

Moderne Liquordiagnostik

Eine Übersicht

Jens Kuhle^{a, b, c}, Matthias Mehling^{a, b}, Axel Regeniter^c

Universitätsspital Basel

^a Neurologie, Labor für klinische Neuroimmunologie, ^b Departement Forschung, ^c Laboratoriumsmedizin



Quintessenz

- Diese Übersicht beschreibt die Grundlagen der Liquordiagnostik bei Erkrankungen mit ZNS-Beteiligung.
- Neurologische Erkrankungen präsentieren sich häufig mit vielfältigen und unspezifischen klinischen Symptomen. Zusammen mit den bildgebenden Verfahren liefert die Liquoranalytik diagnostisch häufig wegweisende Informationen.
- Die Basisdiagnostik besteht grundsätzlich aus Zellzahl, Zellbild, der Beurteilung der Schrankenfunktion und des Musters der intrathekalen Immunglobulinsynthese von IgG, IgA und IgM.
- Daraus ergeben sich vielfach krankheitstypische Befundkonstellationen aus Schrankenstörung und Immunglobulinsynthese, die durch spezifische Methoden zum Erregernachweis ideal ergänzt und bestätigt werden.
- Hierfür ist nicht nur die topographische Nähe zwischen ZNS und Liquor verantwortlich, sondern vor allem auch der fehlende Wechsel von der IgM- zur IgG-Immunglobulinsynthese im Liquor.
- Die Untersuchung des Liquors ist neben der Akutdiagnostik auch bei der Abklärung von chronischen und autoimmunen ZNS-Erkrankungen von grosser Relevanz.

Summary

Modern cerebrospinal fluid analysis. A review

- *The clinical and scientific basics of cerebrospinal fluid (CSF) analysis are reviewed.*
- *Neurological diseases often present with non-specific clinical symptoms, and CSF analysis may provide valuable information to complement modern imaging techniques.*
- *The basic diagnostic CSF workup consists of cell count, cell differential, evaluation of barrier function and intrathecal IgG, IgA and IgM synthesis.*
- *The combined results often form patterns typical of certain diseases, well supported by pathogen-specific diagnostic approaches.*
- *The proximity of the CSF to the brain and the absence of a switch from IgM to IgG are the main reasons for these disease-specific patterns.*
- *CSF analysis is thus justified not only in acute conditions but even more so in chronic and autoimmune CNS diseases.*

Einleitung

Um das Jahr 400 vor Beginn der Zeitrechnung beschrieb Hippokrates das Vorkommen von Flüssigkeitskammern im Gehirn. Nachdem Heinrich Irenäus Quincke 1891 erstmals eine transkutane Lumbalpunktion durchgeführt hatte, wurden zu Beginn des 20. Jahrhunderts bereits regelmässig diagnostische Lumbalpunktionen in europäischen und amerikanischen Krankenhäusern eingesetzt. Einhergehend mit der Erstbeschreibung der Blut-Liquor-Schranke durch Friedrich Karl Walter 1929, gewann auch der Begriff der eingeschränkten Blut-Liquor-Schranke an Bedeutung [1]. Elvin A. Kabat beschrieb 1942 erstmals eine Gammaglobulinvermehrung im Liquor cerebrospinalis (Liquor) bei der Multiplen Sklerose (MS) und der Neurosyphilis [2].

Die isoelektrische Fokussierung zur Bestimmung oligoklonaler Banden im Liquor, das heisst im ZNS produzierter Immunglobuline (OB) wurde erstmals 1965 erwähnt und hat bis in die heutige Zeit in verschiedenen Variationen Anwendung gefunden [3]. Neben diesem qualitativen Nachweis einer intrathekalen Immunglobulinsynthese können Immunglobuline auch quantitativ im Liquor gemessen werden, was zur Entwicklung zahlreicher unterschiedlicher Formeln zur Quantifizierung der lokalen Antikörpersynthese führte [4–7].

Die Liquordiagnostik stellt in Verbindung mit modernen bildgebenden Verfahren einen zentralen Bestandteil der Diagnostik von neurologischen Erkrankungen dar. Vor allem bei inflammatorischen Krankheitsbildern (infektiöser und nichtinfektiöser 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 zu den benachbarten Strukturen des Nervensystems 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). Rund 80–90% des Liquors werden durch die Plexus choroidei 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 etwa 150–170 ml ein Liquorumsatz des Drei- bis Vierfachen des Liquorraumes 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, ungefähr 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, das heisst im ZNS synthetisierte Proteine (z.B. Beta-2-Transferrin, Beta-trace-Protein [Prostaglandin-D-Synthase], Gamma-trace-Protein [Cystatin C] und in geringeren Konzentrationen neuronenspezifische Enolase, S 100, glial fibrillary acidic protein [GFAP]) [8]. Im Liquor ist die Proteinkonzentration bei intakter Blut-Liquor-Schranke ungefähr um das 200fache tiefer als im Serum. Kleinere Moleküle diffundieren besser in das Liquorkompartiment als grössere; so beträgt zum Beispiel der Quotient für IgG, IgA und IgM 1:500, 1:1000 und 1:5000 [9, 10].

Der Begriff «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, verbunden durch Tight junctions; Perizyten und kontinuierliche Basalmembran) mit einer starken Einschränkung des Molekültransfers aus dem Blut stellt die Grundlage der Blut-Hirn-Schranke dar. Die zerebrale Extrazellulärflüssigkeit steht hingegen über die Ependymzellen ohne Tight junctions in direktem Kontakt mit dem Liquor.

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-Schranken-Dysfunktion. Der reduzierte Liquor-

fluss kann durch eine reduzierte Bildungsgeschwindigkeit, eine Flussverminderung im Subarachnoidalraum oder durch eine Abflussbehinderung der Arachnoidalzotten hervorgerufen werden [11]. Unklar ist, ob eine (zusätzliche) Permeabilitätssteigerung der Endothelbarriere die Blut-Liquor-Schranken-Dysfunktion zusätzlich beeinflusst. Wahrscheinlich spielen beide Mechanismen je nach Situation eine unterschiedlich starke synergetische Rolle [8].

