

Liquordiagnostik

Stufendiagnostik entzündlicher ZNS-Erkrankungen

Hierzu zählen bakterielle und virale Infektionen des ZNS sowie die Multiple Sklerose, Autoimmunerkrankungen des ZNS und die Neurosarkoidose.

Je nach Dringlichkeit und Verdachtsdiagnose ist zunächst ein labor-diagnostisches Notfall- und Basis-Programm durchzuführen. Im Anschluss sollten ggf. zusätzliche Spezialuntersuchungen eingeleitet werden.

I. Notfall-Programm:

- Zellzahl und ggf. Zelldifferenzierung im Liquor
- Gesamteiweiß in Liquor und Serum
- Laktat im Liquor
- Glukose in Liquor und Serum
- Bei V. a. eitrige Meningitis, Gram-Färbung und Antigen-Schnellteste aus Liquor

II. Basis-Programm:

(je nach Fragestellung)

- Bakterien-Kultur und Antibiogramm
- Reiber-Diagramm (QAlbumin, QIgG, QIgA, QIgM)
- Oligoklonales IgG in Liquor und Serum

III. Spezielle Parameter:

- Nachweis erregerspezifischer Antikörper in Liquor und Serum mit Antikörper-Index-Berechnung (z. B. bei V. a. Neuroborreliose oder bei V. a. MS)
- Erreger-Nachweis im Liquor mittels PCR
- zytopathologische Untersuchung des Liquors (z. B. bei V. a. Meningealkarzinose)

Präanalytische Hinweise:

- **Röhrchen 1:** Ca. 1 ml Liquor zur Zellzahlbestimmung (am besten in einem „Hütchen“) Es sollte möglichst in einem kleinen Probengefäß gewonnen werden, damit sich bis zur Analyse wenig Luft über dem Liquor befindet (Säuerung führt zu beschleunigtem Zerfall der Leukozyten). Liquor für Zellzahl /Differenzierung sollte innerhalb von 2 Stunden nach Entnahme untersucht werden.
- **Röhrchen 2:** mindestens weitere 3 ml Liquor im sterilen Plastikröhrchen (Polypropylen) Für die in unserem Labor sehr häufige Kombinationsuntersuchung: Zellzahl, Glukose- und Laktatbestimmung, Reiber-Diagramm, Borrelien-, Masern-, Herpes-Simplex- und Varizellen- Antikörper sowie Oligoklonale IgG-Banden wird eine Liquormenge von mindestens 3 ml benötigt. Für die zusätzliche Demenzdiagnostik ist 1 ml Li- quor erforderlich.
- **Ggf. weitere Röhrchen** Artefizielle Blutbeimengungen wirken verfälschend, da im Liquor die Serumeiweiße bzw. Blutzellen miterfasst werden. In diesem Fall sollte der Liquor in drei Röhrchen aufgefangen werden, so dass das dritte Röhrchen evtl. ohne Beimengung ist. Liquor zur Bakterien-Anzucht sollte vor Antibiotikagabe in einem sterilen Röhrchen gewonnen werden und muss zügig möglichst bei 37°C ins Bakteriologie-Labor transportiert werden, da Meningo- und Pneumokokken sehr schnell absterben. Alternativ kann eine Blutkulturflasche beimpft werden, dann sind jedoch weder Gram- Präparat noch Antigen-Schnelltest durchführbar!
- Die Röhrchen sind in der Reihenfolge der Entnahme zu beschriften und der Entnahmezeitpunkt ist zu vermer- ken.
- **Serummonovette:** Grundsätzlich sollten **Liquor und Serum** für vergleichende Parallel-Untersuchungen (Rei- ber-Diagramm und/oder Berechnung des Antikörper-Index) zeitnah, idealerweise zeitgleich gewonnen werden.

