

The background of the slide is a photograph of a laboratory setting. It shows several glass test tubes in the foreground and background, some containing a light-colored liquid. A glass dropper is positioned above one of the tubes, with a single drop of liquid about to fall into it. The lighting is soft and clinical. A large, solid purple triangle is overlaid on the left side of the image, pointing towards the bottom right.

Einführung in die Liquordiagnostik

Liquor cerebrospinalis und Liquordiagnostik

Der *Liquor cerebrospinalis* umhüllt das Gehirn und das Rückenmark. Seine Hauptaufgabe besteht im physikalischen Schutz des zentralen Nervensystems (ZNS). Die Liquorräume umfassen die Ventrikel im Gehirn und den Subarachnoidalraum (innere und äußere Liquorräume). Rund 80 bis 90% des *Liquor cerebrospinalis* werden in den *Plexus choroidei* durch Filtration aus dem Blut gebildet. Pro Tag werden 500ml *Liquor cerebrospinalis* produziert, was bei einem Gesamtvolumen des Liquorraumes eines Erwachsenen von etwa 150 ml in einem etwa dreifachen Liquorumsatz pro Tag resultiert.

Der größte Teil des produzierten *Liquor cerebrospinalis* wird über die Arachnoidalzotten in das venöse Blut abgeleitet. Der Bildungsprozess wird durch die Druckdifferenz zwischen arteriellem und venösem Blut hervorgerufen. Blut und Liquor sind physiologisch durch die Blut-Liquor-Schranke voneinander getrennt (Abb. 1). Diese Barriere ist für bestimmte lösliche Stoffe durchlässig, wobei die Permeabilität u.a. von der Molekülgröße abhängig ist. Bei intakter Blut-Liquor-Schrankenfunktion ist die Proteinkonzentration im *Liquor cerebrospinalis* stark verringert. So ist beispielsweise die Konzentration von Albumin im Liquor ca. 200-fach geringer als im Serum. Ein Großteil der im Liquor vorhandenen Proteine ist aus dem Serum über die Blut-Liquor-Schranke in den Liquorraum übergetreten.

Die Liquordiagnostik stellt einen wichtigen Bestandteil bei der Erkennung von neurologischen Erkrankungen dar. Die Untersuchung des *Liquor cerebrospinalis* dient zum Nachweis bzw. zum Ausschluss von akuten und chronischen Entzündungsreaktionen mit Beteiligung des ZNS, Autoimmunerkrankungen

(z.B. Multipler Sklerose), Subarachnoidalblutungen, Neoplasien mit Infiltration in das ZNS und neurodegenerativen Erkrankungen. Ziel der Liquoranalytik ist die Erstellung eines umfassenden, patientenorientierten Berichts, auf dem alle gemessenen Parameter dargestellt werden können. Auf Basis dieses können die erhobenen Daten auf Plausibilität geprüft und interpretiert werden. Das Erkennen krankheitsbezogener Muster erfordert eine Vielzahl qualitativ hochwertiger diagnostischer Analysen, die in verschiedene Stufen eingeteilt werden.

Im Rahmen des Notfallprogramms wird eine visuelle Beurteilung vorgenommen, Zellart und -zahl, sowie Laktat- und Proteingehalt bestimmt. Im anschließenden Basisprogramm erfolgt bei Verdacht eine Kultivierung von Bakterien, die Überprüfung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion, die Detektion einer intrathekalen Gesamtantikörpersynthese sowie die Bestimmung oligoklonaler Banden in Liquor und Serum. Abhängig von den vorangegangenen Ergebnissen kann ein spezielles Analyseprogramm durchgeführt werden, welches je nach differentialdiagnostischer Fragestellung den Nachweis erregerspezifischer Antikörper im Liquor und Serum oder molekularbiologische Verfahren umfassen kann.

