

# Diagnostic moderne du liquide céphalorachidien

## Un aperçu

Jens Kuhle<sup>a, b, c</sup>, Matthias Mehling<sup>a, b</sup>, Axel Regeniter<sup>c</sup>

Universitätsspital Basel

<sup>a</sup> Neurologie, Labor für klinische Neuroimmunologie, <sup>b</sup> Departement Forschung, <sup>c</sup> Laboratoriumsmedizin



### Quintessence

- Cet aperçu présente les bases du diagnostic du liquide céphalorachidien (LCR) dans les maladies touchant le système nerveux central (SNC).
- Les pathologies neurologiques se présentent souvent par des symptômes cliniques aussi variés que peu spécifiques. Avec l'imagerie diagnostique, l'analyse du LCR donne souvent des informations mettant sur la voie du diagnostic.
- Le diagnostic de base comporte principalement le comptage des cellules, leur répartition, l'évaluation de la fonction de la barrière et de la synthèse intrathécale d'immunoglobulines IgG, IgA et IgM.
- Ceci donne très souvent des constellations typiques de certaines maladies, avec perturbation de la barrière hémato-encéphalique et synthèse d'immunoglobulines et dont le diagnostic pourra, dans l'idéal, être complété et confirmé par des méthodes spécifiques de mise en évidence des pathogènes.
- La proximité topographique entre SNC et LCR et surtout l'absence de changement de la synthèse d'immunoglobulines IgM en IgG dans le LCR expliquent ces constellations typiques.
- En plus du diagnostic dans les maladies aiguës, l'examen du LCR a également une grande importance dans celui de maladies chroniques et auto-immunes du SNC.

### 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.*

### Introduction

C'est environ en 400 avant J.-C. qu'Hippocrate a décrit la présence de ventricules liquidiens dans le cerveau. Après que Heinrich Irenäus Quincke ait été le premier à pratiquer une ponction lombaire transcutanée en 1891, les ponctions lombaires à visée diagnostique ont été régulièrement effectuées depuis le début du 20<sup>e</sup> siècle déjà dans les hôpitaux européens et américains. Avec la première description de la barrière hémato-encéphalique par Friedrich Karl Walter en 1929, la notion de sa perméabilité a commencé à prendre de l'importance [1]. Elvin A. Kabat a été le premier en 1942 à décrire dans le LCR une multiplication de gammaglobulines dans la sclérose en plaques (SEP) et la neurosyphilis [2].

La focalisation isoélectrique visant à mesurer les bandes oligoclonales dans le LCR, c.-à-d. les immunoglobulines produites dans le système nerveux central (SNC), a été mentionnée pour la première fois en 1965 et est encore actuellement utilisée dans plusieurs de ses variations techniques [3]. En plus de cette mesure qualitative d'une synthèse intrathécale d'immunoglobulines, ces dernières peuvent également être dosées quantitativement dans le LCR, ce qui a donné lieu au développement de très nombreuses formules pour quantifier la synthèse locale d'anticorps [4–7].

Le diagnostic du liquide céphalorachidien, avec l'imagerie diagnostique moderne, est un pilier central du diagnostic des pathologies neurologiques. Dans les tableaux cliniques inflammatoires (d'étiologie infectieuse et non infectieuse) du cerveau surtout, mais aussi de la moelle et des méninges, l'examen du LCR est une méthode diagnostique standardisée, non dangereuse et bien établie. Le compartiment rachidien, avec sa proximité spatiale et sa barrière très limitée avec les structures voisines du système nerveux, offre la possibilité d'obtenir des informations directes à partir du véritable «organe cible», et de les interpréter.

## Cerveau – sang – liquide céphalorachidien: principes et mécanismes pathogéniques

### Liquide céphalorachidien et barrière hémato-encéphalique

Les espaces liquidiens comprennent les quatre ventricules et l'espace sous-arachnoïdien (espaces interne et externe). 80–90% du LCR sont produits par les plexus choroïdes des ventricules latéraux, du troisième et du quatrième ventricule. Les vaisseaux sanguins intracérébraux et le parenchyme cérébral lui-même en sont des sources nettement moins productives. La quantité de LCR produite en 24 heures, soit env. 500–600 ml, avec le volume total de l'espace liquidien d'env. 150–170 ml, donne un renouvellement de liquide entre trois et quatre fois par jour. La plus grande partie est résorbée par les villosités arachnoïdiennes (bourgeoisements de l'arachnoïde) et passe dans les sinus veineux. La dure-mère émet en outre des prolongements aux dépôts des racines nerveuses, où une petite partie du LCR s'écoule dans le liquide endoneural.

Le LCR est un ultrafiltrat sanguin, env. 80% de ses protéines proviennent du sang, avec domination de l'albumine (150–350 mg/L) et des IgG (jusqu'à 40 mg/L). 20% environ sont intrathécales, c.-à-d. synthétisées dans le SNC (par ex. bêta-2-transferrine, bêta-trace [= prostaglandine D synthétase], gamma-trace [= cystatine C] et en concentrations très faibles éolase neurospécifique, S 100, glial fibrillary acidic protein [GFAP]) [8]. La barrière hémato-encéphalique étant intacte, la concentration de protéines dans le LCR est env. 200 fois plus faible que dans le sérum. Les petites molécules diffusent plus facilement dans le compartiment LCR que les plus grandes; les quotients pour les IgG, IgA et IgM par ex. sont de 1:500, 1:1000 et 1:5000 [9, 10]. La notion de barrière hémato-encéphalique s'applique d'une part aux barrières épithéliales entre le sang et le tissu nerveux (barrière sang-SNC, sang-LCR, sang-nerfs), mais désigne plus précisément la ligne de démarcation entre les vaisseaux et le liquide extracellulaire cérébral. La particularité des capillaires sanguins intracérébraux (cellules endothéliales reliées par des jonctions serrées (tight junctions), péricytes et membrane basale continue), avec importante diminution du transfert de molécules hors du sang, est la base même de la barrière hémato-encéphalique. Le liquide extracellulaire cérébral est par contre en contact direct avec le LCR, par les cellules épendymaires sans jonctions serrées.