Da Albumin ausschliesslich in der Leber synthetisiert wird, wird der Albuminquotient ($Q_{\text{Alb}} = \text{Alb}_{\text{CSF}}/\text{Alb}_{\text{Serum}}$) als Mass für die Blut-Liquor-Schranken-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 choroidei wieder zuzunehmen (0,4 ml/min bei jungen und 0,1 ml/min bei älteren Probanden) [12].

Neuroimmunologische Konzepte und die intrathekale Immunglobulinproduktion

Das zentrale Nervensystem wurde lange als immunprivilegiertes, das heisst 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 [13]. Unter physiologischen Bedingungen löst dies keine Immunreaktion aus. Im Gegensatz dazu können Infektionen, Traumata oder degenerative Veränderungen über Entzündungsreaktionen komplexe immunologische Kaskaden auslösen. Möglicherweise spielt die Freisetzung von Antigenen in das periphere Immunsystem mit einer nachfolgenden 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 lässt sich dadurch erklären (Infarkte, SAB, Hirnkontusionen) [14, 15]. Die Spezifität der intrathekal gebildeten Immunglobuline bei primär nicht erregerbedingten entzündlichen ZNS-Erkrankungen wie zum Beispiel bei der Multiplen Sklerose, der (Neuro-)Sarkoidose, der (Neuro-)Behçet-Krankheit oder bei Vaskulitiden ist bisher ungeklärt. Bei der Multiplen Sklerose werden die intrathekal gebildeten Immunglobuline als repräsentativ für das in den MS-Herden durch die dort ansässigen Plasmazellen sezernierte IgG angesehen [15]. Unter physiologischen Bedingungen (intakte Blut-Liquor-Schranke) gelangen immer auch Immunglobuline in geringen Mengen grössenabhängig aus dem Serum in den Liquor ($\text{IgM} < \text{IgA} < \text{IgG}$).

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. Hierfür sind postsynthetische Änderungen der IgG-Moleküle verantwortlich [15, 16].

Es werden nach internationalem Konsens fünf Muster der oligoklonalen IgG-Banden unterschieden (Abb. 1 [17]). Dabei entsprechen die Typen 2 und 3 einer intrathekalen Immunglobulinsynthese. Typ 4 und Typ 5 spiegeln in der Peripherie ablaufende Immunantworten wieder, das heisst, die erhaltenen Muster lassen somit auch Rückschlüsse auf primär systemische

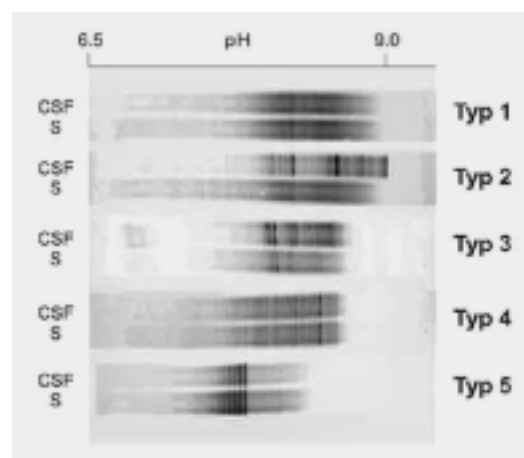


Abbildung 1

Interpretation der Bandenmuster von oligoklonalem IgG in Liquor und Serum. Isoelektrische Fokussierung von Liquor (CSF) und Serum (S) auf Agarosegel mit anschliessendem Immunoblot:

- 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 (wie Typ 2) und zusätzlich identische oligoklonale Banden in Liquor und Serum (wie Typ 4) als Zeichen einer intrathekalen IgG-Synthese bei systemischer Immunreaktion.
- Typ 4: Identische OB in Liquor und Serum durch passive 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 [17].

Ursachen eines intrathekalen Immunglobulin-nachweises zu. Für den qualitativen Nachweis von oligoklonalen IgA oder IgM mittels isoelektrischer Fokussierung stehen momentan keine validierten Methoden zur Verfügung.

Quantitative Berechnungen, die auf der Messung von IgG und Albumin in Serum und Liquor beruhen, können ebenfalls eine intrathekale Immunglobulinproduktion nachweisen, sind aber weniger sensitiv und spezifisch als die isoelektrische Fokussierung. Neben den von Hansotto Reiber [11] erarbeiteten Formeln, die im deutschen Sprachraum die Standardberechnungen darstellen (Hyperbelfunktion in doppelt logarithmischen Darstellungen getrennt für IgG, IgM und IgA) (Abb. 2 [17–19]) existieren unter anderem der IgG-Index nach Link (Q_{IgG}/Q_{Alb}) [20] und die IgG-Syntheserate nach Wallace W. Tourtelotte [21] sowie weitere mathematische Berechnungsmodelle. Während im Bereich normaler Albuminquotienten nur geringfügige Unterschiede festzustellen sind, finden sich bei hohen Albuminquotienten häufig falschpositive Werte. Für sehr niedrige Albuminwerte (z.B. Ventrikelliquor, Werte bei Kindern usw.) zeigen sich im IgG-Index darüber hinaus häufig falschnegative 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 Immunglobulin-subklassen (IgG, IgA, IgM) zu ermitteln (Abb. 2).

