

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 labordiagnostisches 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
- 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:

- Es sollten grundsätzlich Polypropylen-Röhrchen verwendet werden.
- Liquor für Zellzahl und Differenzierung muss innerhalb von 2 Stunden nach Entnahme untersucht werden!
- Bei Erwachsenen sollten mindestens 2 Röhrchen mit jeweils 2-3 ml gewonnen werden, um das Basisprogramm und ggf. weitere Untersuchungen durchführen zu können.
- Für die in unserem Labor sehr häufige Kombinationsuntersuchung: Zellzahl, Glukose- und Laktatbestimmung, Reiber-Diagramm, Borrelien-, Mumps-, Masern-, Röteln-, Herpes simplex- und Varizellen-AK sowie oligoklonale IgG-Banden wird eine Liquormenge von mindestens 4 ml benötigt. Für die zusätzliche Demenzdiagnostik ist 0,5 ml Liquor erforderlich.
- Für PCR-Untersuchung bitte immer ein gesondertes Röhrchen abnehmen.
- **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. Bei Erwachsenen können routinemäßig 8-10 ml Liquor gewonnen werden.
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 ist allerdings kein sofortiges Gram-Präparat durchführbar.
- Die Röhrchen sind in der Reihenfolge der Entnahme zu beschriften und der Entnahmezeitpunkt ist zu vermerken.
- **Serummonovette:** Grundsätzlich sollten **Liquor und Serum** für vergleichende Parallel-Untersuchungen (Reiber-Diagramm und/oder Berechnung des Antikörper-Index) zeitnah, idealerweise zeitgleich gewonnen werden.

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 trüb 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 automatisiert durchgeführt. Es handelt sich um eine durchflusszytometrische Zählung der Leukozyten und Erythrozyten. Ab Zellzahlen $> 5/\mu\text{l}$ 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 in der Regel 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 gesehen.

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 intrazerebrale Blutung und ZNS-Tumore) verursachen einen besonders starken Glukoseabfall.

Gram-Färbung

Bei V. a. bakterielle Meningitis liefert das Gram-Präparat wichtige erste Hinweise. Mittels Gram-Färbung können grampositive von gramnegativen Kokken und Stäbchen unterschieden werden.

Üblicherweise sind bei bakteriellen Meningitiden hohe Zellzahlen ($> 800/\mu\text{l}$) richtungsweisend.

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 bedingten Meningitiden.

II. Basisprogramm

Kultureller Erreger-Nachweis und Antibiogramm

Die Erreger-Anzucht ist deutlich sensitiver als die Mikroskopie. In aller Regel liegt das Ergebnis nach 24-48 Stunden vor. Nur sehr langsam wachsende Erreger wie *Mycobacterium tuberculosis* erfordern deutlich 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.

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 deuten 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 wird der altersabhängige Referenzbereich anhand einer Formel berechnet:

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

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-Wechsel von IgM zu IgG. Die intrathekale Erhöhung einzelner Immunglobulinklassen kann richtungsweisend sein bei verschiedenen nicht eitrigen ZNS-Infektionen (Neuroborreliose, Neurolues, virale Infektionen) aber auch bei Neurotuberkulose, Multipler Sklerose und autoimmunen ZNS-Erkrankungen.

So sieht man beispielsweise bei der Multiplen Sklerose 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 der 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 sogenannten 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 nicht immer ein Hinweis auf Akuität. Nach einer ZNS-Infektion können die spezifischen AI über Jahre erhöht bleiben. Zur Therapie-Verlaufsbeurteilung besser geeignet sind dagegen eine abnehmende Zellzahl und Normalisierung der Schrankenfunktionsstörung. Für folgende Erreger können IgG-Antikörper-Indizes ermittelt werden:

Masern-Virus	Herpes-simplex-Virus
Röteln-Virus	Borrelia burgdorferi s.l.
Mumps-Virus	Treponema pallidum
Varizella-Zoster-Virus	FSME

Erregernachweis mittels PCR

Bei Erregern, bei denen die kulturelle Anzucht sehr lange dauert oder schwer möglich ist, sollte der Direktnachweis aus Liquor mittels PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) erfolgen. Dies gilt insbesondere für virale Erreger (HSV, VZV 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 Antibiogramms) für die Akut-Diagnostik zu empfehlen.

Eine Borrelien-PCR ist in aller Regel nicht indiziert, da die Sensitivität der PCR zu gering ist. Die Bestimmung des CXCL-13 im Liquor kann bei der Akutdiagnostik einer frühen Neuroborreliose zusätzlich zur Serologie weiterhelfen.

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:
Zettl et al.: Klinische Liquordiagnostik, de Gruyter-Verlag, 2. Auflage 2005

Seite 4/4