La fonction de la barrière hémato-encéphalique est essentiellement déterminée par la rapidité du flux de LCR. Selon ce concept très largement admis, déduit de la biophysique et confirmé empiriquement, une diminution du flux de LCR provoque une dysfonction de cette barrière. Le flux de LCR peut diminuer suite à une baisse de sa

production, une baisse du flux dans l'espace sous-arachnoïdien ou un obstacle à l'écoulement dans les villosités arachnoïdiennes [11]. On ne sait pas exactement si une augmentation (additionnelle) de la perméabilité de la barrière endothéliale influence en plus la dysfonction de la barrière sang-LCR. Il est probable que ces deux mécanismes agissent en synergie, l'un plus que l'autre selon la situation [8].

Puisque l'albumine n'est synthétisée que par le foie, son quotient ( $Q_{\text{alb}} = \text{alb}_{\text{LCR}}/\text{alb}_{\text{sérum}}$ ) est utilisé comme témoin de la fonction de la barrière sang-LCR. Le  $Q_{\text{alb}}$  est fonction de l'âge. C'est à la naissance qu'il est à son maximum (jusqu'à  $30 \times 10^{-3}$ ), à 4 mois à son minimum, avant d'augmenter de nouveau sous l'effet de la diminution de la production de LCR dans les plexus choroïdes en fonction de l'âge (0,4 ml/min chez les sujets jeunes et 0,1 ml/min chez les plus âgés) [12].

### Concepts neuro-immunologiques et production intrathécale d'immunoglobulines

Le système nerveux central a longtemps été considéré comme un organe immunitairement privilégié, c.-à-d. très peu «surveillé» par le système immunitaire. De nombreuses études montrent bien que malgré la barrière hémato-encéphalique, des lymphocytes B et T activés circulent dans le SNC, indépendamment de leur spécificité [13]. Dans des conditions physiologiques, cela ne déclenche aucune réaction immunitaire. Mais infections, traumatismes ou lésions dégénératives peuvent déclencher des cascades immunologiques complexes par des réactions inflammatoires. La libération d'antigènes dans le système immunitaire périphérique, avec activation et prolifération de lymphocytes spécifiques de certains antigènes, y joue peut-être un rôle important. Les cellules B patrouillant dans le SNC et y reconnaissant leur antigène peuvent se différencier en plasmocytes et sécréter localement des anticorps, ce qui explique la production intrathécale passagère d'immunoglobulines dans des pathologies originellement non inflammatoires (infarctissements, HSA, contusions cérébrales) [14, 15]. La spécificité des immunoglobulines de production intrathécales dans des pathologies inflammatoires du SNC non dues d'emblée à un pathogène, comme la sclérose en plaques, la (neuro)sarcoïdose, le (neuro)Behçet ou les vasculites n'est pas encore expliquée. Dans la SEP, les immunoglobulines de production intrathécale sont considérées comme représentatives des IgG sécrétées par les plasmocytes présents dans les foyers de SEP [15]. Dans des conditions physiologiques (barrière sang-LCR intacte), des immunoglobulines diffusent en quantités minimales du sérum dans le LCR en fonction de leur taille ( $\text{IgM} < \text{IgA} < \text{IgG}$ ).

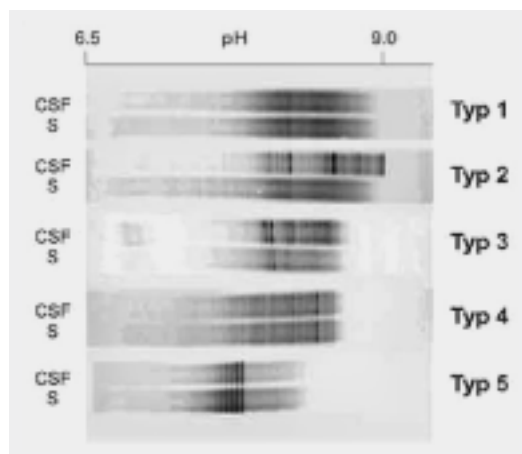
La focalisation isoélectrique (IEF), qui permet de comparer les bandes d'immunoglobulines entre

sérum et LCR, est la méthode la plus sensible et spécifique de démonstration d'une production intrathécale d'IgG. S'il y a plusieurs bandes d'IgG présentes uniquement dans le LCR mais pas dans le sérum, cela prouve une synthèse intrathécale d'IgG («focalisation isoélectrique positive»). Il n'est pas possible de tirer une quelconque conclusion sur le nombre de clones de plasmocytes en se basant sur le nombre de bandes d'immunoglobulines, car en fonction de leurs performances, les techniques actuelles séparent également les IgG monoclonales en plusieurs bandes. Ce sont des modifications postsynthétiques des molécules d'IgG qui en sont responsables [15, 16].

Le consensus international distingue cinq types de bandes d'IgG oligoclonales (fig. 1 [6]). Les types 1 et 2 correspondent à une synthèse intrathécale d'immunoglobulines. Les types 4 et 5 reflètent des réponses immunitaires périphériques, c.-à-d. que les types obtenus permettent également de tirer certaines conclusions sur les causes systémiques primaires de la présence

intrathécale d'immunoglobulines. Il n'y a actuellement aucune méthode validée de dosage qualitatif des IgA ou IgM oligoclonales par focalisation isoélectrique.