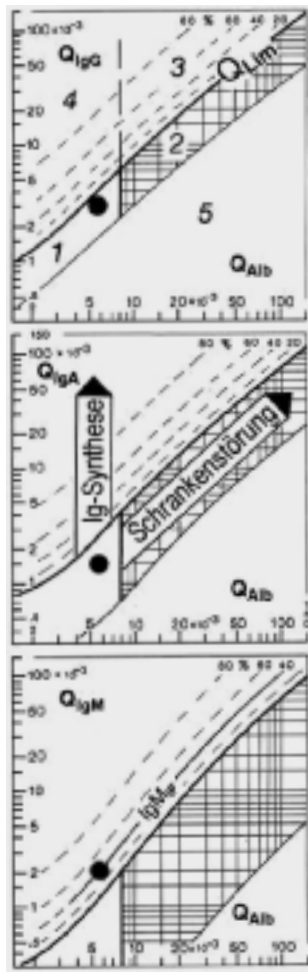
Notfalldiagnostik und krankheitsbezogene Befundmuster

Das diagnostische Notfallprogramm

Die diagnostische Lumbalpunktion ist ein Standardverfahren, bei dem es sehr selten zu ernsthaften Komplikationen kommt. Die Durchführung diagnostischer Subokzipital- oder Ventrikelpunktionen ist weitestgehend eingestellt worden. Zu beachten sind Kontraindikationen wie ein erhöhter intrakranieller Druck oder eine relevante Gerinnungsstörung.

Der Liquor sollte ohne Zusatz in sterilen verschlossenen Plastikröhrchen gesammelt werden. Um eine Adhäsion von Eiweissen an die Gefässwand zu vermeiden, sind Polypropylengefässe am besten geeignet. Proben mit zellulären Bestandteilen werden bei 4–8 °C gelagert. Das Liquorzellbild muss so früh als möglich erstellt werden, da es ex vivo zu einer Zelldegeneration und einem 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

**Abbildung 2**

Liquor/Serum-Quotienten-Diagramme für IgG, IgA, IgM mit hyperbolischen Funktionen nach Reiber [11].

Die Bereiche 1 und 2 stellen den Referenzbereich der aus dem Blut stammenden IgG-, IgA- und IgM-Fractionen im Liquor dar. Die oberen hyperbolischen Kurven (dicke Linien) des Referenzbereiches repräsentieren die Diskriminierungslinien (Q_{Lim} [«Lim» von «Limes»]) zwischen den aus dem Gehirn und den aus dem Blut stammenden Immunglobulinfraktionen im Liquor. Werte oberhalb von Q_{Lim} werden als intrathekale Fraktionen (IF) in Prozent der Gesamtliquorkonzentration dargestellt (IgG_{IF}, IgA_{IF} oder IgM_{IF}) [11, 12]. Diese intrathekalen Fraktionen können direkt aus dem Diagramm anhand der dargestellten Prozentlinien (intrathekale Synthese von 20, 40, 60 oder 80%) abgelesen werden und beziehen sich auf Q_{Lim} als 0%-Synthese. Die Grenze des Referenzbereiches für den Albuminquotienten, Q_{Alb}, zwischen normaler und erhöhter Liquorproteinkonzentration (Störung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion) ist altersabhängig mit einer allgemeinen Formel für Alter >5 Jahre: Q_{Alb} = (4 + Alter [J.]/15) × 10⁻³ (z.B. vertikale Linie, Q_{Alb} 8 × 10⁻³ für einen 60 Jahre alten Patienten). Die Diagramme beschreiben fünf Bereiche: 1. normal, 2. reine Störung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion, 3. intrathekale IgG-Synthese mit einer Schrankenfunktionsstörung, 4. eine intrathekale IgG-Synthese ohne Schrankenfunktionsstörung. Werte unterhalb der unteren hyperbolischen Linie im Bereich 5 zeigen einen methodischen Fehler an. Die Anordnung der einzelnen Diagramme übereinander erlaubt den Bezug auf den allen Diagrammen gemeinsamen Albuminquotienten und erleichtert so die Mustererkennung.

Die Daten im Diagramm stammen von einem Patienten (•) mit einer Fazialislähmung mit einer intrathekalen IgM-Fraktion von (IgM_{IF} 40%) und oligoklonalem IgG (bei IgG_{IF} 0). Diese Basisinformation führte zur weiteren Analyse des borrelienspezifischen Antikörperindex mit Borrelien (IgG-Al 4,3) und Borrelien (IgM-Al 3,2). Damit wird *Borrelia burgdorferi* als die Ursache der Erkrankung identifiziert.

ohne neurologische Herdsymptomatik und Hirndruckzeichen oder Gerinnungsstörungen sollten bei klinischem Verdacht auf eine bakterielle oder virale Meningitis bzw. Enzephalitis so früh als möglich lumbalpunktiert werden. Unmittelbar nach einer allfälligen Zusatzentnahme 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 sollten eine optische Beurteilung des Liquors (trüb ab ungefähr 1000 Leukozyten/μl, eitrig, blutig, xanthochrom) erfolgen sowie Totalprotein und Laktat, Zellzahl und eine Zelldifferenzierung bestimmt werden. Bei erhöhter Zellzahl oder erhöhtem Liquorlaktat sind ein Grampräparat, gegebenenfalls ein Latexschnelltest für häufige Bakterien und zusätzlich eine Ziehl-Neelsen-Färbung sinnvoll. Der Liquor/Serumglukose-Quotient beträgt beim Ge-

sunden ungefähr 0,6, entsprechend einer Liquorglukose von 2,7–4,2 mmol/L bei normaler Serumglukosekonzentration. Bei bakteriellen Meningitiden, Pilzmeningitiden und bei einer Meningeosis carcinomatosa ist der Liquor/Serumglukose-Quotient oft reduziert (<0,5). Diese grundlegende Erregerdiagnostik muss durch weitere Analysen ergänzt werden, hierfür ist eine ausreichende Liquormenge erforderlich. Eine normale Zellzahl (lumbal 0–4/μl; subokzipital 0–3/μl; ventrikulär 0–1/μl) 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 anbehandelten (evtl. tote Bakterien im Grampräparat) oder bei immunsupprimierten Patienten mit Leukopenie. Die Betroffenen weisen jedoch meist eine gestörte Schrankenfunktion (erhöhter Albuminquotient) als Frühzeichen einer Entzündung auf. Subarachnoidalblutungen, ZNS-Vaskulitiden und -Tumoren sind nichtinfektiöse Ursachen für eine Erhöhung des Liquorproteins [25]. Eine erhöhte Zellzahl ist nicht immer mit einer akuten entzündlichen ZNS-Erkrankung gleichzusetzen. Sie findet sich zum Beispiel auch