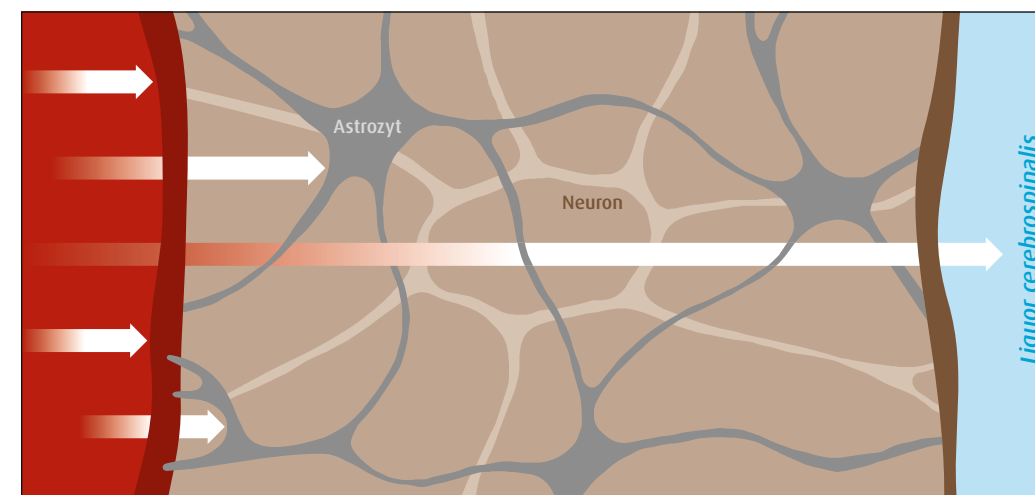


Abb. 1:
Physiologische Darstellung
der Blut-Liquor-Schranke

Analysen in der Liquordiagnostik

Visuelle Beurteilung

Liquor cerebrospinalis ist farblos, klar und enthält nur sehr wenige Zellen (<4/ μ l). Zur makroskopischen Bewertung erfolgt eine Einteilung in trüb (>1000 Zellen/ μ l) und eitrig (>10.000 Zellen/ μ l), was durch eine Zunahme der Zellzahl hervorgerufen wird. Ein blutiger oder xanthochromer Liquor wird durch artifizielle oder Subarachnoidalblutungen verursacht.

Zellzahl und -differenzierung

Bei Abwesenheit eines pathologischen Geschehens enthält der *Liquor cerebrospinalis* weniger als 4 Zellen/ μ l, wobei es sich um Lymphozyten oder Monozyten handelt. Das Vorkommen von Plasmazellen, aktivierten B-Lymphozyten und Makrophagen weist auf eine entzündliche Reaktion hin. Entzündungsreaktionen mit Beteiligung des zentralen Nervensystems führen in der Regel zu einer Zunahme der Zellzahl (Pleozytose).

Glukose und Laktat

Der Glukosegehalt im Liquor ist vom Gehalt im Serum abhängig. Da der Glukosegehalt Schwankungen unterliegt, die im Liquor allerdings verzögert auftreten, ist die Verlässlichkeit der Analyse teilweise eingeschränkt. Die Konzentration von Laktat im *Liquor cerebrospinalis* ist unabhängig vom Gehalt im Serum und ist deswegen nur im Liquor zu bestimmen. Entzündungsreaktionen mit Beteiligung des zentralen Nervensystems durch Bakterien oder Pilze führen im Gegensatz zu viralen Prozessen in der Regel zu einem Anstieg der Laktatkonzentration im Liquor.

Blut-Liquor-Schranke

Die Funktionalität der Blut-Liquor-Schranke wird entscheidend von der Liquorflussgeschwindigkeit beeinflusst. Ein reduzierter Liquorfluss führt zu einer Blut-Liquor-Schränkendysfunktion. Eine solche Reduzierung kann durch eine reduzierte Bildungsgeschwindigkeit oder durch eine Abflussbehinderung hervorgerufen werden. Da Albumin ausschließlich in der Leber synthetisiert wird, müssen alle im *Liquor cerebrospinalis* detektierten Moleküle die Blut-Liquor-Schranke passiert haben. Folglich kann der Albuminquotient Q_{Alb} als Maß für die Blut-Liquor-Schrankenfunktion verwendet werden.

$$Q_{Alb} = \frac{[Alb_{CSF}]}{[Alb_{Serum}]}$$

Wird ein erhöhter Albumingehalt im *Liquor cerebrospinalis* in Relation zum Referenzwert im Serum detektiert, ist dies ein Indikator für eine Schrankenfunktionsstörung. Der Albuminquotient erreicht sein Minimum im Alter von vier Monaten bis

fünf Jahren und nimmt anschließend durch die altersbedingte Abnahme der Liquorproduktion stetig zu.

Intrathekale Antikörpersynthese

Die Blut-Liquor-Schranke, die Blut und *Liquor cerebrospinalis* physiologisch voneinander trennt, ist für bestimmte lösliche Stoffe durchlässig. Die unterschiedliche Größe der Immunglobuline führt zu abweichenden Diffusionsraten in den Liquorraum (IgM < IgA < IgG). Als Folge der Diffusion von Immunglobulinen von Serum in den *Liquor cerebrospinalis* ist die intrathekale Antikörpersynthese unbedingt von Antikörpern serologischen Ursprungs abzugrenzen. So induziert eine erhöhte Antikörperaktivität im Serum zwangsläufig eine Erhöhung der Antikörperkonzentration im Liquor, auch wenn keine intrathekale Antikörpersynthese vorliegt. Eine Dysfunktion der Blut-Liquor-Schranke führt ebenfalls zu einer Veränderung der Antikörperaktivität im *Liquor cerebrospinalis*. Als Folge müssen die jeweiligen Analyte bei der Detektion einer intrathekalen Antikörpersynthese stets in *Liquor cerebrospinalis* und Serum bestimmt und miteinander ins Verhältnis gesetzt werden.

Die intrathekale Immunreaktion ist vom Infektionserreger abhängig. Im Gegensatz zu serologischen Analysen findet ein Antikörperklassenwechsel von IgM zu IgG häufig nicht statt, da entsprechende regulatorische Strukturen nicht vorhanden sind. Als Folge können auch bei chronischen oder zurückliegenden Infektionen mit ZNS-Beteiligung intrathekal synthetisierte IgM oder IgA Antikörper nachgewiesen werden. Bei bestimmten Manifestationen dominiert die Synthese einzelner Immunglobulinklassen. Die Bestimmung der relativen Anteile der intrathekalen IgG, IgA und IgM Fraktionen bildet die Grundlage der krankheitsbezogenen Antikörperreaktionsmuster. Bei Neuroborreliosen dominieren Antikörper der Klasse IgM, während bei Neurotuberkulosen häufig eine intrathekalen IgA Antikörpersynthese detektiert wird. Zum Nachweis einer Multiplen Sklerose dient die sogenannte MRZ(H)-Reaktion. Als Marker dieser Reaktion dient der kombinierte intrathekale Nachweis von einzelnen oder mehreren IgG-Antikörperaktivitäten (siehe S. 8, Abschnitt Befundinterpretation).