Les calculs quantitatifs reposant sur le dosage des IgG et de l'albumine dans le sérum et le LCR peuvent eux aussi démontrer une production intrathécale d'immunoglobulines, mais ils sont moins sensibles et spécifiques que la focalisation isoélectrique. En plus des formules élaborées par Hansotto Reiber, qui sont les standards dans les pays germanophones (fonction hyperbolique séparée en deux courbes logarithmiques pour les IgG, IgM et IgA, fig. 2 [6]) [17–19], il y a notamment l'index des IgG selon Link ( $Q_{IgG}/Q_{alb}$ ) [20] et la synthèse d'IgG selon Wallace W., Tourtelotte [21], de même que d'autres modèles de calcul mathématique. Alors que si les quotients de l'albumine sont normaux, les différences ne sont que minimales, les résultats sont souvent faux positifs s'ils sont élevés. Pour des taux d'albumine très bas (par ex. liquide ventriculaire, enfants), les résultats de l'index IgG sont en outre souvent faux négatifs [20, 22, 23]. Malgré la sensibilité et la spécificité très faibles des méthodes quantitatives par rapport à l'IEF, leur résultat permet de conclure à des échantillons typiques de certaines maladies par la distribution caractéristique de chacune des sous-classes d'immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) (voir plus loin, fig. 2).



**Figure 1**

Interprétation des bandes d'IgG oligoclonales dans le LCR et le sérum. Focalisation isoélectrique du LCR et du sérum (S) sur gel d'agarose avec Immunoblot subséquent. Sont représentés les types 1–5 classiques:

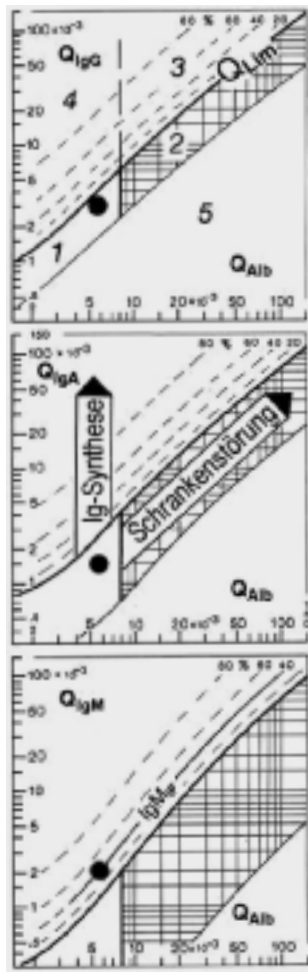
- Type 1: Type normal sans bandes oligoclonales (BO), ce qui ne correspond à aucune synthèse intrathécale d'IgG.
- Type 2: BO uniquement dans le LCR mais pas dans le sérum, ce qui prouve une synthèse intrathécale d'IgG.
- Type 3: BO uniquement dans le LCR (comme type 2) et bandes oligoclonales identiques dans le LCR et le sérum (comme type 4), signe d'une synthèse intrathécale d'IgG dans une réaction immunitaire systémique.
- Type 4: BO identiques dans le LCR et le sérum par filtration passive d'IgG du sang dans le LCR sur fond de processus immunitaire systémique (image en miroir) sans synthèse intrathécale d'IgG.
- Type 5: Une paraprotéine (gammopathie monoclonale) est dissociée en plusieurs bandes très voisines à la focalisation isoélectrique. Pas de synthèse intrathécale d'IgG [17].

## Diagnostic d'urgence et résultats typiques de certaines maladies

### Programme de diagnostic d'urgence

La ponction lombaire à visée diagnostique est un examen standard dont les complications graves sont très rares à condition d'en respecter les contre-indications (hypertension intracrânienne ou grave trouble de la coagulation notamment). Les ponctions sous-occipitales ou ventriculaires à visée diagnostique ont été largement abandonnées. Le LCR doit être collecté sans additif dans des tubes plastiques fermés. Pour éviter l'adhésion des protéines aux parois, les tubes en polypropylène sont les plus indiqués. Les échantillons avec cellules sont conservés à 4–8 °C. La répartition des cellules du LCR doit se faire le plus rapidement possible, car ex vivo elles dégènerent et disparaissent [24]. Pour les dosages des protéines, l'échantillon peut être provisoirement stocké à 4°C, et une température de –80 °C est indispensable à un stockage prolongé.

En cas de suspicion de pathologie inflammatoire aiguë du SNC, le LCR doit être examiné en urgence. Les patients parfaitement conscients, sans symptomatologie neurologique de focalisation ni d'hypertension intracrânienne, sans troubles de la coagulation mais cliniquement suspects d'avoir une méningite ou une encéphalite virale, doivent subir une ponction lombaire



**Figure 2**

Diagramme de quotients LCR/sérum pour les IgG, IgA, IgM avec fonctions hyperboliques selon Reiber [11] (1994).

Les domaines 1 et 2 sont le domaine de référence des fractions d'IgG, IgA et IgM dans le LCR. Les courbes hyperboliques du haut (lignes épaisses) du domaine de référence représentent les lignes de discrimination (Q<sub>Lim</sub>, [«Lim» de «Limes»]) entre les fractions d'immunoglobulines du LCR provenant du cerveau et celles provenant du sang. Les valeurs en dessus du Q<sub>Lim</sub> sont représentées comme fractions intrathécales (IF) en pourcentage de la concentration totale dans le LCR (Ig<sub>GIF</sub>, Ig<sub>AIF</sub> ou Ig<sub>MIF</sub>) [11, 12]. Ces fractions intrathécales peuvent se lire directement du diagramme avec les lignes de pourcentage (20%, 40%, 60% ou, 80% de synthèse intrathécale) par rapport au Q<sub>Lim</sub> comme 0% de synthèse. La limite du domaine de référence pour les quotients de l'albumine, Q<sub>alb</sub>, entre la concentration de protéines dans le LCR normale et élevée (dysfonction de la barrière sang-LCR) est fonction de l'âge avec une formule générale pour âge >5 ans: Q<sub>alb</sub> = (4 + âge (ans))/15 × 10<sup>-3</sup> (par ex. ligne verticale, Q<sub>alb</sub> = 8 × 10<sup>-3</sup> pour un patient de 60 ans). Les diagrammes présentent cinq domaines: 1.) normal, 2.) dysfonction de la barrière sang-LCR uniquement, 3.) synthèse intrathécale d'IgG avec dysfonction de la barrière, 4.) synthèse intrathécale d'IgG sans dysfonction de la barrière. Les valeurs en dessous de la ligne hyperbolique inférieure dans le domaine 5) montrent une erreur méthodologique.