als Reizpleozytose nach einer Lumbalpunktion (bis ungefähr 7–14 Tage nach der Punktion), nach intrakraniellen Blutungen, neurochirurgischen Eingriffen oder im Rahmen einer Meningeosis neoplastica. Bei Verdacht auf eine Meningeosis neoplastica sollte reichlich Liquor entnommen werden (10–11 ml). Falschpositive Resultate ergeben sich häufig aus Verwechslungen von malignen mit entzündlich veränderten Zellen in der zytologischen Beurteilung durch Ungeübte 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]. Akute bakterielle Meningoenzephalitiden können von viralen Prozessen durch eine wesentlich stärkere Erhöhung von Zellzahl (>1000/µl) und Liquorlaktat (>3,5 mmol/L) unterschieden werden. Ein meningitisches Syndrom bei normalem Liquorlaktat spricht sehr für eine virale Ätiologie. Virale Infektionen, die bei normalem Laktatwert häufig Zellzahlen von <100/µl 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 erregerbedingten ZNS-Erkrankungen beobachtet.

Erythrozyten werden unter physiologischen Verhältnissen im Liquor nicht gefunden. Vor allem bei kleineren oder älteren (>1 Woche) Subarachnoidalblutungen, die im CT nicht gesehen werden (ungefähr 10–20%) spielt die Liquoranalytik eine wichtige Rolle [28–30]. Erschwert wird die Liquordiagnostik zum einen bei einer artifiziell blutigen Punktion, zum anderen durch die starke Stadienabhängigkeit der zu erwartenden Liquorveränderungen. Bestehen bei der blutigen Punktion Zweifel, sollten drei Röhrchen zur Erythrozytenzählung abgenommen und die Reihenfolge festgehalten werden (Dreigliäserprobe), allerdings ist auch hierdurch nicht immer ein sicherer Ausschluss einer artifiziellen Blutbeimengung möglich [31]. Durch Blutabbauprodukte (Oxyhämoglobin: rötlich-pink; metabolisiert zu Bilirubin: gelb) kommt es im zentrifugierten Liquor frühestens 9–15 Stunden nach einem 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 artifizieller Blutbeimengung) [32–34]. Hier ist die Spektrophotometrie, die nicht von Betrachter und Tageszeit abhängig ist, der visuellen Beurteilung deutlich überlegen [35–37].

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 Liquorferritins (>18 pg/ml) sind ebenfalls charakteristisch für eine Subarachnoidalblutung, wobei die Konzentration im Liquor die Serumkonzentration weit übersteigen kann. 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 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 (Abb. 3, 4  [40, 41] und dann sinnvoll durch zusätzliche Parameter ergänzt werden.

Ursache einer intrathekalen Immunreaktion kann neben einer akuten entzündlichen Erkrankung eine bereits mehrer Jahre zuvor abgelaufene Infektion («Liquornarbe», z.B. Neurosiphilis, Herpes-simplex-Enzephalitis) oder auch ein chronisch entzündlicher Prozess im Rahmen einer Autoimmunerkrankung (z.B. Multiple Sklerose) sein. Zur weiteren Abgrenzung, vor allem hinsichtlich der 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 oder Neurosiphilis zeigt sich meist ein typisches Muster der intrathekalen Immunglobulinproduktion mit einer IgG-Dominanz. Typisch für die Neurotuberkulose, für Hirnabszesse oder eine Adrenoleukodystrophie ist eine dominante IgA-Synthese. Eine IgM-Dominanz findet sich dagegen in der Regel bei Neuroborreliose, Mumps-Meningoenzephalitis oder Non-Hodgkin-Lymphomen mit ZNS-Beteiligung. Somit ist eine intrathekale IgM-Synthese durch den fehlenden Immunglobulin-klassen-Switch im Gegensatz zum peripheren Immunsystem keineswegs mit einer akuten Erkrankung gleichzusetzen, sondern ermöglicht gewisse Rückschlüsse auf die Grunderkrankung. Nachfolgend werden exemplarisch die Multiple Sklerose und die Neuroborreliose mit ihren charakteristischen Liquorbefunden ausführlicher geschildert.

