwa drei bis vier Wochen [38]. Als Zeichen einer Subarachnoidalblutung zeigen sich nach ungefähr zwei Wochen Hämatoidin (kristallisiertes Bilirubin) enthaltende Makrophagen [39]. Erhöhungen des Liquor-Ferritins (>12–18 μ g/l, je nach Messmethode) sind ebenfalls charakteristisch für eine SAB, und die Konzentration im Liquor kann die Serumkonzentration weit übersteigen. Diese Analyse lässt sich besonders gut in das analytische Notfallprogramm integrieren, weil sie zusammen mit Totalprotein, Laktat und

Glukose automatisiert im Notfalllabor durchgeführt werden kann.

Klinische Liquordifferentialdiagnostik und krankheitsbezogene Antikörpermuster: Im ZNS fehlt im Gegensatz zum peripheren Immunsystem der eindeutige Wechsel der Immunglobulinsynthese von der IgM- zur IgG-Klasse. Die intrathekale Immunreaktion ist stark von den individuellen Pathomechanismen der einzelnen Erreger abhängig und ändert sich im longitudinalen Verlauf wenig. Dies bildet die Grundlage der krankheitsbezogenen Antikörpermuster. Durch die Darstellung der humoralen Immunreaktion und Schrankenfunktion in Quotientendiagrammen können diese Muster im Rahmen eines integrierten Befundberichtes erfasst werden (Abb. 3, Abb. 4) [40, 41] und dann sinnvoll

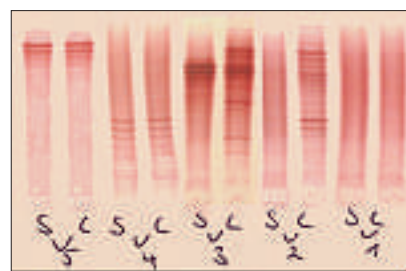


Abbildung 3.

Interpretation der Bandenmuster von oligoklonalem IgG in Liquor und Serum. Es handelt sich um eine isoelektrische Fokussierung von Liquor (CSF) und Serum (S) auf Agarosegel mit anschließendem Immunoblot. Dargestellt sind die klassischen Typen 1–5: Typ 1: Normales Muster ohne oligoklonale Banden (OB), das keiner intrathekalen IgG-Synthese entspricht. Typ 2: OB nur im Liquor, aber nicht im Serum als Nachweis einer intrathekalen IgG-Synthese. Typ 3: OB nur im Liquor (s.h. Typ 2) und zusätzlich identische oligoklonale Banden in Liquor und Serum (s.h. Typ 4) als Zeichen einer intrathekalen IgG-Synthese bei systemischer Immunreaktion. Typ 4: Identische OB in Liquor und Serum durch passiven Filtration von IgG aus dem Blut in den Liquor aufgrund eines systemischen Immungeschehens (Spiegelbild) ohne intrathekale IgG-Synthese. Typ 5: Ein Paraprotein (monoklonale Gammopathie) wird in der isoelektrischen Fokussierung in mehrere eng benachbarte Banden aufgespalten. Keine intrathekale IgG-Synthese [16].

durch zusätzliche Parameter ergänzt werden.

Ursache einer intrathekalen Immunreaktion kann neben einer akuten entzündlichen Erkrankung eine bereits mehrere Jahre zuvor abgelaufene Infektion («Liquornarbe»: z.B. Neurosyphilis, Herpes-simplex-Enzephalitis) oder auch ein chronisch entzündlicher Prozess im Rahmen einer Autoimmunerkrankung (z.B. Multiple Sklerose) sein. Zur weiteren Abgrenzung hinsichtlich Akuität müssen hier neben der Klinik die Zellzahl, das Differentialzellbild (aktivierte B-Zellen, Plasmazellen) und die Schrankenfunktion (Q_{Alb}) beurteilt werden.

Zum Zeitpunkt der ersten diagnostischen Lumbalpunktion bei Multipler Sklerose (MS) oder Neurosyphilis zeigt sich meist ein typisches Muster der intrathekalen Immunglobulinproduktion mit IgG-Dominanz. Typisch für die Neurotuberkulose, Hirnabszesse oder die Adrenoleukodystrophie ist eine dominante IgA-Synthese. Eine

IgM-Dominanz findet sich dagegen typischerweise bei Neuroborreliose, Mumps-Meningoenzephalitis oder den Non-Hodgkin-Lymphomen mit ZNS-Beteiligung. Somit ist eine intrathekale IgM-Synthese durch den fehlenden Immunglobulinklassenwechsel im Gegensatz zum peripheren Immunsystem keineswegs mit einer akuten Erkrankung gleichzusetzen, sondern ermöglicht gewisse Rückschlüsse auf die Grunderkrankung.

Spezieller Teil: Vorgehen und Empfehlungen

Sofortuntersuchungen des Liquors

Liquorgewinnung

Die heute übliche Art der Liquorgewinnung ist die Lumbalpunktion. Dieses Verfahren ist problemlos und hat bei regelrechter Durchführung eine Komplikationsrate, die in etwa der einer Venenpunktion entspricht. Die Suboccipital- und Ventrikelpunktion sind aufgrund wesentlich höherer

Komplikationsraten weitestgehend verlassen worden. Besteht der Verdacht auf einen erhöhten Hirndruck mit Einklemmungsgefahr bei lumbaler Druckentlastung, so muss dieser vor Durchführung der Liquorpunktion mit Hilfe der Bildgebung (CCT oder MRI) ausgeschlossen werden. Es sollte nach einer antikoagulativen Therapie gefragt werden und der Gerinnungsstatus bekannt sein (TPZ, Quickwert >50%; Thrombozytenzahlen unter 50000/ μ l sind eine relative und unter 20000/ μ l eine absolute Kontraindikation). Nachdem der Patient informiert wurde und nach Möglichkeit vorgängig Blase und Darm entleert hat, soll er in Seitenlage gebracht werden, einen «Katzenbuckel» machen und mit dem Rücken gegen den Bettrand liegen. Die Wirbelsäule soll möglichst horizontal liegen, was mit Kissen unter Beine und Kopf meist gut erreicht werden kann. Material für eine Rasur, Desinfektion, sterile Tupfer, sterile Handschuhe, sterile Ablagefläche für Kanülen, Sprit-

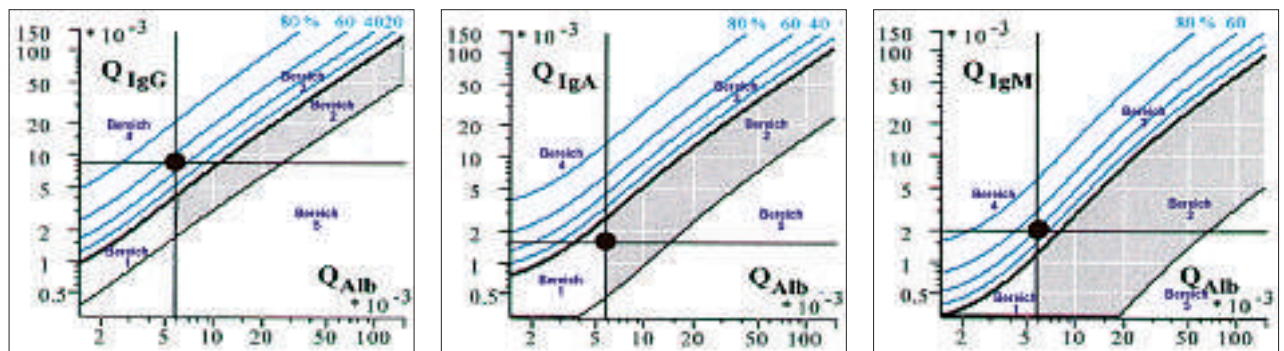


Abbildung 4.

Liquor/Serum-Quotientendiagramme für IgG, IgA, IgM mit hyperbolischen Funktionen. Nachdruck mit freundlicher Genehmigung aus: Reiber H. Grundlagen der Liquoranalytik mit Fallbeispielen neurologischer Erkrankungen. CD-ROM, Beckman Coulter, 2000. Best-Nr. 844101602.

Die dick gezeichneten Linien repräsentieren die obere Diskriminierungslinie als empirisch und theoretisch fundierte Hyperbelfunktion. Diese Grenzlinie Q_{Lim} ist die Obergrenze des Referenzbereiches für die aus dem Blut stammende Proteinfraction im Liquor. Werte oberhalb dieser Linie sind als IgG-, IgA- oder IgM-Synthese zu interpretieren. Die gestrichelten Linien geben das Ausmass der intrathekalen Synthese als intrathekale Fraktion (IgGIF, IgAIF oder IgMIF) in % der jeweiligen Gesamt-Liquor-Konzentration an. Eine Blut-Liquor-Schranken-Funktionsstörung ist altersabhängig entsprechend den vertikalen Linien bei $Q_{Alb} = 5$ (bis 15 Jahre), bei $Q_{Alb} = 6,5$

(bis 40 Jahre), $Q_{Alb} = 8,0$ (bis 60 Jahre) angezeigt. Damit ergeben sich folgende Bereiche im Diagramm:

- Normalbereich (Bereich 1)
- Blut-Liquor-Schranken-Funktionsstörung = reduzierter Liquorfluss (Bereich 2)
- Ig-Synthese ohne Schranken-Funktionsstörung (Bereich 4)
- Ig-Synthese mit Schranken-Funktionsstörung (Bereich 3)
- Werte unterhalb der unteren Begrenzungslinie des Referenzbereiches (ebenfalls eine Hyperbelfunktion) sind als messmethodische Fehler zu betrachten (Bereich 5).

Die dargestellten Daten stammen von einem Patienten mit Multipler Sklerose. Der Befund zeigt eine normale Schrankenfunktion mit einer humoralen Immunreaktion für IgG (IgGIF = 55%) und IgM (IgMIF = 40%).

zen und Steigrohr müssen aseptisch vorbereitet werden. Eine Lokalanästhesie bis an den Duralsack kann, muss aber nicht durchgeführt werden. Postpunktionelle Beschwerden können durch ein geeignetes Vorgehen vermieden oder stark gemindert werden [42]. Die Lumbalpunktion erfolgt nach Desinfektion unter aseptischer Technik zwischen dem dritten und vierten oder zwischen dem vierten und fünften Lendenwirbel. Falls indiziert, soll eine Druckmessung mittels Queckenstedt-Versuch durchgeführt werden. Die ersten Tropfen nach der Punktion werden verworfen und anschliessend ein Volumen von 7–10 ml in einem Polypropylen-Röhrchen gesammelt (einfaches Tropfenlassen). Eine artifizielle Blutbeimengung sollte vermieden werden, denn sowohl das zelluläre wie auch das Proteinbild des Liquors können hierdurch verfälscht werden. Durch Röhrchenwechsel nach dem ersten Milliliter kann mit einem zweiten und dritten Röhrchen möglicherweise verhindert werden, dass eine artifizielle Blutung die Beurteilung der Resultate erschwert. Es sollte ausreichend Liquor abgenommen werden, was eine Zweitpunktion bei unklaren Krankheitsbildern meist vermeidet. Die Stärke und Intensität möglicher Kopfschmerzen ist bei jüngeren Patienten etwas ausgeprägter, nimmt mit zunehmenden Alter ab und korreliert nicht mit der Menge des entnommenen Liquors. Besonders ein Nachsickern von Liquor nach aussen oder in den Periduralraum führt zu einem Liquorunterdrucksyndrom mit entsprechenden klinischen Komplikationen. Die diagnostische Lumbalpunktion kann unter ambulanten Bedingungen durchgeführt werden. Bei einer Erythrozytenzahl im Liquor, die 5000/ μ l übersteigt, sollte von weiteren Untersuchungen abgesehen werden. Die Verarbeitung der Liquorzellen sowie für mikrobiologische Untersuchungen, Glukose und Laktat sollte innerhalb der ersten zwei Stunden erfolgen, während die Proben für Liquorproteine, bei 4 °C gelagert, 1–2 Wochen stabil sind.