La superposition de chaque diagramme permet de se référer aux quotients de l'albumine communs à tous les diagrammes et facilite ainsi la reconnaissance de l'échantillon.

Les données de ce diagramme sont celles d'un patient (\*) ayant une paralysie faciale avec une fraction d'IgM intrathécale (Ig<sub>MIF</sub> = 40%) et IgG oligoclonales (avec Ig<sub>GIF</sub> = 0). Cette information de base a donné lieu à une analyse de l'index des anticorps (AI) spécifiques antiborreliales avec IgG-AI = 4,3 et IgM-AI = 3,2. Ceci a permis d'identifier *Borrelia burgdorferi* comme étant l'agent étiologique de la maladie.

dans les plus brefs délais. Immédiatement après les éventuelles hémocultures, ils doivent recevoir leur première dose d'antibiotiques. Chez des patients présentant des troubles de la conscience et des symptômes neurologiques de focalisation, un CT est indispensable avant la ponction lombaire pour exclure un œdème cérébral. Les contre-indications à un prélèvement de LCR sont un déplacement de la ligne médiane, un volumineux processus expansif cérébelleux (par ex. abcès), des signes d'herniation transtentorielle ou un important œdème cérébral généralisé.

Il faut examiner de routine le LCR à l'œil nu (trouble dès env. 1000 leucocytes/μl, purulent, sang, xanthochrome), doser les protéines totales, le lactate, compter les cellules et en faire la répartition. Si les cellules ou le lactate sont augmentés, il est indiqué de faire une coloration de Gram, et éventuellement un test rapide au latex pour les bactéries les plus fréquentes, sans oublier une coloration de Ziehl-Neelsen. Le quotient du glucose sérum/LCR est d'env. 0,6 chez les sujets sains, ce qui correspond à un glucose dans le LCR de 2,7-4,2 mmol/L avec une glycémie normale. Le quotient du glucose sérum/LCR est souvent abaissé (<0,5) dans les méningites bactériennes, virales et carcinomateuse. La recherche du pa-

thogène doit être complétée par d'autres analyses, pour lesquelles une quantité suffisante de LCR est indispensable.

Un nombre normal de cellules (lombaire 0-4/μl; sous-occipitale 0-3/μl; ventriculaire 0-1/μl) exclut généralement toute pathologie inflammatoire infectieuse aiguë du SNC.

Il y a des exceptions aux stades initiaux, dans lesquels les granulocytes n'ont pas encore migré (phase prégranulocytaire), chez les patients déjà sous antibiotiques (évt bactéries mortes au Gram) ou immunosupprimés et leucopéniques. Mais ces patients ont généralement une dysfonction de la barrière hémato-encéphalique (quotient albumine augmenté) comme signe précoce d'inflammation. Les hémorragies sous-arachnoïdiennes, les vasculites et les tumeurs du SNC sont des causes non infectieuses d'augmentation des protéines dans le LCR [25]. Une augmentation du nombre de cellules n'est pas toujours équivalente à une pathologie inflammatoire aiguë du SNC. Elle se rencontre par ex. comme pléiocytose réactionnelle après ponction lombaire (jusqu'à 7-14 jours env. après la ponction), dans les hémorragies intracrâniennes, après interventions neurochirurgicales ou en cas de méningite néoplasique. En cas de suspicion de

méningite néoplasique, il faut prélever suffisamment de LCR (10–11 ml). L'examen cytologique donne souvent des résultats faux positifs par confusion entre cellules malignes et inflammatoires sous l'œil de personnes inexpérimentées ou si la ponction a été contaminée par du sang [26]. Si les résultats sont négatifs, la sensibilité peut passer de 50–70% à 85–92% par un nouvel examen du LCR [27]. Les méningo-encéphalites bactériennes aiguës peuvent être distinguées des infections virales par une augmentation nettement plus marquée des cellules (>1000/μl) et du lactate (>3,5 mmol/L). Un syndrome méningitique avec un lactate normal dans le LCR parle nettement en faveur d'une étiologie virale. Les infections virales, dans lesquelles le lactate est normal mais les cellules sont <100/μl, ne sont pas toujours si faciles à différencier des maladies inflammatoires auto-immunes. La réaction antivirale humorale spécifique a besoin de temps pour se développer et des bandes oligoclonales s'observent parfois aussi aux stades subaigus des maladies infectieuses du SNC.

Dans des conditions physiologiques, les érythrocytes sont absents du LCR. Dans les très petites hémorragies sous-arachnoïdiennes, ou les anciennes (>1 semaine), non visibles au CT (env. 10–20%), l'analyse du LCR prend une importance majeure [28–30]. Le diagnostic du LCR est compliqué d'une part par une ponction artificiellement hémorragique, et de l'autre par la forte dépendance des modifications à prévoir en fonction du stade. Si la ponction hémorragique est douteuse, il faut remplir trois tubes pour y compter les érythrocytes et en suivre la séquence (épreuve des trois tubes), mais cela ne permet pas toujours d'exclure en toute sécurité une présence artificielle de sang [31]. Les produits de dégradation du sang (oxyhémoglobine: rougeâtre-rose, métabolisée en bilirubine: jaune) donnent au plus tôt neuf à 15 heures après l'hémorragie une coloration jaunâtre, xanthochrome du LCR centrifugé, pouvant persister jusqu'à deux semaines, mais contrairement à l'oxyhémoglobine, la bilirubine n'est produite qu'in vivo (distinction avec la présence de sang artificielle) [32–34]. La spectrophotométrie, qui ne dépend ni de l'observateur ni de l'heure, est nettement meilleure pour cela que l'examen visuel [35–37].