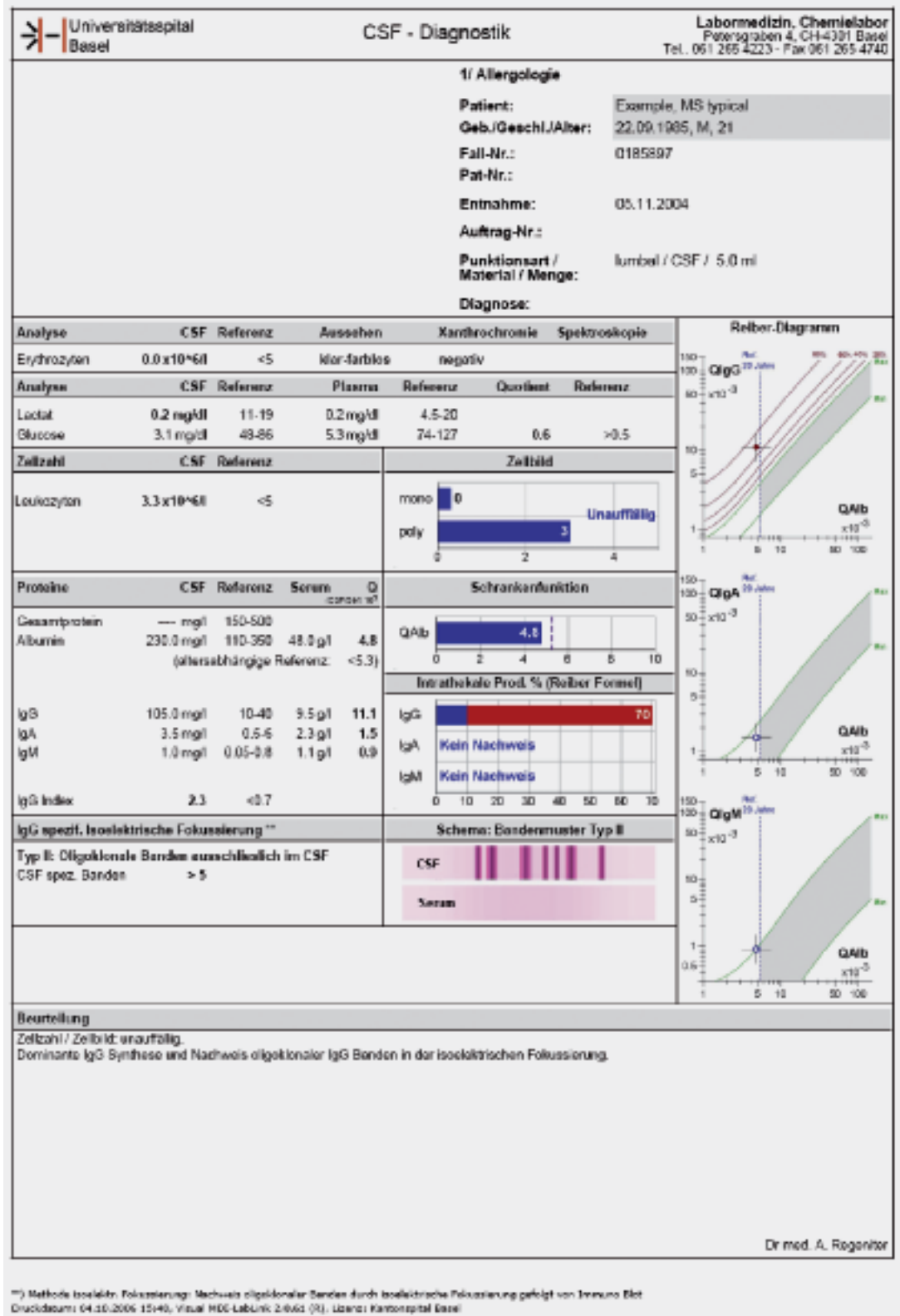


Abbildung 3

Beispielhafte graphische Darstellung der Liquoranalytik im kombinierten Basler Befundbericht (Multiple Sklerose). Im rechten Teil klassische Liquor/Serum-Quotienten-Diagramme 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 intrathekaler Immunglobulinsynthese ergänzt werden. Pathologische Befunde sind rot markiert. Die Bandenmuster der isoelektrischen Fokussierung werden schematisch nach internationalem Konsens angegeben (siehe Abb. 1).

** Methode isoelektr. Fokussierung: Nachweis oligoklonaler Banden durch isoelektrische Fokussierung gefolgt von Immuno-Blot (Druckdatum: 04.10.2006 15:46, Visual HCE LabLink 2.6/61 (R), Lizenz: Konzeptspezil Basel)