Neben der diagnostischen Fragestellung sollte bei der Untersuchung immer auch der Liquordruck bestimmt werden. Auf dem Untersuchungsauf-

trag müssen immer auch der Entnahmeort und das Entnahmevermögen des Liquors vermerkt werden. Diese Angaben sind bei der späteren Beurteilung der Resultate von Bedeutung. Gleichzeitig mit der Liquorentnahme muss immer Serum abgenommen und daraus Glukose, Gesamtprotein, Elektrolyte, allenfalls spezifische Proteine (spez. Antikörper, IEF) bestimmt werden. Details zur Lumbalpunktion finden sich in der Checkliste Krankenpflege (A. Huber et al., 1994, Thieme-Verlag) und detailliert in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (Nr. 030/107, online verfügbar über <http://leitlinien.net/> oder www.dgn.org) [43].

Visuelle Beurteilung der Liquorprobe

Jede Liquorprobe sollte visuell beurteilt werden. Dabei ist auf Klarheit bzw. Grad einer Trübung, die Farbe und Gerinnselnachweis oder Gerinnungszeichen zu achten. Teststreifen zum semiquantitativen Nachweis von Erythrozyten, Leukozyten (Granulozyten), Hämoglobin und Bilirubin unterstützen die visuelle Beurteilung der Liquorprobe. Normalliquor ist wasserklar und farblos, er färbt sich rosa ab einer Trübung von ca. 1000 Erythrozyten/ μ L (= 1000 M/l), und erscheint opalweiss getrübt (auch gelb-grün) ab ungefähr 1000/ μ L Leukozyten (selten durch Bakterien verursacht).

Die Farbe ist rot bei hämolytischem Liquor; eine kirschrote Farbe nach Entzellung zeigt freies Oxyhämoglobin an. Mit dem Teststreifen kann Hämoglobin bereits im farblosen entzellten Liquor nachgewiesen werden. In artifiziell blutigen Liquorproben wird Hämoglobin frühestens zwei Stunden nach Entnahme nachgewiesen. Bei Blutungen in die Liquorräume wird Hämoglobin frühestens etwa vier Stunden nach dem Blutungsereignis nachgewiesen. In Abhängigkeit vom zeitlichen Abstand der Blutung kann der Liquor von braunrot bis xanthochrom gefärbt sein. Die xanthochrome Verfärbung des Liquors kann unterschiedliche Ursachen haben (Hämoglobin, Bilirubin u.a.). Weiss-gelbliche Gerinnsel («Spinnwebgerinnsel») werden in der Regel nur bei sehr starker Proteinvermehrung (>3000 mg/l)

beobachtet, sie können durch Blutkontamination in abgestufter Form eine Rotfärbung aufweisen. Starke artifizielle Blutkontaminationen zeigen charakteristischerweise massive Gerinnungszeichen.

Zytologische Liquorbeurteilung: Akutdiagnostik

Die Zellzahl ist grundsätzlich in jedem Liquor zu bestimmen. Einen besonderen Stellenwert hat die Zellzahl für die Diagnostik und Verlaufskontrolle entzündlicher Erkrankungen, für die Diagnostik intrazerebraler Blutungen, primärer und sekundärer Tumoren sowie von Infiltrationen bei hämatologischen neoplastischen Erkrankungen. Die Zellzahl ist auch ein guter Indikator für die Therapiekontrolle von Erkrankungen des Nervensystems. Bewährt hat sich die Leukozyten- und Erythrozytenzählung nach Anfärbung mit Vitalfarbstoffen (z.B. Methylenblau, Toluidinblau) in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer. Auch die automatische Zählung der Liquorzellen ist insbesondere bei hohen Zellzahlen unter Verwendung geeigneter «offener» Blutzellzählgeräte möglich. Neben der Beurteilung der Liquorzellzahl sollte mindestens eine Differenzierung in polymorphkernige und mononukleäre Zellen erfolgen. Bei gesteigerter Gesamtzellzahl überwiegen bei viralen Meningitiden die mononukleären Zellen, während bei einer eitrigen Meningitis ein stark polymorphkerniges Zellbild vorherrscht. Diese grobe Unterscheidung ersetzt jedoch keinesfalls die differenzierte Liquorzytologie. Die automatisierte, differenzierte Zählung mit speziellen «Liquorprogrammen» kann die Grobdifferenzierung vornehmen, ersetzt jedoch momentan nicht die differenzierte manuelle Liquorzytologie (z.B. Tumorzellen!) [44].

Gesamtproteinbestimmung

Die notfallmässigen Analysen des zellfreien Liquors umfassen die visuelle Beurteilung von Blutbeimengungen und Xanthochromie sowie die quantitative Bestimmung des Totalproteins. Die Totalproteinbestimmung gibt – grob orientierend – einen ersten Anhaltspunkt über den Zustand der Schrankenfunktion. Notfallmässig und semiquantitativ kann auch eine

Pandy-Reaktion vom Kliniker bei Entnahme durchgeführt werden. Dabei wird entzellter Liquor (30 µl) zu Pandy-Reagens (2 ml) in eine schwarze Schale gegeben. Albumin- und Globulinvermehrung verursachen ein Präzipitat. Eine positive Pandy-Reaktion + bzw. ++ wird zwischen 0,5–1,0 g/l bzw. 1,0–>3,0 g/l Gesamtprotein erhalten. Die Proteinkonzentration ist abhängig vom Entnahmeort (lumbal: 0,180–0,480, suboccipital: 0,160–0,310, ventrikulär: 0,120–0,210 g/l).

Laktat- und Glukosebestimmung im Liquor

Es empfiehlt sich die gleichzeitige Bestimmung der Konzentrationen von Glukose in Liquor und Serum (siehe Grundprogramm), weil der Quotient Liquor/Serum aussagekräftiger ist als die Einzelmessung im Liquor. Ein erniedrigter Glukosequotient bei gleichzeitig erhöhten Liquor- und Laktatwerten ist charakteristisch für akut eitrige Tbc- oder fungale Meningitiden. Virale Meningitiden weisen typischerweise hingegen normale Glukose- und Laktatwerte auf. Abgesehen von postoperativen Hypoxämien finden sich nur bei einer eitrigen oder Tbc-Meningitis erhöhte Laktatwerte.

Ausschluss von ZNS-Blutungen:

Ferritin

Mit der Liquor-Ferritin-Bestimmung können Subarachnoidalblutungen (SAB) nachgewiesen oder ausgeschlossen werden, insbesondere bei älteren oder kleineren Subarachnoidalblutungen; aber auch zur Abschätzung der Prognose bei Herpes-simplex-Enzephalitis (häorrhagisch-nekrotisierende Form). Bei der SAB handelt es sich um eine spontane arterielle Blutung, meist aufgrund zerebraler Aneurysmata. «Verpasste» Patienten bluten häufig wieder, sind dann aber in schlechterem Allgemeinzustand und haben eine wesentlich schlechtere Prognose. Die Liquor-Ferritin-Bestimmung sollte in jedem Labor, das notfallmässig Liquor untersucht, vorhanden sein, da die vorhandenen, automatisierten Serummethoden nach Validierung gut im Liquor anwendbar sind und die Beurteilung einfach ist. Beim Ferritin handelt es sich um

eisenbindendes Protein, das auch bei normalen Verhältnissen im ZNS lokal durch Mikroglia synthetisiert wird (Referenzbereich <10 µg/l). Da 98% des CSF-Ferritins aus dem ZNS stammen, ist es nicht sinnvoll, L/S-Quotienten zu bewerten. Die Ferritinbestimmung hat eine hohe Spezifität und Sensitivität (ungefähr 95%) für SAB bei einem Grenzwert von 12–18 µg/l (je nach Messmethode). Voraussetzung für einen Anstieg ist eine Abnahme etwa zwölf Stunden nach dem Ereignis. Geringere Anstiege werden auch bei artifiziellen Blutungen oder akuten Zellestrukturen (bis etwa 15 µg/l) gefunden. Bei höheren Werten kommen differentialdiagnostisch Begleitblutungen bei HSV-Enzephalitis, Tumoren und bakteriellen Meningitiden in Betracht [45].

Ausschluss von älteren ZNS-Blutungen: Siderophagen und Hämatoidinkristalle im Zellpräparat

Alternativ lassen sich im Zellbild Erythrophagen und bei älteren Blutungen (mehr als drei Tage) Siderophagen oder Hämatoidinkristalle (mehr als acht Tage) nachweisen. Dazu ist eine spezielle Eisenfärbung der Präparate mit Berliner Blau erforderlich.

Erregerschnellnachweis

Es werden Latex-Agglutinations-Tests durchgeführt, um akute Meningitiden besser charakterisieren zu können und früh und gezielt mit einer medikamentösen Therapie beginnen zu können. Der Erregerschnelltest sollte nur durchgeführt werden, wenn ausreichend Liquor vorhanden ist und somit die Durchführung anderer aussagekräftiger Parameter nicht behindert wird. Er ersetzt keine normale mikrobiologische Abklärung. Mit den kommerziellen Testkits werden lösliche Antigene der wichtigsten Erreger bakterieller Meningitiden nachgewiesen (Neisseria meningitidis A, B; E. coli K1, C Y/W 135; Haemophilus influenzae Typ b; Streptococcus pneumoniae; Streptococcus Gruppe B). Agglutination mit einem der Latex-Reagenzien zeigt das entsprechende Antigen im Liquor an. Bei Agglutination mit zwei oder mehr Latex-Reagenzien oder mit einem entsprechenden Kontrolllatex ist das Ergebnis nicht interpretierbar.

Liquorzellendifferenzierung

Spätestens nach zwei Stunden müssen die Zellen gezählt und die zytologischen Präparate erstellt sein, ansonsten ist mit einer fehlerhaften Zellzahl und Zelldifferenzierung zu rechnen. Insbesondere die Autolyse von Granulozyten führt dann zu Fehlinterpretationen. Zum Notfallprogramm gehört die Anfertigung von mindestens einem zytologischen Präparat (besser zwei für eventuelle Zusatzfärbungen wie Gram- oder Berliner-Blau-Färbung). Die Präparate können auch erst am folgenden Tag durch das Laborpersonal gefärbt und ausgewertet werden. Im Rahmen der Notfalluntersuchung wird die zytologische Beurteilung oft schon nach Anfärbung der Zellen in der Zählkammer vorgenommen. Sicherer kann die Abgrenzung granulözytärer und lymphözytärer Pleozytosen auf farbbeschichteten Objektträgern (Testsimplets) vorgenommen werden. Falls der Liquor nach Durchführung der Akutdiagnostik nicht innerhalb der folgenden zwei Stunden weiter untersucht wird, kann man ihn bei 4 °C zu lagern, um die unvermeidlichen Verfälschungen in Grenzen zu halten.

Für die Untersuchung der Zellmorphologie sind mindestens drei Milliliter Liquor erforderlich [27, 46]. Je grösser das überbrachte Liquorvolumen ausfällt, desto erfolversprechender ist die Suche nach Tumorzellen [27, 46]. Deshalb sollte immer reichlich Liquor entnommen werden. Da die Liquorprobe des ersten abgenommenen Proberöhrchens mit Frischblut kontaminiert sein kann und das am Schluss erhaltene Material häufig kaum Zellen enthält, eignet sich für die Zelluntersuchung in erster Linie der Liquoranteil des zweiten oder dritten abgenommenen Röhrchens. In diesen Proben ist die Zellzahl erfahrungsgemäss am grössten.

Wiederholte Liquoruntersuchungen wurden empfohlen, um eine Tumordiagnose zu stellen [48]. Dies führt häufig jedoch nicht zu einer höheren Sensitivität und kann sogar durch die auftretende Reizpleozytose zu falschen Schlussfolgerungen führen. So können zum Beispiel entzündliche Konstellationen vorgetäuscht werden. Auch Erythrophagen finden sich häufig.