Les érythrophages apparaissent dans le LCR quelque 12–18 heures après une hémorragie. Les sidérophages caractéristiques, contenant de l'hémossidérine, n'apparaissent qu'après un à deux jours et persistent environ trois à quatre semaines [38]. Les macrophages contenant de l'hématoidine (bilirubine cristallisée) signent une hémorragie sous-arachnoïdienne après env. deux semaines. Les augmentations de la ferritine dans le LCR (>18 pg/ml) sont également caractéristiques d'une HSA, et sa concentration dans le LCR peut être nettement supérieure à sa concentration sérique. Cette analyse peut être

particulièrement bien intégrée dans le programme des analyses d'urgence, car elle peut se faire dans le laboratoire d'urgence automatisé en même temps que les protéines totales, le lactate et le glucose.

#### **Diagnostic clinique différentiel du LCR et anticorps spécifiques de certaines maladies**

Dans le SNC, contrairement au système immunitaire périphérique, il n'y a pas, dans la synthèse des immunoglobulines, de changement des IgM en IgG. La réaction immunitaire intrathécale dépend très étroitement des mécanismes pathogéniques individuels de chaque pathogène et varie peu dans son évolution longitudinale, ce qui donne la base des antigènes spécifiques de telle ou telle maladie. La présentation de la réaction immunitaire humorale et de la fonction de la barrière en diagrammes de quotients peut donner ces anticorps dans un rapport de résultats intégré (fig. 3 et 4) [40, 41], qui sera ensuite complété par d'autres paramètres.

La cause d'une réaction immunitaire intrathécale peut être, d'une part, une pathologie inflammatoire aiguë mais aussi une infection datant de plusieurs années («cicatrice LCR»: par ex. neurosyphilis, encéphalite herpétique) et, de l'autre, un processus inflammatoire chronique dans le cadre d'une maladie auto-immune (par ex. sclérose en plaques). Pour un diagnostic plus précis, en matière d'acuité surtout, il faut avoir une idée de la clinique, du nombre de cellules, de leur répartition (cellules B activées, plasmocytes) et de la fonction de la barrière ( $Q_{alb}$ ).

Lors de la première ponction lombaire à visée diagnostique dans la sclérose en plaques (SEP) ou la neurosyphilis, il y a généralement une image typique de la production intrathécale d'immunoglobulines, avec dominance des IgG. Une synthèse dominante d'IgA est typique de la neurotuberculose, d'un abcès intracérébral ou de l'adrénoleucodystrophie. Une dominance des IgM se rencontre par contre typiquement dans la neuroborréliose, la méningo-encéphalite ourlienne ou les lymphomes non hodgkiniens avec atteinte du SNC. Une synthèse intrathécale d'IgM n'est donc absolument pas le signe d'une maladie aiguë, en l'absence de changement de classes d'immunoglobulines, contrairement à ce qui se produit dans le système immunitaire périphérique, mais permet de tirer certaines conclusions sur la pathologie de base.

A titre d'exemple, la sclérose en plaques et la neuroborréliose, avec leurs résultats caractéristiques dans le LCR, sont présentées plus en détail ci-dessous.

#### **Sclérose en plaques (fig. 3)**

Environ 50–60% des patients ont une augmentation modérée du nombre de cellules, de 4 à 50/μl (fig. 3). Un nombre de 50–100 cellules/μl ne se voit que dans des situations exceptionnelles (par