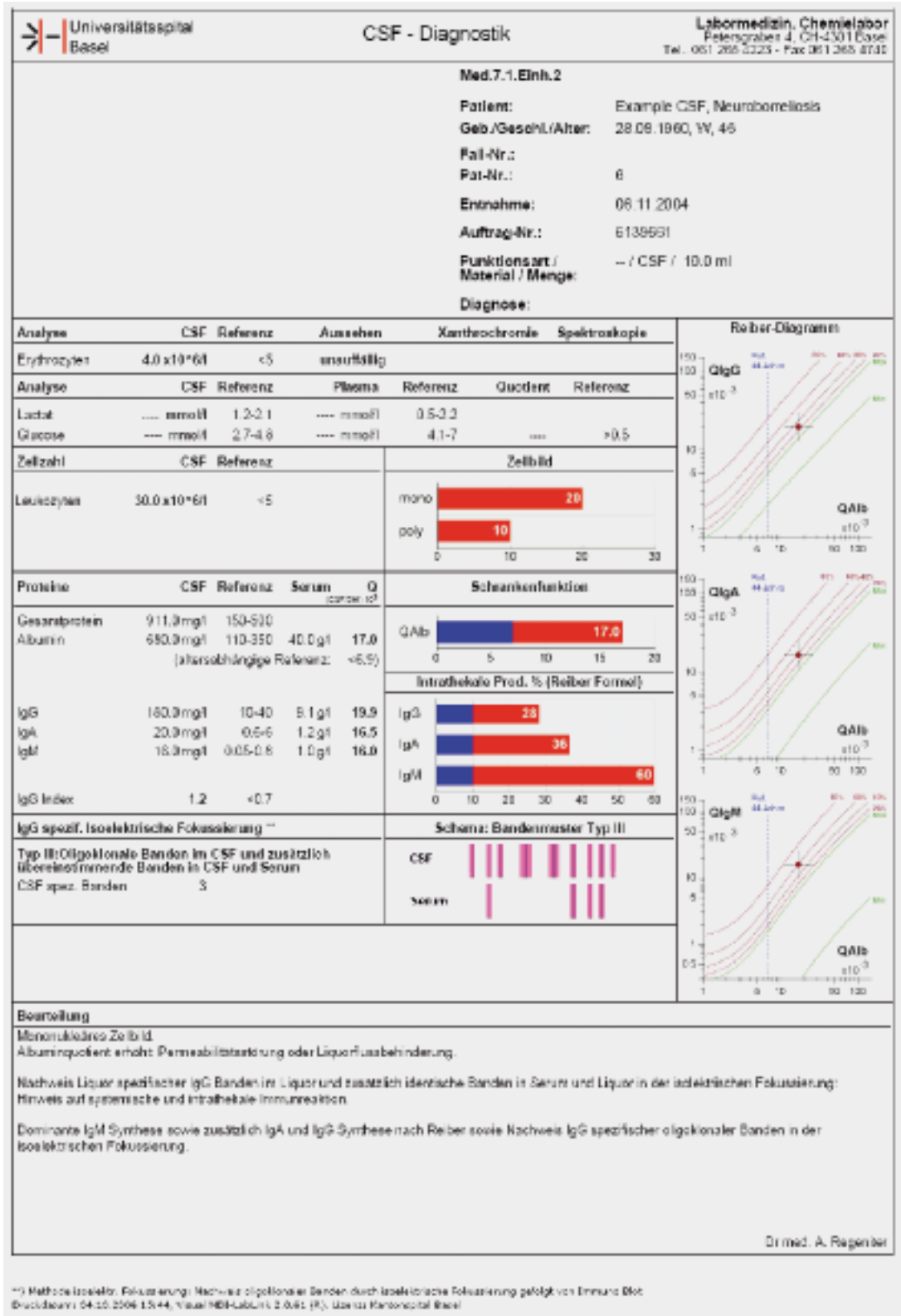


Abbildung 4
 Beispielhafte graphische Darstellung der Liquoranalytik im kombinierten Basler Befundbericht (Neuroborreliose) (Kommentar siehe Abb. 3).

Multiple Sklerose

Bei der Multiplen Sklerose zeigen etwa 50–60% der Patienten eine mässige Zellzahlerhöhung zwischen 4 und 50/ μ l (Abb. 3). Zellzahlen zwischen 50 und 100/ μ l kommen nur in Ausnahmefällen vor (z.B. Marburg-Variante der Multiplen Sklerose) und sollten Anlass zu weiteren differentialdiagnostischen Abklärungen sein. Überwiegend handelt es sich um aktivierte T-Zellen. In 75% der Fälle finden sich antikörperproduzierende Plasmazellen. Der Albuminquotient zeigt in 70–80% der Fälle normale Werte, gelegentlich eine leichte (Q_{alb} $8\text{--}10 \times 10^{-3}$) und selten eine mittelschwere Schrankenfunktionsstörung (Q_{alb} $10\text{--}20 \times 10^{-3}$).

Bei der Multiplen Sklerose lassen sich oligoklonale Banden in 95–100% nachweisen [15, 17, 42, 43]. Ein fehlender Nachweis sollte Anlass sein, die Diagnose zu überprüfen. Bei klinisch isolierten Syndromen entspricht oder übertrifft die diagnostische Sensitivität der Liquordiagnostik bei nur leicht geringerer Spezifität die magnetresonanztomographische Bildgebung. Falls beide Untersuchungsmethoden negativ ausfallen, ist das Erkrankungsrisiko minimal [44–49]. Die intrathekale Immunglobulinproduktion persistiert bei der Multiplen Sklerose über Jahrzehnte und bleibt nach bisherigen Erkenntnissen selbst nach einer autologen Stammzelltransplantation erhalten [50, 51]. Sowohl die Art des Antigens als auch die Art der Antigenpräsentation sind hierbei bisher unklar [52–54]. Das eingeschränkte Immunglobulinmuster im Liquor und in MS-Läsionen (klonale Expansion und somatische Hypermutation) sprechen aber für eine mögliche pathogenetische Bedeutung von lokal expandierenden und persistierenden B-Lymphozyten [55–57].

Im Rahmen der polyspezifischen, oligoklonalen Immunreaktion kommt es bei der Multiplen Sklerose in bis zu 90% der Fälle zu einer gleichzeitigen intrathekalen Synthese von Masern-, Röteln- und Varizella-Zoster-Virus-IgG (MRZ-Reaktion). Bei diesen Antikörpern gegen immunpathologisch vermutlich irrelevante Antigene handelt es sich meist um weniger als 1% der gesamten intrathekalen IgG-Synthese. Die MRZ-Reaktion kann zur Differentialdiagnose von anderen Autoimmunerkrankungen beitragen, da sie praktisch nur bei der Multiplen Sklerose auftritt und Dreifachinfektionen des ZNS bisher nicht beschrieben wurden. Zu beachten ist allerdings, dass sowohl die Anzahl der erkannten Antigene als auch die Höhe der viralen Antikörpersynthese von der Gesamt-IgG-Synthese abhängt, was die prognostische Aussagekraft einschränkt [58, 59].

Neuroborreliose

Im Rahmen der Lyme-Borreliose kann es zu Radikulitiden, Meningitiden, Neuritiden, im späteren Verlauf auch zu Enzephalitiden und Myelitiden kommen (Abb. 4). Die Diagnose der Neu-