Prof. Dr. med. Lothar Röcker

Dr. med. Imme Maute

Dr. med. Hans Ulrich Altenkirch

Dr. med. Anja-Britta Sundermann

Ärzte für Laboratoriumsmedizin

Dr. med. Maryam Chahin

Ärztin für Laboratoriumsmedizin,

Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie

Dagmar Emrich

Ärztin für Mikrobiologie und

Infektionsepidemiologie

und Kollegen

Mecklenburgische Straße 28

14197 Berlin

Telefon 030.820 93-0

Fax 030.820 93-301

webmaster@labor28.de

www.labor28.de



I. Notfall-Programm

Zellzahl und ggf. Differenzierung

Bei der herkömmlichen Kammerzählung sind physiologischerweise bis zu 4 kernhaltige Zellen/ μl zu erwarten, wobei es sich um Monozyten oder Lymphozyten handelt. Granulozyten und Erythrozyten sollten nicht nachweisbar sein. Liquor erscheint trübe ab Zellzahlen $> 1.000/\mu\text{l}$ und eitrig ab > 10.000 Leukozyten/ μl .

Im Labor 28 wird aufgrund der kürzeren Analysenzeiten die Zellzählung und -differenzierung i.d.R. automatisiert durchgeführt. Es handelt sich um eine durchflusszytometrische Zählung der Leukozyten und Erythrozyten. Ab Zellzahlen $> 10/\mu\text{l}$ werden Neutrophile, Lymphozyten und Monozyten maschinell und manuell differenziert.

Eine zytopathologische Untersuchung kann automatisiert nicht erfolgen. Bei entsprechendem Verdacht können hierzu Zytofugen-Präparate hergestellt und an ein pathologisches Institut weitergeleitet werden.

Klinisch-chemische Parameter

Gesamteiweiß: Lumbaler Liquor ist normalerweise eiweißarm (ca. 0,5 % des Serumeiweißes). Proteinanstiege sind bedingt durch Permeabilitätsstörung der Blut-Liquor-Schranke und/oder durch verlangsamten Liquorfluss (bei entzündlichen, degenerativen und bösartigen Prozessen).

Die Eiweißbestimmung erfolgt turbidimetrisch i.d.R. am Tag des Probeneingangs.

Laktat: Bei der Beurteilung der Laktat-Konzentration im Liquor ist keine Relation zum Blutspiegel erforderlich. Die Referenzbereiche sind altersabhängig.

Deutliche Laktaterhöhungen werden bei akuter bakterieller und tuberkulöser Meningitis, bei Lymphomen, Metastasen, Leukämien und bei der Neurosarkoidose erwartet.

Glukose: Der *lumbale Glukosespiegel sollte > 50 % der Glukosekonzentration des Blutes* betragen. Erkrankungen, die zu starkem Liquor-Eiweißanstieg führen (insbesondere akute bakterielle und tuberkulöse Meningitis, aber auch akute intracerebrale Blutung und ZNS-Tumore) verursachen einen besonders starken Glukoseabfall.

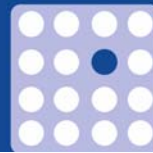
Gram-Färbung und Bakterien-Schnelltest

Bei V. a. akute bakterielle ambulant erworbene Meningitis sollten beide Untersuchungen durchgeführt werden. Mit dem Antigen-Schnelltest (Latex-Agglutination) werden folgende Erreger erfasst: Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis (Gruppe A, B, C) sowie Haemophilus influenzae Typ b. Auch bei antibiotisch anbehandelter Meningitis kann der Test noch positiv werden, da auch abgetötete Bakterien erfasst werden. Der Schnelltest ist nicht sinnvoll bei nosokomialer Meningitis, da hier andere Erreger ursächlich beteiligt sind.

Mittels Gram-Färbung können grampositive von gramnegativen Kokken und Stäbchen unterschieden werden. Üblicherweise sind bei bakteriellen Meningitiden hohe Zellzahlen ($> 800/\mu\text{l}$) richtungsweisend und veranlassen zur bakteriologischen Untersuchung.

Cave apurulente bakterielle Meningitis!:

Die bakteriologische Untersuchung bei V. a. akute Meningitis sollte nicht allein von der Zellzahl abhängig gemacht werden! Durch Verbrauchsneutropenie kann es zu niedriger Zellzahl kommen, obwohl massenhaft Bakterien im Liquor vorhanden sind. Ein ähnliches Bild findet man bei „präneutrophilem Bakterieneinbruch“ im Rahmen primär septisch bedingter Meningitiden.