Oligoklonale Banden

Der Nachweis oligoklonaler Banden wird mittels isoelektrischer Fokussierung (IEF) durchgeführt. Diese Technik ist eine empfindliche Methode zum Nachweis einer intrathekalen IgG Antikörperproduktion. Bei dieser hochauflösenden Elektrophorese werden Immunglobuline auf Basis ihrer isoelektrischen Punkte voneinander getrennt. Im Anschluss folgt ein Vergleich der Bandenmuster zwischen Serum- und Liquorprobe. Bei einer

intrathekalen Antikörpersynthese können in der Liquorprobe Banden detektiert werden, die im Serum nicht nachweisbar sind.

Quotientendiagramme nach Reiber

Das Quotientendiagramm nach Reiber (auch Reiberschema genannt) dient zur Bestimmung intrathekaler Antikörpersynthesen von Immunglobulinen der Klassen IgA, IgG oder IgM. In diesen Diagrammen wird der Quotient aus der jeweiligen Antikörperaktivität (Q_{IgA} , Q_{IgG} , Q_{IgM}) in Liquor und Serum gegen den Albuminquotienten (Q_{Alb}) aufgetragen. Die Erstellung der Diagramme basiert auf der Untersuchung gesunder Probanden. Der Normalbereich des Albuminquotienten ist altersabhängig und durch eine vertikale Linie gekennzeichnet (Abb. 2, a). Bei einer Überschreitung des Grenzwertes, d.h. bei Vorliegen eines erhöhten Albumingehalts im *Liquor cerebrospinalis* bezogen auf die Konzentration im Serum, liegt eine Schrankenfunktionsstörung vor. Da sich bei zunehmender Permeabilität der Blut-Liquor-Schranke auch der Immunglobulingehalt im Liquor erhöht, steigen die Normalbereiche für Antikörperquotienten mit wachsendem Albuminquotienten ebenfalls an. Bei einer intrathekalen Antikörpersynthese steigt die Antikörperaktivität im Liquor bezogen auf die Aktivität im Serum. In Folge wird ein erhöhter Immunglobulinquotient detektiert. In diesem Fall übersteigt der Q_{IgX} den Q_{Lim} der dem oberen Normalbereich gesunder Probanden in Abhängigkeit des Albuminquotienten entspricht. Aus den Reiberdiagrammen lassen sich folglich Normalbefunde (Abb. 2, 1), Störungen der Blut-Liquor-Schranke (Abb. 2, 2), intrathekale Antikörpersynthesen (Abb. 2, 4), sowie kombinierte Störungen der Blut-Liquor-Schranke und intrathekalen Antikörpersynthesen (Abb. 2, 3) ablesen. Bei Vorliegen einer intrathekalen Synthese kann der prozentuale Anteil der im *Liquor cerebrospinalis* gebildeten Antikörper an der Gesamtkonzentration abgeschätzt werden. Hierzu dienen die oberhalb von Q_{Lim} verlaufenden Linien (Abb. 2, b).

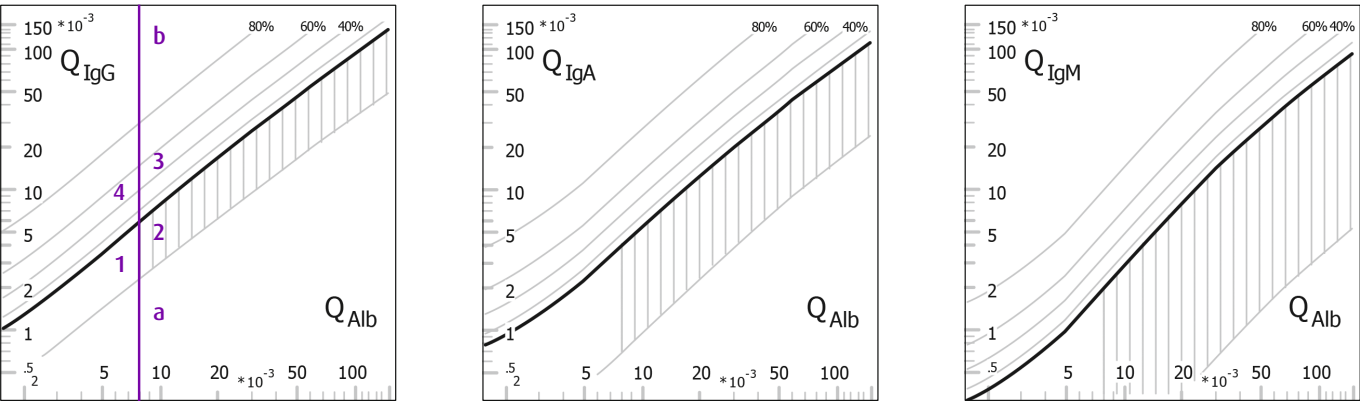


Abb. 2: Reiberschemata eines 60-jährigen Patienten

Antikörperindexbestimmung

Der Antikörperindex (AI) charakterisiert die im ZNS synthetisierte, antigenspezifische IgG, IgM oder IgA Konzentration im Liquor. Analog zur Gesamtantikörperbestimmung durch oligoklonale Banden oder mit Reiber-Diagrammen muss auch bei der Analyse der (erreger-)spezifischen Antikörperaktivität im *Liquor cerebrospinalis* mit dem Gehalt im Serum verglichen werden, um eine intrathekale Antikörpersynthese von Antikörpern serologischen Ursprungs abzugrenzen. Deswegen erfolgt zunächst die Bildung des spezifischen Antikörperquotienten $Q_{spez. IgX}$:

$$Q_{spez. IgX} = \frac{[spez. IgX_{CSF}]}{[spez. IgX_{Serum}]}$$

Aufgrund einer Störung der Blut-Liquor-Schranke kann es zu einer erhöhten Antikörperaktivität im Liquor und somit zu einem Anstieg des $Q_{spez. IgX}$ kommen. Zum Ausschluss einer Fehlinterpretation muss der $Q_{spez. IgX}$ auf einen Marker für die Schrankenfunktion bezogen werden. Zur Vereinfachung der Methode dient bei der AI-Berechnung nicht der bereits beschriebene Albuminquotient Q_{Alb} . Stattdessen wird aus der IgX-Konzentration im *Liquor cerebrospinalis* und dem Gehalt im Serum der IgX-Quotient Q_{IgX} gebildet und als Maß für die Blut-Liquor-Schrankenfunktion verwendet. Bei gesunden Individuen ist das Liquor/Serum-Verhältnis von spezifischen IgX mit dem Verhältnis der gesamten IgX Antikörper identisch. Aus diesem Grund kann Q_{IgX} als Referenz verwendet werden und als Schrankenparameter den Bezug auf den Albuminquotienten Q_{Alb} ersetzen. Somit ergibt sich für den Antikörperindex die folgende Berechnungsmethode:

$$AI = \frac{[Q_{spez. IgG}]}{[Q_{IgG \text{ total}}]}$$

Empfehlung der DGLN für Antikörperindexbestimmung

Da das Verhältnis des spezifischen Antikörperquotienten $Q_{\text{spez. IgX}}$ bei Abwesenheit eines pathologischen Geschehens dem Quotienten aller Antikörper der jeweiligen Klasse entspricht, ist bei gesunden Individuen ein Wert von $AI=1$ zu erwarten. Bei einer intrathekalen Synthese steigt die spezifische Antikörperaktivität im Liquor an, was zu einer Erhöhung des $Q_{\text{spez. IgX}}$ führt. Da dieser Anstieg zunächst nur eine geringe Veränderung der Gesamtantikörperaktivität mit sich bringt, bleibt der Q_{IgX} fast unverändert. In der Folge steigt der AI bei pathologischen Geschehen an und kann somit als Marker einer intrathekalen Synthese dienen. Aufgrund möglicher Ungenauigkeiten und Schwankungen bei der Bestimmung der Analyte werden Antikörperindex zwischen $AI=0,7-1,4$ üblicherweise als Normalbefunde interpretiert, während $AI>1,5$ i.d.R. als pathologisch bewertet werden.

Wie erwähnt wird zur Vereinfachung der AI-Wert-Berechnung der Q_{IgX} anstatt des Q_{Alb} als Maß für die Blut-Liquor-Schranke verwendet. Im Rahmen eines pathologischen Geschehens kann es jedoch zu einer starken oder polyspezifischen Stimulierung von B-Lymphozyten im Liquorraum kommen. Es werden vermehrt Antikörper intrathekal synthetisiert, weswegen sich die Gesamtantikörperaktivität im *Liquor cerebrospinalis* stark erhöht. Als Folge steigt der Q_{IgX} deutlich an und verliert seine Aussagekraft als Maß für die Blut-Liquor-Schranke, da nicht mehr zwischen Diffusion und intrathekalen Synthese unterschieden werden kann. Wird dieser erhöhte Q_{IgX} dennoch zur Berechnung herangezogen, kommt es zu einer Verringerung des Antikörperindex, was zu falsch-nicht-pathologischen Befunden führen kann. Deswegen erfolgt die AI-Berechnung bei einer starken oder polyspezifischen Stimulierung nicht in Bezug auf den Q_{IgX} . Stattdessen wird der obere Normalbereich Q_{LimIgX} verwendet, der den maximalen bei gesunden Individuen auftretenden Q_{IgX} repräsentiert. Bei Verwendung des Q_{LimIgX} wird ausgeschlossen, dass eine intrathekale Antikörpersynthese den Marker der Funktion der Blut-Liquor-Schranke verfälscht. Bei Abwesenheit einer polyspezifischen Stimulierung kann dieser Effekt vernachlässigt werden. Es gilt folglich, zwei Fälle zur Berechnung des Antikörperindex (AI) zu unterscheiden:

$$\text{a) } AI = \frac{[Q_{\text{spez. IgX}}]}{[Q_{\text{IgG total}}]} \quad \text{b) } AI = \frac{[Q_{\text{spez. IgX}}]}{[Q_{\text{LimIgX}}]}$$



Die Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie (DGLN) sind die bisher umfangreichsten Vorgaben für die Qualitätssicherung in der Liquordiagnostik. Die Empfehlungen der DGLN für die Antikörperindexbestimmung werden nachfolgend erläutert.