Grundsätzlich sollte die Herstellung der Präparate innert ein bis zwei Stunden nach Abnahme erfolgen. Gefärbte Präparate sind nahezu unbegrenzt haltbar und können auch in andere Färbungen umgefärbt werden. Konservierungen mit Alkohol haben sich nicht bewährt. Der Zellverlust ist unkalkulierbar und betrifft nicht alle Zellen gleichermassen, was die Beurteilung noch erschwert [49]. Eine Alternative bietet eventuell die automatisierte Dünnschichtmethode (Sure-Path®, ThinPrep®): Dabei wird die Liquorprobe in eine spezielle Fixationslösung gegeben und anschliessend im Labor zu einem Dünnschichtpräparat verarbeitet [50]. Die Wertigkeit dieser Methode kann aber noch nicht abschliessend beurteilt werden. Das Einsendegefäss sollte aus Kunststoff und nicht aus Glas sein, weil sich die Zellen an der Glaswand anlagern und der Diagnostik entzogen werden. Potentielle Probeneinsender müssen die Logistik ihres Transportsystems an die zeitlichen Anforderungen (Verarbeitung der Zellen innerhalb von ein bis zwei Stunden) anpassen, um valide und aussagekräftige Ergebnisse erhalten zu können.

Im Labor wird die Probe makroskopisch hinsichtlich der Menge, der Farbe, der Trübung und auch dem Nachweis von Gerinnseln beurteilt. Verschiedenste Methoden der Liquor-aufarbeitung wurden beschrieben, etabliert ist heute die Zellpräparation aber fast ausschliesslich mit der Zyto-zentrifuge (Hettich oder Shandon) und kaum noch mit der Methode von Sayk oder der Filtration, weil die Zyto-zentrifugation besser standardisierbar ist, eine höhere Zellausbeute liefert und sich auch schneller durchführen lässt.

Bei den Färbemethoden wird von den Liquorzytologen die Pappenheimfärbung (May-Grünwald/Giemsa) bevorzugt. Als Zusatzfärbungen kommen die Gramfärbung, Berliner Blau und Tusche für Kryptokokken und weitere Spezialfärbungen (z.B. Lymphozyten-antigene) zum Einsatz. Auch die Färbung nach Papanicolaou ist sehr verbreitet. Sie zeigt hervorragend die nukleären und zytoplasmatischen Charakteristika [51]. Die Färbung ist für die Diagnose von hirneigenen Tumo-

ren, Lymphomen und Karzinometastasen geeignet.

Flowzytometrie

Allgemein ist die Typisierung hämatologischer Erkrankungen nicht Aufgabe der Liquorzytologie. Diese Verfahren benötigen für die statistische Sicherheit mehrere hundert oder sogar Tausende von Zellen. Dies ist möglich bei zellreichen Liquores und kann eventuell durch grosse Abnahmemengen von Liquor erreicht werden.

Die Flowzytometrie (Durchflusszytometrie) wird bei der Frage nach Entzündungen oder Autoimmunerkrankungen angewendet. Zudem können mittels dieser Untersuchung Lymphome oder Leukämien typisiert werden (Immunphänotypisierung).

Die zu beurteilenden Zellen werden in einem Flüssigkeitsstrom durch ein Laserlicht geschickt. Dabei wird das Licht von den Zellen gestreut und anschliessend detektiert. Die dadurch erhaltenen Streudaten werden digitalisiert und als so genannter «dot blot» in einem Diagramm wiedergegeben. Das Vorwärtsstreulicht (FSC) wird gemessen, wenn das Licht entlang der Achse des Laserstrahls gestreut wird. Diese Streuung ist proportional zur Zellgrösse. Das rechtwinklig zum Laserstrahl gestreute Licht korreliert mit dem Gehalt an Zellgranula im Zytoplasma (Zellgranularität oder SSC). Mittels FSC und SSC lassen sich Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten voneinander abgrenzen.

Nach Behandlung mit Antikörpern, die an Fluorochrome, wie Fluoreszenzisothiocyanat (FITC) oder Phycoerythrin (PE), gekoppelt sind, werden Oberflächenantigene der zu typisierenden Zellen erkannt. Durch diesen Vorgang können die Zellen genau zugeordnet werden, was eine immunzytologische Charakterisierung von hämatologischen und lymphatischen Neoplasien im Liquor erlaubt. Eine gleichzeitige Untersuchung von Liquor und Blut erscheint dabei sinnvoll, da so der Zellgradient zwischen den beiden Körperflüssigkeiten beurteilt werden kann.

Fortbildungsmöglichkeiten

Die Liquorzytologie stellt besondere Anforderungen an das Labor. Autolyti-

sche Vorgänge sind im Liquor ex vivo durch den niedrigen Proteingehalt und die dadurch geringe Pufferkapazität beschleunigt, hämatologische Kriterien zur zytologischen Beurteilung des Liquors lassen sich nur begrenzt anwenden. So bereitet die Unterscheidung zwischen aktivierten Lymphozyten/Plasmazellen bei entzündlichen Erkrankungen und neoplastischen Zellen immer wieder grosse Schwierigkeiten. In letzter Zeit sind jedoch einige Standardwerke erschienen, die insbesondere auch auf die Besonderheiten der Liquorzytologie eingehen. Im Besonderen sei auf den Atlas der praktischen Liquorzytologie verwiesen, der kürzlich durch eine Lehr-CD ergänzt wurde [52]. Weiterhin werden INSTAND-Ringversuche zur Liquorzytologie im halbjährlichen Wechsel in Dresden und Basel durchgeführt. Zusätzlich findet sich eine Datenbank mit typischen Präparaten in der Pathologie Basel in Aufbau, die frei über das Internet erreichbar ist. (<http://nikt.unibas.ch/vslides>; «slide type»: Cytology)

Bestimmung der Liquorproteine: Basisprogramm

Liquor wird entnommen, um die Blut-Liquor-Schranke zu beurteilen und eine intrathekale Immunglobulinsynthese entweder nachzuweisen oder auszuschliessen. Dazu muss dem Patienten neben Liquor immer gleichzeitig Serum entnommen werden. Aus beiden Materialien werden Albumin und die Immunglobuline IgG, IgA und IgM bestimmt und deren Liquor/Serum-Quotienten gebildet («Q», siehe Abb. 2). Die Bestimmung dieser Parameter muss in gleicher Serie auf einem Nephelometer oder ELISA erfolgen. Turbidimetrische Methoden auf Analysenautomaten verfügen nicht über die notwendige analytische Empfindlichkeit und Präzision [53]. Weiterhin wird eine isoelektrische Fokussierung des Liquor/Serum-Paars durchgeführt (Abb. 3). Die Ergebnisse müssen in einem integrierten Befundbericht zusammengeführt werden, spezielle Software ist über die Hersteller der Nephelometer erhältlich. Zentraler Bestandteil ist die Beurteilung der Liquor-Blut-Schranke sowie der Nachweis einer intrathekalen Produk-

tion in der isoelektrischen Fokussierung oder der Reiber-Formel.

Schrankenfunktion und Albuminquotient, Totalprotein

Analog zur Kreatinin-clearance kann eine Aussage über die Schrankenfunktion getroffen werden, wenn man die Konzentration eines geeigneten Parameters vor (Serum) und nach (Liquor) der Schranke misst. Da Albumin nicht im ZNS synthetisiert wird und nur passiv diffundiert, kann mit diesem Parameter die Schrankenfunktion überprüft werden.

Der Albuminquotient «QAlb» ($\text{Alb}_{\text{CSF}}/\text{Alb}_{\text{Serum}}$) bildet die Grundlage für alle weiteren Berechnungen des Reiber-Schemas.

Eine aussagekräftige Liquorproteinuntersuchung benötigt immer die gleichzeitige Proteinbestimmung im Liquor und im Serum im gleichen Analysenansatz. Somit kann eine alleinige Albuminbestimmung in der Notfallanalytik nicht erfolgen und die alleinige Analyse von Liquor ohne Serum ist wenig aussagekräftig, ebenso wie ein allein angefordertes Liquor-Totalprotein. Das Totalprotein hat heute noch neben Zellzahl, Zellbild, Liquor-Laktat und Glukose seine Berechtigung als Notfallparameter zur schnellen Überprüfung (z.B. bei bestimmten postoperativen Fragestellungen). Es dient in der fachgerechten Routineanalytik des Liquors, deren Ziel die Beurteilung von Schrankenfunktion und intrathekalen Immunglobulinsynthese ist, heute nur noch zur Plausibilitätskontrolle (Liquor-Albumin entspricht etwa 50–60% des Totalproteins).

Die Schrankenfunktion ist vom Patientenalter abhängig, die Grenzwerte variieren deshalb auf dem EDV-Ausdruck (Formel: $[\text{Alter}/15] + 4$) oder sind im Reiber-Schema an den Altersgrenzlinien abzulesen. Sicher definierte Grenzlinien sind erst ab einem Alter von sechs Jahren erhältlich. Bei Neugeborenen und Kindern unter zwei Jahren sollten die Ergebnisse mit dem Labor besprochen werden.

Neben einer Schrankenstörung führt eine Behinderung des Liquorflusses ebenfalls zu einer Erhöhung des Albuminquotienten (z.B. Diskushernie, Meningealkarzinosen, Arachnoiditiden usw.). Die Behinderung des Li-

quorflusses ist wahrscheinlich in den meisten Fällen der entscheidende Faktor für eine Erhöhung des Quotienten.

Qualitativer Nachweis einer intrathekalen Ig(G)-Synthese:

oligoklonale Banden (isoelektrische Fokussierung)

Die isoelektrische Fokussierung (IEF) ist die empfindlichste und spezifischste Methode zum Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion. Bei der isoelektrischen Fokussierung handelt es sich um eine Hochspannungselektrophorese mit selektiver Darstellung der IgG-Region. Das Liquor/Serum-Paar eines Patienten wird nebeneinander aufgetragen und die Anzahl der Banden miteinander verglichen. Selektive Banden im Liquor entsprechen einer intrathekalen Immunglobulinsynthese (Abb. 3). Die Anzahl der Banden ist von der verwendeten Methodik abhängig (in der Regel zwei bis vier). Im Einsatz sind z.B. die SDS Gel Elektrophorese, die isoelektrische Fokussierung kombiniert mit Agarose Immunoblot oder mit Immunfixation. Die Methode sollte deshalb auf dem Befundbericht angegeben werden. Reine Elektrophoreseverfahren sind obsolet. Werden bei der isoelektrischen Fokussierung mehrere IgG-Banden gefunden, die ausschliesslich im Liquor (aber nicht im Serum) vorkommen, ist eine intrathekale IgG-Synthese nachgewiesen (Nachweis oligoklonaler Banden, «positive isoelektrische Fokussierung»). Wird eine grosse Bandenzahl im Liquor nachgewiesen, spricht dies für einen «liquornahen» Prozess, aber nicht für eine stärker ausgeprägte Grunderkrankung (Abb. 1). Aufgrund der Anzahl der Banden im Bereich der Immunglobuline ist es auch deshalb nicht möglich, auf die Zahl der Plasmazellklone zu schliessen, da mit aktuellen Techniken, je nach Leistungsfähigkeit, auch monoklonales IgG in mehrere Banden aufgetrennt wird.

Alle Methoden unterscheiden jedoch fünf Muster der oligoklonalen IgG-Banden, die nach internationalem Konsens beurteilt werden (Abb. 3). Dabei entsprechen Typ 2 und Typ 3 einer intrathekalen Immunglobulinsynthese. Typ 4 und Typ 5 widerspiegeln in der Peripherie ablaufende

Immunantworten, d.h. die erhaltenen Muster erlauben auch Rückschlüsse auf primär systemische Ursachen einer intrathekalen Immunglobulinsynthese.