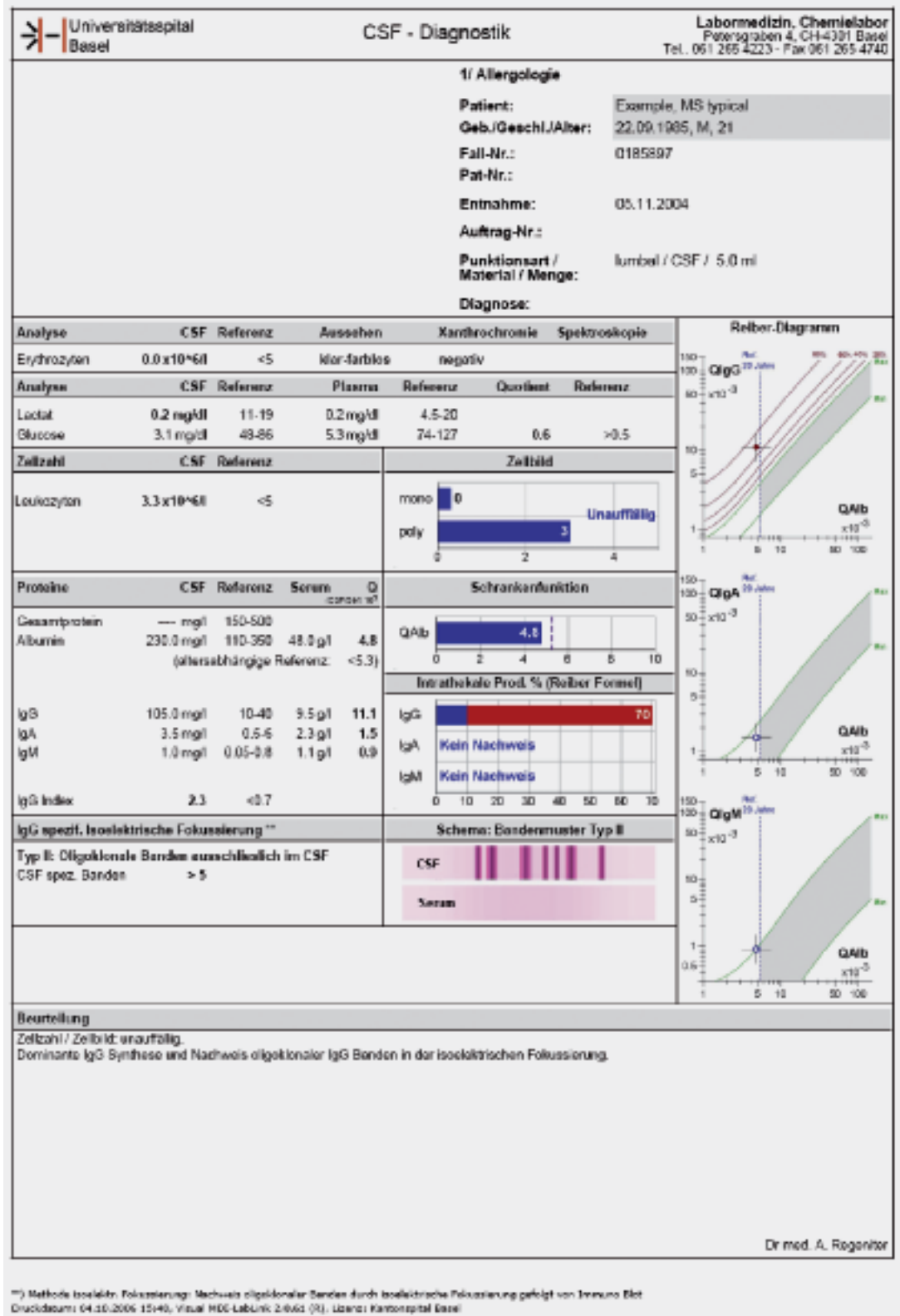


Figure 3

Exemple de représentation graphique de l'analyse du LCR dans le rapport de résultats combinés de Bâle (sclérose en plaques).

A droite, diagrammes des quotients LCR/sérum classiques selon Reiber pour les IgG, IgA et IgM, et pour permettre même aux experts du diagnostic du LCR de tirer des conclusions diagnostiques «instantanées», la partie de gauche donne à titre de complément des diagrammes colorés des cellules, de la fonction de la barrière et de la synthèse intrathécale d'immunoglobulines. Les résultats pathologiques sont marqués en rouge. Les bandes de la focalisation isoélectrique sont représentées schématiquement selon le consensus international (voir fig. 1).

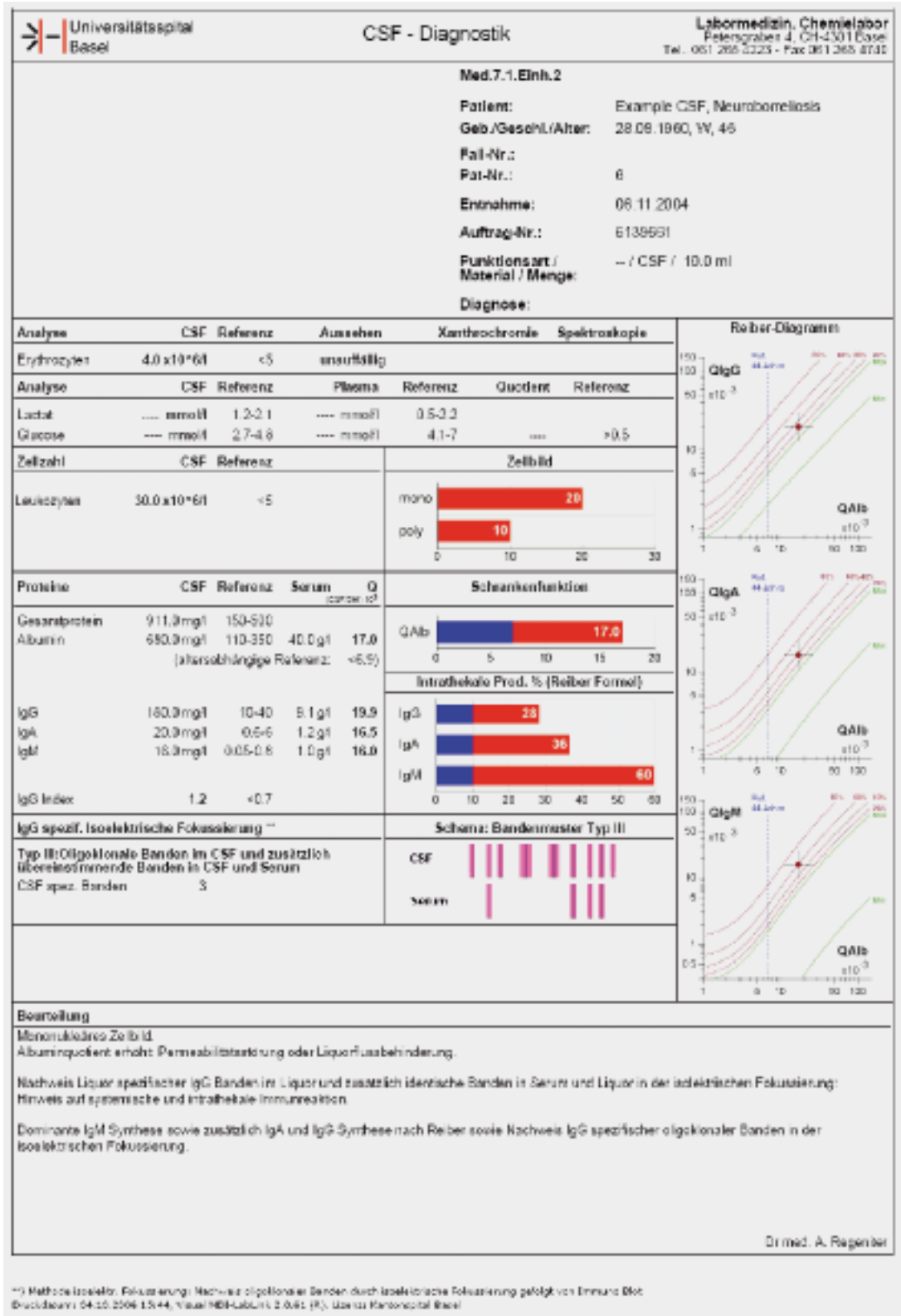


Figure 4 Exemple de représentation graphique de l'analyse du LCR dans le rapport de résultats combinés de Bâle (neuroborréliose) (commentaire voir fig. 3).

ex. variante Marburg de la SEP) et devrait faire l'objet de précisions dans le diagnostic différentiel. Il s'agit essentiellement de cellules T activées. Dans 75% des cas, il y a présence de plasmocytes producteurs d'anticorps. Le quotient de l'albumine est normal dans 70–80% des cas, mais il y a parfois une dysfonction légère ( $Q_{alb}$   $8-10 \times 10^{-3}$ ) et rarement modérée ( $Q_{alb}$   $10-20 \times 10^{-3}$ ) de la barrière hémato-encéphalique.