1. Quantitative Bestimmung der Antikörperaktivität in Liquor und Serum

Die Liquordiagnostik erfordert eine exakte Bestimmung von Antikörperaktivitäten. Deshalb sind nicht konzentrationsbezogene Auswertungsverfahren zur AI-Berechnung nicht empfohlen. Bei der Berechnung eines Antikörperindex auf Basis der OD (Optische Dichte) wird ein linearer Zusammenhang zwischen Messwerten und Antikörperaktivitäten unterstellt. Da die photometrisch bestimmten OD-Werte nicht linear mit den Antikörperaktivitäten zusammenhängen, werden bei nicht-identischen Messwerten von Liquor und Serum Diskrepanzen im Vergleich zu den tatsächlichen Aktivitäten in die AI-Bestimmung einbezogen.

2. Analyse der Liquor- und Serumprobe in einem Testansatz

Werden die Analysen der Liquor- und Serumprobe auf unterschiedlichen Testansätzen durchgeführt, können Schwankungen des Testniveaus zwischen den unterschiedlichen Ansätzen die AI-Berechnung verfälschen.

3. Verdünnungen

Um eine genaue Antikörperquantifizierung zu gewährleisten, müssen Matrixeffekte ausgeschlossen werden. Diese sind nicht-Analyt-bedingte Beeinflussungen eines Messsignals. Sie werden durch zweiwertige Ionen sowie Bindungen unspezifischer Komponenten hervorgerufen. Bei geringen Verdünnungen ist die Matrix des Untersuchungsmaterials konzentrierter. Zur Vermeidung von Matrixeffekten muss Liquormaterial vor der Analyse in Probenpuffer verdünnt werden. Da es sich bei *Liquor cerebrospinalis* um ein Filtrat vom Serum handelt, sind die Antikörperaktivitäten in diesen Proben häufig gering. Deswegen sollte keine zu hohe Verdünnung gewählt werden. In der Regel wird Liquor initial mit einer Verdünnung von 1:2 vermessen.

Da bei der Antikörperquantifizierung kein linearer Zusammenhang zwischen Messsignal und Analyt besteht, muss der experimentelle Standardkurvenverlauf mit einer mathematischen Kurvenfunktion korreliert werden. Außerdem synthetisiert das Immunsystem eine Vielzahl von Antikörpern gegen verschiedene Epitope eines Pathogens, die sich in ihrer Konzentration, Spezifität und Bindungsstärke, wie Affinität und Avidität, unterscheiden. In der Folge treten bei der Antikörperbestimmung stets systematische Fehler auf, die das Ergebnis beeinflussen können. Da der systematische Fehler in Bereichen unterschiedlicher Antikörperaktivitäten variiert, sollten zur Antikörperindexbestimmung Liquor- und Serumproben ähnlicher Aktivität verwendet werden. Im sogenannten pseudolinearen Bereich der Quantifizierungskurve sind systematische Fehler in der Regel gering, weswegen die Differenz zwischen den Antikörperaktivitäten zwischen *Liquor cerebrospinalis* und Serum für die AI-Berechnung nicht zwingend sehr gering sein muss. Im Gegensatz dazu müssen außerhalb des pseudolinearen Bereichs ähnliche Antikörperaktivitäten für die Bestimmung des AI verwendet werden.

Da Antikörper im Serum in der Regel deutlich höher konzentriert sind, sollte die initiale Serumverdünnung mindestens 1:400 betragen. Verdünnungen werden im Optimalfall so gewählt, dass sich beide Aktivitäten in ähnlichen Bereichen auf der Standardkurve befinden.

Innerhalb des pseudolinearen Abschnitts ist eine sehr genaue Bestimmung über einen weiten Bereich möglich. In der Nähe der Quantifizierungsgrenzen sollten die Aktivitäten weniger stark differieren. Aufgrund dieser Abhängigkeit von der zugrundeliegenden Antikörperantwort lässt sich keine generelle Regel über die zulässige maximale Differenz beider Proben formulieren.

Für die genaue AI-Bestimmung sollte das Probenmaterial auf Verdünnungslinearität untersucht werden. Diese kann durch Matrix- oder Verdrängungseffekte beeinträchtigt werden. Deswegen werden meist verschiedene Verdünnungen des Liquor- und Serummaterials untersucht. Antikörperindexbestimmungen nicht-verdünnungslinearer Proben ist nicht verlässlich. Häufig verhalten sich Proben erst bei bestimmten Verdünnungen linear. Die AI-Berechnung darf nur mit den Messwerten aus diesem Bereich durchgeführt werden.

4. Messbereichsgrenzen und Grenzwerte

Quantifizierungsgrenzen von Immunoassays werden in der Regel durch die Präzision (Reproduzierbarkeit) von Messwerten definiert. Abschnitte weit außerhalb des pseudolinearen Bereichs der Standardkurve, in denen geringe Abweichungen der Messwerte zu großen Abweichungen der Aktivitätsbewertung führen, werden aus dem Messbereich ausgeschlossen. Dies bedeutet, dass eine AI-Bestimmung nur mit Antikörperaktivitäten, die innerhalb des Messbereichs liegen, durchgeführt werden dürfen. Zusätzlich können Messwerte $OD<0,1$ nicht verwendet werden, da diese in der Regel unterhalb des technischen Cut off liegen, was eine verlässliche Quantifizierung ausschließt. Die häufig beschriebene Beschränkung auf Werte $OD<2,0$ ist als historisch zu betrachten und wurde durch die eingeschränkten Messbereiche früher Photometer bedingt.