Quantitativer Nachweis entzündlicher ZNS-Prozesse:

erhöhte Immunglobulinquotienten

Im Rahmen von entzündlichen ZNS-Erkrankungen oder demyelinisierenden Erkrankungen werden intrathekal Immunglobuline synthetisiert. Eine erhöhte Liquor-Immunglobulin-Konzentration kann aber auch durch einen vermehrten Übertritt aus dem Blutplasma hervorgerufen werden. Um dies zu berücksichtigen, wird Albumin, das intrathekal niemals synthetisiert wird, zur Beurteilung der Schrankenfunktion benutzt. Reiber et al. haben bewiesen, dass der Zusammenhang zwischen Schrankenfunktion, und Immunglobulinproduktion einer hyperbolischen Funktion folgt. Im Reiber-Schema repräsentiert die X-Achse (QAlb) die Schrankenfunktion und die Y-Achse (QIgG, QIgA, QIgM) zeigt die intrathekale Synthese des jeweiligen Immunglobulins an. Die horizontalen Grenzlinien entsprechen der Syntheserate in Prozent. Das Muster der Immunglobuline in Kombination mit der Schrankenfunktion lässt Rückschlüsse auf die Grunderkrankung zu und bildet gleichzeitig die Grundlage weiterführender serologischer Berechnungen (QSpez, oder auch AI, Antikörperspezifischer Index). Wie bei den oligoklonalen Banden ist die Höhe der Veränderung eines einzelnen Immunglobulins nicht entscheidend, sondern das Immunklassen-Muster, da im Liquor der Wechsel von der IgM- zur IgG-Synthese fehlt bzw. nur sehr unvollständig stattfindet.

Beurteilung der Liquor-Basis-Diagnostik

Zunächst wird die Schrankenstörung beurteilt mit Hilfe des «QAlb», des Quotienten Albumin im Liquor zu Serum, dann erfolgt die Abklärung einer intrathekalen Immunglobulinsynthese mit Hilfe von «QIgG», «QIgA» und «QIgM». Das Reibergramm erlaubt eine Toleranz von 10%, bevor eine intrathekale Produktion vorliegt. Höhere Werte sprechen nicht für eine

stärker ausgeprägte Grunderkrankung, sondern kennzeichnen die räumliche Nähe der Veränderungen zum Liquor. Dieser komplexe Sachverhalt lässt sich am besten graphisch darstellen.

Der Wert der quantitativen Analytik, die Darstellung im Reiber-Schema und der integrierte Befundbericht

Die isoelektrische Fokussierung ist das empfindlichste Verfahren, um eine intrathekale IgG-Produktion nachzuweisen. Bei der Enzephalitis disseminata (MS) sind oligoklonale Banden, je nach Literaturstelle, in 95 zu 100% nachweisbar, während die quantitative Immunglobulinproduktion nach Reiber nur in etwa 75% nachweisbar ist. Eine Routinemethode zur isoelektrischen Fokussierung von IgA und IgM ist momentan nicht erhältlich.

Im ZNS fehlt im Gegensatz zum peripheren Immunsystem der Wechsel der Immunglobulinsynthese von der IgM- zur IgG-Klasse. Die intrathekale Immunreaktion ist eher von den individuellen Pathomechanismen der einzelnen Erreger abhängig und ändert sich im longitudinalen Verlauf wenig, es bilden sich krankheitsbezogene Antikörpermuster. Durch die Darstellung der humoralen Immunreaktion und Schrankenfunktion in Quotientendiagrammen können diese Muster im Rahmen eines integrierten Befundberichtes erfasst werden [40, 41] und dann sinnvoll durch zusätzliche Parameter zum spezifischen Erregernachweis ergänzt werden.

Ursache einer intrathekalen Immunreaktion kann neben einer akuten entzündlichen Erkrankung eine bereits mehrere Jahre zuvor abgelaufene Infektion («Liquornarbe»: z.B. Neurosyphilis, Herpes-simplex-Enzephalitis) oder auch ein chronisch entzündlicher Prozess im Rahmen einer Autoimmunerkrankung (z.B. Multiple Sklerose) sein. Zur weiteren Abgrenzung vor allem im Hinblick auf Akuität müssen hier neben der Klinik die Zellzahl, das Differentialzellbild (aktivierte B-Zellen, Plasmazellen) und die Schrankenfunktion (Q_{alb}) beurteilt werden.

Zum Zeitpunkt der ersten diagnostischen Lumbalpunktion bei Multipler Sklerose (MS) oder Neurosyphilis zeigt sich meist ein typisches Muster der

intrathekalen Immunglobulinproduktion (Ein- bis Drei-Klassen-Reaktion) mit IgG-Dominanz ohne Erhöhung der Zellzahl und normaler Schrankenfunktion. Typisch für die Neurotuberkulose, Hirnabszesse oder die Adrenoleukodystrophie ist eine dominante IgA-Synthese. Eine IgM-Dominanz findet sich dagegen typischerweise bei Neuroborreliose, Mumps-Meningoenzephalitis oder Non-Hodgkin-Lymphomen mit ZNS Beteiligung. Somit ist eine intrathekale IgM-Synthese durch den fehlenden Immunglobulinklassenwechsel im Gegensatz zum peripheren Immunsystem keineswegs mit einer akuten Erkrankung gleichzusetzen, sondern ermöglicht gewisse Rückschlüsse auf die Grunderkrankung. Das Muster bei der akuten Neuroborreliose mit erhöhter Zellzahl, einer dominanten IgM-Klassenreaktion, Blut-Liquor-Schrankenfunktionsstörung, und normalem Laktat hat bereits eine klinische Sensitivität von 70% und Spezifität von 96% vor dem Nachweis der intrathekalen Borrelienantikörpersynthese, während der molekularbiologische Nachweis (PCR) nur eine Sensitivität von 30–40% erreicht [54].

Mikrobiologie: Stellenwert des Nachweises erregerspezifischer Nukleinsäuren mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechniken [45]

Der mikrobiologische Direktnachweis durch Grampräparat und Erregeranzucht sprengt den Rahmen dieses Artikels und wird hier nicht näher besprochen. Besonderheiten finden sich jedoch bei Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT) als Methoden zum direkten Erregernachweis. Sie kommen in der Liquoranalytik zur Anwendung bei Verdacht auf virale Infektionen und haben eine hohe diagnostische Aussagekraft bei:

- Herpes-simplex-Virus-Enzephalitis [54],
- (HSV-1, Sensitivität $\geq 95\%$), Mollaret-Meningitis (HSV-2, Sensitivität etwa 85%),
- Varizella-Zoster-Virus (VZV)- und Epstein-Barr-Virus (EBV)-Infektionen
- AIDS-assoziierte primär zerebrale Non-Hodgkin-Lymphome (Sensitivität 75–90%),
- progressiver multifokaler Zytomega-

lievirus-Enzephalitis (CMV, Sensitivität 80–90%),

- Leukoenzephalopathie (JC-Virus, Sensitivität 75–90%),
- Enterovirusmeningitis (Sensitivität 90%), HIV-1-Infektion des Nervensystems.

Sie haben eine ergänzende diagnostische Aussagekraft bei bakteriellen und parasitären Infektionen:

- tuberkulöse Meningitis (*Mycobacterium tuberculosis*, Sensitivität 50–90%),
- Neuroborreliose (*Borrelia burgdorferi*, Sensitivität <50–85%),
- bakterielle Meningitis bei antibiotischer Vorbehandlung (Sensitivität 85–95%),
- Morbus Whipple (*Tropheryma whipplei*, Sensitivität 70–80%),
- zerebrale Toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*, Sensitivität etwa 50%).

Es sind ein bis zwei Milliliter nativer Liquor und drei bis fünf Milliliter für die TB-Analytik erforderlich, bei langen Transportwegen wird eine Kühlung (4 °C) benötigt. Der positive Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuresequenzen belegt in der Regel eine floride Infektion des Nervensystems. Voraussetzung für eine korrekte Interpretation von PCR-Befunden sind wegen der hohen Kontaminationsanfälligkeit der Methode das Mitführen adäquater Positiv- und Negativkontrollen sowie zur Bestätigung der Spezifität des amplifizierten Materials die Hybridisierung des PCR-Produktes an eine DNA-Sonde mit Spezifität für die gesuchte mikrobielle Nukleinsäuresequenz oder die Nukleotidsequenzanalyse der Amplifikate. Die Sensitivität der NAT-Testmethoden kann von Labor zu Labor variieren [45].

Erregerspezifische Antikörper im Liquor und Serum (IgG-Klasse, IgM oder IgA)

Hiermit können akute Erkrankungen charakterisiert werden (z.B. Herpesvirus- und Zoster-Erkrankungen, opportunistische Infektionen, Borrelien) und chronisch-entzündliche Prozesse im ZNS (Multiple Sklerose, Autoimmunerkrankungen mit ZNS-Beteiligung, Opticus-Neuritis) mittels Antikörpernachweis durch Enzymimmu-

noassay nachgewiesen werden. Je zwei Liquor- und Serumwerte werden synchron auf derselben Platte in entsprechender Verdünnung zusammen mit einer Standardverdünnungsreihe gemessen. Die Auswertung der willkürlichen Konzentrationseinheiten erfolgt als spezifische Liquor/Serum-Quotienten, die auf Q_{IgG} oder auf den oberen Grenzwert (Q_{Lim}) des Referenzbereiches bezogen werden (AI oder ASI, Antikörper-Spezifität-Index). Zumindest bei Borrelien ist wegen höherer Sensitivität auch die Bestimmung des IgM-AI, für VZV des IgA-AI empfehlenswert. AI-Werte zwischen 0,7 bis 1,3 sind in der Regel als normal, klinisch definiert AI-Werte >1,5 als pathologisch zu bezeichnen. Werte <0,6 sind theoretisch nicht zu erwarten, kommen aber in der Routine gelegentlich dennoch vor. Sie haben keine pathologische Bedeutung; jedoch ist eine Fehlersuche empfehlenswert. Auf die Verdünnungsechtheit im Testsystem ist besonders zu achten, eine numerische Angabe des AI ist empfehlenswert. Ein erhöhter Antikörperindex beweist eine intrathekale Synthese. Eine Kreuzreaktivität ist nicht grundsätzlich ausgeschlossen, so dass eine gemessene intrathekale Borrelienantikörpersynthese auch einem erhöhten TPHA-AI-Wert entsprechen kann. Ist eine Bestimmung des Antikörperindex nicht möglich, zum Beispiel weil die Antikörperkonzentration im Liquor unterhalb der analytischen Nachweisgrenze liegt, sollte trotzdem der Antikörperindex als wichtige Bezugsgrösse auf dem Befundbericht erscheinen (Antikörperindex «nicht nachweisbar») zusätzlich zum Ergebnis des Liquor-ELISA. (Negativbeispiel: VZV-ELISA im Liquor «negativ»?) Die Angabe des Antikörperindex dokumentiert dem Kliniker die korrekte Durchführung einer Diagnostik aus Liquor und Serum und vermeidet Rückfragen.

Chronisch-entzündliche Prozesse im ZNS

Multiple Sklerose: Bei Multipler Sklerose oder Autoimmunerkrankungen mit ZNS-Beteiligung wird mit bis zu 94% Häufigkeit eine intrathekale Synthese von Masern- und/oder Röteln- und/oder Zosterantikörpern gefunden,

die bislang für andere chronische Erkrankungen des ZNS nicht berichtet wurde (MRZ-Reaktion).