II. Basisprogramm

Kultureller Erreger-Nachweis und Antibiogramm

Die Erreger-Anzucht ist deutlich sensitiver als die Mikroskopie und der Antigen-Schnelltest. In aller Regel liegt das Ergebnis nach 48 Stunden vor. Nur sehr langsam wachsende Erreger wie *Mycobacterium tuberculosis* erfordern deutliche längere Nachweiszeiten.

Albuminquotient (QAlbumin) als Maß für Schrankenfunktion und Liquorfluss

Sowohl bei Permeabilitätsstörung der Blut-Liquor-Schranke als auch bei verlangsamtem Liquorfluss (Zirkulationsstörung) kommt es zur Eiweißerhöhung im Liquor.

Albumin wird nicht im ZNS gebildet sondern gelangt nur durch Diffusion in den Liquor, so dass der Albumin-Liquor-/Serum-Quotient ein geeignetes quantitatives Maß einer Schrankenfunktionsstörung darstellt.

Die parallele Messung erfolgt mittels Turbidimetrie. Der altersabhängige Referenzbereich errechnet sich nach Reiber bei Patienten über 5 Jahren anhand einer Formel (s. u.) und wird auf der graphischen Auswertung mit angegeben (s. Anhang 1 und 2). Das Vorhandensein und das Ausmaß einer Schrankenfunktionsstörung deutet auf die ursächliche Erkrankung hin (s. Tabelle).

Obere Referenzbereiche QAlbumin bis 5. Lebensjahr:

Geburt	bis 28×10^{-3}
1. Monat	bis 15×10^{-3}
2. Monat	bis 10×10^{-3}
3. Monat	bis 5×10^{-3}
4. Mo - 5. Lj.	bis $3,5 \times 10^{-3}$

Danach altersabhängiger Referenzbereich anhand der Formel:

$$(4 + \text{Lebensalter}/15) \times 10^{-3}$$

Reiber-Diagramm (QAlbumin, QIgG, QIgA, QIgM)

Im gleichen Analysenlauf werden die Immunglobuline IgG, IgA und IgM parallel in Liquor und Serum quantitativ bestimmt. Die jeweiligen Liquor/Serum-Quotienten werden ermittelt und mit dem Albumin-Quotienten rechnerisch ins Verhältnis gesetzt. So erhält man unabhängig von der individuellen Schrankenstörung den Anteil der nur aus dem ZNS stammenden Immunglobuline (intrathekaler Anteil). Die graphische Auswertung wird dem Befund jeweils beigelegt (s. Anhang).

Anders als im Blut kommt es im Liquor nicht zu einem Immunglobulinklassen-Switch von IgM zu IgG, sondern die intrathekale Erhöhung einzelner Immunglobulinklassen kann richtungsweisend sein bei verschiedenen nicht eitrigen ZNS-Infektionen (Neuroborreliose, Neurolyues, Virale Infekte) aber auch bei Neurotuberkulose, MS und autoimmunen ZNS-Erkrankungen.

So sieht man beispielsweise bei der MS eine Dominanz der IgG-, bei Neuroborreliose der IgM- und bei Tuberkulose der IgA-Fraktion (s. Tabelle). Intrathekales IgM ist somit nicht gleichzusetzen mit Akuität!

Oligoklonales IgG

Hierbei handelt es sich um den qualitativen Nachweis von intrathekalem IgG mittels isoelektrischer Fokussierung, wobei die vergleichende Untersuchung von Liquor und Serum erforderlich ist. Mit dieser Methode kann insbesondere bei der Multiplen Sklerose intrathekal synthetisiertes IgG sensitiver nachgewiesen werden als mittels Reiber-Methodik.

Bereits ein Anteil von 0,5 % des intrathekalen IgG am Gesamt-IgG im Liquor wird erfasst.

Bei MS wird mit der Reiber-Methodik in nur 75 % der Fälle eine intrathekale Immunglobulin-Synthese gefunden, dagegen werden zu 98 % oligoklonale Banden nachgewiesen.

Das Reiber-Diagramm liefert jedoch zusätzliche Informationen, so dass sich beide Methoden ergänzen.