Serologische Grenzwerte haben in der Liquordiagnostik keine Relevanz. Diese werden in klinischen Studien mittels Analyse von Seren von Patienten mit Verdacht auf eine Infektion sowie gesunder Blutspender ermittelt und beziehen sich auf die Verdünnung für serologische Untersuchungen. Der in der Liquordiagnostik anzuwendende Cut off ist $AI=1,5$. Wie beschrieben wird für die Berechnung des Antikörperindex ein Verhältnis aus der Antikörperaktivität in Liquor und Serum gebildet. Aufgrund dieser Verhältnisbildung können pathologische AI auch mit Antikörperaktivitäten innerhalb oder unterhalb des Grenzwertbereichs detektiert werden.

Befundinterpretation

Die Interpretation der Ergebnisse aus den Untersuchungen der Liquordiagnostik sollte unter der Berücksichtigung möglichst vieler Parameter erfolgen. Nach der Interpretation der Einzelmesswerte zur Plausibilitätskontrolle der erhobenen Daten dienen die Ergebnisse zur Identifizierung krankheitsbezogener Muster. Dabei ist es wichtig, die Resultate verschiedener Untersuchungen miteinander in Verbindung zu bringen; auf Basis der Bewertung der Resultate einzelner Untersuchungen ist die Befundinterpretation in der Regel nicht möglich oder nicht verlässlich. Die Wichtigkeit der Berücksichtigung verschiedener Ergebnisse soll in den folgenden, in der Liquordiagnostik häufig auftretenden, Erkrankungsmustern erläutert werden.

Bei akuten Infektionen virologischen oder bakteriellen Ursprungs unter Beteiligung des ZNS (Neuroborreliose, Enzephalitiden oder Meningitiden viralen Ursprungs etc.) kommt es in der Regel zunächst zu einer Aktivierung von Monozyten sowie spezifischer B-Lymphozyten. Diese Aktivierung induziert die Proliferation der Zellen, was zur Detektion erhöhter Zellzahlen im *Liquor cerebrospinalis* führt (Pleozytose) und eine Eintrübung zur Folge haben kann. Bei bakteriellen Infektionen kommt es über einen längeren Zeitraum zu einem Anstieg der Laktatkonzentration, während das Niveau bei viralen Infektionen des ZNS nur in der Frühphase erhöht ist. Im Verlauf kommt es bei bakteriellen Infektionen meist und bei viralen Infektionen teilweise zu einer Beeinträchtigung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion, was unter anderem zu einem Anstieg der Albuminkonzentration im *Liquor cerebrospinalis* führt. Dies bedeutet, dass sich auf Basis eines erhöhten Albuminquotienten Q_{Alb} eine Schrankenfunktionsstörung detektieren lässt.

Die mit der Infektion einhergehende spezifische Stimulierung der B-Lymphozyten führt zur intrathekalen Synthese von Antikörpern, die gegen das auslösende Pathogen gerichtet sind. Dies führt sowohl zu einem Anstieg der spezifischen Antikörperaktivität sowie der Gesamtantikörperkonzentration bestimmter Immunglobulinklassen im *Liquor cerebrospinalis* und somit zu erhöhten $Q_{\text{spez. IgX}}$ bzw. Q_{IgX} . Dementsprechend können unter Verwendung der Reiberschemata intrathekale Antikörpersynthesen detektiert werden. Intrathekale Synthesen von Antikörpern der Klasse IgG können auch durch oligoklonale Banden mittels isoelektrischer Fokussierung nachgewiesen werden. Außerdem kommt es zu erhöhten Antikörperindizes in pathologischen Bereichen, die auf Basis der spezifischen Antikörperaktivitäten berechnet werden.

Bei den beschriebenen akuten Infektionen kann es zur Synthese von Antikörpern verschiedener Immunglobulinklassen kommen. So werden beispielsweise bei Neuroborreliosen sowohl intrathekale Synthesen von Antikörpern der Klassen IgM und IgG isoliert oder kombiniert detektiert. Auch bei Virusinfektionen mit ZNS-Beteiligung kann neben dem Nachweis von IgG-Antikörpern die Analyse weiterer Immunglobulinklassen von Nutzen sein. Generell gilt zu beachten, dass insbesondere bei Erkrankungen herpesviralen Ursprungs sehr hohe Antikörperaktivitäten auftreten können, weshalb die Wahl geeigneter Verdünnungen erschwert wird. Da eine Regulation der B-Lymphozyten im *Liquor cerebrospinalis* nicht vollständig ist, können erhöhte Antikörperindizes verschiedener Immunglobulinklassen auch nach Rekonvaleszenz detektiert werden. Dabei ist zu beachten, dass aufgrund abnehmender Antikörperindizes im Serum bei stabiler Aktivität im Liquor ein Anstieg des AI zu beobachten sein kann, der ohne klinische Relevanz ist. Generell gilt, dass zwischen dem Zeitpunkt der Infektion und der Nachweisbarkeit der Antikörpersynthese eine diagnostische Lücke auftreten kann.