Neuroborreliose: Obwohl die Diagnose in erster Linie klinisch gestellt wird, hat hier der Nachweis von Antikörpern im Liquor ausgehend von den Serumbefunden eine besondere Bedeutung [56], da ein direkter Erregernachweis über die Kultivierung im Liquor stadienabhängig nur bei ca. 2–5% der Patienten gelingt. Der molekularbiologische Nachweis hat sich mit einer Sensitivität von 30–40% bisher noch nicht durchgesetzt [57, 58]. Meist kommt es zu mässigen Zellzahlerhöhungen mit einem hohen Anteil von B-Lymphozyten und Plasmazellen, wie er sonst auch bei Lymphomen beobachtet wird. Es findet sich häufig eine Drei-Klassen-Reaktion (intrathekale IgG-, IgA- und IgM-Bildung) mit Dominanz von IgM in der Reiber-Formel. Gleichzeitig ist eine stark gestörte Blut-Liquor-Schranke charakteristisch (Q_{alb} bis >50 × 10⁻³). Dieses Muster hat bereits vor dem Nachweis einer intrathekalen Borrelienantikörpersynthese eine Sensitivität von 70% und Spezifität von 98% [59]. Der Nachweis von Borrelienantikörpern im Liquor kann nur über den spezifischen Antikörperindex [intrathekale Borrelien-Antikörperbildung: Borrelien-AK-Konzentration (CSF)/Borrelien-AK-Konzentration (Serum): IgG-Konzentration (CSF)/IgG-Konzentration (Serum); positiv: >1,5] zusätzliche Informationen liefern, da bereits etwa 10% der gesunden Bevölkerung und 35% der Risikogruppen erhöhte Borrelienantikörpertiter im Serum aufweisen [60]. Ein erhöhter Antikörperindex ohne Liquorpleozytose oder Blut-Liquor-Schrankenstörung spricht für eine klinisch inapparent gebliebene Neuroborreliose ohne aktuelle Krankheitsaktivität [45].

Liquor-Befundkonstellationen bei akuten Infektionskrankheiten

Die Diagnose einer akuten Infektion des Nervensystems sollte so schnell wie möglich erfolgen. Ein bleibender Defekt kann Folge einer zu spät begonnenen Therapie sein. Zu den verhängnisvollsten Fehlern gehört das Unterlassen einer adäquaten Therapie bei Meningitiden und Enzephalitiden

mit nur geringer oder gar fehlender Pleozytose, etwa bei:

- der frühesten, präneutrophilen Phase einer Bakteriensepsis, z.B. bei Meningokokkensepsis oder der Overwhelming postsplenectomy infection (OPSI), einer lebensbedrohlichen Sepsis, meist durch Pneumokokken bei Patienten, denen die Milz entfernt wurde;
- der zu spät punktierten eitrigen Meningitis mit einer Aufbrauchneutropenie;
- der kortexnahen Hirnphlegmone vor der eitrigen Einschmelzung;
- dem Hirninfarkt durch einen infizierten Embolus bei florider Endokarditis;
- der Frühphase einer Herpesenzephalitis;
- bei antibiotischer Vorbehandlung aus verschiedenen Gründen.

Jede dieser Erkrankungen ist mit Hilfe eines CT oder – besser – eines MRT und einer Lumbalpunktion zu diagnostizieren, wenn man folgende Regeln beachtet:

- Grosse Teile kortikaler Hirnregionen («Pallium») lassen sich liquoranalytisch nicht beurteilen; deshalb kann eine lebensbedrohliche Frontalhirnphlegmone mit normalen Liquorbefunden einhergehen.
- Liquorbefunde hängen viel stärker als Blutbefunde von der Krankheitsphase ab.
- Die Entscheidung für oder gegen eine antibiotische Therapie muss am Tag der Aufnahme gefällt werden. Nicht immer wird man den Erreger sofort identifizieren können, zur Entscheidung bakteriell/viral ist eine Lumbalpunktion unerlässlich. Zur Liquoranalytik des Notfalls gehören:
 - die Unterscheidung einer Subarachnoidalblutung von einer punktionsbedingten Blutbeimengung (Unerfahrene sollten bei Blutungsverdacht – wenn möglich – einen Erfahrenen punktieren lassen),
 - die Beurteilung von Farbe und Transparenz des Liquors,
 - die akute Grobbeurteilung des Eiweissgehalts mit der Bestimmung des Liquor-Totalproteins,
 - die Zählung der Zellen in der Fuchs-

- Rosenthal-Zählkammer (normal <4/µl),
 – die Herstellung eines Ausstrichs bei trübem oder eitrigen Liquor mit Methylenblau- und Gram-Färbung,
- der Versuch einer Identifikation von Bakterien (Ölimmersion und Geduld),
 – die Herstellung eines Zellpräparats mit der Zytozentrifuge und folgend eine May-Grünwald-Färbung zur Differenzierung der wichtigsten Zelltypen (poly-/mono-nukleär?).
- Bei der Punktion unter Meningitisverdacht ist ein gesondertes Röhrchen zu entnehmen, das zusammen mit einer

Tabelle 1.
 Befundkonstellationen bei akuten Infektionskrankheiten.

Verdachtsdiagnose	Liquoruntersuchungen	Erwarteter Befund
Eitrige (bakterielle) Meningitis	Aussehen Zellzahl Zelldifferenzierung Methylenblau- und Gramfärbung Albuminquotient Pandy-Reaktion Laktat Lysozym	Trübe mehrere Tausend/µl fast ausschliesslich Neutrophile Bakteriennachweis >20 × 10 ⁻³ +++ >3,5 mmol/l >1 mg/l
Virale Meningitis	Aussehen Zellzahl Zelldifferenzierung Albuminquotient Pandy (Totalprotein)-Reaktion Laktat	transparent bis mehrere Hundert/µl überwiegend Mononukleäre >20 × 10 ⁻³ + <3,5 mmol/l
Hirnhlemone und -abszess	Zellzahl Zelldifferenzierung Immunglobuline CT, MRT	bis einige Hundert/µl Mononukleäre und /oder Neutrophile IgG und IgA (ab 2. Woche) zunächst entzündliches Infiltrat (Phlegmone), dann Nekrose mit Kapsel
Herpes-simplex-Enzephalitis	Zellzahl Zelldifferenzierung HSV-PCR lokale Antikörper MRT	bis einige Hundert/µl überwiegend Mononukleäre sensitiv und spezifisch ab 2. Woche positiv Temporalhirninfiltrat in der 1. Woche (CT noch negativ)
Akute Neuroborreliose	Zellzahl Zelldifferenzierung Albuminquotient Immunglobuline Serologie	einige Hundert/µl überwiegend Mononukleäre, bis 25% aktivierte B-Lymphozyten und Plasmazellen <50 × 10 ⁻³ IgM >IgG >IgA Borrelienantikörper
Tuberkulöse Meningitis	Zellzahl Albuminquotient Pandy (Totalprotein)-Reaktion Zelldifferenzierung Glukose Laktat Immunglobuline Kultur und PCR	bis 1500/µl >20 × 10 ⁻³ , bei 40% >100 × 10 ⁻³ +++ «buntes», überwiegend mononukleäres Zellbild <50% der Serumglukose >3,5 mmol/l IgA vermehrt, QIgA >QIgG Bakteriennachweis
Pilzmeningitis	Zellzahl Zelldifferenzierung Immunglobuline Kultur Spezialfärbungen	bis mehrere Hundert/µl überwiegend Mononukleäre lokale Produktion Pilznachweis Pilznachweis
Opportunistische Meningoenzephalitiden	Zelldifferenzierung Immunglobuline Albuminquotient Serologie	mononukleäre Pleozytose IgG, IgA, IgM vermehrt >10 × 10 ⁻³ Lokalsynthese spezifischer Antikörper
Zosterganglionitis	Zellzahl Zelldifferenzierung Albuminquotient Serologie PCR	bis 400/µl überwiegend Mononukleäre <20 × 10 ⁻³ lokale VZV-Antikörper (50%) DNA-Nachweis
Guillain-Barré-Polyneuritis	Albuminquotient Zellzahl	<50 × 10 ⁻³ (Erstpunktion auch normal) gelegentlich leichte mononukleäre Pleozytose

Beispiel zur Beurteilung der Tabelle: Bei der bakteriellen Meningitis haben 70% aller untersuchten Liquores eine Zellzahl ≥300, eine Zellzahl <5 findet sich nur in 5% [13].

Nachdruck mit freundlicher Genehmigung aus: Felgenhauer K, Beuche W. Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen, Tabelle 4.1. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1999.

Blutprobe und, wenn möglich, mit Rachen-, Ohr- oder Wundabstrichen zum Anlegen von Kulturen umgehend in das mikrobiologische Laboratorium zu bringen ist – wenn nötig mit einem Eilboten (Verdachtsdiagnose mitteilen!). Bei langem Transportweg Liquor in ein Blutkulturfläschchen füllen und warm halten. Gelingt der mikroskopische Nachweis von Bakterien nicht, dann ist oft noch der Nachweis von Bakterienantigenen mit einem Latexagglutinationstest möglich (Tab. 1).

Liquor-Befundkonstellationen bei weiteren neurologischen Erkrankungen

Eine Übersicht findet sich in Tabelle 2.

Demenzdiagnostik durch Bestimmung hirneigener Liquor-Proteine: NSE, S-100, Tau, Phospo Tau, β -Amyloid 1–42 und 14–3–3

Diese Analysen können momentan in der Schweiz nicht abgerechnet werden, sind aber sehr sinnvoll zur Diagnostik primärer Demenzen vom Alzheimertyp sowie der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung [62]. Die Analyse von Hirnproteinen ist differentialdiagnostisch nur auf dem Hintergrund eines

Liquorgrundprogramms und einer diagnostischen Fragestellung sinnvoll. Alle Liquor- und Serumproben uneingefroren (bei längerem Transport ggf. doch einfrieren, Vorsicht bei NSE) schnellstmöglich an das Labor versenden. Hierbei sind Polypropylenröhrchen zu verwenden, weil es sonst zu Absorptionen der Proteine an der Röhrchenwand kommt und damit zu Verlusten von β -Amyloid und Tau [63]. Die Liquorprobe sollte weiterhin blut- bzw. hämolysefrei sein, weil es sonst zu zu hohen NSE-Werten kommen kann.

Versandbedingungen

Tauprotein im Liquor ist bis eine Woche stabil (4 °C, Einfrieren schadet nicht). Tauprotein darf nicht in Glasbehältern aufbewahrt werden, am besten erfolgt die Abnahme in Polypropylenröhrchen. Zur Differentialdiagnose zu Creutzfeldt-Jakob am besten zusammen mit Protein 14–3–3, zur Differentialdiagnose von Alzheimer mit β -Amyloid 1–42 bestimmen. Für β -Amyloid die Liquorproben uneingefroren in Polypropylengefäßen verschicken; zur Differentialdiagnose des Alzheimer am besten zusammen mit Tauprotein bestimmen.

14–3–3

Das Protein ist im Liquor bis zu einer Woche stabil (bei Raumtemperatur oder 4 °C). Die Probe kann normal ohne Einfrieren versandt werden (Einfrieren stört nicht). Analysen werden, soweit bekannt, gegenwärtig nur durch die Prionenforschungsgruppe Göttingen auf der Basis einer gezielten Fragestellung (z.B. DD CJD versus andere Demenzen; telefonische Anmeldung Tel: +49 551/39 84 54) durchgeführt. In dem zur Zeit verwendeten Immunoblotverfahren gegen alle Isoformen der 14–3–3-Proteine im Liquor ergab sich an 288 getesteten Patienten eine diagnostische Sensitivität von 94% und eine diagnostische Spezifität von 93%. Seit kurzem werden Patienten, welche die Kriterien einer möglichen CJD erfüllen und einen positiven Liquorbefund aufweisen, unabhängig von ihrem EEG-Befund als wahrscheinliche CJD-Patienten eingestuft. Bei der neuen Variante der CJD (vCJD) findet sich bei der geringen Anzahl der untersuchten Patienten nur zum Teil ein positiver 14–3–3-Nachweis. Es muss beachtet werden, dass sich die oben beschriebene hohe diagnostische Sicherheit nur in der differential-

Tabelle 2.

Liquordaten bei neurologischen Erkrankungen und Häufigkeit pathologischer Werte (in Prozent).