roborreliose sollte in erster Linie klinisch gestellt und, ausgehend von den Serumbefunden, durch Laboruntersuchungen gestützt werden [60]. Ein direkter Erregernachweis über Kultivierung im Liquor gelingt stadienabhängig nur bei ungefähr 2–5% der Patienten. Der molekularbiologische Nachweis hat sich mit einer Sensitivität von 30–40% bisher nicht durchsetzen können [61, 62]. 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 Dreiklassenreaktion (intrathekale IgG-, IgA- und IgM-Bildung) mit einer IgM-Dominanz. Gleichzeitig ist eine stark gestörte Blut-Liquor-Schranke charakteristisch (Q_{alb} bis $>50 \times 10^{-3}$). Dieses Muster hat bereits vor dem Nachweis einer intrathekalen Borrelienantikörpersynthese eine Sensitivität von 70% und eine Spezifität von 98% [63]. Der Nachweis von Borrelienantikörpern im Liquor kann nur über den spezifischen Antikörperindex (intrathekale Borrelienantikörperbildung: Borrelienantikörperkonzentration_{CSF}/Borrelienantikörperkonzentration_{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 [64]. Ein erhöhter Antikörperindex ohne Liquorpleozytose oder Blut-Liquor-Schranken-Störung spricht für eine klinisch inapparent gebliebene Neuroborreliose ohne aktuelle Krankheitsaktivität. Bei Patienten mit Symptomen über zwei bis drei Monate schliesst eine fehlende intrathekale Antikörperproduktion die Neuroborreliose ursächlich weitestgehend aus. Die genannten Veränderungen zeigen nach einer adäquaten Therapie mit grossen interindividuellen Schwankungen eine Normalisierungstendenz, erkennbar am Rückgang der Schrankenstörung. Die Dreiklassenreaktion mit dominanter IgM-Reaktion kann dagegen über Jahrzehnte persistieren. Ohne Akuitätszeichen (erhöhter Zellzahl, aktivierte B-Lymphozyten und Schrankenfunktionsstörung) handelt es sich dann um eine nicht behandlungsbedürftige «Liquornarbe».

Schlussbemerkungen

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 isoelektrischen Fokussierung und nach Reiber) können häufig bereits wegweisende Rückschlüsse gezogen werden. Bei der Neuroborreliose lässt sich beispielsweise beim typischen Q_{alb} /Immunglobulinmuster (gestörte Schrankenfunktion kombiniert

mit einer dominanten intrathekalen IgM-Synthese) die klinische Verdachtsdiagnose mit einer Sensitivität von 70% und einer Spezifität von 98% frühzeitig bestätigen; und dies bereits vor dem Nachweis einer intrathekalen Borrelienantikörpersynthese [63].

Die integrierte und umfassende Darstellung aller Teilergebnisse (integrierter Befundbericht) ist unerlässlich, um dieser besonderen Situation gerecht zu werden. Der in Basel entwickelte Befundbericht erlaubt eine übersichtliche und umfassende Darstellung der Liquorbasisdiagnostik (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 Methodenkatalog auf der Homepage der Gesellschaft erhältlich sind (www.dgln.de), wurden in letzter Zeit eine Reihe weiterführender Bücher veröffentlicht, die auch dem Unerfahrenen dieses Gebiet zu erschliessen helfen [65–68].

Danksagung

Wir danken Herrn Dr. rer. nat. Ulrich Wurster, Hannover, Herrn PD Dr. Werner Siede, Lemgo und Herrn Prof. Dr. med. Ludwig Kappos, Basel, für die kritische Durchsicht dieses Artikels.

Literatur

- 8 Thompson EJ. The CSF proteins: a biochemical approach. Amsterdam/New York/Milano: Elsevier; 1988.
- 11 Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases [see comments]. *J Neurol Sci.* 1994;122:189–203.
- 15 Wurster U. Elektrophoreseverfahren – Nachweis und Bedeutung von oligoklonalen Banden. In: Zettl K, Lehmitz R, Eilhard M. *Klinische Liquordiagnostik.* Berlin/New York: Walter de Gruyter; 2005. S. 208–38.
- 17 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.
- 18 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.
- 37 Petzold A, Keir G, Sharpe LT. Spectrophotometry for xanthochromia. *N Engl J Med.* 2004;351:1695–6.
- 40 Regeniter 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.
- 65 Zettl UK, Lehmitz R, Mix E. *Klinische Liquordiagnostik.* Berlin/New York: Walter de Gruyter; 2005.
- 66 Kluge H, Wieczorek V, Linke E, Zimmermann K, Witte OW. *Atlas der praktischen Liquorzytologie.* Stuttgart: Thieme Verlag; 2005.
- 67 Felgenhauer K, Beuche W. *Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen.* Stuttgart: Thieme Verlag; 1999.
- 68 Wildemann B, Oschmann P, Reiber H. *Neurologische Labordiagnostik.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2006.

Das vollständige Literaturverzeichnis [1–68] finden Sie in der Onlineausgabe dieses Artikels unter www.medicalforum.ch.

Korrespondenz:
Dr. med. Jens Kuhle
Neurologie
Labor für klinische
Neuroimmunologie
Universitätsspital
Petersgraben 4
CH-4031 Basel
jkuhle@uhbs.ch

Moderne Liquordiagnostik

Eine Übersicht

Jens Kuhle^{a, b, c}, Matthias Mehling^{a, b}, Axel Regeniter^c

Universitätsspital Basel

^aNeurologie, Labor für klinische Neuroimmunologie, ^bDepartement Forschung, ^cLaboratoriumsmedizin