Der Nachweis einer Multiplen Sklerose (MS) kann ebenfalls über die Detektion intrathekaler Synthesen pathogenspezifischer Antikörper erfolgen. Zwar lassen sich Infektionen bestimmter Erreger nicht mit dem Ausbruch einer Multiplen Sklerose in Verbindung bringen. Allerdings kommt es in Folge der unspezifischen Aktivierung des Immunsystems im Rahmen der MS zu einer Aktivierung von B-Lymphozyten, was zu einer intrathekalen Antikörpersynthese bei ca. 90 % der Patienten führt. Als Marker der Multiplen Sklerose hat sich die sogenannte MRZH-Reaktion etabliert. Diese besteht aus dem kombinierten Nachweis einer intrathekalen Synthese von Antikörpern der Klasse IgG gegen Masern Virus („M“; ca. 80 % der Patienten), Röteln Virus („R“, ca. 65 % der Patienten), Varizella-Zoster Virus („Z“, ca. 50 % der Patienten) und Herpes Simplex Virus („H“, ca. 25 % der Patienten). Sind erhöhte Antikörperindizes bei einem oder mehreren Parametern nachweisbar, ist dies zunächst ein Hinweis auf eine Multiple Sklerose. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass bei dieser Erkrankung in der Regel keine erhöhten Zellzahlen oder Laktatkonzentrationen detektiert werden können, da keine akute Infektion vorliegt. Dies bedeutet weiterhin, dass ein Nachweis mittels PCR nicht möglich ist. Im Gegensatz zu vielen akuten Infektionen mit Beteiligung des ZNS ist die Blut-Liquor-Schrankenfunktion bei einer MS nicht beeinträchtigt.

Liquor Report

Patient:
Informationen:

Geburtsdatum:
Probeneingang:

Differentialdiagnostische Fragestellung:

Datum der Punktion:

Punktion			Visuelle Bewertung				Hgb				Vol.	TP (Pandy)
LP	CP	VP	turbid	xanth.	bloody	art. bl.	0	+	++	+++	ml	0 + ++

Zellen

Zellzahl		/mm ³	RBC		/mm ³
Lymphoz.	%	Mononuk. C.	%	PMNR (n.)	%
Andere Zelltypen					
Aktivierte B-Zellen			% der Lymphozyten		

Proteine

	Liquor	Serum	Q (CSF/Ser) X 10 ³	Intrathek. Fraction
Tot.	mg/L			
Alb.	mg/L	g/L	Q _{Alb}	
IgG	mg/L	g/L	Q _{IgG}	%
IgA	mg/L	g/L	Q _{IgA}	%
IgM	mg/L	g/L	Q _{IgM}	%

Oligoklonales IgG

Liquor	Serum
--------	-------

Spezifische Antikörper

Masern V. AI	HIV AI	Borrel. IgG AI
Röteln V. AI	CMV AI	Borrel. IgM AI
VZV AI	Toxopl. AI	 AI
HSV AI	 AI	 AI