Erkrankung	Zellzahl/ μ l				Laktat >2,5 mmol/l	Schrankenfunktion $Q_{AB} \cdot 10^{-3}$			Intrathekale Fraktionen			Spezifische Parameter	Optionale Tests
	<5	5–30	30–300	>300		<8	8–25	>25	IgG _{IF} >0	(Oligo)	IgA _{IF} >0		
Bakterielle Meningitis	5	5	20	70 (40% >2000)	100		100			20*			I, VI
Neuroborreliose		10	60	30 (<900)		60	40	38	(63)	33	75	1	II, VI
Neurotuberkulose		10	80	10	100		100	15	(20)	85			III, VI
Neurosyphilis	50	40	10			70	30 (<15)	50	(80)		x**	2	VI
HSV-Enzephalitis			100			100						3	IV, VI
VZV-Meningitis			60	40 (>600)		10	90		15	(15)		4	VI
VZV-Ganglionitis	20	30	50			90	10 (<10)	15	(30)			5	
HIV-Enzephalitis; St. I, II	60	40				85	15	10	(30)			6	II, VI
St. III	20	80				40	60	20	(45)			6	II, VI
Opportunist. Infektion (Toxopl. CMV, Kryptokok.)	60	30	10			25	75	50	(50)	50	50	7	II, VI
Multiple Sklerose	40	50	10			90	10	70	(98)		40	8	
Guillain-Barré-Polyradikulitis	80	20					100						
Degenerative Erkrankungen	100					100							V

*) Erregerabhängig, bei Meningo- und Pneumokokken **) Bei progressiver Paralyse beobachtet, jedoch nicht statistisch erfasst.

I) Gramfärbung. II) Aktivierte B-Lymphozyten, IgG, IgA, IgM-Klasse. III) Bakterienkultur, Tuberkulostearinsäure. IV) Antigennachweis mit PCR. V) Neuronenspezifische Enolase im Liquor zur Diskriminierung der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung von anderen degenerativen Prozessen. VI) Differentialzellbild.

1) Borrelienspezifischer Antikörper-Index (IgG- und IgM-Klasse); AI = 0,7–170,2. 2) Treponemaspezifischer Antikörper-Index. 3) HSV-Antikörper-Index nicht vor 6–7 Tagen nach Krankheitsbeginn erhöht. Antigennachweis (PCR) früher erfolgreich. 4) VZV-AI erhöht in 100% der Fälle, per Definition. 5) In 100% der Patienten war der VZV-AI erhöht. 6) HIV-Antikörperindex ist in 50–90% der Fälle, je nach Stadium, erhöht. 7) Antikörper-Index für Toxoplasma oder CMV ist erhöht. 8) Masern-, Röteln- und/oder VZV-Antikörper-Index ist in 94% der definitiven MS-Fälle erhöht. DD: Autoimmunerkrankung mit ZNS-Beteiligung.

(Aus: Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. Labmed. 19: 444–62.)

Tabelle 3.

	Kontrollen vs. AD	Neuropsych. ZNS-Erkrankung vs. AD	Non-AD-Demenz vs. AD
A- β 1–42	Cut-off = 643 pg/ml	Cut-off = 551 pg/ml	Cut-off = 556 pg/ml
Tau-Protein	Cut-off = 252 pg/ml	Cut-off = 293 pg/ml	Cut-off = 239 pg/ml

diagnostischen Abklärung einer sporadischen CJD gegenüber anderen Demenzen findet.

Tauprotein/ β -Amyloid

Das Tauprotein ist ein wesentlicher Bestandteil der bei der Alzheimer-Erkrankung vorkommenden intrazellulär gelegenen neurofibrillären Bündel. Mit dem zur Verfügung stehenden ELISA wird die Gesamtfraction des Tauproteins im Liquor erfasst, die zusätzliche Bestimmung des Phospho-Tau soll die diagnostische Sensitivität erhöhen. Bei bisher allen untersuchten dementiellen Erkrankungen ist die Gesamt-Tau-Fraktion im Liquor erhöht. Der mittlere Normwert liegt in der Gesamtschau der Veröffentlichungen unter 200 pg/ml. Bei dementiellen Erkrankungen finden sich Werte überwiegend zwischen 200 pg/ml und 1100 pg/ml. Diese Werte finden sich sowohl bei einer Alzheimer-Erkrankung, wie auch bei einer Multiinfarktdemenz. Eine kombinierte Beurteilung von Tau-Protein mit β -Amyloid bei der DD Alzheimer-Erkrankung anhand klinisch definierter Cut-off-Werte ist notwendig, charakteristisch ist die gleichzeitige Verminderung von β -Amyloid (Tab. 3). Wenn die Konzentration des Tauproteins 1400 pg/ml im Liquor übersteigt, bei gleichzeitiger Erniedrigung von β -Amyloid 1–42 (<600 pg/ml), ist die zusätzliche Analyse von 14–3–3-Protein sinnvoll. (Bei CJD finden sich gelegentlich nur gering erniedrigte β -Amyloid-Werte.)

In der differentialdiagnostischen Abklärung einer CJD ergab sich bei den bisher untersuchten Patienten bei einem Cut-off-Wert von 1400 pg/ml eine ähnlich hohe Sensitivität und Spezifität wie für das 14–3–3-Protein.

Phospho Tau

Die zusätzliche Bestimmung von Phospho Tau soll die diagnostische Sensitivität und Spezifität erhöhen, was durch eine Reihe von neueren Untersuchungen unterstützt wird.

Neuronenspezifische Enolase (NSE)

Die Neuronenspezifische Enolase (NSE) ist ein 78-kDa-Enzym der Glykolyse und in Neuronen oder neuroendokrinen Zellen lokalisiert. Im Liquor stammen 98% des Proteins aus dem ZNS. Pathologische Werte wurden in Serum und Liquor von Patienten mit Hirnschämien, Hirntumoren, Hirnblutungen und Hirntrauma gemessen. In der differentialdiagnostischen Abklärung einer CJD wurden bei einem Grenzwert von 35 ng/ml in 78% der Fälle erhöhte Werte gemessen, die Spezifität beträgt in dieser Gruppe 88%. Erhöhte Werte sind jedoch auch bei anderen ZNS-Erkrankungen mit Gewebedestruktion, abhängig von Lokalisation und Akuität, möglich.

S100-Protein

S100 ist ein vornehmlich im Nervensystem von Vertebraten vorkommendes saures kalziumbindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 21 kDa. Natives S100-Protein wird als Homo- oder Heterodimer mit den zwei isomeren Untereinheiten alpha und beta gefunden. Die S100-beta-Proteinspiegel (ganz überwiegend S100B = $\beta\beta$) im Liquor von 135 Patienten, die im Rahmen der nationalen CJD-Studie unter dem Verdacht auf eine CJD gesehen wurden, ergaben bei einem Grenzwert von 4,2 ng/ml eine diagnostische Sensitivität von 84% und eine Spezifität von 91%. Nach Kongressberichten fanden sich bei den wenigen untersuchten Patienten mit vCJD erhöhte Werte im Liquor. Erhöhte Werte sind ähnlich wie bei der NSE auch bei anderen ZNS-Erkrankungen mit Gewebedestruktion, abhängig von Lokalisation und Akuität, möglich.

Qualitätssicherung

Empfohlene Ausbildung und Fortbildung

Im deutschen Sprachraum haben sich die an der Liquordiagnostik Interessierten in der Gesellschaft für Liquor-

diagnostik und klinische Neurochemie zusammengeschlossen. Die «Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V. (DGLN)» ist eine Fachgesellschaft, die sich eine sach- und zielgerechte Vertretung, Unterstützung und Weiterentwicklung der labormedizinischen Fachgebiete Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie zum Ziel gesetzt hat. Sie führt regelmässig Laborkurse, Symposien und Fortbildungen zu allen Aspekten der Liquoranalytik durch. So ist auch der hier häufig zitierte Methodenkatalog auf der Website der Gesellschaft kostenlos und auch als Buch erhältlich [55].

Weiterhin hat die DGLN Richtlinien für die Ausbildung und für den Erwerb der Fachqualifikation Liquordiagnostik (Liquor-Zertifikat) erlassen. Der Erwerb der Fachqualifikation Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie (Liquor-Zertifikat) ist jedem zu empfehlen, der regelmässig Liquordiagnostik betreibt.

Im Rahmen der FAMH-Ausbildung sollte die Teilnahme an zumindest einem Liquorkurs der DGLN erfolgen, um grundlegende Kenntnisse in der Liquordiagnostik zu erwerben.

Qualitätskontrolle

Zu der Durchführung der Qualitätskontrolle gibt es eindeutige Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V. (DGLN), die auch im Internet frei erhältlich sind (www.dgln.de): Diese fordern, «dass sowohl für die interne wie die externe Qualitätskontrolle und insbesondere die klinische Interpretation als entscheidendes Bewertungskriterium die gebildeten Liquor/Serum-Quotienten beurteilt werden. Minimalvorschriften, die nur die Bewertung von Einzelmesswerten vorsehen, werden der Praxis einer qualifizierten Liquoranalytik nicht ausreichend gerecht. Kontrollierte Einzelwerte stellen zwar sicher eine gute Basis für die richtige Quotientenbildung dar.

Dennoch hängt die Qualität der Liquorproteinanalytik in ihrer methodischen Zuverlässigkeit wie klinischen Bedeutung entscheidend davon ab, dass Liquor und Serum stets zusammen analysiert und aufeinander bezogen werden. Wird jedoch die Analyse von Liquor- und Serumproben in unterschiedlichen Läufen oder gar mit verschiedenen Methoden, entgegen der Empfehlung der DGLN durchgeführt, so muss mit einem vermehrten systematischen Fehler (Unrichtigkeit) der Quotienten gerechnet werden, deren mittlere Wertlage ansonsten methodenunabhängig sein könnte, sofern die Verdünnungsexakte bei höherer Serumverdünnung sichergestellt ist [3]. Auch bei Verwendung gleicher Methoden mit geringem systematischem Fehler ist wegen ungünstiger Fortpflanzung zufälliger Fehler (Impräzision) in Einzelfällen dennoch eine unrichtige bzw. klinisch irreführende Quotientenbildung möglich; die Impräzision der Quotienten kann also auch grösser werden.

Die Herausforderung für die Liquoranalytik besteht also darin, einerseits durch Verwendung gleicher Methoden und deren interne und externe statistische Qualitätskontrolle nach RiLiBÄK für einen möglichst geringen Fehler zu sorgen und andererseits darüber hinaus die Plausibilität bzw. Richtigkeit der Quotienten und ihrer Interpretation durch interne Befundmusterkontrolle und Teilnahme an einem geeigneten Ringversuch zu überprüfen.

Für die wichtigste Qualitätssicherungsmaßnahme in der Liquordiagnostik, nämlich die Plausibilitätskontrolle der integrierten Patientenbefunde, gibt es keinerlei formale Vorschriften, sie bleibt dem Wissen und der Erfahrung des Laborleiters vorbehalten.

Eine generelle, bis jetzt nicht zufriedenstellend gelöste Einschränkung stellt auch die Verfügbarkeit ausreichend stabiler Kontrollmaterialien in Liquormatrix mit zuverlässiger methodenabhängiger Sollwertermittlung dar. Während dies für die Zellanalytik a priori unpraktikabel und von der deutschen RiLiBÄK auch nicht gefordert ist, ist die übergangsweise tolerierte Praxis, Liquorkontrollen für die Proteinanalytik durch Verdünnen von Serumkontrollproben auf klinisch relevante Liquorkonzentrationen selbst herzustellen, nicht mehr

zulässig. Aktuell verfügbare kommerzielle Kontrollen erfüllen die Anforderungen (Stabilität, wirkliche Liquormatrix, methodenabhängige Sollwertermittlung, klinisch relevante Sollwertlage), leider nur teilweise» [64]. Die Richtlinien sind publiziert worden und sind zusätzlich auch über die Webpage erhältlich [65].