Des bandes oligoclonales se voient dans 95–100% des cas de SEP [15, 17, 42, 43]. Leur absence devrait faire revoir le diagnostic. Dans des syndromes cliniques isolés, la sensibilité diagnostique de l'analyse du LCR est supérieure à l'imagerie par résonance magnétique, et sa sensibilité n'est que légèrement moins bonne. Si ces deux techniques d'examen sont négatives, le risque de SEP est minime [44–49]. La production intrathécale d'immunoglobulines persiste des dizaines d'années dans la SEP, et ceci même après transplantation de cellules souches autologues, selon les connaissances actuelles [50, 51]. Le type d'antigène et celui de la présentation antigénique restent encore inconnus [52–54]. Le peu d'immunoglobulines présentes dans le LCR et les lésions de SEP (expansion clonale et hypermutation somatique) parlent cependant pour une éventuelle importance pathogénétique de lymphocytes B s'étendant localement et persistant [55–57].

Dans le cadre de la réaction immunitaire oligoclonale, polyspécifique, se produit une synthèse intrathécale d'IgG anti-virus de la rougeole, de la rubéole et de la varicelle (réaction RRV). Ces anticorps contre des antigènes probablement sans importance immunopathologique représentent moins de 1% de la synthèse intrathécale d'Ig totales. La réaction RRV peut aider au diagnostic différentiel avec d'autres maladies auto-immunes, car elle ne se produit que dans la SEP et aucune telle triple infection du SNC n'a été décrite à l'heure actuelle. Il faut cependant savoir que le nombre des antigènes reconnus, tout comme l'importance de la synthèse d'anticorps antiviraux dépend de la synthèse d'IgG totales, ce qui en limite la valeur pronostique [58, 59].

#### *Neuroborréliose (fig. 4)*

Dans le cadre de la borréliose de Lyme peuvent se produire radiculites, méningites, névrites, et plus tard encéphalites et myélites (fig. 4). Le diagnostic de neuroborréliose doit d'abord se poser sur la base de la clinique pour être ensuite confirmé par le laboratoire, avec les examens sérologiques [60]. La mise en évidence directe du pathogène par culture ne réussit que chez 2–5% environ des patients, en fonction du stade. La preuve par biologie moléculaire ne s'est pas encore imposée, vu sa sensibilité de 30–40% seulement [61, 62]. Il y a la plupart du temps une augmentation modérée du nombre de cellules, avec une proportion élevée de lymphocytes B et

de plasmocytes, comme c'est également le cas dans les lymphomes. Il y a souvent une réaction des trois classes (synthèse intrathécale d'IgG, d'IgA et d'IgM) avec dominance des IgM. La barrière sang-LCR est fortement perturbée, ce qui est caractéristique ( $Q_{alb}$  jusqu'à  $>50 \times 10^{-3}$ ). Ce quotient a une sensibilité de 70% et une spécificité de 98% avant la preuve d'une synthèse intrathécale d'anticorps anti-borrelies déjà [63]. La démonstration de ces anticorps dans le LCR ne peut donner d'autres informations que par l'index spécifique des anticorps (synthèse intrathécale d'anticorps antiborrelies: titre d'AC antiborrelies<sub>LCR</sub>/titre d'AC antiborrelies<sub>sérum</sub>: concentration d'IgG<sub>LCR</sub>/concentration d'IgG<sub>sérum</sub>; positif:  $>1,5$ ), car env. 10% de la population en bonne santé et 35% des groupes à risque ont des titres d'anticorps antiborrelies augmentés [64]. Un index d'anticorps élevé sans pléiocytose dans le LCR ni perturbation de la barrière sang-LCR parle en faveur d'une neuroborréliose cliniquement muette, inactive. Chez des patients ayant des symptômes depuis 2–3 mois, l'absence de production intrathécale d'anticorps exclut pratiquement à coup sûr la borréliose comme étiologie. Les perturbations mentionnées ont tendance à se normaliser après traitement adéquat, avec de grandes variations interindividuelles, ce qui se voit à la normalisation de la fonction de la barrière. La réaction des 3 classes avec dominance des IgM peut par contre persister des dizaines d'années. Sans signes d'acuité (nombre de cellules augmenté, lymphocytes B activés et dysfonction de la barrière), il ne s'agit que d'une «cicatrice LCR» n'imposant aucun traitement.

## Conclusion

L'analyse du liquide céphalorachidien contribue au diagnostic différentiel des pathologies neurologiques aiguës et chroniques et est une aide décisionnelle. Avec le diagnostic de base obligatoire (nombre de cellules et leur répartition, quotient de l'albumine, confirmation de la production intrathécale d'anticorps à la focalisation isoélectrique et selon Reiber), il est souvent possible d'avoir tous les éléments conduisant au diagnostic. Dans la neuroborréliose par exemple, le quotient  $Q_{alb}$ /immunoglobulines (dysfonction de la barrière associée à la synthèse intrathécale dominante d'IgM), le diagnostic clinique probable peut être confirmé précocement avec une sensibilité de 70% et une spécificité de 98%; et ceci avant déjà la confirmation de la synthèse intrathécale d'anticorps antiborrelies [63].

La présentation complète et intégrée de tous les résultats est indispensable pour tenir compte de cette situation particulière. Le rapport de résultats développé à Bâle permet de visualiser rapidement l'ensemble du diagnostic de base du LCR (fig. 3, 4). Il présente également aux médecins



moins expérimentés dans ce diagnostic des constellations pathologiques qui, sans cela, passeraient facilement inaperçues.