Laktat

mmol/

Kommentar

Liquordiagnostik mit SERION ELISA

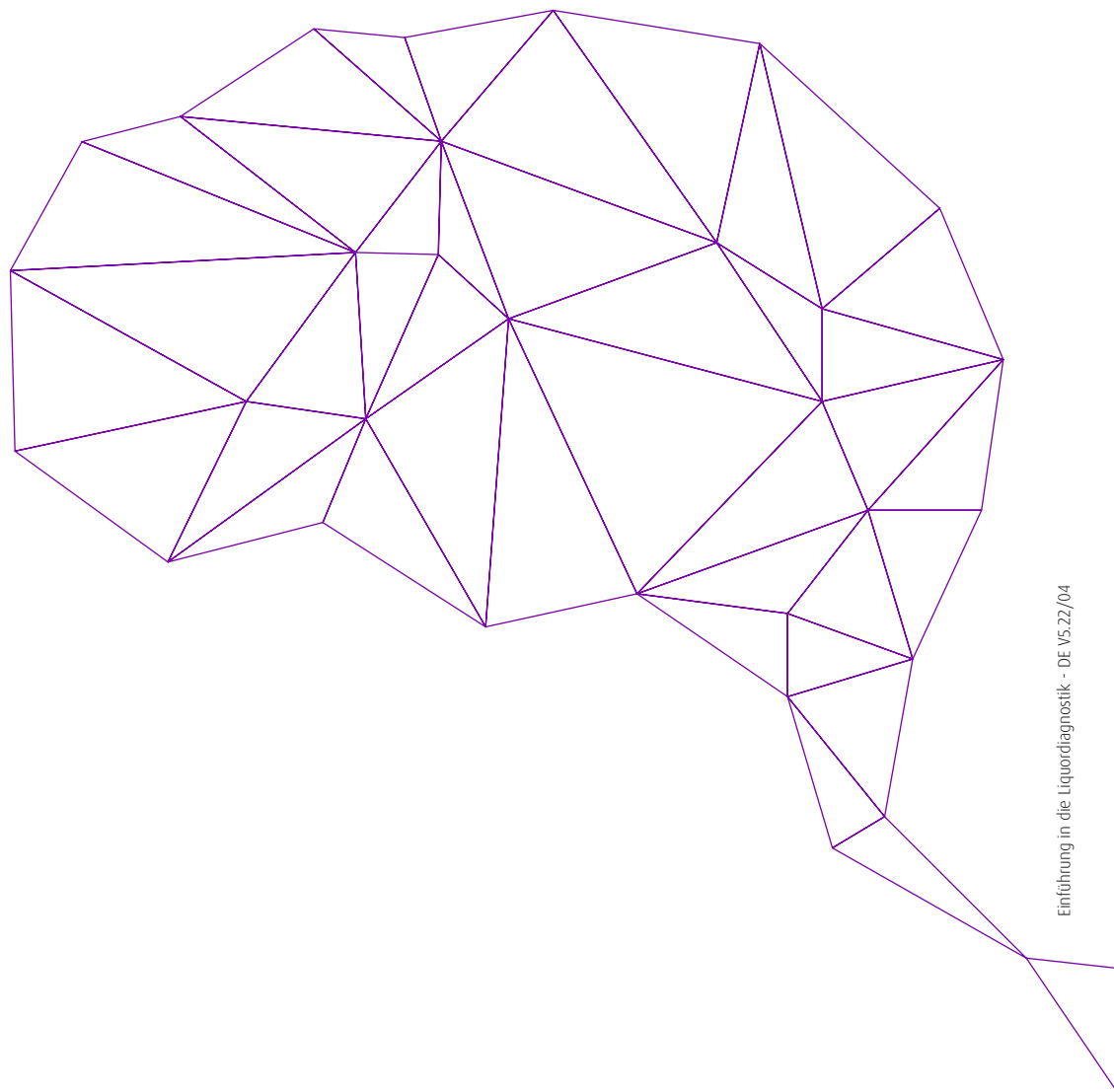
Zur Berechnung von Antikörperindizes müssen erregerspezifische Immunglobuline in Serum und *Liquor cerebrospinalis* detektiert werden. Die Institut Virion\Serion GmbH bietet ein breites Portfolio zur Bestimmung von CE-zertifizierten Antikörpernachweisen an, die für die Liquordiagnostik validiert wurden. Die Durchführung einer Untersuchung für die Liquordiagnostik kann mit einem herkömmlichen SERION ELISA analog zu serologischen Untersuchungen vorgenommen werden, es werden keine teure Zusatzreagenzien benötigt. Die Testsysteme ermöglichen die Bestimmung von Liquor- und Serumproben in einem Testansatz. Dabei können verschiedene Verdünnungen des *Liquor cerebrospinalis* und verschiedene Verdünnungen des Serums durch den Nutzer ausgewählt und auf denselben Kalibrator bezogen werden. Die Bestimmung der Antikörperaktivitäten der Serumanalysen aus den Assays der Liquordiagnostik kann unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors auch für die Serologie verwendet werden. Die Verwendung einheitlicher Inkubationsbedingungen (auch für Liquordiagnostik und Serologie) erlaubt eine Kombination verschiedener SERION ELISA Immunoassays in einem Testlauf. Aufgrund der genauen Quantifizierung mit der für SERION ELISA verwendeten 4 PL-Methode lassen sich Antikörperaktivitäten exakt und über einen weiten Messbereich bestimmen. Die 1-Punkt-Kalibrierung an einer vorgegebenen, chargenspezifischen Standardkurve erlaubt eine ökonomische Abarbeitung ohne kosten- und zeitintensive Erstellung testlaufspezifischer Standardkurven auf Basis einer Vielzahl von Kalibratoren.

Highlights der SERION ELISA Immunoassays

- Umfangreiche Produktpalette für die Liquordiagnostik
- Detektion intrathekal synthetisierter Antikörper nach dem von Prof. Hansotto Reiber entwickelten Schema
- Berechnung von Antikörperindizes mit der Software SERION easyCSF
- Identische Testsysteme für Serologie und Liquordiagnostik; teure Zusatzreagenzien werden nicht benötigt
- Parallele Abarbeitung von Liquordiagnostik und Serologie in einem Testansatz
- Exakte Quantifizierung der Antikörperaktivität durch Verwendung der präzisen 4 Parameter-Logistik Funktion (4 PL)
- Freie Auswahl und Kombinierbarkeit unterschiedlicher Verdünnungen für Serum- und Liquorproben zur Berechnung der Antikörperindizes
- Automatisierte Liquordiagnostik mit SERION Immunomat

Referenzen

- Reiber H, Peter JB (2001): *Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs*
Journal of the Neurological Sciences 184 (2001) 101-122
- Zimmermann K, Kühn HJ, Linke E (2012): *Praktische Liquordiagnostik in Frage und Antwort*
ISBN: 978-3-87185-487-3
- Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C (1998): *The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis*
Multiple Sclerosis (1998) 4, 111-117



Einführung in die Liquordiagnostik - DE V5.22/04

Institut Virion\Serion GmbH

Friedrich-Bergius-Ring 19, 97076 Würzburg, Germany

Tel. +49 931 3045 0 Fax +49 931 3045 100

Mail info@serion-diagnostics.de Web www.serion-diagnostics.de

virion\serion

Inspired by Dedication