Die externen Ringversuche von INSTAND (oder CSCQ) überprüfen nicht nur die Qualität der Liquoranalytik. Die erhaltenen Resultate müssen auch in Ihrem Zusammenhang als Liquor/Serum-Quotienten beurteilt werden, so dass sie diesen Forderungen am ehesten entsprechen.

Darstellung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Liquoranalytik sollten in einem integrierten Befundbericht an den Einsender übermittelt werden. Der Befund sollte die folgenden Ergebnisse enthalten:

- visuelle Inspektion des Liquors,
- Zytologie: Zellzahl und Zelldifferenzierung,
- Proteinanalytik: Gesamteiweiß im Liquor, Albumin, IgG, IgA, IgM in Liquor und Serum,
- isoelektrische Fokussierung zum Nachweis oligoklonaler IgG's,

- Nachweis erregerspezifischer Antikörper in Liquor und Serum (ELISA, Antikörperindex): ein Antikörperindex sollte als «nicht nachweisbar» berichtet werden, wenn der Liquor ELISA unterhalb der analytischen Nachweisgrenze liegt,
- Laktat,
- fallgerechte Einbeziehung weiterer Parameter (Tumorzytologie, Demenzmarker, Tumormarker usw.).

Die interpretierende Zusammenfassung aller Daten des Grundprogrammes ist dringend erforderlich. Sollten Daten in einem anderen, z.B. virologischen oder mikrobiologischen Laboratorium erstellt werden, so ist es dennoch notwendig, die Daten in Kooperation in einen integrierten Gesamtbefund aufzunehmen (Abb. 5).

Schlusswort

Die Liquoranalytik trägt bei einer Vielzahl akuter und chronischer neurologischer Erkrankungen zur differentialdiagnostischen Eingrenzung und Entscheidungsfindung bei. Aus den Befunden der obligaten Basisdiagnostik (Zellzahl bzw. Zellbild, Albuminquotient, Nachweis intrathekalen Antikörperproduktion in der isoelek-

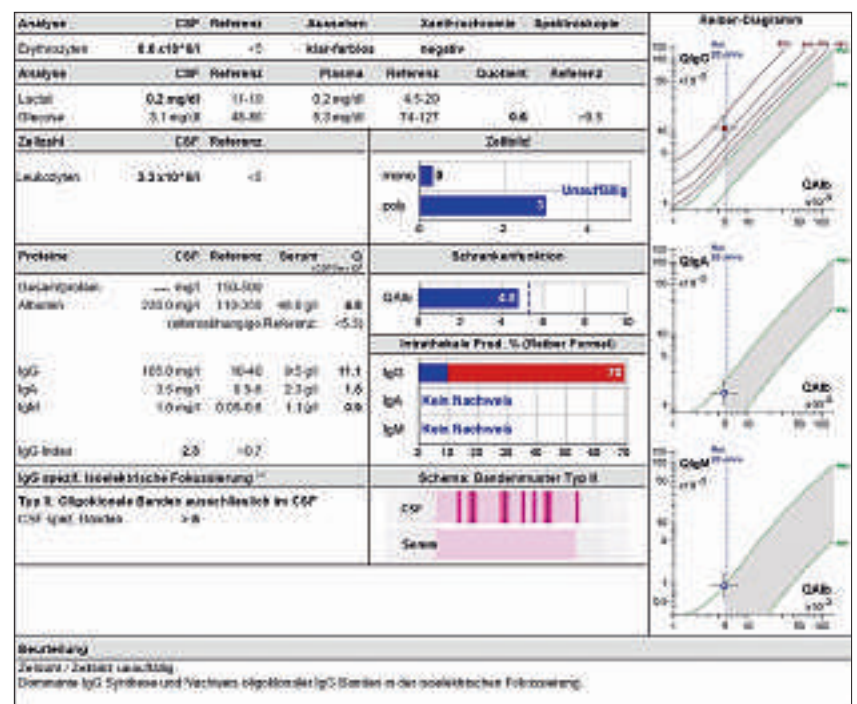


Abbildung 5a.

Graphische Zusammenfassung der wichtigsten Kennzahlen der Liquoranalytik im kombinierten Basler Befundbericht (Beispiel Multiple Sklerose).

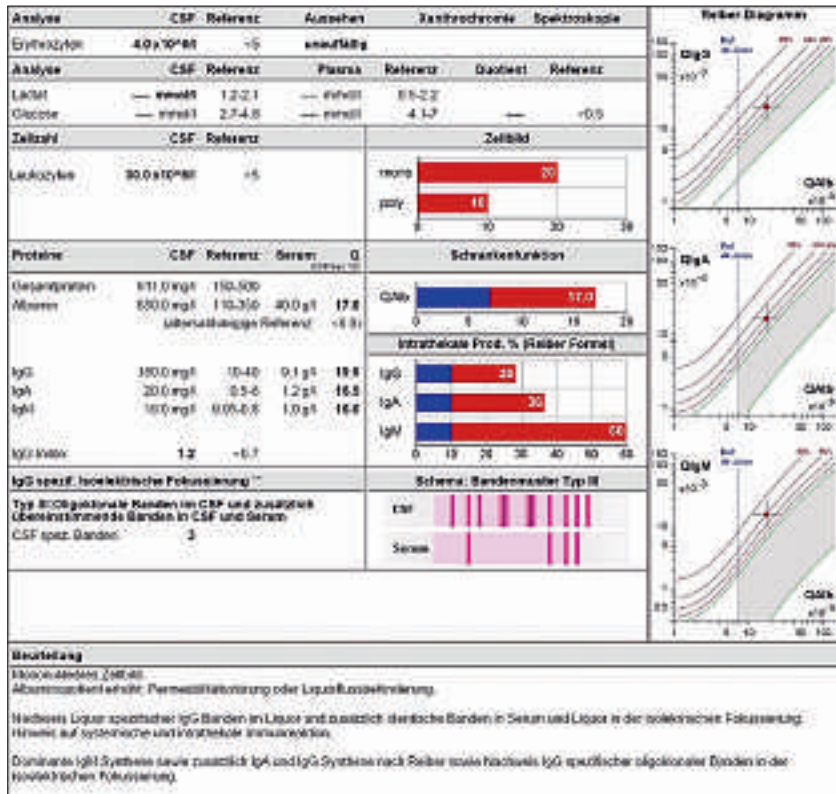


Abbildung 5b.

Graphische Zusammenfassung der wichtigsten Kennzahlen der Liquoranalytik im kombinierten Basler Befundbericht (Beispiel Neuroborreliose). Im rechten Teil klassische Liquor/Serum-Quotientendiagramme nach Reiber für IgG, IgA und IgM, um auch in der Liquordiagnostik Erfahrenen weiterhin «blickdiagnostische» Rückschlüsse zu ermöglichen, die links durch farbige Balkendiagramme von Zellbild, Schrankenfunktion und intrathekale Immunglobulinsynthese ergänzt werden. Pathologische Befunde sind rot gekennzeichnet. Die Bandenmuster der isoelektrischen Fokussierung werden schematisch nach internationalen Konsens angegeben, siehe Abbildung 1.

trischen Fokussierung und nach Reiber) können häufig bereits wegweisende Rückschlüsse gezogen werden. Bei der Neuroborreliose können beispielsweise das typische Q_{alb} /Immunglobulinmuster (gestörte Schrankenfunktion kombiniert mit dominanter intrathekaler IgM-Synthese) die klinische Verdachtsdiagnose mit einer Sensitivität von 70% und Spezifität von 98% frühzeitig bestätigen und die Behandlungsbedürftigkeit anzeigen; und dies bereits vor dem Nachweis einer intrathekalen Borrelienantikörpersynthese [59].

Die integrierte und umfassende Darstellung aller Teilergebnisse (integrierter Befundbericht) ist unerlässlich, um dieser besonderen Situation gerecht zu werden. Integrierte Befundberichte erlauben eine übersichtliche und umfassende Darstellung der Liquor-Basis-

diagnostik (Abb. 3, 4). Er zeigt auch dem in dieser Diagnostik weniger Erfahrenen pathologische Konstellationen deutlich an, die ansonsten leicht übersehen werden.

In Deutschland haben sich die an der Liquordiagnostik Interessierten in der «Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und klinische Neurochemie» zusammengeschlossen. Während kostenlose Literatur, wie der auch hier mehrfach ausführlich zitierte Methodenkatalog, auf der Website der Gesellschaft kostenlos und auch als Buch [45] erhältlich ist (www.dgln.de), wurden in letzter Zeit eine Reihe weiterführender Bücher veröffentlicht, die auch dem Unerfahrenen dieses Gebiet erschliessen [52, 61, 66]. Weiterhin führt die Gesellschaft halbjährlich Fortbildungen zu verschiedenen Aspekten der Liquordiagnostik durch;

der «Instandringversuch vor Ort zur Liquorzytologie» wird einmal jährlich in Basel durchgeführt.

Die hier vorliegenden Richtlinien sollen die Möglichkeiten einer qualifizierten Liquordiagnostik aufzeigen. Die grosse Herausforderung liegt jedoch darin, dass der Liquor meistens sofort auf verschiedene Orte (klinische Chemie, Immunologie, Pathologie, Mikrobiologie) verteilt wird und sich niemand für die abschliessende Erstellung und Beurteilung der Werte in einem integrierten Befundbereich zuständig fühlt. Teilbefunde erlauben aber keine zufriedenstellende Einschätzung der Situation des Patienten und überfordern den anfordernden Arzt zeitlich wie auch in der fachlichen Beurteilung. Der Schweizer Neurologe soll am besten aus automatisiert erstelltem Liquortotalprotein, Albumin und IgG die Blut/Liquor-Schrankenfunktion und auch noch eine intrathekale Immunglobulinproduktion beurteilen können. Dies schädigt nicht nur viele Patienten, deren neurologische Erkrankungen so nicht erkannt werden können, es fördert auch die unkritische Präferenz der bildgebenden Verfahren, unterschätzt die Möglichkeiten einer fundierten Liquordiagnostik und minimiert den Stellenwert der Labormedizin. Nur wenn neben der automatisierten Massenproduktion von etablierten Laborwerten auch ein nachvollziehbarer Beitrag zur Diagnostik komplexer Erkrankungen geliefert wird, hat die Labormedizin eine Existenzberechtigung als eigenständiges medizinisches Fachgebiet. Eine fundierte Liquordiagnostik kann helfen, das Labor als gleichberechtigten Partner in der Klinik zu etablieren. Dazu muss allerdings der Wille vorhanden sein, die primär logistischen Probleme zu lösen.