Literatur

- Walter FK. Die Blut-Liquorschranke. 1929. G. Thieme, Leipzig 1929.
- Kabat EA, Moore DH, Landow H. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *J Clin Invest.* 1942;21(5):571–7.
- Laterre EC. Les protéines du liquide céphalorachidien à l'état normal et pathologique. Brüssel/Maloine/Paris: Arscia; 1965.
- Link H. Contribution of CSF studies to diagnosis of multiple sclerosis. *Ital J Neurol Sci.* 1987;6(Suppl): 57–69.
- Gallo P, Bracco F, Tavalato 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.
- 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.
- Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Frey H, Pirttila T, et al. Formulas 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.
- Thompson EJ. The CSF proteins: a biochemical approach. Amsterdam/New York/Milano: Elsevier; 1988.
- Wurster U. Protein gradients in the cerebrospinal fluid and the calculation of intracerebral IgG synthesis. *J Neuroimmunol.* 1988;20:233–5.
- 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.
- Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases [see comments]. *J Neurol Sci.* 1994;122:189–203.
- Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Labormedizin.* 1995;19:444–62.
- Hickey WF. Migration of hematogenous cells through the blood-brain barrier and the initiation of CNS inflammation. *Brain Pathol.* 1991;1:97–105.
- 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.
- Wurster U. Elektrophoreseverfahren – Nachweis und Bedeutung von oligoklonalen Banden. In: Zettl K, Lehmitz R, Eilhard M. *Klinische Liquordiagnostik.* Berlin/New York: Walter de Gruyter; 2005. S. 208–38.
- Wurster U, Rinke M. Does glycosylation contribute to the oligoclonal appearance of intracerebrally synthesized IgG? *Can J Neurol Sci.* 1993;4(Suppl):218.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 Neuro Sci.* 1970;10: 279–304.
- Lefvert AK, Link H. IgG production within the central nervous system: a critical review of proposed formulae. *Ann Neurol.* 1985;17:13–20.
- 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(Pt 4):405–10.
- Steele RW, Marmer DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 1986;23:965–6.
- Jerrard DA, Hanna JR, Schindelheim GL. Cerebrospinal fluid. *J Emerg Med.* 2001;21:171–81.
- 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.
- 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.
- 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 RA. *Cerebral Fluid in Diseases of the Nervous System.* London: W. B. 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 rebleeding. *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, et al. Cerebrospinal fluid. *Adv Clin Chem.* 2001;36:1-62.
- 40 Regeniter 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 Felgenhauer K, Reiber H. The diagnostic significance of antibody specificity indices in multiple sclerosis and herpes virus induced diseases of the nervous system. *Clin Investig.* 1992;70:28-37.
- 43 Sindic CJ. CSF analysis in multiple sclerosis. *Acta Neurol Belg.* 1994;94:103-11.
- 44 Miller DH, Ormerod IE, Rudge P, Kendall BE, Moseley IF, McDonald WI. The early risk of multiple sclerosis following isolated acute syndromes of the brainstem and spinal cord. *Ann Neurol.* 1989;26:635-9.
- 45 Filippini G, Comi GC, Cosi V, Bevilacqua L, Ferrarini M, Martinelli V, et al. Sensitivities and predictive values of paraclinical tests for diagnosing multiple sclerosis. *J Neurol.* 1994;241:132-7.
- 46 Martinelli V, Comi G, Filippi M, Poggi A, Colombo B, Rodegher M, et al. Paraclinical tests in acute-onset optic neuritis: basal data and results of a short follow-up. *Acta Neurol Scand.* 1991;84:231-6.
- 47 Tumani H, Tourtellotte WW, Peter JB, Felgenhauer K. Acute optic neuritis: combined immunological markers and magnetic resonance imaging predict subsequent development of multiple sclerosis. The Optic Neuritis Study Group. *J Neurol Sci.* 1998;155:44-9.
- 48 Cole SR, Beck RW, Moke PS, Kaufman DI, Tourtellotte WW. The predictive value of CSF oligoclonal banding for MS 5 years after optic neuritis. Optic Neuritis Study Group. *Neurology.* 1998;51:885-7.
- 49 Soderstrom M, Ya-Ping J, Hillert J, Link H. Optic neuritis: prognosis for multiple sclerosis from MRI, CSF, and HLA findings. *Neurology.* 1998;50:708-14.
- 50 Mancardi GL, Saccardi R, Filippi M, Gualandi F, Murialdo A, Inglese M, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation suppresses Gd-enhanced MRI activity in MS. *Neurology.* 2001;57:62-8.
- 51 Fassas A, Passweg JR, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kozak T, Havrdova E, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study. *J Neurol.* 2002;249:1088-97.
- 52 Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 1998;4:111-7.
- 53 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.
- 54 Rostasy K, Reiber H, Pohl D, Lange P, Ohlenbusch A, Eiffert H, et al. Chlamydia pneumoniae in children with MS: frequency and quantity of intrathecal antibodies. *Neurology.* 2003;61:125-8.
- 55 Qin Y, Duquette P, Zhang Y, Talbot P, Poole R, Antel J. Clonal expansion and somatic hypermutation of V(H) genes of B cells from cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *J Clin Invest.* 1998;102:1045-50.
- 56 Baranzini SE, Jeong MC, Butunoi C, Murray RS, Bernard CC, Oksenberg JR. B cell repertoire diversity and clonal expansion in multiple sclerosis brain lesions. *J Immunol.* 1999;163:5133-44.
- 57 Colombo M, Dono M, Gazzola P, Roncella S, Valetto A, Chiorazzi N, et al. Accumulation of clonally related B lymphocytes in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Immunol.* 2000;164:2782-9.
- 58 Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 1998;4:111-7.
- 59 Stachan R, Wurster U. Frequency of virus specific antibodies in clinically definite multiple sclerosis versus acute monosymptomatic optic neuritis. *J Lab Med.* 1996;20:515.
- 60 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.
- 61 Keller TL, Halperin JJ, Whitman M. PCR detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in cerebrospinal fluid of Lyme neuroborreliosis patients. *Neurology.* 1992;42:32-42.
- 62 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.
- 63 Tumani H, Nolker G, Reiber H. Relevance of cerebrospinal fluid variables for early diagnosis of neuroborreliosis. *Neurology.* 1995;45(9):1663-70.
- 64 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.
- 65 Zetzl UK, Lehmitz R, Mix E. *Klinische Liquordiagnostik.* Berlin/New York: Walter de Gruyter; 2005.
- 66 Kluge H, Wiczorek V, Linke E, Zimmermann K, Witte OW. *Atlas der praktischen Liquorzytologie.* Stuttgart: Thieme; 2005.
- 67 Felgenhauer K, Beuche W. *Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen.* Stuttgart: Thieme; 1999.
- 68 Wildemann B, Oschmann P, Reiber H. *Neurologische Labordiagnostik.* Stuttgart: Thieme; 2006.