III. Spezielle Parameter

Erregerspezifische Antikörper im Liquor und Berechnung des Antikörper-Index (AI)

Hierzu ist es erforderlich spezifische Immunglobuline (z. B. Masern-IgG) im Liquor und im Serum parallel in einem Analysenlauf quantitativ zu bestimmen.

Da der Antikörpergehalt des Liquors von der Serumkonzentration dieses spezifischen Antikörpers und auch von der individuellen Schrankenfunktion abhängig ist, muss der spezifische IgG-Index (z. B. Masern-IgG Liquor/Masern-IgG Serum) auf den Albumin-Quotienten als Maß der Schrankenfunktion bezogen werden, um eine intrathekale Synthese nachweisen zu können.

Diese Berechnung wird in unserem Labor durchgeführt und Sie erhalten den sog. erregerspezifischen Antikörper-Index (AI). Im Idealfall beträgt der Wert 1. Werte bis 1,5 gelten als unauffällig, das heißt, die im Liquor nachgewiesenen Antikörper stammen aus dem Blut. Werte > 1,5 deuten auf eine intrathekale spezifische Antikörper-Synthese hin, Werte < 0,7 sind unplausibel.

Erhöhte AI-Werte sind nicht zwingend durch eine ZNS-Infektion bedingt. Auch bei Multipler Sklerose und verschiedenen Autoimmunerkrankungen des ZNS können typischerweise leicht erhöhte Masern-, Röteln- und/oder Varizellen-AI vorkommen (MRZ-Reaktion bei MS in 90 %: Masern-AI erhöht in 78 %, Röteln-AI in 65 %, Zoster-AI in 55 %, HSV-AI in 25 % der Fälle).

Erhöhte Antikörper-Indizes sind zudem kein Hinweis auf Akuität! Nach einer ZNS-Infektion können die spezifischen AI z. T. über Jahre erhöht bleiben. Zur Therapie-Verlaufsbeurteilung besser geeignet sind dagegen eine abnehmende Zellzahl und Normalisierung der Schrankenfunktionsstörung.

In unserem Labor können derzeit für folgende Erreger IgG-Antikörper-Indizes ermittelt werden:

- Masern-Virus
- Röteln-Virus
- Varizella-Zoster-Virus
- Herpes-simplex-Virus
- Mumps-Virus
- Borrelia burgdorferi
- Treponema pallidum

Erregernachweis mittels PCR

Bei Erregern, bei denen die kulturelle Anzucht sehr lange dauert bzw. schwer möglich ist, sollte der Direktnachweis aus Liquor mittels PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) erfolgen. Dies gilt insbesondere für virale Erreger (HSV, VZV, CMV etc.), bei denen in der Akutphase der spezifische Antikörper-Index nicht weiterhilft, da dieser erst ab der 2. Krankheitswoche ansteigt. Auch bei V. a. tuberkulöse Meningitis ist die PCR aus Liquor zusätzlich zur Erregeranzucht (mit der Möglichkeit der Erstellung eines Antibiotogramms) für die Akut-Diagnostik zu empfehlen.

Eine Borrelien-PCR ist in aller Regel nicht indiziert, da sie zu wenig sensitiv ist.

Zytopathologie

Bei V. a. neoplastische Prozesse des ZNS mit Beteiligung der Meningen können ggf. Zytofugen-Präparate hergestellt und an ein pathologisches Institut weitergeleitet werden.

Autoimmunerkrankungen des ZNS

Autoimmun-Vaskulitiden und systemische Autoimmunerkrankungen können das ZNS befallen und hier zu entzündlichen Veränderungen führen. Da es jedoch keine krankheitstypischen Liquorbefunde gibt, steht die Blutdiagnostik im Vordergrund (s. Labor-28-Informationen zu den entsprechenden Erkrankungen).

Demenzdiagnostik

Die kombinierte Bestimmung der Markerproteine β -Amyloid (1-40) und (1-42), Tau-Protein und Phospho-Tau im Liquor erlaubt die Abgrenzung der Alzheimer-Erkrankung von anderen Demenzformen (nähere Details entnehmen Sie bitte der entsprechenden Laborinformation).

Literatur: Zette, Lehmitz, Mix (hrsg.), klinische Liquordiagnostik, de Gruyter-Verlag, 2. Auflage 2005