Korrespondenz:
Dr. med. Axel Regeniter
Universitätsspital Basel
Petersgraben 4
4031 Basel
aregeniter@uhbs.ch

Literatur

- 1 Walter, FK. Die Blut-Liquorschanke. Leipzig: G. Thieme; 1929.
- 2 Kabat, EA, Moore, DH, Landow, H. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *Clin Invest.* 1942; 21(5): 571–77.
- 3 Laterre, EC. Les protéines du liquide céphalorachidien à l'état normal et pathologique. Brüssel, Maloigne, Paris: Arscia 1965.
- 4 Link H. Contribution of CSF studies to diagnosis of multiple sclerosis. *Ital J Neurol Sci.* 1987;Suppl 6:57–69.
- 5 Gallo P, Bracco F, Tavolato B. Blood-brain barrier damage restricts the reliability of quantitative formulae and isoelectric focusing in detecting intrathecally synthesized IgG. *J Neurol Sci.* 1988;84:87–93.
- 6 Luxton RW, McLean BN, Thompson EJ. Isoelectric focusing versus quantitative measurements in the detection of intrathecal local synthesis of IgG. *Clin Chim Acta.* 1990;187:297–308.
- 7 Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Frey H, Pirttila T et al. Formulae for the quantitation of intrathecal IgG production. Their validity in the presence of blood-brain barrier damage and their utility in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 1994;121:90–6.
- 8 Reiber H. The discrimination between different blood-CSF barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. *J Neurol.* 1980;224: 89–99.
- 9 Thompson EJ. The CSF proteins: a biochemical approach. Amsterdam, New York, Milano: Elsevier; 1988.
- 10 Wurster U. Protein gradients in the cerebrospinal fluid and the calculation of intracerebral IgG synthesis. *J Neuroimmunol.* 1988;20:233–5.
- 11 Sindic CJ, Van Antwerpen MP, Goffette S. The intrathecal humoral immune response: laboratory analysis and clinical relevance. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39:333–40.
- 12 Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci.* 1994;122:189–203.
- 13 Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Labormedizin* 1995;19:444–62.
- 14 Hickey WF. Migration of hematogenous cells through the blood-brain barrier and the initiation of CNS inflammation. *Brain Pathol.* 1991;1:97–105.
- 15 Rostrom B, Link H, Norrby E. Antibodies in oligoclonal immunoglobulins in CSF from patients with acute cerebrovascular disease. *Acta Neurol. Scand.* 1981;64:225–40.
- 16 Andersson M, Varez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1994;57:897–902.
- 17 Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Arch Neurol.* 2005;62:865–70.
- 18 Wurster U. Elektrophoreseverfahren – Nachweis und Bedeutung von oligoklonalen Banden. In: Zettl K, Lehmitz R, Eilhard M. *Klinische Liquordiagnostik.* Berlin: De Gruyter; 2005:208–38.
- 19 Reiber H, Felgenhauer K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta.* 1987;163:319–28.
- 20 Link H, Tibbling G. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Scand J Clin Lab Invest.* 1977;37:397–401.
- 21 Tourtellotte W. On cerebrospinal fluid immunoglobulin-G (IgG) quotients in multiple sclerosis and other diseases. A review and a new formula to estimate the amount of IgG synthesized per day by the central nervous system. *J Neurol Sci.* 1970;10:279–304.
- 22 Lefvert AK, Link H. IgG production within the central nervous system: a critical review of proposed formulae. *Ann Neurol.* 1985;17:13–20.
- 23 Ohman S, Ernerudh J, Forsberg P, Henriksson A, von SH, Vrethem M. Comparison of seven formulae and isoelectrofocusing for determination of intrathecally produced IgG in neurological diseases. *Ann Clin Biochem.* 1992;29 (4):405–10.
- 24 Steele RW, Marmor DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 1986;23:965–6.
- 25 Jerrard DA, Hanna JR, Schindelheim GL. Cerebrospinal fluid. *J Emerg Med.* 2001;21:171–8.
- 26 Twijnstra A, Ongerboer d, V, van Zanten AP, Hart AA, Nooyen WJ. Serial lumbar and ventricular cerebrospinal fluid biochemical marker measurements in patients with leptomeningeal metastases from solid and hematological tumors. *J Neurooncol.* 1989;7:57–63.
- 27 Glantz MJ, Cole BF, Glantz LK, Cobb J, Mills P, Lekos A et al. Cerebrospinal fluid cytology in patients with cancer: minimizing false-negative results. *Cancer.* 1998;82:733–9.
- 28 Beetham R. Recommendations for CSF analysis in subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004;75:528.
- 29 Findlay JM. Current management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage guidelines from the Canadian Neurosurgical Society. *Can J Neurol Sci.* 1997;24:161–70.
- 30 Van der WN, Rinkel GJ, Hasan D, van GJ. Detection of subarachnoid haemorrhage on early CT: is lumbar puncture still needed after a negative scan? *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1995;58:357–9.
- 31 Vermeulen M. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis and treatment. *J Neurol.* 1996;243:496–501.
- 32 Edlow JA, Caplan LR. Avoiding pitfalls in the diagnosis of subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med.* 2000;342:29–36.
- 33 Fishman, R. A. *Cerebral Fluid in Diseases of the Nervous System.* London: WB Saunders; 1980.
- 34 Roost KT, Pimstone NR, Diamond I, Schmid R. The formation of cerebrospinal fluid xanthochromia after subarachnoid hemorrhage. Enzymatic conversion of hemoglobin to bilirubin by the arachnoid and choroid plexus. *Neurology.* 1972;22:973–7.
- 35 Soderstrom CE. Diagnostic significance of CSF spectrophotometry and computer tomography in cerebrovascular disease. A comparative study in 231 cases. *Stroke.* 1977;8:606–12.
- 36 Vermeulen M, van GJ, Blijenberg BG. Spectrophotometric analysis of CSF after subarachnoid hemorrhage: limitations in the diagnosis of re-bleeding. *Neurology.* 1983;33:112–5.
- 37 Petzold A, Keir G, Sharpe LT. Spectrophotometry for xanthochromia. *N Engl J Med.* 2004;351:1695–6.
- 38 Kappos L, Dommasch D. Intracranial aneurysms. *N Engl J Med.* 1997;336:1758.
- 39 Adam P, Taborsky L, Sobek O, Hildebrand T, Kelbich P, Prucha M, Hyaneck J. Cerebrospinal fluid. *Adv Clin Chem.* 2001;36:1–62.
- 40 Regener A, Steiger JU, Scholer A, Huber PR, Siede WH. Windows to the ward: graphically oriented report forms. Presentation of complex, interrelated laboratory data for electrophoresis/immunofixation, cerebrospinal fluid, and urinary protein profiles. *Clin Chem.* 2003;49:41–50.
- 41 Reiber H, Otto M, Trendelenburg C, Wormek A. Reporting cerebrospinal fluid data: knowledge base and interpretation software. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39:324–32.
- 42 Armon C, Evans RW. Addendum to assessment: Prevention of post-lumbar puncture headaches: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2005;65:510–2.
- 43 Diener HC. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. 119 Tabellen. 3., überarbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme; 2005.
- 44 Strik H, Luthe H, Nagel I, Ehrlich B, Bahr M. Automated cerebrospinal fluid cytology: limitations and reasonable applications. *Anal Quant Cytol Histol.* 2005;27:167–73.
- 45 Petereit H, Sindern E, Wick M. *Liquordiagnostik: Leitlinien und Methodenkatalog der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie.* Berlin: Springer; 2007.
- 46 DeMay RM. The art and science of cytopathology exfoliative cytology. Chicago: ASCP; 1996.
- 47 Gray W, McKee GT. *Diagnostic cytopathology, 2nd ed ed.* Edinburgh: Churchill Livingstone; 2003.
- 48 An-Foraker SH. Cytodiagnosis of malignant lesions in cerebrospinal fluid. Review and cytohistologic correlation. *Acta Cytol.* 1985;29:286–90.
- 49 Wildemann B, Brettschneider J. *Neurologische Labordiagnostik.* Stuttgart: Thieme; 2006.
- 50 Nicol TL, Kelly D, Reynolds L, Rosenthal DL. Comparison of TriPath thin-layer technology with conventional methods on nongynecologic specimens. *Acta Cytol.* 2000;44:567–75.
- 51 Koss LG. *Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases, 5th ed ed.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
- 52 Kluge H, Wieczorek V, Linke E, Zimmermann K, Witte O W Atlas der praktischen Liquorzytologie. Stuttgart: Thieme; 2005.
- 53 Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V. *Ausgewählte Methoden der Liquordiagnostik und Klinischen Neurochemie. 3. Auflage.* 2007.
- 54 Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic CJ, van Loon AM. The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report. The EU Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1996;61:339–45.
- 55 Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V. *Liquordiagnostik.* Berlin: Springer; 2007:41–47.
- 56 Halperin JJ, Logigian EL, Finkel MF, Pearl RA. Practice parameters for the diagnosis of patients with nervous system Lyme borreliosis (Lyme disease). Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 1996;46:619–27.
- 57 Keller TL, Halperin JJ, Whitman M. PCR detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in cerebrospinal fluid of Lyme neuroborreliosis patients. *Neurology.* 1992;42:32–42.
- 58 Christen HJ, Eiffert H, Ohlenbusch A, Hanefeld F. Evaluation of the polymerase chain reaction for the detection of *Borrelia burgdorferi* in cerebrospinal fluid of children with acute peripheral facial palsy. *Eur J Pediatr.* 1995;154:374–7.
- 59 Tumani H, Nolker G, Reiber H. Relevance of cerebrospinal fluid variables for early diagnosis of neuroborreliosis. *Neurology.* 1995;45:1663–70.
- 60 Kaiser R, Kern A, Kampa D, Neumann-Haefelin D. Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* and tick-borne encephalitis virus in an endemic region in southern Germany. *Zentralbl Bakteriol.* 1997;286:534–41.
- 61 Felgenhauer K, Beuche W. *Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. Liquoranalytik und -zytologie, Diagnose- und Prozessmarker.* Stuttgart: Thieme; 1999.
- 62 Lewczuk P, Wiltfang J. *Neurochemical dementia diagnostics: State of the art and research perspectives.* *Proteomics.* 2008;8:1292–301.
- 63 Lewczuk P, Beck G, Esselmann H, Bruckmoser R, Zimmermann R, Fiszler M et al. Effect of sample collection tubes on cerebrospinal fluid concentrations of tau proteins and amyloid beta peptides. *Clin Chem.* 2006;52:332–4.
- 64 Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V. *Empfehlungen zur Qualitätskontrolle.* www.dgln.de. 2007.
- 65 Reiber H, Uhr M. *Liquordiagnostik-Ausbildung und Fachqualifikation: Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie (DGLN).* *J Lab Med.* 2007;27:322–8.
- 66 Zettl UK, Lehmitz R, Mix E. *Klinische Liquordiagnostik.* Berlin: De Gruyter; 2005.

1. Welche Aussage zur Zellzahl/Zellzählung ist richtig?

- A Die Zellen im Liquor sind morphologisch den Zellen im Blut ausgesprochen ähnlich.
- B Liquor ist eine zellkonservierende Flüssigkeit.
- C Eine weitere Differenzierung der Zellzahl in polymorphkernige und mononukleäre Zellformen erbringt keine differentialdiagnostischen Informationen.
- D Eine normale Zellzahl schliesst den Nachweis von Tumorzellen im Spezialpräparat nicht aus.
- E Die Angabe der Ergebnisse erfolgt heute in Drittelzellen.

2. Welche Aussage zur Liquor-Diagnostik ist *falsch*?

- A Voraussetzung: die gleichzeitige Abnahme von Liquor und Serum.
- B Der quantitative Nachweis einer intrathekalen Synthese erfolgt mit Hilfe der Reiber-Formel.
- C Eine Schrankenstörung lässt sich an einer hohen Liquor-Albumin-Konzentration erkennen.
- D Eine IgG-Synthese im Liquor ist charakteristisch für die Multiple Sklerose.
- E Bei negativer PCR ist eine HSV-Enzephalitis sehr unwahrscheinlich.

Die Antworten finden Sie im Internet unter www.sulm.ch/pipette.html.

1. Quelle proposition sur le nombre/la répartition des cellules est-elle juste?

- A Les cellules du LCR sont morphologiquement très semblables à celles du sang.
- B Le LCR est un liquide de conservation pour les cellules.
- C Une différenciation entre cellules poly- et mononucléaires ne donne aucune information pour le diagnostic différentiel.
- D Un nombre de cellules normal n'exclut pas la mise en évidence de cellules tumorales sur le frottis spécial.
- E Les résultats sont donnés en tiers de cellules.

2. Laquelle des propositions ci-dessous sur le diagnostic du LCR est *fausse*?

- A Condition: prélèvement parallèle de LCR et de sérum.
- B La confirmation quantitative d'une synthèse intrathécale se fait selon la formule de Reiber.
- C Une perturbation de la barrière hémato-encéphalique se reconnaît à une augmentation de la concentration d'albumine dans le LCR.
- D Une synthèse d'IgG dans le LCR est caractéristique de la sclérose en plaques.
- E Si la PCR est négative, une encéphalite à VHS est très improbable.

Vous trouverez les réponses sur internet sous www.sulm.ch/pipette.html.