En Allemagne, les personnes intéressées au diagnostic du LCR se sont regroupées dans la Deutsche Gesellschaft für Liquodiagnostik und klinische Neurochemie. La littérature et le catalogue méthodologique peuvent être consultés gratuitement sur la homepage de cette société ([www.dgln.de](http://www.dgln.de)), et plusieurs ouvrages plus complets ont été publiés récemment, qui aideront le profane à mieux connaître ce domaine [65–68].

#### Références

- 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, Wiczorek 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.

#### Remerciements

Nous adressons nos vifs remerciements au Dr Ulrich. Wurster, Hanovre, au Dr Werner. Siede, PD, Lemgo et au Prof. Dr Ludwig. Kappos, Bâle, qui ont bien voulu lire cet article et nous faire part de leurs critiques et de leurs commentaires.

Correspondance:  
Dr Jens Kuhle  
Neurologie  
Labor für klinische  
Neuroimmunologie  
Universitätsspital  
Petersgraben 4  
CH-4031 Basel  
[jkuhle@uhbs.ch](mailto:jkuhle@uhbs.ch)

Vous trouverez la bibliographie complète [1–68] dans la version en ligne de l'article sous [www.medicalforum.ch](http://www.medicalforum.ch).

# Diagnostic moderne du liquide céphalorachidien

## Un aperçu

Jens Kuhle<sup>a, b, c</sup>, Matthias Mehling<sup>a, b</sup>, Axel Regeniter<sup>c</sup>

Universitätsspital Basel

<sup>a</sup>Neurologie, Labor für klinische Neuroimmunologie, <sup>b</sup>Departement Forschung, <sup>c</sup>Laboratoriumsmedizin

### Références

- 1 Walter FK. Die Blut-Liquorschranke. 1929. G. Thieme, Leipzig 1929.
- 2 Kabat EA, Moore DH, Landow H. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *J Clin Investigation*. 1942;21(5):571–7.
- 3 Laterre EC. Les protéines du liquide céphalorachidien à l'état normal et pathologique. Brüssel/Maloine/Paris: Arscia; 1965.
- 4 Link H. Contribution of CSF studies to diagnosis of multiple sclerosis. *Ital J Neurol Sci*. 1987;6(Suppl): 57–69.
- 5 Gallo P, Bracco F, Tavolato B. Blood-brain barrier damage restricts the reliability of quantitative formulae and isoelectric focusing in detecting intrathecally synthesized IgG. *J Neurol Sci*. 1988;84:87–93.
- 6 Luxton RW, McLean BN, Thompson EJ. Isoelectric focusing versus quantitative measurements in the detection of intrathecal local synthesis of IgG. *Clin Chim Acta*. 1990;187:297–308.
- 7 Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Frey H, Pirttila T, et al. 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.
- 8 Thompson EJ. The CSF proteins: a biochemical approach. Amsterdam/New York/Milano: Elsevier; 1988.
- 9 Wurster U. Protein gradients in the cerebrospinal fluid and the calculation of intracerebral IgG synthesis. *J Neuroimmunol*. 1988;20:233–5.
- 10 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.
- 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.
- 12 Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Labormedizin*. 1995;19:444–62.
- 13 Hickey WF. Migration of hematogenous cells through the blood-brain barrier and the initiation of CNS inflammation. *Brain Pathol*. 1991;1:97–105.
- 14 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.
- 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.
- 16 Wurster U, Rinke M. Does glycosilation contribute to the oligoclonal appearance of intracerebrally synthesized IgG? *Can J Neurol Sci*. 1993;4(Suppl):218.
- 17 Andersson M, varez-Cermenon 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.
- 19 Reiber H, Felgenhauer K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta*. 1987;163:319–28.
- 20 Link H, Tibbling G. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Scand J Clin Lab Invest*. 1977;37:397–401.
- 21 Tourtellotte W. On cerebrospinal fluid immunoglobulin-G (IgG) quotients in multiple sclerosis and other diseases. A review and a new formula to estimate the amount of IgG synthesized per day by the central nervous system. *J Neuro Sci*. 1970;10: 279–304.
- 22 Lefvert AK, Link H. IgG production within the central nervous system: a critical review of proposed formulae. *Ann Neurol*. 1985;17:13–20.
- 23 Ohman S, Ernerudh J, Forsberg P, Henriksson A, von SH, Vrethem M. Comparison of seven formulae and isoelectrofocusing for determination of intrathecally produced IgG in neurological diseases. *Ann Clin Biochem*. 1992;29(Pt 4):405–10.
- 24 Steele RW, Marmer DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*. 1986;23:965–6.
- 25 Jerrard DA, Hanna JR, Schindelheim GL. Cerebrospinal fluid. *J Emerg Med*. 2001;21:171–81.
- 26 Twijnstra A, Ongerboer dV, van Zanten AP, Hart AA, Nooyen WJ. Serial lumbar and ventricular cerebrospinal fluid biochemical marker measurements in patients with leptomeningeal metastases from solid and hematological tumors. *J Neurooncol*. 1989;7: 57–63.
- 27 Glantz MJ, Cole BF, Glantz LK, Cobb J, Mills P, Lekos A, et al. Cerebrospinal fluid cytology in patients with cancer: minimizing false-negative results. *Cancer*. 1998;82:733–9.
- 28 Beetham R. Recommendations for CSF analysis in subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75:528.

- 29 Findlay JM. Current management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage guidelines from the Canadian Neurosurgical Society. *Can J Neurol Sci.* 1997;24:161-70.
- 30 van der WN, Rinkel GJ, Hasan D, van GJ. Detection of subarachnoid haemorrhage on early CT: is lumbar puncture still needed after a negative scan? *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1995;58:357-9.
- 31 Vermeulen M. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis and treatment. *J Neurol.* 1996;243:496-501.
- 32 Edlow JA, Caplan LR. Avoiding pitfalls in the diagnosis of subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med.* 2000;342:29-36.
- 33 Fishman 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.